

苍耳等 14 种植物对植物病原菌的抑菌活性

杨顺义, 郭东艳, 沈慧敏, 张新虎*

(甘肃农业大学草业学院, 兰州 730070)

摘要 以番茄灰霉菌、辣椒丝核菌、黄瓜枯萎菌、黄瓜黑星菌和番茄早疫菌为供试菌,用生长速率法和孢子萌发法对 14 种植物提取物的离体生物活性进行了测定。结果表明:在供试质量浓度为 0.1 g/mL 时,苍耳茎叶、百部根、龙葵对辣椒丝核菌和黄瓜枯萎菌的抑制率达到 100%;黄花蒿、苦参根、狼毒根对 5 种供试菌的抑制率均在 60% 以上。苍耳根、苍耳茎叶、泽漆、苦参根、龙葵、黄花蒿、蒲公英提取物至少对 1 种供试菌孢子萌发抑制率大于 90%。本试验中,苍耳茎叶和根提取物对供试菌的菌丝生长和孢子萌发均显示了很高的抑制作用。

关键词 苍耳; 植物提取物; 植物病原菌; 抑菌活性

中图分类号 S 482.292

Antifungal activity of 14 plants to phytopathogens

Yang Shunyi, Guo Dongyan, Shen Huimin, Zhang Xinhui

(Pratacultural Institute, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract The fungistatis of 14 plant extracts against *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Cladosporium cucumerinum* and *Alternaria solani* was tested in vitro using growth rate and spore germination methods. The concentration of the extracts was 0.1g/mL. The results showed that 7 of the plant extracts, including extracts from *Xanthium sibiricum*, *Artemisia annua* and *Solanum nigrum* showed inhibition to the growth of the hyphae of the 5 fungi tested to different degrees, among which the inhibition rate of the extracts from *X. sibiricum* (stem and leaf), *Stemona japonica* and *Solanum nigrum* to the growth of the hyphae of *R. solani* and *F. oxysporum* were 100%, while that of *A. annua*, *Sophora flavescens* and *Stellera chamaejasme* to the 5 fungi tested was higher than 60%. The extracts from *X. sibiricum*, *Euphorbia helioscopia*, *S. flavescens*, *S. nigrum*, *A. annua* and *T. mongolicum* had more than 90% inhibition rate to the spore germination of at least one fungus tested. In the experiments, the extract of *X. sibiricum* showed very high inhibition to the growth of the hyphae and spore germination of the fungi tested.

Key words *Xanthium sibiricum*; extracts of plants; phytopathogens; antifungal activity

植物性农药由于其高效、低毒、无残留、对环境友好、对人畜安全等优点,而成为农药开发的热点。近年来,孟昭礼等对银杏的研究较为深入,成功开发出了农用杀菌剂“银泰”和“绿帝”系列^[1-5]。吴恭谦等研究表明^[6],白头翁素对禾谷镰刀菌抑制作用强烈。冯俊涛等、钮绪燕等、吴文君等分别对芦苇等 56 种植物以及虎耳草和楝科植物的抑菌活性做了初步研究^[7-9]。赵博光等对苦豆草中抑制杉炭疽分生孢子萌发的物质进行了研究^[10]。于平儒等进行了 62 种植物样品对菌丝活性的测定^[11]。冯俊涛对采自西北地区的 187 种植物样品的抑菌活性作了较

为系统的初步筛选^[12]。李玉平等对几种菊科植物的杀菌活性进行了初步研究^[13]。本文在前人研究的基础上,用生长速率法和孢子萌发法对 14 种植物提取物的抑菌活性进行研究,意在挖掘本地资源,开发植物性杀菌剂。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试植物

14 种植物(表 1),采回后将根、茎、叶、花、果分开,阴凉处晾干,粉碎后过 40 目筛($d=0.37$ mm)后

收稿日期: 2005-11-30

修订日期: 2006-01-05

基金项目: 甘肃省教育厅基金项目(032-06);甘肃省农业生物技术研究与应用开发项目(GNSW-2004-08)

