

几种菊科植物杀菌活性的初步研究*

李玉平¹, 慕小倩¹, 冯俊涛², 张 兴²

(1 西北农林科技大学 生命科学学院; 2 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(*Gibberella zeae* (schw.) Petch)、番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea* Pers et Tris)、辣椒疫霉病菌(*Phytophthora capsici* Leon)、苹果炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)、玉米大斑病菌(*Exserohilum turcicum* Leonard) 5种病原真菌为供试菌种, 对菊科15属25种植物的丙酮提取液进行抑菌活性筛选。结果表明, 除蒙山萹苣和千里光2种植物外, 其他23种植物的提取液对至少1种供试菌种有60%以上的抑制作用。臭蒿、大花金挖耳、猪毛蒿3种植物提取液对5种供试菌种的菌丝生长抑制率大于70%; 大花金挖耳、猪毛蒿、天明精、苍耳、蓼子朴等5种植物样品对5种供试菌种的孢子萌发抑制率大于93%; 尤其是大花金挖耳、猪毛蒿2种植物样品的提取液对5种供试菌种的菌丝生长和孢子萌发的抑制率均大于70%, 值得进一步研究开发。

[关键词] 菊科植物; 抑菌作用; 活性筛选

[中图分类号] Q 949. 96

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-2782(2002)01-0068-05

从植物中寻找杀菌、抑菌活性物质是开发、研制无公害新型杀菌剂的热点之一^[1]。早在1989年, Wilkins和Board就撰文报道有1389种植物有可能作为杀菌剂, 其中包含了许多不同类型的化合物, 有一篇简短的综述介绍了此类天然杀菌剂实际应用的可能性^[2]。Maruzzella和Baltel对多种植物精油活性系统的测试发现多种植物精油能抑制真菌的生长^[3]。孟昭礼等^[4]、吴恭谦^[5]发现银杏叶、白头翁植株的提取液都有抑菌作用, 冯俊涛等^[6]、钮绪燕等^[7,8]、吴文君等^[9]分别对芦苇等56种植物以及虎儿草科和楝科植物提取液的抑菌作用作了较深入的研究。而目前已知具有抗菌活性的植物有效成分结构类型较多, 如生物碱、萜类、黄酮、酚、醇和酯等, 几乎涉及各类植物成分^[10]。目前孟昭礼等^[4]从银杏中分离出对植物病原菌有很高活性的化合物, 经过结构鉴定、人工模拟合成, 已开发出“绿帝”农用杀菌剂系列产品。菊科植物是被子植物中最大的一个科, 约1000属, 25000~30000种, 广布全球, 分布于我国的有240属, 2300种之多。其植物成分的复杂性和多种性均居植物界首位, 总计30余类, 几乎包括了所有天然化合物类型。菊科植物不仅都含有黄酮, 并且大多含有挥发油和三萜烯。菊科植物最突出的特点是含有两类独有的天然产物的结构类型, 即倍半萜内酯和许多不同类型的炔类化合物

(Acetylenes)。前者对许多昆虫有拒食作用, 后者则具有对多种生物有机体有光活化毒杀作用的特点^[11]。最著名的是以天然除虫菊中的除虫菊素为先导化合物, 然后类推合成, 成功地开发出当今几十个高效拟除虫菊酯杀虫剂, 但菊科植物在杀菌剂方面的研究只见零星报道, 而且不系统, 为此笔者随机选用菊科15属25种植物的丙酮提取液对5种重要农作物病原真菌进行抑菌活性的初步系统筛选研究, 现将研究结果小结如下。

1 材料与方 法

1.1 供试植物样品

1.1.1 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1999年采自甘肃张掖、陕西秦岭等地, 经阴干或烘干(60℃)后粉碎, 过0.542mm(30目)筛, 然后于-30℃冰箱中保存备用(样品详情见表1)。

1.1.2 植物样品的提取 取粉碎的植物样品各20g, 室温下用丙酮冷浸振荡提取3次, 提取时间分别为3, 2, 1d, 合并滤液, 浓缩至1g/mL, 移装于20mL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.)

