

文章编号: 1674-7054(2022)03-0227-08



中南鱼藤枝叶提取物对植物病原真菌的抑菌活性

刘启凤, 张北京, 尹丰满, 张羲, 胡展, 谢佳, 孙然锋

(海南大学热带农林生物灾害绿色防控教育部重点实验室/植物保护学院, 海口 570228)

摘要: 为探究中南鱼藤(*Derris fordii* Oliv.)枝叶的甲醇提取物及其各相萃取物(石油醚、乙酸乙酯、正丁醇和水)对植物病原真菌的抑菌活性, 采用菌丝生长速率法测定了其8种真菌的抑制活性; 运用孢子萌发法测定了其香蕉炭疽病菌分生孢子萌发的抑制活性。为探究中南鱼藤枝叶的甲醇提取物及其各相萃取物对植物病原真菌的防治效果, 利用香蕉果实接种法测定了中南鱼藤枝叶的甲醇提取物对香蕉果实炭疽病的防治效果, 利用盆栽法测定了中南鱼藤枝叶的甲醇提取物及其各相萃取物对豇豆白粉病的活体防治效果。结果表明, 中南鱼藤枝叶的甲醇提取物及其各相萃取物对8种植物病原真菌均表现出不同程度的抑制作用($EC_{50}=0.24 \sim 1.33 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), 其中, 中南鱼藤枝叶的甲醇提取物在 $2.00 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 对香蕉炭疽病菌菌丝生长抑制率达到82.15%。同时, 中南鱼藤乙酸乙酯萃取相浓度为 $1.00 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时对香蕉炭疽病菌分生孢子萌发相对抑制率为89.92%。另外, 防治效果结果表明, 香蕉果实接种实验中中南鱼藤甲醇提取物浓度为 $3.20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时对香蕉果实炭疽病的防治效果为71.11%; 中南鱼藤甲醇提取物及其正丁醇相萃取物在浓度为 $1.00 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 下对豇豆白粉病的防治效果分别为91.67%和94.07%。可见中南鱼藤枝叶的甲醇提取物及其石油醚相、乙酸乙酯相、正丁醇相和水相萃取物在植物真菌病害防治方面具有潜在的应用价值。

关键词: 中南鱼藤; 植物病原真菌; 抑菌活性; 植物源农药

中图分类号: S 482.2 **文献标志码:** A

引用格式: 刘启凤, 张北京, 尹丰满, 等. 中南鱼藤枝叶提取物对植物病原真菌的抑菌活性[J]. 热带生物学报, 2022, 13(3): 227-234. DOI: 10.15886/j.cnki.rdswwb.2022.03.004

中南鱼藤(*Derris fordii* Oliv.), 又名毒鱼藤、白药根、雷公藤蹄, 是豆科鱼藤属中的一种攀援灌木^[1], 广泛分布于我国长江以南地区, 通常生长于浙江、湖北、湖南、海南、贵州、云南等省市的灌木林或疏林中^[2]。中南鱼藤在医学方面常用于治疗游走性关节炎、湿癩、老年阴道炎等。农业方面, 中南鱼藤大多应用于3个方面: (1)控释肥料。多用于水稻^[3]、辣椒、马铃薯^[4]、南瓜、番茄、白萝卜^[5]、天冬、火龙果^[6]、荔枝、香蕉、百香果^[7-9]、山楂^[10]、茶树^[11]等植物。(2)抗菌杀虫处理剂。中南鱼藤与其他材料制成的处理剂有较好的杀虫效果, 用于防治根结线虫、蛴螬、蚜虫等病虫害^[12], 多在水稻、瓜果类蔬菜^[13]、果树(贡柑)、板蓝根等上使用, 能提高产品的产量及品质。此外, 这些处理

剂针对园林植物种子进行防霉变处理, 能显著提高园林植物成活率^[14]。(3)菇类培养基。中南鱼藤被制成香菇^[15]、杏鲍菇^[16]等菇类的培养基, 能促进菇类的生长, 提高产量且品质更优。此外, 中南鱼藤还可作为一种天然成分的甲醛去除剂^[17]以及其与根瘤菌共生体可能在生态修复和农业生产中具有应用潜力。在海南, 中南鱼藤有着悠久的历史, 其为三大传统杀虫植物之一^[18], 从中南鱼藤根皮甲醇提取物中分离出了鱼藤酮、12 α -羟基鱼藤酮、6-甲氧基黄酮3种化合物, 其中鱼藤酮、12 α -羟基鱼藤酮表现出良好的杀虫活性^[19]。鱼藤酮是从鱼藤属植物中分离出来的一种化合物, 具有较好的杀虫活性, 用于蚜虫、菜粉蝶幼虫、小菜蛾、孑孓等害虫的防治^[20-21]。目前, 对中南鱼藤的

收稿日期: 2021-08-07 修回日期: 2022-01-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(22067004)

