

李屹,韩睿,王丽慧,等.菊芋叶片提取物对辣椒疫霉菌的抑菌效果及盆栽验证试验[J].江苏农业科学,2015,43(1):139-141.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.01.047

菊芋叶片提取物对辣椒疫霉菌的抑菌效果及盆栽验证试验

李屹,韩睿,王丽慧,付迎坤,谭龙

(青海省蔬菜遗传与生理重点实验室,青海西宁 810016)

摘要:采用生长速率法,对菊芋叶片 5 种溶剂提取物进行辣椒疫霉菌抑菌效果试验,结果表明,不同溶剂提取物对辣椒疫霉菌均具有抑菌效果,石油醚和乙酸乙酯为溶剂的菊芋叶片提取物 12.5 mg/mL 对辣椒疫霉菌的抑菌率最高,达到 100.00%;在各溶剂提取物不同浓度梯度情况下,乙酸乙酯提取物的抑菌效果最为显著,当浓度为 5 mg/mL 时,抑菌率已达到 100.00%,浓度降到 2.5 mg/mL 时,抑菌率为 $(27.91 \pm 2.076)\%$,显著高于同浓度其他溶剂的提取物。对菊芋叶片乙酸乙酯提取物 50 倍液进行防治辣椒疫病的盆栽试验,结果表明,其对辣椒疫病的防治效果达到 100.00%,优于化学药剂 25% 甲霜灵可湿性粉剂 400 倍液的防治效果。

关键词:菊芋;提取物;辣椒;疫霉菌;抑菌效果;石油醚;乙酸乙酯

中图分类号: S482.2⁺92 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)01-0139-02

辣椒疫病是由辣椒疫霉菌(*Phytophthora capsici*)侵染引起的一种毁灭性真菌性病害,于 1918 年在美国首次被发现,迄今已在世界各地的辣椒种植区普遍发生^[1]。在 20 世纪 50 年代,我国最早在江苏发现辣椒疫病,目前该病已危及我国的青海、新疆、上海、北京、陕西、贵州、四川等许多地区^[2-8],并呈逐年加重趋势,给辣椒生产造成严重损失,是辣椒的主要病害之一。辣椒疫病是一种土传病害,可经雨水、土壤、气流等多种途径传播,发病时可造成茎秆坏死、叶片枯萎、果实腐烂,甚至整株萎蔫死亡,从而导致田间大面积出现死秧^[9]。利用化学药剂防治辣椒疫病效果甚微,且容易造成环境污染,开发无害、高效的新型生物农药是当前病害防治的发展方向。本试验采用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、丙酮及乙醇共 5 种溶剂,对菊芋叶片的有效成分进行提取,对提取物进行辣椒疫霉菌抑菌效果试验,确定最佳溶剂,并开展辣椒盆栽验证试验,为利用菊芋开发高效、安全的新型无公害植物源农药奠定基础。

1 材料与方法

1.1 菊芋叶片不同溶剂提取物对辣椒疫霉菌的室内抑菌效果

1.1.1 供试样品 供试植物为菊芋,种植于青海大学农林科学院,鲜叶于秋季霜前采集,室内自然阴干,用粉碎机粉碎制成植物干粉,密封于塑料袋中备用。

1.1.2 培养基与试剂 真菌培养基为 PDA 培养基;石油醚、氯仿、乙酸乙酯、丙酮及乙醇等生化试剂均为分析纯,市购。

1.1.3 供试菌种 辣椒疫霉菌菌种由青海省蔬菜遗传与生理重点实验室提供,将菌株接种于 PDA 液体培养基中进行活化,25 ℃ 培养 2~3 d;活化菌株转接到 PDA 固体平板上,

25 ℃ 培养 2~5 d,至菌丝覆盖整个平板。

1.1.4 菊芋叶片不同提取物的制备 5 种溶剂提取物提取方法分别为:分别称取菊芋叶片干粉材料 2、1.2、2.4、2、3 kg,分别加入乙醇 10 L、氯仿 6 L、乙酸乙酯 12 L、丙酮 10 L、石油醚 15 L,浸提 2 次,浸提 2 d;合并 2 次浸提液,减压浓缩,分别得到菊芋叶片乙醇、氯仿、乙酸乙酯、丙酮和石油醚粗提物。

