

杨小辉,彭玉萌,霍光华,等. 无患子、木荷、广玉兰提取物组方复配及其抗稻瘟病体内、体外活性研究[J]. 江苏农业科学,2017,45(19):179-183.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.19.040

无患子、木荷、广玉兰提取物组方复配及其抗稻瘟病体内、体外活性研究

杨小辉, 彭玉萌, 霍光华, 李 芳, 龙昊知

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

摘要:为了开发植物源抗稻瘟病制剂,借鉴 Wadley 法评价植物源农药复配联合作用的思路,将参与组方的单剂引起 25% 抑菌率的剂量定为中间水平,应用均匀设计安排试验来实现 3 种植物醇提物抗稻瘟病菌活性组方的优化配比。对水稻秧苗进行抗稻瘟病体内、体外活性试验,确定了具有增效作用的 3 种组方,即组方 I 为无患子与广玉兰醇提物浓度的比值为 1 : 5,组方 II 为无患子与木荷醇提物浓度的比值为 1.0 : 2.8,组方 III 为无患子、广玉兰、木荷醇提物浓度的比值为 4.3 : 19.0 : 1.0,体外测得各组方的 EC_{50} 分别为 193.1、132.5、256.1 mg/L,体内盆栽测得各组方的 EC_{50} 分别为 25 637、7 267、7 560 mg/L。无论是易感稻种还是抗性稻种,当组方 II 和组方 III 的浓度达到 4% 时,对稻瘟病的预防和治疗作用均接近完全控制,效果均优于生产上使用的三环唑。表明无患子、木荷、广玉兰等植物有潜在开发抗稻瘟病制剂的价值。

关键词:无患子;木荷;广玉兰;提取物;均匀设计;抗稻瘟病组方

中图分类号:S482.2⁺92 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2017)19-0179-04

水稻是世界主要的粮食作物之一,稻瘟病是由稻瘟病菌(*Magnaporthe oryzae*)引起的水稻灾难性的病害,该病潜伏期长,发病部位多,危害严重。为了防治稻瘟病,人类把主要精力集中在选育水稻抗性品种和开发杀瘟剂上,但抗性品种并不能获得对高度变异的稻瘟病菌的持续抗性,同时携带抗稻瘟病基因的水稻还存在所产稻米品质低下等问题,因此,化学防治成为水稻生产上防治稻瘟病的一种不可缺少的手段。目前,大面积用于防治稻瘟病的化学杀菌剂三环唑等存在环境残留问题,已发现对富士一号具有抗药性的稻瘟病菌变异株,人们期望获得结构新颖、作用方式独特的天然活性产物,从而开发出可以扼制稻瘟病菌高度变异的杀稻瘟剂^[1-2]。

无患子(*Sapindus mukorossi* Gaertn.)主要分布于我国南部、印度、日本和朝鲜半岛,该植物具有广泛的药用价值,其果实可治疗过度流涎、丘疹、癫痫、萎黄病、偏头痛、湿疹、牛皮癣等病,其种子粉可治疗龋齿、关节炎、普通感冒、便秘、作呕等病,其种子可以去除皮肤黄褐色和雀斑、清洗皮肤油性分泌物、制洗发剂等,叶片用于浴池可减缓关节痛、根治痛风、风湿病等^[3]。主要活性成分是其所含的皂苷物质,已发现无患子总皂苷提取物具有抑制光滑念珠菌、白色念珠菌、热带念珠菌^[4]、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、普通变形杆菌和幽门螺旋杆菌等细菌的活性,且幽门螺旋杆菌等菌不会对该提取物产生抗性^[5],该提取物还可以抑制黑曲霉

菌^[6]、苜蓿炭腐病病菌[*Rhizoctonia bataticola* (Taub.) Butl.]和黄连白绢病病菌(*Sclerotium rolfsii*)^[7]等的活性。

木荷(*Schima superba* Gardn. et Champ.)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。它具有优良的防火特性,有时也用作药物。福建省山区农民使用木荷树皮粉驱散野猪和鸟类等以防其糟踏农作物^[8];台湾排湾族人曾用木荷树皮毒杀鱼,其毒性比鱼藤更剧烈,也有人将木荷茎皮作为箭毒使用^[9]。近年来发现,木荷茎皮甲醇提取物可浸杀福寿螺幼螺,并能抑制其上爬^[10];木荷树皮甲醇提取物能引起小菜蛾和菜青虫拒食^[11];用木荷与油茶等 60 余种植物材料提取物可组成杀虫剂^[12]。

