

研究简报

芒果炭疽病菌的抑菌植物筛选 及肉桂油抑菌活性测定

何衍彪¹, 郭培钧², 赵艳龙¹, 常金梅¹, 何庭玉^{* 2}, 詹儒林^{* 1}

(1. 中国热带农业科学院 南亚热带作物研究所, 广东 湛江 524091; 2. 华南农业大学 理学院, 广州 510642)

摘 要: 以芒果炭疽病菌抗药性菌株、敏感菌株为研究材料, 用生长速率法筛选出了一批高效抑菌植物, 大部分植物的丙酮提取物对芒果炭疽病菌有不同程度的抑制作用, 其中: 肉桂、丁香、藿香的提取物活性最强, 在干物质质量浓度为 0.025 g/mL 下抑制率达 100%; 芒果炭疽病菌抗药性菌株对肉桂等植物提取物无明显抗性; 肉桂油对芒果炭疽病菌敏感菌株 (ZJS) 和抗药性菌株 (ZR) 的抑制中浓度 (EC₅₀) 分别为 98.9 和 71.2 mg/L, 而肉桂醛对 ZJS 和 ZR 的 EC₅₀ 值分别为 20.7 和 20.2 mg/L。

关键词: 芒果炭疽病菌; 抑菌植物; 肉桂油; 肉桂醛; 抑菌活性

DOI: 10.3969/j.issn.1008-7303.2009.04.18

中图分类号: S482.292

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2009)04-0507-04

Screening of Inhibitory Efficacy from Different Plant Extracts to Mango Anthracnose and Study on Activity of Volatile Oil of Cortex cinnamomi

HE Yanbiao¹, GUO Peijun², ZHAO Yandong¹, CHANG Jinmei¹,
HE Tingyu^{* 2}, ZHAN Rulin^{* 1}

(1. Southern Subtropical Crops Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Zhanjiang 524091, Guangdong Province, China; 2. College of Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract During screening of thirty seven plant extracts against Mango anthracnose *Colletotrichum gloeosporioides*, the extracts of *Cinnamomum cassia*, *Syzygium aromaticum*, *Agastache rugosus*, were found to exhibit excellent fungitoxicity, with 100% growth inhibition at 0.025 g/mL. The plant extracts also exhibit excellent fungitoxicity against the resistant isolate of *C. gloeosporioides*. The EC₅₀ value of volatile oil of *C. cassia* to sensitive and resistant isolates of *C. gloeosporioides* was 98.9 and 71.2 mg/L, respectively, and the EC₅₀ value of cinnamaldehyde to sensitive and resistant isolates of *C. gloeosporioides* was 98.9 and 71.2 mg/L, respectively.

Key words *Colletotrichum gloeosporioides*; plant extracts; volatile oil of *Cinnamomum cassia*; cinnamaldehyde; inhibitory efficacy

收稿日期: 2009-05-20; 修回日期: 2009-10-21

作者简介: 何衍彪 (1978), 男, 湖南人, 助理研究员, 主要从事植物源农药的研究, E-mail: heyanybiao@sohu.com; * 通讯作者 (Authors for correspondence): 詹儒林 (1968), 男, 广东人, 博士, 副研究员, 主要从事植物病理学研究, 联系电话: 0759-22859311, E-mail: zhanrulin555@163.com; 何庭玉 (1959), 女, 广东人, 副研究员, 主要从事天然有机方面的研究, 联系电话: 020-85281322, E-mail: tyhe@scau.edu.cn
基金项目: 中央级非盈利性研究机构基本科研业务费研究专项 (sscr200702, sscr200711); 中国热带农业科学院基金 (RKY0625); 广东省科技计划项目 (2006B20301007); 农业科技成果转化资金项目 (2008GB23260386)。

植物是生物活性化合物的天然宝库,其产生的次生代谢产物超过 40 万种,其中许多次生化学物质具有杀虫和(或)抑菌等生物活性,在农业、医药上具有重要的研究价值^[1]。在植物源杀菌剂方面,除了抑菌植物的筛选之外,人们越来越重视抑菌活性成分的研究,其中对植物精油的抗菌、杀菌活性及其化学成分研究报道较多^[23]。另外, W i k i n s 等^[4]曾报道有 1 389 种植物可作为杀菌植物,其中的抗毒素、类黄酮、与罹病相关的蛋白质、有机酸和酚类化合物等均有杀菌或抗菌活性。孟昭礼等^[5]从银杏 *Ginkgo biloba* 中分离出了对植物病菌具有很高生物活性的化合物,并以此为模板,合成研制出了新型农用杀菌剂。

