

李晓霞, 沈奕德, 刘 延, 等. 小花宽叶十万错石油醚萃取相 GC-MS 分析及其化感作用研究[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(21): 168-171.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.21.039

小花宽叶十万错石油醚萃取相 GC-MS 分析 及其化感作用研究

李晓霞¹, 沈奕德¹, 刘 延¹, 王 亚¹, 陈颂梅², 张 敏², 范志伟¹

(1. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所/农业农村部热带作物有害生物综合治理重点实验室/农业农村部儋州农业环境科学观测实验站/海南省热带农业有害生物监测与控制重点实验室, 海南海口 571101; 2. 海南大学应用科技学院, 海南儋州 571737)

摘要:以海南省近年来突发的外来入侵植物小花宽叶十万错 [*Asystasia gangetica* subsp. *micrantha* (Nees) Ensermu] 为研究对象, 采用气象色谱-质谱联用 (GC-MS) 技术对小花宽叶十万错地上部分石油醚萃取相进行化学成分分析, 并采用不同质量浓度 (0.012 5、0.025、0.05 g/mL) 的小花宽叶十万错地上部分石油醚萃取相对三叶鬼针草 (*Bidens pilosa* var. *radiata* Sch. Bip.) 和假臭草 [*Praxelis clematidea* (Griseb.) R. M. King et H. Rob.] 进行培养皿滤纸法的化感作用测定。结果表明, 小花宽叶十万错石油醚萃取相共鉴定出 29 种化合物, 占总量的 97.917%, 以醇类为主, 占总量的 51.384%, 其次为脂类 (18.372%), 再次为烯炔类 (16.264%), 此外还有酚、醛、酸等。生物测定结果表明, 小花宽叶十万错石油醚萃取相对伴生种三叶鬼针草和假臭草的种子萌发、幼苗生长均产生化感抑制作用, 其中普遍发现对根长的抑制作用强于对茎长的抑制作用。以上结果说明, 小花宽叶十万错通过释放化感物质, 可起到抑制邻近植物生长的作用, 提高其入侵力。

关键词:小花宽叶十万错; 地上部分石油醚萃取相; GC-MS; 化感作用

中图分类号: R284.1; Q949.778.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)21-0168-04

外来入侵植物严重威胁本地生态系统, 生物多样性平衡已成为世界各国的生态问题, 甚至给社会经济和自然环境造成了巨大的冲击^[1]。关于外来入侵植物的成灾机制一直是农业生态学关注的问题。目前, 在多种入侵植物的研究中已发现化感作用的入侵机制。化感作用是植物在生长过程中, 通过淋溶、根系分泌、挥发、植物残体分解 4 种途径向环境中释放化感物质并对其他植物或微生物产生直接或间接的有利或有害的作用^[2]。随着对入侵植物的研究的深入, 发现多数入侵植物通过分泌化感物质, 提高自身适应环境、生存与竞争的能力, 从而形成单优势入侵种群, 因此, 认为化感作用是入侵植物的一种“新型”化学武器^[3-6]。研究证实, 许多入侵植物在其入侵新生境的过程中通过释放化学物质抑制植物的种子萌发和生长, 如薇甘菊^[7]、紫茎泽兰^[8-9]、飞机草^[10]、香茅^[11]等。因此, 开展植物化感作用研究对于入侵植物替代控制^[12]、农田杂草防除^[11]、开发植物源除草剂^[13]等具有重要意义。

小花宽叶十万错 [*Asystasia gangetica* subsp. *micrantha* (Nees) Ensermu] 是爵床科十万错属多年生草本植物, 原产于非洲、印度和斯里兰卡, 现已成为中国台湾、马来西亚、澳大利

