

吊金钱和鸭跖草挥发物主要成分的抑菌作用

孟 雪^{1,2},王志英²,孟庆敏¹,郑宝仁¹,卢宝伟¹,王婷婷¹

(1. 黑龙江生态工程职业学院,黑龙江 哈尔滨 150025; 2. 东北林业大学 林学院,黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要: 为了确定吊金钱(*Ceropegia woodii*)和鸭跖草(*Commelina communis*)2种花卉挥发物的抑菌活性,首先利用顶端动态采集和GC/MS分析方法,检测其主要成分。结果表明,在2种花卉挥发物中,萜烯、 α -蒎烯和桉树脑3种萜烯化合物含量很高,其中萜烯在2种花卉挥发物中的相对含量分别为3.83%、14.91%, α -蒎烯分别为5.89%、31.06%,桉树脑分别为33.80%、0.45%。以唐菖蒲腐烂病、番茄早疫病、玉米附球菌叶斑病、洋葱黑曲霉病的病原菌为供试菌种,采用生长速率法对上述3种主要挥发物的抑菌活性进行测定,结果显示, α -蒎烯、萜烯、桉树脑均具有显著的抑菌效果,综合对比表明,抑菌能力由大到小为: α -蒎烯>桉树脑>萜烯。因此,2种花卉可用于新型植物农药的开发。

关键词: 吊金钱;鸭跖草;萜烯;真菌;抑菌作用;气相色谱-质谱

中图分类号: S432.4⁺4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2015)08-0087-05

Antimicrobial Activity of Major Components of *Ceropegia woodii* and *Commelina communis* Volatiles

MENG Xue^{1,2}, WANG Zhiying², MENG Qingmin¹, ZHENG Baoren¹, LU Baowei¹, WANG Tingting¹

(1. Heilongjiang Ecological Engineering Training College, Harbin 150025, China;

2. College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract: In order to determine the antimicrobial activity of the volatiles from flowers *Ceropegia woodii* and *Commelina communis*, the gas samples were collected by dynamic top collection method, and analyzed by GC-MS. The results showed that, camphene (3.83% and 14.91% from the two floral species, respectively), α -pinene (5.89% and 31.06%), and eucalyptole (33.80% and 0.45%) were most abundant. The fungistatic activity of the three terpene compounds against four fungal species, *Alternaria solani*, *Penicillium gladioli*, *Epicoccum nigrum* and *Aspergillus niger* was evaluated by mycelial growth-rate method. The results showed that α -pinene, camphene and eucalyptole all had remarkable fungistatic activity against the tested fungal pathogens. The overall fungistatic activity of α -pinene was the highest, followed by eucalyptole and then camphene. The two species of flowers could be used for development of new type of plant fungicides.

Key words: *Ceropegia woodii*; *Commelina communis*; terpene; fungi; fungistasis; GC-MS

目前农业生产中植物病害防治的常用方法仍是化学防治,不仅造成环境污染而且还危害人体健康。近年来,人们研究发现多种植物具有杀菌功能,并且具有高效、低毒、无残留的特点,符合环保和人体健康的要求,已经成为植物病理学研究的一个热点。

吊金钱(*Ceropegia woodii*)又称球兰、腊兰、腊花、瓷花、腊泉花等,为萝藦科球兰属多年生常绿蔓性草本植物,具有较强的抗炎、消炎作用,经常作为辅助抗炎药物使用^[1]。鸭跖草(*Commelina communis*)为鸭跖草科鸭跖草属1年生披散草本,具有抗菌、消炎和

收稿日期:2015-01-20
基金项目:黑龙江省教育厅科研项目(12535114)
作者简介:孟 雪(1981-),女,黑龙江肇东人,副教授,博士,主要从事植物病虫害防治的教学和研究工作。
E-mail:14330881@qq.com

杀菌的作用,对志贺氏痢疾杆菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌等均有较强的抑制效果^[2]。上述 2 种植物的组织液在抗菌、消炎方面均有很好的疗效^[3],但其挥发性有机物的抑菌效果尤其是在植物病害防治方面的作用尚未见报道,为此,对吊金钱和鸭跖草 2 种植物挥发性有机物的化学成分进行分析,并对其主要挥发性成分进行抑菌试验,旨在为这 2 种植物杀菌剂的开发和研制提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 供试花卉 盆栽吊金钱和鸭跖草购自黑龙江省哈尔滨市花卉市场。

