

- 20 Wang Mingan, et al. Chin Chem Lett, 1995, 6(12): 1047
- 21 Liu Jikai, et al. Planta Med, 1991, 57(5): 475
- 22 Liu Jikai, et al. Chin Sci Bull, 1989, 34(19): 1639
- 23 Kuo Yao-haur, et al. J Nat Prod, 1995, 58(11): 1735
- 24 Kuo Yao-haur, et al. Phytochemistry, 1996, 41(2): 549
- 25 Wang Mingan, et al. Chin Chem Lett, 1995, 6(3): 229
- 26 王明安, 等. 高等学校化学学报, 1995, 16(8): 1248
- 27 Yoshihisa T, et al. J Nat Prod, 1993, 56(6): 815
- 28 袁玉英, 等. 药学报, 1995, 30(5): 331
- 29 Hironori S, et al. Biochem Biophys Res Commun, 1990, 172(2): 890
- 30 Nalini K, et al. J Ethnopharmacol, 1995, 47(2): 101

(1997-01-14 收稿)

1997-04-24 修回)

木霉在药用植物病害防治上的应用

中国医学科学院

药用植物研究所(北京 100094) 丁万隆* 程惠珍 张国珍

中国协和医科大学

摘 要 概述了木霉在药用植物土传病害生物防治上的应用及今后的研究方向。

关键词 木霉 药用植物 病害防治

近年植物病害发生了很大变化,其主要特点是土传病害或根部病害的日趋严重。如美国土传病害造成的损失占整个作物损失的50%以上⁽¹⁾。土传病害加重的原因十分复杂,但主要是追求高产而改变传统耕作栽培方式,破坏了原有的生态平衡所致。由于土壤条件相对稳定,造成土传病害的经常、持续性为害,难以培育出抗根病的作物品种,又不便进行药剂防治,对侵染菌源也难于有效控制。因此,对其进行生物防治研究日益受到重视。

木霉属 *Trichoderma* Pers. ex Fr. 真菌属于半知菌亚门,丝孢纲,丝孢目,丛梗孢科,是一类普遍存在的真菌。在土传病害生防因子中,对木霉的研究最多。据统计,全世界 25 个国家和美国 43 个州生物防治研究课题中,有 34% 是有关木霉的研究。在 1993 年召开的第六届国际植物病理学大会上,主要以木霉为主的有关土传病害生物防治的论文占总数的 63%⁽²⁾。研究的内容主要有:木霉对植物病原菌拮抗作用评价;木霉次生代谢产物的研究;木霉生物学及分子生物学研究;木霉

生态学及微生态学研究;生物防治与农业措施相结合,研究木霉-病原菌-寄主植物间相互关系等。

木霉在植物病害生物防治中之所以受到重视,原因之一是由于它对于那些化学杀菌剂防治效果差的土传植物病原菌具有很好的防治效果。这些病原菌有立枯丝核菌 *Rhizoctonia solani*、齐整小菌核 *Sclerotium rolfsii*、镰刀菌 *Fusarium* spp、核盘菌 *Sclerotinia* spp.、疫霉菌 *Phytophthora* spp.、腐霉菌 *Pythium* spp. 等。它们寄主范围广,适应性强,能在土壤中长期存活,防治极为困难,可侵染几乎所有栽培植物,造成根部及苗期病害。随着生物技术的发展,木霉作为生防因子的地位更显重要。

1 木霉在药用植物病害防治上应用研究

1.1 研究现状:近年来,国内外对木霉有较深入细致的研究。木霉对多种植物病害的防治已取得良好的效果,如美国用哈茨木霉麸皮制剂田间处理由立枯丝核菌引起的棉苗立枯病,发病率降低了 60%,并提高出苗率

* Address: Ding Wanlong, Institute of Medical Plant, Chinese Academy of Medical Sciences and Chinese Xiehe Medical University, Beijing

