

茶皂素对 12 种植物病原菌的抑菌活性

黄继光^{1,2} 陈秀贤¹ 徐汉虹^{1,2} 王浩²

1. 华南农业大学天然农药与化学生物学教育部重点实验室, 广州 510642;

2. 华南农业大学华南植物性农药研究中心, 广州 510642

摘要 采用菌丝体生长速率抑制法测定了茶皂素对稻瘟病菌 *Pyricularia grisea*、水稻纹枯病菌 *Rhizoctonia solani*、番茄小核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum*、柑橘青霉病菌 *Penicillium italicum*、黄瓜炭疽病菌 *Glomerella lagenaria*、西瓜枯萎病菌 *Fusarium oxysporum*、芒果炭疽病菌 *Glomerella ciugulata*、香蕉炭疽病菌 *Colletotrichum musae*、黄瓜疫霉病菌 *Phytophthora parasitica*、香蕉枯萎病菌 *Fusarium oxysporum*、玉米小斑病菌 *Bipolaris maydis*、荔枝霜疫霉病菌 *Peronophythora litchi* 等 12 种植物病原菌的抑菌活性。结果表明:以茶皂素质量浓度 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 处理后,对稻瘟病菌和柑橘青霉病菌的抑菌率均为 100.00%,对黄瓜炭疽病菌、番茄小核病菌、玉米小斑病菌的抑菌率分别为 89.12%、87.27%和 83.13%;茶皂素质量浓度降至 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 处理后,对稻瘟病菌的抑制率仍为 100.00%,表现出良好的生物活性;茶皂素对稻瘟病菌和柑橘青霉病菌的 EC_{50} 值分别为 20.15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 11.39 $\mu\text{g}/\text{mL}$,对香蕉枯萎病菌的 EC_{50} 超过 2 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$;茶皂素对稻瘟病菌的活性明显优于硫·三环唑,对番茄小核病菌的抑菌活性与速克灵差异不显著。

关键词 茶皂素;植物病原菌;抑菌活性

中图分类号 S 482.2⁺92 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2013)02-0050-04

茶皂素(tea saponin)是油茶加工茶油过程中的一种副产物,现已在多个领域得到广泛应用。茶皂素也是一种性能优良的天然农药,具有较强的杀虫、杀菌、灭螺效果,并有良好的发泡、乳化、分散和润湿等作用,可作为原料或助剂生产高效低毒性的农药^[1-2]。茶皂素不仅具有表面活性,而且还有生物活性,但有关茶皂素的生物活性及其应用研究与其表面活性的研究相比仍有较大差距。拓宽茶皂素生物活性方面的应用是深入开展茶皂素研究的主要内容,对茶籽饼的综合利用和茶皂素的开发具有重要意义。

目前,国内外关于茶皂素的杀虫、杀螨、杀菌、杀线虫、灭螺和杀软体动物等活性的研究报道较多^[3-11],这些研究为茶皂素的开发与应用提供了良好的理论基础。笔者在实验室条件下,系统测定了茶皂素对 12 种植物病原菌的抑菌活性和 8 种病原菌的毒力回归方程及其 EC_{50} 值,旨在明确茶皂素的活性谱及其抗菌作用,为进一步开发与应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试植物病原菌

供试稻瘟病菌 *Pyricularia grisea*、水稻纹枯病菌 *Rhizoctonia solani*、番茄小核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum*、柑橘青霉病菌 *Penicillium italicum*、黄瓜炭疽病菌 *Glomerella lagenaria*、西瓜枯萎病菌 *Fusarium oxysporum*、芒果炭疽病菌 *Glomerella ciugulata*、香蕉炭疽病菌 *Colletotrichum musae*、黄瓜疫霉病菌 *Phytophthora parasitica*、香蕉枯萎病菌 *Fusarium oxysporum*、玉米小斑病菌 *Bipolaris maydis*、荔枝霜疫霉病菌 *Peronophythora litchi* 等均由华南农业大学植物病理学实验室提供。

1.2 供试药剂与试剂

茶皂素:湖南省辰溪县汉清生物技术有限公司产品;硫·三环唑:45%超微可湿性粉剂,浙江龙湾化工有限公司产品;多菌灵:50%可湿性粉剂,江苏扬农化工集团有限公司产品;速克灵:50%可湿性

