

· 研究简报 ·

大黄酚对黄瓜白粉病的生物活性及内吸传导性研究

任红敏, 赵云和, 范凡, 王树桐, 张瑜, 曹克强*

(河北农业大学 植物保护学院, 河北 保定 071001)

摘要:采用喷雾法研究了大黄酚对黄瓜白粉病的生物活性及其在黄瓜组织中的内吸传导性。结果表明, 大黄酚对黄瓜白粉病菌具有较高毒力, 感染白粉病的叶片经 200 mg/L 的大黄酚处理 2 d 后, 霉状物变褐色, 病斑枯死。扫描电子显微镜观察显示, 黄瓜白粉病菌经大黄酚处理后, 菌丝和分生孢子梗扭曲、变形, 分生孢子塌陷。盆栽试验表明, 利用大黄酚防治黄瓜白粉病具有较长的持效期, 黄瓜子叶上喷施 100 mg/L 的大黄酚, 20 d 后接种病原菌, 其防效仍达 84.83%, 与有效成分 500 mg/L 的硫磺悬浮剂防效相近。此外, 大黄酚在黄瓜组织中具有一定的跨层传导性, 其横向传导性较弱, 几乎无向顶及向基的传导性。

关键词: 大黄酚; 黄瓜白粉病菌; 生物活性; 传导性

DOI: 10.3969/j.issn.1008-7303.2011.05.17

中图分类号: S482.2; S436.421 文献标志码: A 文章编号: 1008-7303(2011)05-0535-04

Research on biological activity and the uptake translocation of chrysophanol against *Sphaerotheca fuliginea* in cucumber

REN Hong-min, ZHAO Yun-he, FAN Fan, WANG Shu-tong,
ZHANG Yu, CAO Ke-qiang*

(College of Plant Protection Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, Hebei Province, China)

Abstract: The biological activity of chrysophanol on the development of *Sphaerotheca fuliginea* Poll. and the uptake translocation of chrysophanol in cucumber leaves were determined by spraying method. The results showed that chrysophanol has high toxicity against *S. fuliginea* powdery mildew colonies on the infected leaves were brown and dead at 2 days after being treated with 200 mg/L chrysophanol. Morphological investigation by scanning electron microscopy showed that chrysophanol affected fungal survival, caused distortion and malformation of hyphae and conidiophores, and conidia collapsed. The efficacy of chrysophanol in controlling cucumber powdery mildew, remained 84.83% 20 days after foliage spraying with chrysophanol at 100 mg/L on cucumber cotyledons, which was similar to that of 50% sulfur SC at 500 mg/L. Moreover, chrysophanol showed certain cross-layer and little transverse effect in cucumber plants, but no acropetal and basipetal uptake translocation effect.

Key words: chrysophanol; *Sphaerotheca fuliginea*; biological activity; uptake translocation

黄瓜白粉病是由 *Sphaerotheca fuliginea* Poll. 引起的一种潜育期短、再侵染频繁、流行性强的叶部病害^[1-2], 目前使用杀菌剂仍是防治白粉病的重要手段^[3-4], 但随着药剂的大量和长期使用, 白粉病菌对

收稿日期: 2011-04-23; 修回日期: 2011-06-14.

作者简介: 任红敏(1981-), 女, 河北邯郸人, 博士研究生, E-mail: auhrhm@163.com; * 通讯作者(Author for correspondence): 曹克强(1963-), 男, 河北容城人, 教授, 主要从事植物病害流行病学和综合防治研究, 电话(传真): 0312-7528145, E-mail: ckq@hebau.edu.cn
基金项目: 国家科技部国际科研合作项目(2006DFB72260).

