

溴代白头翁素对几种植物病原真菌的抑制作用

申晓慧

(黑龙江省农业科学院 佳木斯分院,黑龙江 佳木斯 154007)

摘要:利用白头翁植物体中的原白头翁素(性质不稳定)人工合成的前体溴代白头翁素对6种植物病原真菌进行了菌丝生长速率和孢子萌发试验。结果表明:溴代白头翁素对病原真菌具有很高的抑制效果,在浓度为1 000.000和500.000 mg·L⁻¹时,该药剂对所供试的病原真菌的菌丝生长抑制率均为100%,其中对黄瓜菌核病菌的抑制效果最好,EC₅₀为26.810 mg·L⁻¹,当浓度为125.000 mg·L⁻¹时,除对烟草赤星病菌菌丝生长抑制率为41.07%外,对其它供试病原菌菌丝生长抑制率均在60%以上,当浓度降到15.625 mg·L⁻¹时,对所有供试病菌菌丝生长抑制率均低于10%;该药剂对供试病原菌孢子萌发具有很高抑制效果,当浓度为125.000 mg·L⁻¹时溴代白头翁素对所供试的病原真菌孢子萌发抑制率均为100%,对病菌孢子萌发抑制效果都好于常用的商品药剂,当浓度降到31.250 mg·L⁻¹时对供试的病原菌的孢子萌发抑制率仍高于50%。

关键词:溴代白头翁素;抑菌活性;生长速率法;孢子萌发法

中图分类号:S482.2⁺92

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2010)10-0063-03

从植物中寻找杀菌抑菌物质是开发新型杀菌剂的一条有效途径^[1]。目前,对白头翁的研究多见于医学上,在农业生产方面仅有研究表明,以原白头翁素的结构为基础合成的拟白头翁素系列化合物对小麦赤霉病菌和水稻白叶枯病菌表现出很好的活性,可直接杀死分生孢子和菌丝,并具有增产作用^[2]。该试验利用原白头翁素的前体化合物溴代白头翁素对几种病原真菌进行了抑菌试验,旨在为植物源杀菌剂的开发和利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌种有玉米弯孢叶斑病菌(*Curvularia lunata* Boed.)、葡萄白腐病菌[*Coniella diplodiella* (Speg.) Petrak&Sydow]、黄瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*)、红景天立枯病菌(*Rhizoctonia solani* Kuhn)、烟草赤星病菌[*Alternaria alternata* (Fries) Keissler]、黄瓜菌核病菌[*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary]共6种。

供试药剂有:50%代森锰锌可湿性粉剂(河北双吉化工有限公司),50%纯品多菌灵可湿性粉

剂(北京联兴化工有限公司),50%福美双可湿性粉剂(南通市宝叶化工有限公司制造)。

供试培养基为PSA培养基:马铃薯200 g,蔗糖20 g,琼脂20 g,水1 000 mL。

1.2 方法

原白头翁素的衍生物,5-溴甲基-2(5H)呋喃酮是按照Scheme 1所示的路线^[3](见图1)和条件下,从丙烯醛和丙二酸作为起始原料,经3步反应得到。合成得到的5-溴甲基-2(5H)呋喃酮溶解于无水乙醚中。使用之前减压蒸去乙醚用1:5 000曲拉通溶液配制成所需浓度。

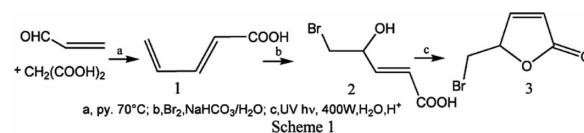


图1 5-溴甲基-2(5H)呋喃酮合成示意图

1.2.1 病原真菌菌丝生长速率试验 在生长速率试验^[4]中,采用琼脂平板法(PSA培养基)测定植物样品提取液对供试菌种的抑菌作用。在无菌条件下,取一定量的植物提取液加入到已融化的培养基(灭菌后冷却45~50℃),稀释浓度为1 000.000、500.000、250.000、125.000、62.500、31.250、15.625 mg·L⁻¹,摇匀后趁热倒入直径为9 cm的培养皿中制成平板,不加药剂为对照组。待平板凝固后接入已培养好的、生长一致的供试病菌的小菌饼(直径为6 mm)。每皿一块,每处理

