

余思策,李俊凯,刘显良,等. 6 种古老珍稀植物对 3 种蔬菜病原细菌的抑制活性[J]. 江苏农业科学,2018,46(6):95-96.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.06.024

6 种古老珍稀植物对 3 种蔬菜病原细菌的抑制活性

余思策,李俊凯,刘显良,杜晓英

(长江大学农学院,湖北荆州 434025)

摘要:以黄瓜细菌性角斑病病菌、魔芋软腐病病菌、生姜青枯病病菌为供试菌,采用琼脂打孔药剂扩散法对分属 5 个科的 6 种古老珍稀植物的甲醇提取物进行抑菌活性筛选。结果表明,20 mg/mL 连香树、山白树和牛鼻栓的甲醇提取物对 3 种病原细菌中的 2 种及以上表现出抑制活性,活性最好的连香树甲醇提取物对 3 种病原细菌的最低抑制浓度均为 1.64 mg/mL。在供试质量浓度为 5 mg/mL 时,乙酸乙酯萃取层和水层对 3 种病原细菌的抑制活性较好,抑菌圈直径分别大于 2.3、1.8 cm。研究表明,连香树甲醇提取物的抑菌活性成分值得进一步深入研究。

关键词:古老珍稀植物;植物甲醇提取物;蔬菜病原细菌;抑菌活性;液-液分配萃取法

中图分类号:S482.2⁺92 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2018)06-0095-02

蔬菜细菌性病害严重危害了蔬菜的品质和产量,控制蔬菜病原细菌的药剂主要是农用抗生素^[1]。但由于长期大量不科学地使用抗生素,产生的抗性问题越来越突出。因此,开发新型安全的杀菌剂显得十分必要。植物产生的一些次生代谢产物很多具有抑菌活性^[2-4],目前,这方面的研究较多,且已经发现了许多具有抑菌活性的化合物^[5-7],但对本研究中采集到的 6 种古老珍稀植物的抑菌活性成分的研究较少,仅发现汪超等研究了连香树精油对玉米大斑病病菌、黑曲霉及根霉的抑菌活性^[8];Tada 等从连香树叶子的甲醇提取物中分离出 2 种对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌有抑制作用的化合物^[9];金则新等研究了七子花不同时期、不同溶剂提取物对枯草芽孢杆菌等细菌的抑菌活性^[10-11]。本试验研究 6 种古老珍稀植物对 3 种蔬菜病原细菌的抑菌活性,以期为进一步探寻这些植物的抑菌活性成分及新型杀菌剂的研发奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试植物样品 供试植物样品详情如表 1 所示,均采用武汉植物园。

表 1 供试植物详细信息

植物科名	植物种名	供试部位
山茶科	紫茎(<i>Stewartia sinensis</i>)	果实
安息香科	长果秤锤树(<i>Sinojackia dolichocarpa</i>)	果实、茎、叶
连香树科	连香树(<i>Cercidiphyllum japonicum</i>)	茎、叶
金缕梅科	山白树(<i>Sinowilsonia henryi</i>)	茎、果实
金缕梅科	牛鼻栓(<i>Fortunearia sinensis</i>)	果实、茎、叶
忍冬科	七子花(<i>Heptacodium miconioides</i>)	花、茎、叶

收稿日期:2017-08-02

基金项目:国家自然科学基金(编号:31672069)。

作者简介:余思策(1992—),男,湖北黄冈人,硕士研究生,主要从事新农药的研究与开发。E-mail:1482555732@qq.com。

通信作者:杜晓英,博士,副教授,硕士生导师,主要从事农药学的教学与研究。E-mail:cjdxxy@163.com。

1.1.2 供试菌种及来源 黄瓜细菌性角斑病病菌(*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*)、魔芋软腐病病菌(*Erwinia carotovora* pv. *carotovora*)、生姜青枯病病菌(*Ralstonia solanacearum*),均采自田间,经室内分离纯化所得,由长江大学周燧教授鉴定。

