

# 蛇床子素对 6 种植物病原真菌的毒力测定

蒋晶晶<sup>1,2</sup>, 王春明<sup>1,2</sup>, 杜 蕙<sup>1,2</sup>

(1. 甘肃省农业科学院植物保护研究所, 甘肃 兰州 730070; 2. 农业部天水作物有害生物科学观测实验站, 甘肃 天水 741000)

**摘要:** 采用生长速率法, 在离体条件下测定了蛇床子素对 6 种植物病原真菌的室内抑制效果。结果表明, 蛇床子素对供试 6 种植物病原真菌均有不同程度的抑制作用, 其中对向日葵菌核病病菌的毒力最强, 其  $EC_{50}$  值为 3.628  $\mu\text{g/mL}$ , 相关系数为 0.942 9; 对西瓜蔓枯病病菌的毒力次之, 其  $EC_{50}$  值是 3.940  $\mu\text{g/mL}$ , 相关系数为 0.992 5; 对葡萄灰霉病病菌的毒力居第 3 位, 其  $EC_{50}$  值为 4.153  $\mu\text{g/mL}$ , 相关系数为 0.988 8; 对葡萄炭疽病、棉花枯萎病病菌的毒力也较强, 其  $EC_{50}$  值分别为 5.569、4.996  $\mu\text{g/mL}$ , 相关系数分别为 0.937 7、0.962 1; 对玉米茎基腐病病菌的毒力最弱,  $EC_{50}$  值为 11.371  $\mu\text{g/mL}$ 。

**关键词:** 蛇床子素; 植物病原真菌; 毒力测定; 生长速率法

**中图分类号:** S482.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2017)11-0033-03

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1463.2017.11.010

## Toxicity Determination of Osthole to 6 Species of Plant Pathogenic Fungi

JIANG Jingjing<sup>1,2</sup>, WANG Chunming<sup>1,2</sup>, DU Hui<sup>1,2</sup>

((1. Institute of Plant Protection, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China ;2. Scientific Observing and Experimental Station of Crop Pests in Tianshui, Ministry of Agriculture, P.R. , Tianshui Gansu 741000, China)

**Abstract:** The biological activities of osthole against six plant pathogens are analysed with growth rate method. The result shows that osthole have different biological compression effect six plant pathogens. Osthole carried the strongest toxicity against *Mycosphaerlla melonis* and *Sclerotinia sclerotiorum*, of which  $EC_{50}$  are 3.940 and 3.628  $\mu\text{g/mL}$ , respectively. Osthole carried the secondly toxicity against *Botrytis cinerea*, of which  $EC_{50}$  is 4.153  $\mu\text{g/mL}$ . The  $EC_{50}$  on *F. oxysporum* f. sp. vesinfectum and *Colletotrichum gloeosporiodes* from osthole are 4.996 and 5.569  $\mu\text{g/mL}$ . Osthole carried the weakest toxicity against *Fusarium graminearum*, of which  $EC_{50}$  is 11.371  $\mu\text{g/mL}$ .

**Key words:** Osthole; Plant pathogenic fungi; Toxicity measurement; Growth rate method

蛇床子素是从中药材蛇床子种子内提取的杀菌活性物质, 其作用机理主要是影响真菌细胞壁

的生长, 导致菌丝大量断裂, 同时抑制菌丝的生长。蛇床子素是香豆素的主要成分, 香豆素类化

收稿日期: 2017-06-08; 修订日期: 2017-08-05

基金项目: 甘肃省农业科学院科技支撑计划项目 (2016GAAS08)。

作者简介: 蒋晶晶(1988—), 女, 甘肃兰州人, 研究实习员, 主要从事经济作物病害及其防治研究工作。联系电话: (0)18309477496。E-mail: jingjingziyu@163.com。

通信作者: 杜 蕙(1970—), 女, 甘肃临洮人, 研究员, 主要从事植物病害及其防治研究工作。E-mail: dh0928@163.com。

- [2] 李 瑾, 秦向阳. 基于比较优势理论的我国畜牧业区域结构调控研究[J]. 农业现代化研究, 2009, 30(1), 6-10.
- [3] 王爱民, 陈其兵. 天祝县民族地区特色农作物比较优势实证分析[J]. 中国农业资源与区划, 2016, 37(4): 31-37.
- [4] 戴双兴. 优势农产品的区域布局与农业结构调整[J]. 中国农业资源与区划, 2004(2): 23-26.
- [5] 颜淑芳, 孟全省. 中国传统平原农区畜牧业产业集聚水平分析 [J]. 农业现代化研究, 2009, 30(6):

717-723.

