

柳杉叶挥发油化学成分GC-MS分析及抗菌活性研究

祝沁梓, 李玲, 程丹, 邵如艺, 张寒芝, 胡文杰, 王安萍*

井冈山大学生命科学学院, 江西 吉安

收稿日期: 2024年10月8日; 录用日期: 2024年10月29日; 发布日期: 2024年11月11日

摘要

为建立气相-质谱联用技术(GC-MS)分析柳杉叶挥发油成分, 并研究柳杉叶挥发油的抗菌活性。本研究以柳杉叶为材料, 采用水蒸汽蒸馏法提取柳杉叶挥发油; 以三种常见细菌和一种植物病原真菌为作用对象, 利用梯度稀释法对柳杉叶挥发油进行抗菌活性研究; 利用GC-MS分析鉴定柳杉叶挥发油的主要化学成分, 并且运用峰面积归一法确定各个成分的含量。研究表明: 柳杉叶挥发油对产气肠杆菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和尖孢镰刀菌均有一定的抑制作用, 其中对 $0.8 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 尖孢镰刀菌的抗菌率为39.8%; 柳杉叶挥发油的主要化学成分为萜类和醇类, 含量较多的是(-)-扁枝烯(24.81%)、榄香醇(16.91%)、表桉叶油醇(8.72%)、 α -蒎烯(7.06%)、 β -芬兰烯(6.71%)、D-柠檬烯(4.81%)。因此, 柳杉叶挥发油具有抗菌作用, 萜类可能是主要有效抗菌成分。

关键词

柳杉, 挥发油, GC-MS分析, 抗菌活性

GC-MS Analysis of Chemical Constituents and Antibacterial Activity of Volatile Oil from *Cryptomeria fortunei* Leaves

Qinzi Zhu, Ling Li, Dan Cheng, Ruyi Shao, Hanzhi Zhang, Wenjie Hu, Anping Wang*

School of Life Sciences, Jinggangshan University, Ji'an Jiangxi

Received: Oct. 8th, 2024; accepted: Oct. 29th, 2024; published: Nov. 11th, 2024

Abstract

In order to establish a gas phase mass spectrometry (GC-MS) technique for the analysis of volatile

*通讯作者。

文章引用: 祝沁梓, 李玲, 程丹, 邵如艺, 张寒芝, 胡文杰, 王安萍. 柳杉叶挥发油化学成分 GC-MS 分析及抗菌活性研究[J]. 植物学研究, 2024, 13(6): 565-573. DOI: 10.12677/br.2024.136060

oil components of *Cryptomeria fortunei* leaves and to study the antibacterial activity of the volatile oil. In this study, the volatile oil of *Cryptomeria fortunei* leaves was extracted by steam distillation, and the antibacterial activity of the volatile oil was studied by gradient dilution method with three common bacteria and one plant pathogen fungus as the target. The main chemical components of the volatile oil of *Cryptomeria fortunei* leaves were identified by GC-MS, and the content of each component was determined by peak area normalization method. The results showed that the volatile oil of *Cryptomeria fortunei* leaves had certain inhibitory effects on *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Fusarium oxysporum*, and the antibacterial rate against $0.8 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ *Fusarium oxysporum* was 39.8%. The main components of the volatile oil of *Cryptomeria fortunei* leaves were terpenes and alcohols, the most abundant of which were (-)-platyden (24.81%), elemenol (16.91%), eutectol (8.72%), α -pinene (7.06%), β -Finlanene (6.71%) and D-limonene (4.81%). Therefore, the volatile oil of *Cryptomeria fortunei* leaves has antibacterial effect, and terpenoids may be the main effective antibacterial components.

