

文章编号 :1001 - 4829 (2005)03 - 0311 - 04

10 种中药植物对 4 种植物病原真菌的生物活性研究

陈仕江¹, 丁 伟², 杨 帮², 吴孝波²

(1. 重庆市中药研究院, 重庆 400065 2. 西南农业大学植保学院, 重庆 400716)

摘 要 采用生长速率法测定了 10 种中药植物的乙醇提取物对小麦纹枯病菌、棉花枯萎病菌、玉米小斑病菌和柑橘绿霉病菌等 4 种植物病原真菌的生物活性。结果表明,丁香、姜黄、瑞香狼毒和土槿皮对 4 种病原菌都有明显的抑制作用,其中丁香乙醇提取物对 4 种病原菌的抑菌效果最好,EC₅₀分别为 0.0852、0.3061、0.0599 和 0.1308 g/L。美洲商陆、土槿皮和甘松对小麦纹枯病菌的抑菌效果均大于 60 %。瑞香狼毒对柑橘绿霉的抑菌效果仅次于丁香,紫槿皮和甘松对棉花枯萎病菌也有明显的抑菌效果。区分浓度测定姜黄对 4 种病原菌的抑菌效果表明,姜黄对小麦纹枯病菌的抑制效果最好,在 1 g/L 的浓度条件下,抑菌率可以达到 100 %。

关键词 植物源杀菌剂 抑菌作用 活性筛选

中图分类号 S482.2 **文献标识码** A

Screening studies on fungistasis of ten traditional medicines

CHEN Shi-jiang¹, DING Wei², YANG Bang², WU Xiao-bo²

(1. Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065, China 2. College of Plant Protection, Southwest Agricultural University, Chongqing 400716, China)

Abstract The bioactivities of ethanol extracts from ten traditional medicines against *Rhizotonia cerealis*, *Fusarium oxysporum*, *Helminthosporium maydis*, and *Penicillium italicum* were measured in laboratory with growth rate method. The results showed that *Eugenia caryophyllata*, *Curcuma longa*, *Stellera chamaejasma* and *Pseudolarix amabilis* had significant inhibition on the four fungistasis and the inhibition of ethanol extracts of *E. caryophyllata* was the best of that of the four fungistasis, of which EC₅₀ were 0.0852, 0.3061, 0.0599 and 0.1308 g/L, respectively. The inhibition of *P. amercana*, *P. amabilis* and *N. chinensis* were all greater than 60 %. The inhibition of *S. chamaejasma* on *P. italicum* was merely smaller than *E. caryophyllata* and *C. chinensis*, and *N. chinensis* had significant inhibition on *F. oxysporum*. The result of inhibition of *C. longa* on 4 fungistasis at different concentrations showed its inhibition against *R. cerealis* was the best and at the concentration of 1 g/L, its inhibition was 100 %.

Key words botanical fungicides; fungistasis; bioactivity-screening

从植物中寻找杀菌抑菌活性物质是目前研究开发无公害农药的重要途径之一。已经发现,不少值得注意的抗菌药剂是来自植物的天然次生代谢物质。张国珍等从药用植物中筛选出一些具有抗菌活性的中药植物^[1],宫毓静等(2002)研究了 164 种中药的乙醇提取物对白色念珠菌、啤酒酵母和威克海姆原藻 3 种真菌的作用^[2];冯俊涛等(2001)对 56 种植物的抑菌活性进行了系统筛选^[3];于平儒等(2001)测定了 62 种植物样品对菌丝的活性^[4];一些研究还进一步明确了印楝、苦皮

藤等杀虫植物等都有明显的杀菌活性^[5~6]。中药植物作为传统的药用植物,有多种药理作用,李永刚等(2003)筛选了 30 种中药的杀菌活性,明确了一些中药植物对农作物病原菌的抑制作用^[7]。孟昭礼等(1995)发现,在银杏叶中有高抑菌活性物质,并开发出了植物性杀菌剂‘银泰’乳油^[8]。我国有丰富的中药植物资源,筛选对农作物主要病原菌有抑制作用的中药植物,发现新的有一定作用特点的杀菌植物,对于进一步研究植物性杀菌剂,开发和利用宝贵的中药植物资源,有十分重要的意义。本研究选用 10 种具有一定杀虫作用的中药植物,采用 4 种主要的农作物病原菌进行系统的生物测定,以期评价这些植物的杀菌活性,为筛选杀菌植物和综合开发利用中草药提供依据。

