

陈绪涛,柴兆元,霍光华,等.木荷皂苷对稻瘟病原细胞的致毒作用[J].江苏农业科学,2017,45(5):86-90.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.05.023

木荷皂苷对稻瘟病原细胞的致毒作用

陈绪涛,柴兆元,霍光华,彭玉萌,陈明辉,黄建平,李时贵

(江西农业大学生物资源保护和利用研究所/生物科学与工程学院,江西南昌 330045)

摘要:为了探索木荷皂苷抗稻瘟病菌的作用方式,通过显微观察、血球计数板计数、活体侵染等方法,测定木荷 5 种皂苷对稻瘟病菌孢子和附着胞的致毒作用。结果显示,木荷皂苷对稻瘟病菌孢子及附着胞的抑制作用均强于阳性对照稻瘟灵,R2-A、R2-1、R2-2、R2-3、R3-4、稻瘟灵对稻瘟病菌的孢子萌发抑制 EC_{50} 分别为 2.73、2.27、0.61、0.95、4.68、13.94 $\mu\text{g/mL}$;在浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 时,它们对孢子产附着胞的抑制率分别为 78.68%、93.27%、97.23%、91.93%、36.34%、9.11%;抑制稻瘟病菌附着胞产黑色素的 MIC 分别为 7.0、6.0、4.0、6.5、17.0、18.0 $\mu\text{g/mL}$ 。受处理的稻瘟病菌孢子侵染活体水稻叶片能力会不同程度下降,同时抑制附着胞黑色素的积聚成为空胞,难以形成高压渗透钉,阻断了稻瘟病菌的侵染传播。研究表明,木荷皂苷抗稻瘟病菌对稻瘟病原不同类型细胞不具选择性,除了作用于菌丝细胞膜外,还可通过抑制孢子萌发、附着胞黑色素积累等方式产生作用;R2-1、R2-2、R2-3 是木荷抗稻瘟病菌的主要活性先导物。

关键词:木荷皂苷;稻瘟病菌;孢子;附着胞;作用方式

中图分类号: S435.111.4⁺1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)05-0086-05

木荷(*Schima superba* Gardn. et Champ)为茶科木荷属植物,是我国中部到南部常绿阔叶林、常绿阔叶-落叶混交林的优势树种或群落上层的共建树种,在我国除自然分布外,还被广泛种植。木荷可作为优质用材、美丽观赏树、防火植被带树种,根皮和叶还可入药,具攻毒消肿、杀虫催吐的作用,主治疗疮、无名肿毒等,树皮甲醇提取物对小菜蛾、菜青虫均具有极强的拒食活性^[1]。

在记载的木荷属(*Schima* Reinw.)植物(世界上约有 30 余种,我国分布 21 种)中,木荷和红木荷(*Schima wallichii*)被认为是有毒植物。已报道的木荷属植物皂苷有 5 种,它们均属齐墩果烷型三萜皂苷,其苷元有玉蕊醇(barrigenol)、高根二醇(erythriol)、山茶皂苷元 A(camelliagenin A)。某些皂苷在 3 位连接 1 个由鼠李糖、半乳糖、葡萄糖和葡萄糖醛酸组成的糖基侧链,在 22 位连接 1 个当归酰酯基^[2-5]。某些皂苷显示出较强的肿瘤细胞生长抑制活性^[2,5-6]。

笔者所在课题组以稻瘟病菌为靶标生物,筛选并分离出具有强杀稻瘟病菌活性的木荷皂苷混合物 M2IGR5($EC_{50} = 16.41 \mu\text{g/mL}$),其有效浓度与生产上使用的化学品富士 1 号防治稻瘟病中使用的有效浓度相当^[7]。用它处理稻瘟病菌,导致菌丝断裂、细胞肿胀、去壁的原生质体变形黏连、细胞膜通透性增大、完整性丧失,从而引起内含物大量渗