Keywords

Cryptomeria fortunei, Volatile Oil, GC-MS Analysis, Antibacterial Activity

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

柳杉属杉科柳杉属(*Cryptomeria fortunei* var. *sinensis*) [1], 又名长叶孔雀松, 为常绿温性针叶乔木, 树形高大, 树干通直, 广泛用于建筑、家具等领域, 该树种集药用、园林和生态价值于一身, 具有重要的开发利用价值[2]。目前国内外学者普遍认为柳杉属分为柳杉(*Cryptomeria fortunei*)和日本柳杉(*Cryptomeria japonica*) 2 个变种[3], 其中日本柳杉多见于国外学者的研究[4], 已有国外学者发现日本柳杉不同部位均具有抗菌活性[5]-[8], 国内学者对柳杉的研究则主要集中于繁殖、病虫害、遗传特性等[9], 部分学者对柳杉进行了化学成分分析, 如 Wujian 等通过研究发现, 柳杉的叶片和球果中, 含有具有良好抗菌功效的萜类化合物[10]。柳杉挥发油是一种存在于柳杉不同部位的次生代谢产物, 各种柳杉挥发油的化学组成及其含量随着柳杉的栽培地点、生长环境、品种以及挥发油分泌位置的不同而不同。目前对柳杉叶挥发油化学成分及其抗菌活性的研究尚未见系统报道, 有待于进一步的发掘和开发。大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和产气肠杆菌是存在动物肠道、土壤和饲料中常见的致病菌, 尖孢镰刀菌是引起百合鳞茎腐烂病的一种典型毁灭性土传病害真菌[11], 目前防治百合鳞茎腐烂病的主要方法是以化学杀菌剂为主, 寻找和研制广谱、高效、天然、低毒的抑制百合鳞茎腐烂病菌的杀菌药物, 是亟待解决的问题。因此, 本研究开展了柳杉叶挥发油化学成分的 GC-MS 分析, 并对其作用于以上三种常见细菌和一种植物病害真菌的抗菌功效进行抗菌活性研究, 旨在为药用柳杉资源的开发新型抗菌药物提供理论依据, 为其生物防治提供技术指导。

2. 材料与方

2.1. 主要材料与仪器

柳杉新鲜叶片于 2024 年 3 月采自井冈山大学校园内的柳杉树, 并经植物学教授邓贤兰老师鉴定。采来的柳杉叶经过水蒸气蒸馏、分馏等措施, 提取到柳杉叶挥发油。尖孢镰刀菌、大肠杆菌、金黄色葡萄

球菌、产气肠杆菌由郑州精思威化工有限公司提供。

ShimadzuGCMS-QP2020 气相色谱 - 质谱联用仪(日本岛津公司); MLS-3781L-PC 全自动高压灭菌锅(普和希株式会社); DHZ-032LR 摇床(上海博彩生物科技有限公司); ZWY-211C 恒温培养振荡器(上海智城分析仪器制造有限公司); SHP-250 型生化培养箱(上海森信实验仪器有限公司); DZTW 调温电热套(北京市永光明医疗仪器有限公司)。

2.2. 方法

为研究柳杉叶的抗菌活性, 首先通过划线转接的方式, 培养大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、产气肠杆菌和尖孢镰刀菌, 保存于 4℃ 冰箱内。所需菌培养完成后, 再使用水蒸气蒸馏法提取柳杉叶挥发油, 提取出的挥发油同样储存在 4℃ 冰箱中。然后一方面通过气相色谱质谱联用仪分析柳杉叶挥发油化学成分, 同时另一方面测定柳杉叶挥发油对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、产气肠杆菌及尖孢镰刀菌的最低抑菌浓度和最低杀菌浓度以及抑菌率。

2.2.1. 柳杉叶挥发油的提取

使用水蒸气蒸馏法提取柳杉叶挥发油。称取分拣、粉碎后的柳杉新鲜叶 200 g 装入 2 L 的圆底烧瓶中, 按料液比为 1:10 的比例加入蒸馏水, 用相应的挥发油提取装置进行水蒸气蒸馏 4 h。蒸馏后, 待装置冷却, 收集锥形瓶内提取液放入分液漏斗进行静置, 当出现水油分层现象时, 进行分馏操作, 得到柳杉叶挥发油, 放入 4℃ 冰箱内保存备用。

