

六十种药用植物提取物对葡萄炭疽病菌 抑菌活性的室内筛选

方丽平^{1,2}, 李进步^{1,2,3}, 薛建平^{1,2}, 王志强¹, 陈耕¹, 宋效纲^{1,2}

(1. 淮北师范大学 生命科学院, 资源植物生物学安徽省重点实验室, 安徽 淮北 235000; 2. 淮北市生物农药工程技术研究中心, 安徽 淮北 235000; 3. 南京农业大学 植物保护学院, 江苏 南京 210095)

摘要:以隶属于 44 科的 60 种药用植物为试材, 以无水乙醇作为提取溶剂, 采用生长速率法和孢子萌发法对选取的药用植物提取物进行抑菌活性的测定, 以筛选出对葡萄炭疽病菌具有抑菌活性的药用植物资源。结果表明: 在供试质量浓度为 100 mg/mL 时, 对葡萄炭疽病菌孢子萌发抑制率和菌丝生长抑制率均在 80% 以上的有 11 种植物提取物, 抑制率超过 90% 的药用植物有艾蒿、苍耳、丁香、黄芩、苦参、肉桂和石菖蒲 7 种, 其中丁香、肉桂和石菖蒲的提取物对孢子的萌发抑制率和菌丝生长抑制率均为 100%。筛选试验结果表明, 药用植物丁香、肉桂和石菖蒲具有开发成防治葡萄炭疽病新型植物源杀菌剂的潜力。

关键词:葡萄; 炭疽病; 药用植物; 抑菌活性

中图分类号:S 663.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)02-0119-05

葡萄炭疽病主要由胶孢炭疽菌 (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz. et Sacc.) 引起, 是世界范围内葡萄重要的真菌病害之一, 严重影响葡萄的产量和品质^[1-4]。在我国, 该病广泛分布在安徽、北京、山东、浙江、河北、河南、云南、广西、辽宁及新疆等葡萄产区, 每年均造成一定的产量损失, 多雨、潮湿的气候环境易引发病害大流行, 葡萄发病率可达 50%~70%, 造成果实大量腐烂^[5-6]。目前国内外防治葡萄炭疽病主要采用化学防治, 化学农药的长期使用, 不仅影响了葡萄的食用安全, 而且导致了病原菌产生抗药性, 增加防治难度和成本^[2,7-10]。在绿色家园、绿色食品日益被重视的今天, 为了使葡萄生产达到绿色果品的要求, 开发出对环境友好、安全高效的生物农药进行病害控制已成为摆在葡萄生产面前亟待解决的问题。

由于植物源杀菌剂具有安全、高效、易降解等优点而备受国内外关注, 现已成为生物农药领域的研究热点, 当前, 世界范围内都在加紧对具有杀菌活性的植物进行筛选^[11-12]。我国的药用植物资源十分丰富, 其种类

超过 1 万种, 一些具有抑菌作用的药用植物成分已广泛应用于医药行业, 其食用的安全性已得到充分证实, 这为开发天然、安全、高效的植物源杀菌剂提供了理论基础^[13-15]。然而, 到目前为止, 利用药用植物提取物进行葡萄炭疽病的防治研究报道尚少。该研究针对葡萄炭疽病菌, 选择 60 种广泛应用的药用植物为试材, 进行抑菌活性的测定筛选, 旨在为开发防治葡萄炭疽病的新植物源杀菌剂提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试大部分药用植物样品采自安徽、湖北等地, 其余购自安徽亳州药材市场。植物样品于阴凉处晾干后, 在干燥箱中 60℃ 烘干, 粉碎过 40 目筛备用。药用植物种类及提取部位见表 1。

葡萄炭疽病菌 (*Colletotrichum gloeosporioides*) 菌种由南京农业大学植物保护学院提供。将菌种接种到斜面 PDA 培养基上, 于 26℃ 恒温培养 7 d 左右, 接种到平面培养基上培养, 备用。

1.2 试验方法

1.2.1 植物提取物的制备 参照胡美姣等^[16]的方法并加以改动, 每种药用植物称取 50 g 干粉, 常温下用无水乙醇震荡提取 3 次, 提取时间分别为 3、2、1 d, 摇床速度为 140 r/min, 温度为 25℃。每次过滤前超声波处理 2 次, 每次 15 min。过滤, 合并 3 次滤液。滤液在 50℃ 以下用旋转蒸发仪减压浓缩, 定容至 50 mL (即 1 mL 提取物中含 1 g 干样品的提取物), 0~4℃ 密封冷藏备用。

