

牡丹皮等 16 种中草药提取物抑制 植物病原菌的研究*

朱立成**, 王祥胜, 刘文, 张明浪, 刘信忠

(井冈山学院生命科学学院, 吉安 343009)

摘要 以牡丹皮等 16 种中草药的丙酮提取物为材料,测定了其 5 种植物病原菌的生长抑制活性。结果表明:在供试质量浓度为 0.05 g/mL 时,牡丹皮提取物对所有供试病原菌菌丝生长抑制效果最好,除对杨树溃疡病菌菌丝生长抑制率为 85.3% 外,对其他植物病原菌的抑制率均为 100%。高良姜提取物抑菌活性次之,对 4 种供试植物病原菌菌丝生长抑制率均在 80% 以上,对番茄灰霉病菌的抑制率最低,也达到 68%。黄芩提取物对供试的 3 种植物病原菌的抑制率超过 60%。连翘、知母、蔓荆、乳香和地榆等 5 种中药提取物分别对供试的 5 种植物病原菌中的 2 种有较好的抑菌活性。在供试质量浓度为 0.1 g/mL 时,牡丹皮、高良姜等 2 种中药提取物对杨树溃疡病菌孢子萌发抑制作用相当明显,抑制率均在 80% 以上;白花蛇舌草、乳香、川楝等 3 种中药提取物对杨树溃疡病菌孢子萌发抑制作用次之,抑制率均在 60% 以上。

关键词 抑菌活性; 中药提取物; 植物源杀菌剂; 牡丹皮

中图分类号 S 482.292

Studies on the anti-fungal activity of the extracts from sixteen kinds of Chinese herbs

Zhu Licheng, Wang Xiangsheng, Liu Wen, Zhang Minglang, Liu Xinzong

(College of Life Sciences, Jinggangshan University, Ji'an 343009, China)

Abstract To screen the active ingredients against plant pathogen, the inhibitory activity of sixteen kinds of Chinese herbs against 5 plant pathogens were examined. The results showed that the extracts of cortex moutan had a good inhibiting rate to all of the five kinds of plant pathogens, and the extracts of *Alpinia officinarum* also showed good anti-fungal properties with more than 80% inhibiting rate to at least four kinds of plant pathogens at the concentration of 0.05 g/mL. The inhibiting rate of the extracts of cortex moutan and *Alpinia officinarum* to the growth of the spore of *Dothiorella gregaria* was more than 80% at the concentration of 0.1 g/mL, while that of other three Chinese herbs were more than 60%.

Key words fungistasis; extracts of Chinese herbs; botanical fungicides; cortex moutan

植物在和有害生物长期协同进化中,会产生大量具有杀虫或抗菌活性的次生代谢产物,据估计大约有 40 万种。由于这些次生代谢物质在自然界有其顺畅的降解途径,故施用于作物上不易产生残留、不会引起生物富集现象^[1-2],因此植物源农药的研发是目前农药研究领域的热点之一,倍受人们的关注与青睐。最近 10 年来人们对植物的抑菌活性成分的化学结构、生物活性进行深入的研究,并以此为模

板成功地开发了一些高效农药。我国已利用除虫菊成功开发出高效拟杀虫菊酯,著名的巴斯夫公司和先正达公司都以热带雨林中的 *Oudemansiella muscicida* 和 *Strobilurus teuacellus* 的抗菌物质 b-甲基丙烯酸酯类化合物为模板开发出了杀菌谱广、药效高、对环境和非靶标生物友善的系列杀菌剂。截至 2000 年,我国已登记注册植物源杀菌剂品种 3 个^[3-4]。目前,国内对植物提取物抑制植物病原菌的

收稿日期: 2006-09-04

基金项目: 井冈山学院校级课题资助项目(2005-2-24)

* 致谢 感谢张应烙老师提供供试植物病原菌种。

** 通讯作者

研究做了大量的工作。邵红军等测定了 32 种植物丙酮提取物对 5 种植物病原真菌的离体抑制活性^[5];李文英等对万寿菊的粗提物的抑菌作用进行了初步的研究^[7];冯俊涛等对西北地区的植物源杀菌剂进行了初步筛选、并对 56 种植物提取物的抑菌活性进行了研究^[6,9];张应烙等测定了来自井冈山自然保护区的 47 种植物的丙酮提取物对几种病原菌的生物活性^[8];杨顺义等测定了苍耳等 14 种植物提取物对几种植物病原菌的抑制活性^[10]。本研究在前人研究的基础上筛选了 16 种中药,测试了其丙酮提取物对 5 种植物病原菌的离体抑制活性,旨在为发现环保型新的植物源杀菌剂提供线索。

1 材料和方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试菌种

番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)、杨树溃疡病菌(*Dothiorella gregaria*)、番茄早疫病菌(*Alternaria solani*)、小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum*)、小麦纹枯病菌(*Rhizoctonia cerealis*)等 5 种,供试菌种均购于西北农林科技大学植物病理研究所,本校微生物实验室保存。