* [收稿日期] 2001-05-25

[基金项目] 国家“九五”科技攻关项目(96-005-12)

[作者简介] 李玉平(1970-), 男, 宁夏中宁人, 讲师, 硕士, 主要从事植物学及药用植物资源学的教学和研究工作。

Petch)、番茄灰霉病菌 (*B otrytis cirerea* Pers et Tris)、辣椒疫霉病菌 (*P hytophthora capsici* Leon)、苹果炭疽病菌 (*G lam arella cingulata*)、玉米大斑病

菌 (*Ex serohilum turcicum* Leonard), 均由西北农林科技大学植物病理研究所提供。

表 1 参试菊科植物样品名录

Table 1 Catalogue of compositae plants tested

属名 Genus	种名 Species	供试部位 Tested parts
蒿属 <i>A rtemisia</i> L.	大籽蒿 <i>A. sieversiana</i> Willd	全株 The whole
	臭蒿 <i>A. hedinii</i> O stenf	根、茎、叶混样 Root, stem, leaf
	黄花蒿 <i>A. annua</i> L.	全株 The whole
	万年蒿 <i>A. gmelinii</i> W eB, ex stechn	全株 The whole
	艾蒿 <i>A. argyleva</i> et vant	根、茎、叶混样 Root, stem, leaf
	苦蒿 <i>A. conyzablinii</i> levl	全株 The whole
	猪毛蒿 <i>A. Scoparia</i> Waldst et kit	全株 The whole
	灰袍蒿 <i>A. roxburghiana</i> Bess	全株 The whole
	蒙山茵苣 <i>L. tatarica</i> (L.) C A Mey	全株 The whole
	一年蓬 <i>E. annuus</i> (Linn) Pers	全株 The whole
鬼针草属 <i>B idens</i> L.	小花鬼针草 <i>B. parviflora</i> Willd	全株 The whole
	狼把草 <i>B. tripartita</i> Linn	全株 The whole
苍耳属 <i>X anthium</i> L.	苍耳 <i>X. sibiricum</i> Patrln	全株 The whole
向日葵属 <i>H elianthus</i> L.	菊芋 <i>H. tuberosus</i> L.	根、茎、叶混样 Root, stem, leaf
刺儿菜属 <i>C ephalanoplos</i> Neck	大刺儿菜 <i>C. setosum</i> (Willd) Kitam	全株 The whole
	天明精 <i>C. abrotanoides</i> L.	全株 The whole
天明精属 <i>C arpesium</i> L.	大花金挖耳 <i>C. macrocephalum</i> Franch et Sav	全株 The whole
狗娃花属 <i>H eteropappus</i> Less	阿尔泰狗娃花 <i>H. altaicus</i> (Willd) Novopokr	全株 The whole
千里光属 <i>S enecio</i> L.	千里光 <i>S. scandens</i> Buch Ham	全株 The whole
花花柴属 <i>K arelinia</i> Less	花花柴 <i>K. Caspia</i> (Pall) Less	全株 The whole
旋覆花属 <i>Inula</i> L.	旋覆花 <i>I. japonica</i> Thunb	全株 The whole
	蓼子朴 <i>I. Salsoloides</i> (Turcz) O stenf	全株 The whole
紫菀木属 <i>A sterothanus</i>	中亚紫菀木 <i>A. centrali-asiaticus</i> Novopokr	根、茎、叶混样 Root, stem, leaf
顶羽菊属 <i>A cropilton</i>	顶羽菊 <i>A. repens</i> (L.) DC	全株 The whole
华蟹甲草属 <i>S inacalia</i> H. Robins et Brettell	羽裂华蟹甲草 <i>S. tungutica</i>	根、茎、叶混样 Root, stem, leaf

