

肉桂活性成分对芒果炭疽菌及香蕉枯萎病菌的抑制作用

郭培钧¹, 何衍彪², 詹儒林², 何庭玉¹

(1 华南农业大学理学院, 广东广州 510642; 2 中国热带农业科学院 南亚热带作物研究所, 广东湛江 524091)

摘要:采用生长速率法研究了肉桂 *Cinnamomum cassia* 活性成分肉桂醛、肉桂酸、肉桂酸乙酯对芒果炭疽病菌 *Colletotrichum gloeosporioides* 抗药性菌株(ZJR)、芒果炭疽病菌敏感菌株(ZJS)和香蕉枯萎病菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* 的抑制作用. 结果表明肉桂醛的抑制作用明显优于肉桂酸和肉桂酸乙酯. 肉桂醛对 ZJS、ZJR 和香蕉枯萎病菌抑制的有效中浓度(EC_{50})分别为0.020 7、0.020 2 和0.049 6 $mg \cdot mL^{-1}$. 肉桂酸对 ZJS、ZJR 和香蕉枯萎病菌抑制的 EC_{50} 分别为 0.828、0.847 和 1.225 $mg \cdot mL^{-1}$. 肉桂酸乙酯对 ZJS、ZJR 和香蕉枯萎病菌抑制的 EC_{50} 分别为 0.290 0、0.063 5 和 2.290 0 $mg \cdot mL^{-1}$. 肉桂醛对 ZJS、ZJR 和香蕉枯萎病菌的最小抑制浓度分别为0.033 3、0.033 3 和 0.100 0 $mg \cdot mL^{-1}$. 肉桂酸对 ZJS、ZJR 和香蕉枯萎病菌的最小抑制浓度分别为 1.250、2.500 和 2.500 $mg \cdot mL^{-1}$; 肉桂酸乙酯对 ZJS 的最小抑制浓度为 0.500 $mg \cdot mL^{-1}$.

关键词:肉桂; 活性成分; 芒果炭疽病菌; 香蕉枯萎病菌; 抑制作用

中图分类号:S436

文献标识码:A

文章编号:1001-411X(2009)04-0036-04

Inhibition Effects of *Cinnamomum cassia* Active Compounds on *Colletotrichum gloeosporioides* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

GUO Pei-jun¹, HE Yan-biao², ZHAN Ru-Lin², HE Ting-yu¹

(1 College of Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

2 South Subtropic Crops Research Institute, Chinese Academy of Tropical Sciences, Zhanjiang 524091, China)

Abstract: The inhibition effects of *Cinnamomum cassia* active compounds on *Colletotrichum gloeosporioides* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* were mensurated by growth rate method. The inhibition rates of cinnamaldehyde were more efficient to the control *Colletotrichum gloeosporioides* and *F. oxysporum* f. sp. *cubense* than cinnamic acid and ethyl cinnamate. The EC_{50} of cinnamaldehyde against *C. gloeosporioides* sensitivity (ZJS), *C. gloeosporioides* resistance (ZJR) and *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* were 0.020 7, 0.020 2 and 0.049 6 $mg \cdot mL^{-1}$ respectively; 0.828, 0.847, 1.225 $mg \cdot mL^{-1}$ for cinnamaldehyde respectively; and 0.290 0, 0.063 5, 2.290 0 $mg \cdot mL^{-1}$ for ethyl cinnamate respectively. The minimum inhibitory concentrations of cinnamaldehyde on *C. gloeosporioides* ZJS, *C. gloeosporioides* ZJR and *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* were 0.033 3, 0.033 3, and 0.100 0 $mg \cdot mL^{-1}$ respectively; 1.250, 2.500 and 2.500 $mg \cdot mL^{-1}$ for cinnamic acid respectively; the minimum inhibitory concentration of ethyl cinnamate against *C. gloeosporioides* ZJS was 0.500 $mg \cdot mL^{-1}$.

