

8种植物提取物对番茄灰霉病菌抑菌活性的研究

刘兴龙, 李新民, 刘春来, 王克勤, 王 爽, 刘 宇
(黑龙江省农业科学院植物保护研究所, 黑龙江哈尔滨 150086)

摘要: 采用生长速率法测定了 8 种植物丙酮和甲醇提取物对番茄灰霉病原真菌的生物活性。结果表明: 多数提取物对番茄灰霉病原真菌有一定的活性; 在 $50\times 10^{-3}\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度下防风、落叶松和五味子的甲醇提取物的 72 h 抑制率分别为 58.19%、80.41%、77.49%; 蝙蝠葛、落叶松枝、落叶松叶、五味子丙酮提取物对病菌的 72 h 抑制率较高分别为 82.26%、76.42%、66.60%。

关键词: 植物提取物; 甲醇和丙酮; 抑菌作用; 番茄灰霉

中图分类号: S436.412.1⁺3 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2009)03-0074-02

Study on Antifungal Activity of Eight Plant Extracts on *Botrytis cinerea*

LIU Xing-long LI Xin-min, LIU Chun-lai, WANG Ke-qin, WANG Shuang LIU Yu

(Plant Protection Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: The bioactivity of methanol and acetone extracts from 8 plants against *Botrytis cinerea* were tested with growth rate method. The results showed that all plant extracts displayed antifungal activities against *Botrytis cinerea* to some extent. The inhibition rates against *Botrytis cinerea* of the methanol extracts from *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk, *Larix gmelinii* (Ruprecht) Kuzeneva *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill respectively was 58.19%, 80.41%, 77.49% at the concentration of $50\times 10^{-3}\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ after 72 hours. The inhibition rates against *Botrytis cinerea* of the acetone extracts from *Menispermum dauricum* DC, *Larix gmelinii* (Ruprecht) Kuzeneva *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill respectively was 82.26%, 76.42%, 66.60% at the concentration of $50\times 10^{-3}\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ after 72 hours.

Key words: plant extracts; methanol and acetone; antifungal activity; *Botrytis cinerea*

植物源生物活性化合物是杀菌剂最好的资源, 具有不易引起抗药性, 对人畜安全, 在自然环境中易于降解, 不污染环境等优点。寻找高效低毒的植物源杀菌剂来取代化学合成的杀菌剂是新型杀菌剂创新研究的热点之一。黑龙江省野生植物资源丰富, 极具开发潜力。本试验初步研究了当地的蝙蝠葛、苍耳等 8 种植物的甲醇、丙酮提取物对番茄灰霉病菌的抑菌作用, 为植物源杀菌剂的进一步研究和当地野生植物资源开发提供了一定的理论参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

本试验所用植物样品采自哈同公路方正路段的山上或林间。蝙蝠葛、苍耳、防风、核桃皮、落叶松、铁线

莲、五味子、紫苑(见表 1)。试验用番茄灰霉病菌由黑龙江省农业科学院植物保护研究所生防室保存菌种。试验用提取溶剂为甲醇和丙酮。

表 1 供试样品

科名	种名	使用部位
小檗科 Berberidaceae	蝙蝠葛 <i>Menispermum dauricum</i> DC	整株
菊科 Compositae	苍耳 <i>Xanthium sibiricum</i> patin ex Willd	整株
伞形科 Umelliferae	防风 <i>Saposhnikovia divaricata</i> (Turcz.) Schis-	整株
胡桃科 Juglandaceae	核桃 <i>Juglans mandshurica</i> Maxim.	果皮
松科 Pinaceae	落叶松 <i>Larix gmelinii</i> (Ruprecht) Kuzeneva	叶
毛茛科 Ranunculaceae	林地铁线莲 <i>Clematis brevicaudata</i> DC	整株
五味子科 Schisandraceae	五味子 <i>Schisandra chinensis</i> (Turcz.) Baill	藤茎
菊科 Compositae	三脉紫苑 <i>Arctogeron ageroides</i> Turcz.	整株

1.2 植物样品的提取

植物样品阴干后粉碎, 过 60 目筛, 密封置于 4℃冰箱中保存备用。取经粉碎的植物材料 20 g, 放入 500 mL 三角瓶中, 加入提取溶剂甲醇或丙酮, 振荡提取 3 次, 溶剂量分别为 200、100、50 mL, 振荡提取时间分别为 72、48、24 h, 摇床振荡频率为 $150\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 温度为 25℃。将所有的滤液收集到一起, 旋转蒸发仪进行浓缩至 20 mL, 使最终的质量浓度为 1 mL 提取物中含有

收稿日期: 2009-03-27
基金项目: 黑龙江省农业科学院青年基金课题
第一作者简介: 刘兴龙(1975-), 男, 黑龙江省富锦人, 学士, 助理研究员, 从事大豆病虫害生物防治研究。
通讯作者: 李新民 Tel: 0451-86631027, E-mail: xinmin63@yahoo.com.

