

N-硝基-N-取代酰基-2,4,6-三氯苯胺类化合物对植物病原真菌抑菌活性研究

程水明¹, 宋家永¹, 阎耀礼¹, 夏国军¹, 张桂兰²

(1 国家小麦工程技术研究中心, 河南 郑州 450002; 2 河南省土壤肥料工作站, 河南 郑州 450002)

摘要: 采用生长速率测定法室内测定了 4 种 N-硝基-N-取代酰基-2,4,6-三氯苯胺类新化合物 (F₁~ F₄) 对多种植物病原真菌的抑菌活性。结果显示, F₁, F₂, F₃ 对植物病原真菌的抑菌活性较弱, 只有 F₄ (N-硝基-N-六氢吡啶酰基-2,4,6-三氯苯胺) 对花生白绢病病原菌、油菜菌核病病原菌有较强抑制作用, 在 $7.5 \times 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下, 对两种病原菌的校正抑制百分率分别为 80.0% 和 86.2%。本文对抑菌机制也进行了初步讨论。

关键词: N-硝基-三氯苯胺类; 植物病原真菌; 生长速率测定法; 活性

中图分类号: S432.4⁺4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7091(2001)02-0119-04

植物病害对作物造成的损失, 已经接近或超过虫害的损失, 杀菌剂在农药使用中比重逐年增加^[1,2]。伴随着抗性问题和农药污染以及对人类健康的影响, 从经济效益、生态效益以及社会效益出发及中国即将加入 WTO 而对知识产权保护更加规范化, 因而自行研制、开发高效、低毒、低残留的杀菌剂是当前十分迫切的工作。

N-硝基-三氯苯胺类化合物早在 20 世纪 80 年代就有专利报道其除草性和杀菌活性^[3]。华中农大谢九皋、汪波等试验合成了 N-硝基-N-取代酰基-2,4,6-三氯苯胺类并证明了其对水稻等作物有矮化、健壮、增产及除草作用^[3~5]。本试验则对新合成的 4 种该类化合物进行了室内抑菌活性的初步研究, 希望从中筛选出新的杀菌活性物质。

1 材料与方法

1.1 N-硝基-三氯苯胺类化合物

N-硝基-N-取代酰基-2,4,6-三氯苯胺类化合物的几种不同衍生物分别简称 F₁~ F₄, (均为作者自行合成, 其合成方法及其结构分析参见文献^[4])。F₁: N-硝基-N-苯胺酰基-2,4,6-三氯苯胺; F₂: N-硝基-N-对磺苯胺酰基-2,4,6-三氯苯胺; F₃: N-硝基-N-二乙酰基-2,4,6-三氯苯胺; F₄: N-硝基-N-六氢吡啶酰基-2,4,6-三氯苯胺。

1.2 培养基

PDA 培养基成分: 马铃薯、蔗糖、琼脂, 用于培养植物病原真菌。

PSAY 培养基: 马铃薯、蔗糖、琼脂、酵母膏, 用于培养水稻纹枯病原菌、油菜菌核病原菌。

收稿日期: 2000-12-11

基金项目: 国家小麦中心工程化开发基金项目

作者简介: 程水明(1966-), 男, 工程师, 农药学硕士, 主要从事农药及植物保护研究工作。

1.3 植物病原真菌

试验所用植物病原真菌有水稻纹枯病原菌(*Rhizotonia sclani*)、花生白绢病原菌(*Sclerotium rolfsii*)、小麦赤霉病原菌(*Fusarium graminarum*)、甘蔗凤梨病原菌(*Ceratocystis paradoxa*)、杨树腐烂病原菌(*Valsa sordida*)、稻瘟病病原菌(*Pyricularia oryzae* Cav.)、棉红腐病原菌(*Fusarium monitiforme*)、油菜菌核病原菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)、甘薯干腐病原菌(*Fusarium solani*)、大麦条纹病原菌(*Helminthosporium graminearum*)、玉米大斑病原菌(*Helminthosporium turciaum*)、柑橘蒂腐病原菌(*Diaporthe citri*)。均自行培养。