收稿日期 2004 - 03 - 01
基金项目 国家‘十五’攻关项目(2001BA604A04) 重庆市科技攻关(2001-6599) 西南农业大学博士后基金资助项目
作者简介 陈仕江(1967 -),男,副研究员,主要从事中药资源的保护再生及开发研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试的病原菌 玉米小斑病菌 *Helminthosporium maydis* Nisik & Miy 棉花枯萎病菌 *Fusarium oxysporum* Schl.sp. *Vasinfectum* (Atk.) Snyder et Hansen 柑橘绿霉病菌 *Penicillium italicum* Wehmer, *P. digitatum* (FR.) ;小麦纹枯病菌 *Rhizotonia cerealis* Vander Hoeven apud.Boerema & Verhoeven。以上病原菌菌种均来自西南农业大学植保学院植物病理学实验室。

1.1.2 供试植物材料 马钱子 *Strychnos nux-vomica* L. ,茎、叶 ;土槿皮 *Pseudolarix amabilis* (Nelson) Regd. ,干燥的茎皮 紫荆皮 *Cercis chinensis* Bunge,干燥的茎皮 ;蓖麻 *Ricinus communis* L. 果及种子 ;美洲商陆 *Phytolacca amercana* Roxb),根及根皮 ;巴豆 *Croton tiglium* L. 种子 ;姜黄 *Curcuma longa* L. 根及根皮 ;甘松 *Nardostachys chinensis* Batal,根皮 ;丁香 *Eugenia caryophyllata* Thunb 种子 ;瑞香狼毒 *Stellera chamaejasma* 根。以上植物材料经过晒干后,在小型粉碎机上粉碎,以过 20 目筛孔的粗粉供试。

1.2 实验方法

1.2.1 植物活性成分的提取方法 取 10 g 材料粗粉放入索氏提取器的提取管中,在提取器的圆底烧瓶内加入 100 mL 溶剂,在沸水条件下加热,利用溶剂受热挥发在提取管中冷凝而浸泡材料粗粉,且形成环流。经 2 h 的提取,可得较浓的粗提物溶液,供试。再用旋转蒸发仪蒸馏浓缩,最后得到较浓油状或浆状的原粉粗提取物,烘干后测定提取率。

1.2.2 提取物抑菌作用的测定 参照陈年春(1991)的生长速率法进行测定^[9]。用 PDA 培养基培养供试菌种,试验前 3 d,再重新接种 1 次,在 26 ℃条件下培养 5 d,实验时用移菌环打制直径 0.4 cm 的菌饼,备用。另制 PDA 培养基,吸取 1 mL 药液与 99 mL 培养基趁热用力摇匀,然后倒入 9 cm 培养皿中,每皿约 10 mL 混药的培养基,制成厚薄均匀的平板。用接种针小心地将供试菌饼移置到含药培养基上,菌丝一面向下,每皿 3 块,然后加盖并标记,置 26 ℃温箱中培养。待对照菌落大约在直径 3 cm 左右,取出培养基,用十字交叉法测量菌落直径,测量 2 次。根据菌落直径求抑制生长的百分率,公式如下 :

$$\text{菌落直径(cm)} = \text{两次直径平均数} - 0.4,$$
$$\text{抑制生长百分率}(\%) = \frac{\text{万方数据}}$$

$$\frac{\text{对照生长直径} - \text{处理生长直径}}{\text{对照生长直径}} \times 100\%。$$

2 结果与分析

2.1 不同植物材料的提取结果

分别采用乙醚和乙醇进行加热回流提取,减压除去溶剂烘干后,各中药植物的乙醇提取率如表 1 所示。

提取率的高低反应了这些植物材料中溶于乙醇物质的多少。从表 1 可以看出,10 种中药植物的乙醇提取物的提取率有很大差异。紫槿皮的提取率最高为 3.63 % ,此外丁香、土槿皮和瑞香狼毒的提取率也比较高,马钱子的提取率最低,仅为 0.086 %。

