

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2013.01.024

许应生, 吴培云, 刘劲松, 等. 紫藤瘤不同溶剂提取部位抗农作物病原真菌活性研究[J]. 广西植物, 2013, 33(1):133-135

Xu YS, Wu PY, Liu JS, et al. Inhibitory effects of the different solvents extract of *Wisteria sinensis* tumor on four crop pathogenic fungus[J]. *Guihaia*, 2013, 33(1):133-135

紫藤瘤不同溶剂提取部位抗农作物病原真菌活性研究

许应生, 吴培云, 刘劲松, 王国凯, 陈爱民, 钟文武, 王 刚*

(安徽中医学院 药学院, 现代中药安徽省重点实验室, 合肥 230031)

摘 要: 采用交叉法测定紫藤瘤不同溶剂提取物对农作物病原真菌的抑制作用。结果表明:紫藤瘤水提取物在 $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度下几乎无抗真菌活性。石油醚、乙酸乙酯和正丁醇提取物在 $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度下对辣椒枯萎、小麦赤霉病菌的抑菌率在 50% 左右, 对油菜菌核菌的抑菌效果显著, 抑制率高达 100%。

关键词: 紫藤瘤; 提取物; 农作物病原真菌; 抗真菌活性

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2013)01-0133-03

Inhibitory effects of the different solvents extract of *Wisteria sinensis* tumor on four crop pathogenic fungus

XU Ying-Sheng, WU Pei-Yun, LIU Jin-Song, WANG Guo-Kai, CHEN Ai-Min, ZHONG Wen-Wu, WANG Gang*

(Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Anhui Key Laboratory of Mordernized Chinese Materical Medical, Hefei 230031)

Abstract: The crossing method had been used to determine the inhibitory effects of the different solvents extract of *Wisteria sinensis* tumor against crop pathogenic fungus. The antifungal experimental results showed that the water fraction of *W. sinensis* tumor at $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ exhibited almost no antifungal activity. The petroleum ethyl fraction, ethyl acetate fraction, n-butanol fraction of *W. sinensis* tumor at $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ exhibited inhibition against *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsicum* and *F. graminearum* with about 50% inhibition rates, especially against *Sclerotium sclerotiorum* with 100% inhibition rate.

Key words: *Wisteria sinensis* tumor; extract; crop pathogenic fungus; antifungal activities

近年来,随着人们环保意识的增强,农业生产中农药的安全使用越来越受到重视。植物源农药因其来源于自然,具有环保、长效、易光解、无残留等特点,成为发展有机农业、促进农业可持续发展的理想农药(操海群等,2000)。郭伦发等(2004)研究发现

在防治茉莉花蕾螟的田间示范试验中,喷施了生物农药的处理区茉莉花农药残留降低 90% 以上,防治成本降低 39.2%,为农户增收节支每公顷约 2 805 元。郑玉艳(2011)的研究报道苦参中的黄酮类成分和生物碱成分对辣椒枯萎菌有很好的抑菌活性。

* 收稿日期: 2012-07-26 修回日期: 2012-11-07

基金项目: 安徽省自然科学基金

作者简介: 许应生(1987-),男,安徽六安人,硕士研究生,研究方向为天然药物或才行成分, (E-mail) xuyingsheng007@126.com。

* 通讯作者: 王刚,教授,硕士生导师,研究方向天然药物活性成分, (E-mail) kunhong_8@163.com。

紫藤(*Wisteria sinensis*)是常见绿化植物,属豆科紫藤属。研究发现紫藤具有杀菌作用(罗充等,2005),紫藤叶片丙酮提取液对真菌和细菌的生长均有一定的抑制作用(姜艳华等,2009)。紫藤瘤是紫藤茎上所生的赘瘤,可入药,具“杀虫、止痛、解毒”等功效(冯洪钱等,2008),中医临床上可用于癌症的治疗(林博夫等,1983,赵耀先,1984)。目前对于紫藤瘤的研究还比较少,尤其在农药开发中的相关研究文献很少。本研究采用十字交叉法研究了紫藤瘤不同溶剂提取物对油菜菌核菌、辣椒枯萎菌、小麦赤霉菌和棉花枯萎菌等4种农作物病原真菌的抑菌活性,为新型无公害生物农药的研发奠定基础。以上4种病原真菌是农业生产上广泛发生的,危害较重的主要病原生物,具有重要的经济意义,而且在分类地位上具有一定代表性。另外,这4种病原真菌在室内人为控制的环境条件下,可较简便快速地繁殖,不受季节限制,是理想的病原菌研究菌种。