漏,甚至还间接引起细胞壁降解,加速了稻瘟病菌细胞的凋亡^[8]。从其级分 M2IGR5R1 中分离鉴定报道了 2 种新的齐墩果烷型三萜皂苷:母核属于含有 5 个六元环的玉蕊醇,环上有 7 个甲基,3 个羟基,2 个当归酰酯基取代,12、13 位有 1 个双键,3 位通过氧原子连接 1 个寡糖基(由鼠李糖、半乳糖、葡萄糖和葡萄糖醛酸基组成或由鼠李糖、木糖、葡萄糖和葡萄糖醛酸基组成),但抗稻瘟病菌活性不及混合物^[9]。进一步对其级分 M2IGR5R2、M2IGR5R3 分离又获得 7 种活性皂苷,其中 5 种活性较强^[10]。本研究从稻瘟病原细胞水平上,研究 5 种木荷皂苷对稻瘟病菌孢子及附着胞的致毒作用及方式,确定抗稻瘟病菌活性皂苷先导物,为开发新型木荷皂苷杀稻瘟剂提供了分子设计思路。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株及水稻:稻瘟病菌(*Magnaporthe oryzae*)10Z3-5,由江西省农业科学院植物保护研究所提供;汕 B 稻(*Oryza Sativa* L.),由江西农业大学作物生理和栽培江西省重点实验室提供。木荷皂苷 R2-A、R2-1、R2-2、R2-3、R3-4,由江西省南昌市生物资源保护和利用重点实验室分离制得^[10](表 1)。

药剂及培养基:用 0.1% 二甲基亚砜(DMSO)溶液溶解各个皂苷,配制木荷皂苷母液终浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 。以市售 30% 稻瘟灵(isoprothiolane)乳油为阳性对照(四川省川东农药化工有限公司)。马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar,简称 PDA)培养基配方:去皮马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂 20 g,加蒸馏水至 1 L,121 $^{\circ}\text{C}$ 湿热灭菌 30 min;稻秆汁玉米粉(straw juice corn flour agar)培养基配方:水稻秆 40 g,玉米粉 20 g,琼脂 20 g,加稻秆浸泡液至 1 L,121 $^{\circ}\text{C}$ 湿热灭菌 30 min。

供试仪器:NIKON ECLIPSE E100 数码显微镜(上海洋

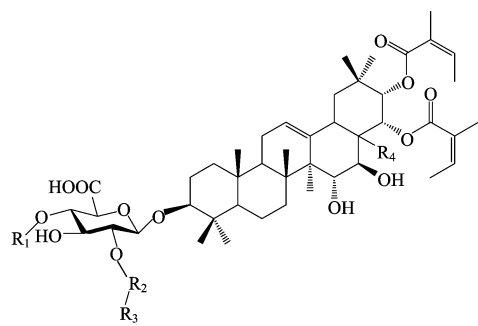
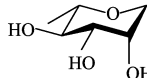
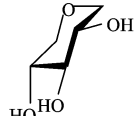
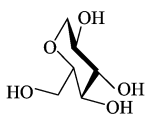
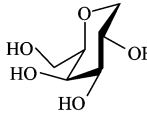
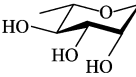
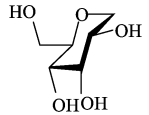
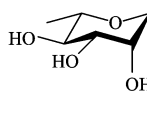
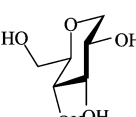
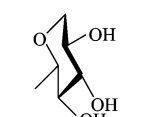
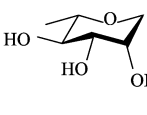
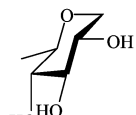
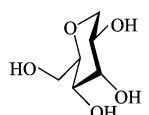
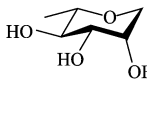
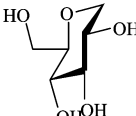
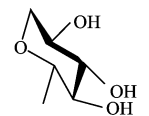
收稿日期:2016-01-25

基金项目:国家自然科学基金(编号:21266010);江西省研究生创新专项资金(编号:YC2014-S196);江西省自然科学基金(编号:20132BAB204028,20142BAB214023)。

作者简介:陈绪涛(1990—),男,江西南昌人,硕士研究生,主要从事微生物学研究。E-mail:591354821@qq.com。

通信作者:霍光华,博士,教授,主要从事天然药用成分鉴定、制备与产品开发研究。E-mail:hgh3828079@sohu.com。

表 1 木荷皂苷结构式

结构式	代码	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
	R2 - A				—CH ₂ OH
	R2 - 1				—CH ₂ OH
	R2 - 2				—CH ₂ OH
	R2 - 3				H
	R3 - 4				H

仕光电科技有限公司);SHP-250PE 智能生化培养箱(上海三发科学仪器有限公司);YXQ-65-50A 立式压力蒸汽灭菌锅(上海博迅实业有限公司);SZ93-1 自动双重水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂)等。

