

油茶水提取物对稗草的抑制活性

钟国华, 郝卫宁, 李琳, 胡美英

(天然农药与化学生物学教育部重点实验室, 华南农业大学 昆虫毒理研究室, 广东 广州 510642)

摘要:测定了21种植物水提取物对稗草 *Echinochloa crusgalli* 芽前处理的抑制活性。结果表明,油茶 *Camellia oleifera* 提取物抑制活性显著高于其他20种供试植物。培养皿法测得油茶水提取物芽前处理对稗草种子发芽率、茎长、根长和鲜质量的抑制中浓度 IC_{50} 分别为0.22、0.36、0.11和1.19 g/mL(鲜质量,下同),小杯法测得芽后处理对茎长、根长和鲜质量的 IC_{50} 分别为0.17、0.05和1.80 g/mL,表明油茶水提取物对稗草具有除草活性。

关键词:油茶; 稗草; 除草活性

中图分类号:S482.4

文献标识码:A

文章编号:1001-411X(2008)04-0031-04

Inhibition Activity of Water Extract of *Camellia oleifera* Against *Echinochloa crusgalli*

ZHONG Guo-hua, HAO Wei-ning, LI Lin, HU Mei-ying

(Key Lab of Natural Pesticide and Chemical Biology, Ministry of Education,

Lab of Insect Toxicology, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Inhibition activities of water extracts of 21 species of plants belonging to 12 families including *Camellia oleifera* against barnyardgrass, *Echinochloa crusgalli*, were investigated. The results indicated that the inhibition activity of water extract of *C. oleifera* was significantly higher than those of the other 20 species of plants tested. The values of IC_{50} (median inhibition concentration) for seed germination rate, length of stem, length of root, and fresh mass were 0.22, 0.36, 0.11 and 1.19 g/mL (g for fresh mass of plant tested per mL solution, the same as follows) against *E. crusgalli* treated before seed germination by dish culture method, and were 0.17, 0.05 and 1.80 g/mL treated after seed germination by cup culture method, respectively. The results in all treatments showed the water extract of *C. oleifera* possessed the herbicidal activity against *E. crusgalli* and should be deserved to research as a potential botanical herbicidal lead compound.

Key words: *Camellia oleifera*; *Echinochloa crusgalli*; herbicidal activity

稗草 *Echinochloa crusgalli* 是世界十大恶性杂草之一^[1],主要分布于热带和温带,环境适应性和抗逆性强,在我国仅稻作区稗草危害面积即多达1 400万 hm^2 ,约占稻田总面积的43%,并且显著降低作物产量和品质^[2,3]。目前稻田稗草除草剂主要包括丁草胺、敌稗等化学除草剂,由于长期频繁、过量使用,带来了诸如抗药性、作物药害及污染环境等不良影响^[4-8],对环境的压力越来越大,研制新型、环保、高效除草剂的要求越来越迫切^[9-10]。环庚草醚(cinmethylin)、磺草酮(sulcotrione)、三氟羧草醚(acifluorfen)等大量商品化生产应用的除草剂成功开发充分说明,植物源活性物质研究对于寻找新型作用靶标,

开发新型除草剂具有重要意义。为了筛选分离植物源除草活性化合物,本文初步研究了油茶等21种植物水浸提液对稗草的除草活性,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 供试植物

根据本实验室研究积累,选择12科21种植物供试,根据植物生长情况采集全株或部分器官,其中菊科植物蟛蜞菊 *Wedelia chinensis*、小飞蓬 *Conyza canadensis*、鱼眼草 *Dichrocephala auriculata*、万寿菊 *Tagetes erecta*、野茼蒿 *Gynura crepidioides*、三叶鬼针草 *Bidens pilosa*、坐地菊 *Wedelia prostrata*、胜红蓟 *Agera-*

