

蹇军友, 刘开兴, 耿召良, 等. 黔产乌头中的生物碱成分及其抗烟草花叶病毒(TMV)活性[J]. 农药, 2017, 56(10): 767-770.

黔产乌头中的生物碱成分及其 抗烟草花叶病毒(TMV)活性

蹇军友^{1,2}, 刘开兴², 耿召良³, 葛永辉³, 郝小江^{1,2}

(1.贵州医科大学 药用植物功效与利用国家重点实验室 贵阳 550014;

2.贵州省中国科学院 天然产物化学重点实验室 贵阳 550014 3.贵州省烟草研究院 贵阳 550023)

摘要 [目的]对黔产乌头(*Aconitum carmichaeli* Debx)根部甲醇提取物中碱性氯仿萃取的乌头生物碱总碱进行抗烟草花叶病毒(TMV)活性筛选。[方法]通过活性追踪从总碱中分离鉴定了14个C₁₉-型乌头生物碱成分,采用活体半叶枯斑法进行抗TMV活性筛选。[结果]发现其中achaconitine(11)、hemsleyanine C(12)、talatisamine(14)抗TMV侵染活性明显强于阳性对照药剂宁南霉素。[结论]在30 mg/L质量浓度下,该植物总碱抗TMV侵染抑制率为23.5%。Chaconitine(11)、hemsleyanine C(12)、talatisamine(14)可用于防治烟草花叶病毒的新型抗病毒剂。讨论乌头生物碱抗TMV侵染和增值的构效关系。

关键词 :乌头,烟草花叶病毒,8-去乙酰乌碱,黄草乌碱甲,黄草乌碱丙

中图分类号 :S482.2 文献标志码 :A 文章编号 :1006-0413(2017)10-0767-04

Alkaloids of *Aconitum carmichaeli* Debx and against TMV activity

JIAN Jun-you^{1,2}, LIU Kai-xing², GENG Zhao-liang³, GE Yong-hui³, HAO Xiao-jiang^{1,2}

(1.State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, Guizhou Medical University, Guiyang 550014, China;

2.The Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550014, China;

3.The Tobacco Science Research Institute of Guizhou Province, Guiyang 550023, China)

Abstract: [Aims] Primary screening indicated that total alkaloids of *Aconitum carmichaeli* Debx had anti-tabacco mosaic virus(TMV) activity. [Methods] Guiding isolation of the total alkaloids resulted in separation of 14 C₁₉-aconitine type alkaloids, the anti-TMV activity was screened by living half-leaf spotting method. [Results] Compounds achaconitine(11), hemsleyanine C(12) and talatisamine(14) showed stronger activities against invasion of TMV disease than positive control ningnanmycin. [Conclusions] The inhibition rate of the total alkaloids against TMV was 23.5% at dosage of 30 mg/L. Compounds achaconitine(11), hemsleyanine C(12) and talatisamine(14) as newly reported antiviral compounds could be used to control TMV diseases. The structure-activity relationship against on invasion and proliferation of TMV disease was also discussed.

Key words: *Aconitum carmichaeli* Debx; TMV; 8-deacetylyunaconitine; vilmorrianine A; vilmorrianine C

DOI:10.16820/j.cnki.1006-0413.2017.10.019

植物病毒病(plant virus diseases)是一类重要的农业病害,对栽培作物的危害仅次于真菌病害,被称为“植物癌症”。目前已经发现的植物病毒约有1000多种,分为18科76属^[1]。烟草花叶病毒(tobacco mosaic virus, TMV)是植物病毒中研究最为深入的典型病毒,也被称为模式病毒。该病毒属于披盖病毒科(Togaviridae)烟草花叶病毒属(*Tobamovirus*)是(+)-ssRNA病毒中研究最充分的一种,目前已经有100多年历史,其寄生范围广泛,全世界均有分布,可侵染藜科、菊科、茄科和十字花科等36科400余种植物,包括番茄、土豆、辣椒、黄瓜以及烟草等经济作物。据估计,世界每年仅由烟草花叶病毒病造成的