第一作者简介:方丽平(1978-), 女, 硕士, 讲师, 研究方向为植物源农药。

责任作者:李进步(1979-), 男, 博士, 副教授, 现主要从事植物保护及植物源农药开发等研究工作。E-mail: lijibu0991@sina.com。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30973963); 安徽高校省级自然科学基金资助项目(KJ2012B168, KJ2013A234); 安徽省淮北市科技计划资助项目(HB070141, HB080227)。

收稿日期:2013-10-22

表 1

供试药用植物材料

Table 1

Catalogue of tested medical plant

序号 Sequence	药用植物名称 Medical plant name	科名 Family	提取部位 Extracted part
1	艾蒿 <i>Artemisia argyi</i> Levl. Et Vant	菊科 Asteraceae	茎叶 Leaf and stem
2	八角茴香 <i>Illicium verum</i> Hook. f.	木兰科 Magnoliaceae	果实 Fruit
3	白蜡树 <i>Fraxinus chinensis</i> Roxb.	木犀科 Oleaceae	树皮 Bark
4	白头翁 <i>Pulsatilla chinensis</i> (Bunge) Regel	毛茛科 Ranunculaceae	根皮 Root bark
5	半夏 <i>Pinellia ternata</i> (Thunb.) Berit.	天南星科 Araceae	块茎 Tuber
6	薄荷 <i>Mentha haplocalyx</i> Briq.	唇形科 Lamiaceae	全草 Whole herb
7	蓖麻 <i>Ricinus communis</i> Linn.	大戟科 Euphorbiaceae	种子 Seed
8	扁蓄 <i>Polygonum aviculare</i> Linn.	蓼科 Polygonaceae	全草 Whole herb
9	补骨脂 <i>Psoralea corylifolia</i> Linn.	豆科 Leguminosae	果实 Fruit
10	苍耳 <i>Xanthium sibiricum</i> Patr. ex Widder.	菊科 Asteraceae	果实 Fruit
11	侧柏 <i>Platycladus orientalis</i> (Linn.) Franco	柏科 Cupressaceae	枝叶 Leaf and stem
12	臭椿 <i>Ailanthus altissima</i> (Mill.) Swingle	苦木科 Simaroubaceae	树皮 Bark
13	地肤 <i>Kochia scoparia</i> (Linn.) Schrad	藜科 Chenopodiaceae	果实 Fruit
14	丁香 <i>Syzygium aromaticum</i> (Linn.) Merr. et Perry	桃金娘科 Myrtaceae	花蕾 Flower buds
15	构树 <i>Broussonetia papyrifera</i> Linn.	桑科 Moraceae	叶 Leaf
16	合欢 <i>Albizia julibrissin</i> Durazz.	豆科 Leguminosae	树皮 Bark
17	核桃 <i>Juglans regia</i> Linn.	胡桃科 Juglandaceae	果皮 Peel
18	虎杖 <i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zucc.	蓼科 Polygonaceae	根茎 Rhizoma
19	花椒 <i>Zanthoxylum bungeanum</i> Maxi	芸香科 Rutaceae	果实 Fruit
20	黄荆 <i>Vitex negundo</i> Linn.	马鞭草科 Verbenaceae	果实 Fruit
21	黄芩 <i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	唇形科 Lamiaceae	根 Root
22	蒺藜 <i>Tribulus terrestris</i> Linn.	蒺藜科 zygophyllaceae	果实 Fruit
23	夹竹桃 <i>Nerium indicum</i> Mill. cv Pailua	夹竹桃科 Apocynaceae	叶 Leaf
24	姜 <i>Zingiber officinale</i> Roscoe	姜科 Zingiberaceae	根茎 Rhizoma
25	金银花 <i>Lonicera japonica</i> Thunb.	忍冬科 Caprifoliaceae	花 Flower
26	空心莲子草 <i>Alternanthera philoxeroides</i> (Mart.) Griseb.	苋科 Amaranthaceae	全草 Whole herb
