

32 种植物提取物的离体抑菌活性测定^{*}

邵红军, 冯俊涛, 韩 静, 李广泽, 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] 用琼胶平板法和悬滴法, 测试了 32 种植物丙酮提取物对小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum* Schw.)、苹果炭疽病菌(*Glaenerella cingulata* (Stonem) Schr. et Spaud.)、辣椒疫霉病菌(*Phytophthora capsici* Leon.)、番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea* Pers.)和玉米大斑病菌(*Exserohilum turcicum* Pass.)等 5 种病原真菌的离体抑制活性。结果表明, 在供试质量浓度为干样 0.1 g/mL 时, 对 2 种或 2 种以上供试菌种菌丝生长的抑制作用达 60% 以上的植物样品有铁杆蒿(叶)、蒙古蒿(茎叶)、小白酒草(叶)、紫苞风毛菊、牛蒡、太白山蟹甲草和苦参(根)等 7 种, 其中紫苞风毛菊和苦参(根)对 4 种供试病菌的菌丝生长有明显的抑制作用, 蒙古蒿(茎叶)对小麦赤霉病菌和番茄灰霉病菌孢子萌发有较高的抑制活性, 值得进一步研究。

[关键词] 植物源杀菌剂; 抑菌活性; 生物活性物质筛选
[中图分类号] S482.2⁺92 [文献标识码] A [文章编号] 1671-9387(2003)06-0059-04

植物源农药的研发倍受人们的关注与青睐, 从植物中寻找农药活性物质以研究开发植物源农药是目前农药研究领域的热点之一。我国西部地区地域辽阔, 植物资源丰富, 在植物源农药研究开发方面拥有明显的资源优势。在对西北地区 500 多种植物杀虫活性系统筛选的基础上^[1], 西北农林科技大学无公害农药研究服务中心从 1998 年至今已对该区 200 余种植物的杀菌活性进行了初步筛选^[2]。本研

究在此基础上进一步拓宽筛选范围, 对新采到的 32 种植物的杀菌活性进行了测试, 现将结果总结如下。

1 材料与方法

1.1 供试植物样品

供试植物样品共 3 科 17 属(表 1), 由西北农林科技大学无公害农药研究服务中心提供。

表 1 供试植物样品
Table 1 Samples of plants tested

科 名 Family	属 名 Genus	种名 Species	供试部位 Tested parts
菊科 Compositae	蒿属 <i>Artemisia</i>	铁杆蒿 <i>A. gmelinii</i> Web. ex Stechm.	根、茎、叶 Stem, leaf, root
		茵陈蒿 <i>A. capillaris</i> Thunb.	全株 Whole plant
		蒙古蒿 <i>A. mongolica</i> Fisch.	茎叶、根 Stem, leaf, root
		野糖蒿 <i>A. selengensis</i> Turcz.	全株 Whole plant
		狭叶艾蒿 <i>A. argyi</i> var. <i>gracilis</i> Pamp.	全株 Whole plant
	白酒草属 <i>Conyza</i>	小白酒草 <i>C. canadensis</i> (L.) Cronq.	茎、叶、花 Stem, leaf, flower
	祁洲漏芦属 <i>Rhaponticum</i>	祁洲漏芦 <i>R. uniflorum</i> (L.) DC.	全株 Whole plant
	风毛菊属 <i>Saussurea</i>	紫苞风毛菊 <i>S. iodostegia</i> Hance	全株 Whole plant
	牛蒡属 <i>Atractium</i>	牛蒡 <i>A. lappa</i> L.	全株 Whole plant
	火绒草属 <i>Leontopodium</i>	薄雪火绒草 <i>L. japonicum</i> Miq.	全株 Whole plant
	蟹甲草属 <i>Cacalia</i>	长穗蟹甲草 <i>C. longispica</i>	全株 Whole plant
		太白山蟹甲草 <i>C. pilgeriana</i>	全株 Whole plant
		两似蟹甲草 <i>C. ambigua</i>	全株 Whole plant
	和尚菜属 <i>Denocaulon</i>	和尚菜 <i>A. himalaicum</i> Edgew.	全株 Whole plant
	橐吾属 <i>Ligularia</i>	太白山橐吾 <i>L. dolichobotrys</i> Diels	全株 Whole plant
	紫苑属 <i>Aster</i>	三褶脉紫苑 <i>A. ageratoides</i> Turcz.	全株 Whole plant
		紫苑 <i>A. tataricus</i> L.	全株 Whole plant
	苦苣菜属 <i>Sonchus</i>	苦苣菜 <i>S. arvensis</i> L.	全株 Whole plant
	兔儿伞属 <i>Syneilesis</i>	兔儿伞 <i>S. aconitifolia</i>	全株 Whole plant

