

应用技术

黄花蒿(*Artemisia annua* L.)提取物对两种病原真菌的生物活性

吴静, 丁伟, 张永强, 郭文明

(西南大学植物保护学院, 重庆 400716)

摘要:以石油醚 I (30℃~60℃)、石油醚 II (60℃~90℃)、乙醇和丙酮等4种溶剂对黄花蒿的根、茎、叶进行初步提取, 采用生长速率法测定不同提取物对玉米小斑病菌、棉花枯萎病菌的抑菌活性。结果表明, 黄花蒿提取物对玉米小斑病菌的生物活性好于棉花枯萎病菌; 黄花蒿叶的提取物抑菌效果最好, 根的抑菌效果最差; 叶的石油醚(60℃~90℃)提取物对玉米小斑病菌 EC_{50} 为156.32 mg/L; 而叶的丙酮提取物对玉米小斑病菌的 EC_{50} 为82.37 mg/L。

关键词:黄花蒿; 玉米小斑病菌; 棉花枯萎病菌; 抑菌活性

中图分类号:S482.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1006-0413(2007)10-0713-03

Antifungal Activities of Primary Extracts of *Artemisia annua* L. against Two Fungi

WU Jing, DING Wei, ZHANG Yong-qiang, GUO Wen-ming

(College of Plant Protection Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract: Primary extract the elements from the root, stem and leaf of *Artemisia annua* L. with petroleum ether (30-60 °C), petroleum ether (60-90 °C), ethanol, and acetone were carried out in laboratory. The fungistasis of Chinese traditional medicinal plants, *Artemisia annua* L. were tested with the isolate hyphae of 2 fungi, *Bipolaris maydis* Shoem, *Fusarium oxysporum* f.sp Snyder and Hansen. The fungistasis of the extracts of leaves of *Artemisia annua* L. on *B. maydis* was better than on *F. oxysporum*. The EC_{50} of the toxicity regression linear analysis of the petroleum ether (60-90 °C) extract of leaves of *Artemisia annua* L. and the Acetone extract of leaves of *Artemisia annua* L. against *B. maydis* were 156.32 mg/L, 82.37 mg/L, respectively. In generally, the fungistasis of the extracts of leaves of *Artemisia annua* L. is strongest, the weakest is the one of roots.

Key words: *Artemisia annua* L.; *Bipolaris maydis*; *Fusarium oxysporum*; fungistasis

黄花蒿(*Artemisia annua* L.)俗称青蒿, 为一年生短日照草本植物, 菊科艾属。其重要经济价值是从其叶中提取出来青蒿素具有较强的抗疟疾活性, 且毒性小, 为国际抗疟疾中药^[1-2]。研究报道证明黄花蒿有多种生物活性, 如黄花蒿粗提物对朱砂叶螨(*Tetranychus cinnabarinus*)具有触杀作用^[3]。黄花蒿挥发油对蚊虫具有较好的毒杀作用^[4], Bagchi等^[5]和Chen等^[6]研究发现黄花蒿提取物及其衍生物对单子叶及双子叶杂草具有一定的抑制生长作用。黄花蒿除具有杀虫和抑制杂草生长活性外, 还具有抗菌活性, 如能有效控制烟草花叶病毒TMV^[7]、西瓜花叶病毒2号WMV-2^[8]、小麦赤霉病(*Gibberella saubinetii*)^[9], 对小麦全蚀病菌(*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*)、禾谷丝核菌(*Rhizoctonia cerealis*)等真菌也具有抗菌作用^[10-11], 黄花蒿提取物对番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)、烟草黑胫病菌(*Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*)等病菌也能有效抑制其菌丝生长^[12]。

目前, 黄花蒿的主要用途是用于提取青蒿素, 而其具有广泛生物活性的其他次生代谢物基本没有利用, 大量的物质被丢弃浪费。因此, 需要找到系统开发应用黄花蒿的新路子。虽然对黄花蒿的杀菌活性有一些研究报道, 但均没有进行深入研究, 更没有针对黄花蒿的不同溶剂提取物、不同部位的杀菌活性进行研究, 对于主要农作物病原菌的生物活性的研究也很肤浅, 不足以明确黄花蒿对于控制植物病原真菌的系统效果。本项研究选用黄花蒿不同部位进行系统研究, 以明确黄花蒿除了提取青蒿素之外, 可能具有的其他杀菌活性, 以便开辟出黄花蒿综合利用的新思路, 为新农药生产提供了天然产物模板。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 植物样品及处理

