



22 种中药提取物对棉花黄萎病菌的抑菌活性

朱荷琴, 冯自力, 宋晓轩, 刘雪英

(中国农业科学院棉花研究所, 农业部棉花遗传改良重点实验室, 河南 安阳 455000)

摘要:采用生长速率法, 设置 $0.005 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的质量浓度, 对 22 种中药提取物的抑菌活性进行筛选。结果表明: 五倍子、土元、蛇床子、白英、麻黄、巴豆、黄柏和黄连对棉花黄萎病菌的抑菌率超过 45%; 进一步研究表明: 五倍子、土元和蛇床子对黄萎病菌的抑制效果最好, 对菌丝生长、毒素分泌、孢子萌发、孢子产量的抑制效果分别达 100%、96.5%、94.4% 和 100%、100%、93.7%、81.3% 和 100%、100%、95.7%、34.2% 和 100%; 与五倍子和土元相比, 蛇床子对孢子萌发的抑制效果较差。

关键词: 中药; 棉花黄萎病菌; 抑制效果

中图分类号: S435.621 **文献标识码:** A

文章编号: 1002-7807(2007)04-0489-04

Inhibition on *Verticillium dahliae* Kleb. of 22 Kinds Extracts of Chinese Traditional Medicine

ZHU He-qin, FENG Zi-li, SONG Xiao-xuan, LIU Xue-ying

(Cotton Research Institute of CAAS, Key Laboratory of Cotton Genetic Improvement, MOA, Anyang, Henan 455000, China)

Abstract: Using the growing speed mensuration, inhibition on *Verticillium dahliae* Kleb. of 22 kinds extracts of Chinese traditional medicine were filtrated in a quality concentration of 0.005%. The result shows that the inhibition percentage of China Sumac, Eupolyphaga seu Steleophaga, Common Cnidium Fruit, Nightshade, Herba Ephedrae, Croton Fruit, Amur Corktree Bark and Shortsepal Goldthread are over 45 percent. The further study shows that China Sumac an, Eupolyphaga seu Steleophaga and Common Cnidium Fruit have the best inhibition percentage on *Verticillium dahliae* Kleb. with the 100%, 100% and 100% on mycelium grow, 96.5%, 93.7% and 95.7% on tixon exudation, 94.4%, 81.3% and 34.2% on spore sprouting, 100%, 100% and 100% on spore yield, respectively. But the inhibition percentage on spore sprouting of Common Cnidium Fruit was much lower than China Sumac and Eupolyphaga seu Steleophaga.

Key words: chinese traditional medicine; *Verticillium dahliae*; inhibition effect

黄萎病是棉花上的重要病害, 目前仍缺乏有效的控制措施, 致使其发病面积 300 万 hm^2 左右, 平均年损失皮棉 1 亿 kg 左右, 成为我国棉花生产可持续发展的主要限制因素之一^[1]。国内关于利用中草药制剂防治植物真菌性病害有不少的报道^[1]。本文于 2004—2006 年, 选择对植物病原真菌具有杀菌活性的中药材 22 种^[2-3], 研究其提

取物对棉花黄萎病菌的抑菌活性, 以期进一步研究用于该病防治的新型生物农药。

1 材料和方法

1.1 供试中药材料及活性物质提取

五倍子、麻黄、巴豆、黄连、白英、蛇床子、黄柏、苦参、狼毒、苦探、黄芩、黄芪、大黄、栝楼、细

收稿日期: 2006-11-01 作者简介: 朱荷琴(1966-), 女, 副研究员, 硕士

基金项目: 国家科技攻关项目(2001BA509B05)

辛、连翘、山苍子、苍耳子、川厚朴、百部、艾叶植物中草药 21 种及土壤小动物类中药土元(均从当地中药材门市购买)。将所有供试中药材在 60℃ 的恒温鼓风干燥箱中烘干后粉碎,各称取 10 g 干粉备用。水提取:将 10 g 干粉倒入 100 mL 烧杯中,加入 40 mL 水,浸泡 3 h,然后加热煮沸 10 min,纱布过滤,滤液定容至 20 mL;乙醇提取:将 10 g 干粉倒入具塞三角瓶中,加入 80% 乙醇 40 mL,震荡浸泡 72 h,过滤沉淀,滤液蒸去乙醇,稀释至 20 mL;丙酮提取:将 10 g 干粉倒入具塞三角瓶中,用适量丙酮震荡提取 3 次,间隔分别为 24 h、16 h、8 h,摇床转速为 140 r·min⁻¹,过滤后合并 3 次滤液,浓缩;将所有的提取液定容到质量浓度 0.5 g·mL⁻¹,倒入 50 mL 三角瓶中,0.15 MPa 灭菌 15 min,冰箱中保存备用。

