

10种植物组织不同浸出物对苹果腐烂病菌的抑制作用

孟晶岩, 王贤萍, 安 鸣

(山西省农业科学院农产品综合利用研究所, 山西 太原 030031)

摘要: 为了开发防治苹果腐烂病的植物源农药, 以菊科、藜科、豆科、蔷薇科、卫矛科、唇形科、芸香科和萝藦科等10种不同植物组织的水、乙醇和石油醚浸出物, 对苹果腐烂病的抑制作用效果进行了研究。结果表明, 茵陈、地肤子、苦参、鸡血藤、雷公藤和地榆、杠柳、黄芩可作为防治苹果腐烂病的杀菌性植物资源, 并可用水和石油醚作为其活性成分的提取剂。

关键词: 苹果腐烂病菌; 抑制作用; 植物组织; 浸出物

中图分类号: S436.611 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2005)05-0085-04

Effect of Fungicides Extracteds form 10 Plants Tissue to *Valsa Mali Miyabe et Yamada*

MENG Jing-yan, WANG Xian-ping, AN Ming

(Institute of Farm Products Comprehensive Utilization,

Shanxi Academy of Agricultural Science, Taiyuan 030031, China)

Abstract: To develop the plant origin agrochemical against the putrefied disease in apple in prevention and control, the effect of plant tissue tear was reported, which was extracted from composite, chenopod, legume, rosaceae, euonymus, labiate, rutaceae and asclepiad with water, ethyl alcohol and petroleum ether, to *Valsa Mali Miyabe et Yamada*. The results demonstrated that the plants, including *Artemisia Capllaris Thunb*, *Kochia Scoparia* (L.) Schrad, *Sophora flavescens Ait*, *Spatholobas Suberectus Dunn*, *Triplerygium. Wilford Hook.f.*, *Sanguisorba Officinalis L.*, *Periploca Sepium Bge.*, and *Scutellaria Baicalensis Georgi* is functional plant, and water and petroleum ether is suitable extractor for these plant.

Key words: *Valsa Mali Miyabe et Yamade*; Control; Plant tissue; Extraction

随着世界范围内对环境和食物安全的日益重视, 世界各国一方面制定和完善限制食品中有害物质和农药残留的强制标准, 另一方面则是加强了生物农药的研发工作。其中, 在植物中寻求生物活性物质或直接开发植物性农药是当今农药研究领域的热点之一^[1]。国内外学者利用植物资源或植物生物活性物对农业有害微生物进行了研究, 相继取得了一些研究进展。Maruzzellahe Balter^[2]研究发现, 多种植物的香精油可抑制真菌的生成。Eberhard^[3]发现, 小檗碱可有效防治马铃薯晚疫病的发生。吴恭谦^[4]

的研究表明, 白头翁提取物对小麦赤霉病菌具有较强的抑制作用。冯俊涛等^[5]以小麦赤霉病菌、蕃茄灰霉病菌和苹果炭疽病菌为供试菌种, 对56种植物丙酮提取物进行了抑菌活性筛选。于平儒^[1]等以灰葡萄孢、禾谷镰刀菌、辣椒疫霉、盘长孢状刺盘孢、凸脐蠕孢为供试菌种, 用琼胶平板法对62种植物样品的丙酮提取物进行了离体物质活性测定。苹果腐烂病是苹果树多发性枝干病害之一, 由于我国果区长期使用有机砷等制剂进行防治, 引起环境污染问题, 所以促使国内学者积极探索植物性农药在苹果腐烂

收稿日期: 2005-03-15

基金项目: 山西省财政农业专项基金项目(2002-0703)

作者简介: 孟晶岩(1968-), 男, 山西蒲县人, 助理研究员, 主要从事农产品加工及技术转化工作。

病防治上的应用^[6~9]。本研究利用菊科、藜科、豆科、蔷薇科、萝藦科和芸香科的 10 种植物组织的水、乙醇和石油醚提取物,进行了对苹果腐烂病原(*Val-sa Mali Miyabe et Yamada*)抑制作用试验,取得了很好的效果。