- [6] 梁正满, 陈开胜. 浅析甘肃省肉羊产业发展中存在的问题及建议[J]. 甘肃畜牧兽医, 2016(1): 21-22.
- [7] 鱼小军, 徐长林. 反季节畜牧业发展刍议[J]. 甘肃农业科技, 2017(7): 37-38.
- [8] 李积友. 基于甘肃省草食畜牧业可持续发展的战略思考[J]. 中国牛业科学, 2015, 41(1): 6-9.
- [9] 秦红林. 甘肃省肉羊产业化发展的成效与可持续发展思路[J]. 甘肃畜牧兽医, 2015, 45(1), 12-15.

(本文责编: 陈 珩)

合物有许多重要功能,如抗微生物活性,可作为调节昆虫、共生菌、病原菌与植物互作反应的信号分子。有关蛇床子素化合物的研究取得很大进展,目前主要在医学上研究较多<sup>[1]</sup>。在农业领域,Stadler等<sup>[2]</sup>报道蛇床子素对细菌和真菌具有强烈的抑制作用。Shukla等<sup>[3]</sup>报道蛇床子素对 *Alternaria alternata*、*Aspergillus sp.*和 *Cryptococcus neoformans* 具有抑制作用。石志琦等<sup>[4]</sup>报道,天然化合物蛇床子素对 10 多种植物病原真菌有不同的抑制活性,其  $EC_{50}$  值为 21.15 ~ 61.62  $\mu\text{g/mL}$ 。黄昌华等<sup>[5]</sup>测定了蛇床子素对 8 种植物病原真菌和 7 种病原细菌的抑制效果,对 8 种病原真菌都有不同程度的抑制作用,对 7 种病原细菌抑制作用最强的是水稻细菌性褐条病菌和甜碗豆带化病菌。2017 年,甘肃省农业科学院植物保护研究所选取目前甘肃省农业生产中危害较大的 6 种植物病原真菌(即玉米茎基腐病、葡萄炭疽病、葡萄灰霉病、向日葵菌核病、棉花枯萎病、西瓜蔓枯病),在离体条件下,采用生长速率法测定了蛇床子素对 6 种植物病原真菌的毒力,旨在为其作为生物农药更广泛应用于农业生产提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试药剂为 0.4% 蛇床子素可溶液剂,由河北馥稷生物科技有限公司生产并提供。供试菌株为玉米茎基腐病 (*Fusarium graminearum*)、葡萄炭疽病 (*Colletotrichum gloeosporioides*)、葡萄灰霉病 (*Botrytis cinerea*)、向日葵菌核病 (*Sclerotinia sclerotiorum*)、棉花枯萎病 (*F. oxysporum f. sp. vesinfectum*) 和西瓜蔓枯病 (*Mycosphaerella melonis*),均由甘肃省农业科学院植物保护研究所植病研究室分离保存并提供。

供试培养基为马铃薯琼脂培养基 (PDA)。将马铃薯洗净,称取 200 g,放入水中煮沸约 20 min,不断用玻璃棒搅拌,后用纱布过滤残渣,收

取滤液,在滤液中加入葡萄糖 20 g、琼脂 17 g,加入蒸馏水定容至 1 000 mL。分装锥形瓶中,进行高温灭菌。

### 1.2 试验方法

1.2.1 供试药剂浓度配制 将 0.4% 蛇床子素可溶液剂溶于无菌水中,配成浓度分别为 0、125、250、500、1 000、2 000、4 000  $\mu\text{g/mL}$  的母液。吸取 1 mL 母液加入 400 mL PDA 培养基中,制成含蛇床子素分别为 0、0.312 5、0.625 0、1.250 0、2.500 0、5.000 0、10.000 0  $\mu\text{g/mL}$  的含药培养基。

1.2.2 抑菌效果测定 采用生长速率法对菌落直径离体测定<sup>[6]</sup>。将供试菌株活化培养 5 d 后,在接近菌落边缘选生长一致的地方打取直径为 5 mm 的菌饼,分别接入含蛇床子素浓度为 0、0.312 5、0.625 0、1.250 0、2.500 0、5.000 0、10.000 0  $\mu\text{g/mL}$  的 PDA 培养基平板中央,以不含药 PDA 培养基为空白对照,3 次重复,置于 26  $^{\circ}\text{C}$  恒温培养箱培养,培养至第 6 天时采用十字交叉法量取菌落直径,计算抑制中浓度 ( $EC_{50}$ ) 和毒力回归方程<sup>[6]</sup>。

