

胜红蓟化感作用研究 V. 挥发油对真菌、昆虫和植物的生物活性及其化学成份

孔垂华, 黄寿山, 胡 飞

(华南农业大学热带亚热带生态研究所, 广州 510642)

摘要: 胜红蓟挥发油对真菌、昆虫和植物均具有生物活性, 对植物致病真菌和害虫的抑制活性尤其显著。挥发油及其主要成分胜红蓟素不仅具有杀虫活性, 而且引起昆虫拒食和延迟蜕皮。用 GC/MS 详细分析了胜红蓟挥发油的化学成分, 共鉴定了 27 个化合物, 胜红蓟素及其衍生物, 单萜和倍半萜类化合物是其主要成分。

关键词: 胜红蓟挥发油; 病虫害; 化学成分; 化感作用

Allelopathy of *Ageratum conyzoides* V. biological activities of the volatile oil from ageratum on fungi, insects and plants and its chemical constituents

KONG Chui-Hua HUANG Shou-Shan HU Fei (Institute of Tropical and Subtropical Ecology, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: The volatile oil of *Ageratum conyzoides* had significant biological activities on fungi, insects and plants, particularly on plant diseases and insect pests. The volatile oil and its major component precocene II not only had insecticidal efficacy, but also anti-feeding effect and delayed molting of insects. The chemical constituents of the volatile oil from *A. conyzoides* were analyzed in detail by means of GC/MS. Twenty-seven compounds were identified, and ageratochromene with its derivatives as well as monoterpenes and sesquiterpenes are major components.

Key words: Volatile oil of *Ageratum conyzoides*; fungicidal, insecticidal and herbicidal efficacy; chemical constituent; allelopathy.

文章编号: 1000-0933(2001)04-0584-04 中图分类号: Q143, Q948.12, Q946.8 文献标识码: A

前期研究发现, 胜红蓟 (*Ageratum conyzoides*) 主要是通过释放挥发性化感物质来抑制邻近植物的生长发育^[1], 进一步的研究揭示胜红蓟的这种化感作用显著地受其所处生境的影响, 而且, 混合的化感物质 (挥发油) 的活性明显强于单一的化合物, 说明胜红蓟化感物质之间存在着协同作用^[2,3]。上述研究主要集中在胜红蓟和其它植物之间的化学作用上, 而事实上, 胜红蓟释放到环境中的化感物质不应仅仅影响植物, 对邻近的其它生物必然同样产生影响, 一物多用的生态功能在化感物质中是普遍存在的^[4]。因此, 研究胜红蓟挥发油对真菌、昆虫和植物等方面的作用, 并进一步详细探讨挥发油的化学成分, 对全面认识胜红蓟与其它生物之间的化学关系具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 实验材料

基金项目: 国家自然科学基金 (39670141)、广东省自然科学基金 (960427) 和南开大学国家元素有机化学重点实验室开放基金 (9803) 资助项目

收稿日期: 1999-03-01, 修订日期: 1999-09-21

作者简介: 孔垂华 (1962~), 男, 安徽省铜陵市人, 博士, 研究员。主要从事化学生态学研究。

胜红蓼采自华南农业大学生态气象实验场内, 分别等量采集(50kg)不同生境(营养充足, 营养不足)、季节(夏季, 冬季)、营养生长期(未开花)和生殖生长期(盛花)共 8 个样点的地上部分, 经水蒸汽蒸馏获得挥发油, 提取率(油/鲜重)在 0.1%~0.3% 之间, 各次提取的挥发油混合均匀, 以全面分析胜红蓼挥发物的化学成分, 取 50ml 用于实验。受试植物为水稻(*Oryza sativa* L.), 黄瓜(*Cucumis sativus* L.), 玉米(*Zea mays* L.), 稗草(*Echinochloa crusgalli*), 油菜(*Brassica campestris* L.), 反枝苋(*Amaranthus retroflexus*); 受试昆虫为粘虫(*Mythimna separata*), 蚊虫(*Culex pipiens pallens* 尖音库蚊淡色亚种)和拟谷盗(*Tribolium confusum*); 受试病原菌为水稻纹枯病(*Rhizoctonia solani*), 黄瓜灰霉病(*Botrytis cinerea* Pers)和油菜菌核病(*Sclerotinia sclerotiorum* Lib)。上述实验材料均来源于南开大学元素有机化学重点开放实验室。胜红蓼素(早熟素 II, Precocene II)由柱层析从挥发油中获得^[1,2], 多菌灵和其它有机溶剂均为市售试剂。