第一作者: 刘启凤(1996-), 女, 海南大学植物保护学院2019级硕士研究生. E-mail: liuqifengedu@163.com

通信作者: 孙然锋(1981-), 男, 教授. 研究领域: 热带生物源农药创制及应用. E-mail: srf18@hainanu.edu.cn

研究多在杀虫活性方面,在抑菌方面还没有系统的研究。本研究利用中南鱼藤枝叶提取物,以9种植物病原真菌为靶标进行抑菌活性研究,以期发现中南鱼藤新用途,为中南鱼藤资源的充分利用及植物病原真菌的防治提供理论依据,为中南鱼藤在杀菌活性方面的进一步深入研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料 中南鱼藤采自海南省昌江黎族

自治县霸王岭,并经海南大学热带作物学院王华锋教授鉴定;实验所用有机溶剂(甲醇、石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、DMF(*N,N*-二甲基甲酰胺)、吐温-80)均为分析纯,购于海南海道森科技有限公司;啞菌酯(浓度为98%,上海源叶生物)和丙环唑(浓度为97%,Aladdin)原药均购自北京伊诺凯科技有限公司;豇豆种子(*Vigna unguiculata*(Linn.) Walp.,摘不败(广东省兴宁市庆丰盈科种子有限公司)。

1.2 供试菌种 实验供试菌种见表1。

表1 供试菌种

序号	植物病原真菌	用于实验	保存地点
1	水稻纹枯病菌(<i>Rhizoctonia solani</i>)	抑菌活性测定	海南大学植物保护学院
2	苹果轮纹病菌(<i>Botryosphaeria dothidea</i>)	抑菌活性测定	海南大学植物保护学院
3	小麦赤霉病菌(<i>Fusarium graminearum</i>)	抑菌活性测定	海南大学植物保护学院
4	香蕉炭疽病菌(<i>Colletotrichum musae</i>)	抑菌活性测定	海南大学植物保护学院
5	火龙果溃疡病菌(<i>Neoscytalidium dimidiatum</i>)	抑菌活性测定	海南大学植物保护学院
6	茄链格孢菌(<i>Alternaria solani</i>)	抑菌活性测定	海南大学植物保护学院
7	辣椒疫霉病菌(<i>Phytophthora capsici</i>)	抑菌活性测定	海南大学植物保护学院
8	稻瘟病菌(<i>Magnaporthe oryzae</i>)	抑菌活性测定	海南大学植物保护学院
9	豇豆白粉病菌(<i>Podosphaera xanthii</i>)	盆栽试验	海南大学植物保护学院

1.3 中南鱼藤甲醇提取物及其各相萃取物的制备 将中南鱼藤枝叶剪成10 cm左右的小段,于50 °C下烘干并粉碎。称取500.00 g粉末,用6.00 L甲醇浸泡3 d,旋转蒸发器减压除去溶剂,重复3次,得到中南鱼藤甲醇提取物浸膏54.05 g,于4 °C条件下保存备用。将一定量的中南鱼藤甲醇提取物用水溶解后,依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取,将各相萃取液浓缩后分别得到石油醚相萃取物、乙酸乙酯相萃取物、正丁醇相萃取物、水相萃取物。将各相萃取物置于4 °C环境中保存备用。

1.4 植物病原真菌离体抑菌活性测定 利用菌丝生长速率法测定中南鱼藤甲醇提取物及各相萃取物对供试真菌的抑制活性。称取一定量的中南鱼藤甲醇提取物浸膏及各相萃取物,用DMF(*N,N*-二甲基甲酰胺)充分溶解后,配制成供试药液,将药液与马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA培养基)混匀,制成提取物浓度为2.00 g·L⁻¹、各相萃取物浓度为1.00 g·L⁻¹的带药培养基,以相同含量DMF

的PDA培养基为对照。病原真菌用直径为0.5 cm的打孔器制成菌饼,接入带药培养基中间,设置3个重复。转接好的病原菌置于28 °C的恒温培养箱中培养,待对照组菌落直径达到5.0 cm以上时,采用十字交叉法测量菌落的直径。菌丝生长抑制率按下式计算:

$$I(\%) = [(C - T)/(C - 0.5)] \times 100,$$

式中: I表示抑制率, C表示对照组病原菌在培养基上的直径, T表示处理组病原菌在培养基上的直径。

1.5 中南鱼藤甲醇提取物对植物病原真菌菌丝EC₅₀值的测定 称取定量提取物浸膏,用DMF充分溶解配置成供试药液,加入PDA培养基中,配置成一定浓度梯度的带药培养基,其他操作同1.3.2一样。计算中南鱼藤甲醇提取物对病原真菌的EC₅₀值。

1.6 中南鱼藤甲醇提取物及各相萃取物对香蕉炭疽病分生孢子萌发抑制活性测定 称取定量的中南鱼藤甲醇提取物浸膏及各相萃取物,溶于DMF中,配置成供试药液,加入PDA培养基中充

