DOI:10.11937/bfyy.201609034

三角梅植株不同部位水提取液抑菌效果研究

熊　亚[1,2],李敏杰[1,2]

(1.攀枝花学院 生物与化学工程学院,四川 攀枝花 617000;2.攀枝花市干热河谷特色生物资源工程技术中心,四川 攀枝花 617000)

摘　要:以三角梅植株茎、叶、花为试材,采用最低抑菌浓度试验和测定抑菌圈大小试验,研究茎、叶、花水提取液对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的抑菌效果。结果表明:茎、叶、花水提取物对3种菌均有抑菌效果,通过测定它们的最低抑菌浓度(MIC)及抑菌圈大小可知,三角梅叶水提取液的抑菌效果最好,其次是茎,花的抑菌效果最差。茎、叶水提取液对大肠杆菌的抑菌效果最好,花水提取液对金黄色葡萄球菌的抑菌效果最好。通过不同pH值条件下茎、叶、花水提取液抑菌效果测定,在酸性条件下,水提取液对各菌种的抑菌效果较好。该试验为进一步开发利用三角梅资源,为天然食品防腐保鲜剂的开发提供理论依据。

关键词:三角梅;水提取液;最低抑菌浓度(MIC);抑菌效果

中图分类号:S 685.99　**文献标识码**:B　**文章编号**:1001－0009(2016)09－0129－04

三角梅(*Bougainvillea spectabilis* Willd)属紫茉莉科叶子花属常绿攀援状灌木,又称为九重葛、三叶梅、毛宝巾、簕杜鹃、叶子梅、纸花、宝巾花、南美紫茉莉等。在我国主要分布于广东、云南、海南、福建等地。因其属藤本植物,植株造型可塑性强,花型独特,花色丰富且花期长,故常用于盆景或园林绿化植物[1],具有较高的园艺及观赏价值。三角梅除具有观赏价值之外,还具有某些药用价值,印度和墨西哥人曾利用三角梅的花和叶制茶,用于治疗咳嗽、高血糖,改善月经不调等妇科疾病[2]。

目前,三角梅的研究主要集中在繁殖扦插[3-4]、引种栽培[5-6]及组织培养[7-9]方面,此外,还有分子水平上对三角梅种质资源的研究[10-12],对其花、叶挥发性组分的研究[13-14],对其植株中一些功能活性物质如类黄酮[15]、色素[16-18]、矿质元素[19]等的提取研究也陆续有了报道。由此可见,对三角梅资源的开发利用已越来越多的受到人们的重视。关于三角梅植株各部分的抑菌性至今尚鲜见报道,该试验对三角梅茎、叶、花3部分的抑菌效果进行测定,以期为天然保鲜防腐剂的开发,最大化利用三角梅资源提供一定的理论依据。

第一作者简介:熊亚(1980-),女,硕士,副教授,研究方向为应用微生物及发酵。E-mail:xiongya1980@163.com.

收稿日期:2015－12－16

1　材料与方法

1.1　试验材料

供试三角梅采自攀枝花学院C区苗圃。

供试菌种大肠杆菌(*E. coli*)、金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)及枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)由攀枝花学院生物与化学工程学院微生物实验室提供。

供试培养基为牛肉膏蛋白胨培养基[20]。

手提式压力蒸汽灭菌锅(YX-260B型,广州世洋净化设备有限公司);双人单面净化工作台(SJ-CJ-2FDQ型,苏州苏洁净化设备有限公司);双层小容量恒温摇床(TS-2102C型,匡贝实业(上海)有限公司);台式高速离心机(H1650-W型,上海赵迪生物科技有限公司);电热恒温培养干燥箱(202型,北京中兴伟业仪器有限公司);高速万能粉碎机(FV-200型,北京中兴伟业仪器有限公司)。

1.2　试验方法

1.2.1　三角梅茎、叶、花水提取液的制备　采集三角梅

Abstract:Taking 'Kyoho' leaves as materials, grape downy mildew as research object, the preventive and control effect of 300 times of 2% Wuyiencin, 200 times of 2% Kasugamycin, and 1 000 times of 3% Polyoxin and 1 000 times of 20% Validamycin on grape downy mildew was studied. The results showed that the preventive effect of 300 times of Wuyiencin, 200 times of Kasugamycin, and 1 000 times of Polyoxin were 85.97%, 57.89% and 70.18%, respectively, with Validamycin no obvious effect. Kasugamycin agent had an obvious treatment effect on grape downy mildew. The Kasugamycin with penetrating agent had synergistic effect on grape downy mildew in indoor and field experiment.