亚、印度尼西亚、太平洋岛屿等地区的重要入侵物种^[14-16]。小花宽叶十万错最早于 2005 年在海南儋州被发现, 据笔者所在研究团队多年的观测发现, 该植物已迅速演变成海南西北部地区的重要外来入侵植物, 已经对入侵区域的农牧业、林业生产与管理带来了严重的影响。因此, 关于小花宽叶十万错如何入侵及如何迅速占据强大生境等的研究已经成为当下重要的课题。从其强大的竞争力和生长特性来看, 很有可能含有抑制其他植物生长的化感物质。然而, 目前关于小花宽叶十万错化感作用的研究未见报道。为验证这一推测, 本研究通过乙醇提取、石油醚萃取小花宽叶十万错地上部分脂溶性成分, 并对其所含的化学物质进行分析, 通过室内生物测定法测定了其相对伴生种三叶鬼针草 (*Bidens pilosa* var. *radiata* Sch. Bip.) 和假臭草 [*Praxelis clematidea* (Griseb.) R. M. King et H. Rob.] 的化感作用, 旨在阐明化感作用在入侵植物小花宽叶十万错对入侵地邻近植物的化感抑制作用, 为进一步揭示其入侵的化学机制并制定合理的治理方法提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验用小花宽叶十万错地上部分于 2018 年 5 月中旬采自海南省中国热带农业科学院儋州细胞楼实验基地。受试材料三叶鬼针草、假臭草采自中国热带农业科学院儋州科技园区。

1.2 方法

1.2.1 小花宽叶十万错地上部分石油醚萃取相化学成分的提取 取自然风干的小花宽叶十万错地上部分 2.5 kg, 切成小块; 在室温下, 用体积分数为 95% 的乙醇进行 3 次回流提

收稿日期: 2018-08-13

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费 (编号: 2018hzz1J005、2016hzz1J019)。

作者简介: 李晓霞 (1983—), 女, 云南大理人, 助理研究员, 主要从事热带农林杂草生物学、生态学与综合监控技术研究。E-mail: lixiaoxiayn@163.com。

通信作者: 范志伟, 博士, 研究员, 主要从事入侵植物与杂草生物学、生态学与综合监控技术研究。E-mail: fanweed@163.com。

取;合并提取物后减压浓缩得粗浸膏,将粗浸膏溶解于水后用石油醚萃取,得到小花宽叶十万错石油醚萃取相。

1.2.2 小花宽叶十万错萃取相化学成分分析 取小花宽叶十万错石油醚萃取相,用三氯甲烷稀释后进行气相色谱-质谱联用(GC-MS)测定。气相条件:色谱柱为FB-5MS(30 m×0.25 mm×0.25 μm)弹性石英毛细管柱,柱温为46℃,保持2 min,以6℃/min升温至310℃,保持12 min。运行时间为58 min;汽化室温度为250℃;载气为高纯He(99.999%),载气流量为1.0 mL/min;柱前压为7.06 psi;分流进样,分流比为20:1;溶剂延迟时间为5 min。质谱条件:离子源为EI(非选择性电离)源;质量范围为29~500 amu;离子源温度为230℃;四极杆温度为150℃;接口温度为280℃;电子能量为70 eV;发射电流为34.6 μA;倍增器电压为1 612 V。对总离子流图中的各峰经质谱计算机数据系统检索及核对Nist 2005和Wiley275标准质谱图。

1.2.3 种子萌发和幼苗生长抑制试验 将直径为9 cm的培养皿洗净、烘干、灭菌,铺2层灭菌定性滤纸,分别加入浓度为0.05、0.025、0.012 5 g/mL的小花宽叶十万错石油醚萃取相

水溶液5 mL,以蒸馏水为对照,设3个重复。待滤纸浸湿后将饱满、大小均匀并催芽后的三叶鬼针草和假臭草种子各20粒放入培养皿中,置于人工气候箱[湿度70%,温度(25±2)℃,光照时间14 h/d,光照度16 000 lx]中恒温培养。种子出现萌芽(胚根长度≥1 mm)后开始记录每天种子的萌发数量,7 d后统计种子的发芽率并测量根长及茎长。

2 结果与分析

2.1 小花宽叶十万错石油醚萃取相主要化学成分

经GC-MS分析,共鉴定出29种化合物,占总量的97.917%,用峰面积归一化法测定小花宽叶十万错石油醚萃取相的质量分数(图1和表1)。结果显示,小花宽叶十万错石油醚萃取相化学成分以醇类为主,占总量的51.384%,含量较高的成分依次为豆甾醇(15.578%)、穿贝海绵甾醇(13.987%)、反式植醇(11.653%)、二氢布拉西唑醇(7.142%)等;其次为酯类(18.372%),含量较高的成分分别为亚麻酸乙酯、棕榈酸乙酯等;再次为烯烃类(16.264%);此外还有酚、醛、酸等。

