56 种植物抑菌活性筛选试验*

冯俊涛, 石勇强, 张　兴
(西北农林科技大学 无公害农药研究服务中心, 陕西 杨陵 712100)

[摘　要]　以小麦赤霉病菌、番茄灰霉病菌和苹果炭疽病菌为供试菌种, 对 56 种植物的 60 种丙酮提取物进行了抑菌活性筛选。结果表明, 芦苇、龙葵等 35 种提取物对至少 1 种病菌的菌丝生长抑制率大于 60%, 芦苇、胡颓子等 26 种提取物对苹果炭疽病菌孢子的萌发有 60% 以上的抑制作用; 其中莴苣、苍耳、苦参、苦豆子等 8 种植物对供试病菌菌丝生长和苹果炭疽病菌孢子萌发的抑制作用较强, 抑制效果均在 80% 以上, 值得进一步研究开发。

[关键词]　植物源杀菌剂; 抑菌作用; 活性筛选
[中图分类号]　S482.2+92　　[文献标识码]　A　　[文章编号]1000-2782(2001)02-065-04

从植物中寻找抑菌活性物质, 是开发、研制新型杀菌剂的热点之一。Maruzzellahe Balter 对多种精油杀菌活性系统的测试发现, 多种植物香精油能抑制真菌的生长[1], 在多种植物中普遍存在的小孽碱能有效地防治马铃薯晚疫病[2], 李重九等从韭菜中分离出多种具有萘酚结构骨架的抑菌活性化合物[3], 吴恭谦等发现白头翁提取物对小麦赤霉病菌有较强的抑制作用[4]。孟昭礼等从银杏中分离出对植物病原菌有很高活性的化合物, 经结构鉴定、人工模拟合成, 成功开发出"绿帝"农用杀菌剂系列产品[5]。我国西北地区占全国面积的 1/3 以上, 地形和植被非常复杂, 植物类型丰富、独特, 是寻找植物源农药的理想场所。从 1989 年开始张兴等曾对该区的杀虫植物资源进行了系统的调查, 并对分布于该区的 500 余种植物的杀虫活性进行了较为系统的筛选[6,7]。本研究在前期杀虫活性研究基础上, 对选自西北地区的 56 种植物的 60 种丙酮提取物抑菌活性进行了初步筛选, 为充分利用西北地区植物资源, 开发更优良的植物源农药提供线索和理论依据。

1　材料和方法

1.1　供试植物样品

来源　试验所用植物样品为西北农林科技大学无公害农药研究服务中心从西北各地采集, 经 60℃ 烘干、粉碎, 过 40 目筛(孔径 0.37 mm)后于 -45℃ 低温冰箱中保存备用, 详见表 1。

表 1　参试植物样品名录

Table 1　Catalogue of plant tested

学　名 Plant name	供试部位 Tested parts	学　名 Plant name	供试部位 Tested parts
芦苇 *Phragmites communis*	根 Root	车前 *Plantago depressa*	叶 Leaf
鱼藤 *Derris trifoliata*	根皮 Rhizoderm is	锐枝木蓼 *Atraphxis pungens*	茎叶混样 Stem and leaf
胡颓子 *Elaeagnus angustrifolia*	种子 Seed	小果博落回 *Macleaya microcarpa*	根 Root
皂荚 *Gleditsia sinensis*	果 Pod	牛心朴 *Cynanchum komarovii*	全株 The whole
紫穗槐 *Amorpha fruticosa*	花 Flower	花椒 *Zanthoxylum bungeanum*	叶 Leaf
柠条 *Caragana arborescens*	茎叶混样 Stem and leaf	柑桔 *Citrus reticulata*	果皮 Rind
苦参 *Sophora flavescensait*	茎叶混样 Stem and leaf	狼毒 *Stellera chamaejasme*	根 Root
苦豆子 *Sophora alopecuroides*	茎、叶、根 Stem, leaf, root	槭树 *Acer truncatum*	枝叶混样 Branch and leaf
踏郎 *Hedysarum furxicosum*	全株 The whole	梣叶槭 *Acer negundo*	叶 Leaf
蓖麻 *Ricinus communis*	茎叶混样 Stem and leaf	络石 *Trachelosperum jaminoides*	茎叶混样 Stem and leaf
大戟 *Euphorbia pokinensis*	全株 The whole	沙柳 *Salix cheilophila*	枝叶混样 Branch and leaf
泽漆 *Euphorbia helioscopia*	全株 The whole	十大功劳 *Mahonia bealil*	茎叶混样 Stem and leaf
火棘 *Pyracantha fartuncana*	茎叶 Stem and leaf	南蛇藤 *Celastrus orbiculatus*	根皮 Rhizoderm is
石楠 *Photinia serrulata*	叶 Leaf	苦皮藤 *Celastrus angulatus*	根皮 Rhizoderm is
木瓜 *Chaenomeles sinensis*	果实 Drupe	木槿 *Hibiscus syriacus*	叶 Leaf
白头翁 *Pulsatilla chinensis*	根 Root	冬葵 *Malva verticilalta*	全株 The whole