一些药剂已产生了不同程度的抗性,防效大幅度降低^[5-6]。因此,开发针对瓜类白粉病的新型杀菌剂是当前研究的热点之一。

大黄酚(chrysophanol),化学名称为1,8-二羟基-3-甲基蒽醌,是蓼科(Polygonaceae)植物大黄体内的次生代谢物质。唐蕊等^[7]报道中药大黄的粗提液对黄瓜白粉病有较好的防效,并进一步分析明确了大黄酚是其中的有效成分之一^[8]。有关内容已经申报并获得国家发明专利^[9-10]。Choi等^[11]和Yang等^[12]也报道,大黄中的大黄酚、大黄素-7-甲醚等对大麦、小麦及黄瓜白粉病有防治作用。本研究组前期的研究结果^[13]表明,大黄酚能有效降低黄瓜白粉病病菌分生孢子的萌发率和萌发芽管个数,同时能抑制菌丝的生长以及降低新生分生孢子的个数。本文报道大黄酚对黄瓜白粉病菌形态的影响及其在黄瓜组织中的内吸传导性。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

1.1.1 药剂与仪器 98%大黄酚(chrysophanol)原药,上海融禾医药科技发展有限公司生产;50%硫磺(sulfur)悬浮剂,石家庄双吉化工有限公司生产。ZOOM-300C电脑型立体显微镜;JSM-6360LV扫描电子显微镜。

1.1.2 黄瓜品种与白粉病菌 新长春密刺(*Cucumis sativus* L.),高度感病品种,哈尔滨市香坊种子有限公司生产。育苗基质为固体蛭石和珍珠岩(1:1,体积比)。于2006年在河北农业大学标本园发病黄瓜植株上采集分离,培养室中25℃±2℃条件下在黄瓜幼苗上扩繁备用。

1.2 试验方法

1.2.1 幼苗培养 将黄瓜干种于55~60℃的温水中处理约10 min后转入30℃恒温水浴锅中浸泡4~6 h,置于培养皿中,于培养箱中30℃下保湿催芽24 h,待芽长至约5 mm时,播种于装有灭菌育苗基质的塑料杯(直径6.9 cm)中,每杯两粒,相距约3 cm,待子叶充分展开刚露出第一片真叶时,供接种。

1.2.2 接菌方法 用干毛笔将病叶上发病9~12 d的白粉病菌分生孢子刷入小烧杯中,用10 mg/L的十二烷基硫酸钠水溶液配制成每视野(10×10倍显微镜)含40~50个分生孢子的分生孢子悬浮液。使用喉头喷雾器将分生孢子悬浮液均匀喷洒到每株黄瓜子叶上,置于组织培养室中(25℃±2℃)保湿培养。

1.2.3 药剂配制 准确称取10.0 mg大黄酚原药,用2 mL丙酮溶解后,加蒸馏水配制成有效成分为1 000 mg/L的母液,试验时再用蒸馏水分别稀释成100和200 mg/L备用。用蒸馏水将50%硫磺悬浮剂配制成有效成分为500 mg/L的药液,供试。

1.2.4 大黄酚对黄瓜白粉病菌形态的影响 在接菌7 d后将200 mg/L的大黄酚药液均匀喷施在已显现白粉病症状的黄瓜叶片上,施药2 d后,用立体显微镜观察大黄酚对黄瓜白粉病菌霉状物的影响;同时采用韩青梅^[14]的方法用扫描电镜观察白粉病菌菌丝、分生孢子梗和分生孢子形态变化。

1.2.5 持效期 选择子叶期盆栽黄瓜苗,分别以有效成分为100 mg/L的大黄酚和500 mg/L的硫磺药液进行整株喷雾,每浓度设5次重复(共10株),设清水对照。喷雾处理3、7、11、14、17和20 d后,将所有植株一起接种,保湿24 h,温室中培养7~10 d,调查病害发生情况。病情分级标准^[15-16]:0级,无病斑;1级,病斑面积在5%以下;3级,病斑面积占6%~10%;5级,占11%~20%;7级,占21%~40%;9级,占40%以上。分别按公式(1)和(2)计算病情指数和相对防效。

病情指数 =

$$\frac{\sum(\text{各级病叶数} \times \text{相对级数值})}{(\text{调查总叶数} \times 9)} \times 100 \quad (1)$$