本试验从百余种植物中筛选出对稻瘟病菌具有较强抑制活性的植物材料无患子和木荷等,经组方配比和体内、体外活性试验,筛选出具有防治稻瘟病和增效的活性组方。

1 材料与与方法

1.1 试验材料

1.1.1 植物醇提物 试验材料为前期研究中筛选出的植物材料无患子果皮、广玉兰(*Magnolia grandiflora* Linn.)叶、木荷叶,用乙醇溶液提取制得各醇提液,然后将各醇提液真空浓缩至浸膏状备用^[13-14]。

1.1.2 供试菌株和稻种 供试菌株为稻瘟病菌(*Magnaporthe oryzae*)菌株 Z72-1,水稻品种为 C101PKT(1 种易感印度品种)和两优 287(抗性品种),均由江西省农业科学院植物保护研究所提供。

1.1.3 供试农药 75% 三环唑可湿性粉剂,购自江苏禾笑化工有限公司。

1.1.4 培养基 PDA 培养基:200 g 马铃薯、20 g 葡萄糖、15~20 g 琼脂、1 000 mL 自来水,pH 值自然;稻秆玉米培养

收稿日期:2016-10-08

基金项目:国家自然科学基金(编号:21266010);江西省自然科学基金(编号:20142BAB214023、20132BAB204028)。

作者简介:杨小辉(1990—),男,江西南昌人,硕士研究生,主要从事植物与菌物活性产物研究。E-mail:835017787@qq.com。

通信作者:霍光华,博士,教授,主要从事植物与菌物活性产物研究。E-mail:hgh3828079@sohu.com。

基:40 g 稻秆、20 g 玉米、20 g 琼脂、1 000 mL 蒸馏水。

1.2 试验方法

1.2.1 稻瘟病菌孢子悬浮液制备 取培养 10 d 后的产孢平板(稻秆玉米培养基),用无菌水洗下孢子,4 层纱布过滤,调节孢子悬浮液浓度至 1×10^5 个/mL,备用。

1.2.2 各醇提物抑菌活性的测定 采用菌丝生长速率法测定各醇提物的抑菌活性^[15]。

$$\text{抑菌率} = \frac{\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}}{\text{对照菌落直径}} \times 100\%。$$

按照生物统计学概率值换算表将抑菌率换算成概率值(y),以概率值作为因变量,以浓度的对数值(x)作为自变量建立毒力回归方程($y = ax + b$),利用毒力回归方程求得概率值为 5 时的浓度值即为半最大效应浓度(concentration for 50% of maximal effect, EC_{50})。同样的方法计算出概率值为 4.325 5 时的浓度值即为 1/4 最大效应浓度(concentration for 25% of maximal effect, EC_{25})。

1.2.3 植物醇提物组方设计和体外药效评价 根据“1.2.2”节的试验结果,拟合各醇提物的抗稻瘟病菌毒力方程,计算出各醇提物的 EC_{25} 值,并以此为试验中间水平安排均匀设计。应用 DPS 软件逐步回归,求得试验指标抑菌率 Y 和因素浓度对数 X (无患子、广玉兰、木荷分别为 A、B、C)之间的关系,确定获得最高试验指标时各醇提物的浓度配比,并进行验证^[16-19]。

使用 Wadley 法,根据增效系数(SR)来评价药剂混用的增效作用,即 $SR \geq 1.5$ 表示具有增效作用; $SR \leq 0.5$ 表示具有拮抗作用; $0.5 < SR < 1.5$ 为相加作用。增效系数(SR)按公式(1)、公式(2)计算。

$X_1 = (P_A + P_B + P_C) / (P_A/I_A + P_B/I_B + P_C/I_C) \times 100$ 。(1)
式中: X_1 为混剂的 EC_{50} 理论值,mg/L; P_A 、 P_B 、 P_C 分别为混剂中 A、B、C 的百分含量,%; I_A 、 I_B 、 I_C 分别为混剂中 A、B、C 的 EC_{50} 值,mg/L。

$$SR = \frac{X_1}{X_2}。$$
 (2)