* [收稿日期]　2000-04-07
[基金项目]　国家"九五"攻关项目(96-005-01-12)
[作者简介]　冯俊涛(1967-), 男, 河南登封人, 助理研究员, 主要从事农药学教学和研究工作。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

续表 1 Continue table 1

黄连 *Coptis chinensis*	根状茎 Rhizome	菟丝子 *Cuscuta japonica*	全株 The whole
苦楝 *Melia azedarach*	果实 Fruit	生姜 *Zingiber officinale*	块根 Root tuber
苍耳 *Xanthium sibiricum*	全株 The whole	侧柏 *Biota orientalis*	枝叶混样 Branch and leaf
莴苣 *Lactuca sativa*	全株 The whole	砂地柏 *Sabina vulgaris*	茎、叶、果 Stem, leaf, drupe
旋覆花 *Inula japonica*	全株 The whole	金丝桃 *Hypericum chinense*	枝叶混样 Branch and leaf
千里光 *Senecio scandens*	全株 The whole	胡萝卜 *Daucus carota*	根 Root
蒲公英 *Taraxacum mongolicum*	全株 The whole	芹菜 *Apium graveoleus*	茎 Stem
白术 *Atractylodes macrocephala*	根茎混样 Root and stem	丁香 *Syzygium aromaticum*	枝叶混样 Branch and leaf
万寿菊 *Tagetes erecta*	全株 The whole	酸枣 *Ziziphus jujuba*	果实 Fruit
龙葵 *Solanum nigrum*	全株 The whole	杜仲 *Eucommia ulmoides*	树皮 Bark
番茄 *Lycopersicon esculentum*	茎叶混样 Stem and leaf	百部 *Stemona japonica*	全株 The whole
曼陀罗 *Datura stramonium*	全株 The whole	石榴 *Punica granatum*	果皮 Rind

提取　所有植物样品均分别以冷浸法用丙酮提取 3 次, 提取时间分别为 48, 24, 24 h。合并滤液, 浓缩至质量浓度 1 g/mL, 移装于 10 mL 具塞刻度试管中, 加塞封口, 于冰箱中(0～4 ℃)冷存备用。

1.2　供试菌种

小麦赤霉病菌(*Gibberella zeae* (schw.) Petch), 苹果炭疽病菌(*Glamerella cingulata* (Stonem) Spauld et schrenk), 番茄灰霉病菌(*Botrytis cirerea*)均由西北农林科技大学植物病理研究所提供。

1.3　试验方法

植物样品提取物对病菌菌丝生长和对病菌孢子萌发的抑制作用的测定分别采用生长速率法[8]及悬滴法[9]进行。

2　结果与分析

2.1　植物样品抽提物对几种病菌菌丝生长的抑制作用

以生长速率法测定了 60 种植物样品丙酮抽提物对小麦赤霉病菌、番茄灰霉病菌和苹果炭疽病菌菌丝生长的抑制作用。结果表明, 不同样品对同一病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。表 2 列出了部分活性较高的植物样品(对至少 1 种供试菌抑制率大于 60%)的测定结果。

表 2　植物提取物对 3 种病菌菌丝生长的抑制作用①(72 h)