1.1.5 菊芋叶片提取物的抑菌活性测定 将各粗提物配制成一定浓度;一方面分别取一定量各溶剂提取物加入到温度 40 ℃ 左右、已熔化的 PDA 固体培养基中,摇匀,倒入灭菌培养皿中,使菊芋叶片提取物在 PDA 培养基中终浓度为 12.5 mg/mL,以添加相对应的有机溶剂为对照,另一方面使各菊芋叶片提取物在 PDA 培养基中的终浓度分别为 25、20、15、12.5、10、7.5、5、2.5 mg/mL;待培养基凝固,于中央接入直径为 9 mm 的辣椒疫霉菌菌块,于 25 ℃ 培养 72 h,“十”字交叉法测量菌落直径,计算菌落纯生长量和抑菌率:纯生长量 = 菌落平均直径 - 菌饼直径;抑菌率 = (对照纯生长量 - 处理纯生长量) / 对照纯生长量 × 100%。

1.1.6 数据分析 数据用 Excel 和 DPS 软件进行分析处理。

1.2 盆栽验证试验

1.2.1 供试材料 供试辣椒品种为乐都长辣椒;供试试剂为菊芋叶片乙酸乙酯粗提物和 25% 甲霜灵可湿性粉剂。

1.2.2 试验方法 辣椒采用盆栽,每盆栽种辣椒 3 株,在辣椒 8~10 叶期处理;试验设菊芋叶片粗提物 50 倍液、25% 甲霜灵可湿性粉剂 400 倍液、清水处理为空白对照共 3 个处理,采用灌根方式,沿每株辣椒根部灌入 10 mL 试剂或清水;24 h 后使用注射器吸取游动疫霉菌孢子浓度为 1×10^4 个/mL 的悬浮液 5 mL,注入离辣椒幼苗根茎约 2 cm 处,保持土壤湿度饱和、温度为 25 ℃ 左右。每个处理重复 3 次,每次重复用辣椒 5 盆。孢子悬浮液制备方法为:将在 CN 培养基上培养的疫霉菌单孢纯化菌株,于 28 ℃ 条件下连续光照培养 5~7 d 以形成大量孢子囊;挑取产生孢子囊的菌丝块放入试管中,加入无菌水 20 mL,放入 4 ℃ 冰箱中预冷 1 h,移至室温 20 min,振荡即得游动孢子悬浮液,用无菌水进行稀释调节。

收稿日期:2014-04-02

基金项目:国家现代农业产业技术体系建设专项(编号:CARS-25-G-49)。

作者简介:李屹(1973—),女,河南巩义人,研究员,主要从事蔬菜病虫害防治。Tel:(0971)5311167;E-mail:ly525414@sina.com。

1.2.3 调查内容及统计方法 分别于施药后 7、14、21 d 调查发病情况,统计发病率、病情指数及防治效果,计算公式:发病率 = 发病株数/调查总株数 × 100%。病情指数 DI : $DI = \sum(s \times n) / (N \times 5) \times 100\%$, 式中, s 为各病情级别的代表数值; n 为各病情级别的植株数; N 为调查总植株数。防治效果 = (对照区病情指数 - 防治区病情指数) / 防治区病情指数 × 100%。病害分级标准为:0 级:无病;1 级:幼苗根茎部轻微变黑,叶片不萎蔫或可恢复性萎蔫;2 级:幼苗根茎部变黑 1 ~ 2 cm,叶片不可恢复性萎蔫,下部叶片偶有脱落;3 级:幼苗根茎部变黑超过 2 cm,叶片明显萎蔫或落叶明显;4 级:幼苗根部变黑缢缩,除生长点外全部落叶或整株萎蔫;5 级:植株枯死。

2 结果与分析

2.1 菊芋叶片不同溶剂提取物对辣椒疫霉菌的抑菌效果

由表 1 可知,菊芋叶片各溶剂提取物 12.5 mg/mL 处理,辣椒疫霉菌的菌丝纯生长量与对照处理相比,均存在显著差异,各溶剂提取物对真菌生长均起到一定的抑制作用;石油醚、乙酸乙酯提取物对辣椒疫霉菌的抑制效果最好,抑菌率达到 100.00%,显著高于其他提取物处理;丙酮提取物次之,抑菌率为(27.51% ± 2.823)%;乙醇提取物对疫霉菌抑菌效果相对最差,抑菌率仅为(3.99 ± 1.009)%。

