

黄花蒿叶醇提取物除草活性物质的分离及结构鉴定

滕春红¹, 冯曦茹¹, 徐永清², 谭洪鹤¹, 马艺倩¹, 陶波^{1*}

(1. 东北农业大学农学院, 哈尔滨 150030; 2. 东北农业大学生命科学学院, 哈尔滨 150030)

摘要: 为明确黄花蒿除草活性及活性物质的成分, 本研究采用室内生测法测定了黄花蒿叶醇提取物对4种杂草的活性; 采用系统溶剂分离、硅胶柱层析分离及气质联用色谱法对提取物进行了分离和结构鉴定。结果表明: 5.0 mg/mL的黄花蒿叶醇提取物对供试杂草发芽率、发芽势和发芽指数均有一定的抑制作用, 抑制作用从大到小的顺序为反枝苋, 苘麻, 狗尾草, 稗, 其中对反枝苋、苘麻和狗尾草发芽率的抑制作用较强, 均达到85%以上。叶醇提取物对杂草发芽势的抑制作用也很强, 均达到73%以上。黄花蒿叶醇提取物中共鉴定出17种化合物, 主要包括青蒿酸、亚油酸和邻苯二甲酸二乙酯等。由此可见, 黄花蒿叶醇提取物含有大量的除草活性物质, 可显著延缓杂草的发芽时间和减少杂草的发芽率。

关键词: 黄花蒿; 除草活性; 分离; 鉴定

中图分类号: S476 文献标识码: A 文章编号: 1005-9261(2021)02-0244-07

Isolation and Identification of Herbicidal Substance from Ethanolic Extracts of *Artemisia annua* Linn Leaf

TENG Chunhong¹, FENG Xiru¹, XU Yongqing², TAN Honghe¹, MA Yiqian¹, TAO Bo^{1*}

(1. College of Agriculture, Northeast Agricultural University, Harbin150030, China; 2. College of Life Science, Northeast Agricultural University, Harbin150030, China)

Abstract: The herbicidal activity and active components of *Artemisia annua* Linn. were determined by laboratory bioassay of herbicidal activity of ethanolic extract from *Artemisia annua* leaves against four weeds (*Amaranthus retroflexus* L., *Abutilon theophrasti* Medic., *Setaria viirdis* L. Beauv. and *Echinachlao crusgali* L. Beauv.) and by separation and identification of the extract using solvent separation, silica gel column chromatography and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The results showed that, at a concentration of 5.0 mg/mL, the ethanolic extract from the leaves of *A. annua* showed certain inhibitory effects on the germination rate, germination potential and germination index of weeds. The order inhibitory effects from high to low was redroot pigweed, velvetleaf, green bristlegrass and barnyard grass. Germination was inhibited at above 85% in redroot pigweed, velvetleaf, green bristlegrass and barnyard grass. Germination potential of redroot pigweed, velvetleaf, green bristlegrass and barnyard grass was also strongly inhibited, all at above 73.36%. A total of 17 compounds were identified from the ethanolic extract of *A. annua* leaves, mainly including gartemisinic acid, (Z,Z)-9,12-octadecadienoic acid, and diethyl phthalate, among the others. Therefore, there are a lot of herbicidal active substances in ethanolic extract of *A. annua* leaves, which can significantly delay the germination and reduce the germination rate of weeds.

Key words: *Artemisia annua*; herbicidal activity; separation; identification

收稿日期: 2020-03-09

基金项目: 国家重点研发计划 (2017YFD0201803)

作者简介: 滕春红, 博士, 副教授, E-mail: tchgrace@163.com; *通信作者, 博士, 教授, E-mail: botaol@163.com。

DOI: 10.16409/j.cnki.2095-039x.2021.03.004

我国是世界农药生产大国也是农药应用大国，化学除草是农田杂草防治中的主要手段。大量使用化学除草剂导致除草剂药效降低、用药量增加、杂草抗药性严重。截至 2020 年 3 月 9 日，全球总计有 262 种杂草对已知 26 种作用机制中的 23 种作用机制的除草剂产生了抗药性。化学除草剂在使用过程中也会对环境 and 人类健康产生威胁^[1,2]。