1.3 试验方法

测定供试样品对病菌菌丝生长和孢子萌发的抑制作用采用生长速率法^[12]和悬滴法^[13], 供试药液定容为 0.1 g/mL。

2 结果与分析

以生长速率法和悬滴法测定供试样品对小麦赤霉、番茄灰霉、苹果炭疽、辣椒疫霉、玉米大斑 5 种病原菌菌丝生长和孢子萌发的抑制作用。结果(表 2)表明, 不同属植物样品对同一病原菌的抑菌活性差异很大, 同属植物样品对不同供试菌种的活性亦存在显著差异。

2.1 对 5 种病原真菌菌丝生长的抑制作用

由表 2 可见, 当质量浓度为 0.1 g/mL 时, 猪毛蒿、大花金挖耳、臭蒿 3 种样品对番茄灰霉病菌菌丝

生长表现出极强的抑制作用, 抑制率均在 70% 以上; 对小麦赤霉病菌, 则有 10 种样品对其菌丝的生长有抑制作用, 其中抑制率在 90% 以上的有猪毛蒿、中亚紫菀木、大花金挖耳、天明精和臭蒿; 对玉米大斑病菌有抑制作用的有 14 种植物样品, 其中抑制率在 90% 以上的有狼把草、蓼子朴、大花金挖耳、天明精、臭蒿 5 种植物样品; 对辣椒疫霉病菌菌丝生长有抑制作用的有 16 种样品, 其中抑制率在 90% 以上的有苦蒿、菊芋、顶羽菊、蓼子朴、大花金挖耳、天明精 6 种植物样品; 对苹果炭疽病菌菌丝生长有抑制作用的有 8 种植物样品, 抑制率在 90% 以上的只有大花金挖耳 1 种。可以看出, 对 5 种供试病原菌菌丝生长有 60% 以上抑菌作用的有臭蒿、大花金挖耳、猪毛蒿 3 种植物样品, 因此这 3 种植物值得进一步研究。

表 2 菊科植物提取液对 5 种供试菌种菌丝生长和孢子萌发的抑制作用

Table 2 Inhibition of compositae plant extraction on hypha and gemination of spores of 5 kinds of pathogen fungi