黄花蒿(*Artemisia annua* L.), 5月末采自于西南大学后

收稿日期: 2007-04-17, 修返日期: 2007-08-13

基金项目: 重庆市自然科学基金资助项目(20045844)

作者简介: 吴静(1983-), 女, 安徽滁州人, 硕士研究生, 从事天然产物农药研究与开发。E-mail: jingw998@163.com。

通讯作者: 丁伟。Tel: 023-68250218, E-mail: dwing818@yahoo.com.cn。

山、野生型,将其分为根茎叶3个部分,并分别洗净,晾干,粉碎(过200目筛),备用。

1.1.2 植物提取物样品的制备

选用石油醚Ⅰ(30℃~60℃)、石油醚Ⅱ(60℃~90℃)、乙醇、丙酮组成一个溶剂系列,采用浸渍法对样品进行提取。提取操作采用两种不同方法,一是溶剂的平行提取,称取根、茎、叶各5份,每份200g。分别用上述试剂各1000mL浸泡48h,间歇摇动。提取液通过中速滤纸,然后用RE-2000型旋转蒸发器将滤液蒸干,转入小瓶中待用。二是顺序提取,先经石油醚Ⅰ(30℃~60℃沸程)提取,其渣继以石油醚Ⅱ(60℃~90℃沸程)提取,然后再分别用乙醇和丙酮顺序提取。所得的滤液再分别用旋转蒸发器蒸干,收集备用。

1.1.3 供试菌种

玉米小斑病菌(*Bipolaris maydis* Shoem)、棉花枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f.sp. *Snyder and Hansen*),均由西南大学植保学院植物病理实验室提供。

1.2 生测方法

对黄花蒿不同溶剂平行及顺序提取物进行生测试验,

对供试真菌菌丝生长抑制作用的测定,参照慕立义等^[11]的生长速率法。按以下公式计算抑制率:

$$\text{抑制生长率(\%)} = \frac{\text{对照生长直径} - \text{处理生长直径}}{\text{对照生长直径}} \times 100$$

获得其对两种植物病原真菌的抑制效果,采用系统的室内毒力测定方法,运用SPSS软件绘制标准曲线,求得毒力回归方程、相关系数、 EC_{50} ,根据显著正相关回归方程的 EC_{50} 值来比较不同溶剂提取物对两种病原真菌的毒力。

2 结果与分析

2.1 黄花蒿提取物对玉米小斑病菌的抑制效果

黄花蒿叶的所有溶剂平行及顺序提取物对玉米小斑病菌均有较好的抑制效果(见表1、3)。叶的丙酮平行提取物对玉米小斑病菌的抑制率高达87.04%,叶的石油醚Ⅱ平行提取物的抑制率也达82.40%,其 EC_{50} 分别为82.37、156.32mg/L;石油醚Ⅰ及乙醇的平行提取物对玉米小斑病菌的抑制率为78.86%、75.51%,相应的 EC_{50} 为205.63、211.45mg/L,与石油醚Ⅱ和丙酮提取物的抑制效果呈极显著性差异。

表1 黄花蒿不同溶剂提取物对玉米小斑病菌的抑制作用(3g/L,72h)

提取方法	部位	抑制率/%			
		石油醚	石油醚Ⅱ	乙醇	丙酮
平行	叶	78.86 ± 1.06BCDbcd	82.40 ± 1.23ABab	75.51 ± 0.97BCDcde	87.04 ± 0.76Aa
	茎	74.15 ± 1.29CDEde	77.00 ± 2.47BCDbcd	43.05 ± 1.78Hi	80.89 ± 0.96ABCbc
	根	60.20 ± 1.21Fg	67.74 ± 4.46Ef	37.56 ± 1.29Hj	75.11 ± 0.71BCDcde
顺序	叶	—	72.07 ± 2.47DEef	76.27 ± 2.57BCDcde	74.32 ± 1.48CDEde
	茎	—	50.74 ± 4.46Gh	17.84 ± 2.32Ik	—
	根	—	57.35 ± 1.64FGg	15.80 ± 2.24Ik	51.11 ± 4.12Gh

注:表中所列数据为平均值,同一列数字后面所列字母,不同大写字母表示存在邓肯氏新复极差法检验极显著差异($p < 0.01$),不同小写字母表示存在显著差异($p < 0.05$)。下同。

