

珍珠柴粗提物对 13 种植物病原菌的抑制活性

任 芳, 刘 强 *

(天津师范大学 化学与生命科学学院, 天津 300387)

摘 要: 以生长速率法测定了珍珠柴 7 种溶剂粗提物对棉花黄萎病菌 V991、棉花黄萎病菌 V43-1、棉花枯萎病菌、茄子黄萎病菌、稻曲病菌、苹果黑星病菌、番茄枯萎病菌、番茄叶霉病菌、黄瓜黑星病菌、西瓜炭疽病菌、芦笋茎枯病菌、扩展青霉和梨黑斑病菌 13 种植物病原菌的抑制活性。结果表明,不同溶剂粗提物的抑菌活性差异很大,某些溶剂粗提物对个别病菌表现出较强的抑制作用,如水粗提物对棉花黄萎病菌 V991,石油醚粗提物对苹果黑星病菌的抑制率分别达 100% 和 91.89%;有的溶剂粗提物的病菌抑制作用较弱,如二氯甲烷粗提物对 13 种病菌的抑菌率均较低;有些还表现出一定的促进生长作用,如甲醇粗提物对梨黑斑病菌表现为明显的促进生长作用。

关键词: 珍珠柴; 粗提物; 植物病原菌; 抑菌活性

中图分类号: Q946 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2009)01-0132-04

Antifungal activity against plant pathogens of the extracts from *Salsola passerina*

REN Fang, LIU Qiang *

(College of Chemistry and Life Science, Tianjin Normal University, Tianjin 300387, China)

Abstract: The bioactivities against 13 species of fungi of seven solvent extracts from *Salsola passerina* were studied by growth rate method. The results showed that different extracts had dramatically different fungistatic effects on the fungi tested. Some extracts had strong fungistasis on some species of fungi. The inhibition rate of the boiling water extracts achieved 100% on *Verticillium dahliae* V991. All 7 extracts had the effects on *Venturia inaequalis*, furthermore, the inhibition rate of the petroleum ether extracts achieved 91.89%. Some had a little fungistasis on some species, such as dichloromethane extracts had lower fungistasis against all 13 fungi. While some had promotional effect on some species of fungi, for example, methanol extracts had an evidently promotional effect on *Alternaria kikuchiana* growth.

Key words: *Salsola passerina*; extracts; plant pathogens; fungistasis

植物源杀菌剂是指从植物的某些部位提取具有杀菌、抑菌活性的有效成分,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(Swain, 1977)。从植物中寻找杀菌、抑菌活性物质现已成为当今开发、研制无公害新型杀菌剂的热点之一。有关植物源杀菌剂方面的研究报道目前有很多(范青生等, 1995; 冯俊涛等, 2001; 王理达等, 2001; 李玉平等, 2002a, 2003b)。珍珠柴(*Salsola passerina*)属

藜科猪毛菜属,强旱生半灌木(马毓泉等, 1990)。根据多年来在该地区相关研究发现该植物没有病害,极少有虫害,因此认为该植物可能存在抗生性,但未见关于该植物化学成分及其生物活性方面的研究报道。作者的初步研究发现了该植物的粗提物对小菜蛾有显著的产卵忌避作用(另文发表),本文报道了珍珠柴 7 种溶剂粗提物对 13 种常见的植物病原真菌的抑制活性,旨在从该植物中筛选和创制新型杀

收稿日期: 2007-10-12 修回日期: 2008-09-25

基金项目: 国家自然科学基金(30570344)[Supported by the National Natural Science Foundation of China(30570344)]

作者简介: 任芳(1982-),女,内蒙古包头市人,硕士研究生,主要研究方向是保护生物学。

* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: lqjnu@126.com)