Table 2　Inhibition of plant extraction on hgpha of 3 kinds of pathogen fungi①　%

样品名称 Sample	小麦赤霉病菌 *G. zeae*		番茄灰霉病菌 *G. cingulata*		苹果炭疽病菌 *B. cirerea*	
	②	③	②	③	②	③
芦苇 *P. communis*	2.24	92.7	0.13	99.6	0.00	100
龙葵 *S. nigrum*	25.34	17.3	22.02	30.0	6.43	71.6
番茄 *L. esculentum*	11.58	62.2	13.27	57.8	16.90	25.3
锐枝木蓼 *A. pungens*	17.56	42.7	11.01	65.0	9.71	57.1
柑桔 *C. reticulata*	10.45	65.9	12.61	59.9	12.99	42.6
狼毒 *S. chamaejasme*	0.00	100.0	2.26	92.8	13.99	38.2
络石 *T. jaminoides*	12.53	59.1	2.11	93.3	13.74	39.3
生姜 *Z. officinale*	12.16	60.3	0.50	98.4	9.14	59.6
金丝桃 *H. chinense*	15.23	50.3	3.68	88.3	17.45	22.9
冬葵 *M. verticilalta*	17.65	42.4	12.27	61.0	9.71	57.1
百部 *S. japonica*	14.43	52.9	17.67	43.8	8.58	62.1
石榴 *P. granatum*	0.89	97.1	8.84	71.9	1.54	93.2
泽漆 *E. helioscopia*	7.69	74.9	12.77	59.4	15.48	31.6
胡萝卜 *D. carot*	23.72	22.6	4.91	84.4	9.96	56.0
芹菜 *D. carot*	10.33	66.3	16.39	47.9	8.76	61.3
槭树 *A. truncatum*	19.89	35.1	11.01	65.0	23.80	0.0
梣叶槭 *A. negundo*	17.16	44.0	10.94	65.2	12.04	46.8
侧柏 *B. Orientalis*	13.57	55.7	0.50	98.4	8.80	61.1
砂地柏(茎) *S. vulgaris* (stem)	11.70	61.8	13.52	57.0	8.78	61.2
砂地柏(叶) *S. vulgari* (leaf)	16.61	45.8	7.58	75.9	16.18	28.5
砂地柏(果) *S. vulgari* (fruit)	15.66	48.9	8.27	73.7	15.64	30.9
胡颓子 *E. angustrifoli*	19.61	36.0	10.88	65.4	1.15	94.9
柠条 *C. arborescens*	16.33	46.7	24.63	21.7	8.89	60.7
苦豆子(茎) *S. alopecuroides* (stem)	22.58	26.3	6.51	79.3	3.78	83.3
苦豆子(叶) *S. alopecuroides* (leaf)	13.39	56.3	8.08	74.3	11.16	50.7
苦豆子(根) *S. alopecuroides* (root)	10.17	66.8	1.60	94.9	2.56	88.7
苦参 *S. flavescensait*	2.08	93.2	0.25	99.2	2.08	90.8

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

续表 2 Continue table 2

鱼藤 *D. trifoliata*	13.39	56.3	6.60	79.0	9.64	57.4
苍耳 *X. Sibiricum*	11.86	61.3	1.01	96.8	0.63	97.2
莴苣 *I. sativa*	0.00	100.0	0.38	98.8	0.00	100.0
旋覆花 *I. japonica*	0.83	97.3	10.72	65.9	9.19	59.4
蒲公英 *T. mongolicum*	19.06	37.8	7.26	76.9	18.56	18.0
白术 *A. macrocephala*	10.17	66.8	8.52	72.9	7.88	65.2
万寿菊 *T. erecta*	12.99	57.6	5.41	82.8	10.27	54.6
苦楝 *M. azedarach*	13.60	55.6	6.26	80.1	6.20	72.6
对照 CK	30.64	—	31.45	—	22.63	—

注: ①所有样品供试浓度均为质量浓度 0.1 g/mL (下表同); ② 菌落直径/mm, 3 次重复之平均数; ③ 抑制率/%。

Note: ① The concentration all are 0.1 g/mL (Following table is just the same); ② The colony diameter is the average of 3 replications; ③ Inhibition rate(%).

由表 2 可知, 在质量浓度为 0.1 g/mL 时, 有 14 种样品对小麦赤霉病菌菌丝生长的抑制率大于 60%, 其中莴苣、狼毒、旋覆花、苦参、石榴、芦苇等 6 种样品表现出强烈的抑制作用, 抑制率均在 90% 以上; 对番茄灰霉病菌, 则有 27 种样品的抑制率大于 60%, 其中芦苇、苦豆(根)、侧柏、苦参、苍耳、生姜、络石、狼毒、莴苣等 9 种样品抑制率均大于 90%; 对苹果炭疽病菌, 供试植物样品中的芦苇、胡颓子、苍耳、莴苣、苦参、石榴等抑制率均高于 90%。另外, 金丝桃和苦楝对番茄灰霉病菌, 苦豆根和茎对苹果炭疽病菌菌丝生长的抑制率均在 80% 以上。对至少 1 种供试菌抑制率大于 80% 者有 17 种(若以植物种类计, 则为 16 种), 对 3 种供试菌中至少 2 种抑制率在 80% 以上的有莴苣、苍耳、苦参、狼毒、苦豆根、芦苇、石榴等 7 种, 而对 3 种菌抑制率均大于 90% 的仅有芦苇、莴苣和苦参 3 种。