防治效果 / % =

$$\frac{\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数}}{\text{对照病情指数}} \times 100 \quad (2)$$

1.2.6 大黄酚在黄瓜植株上的内吸传导试验 选择子叶期盆栽黄瓜苗,于一片子叶的正面和两片子叶背面喷施处理药剂,分别测定药剂在子叶期的横向及跨层传导能力(横向处理10株,跨层处理5株);选择两片真叶期的盆栽黄瓜苗,以真叶的叶脉为界喷施半片真叶的正面和两片真叶的背面,分别测定药剂在真叶期的横向及跨层传导能力(每处理5株);选择3片真叶期的盆栽黄瓜苗,分别对植株下部叶片及上部叶片进行喷药处理,测定药剂向顶及向基传导的能力(每处理10株)。供试药剂为100 mg/L的大黄酚药液,对照喷清水,施药时用硫酸纸遮挡以避免交叉污染。24 h后于所有叶片正面接菌,黑暗条件下保湿24 h,温室中培养7~10 d,待对照充分发病后调查,计算相对防效。调查、病害分级及计算方法同1.2.5节。

1.2.7 数据处理 试验数据用DPS V7.05软件进行最小显著差异(LSD)统计分析。

2 结果与分析

2.1 大黄酚对黄瓜白粉病菌形态的影响

通过立体显微镜观察发现, 大黄酚处理 2 d 后, 对照菌落生长茂密(图 1a), 而 200 mg/L 大黄酚处理叶片上的菌落出现变褐、枯死的症状(图 1b)。结合扫描电镜观察发现, 未施药的病菌发育正常(图 2a), 喷施大黄酚的病菌发育受到阻滞, 表现为菌丝和分生孢子梗扭曲、变形, 分生孢子严重塌陷(图 2b)。



图 1 立体显微镜观察大黄酚处理 2 d 后黄瓜白粉病菌霉状物

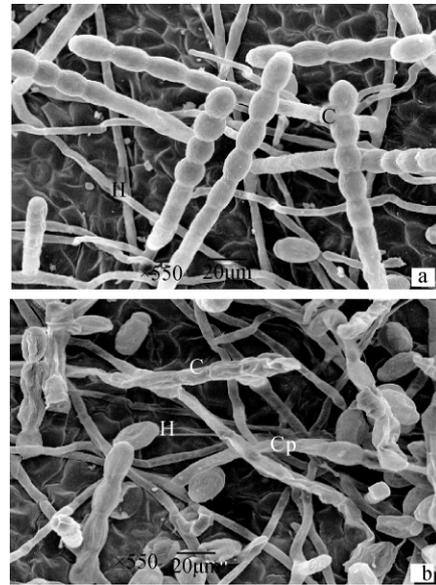
Fig. 1 Powdery mildew colonies on leaves 2 days after being treated by chrysophanol observed by stereomicroscope

a. 对照(×75); b. 200 µg/mL 大黄酚处理后的发病叶片(×100)。
a. Untreated; b. Diseased leaves treated by 200 µg/mL chrysophanol.

2.2 持效期

在黄瓜子叶期, 于 100 mg/L 的大黄酚喷施叶片后间隔不同时间接种, 获得不同的预防效果, 距离

接种时间越短防效越强。喷药 3 d 后接种的防效达 95.51%, 喷药 20 d 后接种的防效仍超过 80%, 与硫磺悬浮剂 500 mg/L 的处理差异不显著(表 1)。



C, 分生孢子; H, 菌丝; Cp, 分生孢子梗
C, conidia; H, hyphae. Cp, conidiophores

图 2 叶片上黄瓜白粉病菌经 200 mg/L 大黄酚处理 2 d 后的扫描电镜照片(×550)

Fig. 2 SEM of *S. fuliginea* on cucumber leaves 2 days after treatment with chrysophanol (200 mg/L)

a. 对照; b. 200 mg/L 大黄酚处理 2 d 后观察到的菌丝、分生孢子梗及分生孢子变形情况。

a. Untreated; b. Hyphae, conidiophores and conidia distorted at 2 days after treatment with chrysophanol(200 mg/L).