1.2 方法

1.2.1 稻瘟病菌培养及孢子制备 将稻瘟病菌菌种接于 PDA 培养基中,28 ℃ 黑暗活化培养 7 d,转接于稻秆汁玉米粉培养基中,28 ℃ 黑暗培养 5 d 后,交替光照(光—暗周期 12 h—12 h)培养 2~3 d 促其产孢,每皿加灭菌水 10 mL,灭菌毛笔刷洗菌落表面孢子,4 层纱布过滤除菌丝,将孢子悬浮液用无菌水调整至浓度为 1 万个/mL 备用^[11-12]。

1.2.2 孢子萌发率的测定 取无菌的 96 孔板,转移 50 μL 上述孢子悬浮液至每个孔,分别吸取 50 μL R2-A、R2-1、R2-2、R2-3、R3-4 等 5 种木荷皂苷母液加入第 1 个孔中,混匀后移 50 μL 至第 2 孔,依次进行 2 倍稀释,制成 50.00、25.00、12.50、6.25、3.13、1.56、0.78、0.39 μg/mL 浓度梯度的带药孢子悬液,用 0.1% DMSO 无菌水溶液作空白对照(CK)。28 ℃ 黑暗保湿培养,血球计数板显微镜观察孢子萌发情况,以芽管长度≥孢子短径视为萌发,待空白组大部分孢子萌发后,随机选取视野,观察约 200 个分生孢子,统计孢子萌发数量,计算抑制率,相关公式如下:

孢子萌发率 = 萌发的孢子数/镜检的孢子总数 × 100%;
抑制率 = (对照孢子萌发率 - 药剂处理孢子萌发率)/对照孢子萌发率 × 100%。

1.2.3 孢子产附着胞能力测定 取洋葱内表皮(从外向内第 3、4 层),剪为 18 mm × 18 mm 方块,三氯甲烷中浸泡 20 min,其间轻轻摆动表皮,无菌水冲洗 3 遍,黏附于无菌载

玻片上(2 mol/L 硫酸溶液浸泡 30 min,无菌水冲洗至中性),风干。在洋葱表皮上滴加含 10 μg/mL 带药的孢子悬液 50 μL,用 0.1% DMSO 无菌水溶液作空白对照(CK)。28 ℃ 保湿培养,显微镜观察孢子产生附着胞情况,待空白组大部分孢子产生附着胞时,随机选取视野,观察约 200 个分生孢子,统计孢子产生附着胞数量,计算抑制率^[13],相关公式如下:

附着胞形成率 = 产生的附着胞数/镜检的孢子总数 × 100%;

附着胞抑制率 = (对照附着胞形成率 - 药剂处理附着胞形成率)/对照附着胞形成率 × 100%。

1.2.4 附着胞产黑色素的测定 用乙醇擦拭赛璐珞薄膜,无菌水漂洗晾干,在膜上滴加 20 μL 浓度为 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0 μg/mL 的带药孢子悬液,28 ℃ 保湿培养 2 d,在显微镜下观察附着胞色素产生情况,不产黑色素或呈现浅黄色的最低浓度即为抑制附着胞黑色素化的 MIC。在上述梯度浓度范围内变色不明显的,用同样方法放大浓度进一步测定^[14-15]。

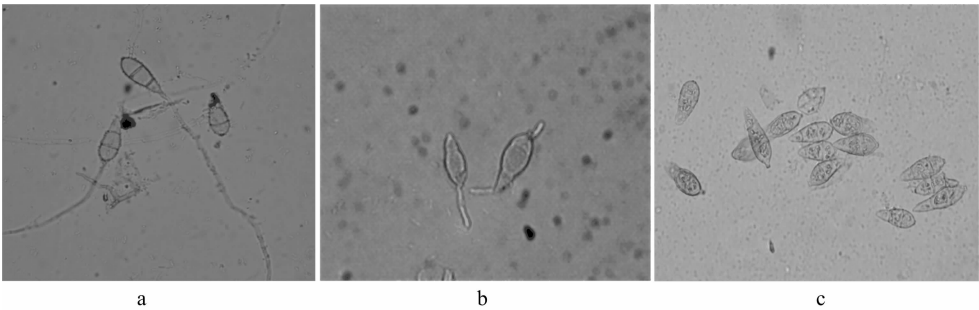
1.2.5 孢子侵染活体水稻能力测定 将水稻种子用 75% 乙醇消毒,无菌水冲洗后,平铺于垫有滤纸片的培养皿(内径为 11 cm)中,加无菌水保湿,28 ℃ 恒温培养至发芽,待芽长 5 cm 左右,移栽至盛有泥土的瓷盆(内径 20 cm)中,自然条件培养,待水稻长至 2~3 叶期时施少量尿素保绿、钾肥增宽叶面。用含 1% 吐温-40 的无菌水配制含各皂苷终浓度为 10 μg/mL 的稻瘟病菌孢子悬浮液(5 × 10³ 个/mL),选取水稻叶片长势基本一致的叶片,在叶片上滴加 20 μL 上述带药孢子悬浮液和对照孢子悬浮液。保湿培养 6 d 后,观察发病病情,并拍照。