经济损失在1亿美元以上^[2]。次生代谢产物的形成是植物在进化过程中适应环境的一种生理生化机制,近年来不断涌现的植物次生代谢产物具有高度广泛的生物学效应的研究结果,提示植物中的次生代谢产物深刻影响着植物的生存。这种进化律则可作为高效挖掘活性物质的重要策略。基于这样的认识,借助植物化学防御的本性,自2003年起,开始从植物中寻找和发现抗TMV的活性物质,先后发现了C21-双裂孕烷型甾体^[3-4]、吲哚酮^[5]、五环三萜^[6]、石蒜生物碱^[7]、咪唑生物碱^[8]、苦木素^[9]、四降三萜^[10-14]、倍半萜^[15]、绣线菊生物碱^[16]等具有显著抗TMV的活性天然产物。最近,采用活体半叶枯斑法,对黔产乌

收稿日期 2017-03-14 修返日期 2017-06-20

基金项目 黔产南板蓝根中抗流感病毒有效成分的发现及评价(黔科合J字[2015]2105号)

作者简介 蹇军友(1988—)男,贵州遵义人,硕士,研究方向 药物合成。E-mail jyjian2418@163.com。

通讯作者 郝小江(1951—)男,研究员,博士,研究方向 药用植物化学和药物合成。E-mail haoxj@mail.kib.ac.cn。

头(*Aconitum carmichaeli* Debx)根部的甲醇提取物中碱性氯仿萃取的乌头生物碱总碱进行抗TMV活性筛选, 30 mg/L质量浓度下, 总碱抗TMV侵染抑制率为23.5%。这是首次发现乌头生物碱类成分具有抗TMV活性。

乌头(*Aconitum carmichaeli* Debx)为毛茛科(Ranunculaceae)乌头属(*Aconitum*)植物, 多年生草本。母根称乌头, 旁生侧根称附子。主产于四川、陕西、云南、贵州、湖南、江西、甘肃等省, 有栽培, 为常用中药, 文献记载其具有治疗肾阳衰弱引起的腰膝冷痛、精神不振以及风寒湿痛之功效。乌头中富含C₁₉-型生物碱, 为了阐明其抗TMV的活性成分对黔产乌头根部的生物碱成分进行了分离和结构鉴定。

1 实验部分

1.1 化学实验部分

1.1.1 仪器与材料

XT-4双目显微熔点测定仪, 温度未校正。旋光由SEPA-300旋光仪测定, 质谱由HP-5973型质谱仪测定, 红外由Bio-Rad FTS-135红外光谱仪测定, 紫外光谱由Shimadzu 210双波长紫外分光光度计测定。¹H NMR、¹³C NMR和²D NMR图谱由INOVA-400核磁共振仪测定, 以TMS为内标。柱层析硅胶(48~75 μm), 硅胶H和薄层层析硅胶(GF₂₅₄)均为青岛海洋化工厂生产。反相材料RP-18(40~63 μm)为Merck公司产品, 凝胶为Sephadex LH-20(25~100 μm)为Amersham Biosciences公司产品(Sweden)。显色剂为改良碘化铋钾溶液, 喷洒后直接显色。

乌头的干燥根产自贵州省清镇地区, 购于贵阳市万东桥药材市场, 并经贵州省中医学院付志明副教授鉴定为乌头(*Aconitum carmichaeli* Debx)的根。

1.1.2 提取与分离方法

乌头干燥根5.0 kg, 粉碎后用95%乙醇加热回流提取3次, 每次4 h, 减压蒸馏浓缩得总浸膏(455 g)。将总浸膏用适量5% HCl溶液酸化(pH值2), 用乙酸乙酯萃取3次, 水层用1%稀氨水溶液碱化至pH值10, 用氯仿萃取3次, 浓缩得总碱(46.8 g)。总碱采用硅胶(48~75 μm)柱层析分离, 以氯仿和甲醇混合溶剂梯度洗脱(氯仿:甲醇为1:0~0:1), 薄层层析(TLC)检测合并, 共得到4个组分。采用硅胶柱层析、凝胶柱层析、RP-18等多种分离手段, 共分离得到化合物14个。