1.1.3 培养基 培养基配方:15 g/L 琼脂、10 g/L 蔗糖、10 g/L 蛋白胨、3 g/L 牛肉膏,pH 值调至 7.0。

1.2 试验方法

1.2.1 植物样品的制备 将采集的植物材料粉碎后用甲醇浸提 3 次,过滤后在 50 ℃ 条件下减压浓缩成膏状,密封保存^[12]。

1.2.2 6 种植物甲醇提取物抑菌活性的测定 将 0.5 g 膏状提取物用 2.5 mL 丙酮溶解,取 1 mL 丙酮溶解液用含 1%吐温 80 的无菌水定容至 10 mL,配制成质量浓度为 20 mg/mL 的药液。将供试病原细菌活化,配成浓度为 $10^5 \sim 10^6$ CFU/mL 的悬浮液。利用琼脂打孔药剂扩散法^[13]来测定各甲醇提取物的抑菌活性。每个培养皿倒入 30 mL 含有 200 μ L 细菌悬浮液的 50 ℃ 左右的培养基,冷却后用灭菌打孔器打孔,并用少许琼脂封底,加入 50 μ L 配制好的无菌药液,并设置溶剂对照组。在 30 ℃ 条件下培养 1 d,测量抑菌圈的直径。每个处理重复 3 次,取其平均值。

1.2.3 连香树甲醇提取物的最低抑菌浓度测定 用丙酮将连香树甲醇提取物配制成 5.00、4.00、3.20、2.56、2.05、1.64、1.31、1.05、0.84、0.67 mg/mL 等一系列浓度梯度的药液,最低抑菌浓度测定方法同“1.2.2”节。

1.2.4 连香树甲醇提取物萃取物抑菌活性测定 采取液-液分配萃取法,将连香树甲醇提取物进行初步分离。用少量甲醇溶解适量提取物,放在 50 ℃ 恒温水浴锅热溶后加 10 倍蒸馏水,依次用石油醚、三氯甲烷、乙酸乙酯萃取。将各萃取液和水层减压浓缩至膏状,并在质量浓度为 5 mg/mL 条件下对 3 种病原细菌进行抑菌活性测定,测定方法同“1.2.2”节。

2 结果与分析

2.1 6 种古老珍稀植物甲醇提取物对 3 种蔬菜病原细菌的

抑菌活性初筛

由表 2 可知,当质量浓度为 20 mg/mL 时,连香树甲醇提取物对 3 种蔬菜病原细菌的抑制活性最好,其抑菌圈直径分别为 1.31、1.68、1.10 cm;山白树和牛鼻栓的甲醇提取物对魔芋软腐病病菌、生姜青枯病病菌均有抑制活性,山白树甲醇提取物对两者的抑菌圈直径分别为 1.14、0.89 cm,牛鼻栓甲醇提取物对两者的抑菌圈直径分别为 0.54、0.48 cm;其余植物对供试病原细菌均无抑制活性。

表 2 6 种古老珍稀植物甲醇提取物对 3 种病原细菌的抑制效果

样品名称	抑菌圈直径(cm)		
	魔芋软腐病病菌	黄瓜细菌性角斑病病菌	生姜青枯病病菌
连香树	1.31 ± 0.04a	1.68 ± 0.11a	1.10 ± 0.02a
山白树	1.14 ± 0.07a	—	0.89 ± 0.07b
牛鼻栓	0.54 ± 0.06b	—	0.48 ± 0.04c
紫茎	—	—	—
长果秤锤树	—	—	—
七子花	—	—	—

注:“—”表示没有活性,下表同;同列数据后不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著,表 4 同。

2.2 连香树甲醇提取物对 3 种蔬菜病原细菌的最低抑菌浓度测定

为明确连香树甲醇提取物对供试病原细菌的最低抑制浓度,采取琼脂打孔药剂扩散法对其进行测定。由表 3 可知,连香树对 3 种病原细菌的最低抑制浓度均为 1.64 mg/mL。

表 3 连香树甲醇提取物对 3 种病原细菌的抑制效果

连香树甲醇提取物浓度 (mg/mL)	抑菌圈直径 (cm)		
	魔芋软腐病病菌	生姜青枯病病菌	黄瓜细菌性角斑病病菌
5.00	0.59	0.70	0.68
4.00	0.48	0.51	0.55
3.20	0.40	0.41	0.42
2.56	0.35	0.35	0.28
2.05	0.30	0.30	0.26
1.64	0.20	0.20	0.20
1.31	—	—	—
1.05	—	—	—
0.84	—	—	—
0.67	—	—	—
丙酮	—	—	—

