

八种中药提取物对甘草褐斑病菌的抑制作用

肖凤艳, 高郁芳, 王倩

(吉林农业科技学院 中药学院, 吉林 吉林 132101)

摘要:采用生长速率法和倍比稀释法测定了8种中药提取物对甘草褐斑病菌的生物活性。结果表明:在质量浓度为1.0 g/mL时,辛夷、丁香、北豆根、孔雀草提取物对甘草褐斑病菌抑菌率达100%;商陆、远志、天南星提取物的抑菌率分别为71.8%、46.8%、26.2%;萝藦提取物对甘草褐斑病菌没有抑制作用;辛夷、丁香、北豆根、孔雀草的最小抑制质量浓度依次为0.0625、0.1250、0.2500、0.5000 g/mL。

关键词:中药提取物;甘草褐斑病菌;抑制作用;最小抑制浓度

中图分类号:S 482.2⁺92 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2012)11-0191-02

随着化学农药使用出现的种种弊端,植物源农药越来越受到人们的重视,我国丰富的中草药资源是开发植物源农药的理想来源^[1]。尽管中草药对病原菌的抑菌试验常有研究报道,但缺乏对药用植物病害方面的研究。由于人们乱采滥挖,野生甘草面积急剧下降的同时,世界各国对甘草的需求量却不断上升,为此,我国大面积人工栽培甘草,但病害对其危害较大,其中包括甘草褐斑病,给农户造成了重大经济损失。该试验在参考大量资料^[2-4]基础上,测定了辛夷、丁香、北豆根、孔雀草、商陆、远志、天南星、萝藦8种中药醇提物对甘草褐斑病菌的抑制作用,旨在为研制和开发防治甘草褐斑病的新型植物源农药提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌种:甘草褐斑病菌从吉林农业科技学院左家校区药用植物园得病寄主甘草叶上采用组织分离方法分离并纯化得到,并经高郁芳教授等专家确认,用PDA斜面培养,4℃冰箱保存备用。供试中药材:辛夷(*Magnolia biondii* Pamp.)的花蕾、丁香(*Eugenia aromatica* Baill.)的花蕾、北豆根(*Menispermum dahuricum* DC.)的根茎、孔雀草(*Tagetes patula* L.)的全草、商陆(*Phytolacca acinosa* Roxb.)的根、远志(*Polygala tenuifolia* Willd.)的根、天南星(*Arisaema amurense* Maxim.)的块茎、萝藦[*Metaplexis japonica* (Thunb.) Mark.]的根,8种中药饮片购自国营中药店,粉碎后过425 μm筛,备用。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,LDEX-40SCI型立式自动电热压力蒸汽灭菌器,LRH-280型微电脑控制生化培养箱,无菌操作台,回流提取器。乙醇(国产分析纯)、无菌水。

1.2 试验方法

1.2.1 中药提取物母液的制备 取中药材粉末20 g,分别用300 mL的80%乙醇浸润0.5 h后加热回流提取2次,每次2 h,滤液合并后用旋转蒸发仪进行浓缩,得到辛夷、丁香等8个中药提取物,再用95%乙醇定容,使溶液的质量浓度为1 g/mL(即1 mL提取物中含有1 g中药材样品),保存于4℃的冰箱内,备用。

1.2.2 中药提取物抑菌活性的测定 采用生长速率法^[5],以质量浓度为1 g/mL供试中药材提取物样品,测定其对甘草褐斑病菌的抑制作用,对照组加入相同量的95%乙醇,将以上各处理制成含药培养基,用直径为0.6 cm的灭菌打孔器,取活化并均匀生长在PDA平板中甘草褐斑病原菌菌盘,3次重复,25℃条件下培养6 d后,用十字交叉法测量甘草褐斑病原菌菌落直径,并计算抑菌率;对抑菌率较高的中药样品再进行最小抑制浓度测定,按倍比稀释法稀释至2⁵共6个质量浓度,3次重复,25℃条件下培养5 d后,以病菌不生长的最低浓度为最小抑制浓度。抑菌率=(对照菌落直径-处理菌落直径)/(对照菌落直径-0.6)×100%。

2 结果与分析

2.1 中药提取物对甘草褐斑病菌的抑制作用

由表1可知,供试样品质量浓度为1.0 g/mL时,辛夷、丁香、北豆根、孔雀草提取物对甘草褐斑病菌的抑制效果最好,抑菌率均为100%,四者之间无显著性差异,与其它中药提取物抑菌率有显著性差异;商陆、远志、天南星的抑菌作用较好,抑菌率分别为71.8%、46.9%、26.1%,与其它中药提取物抑菌率有显著性差异;萝藦提取物对病原菌没有抑制作用。经方差分析,丁香、北豆

第一作者简介:肖凤艳(1977-),女,在读硕士,讲师,现主要从事中医学及中药新产品开发教学和研究工作。E-mail:gxxyglz@qq.com。

收稿日期:2012-03-29

根、辛夷、孔雀草的抑菌效果明显好于其它中药提取物，呈极显著差异，抑菌率为 100%，故选用丁香、北豆根、辛夷、孔雀草提取物作为植物源农药的抑菌剂比较理想。

表 1 不同中药提取物对甘草褐斑病菌的抑制作用

Table 1 Inhibition of Chinese herbal medicine extracts on *Cercospora astragalis* Woron.