收稿日期:2012-07-03

基金项目:国家自然科学基金项目(31000868)和广东省农业综合开发科技推广项目

黄继光,博士,副教授,研究方向:农药学。E-mail: hnyzx@scau.edu.cn

粉剂,日本住友化学工业株式会社产品;井冈霉素:3%水剂,广州农药厂从化市分厂生产。

1.3 测定方法

采用菌丝体生长速率抑制法^[12]测定茶皂素对 12 种供试植物病原菌的抑菌活性。供试病原菌用马铃薯葡萄糖琼脂培养基进行培养,药剂配制在消毒灭菌后的刻度试管内进行。先称取所需质量的药剂,用少量有机溶剂溶解,超声波助溶。然后用无菌水定容至所需体积,得到一定浓度的药剂溶液。

培养基灭菌后,待冷却至 50~55℃ 时加入药剂,充分摇匀,控制溶剂在培养基中的体积不超过 5%,以减少溶剂对病原菌生长的影响。然后用消毒过的打孔器在病原菌菌种的菌落上打制菌饼,用无菌接种针将菌饼反面移植到各个培养皿中央,每个皿接 1 个菌饼,密封后置于恒温培养箱内培养。每隔一定时间取出培养皿用尺测量菌落直径,每个菌落用十字交叉法测量 2 次直径,取其平均值计算抑制率。每处理重复 3 次,对照用空白溶剂处理。

$$\text{抑制率} = \frac{\text{对照组菌落直径} - \text{处理组菌落直径}}{\text{对照组菌落直径}} \times 100\%$$

1.4 数据处理与统计分析

试验结果的数据均采用 Excel 2003 进行统计,采用邓肯氏新复极差多重比较法进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 抑菌活性的测定

测定结果表明,茶皂素对供试植物病原菌有良好的抑菌活性(表 1)。茶皂素质量浓度为 1 000 μg/mL 时,对稻瘟病菌和柑橘青霉病菌的抑菌作用极为明显,抑菌率达到 100.00%;对黄瓜炭疽病菌、

番茄小核病菌、玉米小斑病菌的抑菌率均高于 80%,分别为 89.12%、87.27%和 83.13%。茶皂素质量浓度降至 100 μg/mL 后,对稻瘟病菌的抑制率仍然高达 100.00%,对荔枝霜疫霉病的抑菌作用表现稳定,但对其他病原菌的抗菌活性则呈现下降趋势。另外,茶皂素对有些病原菌还有促进生长作用,但其表现没有明显的规律性。

表 1 茶皂素对 12 种植物病原菌的抑菌作用¹⁾

Table 1 The inhibition rates of tea saponin against twelve plant pathogenic fungi

病菌 Fungi	抑制率 Inhibition rates	
	1 000 μg/mL	100 μg/mL
稻瘟病菌 <i>Py. grisea</i>	100.00±0.00 a	100.00±0.00 a
柑橘青霉病菌 <i>P. italicum</i>	100.00±0.00 a	61.54±0.22 b
黄瓜炭疽病菌 <i>G. lagenaria</i>	89.12±2.19 b	27.89±2.75 d
番茄小核病菌 <i>S. sclerotiorum</i>	87.27±2.78 b	61.36±2.12 b
玉米小斑病菌 <i>B. maydis</i>	83.13±2.05 b	54.48±4.80 c
水稻纹枯病菌 <i>R. solani</i>	75.17±1.24 bc	24.60±1.24 d
荔枝霜疫霉菌 <i>P. litchi</i>	64.10±7.21 c	53.85±4.52 c
香蕉枯萎病菌 <i>F. oxysporum</i>	51.27±0.79 d	-10.45±1.07
芒果炭疽病菌 <i>G. ciugulata</i>	40.83±1.59 e	-31.65±2.26
西瓜枯萎病菌 <i>F. oxysporum</i>	38.03±0.49 e	-8.97±4.93
香蕉炭疽病菌 <i>C. musae</i>	13.66±7.29 f	8.08±0.66 e
黄瓜疫霉菌 <i>Ph. parasitica</i>	12.12±0.44 f	-22.73±2.62

1) 数据后不同字母表示在 5% 水平上差异显著(下表同)。

Data with the different letters in column are significant difference at 5% level (the same as following tables).