Key words: *Cinnamomum cassia*; active compounds; *Colletotrichum gloeosporioides*; *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*; inhibition effects

芒果炭疽病是芒果最严重的病害之一,在国内
外芒果产区普遍发生. 目前,芒果炭疽病的防治以化
学防治为主,多菌灵等苯丙咪唑类内吸性杀菌剂对
该病具有良好的防治效果,但是长期大量使用相同

作用位点的苯丙咪唑类杀菌剂使得不少果园产生了
抗性菌株,从而大大降低其防治效果^[1]. 由香蕉枯萎
病菌引起的香蕉枯萎病是一种毁灭性病害,香蕉枯
萎病菌有4个生理小种,其中发生最普遍、危害最严

收稿日期:2008-07-03

作者简介:郭培钧(1982—),男,硕士研究生;通讯作者:何庭玉(1959—),女,副教授,E-mail:tyhe@scau.edu.cn

基金项目:中国热带农业科学院基金项目(RKY0625)

重的是4号小种^[2].植物是生物活性化合物的天然宝库,其产生的次代谢产物超过40万种,其中许多次生化学物质具有杀虫或抑菌等生物活性,在农业、医药上有重要的研究价值^[3].笔者通过查阅大量研究资料,并结合试验,发现中药肉桂乙醇提取物有很强的抑菌活性.本文对其中的肉桂醛、肉桂酸乙酯、肉桂酸进行抑菌活性试验,以期开发出新的植物源杀菌剂提供依据.

1 材料与方 法

1.1 供试菌株

芒果炭疽病菌 *Colletotrichum gloeosporioides* 对多菌灵的抗药性菌株(ZJR)和敏感性菌株(ZJS)由中国热带农业科学院南亚热带作物研究所从湛江市芒果园中分离、保存,其中ZJR在多菌灵 $1\ 000\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 仍生长良好,而ZJS在多菌灵 $0.110\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 则受到完全抑制^[1].香蕉枯萎病菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* 由华南农业大学园艺学院提供.

1.2 供试植物成分提取

供试植物成分提取采用热浸取法.取肉桂干粉 $1\ \text{kg}$ 热浸提取,重复浸取3次,每次以 $\varphi=95\%$ 乙醇 $3\ \text{L}$ 浸渍 $1\ \text{h}$,抽滤分离浸取液,合并滤液,滤液在 $40\ ^\circ\text{C}$ 下减压旋转浓缩得浸膏.将浸膏搅拌硅胶,通过硅胶色谱柱,用石油醚和乙酸乙酯配成不同极性洗脱液按极性从低到高进行梯度洗脱,分成6部分,旋干溶剂.采用活性跟踪的方法找到活性物质的分布.第2部分[$V(\text{石油醚}):V(\text{乙酸乙酯})=8:2$]为肉桂酸乙酯,肉桂酸和肉桂醛分布在第3部分[$V(\text{石油$

醚): $V(\text{乙酸乙酯})=8:3$].肉桂酸和肉桂醛在 $V(\text{石油醚}):V(\text{乙酸乙酯})=3:1$ 条件下进一步得到分离.

1.3 试验方法

以吐温80作乳化剂将称量过的药品用 $5\ \text{mL}$ 无菌水溶解,配制成不同浓度的乳液.使用琼胶平板法测定植物样品的抑菌活性.在无菌条件下取 $5\ \text{mL}$ 不同浓度的乳液经细菌过滤器过滤后, $20\ \text{W}$ 紫外灯下灭菌 $30\ \text{min}$,倒入 $150\ \text{mL}$ 三角瓶中,对照组(CK)加入相应吐温80,再倒入 $65\ ^\circ\text{C}$ 融化的马铃薯培养基约 $100\ \text{mL}$,摇匀后依次倒入10个培养皿($d=9\ \text{cm}$)中.培养基凝固后分别放入生长一致的芒果炭疽病菌ZJS、ZJR菌饼、香蕉枯萎病菌菌饼($d=0.6\ \text{cm}$),每皿接1个菌饼,每个浓度处理重复5次. $28\ ^\circ\text{C}$ 下培养5 d后用十字交叉法测量菌落生长直径,计算相对抑制率^[4-5].相对抑制率= $(\text{对照菌落扩展直径}-\text{处理菌落扩展直径})/\text{对照菌落扩展直径}\times 100\%$,其中,菌落扩展直径=菌落直径平均值 -0.6 .