收稿日期:2010-06-25

基金项目:黑龙江省农业科学院青年基金

作者简介:申晓慧(1980-),女,吉林省扶余县人,硕士,助理研究员,从事大豆高产栽培与生理生化研究。E-mail: xiaohuishen@126.com。

重复 3 次,26℃下恒温培养箱中培养,至对照组病原菌长满皿后,用十字交叉法测量供试真菌菌落生长直径,溴代白头翁素对病菌的菌丝生长速率试验方法同上。计算公式:

菌落直径/mm=测量菌落直径平均值-6.0

菌丝生长抑制率/%=(对照菌落生长直径-处理菌落生长直径)/对照菌落生长直径×100

1.2.2 孢子萌发试验 采用载玻片法^[4]测定对孢子萌发的影响,将病菌培养一定时间后使其产孢,加无菌水稀释到 10 倍物镜下每视野中 50 个孢子左右。将含药培养基切成 2 cm×2 cm 的小块,3 次重复,稀释浓度分别为:125.000、62.500、31.250、15.625 mg·L⁻¹,不加药剂为对照组。将已制好的孢子悬浮液每小块上滴 1 滴,轻轻摇动摊平使其均匀分布,置于 22~26℃培养箱内培养,18~24 h 后再在显微镜下观察孢子萌发情况。计算公式为:

孢子萌发率/%=萌发的孢子数/检查孢子总数×100

孢子萌发抑制率/%=(对照孢子萌发率-处理孢子萌发率)/对照孢子萌发率×100

2 结果与分析

2.1 溴代白头翁素对 6 种病原菌的菌丝抑制率

从表 1 中可知,溴代白头翁素对所供试病原菌的抑制效果非常好,EC₅₀ 都在 100.000 mg·L⁻¹ 以下。其中对黄瓜菌核病菌的抑制率为最好,EC₅₀ 为 26.810 mg·L⁻¹。由图 2 可知,当浓度为 500.000 和 1 000.000 mg·L⁻¹ 时,对所有病菌的抑制率均为 100%;在浓度为 31.250 mg·L⁻¹ 时,对黄瓜菌核病菌的抑制率仍能达到 75.00% 以上,当浓度减半即 15.625 mg·L⁻¹ 时抑制率却下降到 9.36%,反差很大,说明在这 2 个浓度之间还存在很大的浓度梯度差值;在浓度为 125.000 mg·L⁻¹ 时,对红景天立枯病菌和葡萄白腐病菌抑制率在 80% 以上,对黄瓜枯萎病菌的抑制率在 75% 以上,而当浓度在此基础上减半时即为 62.500 mg·L⁻¹ 时抑制率小于 50%;在浓度为 125.000 mg·L⁻¹ 时,对玉米弯孢叶斑病菌的抑制率为 60.19%,对烟草赤星病菌抑制率则为 40% 左右。

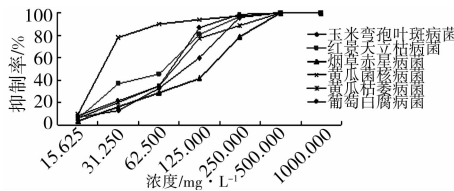


图 2 溴代白头翁素对 6 种植物病原真菌的菌丝生长抑制率

表 1 溴代白头翁素对 6 种病原真菌的毒力分析结果

病原真菌	毒力回归方程 (y=a+bx)	EC ₅₀ /mg·L ⁻¹	相关系数 r
红景天立枯病菌	y=-0.2903+3.0709x	52.81	0.9606
烟草赤星病菌	y=-1.1175+3.2348x	77.83	0.8951
玉米弯孢叶斑病菌	y=-0.9073+3.2498x	65.73	0.9421
黄瓜菌核病菌	y=1.396+2.5232x	26.81	0.9702
黄瓜枯萎病菌	y=-0.6596+3.1479x	62.83	0.9413
葡萄白腐病菌	y=-0.5299+3.1879x	54.28	0.9637

2.2 溴代白头翁素对 4 种病原菌的孢子萌发抑制率

溴代白头翁素高浓度时对葡萄白腐病菌的孢

表 2 溴代白头翁素对 4 种病原菌孢子萌发率和抑制率的分析

病原真菌	药剂	浓度/mg·L ⁻¹	萌发率/%	抑制率/%
烟草	溴代	125.000		100.00
		62.500	3.33	96.38
赤星	白头	31.250	14.67	84.09
病菌	翁素	15.625	88.67	3.79
	代森锰锌	1250.000	28.69	77.37
玉米	CK	—	92.16	—
	溴代	125.000		100.00
弯孢叶	白头	62.500		100.00
斑病菌	翁素	31.250	38.00	59.91
		15.625	69.44	26.74
	纯品多菌灵	830.000	21.71	82.59
	CK	—	94.79	—
黄瓜	溴代	125.000		100.00
枯萎	白头	62.500	0.00	100.00
病菌	翁素	31.250	28.00	70.08
		15.625	89.33	4.53
	纯品多菌灵	830.000	16.21	89.55
	CK	—	93.57	—
葡萄	溴代白	125.000		100.00
白腐	头翁素	62.500		100.00
病菌		31.250	42.00	50.40
		15.625	84.00	0.79
	福美双	1000.000		100.00
	CK	—	84.67	—