式中: SR 为混剂的增效系数; X_1 为混剂的 EC_{50} 理论值,mg/L; X_2 为混剂的 EC_{50} 实测值,mg/L。

1.2.4 盆栽试验^[20]和体内药效评价 盆栽试验于 2012 年在江西省农业科学院植物保护研究所温室内进行,在供试水稻 3~4 叶期时,喷雾接种稻瘟病菌孢子悬浮液(孢子浓度为

1×10^5 个/mL),喷药量以水稻叶片表面有 1 层薄雾为度,每个处理 3 次重复。

1.2.4.1 预防作用试验 首先在水稻秧苗上喷药,24 h 后人工接种稻瘟病菌,置于 26 °C 恒温保湿箱中,遮光保湿 24 h 后取出,用喷雾器喷水保湿,每天 3~5 次,从接种后的第 2 天开始观察,第 10 天调查各处理的发病情况,以在秧苗上喷清水作为对照(CK),根据病情指数计算防治效果。

1.2.4.2 治疗作用试验 首先在水稻秧苗上人工接种稻瘟病菌,26 °C 恒温保湿 24 h 后喷药,继续保湿,从施药后的第 2 天开始观察,第 10 天调查发病情况,以在秧苗上喷清水作为 CK,根据病情指数计算防治效果。

1.2.4.3 秧苗叶瘟病情具体的分级标准^[21-22] 0 级:无病;1 级:针头状大小褐点;2 级:稍大褐点;3 级:小圆形至稍长的灰色病斑,边缘褐色,病斑直径 1~2 mm;4 级:典型纺锤形病斑,病斑长 1~2 cm,通常局限在 2 条叶脉之间,受害面积不超过叶片总面积的 2%;5 级:典型病斑,受害面积占叶片总面积的 3%~10%;6 级:典型病斑,受害面积占叶片总面积的 11%~25%;7 级:典型病斑,受害叶面积占叶片总面积的 26%~50%;8 级:典型病斑,受害叶面积占叶片总面积的 51%~75%,多数叶片枯死;9 级:全叶枯死。

体内药效评价方法按照公式(3)、公式(4)进行。

病情指数 = $100 \times \sum(\text{各级病叶数} \times \text{各级代表值}) / (\text{调查总叶数} \times \text{最高级代表值})$;

 (3)

$$\text{防治效果} = \frac{CK_1 - PT_1}{CK_1} \times 100\%。$$
 (4)

式中: CK_1 为清水对照的病情指数; PT_1 为药剂处理的病情指数。

2 结果与分析

2.1 3 种植物醇提物抑制水稻稻瘟病菌菌丝生长的 EC_{25} 和 EC_{50}

对表 1 各材料数据浓度对数值和抑菌率概率值进行线性回归,分别可获得其毒力回归方程、 EC_{25} 、 EC_{50} ,即无患子: $y_A = 1.679 6x_A + 6.116 4$, $EC_{25} = 80$ mg/L, $EC_{50} = 220$ mg/L;广玉兰: $y_B = 1.662 1x_B + 5.036 0$, $EC_{25} = 360$ mg/L, $EC_{50} = 950$ mg/L;木荷: $y_C = 1.622 0x_C + 5.524 2$, $EC_{25} = 180$ mg/L, $EC_{50} = 475$ mg/L。

表 1 3 种植物醇提物对水稻稻瘟病菌菌丝生长的毒力测定结果

试验 编号	无患子醇提物			广玉兰醇提物			木荷醇提物		
	浓度(mg/L)	菌落直径(mm)	抑菌率(%)	浓度(mg/L)	菌落直径(mm)	抑菌率(%)	浓度(mg/L)	菌落直径(mm)	抑菌率(%)
1	2 000	3.0 ± 0.0	94.4	3 000	10.0 ± 0.0	83.6	2 000	9.0 ± 0.0	83.3
2	1 000	7.0 ± 1.4	87.0	1 500	19.0 ± 1.4	68.8	1 000	17.0 ± 1.4	68.5
3	500	18.0 ± 1.8	66.7	750	37.0 ± 1.7	39.3	500	24.0 ± 1.7	55.5
4	250	24.0 ± 1.4	55.6	375	43.0 ± 1.4	29.5	250	41.0 ± 1.4	24.1
5	125	36.0 ± 1.8	33.3	187	52.0 ± 1.8	14.7	125	45.0 ± 1.6	16.7
6	CK	54.0 ± 4.4		CK	61.0 ± 4.4		CK	54.0 ± 4.4	

