

卫矛科植物苦皮藤杀菌活性研究初报^{*}

杨征敏, 吴文君, 钮绪燕

(西北农林科技大学 农药研究所, 陕西 杨陵 712100)

[摘要] 采用系统溶剂对苦皮藤鲜假种皮进行了提取, 并对粗抽提物进行了初步的分离。以孢子萌发试验法、抑制菌丝生长速率法和盆栽试验系统测定了粗抽提物对植物病原真菌孢子萌发、菌丝生长的抑制作用, 初步研究了粗抽提物在活体条件下对植物真菌病害的抑制作用。结果表明, 苦皮藤鲜假种皮的体积分数 25% 乙醇抽提物对植物病菌孢子萌发和菌丝生长都有较强的抑制作用; 在活体条件下, 体积分数 25% 乙醇抽提物对黄瓜霜霉病和小麦白粉病都有明显的防治效果。

[关键词] 植物源杀菌剂; 苦皮藤; 杀菌活性

[中图分类号] S482.2⁺92

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2002)05-074-03

苦皮藤(*Celastrus angulatus* Maxim) 属卫矛科(Celastraceae)南蛇藤属(*Celastrus*), 是一种多年生木质藤本植物, 吴文君等^[1~3]对苦皮藤中有关昆虫拒食、麻醉及毒杀的活性成分进行了深入研究。关于苦皮藤的杀菌活性, 早在 20 世纪 50 年代曾有文献报道苦皮藤根皮粉 30 倍水浸液对马铃薯晚疫病菌(*Phytophthora infestans* (Monts.) de Bary) 孢子萌发有抑制作用^[4], 近年来笔者等^[5~8]分离鉴定出苦皮藤鲜假种皮中的主要杀虫杀菌活性成分。为了进一步开发苦皮藤中的杀菌活性成分, 本研究对苦皮藤鲜假种皮进行了系统提取, 并用提取物对 8 种重要的农作物病原真菌进行了室内毒力测定及盆栽药效试验, 现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 供试材料

苦皮藤鲜假种皮: 1999 和 2000 年 8 月中旬在陕西省周至县甘浴湾乡采苦皮藤鲜果实(经西北植物所杨金祥研究员鉴定), 剥离鲜假种皮, 捣碎供提取用。

供试病原菌: 玉米小斑病菌(*Bipolaris maydis*)、玉米大斑病菌(*Exserohilum turcicum*)、苹果腐烂病菌(*Valsa mali*)、番茄早疫病菌(*Alternaria solani*)、番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)。黄瓜霜霉病菌(*Pseudoperonospora cubensis*)和小麦白粉病菌(*Erysiphe graminis*) 采自田间。以上菌种由西北农

林科技大学植保学院植物病理教研组提供或鉴定。

化学试剂: 甲醇、乙醇、正丁醇、氯仿、石油醚均为分析纯, 西安化学试剂厂生产。

盆栽植物: 黄瓜(长春密刺)、小麦(辉县红)和玉米(陕 9)均为易感病品种。

1.2 试验方法

1.2.1 苦皮藤鲜假种皮的提取 在室温条件下, 将捣碎的苦皮藤鲜假种皮(25 kg)用体积分数分别为 25%, 50%, 95% 的乙醇、工业苯、石油醚依次提取 3 d, 其粗抽取物分别编号为 CA 1, CA 2, CA 3, CA 4, CA 5。乙醇水的提取液在大搪瓷盘中吹干即可得到抽提物; 苯、石油醚提取液减压浓缩。用 300 g 硅胶与体积分数 25% 乙醇粘稠的抽提物 235 g 拌匀, 吹干, 装入耐酸过滤漏斗中, 分别用 3 000 mL 的正丁醇、甲醇、蒸馏水洗脱, 分别收集、浓缩各洗脱液。把正丁醇洗脱物(54 g, CA 6)用 70 mL 氯仿溶解, 以体积分数 50% 甲醇萃取 3 次, 浓缩得到氯仿提取物(18.1 g, CA 7)。以真空液相快速层析法(VLC)将氯仿相分为石油醚部分(4.5 g)、氯仿部分(8.1 g, CA 8)、甲醇部分(5.4 g)。

1.2.2 室内杀菌活性测定方法 采用孢子萌发试验法、菌丝生长速率法进行活性测定, 具体方法参考文献[9, 10]。

在孢子萌发试验法中, 当对照的萌发率达到 85% 后, 检查所有处理的萌发率。判断孢子是否萌发, 以孢子萌发后的芽管长度大于孢子短半径为萌

^{*} [收稿日期] 2001-10-16

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(39770506)