1 材料与方法

1.1 材料

药材:紫藤瘤药材经安徽中医学院中药教研室方成武教授鉴定为豆科植物紫藤(*Wisteria sinensis*)的干燥藤瘤。作物病原真菌:小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum*)、棉花枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*)、辣椒枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *capsicum*)、油菜菌核病菌(*Sclerotium sclerotiorum*)由河南农业大学农学院中药材系实验室提供。PDA固体培养基:马铃薯(去皮)200 g,葡萄糖20 g,琼脂20 g,水1 000 mL。马铃薯煮0.5 h,4层纱布过滤,取汁,加入葡萄糖和琼脂,煮至琼脂完全融化,补水至1 000 mL。常规分装,121 °C高压灭菌30 min。

1.2 方法

样品的制备:药材95%乙醇渗漉,渗漉液回收乙醇至无醇味,石油醚、乙酸乙酯、正丁醇分别萃取,分别得到石油醚、乙酸乙酯、正丁醇部位及水部位,分别将其减压浓缩,得到各部位干浸膏备用。分别取适量紫藤瘤不同部位浸膏放入容量瓶中,加入少量DMSO溶解,无菌水定容,配制成5 mg·mL⁻¹的供试液。

1.3 体外抗作物病原真菌活性试验

1.3.1 抑菌试验方法 菌落生长速率法(江茂生等,

2007):取1 mL供试药液,与9 mL的PDA培养基于无菌试管中混匀,倒入无菌培养皿中制成带药的培养基平板,DMSO作空白对照。将病原真菌菌种接种在PDA平板培养基上活化3~5 d后,用无菌打孔器在活化后的作物病原真菌菌落边缘切下直径6 mm生长一致的菌饼。将打好的菌饼菌丝面向下,接于培养基平板中心,使菌丝与新鲜培养基充分接触,防止感染其它杂菌,封口膜封口,然后于26 °C恒温培养箱培养3~5 d。每个试验做3个重复。

1.3.2 抑菌结果测量 采用十字交叉法,待空白对照菌落长至平板边缘时,测量各培养皿中的菌落生长直径,以3次重复菌落直径的平均值计算菌丝生长抑制率。菌丝生长抑制率(I)=(空白对照菌落生长直径(C)-处理菌落生长直径(T))/(空白对照菌落生长直径(C)-6)×100%,即 $I(\%) = (C - T) / (C - 6) \times 100\%$ 。其中,6是菌饼直径,单位为mm。