2.2 组方复配结果

2.2.1 二元组方 以上述任意 2 种植物醇提物的 EC_{25} 值为中间水平,安排均匀设计水平表,按照均匀试验表进行试验,

测定各组方的抑菌活性,并进行分析和验证,获得 2 个具有增效作用的二元组方,分别为组方 I 和组方 II。

对表 2 各试验的浓度对数值与抑菌率进行线性回归,获

得回归方程为 $Y = 76.2814 + 0.3765X_A - 0.2180X_B - 0.0021X_A^2 + 0.0001X_B^2 + 0.0005X_AX_B$, 经方差分析, 该方程具有统计学意义 ($P = 0.0046 < 0.05$), 因素间的最佳组合为 $X_A = 238.2 \text{ mg/L}$, $X_B = 1187.7 \text{ mg/L}$, 即无患子与广玉兰醇提物浓度的比值为 1:5。验证试验获得组方 I 的毒力回归方程为 $Y = 3.5484X + 7.5346$, 相关系数为 0.9952, EC_{50} 的理论值 X_1 和实测值 X_2 分别为 611.2、193.1 mg/L, 故 $SR = 3.2$, 为增效作用。

表2 组方 I 各试验的抑菌活性

试验编号	X_A : 无患子醇提物浓度 (mg/L)	X_B : 广玉兰醇提物浓度 (mg/L)	菌落直径 (mm)	抑菌率 (%)
1	54.0	881.2	39.5 ± 1.1	18
2	108.1	1187.7	6.5 ± 0.2	86
3	44.4	197.2	15.0 ± 0.6	69
4	146.0	146.0	9.0 ± 0.4	81
5	65.7	108.1	20.5 ± 0.8	57
6	80.0	360.0	31.0 ± 1.6	35
7	36.5	485.2	33.0 ± 0.7	31
8	266.4	266.4	41.0 ± 1.2	15
9	197.2	653.9	24.0 ± 0.7	50

对表3各试验浓度对数值与抑菌率进行回归, 获得回归方程为 $Y = 77.5458 + 0.4118X_A - 0.4529X_C - 0.0020X_A^2 + 0.0006X_C^2 + 0.0007X_AX_C$, 经方差分析, 该方程具有统计学意义 ($P = 0.0242 < 0.05$), 因素间的最佳组合为 $X_A = 225.1 \text{ mg/L}$, $X_C = 623.0 \text{ mg/L}$, 即无患子与木荷醇提物浓度的比值为 1.0:2.8。验证试验获得组方 II 的毒力回归方程为 $Y = 3.0622X + 7.6876$, 相关系数为 0.9985, EC_{50} 的理论值 X_1 和实测值 X_2 分别为 363.4、132.5 mg/L, 故 $SR = 2.7$, 为增效作用。

表3 组方 II 各试验的抑菌活性

试验编号	X_A : 无患子醇提物浓度 (mg/L)	X_C : 广玉兰醇提物浓度 (mg/L)	菌落直径 (mm)	抑菌率 (%)
1	54.0	456.8	39.0 ± 1.4	19
2	108.1	623.0	7.0 ± 0.3	86
3	44.4	98.6	14.5 ± 0.5	70
4	146.0	73.0	5.5 ± 0.4	89
5	65.7	54.0	19.0 ± 0.7	60
6	80.0	180.0	36.5 ± 1.8	24
7	36.5	245.5	33.0 ± 1.5	31
8	266.4	164.0	40.0 ± 1.6	17
9	197.2	334.9	25.0 ± 0.8	48