丙酮平行提取物对玉米小斑病菌的活性很明显,可能是由于黄花蒿内含有一些具有较好的抑菌活性的物质,而这些活性物质的极性与溶剂丙酮的极性大致相同。

叶的丙酮顺序提取物对玉米小斑病菌的抑制率达74.32%,叶的石油醚Ⅱ顺序提取物的抑制率也达72.07%,两者之间无差异,但相对于各自的平行提取物的抑制效果呈极显著性差异, EC_{50} 相对较低。

茎的丙酮平行提取物及两种石油醚的平行提取物对玉米小斑病菌也有一定的作用,而丙酮溶剂的叶、茎的平行提取物之间无明显差异;茎的乙醇提取物对玉米小斑病菌的抑制效果不如其他几种溶剂。通过 EC_{50} 的比较发现,茎的平行提取物的效果较叶的差。根的提取物效果总体一直不佳,没有进行 EC_{50} 的测定。这可能是由于黄花蒿中能抑制玉米小斑病菌的物质都集中在叶中,茎

和根中只存在少量的一部分。所以,如果进行更进一步的活性追踪,应该以黄花蒿的叶为试验材料。

2.2 黄花蒿提取物对棉花枯萎病菌的抑制效果

如表2、3所示,两种石油醚提取物对棉花枯萎病菌的抑制效果均不佳,抑制率较低;叶的乙醇平行及顺序提取物的抑制率分别为74.36%及70.30%,是这一系列溶剂提取物中抑制效果最好的一组;室内毒力测定 EC_{50} 分别为643.51mg/L和689.73mg/L,没有很大区别。叶的丙酮平行提取物的抑制率达到71.56%,丙酮平行顺序提取物的抑制率较次,这一系列提取物对棉花枯萎病菌的抑制效果与丙酮提取物的效果形成极显著性差异;相应的 EC_{50} 达到666.35mg/L和975.21mg/L,效果总体不好。茎的石油醚Ⅰ提取物对棉花枯萎病菌的抑制效果最好,但抑制率依

然很低,仅为36.61%,茎的其它溶剂提取物的抑菌效果更低。根的抑制效果极差。

表2 黄花蒿叶、茎、根不同溶剂提取物对棉花枯萎病菌的生物活性(3 g/L,72 h)

提取方法	部位	抑制率/%			
		石油醚	石油醚	乙醇	丙酮
平行	叶	41.15±2.78GHgh	55.88±0.99De	74.36±2.11Aa	71.56±1.35Bc
	茎	36.61±1.33HIhi	15.05±1.49Km	35.53±1.30HIij	34.46±1.18Iij
	根	22.83±1.27Jl	11.29±1.74Km	39.71±3.81GHIh	43.07±1.8FGgh
顺序	叶	-	52.18±1.04DEe	70.30±7.47Bb	61.82±0.78Cd
	茎	-	45.41±1.23FGfg	27.99±1.19Jk	-
	根	-	12.90±7.39Km	47.74±1.09Ef	47.62±1.50EFf

表3 黄花蒿不同溶剂提取物对玉米小班病菌及棉花枯萎病菌的室内毒力比较(72 h)

病原菌	部位	提取方法	溶剂提取	毒力回归直线(y=)	相关系数	EC ₅₀ /(mg·L ⁻¹)
玉米小班病菌	叶	平行	石油醚Ⅰ	4.2972+0.5352x	0.9342	205.63
			石油醚Ⅱ	4.2038+0.6668x	0.9924	156.32
			丙酮	3.4469+0.8107x	0.9912	82.37
			乙醇	3.7630+0.9334x	0.8955	211.45
	茎	顺序	石油醚Ⅱ	2.7681+0.8129x	0.9707	556.71
			丙酮	2.2188+0.9572x	0.9629	804.12
			石油醚Ⅱ	2.6688+0.9069x	0.9948	371.89
			丙酮	2.7163+0.8842x	0.9682	382.59
棉花枯萎病菌	叶	平行	乙醇	0.5405+1.9727x	0.9913	643.51
			丙酮	5.1993+1.1303x	0.9677	666.35
		顺序	乙醇	0.7917+1.1180x	0.9884	689.73
			丙酮	1.4283+1.1950x	0.9869	975.21