^{*} [收稿日期] 2002-12-15
[基金项目] 国家“十五”攻关重大专项资助项目(2002BA516A 04)
[作者简介] 邵红军(1977-), 男, 甘肃天水人, 在读硕士, 主要从事植物源农药的研究。E-mail: shjxue@sina.com
[通讯作者] 冯俊涛(1967-), 男, 河南登封人, 副教授, 主要从事植物化学保护和农药的研究。E-mail: fengjt67@sohu.com

续表 1 Continue Table 1

豆科 Leguminosa	槐属 <i>Sophora</i>	苦参 <i>S. flavescens</i> Ait	根 Root
	苦马豆属 <i>Sphaerophysa</i>	苦马豆 <i>S. salsula</i> (Pall.) DC.	果、茎 Seed, root
	胡枝子属 <i>L. espedeza</i>	截叶铁扫帚 <i>L. cuneata</i>	全株 Whole plant
毛茛科 Ranunculaceae	唐松草属 <i>Thalictrum</i>	唐松草 <i>T. aquilegifolium</i> L.	全株 Whole plant
		粗壮唐松草 <i>T. robustum</i> Maxim.	全株 Whole plant
	铁线莲属 <i>Clematis</i>	美花铁线莲 <i>C. potaninii</i> Maxim.	全株 Whole plant
		银色铁线莲 <i>C. argenticulida</i>	全株 Whole plant

供试植物样品的前处理和提取均参照冯俊涛等^[3]的方法进行,植物提取物以丙酮定容至质量浓度相当于干样 1 g/mL,标记后低温保存备用。

1.2 供试菌种

供试菌种有 5 种,分别为小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum* Schw)、苹果炭疽病菌(*Gloeosporium angulata* (Stonem) Schr et Spauld)、辣椒疫霉病菌(*Phytophthora capsici* Leon.)、番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea* Pers)和玉米大斑病菌(*Exserohilum turcicum* (Pass) Leonard & Suggs),均由西北农林科技大学无公害农药研究服务中心提供。

1.3 试验方法

以琼脂平板法^[4,5]测定植物样品对 5 种病原菌菌丝生长的抑制作用;以悬滴法^[5,6]测定植物样品对小麦赤霉病菌、苹果炭疽病菌、番茄灰霉病菌和玉米大斑病菌 4 种病原菌孢子萌发的抑制作用。重复 3 次,取平均值。根据下列公式计算抑制率:

菌落生长直径= 两次直径平均值- 4.0 mm

菌丝生长抑制率= (对照菌落生长直径- 处理菌落生长直径)/对照菌落生长直径 × 100%

萌发率= 孢子萌发数/检查孢子总数 × 100%

孢子萌发抑制率= (对照萌发率- 处理萌发率)/对照萌发率 × 100%

2 结果与分析

2.1 对 5 种病原菌菌丝生长的抑制作用

由表 2 可知,当供试质量浓度为干样 0.1 g/mL 时,供试植物样品对病原菌的菌丝生长均有一定的抑制作用。小白酒草(叶)、紫苞风毛菊、三褶脉紫苑、苦参(根)等 4 种植物提取物对小麦赤霉病菌菌丝生