1.1.2 供试菌种 4 种供试病原真菌详细情况见表 1。

表 1 供试病原真菌

寄主	病害	病原真菌	提供单位
唐菖蒲	唐菖蒲腐烂病	青霉 (<i>Penicillium gladioli</i>)	东北林业 大学植物 病虫害生 物学国家 林业局重 点实验室
番茄	番茄早疫病	链格孢菌 (<i>Alternaria solani</i>)	
玉米	玉米附球菌 叶斑病	附球菌 (<i>Epicoccum nigrum</i>)	
洋葱	黑曲霉病	黑曲霉 (<i>Aspergillus niger</i>)	

1.1.3 供试挥发物单体 α -蒎烯:上海化学试剂总厂生产;桉树脑、莜烯:SIGMA-ALDRICH 公司生产。

1.2 方法

1.2.1 动态采集花卉挥发物及其成分分析 花卉挥发物采集时间在 6 月份,为避免环境日变化的影响,将采集时间统一在 12:00—13:00,选择天气晴、温度 25~30℃、湿度 70%~80%的条件下进行。

选取叶子健康并无缺损的枝条,用 Reynolds 微波炉袋(44.3 cm×55.8 cm,此袋在高温和高光强下挥发物释放量很低)套上。在短时间把袋内的空气抽出,用空气泵泵入经活性炭过滤后的空气,扎袋口富集 15 min 后,导入不锈钢罐内^[4]。每种材料重复 3 次。

将含植物挥发物的不锈钢罐连接到 EN-TECH7100 预浓缩仪上,预浓缩仪与岛津 GC-17G 气谱仪连接,岛津 GCMS-QP5050 质谱仪检测,进样量 400 mL。挥发性成分采用 GC/MS(气相色谱/质谱联用)法分析。GC 条件:岛津 CP2Si5CB 石英

毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);载气(氮气)压力 6 kPa;进样口温度 250℃;接口温度 230℃;分流比 1:10。程序升温:40℃(2 min) $\xrightarrow{5\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 100℃(0.50 min) $\xrightarrow{20\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 250℃(8 min)。MS 条件:EI 源、70 eV、源温 200℃;扫描范围 10~400 amu;扫描 0.4 s。分离所得的挥发性物质通过检索 NIST 库中的图谱,结合保留时间进行比较鉴定,并计算每种挥发物的相对含量^[5]。

1.2.2 抑菌率测定 将挥发物单体分别稀释为 10、50、100、200、500 μL/mL。分别在各培养皿中加入 1 mL 稀释液和 9 mL 55℃ PDA 固体培养基混匀,依次制成含 1、5、10、20、50 μL/mL 挥发物的平板培养基,将供试真菌菌落用无菌打孔器打成直径为 0.5 cm 的菌饼置于培养基上,每个剂量处理重复 3 次,以无挥发物的 PDA 固体培养基接菌饼为对照,含挥发物的 PDA 固体培养基不接菌饼为空白对照(CK)。置于 25℃培养 3 d 后观察,采用交叉法测定处理菌落直径及对照菌落直径,按下列公式计算抑菌率:

抑菌率=(对照菌落直径-处理菌落直径)/对照菌落直径×100%。

1.2.3 数据分析 通过 Xcalibur 1.2 应用软件检索 NIST 98 谱图库和 GC 保留指数兼顾的方法对挥发物进行定性^[6],采用峰面积归一法计算各峰的百分比含量。使用 SPSS 10.0 软件,以曲线拟合法^[7]拟合 3 种萜烯化合物对 4 种真菌的抑制回归方程,利用方差分析法分析不同剂量的 3 种萜烯化合物对 4 种真菌的抑菌率, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 2 种花卉挥发物中萜烯类成分及含量

2 种花卉的挥发物经 GC/MS 分析,得到植物挥发性有机物的总离子流图(图 1),挥发物扣除本底空气杂质,通过质谱数据库检索,得出如下结果:吊金钱共分离出 41 个峰,鉴定出 23 种化合物,其中萜烯类化合物 13 种,占挥发物总含量的 70.73%;烷类化合物 5 种,占挥发物总含量的 5.82%;酮类化合物 2 种,占挥发物总含量的 1.52%(表 2)。鸭跖草共分离出 39 个峰,鉴定出 28 种化合物,其中萜烯类化合物 14 种,占挥发物总含量的 64.69%;烷类化合物 4 种,占挥发物总含量的 3.2%;醛类化合物 3 种,占挥发物总含量的 0.45%(表 3)。