2.2.2. 大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、产气肠杆菌及尖孢镰刀菌的培养

将大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、产气肠杆菌的斜面培养物, 通过划线分别接种到 LB 固体培养基平板上, 置于 37℃ 恒温培养箱进行培养 18~24 h 后得到菌落, 培养好的菌种放在 4℃ 冰箱内保存备用, 每次用时从冰箱取出, 挑取单菌落接种到无菌 LB 液体培养基中, 置于 37℃ 恒温摇床中培养 5~7 d 后, 在菌液中加入无菌水, 依次进行 10 倍比稀释, 选取浓度为 $10^6\sim 10^7$ cfu·mL⁻¹ 的菌液作为实验备用菌液。尖孢镰刀菌是一种能引起植物病害的真菌, 培养时挑取尖孢镰刀菌斜面培养物, 接种到 PDA 固体培养基平板上, 置于 28℃ 恒温培养箱进行培养 3~5 d 后得到真菌菌落, 放置 4℃ 冰箱内保存备用, 实验前通过尖端挑取法挑取菌落接种到无菌 PDA 液体培养基中, 置于 28℃ 恒温摇床中培养 5~7 d 后。通过稀释检测, 选取浓度为 $10^6\sim 10^7$ cfu·mL⁻¹ 的菌液作为实验备用菌液。

2.2.3. 大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、产气肠杆菌及尖孢镰刀菌的最低抑菌浓度和最低杀菌浓度

根据梯度稀释法[12], 取 11 支试管, 分别吸取无菌 LB 液体培养基或者无菌 PDA 液体培养基 60 μL、适量乙酸乙酯和柳杉叶挥发油, 初始使柳杉叶挥发油浓度为 48 g·mL⁻¹, 梯度稀释后进而配制成浓度为 12.000、6.000、3.000、1.500、0.750、0.375、0.188、0.094、0.047、0.023、0.012 g·mL⁻¹ 的溶液, 并作三个平行样和一个不加柳杉挥发油的对照样, 经过细菌 37℃ 培养 18~24 h, 真菌 28℃ 培养 3~5 d 后, 将试管进行平板涂布和培养, 观察柳杉叶挥发油的抑菌活性, 确定最低抑菌浓度(MIC)和最低杀菌浓度(MBC)。

2.2.4. 细菌菌株和真菌菌株抑菌率的测定

细菌菌株采用抑菌圈法测定其抑菌率。分别吸取 60 μL 上述制作的各菌悬液涂布平板, 根据柳杉叶挥发油对不同细菌菌株的最低杀菌浓度, 配制最低杀菌浓度以及上两个浓度的挥发油稀释液, 将直径为 6 mm 的滤纸片分别浸泡入挥发油稀释液中, 充分浸泡后放在 LB 固体培养基平板中央, 待滤纸片稳定时, 将平板放入 37℃ 恒温培养箱内培养 18~24 h 后, 观察并用游标卡尺测量、记录抑菌圈直径的大小和所测数据代入公式(1)计算抑菌率。实验采用等量无菌水充分浸泡滤纸片作为对照处理, 以及三次平行实验处理。

真菌菌株采用菌丝生长速率法[13], 根据柳杉叶挥发油对尖孢镰刀菌的最低杀菌浓度, 配制最低杀菌

浓度以及上两个浓度的挥发油稀释液，分别吸取稀释液 15 μL 加入试管中，并将直径为 6 mm 的滤纸片分别浸泡入试管，充分浸泡后将滤纸片取出使用。根据十字交叉法，将 PDA 固体培养基平板划分为四块大小相等的区域，用打孔器从长满尖孢镰刀菌的平板中打取生长整齐一致的菌饼，每两个圆形菌饼以对位分别放在平板相应区域上，再取出上述浸泡后的滤纸片，每两个滤纸片以对位分别放在同一平板相应区域上，待滤纸片稳定时，将平板放入 28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱内培养 5~7 d，观察并用游标卡尺测量、记录处理菌落直径的大小和计算抑菌率，实验同样也采用等量无菌水充分浸泡的滤纸片作为对照处理，以及三次平行实验处理。

$$\text{抑制率}\% = \frac{\text{对照菌落增长直径} - \text{处理菌落增长直径}}{\text{对照菌落增长直径}} \times 100 \quad (1)$$