1 材料和方法

1.1 供试植物材料

供试植物包括菊科的茵陈、豆科的苦参和鸡血藤、藜科的地肤子、蔷薇科的地榆、卫矛科的雷公藤、唇形科的黄芩、芸香科的黄柏和萝藦科的杠柳等。除杠柳外,其余均从药材店购置。

1.2 供试植物的浸提处理

将植物材料经 50 ℃干燥、粉碎,过网孔为 0.28 mm 的目筛。

浸提剂为无菌水、无水乙醇和石油醚。

无菌水的浸提过程为:依 1:10 的固液比,加入无菌水浸泡 24 h 后,在 90~95 ℃水浴条件下浸提 3 h 后过滤,收集浸提液,备用。

无水乙醇和石油醚的浸提过程为:依 1:5 的固液比加入浸提剂,浸泡 24 h 后再加入等量浸提剂,静置提取 48 h 后过滤,收集浸提液,备用。

1.3 病原的采集与处理

在苹果园选择 2~3 年生发病枝条,截取 15~20 cm 枝段,装入纸袋带回室内,洗净后充分湿润,置入 25~28 ℃培养箱,至长出黄色孢子角,备用。

在无菌操作条件下,将制备好的无菌水 20 mL,加入到 100 mL 三角瓶中,用灭菌后的接种针或镊子,将苹果枝段上长出的孢子角数只取下,置入三角瓶中,摇匀,制成菌悬液备用。接种前,用显微镜检查菌悬液浓度。

1.4 培养基选择与使用

本研究选择使用 PDA 培养基。取适宜浓度的苹果树皮浸出液,加入 PDA 培养基,依 20 mL/碟的量,将培养基加入直径 9 cm 的培养皿,制成平板,灭菌,于无菌条件下保存。

1.5 抑菌试验步骤

试验采用抑菌环法进行,即:在无菌条件下,吸取菌悬液 0.5 mL,加入制成的平板,用刮刀摊涂均匀,将灭菌后的接种环(直径 10 mm)安放于平板中央,并使之嵌入平板中,用微量加液器于接种环中加入 0.2 mL 植物样品浸提液,每处理重复 4~5 次,接种后放入 25~28 ℃生化培养箱中培养 5~7 d,测量记载抑菌圈大小并计算相对抑制率。

2 结果与分析

2.1 不同浸提剂的作用效果

由表 1 可知,同一种植物组织,所使用的浸提剂不同,对病原菌的抑制作用效果不同;另一方面,在浸提剂相同的条件下,对病原菌的抑制作用效果因植物组织的不同而异。

表 1 各试验处理对苹果病原菌的相对抑制率

Tab 1 The effect of the different treatments					%
植物 Plant	学名 Latin name	无菌水(A) Pastureized water	无水乙醇(B) Puer Alcohol	石油醚(C) Petroleum ether	平均抑制率 Average value
茵陈	<i>Artemisia Cpillaris Thunb</i>	78.89	0	0	26.30
苦参	<i>Sophora Flavescens Ait</i>	43.89	1.44	10.37	18.57
鸡血藤	<i>Spatholobus Suberectus Dunn</i>	39.00	2.44	40.28	27.24
地肤子	<i>Kochia Scoparia (L.) Schrad</i>	55.92	2.78	0	19.53
地榆	<i>Sanguisorba Officinalis L</i>	0	0	42.22	14.07
雷公藤	<i>Tripkerygium Wjfordii Hook.f</i>	40.22	0	12.22	13.41
黄芩	<i>Scutellaria Baicalensis Georgi</i>	38.67	3.67	16.11	19.48
黄柏	<i>Phellodendron Amurense Rupr</i>	19.89	4.22	27.22	16.78
杠柳根	<i>Periploca Sqium Bge</i>	21.67	17.22	12.22	17.05
杠柳叶	<i>Periploca Sqium Bge</i>	0	13.33	0	4.44
ck		0	0	0	0
平均抑菌率	<i>Average vdlue</i>	33.72	4.51	16.06	