菌剂奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

将采自内蒙古乌海市的珍珠柴茎、叶荫干,用粉碎机粉碎,过 40 目筛,备用。提取溶剂:自来水、无水甲醇、无水乙醇、丙酮、乙酸乙酯、二氯甲烷和石油醚(有机溶剂均为分析纯,天津化学试剂六厂)。供试菌种:棉花黄萎病菌 V991(*Verticillium dahliae* V991),棉花黄萎病菌 V43-1(*Verticillium dahliae* V43-1),棉花枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*),茄子黄萎病菌(*Verticillium dahliae*),稻曲病病菌(*Ustilaginoides avirens*),苹果黑星病菌(*Venturia inaequalis*),番茄枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* sp. *lycopersici*),番茄叶霉病菌(*Cladosporium fulvum*),黄瓜黑星病菌(*C. cucumerinum*),西瓜炭疽病菌(*Colletotrichum orbiculare*),芦笋茎枯病菌(*Phomopsis asparagi*),扩展青霉(*Penicillium expansum*)和梨黑斑病菌(*Alternaria kikuchiana*),均由天津植保所提供。

1.2 方法

有机溶剂粗提物的提取采用冷浸法,将珍珠柴茎叶混合粉末分别浸泡在甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯、二氯甲烷和石油醚中,各提取液减压抽滤后,用旋转蒸发器蒸发溶剂,得到油状物或膏状物。水粗提物的提取采用水煮法,茎叶混合粉末加水煎煮,过滤,将滤液继续加热浓缩成膏状。7 种粗提物分别用各自的提取溶剂配制成浓度为 100 g/L 的药液,备用。

对病原菌的生物活性测定采用生长速率法(陈年春,1991)。分别取 100 g/L 的各粗提物药液 0.4 mL,加于培养基上,涂布均匀,以加等量的提取溶剂为对照,静置至药液挥发干后,将供试菌用无菌打孔器打出直径 4 mm 的菌饼,移置含药培养基上,每皿 3 个菌饼,置于 27 ℃温箱中培养,72 h 后用十字交叉法测量菌落直径。根据菌落直径求抑制生长的百分率,公式如下:

菌落直径(mm)=两次直径平均数-菌饼直径

抑制生长率(%)=
$$\frac{\text{对照生长直径}-\text{处理生长直径}}{\text{对照生长直径}} \times 100\%$$

表 1 各种溶剂粗提物对 13 种植物病原菌的抑制生长率(%)
Table 1 The antifungal activity of different kinds of extracts

供试菌种	不同溶剂粗提物抑菌率(%)						
	水	甲醇	乙醇	丙酮	乙酸乙酯	二氯甲烷	石油醚
棉花黄萎 V991	100.00	0.00	0.00	25.00	26.46	15.95	11.75
棉花黄萎 V43-1	38.93	60.32	20.00	22.22	-21.95	28.54	17.65
棉花枯萎病菌	25.80	4.54	52.73	8.89	15.40	15.80	14.86
茄子黄萎病菌	41.91	49.88	24.00	7.33	2.83	-18.48	0.80
稻曲病病菌	10.93	-49.89	-195.08	7.78	2.33	9.70	0.39
苹果黑星病菌	5.62	32.95	65.48	53.32	78.39	21.33	91.89
番茄枯萎病菌	27.97	-25.94	-125.08	-23.42	27.92	19.78	23.78
番茄叶霉病菌	3.50	-26.49	-31.55	-52.65	-32.38	-33.93	10.88
黄瓜黑星病菌	20.63	-115.47	30.26	-36.74	15.05	-5.70	11.96
西瓜炭疽病菌	-35.46	-78.54	-13.98	-133.93	-144.31	26.67	-56.34
芦笋茎枯病菌	-26.29	-63.00	-38.83	-36.97	-36.27	0.00	-40.14
扩展青霉	-45.81	8.54	-48.03	5.30	-21.25	-115.96	-7.71
梨黑斑病菌	-44.42	-245.02	-25.00	-63.21	-10.41	-26.70	-34.53

注:“-”为对照组菌落直径小于处理组菌落直径,粗提物对病菌表现出促进生长作用。
Note:“-”means the diameters of the control group were smaller than those of the treated group, the extract had promotional effect on the fungous growth.

