

两种中药提取物的抑菌活性研究

毕亚玲,王 波,黄保宏,张轶辉,张文同

(安徽科技学院 植物科学学院,安徽 凤阳 233100)

摘要:以小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum*)、玉米小斑病菌(*Bipolaris maydis*)和玉米弯孢叶斑病菌(*Curvularia*)为供试菌,采用菌丝生长速率法和悬滴法,对白术和白头翁2种植物提取物的抗菌活性进行了研究。结果表明:在供试浓度为 $10\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,白术乙酸乙酯提取物对小麦赤霉病菌的抑菌活性较高,对菌丝生长的抑制率为80.68%,对小麦赤霉病菌孢子萌发的抑制率为89.25%, EC_{50} 为 $4.27\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。白头翁石油醚提取物对玉米小斑病菌的抑菌活性较高,对菌丝生长的抑制率为75.33%,对玉米小斑病菌孢子萌发的抑制率为94.21%, EC_{50} 为 $2.84\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

关键词:提取物;抗菌活性;小麦赤霉病菌;玉米小斑病菌;玉米弯孢叶斑病菌

中图分类号:S432

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2011)07-0116-04

植物源农药作为生物型农药以其高效、低毒、低残留等优点逐步代替传统的高毒化学农药是未来农药学发展的必然趋势^[1-2]。从植物中寻找杀菌抑菌物质是开发新型杀菌剂的一条有效途径^[3]。中药白术为菊科植物白术(*Atractylodes macrcephala* Koidz)的干燥根茎,又名浙术、种术等,是一种常用中草药,主要成分为挥发油,油中主要成分有苍术酮、白术内酯、3- β -乙酰氧基苍术

酮等抗菌活性成分^[4-5]。白头翁为毛茛科多年生白头翁属植物白头翁(*Pulsatilla chinensis* Bunge Regel)的根茎,是常用中药,具有清热解毒、凉血止痢、燥湿杀虫的功效。传统主要用于治疗细菌性痢疾、阿米巴痢疾等,现代研究认为白头翁除了抗菌和抗病原作用外,还具有提高机体免疫力、抑制巨噬细胞分泌IL-6、抗癌、抗炎、抗毒、止泻、镇静、镇痛、杀灭滴虫和球虫、抑制肠运动、抗内毒素血症等作用^[6]。

小麦赤霉病、玉米小斑病和玉米弯孢叶斑病是生产上的重要病害,在防治上多采用一些化学药剂喷雾,收到较好的防病效果,但连续使用的情

收稿日期:2011-03-13

第一作者简介:毕亚玲(1980-),女,辽宁省建平县人,在读博士,讲师,从事植物源农药研究。E-mail:byl-211@163.com。

trol, 2001(12):99-107.

[9] Anon. Health for all in the twenty-first century[M]. Geneva: World Health Organization, 1998.

[10] Hue S H, Kim M H. The moderns' health and health supplement foods[M]. Seoul: Hongikjae, 1997.

[11] Richardson D P. Functional foods-shades of gray: An industry perspective[J]. Nutrition Reviews, 1996, 54(11): 174-185.

[12] Benkouider C. Functional foods: A global overview[J]. International Food Ingredients, 2004, 5: 66-68.

Origin and Industry Status Analysis of Medicinal and Edible Food

CHEN Qing-liang, SHAN Cheng-gang, ZHU Jing-bin, NI Da-peng, YAN shu-lin, WANG Zhi-fen
(Institute of Agro-food Science and Technology/Research Center for Medicinal Plants, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan, Shandong 250100)

Abstract: Medicinal and edible food gradually became the turning point of the health industry. The origin of medicinal and edible food was explored. The development status of domestic and international medicinal and edible food industry was analyzed. Aiming at the problems that low technology, thin basic research, and under the gun of international medicinal and edible food companies, it provided some suggestions that the domestic medicinal and edible food companies should strengthen study and development, realize operate the company at scale, set up brand concept, establish effect of name-brand company, exploit overseas markets.