1.2 生物学试验部分

1.2.1 仪器与材料

1) 供试病毒

烟草花叶病毒(tobacco mosaic virus, TMV)U1普通株

系, 贵州省烟草科学研究院提供。繁殖于普通烟K₃₂₆上, 提纯并用紫外分光光度计测定其浓度^[17], 保存于-20 ℃, 临用时用磷酸盐缓冲液PBS(0.01 mol/L, pH值7.2)稀释。

2) 供试寄主

心叶烟(*Nicotiana glutinosa*), 为TMV枯斑寄主, 种子由贵州省烟草科学研究院提供; 普通烟K₂₃₆(*Nicotiana tabacum* K₃₂₆), 温室中繁育, 种子由贵州省烟草科学研究院提供, 漂盘育苗, 无虫温室中培育。挑选6~8片叶龄, 大小、重量相似的健康植株作为试验材料。

3) 供试化合物

化合物原药: 所测试化合物为上述从乌头中分离鉴定的14个乌头生物碱, DMSO溶解配成质量浓度为1×10³ mg/L, 于4 ℃保存, 临用时用无菌水稀释至所需浓度。DMSO的终浓度小于25 mL/L, 对试验结果无影响。

对照药剂: 2%宁南霉素水剂, 黑龙江强尔生化技术开发有限公司。

1.2.2 试验方法

1) 病毒接种

病毒接种采用机械接种法, 将呈现明显烟草花叶症状的普通烟(*Nicotiana tabacum*)病叶置于研钵中, 加入PBS, 充分研磨, 用喷粉器将金刚砂(38~700 μm)撒至接种植株表面, 用毛笔蘸取少许研磨液, 均匀涂抹于叶表面, 10 min后用清水冲净金刚砂, 接种后的植株放置于无虫的温室培养, 直到再次出现花叶症状。

2) 病毒提纯^[17]

选取250 g普通烟K₃₂₆植株去主脉后的感病叶片, 将烟叶剪碎, 放入研钵中。加入500 mL 0.2 mol/L含1%巯基乙醇的磷酸盐缓冲液, 少量石英砂, 冰浴研磨。4层纱布过滤, 测量溶液体积, 即为初提液。磁力搅拌器边搅拌边加入50 mL 8%正丁醇, 搅拌20 min, 转至离心管离心(4 ℃, 10 000 r/min, 20 min), 转移上清液至量筒中; 向清液中分别加入4% NaCl和聚乙二醇(PEG-6000), 搅拌1 h, 离心(4 ℃, 10 000 r/min, 20 min), 倒掉上清液, 留取沉淀; 向沉淀中加入0.01 mol/L磷酸盐缓冲液1/5初提液体积, 转移至小烧杯中, 搅拌1 h, 离心(4 ℃, 10 000 r/min, 15 min), 转移上清液至量筒中; 向清液中加入4% NaCl和PEG-6000, 搅拌1 h, 离心(4 ℃, 10 000 r/min, 20 min), 留取沉淀; 加入0.01 mol/L磷酸盐缓冲液1/10初提液体积, 转移至小烧杯中, 搅拌1 h, 离心(4 ℃, 10 000 r/min, 5 min), 取上清液, 转移至已灭菌的Eppendorf管, -20 ℃保存, 使用时用0.01 mol/L PBS稀释至相应浓度。

3) 病毒浓度的确定

取5 μL提纯的TMV稀释100倍, 紫外分光光度计测

定其浓度。代入公式 病毒质量浓度(mg/L)=($A_{260} \times \text{稀释倍数}$)/ $E_{1\text{cm}}^{0.1\%}_{260\text{nm}}$, 其中E表示消光系数, 即波长260 nm时, 浓度为0.1%(1 g/L)的悬浮液, 在光程为1 cm时的光吸收(光密度)值。

4) 抗TMV侵染活性筛选^[18]

选长势一致的心叶烟, 将30 mg/L的供试化合物溶液和宁南霉素水剂分别与病毒汁液按1:1(体积比)混合, 纯化0.5 h后, 摩擦接种处理右半叶片, 病毒汁液与溶媒1:1(体积比)混合摩擦接种于左半叶, 每处理3株, 3次重复, 置于光照培养箱培养, 3~4 d出斑完全后调查心叶烟枯斑数, 计算枯斑抑制率。

$$\text{抑制率(\%)} = \frac{\text{对照枯斑数} - \text{处理枯斑数}}{\text{对照枯斑数}} \times 100$$

5) 抑制TMV增值活性筛选^[19]