1.2 生物活性测定

除草活性测定 采用盆栽法, 在 18~25℃ 沙壤土中, 以 pH 值为 7 的自来水浇灌, 保持土壤湿润。试材(稗草, 油菜, 反枝苋)分播后, 以苗前土壤处理和苗后 1~1.5 叶期茎叶处理两种方式。处理用试剂兑水喷雾(以每 hm^2 有效剂量 1500g 计)。设不施药的对照株, 处理后 9d 测定结果, 观察药效症状和计算鲜重抑制率[$\text{防除效果}\% = (\text{对照} - \text{处理}/\text{对照}) \times 100\%$]。

杀菌活性测定 采用叶片法。将水稻、黄瓜和油菜叶片浸在配制好的药液中, 5~10min 后取出, 放在铺有保湿纸的容器中, 将预先培育好的病原菌丝块放在每叶的中央, 加盖保湿, 并放入人工气候箱中培养。水稻纹枯病的培养温度为 26~28℃, 黄瓜灰霉病、油菜菌核病的培养温度为 21~23℃, 待对照充分发病后, 计算试验结果。

杀虫活性测定 采用药膜法测定对拟谷盗的活性。用丙酮稀释药剂并将稀释液移入玻璃培养皿底部, 待溶剂挥发后, 将拟谷盗成虫放入, 盖上皿盖, 放入 27℃ 恒温箱内, 记录 48h 拟谷盗死亡百分率。对蚊虫的活性测定是将 4 龄蚊虫幼虫放入含供试药剂浓度为 20 $\mu\text{g/g}$ 的 50ml 沉淀水中, 观察其 24h 的死亡百分率。粘虫测定是用丙酮稀释的药剂浸渍苗期玉米叶, 待溶剂挥发后接入 3 龄粘虫幼虫, 观察 72h 的取食、蜕皮情况并计算死亡率。

1.3 挥发油化学成分分析

采用 HP5972GC/MSD, 色谱条件: HP-5 毛细管, 柱长 30m, 内径 0.25mm, 始温 60℃, 保持 2min 后, 以 5℃/min 的速度升至 280℃。质谱条件: EI 电离方式, 70ev 电压, 扫描范围 35~450amu。各成分经 G1037A NIST PBM library 和 G1036A NIST Structure Database 计算机分子库检索, 个别化合物用标样对照确证。

2 结果与讨论

2.1 胜红蓼挥发油对真菌、昆虫和植物的作用

胜红蓼挥发油及其主要成分胜红蓼素对真菌、昆虫和植物的作用经国家农药工程中心进行的生物活性普筛测定, 结果列于表 1, 结果表明: 胜红蓼挥发油不仅对受试植物生长有一定的抑制作用, 而且对受试昆虫, 尤其是对受试植物病原真菌具有显著的抑制活性, 充分说明胜红蓼挥发性化感物质的一物多用生态功能。用茎叶喷施的方法处理, 受试植物的生长受到一定的抑制, 但土壤处理对受试植物无影响。这一结果与自然状况下胜红蓼通过释放挥发性物质抑制邻近植物生长的作用途径相一致。用 3 种方法测定了挥发油和胜红蓼素对昆虫的抑制活性, 发现挥发油对不同受试昆虫均具有一定的致死作用, 但胜红蓼素则无致死作用。表明在胜红蓼与昆虫的化学关系中, 化感物质之间的协同作用仍然存在。必须指出, 挥发油和胜红蓼素对粘虫均有拒食作用, 且能延迟其发育历期。这是胜红蓼化感物质对昆虫作用的一种重要方式, 不是直接的毒杀, 而是影响昆虫的生长发育进程。因此, 用致死率来评价胜红蓼化感物质对害虫的作用并不全面。前期研究用生命表方法评价胜红蓼素对南方重要蔬菜害虫小菜蛾(*Plutella xylostella* L.) 实验种群的控制作用, 其结果应当更为客观^[5]。值得注意的是, 胜红蓼挥发油对不同的受体, 尤其是作物病虫害的活性差异是极其显著的, 从高活性到无活性。这也可以反映植物和其它生物之间, 通过化感物质为媒介的化学关系是生物间长期进化过程的机制之一, 因而化感物质虽具有多用性而一般不具备广谱性, 这与化学农药是不同的。关于这一点, 尚需要扩大受体范围, 进行进一步的研究予以确证。