与化学除草剂相比，植物源除草剂不仅对环境友好，而且往往具有新颖的靶标和作用机制^[3]。目前，已经有 30 个科的 2000 多种植物被报道含有具有除草活性的次生代谢物质^[4]，其中有些已被成功开发为除草剂，如环庚草醚、假蒺苣碱等^[5-7]。这些天然物质能够影响植物的萌发、生长发育及密度和分布，是研发植物源除草剂的重要库源之一^[8]。广泛筛选植物中有除草活性的天然产物，作为农药先导结构的重要来源，进行结构衍生及优化，已成为新农药创制研究的前沿与热点领域，也是获得具有良好的环境相容性农药的有效途径之一^[9]。

黄花蒿 *Artemisia annua* Linn. 为菊科蒿属一年生草本植物，具有很强的生境适应性。黄花蒿在生长过程中不断释放除草活性物质抑制其他植物或杂草的萌发和生长，因而在它们所形成的群落中，很少有其他植物或杂草生长。目前已从黄花蒿中分离得到多种化合物，这些化学物质在环境中易降解，对人、畜低毒，符合绿色环保新型除草剂开发的要求，可进一步合成植物源除草剂。

沈慧敏等^[10]研究表明黄花蒿水抽提物对指示植物萝卜、黄瓜、小麦和玉米的株高及鲜重具有抑制作用。赵红梅等^[11]采用 GC-MS 联用仪从黄花蒿挥发油中分离鉴定出 56 种化合物。

为了进一步明确黄花蒿化感物质在杂草防除中的作用，本试验采用室内生物测定法对黄花蒿叶醇提物的除草活性进行测定，采用系统溶剂分离和柱层析分离法对黄花蒿除草活性物质进行分离，通过生物活性示踪测定出除草活性最强的流份，并利用气相色谱和质谱联用仪 (GC-MS) 对样品进行结构鉴定，初步确定黄花蒿除草活性物质的主要成分。

1 材料与方法

1.1 供试植物

黄花蒿 *Artemisia annua* Linn. 于 6 月采于东北农业大学校园，采集后将根、茎和叶分开，置于阴凉处，粉碎后密封保存。

受体植物：萝卜 *Raphanus sativus* L. 种子。

供试杂草：反枝苋 *Amaranthus retroflexus* L.、苘麻 *Abutilon theophrasti* Medic.、狗尾草 *Setaria viridis* (L.) Beauv. 和稗 *Echinochloa crusgali* (L.) Beauv. 采自东北农业大学校园。

1.2 供试仪器设备

主要仪器设备：GC-2010 型气相色谱仪，GCMS-QP2010 型质谱仪，WND-400A 型中药粉碎机，RE-52AA 型旋转蒸发仪，THC-5B 型超声波提取器，LRH-250-G 型隔水式恒温光照培养箱，培养皿，剪刀，研钵等。

1.3 黄花蒿除草活性物质的提取

称取 20.0 g 采集于 6 月的蒿叶部干粉，按照 1:20 质量比加入 400 mL 的 80% 乙醇，超声功率 800 w，超声提取温度 50 °C，超声提取 3 次合并滤液，抽滤后用旋转蒸发仪减压浓缩至膏状，得黄花蒿叶醇提取物^[12,13]，于 4 °C 冰箱中保存用于生物测定。

1.4 黄花蒿化感除草活性的生物测定方法

称取一定量的黄花蒿叶醇提取物，以蒸馏水为溶剂，配制成 0.25、0.5、1.0、2.0、4.0 g/L 的溶液，以萝卜为指示植物，采用种子萌发法，进行除草活性测定^[12-15]。每个处理设置 4 次重复。在人工智能培养箱中 (25±1) °C 恒温保湿光照培养，光照 12 h (7:00~19:00)，黑暗 12 h。120 h 后计算对萝卜种子萌发的抑制率、根长的抑制率、根鲜质量的抑制率和综合抑制效应。

以稗、狗尾草、反枝苋和苘麻为受体，方法同上，向每个培养皿中播入 30 粒杂草种子，分别加入 5 mL 浓度为 5.0 mg/mL 黄花蒿叶醇提取物。杂草种子在生测前进行灭菌消毒，之后分别加入蒸馏水催芽直至露白。7 d 后计算对杂草种子萌发的影响。