由 *Colletotrichum gloeosporioides* Penz 引起的芒果炭疽病是为害芒果最严重的病害之一,在国内外芒果产区普遍发生。目前,该病以化学防治为主,多菌灵等苯并咪唑类内吸性杀菌剂对其有良好的防治效果,但由于长期大量使用具有相同作用位点的杀菌剂,使部分果园出现了抗性菌株,大大降低了防治效果^[627]。施瑞城等^[8]、丘麒等^[9]分别用生长速率法筛选了一批芒果炭疽病菌抑菌植物,但未对芒果炭疽病菌抗药性菌株进行生物测定,有关肉桂油、肉桂醛对芒果炭疽病菌的抑菌活性也鲜见报道。为了解决芒果炭疽病菌抗药性问题及更好地利用抑菌植物资源,笔者以芒果炭疽病菌抗药性菌株、敏感菌株为试材筛选了一批高效抑菌植物,并对其中的肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的抑菌活性成分进行了初步研究。

1 材料与方法

1.1 供试材料

芒果炭疽病菌 *C. gloeosporioides* 对多菌灵的抗药性菌株(ZJR)和敏感菌株(ZJS)均由笔者从广东省湛江市芒果园中分离保存,其中抗药性菌株在多菌灵 1.0×10^6 mg/L 下仍生长良好,而敏感菌株在多菌灵 110 mg/L 下便受到完全抑制。供试中药购自湛江市药铺,其余植物采自湛江市效区。

肉桂醛、肉桂酸、肉桂酸乙酯均为色谱纯,99%。其余试剂为分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 植物提取物的制备及溶液的配制 参考文献[10211]方法。将供试植物晾干,于干燥箱中 60℃ 烘干,粉碎过 40 目筛(孔径 0.37 mm)。取

粉末 25 g 室温下用 300~400 mL(以浸没材料为准)丙酮浸泡 3 次,每次浸泡 3 d 合并滤液,脱溶。先用丙酮溶解后,再用质量分数为 0.9% 的吐温 280 水溶液乳化、定容至干物质质量浓度为 1.0 g/mL(相当于每 mL 含 1.0 g 植物粉末之提取物,下同),密封,室温保存备用。试验时将植物提取物先用丙酮溶解后,再用 0.9% 的吐温 280 水溶液配制成所需浓度。

1.2.2 肉桂油的制备 采用水蒸气蒸馏法。称取肉桂粉 100 g 加 300 mL 水浸泡 4 h 水蒸汽蒸馏,得油水混合物,用 90 mL 乙醚萃取 3 次(每次 30 mL),无水硫酸钠干燥,减压蒸馏,得黄色油状物(肉桂油),于棕色瓶中在 4℃ 保存^[10]。将肉桂油先用丙酮溶解后,再用 0.9% 的吐温 280 水溶液配制成所需浓度。

1.2.3 抑菌活性测定 采用琼脂平板法^[10211]。将供试溶液(提取液经细菌过滤器过滤后,于 20 W 紫外灯下灭菌 30 min)与融化的培养基(约 65℃)混匀,倒入培养皿中,平板凝固后接入待测菌株菌饼(直径 0.6 cm)。每处理重复 5 次,以相应溶剂为对照。25℃ 培养 7 d 后用十字交叉法测量菌落生长直径,计算相对抑制率,根据浓度对数、相对抑制率求出毒力回归方程和抑制中浓度(EC₅₀)。除植物提取物溶液为干物质质量浓度外,其余均为质量浓度。

2 结果与分析

2.1 抑菌植物的初步筛选结果

37 种供试植物中,丙酮提取物干物质 0.2 g/mL 质量浓度下对芒果炭疽病菌敏感菌株抑制率达 100% 的有 15 种,0.1 g/mL 质量浓度下抑制率达 100% 的有 10 种。其中丁香、藿香、肉桂、石菖蒲丙酮提取物的抑菌效果最好,前 3 种在 0.025 g/mL 质量浓度下,其相对抑制率仍为 100%,石菖蒲相对抑制率为 80.97% (见表 1)。

2.2 几种植物提取物对芒果炭疽病菌敏感及抗药性菌株的抑制作用

结果见表 2。多菌灵在 1.0×10^6 mg/L 质量浓度下对芒果炭疽病菌敏感菌株(ZJS)和抗性菌株(ZJR)的相对抑制率分别为 100% 和 17.76%,可见,抗性菌株对多菌灵已产生了明显抗药性。ZJS 及 ZJR 在丁香、肉桂、石菖蒲干物质质量浓度 0.1 g/mL 下均不能生长,艾草、阳春砂、益智提取

表 1 部分植物提取物在不同浓度下对芒果炭疽病菌敏感菌株的抑制作用

Table 1 The inhibitory effect of some plant extracts on the sensitive isolate of Colletotrichum gloeosporioides Penz