分混匀,制成一定浓度的带药培养基。吸取 0.50 mL 带毒培养基置于载玻片上,待凝固后,在培养基表面均匀涂抹香蕉炭疽病菌孢子悬浮液(1×10^7 CFU·mL⁻¹),以含同等比例 DMF 的无菌水作为对照,每个处理设置 3 个重复,实验重复 3 次。处理后的载玻片置于 28 °C 恒温培养箱中培养,对照组孢子萌发率超 95.00% 后于显微镜下观察各处理组孢子萌发情况,每个重复观察 3 个视野,且记录不少于 300 个分生孢子的萌发情况,并计算萌发率与相对抑制率。公式如下:

$$\text{萌发率}(\%) = \frac{\text{孢子萌发数量}}{\text{孢子总数}} \times 100,$$

$$\text{相对抑制率}(\%) = \frac{\text{处理组萌发率} - \text{对照组萌发率}}{\text{对照组萌发率}} \times 100。$$

1.7 中南鱼藤甲醇提取物对香蕉果实炭疽病的防治效果 将称取的中南鱼藤甲醇提取物溶于 DMF 中,用 0.1% 吐温-80 水溶液稀释成 3.20、1.60、1.00、0.50、0.10 g·L⁻¹ 溶液。选取成熟度、大小一致、完好无损的香蕉,清洗香蕉自然晾干。将香蕉置于配置好的药液中浸泡 10 min,以啞菌酯为阳性对照,含有同等比例 DMF 的 0.5% 吐温-80 水溶液为空白对照,自然晾干,24 h 后,喷洒浓度为 1×10^7 CFU·mL⁻¹ 香蕉炭疽病菌分生孢子悬浮液,将处理过的香蕉置于 28 °C 条件下培养,对照发病后,观察各处理发病情况并分级,试验进行 3 次,每次试验设置 7 个重复。其分级标准如下:

- 0 级: 无病;
- 1 级: 病斑面积占果实面积的 <5%;
- 3 级: 病斑面积占果实面积的 $\geq 5\% \sim <10\%$;
- 5 级: 病斑面积占果实面积的 $\geq 10\% \sim <25\%$;
- 7 级: 病斑面积占果实面积的 $\geq 25\% \sim <50\%$;
- 9 级: 病斑面积占果实面积的 $\geq 50\%$;

$$\text{病情指数} = \frac{\sum(\text{各级发病数} \times \text{各级代表值})}{(\text{调查果实总数} \times \text{最高级数值})} \times 100,$$

$$\text{防治效果}(\%) = \frac{\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数}}{\text{对照病情指数}} \times 100。$$

1.8 中南鱼藤甲醇提取物及各相萃取物防治豇豆白粉病 播种豇豆种子,待豇豆发芽后于温室下正常培养 15 d,选取二叶期长势一致的豇豆苗

作为供试植株。称取中南鱼藤甲醇提取物及各相萃取物,用少量 DMF 溶解后,加入 0.1% 吐温-80 水溶液配置成一定浓度的供试药液备用。用毛笔收集植株上的白粉孢子,配成浓度为 1×10^7 CFU·mL⁻¹ 孢子悬浮液备用。将 12 mL 供试药液用喷雾机均匀喷洒于 5 株豇豆叶片上,喷药后等药液自然晾干后,将豇豆置于温室下正常培养,24 h 后喷洒豇豆白粉病孢子悬浮液;喷洒药液及豇豆白粉病孢子悬浮液时喷雾压力均为 1.5 kg·cm⁻²。处理后的植株置于温室(25 °C,相对湿度 80%)培养。每个处理设置 5 个重复。以丙环唑为阳性对照,设置等量 DMF 的吐温-80 水溶液作为空白对照。培养 14 d 后调查发病情况以及防治效果。实验重复 3 次。豇豆白粉病分级标准如下:

- 0 级: 无病;
- 1 级: 病斑面积占叶片面积的 <5%;
- 3 级: 病斑面积占叶片面积的 $\geq 5\% \sim <10\%$;
- 5 级: 病斑面积占叶片面积的 $\geq 11\% \sim <20\%$;
- 7 级: 病斑面积占叶片面积的 $\geq 21\% \sim <40\%$;
- 9 级: 病斑面积占叶片面积的 $\geq 40\%$;

$$\text{病情指数} = \frac{\sum(\text{各级发病数} \times \text{各级代表值})}{(\text{调查总叶片数} \times \text{最高级数值})} \times 100,$$

$$\text{防治效果}(\%) = \frac{\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数}}{\text{对照病情指数}} \times 100。$$

1.9 数据处理 所有相关数据采用 Excel 2019 和 SPSS 9.0 软件进行统计和计算,利用 Origin 8.5 软件绘制图形。

2 结果与分析

2.1 中南鱼藤甲醇提取物及各相萃取物对真菌离体抑菌活性的测定 中南鱼藤甲醇提取物对 8 种植物真菌离体抑菌活性测定结果(表 2)表明,在浓度为 2.00 g·L⁻¹ 时,中南鱼藤甲醇提取物对其中 7 种植物病原菌抑制效果均大于 60.00%,其中对香蕉炭疽病菌效果最为突出,其抑制率可达到 82.15%。中南鱼藤各相萃取物对 8 种植物病原真菌离体抑菌活性测定结果(表 3)表明,各相萃取物浓度为 1.00 g·L⁻¹ 时,乙酸乙酯相萃取物表现出较好的抑制活性,其对 8 种真菌的抑制率为 53.09% ~ 80.50%。此外,石油醚相萃取物对 8 种真菌的抑制率在 44.44% ~ 64.95%;正丁醇相萃取物对火龙

