

马 霖,杜春华,成光辉,等. 泽漆叶提取物的除草和抑真菌活性[J]. 江苏农业科学,2015,43(4):154-155.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.04.054

# 泽漆叶提取物的除草和抑真菌活性

马 霖,杜春华,成光辉,孙迎姣

(青岛农业大学化学与药学院/山东省农业仿生应用工程技术中心,山东青岛 266109)

**摘要:**以稗草、反枝苋为材料,采用小杯法测定泽漆叶乙醇提取物的石油醚、乙酸乙酯、正丁醇组分的除草活性。以苹果腐烂病菌、白菜灰霉病菌、柑橘炭疽病菌、小麦全蚀病菌为供试病菌,采用菌丝生长速率法测定 3 种萃取物的抑菌活性。结果表明,泽漆叶乙酸乙酯萃取物对反枝苋幼苗的胚根、胚轴生长都有较好的抑制作用。当浓度为 0.75 mg/mL 时,乙酸乙酯萃取物对反枝苋胚根、胚轴的抑制率分别为 94.96%、88.93%,抑制效果明显好于泽漆叶乙醇粗提物。乙酸乙酯萃取物对稗草的胚根生长也有一定的抑制作用。

**关键词:**泽漆叶萃取物;除草活性;抑菌活性

**中图分类号:**S482.2<sup>+</sup>93;S482.4<sup>+</sup>9 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)04-0154-02

迄今为止,已发现植物次生代谢产物超过 40 万种<sup>[1]</sup>,其中一些具有杀虫、除草、抑菌等作用。相对于化学农药而言,植物源农药因具有高环保性、作用方式多样、易光解、无残留等特点成为农业生产的理想农药。研究者已从植物中分离出众多高活性化合物,并进行结构改造,从而开发出新农药<sup>[2]</sup>。从印楝中分离出的印楝素在杀虫应用方面有巨大应用潜力<sup>[3]</sup>。从银杏中分离出的高活性化合物已被开发成农用杀菌剂等<sup>[4]</sup>。泽漆别称猫眼儿草、五朵云,是大戟科大戟属植物,长期以来一直作为草药使用。泽漆具有化痰、消肿、抑制恶性肿瘤、杀虫等功效<sup>[5]</sup>。泽漆含有多种化学成分,如萜类、黄酮类、苯丙素类、多酚类等<sup>[6]</sup>。近些年,关于泽漆杀虫、抑菌的报道较多。如泽漆甲醇提取物对稻瘟菌的抑制作用较好<sup>[7]</sup>;泽漆乙酸乙酯粗提物对小麦赤霉菌、番茄早疫病菌、苹果炭疽病菌、葡萄白腐病菌也有较好的抑制作用<sup>[8]</sup>。关于泽漆除草活性研究较少。邢小霞等研究了泽漆各器官乙醇提取物的农药活性,结果表明,泽漆浓度为 10 mg/mL 时,泽漆叶乙醇提取物对反枝苋、叶用莴苣、稗草、小麦幼苗幼茎生长的抑制率在 40% 以上,对幼根的抑制率达 78% 以上,对番茄灰霉病菌、黄瓜枯萎病菌、辣椒炭疽病菌都有一定的抑制作用<sup>[9]</sup>。本研究对活性较高的泽漆叶乙醇提取物进行萃取分离,并利用生物测定方法对萃取物进行活性跟踪,以期开发植物源除草剂、杀菌剂提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

泽漆采自青岛农业大学校园内。将叶子摘下后晾干,粉

碎。供试杂草稗草(*Echinochloa crusgalli*)、反枝苋(*Amaranthus retroflexus*)均采自青岛农业大学校园。供试菌种为苹果腐烂病菌(*Valsa mali*)、白菜灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)、柑橘炭疽病菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)、小麦全蚀病菌(*Gaeumannomyces graminis*)。

### 1.2 仪器

旋转蒸发仪、水环式真空泵、真空干燥箱、恒温培养箱、25 mL 烧杯、无菌操作台、直径 6 cm 的培养皿、移液枪、微波炉。

### 1.3 方法

**1.3.1 泽漆萃取物的制备** 将粉碎的泽漆叶放入广口瓶中,用 85% 乙醇水溶液浸泡 3 次,过滤,合并滤液,用旋转蒸发仪减压浓缩,最后放入 57 ℃ 真空干燥箱中干燥 3 d,得浸膏。将得到的浸膏加入一定量的水分散,分别用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取 3 次,合并萃取液,萃取后剩余物则为水相。减压浓缩后,放入 50 ℃ 真空干燥箱中干燥,得到石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取物。

