

中草药提取液对柑橘采后主要病菌抑制效果研究

任艳芳, 刘畅, 徐玲玲, 何俊瑜

(贵州大学 农学院 贵州 贵阳 550025)

摘 要:以 10 种中草药为供试材料,采用 十字交叉法和生长速率法测定中草药提取液对柑
橘采后主要真菌病害的离体抑制效果。结果表明:10 种供试中草药水提取液中,黄连和金银花对
青霉菌和绿霉菌的抑制率均达到 90%以上,与 CK 相比无明显差异;对于柑橘链格孢,仅以黄连
抑制效果最好,达到 100%,但金银花会促进柑橘链格孢的生长。综合抑菌效果表明,黄连对青霉
菌、绿霉菌和柑橘链格孢的抑菌效果最好。

关键词: 中草药提取液; 柑橘; 真菌病害; 抑制效果

中图分类号: S 666 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001—0009(2010)23—0179—03

柑橘属果实采后易受病原微生物侵染,造成果品贮藏期间腐烂变质,损失率高达 30%~50%,严重影响柑橘贮运期间果品质量和商品价值^[1-3],给果农和经销商带来了巨大的经济损失。目前有效的防治技术是使用大量的化学杀菌剂。但长期使用化学药剂易出现抗药菌系而使药效降低,只有加大用药剂量以控制病害,从而增加了生产成本。更为严重的是这些化学药剂存在着残毒问题,甚至出现致癌、致畸、致突变等情况,增加了人体的健康安全隐患,成为全社会关心的问题^[3-5],因此,寻求安全、无毒、有效的控制采后果蔬腐烂的方法成为当务之急^[2]。中草药具有天然杀菌作用,食用安全,无化学毒害、无残留、无副作用,杀菌效果明显^[6],在我国已有中草药提取液用于苹果^[7]、枣^[8]、枇杷^[9]、黄桃^[10]等

果实贮藏保鲜的报道。说明从中草药中开发新型杀菌剂为植物病害的有效控制将开辟一条新的途径。但是开发天然中草药果蔬防腐剂,必须首先筛选出对果蔬采后致病真菌生长有抑制作用的中草药提取物,在此基础上研究其对果蔬的防腐机理,才能大规模开发并应用于果蔬防腐^[11]。为此,该研究以常见的 10 种中草药为筛选对象,探寻中草药提取液对柑橘采后贮藏期 3 种主要真菌病害即青霉菌、绿霉菌和柑橘交链格孢菌的体外抑制效果,旨在从中草药中寻找对采后病害具有抑菌活性的物质,为进一步研究和开发天然植物防腐保鲜剂提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌种及来源 供试的 3 种真菌菌种即意大利青霉(*Penicillium italicum*)俗称青霉菌、指状青霉(*Penicillium digitatum*)俗称绿霉菌、柑橘链格孢(*Alternaria citri* Ell. et Pierce)俗称链霉菌由贵州大学农学院果树学实验室保存。

Study on Seeds Germination Characteristics of *Oenothera glazioviana* Mich.

CHEN Yun¹, HUANG Yan-fen¹, TANG Feng-li², PAN Chun-liu¹

(1. Guangxi Branch, Institute of Medicinal Plant, Chinese Academy of Medical Science Botanical Garden of Medicinal Plant, Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plant, Nanning, Guangxi 530023; 2. Guangxi Qinzhou High-yield Forest Limited Company, Qinzhou, Guangxi 535000)

Abstract: The seeds germination characteristics of *O. glazioviana* were investigated in different temperature, light and storage period. The results showed that the seeds of *O. glazioviana* could germinate under constant temperature of 15, 20, 25 and 30℃, their germination rate closed to 60.0%, but the germination rate were higher(98.0%) under fluctuating temperature of 15/25℃. In different light condition, their was no significant difference in seeds germination rate. Seeds germination rate was different under different storage period. Taking germination vigor into account, the storage period would be the best within 15 months.