果溃疡病菌抑制效果最好(抑制率: 54.55%), 对其余真菌抑制率均小于 50%; 水相萃取物对 8 种真菌抑制活性较差, 抑制率均小于 30%。

2.2 中南鱼藤甲醇提取物对植物病原真菌菌丝 EC_{50} 值的测定 中南鱼藤甲醇提取物对 8 种植物病原真菌 EC_{50} 测定结果如表 4 所示, 其对 8 种植物病原真菌的 EC_{50} 为 0.24 ~ 1.33 $g \cdot L^{-1}$, 其中中南鱼藤甲醇提取物对香蕉炭疽病菌 EC_{50} 最低 (0.24 $g \cdot L^{-1}$), 说明中南鱼藤甲醇提取物对香蕉炭疽病菌的生长抑制活性最好。

2.3 中南鱼藤甲醇提取物及各相萃取物对香蕉炭疽病菌分生孢子萌发抑制活性的测定 中南鱼藤甲醇提取物对香蕉炭疽病菌分生孢子萌发相对抑制率如图 1 所示。结果表明, 随着中南鱼藤甲醇提取物浓度的增加, 其对香蕉炭疽病菌分生孢子萌发抑制作用越来越明显。当中南鱼藤甲醇提取物浓度为 0.50 $g \cdot L^{-1}$ 、0.80 $g \cdot L^{-1}$ 时, 其相对抑制率均小于 50.00%; 当浓度大于 1.00 $g \cdot L^{-1}$ 时, 其相对抑制率均高于 60.00%, 其中当浓度为 3.00 $g \cdot L^{-1}$

表 2 中南鱼藤甲醇提取物对 8 种植物病原真菌的抑菌活性

序号	植物病原真菌	菌丝生长抑制率/%
1	水稻纹枯病菌	76.00±1.02
2	苹果轮纹病菌	71.88±0.60
3	小麦赤霉病菌	48.72±0.73
4	香蕉炭疽病菌	82.15±0.60
5	火龙果溃疡病菌	64.35±0.75
6	茄链格孢菌	63.82±0.37
7	辣椒疫霉病菌	71.70±0.69
8	稻瘟病菌	75.00±1.03

时, 抑制率可到 93.76%。另外, 当甲醇提取物及各相萃取物浓度均为 1.00 $g \cdot L^{-1}$ 时(图 2), 相较于甲醇提取物, 石油醚相萃取物与乙酸乙酯相萃取物表现出较好活性(相对抑制率分别为 84.56%、89.92%)。甲醇提取物与石油醚相萃取物、乙酸乙酯相萃取物相对抑制率分别为 68.68%、37.32%、6.20%。

表 3 中南鱼藤各相萃取物对 8 种植物病原真菌的抑菌活性

处理	R.S	B.D	F.G	C.M	N.D	A.S	P.C	M.O	/%
石油醚相	61.58±1.97B	49.00±0.00B	51.43±1.04B	55.00±0.00B	40.64±1.31B	30.56±0.49B	44.44±0.98B	64.95±0.73A	
乙酸乙酯相	73.16±1.29A	80.50±1.22A	60.00±1.39A	76.88±0.88A	56.68±1.31A	58.33±0.85A	71.53±0.89A	53.09±0.73B	
正丁醇相	16.32±1.29D	1.00±1.25C	22.29±0.80C	27.50±1.77C	54.55±0.75A	33.33±0.00B	24.53±0.00C	10.77±0.36C	
水相	29.47±0.74C	2.83±0.92C	-1.14±0.40D	0.63±0.00D	10.70±0.37C	5.54±0.84C	-3.14±0.89D	0.00±0.89D	

注: R.S. 水稻纹枯病菌; B.D. 苹果轮纹病菌; F.G. 小麦赤霉病菌; C.M. 香蕉炭疽病菌; N.D. 火龙果溃疡病菌; A.S. 茄链格孢菌; P.C. 辣椒疫霉病菌; M.O. 稻瘟病菌。表中不同字母代表 1.0 $g \cdot L^{-1}$ 浓度下中南鱼藤不同相萃取物对同一种病菌菌丝生长抑制率差异显著^[17]($P < 0.01$)。

表 4 中南鱼藤甲醇提取物对 8 种植物真菌的 EC_{50} 测定

序号	植物病原真菌	EC_{50} ($g \cdot L^{-1}$)
1	水稻纹枯病菌	0.57
2	苹果轮纹病菌	0.45
3	小麦赤霉病菌	1.33
4	香蕉炭疽病菌	0.24
5	火龙果溃疡病菌	0.87
6	茄链格孢菌	0.85
7	辣椒疫霉病菌	1.08
8	稻瘟病菌	0.73