植物样品 Tested plants	抑制率/% Inhibition									
	番茄灰霉 <i>B. cinerea</i>		小麦赤霉 <i>G. zeae</i>		辣椒疫霉 <i>P. capsici</i>		苹果炭疽 <i>G. cingulata</i>		玉米大斑 <i>E. turcicum</i>	
大籽蒿 <i>A. sieversiana</i> Thunb	26.56	23.81	55.64	18.24	83.87	68.24	59.07	50.00	28.10	4.93
黄花蒿 <i>A. annua</i>	28.12	0.00	5.23	25.92	16.13	55.56	27.69	100.00	50.98	2.11
臭蒿 <i>A. hedini</i> O stenf	89.84	100.00	100.00	14.04	87.09	63.63	84.67	99.96	100.00	4.77
万年蒿 <i>A. gmelinii</i> Web ex stechm	45.45	28.80	54.84	50.00	78.89	98.78	81.92	96.00	64.05	1.10
艾蒿 <i>A. argri</i> Lev et vanl	43.75	46.60	68.60	35.18	49.52	62.96	45.94	94.00	60.78	40.20
苦蒿 <i>A. conyza blinii</i> Levl	27.27	8.57	60.33	7.41	96.85	16.66	2.52	20.00	16.33	5.55
猪毛蒿 <i>A. scoparia</i> Waldst et kit	70.83	100.00	100.00	100.00	77.42	100.00	82.31	100.00	78.21	100.00
灰袍蒿 <i>A. roxburghiana</i> Bess	12.50	3.89	70.25	23.23	49.52	4.04	9.52	80.00	78.86	0.00
蒙山莴苣 <i>L. tatarca</i> (L.) C. A. May	24.87	42.86	0.00	33.33	22.71	0.00	37.52	0.00	8.40	20.71
一年蓬 <i>E. annuus</i> (linn) pers	31.25	100.00	16.79	25.25	61.21	74.07	28.90	50.00	15.38	9.79
小花鬼针草 <i>B. parviflora</i> Willd	55.81	3.89	30.58	25.92	84.23	74.07	5.88	50.00	60.78	18.58
狼把草 <i>B. tripartita</i> linn	1.009	0.00	47.12	23.61	26.39	62.96	26.19	80.00	100.00	99.96
苍耳 <i>X. sibiricum</i> Patrln	38.63	100.00	37.19	100.00	66.88	88.88	57.55	100.00	71.24	100.00
菊芋 <i>H. tuberosus</i> L.	40.62	1.64	60.06	0.00	91.59	47.71	3.57	60.00	32.46	12.42
大刺儿菜 <i>C. setosum</i> (Willd) Kitam	1.00	35.23	29.48	8.12	16.93	0.00	0.83	0.00	10.67	100.00
千里光 <i>S. scandens</i> Buch Ham	15.63	3.71	13.88	7.41	43.22	16.66	5.95	20.00	10.67	55.52
天明精 <i>C. abrotanoides</i> L.	59.37	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	71.25	100.00	100.00	100.00
大花金挖耳 <i>C. macrocephalum</i> Franch	86.36	100.00	100.00	100.00	98.42	100.00	90.00	100.00	100.00	100.00
阿尔泰狗娃花 <i>H. altaicus</i> (Willd) Novopokr	9.37	3.10	23.42	0.00	58.06	22.22	26.67	80.00	25.93	0.00
花花柴 <i>K. cuspidata</i> (Pall) Less	1.56	29.26	1.00	0.00	65.30	25.92	9.17	50.00	25.93	0.00
旋覆花 <i>L. japonica</i> Thunb	14.29	100.00	61.98	35.56	49.53	77.78	0.10	96.00	21.56	9.94
蓼子朴 <i>L. salsoloides</i> (Turcz) O. ston	42.06	92.59	52.69	100.00	100.00	95.55	67.86	99.96	100.00	100.00
中亚紫菀木 <i>A. centralasiaticus</i>	30.73	0.00	100.00	77.78	64.24	4.14	70.00	60.00	77.12	77.99
顶羽菊 <i>A. repens</i> (L.) DC	45.45	0.00	48.39	92.83	100.00	73.85	63.33	96.00	73.85	100.00
羽裂华蟹甲草 <i>S. tangutica</i>	9.09	0.00	41.94	23.98	60.04	0.00	17.86	10.00	36.81	13.36

注: 所有供试样品质量浓度均为 0.1 g/mL, 其中 为菌丝生长抑制率, 为孢子萌发抑制率。

Note: The concentration of all tested samples is 0.1 g/mL, Inhibition rate (%) of hypha, inhibition rate (%) of spore

2.2 对 5 种病原菌孢子萌发的抑制作用

由表 2 可见, 当质量浓度为 0.1 g/mL 时, 猪毛蒿、旋覆花、蓼子朴、大花金挖耳、天明精、苍耳、臭蒿、一年蓬 8 种植物样品对番茄灰霉病菌孢子有 90% 以上的抑菌作用; 猪毛蒿、顶羽菊、蓼子朴、大花金挖耳、天明精、苍耳 6 种样品对小麦赤霉病菌孢子萌发有 90% 以上抑制作用; 猪毛蒿、狼把草、大刺儿菜、顶羽菊、蓼子朴、大花金挖耳、天明精、苍耳 8 种植物样品对玉米大斑病菌孢子萌发抑制率在 90% 以上; 黄花蒿、蓼子朴、大花金挖耳、天明精、苍耳、万年蒿、臭蒿等 11 种植物样品对苹果炭疽病菌孢子萌发抑制率在 90% 以上; 大籽蒿、猪毛蒿、蓼子朴、大花金挖耳、天明精 5 种植物样品对辣椒疫霉病菌孢子萌发有 90% 以上的抑制作用。猪毛蒿、天明精、大