Keywords:grape downy mildew;antibiotic;lipid-soluble penetrant;prevention;treatment

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn

植株,先将其茎、叶及花分开,自然晒干后,将茎剪碎,用粉碎机粉碎成末,取 300 g 粉末,置于 1.5 L 容量的烧杯中,加入 1 000 mL 无菌水,浸泡过夜,再将其煎煮 2 h 后过滤,取滤液于烧瓶中浓缩至 300 mL,即制成 1 g/mL 的三角梅茎的水提取液。1 g/mL 三角梅叶和花的水提取液也用同样的方法制得,根据最终浓缩液的体积,可以制备不同浓度的水提取液。

1.2.2　菌种菌悬液的制备　用灭过菌的接种环取培养至对数生长期的试管斜面菌种于装有无菌水的试管中制成菌悬液,通过逐级稀释,调节菌悬液浓度为 10^5 cfu/mL 备用。

1.2.3　最低抑菌浓度(MIC)的测定　用移液枪分别移取不同浓度(1、2、3、4、5 g/mL)的茎、叶、花水提取液 50 μL 与 50 μL 菌悬液混合,将 100 μL 混合液涂布平板,同时将 50 μL 菌悬液与 50 μL 无菌水的混合液涂布平板作为对照,将平板倒置放入恒温培养箱中 37℃培养,48 h 后观察平板菌落长势。

1.2.4　滤纸片法测定抑菌圈大小　用打孔器将滤纸打成直径为 6 mm 的小圆片,灭菌之后烘干,将滤纸片浸泡在 5 g/mL 的水提取液中 2 h,然后用无菌镊子夹出,沥干多余的水提取液,按照“十”字形将浸过 5 g/mL 茎、叶、花水提取液及无菌水的 4 张滤纸片贴在已经涂布好菌液的平板上,以浸泡过无菌水的滤纸片为对照,每个菌种做 3 个平行,将平板倒置放于恒温培养箱中 37℃培养,48 h 后用刻度尺测量抑菌圈直径大小。

1.2.5　不同 pH 值条件下抑菌效果的测定　调节 5 g/mL 茎水提取液的 pH 值均分别为 4、5、6、7、8,将灭过菌的直径为 6 mm 的滤纸片在不同 pH 值水提取液中浸泡 2 h,同时以浸泡过无菌水的滤纸片作为对照,将 6 片滤纸片沥干水分后贴在已涂布好菌悬液的平板上,每个菌种做 3 个平行,于恒温培养箱中 37℃培养 48 h 后测定抑菌圈大小。叶和花不同 pH 值水提取液的抑菌效果测定按照相同方法进行。

2　结果与分析

2.1　最低抑菌浓度(MIC)的测定

由表 1 可知,叶水提液对大肠杆菌的最低抑菌浓度为 2 g/mL,对金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度为 4 g/mL,对枯草芽孢杆菌的最低抑菌浓度为 4 g/mL。说明叶水提取液对于革兰氏阳性供试菌株的抑菌效果较好。

由表 2 可知,茎水提液对大肠杆菌的最低抑菌浓度为 3 g/mL,对金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度为 2 g/mL,对枯草芽孢杆菌的最低抑菌浓度为 4 g/mL。

由表 3 可知,花水提液对大肠杆菌的最低抑菌浓度为 2 g/mL,对金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度为 3 g/mL,对枯草芽孢杆菌的最低抑菌浓度为 4 g/mL。

表 1　各菌种在不同浓度叶水提液条件下的生长情况

Table 1　The growth condition of strains under the condition of different concentration of extracting solution from leaves

菌种 Strains	三角梅叶水提液 Extracting solution from leaves/(g·mL^{-1}) 5	4	3	2	1	对照 CK	MIC/(g·mL^{-1})
大肠杆菌 *E. coli*	－	－	－	－	＋	＋＋	2
金黄色葡萄球菌 *S. aureus*	－	－	＋＋	＋＋	＋＋＋	＋＋＋	4
枯草芽孢杆菌 *B. subtilis*	－	－	＋	＋	＋＋	＋＋＋	4

注:－没有菌落;＋生长较弱;＋＋生长较好;＋＋＋生长非常好。下同。

Note:－no colony;＋grow weak;＋＋grow well;＋＋＋grow very well. The same below.

