

葱莲地上部和地下部总生物碱提取物对植物病原菌的体外抑制效应

乔思薇^{1,2a,2b}, 姚静远^{1,2a,2b}, 印敏^{2a,2b}, 王忠^{2a,2b}, 王奇志^{1,2a,2b}, 冯煦^{2a,2b}, 陈雨^{2a,2b,①}, 徐曙^{2a,2b,①}

[1. 南京中医药大学, 江苏南京 210023; 2. 江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园):

a. 江苏省植物资源研究与利用重点实验室, b. 江苏省中药材生态种植与高值化利用工程研究中心, 江苏南京 210014]

摘要: 为了探究葱莲(*Zephyranthes candida* (Lindl.) Herb.)在生物农药上的应用价值,采用水浴加热浸提法提取野生葱莲地上部和地下部的总生物碱,并比较质量浓度 500 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 地上部和地下部总生物碱提取物对常见植物病原菌(包括 12 种植物病原真菌和 4 种植物病原细菌)的抑制率。结果表明:葱莲地上部和地下部总生物碱的提取率分别为 18.241%和 9.725%。葱莲地上部和地下部总生物碱提取物对稻瘟病菌(*Magnaporthe oryzae*)的抑制率均较高,分别为 75.29%和 82.62%;2 种提取物对其余植物病原真菌和植物病原细菌的抑制率均较低,多在 20%以下。并且,葱莲地上部和地下部总生物碱提取物对多数植物病原菌的抑制率无显著差异。研究结果显示:葱莲地上部和地下部总生物碱提取物具有防治稻瘟病的潜力,且地上部总生物碱提取物的使用成本更低。

关键词: 葱莲; 总生物碱; 植物病原菌; 抑制率; 生物农药

中图分类号: Q946.88; S482.2⁺92 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2023)02-0095-03

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2023.02.12

In vitro inhibitory effects from above- and under-ground parts of total alkaloid extracts of *Zephyranthes candida* on phytopathogens QIAO Siwei^{1,2a,2b}, YAO Jingyuan^{1,2a,2b}, YIN Min^{2a,2b}, WANG Zhong^{2a,2b}, WANG Qizhi^{1,2a,2b}, FENG Xu^{2a,2b}, CHEN Yu^{2a,2b,①}, XU Shu^{2a,2b,①} [1. Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 2. Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences (Nanjing Botanical Garden Mem. Sun Yat-Sen); a. Jiangsu Key Laboratory for the Research and Utilization of Plant Resources, b. Jiangsu Provincial Engineering Research Center for Ecological Planting and High Value Utilization of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210014, China], *J. Plant Resour. & Environ.*, 2023, 32(2): 95-97

Abstract: In order to explore the application value of *Zephyranthes candida* (Lindl.) Herb. in biopesticides, the total alkaloids from above- and under-ground parts of wild *Z. candida* were extracted by using a water-bath heating extraction method, and the inhibition rates of total alkaloid extracts from above- and under-ground parts with mass concentration of 500 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ on common phytopathogens (containing 12 plant-pathogenic fungi and 4 plant-pathogenic bacteria) were compared. The results show that the extraction rates of total alkaloids from above- and under-ground parts of *Z. candida* are 18.241% and 9.725%, respectively. The inhibition rates of total alkaloid extracts from above- and under-ground parts of *Z. candida* on *Magnaporthe oryzae* are relatively high, which are 75.29% and 82.62%, respectively; the inhibition rates of the two extracts on the other plant-pathogenic fungi and plant-pathogenic bacteria are relatively low, which are mostly lower than 20%. In addition, there is no significant difference in inhibition rates of total alkaloid extracts from above- and under-ground parts of *Z. candida* on most phytopathogens. It is suggested that the total alkaloid extracts from above- and under-ground parts of *Z. candida* have the potential for preventing and controlling rice blast, and the usage cost of total alkaloid extracts from above-ground part is lower.

