

5种精油对植物病原菌的抑制活性研究

王兰英, 徐 晓, 骆焱平*

(海南大学 环境与植物保护学院, 热带作物种质资源保护与开发利用教育部重点实验室, 海南 儋州 571737)

摘要: 采用生长速率法测定了黄皮叶、金橘叶、柚子果皮、番石榴叶、芒果叶 5种植物精油对水稻稻瘟病菌 (*Phyricularia grisea*)、西瓜枯萎病菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*)、香蕉枯萎病菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*)、芒果炭疽病菌 (*Colletotrichum gloeosporioides*)、芒果蒂腐病菌 (*Botryodiplodia theobromae*) 抑菌活性。结果表明: 在 1 g/L 质量浓度下, 5种精油对病原菌均有明显的抑制活性, 其中黄皮叶精油对水稻稻瘟病菌的抑制率高达 93.85%, 优于其他几种精油; 黄皮叶精油不同质量浓度对 4种病原真菌的毒力测定结果表明, 其对芒果蒂腐病菌的 EC_{50} 最低, 为 0.21 g/L。

关键词: 植物精油; 病原真菌; 抑菌活性

中图分类号: S482.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2010)10-0071-03

Studies on Antifungal Activities of the Five Essential Oils from Plants

WANG Lan-Ying, XU Xiao, LUO Yan-Ping

(Key Laboratory of Protection and Development Utilization of Tropical Crop Germplasm Resources
College of Environment and Plant Protection, Hainan University, Danzhou 571737, China)

Abstract: The antifungal activities of the essential oils from *Clausena lansium*, *Fortunella margarita*, *Citrus grandis*, *Psidium guajava* and *Mangifera indica* by SFE- CO_2 were tested against *Phyricularia grisea*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, *Colletotrichum gloeosporioides* and *Botryodiplodia theobromae* by using mycelial growth rate method. The results indicated that the essential oils had the antifungal activities against five fungi at the concentration of 1 g/L. Especially the antifungal activities of the essential oil from *Clausena lansium* was excellent against *Phyricularia grisea* and the inhibition rate was 93.85% at 1 mg/mL. The EC_{50} of the essential oil from *Clausena lansium* was 0.21 g/L against *Botryodiplodia theobromae*.

Key words: Plant essential oil; Phytopathogenic fungus; Antifungal activity

近年来, 基于化学防治给环境带来的压力, 为绿色食品生产提供保障的植物源农药的研发受到农药科研者的关注^[1]。植物精油是存在于植物不同组织, 如果实、叶、花和根中的一类重要次生代谢物, 它由分子量较小的化合物组成, 常温下多为油状液体, 易挥发, 具有强烈的香味和气味^[2]。近年来研究表

明, 多种植物精油对植物病原菌具有抑菌、杀菌等作用^[3,4]。国内关于精油对植物病原菌抑制作用的研究有不少报道^[5]。本研究选用黄皮叶、金橘叶、柚子果、番石榴叶、芒果叶等 5种植物精油, 对 5种植物病菌进行离体活性研究, 以期筛选出具有抑菌和杀菌作用较好的植物精油, 为植物精油类杀菌剂的

收稿日期: 2010-02-03

基金项目: 海南大学 2009年重点科研项目 (hcb9xm12); 海南大学博士启动经费

作者简介: 王兰英 (1976-), 女, 山东鄄城人, 讲师, 硕士, 主要从事植物病理学的研究。E-mail: daiyemuw@126.com

*通讯作者: 骆焱平 (1973-), 男, 湖北鄂州人, 副教授, 博士, 主要从事生物农药的研究工作。E-mail: yanpluo@126.com

研发提供依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试材料:黄皮 (*Clausena lansium* (L.) Skeels) 叶、金橘 (*Fortunella margarita* (L.) Swingle) 叶、柚子 (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) 果皮、番石榴 (*Psidium guajava* L.) 叶、芒果 (*Mangifera indica* L.) 叶, 采自海南大学儋州校区校园内。

供试菌种:水稻稻瘟病菌 (*Phyricularia grisea*)、西瓜枯萎病菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*)、香蕉枯萎病菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*)、芒果炭疽病菌 (*Colletotrichum gloeosporioides*)、芒果蒂腐病菌 (*Botryodiplodia theobromae*) 均由海南大学环境与植物保护学院植物化学保护实验室提供。

主要仪器: MODELSFT-100XW 型超临界 CO₂ 流体萃取仪, 美国 ASI 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 精油的制备 将采集的新鲜材料洗净, 室内自然阴干后, 在 45℃ 电热恒温鼓风干燥箱内烘干, 用粉碎机粉碎, 备用。

