

丝瓜乙醇提取物对几种植物病原真菌抑菌活性的研究

邢小霞¹, 李秀岚²

(1. 青岛农业大学 农学与植物保护学院, 山东 青岛 266109; 2. 青岛农业大学 化学与药学院, 山东 青岛 266109)

摘要:以丝瓜(*Luffa*)乙醇提取物及各不同溶剂萃取物为试材,采用菌丝生长速率法,研究丝瓜乙醇提取物及各不同溶剂萃取物对10种植物病原真菌的抑菌活性。结果表明:在浓度为 5.00×10^3 mg/L时,丝瓜乙醇提取物对苹果炭疽菌、青霉菌、苹果轮纹菌和棉花枯萎菌的抑菌作用较好,分别为73.5%、72.2%、66.8%和61.1%;丝瓜乙醇提取物不同溶剂萃取物中,石油醚层和乙酸乙酯层对苹果炭疽菌和青霉菌的抑菌活性较高,石油醚萃取层对苹果炭疽菌和青霉菌的 EC_{50} 值分别为 3.2×10^3 mg/L和 3.9×10^3 mg/L,乙酸乙酯萃取层对苹果炭疽菌和青霉菌的 EC_{50} 值分别为 1.2×10^3 mg/L和 2.1×10^3 mg/L。

关键词:丝瓜;植物源农药;抑菌活性

中图分类号:S 482.2⁺92 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)13-0131-03

长期以来农药通过控制农作物病、虫、草害等提高了作物的产量,保证了农作物的丰收,在农业生产中发挥了重要作用。然而,由于人们对化学农药的不合理使用及其药剂本身的固有缺点,农药在使用中产生了一系列公害问题,如环境污染、人畜中毒、杀伤天敌、破坏生

态平衡、“3R”(Residue, Resistance, Resurgence)等严重问题^[1-2],这些不良影响已引起人们的普遍关注。因此,开发研制高效、低毒、低残留、环境友好型的生物农药,已经成为当今新型农药的发展方向^[3-4]。植物源农药作为生物农药的一部分,是指用具有杀菌、抑菌活性的植物的某些部位或提取其有效成分,以及分离纯化的单体物质加工而成的用于防治植物病害的药剂^[5],因其具有低毒、选择性高、易降解等独特优势而获得了新的发展机遇^[6]。近年来,针对植物病害的植物源农药的研究与开

第一作者简介:邢小霞(1981-),女,山东海阳人,硕士,实验师,研究方向为植物保护。E-mail:xxxhua324@163.com.

基金项目:山东省“泰山学者”建设工程专项经费资助项目。

收稿日期:2015-02-05

Bioassay and Field Control Efficacy of Six Acaricides Against *Tetranychus viennensis* Zacher

WANG Zehua, WEI Shujun, SHI Baocai, CUI Wenxia, KANG Zongjiang, GONG Yajun

(Institute of Plant and Environmental Protection, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097)

Abstract: Taking *Tetranychus viennensis* as test material, the sensibility of *Tetranychus viennensis* Zacher to six acaricides was studied using toxicity bioassay and field control efficacy test. The results showed that bifenthrin and abamectin had the highest toxicity among all the tested acaricides, with a LC_{50} value of 0.0198 mg/L and 0.0327 mg/L, respectively. Bifenazate and chlorpyrifos showed relatively low toxicity, with a LC_{50} value of 0.1787 mg/L and 0.4828 mg/L, respectively. Pyridaben showed the lowest toxicity, with a LC_{50} of 17.57 mg/L. The field test indicated that the 43% bifenazate SC (aqueous suspension concentrate), 1.8% abamectin EC (emulsifiable concentrate) and 240 g/L spirodiclofen SC had excellent available effect and lasting validity period, with 73.35%—100% control effect after application for 1—14 days. As the sensibility of *T. viennensis* to the acaricides was high, the temperature and humidity conditions should be considered before the application of pesticides. The recommended acaricides were bifenazate, abamectin and spirodiclofen.