花金挖耳、苍耳、蓼子朴 5 种植物样品对 5 种真菌具有 93% 以上的抑制率, 值得进一步研究。

3 讨论

从菊科 15 属 25 种植物丙酮提取液对 5 种供试病原菌离体生物活性的测试结果可以看出, 菊科植物有广泛的杀菌活性。旋覆花属的蓼子朴和旋覆花有很强的抑菌作用, 旋覆花在菌丝生长抑制方面虽效果不明显(只抑制小麦赤霉病菌), 但在抑制真菌孢子萌发中, 表现了较好的抑菌活性, 应当进一步研究。苍耳属的苍耳同旋覆花活性类似, 在抑制真菌孢子萌发方面显示了极强的抑菌活性, 这同冯俊涛等^[6]的试验结果有相似性。蒿属中的猪毛蒿和臭蒿不但抑制了供试病菌菌丝的生长, 而且也抑制了多

种孢子的萌发, 值得深入研究; 其次, 万年蒿在整个离体生测中也呈现了极强的抑菌作用, 应当继续进行研究。明显有研究价值的是天明精属的大花金挖耳和天明精 2 种植物样品, 他们不但对 5 种真菌菌丝生长有很高的抑制率, 而且对 5 种真菌孢子萌发也有 100% 的抑制率。此外, 可看出对菌丝生长有抑制作用的植物样品不一定对孢子萌发有强的抑制作用, 反之亦然, 但猪毛蒿、天明精、大花金挖耳 3 种植物样品在离体生测条件下都有很高的抑制率, 值得深入研究。

通过菊科植物杀菌活性的研究, 笔者认为菊科植物在系统分类中处于最进化的位置, 种类最多, 分布全球^[14], 这与菊科植物化学成分的生理活性、合成途径、结构、代谢等有关。乐海洋^[11]详尽地讨论了菊科植物的化学成分倍半萜内酯、多聚炔和噻吩的生物活性、构效关系与作用机制以及色烯和苯并呋喃的生物活性与作用机制, 从侧面证实了菊科植物含有大量杀虫活性成分; 众所周知的著名杀虫植物——除虫菊, 现已被仿生合成了一系列高效低毒的拟除虫菊酯类杀虫剂, 这是研究天然产品杀虫作用最成功的例子之一。这些活性成分使菊科植物本身得到了保护, 有利于他们的生存和繁衍。关于菊科植物体内的杀菌活性成分物质的研究也已受到了人们的重视^[15]。笔者选用的 15 属 25 种菊科植物中有 92% 对至少 1 种供试菌有抑制作用, 这与它几乎含有各种成分的杀菌活性物质有关^[10, 15]。在研究中发现天名精属、蒿属、苍耳属、旋覆花属植物都有较强抑菌活性, 这在活体试验中也得到了证实, 其中蒿属的猪毛蒿离体有效, 而活体无效(另文发表), 但它有很强的杀虫活性^[16], 鬼针草属的狼把草和小花鬼针草具有相似的活性。可见菊科植物体内含有大量的杀虫和杀菌活性成分, 而且同属植物的活性有相似

性, 这可能与同属植物具有相似的酶系统而产生相似的化学成分有关^[17]。另外菊科植物不论是从植物体内化学成分的含量及结构(菊科植物化学成分多而复杂), 还是从植物成分(它具有倍半萜内酯和炔类)在植物界的分布或代谢过程(二次成分多且杂以及异常二次成分多)进行分类, 都能从植物化学分类角度显示菊科植物的进化性, 从而奠定它的分类地位。同时应用菊科植物在植物化学中的分类地位, 可以更好地开发利用菊科植物资源。