Key words: *Zephyranthes candida* (Lindl.) Herb.; total alkaloids; phytopathogen; inhibition rate; biopesticide

植物病害常对农业生产造成巨大的经济损失。目前人们主要采用化学防治的方法控制植物病害的发生和发展,但植物会对化学防治药剂产生一定的抗药性,导致药剂对植物病害的防治效果下降^[1]。植物源活性成分具有环境友好、作用机制独特、不易产生抗药性等优点,是开发新型防治药剂的理想对象^[2]。

葱莲 [*Zephyranthes candida* (Lindl.) Herb.] 为石蒜科 (Amaryllidaceae) 葱莲属 (*Zephyranthes* Herb.) 多年生草本植物,富含石蒜生物碱,并具有抗炎、抗乙酰胆碱酯酶和抗肿瘤等多种生物活性^[3-4]。石蒜属 (*Lycoris* Herb.) 植物的石蒜生物碱对多种植物病原菌具有较好的抑制作用,具有开发成生物农药的潜力^[5-7]。然而,同样富含石蒜生物碱的葱莲是否具有

收稿日期: 2022-07-26

基金项目: 江苏省中国科学院植物研究所自主科研重点项目 (BM2018021-5)

作者简介: 乔思薇 (1998—), 女, 吉林白山人, 硕士研究生, 主要从事天然产物活性成分研究与开发。

① 通信作者 E-mail: dawnxushu@sina.com; ychen@jib.ac.cn

引用格式: 乔思薇, 姚静远, 印敏, 等. 葱莲地上部和地下部总生物碱提取物对植物病原菌的体外抑制效应 [J]. 植物资源与环境学报, 2023, 32(2): 95-97.

抑制植物病原菌的活性尚不清楚。为了探究葱莲在生物农药上的应用价值,笔者采用水浴加热浸提法提取野生葱莲地上部和地下部的总生物碱,并比较了质量浓度 $500 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 地上部和地下部总生物碱提取物对 16 种危害严重的常见植物病原菌的体外抑制效应。

1 材料和方法

1.1 材料

于 2021 年 6 月初在江苏省宿迁市沭阳县庙头镇采集野生葱莲全株(约 100 株),经江苏省中国科学院植物研究所田梅博士鉴定后,将植物标本(编号 TRCW2021ZC)保存于江苏省中国科学院植物研究所天然产物化学研究中心。将植株的地上部(叶片)和地下部(鳞茎)分开,分别置于 40°C 条件下烘干至恒质量,随后打碎并磨成粉,粉末过 24 目筛,置于 4°C 避光条件下保存。

供试的植物病原真菌共有 12 种,分别为稻瘟病菌(*Magnaporthe oryzae*)、水稻纹枯病菌(*Rhizoctonia solani*)、水稻恶苗病菌(*Fusarium fujikuroi*)、小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum*)、小麦纹枯病菌(*Rhizoctonia cerealis*)、草莓灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)、橡胶炭疽病菌(*Colletotrichum acutatum*)、葡萄炭疽病菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)、番茄早疫病菌(*Alternaria solani*)、香蕉枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*)、油菜菌核病菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)和草坪斑病病菌(*Sclerotinia homoeocarpa*);供试的植物病原细菌共有 4 种,分别为水稻白叶枯病菌(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*)、柑橘溃疡病菌(*Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*)、甘蓝黑腐病菌(*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*)和番茄细菌性斑点病菌(*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*)。供试的所有植物病原菌菌株均为南京农业大学植物保护学院周明国教授馈赠。

甲基托布津(纯度 99%)和噻枯唑(纯度 95%)购自上海源叶生物科技有限公司;二甲亚砜(DMSO)、甲醇等试剂均为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司。真菌培养使用马铃薯蔗糖琼脂(PSA)培养基,细菌培养使用营养肉汤(NB),培养基相关试剂购自南京寿德试验器材有限公司。

1.2 方法

1.2.1 总生物碱提取 分别称取地上部和地下部粉末各 30 g,

按照料液比 1:15 加入甲醇(用浓氨水调至 pH 11.5),充分混匀后置于 60°C 水浴中提取 1 h;抽滤后合并滤液,经减压浓缩分别得到 5.472 3 和 2.917 5 g 浸膏,置于 4°C 条件下保存。

1.2.2 对植物病原菌的体外抑制效应分析 参照徐曙等^[8]的方法检测并计算地上部和地下部总生物碱提取物对植物病原菌的抑制率。分别取 100 mg 浸膏,用 1 mL DMSO 溶解后制成质量浓度 $100 \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 母液,将母液加入培养基中,使培养基中总生物碱提取物的质量浓度为 $500 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,植物病原真菌和植物病原细菌的体外抑制效应实验分别以甲基托布津和噻枯唑为对照,使用对照药剂的质量浓度均为 $10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。每个处理 3 个重复,整个实验重复 3 次。