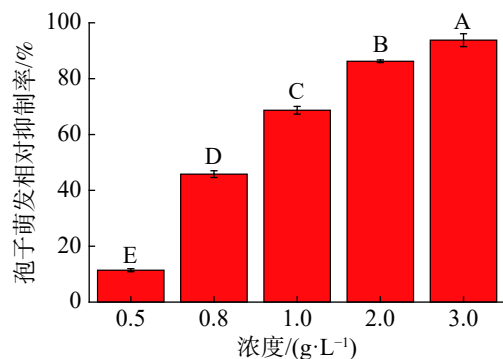


图 1 不同浓度中南鱼藤甲醇提取物对香蕉炭疽病菌分生孢子萌发的相对抑制率

图中不同字母代表不同浓度下中南鱼藤甲醇提取物对香蕉炭疽病菌分生孢子萌发的相对抑制率的差异显著性($P < 0.01$)。

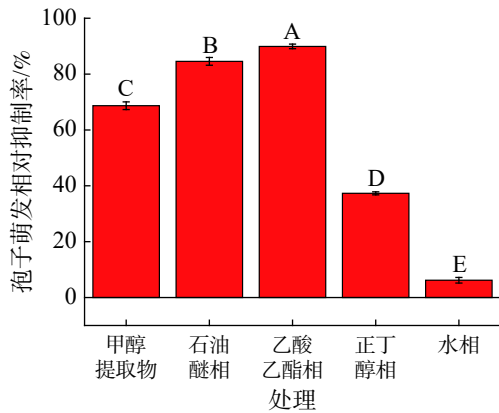


图 2 中南鱼藤甲醇提取物及各相萃取物对香蕉炭疽病菌分生孢子萌发的相对抑制率

图中不同字母代表中南鱼藤甲醇提取物及四相萃取物对香蕉炭疽病菌分生孢子萌发的相对抑制率的差异显著性 ($P < 0.01$)。

2.4 中南鱼藤甲醇提取物对香蕉果实炭疽病的防治效果 中南鱼藤甲醇提取物对香蕉果实炭疽病防治效果(表 5)表明,随着提取物浓度的增加,其对香蕉果实炭疽病的防治效果越来越好。提取物浓度为 $0.10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $0.50 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $1.00 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时防治效果均小于 50.00% ;当提取物浓度大于 $1.60 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时防效均大于 60.00% ;当浓度为 $3.20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,防效为 71.11% ,与 $0.50 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 啞菌酯防效相当。

2.5 中南鱼藤甲醇提取物及各相萃取物对豇豆白粉病菌的防治效果 中南鱼藤甲醇提取物及各相萃取物对豇豆白粉病的室内盆栽防效实验结果(图 3,表 6)表明,中南鱼藤甲醇提取物对豇豆白粉病有较好的防治效果,防治效果随着中南鱼藤浓度的增加越来越好,当浓度为 $0.50 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 防治效果可超过 50.00% ;当浓度为 $1.00 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,防效可达 91.67% 。中南鱼藤甲醇提取物分相后,浓度为 $1.00 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,石油醚相萃取物、乙酸乙酯相萃取物、水相萃取物防效均低于 60.00% ,正丁醇相萃取物防治效果最好,防效为 94.07% ,效果优于浓度为 $0.025 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的商品化农药丙环唑。

表 5 中南鱼藤甲醇提取物对香蕉果实炭疽病的防治效果

处理	浓度/ $(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	病情指数	防治效果/%
中南鱼藤	0.10	$86.67 \pm 0.70\text{A}$	$13.33 \pm 0.16\text{A}$
	0.50	$73.33 \pm 1.91\text{B}$	$26.67 \pm 1.63\text{B}$
	1.00	$51.11 \pm 2.21\text{C}$	$48.09 \pm 0.82\text{C}$
	1.60	$33.33 \pm 0.19\text{D}$	$66.67 \pm 2.94\text{D}$
	3.20	$28.89 \pm 0.22\text{E}$	$71.11 \pm 0.83\text{E}$
啞菌酯	0.50	$15.56 \pm 0.42\text{F}$	$84.44 \pm 0.25\text{F}$

注:表中不同字母代表不同浓度下中南鱼藤甲醇提取物对香蕉果实炭疽病防治效果差异显著 ($P < 0.01$)。

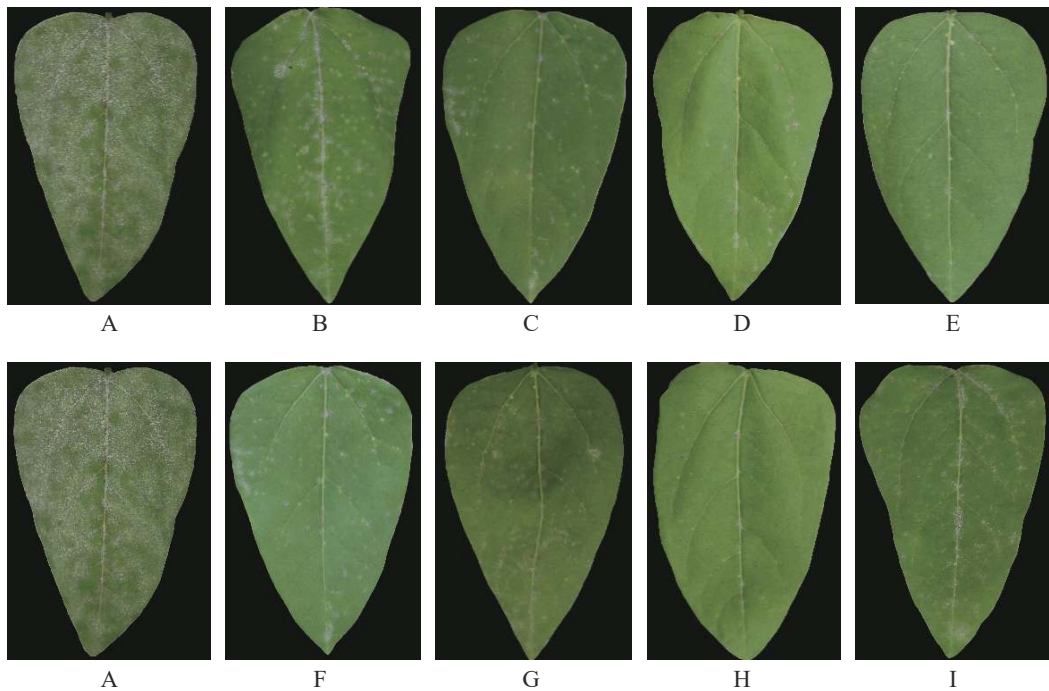


图 3 中南鱼藤甲醇提取物及各相萃取物对豇豆白粉病的室内盆栽防效

A. 空白对照; B. $0.10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 中南鱼藤甲醇提取物处理; C. $0.50 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 中南鱼藤甲醇提取物处理; D. $1.00 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 中南鱼藤甲醇提取物处理; E. 丙环唑处理; F. $1.00 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 中南鱼藤石油醚相萃取物处理; G. $1.00 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 中南鱼藤乙酸乙酯相萃取物处理; H. $1.00 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 中南鱼藤正丁醇相萃取物处理; I. $1.00 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 中南鱼藤水相萃取物处理。

表 6 中南鱼藤甲醇提取物及各相萃取物对豇豆白粉病的室内盆栽防效

处理	病情指数				防治效果/%			
	0.025 mg·mL ⁻¹	0.10 mg·mL ⁻¹	0.50 mg·mL ⁻¹	1.00 mg·mL ⁻¹	0.025 mg·mL ⁻¹	0.10 mg·mL ⁻¹	0.50 mg·mL ⁻¹	1.00 mg·mL ⁻¹
提取物	-	72.22±1.89	49.50±1.09	8.33±1.54D	-	27.78±0.78	50.50±1.09	91.67±0.42B
石油醚相	-	-	-	40.12±0.95C	-	-	-	59.88±0.48C
乙酸乙酯相	-	-	-	64.30±1.65	-	-	-	35.70±1.79D
正丁醇相	-	-	-	5.93±0.75Ee	-	-	-	94.07±0.51A
水相	-	-	-	89.97±1.48A	-	-	-	10.03±0.56E
丙环唑	18.05±0.67	-	-	-	81.95±2.01	-	-	-

注:表中不同字母代表同一浓度下中南鱼藤甲醇提取物及不同相萃取物对豇豆白粉病防治效果差异显著($P<0.01$)。“-”代表未测试数据。

3 讨论

在农业方面,鱼藤属植物是很多杀虫活性物质的主要来源,LI^[22]从中南鱼藤根皮中成功分离出鱼藤酮并测定了杀虫活性。HYMAVATHI A^[23]从攀缘鱼藤(*Derris scandens*)中分离出 9 种化合物,其对绿豆象(*Callosobruchus chinensis* L.)、米象(*Sitophilus oryzae* L.)、谷蠹(*Rhyzopertha dominica* L.)、赤拟谷盗(*Tribolium castaneum* H.)四种仓贮害虫表现出不同程度的杀虫活性。WU X^[24]等从毛鱼藤(*Derris elliptica*)中分离出 5 个化合物对白纹伊蚊(*Aedes albopictus*)幼虫表现出较好杀虫活性。鱼藤属中多种植物提取物对细菌也表现出良好抑菌活性,其中,鱼藤(*Derris trifoliata*)对黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)和表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)表现出高活性^[25];马来鱼藤(*Derris malaccensis*)对幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)具有较好抑菌活性^[26];攀缘鱼藤对枯草芽孢杆菌、芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌表现出显著的抑菌活性^[27]。鱼藤属植物中关于防治植物病原真菌的相关报道较少,目前在对中南鱼藤的研究中未见关于其对植物病原真菌抑菌活性的报道。本研究结果表明,中南鱼藤枝叶提取物对 8 种植物病原真菌均有较好的抑制作用,中南鱼藤甲醇提取物对 8 种真菌的 EC_{50} 均在 $1.35 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下。香蕉炭疽病菌分生孢子萌发抑制活性测定结果表明,中南鱼藤甲醇提取物和乙酸乙酯相萃取物都表现出较好抑制活性,孢子萌发实验结果正好与香蕉炭疽病菌菌丝生长速率法测定结果相一致,均是乙酸乙酯相萃取物的活性较好。香蕉果实炭疽病的防治效果表明,中

南鱼藤甲醇提取物对香蕉果实炭疽病有较好的防治作用,其中中南鱼藤甲醇提取物浓度为 $3.20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,防效可达 71.11%。在豇豆白粉病病菌防治实验中,中南鱼藤提取物表现出较好的防治效果,其中,中南鱼藤甲醇提取物与正丁醇相萃取物浓度为 $1.00 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,防效均超过 90.00%。张慧等^[28]的研究结果表明,毛枝鱼藤(*Derris scabricanlis*)叶片甲醇提取物浓度为 $100 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,对荔枝霜疫霉的抑制率为 88.89%;ZAHARI R^[29]测定了毛鱼藤叶部提取物对 3 种根腐病病原菌(*Ganoderma philippii*、*Phellinus noxius*、*Rigidoporus microporus*)的抑菌活性,结果表明只有丙酮萃取物和二氯甲烷萃取物对 *Rigidoporus microporus* 表现出显著抑菌活性。KHAN M R^[30]测定了鱼藤、毛鱼藤和印度鱼藤(现正名为水黄皮 *Pongamia pinnata* (L.) Pierre)对 *Aspergillus niger*、*Aspergillus rubrum*、*Aspergillus versicolor* 等 9 种真菌的抑菌活性,发现 3 种植物对 9 种真菌均无抑菌活性。综上所述,笔者认为中南鱼藤在防治植物病害方面,特别是防治香蕉炭疽病和豇豆白粉病更具有潜在研究价值。

中南鱼藤乙酸乙酯相萃取物对多种植物病原真菌具有较突出的抑制作用,正丁醇相萃取物在豇豆白粉病防治中有较突出的效果,因此可进一步对中南鱼藤乙酸乙酯相萃取物及正丁醇相进行分离提纯,以期分离出对香蕉炭疽病菌及豇豆白粉病菌有高活性的化合物。此外,由于中南鱼藤提取物来源于植物,在使用其防治病害过程中具有对环境友好、不易让病原菌产生抗药等特点^[31]。这些优点从侧面说明对中南鱼藤进行进一步研究的意义所在。本研究只对中南鱼藤抑菌活性进行

了初步探究,未来可在中南鱼藤抑菌活性化合物分离鉴定、抑菌机制以及在田间试验中对农作物病害的防治效果等方面进行更深入的探讨。

4 结 论

中南鱼藤枝叶提取物对多种植物病原真菌具有较好的抑菌活性,可以拓展其在农作物病害防治上的新用途,特别是在助力乡村振兴和在发展有机果蔬生产上提供绿色、无公害农药的更多选择。

参考文献:

- [1] 钟启谦. 毒鱼藤类植物[J]. 中国农业科学, 1953, 1(3): 112 - 113.
- [2] 李有志, 徐汉虹, 魏孝义. 亮叶中南鱼藤的杀虫活性及有效成分[J]. 昆虫学报, 2007, 50(7): 695 - 702.
- [3] QIN J. Plantation method of high-yield rice: CN106416492A [P]. 2016-08-31.
- [4] ZHOU L. Potato controlled-release fertilizer and its preparation method: CN 105198662 A [P]. 2015-09-25.
- [5] WU X Z. Radish-special yield-increasing fertilizer: CN 106278763 A [P]. 2016-07-29.
- [6] CHEN G X. High-yield controlled-release fertilizer for *Hylocereus undatus*: CN 106380268 A [P]. 2017-02-08.
- [7] XU C Q. Biological organic fertilizer special for Passiflora fruit: CN 106242727 A [P]. 2016-12-21.
- [8] XUC Q. Organic fertilizer for *Passiflora edulis*: CN 106220334 A [P]. 2016-12-14.
- [9] XU C Q. *Passiflora edulis* fertilizer: CN 106278549 A [P]. 2017-01--04.
- [10] LUO Y Z. Organic fertilizer for hawthorn: CN 106588417 A [P]. 2017-04-26.
- [11] WEI B. Tea plant controlled release fertilizer: CN 106242742 A [P]. 2016-12-21.
- [12] XIAO F. Pesticide for controlling underground pests and preparation method thereof: CN 107439620 A [P]. 2017-12-08.
- [13] LI D Y. Cultivation method of *Cucurbita moschata* for reducing pests and diseases and improving yield: CN 108633638 A [P]. 2018-10-12.
- [14] MENG G. Garden special antibacterial pesticidal treating agent containing natural plants and preparation method thereof: CN 105580852 A [P]. 2016-05-18.
- [15] WEN X, Tan X. *Lentinus edodes* special culture medium containing sunflower seed hull and preparation method thereof: CN 106348941 A [P]. 2017-01-25.
- [16] ZHANG H Y. Bacteriostatic culture medium for *Pleurotus eryngii* planting: CN 107151184 A [P]. 2017-09-12.
- [17] JIN Y. Deodorant for formaldehyde based on Chinese medicine: CN 108067092 A [P]. 2018-05-25.
- [18] 张秀玲, 刘跟忠, 李妍. 三大农药植物[J]. 安徽农学通报, 2007, 12(3): 143 - 144.
- [19] 欧阳光, 肖志翔, 邹凯. 中南鱼藤根皮中的杀虫成分研究[J]. 湖南农业科学, 2015, 8(29): 93 - 95.
- [20] LI H, GENG S. Development and characterization of microsatellite markers for *Derris elliptica* (Fabaceae), an insecticide-producing plant [J]. *Scientia Horticulturae (Amsterdam, Netherlands)*, 2013, 154: 54 - 60.
- [21] TATTERSFIELD F, POTTER C, LORD K A, et al. Insecticides derived from plants [J]. *Kew Bull (London)*, 1948, 6(3): 329 - 49.
- [22] LI Y Z, XU H H, WEI X Y, et al. Insecticidal activities and active ingredients of *Derris fordii* var. *lucida* [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2007, 50(7): 695 - 702.
- [23] HYMAVATHI A, DEVANAND P, BABU K S, et al. Vapor-phase toxicity of *Derris scandens* Benth-derived constituents against four stored-product pests [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2011, 59(5): 1653.
- [24] WU X, SONG Z, XU H et al. Chemical constituents of the aerial part of *Derris elliptica* [J]. *Fitoterapia*, 2012, 83(4): 732 - 736.
- [25] KUMAR V A, AMMANI K, SIDDHARDHA B. *In vitro* antimicrobial activity` of leaf extracts of certain mangrove plants collected from Godavari estuarine of Konaseema delta, India [J]. *International journal of medicinal & aromatic plants*, 2011, 1(2): 132 - 136.
- [26] 刘珍秀, 黄继光. 蝶形花亚科植物的杀虫、抑菌活性及其活性成分研究进展[J]. 农药, 2019, 6(7): 391 - 397.
- [27] RAO S, MERUGU R, RAO M. Antibacterial and antifungal studies of prenylated isoflavones and prenylated 3-aryl coumarins isolated from *Derris scandens* Benth [J]. *Journal of Pharmacognosy*, 2012, 3(2): 51 - 54.
- [28] 张慧, 徐大高, 潘汝谦. 一些植物提取物的抗菌活性筛选[J]. 植物病理学报, 2008, 53(4): 441 - 444.
- [29] ZAHARI R, HALIMOON N, SAJAP A S, et al. Bio-antifungal activity of selected medicinal plant extracts against root rot of fungal disease [J]. *Journal of Plant Sciences*, 2014, 2(1): 31 - 36.
- [30] KHAN M R, OMOLOSO A D, BAREWAI Y. Antimicrobial activity of the *Derris elliptica*, *Derris indica* and *Derris trifoliata* extractives [J]. *Fitoterapia*, 2006, 77(4): 327 - 330.
- [31] XU S, DONG H, ZENG X, et al. Research progress in screening and bioactivity of terpenoid botanical pesticides [J]. *Chemistry and Industry of Forest Products*, 2019, 39(1): 1 - 12.

Fungistatic activity of the extracts from the twigs and leaves of *Derris fordii* against plant pathogenic fungi

LIU Qifeng, ZHANG Beijing, YIN Fengman, ZHANG Xi, HU Zhan, XIE Jia, SUN Ranfeng
(College of Plant Protection, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

Abstract: The twigs and leaves of *Derris fordii* were extracted with methanol and then partitioned to fractions in petroleum ether, ethyl acetate, *n*-butanol and water to assess the fungistatic activity of the methanol extracts and their fractions against plant pathogenic fungi. Eight plant pathogenic fungi were selected for treatment with the methanol extracts and their fractions of *D. fordii* to determine the mycelial growth inhibition activities by using the mycelium growth rate method, and the inhibition activities against the spore germination of *Colletotrichum musae* by using the spore germination method. The control effects of the methanol extracts of *D. fordii* against *C. musae* infecting banana fruit were determined by inoculation method, and the control effects of the methanol extracts of *D. fordii* and their solvent-partitioned fractions against *Podosphaera xanthii* *in vivo* were determined by pot culture method. The results showed that the methanol extracts and their fractions of *Derris fordii* had different degrees of mycelial growth inhibition effects on the eight plant pathogenic fungi with the EC_{50} being $0.24 \sim 1.33 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, of which the methanol extract at the concentration of $2.00 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ had an inhibition rate of 82.15% against *C. musae*, and the ethyl acetate fraction at $1.00 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ had a relative inhibition rate of 89.92% against the spore germination of *C. musae*. The *in vivo* experiments indicated that the methanol extract of *D. fordii* at $3.20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ had a control effect of 71.11% against *C. musae* in the inoculation experiment and that the methanol extract and the *n*-butanol fraction of *Derris fordii* when both at the concentration of $1.00 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ gave control effects of 91.67% and 94.07% against *P. xanthii*, respectively. Therefore, the methanol extracts and the petroleum ether, ethyl acetate, *n*-butanol, and water fractions of *D. fordii* are potentially valuable in the prevention and control of plant pathogenic fungal diseases.

Keywords: *Derris fordii*; plant pathogenic fungi; fungistatic activity; botanical pesticide

(责任编辑:罗启香 责任编辑:叶 静)