| 供试中药 Chinese herbal medicine | 菌落直径 Colony diameter /cm | 抑菌率 Inhibition rate /% | 差异显著性 Significance | |
|------------------------------------|--------------------------------|------------------------------|-----------------------|------|
| | | | 0.05 | 0.01 |
| 辛夷 | 0.60 | 100 | a | A |
| 丁香 | 0.60 | 100 | a | A |
| 孔雀草 | 0.60 | 100 | a | A |
| 北豆根 | 0.60 | 100 | a | A |
| 商陆 | 1.30 | 71.8 | b | B |
| 远志 | 1.92 | 46.8 | c | C |
| 天南星 | 2.43 | 26.2 | d | D |
| 萝藦 | 3.30 | -8.9 | e | E |
| 乙醇对照 | 3.08 | - | - | - |

注:表中数据为 3 次重复测定的抑菌直径和抑菌率的平均值。

2.2 辛夷、丁香、北豆根、孔雀草提取物对甘草褐斑病菌的最小抑制质量浓度

由表 2 可知,辛夷抑菌效价达到 1:16,即 MIC 值为 0.0625 g/mL;丁香抑菌效价达到 1:8,即 MIC 值为 0.1250 g/mL;北豆根抑菌效价达到 1:4,即 MIC 值为 0.2500 g/mL;孔雀草抑菌效价达到 1:2,即 MIC 值为

表 2 不同中药提取物对甘草褐斑病菌的
最小抑制质量浓度

Table 2 MIC of Chinese herbal medicine extracts on *Cercospora astragalis* Woron.

| 供试中药 herbal medicine | 稀释倍数 Dilution multiples | | | | | | MIC /g·mL ⁻¹ |
|-------------------------|-------------------------|-----|-----|-----|------|------|----------------------------|
| | 1:1 | 1:2 | 1:4 | 1:8 | 1:16 | 1:32 | |
| 辛夷 | - | - | - | - | - | + | 0.0625 |
| 丁香 | - | - | - | - | + | + | 0.1250 |
| 北豆根 | - | - | - | + | + | + | 0.2500 |
| 孔雀草 | - | - | + | + | + | + | 0.5000 |

注:“-”表示无甘草褐斑病菌生长,“+”表示有甘草褐斑病菌生长。

0.5000 g/mL。由此表明,8 种中药乙醇提取物中,辛夷对甘草褐斑病菌抑制效果最好,在 0.0625 g/mL 质量浓度下可以完全抑制甘草褐斑病菌的生长,丁香在 0.1250 g/mL 质量浓度下可以完全抑制病菌生长。

3 结论与讨论

研究结果表明,在供试样品质量浓度为 1.0 g/mL 时,丁香、北豆根、辛夷、孔雀草的醇提取物对甘草褐斑病菌的抑制效果最好,抑菌率分别达到 100%;其次为商陆醇提物,抑菌率为 71.8%;远志、天南星的醇提取物也表现出中等强度的抑菌效果,抑菌率分别为 46.8%、26.2%;而萝藦的醇提取物对甘草褐斑病菌没有抑制作用。稀释后的辛夷、丁香、北豆根、孔雀草的醇提取物在第 6 天的最小抑制浓度分别为 0.0625、0.1250、0.2500、0.5000 g/mL,有望将这 4 种中药提取物进一步研究开发为高效低毒的植物源抑菌剂。中药化学成分复杂,然而该试验仅用醇粗提物做了抑菌试验,没用其它试剂(如水、甲醇、丙酮、乙酸乙酯、正丁醇、石油醚)的提取物做抑菌试验;由于时间和试验条件的限制,该试验只是用体外抑菌试验测定抑菌效果,没对丁香、北豆根、辛夷、孔雀草的醇提物做田间试验,以观察田间与室内抑菌试验效果是否一致,因此需要今后针对上述情况进一步加以试验,为开发植物源农药提供理论指导。

参考文献

- [1] 段劲生,王梅,胡本进,等.中草药源杀菌剂的研究进展[J].安徽农业科学,2007,35(3):775-778.
- [2] 王巧娥,仁虹,曹学丽.甘草研究开发与利用现状[J].中国农学通报,2011,27(4):290-295.
- [3] 刘兴龙,李新民,刘春来,等.8 种植物提取物对番茄灰霉病菌抑菌活性的研究[J].植物保护,2009(3):74-75.
- [4] 杨帮,丁伟,赵志模,等.美洲商陆和姜黄提取物抑菌活性的研究[J].西南农业大学学报(自然科学版),2005,27(3):298-299.
- [5] 孙立晨,高郁芳,金明月,等.5 种中药提取物对人参黑斑病菌的抑制作用[J].农药,2008,47(6):452-453.

Inhibitory Effect of Extract from Eight Chinese Herbal Medicines on *Cercospora astragalis* Woron. of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.

XIAO Feng-yan, GAO Yu-fang, WANG Qian

(Traditional Chinese Medicine Department of Jilin Agricultural Science and Technology College, Jilin, Jilin 132101)

Abstract: Fungal inhibitory activity of extracts from 8 Chinese herbal medicines against *Cercospora astragalis* Woron. was determined by using growth rate method and double dilution method. The results showed that at 1.0 g/mL concentration the extracts of *Magnolia biondii* Pamp., *Eugenia aromatica* Baill., *Menispermum dahuricum* DC., *Tagetes patula* L. gave 100% inhibition of mycelium growth rates respectively. The extracts of *Phytolacca acinosa* Roxb., *Polygala tenuifolia* Willd., *Arisaema amurense* Maxim. gave 71.8%, 46.8%, 26.2% inhibition of mycelium growth rates respectively. *Metaplexis japonica* (Thunb.) Mark. had not inhibition. The MIC of the extracts of *Magnolia biondii* Pamp., *Eugenia aromatica* Baill., *Menispermum dahuricum* DC., *Tagetes patula* L. were 0.0625, 0.1250, 0.2500, 0.5000 g/mL, respectively.

Key words: Chinese herbal medicine extracts; *Cercospora astragalis* Woron.; antifungal action; minimum inhibition concentration