

网络出版时间:2014-07-09 11:51

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2014.08.018

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13207/j.cnki.jnwafu.2014.08.018.html>

天名精内酯酮的抑菌活性

韩兴帅¹, 许 丹¹, 冯俊涛^{1,2}, 张 兴^{1,2}

(1 西北农林科技大学 无公害农药研究服务中心, 陕西 杨凌 712100; 2 陕西省生物农药工程技术研究中心, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 【目的】明确天名精内酯酮对 11 种植物病原真菌的杀菌活性, 为天名精内酯酮的开发利用提供基础资料。【方法】以小麦纹枯病菌、番茄灰霉病菌、番茄叶霉病菌、南瓜枯萎病菌、黄瓜炭疽病菌、小麦全蚀病菌、小麦赤霉病菌、苹果炭疽病菌、苹果干腐病菌、小麦条锈病菌和辣椒疫霉病菌 11 种病菌为供试病原菌, 采用生长速率法、孢子萌发法、盆栽药效试验和组织法, 从离体和活体 2 个方面评价天名精内酯酮的杀菌活性。【结果】天名精内酯酮对小麦纹枯病菌、小麦全蚀病菌、小麦赤霉病菌、辣椒疫霉病菌、苹果炭疽病菌、黄瓜炭疽病菌、苹果干腐病菌、南瓜枯萎病菌、番茄灰霉病菌和番茄叶霉病菌菌丝生长具有较强的抑制作用, EC_{50} 在 4.894 7~43.856 9 mg/L, 其中对小麦全蚀病菌的毒力最高, EC_{50} 为 4.894 7 mg/L; 对小麦赤霉病菌、黄瓜炭疽病菌、番茄灰霉病菌、番茄叶霉病菌和辣椒疫霉病菌孢子萌发的抑制作用差异较大, 其中对黄瓜炭疽病菌孢子萌发的抑制作用最高, EC_{50} 为 6.876 5 mg/L; 盆栽药效试验表明, 天名精内酯酮对小麦全蚀病、小麦条锈病、黄瓜炭疽病和辣椒疫霉病均具有较好的保护效果和一定的治疗效果, 其中对小麦全蚀病的药效相对较好, 1 000 mg/L 剂量下保护效果和治疗效果分别为 85.48% 和 64.98%; 活体组织法结果表明, 天名精内酯酮对番茄灰霉病控制效果较低, 1 000 mg/L 剂量下的保护和治疗效果分别为 45.5% 和 19.9%。【结论】天名精内酯酮对病原真菌均具有较好的抑制作用, 表现出一定的广谱性, 尤其对小麦全蚀病的药效最佳, 具有进一步研究和开发为植物源杀菌剂的潜质。

[关键词] 天名精内酯酮; 小麦全蚀病菌; 抑菌作用; 植物源杀菌剂

[中图分类号] S482.2⁺92

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2014)08-0178-07

Fungicidal activity of carabrone

HAN Xing-shuai¹, XU Dan¹, FENG Jun-tao^{1,2}, ZHANG Xing^{1,2}

(1 Research and Development Center of Biorational Pesticide, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Research Center of Biopesticide Technology & Engineering, Shaanxi Province, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】This research aimed to investigate the antifungal activity of carabrone against 11 plant pathogens and provide information for the development and utilization of carabrone. 【Method】The *in vitro* and *in vivo* antifungal activities of carabrone against 11 kinds of pathogens (*Rhizoctonia cerealis*, *Botrytis cinerea*, *Fulvia fulva* (Cooke) Ciferri, *Fusarium oxysporum* (Schl.) f. sp. *cucumeritum* Owen, *Colletotrichum lagenarium* (Pass.) Ell. et Halst., *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Gibberella sanbinetti*, *Glomerella cingulate*, *Botryosphaeria berengeriana* (Moug. ex fr.) Ces. et de Not., *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, and *Phytophthora capsici* Leonian) were examined by methods of hypha growth rate, spore germination *in vitro*, pot culture experiment and tissue selection method. 【Result】Carabrone had noticeable inhibition on mycelial growth of 10 pathogens with EC_{50} of 4.894 7—43.856 9 mg/L, and the inhibition against *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* was the highest with EC_{50} of 4.894 7 mg/L. The inhibitory effects of

[收稿日期] 2013-05-20

[基金项目] 国家自然科学基金项目(31272074); 陕西省自然科学研究计划项目(2012JQ3004); 中央高校基本科研业务费专项(ZD2012004)

[作者简介] 韩兴帅(1987—), 男, 甘肃白银人, 在读硕士, 主要从事植物源杀菌剂研究。E-mail: hxingshuai@163.com

[通信作者] 冯俊涛(1967—), 男, 河南登封人, 教授, 博士, 主要从事生物源农药及植物保护研究。E-mail: jtfeng@126.com

carabrone on spore germination of tested pathogens were quite different and the inhibition effect against *Colletrichum lagenarium* (Pass.) Ell. et Halst was the highest with EC₅₀ of 6. 876 5 mg/L. The potted test showed that carabrone had excellent control effect on wheat take all with the protective effect and the curative effect of 85. 48% and 64. 98% at the concentration of 1 000 mg/L, respectively. Tissue selection test showed that carabrone had low control effect on *Botrytis cintrea* with the protective effect and the curative effect of 45. 5% and 19. 9% at the concentration of 1 000 mg/L, respectively. 【Conclusion】 Carabrone exhibited good fungicidal activities against pathogens with the best inhibitory effect against *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. Therefore, carabrone had the potential to be developed as a botanical fungicide.