表 2　各菌种在不同浓度茎水提液条件下的生长情况

Table 2　The growth condition of strains under the condition of different concentration of extracting solution from stems

菌种 Strains	三角梅茎水提液 Extracting solution from stems/(g·mL^{-1}) 5	4	3	2	1	对照 CK	MIC/(g·mL^{-1})
大肠杆菌 *E. coli*	－	－	－	＋	＋＋	＋＋	3
金黄色葡萄球菌 *S. aureus*	－	－	－	－	＋	＋＋	2
枯草芽孢杆菌 *B. subtilis*	－	－	＋	＋	＋＋	＋＋＋	4

表 3　各菌种在不同浓度花水提液条件下的生长情况

Table 3　The growth condition of strains under the condition of different concentration of extracting solution from flowers

菌种 Strains	三角梅花水提液 Extracting solution from flowers/(g·mL^{-1}) 5	4	3	2	1	对照 CK	MIC/(g·mL^{-1})
大肠杆菌 *E. coli*	－	－	－	－	＋	＋＋	2
金黄色葡萄球菌 *S. aureus*	－	－	－	＋＋	＋＋＋	＋＋＋	3
枯草芽孢杆菌 *B. subtilis*	－	－	＋	＋	＋	＋＋	4

从三角梅茎、叶、花水提取液对 3 种菌的最低抑菌浓度来看,3 种水提取液对革兰氏阳性供试菌大肠杆菌的抑菌效果最好,其次是革兰氏阴性供试菌金黄色葡萄球菌,3 种水提取液对枯草芽孢杆菌的抑菌效果相似,最低抑菌浓度均为 4 g/mL,金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌均为革兰氏阴性供试菌,二者在最低抑菌浓度上体

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn

现出差异,一方面可能与3种水提取液中所含抑菌化学物质的成分存在较大差别有关,一方面可能与2种供试菌自身对某些成分的抗性不同有关。

2.2 抑菌效果测定

通过相同浓度三角梅茎、叶、花水提取液对3种菌的抑菌圈大小来看(表4),总体上叶水提取液的抑菌效果最好,其次是茎水提取液,花水提取液的抑菌效果最差。叶和茎的水提取液对大肠杆菌的抑菌效果最好,对其它2种菌的抑菌效果次之,这与最低抑菌浓度试验结果基本一致;花的水提取液对金黄色葡萄球菌的抑菌效果最好,其它2种菌次之。3种水提取液对金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的抑菌圈大小相差不大,抑菌效果相似,对大肠杆菌3种水提取液的抑菌圈大小相差较大,叶水提取液的抑菌圈最大,花水提取液的抑菌圈最小,各水提取液在抑菌圈大小上的差别可能与三角梅植株茎、叶、花中所含抑菌物质种类、浓度不同有关。

表4 三角梅植株不同部位水提取液的抑菌圈大小

Table 4 Size of antibacterial circle tested by extracting solution from different parts of *Bougainvillea spectabilis* Willd plant

菌种 Strains	抑菌圈大小 Size of the antibacterial circle/mm			CK
	叶水提液(5 g/mL) Extracting solution from leaves	花水提液(5 g/mL) Extracting solution from flowers	茎水提液(5 g/mL) Extracting solution from stems	
大肠杆菌 *E. coli*	11.38±0.26	7.91±0.40	10.19±0.32	—
金黄色葡萄球菌 *S. aureus*	10.10±0.24	8.76±0.86	10.03±0.30	—
枯草芽孢杆菌 *B. subtilis*	10.98±0.42	8.28±0.52	9.87±0.40	—

注:—无抑菌圈形成。

Note:—no antibacterial circle.

2.3 不同pH值条件下抑菌效果测定

由表5可知,叶水提取液对各菌种的抑菌效果随着pH值的增加先增强后减弱,对大肠杆菌的抑菌效果在pH 5～6最好,对金黄色葡萄球菌的抑菌效果在pH 6～7最好,对枯草芽孢杆菌的抑菌效果在pH 6～7最好,由此可知,叶水提取液在pH 5～7,即弱酸性的环境中具有较好的抑菌效果。

表5 不同pH值叶水提取液的抑菌圈大小

Table 5 Size of antibacterial circle under the condition of leaves extraction solution with different pH values

叶水提取液pH值 pH value of leaves extraction solution	抑菌圈大小 Size of antibacterial circle/mm		
	大肠杆菌 *E. coli*	金黄色葡萄球菌 *S. aureus*	枯草芽孢杆菌 *B. subtilis*
4	9.45	7.15	8.24
5	10.12	7.21	8.41
6	10.44	7.44	8.94
7	8.31	7.85	8.89
8	6.25	6.11	8.15