Key words: *Oenothera glazioviana* Mich.; seeds; germination characteristics

1.1.2 供试中草药 供试的10种中草药为:连翘(*Forsythia suspensa* (Thunb.) vahl)、牛蒡子(*Arctium lappa* Linn.)、金银花(*Lonicera japonica* Thunb.)、厚朴(*Magnolia officinalis* Rehd. Et Wils.)、大黄(*Rheum officinale* Baill.)、天冬(*Asparagus cochinchinensis* (Lour.) Merr.)、虎杖(*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.)、桔梗(*Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC.)、黄连(*Coptis chinensis* Franch.)、何首乌(*Polygonum multiflorum* Thunb.)、均购于贵阳一树药店。对照杀菌剂为咪鲜胺,购自成都新朝阳生物化学有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 水提法制备中草药提取液 将所购买的10种中草药经过60℃烘干、粉碎后,各称取中草药粉末各20 g,分别放入盛有300 mL蒸馏水的烧杯中,80℃水浴加热6 h后过滤,离心,将滤液定容到40 mL,浓度为0.5 g/mL。在0.1 MPa, 121℃条件下高温锅灭菌20 min,获得备用中草药提取液。

1.2.2 PDA培养基制备 称取200 g去皮马铃薯,切块煮沸30 min,然后用纱布过滤,滤液中加入葡萄糖20 g和琼脂15~20 g,溶化后补足水至1 000 mL。0.1 MPa, 121℃灭菌20 min。

1.2.3 病原菌抑制效果的测定 在无菌条件下,将制备的不同中草药的水提取液与PDA培养基按一定比例混合,制成浓度为0.05 g/mL的带药培养基,倒入9 cm培养皿中,待培养基冷却后,在培养皿中央接一直径0.7 cm的病原菌饼,以不含中草药提取液PDA培养基培养的青霉菌、绿霉菌和柑橘链格孢为阴性对照,并以含有咪鲜胺(25%乳油)500倍稀释液的PDA培养基作为阳性对照(CK),3次重复。置于25℃恒温培养箱中培养72 h

后,用十字交叉法测量菌落直径并用生长速率法计算抑菌率^[2]。计算公式为:菌丝生长抑制率= $\frac{\text{对照菌落直径}-\text{处理菌落直径}}{\text{对照菌落直径}-\text{菌饼直径}} \times 100\%$ 。

根据3种真菌对采后柑橘果实侵染的严重程度,以青霉菌40%+绿霉菌40%+柑橘链格孢20%的比例计算各种中草药水提取液对3种真菌病害的综合抑菌率。

1.3 数据分析

试验结果采用Excel软件进行数据处理,经DPS统计软件进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 中草药提取液抑制青霉菌效果

中草药水提取液对于青霉菌抑制效果如图1所示。可看出,10种供试的中草药水提取液对于青霉菌均有不同程度的抑制,其中,以黄连抑菌效果最好,达到100%;其次是金银花,抑菌率达到90%以上,与咪酰胺阳性对照相比,未达到差异显著水平($P>0.05$),而其它中草药抑菌效果均低于80%,与咪酰胺阳性对照相比,差异达到显著($P<0.05$)或极显著水平($P<0.01$)。

2.2 中草药提取液抑制绿霉菌效果

中草药水提取液对于绿霉菌抑制效果如图2所示。可看出,10种供试的中草药水提取液对于绿霉菌均有不同程度的抑制。其中,黄连、桔梗和金银花的抑菌效果较好,抑菌率均达到90%以上,且金银花抑菌效果达到100%,3种中草药的抑菌效果与咪酰胺阳性对照相比,均无显著差异($P>0.05$)。而其它中草药抑菌率均低于80%,与咪酰胺阳性对照相比,差异达到显著($P<0.05$)或极显著水平($P<0.01$)。