2.2.5. 柳杉叶挥发油成分 GC-MS 分析

将提取的柳杉叶挥发油在实验前储存在 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中，以减少油的化学成分和生物活性的变化。使用前用正己烷稀释至 1%，过滤后用气相色谱质谱联用仪进行分析。气相色谱条件：采用 Agilent 色谱柱(30 m \times 250 μm \times 0.25 μm)；载气为高纯度氦气(99.9%)；进样量为 0.1 μL ；分流模式，分流比 20:1；恒流模式，色谱柱流速为 1.2 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ；进样口的温度设置为 280 $^{\circ}\text{C}$ ，升温程序如表 1 所示。质谱条件：EI 离子源；电子能量 70 eV；质谱传输线温度 280 $^{\circ}\text{C}$ ；离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$ ；MS 四极杆温度 150 $^{\circ}\text{C}$ ；溶剂延迟时间 3.0 min；质量扫描范围 30~550 m/z。柳杉叶挥发油通过 GC-MS 分析后，用峰面积归一法确定了挥发油中各组分所占的百分比，各组分的鉴定则通过计算各组分的保留指数(RI)并与 NIST2.2 标准谱库对比来确认。

Table 1. GC-MS gradient temperature program

表 1. GC-MS 梯度升温程序

	速率($^{\circ}\text{C}/\text{S}$)	温度值($^{\circ}\text{C}$)	运行时间(S)	保持时间(MIN)
初始值		40	0	2
梯度 1	10	220	18	1
梯度 2	15	280	4	5

3. 结果与讨论

3.1. 柳杉叶挥发油对大肠杆菌、金葡萄球菌和产气肠杆菌的抗菌效果

3.1.1. 最小抑菌和杀菌浓度测定结果

最小抑菌浓度(MIC)即在体外培养细菌 18~24 h 后可抑制微生物生长的最低药物浓度，是衡量抗菌差异最常用的指标，MIC 数值越小表明抗菌作用越强[14]。本研究以选用的三种细菌作为抑菌实验的目标微生物，其中金黄色葡萄球菌为革兰氏阳性菌，大肠杆菌、产气肠杆菌为革兰氏阴性菌。根据表 2 可知，柳杉叶挥发油对产气肠杆菌的最低抑菌浓度为 0.047 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，最低杀菌浓度为 0.094 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ；对大肠杆菌的最低抑菌浓度为 1.5 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，最低杀菌浓度为 3 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ；对金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度为 1.5 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，最低杀菌浓度为 3 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。产气肠杆菌的 MIC 数值最小，在这三种细菌中柳杉叶挥发油对产气肠杆菌的抗菌作用是最强的。

3.1.2. 抗菌效果

滤纸片法是通过抑菌圈的大小和有无来判断抗菌剂抗菌活性大小的一种常见方法，抑菌圈越大说明抗菌剂的抗菌活性越强。在本研究中，阴性对照组的滤纸片周围均没有出现抑菌圈，说明用于稀释柳杉

Table 2. Inhibitory and bactericidal concentrations of the volatile oil of *Cryptomeria fortunei* leaves against bacterial strains
表 2. 柳杉叶挥发油对细菌菌株的抑菌及杀菌浓度

浓度/(g·mL ⁻¹)	菌株			
	产气肠杆菌	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	对照样品
12.000	-	-	-	+
6.000	-	-	-	+
3.000	-	-	-	+
1.500	-	+	+	+
0.750	-	+	+	+
0.375	-	+	+	+
0.188	-	+	+	+
0.094	-	+	+	+
0.047	+	+	+	+
0.024	+	+	+	+
0.012	+	+	+	+