[作者简介] 杨征敏(1974-), 男, 陕西周至人, 助教, 在读博士, 主要从事农药化学研究。

发。按文献[11]方法计算抑制孢子萌发率。

在菌丝生长速率法中,用直尺测量菌落直径(须十字交叉量取 2 次,取其平均数)。按文献[11]方法计算抑制菌丝生长率。

在盆栽试验中,将催过芽的易感病植物种子播种在事先准备好的花盆中。等到植株长到适当的时候,先在保湿条件下接种(喷雾法、喷撒法)供试植物病原菌,24 h 后,用手持的小型喷雾器在植株上喷 40 g/L 的苦皮藤鲜假种皮提取物。每处理设 20 个重复。10 d 后观察植物的发病情况,并进行药效调查。按照小麦白粉病、玉米大斑病、玉米小斑病、黄瓜

霜霉病的各自分级标准,按文献[11]方法计算各自的病情指数和防治效果。

2 结果与分析

2 1 提取物对植物病原菌孢子萌发的抑制作用

由表 1 可见,苦皮藤鲜假种皮的抽提物对不同病菌孢子萌发的抑制力有所差异,对玉米大斑病原菌孢子萌发的抑制力最强;在不同溶剂的苦皮藤抽提物中,体积分数 25% 乙醇抽提物对孢子萌发的抑制力最强。

表 1 苦皮藤提取物对真菌孢子萌发的毒力(10 h)

Table 1 Toxicity of inhibiting the gemination of the spores(10 h)

供试病菌 Pathogenic fungi	供试样品 Samples	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	EC ₅₀ /(μg·g ⁻¹) Toxicity
玉米大斑病原菌 <i>Exserohilum turcicum</i>	CA 1	Y= 2 351 7X - 2 275 6	0.953 5	1 241
	CA 2	Y= 1 455 8X + 0 320 6	0.923 7	1 638
	CA 3	Y= 2 025 0X - 2 541 1	0.893 7	2 654
	CA 4	Y= 1 301 0X + 0 561 6	0.985 2	2 720
	CA 5	Y= 1 937 0X - 1 684 3	0.957 2	2 824
	CA 6	Y= 2 752 2X - 3 166 0	0.935 6	927
	CA 7	Y= 1 715 5X + 0 072 8	0.965 3	745
	CA 8	Y= 1 198 8X + 3 741 2	0.923 5	273
玉米小斑病原菌 <i>Bipolarismaydis</i>	CA 1	Y= 1 305 8X + 0 903 7	0.943 8	1 371
	CA 2	Y= 1 206 5X + 1 142 1	0.963 1	1 576
	CA 3	Y= 1 854 0X - 1 388 1	0.972 5	2 790
	CA 4	Y= 0 958 7X + 1 662 1	0.934 9	3 032
	CA 5	Y= 1 723 9X - 1 036 2	0.862 8	3 158
	CA 6	Y= 0 982 4X + 1 998 4	0.934 8	1 136
	CA 7	Y= 1 538 1X + 0 471 9	0.956 6	879
	CA 8	Y= 2 099 1X - 0 571 4	0.923 8	451
番茄灰霉病原菌 <i>Botrytis cinerea</i>	CA 1	Y= 1 215 6X + 1 138 4	0.953 4	1 502
	CA 2	Y= 0 982 5X + 1 780 2	0.986 6	1 893
	CA 3	Y= 1 623 7X + 1 007 0	0.943 5	2 724
	CA 4	Y= 1 331 5X + 0 348 1	0.964 0	3 117
	CA 5	Y= 0 824 9X + 2 125 1	0.985 5	3 056
	CA 6	Y= 1 102 2X + 1 567 1	0.978 9	1 302
	CA 7	Y= 1 874 2X - 0 600 3	0.954 3	973
	CA 8	Y= 0 994 1X + 2 215 1	0.926 7	633

2 2 提取物对植物病原菌菌丝生长的抑制作用

由表 2 可以看出,苦皮藤对玉米小斑病菌、玉米大斑病菌和苹果腐烂病菌菌丝生长的抑制力较强,

其 EC₅₀ 分别为 748 2, 883 0, 957. 2 μg/g; 在苦皮藤的 5 种溶剂抽提物中,体积分数 25% 乙醇抽提物对 6 种病原菌菌丝生长的抑制力最强。

表 2 苦皮藤提取物对菌丝生长的毒力(EC₅₀, 72 h)

Table 2 Toxicity of inhibiting growth of the hyphae (EC₅₀, 72 h)

供试样品 Samples	玉米小斑菌 <i>Bipolarismaydis</i>	玉米大斑菌 <i>Exserohilum turcicum</i>	苹果腐烂菌 <i>Valsamali</i>	番茄早疫菌 <i>Alternariasolani</i>	番茄灰霉菌 <i>Botrytis cinerea</i>
CA 1	748 2	883 0	957. 2	1 629. 9	1 406 0
CA 2	873. 6	1 240 5	1 184 1	2 344 5	1 748 3
CA 6	432 1	523 8	579 5	1 455 5	1 154 2
CA 7	417. 7	470 5	551 4	865 3	673 8
CA 8	201. 8	232 1	241. 4	430 5	371 5