2.2.2 三元组方 对表4各试验的浓度对数值与抑菌率进行回归, 获得回归方程为 $Y = -31.1201 + 0.2069X_A + 0.1440X_B + 0.3655X_C - 0.0004X_B^2 - 0.0003X_C^2 - 0.0003X_BX_C$, 经方差分析, 该方程具有统计学意义 ($P = 0.0303 < 0.05$), 因素间的最佳组合为 $X_A = 266.4 \text{ mg/L}$, $X_B = 1187.3 \text{ mg/L}$, $X_C = 62.6 \text{ mg/L}$, 即无患子、广玉兰、木荷醇提物浓度的比值为 4.3:19.0:1.0。验证试验获得组方 III 的毒力回归方程为 $Y = 4.0360X + 7.3874$, 相关系数为 0.9959, EC_{50} 的理论值 X_1 和实测值 X_2 分别为 584.8、256.1 mg/L, 故 $SR = 2.3$, 为增效作用。

表4 组方 III 各试验的抑菌活性

试验编号	X_A : 无患子醇提物浓度 (mg/L)	X_B : 广玉兰醇提物浓度 (mg/L)	X_C : 木荷醇提物浓度 (mg/L)	菌落直径 (mm)	抑菌率 (%)
1	266.4	266.4	98.6	7.0 ± 0.3	85
2	44.4	146.0	73.0	38.0 ± 1.5	21
3	65.7	197.2	623.0	5.0 ± 0.3	90
4	36.5	485.2	334.9	7.5 ± 0.6	84
5	108.1	653.9	54.0	10.0 ± 0.8	79
6	80.0	360.0	180.0	16.5 ± 1.0	65
7	54.0	1187.7	164.0	4.0 ± 0.3	91
8	197.2	881.2	456.8	0.0 ± 0.0	100
9	146.0	108.1	245.5	9.0 ± 0.5	81

2.3 各组方防治稻瘟病的效果

2.3.1 对易感水稻品种 C101PKT 盆栽感染稻瘟病的预防和治疗作用 由表5数据可计算出各材料单独或组方对易感水稻品种 C101PKT 盆栽感染稻瘟病预防作用的毒力方程和 EC_{50} , 无患子、木荷、组方 I、组方 II、组方 III 的毒力方程和 EC_{50} 分别为 $Y = 0.0037X + 21.206$, $Y = 0.0019X + 15.065$, $Y = 0.0011X + 21.799$, $Y = 0.0015X + 39.099$, $Y = 0.0015X + 38.660$, 7782, 18386, 25637, 7267, 7560 mg/L。无患子、木荷、组方 I、组方 II、组方 III 对该水稻品种的治疗作用毒力方程和 EC_{50} 分别为 $Y = 0.0037X + 11.959$, $Y = 0.0012X + 31.227$, $Y = 0.0011X + 21.299$, $Y = 0.0015X + 38.021$, $Y = 0.0015X + 37.582$, 10281, 15644, 26092, 7986, 8279 mg/L。由此可知, 对易感水稻品种 C101PKT 盆栽感染稻瘟病的防治效果表现为组方 II > 组方 III > 无患子 > 木荷 > 组方 I。除了木荷材料外, 治疗作用所需要的浓度高于预防作用所需要的浓度, 即同浓度的单剂或组方预防效果优于治疗效果。

2.3.2 对抗性水稻品种两优 287 盆栽感染稻瘟病的预防和治疗作用 由表6数据可计算出各材料单独或组方对抗性水稻品种两优 287 盆栽感染稻瘟病的预防作用毒力方程和 EC_{50} , 无患子、木荷、组方 I、组方 II、组方 III 的预防作用毒力方程和 EC_{50} 分别为 $Y = 0.0037X + 20.73$, $Y = 0.0019X + 14.436$, $Y = 0.0011X + 21.209$, $Y = 0.0015X + 38.442$, $Y = 0.0015X + 37.542$, 7980, 18718, 26174, 7705, 8305 mg/L。无患子、木荷、组方 I、组方 II、组方 III 对该水稻品种的治疗作用毒力方程和 EC_{50} 分别为 $Y = 0.0036X + 10.413$, $Y = 0.0012X + 27.903$, $Y = 0.0011X + 19.985$, $Y = 0.0014X + 36.678$, $Y = 0.0015X + 36.129$, 10996, 18414, 27286, 9516, 9247 mg/L。由此可知, 对抗性水稻品种两优 287 盆栽感染稻瘟病的预防和治疗效果分别表现为组方 II > 无患子 > 组方 III > 木荷 > 组方 I、组方 III > 组方 II > 无患子 > 木荷 > 组方 I。对各单剂和组方, 治疗作用所需要的浓度均高于预防作用所需要的浓度。