注:所选的药剂是对该病菌常用的商品药剂。浓度为对该病菌使用时所用的标准剂量。

子萌发抑制率与商品药剂一致均为 100%,而对其它病原真菌的孢子萌发抑制率均高于商品药剂,除对烟草赤星病菌在浓度为 $62.500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时抑制率为 96.38%外,对其它 3 种病菌的孢子萌发抑制率均为 100%。在浓度为 $31.250\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时对烟草赤星病菌和黄瓜枯萎病菌的抑制率分别为 84.09% 和 70.08%,当浓度降到 $15.625\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时溴代白头翁素表现为对供试的各种病菌的抑制率分别为 3.79%、26.74%、4.53%和 0.79%,下降幅度较大。

4 结论与讨论

溴代白头翁素对植物病原真菌菌丝生长有较高的抑制率。在 $1\,000.000$ 和 $500.000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下,对所有供试的病原真菌的抑制率都为 100%。在浓度为 $125.000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时除了对烟草赤星病菌的抑制率为 41.07%外,对其它几种病菌的抑制率都在 60%以上,其中对黄瓜菌核病菌的抑制率在 90%以上。对其它病原真菌也具有很好的抑制效果。对供试病原真菌的孢子萌发也具有很高的抑制效果,在浓度为 $125.000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,对所有供试病菌孢子萌发抑制率均为 100%,

当浓度降到 $31.250\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,对所供试病菌孢子萌发抑制率也均在 50%以上。

由于原白头翁素异常地不稳定而易转变成白头翁素,要探讨原白头翁素的生物活性,有必要合成易转变成它的前体。为此选择了 5-溴甲基-2(5H)-呋喃酮(溴代白头翁素)。该化合物失去溴化氢可转变成原白头翁素,而原白头翁素和溴化氢发生加成反应可以得到它。在实际生产中一旦药剂施入田间还会受到天气变化,以及动植物和人为原因等其它外界条件的影响。这些特点在室内药剂试验中无法体现,所以药剂使用仍需多次田间药效试验结果来证明。

参考文献:

- [1] 张国珍,樊英,丁万隆,等. 麻黄和细辛挥发油的抗真菌作用[J]. 植物学报,1995,22(4):73-75.
- [2] 张超,吴恭谦,伍越寰,等. 拟原白头翁素 A 大田防治小麦赤霉病药效试验[J]. 安徽农业科学,1999,27(4):391-392.
- [3] Estopa C,Font J,Moreno-Manas M. New Synthetic Entries to γ -HETEROMETHYL-SUBSTITUTED α,β -BUTENOLIDES[J]. TetrahedronLetter,1981,22(15):1467-1470.
- [4] 方中达. 植病研究方法[M]. 3 版. 北京:中国农业出版社,1998.

Inhibitory Effect of 5-Bromomethyl-2(5H)-Furanone against Several Pathogene

SHEN Xiao-hui

(Jiamusi Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Jiamusi, Heilongjiang 154007)

Abstract: 5-Bromomethyl-2(5H)-Furanone is forebody of Protoanemonin that is tested to the 6 kinds of the hypha of plant pathogene fungus. The results showed: 5-Bromomethyl-2(5H)-Furanone had higher inhibition rate. The inhibition rate was 100% at concentration of $1\,000.000$ and $500.000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ in all the provided pathogene. It had highest inhibition rate to *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, the EC_{50} was $26.810\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. When the concentration was $125.000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, the inhibition were more that 60% except *Alternaria alternata* (Fries) Keissler which was 41.07%; When the concentration was $15.625\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, all the inhibition rate were under 10%; The agentia had high inhibition rate to spore germination, when the concentration was $125.000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, the spore germination inhibition rate were 100%, and higher than commercial agentia, when the concentration was $31.250\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, the spore germination inhibition rate were still higher than 50%.

Key words: 5-Bromomethyl-2(5H)-Furanone; antibacterial activity; growth rate method; spore germination method