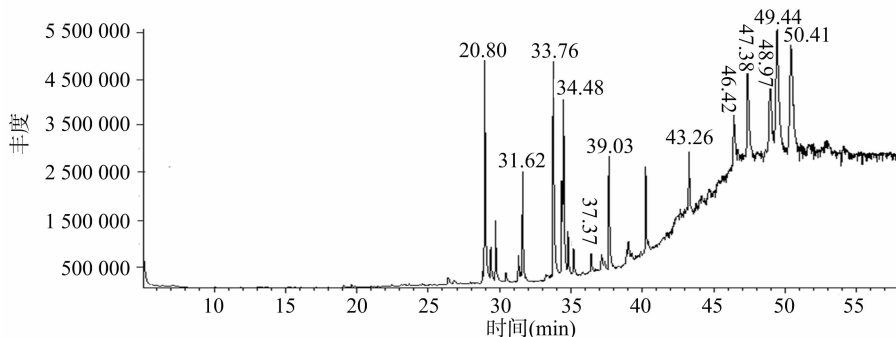


图1 小花宽叶十万错石油醚萃取相化学成分总离子流

2.2 小花宽叶十万错石油醚萃取相对伴生种子萌发和幼苗生长的影响

2.2.1 对伴生种子萌发的影响 不同浓度下小花宽叶十万错石油醚萃取相对三叶鬼针草、假臭草2种伴生种子萌发都有明显的抑制作用(图2),随着浓度的升高,抑制作用逐渐增强,但在相同浓度下2种伴生种的种子萌发率差异不显著。以上结果说明,小花宽叶十万错石油醚萃取相具有抑制伴生种子萌发的化感活性物质,且化感活性物质的化感作用随着浓度升高逐渐增强。

2.2.2 对伴生种三叶鬼针草、假臭草幼苗生长的影响 在浓度为0.012 5、0.025 g/mL条件下小花宽叶十万错石油醚萃取相对伴生种三叶鬼针草根长的化感抑制作用大于对茎长的化感抑制作用,但随着浓度升高,对根长的化感抑制作用差异不显著(图3)。在不同浓度下小花宽叶十万错石油醚萃取相对假臭草根长的抑制作用差异显著,表现为随着浓度升高,化感作用逐渐增强(0.012 5、0.025、0.05 g/mL浓度下化感效应敏感指数分别为-59.096%、-77.933%、-94.421 5%);对茎长的作用表现为在浓度为0.05 g/mL下假臭草的茎长显著低于对照组,但与0.012 5、0.025 g/mL差异不显著(图3)。

以上结果说明:小花宽叶十万错石油醚萃取相对三叶鬼针草、假臭草幼苗生长表现出一定的化感抑制作用,且对根长的抑制作用大于对茎长的抑制作用,但总体上来说,随着浓度

升高抑制作用逐渐增强。

3 讨论

化感作用是研究入侵植物入侵机制的重要途径,多年来一直是研究热点。已有研究表明,化感物质作为次生代谢物可通过化感作用影响植物的生长发育(如种子的萌发、幼苗的生长、成株的开花结实等),从而提高植物种群在生存竞争中的优势地位,利于种群的扩大和繁衍^[17]。植物中化感物质主要分为水溶性直链醇、有机酸、脂肪族醛和酮、简单不饱和内酯、长链脂肪酸和多炔、醌类、苯甲酸及其衍生物、肉桂酸及其衍生物等14类^[2]。不同化感物质的化感作用也并不相同。水溶性有机酸、直链醇、脂肪族醛和酮大都能抑制种子的萌发^[18-19];从豚草(*Ambrosia artemisiifolia*)、三裂叶豚草(*Ambrosia trifida*)和毛果破布草(*Ambrosia psilostachya*)中分离到的挥发性萜类具有降低大豆、洋葱、燕麦、玉米和小麦种子发芽率并延迟发芽的作用^[20]。而从菊科植物中分离到的酚类、有机酸类等化感物质可影响被感植物对矿质元素的吸收及干扰参与光合途径的多种酶活性^[21]。也有研究表明,从细叶亚菊中分离到的松柏醇能抑制垂穗披碱草(*Elymus nutans* Griseb.)的种子萌发和幼苗生长^[22]。