Key words: carabrone; *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*; antifungal effect; botanical fungicides

从植物中寻找具有农药活性的物质,特别是具有新型分子结构的化合物是当前新型农药创制的一条重要途径,亦是发掘新一代农药先导化合物的有效方法之一^[1]。菊科植物以其种类多样,化学成分复杂,成为植物源杀菌剂研发的主要目标植物类群之一^[2-4]。

西北农林科技大学无公害农药研究服务中心对西北地区多种菊科植物进行了杀菌活性的筛选^[5-6],发现菊科天名精属植物大花金挖耳(*Carpesium macrocephalum* Franch. Et Sav)具有较强的杀菌活性,从中分离到 17 种化合物,经测试、分析认为半萜内酯类化合物天名精内酯酮(图 1)为其主要活性成分之一,研究发现天名精内酯酮具有较为广谱和较强的杀菌活性^[7]。在此基础上,本文以小麦纹枯病菌、番茄灰霉病菌、番茄叶霉病菌、南瓜枯萎病菌、黄瓜炭疽病菌、小麦全蚀病菌、小麦赤霉病菌、苹果炭疽病菌、苹果干腐病菌、小麦条锈病菌和辣椒疫霉病菌为供试病原菌,采用生长速率法、孢子萌发法、盆栽药效试验及组织法,从离体和活体 2 个方面评价了天名精内酯酮的杀菌活性,以期为这一植物源活性物质的开发利用提供基础资料。

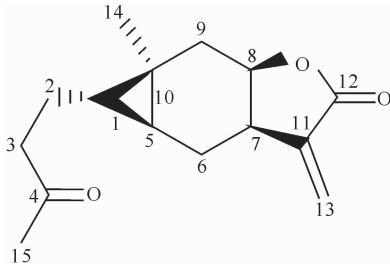


图 1 天名精内酯酮的结构
Fig. 1 Structure of carabrone

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试药剂:天名精内酯酮(纯度≥96%)、10%天

名精内酯酮微乳剂,均由西北农林科技大学无公害农药研究服务中心提供;15%粉锈宁可湿性粉剂(四川国光农化有限公司),70%甲基硫菌灵可湿性粉剂(陕西上格之路生物科学有限公司),50%甲霜灵可湿性粉剂(中国潍坊市瑞泽丰农化有限公司),50%速克灵可湿性粉剂(日本住友化学工业株式会社)。

供试病原菌:小麦纹枯病菌(*Rhizoctonia cerealis*)、番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)、番茄叶霉病菌(*Fulvia fulva* (Cooke) Ciferri)、南瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* (Schl.) f. sp. *cucumerirtum* Owen)、黄瓜炭疽病菌(*Colletrichum lagenarium* (Pass.) Ell. et Halst)、小麦全蚀病菌(*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*)、小麦赤霉病菌(*Gibberella sanbinetti*)、苹果炭疽病菌(*Glomerella cingulate*)、苹果干腐病菌(*Botryosphaeria berengeriana* (Moug. ex fr). Ces. etdeNot)、小麦条锈病菌(*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*)和辣椒疫霉病菌(*Phytophthora capsici* Leonian),均由西北农林科技大学无公害农药研究服务中心提供。

供试作物:小麦(品种为辉县红)、黄瓜(品种为农城 3 号)和辣椒(品种为世纪红),均为感病品种,购自杨凌种子市场。番茄果实采摘自陕西杨凌杨村温室大棚。

1.2 试验方法

前期初步测试表明,天名精内酯酮对小麦纹枯病菌、番茄灰霉病菌、番茄叶霉病菌、辣椒疫霉病菌、南瓜枯萎病菌、黄瓜炭疽病菌、小麦全蚀病菌、小麦赤霉病菌、苹果炭疽病菌和苹果干腐病菌 10 种病原菌菌丝生长具有较强的抑制作用,对小麦赤霉病菌、黄瓜炭疽病菌、番茄灰霉病菌、番茄叶霉病菌和辣椒疫霉病菌 5 种病菌孢子的萌发具有较高的抑制效果,故离体毒力测定中分别选取上述病原菌进行测试。