* 通讯作者

密封,置于 0~4 ℃ 冰箱中保存备用。

1.1.2 供试菌种

番茄灰霉病菌 (*Botrytis cinerea* Pers.)、辣椒丝核病菌 (*Rhizoctonia solani*)、黄瓜枯萎病菌 (*Fusarium oxysporum*)、黄瓜黑星病菌 (*Cladosporium cucumerinum*) 和番茄早疫病菌 (*Alternaria solani*)，分别由甘肃农业大学植物保护系病理教研组和甘肃省农业科学院植物保护研究所提供。

1.2 试验方法

1.2.1 植物提取物的制备

取粉碎的植物干粉 50 g 装入滤纸筒中,以丙酮(分析纯)为溶剂,在索氏抽提器中提取 36 h,提取液用旋转蒸发器浓缩至少量转入刻度试管中,用丙酮定容为 1 g/mL,密封,在 0~4 ℃ 冰箱中保存备用。

表 1 供试植物样品

| 中文名 | 学名 | 供试部位 |
|------|--------------------------------|---------|
| 泽漆 | <i>Euphorbia helioscopia</i> | 全株 |
| 龙葵 | <i>Solanum nigrum</i> | 全株 |
| 花椒 | <i>Zanthoxylum bungeanum</i> | 叶 |
| 臭椿 | <i>Ailanthus altissima</i> | 叶 |
| 大麻 | <i>Cannabis sativa</i> | 茎叶混样 |
| 黄芪 | <i>Scutellaria baicalensis</i> | 根 |
| 苦参 | <i>Sophora flavescens</i> | 根 |
| 百部 | <i>Stemona japonica</i> | 根 |
| 苍耳 | <i>Xanthium sibiricum</i> | 种子、茎叶、根 |
| 金银花 | <i>Lonicera japonica</i> | 花 |
| 蒲公英 | <i>Taraxacum mongolicum</i> | 全株 |
| 曼陀罗 | <i>Datura stramonium</i> | 种子、全株 |
| 黄花蒿 | <i>Artemisia annua</i> | 全株 |
| 瑞香狼毒 | <i>Stellera chamaejasme</i> | 根 |

1.2.2 生长速率法

用生长速率法测定植物样品的抑菌活性^[14]。在无菌条件下,取 1 mL 提取液至(1×10~25)mL 刻度试管,对照组加入等量丙酮,再倒入融化的 PDA 培养基至 10 mL(本文各提取物供试质量浓度均为 0.1 g/mL,即 1 mL 中有相当于植物干材料 0.1 g),摇匀,趁热倒入 90 mm 培养皿中制成平板,平板凝固后放入生长一致的菌饼($d=6.0$ mm)。每皿接 1 个菌饼,每处理重复 3 次,25~27 ℃ 培养至对照长满时观察结果。用十字交叉法测量供试菌菌落生长直径,用下述公式计算抑制率。

菌落直径(mm) = 菌落直径平均值 - 6.0;

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

1.2.3 孢子萌发法

将植物提取物分别加入 0.1% 的吐温-80 后

用水稀释 10 倍,采用悬滴法测定植物提取物水稀释液对番茄灰霉病菌、黄瓜枯萎病菌和黄瓜黑星病菌分生孢子萌发的抑制作用^[15],以等量丙酮为对照,每处理重复 3 次,在适宜温度下保湿(温度依次为(20±1)℃、(26±1)℃、(21±1)℃、(25±1)℃,RH=(90±7)% 培养,每隔 2 h 计数一次,直至对照萌发率达到 80% 以上。按下列公式计算抑制率:

$$\text{孢子萌发率} = \frac{\text{萌发孢子数}}{\text{检查孢子总数}} \times 100\%;$$

$$\text{抑制率} = \frac{(\text{对照孢子萌发率} - \text{处理孢子萌发率})}{\text{对照孢子萌发率}} \times 100\%。$$