1 g 干植物样品, 将提取物移装于试管中, 密封于 4℃ 的冰箱内保存, 备用。

1.3 抑菌活性的测定

采用菌丝生长速率法。在 PDA 培养基中加入植物提取物的溶液, 使培养基中的提取物含量分别为: 10×10^{-3} 、 30×10^{-3} 、 $50 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 每组处理以混入相同体积的丙酮或甲醇作为对照。在直径为 9 cm 的培养皿内加入适量 PDA 培养基, 接入供试病菌培养。待

菌丝即将长满整个培养皿时, 在培养皿边缘菌丝生长旺盛处用打孔器打取直径为 1 cm 的菌饼, 接种于带毒培养基平板中央(有菌丝的一面向下), 每培养皿放置 1 个菌饼, 每处理重复 5 次。所有处理置于 25℃ 恒温培养箱黑暗培养。采用十字交叉法测定菌落直径, 计算平均值。按以下公式计算抑制率: 抑制率 = $[(\text{CK 菌落直径} - \text{处理菌落直径}) / (\text{CK 菌落直径} - 1)] \times 100\%$ 。

表 2 植物样品甲醇提取物 72 h 的抑菌活性

植物	10×10 ⁻³ g·mL ⁻¹ 浓度		30×10 ⁻³ g·mL ⁻¹ 浓度		50×10 ⁻³ g·mL ⁻¹ 浓度	
	菌落直径/cm	抑制率/%	菌落直径/cm	抑制率/%	菌落直径/cm	抑制率/%
蝙蝠葛	5.29	—9.72	3.92	10.15	3.21	35.38
苍耳	6.16	—31.97	3.61	19.69	2.86	45.61
防风	4.01	23.02	2.92	40.92	2.43	58.19
核桃楸	4.52	9.97	3.40	26.15	2.45	57.60
落叶松	2.95	50.13	2.43	56.00	1.67	80.41
林地铁线莲	5.69	—19.95	3.87	11.69	3.18	36.26
五味子	3.02	48.34	1.94	71.08	1.77	77.49
三脉紫苑	5.29	—9.72	4.07	5.54	3.38	30.41
对照	4.91	0.00	4.25	10.15	4.42	—

表 3 植物样品丙酮提取物 72 h 的抑菌活性

植物	10×10 ⁻³ g·mL ⁻¹ 浓度		30×10 ⁻³ g·mL ⁻¹ 浓度		50×10 ⁻³ g·mL ⁻¹ 浓度	
	菌落直径/cm	抑制率/%	菌落直径/cm	抑制率/%	菌落直径/cm	抑制率/%
蝙蝠葛	5.59	—31.90	3.35	52.62	1.94	82.26
苍耳	7.36	—82.76	6.77	—16.33	5.48	15.47
防风	5.59	—31.90	3.94	40.73	3.35	55.66
核桃楸	5.69	—34.77	4.97	19.96	3.89	45.47
落叶松	2.98	43.10	2.5	69.76	2.25	76.42
林地铁线莲	6.6	—60.92	5.67	5.85	5.32	18.49
五味子	3.39	31.32	2.98	60.08	2.77	66.60
三脉紫苑	7.28	—80.46	6.05	—1.81	5.36	17.74
对照	4.48	0.00	5.96	0.00	6.30	—

2 结果与分析

试验测定了 7 科 8 种植物的甲醇和丙酮提取物对番茄灰霉病菌的抑菌活性。总的来看, 随着浓度的提高, 提取物对番茄灰霉病原菌的抑制作用增强。在本试验中植物提取物浓度为 $50 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时抑制率最强, 所有的提取物都对灰霉病菌菌丝的生长起到了一定的抑制作用。其中甲醇溶剂提取物的抑制率达 50% 以上的植物为防风、核桃楸、落叶松、五味子, 抑菌率分别为: 58.19%、57.60%、80.41%、77.49%; 丙酮溶剂提取物抑制率达 50% 以上的植物为蝙蝠葛、防风、落叶松、五味子, 抑菌率分别为: 82.26%、55.66%、76.42%、66.60%。在低浓度时提取物对灰霉病原菌的抑制作用较弱, 有的提取物甚至起到了促进菌落生长的作用, 苍耳和三脉紫苑的丙酮提取物在 $10 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度时抑制率达到了—80% 以上, 分别为—82.76% 和—80.46%。

3 讨论

结果表明同一植物的甲醇和丙酮提取物的抑菌作用不同, 说明提取物的种类和含量有差别。利用极性较高甲酯和极性中等的丙酮提取活性物质, 可兼顾水溶性和脂溶性成分, 减少活性物质漏选的可能性^[1], 从而提高了筛选出活性成分的机率。影响植物提取物质量的因素很多, 如植物的生长期、提取部位等因素。本试验对较小株型的植

物选用了全整株, 而对木本和藤本植物选取了特定的部位。保证活性物质提取程序的标准化, 提高试验的质量, 利于对植物活性成分进行精准的分析 and 重复研究^[2]。

蝙蝠葛等 8 种植物的甲醇和丙酮提取物对灰霉病菌都表现出了一定的抑制作用。提取物在高浓度条件下对灰霉病菌抑制率高, 在低浓度条件下的抑制率低。部分提取物在低浓度下对灰霉病菌表现出促进菌丝生长的作用, 有可能是提取物本身含有促进菌丝生长的成分, 其作用机制尚不明确^[2-3]。本研究是植物提取物对病原菌抑制作用的离体试验, 今后还要通过活体试验, 进行进一步的验证研究。研究明确了 8 种植物提取物对灰霉病菌的抑制效果, 为当地野生植物资源的开发和研究提供了一定的理论依据。

参考文献:

[1] 齐军山, 陈靠山, 李美, 等. 40 种杂草的丙酮提取物对 3 种植物病原真菌的抑菌活性[J]. 植物资源与环境学报. 2008, 17(3): 49-52.
[2] 吴新安, 花日茂, 岳永德, 等. 植物源抗菌、杀菌活性物质研究进展[J]. 安徽农业大学学报. 2002, 29(3): 245-249.
[3] 李丽娜, 纪明山, 李艳丽, 等. 4 种植物提取物对植物病原菌的抑菌作用[J]. 农药. 2006, 45(1): 61-63.
[4] 吴文君. 植物化学保护试验技术导论[M]. 西安: 陕西科学技术出版社. 1988.
[5] 方中达. 植病研究方法[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社. 1998.
[6] 陈年春. 农药生物测定技术[M]. 北京: 北京农业大学出版社. 1991: 130-207.