2.2　植物样品对苹果炭疽病菌孢子萌发的抑制作用

供试植物样品对苹果炭疽病菌孢子萌发的抑制作用差异较大, 即使同一植物不同部位提取物的活性亦显著不同。表 3 是抑制率大于 50% 样品的测定结果。由表 3 可见, 在质量浓度为 0.1 g/mL 时, 十大功劳、苍耳、莴苣、柑桔、旋覆花、苦豆子根对苹果炭疽病菌孢子的萌发具强烈的抑制作用, 抑制率均大于 90%; 芦苇、木瓜、胡颓子、槭树、白头翁、沙柳、木槿、菟丝子、黄连、砂地柏(果)、苦参、胡萝卜等具较强的抑制作用, 抑制率均在 80% 以上; 蒲公英、狼毒等 11 种样品的抑制率在 50%～80%; 其他样品的抑制率均小于 50%, 而番茄、生姜、侧柏、金丝桃、苦豆子茎和叶、百部、曼陀罗及苦皮藤等 9 种样品对苹果炭疽病菌孢子的萌发甚至还表现出促进作用。

表 3　植物提取物对苹果炭疽病菌孢子萌发的抑制效果(24 h)

Table 3　Inhibition of plant extraction on spore of *Glomerella cingulata*　　%

样品名称 Sample	孢子萌发率 Emergence rate of spore	抑制率 Inhibition rate	样品名称 Sample	孢子萌发率 Emergence rate of spore	抑制率 Inhibition rate
芦苇 *P. communis*	12.1	87.0	苍耳 *X. sibiricum*	7.8	91.6
胡颓子 *E. aAngustrifolia*	17.1	81.6	莴苣 *I. sativa*	5.8	93.8
柠条 *C. arborescens*	38.2	58.9	旋覆花 *I. japonica*	7.4	92.0
苦参 *S. flavescensait*	12.1	87.0	蒲公英 *T. mongolicum*	21.0	77.4
苦豆子 *S. alopecuroides*	2.5	97.3	狼毒 *S. chamaejasme*	25.0	73.1
泽漆 *E. helioscopia*	34.9	62.5	槭树 *A. truncatum*	13.2	85.8
木瓜 *C. sinensis*	10.9	88.3	络石 *T. jaminoides*	23.1	75.2
白头翁 *P. chinensis*	15.5	83.3	沙柳 *S. cheilophila*	14.5	84.4
黄连 *C. chinensis*	11.4	87.7	十大功劳 *M. bealil*	7.5	91.9
柑桔 *C. reticulata*	8.7	90.6	南蛇藤 *C. orbiculatus*	25.0	73.1
龙葵 *S. nigrum*	36.7	60.5	木槿 *H. syriacus*	15.1	83.8
胡萝卜 *D. carot*	17.6	81.1	菟丝子 *C. japonica*	18.2	80.4
芹菜 *A. graveoleus*	45.5	51.1	砂地柏(茎) *S. vulgari*(stem)	20.6	77.8
砂地柏(果) *S. vulgari* (fruit)	13.7	85.3	酸枣 *Z. jujuba*	21.0	77.4
杜仲 *E. ulmoides*	39.6	57.4	对照 CK	93.0	—

注: "孢子萌发率"为 3 次重复之平均数。

Note: The emergence rate of spore is the arerage of 3 replications.

3　讨　论

本研究对 60 种植物丙酮提取物的杀菌活性测试结果肯定存在漏筛现象。也就是说在认为对供试菌无明显效果的样品中, 有的是因为试验方法上的缺欠而没有测出其真正的活性来。原因可能有以下几个方面: ①所有样品在 60～80 ℃条件下烘干这一过程中, 某些具较强挥发性的杀菌有效成分会遗失

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

或被破坏; ②多数参试植物样品在采集时并非枝、叶、花、果、根具全。实际采集时, 草本植物一般采其全株, 木本植物则采其枝、叶。这样难免对某些种类的活性部位因生长季节(如缺花或果)或主观臆断(如多数没有采集根或皮)而没有采上有活性的植株部位; ③为了方便操作, 在样品提取、定容和生物测定整个过程中均只用丙酮作为溶剂。这样不一定能将极性和非极性较强的物质抽提出来; ④本研究是用粗提物进行测试, 但有些植物样品中活性成分甚微, 因而在供试浓度下未表现出较强的活性; ⑤与杀虫剂不同, 对杀菌剂而言有许多品种如乙膦铝、三环唑、噻瘟唑等在离体条件下没有活性, 在活体植物上则表现出极强的抑菌活性[10], 而本研究仅初步进行了离体试验。对于这些问题虽然在初步的筛选中难以避免, 但在以后的研究中应引起注意。