长有明显的抑制作用,其抑制率均高于 60%;对玉米大斑病菌菌丝生长的抑制率在 60% 以上的有铁杆蒿(叶)、蒙古蒿(茎、叶)、紫苞风毛菊、牛蒡、太白山蟹甲草、苦参(根)和苦马豆(果)等 7 种植物提取物,其中,苦参(根)的抑制率为 96.86%;对番茄灰霉病菌菌丝生长的抑制效果较明显的仅有苦参(根),其抑制率为 66.09%,其余样品的效果均不明显;铁杆蒿(叶)、紫苞风毛菊、太白山蟹甲草和苦参(根)等 4 种植物提取物均对苹果炭疽病菌菌丝生长有一定的抑制作用,但其抑制率均在 60%~70%;大多数供试样品对辣椒疫霉病菌菌丝生长有明显的抑制作用,小白酒草(叶、茎)、长穗蟹甲草、薄雪火绒草、截叶铁扫帚等 15 种植物提取物的抑制率均大于 60%,其中,蒙古蒿(茎、叶、根)、狭叶艾蒿、小白酒草(花)、祁洲漏芦、紫苞风毛菊、牛蒡、太白山蟹甲草、太白山囊吾和苦参(根)等 10 种提取物对其菌丝生长的抑制率为 100%。

2.2 对 4 种病原菌孢子萌发的抑制作用

由表 2 可见,在供试质量浓度为干样 0.1 g/mL 时,大部分供试样品对病菌孢子无明显的抑制作用。

供试 32 种植物提取物中,仅有茵陈蒿、蒙古蒿(茎、叶)、狭叶艾蒿、祁洲漏芦、牛蒡、长穗蟹甲草、太白山囊吾和紫苑等 8 种样品对小麦赤霉病菌孢子萌发有明显的抑制效果,其中茵陈蒿、狭叶艾蒿、牛蒡和蒙古蒿(茎、叶)的抑制率为 100%;对番茄灰霉病菌孢子萌发有明显抑制作用的植物样品只有蒙古蒿(茎、叶)和小白酒草(茎),抑制率分别为 71.73% 和 61.73%;而所有供试样品对玉米大斑病菌和苹果炭疽病菌孢子萌发均无明显的抑制活性。

