

文章编号:1003-8701(2011)02-0044-03

植物源 5%辣椒碱·茶皂素微乳剂 对棉花枯萎病菌的抑制作用研究

李芳¹,王剑²,李暮春¹

(1. 新疆维吾尔自治区测试研究院,乌鲁木齐 830011 2. 新疆农业科学院,乌鲁木齐 830091)

摘要 在室内用生长速率法测定了辣椒碱、茶皂素及二者的混剂对棉花枯萎病的抑制作用。生测结果表明:辣椒碱与茶皂素及混剂对抑制棉花枯萎病菌丝的生长有一定的增效作用, $LC_{50}=0.063\ 44\ \mu\text{g/mL}$,共毒系数为 122.73;试验中两种药剂及其混剂仅对病菌有抑菌作用,但无杀菌作用。1 mL 浓度 5%辣椒碱·茶皂素微乳剂处理菌丝悬浮液,发现处理后的菌丝短而分枝少,菌丝形成隔膜较早,老化快,细胞壁变薄。

关键词 辣椒碱 茶皂素 棉花枯萎病 抑制

中图分类号 S435.621.2⁺4

文献标识码 A

Studies on Action of Capcaicin and Tea Saponin against *Fusarium oxysporum*

LI Fang¹, WANG Jian², LI Mu- chun¹

(1. Xinjiang Uyger Autonomous Region Academy of Instrumental Analysis, Urumqi 830011;

2. Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi 830091, China)

Abstract: Inhibition action of tea saponin, capcaicin and their mixture against *Fusarium oxysporum* was assayed in the laboratory using growth velocity method. Bioassay results showed that there were synergistic inhibition to growth of *Fusarium oxysporum*, $LC_{50}=0.06344$, $CTC=122.73$. Using the two compounds and the mixture could inhibit the growth of hypha but not killed it. When the mycelial suspension was treated with benalaxyl (1mL), the results showed that the hyphae grew shorter with a few of branches. Mycelia septums emerged earlier, and ageing quickly, cell wall was thinner.

Keywords: Capcaicin; Tea soponin; *Fusarium oxysporum*; Inhibition

枯萎病是一类植物病害的总称,有细菌性病原和真菌性病原两种,真菌性病原是由镰刀菌属(*Fusarium*)引起的世界性植物土传病害,如棉花枯萎病、棉花黄萎病等。它是植物病害防治的一大难题。黄萎病、枯萎病能感染 100 多种植物,其中以对棉花的影响最为严重,造成的经济损失也最为惨重。枯萎病是棉花增产丰收的重要障碍因素。随着棉花种植面积扩大,棉花枯萎病的危害越来越

越重,发病率越来越高,发病轻的造成减产,发病重的导致绝收,且防治艰难,严重阻碍了棉花生产的发展^[1-3]。

目前随着无公害、绿色和有机农产品生产的发展,病虫害无害化防治方法深受青睐,其中植物源杀菌剂的研究也越来越多。辣椒为茄科植物辣椒(*Capsicum frutescence* L.)的果实。辣椒果实中的主要药用成分是辣椒碱,它是一种极度辛辣的香草酰胺类生物碱,为辣椒果实中辛辣的主要化学成分,具有抗菌杀虫的药理作用,主要分布在辣椒籽及果皮内表皮细胞之中。研究表明,辣椒粗提液有较好的杀菌效果。辣椒在新疆是广泛种植的大宗农产品,如果用作植物源杀菌剂的原料,来源广

收稿日期:2010-08-22

基金项目:新疆科学研究与技术开发计划项目(200632122)

作者简介:李芳(1977-),女,助理研究员,从事分子生物学研究。

泛^[4-5]。

茶皂素是自茶籽饼中提取的一种皂苷类物质,在茶籽饼中的含量约为 10%~14%。具有皂苷的一般通性,味苦,辛辣。茶皂素在农药上可用作杀虫剂、杀菌剂和农药助剂。一是利用茶皂素本身杀虫、灭菌功能产生农药作用,二是利用茶皂素良好乳化、扩散、湿润等性能作农药助剂^[6-10]。因此可用其配制成生物农药,此生物农药对人畜、农作物无害,且耐雨水冲刷。