27	苦参 <i>Sophora flavescens</i> Ait.	豆科 Leguminosae	根 Root
28	苦豆子 <i>Sophora alopecuroides</i> Linn.	豆科 Leguminosae	种子 Seed
29	苦瓜 <i>Momordica charantia</i> Linn.	葫芦科 Cucurbitaceae	果实 Fruit
30	苦楝 <i>Melia azedarach</i> Linn.	楝科 Meliaceae	果实 Fruit
31	鳢肠 <i>Eclipta prostrata</i> Linn.	菊科 Asteraceae	全草 Whole herb
32	龙葵 <i>Solanum nigrum</i> Linn.	茄科 Solanaceae	全草 Whole herb
33	芦苇 <i>Phragmites australis</i> (Cav.) Trin. ex Steud.	禾本科 Poaceae	根 Root
34	落地生根 <i>Bryophyllum pinnatum</i> (L. f.) Oken	景天科 Crassulaceae	全草 Whole herb
35	葎草 <i>Humulus scandens</i> (Lour.) Merr.	桑科 Moraceae	全草 Whole herb
36	马齿苋 <i>Portulaca oleracea</i> Linn.	马齿苋科 Portulacaceae	全草 Whole herb
37	马尾松 <i>Pinus massoniana</i> Lamb.	松科 Pinaceae	果实 Fruit
38	曼陀罗 <i>Datura stramonium</i> Linn.	茄科 Solanaceae	全草 Whole herb
39	木槿 <i>Hibiscus syriacus</i> Linn.	锦葵科 Malvaceae	花 Flower
40	女贞 <i>Ligustrum lucidum</i> Ait.	木犀科 Oleaceae	果实 Fruit
41	爬山虎 <i>Parthenocissus tricuspidata</i> (Sieb et Zucc) Planch	葡萄科 Vitaceae	根茎 Rhizoma
42	枇杷 <i>Eriobotrya japonica</i> Thunb. Lindl.	蔷薇科 Rosaceae	叶 Leaf
43	肉桂 <i>Cinnamomum cassia</i> Presl	樟科 Lauraceae	树皮 Bark
44	商陆 <i>Phytolacca acinosa</i> Roxb.	商陆科 Phytolaccaceae	根 Root
45	石菖蒲 <i>Acorus tatarinowii</i> Schott	天南星科 Araceae	根茎 Rhizoma
46	石榴 <i>Punica granatum</i> Linn.	石榴科 Puniceae	果皮 Peel
47	柿树 <i>Diospyros kaki</i> L. f.	柿树科 Ebenaceae	叶 Leaf
48	菘蓝 <i>Isatis indigotica</i> Fort.	十字花科 Cruciferae	根 Root
49	天名精 <i>Carpesium abrotanoides</i> Linn.	菊科 Asteraceae	全草 Whole herb
50	菟丝子 <i>Cuscuta chinensis</i> Lam.	旋花科 Convolvulaceae	种子 Seed
51	细辛 <i>Asarum sieboldii</i> Miq.	马兜铃科 Aristolochiaceae	全草 Whole herb
52	小蓟 <i>Cephalanoplos segetum</i> (Bunge) Kitam.	菊科 Asteraceae	全草 Whole herb
53	羊蹄躅 <i>Rhododendron molle</i> G. Don	杜鹃花科 Ericaceae	花 Flower
54	野胡萝卜 <i>Daucus carota</i> Linn.	伞形科 Apiaceae	根 Root
55	银杏 <i>Ginkgo biloba</i> Linn.	银杏科 Ginkgoaceae	果实 Fruit
56	月腺大戟 <i>Euphorbia ebracteolata</i> Hayata	大戟科 Euphorbiaceae	根 Root
57	皂荚 <i>Gleditsia sinensis</i> Lam.	豆科 Leguminosae	果实 Fruit
58	樟树 <i>Cinnamomum camphora</i> (L.) Presl.	樟科 Lauraceae	果实 Fruit
59	猪殃殃 <i>Galium aparine</i> Linn.	茜草科 Rubiaceae	全草 Whole herb
60	孜然 <i>Cuminum cyminum</i> Linn.	伞形科 Apiaceae	种子 Seed