植物名称 Plant	抑制率 Inhibition rate/%		
	0.2 g/mL	0.1 g/mL	0.25 g/mL
肉桂 C. cassia	100.00 a	100.00 a	100.00 a
丁香 S. aromaticum	100.00 a	100.00 a	100.00 a
藿香 A. rugosus	100.00 a	100.00 a	100.00 a
石菖蒲 A. tatarinowii	100.00 a	100.00 a	80.97 b
黄芩 S. baicalensis	100.00 a	94.03 a	76.45 bc
艾草 A. indica	100.00 a	100.00 a	70.39 bc
五味子 S. chinensis	100.00 a	100.00 a	68.39 bc
黄连 C. chinensis	100.00 a	100.00 a	60.00 bc

注: 抑制率为 5 次重复之平均数, 表中同列数据字母相同者, 经邓肯氏检验 (A=0.05) 差异不显著, 下同。

Note: Inhibition rate is the average of five replicates means followed by different letters in the same column are significant difference at the 0.05 level. The same as in Table 2

物对 ZJR 的相对抑制率亦分别达 87.14%、77.53% 和 73.47%, 说明 ZJR 对供试植物丙酮提取液无明显抗药性。

表 2 部分植物丙酮提取物对芒果炭疽病菌敏感及抗药性菌株的抑制作用对比

Table 2 The comparison of inhibitory effect of same plant extracts on sensitive and resistant isolates of C. gloeosporioides

处理 Plant extracts (0.1 g/mL)	相对抑制率 Inhibition rate/%		处理 Plant extracts (0.1 g/mL)	相对抑制率 Inhibition rate/%	
	敏感菌株 Sensitive isolate	抗药性菌株 Resistant isolate		敏感菌株 Sensitive isolate	抗药性菌株 Resistant isolate
肉桂 C. cassia	100.00 a	100.00 a	阳春砂 A. villosum	88.55 b	77.55 b
丁香 S. aromaticum	100.00 a	100.00 a	益智 A. oxyphylla	91.36 b	73.47 b
石菖蒲 A. tatarinowii	100.00 a	100.00 a	多菌灵* carbendazim*	100.00 a	17.76 c
艾草 A. indica	100.00 a	87.14 b	对照丙酮 acetone	)	)

注: * 多菌灵浓度为 1.0 g/mL。Note: * The carbendazim dosages is 1.0 g/mL.

3 讨论

芒果炭疽病菌在我国热带地区芒果上已形成了对苯并咪唑类杀菌剂的高水平抗药性, 多菌灵等传统杀菌剂对其的防治效果不断降低^[7]。本研究结果表明, 肉桂等植物提取物对芒果炭疽病菌敏感菌株和抗药性菌株均有明显的抑制作用, 其中抗药性菌株对肉桂等植物提取物无抗药性; 抑菌植物是治理芒果炭疽病菌抗药性的有效途径之一; 肉桂油具有良好的抑菌作用, 其主要成分肉桂醛可能是肉桂的主要抑菌活性成分。

工业上肉桂醛可由苯甲醛与乙醛缩合而制得, 或由肉桂醇高温氧化制得。肉桂醛在食品、医

显抗药性。

2.3 肉桂油和肉桂醛抑菌活性测定

2.3.1 肉桂油对芒果炭疽病菌的抑制作用 肉桂油不同浓度对 ZJS 和 ZJR 均有很强的抑制作用, ZJS 和 ZJR 在肉桂油 300 mg/L 下不能生长。肉桂油对 ZJS 和 ZJR 的毒力回归方程分别为 $Y = 4.215 \ln x + 0.0833$ ($R^2 = 0.9369$) 和 $Y = 3.9581 \ln x + 0.2813$ ($R^2 = 0.9082$), EC_{50} 值分别为 98.9 和 71.2 mg/L。

2.3.2 肉桂醛对芒果炭疽病菌的抑制作用 肉桂油的主要成分是肉桂醛, 约占到挥发油成分的 74%^[12]。为了探索肉桂的活性成分, 笔者对肉桂醛的抑菌活性进行了研究, 发现在 10~33 mg/L 范围内, 随着质量浓度的增加, 肉桂醛对 ZJS 和 ZJR 的抑制作用逐步增强, 在 33 mg/L 质量浓度下对 ZJS、ZJR 的相对抑制率均达 100%。对 ZJS 和 ZJR 的毒力回归方程分别为 $Y = 42.565 \ln x - 0.3803$ ($R^2 = 0.9865$) 和 $Y = 43.079 \ln x - 0.3683$ ($R^2 = 0.9634$), EC_{50} 值分别为 20.7 和 20.2 mg/L。

药上的作用已被广泛关注^{[12][3]}, 而在农用植物杀菌剂方面的应用鲜见报道。笔者研究发现, 肉桂醛对香蕉枯萎病菌亦有良好的抑制作用 (另文报道), 具有一定的广谱性, 在农用杀菌剂方面具有广阔的开发前景。肉桂醛久置于空气中可氧化成肉桂酸, 其抑菌活性将大为降低, 在开发应用过程中可以考虑添加一定的抗氧化剂以充分保证其抑菌活性。

参考文献:

[1] SWAN T. Secondary Compound as Protective Agents[J]. Annual Reviews of Plant Physiology, 1977, 28: 479-501

[2] FRATERNALE D, EPIFANO F, CURNIM. Composition and Antifungal Activity of Two Essential Oils of Hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) [J]. J Essent Oil Res, 2004, 16(6): 617- 622.