关于辣椒碱对病原菌的抑菌活性所见报道不多。为此,用本实验室研制的植物源农药—5%辣椒碱·茶皂素微乳剂对棉花枯萎病防治进行了初步的研究。

1 材料与方法

1.1 供试菌种

棉花枯萎病菌,系新疆农科院植保所在田间采集、分离菌株后,在 PDA 培养基上培养保存的菌种。

1.2 供试药剂及浓度

5%辣椒碱·茶皂素微乳剂 本实验室自制 茶皂素(皂苷含量 94.8%)浙江东方茶叶科技有限公司常山分公司。辣椒碱制备 超临界提取干辣椒粉末(40 目),提取物旋蒸至干,加石油醚溶解,置冰箱中结晶。结晶物挥干溶剂,用 95%乙醇溶解,作为供试物,用前稀释。

1.3 试验方法

1.3.1 对菌丝生长的抑制作用

用生长速率法在 PDA 培养基上测定药剂对棉花枯萎病菌菌丝生长的相对抑制率。先将药剂配成一定浓度的药液,然后分别按试验设计的药液量由低到高的浓度加入到三角瓶中,与 100 mL 已融化的 PDA 培养基充分摇匀,将含药培养基等量倒入 3 个以上灭菌的培养皿(9 cm)中,制成相应浓度的含药平板。冷却后,将培养好的病原菌在无菌条件下用直径为 1.0 cm 的灭菌打孔器,自菌落边缘切取菌饼,用接菌器将菌饼接种于含药平板中央,菌丝面朝上,盖上皿盖,置于 25℃ 的恒温箱中培养,设不含药剂的处理作空白对照,每个处

理重复 3 次。根据空白对照培养皿中菌的生长情况调查病原菌菌丝生长情况。用卡尺测量菌落直径,单位为 mm,每个菌落用十字交叉法垂直测量直径各一次,取平均值^[11]。根据对照和处理菌落的净生长量(菌落直径减去接入的菌饼直径)计算生长抑制率。

公式如下 $D=D_1-D_2$ (1)

式中 D - 菌落增长直径 D_1 - 菌落直径 D_2 - 菌饼直径。

$I=[(D_0-D_1)/D_0] \times 100$ (2)

式中 I - 菌丝生长抑制率 D_0 - 空白对照菌落增长直径 D_1 - 药剂处理菌落增长直径。

1.3.2 对菌丝的作用方式

配成 5 个以上浓度的含药培养基平板,浓度梯度较大。接种菌饼后,置于 25℃ 的恒温条件下培养。3 d 后将菌丝完全没有生长的菌饼转移到不含药的 PDA 平板上,培养 3 d,若见菌丝生长但较对照生长缓慢,则说明药剂只起抑制菌丝生长的作用,否则有杀菌作用。

1.3.3 对菌丝形态的影响

将一定浓度的孢子悬浮液接种到 PDA 液体培养基中,25℃ 条件下,静止培养 24 h,形成均匀的菌丝悬浮液。于菌丝悬浮液中加入 1 mL 药剂,充分摇匀后静止培养,24 h 后显微镜下观察菌丝形态。

1.3.4 作用评价

所得数据采用最小二乘法分别求出各单剂与混剂的毒力回归方程、相关系数和 LC_{50} 值。根据孙云沛法求出共毒系数(CTC)。(CTC≥ 120 表示增效作用,CTC≤ 80 表示拮抗作用,80<CTC<120 表示相加作用)^[12]。

2 结果与分析

2.1 对菌丝生长的抑制作用

由表 1、表 2 可以看出,5%辣椒碱·茶皂素微乳剂对棉花枯萎病菌菌丝生长有显著的抑制作用,并且随着质量浓度的增加,抑制作用增强。当其质量浓度低于 5 mg/mL 时,抑菌圈直径与对照间无显著差异;当其质量浓度达 12.5 mg/mL 时,