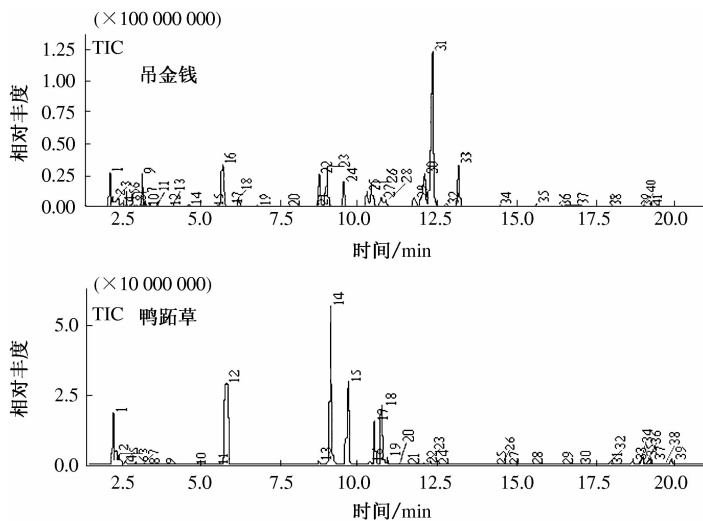


图 1 2 种花卉挥发物气相色谱 - 质谱总离子流图

表 2 吊金钱挥发物组分分析

峰号	分子式	化合物名称	相对含量/%	保留时间/min	相似系数/%
1	C ₄ H ₈	(E)-2-丁烯	4.46	2.258	90
2	C ₈ H ₁₈	2,2,4-三甲基戊烷	1.13	2.367	93
3	C ₆ H ₁₆ N ₂	四甲基乙二胺	2.02	2.517	80
4	C ₇ H ₁₄ O	2-庚酮	0.39	2.642	89
6	C ₆ H ₁₄	3-甲基戊烷	1.60	2.792	95
7	C ₁₃ H ₁₆ O ₄	苯基丙二酸二乙酯	1.17	2.975	84
9	CCl ₄	四氯化碳	2.73	3.283	97
14	C ₇ H ₈	1,3,5-环庚三烯	0.15	4.758	94
17	C ₈ H ₁₂	环戊烷	0.23	6.042	85
18	C ₇ H ₁₄ O	5-甲基-3-己酮	1.13	6.326	96
21	C ₁₀ H ₁₆	三环萜	0.14	8.725	98
22	C ₁₀ H ₁₆	3-崖柏烯	5.32	8.883	95
23	C ₁₀ H ₁₆	α-蒎烯	5.89	9.100	98
24	C ₁₀ H ₁₆	蒎烯	3.83	9.617	98
25	C ₁₀ H ₁₆	桉烯	2.55	10.375	93
26	C ₁₀ H ₁₆	β-蒎烯	4.98	10.517	98
29	C ₁₀ H ₁₆	萜品油烯	2.32	11.867	95
30	C ₁₀ H ₁₄	邻伞花烃	7.92	12.167	95
31	C ₁₀ H ₁₈ O	桉树脑	33.80	12.450	93
32	C ₁₀ H ₁₆	罗勒烯	0.39	12.858	92
33	C ₁₀ H ₁₆	1-甲基-4-(1-甲基乙基)-1,4-环己二烯	6.56	13.258	94
34	C ₁₁ H ₂₄	正十一烷	0.13	14.542	95
35	C ₁₀ H ₁₆ O	左旋-(-)-樟脑	0.34	15.692	97