收稿日期:2007-10-17

作者简介:钟国华(1973—),男,副教授,博士; 通讯作者:胡美英(1954—),女,教授, E-mail: humy@scau.edu.cn

基金项目:科技部科技成果转化项目(05EF214400207);华南农业大学校长基金(2003K047)

tum conyzoides, 伞形科水芹 *Oenanthe javanica*、酢浆草科红花酢浆草 *Oxalis corymbosa*、益母草 *Heterophyllum* spp. 均以全株为供试植物材料; 唇形科紫背金盘 *Ajuga nipponensis*、马鞭草科马缨丹 *Lantana camara*、茄科龙葵 *Solanum nigrum*、旋花科牵牛花 *Ipomoea cairica*、白花丹科紫花丹 *Plumbago indica* 均以茎、叶、花混合浸提; 山茶科植物木荷 *Schima superba*、油茶 *Camellia oleifera*、芸香科三叉苦 *Evodia lepta*、豆科植物白花鱼藤 *Derris alborubra*、桃金娘科桃金娘 *Rhodomyrtus tomentosa* 均以茎、叶为材料进行提取。上述供试植物材料采自华南农业大学教学实验农场、树木园或杀虫植物标本园。

稗草 *Echinochloa crusgalli* 属禾本科、稗属。种子采于湖南稻区, 放置于冰箱内 4℃ 保藏备用, 预备试验证实发芽率为 80% 以上。

1.2 活性成分提取方法

将采集到的新鲜植物洗净, 抹干水后剪碎或切碎 (<1 cm), 用天平称取 100 g, 置于 1 000 mL 三角瓶内, 加入 200 mL 的蒸馏水浸提 48 h, 然后用 2 层纱布过滤, 滤液置于冰箱保存备用。为统一比较植物提取物的活性, 试验时将各种提取物换算成供试药液 (mL) 中所含植物的鲜质量 (g)。

1.3 生物活性测定方法

芽前处理采用培养皿法^[11]。先将稗草种子用清水浸洗 24 h, 除去颖壳外抑制种子发芽的物质后, 直接用于生测。选取浸洗过的饱满的稗草种子 20 粒,

均匀摆放于垫有 2 层滤纸的培养皿 ($d = 12\text{ cm}$) 中, 加入 8 mL 供试植物水浸提液, 放在光照培养箱 28℃ 恒温暗培养。每处理 3 个重复, 对照直接加入等量清水。种子萌发过程中适当地补加清水, 使滤纸保持湿润。7 d 后调查植物萌发率, 测定植物茎长、根长, 用天平测定种子鲜质量 (以 20 粒计)。

芽后处理采用小杯法^[11]。先将稗草种子用清水浸洗 24 h 后, 取出用纱布包好放在 28℃ 恒温培养箱内进行催芽, 待种子露白 (芽长不超过 0.5 cm) 时, 即用于生测。选取发芽一致的稗草种子 10 粒, 均匀置于先后垫有 1/5 玻璃珠和 1 层滤纸的 100 mL 小烧杯中, 加入 10 mL 供试植物提取液, 放在光照培养箱 28℃ 恒温以光照: 暗 = 14 h: 10 h 培养。每处理 3 个重复, 对照直接加入等量清水。种子萌发过程中适当补加清水, 使滤纸保持湿润。5 d 后测定植物茎长、根长和鲜质量。抑制率 = (对照 - 处理) / 对照 × 100%。将抑制率换算成几率值, 浓度转换成对数值, 求供试提取物对稗草的抑制活性回归方程和抑制中浓度 IC_{50} (median inhibit concentration)。

2 结果与分析

2.1 21 种植物水提取物芽前处理对稗草的抑制活性

采用培养皿法测定了各供试植物新鲜水浸提液对稗草芽前处理的活性, 对发芽、茎长、根长和鲜质量的抑制作用见表 1。供试 12 科 21 种植物提取物以 0.5 g/mL 处理后 7 d, 油茶提取物处理的稗草发芽

表 1 供试 21 种植物水提取物对稗草的抑制活性¹⁾

Tab. 1 Inhibition activities of water extracts of 21 plants against *Echinochloa crusgalli* $x \pm SE, n = 3$