1.4 药剂配制及处理浓度

表 1 药剂配制及处理浓度

化合物	溶剂	乳化剂	处理浓度($\times 10^{-4} \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)
F ₁	丙酮	吐温 20	20, 10, 5
F ₂	二甲苯	吐温 80、H 型乳化剂	20, 10, 5
F ₃	丙酮	吐温 80、十二烷基磺酸钠	5, 2.5, 1.25
F ₄	丙酮	吐温 80	3.75, 1.875, 0.938

注: 以上各溶液均设立各浓度下相应溶剂对照, 并设立空白对照(清水对照)。

1.5 植物病原真菌菌块制备^[6]

将各植物病原真菌在无菌条件下转移到 PDA 平板上, 油菜菌核病原菌置于 23~ 25 ℃温箱, 其余植物病原真菌置于 27~ 28 ℃温箱培养至菌丝均匀长满 PDA 平板, 然后用直径 5 mm 的打孔器制成菌块。

1.6 含毒介质的制备及抑制率测定^[7~ 8]

分别取所配制的各种浓度的溶液及其溶剂 1 mL 于培养皿中, 再分别加入 9 mL PDA 或 PSAY 培养基, 混合冷却, 挑取菌块放入平板中央, 每组重复 2 次, 并设立各浓度下相应溶剂对照和空白对照, 置于温箱培养, 待空白对照菌丝将长满平板时, 用尺交叉测量菌落直径, 取其平均值, 计算时减去原菌块直径 5 mm。用下列公式计算校正抑制百分率:

校正抑制百分率(%) = 溶液的抑制百分率(%) - 溶剂的抑制百分率(%)

= $\frac{\text{溶剂对照的菌落直径(mm)} - \text{处理的菌落直径(mm)}}{\text{空白对照的菌落直径(mm)}} \times 100\%$

2 结果与分析

2.1 F₁~ F₄ 对植物病原真菌抑制作用

由试验结果可以看出, F₁ 对几种植物病原真菌抑制作用较弱, $2 \times 10^{-3} \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度处理下校正抑制百分率均未超过 50%; F₂ 对水稻纹枯病原菌抑制作用较强, $2 \times 10^{-3} \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度处理下校正抑制百分率为 79.9%, 对花生白绢病原菌、小麦赤霉病原菌、大麦条纹病原菌和杨树腐烂病原菌抑制作用一般, $2 \times 10^{-3} \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度处理下校正抑制百分率在 46.2% ~ 57.9%, 对雪梨黑斑病原真菌抑制作用较弱; F₃ 在初试中对花生白绢病原菌、雪梨黑斑病原真菌和杨树腐烂病原菌抑制作用较强, $2 \times 10^{-3} \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度处理下校正抑制百分率达到 80% 以上, 对水稻纹枯病原菌和小麦赤霉病原菌抑制作用中等, $10^{-3} \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度处理下分别为 50.3% 和 49.8%。