由表6可知,在不同的pH条件下,花的水提取液对大肠杆菌的抑菌效果在pH 4～5最好,对金黄色葡萄球菌的抑菌效果在pH 6～7最好,对枯草芽孢杆菌的抑菌效果在pH 5～6最好,花的水提取液在pH 8时,无法测得对大肠杆菌的抑菌圈的大小,或者说抑菌效果很差。由此可知,花的水提取液对革兰氏阳性供试菌大肠杆菌的抑菌效果在酸性较强的条件下最好,对于革兰氏阴性供试菌金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌来说,在pH 5～7的酸性的环境中具有较好的抑菌效果。随着pH值的增加,在碱性环境中花的水提取液对各菌种的抑菌效果减弱。

由表7可知,茎的水提取液与叶、花的水提取液一样,随着pH值的增加对各菌种的抑菌效果也呈现出先增强后减弱的趋势,对大肠杆菌的抑菌效果在pH 6～7最好,对金黄色葡萄球菌的抑菌效果在pH 5～6最好,对枯草芽孢杆菌的抑菌效果在pH 5～6最好,由此可知,茎的水提取液在pH 5～7,即酸性的环境中具有较好的抑菌效果,革兰氏阴性供试菌最佳抑菌效果的酸度要稍微高于革兰氏阳性供试菌大肠杆菌的最佳抑菌效果的酸度。

表6 不同pH值花水提取液的抑菌圈大小

Table 6 Size of antibacterial circle under the condition of flower extraction solution with different pH values

花水提取液pH值 pH value of flower extraction solution	抑菌圈大小 Size of antibacterial circle/mm		
	大肠杆菌 *E. coli*	金黄色葡萄球菌 *S. aureus*	枯草芽孢杆菌 *B. subtilis*
4	8.32	7.68	7.54
5	8.20	7.94	8.66
6	7.94	8.23	8.42
7	6.66	8.65	8.25
8	—(无抑菌圈)	8.10	7.32

表7 不同pH值茎水提取液的抑菌圈大小

Table 7 Size of antibacterial circle under the condition of stem extraction solution with different pH values

花水提取液pH值 pH value of stem extraction solution	抑菌圈大小 Size of antibacterial circle/mm		
	大肠杆菌 *E. coli*	金黄色葡萄球菌 *S. aureus*	枯草芽孢杆菌 *B. subtilis*
4	6.89	7.21	7.91
5	7.21	7.75	8.03
6	7.65	7.46	7.85
7	8.14	7.42	7.57
8	7.35	7.24	7.21

3 结论

三角梅作为一种观赏价值较高的植物目前已在各地被广泛的引种栽培,研究表明,三角梅叶和花中含有叶醛、植醇、棕榈酸、对乙烯基愈创木酚、柠檬烯、丁子香

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn

酚、亚油酸、亚麻酸以及维生素 E 等对人体有益的化合物[13-14],具有一定的药用价值,其茎中含有何种化学成分,与叶、花中的成分是否存在差别还鲜见报道。通过最低抑菌浓度试验,三角梅茎、叶、花水提取液对大肠杆菌的抑菌效果最好,其次是金黄色葡萄球菌;通过测定抑菌圈大小,3 种水提取液对金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的抑菌效果相似,对大肠杆菌的抑菌效果存在着较大的差别,叶水提取液和茎水提取液对大肠杆菌的抑菌效果最好,花水提取液对金黄色葡萄球菌的抑菌效果最好,水提取液对各菌种的抑菌效果整体上是叶>茎>花。通过不同 pH 值条件下 3 种水提取液抑菌效果的比较,随着 pH 值的增加,抑菌效果均是先增强后减弱,3 种水提取液均是在酸性条件下对各菌种有较好的抑菌效果。

该试验仅对茎、叶、花的水提取液进行了抑菌试验,获得了抑菌效果的相关数据,对其中主要发挥抑菌作用的物质尚不明确。今后可对植株各部分利用不同的提取溶剂和方法进行提取,对提取物中起抑菌作用的物质进行有效分离,进一步研究它们的主要功能及关系,三角梅植株各部分抑菌效果试验为最大化的开发利用这一资源提供了一定的理论依据,三角梅植株提取物抑菌效果试验对将其应用于食品防腐保鲜方面也具有一定的参考意义。

参考文献

[1] 罗文扬,左雪冬,武丽琼,等.三角梅及其盆栽管理技术[J].中国园艺文摘,2015(4):152-155.