[3] RISTIC M, SOKOVIC M, KOVACEVIC N. Chemical Analysis and Antifungal Activity of the Essential Oil of *Achillea atrata* L. [J]. J Essent Oil Res, 2004(16): 75- 78.

[4] WILKINS K M, BOARD R G. Natural Antimicrobial Systems [M] // GOULD G W. Mechanisms of Action of Food Preservation Procedures. London/ New York: Elsevier Applied Science, 1989: 285- 362.

[5] MENG Zhao2li(孟昭礼), LUO Lan(罗兰), YUAN Zhong2lin(袁忠林), et al 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]. Scientia Agricultura Sinica(中国农业科学), 2002, 35(7): 863- 866.

[6] ZHOU You2sheng(周又生), SHEN Fa2rong(沈发荣), ZHAO Huan2ping(赵焕萍). 芒果炭疽病 [*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz)] 生物学及其综合防治研究 [J]. J Southwest Agric Univ(西南农业大学学报), 1996, 18(3): 206- 209.

[7] ZHAN Ru2lin(詹儒林), LIW ei(李伟), ZHENG Fu2cong(郑服丛). 芒果炭疽病菌对多菌灵的抗药性 [J]. Acta Phytopythecica Sinica(植物保护学报), 2005, 32(1): 71 - 76.

[8] SHIRu2cheng(施瑞城), LITing(李婷), HOU X iao2dong(侯晓东). 23 种中草药提取物对芒果炭疽病菌的抑制作用研究 [J]. Food Research and Development(食品研究与开发), 2006, 27(9): 123- 126.

[9] QIU Q i(丘麒), LUO Jian2jun(罗建军), ZENG Yong(曾勇). 21 种植物提取物对荔枝霜疫霉菌和芒果炭疽病菌的抑菌活性 [J]. J Anhui Agric Sci(安徽农业科学), 2007, 35(12): 3588- 3589.

[10] YU Ping2ju(于平儒), SHAO Hong2jun(邵红军), FENG Jun2tao(冯俊涛), et al 62 种植物样品对菌丝活性的测定 [J]. J Northwest A & F Univ. Nat Sci Ed(西北农林科技大学学报: 自然科学版), 2001, 29(6): 65- 69.

[11] HE Yan2biao(何衍彪), ZHAN Ru2lin(詹儒林), ZHAO Yan2long(赵艳龙), et al 20 种植物提取物对芒果炭疽菌的抑制作用 [J]. Chinese Journal of Tropical Crops(热带作物学报), 2005, 26(3): 86- 90.

[12] QIU Q in(邱琴), CUI ZHAO2jie(崔兆杰), WEI Dong2liang(韦栋梁), et al 肉桂挥发油化学成分的研究 [J]. Acta Universitatis Traditionis Medicinalis Sinensis Pharmacologiaeque Shanghai(上海中医药大学学报), 2003, 17(3): 49- 51.

[13] DAI X iang2rong(戴向荣), JIANG L i2ke(蒋立科), LUO Man(罗曼), et al 肉桂醛抑制黄曲霉机理初探 [J]. Food Science(食品科学), 2008, 29(1): 36- 40.

[14] KAH, PARK H J, JUNG H J et al Cinnamaldehydes Induces Apoptosis by ROS mediated Mitochondrial Permeability Transition in Human Promyelocytic Leukemia HL260 Cells [J]. Cancer Lett, 2003, 196(2): 143- 152.

(Ed JN SH)

会 讯

BCPC Congress& Exhibition 2010年将移师英国伦敦举行

/ BCPC Congress & Exhibition已于 2009 年 11 月 9- 11 日在英国北部城市格拉斯哥的苏格兰会展中心成功举办, 来自 70 多个国家的代表参加了本届会议和展览。该会展负责人 Michael A. Oakes 先生宣布, 下一届 / BCPC Congress & Exhibition 将于 2010 年 11 月 1- 3 日改在伦敦举办。若想了解更多会议信息, 可通过电话或 Email 垂询 (电话: + 44 (0) 2079218039, Email: conference@utbm. com)。若想参会或预定会议展位, 可与 Zahid Nawaz 先生联系, 电话: + 44 (0) 20 7560 4135 或 Email: zahid.nawaz@utbm. com。

(杨新玲 供稿)