2.2 中药植物的乙醇提取物对几种主要病原菌的抑制效果

在供试条件下,各处理的抑菌效果如表 2 所示,从表 2 可以看出,测定的几种中药植物的乙醇提取物对病原菌的抑菌效果有很大的差异,而且同一种植物的提取物对不同病原菌的效果也不同。总的来说,丁香、姜黄、瑞香狼毒和土槿皮对四种病原菌都有抑制作用,丁香对玉米小斑病菌和柑橘绿霉病菌的抑菌效果最为明显,可以达到 86.9 % 和 90.7 %。美洲商陆、土槿皮和甘松对小麦纹枯病菌的抑菌效果明显 ;姜黄对玉米小斑病菌和小麦纹枯病的抑菌效果比较好。根据有效成分含量的差异,丁香、姜黄、美洲商陆和瑞香狼毒提取物的含量比较高,从而表现出的杀菌活性也比较明显。但是,巴豆提取物的含量也比较多,而表现出的杀菌活性并不高。因此,杀菌活性与提取物量的高低关系不大,主要与提取物所含的抗菌物质有关。

表 1 不同药用植物的乙醇提取率

Table 1 The ethanol extracted rate of different traditional medicines

植物材料 Plant material	提取率(%) The extracted rate
丁香 <i>Eugenia caryophyllata</i>	3.320
土槿皮 <i>Pseudolarix amabilis</i>	2.023
紫槿皮 <i>Cercis chinensis</i>	3.630
姜黄 <i>Curcuma longa</i>	1.939
巴豆 <i>Croton tiglium</i>	1.818
马钱子 <i>Strychnos nux-vomica</i>	0.086
瑞香狼毒 <i>Stellera chamaejasma</i>	2.023
美洲商陆 <i>Phytolacca amercana</i>	1.733
甘松 <i>Nardostachys chinensis</i>	0.371
蓖麻 <i>Ricinus communis</i>	0.793

表 2 中药植物的乙醇提取物对几种主要病原菌的抑制效果(%)

Table 2 The inhibition effect of mostly several pathogeny by the ethanol extracts of traditional medicines(%)

植物材料 Plant material	抑菌率(%)The inhibition rate			
	玉米小斑病菌 <i>H. maydis</i>	柑橘绿霉病菌 <i>P. italicum</i>	小麦纹枯病菌 <i>R. cerealis</i>	棉花枯萎病菌 <i>F. oxysporum</i>
丁香 <i>Syringa vulgaris</i>	86.9	90.7	71.8	62.3
土槿皮 <i>Pseudolarix amabilis</i>	19.9	3.3	66.7	42.9
紫槿皮 <i>Cercis chinensis</i>	8.6	- 24.5	6.3	28.3
姜黄 <i>Curcuma longa</i>	54.3	22.6	57.6	17.4
巴豆 <i>Croton tiglium</i>	6.7	- 11.4	8.3	18.0
马钱子 <i>Strychnos nux-vomica</i>	12.4	11.6	- 15.8	16.8
瑞香狼毒 <i>Stellera chamaejasma</i>	45.1	49.8	12.8	30.7
美洲商陆 <i>Phytolacca americana</i>	21.8	44.6	76.6	- 14.9
甘松 <i>Nardostachys chinensis</i>	35.3	- 1.23	64.7	41.3
蓖麻 <i>Ricinus communis</i>	8.54	- 11.6	14.7	5.69

注:各植物的抑菌是在同样的乙醇提取物的浓度下测定,每种植物材料的乙醇提取物在培养基中的浓度为10×提取率g/L。

Note:In the same concentration conditions, the inhibition effect of the different traditional medicines measured, the several extracts of ethanol in the culture medium were 10× the extracted rate g/L.