1.3 数据分析

数据处理采用 DPS 7.5 软件进行统计分析^[16]。

2 结果与分析

2.1 对稻瘟病菌孢子萌发的致毒作用



a—空白组；b、c—木荷皂苷处理组
图1 稻瘟病菌孢子萌发显微观察结果(10×40)

在浓度为 50 μg/mL 时,5 种皂苷对稻瘟病菌孢子萌发抑制率均达到 80% 以上;随着药物浓度的降低,各皂苷对稻瘟病菌孢子萌发抑制率也随之下降,当浓度低至 0.39 μg/mL 时仍对稻瘟病菌孢子萌发具有一定的抑制作用。

采用剂量对数-抑菌率概率值法^[13]求 R2-A、R2-1、R2-2、R2-3、R3-4、稻瘟灵对稻瘟病菌孢子萌发抑制的毒力方程分别为 $y = 0.7363x + 4.6788$ ($r^2 = 0.9902$)、 $y = 0.8655x + 4.6925$ ($r^2 = 0.9631$)、 $y = 0.9821x + 5.2137$

健康的稻瘟病菌孢子饱满完整,双层隔膜明显,大部分孢子从顶端萌发出芽管(图 1-a)。受木荷皂苷作用后,孢子受到一定程度的损伤,隔膜不明显,甚至有从隔膜处断裂成为单隔膜孢子现象,极少数会从 2 端或侧面萌发出芽管(图 1-b),甚至芽管不萌发(图 1-c)。

($r^2 = 0.9406$)、 $y = 0.8254x + 5.0202$ ($r^2 = 0.9311$)、 $y = 1.1111x + 4.2554$ ($r^2 = 0.9937$)、 $y = 1.0168x + 3.8365$ ($r^2 = 0.9911$)。R2-A、R2-1、R2-2、R2-3、R3-4 对稻瘟病菌孢子抑制的 EC₅₀ 分别为 2.73、2.27、0.61、0.95、4.68 μg/mL,而稻瘟灵对孢子萌发抑制的 EC₅₀ 为 13.94 μg/mL,R2-A、R2-1、R2-2、R2-3、R3-4 的抑制效果分别是稻瘟灵的 5.11、6.14、22.85、14.67、2.98 倍。5 种木荷皂苷对稻瘟病菌孢子萌发抑制活性均强于生产上同浓度抗稻瘟病药物稻瘟灵(表 2)。

表 2 不同浓度皂苷对稻瘟病菌孢子萌发的抑制率

试验组	不同皂苷浓度的抑制率(%)							
	50.00 μg/mL	25.00 μg/mL	12.50 μg/mL	6.25 μg/mL	3.13 μg/mL	1.56 μg/mL	0.78 μg/mL	0.39 μg/mL
R2-A	82.15 ± 0.74	73.48 ± 0.43	72.38 ± 0.65	61.53 ± 0.41	50.78 ± 0.21	41.98 ± 0.34	35.00 ± 0.42	26.28 ± 0.09
R2-1	91.18 ± 0.21	82.15 ± 0.17	70.00 ± 0.77	61.15 ± 0.14	47.58 ± 0.16	45.00 ± 0.11	36.80 ± 0.19	29.18 ± 0.32
R2-2	98.48 ± 0.52	94.88 ± 0.69	86.55 ± 0.13	77.28 ± 0.51	70.60 ± 0.54	66.68 ± 0.42	57.98 ± 0.89	48.28 ± 0.15
R2-3	94.40 ± 0.24	91.13 ± 0.18	76.60 ± 0.58	68.73 ± 0.16	61.73 ± 0.15	55.00 ± 0.12	48.93 ± 0.17	45.00 ± 0.21
R3-4	86.54 ± 0.18	80.24 ± 0.32	67.43 ± 0.72	59.17 ± 0.39	40.56 ± 0.13	29.71 ± 0.53	16.77 ± 0.19	13.05 ± 0.17
稻瘟灵	74.45 ± 0.19	60.44 ± 0.16	42.38 ± 0.26	35.06 ± 0.21	25.44 ± 0.32	17.91 ± 0.17	11.02 ± 0.63	5.48 ± 0.71

