

# 野葛花乙醇提取物对植物病原真菌的抑制作用研究

师晓慧, 邓莉兰, 朱丽丽

(西南林业大学 园林学院, 云南 昆明 650233)

**摘 要:**以黄瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum*)、稻瘟病菌(*Magnaporthe grisea*)、柑橘青霉菌(*Penicillium digitatum*)、番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)、梨黑星病菌(*Venturia nashicola*)5种植物病原真菌为供试菌种,采用牛津杯法,研究了野葛花乙醇提取物的抑菌活性及其对植物病原真菌的抑菌效果。结果表明:野葛花的乙醇提取物对这5种植物病原真菌均有不同程度的抑制作用;随着提取物浓度的增大,其对植物病原真菌的抑菌效果逐渐增强,当达到某一值后,抑制效果又随其浓度的增加逐渐减弱。另外,黄瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum*)、稻瘟病菌(*Magnaporthe grisea*)、柑橘青霉菌(*Penicillium digitatum*)、番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)、梨黑星病菌(*Venturia nashicola*)的最适野葛花乙醇提取物抑菌质量浓度分别为0.1250、0.2500、0.2500、0.2500、0.5000 g/mL,其中番茄灰霉病菌的最低抑菌质量浓度应大于0.0625 g/mL。因此,野葛花的乙醇提取物在抑制植物真菌性病害方面具有广阔的开发利用前景,可作为新型植物源生物农药的良好剂型。

**关键词:**野葛花;乙醇提取物;植物病原真菌;抑菌作用

**中图分类号:**S 482.2<sup>+</sup>92 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)11-0116-03

野葛(*Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi)属蝶形花科葛属藤本植物,常生于海拔120~2 400 m的各种生境,我国除新疆、青海和西藏外,其余各省均有分布<sup>[1]</sup>。因其具有解酒醒脾、治伤酒发热烦渴、不思饮食、呕逆吐酸、吐血、肠风下血的功用<sup>[2]</sup>,是传统中药学中最具代表性的解酒药物。近年来对葛花化学成分、药理作用及临床应用研究较多<sup>[3-6]</sup>,对其化学成分的研究表明,葛花主要含黄酮类成分和皂苷类成分<sup>[7-11]</sup>,并且已有大量研究证明黄酮类化合物具有抑制细菌、真菌和抗病毒活性的作用<sup>[12-13]</sup>。苏妙贤等<sup>[14]</sup>已发现野葛花的乙醇提取物具有抗病毒和抑制细菌的活性,但至今仍鲜见有关野葛提取物对抑制病原真菌方面的报道。

病原真菌即是能寄生在有机体上并使机体感病的真菌。目前,对植物病害主要采用化学合成药剂防治,既污染环境又有很大残留,还会对人体造成很大的伤害,所以寻求高效、低毒、低残留的环境合理型生物农药已成为一种趋势<sup>[15]</sup>。因此,从植物、微生物中研究新的

生物天然性抗菌物质,寻找杀菌、抑菌活性物质,是当前开发、研制无公害新型杀菌剂的热点之一<sup>[16]</sup>。该试验就野葛花乙醇提取物对5种植物病原真菌的抑制作用进行了研究,以期开发野葛作为植物源抗菌剂提供基础研究,并为抑制植物病原真菌及控制植物病害的发生提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试野葛花采自云南建水市郊区,洗净,风干粉碎(40目过筛),备用。

5种植物病原真菌由云南农业大学施蕊教师提供,并制备成均匀的菌悬液,菌株编号及其名称见表1。

表1 5种植物病原真菌类型

Table 1 Descriptions of 5 pathogenic fungus in plants

菌株编号 Number of strains	中文名 Chinese name	拉丁名 Latin name
S01	稻瘟病菌	<i>Magnaporthe grisea</i>
S02	柑橘青霉菌	<i>Penicillium digitatum</i>
S03	黄瓜枯萎病菌	<i>Fusarium oxysporum</i>
S04	梨黑星病菌	<i>Venturia nashicola</i>
S05	番茄灰霉病菌	<i>Botrytis cinerea</i>

RE-52A 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);BS-210S 电子天平;HH-2 数显恒温水浴锅(国华电器有限公司);PYX-DHS 电热恒温培养箱。培养皿:直径9 cm。