1.3 数据处理与统计分析

采用“提取率=(浸膏质量/材料质量) \times 100%”计算地上部和地下部总生物碱的提取率。使用 EXCEL 2010 软件对数据进行处理,使用 SPSS 20.0 软件对数据进行单因素方差分析(one-way ANOVA)。

2 结果和分析

经计算,葱莲地上部和地下部总生物碱的提取率分别为 18.241% 和 9.725%。比较而言,地上部总生物碱的提取率更高,约为地下部总生物碱提取率的 2 倍。

对 12 种植物病原真菌的体外抑制效应检测结果(表 1)显示:质量浓度 $500 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 葱莲地上部和地下部总生物碱提取物对稻瘟病菌具有较好的抑制效应,抑制率分别为 75.29% 和 82.62%;对小麦赤霉病菌、橡胶炭疽病菌和葡萄炭疽病菌具有一定的抑制效应,抑制率介于 20%~40%;对其他植物病原真菌的抑制率均在 20% 以下。地上部和地下部总生物碱提取物对供试植物病原真菌的抑制率与对照(甲基托布津)总体上存在显著差异,且地下部总生物碱提取物对多数植物病原真菌的抑制率高于地上部总生物碱提取物,但二者间差异多表现为不显著。

对 4 种植物病原细菌的体外抑制效应检测结果(表 1)显示:葱莲地上部和地下部总生物碱提取物对供试植物病原细菌的抑制率较低,除地下部总生物碱提取物对水稻白叶枯病菌抑制率为 21.14% 外,对其他植物病原细菌的抑制率基本上低于 10%。地上部和地下部总生物碱提取物对供试植物病原细菌的抑制率与对照(噻枯唑)基本上无显著差异,且地上部

表 1 质量浓度 $500 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 葱莲地上部和地下部总生物碱提取物对植物病原菌的体外抑制效应($\bar{X} \pm SD$)

Table 1 *In vitro* inhibitory effects of total alkaloid extracts from above- and under-ground parts of *Zephyranthes candida* (Lindl.) Herb. with mass concentration of $500 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ on phytopathogens ($\bar{X} \pm SD$)

提取物 ¹⁾ Extracts ¹⁾	对不同植物病原菌的抑制率/% ²⁾ Inhibition rate on different phytopathogens ²⁾							
	Mo	Rs	Ff	Fg	Rc	Bc	Ca	Cg
AG	75.29 \pm 1.81c	16.68 \pm 0.62b	3.11 \pm 0.29c	21.50 \pm 2.74b	7.07 \pm 1.87b	0.00 \pm 0.00c	23.15 \pm 0.81b	39.88 \pm 4.40b
UG	82.62 \pm 3.49b	18.09 \pm 3.80b	5.13 \pm 0.60b	25.23 \pm 1.88b	10.40 \pm 2.53ab	5.19 \pm 1.14b	26.44 \pm 1.09b	39.57 \pm 3.34b
CK	100.00 \pm 0.00a	35.68 \pm 2.50a	11.71 \pm 1.03a	46.31 \pm 2.65a	15.83 \pm 3.99a	32.96 \pm 3.97a	44.15 \pm 3.86a	100.00 \pm 0.00a

续表1 Table 1 (Continued)

提取物 ¹⁾ Extracts ¹⁾	对不同植物病原菌的抑制率/% ²⁾ Inhibition rate on different phytopathogens ²⁾							
	As	Fo	Ss	Sh	Xoo	Xac	Xcc	Pst
AG	13.11±1.43a	11.78±1.78b	13.12±1.95b	0.00±0.00c	0.00±0.00c	2.37±2.31a	5.99±1.56ab	3.26±2.16a
UG	17.45±2.57a	17.88±1.74a	11.75±2.01b	19.27±5.96b	21.14±3.41b	1.86±1.82a	10.27±3.00a	4.29±1.40a
CK	3.04±1.48b	23.96±4.36a	81.79±2.70a	100.00±0.00a	71.31±4.53a	2.41±1.58a	2.09±1.51b	1.74±1.51a

¹⁾ AG: 地上部 Above-ground part; UG: 地下部 Under-ground part; CK: 对照(植物病原真菌和植物病原细菌的体外抑制效应实验分别以甲基托布津和噻枯唑为对照) The control (taking thiophanate-methyl and bismethiazol as the control for experiments of *in vitro* inhibitory effects of plant-pathogenic fungi and plant-pathogenic bacteria, respectively).