1.5 黄花蒿化感除草活性物质的分离与鉴定

黄花蒿叶部乙醇提取液经旋转蒸发器浓缩至膏状, 将浸膏溶解于蒸馏水, 配制成一定浓度溶液。按极性递增的顺序依次采用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇三种有机溶剂, 按照有机溶剂与萃取溶液 1:1 等体积比萃取 3 次, 合并 3 次相同溶剂的萃取液, 旋转蒸发器浓缩。称量一定量的黄花蒿叶醇提物用蒸馏水溶解, 配制成 2.0 mg/mL 的溶液, 重复处理和培养方式同 1.4。72 h 后测定黄花蒿叶醇提物对萝卜种子萌发的影响。

黄花蒿叶醇提物依次采用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇三种有机溶剂萃取后进行生物活性追踪, 得到的抑制效果最好的石油醚层溶解后点样, 根据其在薄层板上的 Rf (比移值) 大小确定最佳洗脱溶剂, 直至 Rf 值在 0.2~0.8 时选择此时的展开剂作为柱色谱相应组分的最佳溶剂。

玻璃柱规格 100 cm×5 cm, 选择 100~200 目的硅胶作为固定相, 将除去气泡的混均后的硅胶与洗脱液加入玻璃柱内, 液面稍高于硅胶表面时关闭活塞, 然后将多余的洗脱液放出至顶部以保持 1 cm 高的液面时关闭活塞。

1.5.1 加样 取适量黄花蒿叶醇提物浸膏, 用少量极性稍大的有机溶剂溶解。将其溶解后加入吸附剂约为样品的 6 倍量拌匀, 在 45 °C~55 °C 条件下用旋转蒸发器仪将其浓缩成干粉后加入到柱色谱的顶端, 使样品带尽量保持平整, 且在加完样品后放一块圆形滤纸。

1.5.2 洗脱 将 Rf 值在 0.2~0.8 时的溶剂作为柱色谱相应组分的洗脱溶剂。用前期已选好的最佳洗脱剂, 通过分液漏斗向玻璃柱中加入, 打开活塞开关后让洗脱剂慢慢地滴入, 使流速保持速度为 4 滴/s, 每锥形瓶一次收集 50 mL 洗脱液。根据 TCL 分析的结果进行合并。

1.5.3 薄层层析板的制备 参照 Leather GR^[16]的方法制备薄层层析板。

1.5.4 展开剂的制备 展开剂是洗脱剂的 3.5 倍量。展开剂所用的试剂与洗脱剂相同。

1.5.5 点样 使用毛细管吸取样品点样后用电吹风将其吹干并将薄层层析板放入展开剂中, 溶剂前沿到距顶部约为 1 cm 时取出放于碘瓶中, 待 10 s 左右即可以观察到展开的结果和变化。

洗脱液使用不同体积比的石油醚:氯仿:甲醇 (90:10:3、70:10:3、50:10:3、30:10:3、10:10:3) 梯度淋洗且等体积 50 mL/份, 每个梯度收集 6 份共获 33 个流分, 编号然后对所获流份采用生物测定跟踪确定其活性强度^[17]。

经过旋转蒸发器减压浓缩, 分离获得的流份用乙醇稀释, 利用气质联用仪进行定性分析。气相色谱-质谱联用仪分析条件为: 初始温度为 50 °C 并保持 3 min, 以 10 °C/min 速率升至 280 °C 后保持 3 min, 柱箱温度 50 °C、进样量 1.0 μL、进样口和检测器的温度均 280 °C、扫描间隔为 0.5 s、溶剂延迟时间 3.5 min、扫描质量范围 5~400 Amu^[18,19]。

流份经 GC-MS 检测后, 对其总离子的流量图中出现的峰进行质谱扫描, 得到的质谱图采用质谱数据库进行相似度检索, 人工谱图进行解析, 按照每个色谱峰的质谱裂片图与相关的文献进行核对, 同时查阅有关质谱的资料, 将其基峰、质荷比和相对丰度等与标准谱图进行对照比较, 从而确定出样品中的所有化合物的名称。