Key words: medicinal and edible; food; health products

况下,病菌产生了抗药性,防治效果逐年降低,同时也造成了农药污染^[7-10]。为此,选用中药白术和白头翁,采用生长速率法和悬滴法测定不同提取物对小麦赤霉病菌、玉米小斑病菌和玉米弯孢叶斑病菌的抑制活性,旨在为其在植物源农药上的进一步开发利用提供初步的试验依据。

1 材料与方法

1.1 供试菌种

小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum*)、玉米小斑病菌(*Bipolaris maydis*)和玉米弯孢叶斑病菌(*Curvularia*)均由安徽科技学院作物学实验室提供。

1.2 供试植物材料

中药白术(*Atractylodes macracephal* Koidz)和白头翁(*Pulsatilla chinensis* Bunge Regel)购于安徽省亳州中药材市场,供试部位为块根。

1.3 供试样品的制备

采用溶剂提取法^[11]。将白术和白头翁块根切片洗净,平铺于室内,阴干,置于电热恒温干燥箱内 50℃ 烘干,再用电动粉碎机将其粉碎,过 20 目筛后,称重。称取块根干粉 500 g,用适量乙醇浸剂提取 3 次,合并 3 次滤液,减压浓缩,冷冻干燥,得到乙醇粗提物,备用。采用液-液分配萃取,依次用石油醚、氯仿、乙酸乙酯和正丁醇各萃取 3~5 次,分别将各萃取液和水萃取液减压浓缩至浸膏,备用。

1.4 抗菌活性测定

1.4.1 不同提取物对菌丝生长的影响 采用生长速率法^[12],称取白术和白头翁各提取物 0.1 g,用少许丙酮充分溶解,加入无菌水定容至 10 mL,使各提取物的质量浓度为 10 mg·mL⁻¹,吸取白术提取液 1 mL 加入灭好菌的培养皿中,加 3 滴 10 g·mL⁻¹链霉素,再加入 9 mL 的 PSA 培养基趁

热摇匀制成含药平板,每个处理设 4 个重复,另设无菌水为空白对照,用直径为 6 mm 的打孔器在平板菌种的同心圆上打菌饼,将菌饼接种到各含药平板培养基的中央,每皿 1 片,置于 25℃ 光照条件下培养,用十字交叉法从 24 h 开始测量菌落直径,计算菌丝生长抑制率。

菌落净生长量=菌落直径-菌饼直径

相对抑制率/%=

$$\frac{\text{对照菌落净生长量}-\text{含药菌落净生长量}}{\text{对照菌落净生长量}} \times 100$$

1.4.2 不同提取物对病菌孢子萌发的影响 采用悬滴法^[12],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 40~50 个孢子左右。定量吸取与植物提取液混合使之达到规定浓度,4 次重复。72 h 测定结果,取 4 次重复的平均数,并计算孢子萌发抑制率。

孢子萌发抑制率/%=

$$\frac{\text{对照萌发率}-\text{处理萌发率}}{\text{对照萌发率}} \times 100$$

2 结果与分析

2.1 植物提取物抗菌活性的筛选

以小麦赤霉病菌、玉米小斑病菌和玉米弯孢叶斑病菌为供试菌,以白术、白头翁提取物为供试药液,测定了其抗菌活性的大小(见表 1)。在供试提取物质量浓度为 10 mg·mL⁻¹ 时,培养 7 d 后用十字交叉法测量供试真菌菌落的生长直径,各种提取物均有一定的抗菌活性。白术乙酸乙酯提取物对小麦赤霉病菌、玉米小斑病菌和玉米弯孢叶斑病菌菌丝的抑制率分别为 80.68%、70.05% 和 67.47%。相同浓度下白头翁石油醚提取物对小麦赤霉病菌、玉米小斑病菌和玉米弯孢叶斑病菌菌丝的抑制率分别为 60.34%、75.33% 和 64.93%。

表 1 植物提取物对不同病原菌菌丝生长的抑制作用

供试植物	提取溶剂	小麦赤霉病菌	抑制率/% 玉米小斑病菌	玉米弯孢叶斑病菌
白术	石油醚	61.33c	51.55c	48.83c
	氯仿	66.25b	64.72b	52.96b
	乙酸乙酯	80.68a	70.05a	67.47a
	正丁醇	41.72d	49.06c	51.94b
	水	11.61e	12.18d	26.15d
白头翁	石油醚	60.34a	75.33a	64.93a
	氯仿	45.32b	67.94b	57.22b
	乙酸乙酯	41.17b	55.57c	40.46c
	正丁醇	33.69c	28.62d	31.30d
	水	12.13d	15.87e	30.56d