采用盆栽离体叶圆片法测定化合物对TMV增值的抑制作用, 应用双抗夹心酶联免疫法(DAS-ELESA)检测叶圆片内TMV外壳蛋白的含量。挑选健康、合适的普通烟K₂₃₆(*Nicotiana tabacum* K₂₃₆)暗室放置一夜。每株烟挑选大小相似的3片叶, 每片叶摩擦接种0.32 mg/L TMV 200 μL , 10 min后用无菌水冲洗干净。6 h后将叶片切成直径1.5 cm的圆片, 取10片浸入供试化合物溶液中作为处理; 另10片浸入25 mL/L DMSO溶液中作为空白对照; 只摩擦未接种的10片浸入25 mL/L DMSO溶液中作为空白。放入28 $^{\circ}\text{C}$ 光照培养箱中培养, 48 h后进行DAS-ELISA, 测定OD₄₀₅值, 根据TMV病毒标准曲线计算TMV质量浓度, 按公式计算:

$$\text{TMV抑制率(\%)} = \left(1 - \frac{\text{处理的TMV质量浓度}}{\text{阴性对照的TMV质量浓度}}\right) \times 100$$

每个测试化合物重复4次。

2 实验结果与分析

2.1 乌头中生物碱的结构鉴定

从乌头中分离鉴定14个化合物, 全部为二萜生物碱类化合物。主要通过与文献比较MS, ¹H NMR, ¹³C NMR和DEPT数据确定其化学结构。8-去乙酰滇乌碱(8-deacetylyunaconitine)(1)^[20](58 mg)、膝瓣乌头碱(geniconitine)(2)^[21](39 mg)、8-乙酰膝瓣乌头碱(8-acetylgeniconitine)(3)^[22](28 mg)、forestine(4)^[23](42 mg)、hemsleyacnitine E(5)^[24](26 mg)、crassicautine(6)^[22](35 mg)、黄草乌碱丙(vilmorrianine C)(7)^[25](152 mg)、黄草乌碱甲(vilmorrianine A)(8)^[25](39 mg)、acoforesticine(9)^[26](37 mg)、14-benzoylneoline(10)^[23](33 mg)、sachaconitine(11)^[27](1233 mg)、hemsleyanine C(12)^[28](177 mg)、circinasine A(13)^[28](1746 mg)和talatisamine(14)^[28](2137 mg)。结构式见图1。