²⁾ Mo: 稻瘟病菌 *Magnaporthe oryzae*; Rs: 水稻纹枯病菌 *Rhizoctonia solani*; Ff: 水稻恶苗病菌 *Fusarium fujikuroi*; Fg: 小麦赤霉病菌 *Fusarium graminearum*; Rc: 小麦纹枯病菌 *Rhizoctonia cerealis*; Bc: 草霉灰霉病菌 *Botrytis cinerea*; Ca: 橡胶炭疽病菌 *Colletotrichum acutatum*; Cg: 葡萄炭疽病菌 *Colletotrichum gloeosporioides*; As: 番茄早疫病菌 *Alternaria solani*; Fo: 香蕉枯萎病菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*; Ss: 油菜菌核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum*; Sh: 草坪币斑病菌 *Sclerotinia homoeocarpa*; Xoo: 水稻白叶枯病菌 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*; Xac: 柑橘溃疡病菌 *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*; Xcc: 甘蓝黑腐病菌 *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*; Pst: 番茄细菌性斑点病菌 *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. 同列中不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著 Different lowercases in the same column indicate the significant difference at 0.05 level.

和地下部总生物碱提取物对多数植物病原细菌的抑制率无显著差异。

3 讨论和结论

本研究结果显示:葱莲地上部和地下部总生物碱提取物对多数植物病原菌具有抑菌作用,但抑制率总体较低。值得注意的是,葱莲地上部和地下部总生物碱提取物对稻瘟病菌的抑菌活性较高,抑制率均在 75%以上。目前,人们主要采取化学方法防治稻瘟病,但稻瘟病菌对防治药剂存在抗药性问题,导致防治药剂在实际使用过程中对稻瘟病的防治效果下降,甚至会造成严重的经济损失^[9]。因此,葱莲总生物碱提取物在防治稻瘟病方面具有开发生物农药的潜力。综合考虑提取率等问题,葱莲地上部总生物碱提取物的使用成本更低。在后续研究中,应对葱莲地上部和地下部总生物碱提取物的化合物组成和含量进行检测分析,并对主要生物碱成分的抑菌活性进行逐一分析,以明确葱莲总生物碱提取物的有效抑菌成分,为其在生物农药领域的应用提供依据。

参考文献:

- [1] LUCAS J A, HAWKINS N J, FRAAIJE B A. The evolution of fungicide resistance[J]. *Advances in Applied Microbiology*, 2015, 90: 29-92.
- [2] 张 兴, 马志卿, 冯俊涛, 等. 植物源农药研究进展[J]. *中国生物防治学报*, 2015, 31(5): 685-698.

- [3] ZHAN G, ZHOU J, LIU T, et al. Flavans with potential anti-inflammatory activities from *Zephyranthes candida* [J]. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2016, 26: 5967-5970.
- [4] ZHAN G, QU X, LIU J, et al. Zephycandidine A, the first naturally occurring imidazo [1,2-f] phenanthridine alkaloid from *Zephyranthes candida*, exhibits significant anti-tumor and anti-acetylcholinesterase activities [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 33990.
- [5] ZHAO S, GUO Y, WANG Q, et al. Antifungal effects of lycorine on *Botrytis cinerea* and possible mechanisms[J]. *Biotechnology Letters*, 2021, 43(7): 1503-1512.
- [6] HU Z, WANG Z, LIU Y, et al. Leveraging botanical resources for crop protection: the isolation, bioactivity and structure-activity relationships of lycoris alkaloids [J]. *Pest Management Science*, 2018, 74(12): 2783-2792.
- [7] NAIR J J, VAN STADEN J. Insight to the antifungal properties of Amaryllidaceae constituents [J]. *Phytomedicine*, 2020, 73: 152753.
- [8] 徐 曙, 赵兴增, 周 倩, 等. 甘草根中黄酮类化合物的提取、分离与衍生化及其抑菌活性研究[J]. *植物资源与环境学报*, 2020, 29(6): 32-41.
- [9] CHAKRABORTY M, MAHMUD N U, ULLAH C, et al. Biological and biorational management of blast diseases in cereals caused by *Magnaporthe oryzae* [J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2021, 41(7): 994-1022.

(责任编辑: 佟金凤)