14%;田间施用 112~140 kg/10⁴ m² 哈茨木霉麸皮制剂,可以连续 3 年控制花生白绢病的发生^[3]。在国内,从水稻叶面分离并筛选到对白绢病菌 *Sclerotium rolfsii* 有强烈拮抗作用的哈茨木霉菌株,并用其防治茉莉白绢病,在花房期每盆用木霉麸皮培养物 50 g,防治效果达 90%以上^[4]。

利用已有的研究结果,拓展木霉在药用植物病害防治上的应用是十分必要的。从环境、寄主植物、病原物三者关系分析,药用植物与其他栽培作物具有许多相同点。在土壤、大气环境条件基本相同的情况下,药用植物的某些土传病害的病原物与栽培植物的为近似种甚至同种;药用植物与某些栽培植物为同科乃至同属。因此,可选择与已获成功的栽培植物具相同点的药用植物进行针对性研究。如棉花立枯病的防治方法可以在多种药用植物苗期病害上进行生物防治试验;甜椒、茉莉白绢病的研究方法,可以在对黄连等药用植物白绢病进行生防研究时加以借鉴。

有关木霉在药用植物病害生物防治上的研究仅在国内偶见报道。利用哈茨木霉防治白术根腐病,取得了很好效果。我们在木霉防治西洋参立枯病研究方面也获得了成功^[5]。首先,从有机质丰富的东北人参产区土壤中分离到多个木霉菌株,并从中筛选出对立枯丝核菌具有强抑制作用的优良菌株,并用它在室内做了对西洋参根腐病菌 *Fusarium* sp.、西洋参疫病菌 *Phytophthora cactorum*、西洋参锈腐病菌 *Cylindrocarpon* sp.、西洋参黑斑病菌 *Alternaria panax* 的拮抗作用。结果表明:该菌株除了对西洋参立枯病菌有强抑制作用外,对这 4 种西洋参主要病原菌均有不同程度的拮抗作用。温室盆栽试验,以木霉麸皮制剂占盆土重量的 0.3%为好,防治效果达 77.8%。田间试验,用 10 g/m² 木霉麸皮制剂处理表层土,防治效果即可达 60%以上。此法与农业措施紧密结合,简便易行,木霉用量少,药效高且持续时间长,只需每年早春参苗出土前结合松土施用一次即可^[5]。

1.2 应用前景:据统计,约有 70%的药用植物以根或根茎入药,它们几乎毫无例外地遭受到一种或几种土传病原菌的危害;即使那些以全草、花等其他部位入药的种类,也几乎难免受到土传病原菌的侵染。药用植物由于施用化学农药造成的残毒已日益引起人们的重视,生物防治是解决这一难题的有效途径,而木霉则是病害生防因子中之首选。

虽然不同种类的药用植物根际微生物有区别,这需加以详细研究,但它们均发生土传病害这一共同特点,使木霉在药用植物上的应用前景十分广阔。在弄清某种药用植物土传病害种类及病原菌的基础上,进行适当的室内及温室试验,以摸清并确定对病原菌适宜的木霉菌株及用量等,即可直接用于田间进行病害的防治。这些病害包括全部苗期立枯病及部分种类的根腐病、白绢病、灰霉病及菌核病等,例如,人参、西洋参立枯病、根腐病,白术、黄连的白绢病,三七、贝母的灰霉病,丹参、白术、三七的根腐病以及丹参、人参、西洋参的菌核病等,在此不一一例举。

2 木霉在药用植物病害生物防治中需深入研究的问题

2.1 优良木霉菌株的筛选:利用特殊培养基从土壤及根围定性分离木霉菌株,并用这些菌株对目标病原菌进行拮抗作用测定,以确定对某种病原菌有特效的木霉菌株,并探索对某些特殊土传病原菌如西洋参锈腐病菌的测定方法。