水提取物 ²⁾ water extracts	发芽率 germination rate/%	茎长 length of stem/cm	根长 length of root/cm	鲜质量 fresh mass/g
野苘蒿 <i>Gynura crepidioides</i>	63.33 ± 0.04 cd	3.82 ± 0.01 f	2.29 ± 0.01 f	0.026 9 f
三叶鬼针草 <i>Bidens pilosa</i>	70.00 ± 0.08 bcd	4.19 ± 0.01 d	3.35 ± 0.00 d	0.028 3 c
胜红蓟 <i>Ageratum conyzoides</i>	88.33 ± 0.04 a	5.31 ± 0.02 a	5.09 ± 0.01 b	0.028 9 ab
紫背金盘 <i>Ajuga nipponensis</i>	56.67 ± 0.04 de	3.37 ± 0.00 ij	1.82 ± 0.02 j	0.025 4 h
紫花丹 <i>Plumbago indica</i>	53.33 ± 0.03 de	3.24 ± 0.02 ml	1.16 ± 0.04 m	0.021 9 k
坐地菊 <i>Wedelia prostrata</i>	68.33 ± 0.01 cd	4.21 ± 0.02 d	2.33 ± 0.01 f	0.027 3 ef
鱼眼草 <i>Dichrocephala auriculata</i>	75.00 ± 0.03 abc	4.61 ± 0.02 b	4.26 ± 0.03 c	0.028 6 bc
牵牛花 <i>Ipomoea cairica</i>	53.33 ± 0.07 de	3.18 ± 0.02 m	1.04 ± 0.01 n	0.021 3 l
万寿菊 <i>Tagetes erecta</i>	66.67 ± 0.09 cd	4.16 ± 0.02 d	2.31 ± 0.02 f	0.027 f
益母草 <i>Heterophyllum</i> spp.	58.33 ± 0.08 cde	3.61 ± 0.02 g	1.53 ± 0.04 l	0.022 7 j
马缨丹 <i>Lantana camara</i>	60.00 ± 0.08 cde	3.99 ± 0.03 e	1.69 ± 0.01 k	0.023 3 i
红花酢浆草 <i>Oxalis corymbosa</i>	45.00 ± 0.03 e	2.77 ± 0.06 n	1.00 ± 0.02 n	0.020 9 m
蟛蜞菊 <i>Wedelia chinensis</i>	53.33 ± 0.02 de	3.30 ± 0.01 kl	1.18 ± 0.02 m	0.021 4 l
小飞蓬 <i>Conyza canadensis</i>	66.67 ± 0.02 cd	4.19 ± 0.01 d	2.41 ± 0.01 e	0.027 5 ed
龙葵 <i>Solanum nigrum</i>	58.33 ± 0.03 bcd	3.46 ± 0.03 h	2.13 ± 0.01 hg	0.026 2 g
水芹 <i>Oenanthe javanica</i>	65.00 ± 0.03 cde	4.28 ± 0.02 c	3.31 ± 0.01 d	0.027 9 d
油茶 <i>Camellia oleifera</i>	28.33 ± 0.02 f	2.14 ± 0.02 o	0.54 ± 0.02 o	0.018 9 n
桃金娘 <i>Rhodomyrtus tomentosa</i>	65.00 ± 0.06 cd	4.20 ± 0.02 d	2.18 ± 0.01 g	0.026 9 f
三叉苦 <i>Evodia lepta</i>	56.67 ± 0.07 de	3.32 ± 0.02 kj	1.73 ± 0.01 k	0.023 1 i
白花鱼藤 <i>Derris albo-rubra</i>	60.00 ± 0.00 cde	4.00 ± 0.04 e	1.98 ± 0.01 i	0.026 2 g
木荷 <i>Schima superba</i>	58.33 ± 0.02 cde	3.44 ± 0.02 hi	2.09 ± 0.01 h	0.026 1 g
对照 control	85.00 ± 0.03 ab	5.32 ± 0.01 a	5.18 ± 0.02 a	0.029 0 a