1.2.2 60种植物提取物对葡萄炭疽病菌丝生长的抑制作用 采用菌丝生长速率法测定菌丝抑菌率^[17]。在无茵条件下,向 100 mL 已灭菌的烧杯中加入 5 mL 提取物(1 000 mg/mL,提取物经细菌过滤器过滤后,20 W 紫外灯灭菌 30 min,下同),再加入 45 mL 融化了的冷却至 50℃左右的培养基,充分摇匀后(即供试质量浓度为 100 mg/mL),倒入直径 9 cm 的培养皿中制成平板。用直径 6 mm 的打孔器将培养 5 d 的炭疽病菌在菌落边缘打取菌饼,接种于含药培养基平板中央,每皿 1 块。常温下培养 7 d 后,用十字交叉法测量菌落直径。对照处理为等量的丙酮和培养基。每个处理重复 5 次。抑菌率计算按以下公式:抑菌率=(对照菌落直径-处理菌落直径)/(对照菌落直径-菌饼直径)×100%。

1.2.3 60种植物提取物对葡萄炭疽病孢子萌发的影响 用悬滴法测定孢子萌发情况^[18],将病菌培养一定时间后使其产孢,加水稀释到 10 倍物镜下每视野中 70~100 个孢子左右,将药用植物提取液稀释 10 倍(即供试质量浓度为 100 mg/mL),取 10 μL 提取液与 10 μL 供试

菌分生孢子悬浮液于载玻片上混合,对照孢子悬浮液中加入去离子水,于 25℃下保湿培养,24 h 后在显微镜下检查孢子萌发数,重复 5 次,取平均值按下面公式计算抑制率:抑制率=(对照萌发率-处理萌发率)/对照萌发率×100%,孢子萌发率=孢子囊萌发数/孢子囊总数×100%。

2 结果与分析

2.1 60种植物提取物对葡萄炭疽病菌菌丝生长的抑制作用

由表 2 可知,在供试干物质质量浓度为 100 mg/mL 时,不同受试药用植物无水乙醇提取物对葡萄炭疽病菌菌丝生长表现了不同程度的抑制作用,对葡萄炭疽病菌菌丝生长抑制率在 80%以上的有 11 种植物,抑制率超过 90%的药用植物有艾蒿、苍耳、丁香、黄芩、苦参、肉桂和石菖蒲 7 种,其中丁香、肉桂和石菖蒲的提取物对菌丝生长抑制率达到 100%。

表 2 60 种药用植物对葡萄炭疽病菌的抑菌活性
Table 2 Antifungal activities of extracts from 60 medicinal plants against *Colletotrichum gloeosporioides*