2.2 对稻瘟病菌孢子产附着胞能力的影响

R2-A、R2-1、R2-2、R2-3、R3-4、稻瘟灵在浓度为 10 μg/mL 时,抑制稻瘟病菌孢子产附着胞率分别为 78.68%、93.27%、97.23%、91.93%、36.34%、9.11%;5 种皂苷的抑制能力分别是稻瘟灵的 8.64、10.24、10.67、10.09、3.99 倍,其中 R2-2 对稻瘟病菌孢子产附着胞的抑制作用尤为明显,抑制率达到了 97.23%(表 3)。各皂苷抑制稻瘟病菌孢子产附着胞的能力与抑制孢子萌发的能力基本一致。R2-1 抑制稻瘟病菌孢子产附着胞的能力最高是稻瘟灵的 10 倍多,而抑制稻瘟病菌孢子萌发最高约为稻瘟灵的 5 倍。

空白组孢子产生的附着胞圆润饱满,黑色素积累量多,成熟的附着胞会从附着胞小孔产生粗壮的侵染栓(图 2-a);皂苷作用后的附着胞形态有所不同,孢子尖端只产生芽管或略膨大,但不能正常形成附着胞(图 2-b);图 2-c 所示为受皂苷作用后稻瘟病菌孢子产生中空附着胞,且附着胞内没有黑色素;受药后孢子产生的附着胞不能积聚黑色素,且相比正

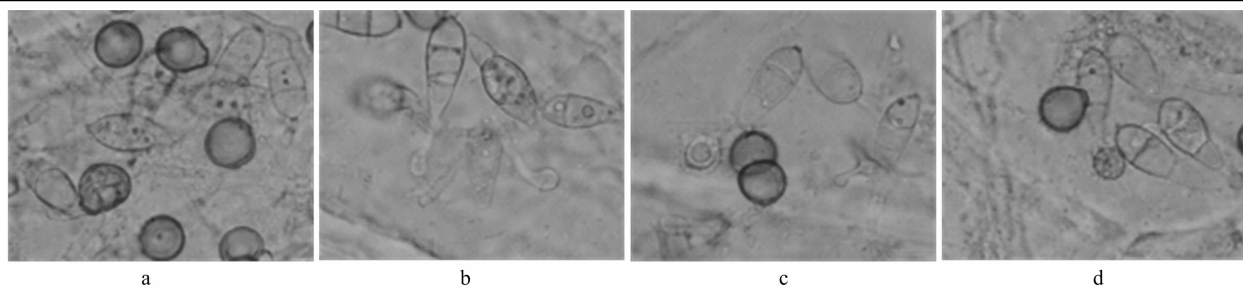
表 3 不同皂苷对稻瘟病菌孢子产附着胞的影响

附着胞	形成率(%)	抑制率(%)
CK	70.78 ± 0.49	0.00 ± 0.00
R2-A	15.09 ± 0.32	78.68 ± 0.29
R2-1	4.76 ± 0.45	93.27 ± 0.35
R2-2	1.96 ± 0.38	97.23 ± 0.22
R2-3	5.71 ± 0.62	91.93 ± 0.34
R3-4	45.06 ± 0.70	36.34 ± 0.58
稻瘟灵	64.33 ± 0.65	9.11 ± 0.73

常附着胞直径明显变小(图 2-d)。

2.3 对附着胞黑色素化的影响

R2-A、R2-1、R2-2、R2-3、R3-4 对附着胞黑色素化的 MIC 分别是 7.0、6.0、4.0、6.5、17.0 μg/mL,而稻瘟灵对附着胞黑色素化的 MIC 为 18.0 μg/mL。5 种皂苷抑制附着胞黑色素化能力分别是稻瘟灵的 2.57、3.00、4.50、2.77、1.06 倍,其中 R2-2 对附着胞产色素的抑制能力最强。R2-A、R2-1、R2-2、R2-3 对附着胞产生黑色素的抑制作用明显



a—空白组, 正常的附着胞; b、c、d—木荷皂苷处理组, 分别为小形态附着胞、空附着胞、透明附着胞

图2 稻瘟病菌孢子产附着胞形态(10×40)