**1.3.2 除草活性的测定** 将反枝苋、稗草种子用流水冲 3 h,在培养皿底部放 1 张滤纸,用蒸馏水浸湿,将种子平铺在滤纸上,放在 26 ℃ 培养箱中避光保湿催芽。称 0.5 g 琼脂,加热溶于蒸馏水中,配成 0.5% 琼脂水溶液。将 3 种萃取物用乙醇溶解,与 0.5% 琼脂水溶液混合,配成浓度为 0.75 mg/mL 的带毒基质,分别倒入 3 个小烧杯中,对照烧杯加入等量乙醇。每个小烧杯中接入 10 粒长势一致的露白种子,放入 26 ℃ 培养箱中继续避光培养。72 h 后测量种子胚根及胚轴长度,计算萃取物对胚根、胚轴的抑制率。将抑制效果较好的待测物配成一系列浓度,测定其在不同浓度下的除草活性,并进行毒力回归分析,得到 EC<sub>50</sub> 值。

抑制率 = (对照长度 - 处理长度) / 对照长度 × 100%。(1)

**1.3.3 抑菌活性的测定** 采用菌丝生长速率法<sup>[10]</sup>测定 3 种萃取物对病原菌的抑制率。称取一定量的 3 种萃取物,用体积分数为 50% 的丙酮水溶液溶解成浓度为 75 mg/mL 的溶液,将 PDA 培养基溶解,吸取 1 mL 样品溶液加入 149 mL 已溶解的 PDA 中,样品最终浓度为 0.50 mg/mL。将含药 PDA

收稿日期:2014-11-21

基金项目:山东省高校科技计划(编号:J11LC21);山东省优秀中青年科学家科研奖励基金(编号:BS2009NY006);青岛农业大学高层次人才基金(编号:630714)。

作者简介:马 霖(1990—),硕士,从事绿色化学工艺研究。

通信作者:杜春华,博士,副教授,主要从事天然源生理活性物质开发、环境友好剂型及绿色化学工艺研究。E-mail: dch1218@163.com。

倒入直径为 6 cm 的培养皿中,每菌每样重复 3 次,对照组在 PDA 中加入等量体积分数为 50% 的丙酮水溶液。将菌饼菌丝朝下接种于培养基中央,放入 27 ℃ 恒温培养箱中培养。待对照快长满时,采用十字交叉法测量菌落直径,计算抑菌率。

纯生长量 = 测量直径 - 菌饼直径。(2)

抑菌率 = (对照组纯直径 - 处理组纯直径)/对照组纯生长量 × 100%。(3)

2 结果与分析

2.1 泽漆叶不同溶剂萃取物对反枝苋、稗草的抑制作用

由表 1 可以看出,在 0.75 mg/mL 浓度下,泽漆叶的石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取物对反枝苋、稗草都有一定的抑制作用。其中乙酸乙酯萃取物的抑制效果最好,对反枝苋的胚根、胚轴的抑制率分别为 94.96%、88.93%,对稗草胚根抑制率为 74.53%。正丁醇萃取物对三者的抑制率均在 50% 以上。3 种提取物除对稗草胚轴无明显抑制作用,表现出作用器官的选择性。

表 1 泽漆叶不同溶剂萃取物对反枝苋和稗草胚根、胚轴的抑制率

| 样品      | 抑制率(%) |       |       |
|---------|--------|-------|-------|
|         | 反枝苋    |       | 稗草    |
|         | 胚根     | 胚轴    | 胚根    |
| 石油醚萃取物  | 42.79  | 18.26 | 2.94  |
| 乙酸乙酯萃取物 | 94.96  | 88.93 | 74.53 |
| 正丁醇萃取物  | 84.89  | 59.98 | 52.94 |

2.2 泽漆叶不同浓度萃取物的除草活性

依据初测结果,将 3 种萃取物用乙醇溶解,稀释成不同浓度,分别加入琼脂水溶液中,萃取物浓度分别为 3.000、1.500、0.750、0.375、0.187 mg/mL,接入反枝苋、稗草种子后测定除草活性。由表 2 可知,乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物对反枝苋胚轴生长抑制作用的 EC<sub>50</sub> 值分别为 0.35、0.52 mg/mL。表 3 表明,这 2 种萃取物对反枝苋胚根生长抑制作用的 EC<sub>50</sub> 值仅为 0.21、0.31 mg/mL。

表 2 泽漆叶不同溶剂萃取物对反枝苋胚轴生长的毒力回归分析

| 样品      | 回归方程                    | r <sup>2</sup> | EC <sub>50</sub> 值<br>(mg/mL) |
|---------|-------------------------|----------------|-------------------------------|
| 石油醚萃取物  | y = -0.630 9 + 1.711 6x | 0.98           | 1.95                          |
| 乙酸乙酯萃取物 | y = -4.277 9 + 3.653 1x | 0.98           | 0.35                          |
| 正丁醇萃取物  | y = -0.153 3 + 1.896 7x | 0.99           | 0.52                          |