1.2.1 离体测定方法 (1) 生长速率法。采用生

长速率法测定天名精内酯酮对供试病菌菌丝生长的抑制作用^[8]。在无菌条件下,将 PDA 培养基融化,待用。在含 9 mL 培养基的具刻度试管中加入 1 mL 用丙酮溶解的不同质量浓度的天名精内酯酮溶液,将其充分摇匀后倾倒入直径为 9 cm 的培养皿中,制成平板培养基备用,天名精内酯酮的终质量浓度分别为 2,4,16,32,64 mg/L。将直径为 4 mm 的供试病原菌菌饼分别接种于含有不同质量浓度天名精内酯酮的带毒培养基平板上,置于室内(温度 $(25\pm 1)^\circ\text{C}$,相对湿度 70%~80%)培养。每皿为 1 个处理,每处理 3 次重复。以等量丙酮处理为对照,5 d 后用十字交叉法测量菌落直径,计算抑制率和有效抑制中浓(EC_{50})。

菌落直径=菌落平均直径-4×菌饼直径;

抑制率=(对照菌落直径-处理菌落直径)/对照菌落直径×100%。

(2)孢子萌发法。采用悬滴法^[8]测定天名精内酯酮对供试病菌孢子萌发的抑制毒力。用无菌水将培养好的供试病菌孢子从产孢培养基上洗下,用纱布过滤得到孢子悬浮液,以无菌水调至 $1\times 10^6\text{ mL}^{-1}$ 。向孢子悬浮液中加入不同质量浓度的天名精内酯酮溶液,制备 5 个药剂质量浓度梯度的带药孢子混合液,每个质量浓度处理设置 3 个重复。吸取带药孢子混合液 50 μL 滴加在凹玻片上,25 $^\circ\text{C}$ 恒温箱中保湿培养,在显微镜下观察分生孢子萌发情况,以芽管长度大于孢子短半径认定为萌发,当对照萌发率大于 80% 后,检查所有处理的萌发率,计算孢子萌发抑制率和有效抑制中浓(EC_{50})。

萌发率=萌发孢子数/检查孢子总数×100%;

抑制率=(对照萌发率-处理萌发率)/对照萌发率×100%。

1.2.2 活体测定方法 (1)防治小麦全蚀病盆栽试验。采用 Penrose^[9]的菌饼接种法,并略有修改:将小麦播种于装有灭菌土的直径 10 cm 的塑料花盆中,每盆 15 株左右,待长至 2~3 叶时开始试验。将菌饼与幼苗根部四周 1~2 cm 深的土壤轻微混拌接菌,每株幼苗根部接种 2 个菌饼。将天名精内酯酮配制成质量浓度分别为 1 000 和 500 mg/L 的 2 个溶液,以 10 mL 注射器进行注射灌根施药,施药量为 10 mL/盆。保护作用测定:施药 24 h 后进行接菌,保持相对湿度在 80% 以上培养。治疗作用测定:先对小麦进行接菌,保持相对湿度 80% 以上,48 h 后施药。以灌施 10 mL 粉锈宁 150 mg/L 的药液处理为标准药剂对照,每处理重复 4 次;同时设清水

和溶剂对照。接种 3 周后,洗根调查发病情况。

(2)防治小麦条锈病盆栽试验。将供试小麦种子消毒、浸种、催芽后盆栽,每盆种植 15 株左右;待小麦幼苗第 1 片叶完全展开时进行试验。保护作用测定时,用喷雾法施药,24 h 后再用扫接法接菌保湿 24 h,然后转入常规管理;治疗作用测定时,先接菌,保湿 24 h 后再施药^[10]。将天名精内酯酮配制成质量浓度分别为 1 000,500 mg/L;以清水为空白对照,以粉锈宁 150 mg/L 处理为标准药剂对照。每处理重复 4 次,接种 7 d 后调查发病情况。

(3)防治黄瓜炭疽病盆栽试验。参照《农药室内生物测定试验准则》进行^[11],具体为:待黄瓜幼苗长到 2~4 片真叶时备用。将孢子悬浮液($1\times 10^5\text{ mL}^{-1}$)喷在植株叶面接菌,以叶面布满雾点而不形成水滴流失为宜;保护性试验在药剂处理后 24 h 接菌,治疗性试验在药剂处理前 24 h 接菌;接菌后保持相对湿度 95%~100%、黑暗培养 24 h,然后在 22~27 $^\circ\text{C}$ 、相对湿度 80%~90% 条件下光照培养。将天名精内酯酮配制成质量浓度分别为 1 000,500 mg/L;以清水为空白对照,以甲基硫菌灵 700 mg/L 处理为标准药剂对照。每处理重复 4 次,每重复育苗 3 盆。14 d 后进行病情调查。