表 3 鸭跖草挥发物组分分析

峰号	分子式	化合物名称	相对含量/%	保留时间/min	相似系数/%
1	C ₄ H ₈	(E)-2-丁烯	7.25	2.267	92
2	C ₈ H ₁₈	2,2,4-三甲基戊烷	1.53	2.367	92
3	C ₆ H ₁₃ N	叔辛胺	1.35	2.442	74
5	C ₈ H ₁₄ O ₂	甲基丙烯酸正丁酯	0.39	2.642	91
10	C ₇ H ₈	1,3,5-环庚三烯	0.13	4.750	95
11	C ₅ H ₁₀ O ₂	4-羟基-3-甲基-丁醛	0.12	5.467	88
13	C ₁₀ H ₁₆	三环萜	0.76	8.725	98
14	C ₁₀ H ₁₆	α-蒎烯	31.06	9.117	96
15	C ₁₀ H ₁₆	蒎烯	14.91	9.625	98
16	C ₁₀ H ₁₆	桉烯	0.58	10.367	93
17	C ₁₀ H ₁₆	β-蒎烯	6.58	10.517	98
19	C ₁₀ H ₁₆	月桂烯	1.43	10.917	93
20	C ₁₀ H ₂₂	癸烷	0.19	11.275	97
21	C ₈ H ₁₆ O	辛醛	0.21	11.425	80
22	C ₁₀ H ₁₄	邻异丙基甲苯	0.32	12.067	93
24	C ₁₀ H ₁₈ O	桉树脑	0.45	12.400	87
25	C ₁₀ H ₁₂	2,4-二甲基苯乙烯	0.15	14.208	93
26	C ₁₁ H ₂₄	正十一烷	0.28	14.508	93
27	C ₁₀ H ₂₀ O	正癸醛	0.12	14.675	90
29	C ₁₀ H ₈	奥昔菊环	0.12	16.325	93
30	C ₁₂ H ₂₆	十二烷	0.23	16.550	97
32	C ₁₂ H ₂₆	十二烷	0.32	17.942	96
33	C ₁₅ H ₂₄	长叶蒎烯	0.51	18.600	92
34	C ₁₅ H ₂₄	大根香叶烯	0.16	18.875	82
35	C ₁₂ H ₂₆	十二烷	0.65	18.933	96
36	C ₁₅ H ₂₄	异长叶烯	0.11	19.083	79
37	C ₁₅ H ₂₄	长叶烯	0.50	19.250	89
39	C ₁₅ H ₂₄	雪松烯	0.56	19.717	82

表 2—3 数据表明:吊金钱萜烯类化合物中,α-蒎烯、蒎烯和桉树脑的相对含量占挥发物总含量的 43. 52%, 其中桉树脑的相对含量高达 33.80%;鸭跖草萜烯类化合物中,α-蒎烯、蒎烯和桉树脑相对含量占挥发物总含量的 46. 42%, 其中α-蒎烯相对含量达 31.06%,蒎烯为 14.91%。综上,α-蒎烯、蒎烯和桉树脑 3 种萜烯类化合物在花卉挥发物中占有很大比重。因此,以这 3 种萜烯类化合物为材料进行抑菌性测定。

2.2 3 种萜烯类化合物的抑菌效果

利用 α-蒎烯、桉树脑和蒎烯 5 个不同剂量梯度分别对 4 种供试真菌进行抑菌测定,抑菌结果见表 4。

表 4 3 种挥发物单体对 4 种真菌的抑菌率 %

萜烯类	剂量/ (μL/mL)	玉米附球菌 叶斑病菌	番茄早 疫病菌	唐菖蒲 腐烂病菌	洋葱黑曲 霉病菌
α-蒎烯	1	34	30	29	18
	5	52	62	60	79
	10	73	68	69	92
	20	100	80	84	100
	50	100	100	100	100
桉树脑	1	33	32	48	49
	5	54	53	74	72
	10	67	71	83	85
	20	81	90	90	100
	50	100	100	100	100
茨烯	1	2	28	23	14
	5	21	30	25	20
	10	45	36	28	23
	20	75	40	44	36
	50	100	100	100	100

由表 4 可知,各挥发物单体在剂量达到 50 μL/mL 时抑菌率均达 100%,表明各单体剂量达到 50 μL/mL 以上后供试真菌均无法生长。不同单体抑菌率达 100% 时剂量范围为 20 ~ 50 μL/mL。α-蒎烯对洋葱黑曲霉病菌的抑菌效果最好(图 2),在剂量为 10 μL/mL 时抑菌率已达 92%,茨烯的效果最差,在同剂量下抑菌率仅为 23%;桉树脑对唐菖蒲腐烂病菌的抑制效果最好,在 1 μL/mL 时抑菌率达 48%,而茨烯的抑菌率仅为 23%;桉树脑对番茄早疫病菌的抑制效果也最好,当剂量为 20 μL/mL 时抑菌率已达 90%,而 α-蒎烯和茨烯在相同剂量下抑菌率分别只有 80% 和 40%;对玉米附球菌叶斑病菌抑制效果最好的挥发物单体是 α-蒎烯,在剂量为 20 μL/mL 时抑菌率已经达到 100%。综合对比 3 种挥发物 5 个剂量的抑菌率和抑制真菌种类可知,抑菌能力由大到小为:α-蒎烯>桉树脑>茨烯。