Keywords: *Tetranychus viennensis*; acaricides; toxicity bioassay; field control efficacy

发引起了众多学者的重视,成为当今农药研究领域的一个热点。

葫芦科(Cucurbitaceae)为双子叶草质藤本植物,约110属700种,主要分布于热带地区,我国有约29属142种,南北均有分布,其中有些栽培供食用或药用。丝瓜(*Luffa*)属葫芦科,一年生攀援草本植物,别名天罗布瓜、棉瓜、布瓜、蛮瓜等。丝瓜味甘性平,它所含有的皂苷、多量黏液质与瓜氨酸等多种药用成分有通络下乳、清热解毒、散瘀止血、利湿消肿的功效^[7-9]。在国内研究中,丝瓜伤流液对果蔬的灰霉病、灰葡萄孢、棉花白粉病、白色念珠菌、黑曲霉、菜豆链格菌、小麦赤霉菌、尖孢镰孢菌均有抑菌活性^[10-14]。

为更全面明确丝瓜植物源农药活性,该研究选用农业生产上重要的病原菌为供试对象,测定丝瓜乙醇提取物以及各萃取部分的抑菌活性,以期研究开发新的植物源农药杀菌剂奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试丝瓜采摘于青岛郊区农田内,清洗切片后、阴干、粉碎后,储存在阴凉通风处备用。

供试菌种:葡萄白腐病菌(*Coniothyrium diplodiella*)、黄瓜枯萎菌(*Fusarium oxysporum*)、小麦纹枯病菌(*Rhizoctonia cerealis*)、豌豆茄病菌(*Pea eggplant bacteria*)、棉花枯萎菌(*Fusarium oxysporium*)、黑曲霉菌(*Black aspergillus*)、苹果腐烂菌(*Valsa mali*)、苹果炭疽菌(*Glomerella cingulata*)、青霉菌(*Penicillium expansum*)、苹果轮纹菌(*Physalospora piricola*),以上菌种均由山东省农业仿生工程应用技术研究中心生物测定室提供。

1.2 试验方法

1.2.1 供试样品的制备 将阴干的丝瓜片用粉碎机粉碎后,称取1500g,平均分装在3个3000mL的锥形瓶中,总共加入6000mL75%的工业乙醇,在40℃下浸渍提取72h后用滤纸过滤。重复提取3次,合并滤液,浓缩,备用。在所得乙醇提取物中加入适量蒸馏水,混匀后依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇3种有机溶剂进行液液分离萃取,所得到的萃取液以及剩余的水层经浓缩干燥后备用。

1.2.2 抑菌活性测定方法 将配制好的供试药液加入到热的培养基(50~60℃)里面混匀,然后均匀的倒入各个培养皿,制成带毒培养基。以加入相同量的对照溶剂为对照平板,接入供试菌种,培养,每处理做3次重复。测量对照组和处理组的菌落直径。测量采用十字交叉法^[15],取平均值作为菌落直径。抑制率按下列公式计算:抑制率(%)=(对照菌落纯生长量-处理菌落纯生长量)/对照菌落纯生长量×100%。

1.2.3 丝瓜乙醇提取物及不同溶剂萃取物的抑菌活性

采用菌丝生长速率法测定丝瓜乙醇提取物在 5.00×10^3 mg/L浓度下对葡萄白腐病菌、黄瓜枯萎菌、小麦纹枯病菌、豌豆茄病菌等10种植物病原真菌的抑菌活性。测定了丝瓜乙醇提取物的石油醚层、乙酸乙酯、正丁醇层及水层萃取物在 5.00×10^3 mg/L浓度下对棉花枯萎菌、苹果炭疽菌、青霉菌及苹果轮纹菌等植物病原真菌的抑菌活性,每一处理做3次重复。

1.2.4 丝瓜不同溶剂萃取层的 EC_{50} 值 将丝瓜不同溶剂萃取物分别配成 5.00×10^3 、 2.50×10^3 、 1.25×10^3 、 0.63×10^3 mg/L的不同浓度,测定对苹果炭疽菌和青霉菌的 EC_{50} 值。