表 1 5%辣椒碱·茶皂素微乳剂抑菌试验结果 %

质量浓度 (mg/L)	5%辣椒碱·茶皂素微乳剂抑菌率				5%辣椒碱抑菌率				茶皂素抑菌率			
	1	2	3	平均	1	2	3	平均	1	2	3	平均
5.0	27.59	23.21	43.70	31.50	62.93	59.82	62.18	61.65	5.17	0.89	5.88	3.98
6.25	40.52	35.71	37.82	38.02	62.07	66.07	65.55	64.56	6.90	10.71	12.61	10.07
12.5	63.79	59.82	60.50	61.37	67.24	69.64	64.71	67.20	10.34	7.14	12.61	10.03
25.0	75.00	68.75	57.98	67.24	72.41	69.64	66.39	69.48	10.34	7.14	10.92	9.47
50.0	75.00	82.14	84.87	80.67	72.41	69.64	74.79	72.28	12.07	3.57	12.61	9.42

表 2 辣椒碱、茶皂素及混剂对棉花枯萎病菌丝生长的抑制作用结果

药剂名称	回归方程(y=ax+b)	相关系数 r	LC ₅₀ (ug/mL)	共毒系数(CTC)
辣椒碱	y=5.337 5x+0.242 6	0.891 9	0.077 86	122.73
茶皂素	y=3.502 7x+0.226 2	0.893 46	-	-
5%辣椒碱 o 茶皂素微乳剂	y=4.554 7x+1.329 5	0.912 75	0.063 43	-

抑菌圈直径与对照间有显著差异。

2.2 对菌丝的作用方式

将高浓度试剂处理后完全不生长的菌饼转移到 PDA 培养基平板上培养后，菌体能够生长，表明 5%辣椒碱·茶皂素微乳剂对棉花枯萎病菌起抑制菌丝生长的作用，但并未将菌丝杀死。

2.3 对菌丝形态的影响

对培养后的菌丝悬浮液镜检，与空白对照相比，药剂处理后的菌丝出现以下变化：(1)菌丝短，分枝较少，粗细不均。(2)菌丝形成隔膜明显弯曲，多，长短不一，分布不规则。(3)菌丝内含物变稀、变少，分布不均匀。

3 结论与讨论

茶皂素作为一种优良的表面活性剂，与辣椒碱混用后对抑制棉花枯萎病菌丝的生长有增效作用。辣椒碱和茶皂素及二者的混剂对菌丝有明显的抑制作用，但只是抑制生长，而不是杀死，这与辣椒碱是内吸性杀菌剂的性质是一致的；试验是用棉花枯萎病作为测试对象，至于辣椒碱与茶皂素的混剂对抗性菌株的作用特性和活体作用效果

如何，尚待进一步研究。

参考文献：

[1] 王 娜,许 雷. 棉花黄萎病、枯萎病拮抗细菌的筛选及其生长特性的研究[J]. 植物保护,2007,33(6):39- 43 .

[2] 付卫国,张永丹. 棉花枯、黄萎病的发生与防治[J]. 河南农业,2006(3):30 .

[3] 司晓军,朱忠选,张 鸣,等. 棉花枯黄萎病的发生规律与防治方法[J]. 植物保护,2007(7):28 .

[4] 谢慧琴,张建华,王佩玲,等. 新疆常见植物杀蚜效果初筛试验[J]. 石河子大学学报(自然科学版),2002,6(4):292- 294 .

[5] 刘 新,林 永. 辣椒碱对桃蚜的生物活性及其与几种杀虫剂的联合作用[J]. 农药学学报,2003,5(2):94- 96 .

[6] 欧晓明,余淑英. 茶皂素在叶蝉和粘虫体内对杀虫单的增效作用[J]. 农药,1995,34(12):10- 11 .

[7] 胡绍海,胡卫军,胡卫东,等. 复方茶皂素对哒螨灵杀灭桔全爪螨的增效作用[J]. 植物保护学报,1997,24(1) :85- 89 .

[8] 廖书娟,童华荣,吉当玲. 茶籽饼茶皂素提取及应用研究[J]. 粮食与油脂,2005(1):13- 15 .

[9] 谭 搏,曹福祥,赵 莹. 油茶饼中茶皂素的定量分析[J]. 精细化工中间体,2009,39(2):67- 69 .

[10] 柳荣祥. 茶叶皂素研究现状[J]. 茶叶,1995,21(3):2- 5 .

[11] 中华人民共和国农业行业标准.NY/T1156.2- 1006 .

[12] 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,1988 :57- 64 .