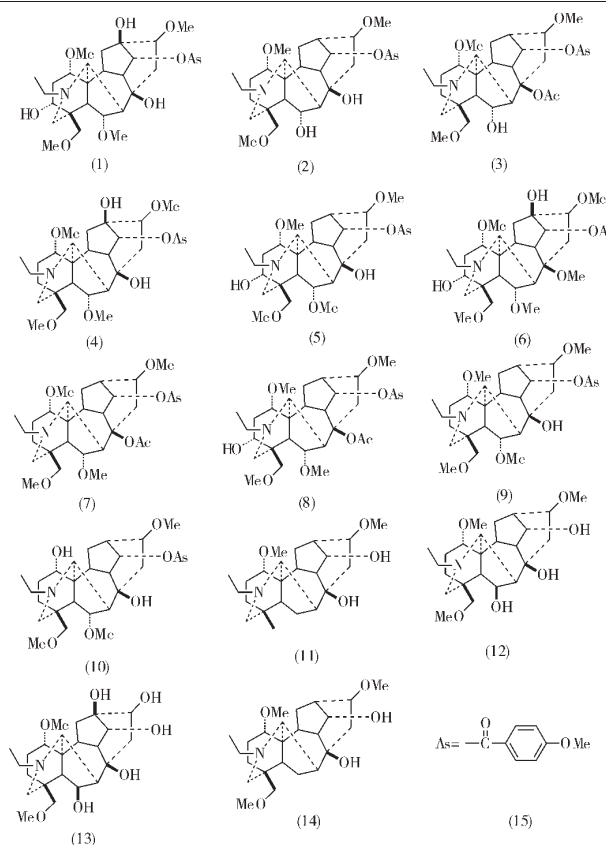


图1 黔产乌头中分离鉴定的生物碱结构

2.2 乌头生物碱抗TMV活性筛选

2.2.1 乌头生物碱抗TMV侵染活性测试

采用半叶枯斑法研究分离得到的14个二萜生物碱抗TMV病毒侵染心叶烟(*Nicotiana glutinosa*)的抑制活性, 以宁南霉素作为阳性对照药剂。结果表明, 部分二萜生物碱具有显著的抗TMV侵染和治疗活性。在30 mg/L质量浓度下, 生物碱8-deacetylyunaconitine(1)、vilmorrianine C(7)、vilmorrianine A(8)、sachaconitine(11)、hemsleyanine C(12)、circinasine A(13)、talatisamine(14)抑制TMV侵染活性均强于阳性对照药剂宁南霉素, 其中化合物sachaconitine(11)和talatisamine(14)对TMV侵染活性的抑制率均高于70%(见表1)。

表1 质量浓度为30 mg/L乌头中二萜生物碱抑制TMV侵染活性

化合物	抑制率/%	化合物	抑制率/%
8-deacetylyunaconitine(1)	45.7±3.6	vilmorrianine A(8)	50.5±3.9
geniconitine(2)	-	acoforesticine(9)	10.2±2.7
8-acetylgeniconitine(3)	-	14-benzoylneoline(10)	30.3±4.6
forestine(4)	10.2±2.4	sachaconitine(11)	70.4±3.6
hemsleyacnitine E(5)	9.5±3.6	hemsleyanine C(12)	56.5±5.5
crassicautine(6)	-	circinasine A(13)	47.9±4.7
vilmorrianine C(7)	55.7±3.4	talatisamine(14)	81.0±3.6
宁南霉素	42.6±3.4		

2.2.2 乌头生物碱抗TMV增值的抑制活性测试

采用立体叶圆片法测试化合物在系统寄主K₃₂₆普通

烟(*Nicotiana tabacum* cv. K₃₂₆)中对TMV增殖的抑制活性,采用双抗夹心酶联免疫法(DAS-ELESA)检测,判断化合物对病毒增殖的抑制情况。结果表明 1alatisamine(14)对病毒增殖的抑制活性显著高于阳性对照药剂宁南霉素; sachaconitine(11)、hemsleyanine C(12)对病毒增殖的抑制活性与阳性对照药剂宁南霉素相当(见表2)。与抑制病毒感染的活性结果基本一致。

表2 乌头生物碱1~14的OD₄₀₅值及TMV抑制率

化合物 (30 mg·L ⁻¹)	平行检测次数				OD ₄₀₅	抑制率/%
	1	2	3	4		
1	0.556	0.532	0.579	0.501	0.542	32.2
2	0.902	0.889	0.854	0.892	0.884	-10.5
3	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4	0.744	0.723	0.734	0.758	0.739	7.5
5	0.709	0.694	0.712	0.702	0.704	11.9
6	0.908	0.879	0.868	0.892	0.886	-10.8
7	0.487	0.492	0.502	0.474	0.488	38.9
8	0.495	0.523	0.476	0.501	0.498	37.6
9	0.711	0.699	0.702	0.723	0.708	11.4
10	0.645	0.632	0.672	0.625	0.643	19.5
11	0.404	0.397	0.437	0.411	0.412	48.4
12	0.398	0.411	0.394	0.401	0.401	49.8
13	0.664	0.632	0.702	0.689	0.671	16.0
14	0.287	0.301	0.299	0.328	0.303	62.0
空白对照	0.169	0.201	0.178	0.183	0.182	
阳性对照	0.83	0.782	0.772	0.811	0.798	
阴性对照	0.379	0.429	0.436	0.434	0.417	47.8