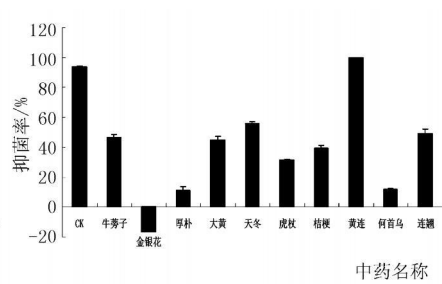
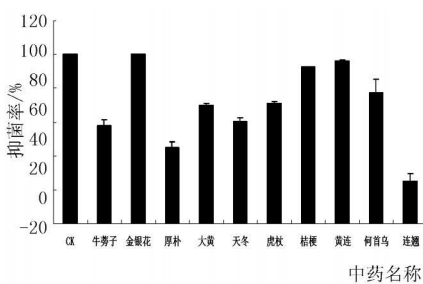
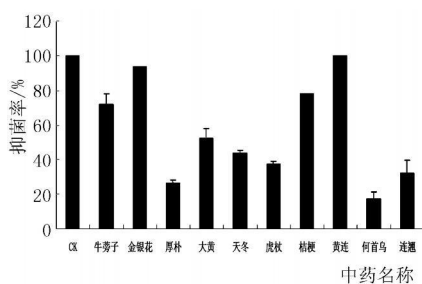


图1 中草药提取液抑制青霉菌效果

图2 中草药提取液抑制绿霉菌效果

图3 中草药提取液抑制柑橘链格孢效果

2.3 中草药提取液抑制柑橘链格孢效果

柑橘链格孢为半知菌亚门的一种真菌,主要为害贮藏果实,造成柑橘黑腐病的发生。通过测定10种供试中草药水提取液对于柑橘链格孢的抑制效果,由图3可看出,黄连抑菌效果最好,抑菌率达到100%,甚至高于咪酰胺阳性对照,但未达到差异显著水平($P>0.05$)。其余中草药抑菌率均低于60%,金银花甚至会明显促进柑橘链格孢的生长。

2.4 中草药提取液综合抑菌效果

综合抑菌率计算结果表明(表1),黄连水提取液对3种供试真菌的抑制效果达到98.37%,明显优于其它中草药水提取液,与咪酰胺阳性对照相比,差异不显著($P>0.05$)。说明黄连对于柑橘采后3种病原真菌的抑菌效果与化学杀菌剂的作用相当。而其余中草药水提取液的综合抑菌率均低于80%。

表 1 中草药提取液对 3 种病原真菌综合抑菌效果

供试中草药	3 种菌综合抑菌率 / %
CK	98.72±0.13aA
牛蒡子	61.36±3.53cCD
金银花	74.18±0.13bB
厚朴	30.87±1.39fF
大黄	57.94±2.92cdD
天冬	52.78±0.77cdDE
虎杖	49.53±1.26deDE
桔梗	76.22±0.37bB
黄连	98.37±0.23aA
何首乌	40.07±5.18efEF
连翘	32.56±2.80fF

注:同一列数据后标示的大写和小写字母分别表示 0.01 和 0.05 差异显著水平。

3 结论与讨论

我国中草药资源丰富,中医药理论博大精深。目前已发现有杀菌活性的植物约有 1 400 余种,且发现在对人体致病菌有抑制作用的中草药中,有些对植物病原菌也有很好的抑制作用,但不同的中草药对于植物病原菌的作用效果有所区别^[13]。如:丁香和黄芩 2 种中草药的提取物对芒果炭疽病菌具有很好的抑制作用;而夏枯草、紫草、艾叶和白茅根对炭疽病菌的生长具有促进作用^[14]。在该研究中,供试的 10 种中草药水提液对引起柑橘采后病害的 3 种主要病原菌青霉菌、绿霉菌、柑橘链格孢有不同程度的抑制作用,这与前人的结果相一致。已有研究表明,黄连的抑菌谱广,对许多细菌、真菌以及病毒均有较好的拮抗作用^[15]。该研究发现,黄连水提液的抑菌效果最好,与常用柑橘果实化学杀菌剂咪鲜胺效果相当。因此,在柑橘采后病害生物防治上有较大的应用潜力,但要确定中草药对采后病害的防治效果还必须进行采后试验,使中草药能应用到水果的采后保鲜上,验证其在活体上能否完全抑制病原菌的生长,并且要进一步了解中草药中的抑菌有效成分及其作用方式

和作用机制,利用人工模拟合成等技术,研制出环保型的采后防腐保鲜剂^[16]。

参考文献

[1] 闵晓芳, 邓伯勋, 陈丽锋 等. 柑橘采后致病青霉的鉴定[J]. 果树学报, 2007, 24(5): 653-656.