药用植物名称 Medical plant name	菌落直径 Colonies diameter/mm	相对抑制率 Relative inhibition rate/%	孢子萌发率 Spore germination rate/%	萌发抑制率 Inhibition rate of spore germination/%
艾蒿 <i>Artemisia argyi</i>	3.8±0.8e	92.76±2.71ab	5.4±0.9i	94.09±2.61ab
八角茴香 <i>Illicium verum</i>	6.4±1.1e	87.80±2.24b	9.8±1.2hi	89.28±2.73b
白蜡树 <i>Fraxinus chinensis</i>	42.2±2.4b	19.54±3.42h	67.5±2.4c	26.15±3.28h
白头翁 <i>Pulsatilla chiensis</i>	29.6±1.6c	43.57±2.94f	50.6±1.8de	44.64±2.95fg
半夏 <i>Pinellia ternata</i>	25.1±2.2cd	52.14±3.33ef	41.7±2.4ef	54.38±2.58ef
薄荷 <i>Mentha haplocalyx</i>	21.4±1.5cd	59.20±3.72de	36.4±2.3f	60.18±3.46de
蓖麻 <i>Ricinus communis</i>	43.9±2.1ab	16.30±2.57h	71.5±1.8c	21.77±2.36hi
扁蓄 <i>Polygonum aviculare</i>	28.4±1.3c	45.85±2.86f	53.2±2.7de	41.79±2.54fg
补骨脂 <i>Psoralea corylifolia</i>	8.5±0.5e	83.79±2.94bc	13.5±2.1h	85.23±3.18bc
苍耳 <i>Xanthium sibiricum</i>	3.5±0.6e	93.33±2.47ab	5.2±0.7i	94.31±2.96ab
侧柏 <i>Platycladus orientalis</i>	19.8±1.4d	62.25±3.53de	31.3±1.1fg	65.75±2.65de
臭椿 <i>Ailanthus altissima</i>	40.7±1.6b	22.40±2.49gh	72.8±1.4bc	20.35±1.95hi
地肤 <i>Kochia scoparia</i>	23.4±2.5cd	55.39±2.72ef	42.8±1.9ef	53.17±3.27ef
丁香 <i>Syzygium aromaticum</i>	0.0±0.0f	100.00±0.00a	0.0±0.0j	100.00±0.00a
构树 <i>Broussonetia papyrifera</i>	42.8±2.4b	18.40±2.94h	66.1±2.8c	27.68±2.15h
合欢 <i>Albizia julibrissin</i>	13.6±1.9de	74.07±3.21c	18.8±1.6gh	79.43±2.65c
核桃 <i>Juglans regia</i>	29.7±1.4c	43.37±2.44f	53.5±2.6de	41.47±2.23fg
虎杖 <i>Polygonum cuspidatum</i>	11.6±0.7e	77.88±3.46c	17.6±1.5gh	80.74±3.28bc
花椒 <i>Zanthoxylum bungeanum</i>	19.4±2.2d	63.01±2.83de	28.4±1.2fg	68.93±2.69d
黄荆 <i>Vitex negundo</i>	42.7±3.1b	18.59±3.62h	71.4±2.8c	21.88±1.96hi
黄芩 <i>Scutellaria baicalensis</i>	3.5±0.6e	93.33±2.74ab	5.4±1.3i	94.09±2.67ab
蒺藜 <i>Tribulus terrestris</i>	28.2±2.7c	46.23±4.26f	46.7±2.6e	48.91±3.65ef
夹竹桃 <i>Nerium indicum</i>	42.6±1.8b	18.78±3.44h	70.3±2.4c	23.09±2.29hi
姜 <i>Zingiber officinale</i>	37.2±1.5b	29.08±1.93g	51.8±1.9de	43.33±3.51fg
金银花 <i>Lonicera japonica</i>	44.9±2.7ab	14.39±3.46hi	70.5±2.9c	22.87±2.67hi
空心莲子草 <i>Alternanthera philoxeroides</i>	48.2±2.4ab	8.10±1.49i	80.6±3.2b	11.82±3.29i
苦参 <i>Sophora flavescens</i>	5.2±0.6e	90.09±1.65b	5.7±1.3i	93.76±3.74ab
苦豆子 <i>Sophora alopecuroides</i>	6.8±0.4e	87.04±2.47b	9.2±1.4h	89.93±3.22b
苦瓜 <i>Momordica charantia</i>	16.4±1.1de	68.73±3.18d	24.8±2.2gh	72.87±2.86cd
苦楝 <i>Melia azedarach</i>	22.6±2.3cd	56.91±2.26e	34.7±1.3fg	62.04±3.66de
鳢肠 <i>Eclipta prostrata</i>	47.3±2.4ab	9.82±2.75i	81.4±3.8b	10.94±2.87i
龙葵 <i>Solanum nigrum</i> Linn.	15.4±1.6de	70.64±1.94cd	24.3±2.9g	73.41±3.56cd
芦苇 <i>Phragmites australis</i>	11.7±1.4e	77.69±3.16c	17.2±2.4gh	81.18±3.39bc
落地生根 <i>Bryophyllum pinnatum</i>	28.8±2.2c	45.09±2.47f	48.7±2.6de	46.72±2.81f