注 ND表示未进行检测。

3 结果与讨论

通过对黔产乌头中二萜生物碱类化合物进行抗TMV活性筛选,发现C₁₉-乌头碱型生物碱具有抗TMV活性,但与岩乌头中抗TMV活性生物碱不同^[18]。黔产乌头中生物碱14-OH多含有大茴香酰基取代,尽管化合物1、7和8显示较强抗TMV感染活性,但抑制TMV感染和增值2个方面的活性则是14-OH无大茴香酰基取代、8-OH无乙酰基取代的胺醇类最好(如化合物11、12、14),生物碱13是个例外,其结构特点是C-15为羟基取代而不是常见的甲氧基取代。众所周知,乌头碱的酯碱尤其是14-OH含有芳香酰基的酯碱毒性远远大于胺醇^[29],后者更适合作为天然抗TMV的农药实际使用。因此,将乌头属植物的总碱经水解后得到的总碱水解产物,具有潜在的发展为抗TMV天然农药的前景。

参考文献:

- [1] FRESER R S, SLUSARENKO A F, VANLOON L C. Special Aspects of Resistance to Viruses, the Mechanisms of Resistance to Plant Disease [M]. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2000: 480-486.
- [2] BOS L. Crop Losses Caused by Viruses[J]. Crop Prot, 1982(1): 263-270.

- [3] LI Yan-mei, WANG Li-hua, LI Shun-lin, et al. Seco-pregnane Ateroids Target the Subgenomic RNA of Alphavirus-like RNA Virus[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(19): 8083-8088.
- [4] YAN Ying, ZHANG Jian-xin, LIU Kai-xing, et al. Seco-pregnane Steroidal Glycosides from the Roots of *Cynantrum atratum* and Their Anti-TMV Activity[J]. Fitoterapia, 2014(97): 50-63.
- [5] LI Yan-mei, ZHANG Zhong-kai, JIA Yan-tao, et al. 3-Acetyl-3-hydroxyoxindole: A New Inducer of Systemic Acquired Resistance in Plants[J]. Plant Biotechnol J, 2008, 6(3): 301-308.
- [6] LI Yan-mei, JIA Yan-tao, ZHANG Zhong-kai, et al. Purification and Characterization of A New Ribosome Inactivating Protein from Cinchonaglycoside C-Treated Tobacco Leaves[J]. J Integr Plant Biol, 2007, 49(9): 1327-1333.
- [7] WANG Yue-hu, ZHANG Zhong-kai, YANG Fu-mei, et al. Benzylphenethylamine Alkaloids from *Hosta plantaginea* with Inhibitory Activity against Tobacco Mosaic Virus and Acetylcholinesterase[J]. J Nat Prod, 2007, 70(9): 1458-1461.
- [8] CHEN Jia, YAN Xiao-hui, DONG Jia-hong, et al. Tobacco Mosaic Virus (TMV) Inhibitors from *Picrasma quassioides* Benn[J]. J Agric Food Chem, 2009, 57(15): 6590-6595.
- [9] YAN Xiao-hui, CHEN Jia, DI Ying-tong, et al. Anti-tobacco Mosaic Virus (TMV) Quassinoids from *Burceca javanica* (L.) Merr[J]. J Agric Food Chem, 2010, 58(3): 1572-1577.
- [10] GE Yong-hui, LIU Kai-xing, ZHANG Jian-xin, et al. The Limonoids and Their Anti-tobacco Mosaic Virus (TMV) Activities from *Munronia unifoliolata* Oliv[J]. J Agric Food Chem, 2012, 60: 4289-4295.
- [11] GE Yong-hui, ZHANG Jian-xin, MU Shu-zhen, et al. Munronoids A-J, Ten new Limonoids from *Munronia unifoliolata* Oliv[J]. Tetrahedron, 2012, 68: 566-572.
- [12] CHEN Lin, ZHANG Jian-xin, WANG Bing, et al. Triterpenoids with Anti-tobacco Mosaic Virus Activities from *Melia toosendan*[J]. Fitoterapia, 2014, 97: 204-210.
- [13] YAN Ying, ZHANG Jian-xin, HUANG Tao, et al. Bioactive Limonoids Constituents of *Munrolia henryi*[J]. J Nat Prod, 2015, 78: 811-821.
- [14] YAN Ying, YUAN Chun-mao, DI Ying-tong, et al. Limonoids from *Munrolia henryi* and Their Anti-tobacco Mosaic Virus Activity[J]. Fitoterapia, 2015, 107: 29-35.
- [15] LI Ya-ting, HAO Xiao-jiang, LI Shi-fei, et al. Eudesmanolides from *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc. As Potential Inducers of Plant Systemic Acquired Resistance[J]. J Agric Food Chem, 2013, 61: 3884-3890.
- [16] MA Yuan, MAO Xin-ying, FAN Yi-ming, et al. Atisine-type Diterpene Alkaloids and Aiterpenes from *Spiraea japonica* and Their Anti-tobacco Mosaic Virus Activity[J]. Fitoterapia, 2016, 109: 8-13.
- [17] GOODING G V J, HEBERT T T. A Simple Technique for Purification of Tobacco Mosaic Virus in large Quantities[J]. Phytopathology, 1967, 57: 1285-1290.
- [18] 黄烈军, 葛永辉, 刘开兴, 等. 岩乌头的化学成分及对烟草花叶病毒病的活性[J]. 农药, 2013, 52(4): 295-297.
- [19] SONG Bao-an, ZHANG Hui-ping, WANG Hua, et al. Synthesis and Ativiral Activity of Novel Chiral Cyanoacrylate Derivatives[J]. J Agric Food Chem, 2005, 53: 7886-7891.