2 结果与分析

2.1 植物提取物对 5 种病菌菌丝生长的抑制作用

采用生长速率法测定了 17 种植物样品丙酮提取物对番茄灰霉病菌、辣椒丝核病菌、黄瓜枯萎病菌、番茄早疫病菌、黄瓜黑星病菌菌丝生长的抑制作用。结果表明:不同植物样品对同一病原菌的抑制活性差异较大,同一植物样品对不同菌种的活性亦存在显著差异,详见表 2。

由表 2 可知,在质量浓度为 0.1 g/mL 时,黄花蒿、龙葵、苍耳茎叶、苍耳根等 4 种提取物对番茄灰霉病菌菌丝生长的抑制率分别为 100%、98.91%、98.36% 和 90.16%,与其他所有供试植物样品提取物差异显著;苦参根、狼毒根和艾蒿次之,分别达 72.24%、61.97% 和 60.54%;其余植物样品提取物的抑制率均小于 40%。龙葵、百部根以及苍耳茎叶提取物对辣椒丝核病菌和黄瓜枯萎病菌的抑制率均高达 100%;苦参根、苍耳根、艾蒿、黄花蒿提取物的抑制率在 61.95%~91.04% 之间。对番茄早疫病菌,龙葵、苦参根、狼毒根、苍耳茎叶以及黄花蒿提取物的抑制率均大于 60%;对黄瓜黑星病菌,大麻、狼毒、苍耳茎叶、苍耳根、艾蒿以及黄花蒿提取物的抑制率均大于 60%。对至少一种供试真菌菌丝生长抑制率大于 80% 的植物样品有 7 种,对 5 种供试菌中至少一种抑制率为 100% 的植物样品有龙葵、百部、苍耳茎叶和黄花蒿。

2.2 植物提取物对 3 种病菌孢子萌发的抑制作用

14 种植物丙酮提取物对番茄灰霉病菌、黄瓜枯萎病菌、黄瓜黑星病菌孢子萌发抑制作用的测定结果见表 3。

表 2 植物提取物对 5 种病菌菌丝生长的抑制作用¹⁾

| 植物样品 | | 抑制率/% | | | | |
|------|------|------------|------------|------------|------------|------------|
| 植物名称 | 测试部位 | 番茄灰霉病(5 d) | 辣椒丝核病(5 d) | 黄瓜枯萎病(7 d) | 番茄早疫病(8 d) | 黄瓜黑星病(8 d) |
| 臭椿 | 叶 | 27.65 de | 30.71 de | 9.43 g | 9.19 e | 9.85 fg |
| 泽漆 | 全株 | * | 47.76 c | 12.79 fg | 14.96 de | 17.08 efg |
| 龙葵 | 全株 | 98.91 a | 100.00 a | 100.00 a | 64.21 ab | 59.75 adc |
| 花椒 | 叶 | * | 30.06 de | 15.94 efg | 14.32 de | 15.31 efg |
| 大麻 | 茎叶 | 26.33 de | 50.60 c | 50.73 d | 71.58 ab | 65.82 ab |
| 黄芪 | 根 | 37.48 de | 34.86 d | 26.42 ef | 33.55 cd | 35.22 de |
| 苦参 | 根 | 72.24 b | 86.45 b | 61.95 b | 75.86 ab | 83.75 a |
| 百部 | 根 | 33.34 de | 100.00 a | 100.00 a | 33.01 b | 41.19 cd |
| 狼毒 | 根 | 61.97 bc | 81.42 b | 62.89 cd | 79.91 a | 79.66 a |
| 苍耳 | 种子 | 14.98 e | 8.30 h | 21.38 efg | 5.35 e | 7.13 g |
| | 茎叶 | 98.36 a | 100.00 a | 100.00 a | 69.87 ab | 79.48 a |
| | 根 | 90.16 a | 91.04 b | 75.47 bc | 58.44 b | 63.36 a |
| 曼陀罗 | 种子 | * | 14.75 gh | 12.58 fg | 8.12 e | 10.79 efg |
| | 全株 | 17.60 e | 20.00 fg | 27.04 e | 35.68 c | 33.43 def |
| 金银花 | 花 | 18.91 e | 37.70 d | 8.49 g | 14.96 de | 9.53 fg |
| 蒲公英 | 全株 | 16.72 e | 25.68 ef | 15.31 efg | 22.86 cde | 23.90 bcd |
| 黄花蒿 | 全株 | 100.00 a | 77.70 b | 68.55 bc | 60.68 ab | 70.13 ab |