(4)防治辣椒疫霉病盆栽试验。参照邱思鑫等^[12]的方法,具体为:待盆栽辣椒长出 4~6 片叶时开始试验。采用灌根方式进行接种,每盆接种 5 mL 药液或辣椒疫霉病菌孢子悬浮液($1\times 10^5\text{ mL}^{-1}$),同时设清水对照。保护作用为先将药液浇灌在根际周围,24 h 后浇灌辣椒疫霉病菌孢子悬浮液;治疗作用为先浇灌辣椒疫霉病菌孢子悬浮液,24 h 后浇灌药液。每个处理育苗 3 盆,4 次重复。将天名精内酯酮配制成质量浓度分别为 1 000,500 mg/L;同时设清水和溶剂对照,以甲霜灵 500 mg/L 处理为标准药剂对照。于接种后 14 d 调查发病情况。

上述各试验发病情况均按《农药田间药效试验准则》中病害分级标准^[13]进行调查,按照下式计算病情指数和药效^[14]:

病情指数 = $\Sigma(\text{各级病株数或叶数} \times \text{对应发病级数}) / (\text{调查总株数或叶数} \times \text{最高发病级数}) \times 100$;

药效 = $(\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数}) / \text{对照病情指数} \times 100\%$ 。

(5)防治番茄灰霉病药效试验。番茄灰霉病药效试验采用番茄幼果法^[15]。将从田间采集的未施用任何杀菌药剂的番茄果实先用清水洗涤干净、晾干,再用脱脂棉蘸取体积分数 75% 的乙醇擦拭果实

表面。用接种针在番茄果实表面刺出直径约 5 mm 的侵染区域,以直径 4 mm 的打孔器打制菌饼,将菌饼倒扣在番茄果实表面病菌侵染区。保护作用:先采用喷雾法,将质量浓度分别为 500 和 1 000 mg/L 的天名精内酯酮药液直接洒在番茄果实表面,待药液晾干后接菌。治疗作用:先将菌饼接种在番茄果实表面后,再以质量浓度分别为 500 和 1 000 mg/L 的天名精内酯酮药液喷洒果实表面。以丙酮溶液处理为溶剂对照,以 500 mg/L 速克灵处理为标准药剂对照。接种后于 25 ℃ 培养箱中保湿培养,3 d 后检查发病情况,计算药效。

药效=(对照病斑扩展直径-处理病斑扩展直径)/对照病斑扩展直径×100%。

上述试验数据均采用 SPSS(19.0)软件中邓肯氏新复极差法(DMRT)进行统计分析。

表 1 天名精内酯酮对 10 种病原真菌菌丝生长的抑制毒力(5 d)

供试病原菌 Fungi	毒力回归方程 Regression equation	EC ₅₀ / (mg·L ⁻¹)	EC ₅₀ 95%置信区间/ (mg·L ⁻¹) EC ₅₀ 95% CL	相关系数 Correlation coefficient
小麦纹枯病菌 <i>Rhizoctonia cerealis</i>	Y=3.085 9+1.737 3x	12.640 9	9.198 3~17.371 8	0.921 9
小麦全蚀病菌 <i>Gaeumannomyces graminis</i>	Y=3.882 1+1.620 8x	4.894 7	3.284 2~7.295 1	0.989 4
小麦赤霉病菌 <i>Gibberella sanbinetti</i>	Y=2.595 6+1.727 1x	24.672 6	20.300 9~29.985 8	0.981 5
辣椒疫霉病菌 <i>Phytophthora capsici</i>	Y=1.358 2+2.765 0x	20.754 3	16.879 3~25.518 8	0.969 5
苹果炭疽病菌 <i>Glomerella cingulate</i>	Y=3.290 9+1.109 2x	34.743 9	20.675 8~58.384 0	0.978 4
黄瓜炭疽病菌 <i>Colletrichum lagenarium</i>	Y=2.202 4+2.116 4x	20.983 7	18.905 3~23.290 6	0.996 0
苹果干腐病菌 <i>Botryosphaeria berengeriana</i>	Y=2.945 4+1.478 0x	24.554 2	16.602 1~36.315 2	0.959 8
南瓜枯萎病菌 <i>Fusarium oxysporum</i>	Y=0.612 3+2.806 2x	36.609 7	31.551 7~42.478 5	0.988 7
番茄灰霉病菌 <i>Botrytis cinerea</i>	Y=1.734 7+2.198 8x	30.552 0	19.828 5~47.074 8	0.997 1
番茄叶霉病菌 <i>Fulvia fulva</i>	Y=2.332 8+1.624 3x	43.856 9	32.632 3~58.942 4	0.980 5

2.1.2 对 5 种病原真菌孢子萌发的抑制作用 采用孢子萌发法测定了天名精内酯酮对 5 种病原真菌孢子萌发的抑制毒力,结果见表 2。由表 2 可知,天明精内酯酮对供试的 5 种病原真菌孢子萌发均具有一定的抑制作用,但对不同病原菌孢子萌发的抑制作用存在明显差异。其中对黄瓜炭疽病菌孢子萌发