表 3 泽漆叶不同溶剂萃取物对反枝苋胚根生长的毒力回归分析

| 样品      | 回归方程                    | r <sup>2</sup> | EC <sub>50</sub> 值<br>(mg/mL) |
|---------|-------------------------|----------------|-------------------------------|
| 石油醚萃取物  | y = 0.248 0 + 1.630 2x  | 0.93           | 0.82                          |
| 乙酸乙酯萃取物 | y = -1.660 6 + 2.868 8x | 0.94           | 0.21                          |
| 正丁醇萃取物  | y = -0.317 6 + 2.137 4x | 0.97           | 0.31                          |

从表 4 可以看出,3 种萃取物对稗草胚根的影响较弱,乙酸乙酯萃取物 EC<sub>50</sub> 值最小,仅为 0.70 mg/mL。由此可知,石油醚萃取物的除草活性最弱,EC<sub>50</sub> 值远大于其他 2 种萃取物。

2.3 泽漆叶不同溶剂萃取物的抑菌活性

由表 5 可以看出,3 种萃取物对苹果腐烂病菌、柑橘炭疽

表 4 泽漆叶不同溶剂萃取物对稗草胚根生长的毒力回归分析

| 样品      | 回归方程                    | r <sup>2</sup> | EC <sub>50</sub> 值<br>(mg/mL) |
|---------|-------------------------|----------------|-------------------------------|
| 石油醚萃取物  | y = -8.182 7 + 3.990 6x | 0.94           | 2.01                          |
| 乙酸乙酯萃取物 | y = -6.962 2 + 4.208 0x | 0.95           | 0.70                          |
| 正丁醇萃取物  | y = -6.127 4 + 3.786 5x | 0.98           | 0.87                          |

病菌都有一定的抑制作用。乙酸乙酯萃取物抑制作用最好,对苹果腐烂病菌、柑橘炭疽病菌的抑制率分别为 41.24%、32.17%,其次是石油醚萃取物,对苹果腐烂病菌、柑橘炭疽病菌的抑制率分别为 30.28%、22.03%。3 种萃取物对白菜灰霉病菌、小麦全蚀病菌的抑制作用都较差。

表 5 泽漆叶不同溶剂萃取物对 4 种真菌的抑菌活性

| 样品      | 抑制率(%) |        |        |        |
|---------|--------|--------|--------|--------|
|         | 苹果腐烂病菌 | 白菜灰霉病菌 | 柑橘炭疽病菌 | 小麦全蚀病菌 |
| 石油醚萃取物  | 30.28  | 8.76   | 22.03  | 8.28   |
| 乙酸乙酯萃取物 | 41.24  | 19.32  | 32.17  | 22.82  |
| 正丁醇萃取物  | 15.74  | 9.96   | 29.04  | 7.16   |

3 结论

本研究采用小杯法测定泽漆叶乙醇提取物不同溶剂萃取物对反枝苋、稗草的除草活性,结果表明,泽漆叶乙酸乙酯萃取物对反枝苋幼苗的胚根、胚轴生长都有较好的抑制作用。当浓度为 0.75 mg/mL 时,乙酸乙酯萃取物对反枝苋胚根、胚轴的抑制率分别为 94.96%、88.93%,抑制效果明显好于泽漆叶乙醇粗提物。乙酸乙酯萃取物对稗草的胚根生长也有一定的抑制作用。同时乙酸乙酯萃取物表现出较好的抑真菌活性,说明泽漆叶的除草、抑菌活性成分主要集中在乙酸乙酯萃取物,且活性成分主要为中等极性物质。

参考文献:

[1] 操海群,岳永德,花日茂,等. 植物源农药研究进展(综述)[J]. 安徽农业大学学报,2000,27(1):42-46.  
[2] 张一宾. 植物源杀虫剂及其仿生合成的杀虫剂[J]. 农药,2013,52(10):710-716.  
[3] Morgan E D, Butterworth J H. Isolation of a substance that suppresses feeding in locusts[J]. J Chem Commun,1968(1):23-24.  
[4] 罗兰,袁忠林,孟昭礼. 邻烯丙基苯酚对植物病原真菌抑制机理初探[J]. 农药学报,2006,8(3):279-282.  
[5] 胡小华,李国强,贾晓光. 泽漆的研究进展[J]. 新疆中医药,2008,26(2):80-81.  
[6] 杨莉,陈海霞,高文远. 泽漆化学成分及药理作用研究进展[J]. 中草药,2007,38(10):1585-1589.  
[7] 黄桂荣,李有志,徐大高,等. 9 种湘西植物甲醇提取物的抗真菌活性[J]. 仲恺农业技术学院学报,2005,18(4):49-52.  
[8] 陈学文. 泽漆粗提物对常见植物病原菌抑菌作用的初步研究[J]. 浙江农业科学,2005(3):218-219.  
[9] 邢小霞,罗兰,任俊达. 泽漆农药生物活性研究[J]. 青岛农业大学学报:自然科学版,2013,30(3):192-194.  
[10] 吴文君. 植物化学保护实验研究技术[M]. 西安:陕西人民出版社,1996:126-140.