表 2 植物样品提取物的离体抑菌活性

Table 2 The antifungal rate of the extracts of the tested plants									%
供试植物样品 Tested plants	抑制率 Inhibition rate								
	小麦赤霉病菌 <i>F. gramineum</i>		玉米大斑病菌 <i>E. turcicum</i>		苹果炭疽病菌 <i>G. cinqualata</i>		番茄灰霉病菌 <i>B. cinerea</i>		辣椒霉霉病菌 <i>P. capsici</i>
	a(72 h)	b(24 h)	a(72 h)	b(24 h)	a(72 h)	b(24 h)	a(72 h)	b(24 h)	a(72 h)
铁杆蒿(根)	37.29	24.80	51.21	0.0	56.90	0.0	29.09	30.92	36.34
<i>A. gmelinii</i> (root)									
铁杆蒿(茎)	54.46	3.85	48.53	3.52	33.19	7.70	18.76	0.0	57.10
<i>A. gmelinii</i> (stem)									
铁杆蒿(叶)	54.78	16.17	72.39	0.0	64.01	10.61	12.74	46.80	38.37
<i>A. gmelinii</i> (leaf)									
茵陈蒿	0.0	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	11.78	0.0	44.10
<i>A. capillaris</i>									
蒙古蒿(根)	17.93	16.19	11.84	0.0	41.71	0.0	0.0	4.20	100.00
<i>A. mongolica</i> (root)									
蒙古蒿(茎、叶)	50.20	100.0	91.06	42.03	45.19	7.88	38.64	71.73	100.00
<i>A. mongolica</i> (leaf, stem)									
野糖蒿	42.62	30.13	36.47	0.0	43.49	0.0	16.01	0.0	48.25
<i>A. selengensis</i>									
狭叶艾蒿	54.46	100.0	54.42	21.52	38.80	0.0	0.0	0.0	100.0
<i>A. argyi</i> var. <i>gracilis</i>									
小白酒草(叶)	71.43	48.66	53.08	6.32	35.42	35.16	40.72	0.0	82.0
<i>C. canadensis</i> (leaf)									
小白酒草(茎)	37.05	40.16	10.19	0.0	25.78	16.57	50.00	61.73	65.69
<i>C. canadensis</i> (stem)									
小白酒草(花)	42.37	7.54	36.46	0.0	43.23	3.34	1.29	0.67	100.0
<i>C. canadensis</i> (flower)									
祁洲漏芦	47.46	88.79	46.86	3.72	47.92	1.79	22.03	0.09	100.0
<i>R. uniflorum</i>									
紫苞风毛菊	79.21	—	74.53	—	66.67	—	56.45	—	100.0
<i>S. iodostegia</i>									
牛蒡	53.06	100.0	84.45	2.93	38.02	4.65	31.15	0.0	100.0
<i>A. lappa</i>									
薄雪火绒草	23.10	36.26	16.09	0.0	30.48	0.0	32.59	5.82	75.35
<i>L. japonicum</i>									
长穗蟹甲草	45.5	65.51	51.21	4.10	39.32	0.0	26.65	23.56	79.26
<i>C. longispica</i>									
太白山蟹甲草	46.73	9.05	69.81	0.0	66.93	0.0	28.57	0.0	100.0
<i>C. pilgeriana</i>									
两似蟹甲草	28.05	24.16	47.72	0.0	15.96	0.0	43.60	0.0	47.60
<i>C. ambigua</i>									
太白山囊吾	49.64	81.14	36.47	0.0	31.77	0.68	45.27	0.0	100.0
<i>L. dolichobotrys</i>									
三褶脉紫苑	61.74	4.85	34.3	0.0	31.77	0.0	28.92	0.0	49.78
<i>A. ageratoides</i>									
紫苑	0.0	78.22	34.78	3.06	0.0	5.91	0.0	0.0	12.13
<i>A. tataricus</i>									
和尚菜	57.10	—	-	—	41.93	—	27.71	—	-
<i>A. himalaicum</i>									
兔儿伞	33.99	12.25	46.86	0.0	4.30	2.50	2.48	0.0	39.52
<i>S. aconitifolia</i>									
苦苣菜	0.0	6.95	0.0	0.0	31.68	0.0	38.04	0.0	30.41
<i>S. arvensis</i>									
苦参(根)	72.51	5.45	96.86	30.51	60.00	0.0	66.09	0.0	100.0
<i>S. flavescens</i> (root)									
苦马豆(茎)	42.40	25.04	17.43	0.0	33.19	0.0	1.55	0.0	20.13
<i>S. salsula</i> (stem)									
苦马豆(果)	8.25	15.94	63.00	2.35	27.80	0.0	0.69	0.0	11.83
<i>S. salsula</i> (seed)									
截叶铁扫帚	0.0	1.06	0.0	34.63	11.23	0.0	0.0	0.0	96.01
<i>L. cuneata</i>									
唐松草	17.49	3.50	23.06	0.0	29.30	0.0	48.6	0.0	0.0
<i>T. aquilegifolium</i>									
粗壮唐松草	55.45	0.0	0.0	0.0	17.67	0.0	12.74	0.0	54.40
<i>T. robustum</i>									
美花铁线莲	0.0	11.05	0.0	0.0	21.34	0.0	31.60	0.0	37.25
<i>C. potaninii</i>									
银色铁线莲	10.89	0.0	0.0	0.0	19.61	0.0	0.69	0.0	48.08
<i>C. argenteolucida</i>									

注: 1)“-”表示在抑制率栏中, 该试验因故未做; 2) 试验中, 植物样品提取物的供试质量浓度为干样 0.1 g/mL, 抑制率为 3 次重复的平均值; 3)“a”表示用琼脂平板法测定的结果,“b”表示用悬滴法测定的结果。
Notes: 1)“-”represents the antifungal activity was not tested; 2) the concentration of extracts was 0.1 g/mL, the antifungal rate was average of 3 replications; 3)“a”indicates the antifungal rate tested by mycelium growth rate test and “b”by the gemination methods