在本研究中,小花宽叶十万错石油醚萃取相对供试植物表现出较强的生物活性,其中在不同浓度下小花宽叶十万错

表 1 小花宽叶十万错石油醚萃取相主要化学成分和相对含量

编号	保留时间 (min)	化合物	分子式	分子量 (g/mol)	相对含量 (%)
1	6.40	二丙酮醇(diacetone alcohol)	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	0.039
2	11.90	苯乙醛(benzeneacetaldehyde)	C ₈ H ₈ O	120	0.013
3	13.38	愈创木酚(guaiacol)	C ₇ H ₈ O ₂	124	0.017
4	15.66	甲基乙酮(methylacetophenone)	C ₉ H ₁₀ O	134	0.023
5	19.07	4-乙烯基-2-甲氧基-苯酚(4-vinyl-2-methoxy-phenol)	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	0.109
6	19.64	1,1,6-三甲基-1,2-二氢萘(1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphthalene)	C ₁₃ H ₁₆	172	0.098
7	22.30	β-紫罗兰酮(β-ionone)	C ₁₃ H ₂₀ O	192	0.021
8	23.67	二氢猕猴桃内酯(dihydroactinidiolide)	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	180	0.086
9	28.80	植酸(phytene)	C ₂₀ H ₄₀	280	0.494
10	29.72	新茶叶烯(neophytadiene)	C ₂₀ H ₄₀ O	296	13.869
11	31.49	9-棕榈酸乙酯(ethyl 9-hexadecanoate)	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	0.111
12	31.62	棕榈酸乙酯(ethyl palmitate)	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	3.879
13	33.76	反式植醇(trans-phytol)	C ₂₀ H ₄₀ O	296	11.653
14	34.35	亚油酸乙酯(ethyl linoleate)	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308	3.410
15	34.48	亚麻酸乙酯(ethyl linolenate)	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	306	8.435
16	34.79	硬脂酸乙酯(ethyl stearate)	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312	1.569
17	35.18	未定			0.981
18	36.42	未定			0.795
19	37.13	亚油酸(linoleic acid)	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280	0.989
20	37.37	4,8,12,16-四甲基七酮-4-内酯(4,8,12,16-tetramethylheptadecan-4-olide)	C ₂₁ H ₄₀ O ₂	324	0.388
21	38.91	未定		336	0.508
22	39.03	未定			1.002
23	43.26	角鲨烯(squalene)	C ₃₀ H ₅₀	410	2.297
24	44.63	未定			0.667
25	46.42	γ-生育酚(γ-tocopherol)	C ₂₈ H ₄₈ O ₂	416	2.985
26	47.38	维生素 E(vitamin E)	C ₂₉ H ₅₀ O ₂	430	6.771
27	48.97	二氢布拉西唑醇(dihydrobrassicasterol)	C ₂₈ H ₄₈ O	400	7.142
28	49.44	豆甾醇(stigmasterol)	C ₂₉ H ₄₈ O	412	15.578
29	50.41	穿贝海绵甾醇(clonasterol)	C ₂₉ H ₅₀ O	414	13.987