2.2 毒力回归方程和 EC₅₀ 值

根据上述测定结果,进一步测定了茶皂素对稻瘟病菌、柑橘青霉病菌、黄瓜炭疽病菌、番茄小核病菌、玉米小斑病菌、水稻纹枯病菌、荔枝霜疫霉病菌和香蕉枯萎病菌的毒力回归方程和致死中量 EC₅₀ 值(表 2)。

表 2 茶皂素对 8 种病原菌的毒力回归方程和 EC₅₀ 值

Table 2 The toxicity regression equation and EC₅₀ values of tea saponin against eight fungi

病菌 Fungi	相关系数 Related coefficient	毒力回归方程 Toxicity regression equation	EC ₅₀ /(μg/mL)
稻瘟病菌 <i>Pyricularia grisea</i>	0.960 7	y=1.797 4+2.455 3x	20.15
柑橘青霉病菌 <i>Penicillium italicum</i>	0.927 7	y=3.882 5+1.057 6x	11.39
黄瓜炭疽病菌 <i>Glomerella lagenaria</i>	0.914 3	y=-0.095 3+2.444 2x	121.53
番茄小核病菌 <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	0.980 3	y=2.582 1+1.414 5x	51.21
玉米小斑病菌 <i>Bipolaris maydis</i>	0.997 1	y=2.770 6+1.120 7x	97.55
水稻纹枯病菌 <i>Rhizoctonia solani</i>	0.946 2	y=3.203 9+0.909 8x	94.20
荔枝霜疫霉菌 <i>Peronophythora litchi</i>	0.938 2	y=3.039 7+0.874 9x	174.02
香蕉枯萎病菌 <i>Fusarium oxysporum</i>	0.950 9	y=2.184 0+0.848 8x	2 077.99

表 2 结果表明:茶皂素对稻瘟病菌和柑橘青霉病菌的抑菌作用最好,EC₅₀ 值分别为 20.15 μg/mL 和 11.39 μg/mL;其次是番茄小核病菌,EC₅₀ 值为 51.21 μg/mL;对香蕉枯萎病菌几乎无效,EC₅₀ 值

超过 2 000 μg/mL。另外,几种病原菌的毒力回归方程斜率各不相同,说明茶皂素对病原菌的剂量/毒力效应存在明显差异。为分析其抑菌效果,比较了茶皂素与几种常用杀菌剂的室内抑菌活性(表 3)。

表 3 茶皂素与常用杀菌剂抑菌活性(抑菌率)的比较¹⁾

Table 3 Comparison of laboratory toxicity (inhibition rates) between tea saponin and commercial fungicides

药剂 Fungicides	$\rho/(\mu\text{g}/\text{mL})$	稻瘟病菌 <i>Py. grisea</i>	水稻纹枯病菌 <i>R. solani</i>	番茄小核病菌 <i>S. sclerotiorum</i>	香蕉枯萎病菌 <i>F. oxysporum</i>	荔枝霜疫霉菌 <i>P. litchi</i>	%
硫·三环唑 Sulfur·tricyclazole	900	70.65±0.00 b	—	—	—	—	—
茶皂素 Tea saponin	80	100.00±0.00 a	—	—	—	—	—
井冈霉素 Jingtangmycin	56	—	83.15±2.11 a	—	—	—	—
茶皂素 Tea saponin	800	—	76.05±0.59 b	—	—	—	—
速克灵 Procymidone	500	—	—	93.09±2.71 a	—	—	—
茶皂素 Tea saponin	500	—	—	95.32±2.13 a	—	—	—
多菌灵 Carbendazim	500	—	—	—	53.36±4.28 a	90.63±3.94 a	—
茶皂素 Tea saponin	500	—	—	—	24.91±4.64 b	61.32±2.28 b	—

1)“—”表示未测定。“—” shows that the results were not detected.