通过在培养基中加入杀菌剂并逐级筛选存活的个体,培育出耐高浓度杀菌剂的菌株,这些菌株还应在生长、繁殖能力、在土壤中的竞争力、定殖能力以及对目标病原物的致死力等方面优于野生菌株。另外,通过紫外光照照射选育突变菌株也是可行的方法。目前已培育出耐 50~500 mg/L 苯菌灵的哈茨木霉菌株,野生菌株的耐受浓度仅为 0.5 mg/L。培育比野生菌株产生更多的抗生素如胶毒素的菌株,也是研究方向之一。

2.2 木霉基因工程研究:通过木霉菌菌丝原

生质体的分离、融合及基因克隆等生物技术,可将两个菌株的基因修饰成为新的、更具优点的菌株。这一研究领域将成为今后热点之一。新菌株在产生拮抗物质数量及质量上的增加,使其能够同时对两种以上土传病害有效,而且具有生长好、定殖快、更能适应不良环境的特点,从而对目标病原菌更具效果。

2.3 木霉处理与农业措施有机结合:据报道,单以木霉分生孢子处理土壤,对土传病害无防治效果^[3],这与我们在西洋参上的试验结果相同。一些在室内具有抑菌作用的菌株,往往田间施用效果不好,主要原因就是营养条件不具备,加入土壤中的个体不能很好地定殖并形成优势种群。因而应当对有机物及添加剂等木霉营养成分及种类加以研究。与有机物同时施入土壤中的这些添加剂,可为木霉菌提供营养,成为其营养载体,从而提高木霉在土壤中的各种能力,使其成为优势种群。同时,这些有机物也刺激土壤中原有木霉

菌的大量繁殖,与加入的木霉菌一起对病原菌的生存繁殖形成巨大的抑制作用^[6]。这些有机物还可以提高作物的抗病性,并促进其生长。

2.4 其他方面:木霉菌处理药用植物种子,防治土传病害,可借鉴农作物上已成功的先例,结合药用植物种子的特殊性进行有针对性研究。

开发木霉菌剂发酵、培养、生产新工艺,提高其田间应用效果;注意木霉制剂与化学杀菌剂的竞争力,如毒性、注册费用与时间及农民的认可性。

参考文献

- 1 Lewis J A, et al. Crop Protection, 1991, 10: 95
- 2 洪传学. 植物保护, 1993, 19(5): 35
- 3 Papavizas G C. Ann Rev Phytopathol, 1985, 23: 23
- 4 李 良, 等. 浙江农业大学学报, 1983, 9(3): 221
- 5 丁万隆, 等. 中草药, 1994, 25(4): 91
- 6 周新根, 等. 上海农业学报, 1994, 10(4): 53

(1996-08-29 收稿)

现代薄层色谱技术及其在生药分析中的应用

镇江市药检所(212003) 胡逸琴 陈 黎 刘勤超*

薄层色谱技术(TLC)目前已日趋成熟,并得到广泛应用。其在生药分析研究中亦有很重要的地位,这点仅从《中国药典》1995年版一部中45%的品种收载薄层鉴别就可见一斑。随着色谱技术的不断发展,尤其是现代TLC在生药分析中愈来愈广泛的运用,TLC具有更高的应用价值。笔者仅就现代薄层色谱发展技术及其在生药分析中的应用作一综述。

1 吸附剂

1.1 高效薄层色谱(HPTLC):采用更细(粒子范围5~10 μm)、更均匀的吸附剂作为固

定相,其板厚度100~250 μm,点样量仅需0.1~0.2 μL,展3~6 cm,展开时间3~20 min,最小检测量0.1~0.5 μg,较经典TLC可改善其分离度,提高灵敏度和重现性。其预制板尤其适用于定量测定。应用Merck高效硅胶板鉴别国产麻黄中麻黄生物碱类化合物,成功地分离了3对立体异构的6种生物碱,而用常规薄层板则不能将其很好分离^[1]。比较了高效板和普通板对阿片中20余种生物碱的薄层色谱鉴定,前者可检出13~17个斑点,后者仅能检出7~11个斑点^[2]。对14种蛇胆中胆汁酸成分进行了HPTLC,认为

* 郑州瑞达制药有限公司