2 结果与分析

2.1 天名精内酯酮对供试病菌的离体生物测试结果

2.1.1 对 10 种病原真菌菌丝生长的抑制作用 采用生长速率法测定了天名精内酯酮对 10 种病原真菌菌丝生长的抑制作用,结果见表 1。由表 1 可见,天明精内酯酮对供试的 10 种病原真菌菌丝生长均具有较强的抑制作用,EC₅₀在 4.894 7~43.856 9 mg/L。其中对小麦全蚀病菌的毒力最高,EC₅₀为 4.894 7 mg/L,对小麦纹枯病菌的毒力次之,EC₅₀为 12.640 9 mg/L,对辣椒疫霉病菌、小麦赤霉病菌、黄瓜炭疽病菌和苹果干腐病菌均具有中等毒力,EC₅₀在 20~25 mg/L,对番茄灰霉病菌、番茄叶霉病菌、苹果炭疽病菌和南瓜枯萎病菌的毒力较弱,EC₅₀>30 mg/L。

的抑制毒力最高,EC₅₀为 6.876 5 mg/L,对辣椒疫霉病菌、番茄灰霉病菌和番茄叶霉病菌也具有较强的抑制作用,EC₅₀在 22.733 0~37.817 3 mg/L,而对小麦赤霉病菌孢子的抑制作用相对较弱,EC₅₀大于 200 mg/L。

表 2 天名精内酯酮对 5 种病原真菌孢子萌发的抑制毒力

供试病原菌 Fungi	毒力回归方程 Regression equation	EC ₅₀ / (mg·L ⁻¹)	EC ₅₀ 95%置信区间/ (mg·L ⁻¹) EC ₅₀ 95% CL	相关系数 Correlation coefficient
小麦赤霉病菌 <i>Gibberella sanbinetti</i>	Y=-2.422 5+3.088 0x	253.324 7	238.264 4~269.336 9	0.995 2
辣椒疫霉病菌 <i>Phytophthora capsici</i>	Y=2.749 2+2.688 0x	6.876 5	6.092 0~7.762 0	0.999 8
黄瓜炭疽病菌 <i>Colletrichum lagenarium</i>	Y=1.417 4+2.517 8x	26.478 9	25.090 3~27.944 5	0.999 4
番茄灰霉病菌 <i>Botrytis cinerea</i>	Y=2.089 8+1.844 6x	37.817 3	33.803 6~42.307 6	0.998 5
番茄叶霉病菌 <i>Fulvia fulva</i>	Y=4.394 3+1.716 1x	22.733 0	11.970 3~43.172 6	0.953 8

2.2 天名精内酯酮对 5 种病害的药效试验结果

2.2.1 对 4 种植物病害的盆栽药效 由表 3 可知,天名精内酯酮对小麦全蚀病的药效相对较好。在

1 000 mg/L 剂量下,天名精内酯酮对小麦全蚀病的保护效果和治疗效果分别为 85.48%和 64.98%,保护效果优于粉锈宁 150 mg/L 处理(82.28%);在

500 mg/L 剂量处理下的保护效果仍可达 74.65%，而此质量浓度下治疗效果为 47.08%，明显下降。天名精内酯酮对小麦条锈病的药效次之，1 000 mg/L 剂量下的保护和治疗效果分别为 60.40%和 59.70%，均显著低于对照药剂粉锈宁 150 mg/L 的处理，而 500 mg/L 剂量下的保护和治疗效果分别

只有 30.60%和 15.27%。天名精内酯酮对黄瓜炭疽病和辣椒疫霉病的药效较低，1 000 mg/L 剂量下的保护效果分别为 50.01%和 48.06%，治疗效果分别为 46.49%和 39.75%，均显著低于对照药剂，500 mg/L 剂量下的保护和治疗效果则均不足 30%。

表 3 天名精内酯酮对 4 种植物病害的盆栽药效

Table 3 Control effects of carabrone against four plant diseases by pot test

植物病害 Plant disease	供试药剂 Test fungicides	质量浓度/ (mg·L ⁻¹) Concentration	保护作用 Protective effect		治疗作用 Curative effect	
			病情指数 Disease index	药效/% Control effect	病情指数 Disease index	药效/% Control effect
小麦全蚀病 Wheat take-all	清水对照 CK	0	97.92	—	89.17	—
	天名精内酯酮 Carabrone	500	18.75	74.65 b	35.42	47.08 c
		1 000	9.38	85.48 a	20.47	64.98 b
	粉锈宁 Triadimefon	150	17.35	82.28 a	24.17	72.89 a
小麦条锈病 Wheat stripe rust	清水对照 CK	0	23.33	—	79.17	—
	天名精内酯酮 Carabrone	500	24.58	30.60 c	25.42	15.27 c
		1 000	7.92	60.40 b	9.40	59.70 b
	粉锈宁 Triadimefon	150	0.01	99.95 a	4.17	95.73 a
黄瓜炭疽病 Cucumber anthracnose	清水对照 CK	0	96.30	—	37.04	—
	天名精内酯酮 Carabrone	500	77.78	4.54 c	23.37	15.87 c
		1 000	40.74	50.01 b	14.81	46.49 b
	甲基硫菌灵 Thiophanate-methyl	700	22.22	76.93 a	9.26	75.00 a
辣椒疫霉病 Pepper phytophthora blight	清水对照 CK	0	57.93	—	60.72	—
	天名精内酯酮 Carabrone	500	37.78	26.61 c	43.37	24.94 c
		1 000	26.74	48.06 b	34.81	39.75 b
	甲霜灵 Metalaxyl	500	22.22	61.64 a	29.26	51.81 a