1.6 数据统计与分析

试验原始数据采用 Excel 进行整理, 采用 DPS 软件对试验数据进行方差分析。综合抑制率 (SE) 是提取物对萝卜 3 个测试项目 (萌发、根长、芽长) 的抑制百分率的算术平均值^[20]。萌发抑制率 (%) = (对照发芽数 - 处理发芽数) / 对照发芽数 × 100; 根长抑制率 (%) = (对照根长 - 处理根长) / 对照根长 × 100; 芽长抑制率 (%) = (对照芽长 - 处理芽长) / 对照芽长 × 100; 发芽率 (GR%) = 7 d 内正常发芽的种子数 / 供试种子数; 发芽势 (CE%) = 3 d 内正常发芽种子数 / 供试种子数; 发芽指数 (GI) = $\sum (Gt/Dt)$, Gt 表示在第 t 天种子的发芽数, Dt 代表相应的发芽天数。

2 结果与分析

2.1 黄花蒿叶醇提物对萝卜种子萌发的影响

黄花蒿叶醇提物对萝卜种子萌发的影响如图 1 所示。从图中计算出黄花蒿叶醇提物对萝卜叶萌发抑制

率的 $ED_{50}=0.75 \text{ mg/mL}$, $ED_{90}=1.4 \text{ mg/mL}$, 参考此浓度来设定对杂草影响的剂量。黄花蒿叶醇提取物对萝卜种子萌发抑制率的 R^2 为 0.9827, 说明黄花蒿叶醇提取物对萝卜种子萌发的抑制作用比较明显, 因此, 萝卜可作为下一步除草活性物质分离的活性示踪指示植物。

2.2 黄花蒿叶醇提取物对不同供试杂草萌发的影响

黄花蒿叶醇提取物对不同杂草萌发的影响如表 1 所示。从表中可以看出, 5.0 mg/mL 浓度下, 黄花蒿叶醇提取物对杂草的发芽率、发芽势和发芽指数均有一定的抑制作用, 抑制作用从大到小的顺序为反枝苋, 苘麻, 狗尾草, 稗, 其中对反枝苋发芽率、发芽势和发芽指数的抑制作用最强, 对稗发芽率和发芽指数的抑制作用最弱, 但对稗发芽势的抑制作用较强。黄花蒿叶醇提取物对反枝苋、苘麻、狗尾草和稗发芽率的抑制率分别为 90.09%、85.79%、85.46%和 14.23%; 对反枝苋、苘麻、狗尾草和稗发芽势的抑制率分别为 96.71%、89.47%、84.63%和 73.36%; 对反枝苋、苘麻、狗尾草和稗发芽指数的抑制率分别为 95.00%、88.62%、86.69%和 17.10%。

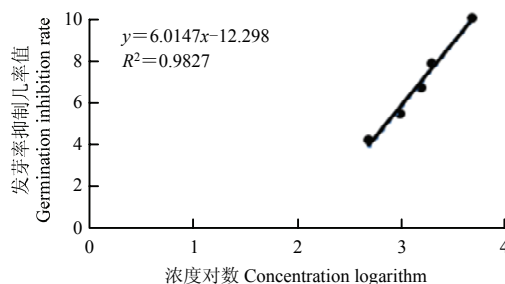


图 1 黄花蒿叶醇提取物对萝卜种子萌发的影响

Fig. 1 The effect of the ethanol extract of *A. annua* L. on radish seed germination

表 1 黄花蒿叶醇提取物对不同杂草萌发的影响

Table 1 Effect of leaves of the ethanol extract of *A. annua* L. on different weed seed germination

供试杂草 Weed	处理 Treatment	发芽率 Germination rate (%)	抑制率 Inhibition rate (%)	发芽势 Germination potential (%)	抑制率 Inhibition rate (%)	发芽指数 Germination index	抑制率 Inhibition rate (%)
反枝苋 <i>A. retroflexus</i>	CK	92.50	—	50.83	—	40.23	—
	5 mg/mL	9.17	90.09	1.67	96.71	2.01	95.00
苘麻 <i>A. theophrasti</i>	CK	80.00	—	71.67	—	24.60	—
	5 mg/mL	11.37	85.79	6.67	89.47	2.80	88.62
狗尾草 <i>S. viridis</i>	CK	91.67	—	21.67	—	11.56	—
	5 mg/mL	13.33	85.46	3.33	84.63	2.57	86.69
稗草 <i>E. crusgali</i>	CK	75.56	—	16.67	—	2.69	—
	5 mg/mL	65.56	14.23	4.44	73.36	2.23	17.10