表 1 大黄酚防治黄瓜子叶期白粉病的持效期

Table 1 Duration of chrysophanol in controlling powdery mildew on cucumber cotyledon

药剂 Fungicides	质量浓度 Concentration/(mg/L)	相对防治效果 Relative control efficacy/%					
		3 d	7 d	11 d	14 d	17 d	20 d
50% 硫磺(sulfur) SC	500	100.0 a	100.0 a	100.0 a	98.3 a	98.3 a	87.6 a
98% 大黄酚(chrysophanol)	100	95.5 b	92.7 b	89.3 b	87.6 b	86.5 b	84.8 a

注: 同列数据后标有相同字母表示数据间差异不显著($P=0.05$)。

Note: Data within a column followed by the same letter are not significantly different at $P=0.05$.

2.3 内吸传导性

在黄瓜子叶期, 大黄酚 100 mg/L 跨层传导的防治效果为 44.7%, 而在子叶之间横向传导后的防效仅为 10.1% (图 3)。表明大黄酚具有一定的跨层传导能力, 而横向传导能力很弱。

在黄瓜真叶期, 大黄酚 100 mg/L 跨层、横向、向顶及向基传导后对黄瓜白粉病的防治效果分别为 57.9%、15.9%、0 和 2.2%。同样表明, 大黄酚在黄瓜组织内具有一定的跨层传导性, 而其横向传导性

很弱, 几乎无向顶及向基传导性。

3 结论

由以上研究结果可知, 大黄酚对黄瓜白粉病菌具有较好的生物活性, 其能阻滞黄瓜叶片上白粉病菌的正常发育, 具备作为杀菌剂或新型杀菌剂的先导化合物使用的潜力。与 50% 硫磺悬浮剂相比, 大黄酚表现出更好的保护效果, 在持效期试验中, 喷药后 20 d, 两种药剂的保护效果无显著性差异, 而大黄

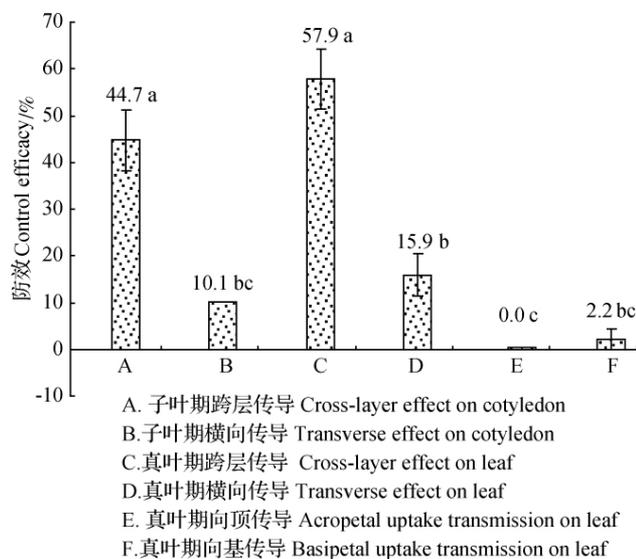


图 3 100 mg/L 大黄酚在黄瓜植株上的内吸传导性

Fig. 3 The property of uptake and translocation of 100 mg/L chrysophanol in cucumber plant

注:柱图上数据后相同小写字母表示数据在 5% 水平上差异不显著。

Note: Data on bars followed by the same letter are not significantly different at $P=0.05$.