2.3 连香树甲醇提取物各萃取相对 3 种蔬菜病原细菌的抑制活性测定

由表 4 可知,当质量浓度为 5 mg/mL 时,连香树甲醇提取物除石油醚相外,其他各萃取相对 3 种病原细菌均有抑制效果,其中,乙酸乙酯相、水相表现出较好的抑制效果,抑菌圈直径分别大于 2.3、1.8 cm,石油醚相对这 3 种病原细菌均没有抑制活性。可以初步判断出连香树甲醇提取物中具有抑菌活性成分化合物的极性较大。

3 结论与讨论

质量浓度为 20 mg/mL 时,本研究的植物材料中只有连

表 4 5 mg/mL 连香树甲醇提取物各萃取相对 3 种病原细菌的抑制效果

萃取相	抑菌圈直径 (cm)		
	魔芋软腐病病菌	生姜青枯病病菌	黄瓜细菌性角斑病病菌
乙酸乙酯相	2.64 ± 0.04a	2.55 ± 0.05a	2.39 ± 0.08a
水相	2.17 ± 0.02b	1.88 ± 0.02b	1.83 ± 0.08b
氯仿相	0.20 ± 0.02c	0.24 ± 0.01c	1.00 ± 0.03c
石油醚相	—	—	—

香树、山白树、牛鼻栓等 3 种植物的甲醇提取物对 3 种供试病原细菌有抑制活性,其中,连香树甲醇提取物的抑制活性最好,其最低抑菌浓度为 1.64 mg/mL。采用液-液分配萃取法分离并对连香树提取物进行生物测定。研究表明,连香树甲醇提取物抑菌活性成分的极性较大,此结果与 Tada 等从连香树叶甲醇提取物乙酸乙酯萃取层分离到的 2 种抑菌化合物^[9]相一致,可以进一步对其做色谱分离。山白树的抑菌活性也较好,可以对其进行进一步的研究。

珍稀濒危植物往往因为其生活的特殊环境为人类提供了珍稀的物质材料。本试验采集到的 6 种古老珍稀植物中,有 3 种植物的甲醇提取物具有抑菌活性,因此,古老珍稀植物可能是一个开发植物源杀菌剂的方向。

参考文献:

[1] 田 惠,李焕玲,谢学文,等. 蔬菜细菌性病害药剂防治应用技术[J]. 中国蔬菜,2013(13):22-24.

[2] Swain T. Secondary compounds as protective agents[J]. Annual Review of Plant Physiology,1977,28(1):479-501.

[3] 江绍玫. 植物源无公害农药研究开发现状[J]. 江西农业大学学报,2000,22(1):140-142.

[4] 李永刚,文景芝,郝中娜. 植物源杀菌剂的研究现状与展望[J]. 东北农业大学学报,2002,33(2):198-202.

[5] 张良菊,徐慧慧,徐志红,等. 对节白蜡树叶中挥发性成分提取、GC-MS 分析及杀菌活性研究[J]. 河南农业科学,2017,46(6):80-83.

[6] 刘 莹,周如军,傅俊范,等. 厚朴提取液对 5 种药用植物病原菌的抑菌活性研究[J]. 河南农业科学,2009(5):86-89.

[7] 钟 慧,钟 勇,卿 朕,等. 2 种中药植物提取物抑菌活性初步研究[J]. 河南农业科学,2015,44(9):64-68.

[8] 汪 超,唐 明,魏 琴,等. 连香树精油对植物病原真菌抑菌作用及对人肝癌细胞株 SMMC-7721 细胞毒性研究[J]. 四川师范大学学报(自然科学版),2016,39(5):735-742.

[9] Tada M, Sakurai K. Antimicrobial compound from *Cercidiphyllum japonicum*[J]. Phytochemistry,1991,30(4):1119-1120.

[10] 金则新,李钧敏. 珍稀濒危植物七子花提取物的抑菌活性[J]. 浙江林学院学报,2006,23(3):306-310.

[11] 张俊会,金则新. 七子花不同时期叶片提取物的体外抑菌活性[J]. 浙江林学院学报,2007,24(3):369-371.

[12] 魏敬怀,周 燚,余思策,等. 26 种植物甲醇提取物对 3 种植物病原细菌的抑制活性[J]. 江苏农业科学,2016,44(6):233-235.

[13] 周立刚. 植物抗菌化合物[M]. 北京:中国农业科学技术出版社,2005:74-83.