根据试验结果,分别以一定浓度梯度的样品水乳液,采用室内离体平皿法进行室内毒力试验测定.以试验中设定的浓度对数为横坐标,抑制率为纵坐标,计算药剂的毒力回归方程和有效中浓度 EC_{50} ^[4-5].

2 结果与分析

2.1 肉桂醛对芒果炭疽病菌及香蕉枯萎病菌的毒力试验测定

试验结果(表1)表明,不同浓度的肉桂醛对芒果炭疽病菌ZJS、ZJR和香蕉枯萎病菌有很强的抑制作用.肉桂醛在 $0.033\ 3\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 条件下对芒果炭

表1 不同浓度肉桂醛对芒果炭疽病菌及香蕉枯萎病菌的抑制作用

Tab. 1 Inhibition effects of different concentration of cinnamaldehyde against *C. gloeosporioides* and *F. oxysporum* f. sp. *cubense*

菌株	$\rho(\text{肉桂醛})/(\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1})$	菌落扩展直径 ¹⁾ /cm	相对抑制率/%	毒力回归方程 ²⁾	$\text{EC}_{50}/(\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1})$
芒果炭疽病菌 ZJS	0.033 3	0.00	100.00	$y=42.565x-0.380\ 3$ ($R^2=0.986\ 5$)	0.0207
	0.022 0	2.06	56.17		
	0.016 5	2.24	41.70		
	0.012 5	4.03	14.20		
	0.010 0	4.70	0.00		
	CK	4.70			
芒果炭疽病菌 ZJR	0.033 3	0.00	100.00	$y=43.079x-0.368\ 3$ ($R^2=0.963\ 4$)	0.0202
	0.022 0	1.78	62.13		
	0.016 5	2.55	47.74		
	0.012 5	4.10	12.77		
	0.010 0	4.70	0.00		
	CK	6.50			
香蕉枯萎病菌	0.100 0	0.00	100.00	$y=12.267x-0.108\ 1$ ($R^2=0.924\ 2$)	0.049 6
	0.066 6	1.12	89.24		
	0.033 3	3.34	48.64		
	0.022 0	4.12	36.20		
	0.016 5	6.50	0.00		
	CK	6.50			

1)菌落扩展直径为5次重复的平均值;2)毒力回归方程中, y 为相对抑菌率, x 为肉桂醛的质量浓度

疽病菌 ZJS 和 ZJR 的相对抑制率达到 100%, 对香蕉枯萎病菌的相对抑制率达到 48.64%; 肉桂醛对芒果炭疽病菌 ZJS、ZJR 和香蕉枯萎病菌抑制的有效中浓度分别为 0.020 7、0.020 2、0.049 6 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 最小抑制浓度分别为 0.033 3、0.033 3、0.100 0 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$.

2.2 肉桂酸对芒果炭疽病菌及香蕉枯萎病菌的毒力试验测定

试验结果(表 2)表明, 不同浓度的肉桂酸对芒果炭疽病菌 ZJS、ZJR 和香蕉枯萎病菌也有很强的抑

制作用. 肉桂酸在 1.250 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的条件下对芒果炭疽病菌 ZJS、ZJR 和香蕉枯萎病菌的相对抑制率分别达到了 100.00%、60.91% 和 67.69%; 肉桂酸对芒果炭疽病菌 ZJS、ZJR 和香蕉枯萎病菌抑制的有效中浓度分别为 0.828、0.847 和 1.225 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 最小抑制浓度分别为 1.250、2.500 和 2.500 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$.

2.3 肉桂酸乙酯对芒果炭疽病菌及香蕉枯萎病菌的毒力试验测定

试验结果(表 3)表明, 不同浓度的肉桂酸乙酯对

表 2 不同浓度肉桂酸对芒果炭疽病菌及香蕉枯萎病菌的抑制作用

Tab. 2 Inhibition effects of different concentration of cinnamic acid against *C. gloeosporioides* and *F. oxysporum* f. sp. *Cubense*

