

黄花忍冬提取物抑菌作用的研究

肖凤艳, 高郁芳, 殷晶晶

(吉林农业科技学院, 吉林 吉林 132101)

摘要:采用滤纸片法和琼脂块法对黄花忍冬不同部位不同溶剂提取物进行了抑菌试验。结果表明:黄花忍冬花和叶片的正丁醇提取物对真菌蕈苡弯孢叶斑病菌的抑制效果最好,均达到100%,果的水提物效果最差,只有27.9%,二者达到极显著差异;黄花忍冬各部位的乙酸乙酯、正丁醇提取物对金黄色葡萄球菌抑制效果较好,水提取物对金黄色葡萄球菌抑制效果较差。试验表明,黄花忍冬花和叶的提取物中存在丰富的抗菌天然活性物质,为寻找植物源抑菌剂提供理论依据。

关键词:黄花忍冬;抑菌活性;琼脂块法;滤纸片法

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)13-0177-03

黄花忍冬(*Lonicera chrysantha*)为忍冬科忍冬属植物,分布于东北、华北、西北等地。其花蕾具有清热解毒、散痈消肿的功效,常用于痈肿疮、喉痹、丹毒、热毒血痢等^[1]。有关黄花忍冬的研究较少且集中于化学成分绿原酸的含量测定^[2-4],而对其提取物的抑菌活性研究未见报道。该研究对药用植物病害真菌—蕈苡弯孢叶斑病菌和人类病原细菌—金黄色葡萄球菌进行抑菌活性研究,为资源的充分利用及开发新的植物源抑菌剂提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

黄花忍冬花、叶、果实采摘于吉林农业科技学院左家校区校园内,阴干,备用。供试菌种:金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)由吉林农业科技学院微生物实验室提供;蕈苡弯孢叶斑病菌(*Curvularia coicicola*)从吉林农业科技学院药用植物园得病寄主植物体蕈苡上采用组织分离并纯化得到。仪器及试剂:YX-400 智能型全自动不锈钢立式电热高压灭菌锅, YX280B 型不锈钢手提式压力蒸汽消毒器, SHP-1S00 型恒温培养箱, 回流提取器, 无菌操作台。试剂均为国产分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 黄花忍冬不同部位不同溶剂提取物母液的制

备 将黄花忍冬的花30 g、叶40 g、果实45 g粉碎,分别加95%乙醇回流提取3次,每次1.0 h,药渣加水回流提取3次,每次1.0 h。分别过滤,合并醇提液,挥发溶剂至浸膏状;合并水提液,挥发溶剂至浸膏状。将花、叶、果实的醇提部分分别以水分散,依次用乙酸乙酯、正丁醇萃取,分别将有机溶剂萃取液及萃取后的水相挥发溶剂至浸膏状,分别得到黄花忍冬花、叶、果实的乙酸乙酯、正丁醇、乙醇、水相12个萃取提取物。最后用95%的乙醇分别将这12种浸膏定容,使溶液的质量浓度为1 g/mL(1 mL提取物中含有1 g干中药材样品),放入冰箱,备用。

1.2.2 试验菌种的活化扩繁及菌悬液的配制 蕈苡弯孢叶斑病菌的纯化及扩繁:将纯病原菌从冰箱中取出,在无菌操作台上用接种钩各挑取适量的病原真菌分别接种到PDA平板中央,置25℃的培养箱中,恒温培养5~7 d后,备用。金黄色葡萄球菌的活化及菌悬液的配制:将菌种用接种环接种在牛肉膏蛋白胨培养基上划线斜面培养,用接种环各挑取适量的细菌,接种于灭菌的牛肉膏蛋白胨培养基斜面上,37℃暗培养箱静止恒温培养24 h,备用。用接种环挑取适量已活化的细菌,分别放入含有20 mL无菌水的无菌试管中,稍加振摇,即得金黄色葡萄球菌各20 mL的菌悬液。

1.2.3 抑菌试验 黄花忍冬不同部位粗提物对蕈苡弯孢叶斑病菌的抑制作用:采用琼脂块法^[5]:将12种样品液分别取1 mL与10 mL PDA培养基均匀混合,冷却,得到含药平板,空白对照组则加入等量的95%的乙醇,每种样品各设3次重复,再用直径为0.6 cm的打孔器取蕈苡弯孢叶斑病菌菌饼,将其放入各处理中央,25℃的温度下进行恒温培养,3 d后进行观察,以后每隔1 d进行观察。测到第6天为止,以十字交叉法测量菌落直径,并计算抑菌率。所得结果进行方差分

第一作者简介:肖凤艳(1977-),女,吉林吉林人,硕士,讲师,现主要从事中药学及中药新产品开发的教学与研究工作。E-mail: gxfyglz@163.com.