2 结果与分析

2.1 丝瓜乙醇提取物对几种植物病原真菌的抑菌活性

从表1可以看出,在浓度为 5.00×10^3 mg/L时,丝瓜乙醇提取物对供试的多种病原菌都有一定的抑制作用,其中对苹果炭疽菌、青霉菌、苹果轮纹菌和棉花枯萎菌的抑制作用较好,分别为73.5%、72.2%、66.8%和61.1%。

表1 丝瓜乙醇提取物对几种植物病原真菌的抑菌活性

植物病原菌	抑制率/%
葡萄白腐病菌	38.5
黄瓜枯萎菌	43.6
小麦纹枯病菌	44.8
豌豆茄病菌	41.2
棉花枯萎菌	61.1
黑曲霉菌	33.7
苹果腐烂菌	39.0
苹果炭疽菌	73.5
青霉菌	72.2
苹果轮纹菌	66.8

2.2 丝瓜乙醇提取物的不同极性溶剂萃取部分对几种植物病原菌的抑菌活性

由表2可知,当浓度为 5.00×10^3 mg/L时,丝瓜乙醇提取物的石油醚萃取层、乙酸乙酯层、正丁醇层对供试病原菌均有一定的抑制作用,且其活性部位主要集中在石油醚层和乙酸乙酯层。石油醚层和乙酸乙酯层对苹果炭疽菌和青霉菌的抑制效果较好。乙酸乙酯层对苹果炭疽菌和青霉菌的抑菌率分别为90.8%和86.6%;石油醚层对苹果炭疽菌和青霉菌的抑菌率58.9%和

表2 丝瓜不同溶剂萃取物对几种植物病原菌的抑菌活性

供试品 菌种	抑菌率/%			
	石油醚层	乙酸乙酯层	正丁醇层	水层
棉花枯萎菌	16.0	40.1	3.2	32.7
苹果炭疽菌	58.9	90.8	12.1	5.4
青霉菌	56.6	86.6	10.4	7.0
苹果轮纹菌	44.8	56.9	12.5	3.5

56.6%。由此可知,丝瓜乙醇提取物抑菌活性物质主要集中在乙酸乙酯层和石油醚层,有必要对其中的抑菌活性物质进行深入研究。

2.3 丝瓜不同溶剂萃取物对 2 种病原菌的 EC_{50} 值

从表 3 可以看出,丝瓜乙醇提取物的石油醚萃取部分和乙酸乙酯萃取部分对苹果炭疽菌和青霉菌的抑制效果较好。石油醚萃取层对苹果炭疽菌和青霉菌的 EC_{50} 值分别为 3.2×10^3 mg/L 和 3.9×10^3 mg/L,乙酸乙酯萃取部分对苹果炭疽菌和青霉菌的 EC_{50} 值分别为 1.2×10^3 mg/L 和 2.1×10^3 mg/L。

表 3 丝瓜不同溶剂萃取物对 2 种植物病原菌的 EC_{50} 值

植物病原真菌	供试样品	毒力方程	相关系数 r^2	EC_{50} 值/(mg · L ⁻¹)
苹果炭疽菌	石油醚层	$y=1.154 2x+4.421 0$	0.938 9	3.2×10^3
	乙酸乙酯层	$y=2.015 6x+4.855 6$	0.991 0	1.2×10^3
青霉菌	石油醚层	$y=1.733 7x+3.978 9$	0.932 5	3.9×10^3
	乙酸乙酯层	$y=1.522 4x+4.498 3$	0.665 4	2.1×10^3

3 结论与讨论

丝瓜的乙醇提取物对多种供试病原菌都具有一定的抑菌活性,对苹果炭疽菌、青霉菌、苹果轮纹菌和棉花枯萎菌的抑制作用较好。经液-液萃取分离后,丝瓜乙醇提取物抑菌活性物质主要集中在乙酸乙酯层和石油醚层,尤其是乙酸乙酯层对苹果炭疽菌和青霉菌的抑菌效果较高,说明此萃取物中可能含有对植物病原菌抑菌活性较好的某种物质,具有较好的研究价值。