注：“+”表示有菌株生长，“-”表示无菌株生长。

叶溶剂以及培养基对这三种细菌都没有抗菌效果；另外如表 3 所示，根据供试菌种对挥发油敏感程度的标准判定[15]，大肠杆菌和金黄色葡萄球菌对浓度为 12 g·mL⁻¹ 的挥发油为中度敏感，对浓度为 3 g·mL⁻¹ 的挥发油为不敏感，产气肠杆菌抑菌圈也随着挥发油浓度的降低不断减小，说明挥发油的抑菌活性与浓度相关。本实验中，柳杉叶挥发油对产气肠杆菌的抑制作用强于大肠杆菌和金黄色葡萄球菌，原因可能是由于挥发油活性的发挥受到细菌细胞壁结构的影响[16]。

Table 3. Bacteriostatic effect of the volatile oil of *Cryptomeria fortunei* leaves on bacterial strains

表 3. 柳杉叶挥发油对细菌菌株的抑菌效果

菌株	浓度/(g·mL ⁻¹)	抑菌圈直径/mm	抑菌率
产气肠杆菌	0.375	12.44 ± 1.16	13.8%
	0.188	11.57 ± 1.35	12.9%
	0.094	10.80 ± 1.76	12.0%
大肠杆菌	12.000	11.04 ± 1.76	12.3%
	6.000	8.10 ± 1.36	9.0%
	3.000	5.14 ± 0.06	5.7%
金黄色葡萄球菌	12.000	12.87 ± 1.32	14.3%
	6.000	8.69 ± 0.79	9.7%
	3.000	5.53 ± 0.18	6.1%
对照样品	12.000	0	0
	6.000	0	0
	3.000	0	0

注：图表结果以平均值 ± 标准误差(Mean ± SE)表示。

3.2. 柳杉叶挥发油对尖孢镰刀菌的抗菌效果

3.2.1. 最小抑菌和杀菌浓度测定结果

按照菌丝生长速率法测定柳杉叶挥发油对尖孢镰刀菌的最小抑菌浓度和杀菌浓度, 结果如表 4 所示, 柳杉叶挥发油对尖孢镰刀菌的最低抑菌浓度为 $0.4 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 最低杀菌浓度为 $0.8 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

Table 4. Inhibitory concentration of essential oil of *Cryptomeria fortunei* leaves against *Fusarium oxysporum*

表 4. 柳杉叶挥发油对尖孢镰刀菌的抑菌浓度

菌株	浓度/ $(\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$		
	0.8	0.4	0.2
尖孢镰刀菌	-	+	+
对照样品	+	+	+

注: “+”表示有菌株生长, “-”表示无菌株生长。

3.2.2. 抗菌效果

根据柳杉叶挥发油对尖孢镰刀菌的最小抑菌浓度测定的结果, 进一步测定柳杉挥发油对尖孢镰刀菌的对照菌落半径和处理菌落半径(图 1), 计算出菌丝生长抑制率, 由表 5 可见不同浓度的柳杉叶挥发油对尖孢镰刀菌均有一定的抑菌性。

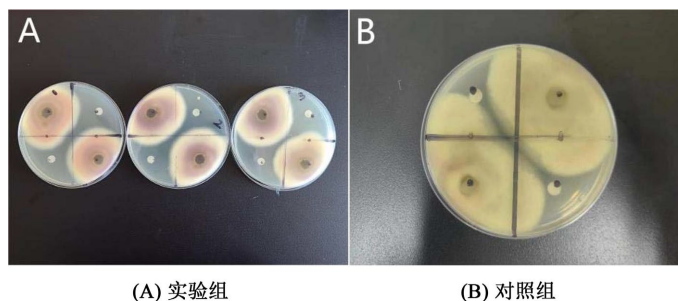


Figure 1. Antibacterial effect of the volatile oil of *Cryptomeria fortunei* leaves against *Fusarium oxysporum*