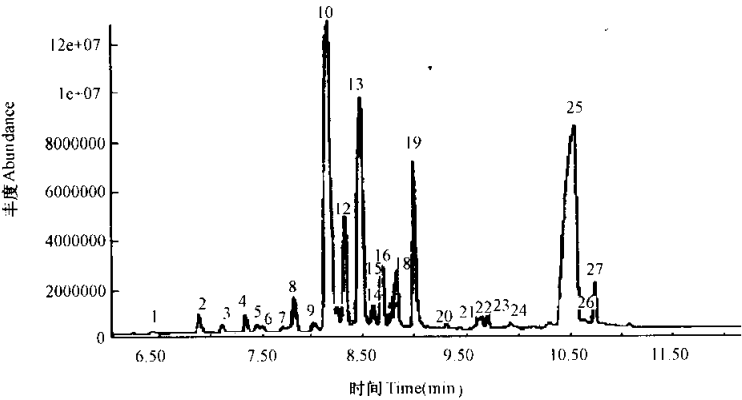


图 1 胜红蓟挥发油 GC/MS 分析结果

Fig. 1 The analytical results of the volatile oil from *A. conyzoides* by GC/MS

1. Bornyl formate(甲酸冰片酯,0.15%) 2. Fenchyl acetate (乙酸葑醇酯,0.80%) 3. Nerol(橙花醇,0.41%)
4. β -Elemene(β -榄香烯,0.73%) 5. α -Cubebene(α -葑澄茄油烯,0.34%) 6. 2,6,6,9-Tetramethyltricyclo[5,4,0,0^{2,8}]undecene-9(2,6,6,9-四甲基三环[5,4,0,0^{2,8}]十一烯-9,0.29%) 7. Copaene(可巴烯,0.19%) 8. β -Cubebene(β -葑澄茄油烯,1.67%) 9. iso-Caryophyllene(异-石竹烯,0.53%) 10. β -Caryophyllene(β -石竹烯,25.51%) 11. β -Gurjunene(β -古芸烯,0.73%) 12. (E)- β -Farnesene(顺- β -金合欢烯,5.42%) 13. Precocene I(早熟素 I,16.45%) 14. Sesquiterpene hydrocarbon(倍半萜烃,0.84%) 15. (Z)- β -Farnesene(反- β -金合欢烯,1.79%) 16. α -Farnesene(α -金合欢烯,1.10%) 17. Germacrene D(大根香叶烯 D,0.41%) 18. Germacrene B(大根香叶烯 B,2.14%) 19. α -Bisabolene(α -红没药烯,6.12%) 20. Nerolidol(橙花叔醇,0.39%) 21. Hexadecane(十六烷,0.79%) 22. Caryophyllene oxide(石竹烯氧化物,0.81%) 23. Oxygenated Sesquiterpene(含氧倍半萜,0.20%) 24. Demethoxyencecalin(乙酰基苯并吡喃,0.46%) 25. Precocene II(早熟素 II,29.67%) 26. Androencecalinol(乙酰基早熟素 I,0.38%) 27. Demethylnencecalin(乙酰基羟基苯并吡喃,1.67%)

表 1 胜红蓟挥发油对病虫草害的抑制作用*

Table 1 Effects of the volatile oil from *A. conyzoides* on fungi, insects and plants

测试项目 Item		浓度($\mu\text{g/g}$) Concentration	挥发油 Volatile oil	胜红蓟素 Precocene II	备注 Remarks
真菌 Fungi	水稻纹枯病 ^①	500	72.1	67.8	多菌灵对照 100 ^⑩
	黄瓜灰霉病 ^②	500	25.5	40.1	多菌灵对照 11.9 ^⑪
	油菜菌核病 ^③	500	0	0	多菌灵对照 84.8 ^⑫
昆虫 Insect	拟谷盗 ^④	100	100	0	丙酮对照为 0 ^⑬
	粘虫 ^⑤	1000	35	0	拒食并延迟脱皮 1d ^⑭
	蚊虫 ^⑥	20	20	0	丙酮对照为 0 ^⑮
植物 Plant	稗草 ^⑦	1667	29.7	18.9	
	油菜 ^⑧	1667	29.2	18.3	土壤处理均为 0 ^⑯
	反枝苋 ^⑨	1667	10.5	36.8	