续表 2

药用植物名称 Medical plant name	菌落直径 Colonies diameter/mm	相对抑制率 Relative inhibition rate/%	孢子萌发率 Spore germination rate/%	萌发抑制率 Inhibition rate of spore germination/%
葎草 <i>Humulus scandens</i> Merr.	43.8±1.4ab	16.49±1.86hi	75.4±2.6bc	17.51±3.62i
马齿苋 <i>Portulaca oleracea</i>	41.7±2.7b	20.50±2.34h	71.6±3.2c	21.66±4.32hi
马尾松 <i>Pinus massoniana</i>	12.5±1.4de	76.17±2.61c	19.6±1.9gh	78.56±3.96c
曼陀罗 <i>Datura stramonium</i>	23.8±2.5cd	54.62±3.17ef	38.4±2.3ef	57.99±3.54e
木槿 <i>Hibiscus syriacus</i>	46.1±2.8ab	12.11±2.41hi	78.9±2.8bc	13.68±3.62i
女贞 <i>Ligustrum lucidum</i>	40.5±3.2b	22.78±1.98gh	68.5±2.9c	25.05±2.85h
爬山虎 <i>Parthenocissus tricuspidata</i>	48.2±2.4ab	8.10±1.56i	77.8±3.2bc	14.88±2.29i
枇杷 <i>Eriobotrya japonica</i>	41.6±2.7b	20.69±2.46h	64.2±2.7cd	29.76±3.18gh
肉桂 <i>Cinnamomum cassia</i>	0.0±0.0f	100.00±0.00a	0.0±0.0j	100.00±0.00a
商陆 <i>Phytolacca acinosa</i>	16.2±1.1de	69.11±3.12cd	22.7±1.3gh	75.16±3.34cd
石菖蒲 <i>Acorus tatarinowii</i>	0.0±0.0	100.00±0.00a	0.0±0.0j	100.00±0.00a
石榴 <i>Punica granatum</i>	20.6±1.3d	60.72±2.86de	25.8±3.4g	71.77±4.21cd
柿树 <i>Diospyros kaki</i>	42.9±2.5b	18.21±2.34h	66.4±3.9c	27.35±4.52h
菘蓝 <i>Isatis indigotica</i>	26.5±2.6cd	49.48±2.71ef	41.5±1.8ef	54.60±2.25ef
天名精 <i>Carpesium abrotanoides</i>	12.7±2.2de	75.79±2.19cd	20.6±2.4gh	77.46±3.19c
菟丝子 <i>Cuscuta chinensis</i>	46.7±3.4ab	10.96±3.12i	69.4±3.5c	24.07±4.46h
细辛 <i>Asarum sieboldii</i>	15.5±1.5de	70.45±3.52cd	24.5±1.8g	73.19±2.85cd
小薊 <i>Cephalanoplos segetum</i>	44.6±2.2ab	14.97±2.61hi	81.3±3.6b	11.05±4.92i
羊躑躅 <i>Rhododendron molle</i>	27.3±1.7c	47.95±2.36f	46.2±2.4e	49.45±3.36ef
野胡萝卜 <i>Daucus carota</i>	36.4±2.4bc	30.60±1.96g	56.8±3.4d	37.86±2.85g
银杏 <i>Ginkgo biloba</i>	12.8±1.9de	75.60±2.63cd	14.7±1.6h	83.92±2.34bc
月腺大戟 <i>Euphorbia ebracteolata</i>	9.2±0.7e	82.46±3.16bc	14.3±1.8h	84.35±2.64bc
皂荚 <i>Gleditsia sinensis</i>	26.4±2.1cd	49.67±2.53ef	46.8±2.5e	48.80±3.88ef
樟树 <i>Cinnamomum camphora</i>	14.3±1.8de	72.74±2.48c	26.6±2.1g	70.90±3.46cd
猪殃殃 <i>Galium aparine</i>	48.6±2.6ab	7.34±1.96i	79.5±3.4b	13.02±4.55i
孜然 <i>Cuminum cyminum</i>	21.6±1.4cd	58.82±2.25e	34.8±2.4fg	61.93±3.89de
CK	52.5±2.5a	—	91.4±2.6a	—

注:表中数据为平均值±标准差;数据后有相同字母表示在 0.05 水平上差异不显著($P<0.05$, 新复极差检验)。

Note: Data were mean±SD; within a column, values followed by the same small letter are not significantly different at 0.05 probability level by Duncan's multiple range test.

2.2 60 种植物提取物对葡萄炭疽病菌孢子萌发的抑制作用

由表 2 可以看出,在供试干物质质量浓度为 100 mg/mL 时,对葡萄霜霉病菌孢子萌发抑制率大于 80% 的有 14 种药用植物,抑制率大于 90% 的有 7 种植物,其中丁香、肉桂和石菖蒲的提取物对孢子萌发抑制率均为 100%,表现出对葡萄炭疽病菌具有较强抑制作用。