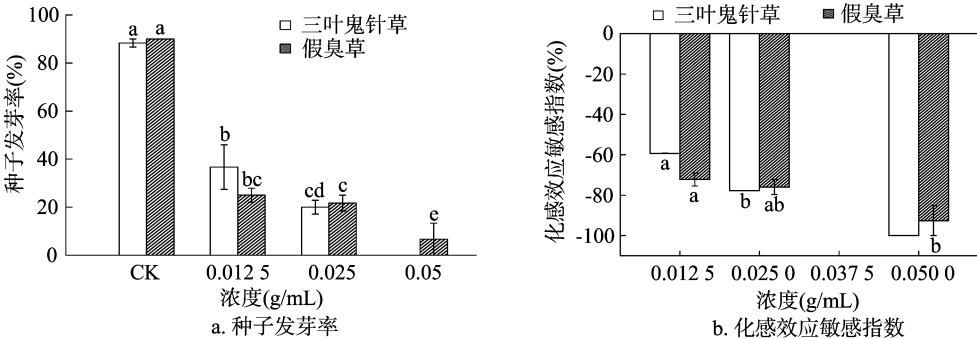


图 2 小花宽叶十万错石油醚萃取相对 2 种伴生种子萌发的影响

石油醚萃取相对伴生种子萌发都有明显的抑制作用,随着浓度的升高,抑制作用逐渐增强;此外,小花宽叶十万错石油醚萃取相对三叶鬼针草、假臭草幼苗生长表现出一定的化感抑制作用。充分说明小花宽叶十万错石油醚萃取相对伴生植物的种子萌发和幼苗生长表现出一定的化感抑制作用,且化感抑制作用随浓度的升高而增强。根据供试植物的化感表现,笔者还对小花宽叶十万错石油醚萃取相的化学成分进行了 GC-MS 分析,结果显示小花宽叶十万错萃取相化学成分主要含有醇类、萜类、酯类、酸类、酚类、醛类、酸类等。根据上

述研究结果,其中也含有多种能引起化感作物的化学成分,然而要明确其具体的化感成分,有待以后进一步研究。本研究的重点结果是明确了小花宽叶十万错的入侵扩散具有化感侵入的重要性,也初步筛选了化感活性成分类型,为进一步研究小花宽叶十万错的入侵机制提供了科学依据;同时,本研究只选取石油醚萃取相进行化学成分及其化感活性研究,存在一定的局限性。在下一步的工作中应在活性筛选下开展小花宽叶十万错乙酸乙酯萃取相、三氯甲烷萃取相、石油醚萃取相中化感物质的分离纯化。

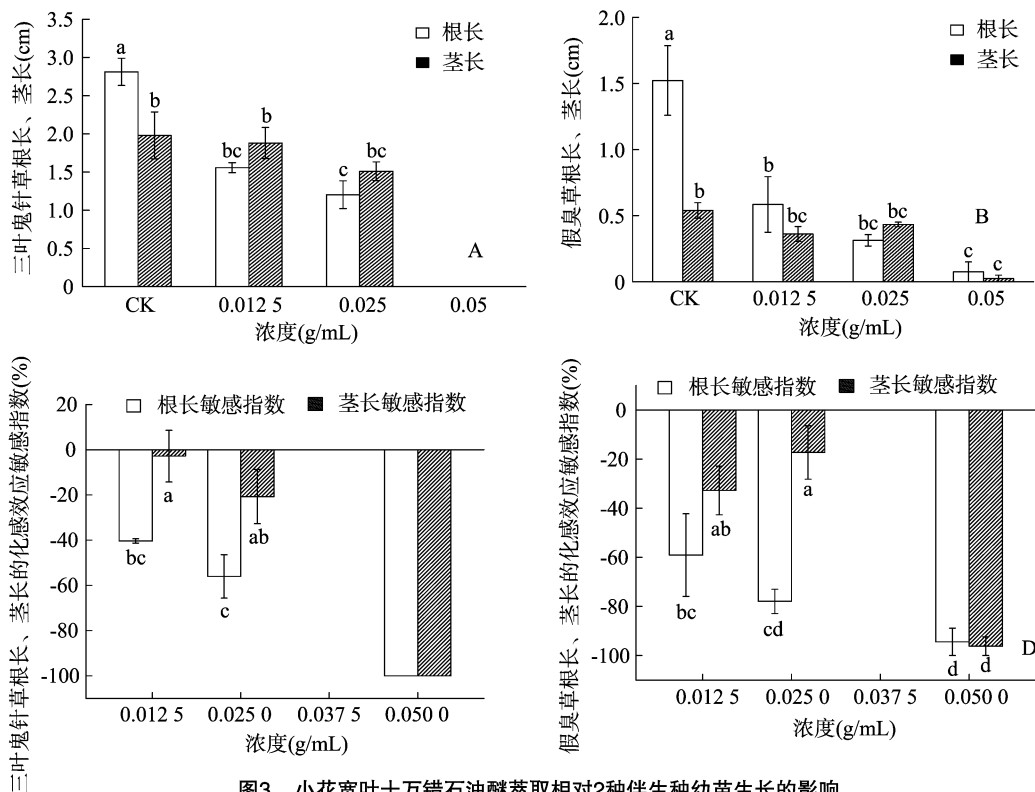


图3 小花宽叶十万错石油醚萃取相对2种伴生种幼苗生长的影响

参考文献:

- [1] Vilà M, Espinar J L, Hejda M, et al. Ecological impacts of invasive alien plants: a meta-analysis of their effects on species, communities and ecosystems[J]. Ecology Letters, 2011, 14: 702-708.
- [2] Rice E L. Allelopathy [M]. 2nd ed. New York: Academic Press, 1984.
- [3] Callaway R M, Aschehoug E T. Invasive plants versus their new and old neighbors: a mechanism for exotic invasion[J]. Science, 2000, 290(5491): 521-523.
- [4] Wang R L, Staehelin C, Dayan F E, et al. Simulated acid rain accelerates litter decomposition and enhances the allelopathic potential of the invasive plant *Wedelia trilobata* (creeping daisy) [J]. Weed Science, 2012, 60(3): 462-467.
- [5] 潘玉梅, 唐赛春, 韦春强, 等. 土著植物黄荆条水提取液对飞机草生长和光合特性的化感效应[J]. 生态学杂志, 2013, 32(2): 351-357.
- [6] 李军, 王瑞龙. 入侵植物肿柄菊叶片凋落物化感潜力的研究[J]. 生态科学, 2015, 34(6): 100-104.
- [7] 邵华, 彭少麟, 张弛, 等. 薇甘菊的化感作用研究[J]. 生态学杂志, 2003, 22(5): 62-65.
- [8] Song Q S, Fu Y, Tang J, et al. Allelopathic potential of *Eupatorium adenophorum* [J]. Acta Phytocologica Sinica, 2000, 24(3): 362-365.
- [9] 于兴军, 于丹, 马克平. 不同生境条件下紫茎泽兰化感作用的变化与入侵力关系的研究[J]. 植物生态学报, 2004, 28(6): 773-780.
- [10] Baruah N C, Sarma J C, Sarma S, et al. Seed germination and growth inhibitory cadinenes from *Eupatorium adenophorum* spreng [J]. Journal of Chemical Ecology, 1994, 20(8): 1885-1892.
- [11] 黎华寿, 黄京华, 张修玉, 等. 香茅天然挥发物的化感作用及其化学成分分析[J]. 应用生态学报, 2005, 16(4): 763-767.
- [12] 潘玉梅, 唐赛春, 韦春强, 等. 土著植物黄荆条水提取液对飞机草生长和光合特性的化感效应[J]. 生态学杂志, 2013, 32(2): 351-357.
- [13] Franck E D, Joanne G R. Investigating the mode of Natural phytotoxins[J]. Journal of Chemical Ecology, 2000, 26(9): 2079-2094.
- [14] 单家林. 海南岛种子植物分布新记录[J]. 福建林业科技, 2009, 36(3): 256-259.
- [15] Skinner, Jordan. The invasive weed Chinese violet (*Asystasia gangetica* subspecies *micrantha*) now threatens northern Australia [J]. Plant Protection Quarterly, 2015, 30(4): 126-132.
- [16] Hsu T W, Chiang T Y, Peng J J. *Asystasia gangetica* (L.) T. Anderson subsp. *micrantha* (Nees) Ensermu (Acanthaceae), a newly naturalized plant in Taiwan [J]. Taiwan, 2005, 50(2): 117-122.
- [17] 孔垂华, 胡飞. 植物化感(相生相克)作用及其应用[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 1-168.
- [18] 李绍文. 生态生物化学[M]. 北京: 北京大学出版社, 2001: 45-69.
- [19] Bradow J M, Connick W J. Seed germination inhibition by volatile alcohols and other compounds associated with *Amaranthus palmeri* residues[J]. Journal of Chemical Ecology, 1988, 14(7): 1633-1648.
- [20] 王大力, 祝心如. 豚草的化感作用研究[J]. 生态学报, 1996, 16(1): 11-19.
- [21] 周凯, 郭维明, 徐迎春. 菊科植物化感作用研究进展[J]. 生态学报, 2004, 24(8): 1776-1784.
- [22] Wang W Z, Tan R X, Yao Y M. Sesquiterpene lactones from *Ajania fruticulosa* [J]. Phytochemistry, 1994, 37(5): 1347-1349.