2 结果与分析

2.1 体外抗作物病原真菌活性结果

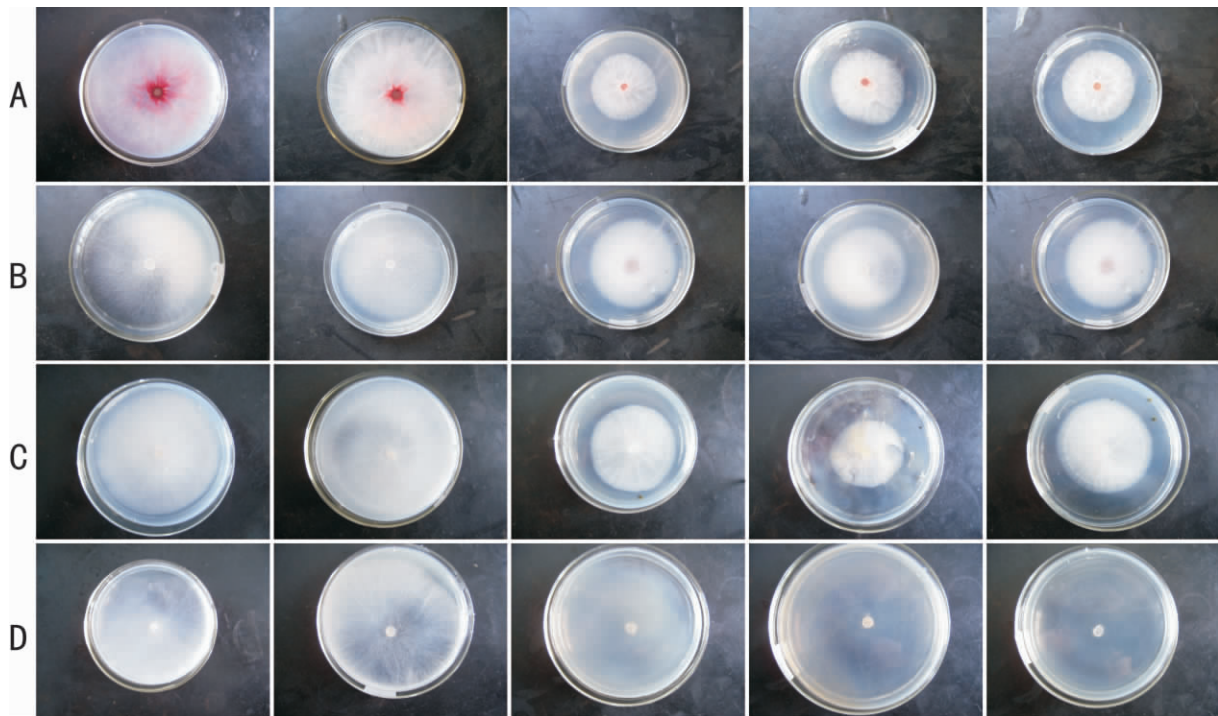
通过体外抗作物病原真菌活性试验,得到的结果如图版I所示。图版I结果显示,紫藤瘤石油醚、乙酸乙酯和正丁醇部位在5 mg·mL⁻¹浓度下对油菜菌核菌、小麦赤霉菌、棉花枯萎菌、辣椒枯萎菌等4种病原真菌都有较好的抑菌效果,尤其是对油菜菌核菌、辣椒枯萎菌、小麦赤霉菌的抑制作用显著。

2.2 不同部位对农作物病原真菌的抑制率

采用十字交叉法,测量各培养皿中的菌落生长直径,以三次重复菌落直径的平均值计算菌丝生长抑制率(表1)。从表1可以看出,石油醚、乙酸乙酯及正丁醇三个部位对小麦赤霉菌的抑制率仅50%,对油菜菌核菌的抑制率均为100%。

3 结论与讨论

植物源生物农药是指有效成分来源于植物体的农药。植物源生物农药在农作物病虫害防治中具有对环境友好、毒性普遍较低、不易使病虫产生抗药性等优点,是生产无公害农产品应优先选用的农药品种(Dubey *et al.*, 2010; Rakesh *et al.*, 2012)。本实验首次对紫藤瘤不同溶剂提取部位开展抑菌活性研究,以上实验结果发现紫藤瘤不同溶剂提取部位除了水相部位几乎无抑制作用,其它3个提取部位对



图版 I 紫藤瘤不同溶剂提取物对 4 种农作物病原真菌的抑制效果 A. 小麦赤霉病菌空白、水、正丁醇、乙酸乙酯、石油醚部位；B. 棉花枯萎病菌空白、水、正丁醇、乙酸乙酯、石油醚部位；C. 辣椒枯萎病菌空白、水、正丁醇、乙酸乙酯、石油醚部位；D. 油菜菌核病菌空白、水、正丁醇、乙酸乙酯、石油醚部位。

Plate I Inhibitory effects of the different solvents extract of *Wisteria sinensis* tumor on four crop pathogenic fungus A. *Fusarium graminearum* blank, water, n-butanol, ethyl acetate, petroleum ethyl fraction; B. *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* blank, water, n-butanol, ethyl acetate, petroleum ethyl fraction; C. *F. oxysporum* f. sp. *capsicum* blank, water, n-butanol, ethyl acetate, petroleum ethyl fraction; D. *Sclerotium sclerotiorum* blank, water, n-butanol, ethyl acetate, petroleum ethyl fraction.