1.2 供试病原菌及抑菌活性测定

棉花黄萎病原菌 (*Verticillium dahliae* Kleb.) 从本所试验地分离纯化所得,4℃ 保存备用。对菌丝生长的抑制作用采用生长速率法:在 40℃ 左右的 PDA 培养基中按比例加入中药提取物,制成 PDA 平板,每处理 4 次重复,将准备好的病菌打直径 0.04 cm 的菌饼,置于 PDA 平面的中央,于 25℃ 条件下培养,第 3,6,9 d 量取菌落直径,计算抑菌率。对孢子萌发的抑制作用采用悬滴法^[4]:在 Czapek 液体培养基中,按比例加入中

药提取液,以加入无菌水为对照,接入黄萎病菌,3 次重复,25℃ 培养 16 h 后,显微镜下检测孢子萌发数量。在 Czapek 液体培养基,按比例加入中药提取液,对照加无菌水,每瓶加 1 mL 浓度为 1×10^8 个孢子·mL⁻¹ 的黄萎菌孢子液,3 次重复,25℃ 培养 3 d,按考马氏亮兰 G-250 法,测定滤液中毒素蛋白的浓度,即为病菌分泌的毒素含量^[5]。

2 结果与分析

2.1 22 种提取物对黄萎病菌抑菌活性筛选

采用生长速率法,以质量浓度 0.005 g·mL⁻¹ (下同),对 22 种中药进行抑菌活性的初步筛选。五倍子的水提取物、乙醇提取物和丙酮提取物的抑菌率分别是 77.8%、52.6% 和 65.4%;麻黄的水提取物和乙醇提取物的抑菌率分别为 55.6% 和 47.1%;土元水提取物的抑菌率为 51.2%;黄柏、白英和黄连乙醇提取物的抑菌率分别为 62.5%、48.9%、53.7%,巴豆和蛇床子丙酮提取物的抑菌率分别为 53.4%、46.8%。抑菌率在 40% 左右的有土元、巴豆、蛇床子的乙醇提取物以及黄芩、栝楼、细辛的水提取物,其它提取物的抑菌率低于 35%。

对上述抑菌率在 45% 以上的 8 种提取物,进一步测定其不同浓度对黄萎菌菌丝生长、毒素分泌、孢子萌发、孢子产量的抑制作用。

表 1 8 种提取物对黄萎菌菌丝生长的抑制作用

Table 1 Inhibition percentage on mycelium grow of *Verticillium dahliae* Kleb. of eight extracts

提取物	质量浓度 (g·mL ⁻¹)	菌落直径 /mm	抑菌 /%	提取物	质量浓度 (g·mL ⁻¹)	菌落直径 /mm	抑菌率 /%	
五倍子 A	0.0100	0.0	100.0	黄连 B	0.020	8.0	54.1	
	0.0050	7.7	77.8		0.010	8.9	53.7	
	0.0025	26.9	22.2		0.005	11.8	51.5	
巴豆 C	0.0100	16.6	42.3	黄柏 B	0.020	3.9	77.5	
	0.0050	12.7	57.1		0.010	7.2	62.5	
	0.0025	22.2	26.6		0.005	10.1	58.4	
土元 A	0.0100	0.0	100.0	白英 B	0.020	8.3	52.5	
	0.0050	17.0	51.0		0.010	9.6	50.2	
	0.0025	18.6	46.3		0.005	12.7	47.6	
麻黄 A	0.0100	18.8	45.6	蛇床子 C	0.050	0.0	100.0	
	0.0050	13.6	60.8		0.020	9.1	67.8	
	0.0025	17.9	48.3		0.010	14.0	51.2	
丙酮	0.0500	27.5	/	空白	/	34.6	/	
	0.0250	28.2	/		乙醇	0.050	17.4	/
	0.0100	28.7	/			0.025	19.2	/
	0.0050	29.7	/			0.010	24.3	/
	0.0025	30.3	/					

注:A 为水提取物,B 为乙醇提取物,C 为丙酮提取物(下同)。

2.2 提取物对黄萎病菌菌丝生长的抑制作用

0.010 g · mL⁻¹的五倍子、土元水提取物,0.050 g · mL⁻¹的蛇床子丙酮提取物,抑菌率均达到 100%;0.005 g · mL⁻¹的麻黄水提取物的抑菌率为 60.8%;0.020 g · mL⁻¹的黄连、黄柏和白英的乙醇提取物的抑菌率分别达到 54.1%、77.5%、52.5%;0.005 g · mL⁻¹的巴豆丙酮提取物的抑制率达 57.1%(表 1)。