1.1.2 供试中药

供试中药共 16 种(表 1),均购于江西吉安市河东中心卫生院。60℃烘干,粉碎后备用。

表 1 供试中药样品

供试中药	学名	供试部位
高良姜	<i>Alpinia officinarum</i> Hance	根
连翘	<i>Forsythia suspensa</i> (Thun. b)Vahl	果
白花蛇舌草	<i>Hedyotis diffusa</i> Willd.	全株
桔梗	<i>Platycodon grandiflorus</i> (Jacq.)A. DC.	茎
龙胆草	<i>Gentiana scabra</i> Bunge	全株
黄芩	<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	茎
牡丹	<i>Paeonia suffruticosa</i> Andr.	皮
知母	<i>Anemarrhena asphodeloides</i> Bunge	树皮
薤白	<i>Allium macrostemon</i> Bunge	根茎
蔓荆	<i>Vitex trifolia</i> Linn.	果
贯众	<i>Rhizoma cyrtomii</i> Fortunei	根茎
川楝	<i>Melia toosendan</i> Sieb. et Zucc.	果
乳香	<i>Boswellia carteri</i> Birdw.	胶树脂
地榆	<i>Sanguisorba officinalis</i> Linn.	茎
桑叶	<i>Morus alba</i> Linn.	叶
土茯苓	<i>Smilax glabra</i> Roxb.	根

1.2 方法

1.2.1 中草药丙酮抽提物的制备

称取 50 g 中药干粉,用丙酮振荡提取 3 次,更

换丙酮的时间间隔分别为 24、16、16 h,摇速为 140 r/min,温度为 25℃,合并 3 次滤液后在旋转蒸发仪上浓缩,使最终质量浓度为 0.5 g/mL,具体提取过程参照冯俊涛等方法^[6,9]。

1.2.2 对植物病原菌菌丝生长活性的测定

采用生长速率法评价中药提取物对病原菌菌丝生长抑制效果^[11]。带药培养基的制备:取 1.2.1 所制备的中药提取物 1 mL 于已灭菌的 10 mL 试管中,加入 9.0 mL 50℃左右 PDA 培养基,摇匀,倒入灭菌培养皿中配成母液终浓度为 0.05 g/mL 固体带药培养基。用打孔器取直径为 6 mm 的菌饼置于上述带药培养基中,另以含丙酮的 PDA 培养基作为对照,也各接种 6 mm 的菌饼,对照与处理各重复 3 次。25℃恒温培养箱中培养,96 h 后用十字交叉法测量菌落直径,取其平均值。按以下公式计算菌丝生长抑制率^[12]。

抑制率 = $\frac{\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}}{\text{对照菌落直径} - \text{菌饼直径}(6\text{ mm})} \times 100\%$

1.2.3 对植物病原菌孢子萌发效果测定

中药丙酮提取物对植物病原菌孢子萌发抑制效果采用载玻片法^[13]。试验设 1 个浓度,为 0.1 g/mL,直接用孢子悬浮液对 1.2.1 所制备的提取物稀释 5 倍而成。用无菌水将待测杨树溃疡病菌孢子制成适当浓度的孢子悬液(低倍镜下每视野 30~100 个孢子)。各取 1 滴提取液和孢子悬液于凹玻片上混合,并于 25℃下恒温培养,每个处理重复 3 次,以无菌水作对照。12 h 后镜检孢子萌发数量(芽管长度大于孢子短半径视为萌发),按以下公式计算孢子萌发抑制率。

抑制率 = $\frac{\text{对照萌发率} - \text{处理萌发率}}{\text{对照萌发率}} \times 100\%$

2 结果与分析

2.1 对 5 种病原菌菌丝生长抑制效果

不同中草药丙酮提取物对 5 种植物病原菌抑制结果如表 2 所示。结果表明:在中草药丙酮提取物供试质量浓度为 0.05 g/mL 时,牡丹皮提取物对所有供试植物病原菌菌丝生长抑制效果最好,除对杨树溃疡病菌菌丝生长抑制率为 85.3%外,对其他植物病原菌的抑制率均为 100%。高良姜丙酮提取物抑菌活性次之,对 4 种供试病原菌菌丝生长抑制率均在 80%以上,最低的对番茄灰霉病菌的抑制率也达到 68%。黄芩对供试的 4 种病原菌的抑制率超过 70%,对番茄灰霉病菌的抑制率最低,为 60.1%。