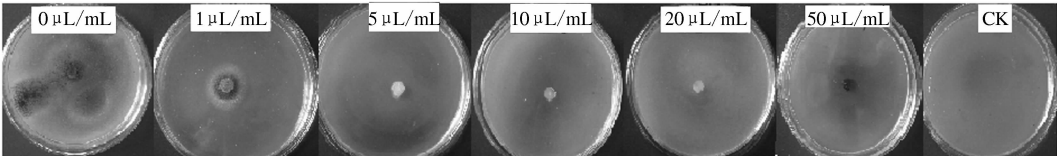


图 2 α-蒎烯对黑曲霉的抑制作用测定结果

单因素方差分析表明,3 种挥发物单体对 4 种真菌生长的抑制率存在显著差异。多重比较结果表明:挥发物不同剂量对 4 种真菌生长的抑制率间有显著差异。

2.3 3 种萜烯类化合物的抑菌回归方程

根据表 4 数据,利用 SPSS 数据分析软件的拟合曲线功能,建立 3 种挥发物单体对 4 种病原真菌生长抑制效果回归方程,见表 5。

表 5 3 种挥发物单体对 4 种真菌生长的抑制效果回归方程

萜烯类	项目	玉米附球菌叶斑病菌	番茄早疫病菌	唐菖蒲腐烂病菌	洋葱黑曲霉病菌
α-蒎烯	回归方程	$y = -0.356 + 11.355x - 0.407x^2 + 0.004x^3$	$y = 30.568 + 17.298\ln x$	$y = 29.303 + 18.067\ln x$	$y = e^{(4.689 - 1.79/x)}$
	R^2	0.992	0.990	0.998	0.998
桉树脑	回归方程	$y = 27.943 + 5.897x - 0.212x^2 + 0.002x^3$	$y = 26.106 + 6.21x - 0.188x^2 + 0.002x^3$	$y = 42.689 + 7.028x - 0.312x^2 + 0.004x^3$	$y = 43.861 + 6.229x - 0.218x^2 + 0.002x^3$
	R^2	0.998	1.000	0.986	0.996
茨烯	回归方程	$y = -4.23 + 5.793x - 0.102x^2 + 0.001x^3$	$y = 26.22 + 1.259x - 0.049x^2 + 0.001x^3$	$y = 23.365 - 0.171x + 0.077x^2 - 0.001x^3$	$y = 13.475 + 1.055x - 0.004x^2$
	R^2	1.000	0.999	1.000	0.999

3 结论与讨论

本研究的 3 种花卉挥发物中,α-蒎烯、茨烯、桉树脑 3 种萜烯类化合物占有较高比重,α-蒎烯在鸭跖草挥发物中的相对含量为 31.06%,茨烯相对含量为 14.91%,桉树脑在吊金钱挥发物中相对含量达 33.80%。这种利用 GC-MS 分析化合物结构的方法已经被很多研究者采用^[8-10]。本试验通过 GC-MS 对收集的挥发性物质成分进行鉴定,只是初步的物质结构鉴定,要进一步确定挥发性物质的

结构还需利用核磁共振等其他方法来验证。

通过抑菌试验可知,α-蒎烯对洋葱黑曲霉病菌和玉米附球菌叶斑病菌抑菌效果最好,桉树脑对唐菖蒲腐烂病菌和番茄早疫病菌抑制效果最好。对于所有供试的抑菌对象来说,各挥发物单体抑菌能力为 α-蒎烯优于桉树脑,桉树脑优于茨烯。另外,通过 SPSS 分析软件拟合了 3 种挥发物的抑菌回归方程。由此推断,这 3 种挥发物在植物病害防治上具有一定的应用前景。由于本试验仅对 4 种真菌的抑制作用进行了测定,至于它们对其他微生物的抑

制力及其抑菌范围有待进一步研究。

用市售化合物 α -蒎烯、莰烯和桉树脑进行抑菌活性试验,在以往的文献中有类似报道^[11]。植物挥发物单体的抑菌作用只局限于室内的研究结果,在自然状态下植物挥发物是否具有同样的抑菌活性,有待于进一步研究,以建立一个系统的抑菌谱,从而扩展这 3 种挥发物单体作为农用、医用杀菌剂的应用范围和前景。

参考文献:

[1] 魏金婷,曾碧榕,刘文奇. 球兰属植物的研究进展[J]. 海南医学院学报,2009,15(1):1-4,7.
[2] 万京华,章晓联,辛善禄. 鸭跖草的抑菌作用研究[J]. 公共卫生与预防医学,2005,16(1):25-27.
[3] Richard M. Herbal life[M]. Guangzhou:Guangdong Tourism Publishing House,2007:18.
[4] 郑华,金幼菊,李文彬,等. 绿化植物气味污染的仪器

检测技术[J]. 林业实用技术,2002(5):30.