[2] 龙超安, 邓伯勋, 何秀娟. 柑橘青、绿霉病高效拮抗菌 34-9 的筛选及其特性研究[J]. 中国农业科学, 2005, 38(12): 2434-2439.

[3] 高海生, 李春华. 天然果蔬保鲜剂研究进展[J]. 中国食品学报, 2003, 3(1): 86-91.

[4] 杨小平, 邓伯勋, 何秀娟, 等. 生防菌 34-9 对柑桔防腐保鲜效果的研究[J]. 中国南方果树, 2006, 35(5): 12-14.

[5] 孙萍, 郑晓冬, 张红印 等. 粘红酵母与金属离子结合使用对柑橘采后青霉病的抑制效果[J]. 果树学报, 2003, 20(2): 169-172.

[6] 宫毓静, 安汝国, 虞慧 等. 164 种中药乙醇提取物抗真菌作用研究[J]. 中草药, 2002, 33(1): 42-47.

[7] 孙允静, 饶景萍, 李珊珊, 等. 魔芋葡甘聚糖 中草药复合涂膜对嘎啦苹果贮藏品质的影响[J]. 食品科学, 2010, 31(8): 264-268.

[8] 任玉锋, 刘雅琴, 董博博, 等. 生姜汁、大蒜汁对灵武长枣采后病原真菌抑菌效果的研究[J]. 北方园艺, 2010(7): 145-147.

[9] 郭守军, 杨永利, 李少娟 等. 中草药复合涂膜保鲜剂保鲜枇杷的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(7): 522-525.

[10] 朱江, 张迪, 易守连, 等. 中草药源保鲜剂对黄桃保鲜效果的研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(29): 9363-9364.

[11] 吴小虎, 艾启俊, 肖艺. 天然中草药果蔬防腐保鲜剂的研究与应用[J]. 加工与保鲜, 2006(2): 4-6.

[12] 朱立成, 王祥胜, 刘文, 等. 牡丹皮等 16 种中草药提取物抑制植物病原菌的研究[J]. 植物保护, 2007(3): 83-86.

[13] 胡美姣, 高兆银, 李敏 等. 72 种中草药提取物对香蕉、芒果果实采后病害病原菌的抑菌活性[J]. 果树学报, 2007, 24(3): 349-354.

[14] 施瑞城, 李婷, 侯晓东 等. 23 种中草药提取物对芒果炭疽病菌的抑制作用研究[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(9): 123-126.

[15] 余园媛, 王伯初, 彭亮 等. 黄连的药理研究进展[J]. 重庆大学学报, 2006(2): 107-110.

[16] 何昆, 罗宽. 中草药萃取液对植物病原真菌、细菌的抑制作用[J]. 湖南农业科学, 2003(1): 43-45.

Studies on Inhibitory Effects of Herbal Extracts Against Postharvest Pathogen from Citrus Fruits

REN Yan-fang, LIU Chang, XU Ling-ling, HE Jun-yu
(College of Agriculture, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025)

Abstract: In order to find out a new natural antiseptic agent for citrus fruit fresh-keeping, ten kinds of Chinese herbal medicines were taken as materials to investigate the inhibitory effects on blue mould, green mold and alternaria from citrus by crossing method and growth rate method in vitro. The results showed that the inhibitory rate of *Coptis chinensis* Franch. and *Lonicera japonica* Thunb. reached above 90% on blue mould and green mold. Compared with control, there was no significant difference. Moreover, *Coptis chinensis* Franch. has best inhibitory effect on alternaria citr among other Chinese herbal medicines. However, *Lonicera japonica* Thunb. could promote the growth of alternaria citr. Synthetical inhibitory effects showed that Rhizoma Coptidis has best inhibitory effect on blue mould, green mold and alternaria citr.

Key words: herbal extract; citrus; fungus diseases; inhibition effect