表 3 丁香对不同病原菌的抑制效果

Table 3 The inhibition effects of *Eugenia caryophyllata*

病原菌 Pathogeny	抑制毒力回归线(Y=) The restrained virulence tropic	<i>r</i>	EC ₅₀ ± <i>s_x</i> (g/L)	EC ₉₉ ± <i>s_x</i> (g/L)
柑橘绿霉病菌 <i>P. italicum</i>	5.1152+1.6574 <i>x</i>	0.9739	0.0852±0.0673	2.1586±0.5725
棉花枯萎病菌 <i>F. oxysporum</i>	0.6524+8.9488 <i>x</i>	0.9199	0.3061±0.0472	5.4596±2.4215
玉米小斑病菌 <i>H. maydis</i>	5.3531+1.5911 <i>x</i>	0.9771	0.0599±0.0507	0.5569±0.0308
小麦纹枯病菌 <i>R. cerealis</i>	4.8326+1.4355 <i>x</i>	0.9987	0.1308±0.1244	1.7384±0.4629

2.3 丁香乙醇提取物对不同病原菌的抑制效果

在实验室条件下,进一步测定了丁香对不同病原菌抑菌效果,将抑菌的百分率转换成几率制,浓度转换成对数,进行几率值分析可以求出丁香的乙醇提取物对4种不同病原菌的抑制中浓度(EC₅₀),结果如表3所示。

从表3可以看出,丁香的乙醇提取物对玉米小斑病菌和柑橘绿霉的抑制效果较好,EC₅₀分别

仅为59.9和85.2 μg/L,对棉花枯萎病菌的抑制效果较差,EC₅₀为306.1 μg/L。但从EC₉₉的值来比较,丁香的乙醇提取物对柑橘绿霉病菌和棉花枯萎病菌的差异较小,说明在达到较高抑制率的情况下,丁香的乙醇提取物的差异没有在抑制50%的时候明显。这一结果表明,在进行抑菌作用的实验时仅用高浓度的结果是不可靠的。

表 4 在不同浓度条件下姜黄对4种病原菌的抑制率(%)

Table 4 In the different concentration conditions, the restraining rate to four pathogeny with extract of *Curcuma longa*

病原菌 Pathogeny	药剂浓度(g/L)Medicament concentration					
	4.0	2.0	1.5	1.0	0.50	0(CK)*
柑橘绿霉病菌 <i>P. italicum</i>	46.4	38.7	38.7	36.9	23.8	1.68
棉花枯萎病菌 <i>F. oxysporum</i>	47.4	42.1	42.1	17.1	0	1.52
玉米小斑病菌 <i>H. maydis</i>	81.6	73.3	73.3	68.4	62.0	4.34
小麦纹枯病菌 <i>R. cerealis</i>	100	100	100	100	65.6	2.27

注:*对照数据为菌落直径。

Note:*The antitheses datum were the diameters of lawn.

2.4 姜黄对不同病原菌的抑菌作用

为了明确姜黄的抑菌作用与浓度变化的关系,选择一定浓度的姜黄进行抑菌试验,结果如表4所示。从表4可以看出,姜黄的乙醇提取物在测试的浓度范围内,对柑橘绿霉病菌和玉米小斑病菌的抑菌效果随着浓度的增加,变化不大,但对棉花枯萎病菌的抑菌效果随着浓度的增加变化比较明显。在测试的几个浓度范围内,对小麦纹枯病菌的抑制效果最好,在 1g/L 的浓度条件下,抑菌率可以达到 100% 。

3 结论与讨论

从中药植物中筛选植物源杀菌剂有广阔的研究前景。在筛选的10种中药植物中,对玉米小斑病的抑菌效果大于 50% 的植物有丁香和姜黄,对棉花枯萎病的抑菌效果大于 50% 的植物只有丁香;土槿皮、美洲商陆和甘松的抑菌效果都大于 40% ,对小麦纹枯病菌的抑菌效果大于 50% 的植物有丁香、姜黄、土槿皮、美洲商陆和甘松,对柑橘绿霉病菌的抑菌效果大于 50% 的植物是丁香和瑞香狼毒。因此可以明确丁香对几种主要的农业植物真菌病害都有很好的抑菌效果,进一步的活性测定也明确了这一点。关于丁香的抑菌作用,在医药和食品保鲜上曾有一些研究报道,但对农业植物病害特别是柑橘绿霉病菌的控制作用等,目前还没有相关的研究报道,因此应对丁香对植物病原真菌的抑菌作用作进一步的研究,以开发出有应用价值的植物性杀菌剂。