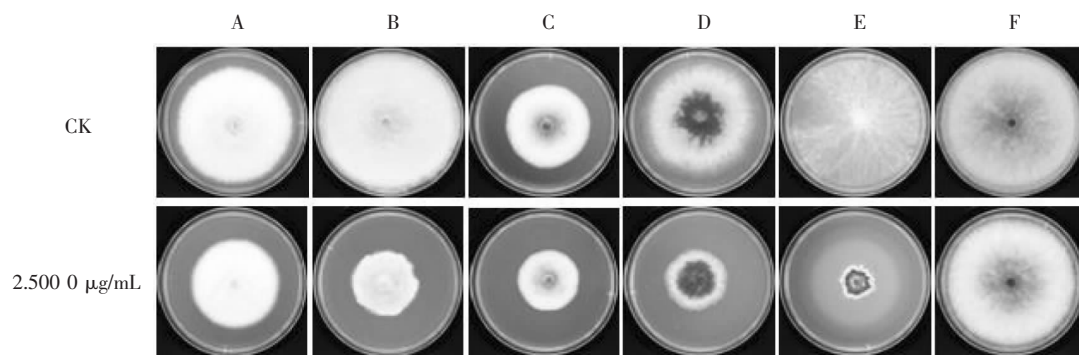
## 2 结果与分析

不同浓度蛇床子素对供试的 6 种植物病原真菌菌丝生长都有不同程度的抑制作用(表 1),且随着浓度的增加,抑制率相应提高。其中浓度在 10.000 0  $\mu\text{g/mL}$  时,对西瓜蔓枯病菌和向日葵菌核病菌的生长抑制率达到 80% 以上;对葡萄灰霉病菌的生长抑制率为 79.6%  $\pm$  0.9%;而对玉米茎基腐病菌的抑制作用最差,生长抑制率仅为 31.0%  $\pm$  0.7%。同时,从图 1 可以看出,由于蛇床子素浓度为 2.500 0  $\mu\text{g/mL}$  时,对 6 种植物病原真菌抑制效果均与对照差异最为明显。

毒力测定结果(表 2)表明,蛇床子素对向日葵菌核病菌的毒力最强,其  $EC_{50}$  值为 3.628  $\mu\text{g/mL}$ ,相关系数为 0.942 9;对西瓜蔓枯病菌的毒力次之,其  $EC_{50}$  值是 3.940  $\mu\text{g/mL}$ ,相关系数为 0.992 5;对葡萄灰霉病菌的毒力居第 3 位,

表 1 不同浓度蛇床子素对 6 种植物病原真菌菌丝生长抑制效果

植物病原真菌	不同浓度含药培养基的生长抑制率/%					
	0.312 5/( $\mu\text{g/mL}$ )	0.625 0/( $\mu\text{g/mL}$ )	1.250 0/( $\mu\text{g/mL}$ )	2.500 0/( $\mu\text{g/mL}$ )	5.000 0/( $\mu\text{g/mL}$ )	10.000 0/( $\mu\text{g/mL}$ )
棉花枯萎病菌	7.9 $\pm$ 4.4	7.4 $\pm$ 2.5	17.1 $\pm$ 0.5	31.0 $\pm$ 2.0	55.1 $\pm$ 2.2	66.3 $\pm$ 1.2
西瓜蔓枯病菌	7.5 $\pm$ 1.0	15.1 $\pm$ 1.8	31.0 $\pm$ 1.8	51.4 $\pm$ 0.7	70.8 $\pm$ 0.9	82.0 $\pm$ 1.2
葡萄炭疽病菌	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	3.2 $\pm$ 5.5	23.3 $\pm$ 7.9	43.0 $\pm$ 3.9	64.4 $\pm$ 2.7
葡萄灰霉病菌	7.6 $\pm$ 0.8	14.0 $\pm$ 0.1	25.8 $\pm$ 0.8	49.8 $\pm$ 0.4	63.6 $\pm$ 1.8	79.6 $\pm$ 0.9
向日葵菌核病菌	0.0 $\pm$ 0.0	29.9 $\pm$ 5.9	23.7 $\pm$ 10.3	71.5 $\pm$ 3.7	79.2 $\pm$ 1.4	82.3 $\pm$ 3.0
玉米茎基腐病菌	0.0 $\pm$ 0.0	0.5 $\pm$ 0.5	1.2 $\pm$ 0.6	22.9 $\pm$ 0.3	10.9 $\pm$ 1.7	31.0 $\pm$ 0.7



(A.棉花枯萎病病菌、B.西瓜蔓枯病病菌、C.葡萄炭疽病病菌、D.葡萄灰霉病病菌、E.向日葵菌核病病菌、F.玉米茎基腐病病菌)