2.3 提取物对黄萎病菌毒素分泌的抑制作用

8 种提取物均表现随着浓度的提高,对毒素的分泌抑制作用加强。五倍子水提取物、巴豆丙酮提取物、土元水提取物、麻黄水提取物、蛇床子丙酮提取物对毒素分泌的抑制效果均达到 90% 以上。黄连、黄柏和白英的乙醇提取物对毒素分泌的抑制效果最高分别为 87.7%、73.6% 和 80.7% (表 2)。

表 2 8 种提取物对毒素分泌孢子萌发及产孢数的抑制作用

Table 2 Inhibition percentage on tixon exudation, spore sprouting and spore yield of *Verticillium dahliae* Kleb. of eight extracts

提取物	质量浓度 /(g · mL ⁻¹)	毒素含量 /(mg · L ⁻¹)	抑制率		产孢数		抑制率	
			/%	孢子 萌发率/%	/%	/(个 · mL ⁻¹)	/%	/%
五倍子 A	0.050	9.00	96.2	5.00	94.4	0.00	100.0	
	0.025	8.19	96.5	7.82	91.2	0.00	100.0	
	0.010	9.81	95.8	13.33	85.1	0.00	100.0	
巴豆 C	0.050	16.11	89.9	6.67	90.2	0.00	100.0	
	0.025	21.47	86.6	9.28	87.0	0.00	100.0	
	0.010	22.07	86.2	11.67	84.4	2.40 × 10 ⁶	55.6	
土元 A	0.050	14.70	93.7	16.67	81.3	0.00	100.0	
	0.025	19.54	91.7	25.32	71.6	1.00 × 10 ⁵	96.6	
	0.010	33.69	85.6	31.67	64.5	2.00 × 10 ⁵	98.7	
麻黄 A	0.050	8.96	96.2	41.67	53.3	0.00	100.0	
	0.025	22.76	90.3	43.25	51.5	0.00	100.0	
	0.010	49.97	78.7	48.33	45.8	0.00	100.0	
黄连 B	0.050	16.67	87.7	60.00	7.7	0.00	100.0	
	0.025	24.00	82.4	63.33	7.5	0.00	100.0	
	0.010	26.01	80.9	66.67	7.0	0.00	100.0	
黄柏 B	0.050	35.83	73.6	10.00	84.6	0.00	100.0	
	0.025	38.31	71.8	18.95	72.4	0.00	100.0	
	0.010	53.44	60.7	25.00	65.1	0.00	100.0	
白英 B	0.050	26.19	80.7	25.00	61.5	0.00	100.0	
	0.025	32.31	76.2	29.56	57.0	0.00	100.0	
	0.010	44.83	67.0	31.67	55.8	0.00	100.0	
蛇床子 C	0.050	6.86	95.7	45.00	34.2	0.00	100.0	
	0.025	9.17	94.3	52.36	26.5	0.00	100.0	
	0.010	17.70	89.0	60.00	20.0	0.00	100.0	
水	/	234.43	/	89.17	/	1.52 × 10 ⁷	/	
乙醇	0.050	131.56	/	68.33	/	1.80 × 10 ⁶	/	
对照	0.025	135.94	/	71.26	/	2.90 × 10 ⁶	/	
	0.010	141.25	/	75.00	/	5.40 × 10 ⁶	/	
	丙酮	0.050	151.32	/	65.00	/	8.00 × 10 ⁵	/
	0.025	160.11	/	68.72	/	2.30 × 10 ⁶	/	
	0.010	162.35	/	71.67	/	4.10 × 10 ⁶	/	

2.4 提取物对黄萎病菌孢子萌发的抑制作用

8 种提取物还表现随着浓度的提高,对孢子萌发的抑制作用加强。抑制效果在 90% 以上的有 0.050 g · mL⁻¹ 五倍子水提取物和 0.050 g ·

mL⁻¹ 巴豆丙酮提取物;0.050 g · mL⁻¹ 土元水提取物和 0.050 g · mL⁻¹ 黄柏乙醇提取物对孢子萌发的抑制效果在 80% 以上;麻黄水提取物、白英乙醇提取物和蛇床子丙酮提取物对孢子萌发的抑制