责任作者:高郁芳(1962-),女,吉林吉林人,本科,教授,现主要从事微生物及植物源农药的教学与研究工作。E-mail: yufang.gao@hotmail.com

收稿日期:2011-04-01

析,进而采用 SNK-q 检验法进行显著性检验。菌落生长抑制率=[(对照菌落直径-处理菌落直径)/(对照菌落直径-打孔器直径)]×100%。黄花忍冬不同部位粗提物对金黄色葡萄球菌的抑制作用:采用滤纸片法^[6]:将滤纸片用打孔器打成直径为 0.8 cm 的圆片,然后进行干热灭菌,将其放入定容好的 12 种样品液中浸泡 1 h,将每个平板加入 0.5 mL 已配制的金黄色葡萄球菌的菌悬液,用三角玻璃棒均匀涂布,将浸泡好的滤纸片放入其中,每种样品 3 次重复,对照组的滤纸片浸泡 95%的乙醇。放入 37℃的培养箱内,恒温培养 24 h。用十字交叉法测量抑菌圈的直径。用 ϕ 表示抑菌圈的直径。

2 结果与分析

2.1 黄花忍冬的不同提取物对薹苡弯孢叶斑病菌的抑制作用

由表 1 可知,黄花忍冬各部分的提取物都对病原菌的生长产生了抑制作用。其中花和叶片的正丁醇提取物对薹苡弯孢叶斑病菌的抑制效果最好,抑菌率高达 100%,与其它部位提取物有极显著差异,表现为病原菌完全不生长,但果实正丁醇提取物效果不好,只有 61%;其次就是黄花忍冬花和叶片的乙酸乙酯提取物,抑菌率达到 80%左右;而果实的乙酸乙酯和乙醇提取物以及花的乙醇和水提取物效果也较强,抑菌率均达到 60%以上;其余提取物效果较弱,但最低的果实水提物的抑菌率也有 27.9%。从结果来看,黄花忍冬的各个部位的乙酸乙酯及正丁醇萃取物表现了较强的抑菌活性。

2.2 黄花忍冬的不同提取物对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑制作用

由表 2 可知,黄花忍冬各部分的提取物对金黄色葡萄球菌的抑制效果整体抑制效果强,其中花的乙酸乙酯提取物和正丁醇提取物、叶的乙酸乙酯提取物、果实的水提物活性最强;叶的水提物和果实的正丁醇提

取物活性较弱,其余提取物都表现出中等的抑菌活性。从这个结果来看,整体上还是乙酸乙酯以及正丁醇这些萃取物表现出较强的抑菌活性,与植物的部位关联不大。

表 2 黄花忍冬提取物对金黄色葡萄球菌的抑菌程度

提取物	金黄色葡萄球菌
花乙酸乙酯物	+++
花正丁醇物	+++
花乙醇物	++
花水提物	++
叶乙酸乙酯物	+++
叶正丁醇物	++
叶乙醇物	++
叶水提物	+
果实乙酸乙酯物	++
果实正丁醇物	+
果实乙醇物	++
果实水提物	+++
95%乙醇	-

注:—:无活性;+:活性较弱,7<ϕ≤12;++:活性较强,12<ϕ≤17;+++;活性强,ϕ>17。(单位:mm)

3 结论

研究结果表明,黄花忍冬各部位不同溶剂提取物对薹苡弯孢叶斑病菌和金黄色葡萄球菌均有不同程度的抑制作用。黄花忍冬叶片和花的正丁醇提取物对薹苡弯孢叶斑病菌抑制效果最好;黄花忍冬各部位的乙酸乙酯提取物、花的正丁醇提取物、果实的水提物对金黄色葡萄球菌的抑制效果最好,值得注意的是,在对这 2 种病原菌的抑菌试验中发现,各个器官的乙醇提取物大部分也有中等强度的抑菌作用。

试验选用的是一种药用植物病原菌和一种人类致病细菌作为研究对象。真菌薹苡弯孢叶斑病菌为薹苡叶斑病的致病菌,金黄色葡萄球菌为普通菌株,是人类的重要病原菌。该试验已初步确定黄花忍冬提取物对真菌以及细菌均有抑制作用,为薹苡病害的生物防治以及为药用植物忍冬扩大药源提供了理论依据,以期实现园林药用植物黄花忍冬资源的充分利用。

参考文献

[1] 国家中医药管理局. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1999:528.
[2] 于加平,蔡金玲. 黄花忍冬花中绿原酸的提取及含量的测定[J]. 北方园艺,2009(2):88-89.
[3] 胡彦武,于俊林,孙仁爽. 黄花忍冬茎和叶中绿原酸的提取及含量测定[J]. 湖北农业科学,2009,48(11):223-225.
[4] 于加平,王夕宇,马中宇. 黄花忍冬果实中绿原酸的提取及含量测定[J]. 安徽农业科学,2008,36(6):2199-2200.
[5] 吴文君. 植物化学保护实验技术导论[M]. 西安:陕西科技出版社, 1988:333.
[6] 杨松,李春杰,黄玺,等. 被内生真菌侵染的禾草提取液对真菌的抑制作用[J]. 菌物学报,2010,29(2):234-240.