注:各提取物的质量浓度均为 10 mg·mL⁻¹;表中同列数据后字母相同者表示在 5% 水平上差异不显著(DMRT 法)。下同。

用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇、水不同极性溶剂萃取 2 种中药的活性成分,研究发现白术提取物中抗真菌的活性成分主要存在于白术的乙酸乙酯、氯仿和石油醚萃取部分中,白头翁提取物中抗真菌的活性成分主要存在于石油醚、氯仿、乙酸乙酯萃取部分中,表明活性成分为极性较小及中等的化合物。

2.2 植物提取物对病原菌孢子萌发的抑制作用

由表 2 可知,在供试提取物质量浓度为

表 2 植物提取物对不同病原菌孢子萌发的抑制作用

植物	提取溶剂	抑制率/%		
		小麦赤霉病菌	玉米小斑病菌	玉米弯孢叶斑病菌
白术	乙酸乙酯	89.25	82.36	77.65
白头翁	石油醚	60.11	94.21	81.43

2.3 植物提取物对病原菌的毒力

不同浓度白术乙酸乙酯提取物对小麦赤霉病菌生长的抑制作用见表 3,提取物的抗菌活性均随着浓度的增大而增强,且剂量与毒力呈正相关,其中白术乙酸乙酯提取物回归方程为 $y=$

$10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,白术乙酸乙酯提取物对 3 种病原菌孢子萌发的抑制率均高于 70%,对小麦赤霉病菌的孢子萌发抑制率为 89.25%,对玉米小斑病菌和玉米弯孢病菌的孢子萌发抑制率分别为 82.36% 和 77.65%。白头翁石油醚提取物对玉米小斑病菌孢子萌发的抑制效果最好,抑制率达 94.21%,对玉米弯孢叶斑病菌和小麦赤霉病菌孢子萌发的抑制率分别为 81.43% 和 60.11%。

$3.8984 + 1.7482x$, $EC_{50} = 4.27 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 相关系数 $r=0.99$;白头翁石油醚提取物对玉米小斑病菌的抑制活性回归方程为 $y = 4.4164 + 1.2886x$, $EC_{50} = 2.84 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 相关系数 $r = 0.96$ 。

表 3 不同提取物对病原菌的毒力

植物	提取溶剂	供试病菌	浓度 / $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	抑制率 /%	回归方程	有效中浓度(EC_{50}) / $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	相关系数(r)
白术	乙酸乙酯	小麦赤霉病菌	20	86.48	$y = 3.8984 + 1.7482x$	4.27	0.99
			10	77.21			
			5	53.32			
			2	30.39			
			1	12.40			
白头翁	石油醚	玉米小斑病菌	20	84.22	$y = 4.4164 + 1.2886x$	2.84	0.96
			10	76.38			
			5	62.91			
			2	54.63			
			1	20.26			

3 结论与讨论

该试验以小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum*)、玉米小斑病菌(*Bipolaris maydis*)和玉米弯孢叶斑病菌(*Curvularia*)为供试菌,采用菌丝生长速率法和悬滴法,对白术和白头翁 2 种植物提取物的抗菌活性进行了研究。在供试浓度为 $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,白术乙酸乙酯提取物对小麦赤霉病菌的抑菌活性较高,对菌丝生长的抑制率为 80.68%,对小麦赤霉病菌孢子萌发的抑制率为 89.25%, EC_{50} 为 $4.27 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。白头翁石油醚提取物对玉米小斑病菌的抑菌活性较高,对菌丝生长的抑制率为 75.33%,对玉米小斑病菌孢子

萌发的抑制率为 94.21%, EC_{50} 为 $2.84 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

从白术和白头翁 2 种中药提取物对供试病原菌菌丝生长和孢子萌发的抑制活性可以看出,白术提取物对小麦赤霉病菌具有较好的抑制作用,白头翁提取物对玉米小斑病菌具有较明显的抑制作用,说明在中药白术和白头翁中存在抗菌活性成分,白术和白头翁中的抑菌活性物质主要集中于石油醚、氯仿及乙酸乙酯萃取部分,属于极性较小和中等的化合物,此结果可为进一步从中分离抗菌活性成分奠定基础。