注：①表中数据为 4 次重复的平均值；②同列数据后标不同小写字母者表示在 Duncan’s 法中差异显著(P<0.05)。下表同。

Note:①The data of the table was the average of 4 repeats;②Different lowercase letters in each column mean significant difference at P<0.05 by Duncan’s multiple range test. The same for following tables.

2.2.2 对番茄灰霉病的室内药效 由表 4 可见，天名精内酯酮对番茄灰霉病防效较低，1 000 mg/L 处理的保护效果和治疗效果分别为 45.5%和 19.9%，

500 mg/L 剂量下仅表现出较低的保护效果 23.9%，无明显治疗效果。

表 4 天明精内酯酮对番茄灰霉病的防治效果

Table 4 Effect of carabrone against tomato gray mold

供试药剂 Test fungicides	质量浓度/ (mg·L ⁻¹) Concentration	保护作用 Protective effect		治疗作用 Curative effect	
		病斑扩展直径/mm Diameter of extended lesion	药效/% Control effect	病斑扩展直径/mm Diameter of extended lesion	药效/% Control effect
溶剂对照 Solvent CK	0	26.50	—	27.67	—
速克灵 Procymidone	500	3.79	85.7 a	6.83	75.3 a
天名精内酯酮 Carabrone	500	20.17	23.9 c	29.33	—
	1 000	14.44	45.5 b	22.17	19.9 b

3 小结与讨论

本研究表明，天名精内酯酮对供试病原真菌均表现出较好的抑制作用和一定的广谱性，具有开发为植物源杀菌剂的潜质。天名精内酯酮在大花金挖耳、天名精等菊科植物中含量较高，主要分布于植株花序中^[16]。前期已对大花金挖耳的杀菌活性进行

了系统研究，通过对比大花金挖耳全株及根、茎、叶和花提取物的抑菌活性，发现活性成分主要集中在花中，且主要存在于乙酸乙酯和乙醇相中，茎、叶提取物活性较低，活性成分存在于石油醚和氯仿相中^[17]。大花金挖耳丙酮提取物对苹果炭疽病的抑制侵染率为 63.50%，对黄瓜霜霉菌的保护作用和治疗作用均在 50% 以上，对小麦白粉病的保护和治

疗效果均高于 60%^[5,17-18],大花金挖耳精油对小麦全蚀病菌和小麦纹枯病菌菌丝生长的抑制作用大于 97%^[19]。活性成分研究表明,天名精内酯酮是大花金挖耳的主要杀菌活性物质之一^[7]。任双喜等^[20]研究发现,天名精内酯酮对小麦白粉病菌菌落的扩展具有明显抑制作用,对小麦白粉病具有保护和治理双重效果,且灌根处理对小麦白粉病有较好的防效,说明天名精内酯酮具有较优的内吸传导性能。本研究中天名精内酯酮对供试的 11 种所属不同分类地位的病原真菌均表现出较好的离体或活体抑菌活性,这些病原真菌包括半知菌亚门 5 种,子囊菌亚门 4 种,担子菌亚门和鞭毛菌亚门各 1 种。其中,天名精内酯酮对小麦全蚀病菌菌丝生长的 EC_{50} 为 4.894 7 mg/L,对黄瓜炭疽病菌孢子萌发的 EC_{50} 为 6.876 5 mg/L, 1 000 mg/L 剂量下对小麦全蚀病的保护效果和治疗效果分别为 85.48% 和 64.98%,说明天名精内酯酮具有较强的杀菌活性,并具有一定的广谱性,具备进一步研究的价值。尤其对小麦全蚀病菌在离体和活体测定中均表现出了较高的杀菌活性,在后续的研究中应当予以重视。