表 1 紫藤瘤不同部位对农作物病原真菌抑制率

Table 1 Inhibition rates of the different solvents extract of *Wisteria sinensis* tumor on four crop pathogenic fungus

菌类 Fungus	空白对照 Control	水部位 Water fraction	正丁醇部位 N-butanol fraction	乙酸乙酯部位 Ethyl acetate fraction	石油醚部位 Petroleum ethyl fraction
小麦赤霉菌 <i>Fusarium graminearum</i>	0	0	48.10	40.50	44.30
棉花枯萎菌 <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i>	0	0	33.30	33.30	28.20
辣椒枯萎菌 <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>capsicum</i>	0	0	32.90	52.80	43.00
油菜菌核菌 <i>Sclerotium sclerotiorum</i>	0	2.85	100.00	100.00	100.00

4 种作物病原真菌均有一定的抑制作用,其中对油菜菌核菌的抑制作用最强,其正丁醇提取部位、乙酸乙酯提取部位和石油醚提取部位在 $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度下抑制率均能达到 100%。

以上结果提示我们,紫藤瘤的抑菌活性物质分散在各个部位,非单一的次生代谢产物,可能为多种成分的综合作用。紫藤瘤对棉花枯萎菌的抑制作用较弱,其正丁醇、乙酸乙酯和石油醚提取部位在 $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度下抑制率分别为 33.30%, 33.30% 和 28.20%。本次试验除了紫藤瘤不同溶剂提取部位对辣椒枯萎菌的抑菌率相差相对较大外,其它 3 种真菌对紫藤瘤正丁醇、乙酸乙酯和石油醚提取部

位的敏感性差异较小,抑菌率差异均在 8% 以内。通过实验发现紫藤瘤的石油醚、乙酸乙酯和正丁醇提取部位对 4 种供试真菌均有较好的抑制活性,提示紫藤瘤在生物农药开发领域应该具有很好的发展前景及研究价值(齐岩等,2010;招衡,2010)。

下一步应开展紫藤瘤中抑菌活性物质的分离和鉴定工作,明确其化学结构,并深入开展其抑菌机理的研究,从而为紫藤瘤在生物农药方面的研究开发奠定基础。

参考文献:

冯洪钱,冯新英,王成. 2008. 日本假名安驥集疑难土草药考注(下转第 132 页 Continue on page 132)

头,具有共同进化的花部结构;花药在散粉时 1~2 花丝先伸长并首先散出花粉;其余 3 雄蕊滞后 1~2 h 开裂散粉,这就延长了花药散粉的时间,提高了花柱授粉的概率,这种花器官的主观行为实现了生殖保障、克服传粉媒介的短缺、有利于野生黑果枸杞种群的局部适应以及后代能够直接获得其优良性状。

4.3 黑果枸杞的生殖补偿机制

为了生存的需要,生物往往发展出一整套必要的生殖补偿机制,保证物种繁衍的顺利进行(关文灵等,2009)。黑果枸杞是有性繁殖和无性繁殖并存的植物,黑果枸杞自然分布在高寒、高盐的荒漠化和半荒漠化地区,虫媒昆虫种类少,因此黑果枸杞的有性生殖容易受到传粉者的影响。黑果枸杞根具有无性繁殖的功能,作为一种生殖补偿机制,在有性繁殖受阻的情况下,以根蘖为主的克隆生殖,可以保持其种群繁衍的能力。

参考文献:

- 胡适宜. 1982. 被子植物胚胎学[M]. 北京:人民教育出版社, 51-58
- 匡可任,路安民. 1978. 中国植物志(茄科)[M]. 北京:科学出版社,67(1):8-18
- 张天真. 2003. 作物育种学总论[M]. 北京:中国农业出版社, 25-39