马铃薯葡萄糖培养基(PDA):马铃薯200 g,切块后加水1 L煮沸25~30 min,取滤液补足水;葡萄糖20 g;琼脂20 g。

**第一作者简介:**师晓慧(1987-),女,山西临汾人,硕士研究生,研究方向为植物资源。E-mail:shi\_xiaolv@163.com。

**责任作者:**邓莉兰(1962-),女,教授,研究方向为园林植物资源及利用。E-mail:lilandeng1962@yahoo.com.cn。

**基金项目:**云南省高校科技创新团队资助项目(500947);云南省风景园林学省级重点学科资助项目(23002802);国家林业局西南风景园林工程技术研究中心资助项目。

**收稿日期:**2013-01-16

## 1.2 试验方法

1.2.1 野葛花乙醇提取液的制备 称取处理好的野葛花粉 80 g 于锥形瓶内,加入 400 mL 90%乙醇,浸泡约 24 h 后用索氏提取器提取 3 h,过滤并取滤液;将滤液经 70℃旋蒸直至提取物浓缩为膏状,且重量不再变化为止。取无菌水将膏状物配 1 g/mL 的母液,于 4℃冰箱保存,备用。

1.2.2 梯度浓度提取液的配置 将野葛花乙醇提取母液用无菌水分别稀释成 1.0000、0.5000、0.2500、0.1250、0.0625 g/mL 5 个浓度梯度,无菌水为对照(CK)。

1.2.3 平板的制备 将配置好的 PDA 培养基经高压蒸汽灭菌锅灭菌后,冷却至 50℃左右,无菌操作下倒于灭菌的培养皿内,每皿培养基厚度 2~2.5 mm,制备充足数量。

1.2.4 抑菌试验 取 50  $\mu$ L 菌悬液均匀涂布于固体培养基上,在固体培养基中放置不锈钢牛津杯,加入 200  $\mu$ L 不同质量浓度的野葛花乙醇提取物,每种处理设 3 次重复,至 28℃恒温培养箱中培养 72 h,测其抑菌圈直径,并计算出抑菌率。抑菌率=抑菌圈直径/对照菌落直径 $\times$ 100%。

## 2 结果与分析

### 2.1 提取物对植物病原真菌抑菌效果的测定

由表 2 可知,野葛花的乙醇提取物对 5 种所选植物病原真菌稻瘟病菌、黄瓜枯萎病菌、柑橘青霉菌、梨黑星病菌和番茄灰霉病菌均具有一定的抑制作用,不同质量浓度的提取物对同种病原真菌抑制作用的强弱不同,而不同病原真菌对提取物抑制作用的抵抗能力也不同。

表 2 不同梯度浓度下提取物对植物病原真菌的抑菌率

Table 2 Inhibition rate of different concentrations of extraction on pathogenic fungus %

供试菌株 Tested strains	1.0000	0.5000	0.2500	0.1250	0.0625
稻瘟病菌	22.22	18.89	25.56	16.67	15.56
柑橘青霉菌	20.00	17.78	21.11	13.33	11.11
黄瓜枯萎病菌	15.56	13.33	16.67	22.22	20.00
梨黑星病菌	13.33	17.78	15.56	10.00	8.89
番茄灰霉病菌	10.00	11.11	13.33	8.89	0

### 2.2 不同质量浓度提取物的抑菌作用比较

由图 1 可以看出,野葛花不同质量浓度的乙醇提取物对所选 5 种植物病原真菌具有不同程度的抑制作用,其抑制作用的强弱大体表现为稻瘟病菌>黄瓜枯萎病菌>柑橘青霉菌>梨黑星病菌>番茄灰霉病菌,尤其在低浓度提取物作用下其表现更为明显。且提取物对所选 5 种植物病原菌的抑制作用随其质量浓度的增加逐渐增强,达到某一数值后又随浓度的增加逐渐减弱。由此可知,抑制黄瓜枯萎病菌生长的野葛花乙醇提取物最适浓度为 0.1250 g/mL,抑制稻瘟病菌、柑橘青霉菌、番

茄灰霉病菌生长的提取物最适浓度为 0.2500 g/mL,抑制梨黑星病菌生长的提取物最适浓度为 0.5000 g/mL。而在 0.0625 g/mL 的提取物的作用下,番茄灰霉病菌的抑菌圈为 0 mm,所以抑制番茄灰霉病的最低野葛花乙醇提取物浓度应大于 0.0625 g/mL。因此利用野葛对植物真菌性病害进行防治可作进一步研究,而其对病原真菌的作用方式和作用机制有待于进一步探讨。