表 2 不同浸提剂处理效果方差分析

Tab 2 The analysis of variance of different extractant					
项目 Item	平方和 SS	自由度 df	均方和 MS	F 值 F	显著性水平 Significance level
处理间 Between Groups	232.598	2	116.299	40.911	0
处理内 Within Groups	534.438	188	2.843		
总和 Total	767.036	190			

对试验数据进行方差分析(表 2)和多重比较(表 3)表明,供试植物组织的 3 种浸出物对苹果腐烂病原菌的抑制作用效果的差异达到 95% 显著性水准,其作用效果排序为: 无菌水> 石油醚> 无水乙醇。可见,对供试的 10 种植物样品而言,用水和石油醚可将苹果腐烂病原菌有抑制作用的主要活性成分浸出。

表 3 不同浸提剂处理效果多重比较

Tab 3 The multiple comparisons the effect of the different extractant					
		均数差 Mean difference I - II	标准差 Root mean square	显著性水平 Significance level	
I	II				
A	B	2.6087*	0.2957	0	
	C	1.7187*	0.2957	0	
B	A	-2.6087*	0.2957	0	
	C	-0.8900*	0.3078	0.004	
C	A	-1.7187	0.2957	0	
	B	0.8900	0.3078	0.004	

注: * 0.05 差异性水平对齐

Note: 0.05 the otherness level (LSD)

2.2 不同植物组织的作用效果

由表 1 可见,在使用相同浸提剂处理的情况下,不同植物组织对苹果腐烂病菌的抑制作用效果不同。其中,茵陈、地肤子、雷公藤、鸡血藤和黄芩的作用效果较为显著。

表 4 不同植物组织水浸出物的作用效果方差分析

Tab 4 The analysis of variance of the effect of water on the fungistasis of various plant					
项目 Item	平方和 SS	自由度 df	均方和 MS	F 值 F	显著性水平 Significance level
处理间 Between groups	270.432	9	30.048	14.237	0
处理内 Within groups	130.855	62	2.111		
总和 Total	401.287	71			

依不同植物组织水浸出物试验结果进行的方差分析(表 4)表明,供试的 10 种植物组织水浸出物对

苹果腐烂病菌的抑制作用效果间存在显著性差异,依作用效果大小排序的前 5 种植物组织为: 茵陈> 地肤子> 苦参> 鸡血藤> 雷公藤,其中,菊科植物茵陈水浸出物的作用效果优于其他处理,差异均达到 95% 显著性水准。

对不同供试植物组织石油醚浸出物试验结果进行的方差分析(表 5)表明,供试的 10 种植物组织石油醚浸出物对苹果腐烂病菌的抑制作用效果间存在 95% 显著性差异,其作用效果较显著的植物组织排序为: 地榆> 鸡血藤> 杠柳> 黄芩> 雷公藤、杠柳根皮。

表 5 不同植物组织石油醚浸出物的作用效果方差分析

Tab 5 The analysis of variance effect of petroleum ether on the fungistasis of different plant					
项目 Item	平方和 SS	自由度 df	均方和 MS	F 值 F	显著性水平 Significance level
处理间 Between groups	39.290	9	4.366	2.875	0.008
处理内 Within groups	75.933	50	1.519		
总和 Total	115.222	59			

对不同供试植物组织无水乙醇浸出物试验结果进行的方差分析(表 6)表明,供试样品对苹果腐烂病菌的抑制作用效果间的差异达到 95% 水平,其作用效果较显著的植物组织排序为: 杠柳皮> 黄柏> 黄芩> 地肤子> 鸡血藤。

表 6 不同植物组织无水乙醇浸出物的作用效果方差分析

Tab 6 The analysis of variance of effect of ethyl alcohol on the fungistasis of different plant					
项目 Item	平方和 SS	自由度 df	均方和 MS	F 值 F	显著性水平 Significance level
处理间 Between groups	34.068	9	3.785	5.953	0
处理内 Within groups	30.522	48	0.636		
总和 Total	64.590	57			