表 2 不同溶剂提取物对辣椒疫霉菌的抑菌率

提取物浓度 (mg/mL)	提取物抑菌率(%)				
	石油醚	氯仿	丙酮	乙酸乙酯	乙醇
2.5	17.32 ± 2.442	7.91 ± 1.269	9.14 ± 0.613	27.91 ± 2.076	0
5	30.38 ± 7.895	8.57 ± 0.210	10.09 ± 1.152	100.00	0
7.5	100.00	10.98 ± 2.428	13.24 ± 1.113	100.00	0
10	100.00	13.63 ± 2.213	16.61 ± 1.239	100.00	0
12.5	100.00	19.10 ± 1.282	27.51 ± 2.823	100.00	3.99 ± 1.009
15	100.00	24.02 ± 2.115	39.01 ± 0.425	100.00	7.00 ± 1.568
20	100.00	51.16 ± 6.529	100.00	100.00	27.57 ± 5.585
25	100.00	100.00	100.00	100.00	72.43 ± 0.472

2.2 菊芋叶片提取物防治辣椒疫病盆栽验证试验

由表 3 可知,施药后 7 d,菊芋叶片粗提物 50 倍液及 25% 甲霜灵可湿性粉剂 400 倍液 2 个处理均未发病,清水对照发病率达 17.78%、病情指数达 4.00%;施药后 14 d,菊芋叶片粗提物 50 倍液处理的辣椒未发病,25% 甲霜灵可湿性粉剂 400 倍液处理的辣椒发病率为 8.89%、病情指数为 1.78%,

表 3 菊芋叶片提取物对辣椒疫病的防治效果

处理	药后 7 d			药后 14 d			药后 21 d		
	发病率 (%)	病情指数 (%)	防治效果 (%)	发病率 (%)	病情指数 (%)	防治效果 (%)	发病率 (%)	病情指数 (%)	防治效果 (%)
菊芋叶片提取物 50 倍液	0	0	100.00	0	0	100.00	0	0	100.00
25% 甲霜灵可湿性粉剂 400 倍液	0	0	100.00	8.89	1.78	87.87	13.33	4.89	86.07
清水对照(CK)	17.78	4.00		37.78	14.67		57.78	35.11	

3 结论与讨论

试验结果表明,菊芋叶片不同提取物对辣椒疫霉菌均具有抑菌效果,溶剂提取物浓度为 12.5 mg/mL 时,石油醚和乙酸乙酯提取物对辣椒疫霉菌的抑菌率达到 100.00%,显著高于其他提取物;乙酸乙酯提取物的抑菌效果最为显著,当浓度为 5 mg/mL 时,抑菌率达到 100.00%,浓度降到 2.5 mg/mL 时,抑菌率尚有(27.91 ± 2.076)%,显著高于同浓度其他溶剂提取物;菊芋叶片乙酸乙酯提取物 50 倍液对辣椒疫病具有

表 1 菊芋叶片不同溶剂提取物 12.5 mg/mL 对辣椒疫霉菌的抑菌效果

溶剂	纯生长量(cm)		抑菌率 (%)
	菊芋叶片提取物	仅溶剂(对照)	
石油醚	0 ± 0e	1.35 ± 0.089	100.00 ± 0a
乙酸乙酯	0 ± 0e	5.20 ± 0.347	100.00 ± 0a
氯仿	13.92 ± 0.454c	17.20 ± 0.327	19.10 ± 1.282c
丙酮	5.25 ± 0.278d	7.24 ± 0.106	27.51 ± 2.823b
乙醇	32.22 ± 0.202b	33.56 ± 0.544	3.99 ± 1.009d
空白对照	45.20 ± 0.700a		

注:同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。

由表 2 可知,乙酸乙酯提取物对辣椒疫霉菌的抑菌效果最为显著,当浓度为 5 mg/mL 时,抑菌率达 100.00%,当浓度降到 2.5 mg/mL 时,抑菌率为(27.91 ± 2.076)%;石油醚提取物的抑菌效果次之,浓度为 7.5 mg/mL 时,抑菌率达 100.00%,当浓度逐渐降低时,抑菌率也显著降低;氯仿提取物和丙酮提取物在 2.5 ~ 10 mg/mL 时的抑菌效果相差不大,浓度大于 10 mg/mL 时,丙酮提取物的抑菌效果增加程度明显大于氯仿,在 20 mg/mL 时,丙酮提取物的抑菌率达 100.00%,氯仿提取物在 25 mg/mL 时抑菌率才达到 100.00%;乙醇提取物的抑菌效果最差,浓度小于 10 mg/mL 几乎没有抑菌效果,当浓度大于 12.5 mg/mL 时,抑菌率随浓度的增加而增大,当浓度为 25 mg/mL 时,抑菌率为(72.43 ± 0.472)%。