试验参考精油类物质超临界 CO₂ 萃取的文献资料^[6]及试验设备的实际情况, 设计萃取条件: 萃取压力为 25.85 MPa 萃取温度为 35℃, CO₂ 流量为 0.015 L/min 萃取时间为 2 h

收集的精油瓶装, 于 4℃ 下保藏备用。

1.2.2 抑菌活性测定 以少量丙酮为溶剂, 吐温-80 为乳化剂, 进行精油溶解, 用无菌水将各精油稀释至所需质量浓度。在无菌条件下, 分别移取 1 mL 已配制好的所需质量浓度的精油溶液, 加入到 19 mL HDA 培养基中, 充分摇匀, 迅速分装至直径为 6.0 cm 的培养皿内, 制成薄厚均匀的平板。得到的培养基中精油质量浓度为 1 g/L。以含相应比例的

丙酮、吐温溶液为空白对照, 0.3% 苦参碱乳油为标准药剂对照。3 次重复。待培养基冷却后, 用直径为 5 mm 的无菌打孔器打取供试菌种菌饼, 移入平板中央, 适温培养, 待对照组中的菌丝长到培养基总面积的 75% 左右时, 十字交叉法测量菌落直径, 计算各处理对真菌生长的抑制率^[7]。

$$\text{抑制率} = \frac{\text{对照组菌落直径} - \text{处理组菌落直径}}{\text{对照组菌落直径} - \text{菌饼直径}} \times 100\%$$

1.2.3 黄皮叶精油对 4 种病原真菌的抑菌活性测定 按照系列浓度稀释法将黄皮叶精油配制质量浓度为 2, 1.5, 1.0, 0.5, 0.25, 0.1 g/L。按上述方法测定不同质量浓度精油对水稻稻瘟病菌、香蕉枯萎病菌、芒果炭疽病菌、芒果蒂腐病菌的抑菌活性, 并求其毒力方程 $Y = a + bX$ 及 EC₅₀ 值。

2 结果与分析

2.1 5 种精油对供试病原真菌的抑菌活性

通过超临界 CO₂ 萃取得到 5 种植物的精油, 在 1 g/L 质量浓度下, 对这 5 种精油进行抑菌活性试验, 测定结果见表 1。由表 1 可知, 黄皮叶精油对供试菌株抑菌效果最好, 其抑制率均在 65% 以上; 其次是金橘叶精油, 对 5 种病原真菌的抑制率均在 50% 以上; 相反, 番石榴叶精油、芒果叶精油及柚子果皮精油对芒果蒂腐病菌表现出明显的促进作用。精油之间比较结果表明, 黄皮叶精油与金橘叶精油抑菌效果较好, 除对芒果蒂腐病菌外, 对其余 4 种病原菌均无显著差异; 与标准药剂相比, 黄皮叶精油、金橘叶精油与苦参碱在同一水平, 差异未达显著水平。特别是对芒果蒂腐病菌, 黄皮叶精油的抑菌活性优于苦参碱的活性。不同精油对不同病原菌抑制效果明显不同, 如黄皮叶精油、金橘叶精油对水稻稻瘟病抑制效果较好, 抑菌率均在 80% 以上, 尤其是黄皮叶精油对水稻稻瘟病菌的抑制率高达 93.85%, 而其他 3 种精油抑菌效果均不理想。

表 1 5 种精油对供试病原菌的抑制率

供试精油来源	水稻稻瘟病菌	西瓜枯萎病菌	香蕉枯萎病菌	芒果炭疽病菌	芒果蒂腐病菌
黄皮叶	93.85 aA	75.24 aA	66.70 aA	68.94 aA	75.91 aA
金橘叶	86.84 aA	63.24 aA	58.63 aA	57.26 aA	53.81 bB
番石榴叶	55.91 bB	33.48 bB	19.12 bB	38.06 bB	-12.41 cC
芒果叶	25.25 cC	11.68 cBC	18.31 bB	36.71 bB	-34.11 dD
柚子果皮	24.41 cC	5.83 cC	4.60 cB	27.44 bB	-67.62 eE
苦参碱	95.12 aA	81.30 aA	79.18 aA	80.32 aA	63.54 bB

注: 同列不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著, 不同大写字母表示在 0.01 水平差异显著

2.2 黄皮叶精油对4种病原真菌的抑菌活性

表1结果表明,黄皮叶精油对供试病原菌抑制效果比较理想,因此,进一步测定了不同质量浓度下黄皮叶精油对水稻稻瘟病菌、香蕉枯萎病菌、芒果炭疽病菌和芒果蒂腐病菌的抑菌活性,并计算其对4种病菌的毒力(EC_{50}),结果见表2。