菌株	ρ (肉桂酸)/($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	菌落扩展直径 ¹⁾ /cm	相对抑制率/%	毒力回归方程 ²⁾	EC_{50} /($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)
芒果炭疽病菌 ZJS	1.250	0.00	100.00	$y = 1.0397x - 0.3612$ ($R^2 = 0.9494$)	0.828
	1.000	1.70	63.83		
	0.625	3.40	27.66		
	0.500	4.50	4.26		
	0.250	4.70	0.00		
	CK	4.70			
芒果炭疽病菌 ZJR	2.500	0.00	100.00	$y = 1.0066x - 0.3530$ ($R^2 = 0.9287$)	0.847
	1.250	1.90	60.91		
	1.000	4.10	15.64		
	0.625	4.50	7.41		
	0.500	4.67	3.91		
	0.250	4.86	0.00		
香蕉枯萎病菌	2.500	0.00	100.00	$y = 0.4509x - 0.0524$ ($R^2 = 0.9096$)	1.225
	1.250	2.10	67.69		
	1.000	3.57	45.08		
	0.625	5.22	19.69		
	0.500	6.14	5.54		
	CK	6.50			

1) 菌落扩展直径为 5 次重复的平均值; 2) 毒力回归方程中, y 为相对抑菌率, x 为肉桂酸的质量浓度

表 3 不同浓度肉桂酸乙酯对芒果炭疽病菌及香蕉枯萎病菌的抑制作用

Tab. 3 Inhibition effects of different concentration of ethyl cinnamate against *C. gloeosporioides* and *F. oxysporum* f. sp. *Cubense*

菌株	ρ (肉桂酸乙酯)/($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	菌落扩展直径 ¹⁾ /cm	相对抑制率/%	毒力回归方程 ²⁾	EC_{50} /($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)
芒果炭疽病菌 ZJS	0.500	0.00	100.00	$y = 2.4076x - 0.1981$ ($R^2 = 0.9970$)	0.2900
	0.250	2.65	43.26		
	0.170	3.25	18.09		
	0.125	4.20	10.64		
	0.100	4.50	4.26		
	CK	4.70			
芒果炭疽病菌 ZJR	0.500	0.75	84.57	$y = 0.8233x + 0.4477$ ($R^2 = 0.9682$)	0.0635
	0.250	1.55	68.18		
	0.170	1.92	60.45		
	0.125	2.18	55.15		
	0.100	2.46	49.46		
	CK	4.86			
香蕉枯萎病菌	0.500	5.77	11.23	$y = 0.1849x + 0.0163$ ($R^2 = 0.9579$)	2.2900
	0.333	6.05	6.92		
	0.250	6.10	6.15		
	0.170	6.15	5.38		
	0.125	6.25	3.85		
	CK	6.50			

1) 菌落扩展直径为 5 次重复的平均值; 2) 毒力回归方程中, y 为相对抑菌率, x 为肉桂酸乙酯的质量浓度

芒果炭疽病 ZJS、ZJR 和香蕉枯萎病菌有不同程度的抑制作用. 肉桂酸乙酯在 $0.500 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的条件下对芒果炭疽病菌 ZJS、ZJR 和香蕉枯萎病菌的相对抑制率分别为 100.00%、84.57% 和 11.23%; 肉桂酸乙酯对芒果炭疽病菌 ZJS、ZJR 和香蕉枯萎病菌抑制的有效中浓度分别为 0.290、0.063 5 和 2.290 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$. 肉桂酸乙酯对芒果炭疽病菌 ZJS 的最小抑制浓度为 $0.500 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$.

3 讨论与结论

离体检测结果表明,肉桂醛、肉桂酸和肉桂酸乙酯在不同的浓度下对芒果炭疽病菌 ZJS、ZJR 及香蕉枯萎病菌具有不同程度的抑制作用. 通过试验找到了肉桂醛、肉桂酸、肉桂酸乙酯的有效抑制浓度范围和有效中浓度. 肉桂醛对芒果炭疽病菌 ZJS、ZJR 和香蕉枯萎病菌的抑制作用强于肉桂酸乙酯和肉桂酸. 本次试验发现肉桂醛对芒果炭疽病菌 ZJS、ZJR 的最小抑菌浓度均为 $0.0333 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 而 ZJR 在多菌灵 $100.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 仍生长良好, ZJS 在多菌灵 $0.110 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 则受到完全抑制^[1], 可见, 肉桂醛的药效明显优于传统杀菌剂多菌灵.