清水对照发病率达 37.78%、病情指数达 14.67%;施药后 21 d,菊芋叶片粗提物 50 倍液处理的辣椒仍未发病,25% 甲霜灵可湿性粉剂 400 倍液处理的辣椒发病率为 13.33%、病情指数为 4.89%,病情发展较为缓慢,清水对照发病率达到 57.78%、病情指数达到 35.11%。菊芋叶片提取物 50 倍液处理的辣椒全程无疫病发生,对辣椒疫病有较好的防治效果。

良好的防治效果,药后 21 d 防效仍达到 100.00%,优于化学药剂 25% 甲霜灵可湿性粉剂 400 倍液的防治效果。

我国是农业大国,农药在农业生产中发挥着十分重要的作用。随着人们健康意识的提高,农药残留超标已成为严重影响农产品市场竞争力的重要问题,开发新型农药已成当务之急^[10]。植物源农药来源于自然,具有环保、长效、易光解、无残留等特点,能保持农产品的高品质,是发展有机农业、促进农业可持续发展的理想农药。菊科植物是最重要的植物源农药来源,在有杀虫活性的 1 600 种植物中,有 1/10 是菊科

高 宇,王志英,赵红盈,等. 白蜡吉丁啮小蜂雌蜂对寄主挥发物的触角电位和行为反应[J]. 江苏农业科学,2015,43(1):141-143.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.01.048

白蜡吉丁啮小蜂雌蜂对寄主挥发物的触角电位和行为反应

高 宇^{1,2}, 王志英², 赵红盈³, 唐大伟⁴

(1. 吉林农业大学农学院, 吉林长春 130017; 2. 东北林业大学林学院, 黑龙江哈尔滨 150040;
3. 黑龙江省森林保护研究所, 黑龙江哈尔滨 150040; 4. 吉林省长春市园林植物保护站, 吉林长春, 130061)

摘要:白蜡吉丁啮小蜂是我国东北地区白蜡窄吉丁幼虫期的优势性天敌,研究白蜡吉丁啮小蜂与白蜡窄吉丁、水曲柳之间的化学通信机制,为白蜡吉丁啮小蜂搜索和识别寄主的机理提供依据。采用昆虫触角电位和行为生测技术,测定雌蜂对寄主植物和寄主昆虫挥发物的触角电位和行为反应。结果表明,雌蜂对白蜡窄吉丁幼虫排泄物的触角电位反应最强,与对照相比有显著差异;水曲柳受害树皮、混合物 1 和混合物 3 对雌蜂具有显著的吸引作用,受害树皮和白蜡窄吉丁幼虫也有较强的吸引作用,而健康树皮和健康叶片等对雌蜂无显著的吸引作用;白蜡窄吉丁幼虫排泄物是寄主挥发物中主要的活性组分,在雌蜂寄主搜索、定位和识别过程中起着重要的作用。

关键词:白蜡吉丁啮小蜂;寄主挥发物;触角电位反应;行为反应;白蜡窄吉丁幼虫排泄物

中图分类号: S763.43 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)01-0141-03

白蜡吉丁啮小蜂(*Tetrastichus planipennis* Yang)是我国东北地区白蜡窄吉丁(*Agrilus planipennis* Fairmaire)幼虫期的优势性天敌^[1-2]。该蜂主要寄生白蜡窄吉丁的 3~4 龄幼虫,在