表2 黄皮叶精油对4种供试病原菌的毒力测定结果

供试病原真菌	毒力回归方程	r	EC_{50} /(g/L)
水稻稻瘟病菌	$Y=2.6528X+6.4766$	0.9641**	0.28
香蕉枯萎病菌	$Y=1.2698X+5.3168$	0.9745**	0.56
芒果炭疽病菌	$Y=1.0233X+5.4684$	0.9608**	0.35
芒果蒂腐病菌	$Y=0.8842X+5.5951$	0.9763**	0.21

注: $r_{0.01, n-4} = 0.917$ **表示 $R < 0.01$

由表2可知,黄皮叶精油对4种病原菌的抑菌活性均较高, EC_{50} 值在0.21~0.56 g/L。黄皮叶精油对供试病原菌的 EC_{50} 的大小顺序为:香蕉枯萎病菌>芒果炭疽病菌>水稻稻瘟病菌>芒果蒂腐病菌,由此表明,不同病原菌对黄皮叶精油的敏感性不同。芒果蒂腐病菌对该精油最敏感, EC_{50} 最低,为0.21 g/L;相比较下,香蕉枯萎病菌敏感性稍差, EC_{50} 最大。

毒力回归方程斜率的大小往往说明病菌对供试药剂敏感性的分布,即在 EC_{50} 值相似情况下,若斜率不同,在高或低剂量时,抑制率会出现相差较大的现象。因此,表2中虽然黄皮叶精油对水稻稻瘟病菌与芒果蒂腐病菌的 EC_{50} 值较为接近,但若提高供试精油剂量,抑菌率则会出现明显的差异。这也验证了表1中在较高质量浓度(1 g/L)下,黄皮叶精油对水稻稻瘟病菌的抑制活性高于对芒果蒂腐病菌的抑制活性。

3 结论与讨论

本试验采用生长速率法,对植物精油的抑菌活性进行了初步探索。研究发现:供试精油在离体条件下具有较强的抑菌活性;对不同病原真菌,抑菌作

用有一定差异。在1 g/L质量浓度下,黄皮叶精油对水稻稻瘟病菌的抑制效果最佳,抑制率达90%以上;用黄皮叶精油对其中4种病菌进行毒力测定,以芒果蒂腐病菌和水稻稻瘟病菌的 EC_{50} 最小,均在0.3 g/L以下。有研究表明,黄皮叶中含有呋唑生物碱、黄酮、酚类、有机酸、香豆素、酰胺化合物及降三萜类化合物,挥发油中主要成分为 α 芹子烯、石竹烯、 β 芹子烯、 α 蒎烯和 α 石竹烯等^[10]。可见,黄皮叶是一种有开发潜力的植物资源,在植物农药、水果保鲜等领域具有广阔的应用前景。我国海南黄皮种植面积较大,因此,该研究对其合理开发利用具有重要的意义。

参考文献:

- [1] 刘佳斌,宋翔,王金胜.万寿菊根部提取物黄酮对西瓜枯萎病菌抑制作用研究[J].山西农业大学学报:自然科学版,2008,28(1):37-39.
- [2] 徐汉虹.杀虫植物与植物性杀虫剂[M].北京:中国农业出版社,2001:107-120.
- [3] 叶舟.4种林木精油的抑菌活性[J].福建农林大学学报:自然科学版,2007,36(3):312-315.
- [4] 顾仁勇,张石峰,刘莹莹,等.五种香辛料精油抑菌及抗氧化性能研究[J].食品科学基础研究,2008,29(3):106-108.
- [5] 王桂清,张军华,张敏,等.辽细辛提取物对拟盘多毛孢菌的离体抑制作用[J].河南农业科学,2008(2):60-63.
- [6] 赵谋明,刘晓丽,崔春,等.超临界 CO_2 萃取余甘子精油成分及精油抑菌活性[J].华南理工大学学报:自然科学版,2007,35(12):116-120.
- [7] 吴文君.植物化学保护实验技术导论[M].西安:陕西科学技术出版社,1987:141-145.
- [8] 徐汉虹,张志祥,查友贵.中国植物性农药开发前景[J].农药,2003,42(3):1-9.
- [9] 张应焱,尹彩萍,冯俊涛,等.植物源杀菌剂的研究进展[J].西南民族大学学报,2005,31(3):402-409.
- [10] 纳智.黄皮叶挥发油化学成分的研究[J].西北植物学报,2006,26(1):193-196.