- Cruden RW. 1977. Pollen-ovule ratio: a conservative indicator of breeding systems in flowering plant[J]. *Evolution*,35:1-6
- Dafni A. 1992. Pollination Ecology[M]. New York:Oxford Univac Press:59-89
- Guan WL(关文灵),Li YF(李叶芳),Chen X(陈贤),et al. 2009. Flower structure and biological characteristics of flowering and pollination in *Iris japonica*(蝴蝶花花器结构和开花授粉生物学特性)[J]. *Acta Horti Sin*(园艺学报),36(10):1485-1490
- Huang SQ(黄双全),Guo YH(郭友好). 2000. Progresses on pollination biology(传粉生物学的研究进展)[J]. *Chin Sci Bull*(科学通报),45(3):225-237
- Jiao EN(焦恩宁),Li YX(李云祥),Qin K(秦垦),et al. 2010. Analysis on self-compatibility of *Lycium barbarum* in Ningxia(宁夏枸杞自交亲和性分析)[J]. *Acta Agric Boreal-Occident Sin*(西北农业学报),19(4):115-119
- Qin K(秦垦),Wang B(王兵),Jiao EN(焦恩宁),et al. 2009. Preliminary study on the breeding system of *Lycium barbarum*(宁夏枸杞繁育系统初步研究)[J]. *Guihaia*(广西植物),29(5):587-291
- Yang LP(杨利平),Zhang XF(张敦方),Gao YK(高亦科). 1998. Study on pollination biology in 10 species of *Lilium*(十种百合属植物的传粉生物学)[J]. *Bull Bot Res*(植物研究),18(1):63-67
- Zhang YC(章英才),Zhang JN(张晋宁). 2004. Studies on morphological structure characteristics of leaves of *Lycium ruthenicum* in two salinity environments(两种盐浓度环境中的黑果枸杞叶的形态结构特征研究)[J]. *J Ningxia Univ*(宁夏大学学报),25(4):365-367

(上接第 135 页 Continue from page 135)

- [M]. 农业考古,(4):281-282
- 林博夫,杨世忠. 1983. 中药 W、T、T、C 治疗胃癌获显效[J]. *广西中医药*,6(4):48
- 赵耀先. 1984. 对《中药 W、T、T、C 治疗胃癌获显效》译文的几点意见[J]. *广西中医药*,Z1:53
- Cao HQ(操海群),Yue YD(岳永德),Huang RM(花日茂),et al. 2000. Advance in research and development of botanical pesticides(植物源农药研究进展)[J]. *J Anhui Agric Univ*(安徽农业大学学报),27(1):40-44
- Dubey NK,Shukla R,Kumar A,et al. 2010. Prospects of botanical pesticides in sustainable agriculture[J]. *Curr Sci*,98(4):479-480
- Guo LF(郭伦发),Liu M(刘铭),He JY(何金祥),et al. 2004. The field complex techniques of the prevention and control of *Neohendecasis* sp.(茉莉花蕾螟的田间综合防治技术)[J]. *Guihaia*(广西植物),24(6):574-577
- Jiang MS(江茂生),Xu WY(许文耀). 2007. Inhibition activities of the extract from the plant of *Artemisia argyi* against 13 kinds of phytopathogenic fungi(艾蒿提取物对 13 种植物病原菌的抑制作用)[J]. *J Fujian Agric & Fore Univ:Nat Sci Edit*(福建农林大学学报·自然科学版),36(4):352-356
- Jiang YH(姜艳华),Jiang XH(樊晓晖),Jiang H(姜华). 2009. Ex-

- traction of *Wisteria sinensis*' active constituent and its inhibitory effect on fungi and bacteria(紫藤活性成分的提取与抑菌作用初探)[J]. *J Henan Agric Sci*(河南农业科学),3(3):60-62
- Luo C(罗充),Li YX(理艳霞),Zhang W(张伟),et al. 2005. Study on effect of plant on plant leaves control of bacteria(19 种园林植物组织杀菌作用的研究)[J]. *J Anhui Agric Sci*(安徽农业科学),33(5):810-811
- Qi Y(齐岩),Wang XJ(王相晶),Xiang WS(向文胜),et al. 2010. Global biopesticide market status and prospects(全球生物农药的市场现状及前景展望)[J]. *World Pestic*(世界农药),32(5):33-34
- Rakesh K,Shamshad A,Satendra K. 2012. Impact of botanical pesticides for the management of *Antigastra catalaunalis* Dup. in *Sesamum indicum* L. [J]. *Mol Entomol*,3(1):1-3
- Zhao H(招衡). 2010. Biopesticides,its future research and applications(生物农药及其未来研究和应用)[J]. *World Pesticides*(世界农药),32(2):6-24
- Zheng YY(郑玉艳). 2011. Antifungal activity of *Sophora flavescens* ait extracts against capsicum blight(苦参有效成分对辣椒枯萎菌的抑菌活性)[J]. *Northern Horti*(北方园艺),(22):124-125