当然, 在本研究中可能会存在漏筛现象, 也就是说对供试菌无明显效果的样品中, 有可能是因为试验方法上的欠缺而没有测出其真正活性来。笔者认为原因有以下几点: (1) 大多数样品在 60 条件下烘干这一过程中, 某些具杀菌作用的挥发性成分或有效成分会损失或分解; (2) 本研究在离体生测中只选用了 5 种供试真菌作为供试样品的筛选介质, 而已知在植物界没有一种植物能够抵御所有病原菌的侵害, 也没有一种病原菌能够侵害所有的植物, 因此选 5 种供试真菌仍会存在漏选现象; (3) 供试样品是在 8 月采集的, 并且全株提取会掩盖植物某个活性部位; (4) 试验过程中都用丙酮作为溶剂, 可能导致一些非极性和强极性化学活性成分的漏提; (5) 本研究用粗提液进行测试, 某些含量少但有活性的物质就难以表现活性; (6) 对杀菌而言离体条件下无效的提取液, 可能会在活体上表现活性, 正如乙磷铝、三环唑、咯瘟唑等只在活体上表现活性^[18], 笔者在菊科植物的进一步研究中, 已发现大刺儿菜和顶羽菊等离体无效, 而活性有效(另文发表)。因此, 在以后的研究中应注意除了采集那些病虫害少且没有喷洒过农药的植物样品外, 还应当做活体试验以及杀菌物质的作用方式和作用机制研究。

[参考文献]

- [1] 张 兴 试论无公害农药[J] 西北农业大学学报, 1995, 23(6): 90- 95
- [2] 吴轶青 使用天然抗菌化合物保护作物[J] 农药译丛, 1996, 18(3): 9- 12
- [3] 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
- [4] 孟昭礼, 罗 兰 人工模拟杀菌剂绿帝对八种病原菌的室内生测[J] 莱阳农学院学报, 1998, 15(3): 159- 162

- [5] 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.
- [6] 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- 66
- [7] 钮绪燕, 吴文君, 刘虎岐, 等 虎儿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
- [8] 钮绪燕, 吴文君, 丁 伟, 等 新杀菌剂霜疫必克的室内毒力及大田药效[J]. 西北农业学报, 1996, 5(2): 61- 65
- [9] 吴文君, 刘惠霞, 朱靖博, 等 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, 1997.
- [10] 范青山, 肖小年, 余世望 我国抗菌植物资源研究与开发利用[J]. 自然资源, 1995, (16): 20- 24
- [11] 乐海洋 菊科杀虫植物化学及毒理学[J]. 农药译丛, 1997, 19(3): 32- 38
- [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 植物研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996
- [14] 林有润 中国菊科植物系统分类与区系的初步研究[J]. 植物研究, 1997, 17(1): 6- 17.
- [15] 李玉平 菊科植物杀菌活性系统筛选的初步研究[D]. 陕西杨陵: 西北农林科技大学生命科学院, 2001.
- [16] 徐汉虹, 赵善欢, 周 俊 猪毛蒿精油杀虫有效成分[J]. 昆虫学报, 1994, 37(4): 411- 416
- [17] 陈孝泉 植物化学分类学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1989.
- [18] 林孔勋 杀菌剂毒理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.

Primary study on the fungicidal activity of compositae plants

L I Y u - p i n g¹, M U X i a o - q i a n¹, F E N G J u n - t a o², Z H A N G X i n²

(1 College of Life Sciences, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, 2 Biorational Pesticides Research and Service Centre, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The fungistasis of the 15 genera 25 species compositae plant samples extracts were tested in vitro with *Botrytis cinerea*, *Gibberella zea*, *Phytophthora capsici*, *Glomerella cingulata* and *Exserohilum frugis*. The results showed that the extracts of 20 plants extracts had more than 60% inhibiting rates at least to one species of tested fungi, such as *A. sieversiana* Thunb., *A. conyza blinii* Lev., *A. argrole* et vanl etc; 70% to the hypha growth of 5 tested fungus, such as *A. hedinii* O stenf, *C. macrocephalum* Franch. et sar, *A. scoparia* Waldst et kit L.; that the acetone extracts of 5 plants antifungal rates are more than 93% to the spores sprouting of 5 tested fungus, such as *C. macrocephalum* Franch et Sav, *A. scoparia* Waldst et kit, *C. abrotanoides* L., *X. sibiricum* Patrin L. *salsoloides* (Turcz) O. ston etc. Especially, the extracts from *C. macrocephalum* Franch et sar, *A. scoparia* Waldst et kit L. had more than 70% inhibiting rates to the hypha growth and the spore sprouting of 5 tested fungus.

Key words: compositae plants; fungistasis; bioactivity-screening