比较表5和表6的数据及各单剂和组方的 EC_{50} 可知, 无论是预防还是治疗稻瘟病, 对水稻抗性品种的防治比对水稻易感品种的防治需要更高的药剂浓度。

3 结论与讨论

无患子、广玉兰、木荷的醇提物单剂及其组方对水稻稻瘟

表5 不同单剂及组方的不同浓度对易感水稻品种

C101PKT 稻瘟病的防治效果

处理	浓度 (mg/L)	预防作用		治疗作用	
		平均病情 指数(%)	预防效果 (%)	平均病情 指数(%)	治疗效果 (%)
无患子	200	9.9	20.5	12.3	11.8
	400	9.8	21.0	12.1	13.0
	1 000	9.1	27.0	11.4	17.9
	4 000	7.8	37.5	10.3	26.0
	20 000	0.6	95.3	1.8	86.9
组方 I	400	9.8	21.1	11.0	21.0
	800	9.6	22.3	10.9	21.9
	2 000	9.2	25.5	10.5	24.5
	8 000	8.6	30.5	9.8	30.0
	40 000	4.3	65.1	4.9	64.7
组方 II	400	7.7	37.9	8.8	36.8
	800	7.5	39.5	8.5	39.0
	2 000	7.3	41.3	8.3	40.1
	8 000	5.6	55.3	6.4	53.8
	40 000	0.2	98.5	0.3	97.9
组方 III	400	7.8	37	8.9	36.4
	800	7.5	39.3	8.6	37.9
	2 000	7.3	41.1	8.3	40.1
	8 000	5.6	54.9	6.5	53.6
	40 000	0.2	98.2	0.4	97.4
木荷	250	10.7	14.1	9.8	29.9
	500	10.6	14.2	9.4	32.1
	1250	10.1	18.5	9.3	32.9
	5 000	9.0	27.4	8.5	38.6
	25 000	4.7	62.3	5.5	60.6
三环唑	750	1.4	89.1	1.7	88.1
CK		12.4		13.9	

病病菌菌丝的生长均有一定的抑制作用。3种植物醇提取物的 EC_{50} 表现为广玉兰>木荷>无患子。获得的3种具有增效作用的组方为无患子、广玉兰醇提取物浓度的比值为1:5,无患子、木荷醇提取物浓度的比值为1.0:2.8,无患子、广玉兰、木荷醇提取物浓度的比值为4.3:19.0:1.0,体外测得各组方的 EC_{50} 分别为193.1、132.5、256.1 mg/L,体内盆栽测得各组方的 EC_{50} 分别为25 637、7 267、7 560 mg/L。其中组方II、III的活性较强,无论对易感稻种还是抗性稻种,当组方II和组方III浓度达到40 000 mg/L时,对稻瘟病的预防和治疗作用均接近完全控制,效果均优于生产上使用的三环唑(750 mg/L)。

无患子醇提取物具有较强的抗稻瘟病活性,其在同样提取物浓度下的抗稻瘟活性有时甚至超过组方,但考虑到其果皮来源十分有限,因此应用组方更切实际。

在体内盆栽抗稻瘟病的试验中发现,抗性品种感染的稻瘟病比易感品种感染的稻瘟病需要更高的药剂浓度才能达到同样的防治效果。在同种水稻品种上,治疗稻瘟病比预防稻瘟病需要更高的药剂浓度。

虽然使用组方防治稻瘟病需要的浓度比阳性对照三环唑的浓度(750 mg/L)更高,但组方具备天然植物源提取物、无残留、不会产生抗药性等优点,有利于克服化学药剂环境残