从表 3 可以看出,茶皂素对稻瘟病菌的抑制活性比硫·三环唑高出许多,茶皂素质量浓度为 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 处理后的抑菌率为 100.00%,而硫·三环唑质量浓度达到 900 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时其抑菌率也只有 70.65%,两者差异显著。茶皂素对番茄小核病菌的抑菌活性显著,与速克灵差异不显著,而对水稻纹枯病菌的活性不及井冈霉素水剂,对香蕉枯萎病菌和荔枝霜疫霉菌病菌的活性不及多菌灵。

3 讨 论

本试验结果表明,茶皂素对植物病原菌的室内活性差异较大,对稻瘟病菌、柑橘青霉病菌、番茄小核病菌、荔枝霜疫霉、玉米小斑病菌 5 种病原菌菌丝生长有明显的抑制作用,在质量浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时抑制率均高于 50%;对香蕉炭疽病菌菌丝生长抑制作用较弱,在质量浓度为 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时抑制率仅为 13.66%。另据报道,山茶叶的抗菌皂苷 Camellidin I、II 具有抑制茶炭疽病菌或轮斑病菌分生孢子发芽的作用,可使稻瘟病菌、水稻胡麻斑病菌、柑橘黑斑病菌、茶叶灰色霉菌、苹果轮斑病菌、梨黑斑病菌等的孢子产生异常发芽^[13]。王小艺等^[14]测定了茶皂素对水稻纹枯病菌等 7 种植物病菌的生物活性,结果发现茶皂素在质量浓度为 100 mg/L 和 200 mg/L 时对瓜枯萎病菌具有很强的抑制作用,处理 3 d 后抑制率分别达到 89.71%和 95.88%,对白绢病菌和稻纹枯病菌也有一定抑制作用。本试验结果发现茶皂素对西瓜枯萎病菌和香蕉枯萎病菌的活性均较低,这可能是由于茶皂素的处理浓度设置较低或供试茶皂素样品存在差异所致。

稻瘟病是世界性的重要水稻病害,发生普遍且危害较大,严重影响了水稻的产量,由于抗药性等原因导致药剂对其防效下降。研究发现茶皂素对稻瘟

病菌有显著的生物活性,若能开发出茶皂素对稻瘟病的防治高效药剂将具有重要意义。

本试验结果表明,茶皂素对不同供试病原菌表现出明显的选择活性,可能与其作用方式和抑菌机理有关。盛书祥等^[15]发现苯霜灵与茶皂素以 1:4 混用对灰霉菌孢子的萌发没有显著抑制作用,但能延迟孢子的萌发,2 种药剂及其混剂仅起抑菌作用,而无杀菌作用。盛书强^[16]认为,茶皂素的抑菌活性机理主要表现在以下几个方面:第一,抑制菌体蛋白质的合成;第二,提高菌体的超氧化物歧化酶活性,促进菌体细胞内的 O_2^- 氧化成 H_2O_2 分子, H_2O_2 的积累对细胞造成伤害,破坏细胞内的新陈代谢组分,从而表现出对病原菌的生物活性;第三,能降低过氧化物酶的活性,使菌体细胞内的酚类、芳香胺和抗坏血酸等还原性物质的氧化受到抑制,影响菌体细胞的正常代谢过程,同时,由于过氧化物酶活性降低,导致了有害物质 H_2O_2 的过量积累,使酶蛋白分子等细胞内组分受到破坏,干扰新陈代谢,表现出高活性。而李金洪^[17]推测是因为茶皂素表面活性作用改变了细胞膜的通透性,进而萜类物质破坏细胞内构造和酶系统,同时,茶皂素水解后产生的有机酸使细胞内液酸化,破坏各细胞器的正常功能与代谢。笔者也认为,茶皂素的杀菌活性可能与其表面活性作用密切相关,进而影响菌体细胞膜的正常功能,产生杀菌作用。

本试验只测定了茶皂素对 12 种常见植物病原菌的活性,至于对其他病原菌的活性以及茶皂素作用方式、作用机理等均有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 郝卫宁,曾勇,胡美英,等. 茶皂素在农药领域的应用研究进展[J]. 农药, 2010, 49(2): 90-93, 96.
- [2] 沈立荣,陈莹,祝洪刚. 油茶粕茶皂素作为农药助剂和生物农药