关于肉桂醛的应用, 临床医学以及生活应用均有报道^[6-9]. 肉桂醛能够抑制小鼠的刺激性胃溃疡的形成, 且具有显著的镇痛作用. 肉桂醛对动物用伤寒副伤寒混合疫苗引起的人工发热可以起到一定的降温作用. 美国学者发现肉桂醛还具有降低血糖的作用, 可以用于治疗糖尿病; 肉桂醛对大肠杆菌、多种致病性真菌有抑制作用. 肉桂醛可抑制肿瘤细胞的增值, 其机制是促使活性氧簇介导线粒体膜渗透性的转变, 并因此导致了细胞色素 c 的释放, 这是肉桂醛抗癌作用的又一新报^[10]. 除此之外, 肉桂醛能够抑制病毒, 可以与其他芳香物质一起生产香水、香皂和除臭剂等. 肉桂酸有升高白血球的作用, 动物试验发现, 给家兔连续 3 d 注射肉桂酸以后, 白血球升高了大约 200%, 持续 10 d 以上, 对动物体温没有影响^[6]. 肉桂酸和肉桂酸乙酯还作为贵重香精, 被用于糖果、高级化妆品和牙膏等, 著名的“可口可乐”、“百事可乐”均含有肉桂酸和肉桂酸乙酯^[11-12]. 肉桂酸多作为有机中间体应用于有机合成^[13].

肉桂醛有如此强大的药效, 如果将它开发成微

乳剂应用于热带水果的保鲜将是个新的思维. 微乳剂是由油-水-表面活性剂构成的透明或半透明的单相体系, 是热力学稳定的胀大的胶团分散体系. 具有质量稳定、贮运安全、对环境相对污染小等优点^[14]. 开发成微乳剂的条件还有待研究.

参考文献:

- [1] 詹儒林, 李伟, 郑服丛. 芒果炭疽病菌对多菌灵的抗药性[J]. 植物保护学报, 2005, 32(1): 71-76.
- [2] 许文耀, 兀旭辉, 杨静惠, 等. 香蕉假茎细胞对枯萎病菌不同小种及其粗毒素的病理反应[J]. 植物病理学报, 2004, 34(5): 425-430.
- [3] SWAIN T. Secondary compound as a protective agents[J]. Ann Rev Plant Physiol, 1977, 28: 479-501.
- [4] 孟昭礼, 罗兰, 袁忠林, 等. 人工模拟的植物源杀菌剂银泰防治番茄 3 种病害效果研究[J]. 中国农业科学, 2002, 35(7): 863-866.
- [5] 于平儒, 邵红军, 冯俊涛, 等. 62 种植物样品对菌丝活性的测定[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2001, 29(6): 65-69.
- [6] 董万超. 肉桂的利用及药理作用[J]. 特种经济动植物, 2001, 6: 431.
- [7] 刘林亚. 中药植物肉桂化学成分的对比研究[J]. 四川中医, 2001, 19(1): 1161.
- [8] 陈火树. 肉桂在临床上的外用体会[J]. 中医外用杂志, 1996, 5: 30.
- [9] 潘长春. 浅谈肉桂在临床的应用[J]. 时珍国药研究, 1997, 8(4): 306.
- [10] 中国香料植物栽培与加工编写组. 中国香料植物栽培与加工[M]. 北京: 轻工业出版社, 1985: 68-70.
- [11] 广东省林业局, 广东省林学会. 广东省商品林 100 种优良树种栽培学[M]. 广州: 广东科技出版社, 2003: 271-274.
- [12] HYEON K H, JUHN P H, JU J, et al. Cinnamaldehyde induces apoptosis by ROS-mediated mitochondrial permeability transition in human promyelocytic leukemia HL-60 cells[J]. Cancer Letters, 2003, 196: 143-152.
- [13] 徐兆瑜. 肉桂酸的合成方法和应用[J]. 精细化工和有机中间体, 2005, 12: 24-28.
- [14] 刘步林. 农药剂型加工技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 1998: 391-413.

【责任编辑 李晓卉】