3 小结与讨论

研究可以得出,黄花蒿叶的各个溶剂的平行及顺序提取物对玉米小班病菌具有较好的抑制作用;黄花蒿各个提取物对棉花枯萎病菌基本上没有明显的抑制效果。不同溶剂平行提取物的抑菌效果要优于顺序提取物;当提取方法相同时,叶的提取物的抑菌效果要优于茎的提取物,根的效果最差。

黄花蒿中化学成分多样,主要有挥发油、倍半萜、黄酮、香豆素等^[4]。青蒿素属倍半萜类化合物,易溶于氯仿、丙酮、乙酸乙酯和苯,可溶于乙酸、乙醚,微溶于冷石油醚,几乎不溶于水^[13]。试验发现,在所有溶剂提取物中,丙酮提取物对各种病菌的效果都是最好,可能是由于青蒿素之类的倍半萜类化合物的抑菌作用。但是由于青蒿素不溶于石油醚,而两种沸程的石油醚提取物对玉米小班病菌都有很好的抑制作用,说明黄花蒿中对病原菌起作用的物质不一定就全是青蒿素之类的物质,可能还有其他类的物质。但是,也有可能是黄花蒿中所含有的内生菌的次生代谢产物对供试菌的抑制作用,研究者认为,黄花蒿很少被植物病原菌侵害,部分原因与内生菌的存在有关^[16]。

本研究主要是对黄花蒿的粗提物及其不同极性溶剂萃取部分进行活性筛选,初步明确了其提取物具有一定的抑

菌活性。今后,有必要采用活性追踪的方法,从提取物中分离和纯化出具有抗菌活性的化合物,研究其活性和构效关系,为新药的研制提供先导结构化合物。在我国,黄花蒿资源丰富,以其为原料进行植物源抗菌剂的开发将具有广阔的前景。

参考文献:

[1] 屠呦呦. 中药青蒿化学成分的研究[J]. 药学报, 1981, 16(5): 366.

[2] KLAYMAN D L. Qinghaosu (Artemisinin): An Antimalarial Drug from China[J]. Science, 1985, 228: 1049.

[3] 周宇杰, 丁伟, 王春升. 青蒿粗提物对朱砂叶螨生物活性的初步研究[J]. 西南农业大学学报, 2006, 28(2): 306-308.

[4] 周天, 郭继勋, 韩德复, 等. 黄花蒿挥发油对蚊虫的毒杀活性及其化学成分[J]. 应用生态学报, 2006, 17(5): 907-910.

[5] BAGCHI G D, JAIN D C, KUMAR S. Arteether: A Potent Plant Growth Inhibitor from *Artemisia annua*[J]. Phytochemistry, 1997, 46(5): 1131-1133.

[6] CHEN P K, LEATHER G R. Plant Growth Regulatory Activities of Artemisinin and Its Related Compounds[J]. Journal of Chemical Ecology, 1990, 16(6): 1867-1876.

[7] ABID M M, KHAN A, JAIN D C, et al. Occurrence of Some Antiviral Sterols in *Artemisia annua*[J]. Plant Science, 1991, 75(2): 161-165.

[8] 陈志敏, 商文静, 吴云峰, 等. 几种中草药丙酮提取物对西瓜花叶病毒2号的抗性研究[J]. 西北农业学报, 2003, 12(4): 35-37.

[9] 冯俊涛, 祝木金, 于平儒, 等. 西北地区植物源杀菌剂初步筛选[J]. 西北农业大学学报, 2002, 30(6): 129-133, 137.

(下转第718页)

3 小结

试验采用浸叶法在室内条件下测定了定虫隆与高效氯氰菊酯混配的增效作用,确定了最佳配比。结果表明,定虫隆与高效氯氰菊酯混配对小菜蛾有一定增效作用,当高效氯氰菊酯:定虫隆为20.64:24.50(混剂中高效氯氰菊酯的有效成分占45%,定虫隆占55%)时,具有最大共毒系数为162,此配比为二者的最佳配比。

室内毒力测定结果表明,在定虫隆中加入适量高效氯氰菊酯可以增强定虫隆对小菜蛾的防治效果。由于小菜蛾对拟除虫菊酯类农药以及酰基脲类农药均产生不同程度的抗药性,而两种农药的混合使用可避免农药在农业生产中单一使用,延缓小菜蛾对两种农药的抗药性,增强杀虫效果,同时可降低农药使用成本。

参考文献:

(上接第715页)