- 的研究进展[J]. 湖州职业技术学院学报, 2010(3):1-5.
- [3] MUHAMMAD R H, HU Q B, HU M Y, et al. Study of destruxin B and tea saponin, their interaction and synergism activities with *Bacillus thuringiensis kurstaki* against *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. Applied Entomology and Zoology, 2009, 44(3):419-428.
- [4] 王小艺, 黄炳球. 茶皂素对家蝇生物活性初测[J]. 茶叶, 1999, 25(1):24-25.
- [5] 胡绍海, 胡卫军, 胡卫东, 等. 复方茶皂素对哒螨灵杀桔全爪螨的增效作用[J]. 植物保护学报, 1997, 21(1):65-69.
- [6] 王小艺, 黄炳球. 茶皂素对鱼藤酮和托尔克防治柑桔全爪螨的增效作用[J]. 植物保护, 1999, 25(2):7-9.
- [7] SAGESAKA M, UEMURA T, SUZUKI Y. Antimicrobial and anti-inflammatory actions of tea-leaf saponin [J]. Life Science, 1996, 116(3):238-243.
- [8] HAO W N, LI H, HU M Y, et al. Integrated control of citrus green and blue mold and sour rot by *Bacillus amyloliquefaciens* in combination with tea saponin [J]. Postharvest Biology and Technology, 2010, 59:316-323.
- [9] HAO W N, ZHONG G H, HU M Y, et al. Control of citrus postharvest green and blue mold and sour rot by tea saponin combined with imazalil and prochloraz [J]. Postharvest Biology and Technology, 2010, 56:39-43.
- [10] 吴慧平, 宛晓春, 侯如燕, 等. 茶皂素杀线虫活性测定[J]. 植物病理学报, 2007, 37(5):553-555.
- [11] 张楚霜, 朱金华, 周利红, 等. 茶叶籽皂甙杀钉螺研究[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 1997, 9(6):334-337.
- [12] 慕立义. 植物化学保护研究方法[M]. 北京: 农业出版社, 1994: 79-81.
- [13] NAGATA T. Camellidins, antifungal saponins isolated from *Callmellia japonic* [J]. Agricultural Biology and Chemistry, 1985, 49(4):1181-1186.
- [14] 王小艺, 黄炳球. 茶皂素7种病原真菌的生物活性初报[J]. 植保技术与推广, 1998, 18(6):34-35.
- [15] 盛书祥, 欧晓明, 张俐, 等. 苯霜灵与茶皂素对黄瓜灰霉病菌的联合作用研究[J]. 农药科学与管理, 2000, 21(5):32-34.
- [16] 盛书强. 茶皂素对杀菌剂的增效作用及机理[D]. 长沙: 湖南农业大学图书馆, 2003.
- [17] 李金洪. 茶皂素生物活性探索及其在饲料中的应用研究[D]. 杭州: 浙江大学图书馆, 2001.

Studies on inhibitory activity of tea saponin against twelve plant pathogenic fungi

HUANG Ji-guang^{1,2} CHEN Xiu-xian¹ XU Han-hong^{1,2} WANG Hao²

1. Key Laboratory of Natural Pesticide and Chemical Biology, Ministry of Education, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;
2. Biopesticides Research Laboratory of Tea Saponin, Botanical Pesticides Research Center of South China, Guangzhou 510642, China

Abstract The inhibition activities of tea saponin against *Pyricularia grisea*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Penicillium italicum*, *Glomerella lagenaria*, *Fusarium oxysporum*, *Glomerella ciugulata*, *Colletotrichum musae*, *Phytophthora parasitica*, *Fusarium oxysporum*, *Bipolaris maydis* and *Peronophythora litchi* were studied by mycelium growth rate inhibition assay. The results showed that tea saponin had significant antifungal activity. After treatment with 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, the inhibition rates of tea saponin against *Pyricularia grisea*, *Penicillium italicum*, *Glomerella lagenaria*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Bipolaris maydis* were 100.00%, 100.00%, 89.12%, 87.27% and 83.13% respectively. The EC_{50} values against *Pyricularia grisea* and *Penicillium italicum* were 20.15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and 11.39 $\mu\text{g}/\text{mL}$ respectively. Tea saponin had no activity against *Fusarium oxysporum* with the EC_{50} value exceeding 2 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. On the other hand, tea saponin had higher antifungal activities against *Pyricularia grisea* than sulfur tricyclazole, and the inhibition rate against *Sclerotinia sclerotiorum* was not significantly different between tea saponin and procymidone by toxicity comparison in laboratory.

Key words tea saponin; plant pathogenic fungi; fungicidal activities