3 结论

3.1 同种植物组织,因浸提剂不同,对腐烂病菌的抑制作用存在差异

供试的 10 种植物组织因浸提剂的不同,对苹果树腐烂病菌的抑制作用不同。因此,对供试的菌种而言,选择水和石油醚作为其活性成分的浸提剂,抑菌和杀菌效果较好。

3.2 同种植物组织,使用不同的浸提剂,生产工艺和成本差别较大

一般认为,水、醇、醚可以提取大部分植物的活性成分^[10]。对于研发防治果树腐烂病的制剂而言,可依其生产工艺和成本的不同,选择使用适宜的浸提剂。

用水作为浸提剂的情况下,可选择茵陈、地肤子、苦参、鸡血藤和雷公藤,作为抑制苹果腐烂病菌生长的植物性杀菌材料资源。

使用石油醚作为浸提剂时,可选择使用地榆、鸡血藤、杠柳根皮、杠柳叶、黄芩、雷公藤等作为杀菌性植物资源。

以无水乙醇作为浸提剂时,可考虑使用杠柳根皮、黄柏、黄芩、地肤子和鸡血藤作为杀菌性植物资源。

3.3 根据植物组织与目标病菌的不同,应针对性的选择浸提剂和适宜的浸提过程

研究资料显示,本项研究所采用的10种植物材料中,含有黄酮、生物碱、萜类、皂甙、香豆素、鞣质及挥发性物质等数百种天然化合物。冯俊涛^[5]研究认为,对特定的植物样品,使用丙酮作为浸提剂,存在对杀菌活性物质的“漏筛”现象。本项研究结果表明,使用水、乙醇和石油醚作为浸提剂,也存在此类问题。其中,较明显的是茵陈、地榆和杠柳叶各有两种溶剂的浸出物对目标病菌无抑制作用。笔者认为:植物组织中对目标病菌具有抑制作用的天然活性成分,种类繁多、结构复杂,活性成分之间存在多种相互结合形式,各活性成分之间存在不同程度的交互作用。因此,使用具有不同溶解能力的浸提剂以及不同的浸提过程,可能使得这些活性成分发生结构、形态乃至功能上的变化,而这些变化无一不在

其作用效果上得以反映。总之,对特定的植物组织而言,选择适宜的浸提剂并制定相应的浸提过程,是获得生物活性成分并保持其活性的关键。

鸣谢:本文承蒙段泽敏研究员审阅指正,特此致谢。

参考文献:

- [1] 于平儒,邵红军,冯俊涛,等. 62种植物样品对菌丝活性的测定[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2001, 29(5): 65-69.
- [2] 方德秋,肖顺元. 柠檬醛及香精油的抗菌研究概述[J]. 天然产物研究与开发, 1994, 6(2): 75-78.
- [3] Eberhard U. Control of Phyto Phthor Infestans with Berberine [J]. CA, 1984, 101: 72-74.
- [4] 吴恭谦. 三种毛茛科植物提取物及白头翁素的活性研究[J]. 安徽农学院学报, 1989, (1): 21-31.
- [5] 冯俊涛,石勇强,张兴,等. 56种植物抑菌活性筛选试验[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2001, 29(2), 65-68.
- [6] 孟昭礼,罗兰,尚坚,等. 人工模拟杀菌剂‘绿帝’对8种植物病原菌的室内生测[J]. 莱阳农学院学报, 1998, 15(3): 159-162.
- [7] 佟树敏,李学静,杨学芹,等. 0.6%苦·小檗碱杀菌水研制及在苹果树上的应用[J]. 农业环境保护, 2001, 21(1): 67-69.
- [8] 魏莉,张勇. 苹果树腐烂病无公害防治[J]. 辽宁城乡环境科技, 1998, 18(4): 67-68.
- [9] 辛玉成,王东昌,秦淑莲,等. 植物质药剂GX-80的研制及在苹果树上的应用[J]. 落叶果树, 1995, (2): 10-13.
- [10] 郑虎占. 中药现代研究应用(第六卷)[M]. 北京:学苑出版社, 1999. 5910-5961.