2.3 黄花蒿叶醇提取物的系统溶剂分离

2 mg/mL 的石油醚相对萝卜种子的萌发抑制率为 90.91%, 高于乙酸乙酯相和正丁醇相的萌发抑制率 50.22%和 19.18% (表 2)。三种萃取液对根长和芽长的抑制率均为石油醚相高于乙酸乙酯相和正丁醇相。石油醚相对萝卜种子萌发的抑制效果最好, 由此说明黄花蒿中的除草活性物质在石油醚层中溶解较多。可通过对黄花蒿叶部乙醇提取液石油醚萃取层的成分分离, 确定其除草活性物质的主要活性成分, 进一步验证主要活性成分的除草活性, 并进行盆栽和田间药效试验, 确定其除草活性物质是否可能开发成新型除草剂。

表 2 黄花蒿不同萃取液对萝卜萌发和生长的影响

Table 2 Effect of different extract of *A. annua* L. on *Raphanus sativus* germination and seedling growth

处理 Treatment	抑制率 Inhibition rate (%)		
	萌发 Germination	芽长 Shoot length	根长 Root length
石油醚相 petroleum ether	90.91 ± 2.32 a	90.00 ± 0.54 a	91.16 ± 0.93 a
乙酸乙酯相 ethyl acetate	50.22 ± 3.13 b	60.41 ± 0.81 b	51.18 ± 1.38 b
正丁醇相 n-butanol phase	19.18 ± 1.05 c	70.76 ± 0.65 b	56.55 ± 0.57 c

注: 表中数据为平均值 ± 标准误, 在相同列中不同字母代表差异显著 ($P < 0.05$)

Note: Data in the table were mean ± SE, different letters in the same column indicated significant differences ($P < 0.05$).

2.4 黄花蒿除草活性物质的分离

以萝卜种子作为指示植物,对黄花蒿叶醇提物的石油醚相的 33 个流份进行除草活性的生物测定,结果见表 3,从表中可以看出,6 号流份对萝卜种子的活性明显高于其他的流份,0.01 mg/mL 的 6 号流份对萝卜种子萌发、芽长和根长的抑制率分别为 60.23%、65.78%和 71.67%,综合抑制率为 65.90%。因而可以确定主要有效除草活性成分在 6 号流份样品中,因此鉴定检测该流份。

表 3 黄花蒿中分离出的除草活性物质对萝卜种子萌发和生长的抑制率

Table 3 Inhibition ratio of the herbicidal activity substances separated from *A. annua* to germination and growth of *R. sativus* seeds

编号 Number	抑制率 Inhibition ratio (%)				编号 Number	抑制率 Inhibition ratio (%)			
	萌发 Germination	芽长 Shoot length	根长 Root length	SE		萌发 Germination	芽长 Shoot length	根长 Root length	SE
1	2.27	36.14	-14.29	8.04	18	4.55	59.04	4.19	22.59
2	0.00	26.51	1.97	9.49	19	7.95	40.24	38.18	28.79
3	1.14	3.37	27.83	10.78	20	11.36	46.27	4.93	20.85
4	3.41	44.34	5.91	17.89	21	14.77	29.40	-4.93	13.08
5	4.55	27.71	3.94	12.07	22	13.64	46.51	1.72	20.62
6	60.23	65.78	71.67	65.90	23	4.55	10.36	4.93	6.61
7	4.55	33.98	-2.71	11.94	24	4.55	39.04	-2.71	13.62
8	6.82	35.42	-12.32	9.97	25	6.82	42.17	-5.91	14.36
9	9.09	60.96	1.97	24.01	26	4.55	37.83	15.02	19.13
10	0.00	35.90	7.39	14.43	27	6.82	36.63	9.11	17.52
11	4.55	33.01	-10.59	8.99	28	3.41	24.82	41.87	23.37
12	7.95	7.95	68.97	28.29	29	2.27	4.58	4.93	3.93
13	4.55	2.17	24.88	10.53	30	4.55	54.22	-1.97	18.93
14	1.14	55.66	-7.88	16.31	31	6.82	49.40	4.43	20.22
15	11.36	42.17	-10.10	14.48	32	1.14	47.23	-3.20	15.06
16	7.95	36.39	-3.45	13.63	33	4.55	5.06	2.71	4.11
17	9.09	-5.06	19.95	7.99					