图 1. 柳杉叶挥发油对尖孢镰刀菌抗菌效果

表 5 柳杉叶挥发油对尖孢镰刀菌的抗菌效果

Table 5. Antibacterial effect of the volatile oil of *Cryptomeria fortunei* leaves on *Fusarium oxysporum*

表 5. 柳杉叶挥发油对尖孢镰刀菌的抗菌效果

菌株	浓度/ $(\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	抑菌率
尖孢镰刀菌	0.800	39.8%
	0.400	36.4%
	0.200	33.0%
对照样品	0.800	0
	0.400	0
	0.200	0

3.3. 柳杉叶挥发油化学成分

采用水蒸汽蒸馏法提取柳杉叶挥发油后, 利用气-质联用仪 GC-MS 对挥发油的化学成分进行了分析, 得到典型总离子流图(图 2)和化学成分表(表 6)。由表 6 可知 GC-MS 共鉴定出 34 种化合物, 其中主要成分有 18 种, 占总挥发油量的 94.23%, 主要为萜类、醇类, 含量最高的成分为(-)-扁枝烯(Kaur-16-ene, (8 β , 13 β)-)、榄香醇(α -Elemol)、表桉叶油醇(10-epi- γ -Eudesmol), 分别为 24.81%、16.91%、8.72%, 其次含量稍低的依次为 α -蒎烯((\pm)- α -Pinene) 7.06%、 β -芬兰烯(β -Phellandrene) 6.71%、D-柠檬烯(D-Limonene) 4.81%。由于挥发油组成较为复杂, 有些含量非常低的组分, 定性可能会出现误差, 同时含量非常低的组分对挥发油功能的贡献度也有限, 因此本研究中仅对含量大于 1%的组分进行了统计。本研究结果与谢永坚[17]等报道的柳杉精油主成分相同, 但含量有所差异, 可能是由于柳杉的品种、产地、提取方法、检测仪器、栽培环境等不同造成的。

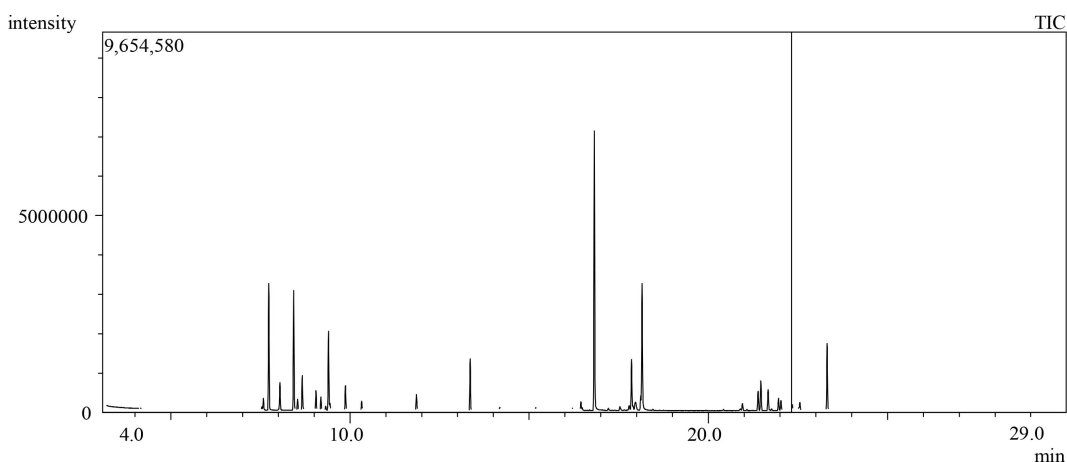


Figure 2. GC-MS spectra of the volatile oil of *Cryptomeria fortunei* leaves
图 2. 柳杉叶挥发油的 GC-MS 图谱

Table 6. Information table of main chemical components of *Cryptomeria fortunei* leaf essential oil
表 6. 柳杉叶精油主要化学成分信息表