2 3 盆栽试验结果

由表 3 可以看出,苦皮藤鲜假种皮的体积分数 25% 乙醇抽提物(40 g/L)对 4 种植物病害都有明显的防治效果,对黄瓜霜霉病的防效最高,达 84. 3%;

体积分数 50% 乙醇抽提物也显示出一定的防治效果。在 4 种植物病原真菌中,黄瓜霜霉病和小麦白粉病对苦皮藤的杀菌活性成分最为敏感。

表 3 苦皮藤提取物对植物病害的防效

Table 3 The efficacy of samples against plant fungus in pot tests

%

供试样品 Samples	玉米小斑菌 <i>Bipolaris maydis</i>	玉米大斑菌 <i>Exserohilum turcicum</i>	黄瓜霜霉菌 <i>Pseudoperonospora cubensis</i>	小麦白粉菌 <i>Erysiphe graminis</i>
CA 1	59.4	65.3	84.3	77.2
CA 2	45.9	53.2	80.6	55.8
CA 3	30.3	44.1	41.5	40.1
CA 4	28.2	28.3	44.5	45.0
CA 5	22.6	14.8	24.3	18.6
CA 6	78.9	60.2	90.0	65.6
CA 7	71.2	80.6	91.5	84.5
CA 8	74.7	78.1	96.2	89.0

3 讨 论

苦皮藤杀菌活性在离体和活体条件下的初步研究说明,苦皮藤鲜假种皮的强极性溶剂(特别是体积分数 25% 乙醇)抽提物对 8 种重要的农作物病原菌都有明显的生物活性。在离体条件下能抑制病原真菌孢子的萌发,且能够抑制病菌菌丝的生长,但后者 EC_{50} 较前者小,因此,可以认为抽提物主要是抑制病菌菌丝的生长。在盆栽试验中,苦皮藤鲜假种皮的体

积分数 25% 乙醇抽提物对 4 种植物病原菌都有抑制作用,其中对黄瓜霜霉病和小麦白粉病的防治效果最为明显。同时,盆栽试验表明,体积分数 25% 乙醇抽提物对黄瓜叶有一定的毒害作用,为此对其进行了初步的分离,分离后的样品 CA 6, CA 7, CA 8 对黄瓜叶的毒害症状消失,而且分离后的 3 个样品的活性显著提高,原因可能是在分离过程中除去了 CA 1 中杀菌物质的拮抗成分和无效成分。

[参考文献]

- [1] Wakabayashi N, Wu W J, Waters R M, et al Celangilin: a nonalkaloids insect antifeedant from Chinese bittersweet, *Celastrus angulatus* [J]. J Nat Prod, 1988, 51(3): 537- 542
- [2] Wu W J, Tu Y Q, Liu H X, et al Celangili, III and IV: new insecticidal sesquiterpenoids from *Celastrus angulatus* [J]. J Nat Prod, 1992, 55(9): 1294- 1298
- [3] Wu W J, Wang M A, Zhou W M, et al Five insecticide sequiterpenoids from *Celastrus angulatus* [J]. J Nat Prod, 2001, 64(3): 364- 367.
- [4] 中国土农药科学研究编辑委员会 中国土农药志[M]. 北京: 科学出版社, 1959 92- 93
- [5] 杨征敏, 吴文君 植物源杀菌活性物质的研究进展[R]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学农药研究所, 1999 72- 82
- [6] 杨征敏 苦皮藤杀菌成分的研究[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2000
- [7] 杨征敏, 吴文君, 王明安, 等 苦皮藤假种皮中的杀菌活性成分研究[J]. 农药学报, 2001, (2): 93- 96
- [8] 杨征敏, 吴文君, 姬志勤, 等 苦皮藤果实中农药活性成分初报[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2001, 29(6): 61- 64
- [9] 陈年春 农药生物测定技术[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1991
- [10] 慕立义, 吴文君, 王开运 植物化学保护研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994 71- 85
- [11] 方中达 植病研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998

Study on the fungicidal activity of *Celastrus angulatus*

YANG Zheng-m in, WU Wen-jun, NIU Xu-yan

(Institute of Pesticide, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forest, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The fresh arils of *Celastrus angulatus* Maxim were crushed and extracted with systemic solvents and the fungicidal activities were tested in vitro and in vivo. The bioassay showed that the 25% ethanol extracts of arils of *Celastrus angulatus* Maxim had promising fungicidal activity against *Pseudoperonospora cubensis* and *Erysiphe graminis*

Key words: botanical fungicide; *Celastrus angulatus*; fungicidal activity