3 讨 论

紫苞风毛菊、蒙古蒿(茎、叶)和苦参(根)等 3 种植物样品的抑菌活性较高,值得进一步研究。本试验结果表明,供试 32 种植物提取物中,紫苞风毛菊和苦参(根)提取物对供试病菌中的 4 种病菌菌丝生长的抑制效果高于 65%;蒙古蒿(茎、叶)提取物对玉米大斑病菌和辣椒疫霉病菌菌丝生长的抑制率均在 90% 以上,且对小麦赤霉和番茄灰霉孢子的抑制作用均高于 70%,说明这 3 种植物中所含活性物质的抑菌活性较强或含量较高,有必要对其进行深入研究。需要指出的是,这 3 种植物中 2 种为菊科植物,1 种为豆科植物,这与冯俊涛等^[3]的研究结论一致,因而在今后的研究中应特别重视菊科和豆科植物。

在植物源抑菌活性物质研究中,应综合采用多种方法进行活性物质的追踪。众所周知,植物能够产生多种多样性质各异的次生代谢产物,这为研究植

物源农药提供了广阔的天地,同时也加大了研究难度。本试验仅在室内离体测定了 32 种植物样品丙酮提取物的抑菌活性,因此可能存在活性物质的漏筛现象,冯俊涛等^[2,3]、于平儒等^[7]和韩建华等^[8]对这一现象曾进行了较系统的探讨。在天然抑菌活性筛选中,生物测定方法的选择直接关系到能否发现并保证不漏筛活性物质,目前常用的杀菌剂生物测定方法有离体法、组织法和盆栽法,这些方法在活性筛选中各有利弊^[9,10]。生物活化作用是天然化合物的一种重要作用方式,即离体无效而活体有效,因而在离体测定中这类活性化合物往往被漏筛,在抑菌活性物质筛选中,应将 3 种方法有机结合。同时,在测定过程中,尤其在离体测定中,应注意处理病原菌的显微观察,一方面可从组织学角度去发现新的活性化合物,另一方面也可以为杀菌剂作用机制的研究提供线索。

[参考文献]

- [1] 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
- [2] 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- 133
- [3] 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(自然科学版), 2001, 29(2): 65- 68
- [4] 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.
- [5] 方中达. 植物病理研究方法[M]. 北京: 农业出版社, 1987.
- [6] 慕立义. 植物化学保护研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1991.
- [7] 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(自然科学版) 2001, 29(6): 65- 69
- [8] 韩建华,祝木金,冯俊涛,等. 27 种植物抑菌活性初步筛选[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版) 2002, 30(6): 134- 137.
- [9] 倪长春,沈 宙,顾必文,等. 杀菌剂生物活性筛选离体活体兼顾的重要性[J]. 浙江化工(增刊), 2000, 31: 61- 64
- [10] 张 穗. 杀菌剂生物测定技术[J]. 植物保护, 1999, 25(3): 35- 37.

Primary study on antifungal activity of 32 plant extracts

SHAO Hong-jun, FENG Jun-tao, HAN Jing, LI Guang-ze, ZHANG Xing

(The center of Biorational pesticides Research and Development, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The antifungal activity of 32 species of plant acetone extracts were tested *in vivo* with *Botrytis cinerea*, *Fusarium graminearum*, *Gloeosporium cingulata*, *Phytophthora capsici*, *Exserohilum turcicum* etc in the laboratory. Results showed, in the extracts with concentration of 0.1 g/mL, the extracts of *A. gmelinii* W. & A. (leaf), *A. mongolica* Fisch (stem, leaf), *C. canadensis* (L.) Cronq (leaf), *A. lappa* L. (whole), *S. iodostegia* Hance (whole), *C. pilgeriana* (whole) and *S. flavescentis* Ait (stem) had more than 60% antifungal rates to mycelium growth of two or more tested fungi, *S. iodostegia* Hance (whole) and *S. flavescentis* Ait (stem) had stronger effects to 4 species of tested fungi, and the extract of *A. mongolica* Fisch (stem and leaf) has strong inhibition to spore germination of *Botrytis cinerea* and *Fusarium graminearum*.

Key words: botanical fungicides; antifungal activity; bioactivity-screening