该试验仅对丝瓜中的抑菌活性物质进行了研究,但丝瓜中含有多种天然成分,国内外对其生物活性研究较少,因此丝瓜中其它活性成分的研究还有待于进一步开展,研究开发的前景比较广阔。

Study on Antifungal Activity of Several Plant Pathogenit Fungi From Ethanol Extract of *Luffa*

XING Xiaoxia¹, LI Xiulan²

(1. College of Plant Protection and Agronomy, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109; 2. College of Chemistry and Pharmaceutical Sciences, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109)

Abstract: The antifungal activity constituents were extracted from *Luffa* with ethanol, and the extract were separated by petroleum ether, ethylacetate, n-butanol and water. The antifungal activity was determined to ten plant pathogens by mycelial growth inhibition assay. The results showed that the ethanol extracts of *Luffa* had strong inhibition effect against *Glomerella cingulata*, *Penicillium expansum*, *Phylospora piricola* and *Fusarium oxysporium*, their inhibitory rate came up to 73.5%, 72.2%, 66.8% and 61.1% at 5.00×10^3 mg/L. The highest activity components were distributed in petroleum ether and ethyl acetate partition. The EC_{50} value of petroleum ether partition against *Glomerella cingulata* and *Penicillium expansum* were 3.2×10^3 mg/L and 3.9×10^3 mg/L; the EC_{50} value of ethyl acetate partition were 1.2×10^3 mg/L and 2.1×10^3 mg/L, respectively. The petroleum ether and ethyl acetate partition was the most active partition and could be acted as the emphases for further study.

Keywords: *Luffa*; botanical pesticides; antifungal activity

参考文献

- [1] 杨义钧,董慧,徐兴.植物源杀菌剂的研究现状与展望[J].河北农业科学,2008,12(1):53-57.
- [2] 王杨,尹卫.植物源杀菌剂国内外研究进展[J].湖北农业科学,2006,45(3):382-383.
- [3] 邱德文.我国生物农药的发展现状与研究进展[J].山西农业,2008(2):42.
- [4] 吴林森.生物农药发展现状与加大研发力度的探讨[J].中国林副特产,2005(3):53.
- [5] 徐宜宏,纪明山,张玉芬.植物源杀菌剂的研究进展[J].世界农药,2006,28(2):41.
- [6] 顾海莎.植物源农药研究进展综述[J].安徽农业科学,2007,35(24):7520-7521.
- [7] Parkash A, Ng T B, Tso W W. Isolation and characterization of luffacylin, a ribosome inactivating peptide with anti-fungal activity from sponge gourd (*Luffa cylindrica*) seeds [J]. Peptides, 2002, 23: 1019-1024.
- [8] 江苏新医学院.中药大辞典(上册)[M].上海:上海科学技术出版社,1975:791-795.
- [9] 徐敬武,白膺.蔬菜与健康长寿[M].北京:中国医药科技出版社,1989:129-131.
- [10] 杨群,张锴,吴聪.喷雾干燥法制备丝瓜水固体粉末及其抑菌作用研究[J].北方园艺,2012(9):186-188.
- [11] 刘微,朱小平,高书国,等.丝瓜伤流液对灰葡萄孢的抑菌活性[J].植物病理学报,2004,34(3):280-282.
- [12] 刘薇,朱小平,王之岭,等.丝瓜伤流液对果蔬几种病菌的抑制活性[J].中国农学通报,2004,20(3):224-226.
- [13] 刘薇,朱小平,宋士清,等.用丝瓜伤流液抑制黄瓜灰霉病菌的研究[J].北方园艺,2012(8):148-150.
- [14] 祝菁,杜学林,陈丽霞,等.丝瓜伤流液对三种常见真菌抑制作用的研究[J].北方园艺,2014(3):121-123.
- [15] 陈年春.农药生物测定[M].北京:北京农业大学出版社,1991:176-781.