序号	化合物名称	化学式	含量(%)	CAS
1	(-)-扁枝烯(Kaur-16-ene,(8 β ,13 β)-)	C ₂₀ H ₃₂	24.81	020070-61-5
2	榄香醇(α -Elemol)	C ₁₅ H ₂₆ O	16.91	000639-99-6
3	表桉叶油醇(10-epi- γ -Eudesmol)	C ₁₅ H ₂₆ O	8.72	015051-81-7
4	α -蒎烯((\pm)- α -Pinene)	C ₁₀ H ₁₆	7.06	007785-70-8
5	β -芬兰烯(β -Phellandrene)	C ₁₀ H ₁₆	6.71	000555-10-2
6	D-柠檬烯(D-Limonene)	C ₁₀ H ₁₆	4.81	005989-27-5
7	泪杉醇(Manool)	C ₂₀ H ₃₄ O	3.83	000596-85-0
8	海松-8(14),15-二烯(Phenanthrene,7-ethenyl-1,2)	C ₂₀ H ₃₂	3.38	001686-56-2
9	R-桉叶油醇(γ -Eudesmol)	C ₁₅ H ₂₆ O	3.24	001209-71-8
10	L-乙酸冰片酯(L-Born-2-yl acetate)	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	2.97	005655-61-8
11	(1S)-(-)- β -蒎烯((1S)-(-)-Beta-Pinene)	C ₁₀ H ₁₆	2.64	018172-67-3

续表

12	(-)-莜烯(L-Camphene)	C ₁₀ H ₁₆	1.61	005794-04-7
13	γ-松油烯(1,4-Cyclohexadiene,1-methyl-4-(1-methylethyl)-)	C ₁₀ H ₁₆	1.46	000099-85-4
14	13-异丙基罗汉松-6,13-二烯(13-Isopropylpodocarpa-6,13-diene)	C ₂₀ H ₃₂	1.35	005939-62-8
15	对映贝壳杉烯(Kaur-16-ene)	C ₂₀ H ₃₂	1.34	000562-28-7
16	4-萆烯(4-Carene)	C ₁₀ H ₁₆	1.30	029050-33-7
17	3-萆烯(3-Carene)	C ₁₀ H ₁₆	1.07	013466-78-9
18	4-萆烯醇(Terpinen-4-ol)	C ₁₀ H ₁₈ O	1.02	000562-74-3

4. 结论

本研究对柳杉挥发油进行了初步探究,采用气相色谱-质谱联用技术 GC-MS 分析鉴定柳杉叶挥发油的有效化学成分及含量,通过抑菌圈法和菌丝生长速率法,证明了柳杉叶挥发油对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、产气肠杆菌、尖孢镰刀菌都有一定的抑菌生物活性,在农化、食品、药妆、制药、植物医学等不同领域具有潜在的应用价值。有研究表明,通过协同增强效应可以达到天然强抑菌剂的作用[18]-[20],今后实验可以在复合挥发油方面做进一步的研究,为寻找和研制广谱、高效、天然、低毒的杀菌药物进一步提供试验依据,充分发挥柳杉的利用价值。