在植物源抑菌活性物质研究中,应综合采用多种方法进行活性物质的追踪。众所周知,植物能够产生多种多样性质各异的次生代谢产物,这

为研究植物源农药提供了广阔的天地,同时也加大了研究难度。该试验仅在室内离体测定了白术和白头翁提取物的抑菌活性,在天然抑菌活性筛选中,生物测定方法的选择直接关系到能否发现并保证不漏筛活性物质,目前常用的杀菌剂生物测定方法有离体法、组织法和盆栽法,这些方法在活性筛选中各有利弊^[13-14]。因而在在抑菌活性物质筛选中,应将3种方法有机结合。室内毒力测定是药剂的初步筛选,根据病菌特性,再有目的地选择药剂进行盆栽和田间药效试验及其对病原菌的作用机制有待于进一步深入研究。

参考文献:

- [1] Swain T. Secondary compounds as protective agents[J]. Am Rev Physiol, 1977, 28: 479-501.
- [2] 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.
- [3] 骆海玉, 邓业成, 秦卉, 等. 植物提取物及杀菌剂对水稻白叶枯病菌的抑菌活性[J]. 作物杂志, 2010(6): 87-90.
- [4] 莫宁烨. 白术炮制后挥发油变化的研究[J]. 广西医学, 1999, 13(2): 217-219.
- [5] 黄海英. 白术活性成分的提取、纯化及功能性研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2006.
- [6] 钟长斌, 李祥. 白头翁的化学成分及药理作用研究述要[J]. 中医药学刊, 2003, 21(8): 1338.
- [7] 杨从军, 孟昭礼, 郭景, 等. 番茄茎叶提取物对8种植物病原菌的生物活性初步研究[J]. 植物保护学报, 2005, 31(1): 28-31.
- [8] 周丽, 高飞, 滕云, 等. 17种高原草地有毒植物对植物病原真菌生物活性的初步研究[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2008, 45(1): 214-218.
- [9] 王树桐, 曹克强, 胡同乐, 等. 对番茄灰霉病菌有抑菌活性的丁香和细辛提取物提取条件研究[J]. 河北农业大学学报, 2004, 27(1): 69-72.
- [10] 杨玉萍. 药用植物提取物复配对番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea* Pers.)的抑制作用及其机理的初步研究[D]. 北京: 中国协和医科大学, 2007.
- [11] 姚新生, 王锋鹏, 孔令义, 等. 天然药物化学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [12] 方中达. 植病研究方法[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 1989.
- [13] 倪长春, 沈宙, 顾必文, 等. 杀菌剂生物活性筛选离体活体兼顾的重要性[J]. 浙江化工, 2000, 31(z1): 61-64.
- [14] 张穗. 杀菌剂生物测定技术[J]. 植物保护, 1999, 25(3): 35-37.

Study on the Antifungal Activities of Extracts from Two Kinds of Medicinal Plants

BI Ya-ling, WANG Bo, HUANG Bao-hong, ZHANG Yi-hui, ZHANG Wen-tong

(Plant Science College of Anhui Science and Technology University, Fengyang, Anhui 233100)

Abstract: Taking *Fusarium graminearum*, *Bipolaris maydis* and *Curvularia* as experimental materials, using growth rate and hanging drop methods, the antifungal activity of the extracts from two species of plants (*Atractylodes macracephal* Koidz and *Pulsatilla chinensis* Bunge Regel) against *Fusarium graminearum*, *Bipolaris maydis* and *Curvularia* were studied under the condition of laboratory. The results showed that the extracts of all the two plants showed antifungal activity against the tested pathogenic fungi at 10 mg·mL⁻¹. Especially the antifungal activity of the extract of *Pulsatilla chinensis* Bunge Regel was stronger against *Fusarium graminearum*, the rates of inhibition to the mycelium growth was 80.68%, 89.25% inhibition of spore germination and the EC₅₀ of the former was 4.27 mg·mL⁻¹. At the same concentration, the extract of the plants in *Atractylodes macracephal* Koidz showed stronger inhibition against *Bipolaris maydis*, the rates of inhibition to the mycelium growth was 75.33%, 94.21% inhibition of spore germination and the EC₅₀ of the former was 2.84 mg·mL⁻¹.

Key words: extracts; antifungal activities; *Fusarium graminearum*; *Bipolaris maydis*; *Curvularia*