2.5 6 号样品 GC-MS 鉴定检测结果

采用 GC-MS 对 6 号样品进行成分分析,对其总离子流量图中出现的峰进行质谱扫描,将其基峰、质荷比和相对丰度等与标准谱图进行对照比较确定出样品中化合物的名称。

6 号样品的总离子流量图如图 2 所示。6 号流份的 GC-MS 峰信息表如表 4 所示,从表 4 可以看出,6

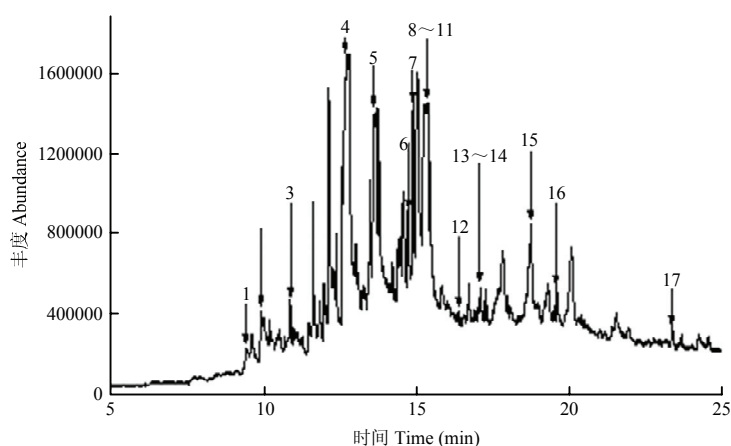


图 2 6 号样品的总离子流量图

Fig. 2 GC-MS result of sample 6

表 4 6 号流份的 GC-MS 峰信息表
Table 4 GC-MS peaks information of 6

序号 NO	保留时间 RT	分子式 Molecular formula	化合物名称 Compound	匹配度 Matched-degree	含量 Relative content (%)
1	9.42	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	二氢猕猴桃内酯	87	4.12
2	9.92	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	邻苯二甲酸二乙酯	94	4.62
3	10.80	C ₁₅ H ₂₄ O	长叶醛	90	1.33
4	12.68	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	青蒿酸	95	11.45
5	13.66	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	十三烷酸	84	3.99
6	14.72	C ₁₂ H ₁₆ O ₂ S	3,3-二甲基-3-(2-乙基噻吩)丙酸	84	2.14
7	14.88	C ₂₀ H ₄₀ O	植物醇	95	3.43
8	15.27	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	亚油酸	99	6.49
9	15.34	C ₁₂ H ₂₄	环十二烷	89	1.53
10	15.36	C ₁₈ H ₃₂ O	亚麻醇	93	3.44
11	15.47	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	十八烷酸	99	2.84
12	16.37	C ₂₂ H ₄₅ Cl	1-氯二十二烷	91	1.89
13	17.09	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	二十烷酸	90	4.89
14	17.20	C ₂₁ H ₄₄	二十一烷	91	1.92
15	18.75	C ₁₅ H ₁₇ O ₃	3,5,6,7,8,8a-六氢-4,8a-二甲基-6-(1-甲基乙烯基)-2(1H)萘酮	83	2.20
16	19.52	C ₂₀ H ₄₁ Cl	1-氯二十一碳烷	87	0.89
17	23.39	C ₈ H ₈ O ₄	香草酸	83	0.43

号流份共检测出 17 种有机化合物 (仅列出匹配度在 80 以上的物质), 其中主要成分为青蒿酸和亚油酸等, 对应的化学结构式为 C₁₅H₂₂O₂ 和 C₁₈H₃₂O₂, 相对含量分别为 11.45% 和 6.49%。