菊科和豆科植物的生物活性应引起重视。本研究筛选出的对至少 1 种供试菌菌丝生长有 80% 以上抑制效果的 16 种植物样品中, 菊科和豆科分别有 4 种和 3 种, 分别占供试品种的 7.1% 和 5.4%; 而对苹果炭疽菌孢子萌发抑制率在 80% 以上的 18 种样品中, 菊科和豆科各占 3 种, 分别均占供试品种的 5.4%。据张兴等[7]研究报道, 在以赤拟谷盗和玉米象为试虫的杀虫活性广泛筛选中, 分别选出 44 和 64 种有效品种, 菊科分别占 10 和 12 种, 豆科则分别有 3 和 7 种。这说明菊科和豆科植物含有较全面的生物活性物质, 在今后研究中值得加以重视。

莴苣、苍耳等 8 种植物的杀菌活性值得进一步研究。测定结果表明, 莴苣、苍耳、苦参、苦豆子(根)、芦苇等 5 种样品对供试 3 种病菌中至少 2 种的菌丝生长抑制作用在 85% 以上, 且对苹果炭疽病菌孢子的萌发也均在 85% 以上, 说明该 5 种植物中所含的杀菌活性成分作用机制较为全面, 既可抑制菌体的生物合成, 也能影响菌体的生物氧化过程, 且杀菌谱较广。对其的深入研究有可能发现新类型的杀菌剂先导化合物, 并开发出新型的植物源杀菌剂。另外, 狼毒、胡颓子和旋覆花等 3 种样品对菌丝生长和孢子萌发亦具有较高的抑制率, 有深入研究之必要。

至于本研究所选出有效样品的杀菌谱、作用方式和作用机制及在活体植物上的杀菌活性, 均有待于进一步研究和探讨。

[参考文献]

[1] 方德秋, 肖顺元. 柠檬醛及香精油的抗菌研究概述[J]. 天然产物研究与开发, 1994, 6(2): 75-78.

[2] Eberhard U. Control of phyto phtbor infestans with berberine[J]. CA, 1984, (101): 72874.

[3] LI Chong-juu, Fukushi, Kawabata Y, et al. Antivirad and antifungal activity of some naphthoquinones isolated from the root of *Lithospermum mery throrhzon*[J]. Journal of Pesticide Science, 1998, 23(1): 54-57.

[4] 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): 21-31.

[5] 孟昭礼, 罗 兰. 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.

[6] 张 兴, 王兴林, 王胜宝, 等. 西北地区杀虫植物资源初步调查[J]. 甘肃农业大学学报, 1993, 28(1): 93-98.

[7] 张 兴, 杨崇珍, 王兴林. 西北地区杀虫植物筛选[J]. 西北农业大学学报, 1999, 27(2): 22-28.

[8] 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, 1987. 141-145.

[9] 方仲达. 植病研究方法[M]. 第 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998. 152.

[10] 林孔勋. 杀菌剂毒理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995. 68-74.

Screening studies on fungistasis of 56 plant extracts

FENG Jun-tao, SHI Yong-qiang, ZHANG Xing

(*Biorational Pesticides Research and Service Center, Northwest Science and Technology University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi* 712100, *China*)

Abstract: The fungistasis of 56 plant acetone extracts were tested with *Gibberella zeae*, *Glomerella cingulata* and *Botrytis cirerea* under separete cultivating conditions. Results showed that 35 plant extracts had more than 60% inhibiting rates to the hypha growth of at least one species of tested fungi, such as *Phragrnites communes*, *Solanum nigrum* etc. 26 plant extracts, including *Phragrnites communis*, *Elaeagnus angustrifolis* etc, had more than 60% inhibiting rates to the spore sprouting of *Glomerella cingulata*, and among them, the rates of 8 plant extracts were more than 80%, such as *Lactuca sativa*, *Xanthium sibiricum*, *Sophora flavescensait*, *Sophora alopecaroides*, *Phragrnites communis* etc.

Key words: botanical fungicides; fungistasis; bioactivity-screening

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net