2.2 F₃~ F₄ 对植物病原真菌抑制作用、线性回归方程、r 值和 EC₅₀

表 2 F₃ 对几种植物病原真菌的抑制百分率 %

植物病原真菌	浓度(g·L ⁻¹)										回归方程	相关系数	EC ₅₀ ×10 ⁻⁶ (g·L ⁻¹)
	2×10 ⁻³		1×10 ⁻³		5×10 ⁻⁴		2.5×10 ⁻⁴		1.25×10 ⁻⁴				
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b			
水稻纹枯病原菌	64.3	99.9	58.7	99.4	49.0	95.9	46.4	76.2	45.0	74.8	Y= 3.907+ 0.43X	0.96	348
小麦赤霉病原菌	39.4	62.9	38.3	61.0	24.7	48.2	24.7	41.0	20.7	38.2	Y= 3.121+ 0.492X	0.94	6 593
雪梨黑斑病原菌	43.5	89.1	38.0	85.9	34.8	80.4	33.7	67.4	32.6	63.0	Y= 4.035+ 0.229X	0.94	16 367
大麦条纹病原菌	34.0	94.0	26.0	82.0	21.0	77.0	20.0	66.0	18.0	58.0	Y= 3.18+ 0.407X	0.95	29 631
杨树腐烂病原菌	64.8	98.9	59.3	93.4	57.1	87.9	49.4	78.0	30.8	58.2	Y= 3.25+ 0.669X	0.93	413
花生白绢病原菌	25.9	100.0	30.3	100.0	40.9	100.0	41.2	100.0	55.3	100.0			
油菜菌核病原菌	44.8	100.0	44.1	100.0	38.5	95.2	31.0	86.2	27.6	58.6	Y= 3.523+ 0.424X	0.97	3 044

表 3 F₄ 对几种植物病原真菌的抑制百分率 %

植物病原真菌	浓度(g·L ⁻¹)					线性回归方程	相关系数	EC ₅₀ × 10 ⁻⁶ (g·L ⁻¹)
	1. 5× 10 ⁻³	7. 5× 10 ⁻⁴	3. 75× 10 ⁻⁴	1. 88× 10 ⁻⁴	9. 4× 10 ⁻⁵			
花生白绢病原菌	84. 6	80. 0	73. 0	56. 2	40. 0	Y= 2. 708+ 1. 075X	0. 98	136
小麦赤霉病原菌	26. 2	15. 6	15. 5	15. 3	15. 4	Y= 3. 393+ 0. 259X	0. 72	160 189
大麦条纹病原菌	60. 3	47. 0	40. 0	31. 8	19. 9	Y= 2. 488+ 0. 868X	0. 99	683
杨树腐烂病原菌	45. 7	27. 1	18. 6	15. 0	12. 1	Y= 2. 053+ 0. 848X	0. 96	2 987
水稻纹枯病原菌	50. 0	34. 2	16. 3	16. 8	12. 9	Y= 1. 891+ 0. 937X	0. 93	2 080
甘蔗凤梨病原菌	58. 4	44. 5	32. 8	32. 3	23. 4	Y= 2. 808+ 0. 731X	0. 97	997
稻瘟病病原菌	50. 0	26. 3	17. 5	12. 5	7. 5	Y= 1. 261+ 1. 129X	0. 98	2 050
甘薯干腐病原菌	63. 9	46. 7	42. 6	32. 0	25. 4	Y= 2. 721+ 0. 804X	0. 98	683
玉米大斑病原菌	58. 2	49. 2	44. 3	36. 1	34. 4	Y= 3. 529+ 0. 516X	0. 98	712
柑橘蒂腐病原菌	49. 0	30. 3	18. 8	14. 6	12. 5	Y= 1. 868+ 0. 937X	0. 96	2 201
油菜菌核病原菌	88. 2	86. 2	84. 1	80. 0	61. 2	Y= 4. 128+ 0. 681X	0. 91	199
棉红腐病原菌	67. 1	47. 6	39. 0	29. 3	26. 8	Y= 2. 555+ 0. 867X	0. 96	661

在对 F₃ 进一步的试验中对几种植物病原真菌校正抑制百分率减少, 见表 2 a 部分, 而溶液的抑制百分率较高, 见表 2 b 部分, 1. 25× 10⁻⁴ g·L⁻¹ 浓度处理下溶液对花生白绢病抑制百分率高达 100%, 5× 10⁻⁴ g·L⁻¹ 浓度处理下油菜菌核病原菌, 水稻纹枯病原菌溶液抑制百分率分别为 95. 2% 和 95. 9%, 大麦条纹病原菌和杨树腐烂病原菌在 5× 10⁻⁴ g·L⁻¹ 浓度处理下溶液的抑制百分率在 80% 左右, 只是对小麦赤霉病原菌作用中等, 2× 10⁻³ g·L⁻¹ 浓度处理下溶液的抑制百分率在 62. 9% 左右。分析其原因可能是十二烷基磺酸钠能增强药剂活性。