表6 不同单剂及组方的不同浓度对抗性水稻品种

两优287 稻瘟病的防治效果

处理	浓度 (mg/L)	预防作用		治疗作用	
		平均病情 指数(%)	预防效果 (%)	平均病情 指数(%)	治疗效果 (%)
无患子	200	15.6	19.3	19.4	10.0
	400	15.3	20.8	19.2	11.2
	1 000	14.3	26.1	18.1	16.3
	4 000	12.2	37.0	16.3	24.5
	20 000	1.0	94.9	3.7	83.1
组方 I	400	15.3	21.1	17.5	19.0
	800	15.0	22.3	17.3	19.8
	2 000	14.4	25.5	16.5	23.6
	8 000	13.4	30.5	15.1	30.0
	40 000	6.7	65.1	8.0	63.1
组方 II	400	12.0	37.9	13.9	35.5
	800	11.7	39.5	13.6	36.9
	2 000	11.3	41.3	13.2	38.9
	8 000	8.6	55.3	10.4	52.1
	40 000	0.3	98.5	1.5	92.9
组方 III	400	12.2	37	14.0	35.2
	800	11.7	39.3	13.7	36.8
	2 000	11.4	41.1	13.4	37.9
	8 000	8.7	54.9	10.4	51.7
	40 000	0.4	98.2	1.3	94.0
木荷	250	16.6	14.1	15.7	27.3
	500	16.6	14.2	15.5	28.4
	1 250	15.7	18.5	15.2	29.9
	5 000	14.0	27.4	14.1	34.9
	25 000	7.3	62.3	8.9	58.9
三环唑	750	2.2	88.4	4.5	79.2
CK		19.3		21.6	

留^[23]和稻瘟病病原产生抗药性^[24]的问题,因此,所获得的组方II和组方III具有一定的应用价值,可用于绿色稻米生产。

参考文献:

- [1] 霍光华,严伟,符金华,等. 抗稻瘟病菌活性多植物提取物组方研究[J]. 生物灾害科学,2012,35(1):27-36.
- [2] Normile D. Plant genetics; New strategy promises lasting resistance to a rice plague[J]. Science,2009,325(5943):925.
- [3] Upadhyay A, Singh D K. Pharmacological effects of *Sapindus mukorossi* [J]. Revista Do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo,2012,54(5):273-280.
- [4] Talwar G P, Dar S A, Rai M K, et al. A novel polyherbal microbicide with inhibitory effect on bacterial, fungal and viral genital pathogens [J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 2008, 32(2): 180-185.
- [5] Ibrahim M, Khan A A, Tiwari S K, et al. Antimicrobial activity of *Sapindus mukorossi* and *Rheum emodi* extracts against *H. pylori*; *in vitro* and *in vivo* studies [J]. World Journal of Gastroenterology, 2006, 12(44):7136-7142.
- [6] 赵志敏,南艳平,唐青涛,等. 无患子总皂苷的体外抑菌及抗氧化活性研究[J]. 时珍国医国药,2013,24(4):799-801.
- [7] Saha S, Walia S, Kumar J, et al. Structure - biological activity relationships in triterpenic saponins: the relative activity of protobassic

胡宗浩,方文婉,周晓彤,等.黏质沙雷氏菌次生代谢产物杀灭松材线虫效果[J].江苏农业科学,2017,45(19):183-186.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.19.041

黏质沙雷氏菌次生代谢产物杀灭松材线虫效果

胡宗浩¹,方文婉²,周晓彤²,何伟¹

(1.南京师范大学生命科学学院,江苏南京 210046; 2.南京师范大学中北学院,江苏南京 210046)

摘要:为寻找研制新型绿色杀线虫生物制剂,首次报道利用灵菌红素(prodigiosin,简称PGN)对混合虫龄松材线虫的生物活性,灵菌红素是一种广泛分布于环境中的黏质沙雷氏菌的次生代谢产物,试验测定不同浓度下灵菌红素的杀虫活性及对松材线虫卵孵化率的影响。离体杀虫试验结果表明,灵菌红素对松材线虫各虫龄段都有较高的生物活性,32 h时的LC₅₀为(90.24 ± 1.41) mg/L,阳性对照组硫酸铜的LC₅₀为(60.60 ± 1.48) mg/L;在离体虫卵孵化率测定试验中,灵菌红素在较低浓度时就已经表现出较高的生物活性,浓度为9.5 mg/L时,卵的孵化率仅为45.5%,与此同时,对照组的孵化率为97.6%。灵菌红素以其杀虫效率高、环境污染小、来源广泛等优势,在农林业生产中有极好的应用前景。

关键词:黏质沙雷氏菌;次生代谢;灵菌红素;松材线虫;孵化率;杀虫活性;生物活性;应用前景

中图分类号: S432.4⁺5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)19-0183-04

植物寄生线虫是农林作物的主要病原物之一,线虫病在世界各地普遍发生,会对经济造成严重损失。松材线虫(*Bursaphelenchus xylophilus*)所到之处,松树迅速成片枯萎,对林业生产构成极大的威胁^[1]。全世界每年因松材线虫危害对农林业造成的损失超过1 250亿美元^[2]。1982年中国首次