(下转第 777 页)

- Resources, 2009, 1(1): 127-129.
- [2] ESTRADA J A, FLORY S L. Cogongrass (*Imperata cylindrica*) Invasions in the US: Mechanisms, Impacts, and Threats to Biodiversity[J]. *Global Ecology and Conservation*, 2015(3): 1-10.
- [3] 强胜. 杂草学[M]. 2版. 北京: 中国农业出版社, 2011: 87-88.
- [4] CHIKOYE D, EKELEME F, LUM A F, *et al.* Competition between *Imperata cylindrica* and Maize in the Forest Savannah Transition Zone of Nigeria. *Weed Research*, 2014, 54 (3): 285-292.
- [5] BURRELL A M, PEPPER A E, HODNETT G, *et al.* Exploring Origins, Invasion History and Genetic Diversity of *Imperata cylindrica* (L.) P. Beauv. (Cogongrass) in the United States Using Genotyping by Sequencing[J]. *Molecular Ecology*, 2015, 24(9): 2177-2193.
- [6] EUSSEN J H H, NIEMANN G J. Growth Inhibiting Substances from Leaves of *Imperata cylindrica* (L.) Beauv.[J]. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 1981, 102(3): 263-266.
- [7] 王秀秀, 路福绥, 冯建国, 等. 高效氟吡甲禾灵水乳剂的稳定性[J]. *农药*, 2011, 50(6): 411-413.
- [8] 陆松茂. 蔬菜中氟吡甲禾灵残留物的测试方法[J]. *农药*, 2014, 53(10): 751-752.
- [9] 陈宏州, 杨敬辉, 朱桂梅, 等. 油菜田日本看麦娘对高效氟吡甲禾灵的抗药性检测[J]. *西南农业学报*, 2012, 25(2): 502-505.
- [10] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2006: 28-29, 68-69, 72-73.
- [11] 朱云国, 王学德, 赵佩欧. 棉花恢复系的恢复力与花药谷胱甘肽-S-转移酶活性的关系[J]. *作物学报*, 2003, 29(5): 693-696.
- [12] 李忠光, 宋玉泉, 龚明. 二甲酚橙法用于测定植物组织中的过氧化氢[J]. *云南师范大学学报(自然科学版)*, 2007, 27(3): 50-54.
- [13] DHINDSA RS, PLUMB-DHINDSA P, THORPE TA. Leaf Senescence: Correlated with Increased Leaves of Membrane Permeability and Lipid Peroxidation and Decreased Levels of Superoxide Dismutase and Catalase[J]. *Journal of Experimental Botany*, 1981, 32(1): 93-101.
- [14] COCHRANE CG. Cellular Injury by Oxidants[M]//*Molecular Aspects of Inflammation*. Springer Berlin Heidelberg, 1991, 42: 177-188.
- [15] GAR'KOVA A N, RUSYAEVA M M, NUSHTAEVA, *et al.* Treatment with the Herbicide Granstar Induces Oxidative Stress in Cereal Leaves[J]. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2011, 58(6): 1074-1081.
- [16] 李薪芳, 索亚萍, 楼鸳鸯, 等. 酰胺类除草剂对铜绿微囊藻的生长影响及氧化损伤效应[J]. *生态毒理学报*, 2016, 11(1): 239-247.
- [17] WU X Y, TIEDEMANN A. Impact of Fungicides on Active Oxygen Species and Antioxidant Enzymes in Spring Barley (*Hordeum vulgare* L.) Exposed to Ozone[J]. *Environment Pollution*, 2002, 116: 37-47.
- [18] MARCUM KB. Cell Membrane Thermostability and Whole-plant Heat Tolerance of Kentucky Bluegrass[J]. *Crop Sci*, 1998, 38(5): 1214-1218.
- [19] 胡利锋, 柏连阳, 周小毛. 谷胱甘肽-S-转移酶对除草剂代谢作用的研究进展[C]//张朝贤. 农田杂草与防控. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2011: 144-148.