2 结果与分析

2.1 对菌丝生长的抑制作用

珍珠柴 7 种溶剂粗提物在 100 g/L 的浓度下对 13 种植物病原菌的抑制活性表现出极大的差别,结

果如表 1。各种溶剂粗提物的抑菌作用不具有广谱性,例如,水粗提物对棉花黄萎 V991 病菌的抑菌率高达 100%,对其余的 12 种菌均无明显的抑制作用;石油醚粗提物对苹果黑星病菌的抑制率达 91.89%,而对其他 12 种菌也无明显的抑制作用。同一溶剂粗提物对不同菌种的作用有明显的差别,

例如,甲醇粗提物对供试的 13 种植物病原真菌中的仅有 5 种表现抑制活性,并且除对棉花黄萎 V43-1 病菌的抑菌率达 60.32%,抑菌作用较好外,对其他几种菌的抑菌作用并不显著。不同溶剂粗提物对同一菌种的作用也有很大差别,例如,对于棉花黄萎 V43-1 病菌,甲醇粗提物的抑制活性较好,抑菌率可达 60.32%,乙酸乙酯粗提物则有一定的促进生长作用,而其余五种溶剂粗提物的抑菌活性均较差;对于棉花枯萎病菌,乙醇粗提物的抑菌率为 52.73%,其余几种溶剂粗提物的抑菌率均低于 30%,抑菌作用都不明显。

2.2.6 种溶剂粗提物对 4 种菌的抑菌效果比较 如果以 100g/L 粗提物抑菌率在 50%以上的为有效,只有 6 种溶剂(除二氯甲烷外)粗提物对 4 个菌种(棉花黄萎 V991、棉花黄萎 V43-1、棉花枯萎和苹果黑星病菌)有效,对同一菌种,不同溶剂粗提物的抑制作用表现出很大差异(图 1),如,对于棉花黄萎 V991 病菌,水粗提物的抑菌率为 100%,而其他几种溶剂粗提物的抑菌率最高则为 26.46%,其中甲醇粗提物和乙醇粗提物的作用为 0,可见水粗提物中含有对棉花黄萎 V991 病菌高活性的抑制物;对棉花黄萎 V43-1 病菌,甲醇粗提物的抑制活性较好,抑菌率为 60.32%,乙酸乙酯粗提物没有抑菌活性,其余四种粗提物的抑菌活性较差,抑菌率最高为 38.93%;对于棉花枯萎病菌,仅乙醇粗提物的抑菌活性较好,抑菌率为 52.73%,其余几种粗提物的抑菌率最高 25.80%,最低仅 4.54%;六种粗提物都对苹果黑星病菌有一定的抑制活性,其中,石油醚、乙酸乙酯、乙醇和丙酮粗提物的抑菌效果较好,抑菌率分别达到 91.89%,78.39%,65.48%和 53.32%,水、甲醇粗提物的抑菌效果较差,抑菌率分别为 5.62%,32.95%,因此,对于苹果黑星病菌而言,珍珠柴的各种溶剂粗提物普遍有一定的抑制活性。

3 结论与讨论

过 10 g/L、20 g/L、50 g/L、75 g/L 和 100 g/L 等几个浓度梯度的初步生测,100 g/L 为珍珠柴对这 7 种菌的最低有效浓度,低于此浓度 7 种不同溶剂粗提物对 4 种真菌(棉花黄萎 V43-1、棉花黄萎病菌 V991、棉花枯萎病菌、西瓜炭疽病菌)表现促进生长作用,当浓度达到 100 g/L 时,总体抑菌效果较好,并首次出现 100%抑菌率(水粗提物对棉花黄萎

病菌 V991 的抑制率),其原因可能是粗提物在低浓度时促进生长的因子起主要作用,具有抑菌活性的物质的作用由于含量过低而没有明显的作用。当粗提物浓度达到 100 g/L 时,抑菌活性物质达到了有效浓度,因而才表现出明显的活性,而促进作用被抑制。因此,本研究的各项抑菌试验均选取 100 g/L 的浓度。在此浓度下,珍珠柴粗提物的抑菌活性总体来看表现的并不很强,这可能是样品中抑菌活性物质的含量甚微所致。