报道发现由松材线虫引起的松树枯萎病,自此松材线虫在全国迅速扩散,对农林业造成严重的影响^[3]。尽管人类在防治上已经作出了巨大的努力,但收效甚微,其危害范围仍在不断扩大^[4]。目前对松材线虫病的防治主要通过化学手段,常用的化学药剂有丰索磷、乙拌磷、治线磷、灭线磷、虫线清等,然而丰索磷、乙拌磷、治线磷等都是毒性较高的有机磷农药,对哺乳动物存在严重的安全隐患^[5]。所以,目前迫切须要找到一种环境友好型的杀虫剂。

灵菌红素(prodigiosin,简称PGN)是一类天然红色素家族的总称,由多种细菌(沙雷氏菌、假单胞菌)和放线菌(链霉菌)产生的一类次级代谢产物^[6]。已有的研究结果显示,灵菌红素在抗真菌^[7]、抗原生动物^[8]、抗癌^[9]、杀虫^[10]等方面都

收稿日期:2016-05-09

基金项目:国家自然科学基金(编号:41301564);江苏高校优势学科建设工程。

作者简介:胡宗浩(1995—),男,安徽芜湖人,主要从事环境微生物技术研究。E-mail:huzonghao321@126.com。

通信作者:何伟,博士,副教授,主要从事环境微生物技术研究。E-mail:myway@njnu.edu.cn。

acid and its derivatives against plant pathogenic fungi [J]. Pest Management Science, 2010, 66(8): 825-831.

[8] 黄光强. 用木荷树皮粉末作为非杀伤性驱散武器填充剂的设想[J]. 森林公安, 2002(2): 20.

[9] 陈冀胜, 郑 硕. 中国有毒植物[M]. 北京: 科学出版社, 1987: 584-586.

[10] 骆 悦, 曾鑫年, 居建华, 等. 40种植物甲醇提取物的杀螺活性研究[J]. 植物保护, 2005, 31(1): 31-34.

[11] 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.

[12] 邓志勇, 邓业成, 刘艳华, 等. 60种植物提取物对小菜蛾的杀虫活性筛选[J]. 河南农业科学, 2007, 36(9): 57-60.

[13] 严 伟. 抗稻瘟病菌植物源提取物组方研究[D]. 南昌: 江西农业大学, 2011.

[14] Saha S, Walia S, Kumar J, et al. Screening for feeding deterrent and insect growth regulatory activity of triterpenic saponins from *Diploknema butyracea* and *Sapindus mukorossi* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(1): 434-440.

[15] 周小燕, 王德凤, 姜于兰. 不同杀菌剂对柑橘煤烟病菌的室内毒力测定[J]. 南方农业学报, 2011, 42(9): 1062-1065.

[16] 陈 立, 徐汉虹, 赵善欢. 应用均匀设计获取复配农药最佳增效配方[J]. 华南农业大学学报, 2000, 21(3): 33-35.

[17] 张国权, 吕小欢, 罗志刚. 均匀设计的方法与应用[J]. 华南农业大学学报, 1998, 19(2): 91-96.

[18] 李秀昌, 韩曦英, 孙 健. 利用DPS数据处理系统进行均匀试验设计与分析[J]. 中国卫生统计, 2010, 27(2): 201-203.

[19] 中华人民共和国农业部. 农药室内生物测定实验准则 杀菌剂 第6部分: 混剂的联合作用测定: NY/T 1156.1-2006 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.

[20] 盛 姣. 十八烷基三甲基氯化铵对稻瘟病菌生物活性及作用机理研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2006.

[21] 孙漱沉. 水稻稻瘟病及其防治[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986.

[22] 国家质量技术监督局. 农药 田间药效试验准则(一) 杀菌剂防治禾谷类种传病害: GB/T 17980.19-2000 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2000.

[23] 黄 星. 水稻稻瘟病菌对三环唑的抗药性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2002.

[24] 车淑静. 黑龙江省稻瘟病菌对稻瘟灵和三环唑的敏感性研究[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2008.