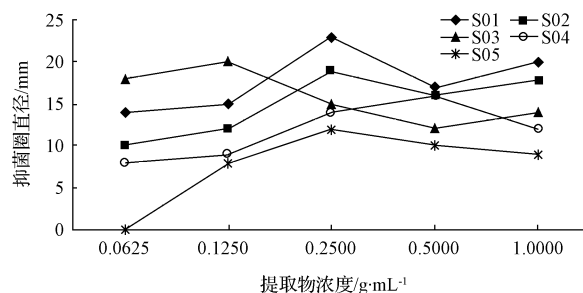


图 1 不同质量浓度提取物的抑菌作用

Fig. 1 Inhibition effect of different concentrations of extraction

## 3 结论与讨论

野葛花的乙醇提取物对所选稻瘟病菌(*Magnaporthe grisea*)、黄瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum*)、柑橘青霉菌(*Penicillium digitatum*)、梨黑星病菌(*Venturia nashicola*)和番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)5 种植物病原真菌均有不同程度抑制作用,随着提取物质量浓度增大,抑菌作用也逐渐增强,当达到某一值时,抑菌作用又随浓度的增大而减弱。其中,黄瓜枯萎病菌最适野葛花乙醇提取物抑菌质量浓度为 0.1250 g/mL,稻瘟病菌、柑橘青霉菌、番茄灰霉病菌最适提取物抑菌质量浓度为 0.2500 g/mL,梨黑星病菌生长最适抑菌质量浓度为 0.5000 g/mL,且番茄灰霉病菌最低抑菌质量浓度应大于 0.0625 g/mL。因此,野葛花的乙醇提取物在抑制植物病原真菌方面具有良好的开发利用价值,可作为新型植物源生物农药的良好剂型。因而对野葛提取物中的各种有效成分进行分离,然后研究其作用关系是下一步值得研究的问题。

野葛作为一种重要的传统中药材,因其含有大量的化学活性物质(皂苷类、黄酮类、甾醇类等)<sup>[5-6]</sup>在抑菌抗腐方面具有广阔的开发利用前景。所以,用野葛花的乙醇提取物对植物的病原真菌进行抑菌活性研究,不仅可以对植物真菌性病害的防治提供新的思路,还可充分利用野葛生产高附加值的产品。

### 参考文献

- [1] 中国科学院昆明植物研究所. 云南植物志(第 10 卷)[M]. 北京: 科学出版社, 2006: 614-622.
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草(第 7 卷)[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 619-620.
- [3] 裴香萍, 裴妙荣, 丁海琪. 葛花化学成分的研究[J]. 山西大学学报(自然科学版), 2010, 33(3): 423-424.
- [4] 杨林静, 何可月, 陈虹, 等. 葛根的药理学研究及其临床应用进展[J]. 武警医学院学报, 2002, 11(2): 138-140.

- [5] 尹俊亭,孙敬勇,仲英.野葛的现代研究概况[J].齐鲁药事,2004,23(10):34-36.
- [6] 尹俊亭,仲英,孙敬勇,等.葛花的研究进展[J].中草药,2005,36(12):1905-1906.
- [7] 张淑萍,张尊听.野葛花异黄酮化学成分研究[J].天然产物研究与开发,2005,17(5):595-597.
- [8] Kikuchi M. Constituents of flowers XVII structure of kakanin, a isoflavone glycoside from the flower of *Pueraria thunbergiana* Benth. [J]. Annu Rep Tohoku Coll Pharm,1982,29:61-64.
- [9] Kim C, Shin S, Ha H, et al. Study of substance changes in flowers of *Pueraria thunbergiana* Benth. during storage[J]. Arch Pharm Res, 2003, 26(3):210-213.
- [10] Kinjo J, Aoki K, Okawa M, et al. Constituents of leguminous plants Part LX 1. Studies on hepatoprotective drugs Part IX. HPLC profile analysis of hepatoprotective o leanene glucuronides in *Puerariaeflos* [J]. Chem Pharm Bull,1999,47(5):708-710.
- [11] Kinjo J, Takeshita T, Abr Y, et al. Studies on the constituents of *Pueraria lobata* IV. Chemical constituents in the flowers and the leaves[J]. Chem Pharm Bull,1988,36(3):1174-1179.
- [12] 苏锐,崔丽霞.黄酮类化合物抑菌抗病毒活性的研究[J].农业技术与装备,2011,208:30-33,35.
- [13] 陈丛瑾,王琪,李欣.黄酮类化合物抗氧化和抑菌生物活性研究进展[J].中国药房,2011,22(35):3346-3348.
- [14] 苏妙贤,李药兰,周艳晖,等.瑶药“野葛花”的抗病毒和抑菌活性[J].暨南大学学报(医学版),2006,27(2):204-208,213.
- [15] 孙辉,赵成爱,周正辉.落地生根叶乙醇提取物的抑真菌作用[J].农药,2010,49(12):915-916,926.
- [16] 程玲铃,孙梅,涂凌.决明子提取物对植物病原菌的抑菌活性初探[J].四川理工学院学报(自然科学版),2005,18(2):53-55.