F₄ 对花生白绢病原菌、油菜菌核病原菌抑制作用较强, 在 7. 5× 10⁻⁴ g·L⁻¹ 浓度处理下校正抑制百分率分别为 80. 0% 和 86. 2%, 对甘蔗凤梨病原菌、甘薯干腐病原菌、大麦条纹病原菌、玉米大斑病原菌作用中等, 1. 5× 10⁻³ g·L⁻¹ 浓度处理下校正抑制百分率为 58. 2% ~ 67. 1%, 对其余几种病原真菌抑制作用较弱, 1. 5× 10⁻³ g·L⁻¹ 浓度处理下校正抑制百分率未超过 50% (见表 3)。

3 讨论

试验中发现, 小麦赤霉病原菌在用 F₃ 处理时分泌红色色素明显增加, 花生白绢病菌丝在

用 F_3 处理时生长为畸形, 镜检发现其菌丝先端突然缢缩。 F_3 , F_4 处理大麦条纹病原菌、杨树腐烂病原菌、雪梨黑斑病原真菌发现分泌黑色素减少, 菌落颜色变淡, 由此可见 F_3 , F_4 有使病原真菌生理紊乱的功能。

本试验主要探讨 4 种新化合物的室内抑菌作用, 在求 F_3 , F_4 线性回归方程时浓度设计不十分合理, 校正抑制百分率跨度不大, 田间试验为离体测定, 与活体测定可能不一致, 甚至相反, 容易造成误筛, 漏筛, 还需进一步进行盆栽试验, 以期筛选出高活性的新型抑菌新化合物。

参考文献:

- [1] 阎春喜. 谈谈当前农药生产中的几个问题[J]. 农药, 1986, (3): 5-7.
- [2] 李金良. 关于我国农药工业科学技术的探讨[J]. 农药, 1987, (1): 15-16.
- [3] 谢九皋. 植物生长调节剂[M]. 香港: 中华科技出版社, 1991.
- [4] 程水明, 张庆, 谢九皋. N-硝基-N-甲酰氨基-2, 4, 6-三卤代苯胺类化合物的合成及活性测定研究[J]. 河南农业大学学报, 1996, 30(4): 350-353.
- [5] 尚嘉彦, 程水明, 谢九皋. N-硝基-N-甲酰氨基-2, 4, 6-三卤代苯胺类化合物的合成及活性测定研究[J]. 河南农业大学学报, 1997, 31(增刊): 255-259.
- [6] 方中达. 植病研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1971.
- [7] 赵善欢. 植物化学保护[M]. 北京: 农业出版社, 1979.
- [8] 北京农业大学主编. 农业植物病理学[M]. 北京: 农业出版社, 1979.
- [9] 陈年春. 生物活性测定法[M]. 北京: 农业出版社, 1971.

A Study on the Activity of Four New N-Nitroanilinelic Compounds to Plant Pathogenic Fungi

CHENG Shui-ming¹, SONG Jia-yong¹, YAN Yao-li¹,
XIA Guo-jun¹, ZHANG Gui-lan²

(1 National Engineering Research Center for Wheat, Henan Zhengzhou 450002, China;

2 Soil and Fertilizer Service Station of Henan, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: By means of growth velocity method, the activity four new N-nitroanilinelic compounds (F_1 - F_4) to plant pathogenic fungi were tested. The result showed that the compounds F_1 , F_2 and F_3 exhibited weak inhibitory activity to plant pathogenic fungi. The compound F_4 exhibited good inhibitory activity against *Sclerotium rolfsii* and *Sclerotinia sclerotiorum*. The efficiency was 80% and 86.2% respectively. The mechanisms of four new N-nitroanilinelic Compounds to plant pathogenic fungi were also discussed in this article.

Key words: N-nitroanilinelic compounds; Growth velocity measures method; Activities; Plant pathogenic fungi