效果分别达 53.3%、61.5% 和 34.2%；黄连乙醇提取物的抑制效果最差，为 7.7% (表 2)。

2.5 提取物对黄萎病菌孢子产量的抑制作用

8 种提取物对黄萎病菌孢子产量的抑制效果明显。除 0.010%~0.025% 的土元水提取物和 0.010% 巴豆丙酮提取物对孢子产生的抑制效果分别为 96.6%、96.7% 和 55.6%，其它处理的抑制效果均达到 100% (表 2)。

3 结论与讨论

3.1 五倍子等 3 种中药对黄萎病菌的抑制效果突出

经过对菌丝生长、毒素分泌、孢子萌发、孢子产量的毒力测定，22 种中草药中对棉花黄萎病菌抑菌率超过 45% 的有五倍子、土元、蛇床子、白英、麻黄、巴豆、黄柏和黄连等，以五倍子、土元和蛇床子表现最突出。

3.2 同一中药中可能存在多种对黄萎病菌有抑菌活性的成分

有报道五倍子对马铃薯晚疫病、果蔬致腐真菌、芒果炭疽菌和蒂腐菌具有较好的抑制效果，其水提物活性成分为单宁类物质^[6-8]，本研究五倍子水提取物对黄萎病菌的抑制效果最好，乙醇和丙酮提取物也有较好的抑制效果，表明在五倍子中有多种成分具有杀菌活性。蛇床子对烟草赤腥病、黄瓜白粉病和草莓白粉病等具有显著的抑制作用，尤其对瓜类白粉病具有特效^[9-11]，其主要的活性成分蛇床子素，属于香豆素类化合物，医学研究表明蛇床子素具有阻断 Ca^{2+} 内流的作用，从而抑制真菌的孢子萌发和菌丝的顶端生长^[12]，本研究表明蛇床子素对菌丝生长、孢子产量和毒素的分泌均有显著的抑制作用，对孢子萌发也有一定的抑制作用。土元属昆虫药用小动物，具有化淤止血，消肿止痛等功效，但目前未见报道用于植物

病害的防治，其作用机理有待进一步的研究。

参考文献：

- [1] 朱荷琴, 宋晓轩, 简桂良. 温度胁迫对棉花黄萎病菌致病力的影响 [J]. 棉花学报, 2003, 15(1): 33-36.
- [2] 丁兆龙, 时曾奎, 岳凤荣, 等. 中草药制剂防治黄瓜霜霉病研究 [J]. 山东农业大学学报, 1995, 26(3): 376-380.
- [3] 李永刚, 文景芝. 中草药水提物抑菌活性的测定 [J]. 东北农业大学学报, 2003, 34(4): 368-371.
- [4] 邓业成, 杨林林, 刘香玲, 等. 50 种植物提取物对梨褐斑病菌抑菌活性 [J]. 农药, 2006, 45(3): 207-208.
- [5] 方中达. 植病研究方法 [M]. 北京: 农业出版社, 1977.
- [6] 朱荷琴, 宋晓轩, 简桂良. 棉花黄萎病菌致病力变异生理机制的初步研究 [J]. 棉花学报, 2004, 16(5): 275-279.
- [7] 曹静, 客邵英, 王树桐, 等. 15 种中草药提取物对马铃薯晚疫病的抑制效果 [J]. 江苏农业科学, 2006(4): 51-52.
- [8] 孔秋莲, 张明融, 章丽丽. 中草药提取物对两种果蔬致腐真菌的抑制作用 [J]. 保鲜与加工, 2002, 2(3): 17-18.
- [9] 杨胜远, 邓卫利, 熊德元, 等. 中草药成份对芒果病原菌的抑菌作用 [J]. 药物生物技术, 2001, 8(6): 335-338.
- [10] 孟祥林, 吴元华, 田秀玲, 等. 蛇床子和苦参的活性成分的联合毒力测定及混剂的抑菌活性 [J]. 农药, 2005, 44(9): 422-424.
- [11] 王春梅, 吴桂本, 王英姿, 等. 蛇床子素防止黄瓜白粉病研究 [J]. 江苏农业科学, 2005(4): 57-58.
- [12] 严清平, 陆信仁, 夏礼如, 等. 天然化合物蛇床子素防治草莓白粉病 [J]. 农药, 2005, 24(3): 136-137.
- [13] 朱述钧, 王春梅, 沈寿国, 等. 香豆素类化合物在农业生产上的应用 [J]. 江西农业学报, 2006, 18(2): 97-100. ●