植物材料对病原物的抑制作用非常复杂,一方面对一种病原菌有抑制作用的植物样品不一定对其它病原菌也有抑制作用,另一方面对病原菌菌丝有抑制作用的植物样品不一定对孢子萌发也有抑制作用。因此判断活性的生物测定方法的选择非常重要。本项研究主要测定了这些植物材料对供试病原菌菌丝生长的影响,而对于病原菌的孢子或者对这些病原菌在寄主植物上的生长是否有抑制作用等没有研究,而这些方面的系统研究对于评价一种杀菌活性物质十分重要。

受研究时间和研究范围的限制,本项研究结果可能存在两个方面的问题,一是可能存在生物活性的漏选现象,因为本实验只研究了供试植物

的乙醇提取物的生物活性(供试植物其它溶剂的提取物未做生物活性测定),且实验也只研究了供试植物对4种病原菌的抑制效果,对其它病原菌,包括细菌、病毒等是否有抑菌作用等都没有研究;另外,同一种植物的不同部位(如根、茎、叶、果等),以及同一部位的不同采摘时期(如开花期、生长期、成熟期或者春夏秋冬不同时期等)对同一种病原菌的抑制作用也有差别,而本实验供试的样品都是粗提样品,而且也只是植物样品的一部分,这对直接判断一种植物是否具有杀菌活性只能作为一种参考。

植物体内的次生代谢物质对病原真菌的作用,可能有抑制生长作用、杀死作用或促进生长作用^[3,10],本项研究表明,当丁香的浓度大于 5.0g/L 时对小麦纹枯病菌是杀死作用,小麦纹枯病菌根本不会再行生长,而紫槿皮、巴豆和蓖麻对柑橘绿霉病菌,马钱子对小麦纹枯病菌则表现出明显的刺激生长作用,对于刺激病原菌生长的次生代谢物质也有其明显的生物学意义,因为这些刺激生长的物质可能对一些有益的微生物产生刺激生长作用,因而也值得进一步研究。

参考文献:

- [1] 张国珍,樊 瑛,丁万隆,等. 麻黄和细辛挥发油的抗真菌作用[J]. 植物保护学报,1995,22(4): 373-374.
- [2] 宫毓静,安汝国,虞 惠,等. 164种中药乙醇提取物抗真菌作用研究[J]. 中草药,2002,33(1): 42-47.
- [3] 冯俊涛,石勇强,张 兴. 56种植物抑菌活性筛选试验[J]. 西北农林科技大学学报,2001,29(2): 65-68.
- [4] 于平儒,邵红军,冯俊涛,等. 62种植物样品对菌丝活性的测定[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2001,29(6): 65-69.
- [5] 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. 401-498.
- [6] 吴文君,刘惠霞,朱靖博,等. 天然产物杀虫剂——原理、方法、实践[M]. 西安:陕西科学技术出版社,1997.
- [7] 李永刚,文景芝. 30种中药抑菌活性的筛选试验初报[J]. 植物保护学报,2003,30(1): 109-110.
- [8] 孟昭礼,吴献忠,高庆霄. 银杏提取液对四种植物病原菌的抑菌作用[J]. 植物病理学报,1995,25(4): 357-360.
- [9] 陈年春. 农药生物测定[M]. 北京:北京农业大学出版社,1991. 76-78.
- [10] Cao K Q, Ariena H C van Bruggen. Inhibitory efficacy of several plant extracts and plant products on *Phytophthora infestans* [J]. 河北农业大学学报, 2001, 24(2): 90-96.

(责任编辑 李正华)