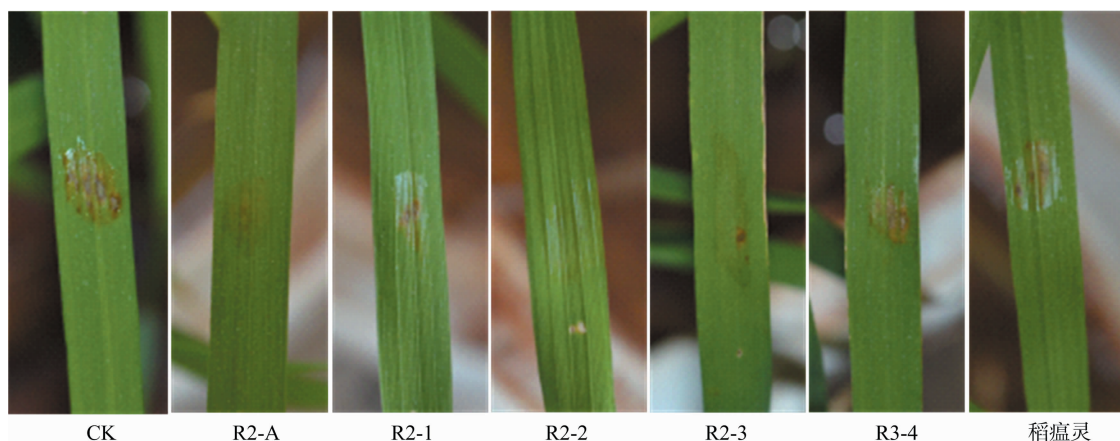


图3 10 μg/mL 浓度下不同处理组孢子的侵染能力

强于 R3-4 和稻瘟灵, 其抑制能力大小排序为 R2-2 > R2-1 > R2-3 > R2-A > R3-4 > 稻瘟灵。

2.4 对孢子侵染活体水稻叶片的致病力影响

各处理组浓度为 10 μg/mL, 经过 6 d 的发病培养后, 对孢子侵染水稻叶片组织的抑制效果不同。CK 组孢子侵染力强, 发病严重, 单位面积上菌斑数量多, 病斑连接成片; 稻瘟灵处理组出现 6 个明显的病斑, 病斑扩大趋势明显; R2-A 组出现 4 个小的侵染斑点, R2-1 组仅有 2 个明显病斑出现, R2-2 对稻瘟病菌的孢子有强烈的抑制作用, 叶面上完全没有病斑出现, R2-3 对稻瘟病菌孢子也具有强烈的抑制作用, 只出现 1 个病斑, R3-4 组发病严重, 抗病效果较弱, 对稻瘟病菌孢子在活体水稻叶片上的侵染能力影响较小。5 种木荷皂苷抗稻瘟病菌侵染水稻能力大小排序为 R2-2 > R2-3 > R2-1 > R2-A > R3-4 > 稻瘟灵。

3 结论与讨论

水稻是我国乃至世界的主要粮食作物之一, 稻瘟病是引起水稻减产的主要病害。稻瘟病是由稻瘟病原 (*Magnaporthe oryzae*) 引起的分布广、发病部位多、潜伏期长、危害严重的全球性病害, 一般可导致水稻减产 11% ~ 30%^[17]。稻瘟病菌主要以分生孢子在适宜条件下对水稻进行侵染和病害传播, 其侵染过程有以下几步^[18]: (1) 稻瘟病菌孢子接触寄主表皮后, 孢子尖端释放黏胶使孢子紧密黏附于细胞表面; (2) 孢子萌发出芽管后继而分化为附着胞; (3) 附着胞产生侵染钉穿透角质层及表皮细胞壁; (4) 病菌分化为次生菌丝在寄主细胞中生长并继续侵染邻近细胞, 且能深入叶肉细胞; (5)

5~7 d 开始出现发病症状, 分生孢子梗上分化出大量的新孢子并脱落释放出来; (6) 新形成的分生孢子可重新侵染寄主细胞, 后期以菌丝体和分生孢子在病稻草、病稻谷等上越冬, 完成侵染循环。由此可见, 孢子及附着胞在整个侵染过程中起着关键作用。稻瘟病菌附着胞的形成不仅受遗传因子调控, 还受外界因素的诱导^[19-20]。