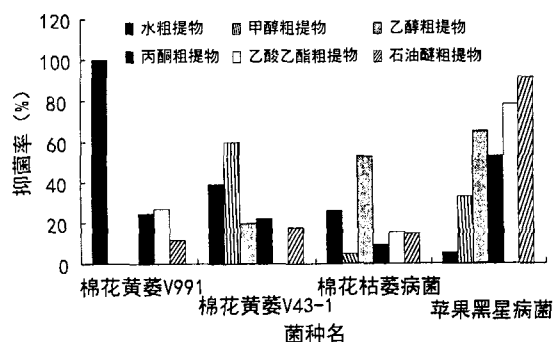


图 1 珍珠柴 6 种溶剂粗提物对 4 种菌的抑菌效果比较

Fig. 1 The antifungal activity of six extracts on four fungi

甲醇和乙醇粗提物对棉花黄萎 V991、乙酸乙酯粗提物对棉花黄萎 V43-1 没有抑菌作用

Methanol extracts and ethanol extracts had no antifungal effect on *Verticillium dahliae* Kleb. V991, while ethyl acetate extracts had no fungistasis on *Verticillium dahliae* V43-1

植物体内的次生代谢物质对病原真菌的作用有抑制生长、杀死或促进生长(冯俊涛等,2001;曹克强等,2001)。本实验中珍珠柴的 7 种溶剂粗提物对棉花黄萎 V991、棉花黄萎 V43-1、棉花枯萎、茄子黄萎和苹果黑星等 5 种病菌均有抑制生长作用;对梨黑斑病、芦笋茎枯、西瓜炭疽、扩张青霉等 4 种病菌主要表现为促进生长的作用;对测试的 13 种植物病原菌均没有杀死作用。

不同溶剂粗提物的抑菌活性差异很大,某些溶剂粗提物对个别病菌表现出较强的抑制作用,如水粗提物对棉花黄萎病菌 V991 的抑制率达 100%;石油醚粗提物对苹果黑星病菌的抑制率达 91.89%。因此认为,水粗提物中含有对棉花黄萎病菌 V991 有很高抑制活性的物质,可以在直接利用或者活性物质分离、纯化和结构鉴定方面开展进一步的工作。对于苹果黑星病菌,7 种有机溶剂中有 6 种表现出不同程度的抑菌性,说明珍珠柴中含有多种抑制该病菌的活性成分,作为该病菌植物源杀菌剂的可能性会更大。

珍珠柴粗提物对棉花黄萎 V991,石油醚粗提物对苹果黑星病菌最低抑菌浓度(MIC)和抑制中浓度(EC50 值)的测定还需进一步的试验。对于杀菌剂而言,有的在离体条件下没有活性,但在活体植物上则表现出极强的抑菌活性(林孔勋,1995),本试验仅初步进行了离体试验,活体盆栽试验、有效抑菌成分的分离纯化及抑菌、促菌活性物质比例变化不同对病原菌的作用机制也有待于进一步的研究。

参考文献:

- 马毓泉,等. 1990. 内蒙古植物志(第二版)第二卷[M]. 呼和浩特:内蒙古人民出版社
- 陈年春. 1991. 农药生物测定[M]. 北京:北京农业大学出版社:76—78
- 林孔勋. 1995. 杀菌剂毒理学[M]. 北京:中国农业出版社:67—74
- Cao K Q, Ariena H C van Bruggen. 2001. Inhibitory efficacy of several plant extracts and plant products on *Phytophthora infestans* [J]. *J Hebei Agric Univ*(河北农业大学学报),24(2):90—96
- Fan QS(范青生), Xiao XN(肖小年), Yu SW(余世望). 1995. The current situation and exploitation and utilization of antiseptic plant in China(我国抗菌植物资源研究与开发利用)[J]. *Res Sci*(资源科学), (16):20—24
- Feng JT(冯俊涛), Shi YQ(石勇强), Zhang X(张兴). 2001. Screening studies on fungistasis of 56 plant extracts(56种植物抑菌活性筛选试验)[J]. *J Northwest Sci-Tech Univ Agric Fore (Nat Sci)*(西北农业大学学报·自然科学版),29(2):65—68
- Li YP(李玉平), Mu XQ(慕小倩), Feng JT(冯俊涛), et al. 2002. Primary study on the fungicidal activity of compositae plants(几种菊科植物杀菌活性的初步研究)[J]. *J Northwest Sci-Tech Univ Agric Fore (Nat Sci)*(西北农林科技大学学报·自然科学版),30(1):68—72
- Li YP(李玉平), Feng JT(冯俊涛), Shao HJ(邵红军), et al. 2003. Bio-activities of extracts from 25 species Compositae plants against three kinds of pathogens(25种菊科植物提取物对3种植物病原菌的药效试验)[J]. *J Northwest Sci-Tech Univ Agric Fore (Nat Sci)*(西北农林科技大学学报·自然科学版),31(4):123—126
- Swain T. 1977. Secondary compounds as protective agents[J]. *Ann Rev Plant Physiol*,8:479—501
- Wang LD(王理达), Hu YQ(胡迎庆), Tu PF(屠鹏飞). 2001. Antifungal activity screening on 13 crude drug extracts and chemical constituents(13种生药提取物及化学成分的真菌活性筛选)[J]. *Chin Trad Herb Drugs*(中草药),32(3):241—244