[5] Cong P Z. The application of GS in natural organic chemistry[M]. Beijing:Science Press,1987:230-232.
[6] 赵瑶兴,孙祥玉. 有机分子结构光谱鉴定[M]. 北京:科学出版社,2003:318-321.
[7] 景天忠,王志英,齐凤慧. 森林病虫害实验设计与 SPSS 统计分析[M]. 哈尔滨:东北林业大学出版社,2008:137-141.
[8] 韩亮,郭晓玲,冯毅凡,等. 藏药绿萝花挥发性成分 GC-MS 分析[J]. 中国民族民间医药,2009,18(9):148-150.
[9] 童星,陈晓青,蒋新宇,等. 常春藤挥发油的提取及分析[J]. 精细化工,2007,24(6):559-561.
[10] 杨滨,王若菁,王谦朋,等. 鱼腥草中挥发油成分的气相色谱指纹图谱研究[J]. 中国中药杂志,2006,31(24):2055-2057.
[11] 郭阿君,王志英. 9 种室内植物对 4 种微生物抑制作用的研究[J]. 北方园艺,2007(8):128-130.

(上接第 79 页)

小麦幼苗生长会产生不良影响,因此农业生产上切不可盲目加大种衣剂用量。根系活力测定结果说明,种衣剂处理对小麦根部会产生影响,而小麦通过改变根系活力的大小来适应根生长的变化,从而提高根部吸收水分的能力,满足小麦生长发育的需求。

本研究确定了吡虫啉种衣剂对小麦种子萌发和幼苗生长产生的影响,并对这些影响产生的生理机制进行了分析。结果表明,种衣剂可能通过改变种子吸水性和萌发过程中相关酶活性而影响种子的萌发;种衣剂会对植物地上部分和地下部分的生长产生影响,而植物可以通过自身的调节来适应和对抗这种影响。

参考文献:

[1] 王铁威,姜成义,易强海. 吡虫啉 70% 水分散粒剂的研究及初步应用[J]. 农药科学与管理,2012,33(2):12-15.
[2] 瞿巧文,李启良,鲍新梅. 庆元县锥栗病虫害工程综合治理探讨[J]. 内蒙古农业科技,2007(S1):215-216.
[3] 刘爱芝,李素娟,韩松. 吡虫啉拌种对小麦蚜虫的控制效果及增产作用研究初报[J]. 河南农业科学,2005

(11):63-64.

[4] 王吉强,高占林,党志红,等. 吡虫啉包衣对黄瓜瓜蚜的防治效果及包衣后药剂在植株体内的分布[J]. 农药学报,2008,10(1):87-91.
[5] 刘爱芝,韩松,梁九进. 新烟碱类杀虫剂拌种防治介体昆虫控制玉米粗缩病研究[J]. 华北农学报,2009,24(6):219-222.
[6] 刘爱芝,杨艳春. 吡虫啉拌种对小麦种子萌发和生长效应的影响[J]. 河南农业科学,2009(11):84-86.
[7] 郭建国,刘永刚,吕和平,等. 几种药剂拌种后对玉米种子萌发和生长效应的初步研究[J]. 种子,2007,26(10):24-26.
[8] 仪美芹,姜兴印,李学锋,等. 吡虫啉对番茄幼苗根系活力及生理生化指标的影响[J]. 植物保护,2010,36(2):71-74.
[9] 李薇,徐宁彤,曲琪环,等. 不同种衣剂对玉米种子活力和幼苗生理指标的影响[J]. 东北农业大学学报,2008,39(12):1-4.
[10] 魏晨,谢宏,赵新华,等. 玉米种衣剂吡虫啉安全用量的研究[J]. 种子,2013,32(6):67-69.
[11] 励立庆,胡晋,朱志玉,等. 抗寒剂包膜对超甜玉米低温逆境下生理生化变化的影响[J]. 浙江大学学报:农业与生命科学版,2004,30(3):311-317.