连翘、知母、蔓荆、乳香、地榆等 5 种中药丙酮提取物 分别对供试的 2 种病原菌有较好的抑菌活性。

表 2 16 种中药提取物对 5 种植物病原菌菌丝生长的抑制作用¹⁾

供试中药	杨树溃疡病菌		小麦纹枯病菌		小麦赤霉病菌		番茄早疫病菌		番茄灰霉病菌	
	菌落直径 /mm	抑制率 /%	菌落直径 /mm	抑制率 /%	菌落直径 /mm	抑制率 /%	菌落直径 /mm	抑制率 /%	菌落直径 /mm	抑制率 /%
CK(丙酮)	46.9	0	42.6	0	45.0	0	38.0	0	70.9	0
高良姜	11.1	87.6	10.3	88.3	13.7	84.4	11.7	82.3	26.8	68.0
连翘	28.1	46.0	26.8	43.3	18.8	74.1	24.5	42.2	31.8	60.2
白花蛇舌草	43.4	8.4	26.1	45.1	29.7	51.9	24.1	43.4	61.5	14.4
桔梗	33.8	32.0	27.1	42.5	45.3	20.4	36.9	3.6	32.7	58.9
龙胆草	34.7	29.7	30.1	34.3	34.4	42.5	35.9	6.5	67.4	5.3
黄芩	12.3	84.6	17.0	70.0	18.5	74.7	12.3	80.2	31.9	60.1
牡丹	12.0	85.3	6.0	100.0	6.0	100.0	6.0	100.0	6.0	100.0
知母	23.0	58.4	21.6	57.5	24.2	63.1	14.4	73.8	37.1	52.1
薤白	22.7	59.0	29.6	35.5	29.4	61.1	24.5	42.1	36.9	52.4
蔓荆	24.3	55.2	29.3	36.3	24.0	70.1	20.0	56.3	17.2	82.7
贯众	31.4	37.9	39.3	9.0	38.0	46.8	53.7	—	41.7	45.1
川楝	24.6	54.4	12.8	81.4	26.4	66.1	39.3	—	28.4	65.5
乳香	24.3	55.1	25.5	46.8	13.8	87.1	25.5	39.1	20.0	78.5
地榆	22.3	60.2	21.6	57.3	32.4	56.1	41.1	—	27.3	67.1
桑叶	33.2	33.4	37.3	14.5	38.6	45.8	45.7	—	57.6	20.4
土茯苓	27.7	46.9	43.5	—	40.9	41.9	26.9	34.6	51.3	30.2

1) 所有中药丙酮提取物质量浓度均为 0.05g/mL;—表示促进作用。

2.2 提取物对杨树溃疡病菌孢子萌发抑制效果

结果如表 3 所示,在供试样品浓度为 0.1 g/mL 时,牡丹皮、高良姜丙酮提取物对杨树溃疡病菌孢子萌发抑菌作用相当明显,抑制率均在 80%以上,白花蛇舌草、乳香、川楝提取物对其孢子萌发抑制作用次之,抑制率分别为 67%、61.6%和 64.6%。其他中药丙酮提取物对杨树溃疡病菌孢子萌发抑制率均较低。

表 3 16 种提取物对杨树溃疡病菌孢子萌发抑制效果¹⁾

供试中药	萌发率/%	抑制率/%
CK(丙酮)	79.6	0
高良姜	15.2	81.0
连翘	60.4	24.1
白花蛇舌草	26.3	67.0
桔梗	54.7	31.3
龙胆草	59.8	24.9
黄芩	79.8	—
牡丹	10.7	86.5
知母	50.0	37.2
薤白	50.5	36.5
蔓荆	62.2	21.8
贯众	51.1	35.8
川楝	28.2	64.6
乳香	30.5	61.6
地榆	52.3	34.2
桑叶	52.2	34.4
土茯苓	64.2	19.3

1) 所有中药丙酮提取物浓度均为 0.1 g/mL;—表示促进作用。

3 讨论

牡丹皮等 16 种中草药丙酮提取物对供试的 5

种植物病原菌都有不同程度的抑制作用,其中牡丹皮和高良姜对 5 种植物病原菌的菌丝生长和孢子萌发都有明显的抑制效果,可以作为植物源杀菌剂进一步研究。本研究只是以中药的丙酮粗提物为材料进行研究,为筛选有抑菌效果的植物提供了依据。要获得单一的抑菌剂,还必须对丙酮粗提物进行分离、纯化和鉴定。作者所在实验室在本研究的基础上,采用生物活性追踪法,正在对牡丹皮和高良姜的丙酮提取物进行进一步研究。

参考文献

[1] 吴文君,刘惠霞.对农药的几点看法[J].农药,1998,37(9):1-5.
[2] 吴文君,胡兆农.我国植物源害虫控制剂的研究与开发[J].农药,1995,34(2):6-8.
[3] 马志卿,李广泽,何军,等.植物源农药概述[C]//第二届全国植物源农药暨第六届药剂毒理学术讨论会论文集,2001.
[4] 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):1-10.
[5] 邵红军,冯俊涛,韩静,等.32种植物提取物的离体抑菌活性测定[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2003,31(6):59-62.
[6] 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].西北农林科技大学学报(自然科学版),2002,30(6):129-137.
[7] 李文英,刘贤谦,戴建青.万寿菊粗提物的抑菌作用初探[J].农药,2002,41(10):41-42.
[8] 张应焰,尹彩萍,赖伟明,等.井冈山 47 种植物提取物对几种病原菌的生物活性[J].江苏农业科学,2005,4:51-53.

- [9] 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.
- [10] 杨顺义,郭东艳,沈慧敏,等. 苍耳等14种植物对植物病原菌的抑菌活性[J]. 植物保护,2006,32(3):68-71.
- [11] 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,1998.
- [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.
- [13] 方中达. 植病研究方法[M]. 第3版. 北京:中国农业出版社,1998.