3 结论与讨论

该研究选取了隶属于 44 科的 60 种药用植物,用无水乙醇作为提取溶剂,采用菌丝生长法和孢子萌发法 2 种方法,对葡萄炭疽病菌的抑菌活性进行了室内测定和筛选。测定结果表明,受试药用植物提取物对葡萄炭疽病菌均表现出了不同程度的抑菌活性,在供试质量浓度为 100 mg/mL 时,对葡萄炭疽病菌孢子萌发抑制率和菌丝生长抑制率均在 80% 以上的有 11 种植物,抑制率均超过 90% 的药用植物有艾蒿、苍耳、丁香、黄芩、苦参、肉桂和石菖蒲 7 种,其中丁香、肉桂和石菖蒲的提取物对孢子的萌发抑制率和菌丝生长抑制率均为 100%。该筛选结果表明,对葡萄炭疽病菌控制较好的药用植物有丁香、肉桂和石菖蒲 3 种,具有开发新型植物源杀菌剂的潜力,为进一步研究它们所含有的抑菌生物活性物质奠

定了基础。

当前,国内外对植物源杀菌剂的筛选、开发等研究非常活跃,正在成为无公害生物农药研制和开发的前沿^[11,13,19-22]。但从总体来看,国内外针对作物病害的植物源杀菌剂真正投入到市场上的植物源杀菌剂品种不多,还需要加强植物源杀菌剂的基础研究。我国药用植物资源极为丰富,蕴藏着大量具有抑菌活性的天然产物,是研制低毒、高效、无残留、低成本等新型生物杀菌剂的理想材料,已有研究发现具有杀菌活性的植物有 1 400 余种,但还有大量的药用植物未进行杀菌、抗菌活性测定^[13,15]。因此在进行筛选具有杀菌活性的植物时,应扩大筛选对象范围,以便发现高活性的抑菌活性植物,为进一步从活性植物中寻找杀菌活性化合物奠定基础。

药用植物的成分复杂,其抑菌作用可能是单一的成分,也可能是几种混合成分共同起作用的结果^[15,20]。该研究由于时间和条件限制并未做多种极性不同溶剂之间的平行提取,只测定了药用植物的无水乙醇提取物,可能会导致某个药用植物杀菌活性的漏筛,其原因主要是无水乙醇可能不会将植物中极性和非极性的活性物质全部提取出来,也可能是植物干燥后,一些挥发性较强的杀菌成分会散失。另外,该试验筛选出的对葡萄炭

疽病菌抑菌活性较好的药用植物的杀菌成分、作用机理和在活体植物上的杀菌活性均有必要进一步研究,在活性追踪指导下分离、纯化和鉴定出这些有效成分,为开发成为新型植物源杀菌剂开发提供先导化合物。

(该文作者还有杜圣艳,工作单位为淮北市生物农工程研究中心。)

参考文献

- [1] Sung K H, Wan G K, Hae K Y, et al. Morphological variations, genetic diversity and pathogenicity of *Colletotrichum* species causing grape ripe rot in Korea[J]. The Plant Pathology Journal, 2008(24): 269-278.
- [2] Greer L A, Harper J D I, Savocchia S, et al. Ripe rot of south-eastern Australian wine grapes is caused by two species of *Colletotrichum*; *C. acutatum* and *C. gloeosporioides* with differences in infection and fungicide sensitivity[J]. Australian Journal of Grape and Wine Research, 2011(17): 123-128.
- [3] 李利霞, 赵奎华, 刘长远, 等. 葡萄炭疽病菌 SRAP 遗传多样性分析[J]. 中国农学通报, 2012, 28(12): 230-235.
- [4] 邓维萍, 杨敏, 杜飞, 等. 云南葡萄产区葡萄炭疽病原鉴定及致病力分析[J]. 植物保护学报, 2013, 40(1): 61-67.
- [5] 赵奎华. 葡萄病虫害原色图鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005: 30-35.
- [6] 王忠跃. 中国葡萄病虫害与综合防控技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2009: 41-42.
- [7] Sanders G M, Korsten L, Wehner F C. Survey of fungicide sensitivity in *Colletotrichum gloeosporioides* from different avocado and mango production areas in South Africa[J]. European Journal of Plant Pathology, 2000, 106: 745-752.
- [8] 邓维萍, 杨敏, 杜飞, 等. 葡萄胶孢炭疽菌对 3 种麦角甾醇脱甲基抑制剂类杀菌剂的敏感性[J]. 农药学报, 2011, 13(3): 245-252.