天名精内酯酮的来源植物资源分布广泛,具备从多种途径开发应用的潜质。首先,可直接从植物中分离提取天名精内酯酮。天名精内酯酮是广泛存在于菊科天名精属植物中的倍半萜内酯类化合物,在植株的花、茎叶及根中均有分布,目前已在烟管头草^[21]、大花金挖耳^[22]、天名精^[16]等天名精属植物中分离得到。天明精属(*Carpesium* L.)植物属于菊科(Compositae)旋复花亚族,为多年生草本植物。该属共有 21 种,大部分分布于亚洲中部,特别是我国西南山区,少数种类广布欧、亚大陆,我国有 17 种,3 变种^[23]。其次,在合理开发自然资源的前提下,对天名精内酯酮的开发利用也可从人工合成和生物合成 2 个方面进行。通过利用现代化学技术和手段,研究、开发其化学合成工艺,实现天名精内酯酮的人工全合成,并在此基础上适当进行结构修饰,有望获得更加优异的杀菌活性化合物;通过利用植物组织培养、细胞培养及植物内生菌发酵等技术实现天名精内酯酮的生物合成,天明精内酯酮属倍半萜类物质,萜类化合物虽然形态各异,但均是由异戊二烯基二磷酸(IPP)和二甲基烯丙基二磷酸(DMAPP)聚合而成^[24-25]。目前对该生物合成的途径和步骤逐渐清晰,许多关键酶的基因被克隆分离,尤其是萜类合成酶研究进展较快,已有多种萜类生物合成的关键酶晶体结构的报道^[26-27],这预示着天

明精内酯酮的生物合成将指日可待。

[参考文献]

- [1] 吴传万,杜小凤,徐建明,等.植物源抑菌活性成分研究新进展[J].西北农业学报,2004,13(3):81-88.
Wu C W, Du X F, Xu J M, et al. Research advances in natural antibacterial constituents from plant origin [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2004, 13(3): 81-88. (in Chinese)
- [2] 林有润.中国菊科植物的系统分类与区系的初步研究[J].植物研究,1997,17(1):6-26.
Lin Y R. On the primary study of the systematics and floristics of Compositae from China [J]. Bulletin of Botanical Research, 1997, 17(1): 6-26. (in Chinese)
- [3] 周利娟,黄继光,徐汉虹,等.菊科植物的杀菌活性及其活性成分[J].西北植物学报,2006,26(9):1959-1964.
Zhou L J, Huang J G, Xu H H, et al. Anti-microbial activities and active ingredients of Compositae plants [J]. Acta Bot Boreali-Occident Sin, 2006, 26(9): 1959-1964. (in Chinese)
- [4] 周利娟,黄继光,徐汉虹,等.菊科植物的杀菌活性及其活性成分 II [J].植物保护,2010,36(6):12-15.
Zhou L J, Huang J G, Xu H H, et al. Fungicidal activities and active ingredients of Asteraceae plants II [J]. Plant Protection, 2010, 36(6): 12-15. (in Chinese)
- [5] 李玉平,冯俊涛,邵红军,等.25 种菊科植物提取物对 3 种植物病原菌的药效试验[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2003,31(4):123-126.
Li Y P, Feng J T, Shao H J, et al. Bio-activities of extracts from 25 species Compositae plants against three kinds of pathogens [J]. Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry: Nature Science Edition, 2003, 31(4): 123-126. (in Chinese)
- [6] 李玉平,慕小倩,冯俊涛,等.几种菊科植物杀菌活性的初步研究[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2002,30(1):69-72.
Li Y P, Mu X Q, Feng J T, et al. Primary study on the fungicidal activity of Compositae plants [J]. Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry: Nature Science Edition, 2002, 30(1): 69-72. (in Chinese)
- [7] 冯俊涛.大花金挖耳杀菌作用研究[D].陕西杨凌:西北农林科技大学,2006:55-68.
Feng J T. Studies on the fungicidal activities of *Carpesium macrocephalum* Franch. Et Sav [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2006: 55-68. (in Chinese)
- [8] 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.
Mu L Y, Wu W J, Wang K Y. Methods of phytochemical protection [M]. Beijing: China Agric Press, 1994. (in Chinese)
- [9] Penrose L. Evidence for resistance in wheat cultivars grown in sand culture to the take-all pathogen, *Gaeumnomys graminis* var. *tritici* [J]. Annals of Applied Biology, 1985, 107: 105-108.
- [10] 徐国锋,郑永权,纪明山.丁布对小麦条锈病菌的抑制作用