表 1 黄花忍冬各部分提取物对薹苡弯孢叶斑病菌的抑制率

提取物	抑菌直径/mm	抑菌率/%	显著性		
			0.05	0.01	
花	乙酸乙酯	9.7	82.6	b	B
	正丁醇	6.0	100	a	A
	乙醇	12.3	70.7	c	C
	水	13.0	67.4	c	C
叶	乙酸乙酯	10.5	79.0	b	B
	正丁醇	5.0	100	A	A
	乙醇	18.0	44.2	f	F
	水	15.7	54.7	e	E
果	乙酸乙酯	12.2	71.0	c	C
	正丁醇	14.3	61.3	d	D
	乙醇	12.0	72.1	c	C
	水	21.5	27.9	g	G
95%乙醇(CK)		27.5		h	H

五味子种质资源果实性状的种内变异研究

艾 军, 王 英 平, 张 庆 田, 王 振 兴, 李 昌 禹

(中国农业科学院 特产研究所, 吉林 吉林 132109)

摘 要:采用常规考种法调查五味子的各数量性状及质量性状,以液相色谱法测定药效成分含量,以期揭示五味子种质资源果实不同性状的变异规律及各性状的相关性,为五味子的种质资源收集和品种选育提供实践指导和理论支持。结果表明:五味子种质资源果实各质量性状均存在较大变异,果实颜色除红色类型外,还存在黄色的变异类型。果穗重、果粒重等数量性状及不同药效成分含量亦存在较大变异,部分数量性状及药效成分间存在一定的相关性。因此得出,基于五味子果实性状的广泛变异及相关性,进行五味子种质资源收集及品种选育,必须兼顾各性状与药效成分含量间的关系。

关键词:五味子;果实;性状;变异;药效

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2011)13—0179—04

五味子(*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.) 主要分布于我国东北、朝鲜半岛及俄罗斯的远东地区,以其果实商品习性称为北五味子,应用范围广,用量大,是我国东北的大宗道地中药材。近年来,由于需求的增加,使野生资源的无序采摘加剧,造成野生资源的破坏和种质资源的严重流失,利用野生资源已远远不能满足市场的需求,五味子的大面积人工栽培方兴未艾。目前,五味子的栽培主要采用实生苗建园,植株间的变异大,成熟期不一致,品质不整齐、丰产稳产性差等问题严重,极大地限制了该产业的发展,进行品种化建园

是五味子栽培的必然趋势。开展五味子种质资源果实性状的种内变异研究,了解不同性状的变异规律及各性状的相关性,可为五味子的资源收集和品种选育提供实践指导和理论支持。为此,对五味子种质资源果实的各质量性状、数量性状及药效成分含量等进行了较系统的评价研究,现将研究结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料选自中国农业科学院特产研究所通化县江口基地的 89 份 4 a 生五味子种质资源。

1.2 试验方法

1.2.1 调查方法 每份资源随机选取 30 个典型果穗,调查各性状。果穗长度:果穗尖端第一果粒外缘至基部外缘的平均长度;果穗紧密度:将果穗放到一平面上,观察果穗形状,果粒间不接触为松,果粒间互相接触但不变形为中度,果粒间接触,且挤压变形为紧;果穗果粒数:每果穗果粒的平均数量;果穗重量:单个果

第一作者简介:艾军(1968-),男,吉林磐石人,博士,研究员,硕士生导师,现主要从事药用植物种质资源的收集与评价及利用研究工作。E-mail:ajun1005@163.com。
基金项目:吉林省省长基金资助项目(20075019);吉林省科学技术厅科研资助项目(20080572)。
收稿日期:2011—04—11

Study on Antimicrobial Activity on *Lonicera chrysantha* Extracts

XIAO Feng-yan, GAO Yu-fang, YIN Jing-jing
(Jilin Agricultural Science and Technology College, Jilin, Jilin 132101)

Abstract: The paper studied antibacterial activities on different extracts from *Lonicera chrysantha* to find new antibacterial agents. Extracts of ethyl acetate, butanol, ethanol and water from the flowers, leaves, fruits respectively was conducted on *Curvularia coicicola* and *Staphylococcus aureus* by disc diffusion and agar block method. The results showed that the best antifungal effects was butanol extracts from the flowers and leaves with 100% inhibition rate. The water part displayed the lowest in antifungal activity at 27.9%. The significant differences observed from above results. In antibacterial activity experiment, extract of ethyl acetate and butanol from three plant organ exhibited obviously inhibitory action on *S. aureus*, while, water extract showed unapparent activity on *S. aureus*. From these results, diverse antimicrobial natural products are existed in leaves and flowers of *Lonicera chrysantha*, which could become the new resources for antimicrobial agents.

Key words: *Lonicera chrysantha*; antimicrobial activity; agar block method; disc diffusion method