- [10] LIU Chang-hong, ZOU Wong-xin, LU Hong, et al. Antifungal Activity of *Artemisia annua* Endophyte Cultures against Phytopathogenic Fungi[J]. *Journal of Biotechnology*, 2001, 88: 277-282.
- [11] LU Hong, ZOU Wong-xin, MEN Jun-cai, et al. New Bioactive Metabolites Produced by *Colletotrichum* sp., an Endophytic Fungus in *Artemisia annua*[J]. *Plant Science*, 2000, 151(1): 67-73.
- [12] 宋素琴, 周立刚, 李端, 等. 五种新疆植物的抗真菌活性[J]. 天

- [1] 孔国顺, 刘天龙, 朱元良, 等. 8种生物农药防治菜青虫和小菜蛾效果试验[J]. *长江蔬菜*, 2005, 3: 39-40.
- [2] 韩先国, 姜辉, 林荣华, 等. 丙溴磷·高效氯氰菊酯混配制剂对小菜蛾幼虫室内毒力测定[J]. *农药科学与管理*, 2006, 27(3): 19-21.
- [3] IRAC. Proposed Insecticide/acaricide susceptibility Tests[J]. *EPPO Bulletin*, 1990, 20: 388-404.
- [4] 张瑞亭. 农药的混用与混剂[M]. 北京: 化学工业出版社, 1987.
- [5] 张宗炳. 杀虫药剂的毒力测定[M]. 北京: 科学出版社, 1988.
- [6] ABBOTT W S. A Method of Computing the Effectiveness of An Insecticide[J]. *J Econ Entomol*, 1925, 18: 265-267.
- [7] 吴文君. 毒力测定统计分析的基本原理—植物化学保护实验导论[M]. 西安: 陕西科技出版社, 1987.
- [8] 吴仁锋, 刘术朝. 阿维菌素与高效氯氰菊酯对小菜蛾毒力最佳配比的筛选[J]. *湖北农业科学*, 2004, (1): 54-56.
- [9] 吴仁锋, 司升云. 阿维菌素与高效氯氰菊酯对美洲斑潜蝇毒力最佳配比的筛选[J]. *现代农药*, 2006, (3): 49-51.

责任编辑: 赵平

然产物的研究与开发, 2004, 2(14): 157-159.

- [13] 慕立义. 植物化学保护研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994: 54-60.
- [14] 刘鸿鸣, 李国林, 吴慧章. 中药药蒿化学成分的研究[J]. *药学报*, 1981, 46(1): 1152-1153.
- [15] 李祥君. 使用精细化工产品手册(有机卷)[M]. 北京: 化学工业出版社, 1996: 495-496.
- [16] JUTEAU F, MASOTTI V, BESSIERE J M, et al. Antibacterial and Antioxidant Activities of *Artemisia annua* Essential Oil[J]. *Fitoterapia*, 2002, 73(66): 532-535.

责任编辑: 赵平

《新编农药商品手册》征订

《农药商品手册》自1985年出版以来,深受广大读者欢迎。经过多年资料收集整理,新版《新编农药商品手册》终于问世了。

《新编农药商品手册》共收集农药品种525个,其中杀虫剂(包括杀虫剂、杀虫剂增效剂、杀螨剂、杀软体动物剂、杀线虫剂)196个,杀鼠剂8个,熏蒸剂7个,杀菌剂169个,除草剂107个,植物生长调节剂38个;近几年国内创制的农药新品种基本收录在内;由于农药名称繁多,给使用者带来极大的不便,给农药市场带来很大混乱。在此次手册编辑过程中,我们将各种农药名称尽可能收集齐全,以方便读者;各种农药品种的生产厂家收集较全,同时,在每个品种(包括原药、各种规格单剂、各种规格混剂)的后面均给出生产厂家、混剂列入各农药品种中,使读者查找更方便。新版《农药商品手册》设有品种的中、英文通用名称、其它名称和商品名称、化学结构式、理化性质、毒性、应用、生产厂家等栏目。书后附有中、英文农药名称索引,该索引中文按汉语拼音顺序排列,英文按字母顺序排列。附录中列出了全国农药生产厂家、全国县以上植保站、各省市区农资公司、全国科研院所等农药相关单位的通讯地址、邮政编码、电话。

《新编农药商品手册》全书共1078页,16开本,每本定价248元(含邮费)。欲购者请寄:沈阳市铁西区沈辽东路8号 沈阳化工研究院农药信息中心白洪华收,邮编:110000。