R2-A、R2-1、R2-2、R2-3、R3-4 的 EC_{50} 分别为 2.73、2.27、0.61、0.95、4.68 μg/mL, 而阳性对照药物稻瘟灵对抑制稻瘟病菌孢子萌发的 EC_{50} 为 13.94 μg/mL。5 种皂苷的抑菌活性分别是稻瘟灵的 5.11、6.14、22.85、14.67、2.98 倍; 各皂苷浓度为 10 μg/mL 时, 抑制稻瘟病菌孢子产附着胞率分别为 78.68%、93.27%、97.23%、91.93%、36.34%, 而稻瘟灵的仅为 9.11%, 各皂苷对抑制稻瘟病菌孢子产附着胞的能力分别是稻瘟灵的 8.64、10.24、10.67、10.09、3.99 倍; 各皂苷对附着胞黑色素化的 MIC 分别是 7.0、6.0、4.0、6.5、17.0 μg/mL, 稻瘟灵的 MIC 为 18.0 μg/mL, 其抑制附着胞黑色素化能力分别是稻瘟灵的 2.57、3.00、4.50、2.77、1.06 倍; 5 种木荷皂苷在稻瘟病菌孢子侵染活体水稻叶片试验中表现不同, 其抗稻瘟病菌侵染能力大小排序为 R2-2 > R2-3 > R2-1 > R2-A > R3-4 > 稻瘟灵。其中 R2-1、R2-2、R2-3 等 3 种皂苷对稻瘟病菌细胞的致毒作用强烈, 受药后大部分孢子萌发活力下降; 少数孢子尖端只产生芽管而不能进一步萌发为附着胞, 且附着胞数量明显减少、直径缩小, 附着胞内的色素积累减少, 有的甚至萎缩、中空、透明, 从而使附着胞难以形成高压渗透钉, 不能产生足够的膨压侵染穿透组织。由此可见, R2-1、R2-2、R2-3 是木

荷抗稻瘟病菌的主要活性先导物。

目前,对稻瘟病菌的防治药物多种多样,不同药物对稻瘟病菌的抑菌机制各不相同。茶多酚对稻瘟病菌作用机制主要是破坏菌体的细胞膜结构,抑制过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)活性,使其丧失细胞膜的屏障和酶系的保护功能,最终导致菌体生长受到抑制或死亡^[21]。皂苷抗真菌的主要活性机制是与病原菌生物膜上的甾醇形成复合物,导致微孔形成,使生物膜失去完整性^[22]。茶皂素属三萜类皂苷,对稻瘟菌的菌丝生长和孢子萌发有明显的抑制作用,对三环唑防治稻瘟病具有明显的增效作用^[23]。细胞自噬在稻瘟病菌的孢子萌发和附着胞形成过程中起着很重要的作用,自噬缺陷的稻瘟病菌菌株缺乏足够的膨压而不能侵入水稻表皮,而自噬缺陷菌株的单个孢子中萌发的细胞数和形成的附着胞数与野生型没有差异^[24-26]。稻瘟病菌侵入主要是靠机械作用,但酶或其他作用也可能辅助或加速这一过程的进行。三环唑等农药可以抑制 *BUF1* 基因所编码的酶活性,从而能够有效阻断黑色素的合成,令稻瘟病菌附着胞难以形成高压渗透钉而失去侵染性^[18],但在受伤的水稻表面,稻瘟病菌菌丝可直接侵染而失去防治效果。木荷皂苷对稻瘟病菌的致毒作用,主要作用于病原细胞膜上,不仅导致菌丝细胞完整性和通透性损伤、内含物外泄^[8],而且还可抑制孢子萌发、孢子产附着胞及附着胞积聚黑色素等多个环节,阻断稻瘟病菌侵染过程,有效控制稻瘟病菌的发生和传播,不像三环唑、木荷皂苷对不同类型稻瘟病原细胞不具备选择性。

参考文献:

- [1] 邓志勇,邓业成,刘艳华. 木荷提取物对小菜蛾和菜青虫的拒食活性[J]. 农药,2007,46(12):854-856.
- [2] Ohtsuki T, Miyagawa T, Koyano T, et al. Acylated triterpenoid saponins from *Schima noronhae* and their cell growth inhibitory activity[J]. Journal of Natural Products, 2008, 71(5): 918-921.
- [3] 陈昌祥,叶海亚,申永乐,等. 红木荷树皮的化学成分[J]. 云南植物研究, 1997, 19(2): 201-206.
- [4] 陈维新,吴大刚. 银木荷苷元研究[J]. 化学学报, 1978, 36(3): 229-232.
- [5] 徐文,周光雄,戴毅,等. 木荷茎的化学成分研究[J]. 中草药, 2010, 41(6): 863-866.
- [6] Takashi O, Masaaki S, Takashi K, et al. Steroidal saponins from *Calamus insignis* and their cell growth and cell cycle inhibitory activities[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2006, 14(3): 659-665.
- [7] 冯华根,张长伶,霍光华. 木荷活性成分的分离及其对稻瘟病菌的室内毒力[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(4): 114-117.
- [8] 易磊,霍光华,韩启灿,等. 木荷皂苷对稻瘟病菌细胞形态及生理生化指标的影响[J]. 植物保护学报, 2013, 40(5): 450-456.
- [9] Huo G H, Zhang C L, Zhang Y J. Structure elucidation of two Triterpenoid saponins from leaves of *Schima superba* Gardn. et Champ[J]. Lecture Notes in Electrical Engineering, 2014, 250(2): 915-922.
- [10] 彭玉萌,霍光华,韩启灿,等. 抗稻瘟病菌活性木荷皂甙类似物的分离条件及其分离[J]. 分析化学, 2014, 42(1): 59-64.
- [11] 殷丽青,陈全庆. 培养基和光照对稻瘟病菌产孢量的影响[J]. 上海农业科技, 1991(5): 43-48.
- [12] 王国平,罗宽. 稻瘟病菌产孢培养基的筛选[J]. 湖南农学院学报, 1989(2): 58-62.
- [13] 廖乾生. 抗稻瘟病菌附着胞形成研究[D]. 杭州:浙江大学, 2002.
- [14] 张欣,靳学慧,张亚玲. 三环唑抑制稻瘟病菌 MIC 的测定及菌株产黑色素能力比较[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2010, 22(2): 20-24.
- [15] 张传清,周明国,薛娜. 稻瘟病菌对三环唑的敏感性检测技术与抗药性风险评估[J]. 中国水稻科学, 2005, 19(1): 79-84.
- [16] 唐启义. DPS 数据处理系统[M]. 北京:科学出版社, 2007.
- [17] Daw B D, Zhang L H, Wang Z Z. Salicylic acid enhances antifungal resistance to *Magnaporthe grisea* in rice plants[J]. Australasian Plant Pathology, 2008, 37(6): 637-644.
- [18] 林福呈. 稻瘟病菌附着胞形成的细胞生物学[J]. 植物病理学报, 2001, 31(2): 97-101.
- [19] Jelitto T C, Page H A, Read N D. Role of external signals in regulating the prepenetration phase of infection by the rice blast fungus, *Magnaporthe grisea*[J]. Planta, 1994, 194(4): 471-477.
- [20] Lee Y H, Dean R A. Hydrophobicity of contact surface induces appressorium formation in *Magnaporthe grisea*[J]. FEMS Microbiology Letters, 1994, 115(1): 71-75.
- [21] 汪金莲,邱业先,扶教龙,等. 茶多酚对稻瘟病菌的抑制作用及抑菌机理[J]. 天然产物研究与开发, 2011, 23(5): 918-922.
- [22] Charles G, Jean L, Karl G L, et al. Haemolytic activity, cytotoxicity and membrane cell permeabilization of semi-synthetic and natural lupane- and oleanane-type saponins[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2009, 17(5): 2002-2008.
- [23] 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, 2003.
- [24] Claire V F, Madhumita B, Martin E, et al. Autophagic fungal cell death is necessary for infection by the rice blast fungus[J]. Science, 2006, 312(5773): 580-583.
- [25] Liu X H, Lu J P, Zhang L, et al. Involvement of a *Magnaporthe grisea* serine/threonine kinase gene, *MgATG1*, in appressorium turgor and pathogenesis[J]. Eukaryot Cell, 2007, 6(6): 997-1005.
- [26] Lu J P, Liu X H, Feng X X, et al. An autophagy gene, *MgATG5*, is required for cell differentiation and pathogenesis in *Magnaporthe oryzae*[J]. Curr Genet, 2009, 55(4): 461-473.