

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⁺93;S482.4⁺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^[1],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^[2]。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^[3]。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^[4]。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^[5]。泽漆含有多种化学成分,如萜类、黄酮类、苯丙素类、多酚类等^[6]。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^[7];泽漆乙酸乙酯粗提物对小麦赤霉菌、番茄早疫病病菌、苹果炭疽病菌、葡萄白腐病菌也有较好的抑制作用^[8]。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^[9]。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EC₅₀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^[10]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:J11LNC21);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EC₅₀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EC₅₀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 ²	EC ₅₀ 值 (mg/mL)
石油醚萃取物	y = -0.6309 + 1.7116x	0.98	1.95
乙酸乙酯萃取物	y = -4.2779 + 3.6531x	0.98	0.35
正丁醇萃取物	y = -0.1533 + 1.8967x	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 ²	EC ₅₀ 值 (mg/mL)
石油醚萃取物	y = 0.2480 + 1.6302x	0.93	0.82
乙酸乙酯萃取物	y = -1.6606 + 2.8688x	0.94	0.21
正丁醇萃取物	y = -0.3176 + 2.1374x	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EC₅₀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,EC₅₀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 ²	EC ₅₀ 值 (mg/mL)
石油醚萃取物	y = -8.1827 + 3.9906x	0.94	2.01
乙酸乙酯萃取物	y = -6.9622 + 4.2080x	0.95	0.70
正丁醇萃取物	y = -6.1274 + 3.7865x	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.