1) 表中所有植物样品供试质量浓度为 0.1 g/mL;小写字母表示在 5%水平的显著性; * 表示促进菌丝生长。

表 3 植物提取物对 3 种病菌孢子萌发的抑制作用¹⁾

| 植物样品 | | 番茄灰霉病(28 h) | | 黄瓜枯萎病(28 h) | | 黄瓜黑星病(30 h) | |
|------|------|-------------|---------|-------------|----------|-------------|---------|
| 植物名称 | 测试部位 | 萌发率/% | 抑制率/% | 萌发率/% | 抑制率/% | 萌发率/% | 抑制率/% |
| 臭椿 | 叶 | 26.67 | 67.08 d | 57.50 | 31.82 k | 76.00 | 15.56 k |
| 泽漆 | 全株 | 1.24 | 98.47 a | 62.80 | 25.53 m | 78.00 | 13.33 l |
| 龙葵 | 全株 | 81.67 | * | 1.00 | 98.81 b | 15.33 | 82.96 e |
| 花椒 | 叶 | 96.33 | * | 15.67 | 81.42 f | 94.33 | * |
| 大麻 | 茎叶 | 91.33 | * | 50.00 | 40.71 h | 51.00 | 43.33 g |
| 黄芪 | 根 | 57.33 | 29.22 f | 96.67 | * | 18.00 | 80.00 f |
| 苦参 | 根 | 3.00 | 96.30 b | 61.00 | 27.67 l | 18.00 | 80.00 f |
| 百部 | 根 | 93.00 | * | 51.00 | 39.52 i | 58.00 | 35.56 h |
| 狼毒 | 根 | 94.33 | * | 96.00 | * | 87.50 | 2.78 l |
| 苍耳 | 茎叶 | 57.00 | 29.63 f | 0 | 100.00 a | 1.67 | 98.15 a |
| | 根 | 24.17 | 70.16 c | 8.67 | 89.72 d | 4.67 | 94.81 b |
| 金银花 | 花 | 32.33 | 60.08 e | 53.67 | 36.36 j | 60.00 | 33.33 i |
| 蒲公英 | 全株 | 81.00 | 0 h | 11.33 | 86.56 e | 7.33 | 91.85 c |
| 黄花蒿 | 全株 | 95.67 | * | 3.00 | 96.44 c | 50.67 | 43.70 g |
| 曼陀罗 | 全株 | 61.67 | 23.87 g | 44.00 | 47.82 g | 11.07 | 87.70 d |
| 对照 | — | 81.00 | — | 84.33 | — | 90.00 | — |

1) 表中所有植物样品供试质量浓度为 0.1 g/mL;小写字母表示在 5%水平的显著性; * 表示促进孢子萌发。

结果表明:不同植物样品对同一病原菌的抑制作用差异较大,同一植物样品对不同菌种的活性亦存在显著差异。当供试质量浓度为 0.1 g/mL 时,苍耳根等 5 种植物样品提取物对番茄灰霉病菌孢子萌发的抑制率大于 60%,其中泽漆和苦参根提取物的抑制率均高于 90%;苍耳茎叶、龙葵、黄花蒿、苍耳根、蒲公英和花椒提取物对黄瓜枯萎病菌孢子萌发的抑制率均高于 80%,其抑制率 28 h 后分别为 100%、98.81%、96.44%、89.72%、86.56% 和 81.42%。对黄瓜黑星病菌,苍耳茎叶、苍耳根、蒲公

英、黄花蒿、龙葵、苦参根、黄芪等 7 种植物样品提取物的抑制率在 80%以上,其中,苍耳茎叶、苍耳根和蒲公英提取物的抑制率分别为 98.15%、94.81%和 91.85%。供试植物样品中至少对一种供试菌孢子萌发抑制率大于 90%的有苍耳根、苍耳茎叶、泽漆、苦参根、龙葵、黄花蒿和蒲公英等 7 种植物样品。