(上接第 31 页 Continue from page 31)

它们之间容易杂交,杂种种子发育良好,不需通过幼胚拯救技术可以获得生长旺盛的杂种 F1 植株。在 *R. amurensis*×*R. ciliaris* 中,杂交结实率为 22%,杂种花粉育性为 74.08%,自然结实率为 24.67%;在 *R. japonensis*×*R. amurensis* 中,杂交结实率为 20%,杂种花粉育性为 81.34%,自然结实率为 31.11%。结果表明 *R. amurensis* 与 *R. ciliaris*、*R. japonensis* 存在一定的生殖障碍。因此,建议将毛叶鹅观草作为纤毛鹅观草的亚种;而竖立鹅观草作为其变种处理比较合适。

参考文献:

- 耿以礼. 1959. 中国主要植物图说—禾本科[M]. 北京:科学出版社
- 耿以礼,陈守良. 1963. 国产鹅观草属 *Roegneria* C. Koch 之订正[J]. *南京大学学报(生物学)*1:1—92
- 郭本兆. 1987. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社:9(3):51—401
- 蔡联炳. 1997. 中国鹅观草属的分类研究[J]. *植物分类学报*,35(2):148—177
- 董玉琛. 1992. 小麦野生近缘植物的研究和利用. 植物优异种质资源及其开拓利用[M]. 北京:中国科学技术出版社:39—44
- 李隆业,杨家秀. 1992. 小麦野生近缘植物抗白粉性和抗锈性研究[J]. *西南农业大学学报*,14(6):496—499
- 王永芳. 1995. 小麦族遗传资源对赤霉病抗性的多样性[D]. 四川农业大学博士论文
- 卢宝荣,颜济,杨俊良. 1989. 鹅观草属三个物种的染色体组分析与同工酶分析[J]. *云南植物研究*,10(3):261—270
- Wei XH(魏秀华), Zhou YH(周永红), et al. 2005. Study on gliadin variation of three *Roegneria* (Poaceae: Triticeae) species and their accessions(鹅观草属三个物种及其居群间的醇溶蛋白分析)[J]. *Guihaia*(广西植物),25(5):464—468
- Yang RW(杨瑞武), Zhou YH(周永红), et al. 2001. Gliadin analysis of type species of four genera in Triticeae(小麦族四个属模式种的醇溶蛋白分析)[J]. *Guihaia*(广西植物),21(3):239—242
- Baum BR, Yen C, Yang JL. 1991. *Roegneria*: its generic limits and justification for its recognition[J]. *Can J Bot*,69:282—294
- Jiang JM, Friebe B, Gill BS. 1994. Recent advances in alien gene transfer in wheat[J]. *Euphytica*,73:199—212
- Kimber G, Alonso LG. 1981. The analysis of meiosis in hybrids. III. Tetraploid hybrids[J]. *Canad J Genet cytol*,23:235—254
- Sharma HC. 1995. How wide can a wide cross be? [J]. *Euphytica*,82:43—64
- Tzvelev NN. 1976. Tribe 3. Triticeae Dum. Poaceae URSS[M]. Leningrad: Nauka
- Löve A. 1984. Conspectus of the Triticeae[M]. *Feddes Repertorium*,95:425—521