- [9] 叶佳, 张传清. 葡萄炭疽病菌对甲基硫菌灵、戊唑醇和醚菌酯的敏感性检测[J]. 农药学报, 2012, 14(1): 111-114.
- [10] 陈聃, 时浩杰, 吴慧明, 等. 浙江省葡萄炭疽菌对甲基硫菌灵和戊唑醇的抗性研究[J]. 果树学报, 2013, 30(4): 665-668.
- [11] Arif T, Bhosale J D, Kumar N, et al. Natural products: antifungal agents derived from plants[J]. J. Asian Nat Prod Res, 2009, 11(7): 621-638.
- [12] 冯俊涛, 石勇强, 张兴. 56 种植物抑菌活性筛选试验[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2001, 29(2): 65-68.
- [13] 严振, 莫小路, 王玉生. 中草药源农药的研究与应用[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(21): 1714-1717.
- [14] 全灿, 戴新华, 徐蓓, 等. 中药安全及其标准物质研究[J]. 中草药, 2007, 38(10): 1441-1445.
- [15] 陈佳佳, 廖森泰, 孙远明, 等. 中草药抑菌活性成分研究进展[J]. 中药材, 2011, 34(8): 1313-1317.
- [16] 胡美姣, 高兆银, 李敏, 等. 72 种中草药提取物对香蕉、芒果果实采后病害病原菌的抑菌活性[J]. 果树学报, 2007, 24(3): 349-354.
- [17] 吴文君. 植物化学保护实验技术导论[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1988: 123-127.
- [18] 方中达. 植物研究方法[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998: 152-154.
- [19] Talibi I, Askarne L, Boubaker H, et al. Antifungal activity of some Moroccan plants against *Geotrichum candidum*, the causal agent of postharvest citrus sour rot[J]. Crop Prot, 2012, 35: 41-46.
- [20] 吴文君. 从天然产物到新农创制-原理·方法[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 1-35.
- [21] 沈建国, 谢荔岩, 吴祖建, 等. 药用植物提取物抗烟草花叶病毒活性的研究[J]. 中草药, 2006, 37(2): 259-261.
- [22] 赵恭文, 李长松, 李林, 等. 28 种药用植物提取液对 6 种植物病原真菌抑菌活性的测定[J]. 中国蔬菜, 2012(4): 78-82.

Laboratory Screening of Antifungal Activities of Extracts from 60 Medicinal Plants Against Grape Anthracnose Disease

FANG Li-ping^{1,2}, LI Jin-bu^{1,2,3}, XUE Jian-ping^{1,2}, WANG Zhi-qiang¹, CHEN Geng¹, SONG Xiao-gang^{1,2}, DU Sheng-yan²

(1. Anhui Provincial Key Laboratory of Resource Plant Biology, Department of Biology, HuaiBei Normal University, HuaiBei, Anhui 235000; 2. HuaiBei Research Center of Biopesticide Engineering and Technology, HuaiBei, Anhui 235000; 3. College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu 210095)

Abstract: Taking 60 medicinal plant species belonging to 44 families in China as materials, ethanol as extraction solvent, their antifungal activity against grape anthracnose disease were studied using spore germination method and mycelium growth rate method *in vitro*, in order to study antifungal activities of medicinal plant extracts against grape anthracnose disease and provide basis for exploitation of bio-fungicide from plant resource. The results showed that at concentration of 100 mg/mL, inhibition rate of plant extracts on the mycelia growth and conidial germinations of 11 plant species presented more than 80%, respectively. Among them, *Artemisia argyi*, *Xanthium sibiricum*, *Syzygium aromaticum*, *Scutellaria baicalensis*, *Sophora flavescens*, *Cinnamomum cassia*, *Acorus tatarinowii* with inhibition rate over 90%. Particularly, the extracts of *Syzygium aromaticum*, *Cinnamomum cassia* and *Acorus tatarinowii* presented inhibition rate of the mycelia growth and conidial germinations were 100%, respectively. According to the above results, *Syzygium aromaticum*, *Cinnamomum cassia* and *Acorus tatarinowii* were chosen as the products for exploitation the botanical fungicide against the grape anthracnose disease.

Key words: grape; grape anthracnose disease; medicinal plants; antifungal activities