3 结论与讨论

室内毒力测定表明,苍耳等 14 种植物提取物对供试病菌均有不同程度的抑制作用,说明这些植物体

内存在抑菌活性物质。本试验中的供试样品浓度为粗提物浓度,而植物中有效的杀菌成分含量很低,因而认为这些植物体内的有效成分具有强烈的抗菌活性,分离这些活性物质并鉴定其分子结构,有可能发现具有新型杀菌活性的先导化合物。其中,苍耳、龙葵、苦参根、黄花蒿等植物值得进一步研究。尤其是苍耳,苍耳茎叶提取物对 5 种供试菌的菌丝生长抑制率均高于 69%,对辣椒丝核和黄瓜枯萎病菌的菌丝生长抑制率甚至高达 100%;苍耳根提取物对除番茄早疫病病菌以外的 4 种供试菌菌丝生长抑制率均在 63% 以上,而且苍耳茎叶、根提取物对黄瓜枯萎病菌和黄瓜黑星病菌的孢子萌发抑制率均接近或超过 90%,因此,作为杀菌植物,苍耳具有非常广阔的开发前景。

本试验中用粗提物进行测试,若进一步纯化精提,其杀菌活性可能会进一步提高;试验仅通过生长速率法和孢子萌发法初步进行了植物粗提物的离体活性测定,其在活体植物上对病原菌的活性及对寄主本身的影响还需要进一步的研究;试验中苍耳等 14 种植物仅以 5 种常见植物病原菌作为供试生物,若要开发广谱性的杀菌剂,还须对细菌、病毒等更多的有害病原物进行抑制作用的测定。

参考文献

- [1] 孟昭礼,吴献忠,高庆霄,等.银杏提取液对 4 种植物病原菌的抑菌作用[J].植物病理学报,1995,25(4):357-360.
- [2] 孟昭礼,罗兰,尚坚,等.人工模拟杀菌剂绿帝对 8 种植物病原菌的室内生测[J].莱阳农学院学报,1998,15(3):159-162.
- [3] 孟昭礼,罗兰,尚坚,等.人工模拟杀菌剂银泰对 10 种植物病原菌的室内生测[J].莱阳农学院学报,1999,16(2):124-126.
- [4] 孟昭礼,袁忠林,罗兰,等.人工模拟农用杀菌剂银泰对 5 种植物害的药效试验[J].莱阳农学院学报,2001,18(4):302-305.
- [5] 孟昭礼,罗兰,袁忠林,等.人工模拟的植物源杀菌剂银泰防治番茄 3 种病害效果研究[J].中国农业科学,2002,35(7):863-866.
- [6] 吴恭谦.三种毛茛科植物提取物及原白头翁素的活性研究[J].安徽农学院学报,1989(1):21-23.
- [7] 冯俊涛,石勇强,张兴,等.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.
- [8] 钮绪燕,吴文君,刘虎奇,等.虎耳草科植物杀菌活性的初步研究[J].西北农业学报,1993,2(1):83-86.
- [9] 吴文君.天然产物杀虫剂—原理、方法、实验[M].西安:陕西科学技术出版社,1998.
- [10] 赵博光,蒋继宏.苦豆草中抑制杉炭疽分生孢子萌发的物质[J].林业科学,1999,35(5):62-67.
- [11] 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,2001,29(6):65-69.
- [12] 冯俊涛,祝木金,于平儒,等.西北地区植物源杀菌剂初步筛选[C]//第二届全国植物农药暨第六届药剂毒理学学术讨论会论文集.2001:294-306.
- [13] 李玉平,慕小倩,冯俊涛,等.几种菊科植物的杀菌活性的初步研究[J].西北农林科技大学学报,2002,30(1):68-72.
- [14] 慕立义.植物化学保护研究方法[M].北京:中国农业出版社,1994.
- [15] 方中达.植病研究方法(第三版)[M].北京:中国农业出版社,1998.