[2] 徐夙侠,王亮生,舒庆艳,等.三角梅属植物的生物学研究进展[J].植物学通报,2008,25(4):483-490.

[3] 徐永艳,单丽丽,汪琼,等.4 种生长调节剂对三角梅扦插生根的影响[J].西部林业科学,2014,43(1):23-28.

[4] 张远兵,刘爱荣,蔡为青,等.几种不同基质对三角梅扦插生长的影响[J].中国林副特产,2003(1):34-36.

[5] 何礼军,何野,黎八保,等.三角梅在我国引种栽培的研究综述[J].湖北农业科学,2011,50(8):1519-1521.

[6] 周群,黄克福,丁印龙,等.中国引栽三角梅属观赏品种的调查与分类鉴定[J].江西农业学报,2011,23(5):53-56.

[7] 叶顶英,张健.三角梅组织培养外植体再生体系建立研究[J].四川农业大学学报,2004,22(2):142-145.

[8] 董永义,宋旭,郭圆.盆栽三角梅的组织培养[J].北方园艺,2008(6):179-180.

[9] 叶顶英.三角梅组培苗试管内外生根研究[J].北方园艺,2011(15):169-171.

[10] 李房英,黄彦晶,吴少华.三角梅 ISSR 反应体系的建立和优化[J].生物技术通报,2010(7):143-145,152.

[11] 李房英,黄彦晶,吴少华.三角梅种质资源的 ISSR 分析[J].热带作物学报,2011,32(9):1692-1696.

[12] 武晓燕,唐源江.三角梅属植物种质资源及其园林应用研究进展[J].南方农业,2010,4(10):40-43.

[13] 徐夙侠,黄青云,刘鸿洲,等.光叶三角梅'Formosa'叶片挥发性组分的 GC-MS 分析[J].亚热带植物科学,2009,38(4):5-8.

[14] 徐夙侠,黄青云,刘鸿洲,等.三角梅属四个品种花挥发性组分的 GC-MS 分析[J].亚热带植物科学,2010,39(1):1-4.

[15] 徐夙侠,林春松,黄青云,等.3 个三角梅品种中类黄酮的毛细管电泳分析比较研究[J].植物研究,2010,30(6):718-724.

[16] 施伟梅,陈建福,王妙飞,等.三角梅花色素的理化性质及稳定性[J].江苏农业科学,2014,42(3):270-272.

[17] 江文世,陈雯雯.三角梅色素的提取工艺[J].湖北农业科学,2011,50(12):2526-2528.

[18] 丁伟鹏,李春玲,张会慧,等.三角梅色素的稳定性研究[J].黑龙江科学,2015,6(4):4-5,23.

[19] 徐夙侠,黄青云,林春松,等.三角梅 7 个品种的矿质元素的分析研究[J].热带作物学报,2011,32(8):1404-1410.

[20] 沈萍,范秀容,李广武.微生物学实验[M].北京:高等教育出版社,2004.

Study on the Antibacterial Effect of Extracting Solution From Different Part of *Bougainvillea spectabilis* Willd Plant

XIONG Ya[1,2], LI Minjie[1,2]

(1. Department of Biological and Chemical Engineering, Panzhihua University, Panzhihua, Sichuan 617000; 2. The Engineering Center of Characteristic Biological Resources of Panzhihua Dry-hot Valley, Panzhihua, Sichuan 617000)

Abstract: Using stems, leaves and flowers of *Bougainvillea spectabilis* Willd plant as test materials, the antibacterial effect of extracting solution from stems, leaves and flowers of *Bougainvillea spectabilis* Willd plant on *E. coli*, *S. aureus* and *B. subtilis* was studied via the MIC tests and the size of antibacterial circle. The results showed that the extracting solution from stems, leaves and flowers had antibacterial effect, extracting solution from leaves had the best effect and flowers had the worst effect. Effect of extracting solution from stems and leaves on *E. coli* was better than that from flowers, and effect of extracting solution from flowers on *S. aureus* was better than that from stems and leaves. Antibacterial effects of extracting solution with different pH values were determined, it had better effect under acidic conditions. This experiment could provide theory evidences for further exploitation of *Bougainvillea spectabilis* Willd resources and natural food preservatives.

Keywords: *Bougainvillea spectabilis* Willd; extracting solution; minimum inhibitory concentration (MIC); antibacterial effect

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn