

中药材黄连水浸提液对梨树腐烂病的室内防效评价

蒋晶晶¹, 冀钦陇², 周昭旭¹, 徐生海³, 许永锋⁴, 杜 蕙¹

(1. 甘肃省农业科学院植物保护研究所, 甘肃 兰州 730070; 2. 甘肃农业大学植物保护学院, 甘肃 兰州 730070; 3. 武威市农业技术推广中心, 甘肃 武威 733000; 4. 张掖市植保植检站, 甘肃 张掖 734000)

摘要: 梨树腐烂病是危害梨树生产的重要病害之一, 为探寻梨树腐烂病(Pear valsa canker)的绿色防治药剂, 室内采用菌丝生长速率法和离体枝条打孔接种法, 测定了不同浓度的黄连水浸提液对梨树腐烂病菌菌落生长的影响及其在离体梨树枝条上的保护作用。结果表明, 不同浓度的黄连水浸提液对梨树腐烂病菌均有不同程度的抑制作用, 其中浓度为 5.000 0%时抑菌率高达 100%; 当黄连水浸提液浓度为 5.000 0%和 10.000 0%时, 病疤面积间无显著差异, 室内防效分别高达 75.8%和 78.2%。表明不同浓度的中药材黄连水浸提液对梨树腐烂病均有一定防效, 浓度为 5.000 0%时对菌丝的抑制作用和离体枝条保护作用最为经济有效。

关键词: 梨树腐烂病; 黄连水浸提液; 防效; 评价

中图分类号: S436.612.1; S567.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 2097-2172(2023)01-0078-04

doi: 10.3969/j.issn.2097-2172.2023.01.018

Evaluation of Indoor Control Effects of Water Extract of Chinese Medicinal Materials *Coptis chinensis* against Pear Valsa Canker

JIANG Jingjing¹, JI Qinlong², ZHOU Zhaoxu¹, XU Shenghai³, XU Yongfeng⁴, DU Hui¹

(1. Institute of Plant Protection, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China; 2. College of Plant Protection, Gansu Agricultural University, Lanzhou Gansu 730070, China; 3. Wuwei Agriculture Technology and Popularization Centre, Wuwei Gansu 733000, China; 4. Zhangye Station of Plant Protection and Quarantine, Zhangye Gansu 734000, China)

Abstract: Pear valsa canker is one of the major diseases in pear production. In search of green control agents for pear valsa canker, the effects of different concentrations of water extract of *C. chinensis* on the colony growth of *V. pyri* and its protective effect on isolated pear branches were determined by using mycelial growth rate method and excised twigs inoculation in vitro. The results showed that the different concentrations of water extract of *C. chinensis* had different degrees of inhibition on *V. pyri*, among which the inhibition rate was up to 100% at the concentration of 5.000 0%. The results of the in vitro branch protection test showed that there was no significant difference between the area of disease scars when the concentration of water extract of *C. chinensis* was 5.000 0% and 10.000 0%, and the preventive effect on detached shoots with the efficiency was up to 75.8% and 78.2%, respectively. This study showed that different concentrations of water extract of *Coptis chinensis* had certain effect on pear valsa canker, and the inhibition of mycelium and protection of isolated branches at a concentration of 5.000 0% is the most economical and effective.

Key words: Pear valsa canker; Water extract of *Coptis chinensis*; Control effect; Evaluation

梨树腐烂病(Pear valsa canker)又名臭皮病, 是危害梨树生产的重要病害之一, 由苹果黑腐皮壳梨变种(*Valsa mali* var. *Pyri*)侵染引起。该病原菌常侵染梨树主干及侧枝, 导致树皮呈红褐色腐烂状^[1]。在梨园中, 腐烂病常与轮纹病、干腐病复合侵染梨树, 导致大量梨园被毁, 对梨产业造成严重威胁^[2]。

目前生产中主要依赖化学药剂进行该病的防治, 效果较好的有氟硅唑乳油、丙环唑、戊唑醇等^[3], 但长期使用化学药剂存在抗药性、农药残留和环境污染等问题^[4], 开发安全、绿色的新型农药是亟待解决的问题。植物源农药主要指通过不同工艺对植物中抑菌活性物质进行加工提取, 从

收稿日期: 2022-10-30; 修订日期: 2022-12-02

基金项目: 甘肃省自然科学基金(20JR10RA458); 甘肃省农业科学院创新专项(2020GAAS38、2021GAAS17); 国家重点研发计划(2018YFD0201404-4)。

作者简介: 蒋晶晶(1988—), 女, 甘肃榆中人, 助理研究员, 主要从事经济作物病害及其防治研究工作。Email: jingjingziyu@163.com。

通信作者: 杜 蕙(1970—), 女, 甘肃临洮人, 研究员, 主要从事植物病害及其防治研究工作。Email: dh0928@163.com。

而获得对病虫害有抑制或杀灭作用的农药产品^[5]。近年来的许多研究发现, 中草药中的某些抑菌物质能够干扰病原菌及昆虫生长, 表明中草药对防治农作物病虫害都具有很好的效果^[6-7]。已有文献报道, 肉桂、黄芩和桑白皮的乙醇提取液对 4 种病原真菌具有较好的抑菌活性^[8]; 蛇床子及细辛的保护和治疗效果更是优于化学药剂^[9]; 黄连、黄芩及大黄对多种病原真菌均有显著的抑制作用^[10]; 含有紫草素、黄柏碱、小檗碱、黄芩素、绿原酸、黄酮类化合物和皂苷类化合物的中草药制剂都能很好地防治苹果轮纹病^[11]、核桃腐烂病、樱桃流胶病等病害^[12], 但未见利用中草药黄连对梨树腐烂病菌抑菌研究的报道。

黄连(*Coptis chinensis*)为毛茛科黄连属黄连、三角叶黄连以及云南黄连的干燥根茎^[13], 有抗菌、抗病毒、抗炎、抗腹泻、解热、降血糖、降血脂、抗氧化以及心血管系统保护等多种药理作用^[14]。我们选用中药材黄连为原材料制备水浸提液, 采用生长速率法和离体枝条法在室内测试了黄连水浸提液对梨树腐烂病的抑制作用, 以探讨黄连水浸提液对梨树腐烂病的防治效果, 旨在为梨树腐烂病的绿色防治提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试中药材为黄连(市售)。供试菌株为梨树腐烂病菌(*Valsa mali* var. *Pyri*), 由甘肃省农业科学院植物保护研究所分离保存。供试梨树枝条为采集于甘肃省农业科学院榆中试验场的早酥梨树, 树龄 4 a, 取当年生枝条。供试培养基为马铃薯葡萄糖琼脂培养基(potato dextrose agar, PDA)。

1.2 试验方法

1.2.1 梨树腐烂病菌的活化及培养 将保存于 -80 ℃超低温冰箱中的病原菌菌株接种于 PDA 平板上活化, 并置于 25 ℃恒温黑暗培养箱培养, 3 d 后挑取菌落边缘的菌丝接种至新的 PDA 平板中纯化, 备用。

1.2.2 黄连水浸提液的制备与稀释 取黄连 100 g, 在 1 000 mL 蒸馏水中浸泡 20 min, 然后在电磁炉上加热至煮沸, 转小火煮 30 min (温度 160 ℃左右), 用纱布过滤出滤液。滤渣再加水 500 mL, 用同样方法煎煮约 30 min 后过滤, 取 2 次滤液混合, 用蒸馏水定容至 1 000 mL (即黄连水浸提液原液)^[10]。

分别取浸提液原液 1.56、3.13、6.25、12.50、25.00、50.00 mL, 用蒸馏水分别定容至 500 mL, 即制成浓度为 0.3125%、0.625 0%、1.250 0%、2.500 0%、5.000 0%、10.000 0% 的供试浸提液, 密封置 4 ℃冰箱中冷藏备用。

1.2.3 含药培养基的制备 用不同浓度的黄连水浸提液代替 PDA 培养基中等量的水, 配制含药 PDA 培养基。

1.2.4 含药培养基抑菌效果的测定 将供试菌株在 PDA 平板上活化培养 3 d 后, 在接近菌落边缘生长一致的地方打取直径为 5 mm 的菌饼, 单个菌饼菌丝面朝下紧贴含药 PDA 平板中央接入, 以 PDA 平板为空白对照, 每处理重复 4 次, 置于 25 ℃条件下培养 4 d。采用十字交叉法测量记录菌落直径, 计算各处理对菌丝的生长抑制率。

菌丝生长抑制率 = [(对照菌落直径 - 处理菌落直径) / (对照菌落直径 - 0.5)] × 100%。

1.2.5 黄连水浸提液对梨树离体枝条的保护作用测定 采用梨树枝条打孔接种法进行^[15-16]。剪取 20 cm 左右长的当年生梨树枝条, 用自来水将表面冲洗干净, 用蘸有 75%乙醇的脱脂棉擦拭表面消毒, 再经无菌水冲洗 2 次, 置于超净工作台, 晾干后用熔化的石蜡封住枝条两端。用灭菌的直径 5 mm 打孔器取下树皮韧皮部, 用蘸有不同浓度药液的脱脂棉条包裹于伤口处, 保湿培养 1 d 后去掉棉条, 用培养 3 d、直径为 5 mm 的腐烂菌菌饼进行接种。每个浓度药液接种 3 根枝条, 每根枝条接种 3 个点, 共计 9 个接种点, 以蘸无菌水的棉条包裹后接种病原菌为空白对照。25 ℃保湿全光照培养 7 d 后测量枝条上的病斑长度, 计算病斑面积和防治效果。

病斑面积 = $1/4 \times \pi \times \text{长径} \times \text{短径}$

防治效果 = [(对照病斑面积 - 处理病斑面积) / 对照病斑面积] × 100%^[17]。

1.2.6 数据处理 利用 SPSS 17.0 软件对试验数据进行统计分析, 应用 Duncan 氏新复极差法进行差异显著检验。

2 结果与分析

2.1 不同浓度的黄连水浸提液对梨树腐烂病菌的抑菌效果

不同浓度的黄连水浸提液对供试腐烂病病菌均具有一定的抑制作用(表 1, 图 1), 其中当浸提液浓度高于 0.625% 时对菌丝的抑制率超 50%, 且

随着浓度升高抑制率也升高,当浓度为 5.000 0% 时抑制率达 100%。

表 1 不同浓度的黄连水浸提液对梨树腐烂病菌菌丝生长抑制效果^①

浓度 /%	菌落直径/mm				抑菌率 /%
	I	II	III	平均值	
0.312 5	51.0	48.0	52.0	50.3±1.2 b	43.0
0.625 0	34.0	40.0	40.0	38.0±2.0 c	58.5
1.250 0	25.0	26.0	26.0	25.7±0.3 d	74.0
2.500 0	13.0	11.0	12.0	12.0±0.6 e	91.2
5.000 0	5.0	5.0	5.0	5.0±0.0 f	100.0
10.000 0	5.0	5.0	5.0	5.0±0.0 f	100.0
CK	84.0	85.0	85.0	84.5±0.5 a	

① 表中数据为处理后第 4 天的菌落直径和生长抑制率。

2.2 不同浓度的黄连水浸提液对离体枝条的保护作用

供试 4 个浓度的黄连水浸提液对接种了梨树腐烂病菌的离体枝条均有一定程度的保护作用。当黄连水浸提液浓度为 1.250 0% 时,病疤面积为 386.7 mm²,显著低于对照($P < 0.05$),防治效果达 32.9%。随着黄连水浸提液浓度升高,这种保护作用也逐渐增强,黄连水浸提液浓度达 5.000 0%、10.000 0% 时,病疤面积之间无显著差异,但显著低于其他浓度时的病疤面积($P < 0.05$),对接种病原菌的离体枝条的保护作用最强,防治效果分别为 75.8%、78.2%(图 2、表 2)。

表 2 不同浓度的黄连水浸提液在梨树离体枝条上对腐烂病的防效

浓度 /%	长径 /mm	短径 /mm	病疤平均面积 /mm ²	防治效果 /%
1.250 0	25.3	19.3	386.7±45.2 b	32.9
2.500 0	20.3	16.3	258.5±7.25 c	55.1
5.000 0	15.7	11.7	139.2±23.2 d	75.8
10.000 0	15.0	10.7	125.6±6.3 d	78.2
CK	45.0	16.3	575.9±13.6 a	

3 结论与讨论

黄连作为中医临床常用药,具有多种药理功能,其抑菌作用非常广泛,素有“中药抗生素”之称^[18]。Hao 等^[19]鉴定了黄连根的化学成分,发现黄连根中有 29 种化合物,其中包括生物碱、有机酸、黄酮类化合物以及其他物质。目前的研究表明,黄连对多种植物病原细菌和真菌也同样具有显著的抑制作用。周勇等^[20]发现,黄连提取液对

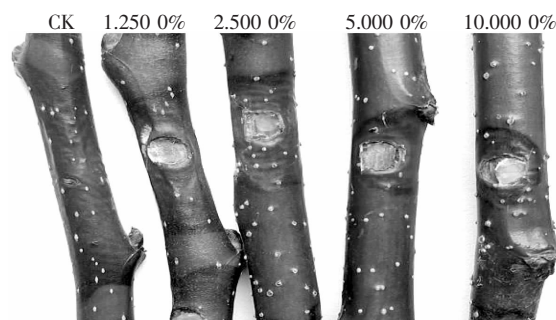


图 2 不同浓度的黄连水浸提液对梨树离体枝条的保护作用(7 d)

魔芋软腐病原菌果胶杆菌的抑菌效果优于其他中草药;蒋晶晶等^[10]选用 3 种中草药水浸提液对 5 种植物病原真菌进行抑菌试验,表明黄连抑菌范围最广、效果最好;王艳红等^[21]发现黄连对番茄早疫病病原菌的抑菌效果最好,抑制率达 93.9%,大黄次之;贾正燕等^[22]和李家洲等^[23]的研究表明,黄连水浸提液对作物根腐病病原菌均具有较好的抑制效果。本试验通过菌丝生长速率法,测定了不同浓度的黄连水浸提液对梨树腐烂病菌的抑菌效果,结果发现不同浓度的黄连水浸提液对梨树腐烂病菌的抑菌效果不同,当浓度达到 5% 以上时抑菌率为 100%,当黄连水浸提液浓度为 5.000 0% 和 10.000 0% 时,病疤面积间无显著性差异,室内防效分别为 75.8% 和 78.2%,该结果与蒋晶晶等^[10]报道的黄连水浸提液在浓度为 10% 时对辣椒疫霉菌和西瓜蔓枯病菌的抑制率达 75% 以上的结果相近,表明黄连水浸提液有较广的抗菌谱。

离体枝条接种时选取了长势及含水量一致的一年生健康枝条,且均剪成小段备用,保证了试验条件的一致性。但是在实际试验过程中我们发现枝条上 9 个接种点的病斑直径之间差异仍然较大,同一枝条的梢部、中部、基部的发病率有显著差异,这与林晓等^[24]报道的一致,可为后期室内筛选梨树腐烂病绿色防控农药时选择正确的接种及统计方法提供参考。

有学者对中药抑菌活性的影响因素进行了研究,发现中药生长环境、用药部位、采摘季节、

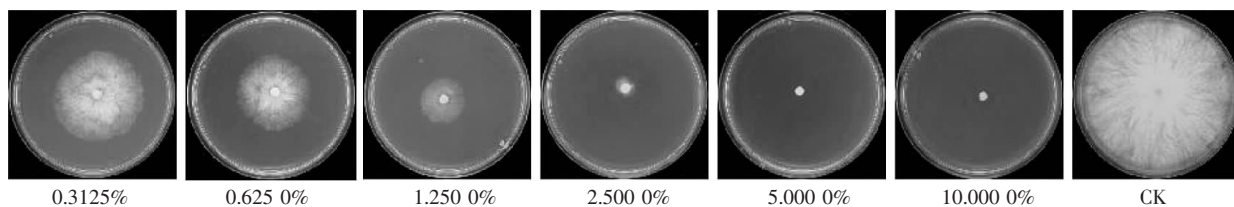


图 1 不同浓度的黄连水浸提液对梨树腐烂病菌的抑制效果(培养 4 d)

不同有效成分、炮制方法、提取方法等因素对中药的活性成分及抑菌效果均有影响^[25-26]。目前常用的中草药提取方法主要有煎煮法、浸渍法、回流法和渗漉法等传统溶剂萃取方法及动态循环连续逆流提取技术^[27]。采用中草药水浸提液进行试验, 可避免提取过程中有机试剂对环境的污染, 且降低了生产成本。中药水提取法由于其简单易行, 是最早也是至今应用最广泛的提取方法。水浸提液作用于寄主时, 由于抗菌物质在寄主上的渗透能力和持续时间不同而效果不同, 这就要求通过有效的渗透剂增强其在寄主体内的渗透和扩散能力, 从而增强中草药水浸提液的药效, 更好地发挥其防病效果。本研究仅在室内测定了不同浓度的黄连水浸提液对梨树腐烂病的防效, 对梨树腐烂病的防治效果尚需在田间进行进一步验证。

参考文献:

- [1] YIN Z Y, LIU H Q, LI Z P, et al. Genome sequence of *Valsa canker* pathogens uncovers a potential adaptation of colonization of woody bark[J]. *New Phytologist*, 2015 (208): 1202-1216.
- [2] WANG X L, ZANG R, YIN Z Y, et al. Delimiting cryptic pathogen species causing apple *valsa canker* with multi-locus data[J]. *Ecology and Evolution*, 2014, 4: 1369-1380.
- [3] 曹素芳, 王 玮, 李国权, 等. 梨树腐烂病田间防治药剂筛选试验[J]. *中国果树*, 2018(6): 60-62.
- [4] 赵新贝, 上官妮妮, 李月飞, 等. 番茄灰霉病拮抗细菌 18BS-12 发酵条件的优化及防治效果[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2016, 44(6): 116-124.
- [5] 黄 颖. 三种植物活性物质复配微囊剂对草莓灰霉病的防控研究[D]. 天津: 天津农学院, 2020.
- [6] SOLA P, MVUMI B M, OGENDO J O, et al. Botanical pesticide production, trade and regulatory mechanisms in sub-Saharan Africa: making a case for plant-based pesticidal products[J]. *Food Security*, 2014, 6(3): 369-384.
- [7] 欧阳秋飞, 杨建波, 马 博, 等. 一株芒果蒂腐病原菌的鉴定及中草药对其抑制作用分析[J]. *江西农业学报*, 2019, 31(12): 54-59.
- [8] 严 希, 田山君, 裴 芸, 等. 几种中药提取液对番茄病害病原真菌的抑制效果[J]. *江苏农业科学*, 2017, 45(20): 129-134.
- [9] 李发康, 李 培, 李兴昱, 等. 5 种中草药提取液对裸仁美洲南瓜白粉病的防治效果[J]. *中国蔬菜*, 2020 (3): 56-60.
- [10] 蒋晶晶, 彭沛穰, 苏锋锋, 等. 中草药水浸提液对 5 种植物病原真菌的影响[J]. *安徽农业科学*, 2020, 48(17): 172-174; 235.
- [11] 刘立新, 梁鸣早. 植物次生代谢作用及其产物概述[J]. *中国土壤与肥料*, 2009(5): 82-86.
- [12] 刘祥东, 徐明举. 植物源生物农药(中草药)在果树疑难病害中的防治思路与效果[J]. *果农之友*, 2015 (3): 31-32.
- [13] 张 莹, 杨艳芳, 吴和珍. 黄连的本草考证[J]. *中国药房*, 2021, 32(13): 1634-1638.
- [14] 王 舒. 中药黄连研究进展[J]. *亚太传统医药*, 2015, 11(9): 44-46.
- [15] 张美鑫, 翟立峰, 周玉霞, 等. 梨腐烂病致病力的室内快速测定方法研究[J]. *果树学报*, 2013, 30(2): 317-322; 333.
- [16] 王 帅, 刘召阳, 高小宁, 等. 10 种生物源杀菌剂对苹果树腐烂病菌的室内活性评价[J]. *西北林学院学报*, 2019, 34(1): 150-156.
- [17] 张 杰, 刘媛媛, 朱会营, 等. 中草药源杀菌剂“轮纹一扫光”对苹果枝干轮纹病防治作用研究[J]. *中国生物防治学报*, 2021, 37(5): 1050-1057.
- [18] 蒋丽施, 左栖枫, 张新明, 等. 黄连的抑菌作用及其在食品防腐保鲜中的应用研究进展[J]. *保鲜与加工*, 2021, 21(12): 132-139.
- [19] HAO Y M, HUO J H, WANG T, et al. Chemical profiling of *Coptis rootlet* and screening of its bioactive compounds in inhibiting *Staphylococcus aureus* by UPLC-Q-TOF/MS[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2020, 180: 113089.
- [20] 周 勇, 代小莹, 刘 昔, 等. 10 种中药材和大蒜提取液对菊果胶杆菌的抑菌效果[J]. *江苏农业科学*, 2020, 48(1): 120-123.
- [21] 王艳红, 贾桂燕, 葛文中, 等. 中药大黄对番茄早疫病菌抑菌作用的初步研究[J]. *化学工程师*, 2015 (5): 8-10.
- [22] 贾正燕, 王昌梅, 张 啸, 等. 黄连水提液对腐皮镰孢菌抑制效果研究[J]. *安徽农业科学*, 2021, 49 (20): 195-197; 209.
- [23] 李家洲, 洪妙珍, 李玉婵, 等. 抗香蕉枯萎病原菌中药材的筛选[J]. *中国南方果树*, 2014, 43(2): 64-67.
- [24] 林 晓, 李宝笃, 王彩霞, 等. 低温、冰冻、失水与苹果枝条对腐烂病菌敏感性[C]//彭友良, 李向东. 中国植物病理学会 2017 年学术年会论文集. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2017: 149.
- [25] 刘艳霞, 杜宝中. 中草药抗菌活性研究进展[J]. *中国医药*, 2021, 16(4): 622-625.
- [26] 贾正燕. 中药与沼液对两株三七根腐病原菌的抑制效果研究[D]. 昆明: 云南师范大学, 2022.
- [27] 张 枫. 中药提取工艺对药品质量的影响分析[J]. *临床医药文献电子杂志*, 2020, 7(35): 196.