(上接第 770 页)

- [20] 陈东林, 简锡贤. 直缘乌头根中生物碱成分的研究[J]. *华西药理学杂志*, 2002, 5: 326-330.
- [21] 郝小江, 陈泗英, 周俊. 膝瓣乌头中的新生物碱——膝乌碱[J]. *植物学报*, 1985, 27: 504-506.
- [22] WANG Feng-peng. Diterpenoid Alkaloids from *Aconitum Crassicaule*[J]. *J Nat Prod*, 1987, 50: 55-59.
- [23] KEDEM G, WATANABE H. The Structures of Forestine and Foresticine, two new C₁₉ Diterpenoid Alkaloids from *Aconitum forrestii* Stapf[J]. *J Nat Prod*, 1984, 47: 474-479.
- [24] SHEN Yong, ZUO Ai-xue, JIANG, Zhi-yong, *et al.* Five New C₁₉-Diterpenoid Alkaloids from *Aconitum emsleyanum*[J]. *Helv Chim Acta*, 2010, 92: 482-486.
- [25] 杨金, 刘卫, 羊晓东, 等. 剑川乌头中的二萜生物碱[J]. *中国中药杂志*, 2009, 34: 1927-1930.
- [26] PELLETIER S W. Isolation and Structure Glucidation of the Glikaloids of *Delphinium glancesens* Rydb[J]. *J Org Chem*, 1981, 46: 3284-3290.
- [27] 王锋鹏, 李正邦, 王建忠. 膝瓣乌头根中新去甲二萜生物碱的结构研究[J]. *化学学报*, 2000, 58: 576-582.
- [28] GAO Feng, CHEN Dong-lin, WANG Feng-peng. New Aconitine-type C₁₉-Diterpenoid Alkaloids from *Aconitum hemsleyanum* var. *Circinacum*[J]. *Arch Pharm Res*, 2007, 30: 1497-1503.
- [29] 肖培根, 王锋鹏, 高峰, 等. 中国乌头属植物药用亲缘学研究[J]. *植物分类学报*, 2006, 44: 1-46.

孟山都拟在巴西上市最新杀线剂 NemaStrike

孟山都预计将在巴西上市杀线虫剂 NemaStrike(活性成分 ti oxazafen) ,用于玉米和大豆种子处理。公司表示,该产品具有新型的作用方式,能有效防治线虫攻击的根部区域,将为玉米和大豆等作物提供广谱线虫防治,并提高作物产量。

全球每年由线虫危害导致的作物减产可达 14%,造成经济损失 800~1000 亿美元,因此有必要投入更多精力研发线虫防控产品。

NemaStrike 目前仍处于测试阶段。据孟山都表示, NemaStrike 有 2 大好处: 1)安全、低毒,对人类、环境和土壤生物影响小; 2)持效期长,线虫的生命周期在 30 d 左右,而 NemaStrike 持效期可跨越至少 2 个半的线虫周期。