图1 蛇床子素 2.500 0  $\mu\text{g/mL}$  对不同植物病原菌的抑制效果

其  $EC_{50}$  值为 4.153  $\mu\text{g/mL}$ , 相关系数为 0.988 8; 对葡萄炭疽病、棉花枯萎病的毒力也较强, 其  $EC_{50}$  值分别为 5.569、4.996  $\mu\text{g/mL}$ , 相关系数分别为 0.937 7、0.962 1; 对玉米茎基腐病菌的毒力最弱,  $EC_{50}$  值为 11.371  $\mu\text{g/mL}$ , 相关系数为 0.830 7。

表2 不同浓度蛇床子素对6种植物病原真菌室内毒力的测定

植物病原真菌	毒力回归方程	$EC_{50}$ 值 ( $\mu\text{g/mL}$ )	相关系数
棉花枯萎病菌	$y=12.821x-14.051$	4.996	0.962 1
西瓜蔓枯病菌	$y=16.006x-13.056$	3.940	0.992 5
葡萄炭疽病菌	$y=13.522x-25.301$	5.569	0.937 7
葡萄灰霉病菌	$y=15.220x-13.211$	4.153	0.988 8
向日葵菌核病菌	$y=17.344x-12.932$	3.628	0.942 9
玉米茎基腐病菌	$y=5.367x-11.030$	11.371	0.830 7

### 3 小结与讨论

采用生长速率法, 在离体条件下测定了蛇床子素对6种植物病原真菌的毒力。结果表明, 蛇床子素对供试玉米茎基腐病、葡萄炭疽病、葡萄灰霉病、向日葵菌核病、棉花枯萎病、西瓜蔓枯病等6种病害的病原真菌均具有一定的抑菌活性。本试验条件下, 蛇床子素对供试的6种植物病原真菌的毒力有差异, 其中对向日葵菌核病菌的毒力最强, 其  $EC_{50}$  值为 3.628  $\mu\text{g/mL}$ , 相关系数为 0.942 9; 对西瓜蔓枯病菌的毒力次之, 其  $EC_{50}$  值是 3.940  $\mu\text{g/mL}$ , 相关系数为 0.992 5; 对葡萄灰霉病菌的毒力居第3位, 其  $EC_{50}$  值为 4.153  $\mu\text{g/mL}$ , 相关系数为 0.988 8; 对葡萄炭疽病、棉花枯萎病的毒力也较强, 其  $EC_{50}$  值分别为 5.569、4.996  $\mu\text{g/mL}$ , 相关系数分别为 0.937 7、0.962 1; 对玉米茎基腐病菌的毒力最弱,  $EC_{50}$  值为 11.371  $\mu\text{g/mL}$ , 相关系数为 0.8307, 但仍有一定的抑制效果。可见蛇床子素的杀菌谱较广, 这与其他学者

的研究结果基本相同<sup>[4-5]</sup>。

蛇床子素主要存在于伞形花科和芸香科植物中, 在菊科和豆科少数种中也有分布<sup>[7]</sup>。医学研究表明, 蛇床子素具有抗高血压、抗心律失常、抗衰老、抗肿瘤、抗骨质疏松症、抗炎及抗变态反应等功效<sup>[1]</sup>。作为农用植物源杀菌剂, 其产品低毒, 在自然界中易分解, 使用后对人畜及环境相对安全, 有学者对蛇床子素的抑菌作用进行了研究<sup>[2-5]</sup>, 表明其对多种病原菌具有一定的抑制效果, 在农作物病害的绿色防控中有着广泛的应用前景。

### 参考文献:

- [1] 闫俊, 宣伟东, 卞俊. 蛇床子素的研究进展[J]. 中国药业, 2012, 21(11): 110-112.
- [2] STADLER E, BUSER H R. Defense chemicals in leaf surface wax synergistically stimulate oviposition by a phytophagous insect[J]. Experimentia, 1984, 40(10): 1157-1159.
- [3] SHUKLA Y N, SRIVATAVA A. Phytotoxic and antimicrobial constituents of *Argyrea speciosa* and *Oenothera biennis*[J]. Ethnopharm, 1986, 67: 241-245.
- [4] 石志琦, 沈寿国, 徐朗莱, 等. 蛇床子素对植物病原真菌抑制机制的初步研究[J]. 农药学学报, 2004, 6(4): 28-32.
- [5] 黄昌华, 杨天武, 肖凤平, 等. 蛇床子素对植物病原菌抑制效果的测定[J]. 华中农业大学学报, 2005, 24(3): 258-260.
- [6] 方中达. 植病研究方法[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 1998: 404-407.
- [7] 张巧艳, 郑汉臣, 秦路平. 蛇床子素在植物界的分布及药理活性[J]. 国外医药(植物药分册), 2002, 17(1): 16-18.

(本文责编: 郑立龙)