* 数据均为杀虫或抑制百分率 All data are eliminated or inhibitory percentage. ① *Rhizoctonia solani* ② *Botrytis cinerea* ③ *Sclerotinia sclerotiorum* ④ *Tribolium confusum* ⑤ *Mythimna separata* ⑥ *Culex pipiens pallens* ⑦ *Echinochloa crusgalli* ⑧ *Brassica campestris* ⑨ *Amaranthus retroflexus* ⑩ CK is Carbendazim ⑪ CK is Carbendazim ⑫ CK is Carbendazim ⑬ CK is Acetone ⑭ Anti-feeding and delay one day to molt ⑮ CK is Acetone ⑯ Treatment on soil

2.2 胜红蓟挥发油的化学成分

毫无疑问,胜红蓟挥发油对真菌、昆虫和植物的生物活性应当取决于挥发油的化学成分及各成分的相对含量。胜红蓟挥发油的化学成分虽已有研究^[6~8],但无详细的报道。因此,全面分析胜红蓟挥发油的化学成分可以揭示胜红蓟对病虫草害调控作用的化学基础。本研究中胜红蓟挥发油的化学成分及各成分的相对含量参见图 1。和前期研究相比^[3,9],挥发油的化学成分显著增加,这主要是由于实验所用的挥发油来源于不同的生境、季节和生长期所致。

胜红蓟挥发油的化学成分由胜红蓟素及其类似物,和单萜及倍半萜组成。这些化合物也存在于许多其它植物中,一般均具有一定的生物活性,除胜红蓟素类物质是人们所熟知的昆虫抗保幼激素外,冰片酯, β -丁香烯, α -红没药烯,橙花叔醇,橙花醇和丁香烯氧化物等物质的引诱昆虫,干扰昆虫发育以及使昆虫拒食^[10,11]和杀菌作用^[12]均有研究,而 β -丁香烯,丁香烯氧化物和 α -红没药烯对植物的抑制作用很早就被研究证实^[13]。这些具有杀(驱)昆虫,抗菌和抑制植物生长的物质同时存在于胜红蓟中,并在特定的情况下释放到环境中影响邻近的生物,应是胜红蓟长期对生态环境的一种适应机制。最为重要的是胜红蓟挥发油的化学成分及含量受环境的影响很大,使得其对邻近生物的作用产生显著的差异,因此,探明环境-挥发物质成分及含量-病虫草的生物活性三者之间的动态关系很重要。

参考文献

- [1] 孔垂华,徐 涛,胡 飞.胜红蓟化感作用研究 II. 主要化感物质的释放途径和活性. 应用生态学报,1998,9(3): 257~260.
- [2] 孔垂华,徐 涛,胡 飞.胜红蓟化感物质之间的相互作用研究. 植物生态学报,1998,22(5):403~408.
- [3] Kong Chuihua,Xu Tao and Hu Fei, *et al.* Allelopathic potential and chemical constituents of the volatile oil from *Ageratum conyzoides*. *J. Chem. Ecol.*,1999,25(10):2347~2356.
- [4] 孔垂华. 植物化感作用研究中应注意的问题. 应用生态学报,1998,9(3):332~336.
- [5] 黄寿山,潘丽群,孔垂华.胜红蓟化感作用研究 IV. 胜红蓟素对小菜蛾实验种群的控制作用. 生态学报,2000,20(增):173~178.
- [6] Menut C,Lamaty G,Amvam P. Aromatic of tropical central Africa, Part X. Chemical composition of the essential oils from *Agertum honstonianum* and *Ageratum conyzoides* from Cameroon *Flav. Fragr. J.*,1993,8:1~4.
- [7] Riaz M,Khaliol M and Chandhery F. Essential oil of compositions of Pakistani *Ageratum conyzoides*. *J. Essen. Oil Res.*,1995,7:551~553.
- [8] Wandji J,Bissangou M,Ouambra J. Essential oil of *Ageratum conyzoides*. *Fititerpia*,1996,67:427~431.
- [9] 徐 涛,孔垂华,胡 飞.胜红蓟化感作用研究 III. 挥发油对不同营养水平下植物的化感作用. 应用生态学报,1999,10(6):748~750.
- [10] Terrance D H and David F W. Anti-repellent terpenoides from *Melampodium dwaricatum*. *Phytochem*,1985,24(6):1197~1198.
- [11] Zampino M J,Wilson R A And Mookherjee B D. Bissabolene-containing composition as insect repellent fragrance and flavorant US Pat.,1991. 5,089,469.
- [12] Biond D,Cianci P And Geraci C. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oil from Sicilian aromatic plants. *Flav. Fragr. J.*,1993,8:331~337.
- [13] Rice E L. In;Second Ed. *Allelopathy* Academic Press,New York,1984. 281~284.