酚处理的浓度只是硫悬浮剂的 1/5。在内吸传导性方面,大黄酚具有一定的跨层传导性,而横向传导性很弱,在上下层叶片之间几乎未表现出传导性。因此,今后在将大黄酚作为杀菌剂进行开发应用时,应考虑通过添加渗透剂来增强其内吸传导性,以达到更好的防治效果。

参考文献:

- [1] DIK A J, VERHAAR M A, BERLANGER R R. Comparison of three biological control agents against cucumber powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) in semi-commercial-scale glasshouse trials[J]. *Eur J Plant Pathol*, 1998, 104(4): 413-423.
- [2] QU Zhen-cong(屈振淙). 长春地区黄瓜白粉病菌的鉴定[J]. *Jilin Agric Univ*(吉林农业大学学报), 1981(2): 32-34.
- [3] COHEN R. A leaf disk for detection of melons to *Sphaerotheca fuliginea* race[J]. *Plant Dis*, 1993, 77(5): 513-517.
- [4] MENG Run-jie(孟润杰), WANG Wen-qiang(王文桥), LIU Chang-hing(刘长令) et al. 唑胺菌酯对黄瓜白粉病的作用方式及其内吸传导性[J]. *Acta Phytophylacica Sinica*(植物保护学报) 2009, 36(3): 287-288.
- [5] REUVENI M, AGAPOV V, REUVENI R. Controlling powdery mildew caused by *Sphaerotheca fuliginea* in cucumber by foliar sprays of phosphate and potassium salts[J]. *Crop Prot*, 1996, 15(1): 49-53.
- [6] ZHOU Yi-lin(周益林). 植物白粉病的化学防治进展[J]. *Chin J Pestic Sci*(农药学报) 2001, 3(2): 12-18.
- [7] TANG Rui(唐蕊), ZHANG Xue-hui(张雪辉), HU Tong-le(胡同乐) et al. 大黄提取液防治黄瓜白粉病的初步研究[J]. *J Anhui Agric Univ*(安徽农业大学学报) 2003, 30(4): 363-366.
- [8] TANG Rui(唐蕊), WANG Xiu-hing(王秀玲), ZHANG Xue-hui(张雪辉). 大黄中防治黄瓜白粉病活性物质的提取及组分分析[J]. *J Anhui Agric Univ*(安徽农业大学学报) 2005, 32: 441-443.
- [9] YU Da-zhao(喻大昭), YANG Xiao-jun(杨小军), NI Han-wen(倪汉文) et al. 葱醌衍生物作为防治植物病害农药的应用: 中国(China) ZL 03125346.6 [P]. 2004-07-28.
- [10] CAO Ke-qiang(曹克强), LI Zheng-xian(李正先), HU Tong-le(胡同乐) et al. 含有大黄提取物的杀菌剂及其组合物: 中国(China) 02123720 [P]. 2006-08-09.
- [11] CHOI G J, LEE S W, JANG K S et al. Effects of chrysophanol, parietin and nepodin of *Rumex crispus* on barley and cucumber powdery mildews[J]. *Crop Prot* 2004, 23: 1215-1221.
- [12] YANG X J, YANG L J, WANG S N et al. Synergistic interaction of physcion and chrysophanol on plant powdery mildew[J]. *Pest Manag Sci* 2007, 63: 511-515.
- [13] REN Hong-min(任红敏), WANG Shu-tong(王树桐), HU Tong-le(胡同乐) et al. 大黄酚对黄瓜白粉病菌的抑制作用研究[J]. *Acta Phytopathol Sin*(植物病理学报) 2008, 38(5): 526-531.
- [14] HAN Qing-mei(韩青梅), KANG Zhen-sheng(康振生), HUANG Li-li(黄丽丽) et al. 戊唑醇对小麦赤霉菌侵染影响的细胞学研究[J]. *Acta Phytophylacica Sinica*(植物保护学报) 2005, 32: 57-62.
- [15] ZHANG Z Y, DAI G H, ZHUGE Y Y et al. Protective effect of *Robinia pseudoacacia* Linn1 extracts against cucumber powdery mildew fungus *Sphaerotheca fuliginea* [J]. *Crop Prot* 2008, 27(6): 920-925.
- [16] GB/T 1798030. Pesticide: Guidelines for the field efficacy trials (I): Fungicides against cucumber powdery mildew(田间药效试验准则(一): 杀菌剂防治黄瓜白粉病) [S]. Beijing(北京): Standards Press of China(中国标准出版社) 2000: 467-470.

(责任编辑: 金淑惠)