- [J]. 中国农学通报, 2006, 22(6): 324-326.
- Xu G F, Zheng Y Q, Ji M S. Activity test on dimboa against *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2006, 22(6): 324-326. (in Chinese)
- [11] NY/T 1156. 14—2008 农药室内生物测定试验准则: 杀菌剂第 14 部分 [S]. 北京: 中国农业出版社, 2008.
- NY/T 1156. 14—2008 Guideline for laboratory bioassay of pesticides Part 14 [S]. Beijing: China Agriculture Press, 2008. (in Chinese)
- [12] 邱思鑫, 何红, 阮宏椿, 等. 内生芽孢杆菌 TB2 防治辣椒疫病效果及其机理初探 [J]. 植物病理学报, 2004, 34(2): 173-179.
- Qiu S X, He H, Ruan H C, et al. Biological control of pepper Phytophthora blight by endophytic TB2 (*Bacillus* sp.) [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2004, 34(2): 173-179. (in Chinese)
- [13] 农业部农药检定所生测室. 农药田间药效试验准则(I) [S]. 北京: 中国标准出版社, 1999.
- The Ministry of Agriculture pesticide verification by test chamber. Pesticide-Guidelines for the field efficacy trials (I) [S]. Beijing: China Standards Press, 1999. (in Chinese)
- [14] 方仲达. 植病研究方法 [M]. 3 版. 北京: 农业出版社, 1995.
- Fang Z D. The research methods of plant disease [M]. 3th ed. Beijing: Agricultural Press, 1995. (in Chinese)
- [15] 胡林峰. 孜然杀菌活性成分研究 [D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2005.
- Hu L F. Studies on fungicidal constituents of *Cuminum cyminum* L. [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2005. (in Chinese)
- [16] 董云发, 丁云梅. 天名精倍半萜内酯化合物 [J]. 植物学报, 1988, 30(1): 71-75.
- Dong Y F, Ding Y M. Sesquiterpene lactones from *Carpesium abrotanoides* [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 1988, 30(1): 71-75. (in Chinese)
- [17] 王箬霞, 冯俊涛, 张兴. 大花金挖耳茎叶甲醇提取物杀菌活性初步研究 [J]. 西北农业学报, 2007, 16(6): 212-216.
- Wang Q X, Feng J T, Zhang X. Study on the fungicidal activity of methanol extract from stems and leaves of *Carpesium macrocephalum* [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2007, 16(6): 212-216. (in Chinese)
- [18] 李玉平, 龚宁, 江志利, 等. 大花金挖耳杀菌活性的进一步研究 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2004, 32(2): 35-38.
- Li Y P, Gong N, Jiang Z L, et al. A further study on the fungicidal activity of *Carpesium macrocephalum* Franch. et Sav [J]. Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry: Nature Science Edition, 2004, 32(2): 35-38. (in Chinese)
- [19] 冯俊涛, 苏祖尚, 王俊儒, 等. 大花金挖耳花蕾中精油的化学组成及其杀菌活性研究 [J]. 西北植物学报, 2007, 27(1): 156-162.
- Feng J T, Su Z S, Wang J R, et al. Chemical constituents and their anti-microbial activities of essential oil in flower buds of *Carpesium macrocephalum* [J]. Acta Bot Boreali-Occident Sin, 2007, 27(1): 156-162. (in Chinese)
- [20] 任双喜, 许丹, 韩立荣, 等. 天名精内酯酮对小麦白粉病的药效及病菌生长发育的影响 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2012, 40(8): 77-82.
- Ren S X, Xu D, Han L R, et al. Effects of Carabrone on development of *Blumeria graminis* [J]. Journal of Northwest A&F University: Nature Science Edition, 2012, 40(8): 77-82. (in Chinese)
- [21] 杨超, 王兴, 师彦平, 等. 烟管头草地上部分化学成分的研究 [J]. 兰州大学学报: 自然科学版, 2002, 38(4): 61-67.
- Yang C, Wang X, Shi Y P, et al. Chemical constituents of the aerial parts of *Carpesium cernuum* [J]. Journal of Lanzhou University: Natural Sciences, 2002, 38(4): 61-67. (in Chinese)
- [22] Mi-Ran Kim, Seung-Kyu Lee, Chang-Soo Kim, et al. Phytochemical constituents of *Carpesium macrocephalum* Fr. Et Sav. [J]. Arch Pharm Res, 2004, 27(10): 1029-1033.
- [23] 万明香, 何顺志, 王悦芸, 等. 天名精属药用植物的研究现状 [J]. 贵阳中医学院学报, 2009, 31(6): 76-78.
- Wan M X, He S Z, Wang Y Y, et al. Research progress in medicinal plants of *Carpesium* [J]. Journal of Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, 2009, 31(6): 76-78. (in Chinese)
- [24] Lewinsohn E, Schalechet F, Wilkinson J, et al. Enhanced levels of the aroma and flavor compound S-linalool by metabolic engineering of the terpenoid pathway in tomato fruits [J]. Plant Physiol, 2001, 127(3): 1256-1265.
- [25] 周桂飞, 徐茂军. 植物次生代谢物质生物合成的研究 [J]. 生物学通报, 2005, 40(12): 12-14.
- Zhou G F, Xu M J. Progress in the study of biosynthesis of plant secondary metabolite [J]. Bulletin of Biology, 2005, 40(12): 12-14. (in Chinese)
- [26] Lesburg C A, Zhai G, Cane D E, et al. Crystal structure of pentalenene synthase: Mechanistic insights on terpenoid cyclization reactions in biology [J]. Science, 1997, 277: 1820.
- [27] Caruthers J M, Kang I, Rynkiewicz M J, et al. Crystal structure determination of aristolochene synthase from the blue cheese mold, *Penicillium roqueforti* [J]. J Biol Chem, 2000, 275: 25, 533.