参考文献

- [1] 夏爱梅, 达良俊, 朱虹霞, 等. 天目山柳杉群落结构及其更新类型[J]. 浙江林学院学报, 2004, 21(1): 44-50.
- [2] 程琳, 黄开勇, 陈仕昌, 等. 用材树种柳杉研究进展与展望[J]. 中南农业科技, 2023, 44(3): 215-221.
- [3] 谢永坚, 黄求应, 雷朝亮. 柳杉精油化学组分及对白蚁的生物活性研究[J]. 华中昆虫研究, 2012(8): 289-292.
- [4] 袁美灵, 文亚峰, 武星彤, 等. 柳杉遗传资源及其研究进展[J]. 四川林业科技, 2019, 40(5): 91-95.
- [5] Horiba, H., Nakagawa, T., Zhu, Q., Ashour, A., Watanabe, A. and Shimizu, K. (2016) Biological Activities of Extracts from Different Parts of *cryptomeria japonica*. *Natural Product Communications*, **11**, 1337-1342. <https://doi.org/10.1177/1934578x1601100939>
- [6] Lima, A., Arruda, F., Janeiro, A., Medeiros, J., Baptista, J., Madruga, J., et al. (2023) Biological Activities of Organic Extracts and Specialized Metabolites from Different Parts of *Cryptomeria japonica* (Cupressaceae)—A Critical Review. *Phytochemistry*, **206**, Article ID: 113520. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2022.113520>
- [7] Arruda, F., Lima, A., Wortham, T., Janeiro, A., Rodrigues, T., Baptista, J., et al. (2024) Sequential Separation of Essential Oil Components during Hydrodistillation of Fresh Foliage from Azorean *Cryptomeria japonica* (Cupressaceae): Effects on Antibacterial, Antifungal, and Free Radical Scavenging Activities. *Plants*, **13**, Article No. 1729. <https://doi.org/10.3390/plants13131729>
- [8] Janeiro, A., Lima, A., Arruda, F., Wortham, T., Rodrigues, T., Baptista, J., et al. (2024) Variations in Essential Oil Biological Activities of Female Cones at Different Developmental Stages from Azorean *Cryptomeria japonica* (Thunb. Ex L.f.) D. Don (Cupressaceae). *Separations*, **11**, Article No. 102. <https://doi.org/10.3390/separations11040102>
- [9] 余林. 柳杉的生态学特性与栽培方法探讨[J]. 林业勘查设计, 2019, 48(4): 89-90.
- [10] Wu, J. and Zhao, W. (2010) New Sesquiterpene and Triterpene from the Fruits of *Cryptomeria fortunei*. *Journal of Asian Natural Products Research*, **12**, 382-387. <https://doi.org/10.1080/10286021003785565>
- [11] 曹兴, 刘南南, 胡燕佩, 等. 百合鳞茎腐烂病原菌的鉴定及生物学特性研究[J]. 河南农业科学, 2018, 47(12): 96-101.
- [12] 胡文杰, 俞静怡, 罗辉. 芳姜黄酮衍生物的设计合成及其抑菌活性研究[J]. 井冈山大学学报(自然科学版), 2024, 45(4): 50-55.
- [13] 王静, 叶敏, 范黎明, 等. 菌丝生长速率法筛选纤维素降解菌的研究[J]. 中国农学通报, 2013, 29(33): 323-326.
- [14] 郝渊鹏, 李静一, 杨瑞, 等. 芳香植物精油的抗菌性及在动物生产中的应用[J]. 植物学报, 2020, 55(5): 644-657.

-
- [15] 杨丽华, 汤志花, 杨晓娜, 等. 山鸡椒根精油成分分析及其抑菌活性和抗氧化活性研究[J]. 中国食品添加剂, 2021, 32(10): 140-146.
- [16] Zhang, Y., Liu, X., Wang, Y., Jiang, P. and Quek, S. (2016) Antibacterial Activity and Mechanism of Cinnamon Essential Oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Food Control*, **59**, 282-289.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.05.032>
- [17] 谢永坚. 柳杉精油化学成分及其对黑胸白蚁的毒杀活性研究[D]: [博士学位论文]. 武汉: 华中农业大学, 2013.
- [18] 曲春阳, 潘磊庆, 屠康, 等. 复合精油对黄曲霉联合抑菌作用研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(10): 128-129.
- [19] 萨仁高娃. 百里香精油与海藻酸盐复合涂膜防控鲜切水果食源性病原微生物作用机制的研究[D]: [博士学位论文]. 大连: 大连理工大学, 2024.
- [20] 卢锷, 唐雅珂, 龚吉军, 等. 不同植物精油对大米青霉和黑曲霉的抑菌效果[J]. 食品工业科技, 2020, 41(3): 110-113+119.