3 讨论

本研究结果表明, 黄花蒿叶醇提取物 5.0 mg/mL 对供试杂草反枝苋、苘麻、狗尾草和稗的发芽势均有很强的抑制作用, 对反枝苋发芽势的抑制作用最强, 达到 96.71%, 对苘麻、狗尾草和稗发芽势的抑制率也超过了 73%, 这说明黄花蒿叶醇提取物可以延缓杂草的发芽时间, 从而减轻对作物的竞争。黄花蒿叶醇提取物 5.0 mg/mL 对供试杂草反枝苋、苘麻、狗尾草发芽率的抑制作用也较强, 均超过了 85%, 这说明黄花蒿叶醇提取物对杂草萌发产生了明显的抑制作用。黄花蒿叶醇提取物可以通过延缓杂草的发芽时间和减少发芽率来减轻对作物的竞争, 具备开发为新型植物源除草剂的潜力。

本研究将黄花蒿叶醇提取物分离得到的流份进行 GC-MS 检测, 共鉴定出 17 种主要化合物, 主要成分为青蒿酸 (11.45%)、亚油酸 (6.49%)、邻苯二甲酸二乙酯 (4.62%)、二氢猕猴桃内酯 (4.12%)、十八烷酸 (2.84%) 和香草酸 (0.43%) 等萜类、酚类、醇类、酯类、烷烃类和有机酸类等化合物。分离出来的化合物中, 亚油酸、邻苯二甲酸二乙酯和香草酸均已有文献报道其具有化感除草作用^[21-24]。而青蒿素、二氢猕猴桃内酯和十八烷酸均属于化感物质, 但关于其除草活性的报道较少^[25-28], 是否具有化感除草活性需进一步试验验证。黄翔杰等^[24]研究表明野菊根系分泌物中的邻苯二甲酸二乙酯对生菜鲜重、莴苣和油菜胚根生长具有化感作用。陈芝兰^[31]研究表明凤眼莲根可显著抑制赤潮藻的生长, 亚油酸是凤眼莲根抑藻的主要因子之一; 其抑藻机理可能是通过自由基反应, 破坏藻细胞的结构, 从而达到抑藻效果。在接下来的研究中计划购买亚油酸、邻苯二甲酸二乙酯、香草酸、青蒿素、二氢猕猴桃内酯和十八烷酸的标准品进行室内生测试验, 鉴定这些化合物是否具有除草活性, 并确定活性最强的成分。然后将除草活性最强的成分进行人工模拟合成, 用于温室盆栽试验和田间试验, 为研发新的植物源除草剂鉴定基础。

参 考 文 献

- [1] Rowen D J, Templeman M A, Kingsford M J. Herbicide effects on the growth and photosynthetic efficiency of *Cassiopea maretensis*[J]. Chemosphere,