对白蜡窄吉丁的自然控制中发挥着重要作用,是一种具有广阔生物防治应用前景的寄生蜂^[3]。目前,国内外广泛开展了白蜡吉丁啮小蜂的生物学、生态学及其大量繁殖和释放技术等研究,并被美国引进和应用,取得了良好的控制效果^[4-10]。利用寄生蜂进行生物防治的效果在很大程度上依赖于其搜索、定位和识别寄主的能力^[11]。探索白蜡吉丁啮小蜂主动搜索、定位和识别寄主植物和寄主昆虫的机理,对于提高生物防治的效率十分关键,同时对于深入了解白蜡吉丁啮小蜂的寄主定位机理,白蜡吉丁啮小蜂与白蜡窄吉丁、水曲柳(*Fraxinus mandshurica* Rupr.)之间的化学通信机制,开展白蜡吉丁啮小蜂行为调控和水曲柳资源的保护和利用等研究具有重要意义。白蜡吉丁啮小蜂触角上着生多种感觉器,雌蜂可能利

收稿日期:2014-03-13

基金项目:国家林业公益性行业科研专项(编号:201104069);黑龙江省森林工业总局科技计划项目(编号:sgjY2010016);黑龙江省财政厅科研基金项目。

作者简介:高 宇(1983—),男,吉林长春人,博士,讲师,主要从事昆虫化学生态学和害虫综合治理等研究和教学工作。Tel:(0451) 82191512;E-mail:627492257@qq.com。

通信作者:王志英,博士,教授,博士生导师,主要从事森林有害生物防治等研究和教学工作。E-mail:zyw0451@sohu.com。

植物^[11]。研究表明,菊芋能抵御多种植物疾病,极少虫害,含有抗虫抑菌活性物质,具有耐旱、耐寒、耐盐及抗病虫害等特点^[12]。目前,国内外对菊芋用于治理沙漠和深加工方面的研究较多,有关菊芋叶片生物活性物质及其抑菌活性的研究较少。韩睿等已经开展菊芋叶片有效成分提取分离技术研究^[13]。通过本试验,证明了菊芋提取液对辣椒疫霉菌具有很好的抑制作用,这对于充分利用菊芋资源、开发研制新型植物源杀菌剂、拓展菊芋的应用领域提供了一定的依据。在盆栽验证试验中,只设定了 1 个提取液浓度,不能更为客观地分析其防治效果,有必要在后续试验中设计更多的浓度梯度,进一步确定菊芋提取液对辣椒疫病的防治效果及最佳防治浓度。

参考文献:

- [1] 朱宗源,陆金萍,周新根,等. 上海郊区青椒疫病病原菌鉴定及其生物学特性[J]. 上海农业学报,1992,8(3):36-41.
- [2] 陈坚忠. 青海高海拔地区辣椒疫病的发生及防治措施[J]. 作物杂志,2008(4):83-84.
- [3] 程 沅,沈崇尧,段道怀. 青椒疫菌为北京地区青椒死秧的主要原因[J]. 植物病理学报,1988,18(1):9-14.

- [4] 王志田,史载诚,赵林忠,等. 哈密地区辣椒疫霉菌的鉴定及部分生物学测定[J]. 新疆农业科学,1990(2):69-71.
- [5] 王燕华,杨顺宝. 上海地区甜椒疫病菌的鉴定[J]. 上海农业科技,1982(1):20-21.
- [6] 常彩涛,巩振辉,王 鸣. 陕西辣椒疫病菌种的鉴定[J]. 西北农业学报,1993,2(1):87-90.
- [7] 杨学辉,袁 洁,谢海呈. 贵州省辣椒主栽品种抗疫病性鉴定[J]. 西南农业学报,2005,18(6):791-793.
- [8] 彭化贤,刘波微,李 薇. 四川辣椒疫霉菌生物学特性和辣椒抗霉疫病性鉴定方法初探[J]. 云南农业大学学报,2005,20(1):140-144.
- [9] 易图永,谢丙炎,张宝玺,等. 辣椒疫病防治研究进展[J]. 中国蔬菜,2002(5):52-55.
- [10] 吴光旭,何庭玉,刘爱媛,等. 植物中抗病原真菌的活性物质[J]. 植物学通报,2004,21(3):367-375.
- [11] 李云寿,邹华英,唐绍宗,等. 14 种菊科植物提取物对菜青虫的杀虫活性[J]. 华东昆虫学报,2000,9(2):99-101.
- [12] Stanley J K, Nottingham S F. Biology and chemistry of *Jerusalem artichoke*[M]. New York: CRC Press, 2008.
- [13] 韩 睿,王丽慧,钟启文,等. 菊芋叶片提取物抑菌活性研究[J]. 现代农业科技,2010(5):120-123.