## Inhibition Effect of Ethanol Extracts from *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi Flowers on Plant Pathogenic Fungus

SHI Xiao-hui, DENG Li-lan, ZHU Li-li

(College of Landscape Architecture, Southwest Forestry University, Kunming, Yunnan 650233)

**Abstract:** Based on the ethanol extractions of *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi flowers, the inhibition effect and the antibacterial activity on *Fusarium oxysporum*, *Magnaporthe grisea*, *Penicillium digitatum*, *Botrytis cinerea* and *Venturia nashicola* 5 kinds of plant pathogenic fungus were tested with Oxford cup method in different concentration extraction. The results showed that there were different degrees of inhibition effect of the ethanol extractions of *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi flowers on the 5 kinds of fungus. With the extractions concentration increasing, the inhibition effects were strengthened, and then weakened when up to a certain value. In addition, the optimal extraction concentrations of *Fusarium oxysporum*, *Magnaporthe grisea*, *Penicillium digitatum*, *Botrytis cinerea* and *Venturia nashicola* were 0.1250, 0.2500, 0.2500, 0.2500, and 0.5000 g/mL; and the minimum concentration to *Botrytis cinerea* should be greater than 0.0625 g/mL. Therefore, there were broad development and utilization prospect of the ethanol extractions of *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi flowers in inhibiting plant fungal disease, and could be used as a new type plant source bio-pesticide form.

**Key words:** *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi; ethanol extractions; plant pathogenic fungus; inhibition effect

## 天然与合成保鲜剂在食品中的应用

食品保鲜剂是指用于防止食品在储存、流通过程中,由于微生物繁殖引起变质或由于储存、销售条件不当,食品内在品质发生劣变、色泽下降,为延长食品保存期,提高食用价值而在食品中使用的添加剂。

为了适应人们崇尚自然、健康的思想,开发应用高效安全的食品保鲜剂已成为当今世界食品保鲜剂重要的研究领域。据有关资料证实,在人们长期食用的食品中,天然保鲜剂成分的毒性远远低于人工合成的保鲜剂。因此,近年来从自然界寻求天然保鲜剂的研究已引起各国科学家的高度重视。各国开发的大量天然保鲜剂产品,受到人们的普遍欢迎。如茶多酚类,从茶叶中提取的抗氧化物质,对人体无毒;含有4种组分:表没食子儿茶素、表没食子儿茶素酚、表儿茶素没食子酸酯以及儿茶素;它的抗氧化能力比VE、VC、BHT、BHA强几倍。

除了天然食品保鲜剂,一些合成无毒高效的食品保鲜剂同样有着广阔的开发前景。相比之下,合成无毒无污染食品保鲜剂,更廉价且容易实现。常见的合成保鲜剂有:双乙酸钠、2,4-己二烯酸(山梨酸)和单辛酸甘油酯等。

此外,苯甲酸是世界各国允许使用的一种食品保鲜剂,它在动物体内易随尿液排出体外,不蓄积,毒性低且价格低廉,目前占据国内大部分保鲜剂市场;丁基羟基茴香醚(BHA),是目前国际广泛应用的抗氧化剂之一,并有很强的抗微生物作用,主要用于食用油脂,最大用量为0.2 g/kg,缺点是成本较高;二丁基羟基甲苯(BHT),是目前我国生产量最大的抗氧化剂之一,价格低廉,为BHA的1/5~1/8,但抗氧化性不如BHA强,使用范围与BHA相同,缺点是毒性较高。

(来源:糖酒产业网)