- 2017, 29(5): 1-12.
- [2] Owagboriaye F O, Dedeke G A, Ademolu K O, *et al.* Reproductive toxicity of roundup herbicide exposure in male albino rat[J]. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 2017, 69(7): 461-468.
- [3] 闫超, 陈敏, 周颖, 等. 石蝉草乙醇提取物除草活性初探[J]. *植物保护*, 2018, 44(2): 199-203.
- [4] 强胜, 陈世国. 生物除草剂研发现状及其面临的机遇与挑战[J]. *杂草科学*, 2011, 29(1): 1-6.
- [5] Dayan F E, Owens D K, Watson S B, *et al.* Sarmentine, a natural herbicide from *Piper* species with multiple herbicide mechanisms of action[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6: 222.
- [6] Grossmann K, Hutzler J, Tresch S, *et al.* On the mode of action of the herbicides cinmethylin and 5-benzyloxym-ethyl-1, 2-isoxazolines: putative inhibitors of plant tyrosine aminotransferase[J]. *Pest Management Science*, 2012, 68(3): 482-492.
- [7] Dayan F E, Cantrell C L, Duke S O. Natural products in crop protection[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2009, 17(12): 4022-4034.
- [8] 陈世国, 强胜. 生物除草剂研究与开发的现状及未来的发展趋势[J]. *中国生物防治学报*, 2015, 31(5): 770-779.
- [9] 滕春红, 陶波, 吕志超, 等. 植物源除草剂研究进展[J]. *农药*, 2013, 52(9): 632-634.
- [10] 沈慧敏, 郭鸿儒, 黄高宝. 不同植物对小麦、黄瓜和萝卜幼苗化感作用潜力的初步评价[J]. *应用生态学报*, 2005, 16(4): 740-743.
- [11] 赵红梅. 黄花蒿(*Artemisia annua* L.)化感物质的释放途径及其主要化感物质的分离鉴定[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2008.
- [12] 滕春红, 刘永双, 崔书芳, 等. 猪毛蒿除草活性物质的超声辅助提取工艺研究[J]. *现代化农业*, 2013(7): 66-68.
- [13] 陈业兵, 王金信, 吴小虎, 等. 银胶菊的花对稗草的化感作用及其化感物质分离与鉴定[J]. *植物保护学报*, 2010, 37(1): 74-77.
- [14] 卢海博, 万树青. 黄皮甲醇提取物的除草活性及有效成分研究[J]. *农药*, 2012, 51(7): 539-542.
- [15] 邹晓锦, 孙占祥, 于涛, 等. 仁用杏叶片提取物对 8 种杂草种子萌发和幼苗生长的化感效果[J]. *农药*, 2013, 52(6): 454-456.
- [16] 陈晓平. 食品理化检验[M]. 北京: 中国计量出版社, 2008.
- [17] 汪茂田, 谢培山, 王忠东. 天然有机化合物提取分离与结构鉴定[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004, 9.
- [18] 刘志明, 王海英, 刘姗姗, 等. 小蓬草精油活性组分分析[J]. *生物质化学工程*, 2010, 44(1): 22-26.
- [19] 杨超, 张海静, 杨旭, 等. GC-O 与 GC-MS 联用法鉴定香竹竹叶中关键气味活性物质[J]. *竹子研究会会刊*, 2009, 28(4): 40-44.
- [20] 高兴祥, 李美, 房锋, 等. 小飞蓬水浸提液对杂草萌发和生长的抑制效果[J]. *草业科学*, 2015, 32(1): 48-53.
- [21] 孙文浩, 吴厚铭. 风眼莲根系分泌物中的克藻化合物[J]. *植物生理学报*, 1993, 19(1): 92-96.
- [22] 张城嘉, 李祖任, 柏连阳. 棉籽壳中除草活性物质提取及鉴定[J]. *农药学报*, 2019, 21(2): 146-150.
- [23] Putnamet A R, Nair M G, Barnes R R, *et al.* Allelopathy: a viable weed control strategy[J]. *Weed Technology*, 1900, 1: 20-27.
- [24] 黄翔杰, 李宇超, 蒋鹏, 等. 野菊根系分泌物的鉴定及其对三种植物的化感效应[J]. *湖北农业科学*, 2017, 56(6): 1061-1065, 1071.
- [25] 李文瑾. 葡萄 (*Vitis vinifera* L.) 化感物质的鉴定及化感作用研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2010.
- [26] Elakovich S D, Wooten J W. Allelopathic, Herbaceous, Vascular Hydrophytes[J]. *Acs Symposium*, 1995, 58-73.
- [27] 王小兵, 路永明, 刘五星, 等. 花生根分泌物的鉴定及其化感作用[J]. *生态学杂志*, 2011, 30(12): 2803-2808.
- [28] Chon S U, Choib S K, Jung S, *et al.* Effects of alfalfa leaf extracts and phenolic allelochemicals on early seedling growth and root morphology of alfalfa and barnyard grass[J]. *Crop Protection*, 2002(21): 1077-1082.
- [29] Huang L., Liu J.F., Liu L.X. Studies on the anti-pyretic and anti-inflammatory effects of *Artemisia annual* L.[J]. *Journal Chinese Marteria medica*, 1993, 18: 44-48.
- [30] Dhingra V, Pakki S R, Narasu M L. Antimicrobial activity of artemisinin and its preursors[J]. *Current Science*, 2000, 78: 708-710.
- [31] 陈芝兰. 风眼莲根对赤潮藻生长的抑制作用及其机理研究[D]. 广州: 暨南大学, 2005.

(责任编辑: 张莹)