1) 28℃ 恒温 24 h 黑暗培养, 同列数据后具相同字母者表示在 5% 水平差异不显著 (DMRT 法); 2) 供试质量浓度均为 0.5 g/mL

率 28.33%, 茎长 2.14 cm, 根长 0.54 cm, 鲜质量 0.018 9 g, 均显著低于清水对照和其他植物提取物处理。其他供试植物提取物中, 蟛蜞菊、红花酢浆草、紫背金盘、紫花丹、牵牛花、益母草、三叉苦等植物提取物同样以 0.5 g/mL 处理后 7 d, 对稗草发芽率、茎长、根长和鲜质量的抑制活性相对较高, 但均显著低于油茶提取物。

2.2 油茶水提取物芽前处理对稗草的抑制活性

采用培养皿法芽前处理结果表明, 油茶水提取物对稗草发芽、茎长、根长及鲜质量均表现出明显的抑制作用, 其中对稗草根长抑制活性最强, 抑制中浓度 IC_{50} 为 0.11 g/mL, 对稗草发芽和茎长的抑制作用 IC_{50} 分别为 0.22 和 0.36 g/mL, 但对稗草鲜质量 IC_{50} 为 1.19 g/mL (表 2)。

表 2 油茶水提取物对稗草的抑制活性

Tab. 2 Inhibition activity of water extract of *Camellia oleifera* against *Echinochloa crusgalli*

测定方法 test method	测定指标 test target	抑制作用回归方程 regression equation for inhibition	相关系数 r correlation coefficient	$IC_{50}/$ (g · mL ⁻¹)	95% 置信限 95% confidence limit/ (g · mL ⁻¹)
芽前处理 (培养皿法) treatment before seed germination (dish culture method)	发芽率	$y = 6.2267 + 1.8407x$	0.9959	0.22	0.16 ~ 0.29
	茎长	$y = 5.5343 + 1.2008x$	0.9322	0.36	0.23 ~ 0.56
	根长	$y = 7.9997 + 3.1934x$	0.9351	0.11	0.09 ~ 0.15
	鲜质量	$y = 4.9287 + 0.9593x$	0.9978	1.19	0.82 ~ 1.57
芽后处理 (小杯法) treatment after seed germination (cup culture method)	茎长	$y = 5.9884 + 1.2874x$	0.9425	0.17	0.11 ~ 0.26
	根长	$y = 8.6694 + 2.8587x$	0.9874	0.05	0.03 ~ 0.08
	鲜质量	$y = 4.9199 + 0.3146x$	0.9736	1.80	0.94 ~ 3.49

2.3 油茶水提取物芽后处理对稗草的抑制活性

小杯法芽后 (露白) 处理对稗草茎长、根长和鲜质量的抑制活性测定结果表明, 油茶水提取物对稗草根长的抑制活性最强, 处理后 5 d 根表现为发黄、干枯、萎缩症状, IC_{50} 值为 0.05 g/mL; 对稗草茎长也表现出较强的抑制活性, IC_{50} 值为 0.17 g/mL, 而对稗草鲜质量的 IC_{50} 值为 1.80 g/mL, 与芽前处理的结果基本一致 (表 2)。

3 讨论

草铵膦 (glufosinate) 等除草剂成功商品化大量推广应用, 促使人们更多地在天然活性物质寻找先导化合物以开发新型除草剂。或许是由于进化亲缘关系更为接近, 从植物中寻找除草剂先导化合物一直是各国除草剂开发人员和学者研究热点, 并且取得了重要成果^[12]。环庚草醚 (cinmethylin 又称恶庚草烷) 是以桉树脑 (cineole) 为先导化合物创制新型除草剂, 已经在欧美和亚洲商品化生产并大量上市^[13]。从红千层 *Callistemon* spp. 植株分离获得纈精酮 (leptospermone)^[14], 以其为先导化合物, 开发了磺草酮 (sulcotrione)、甲基磺草酮 (mesotrione) 和双环磺草酮 (benzobicyclon) 等以对羟基苯基丙酮酸双氧化酶 (HPPD) 为作用靶标的三酮类除草剂^[15], 从高粱 *Sorghum bicolor* 根系分离出来的结构与苯醌类化合物近似的高粱酮 (sorgoleone) 能抑制植物光合作用

中还原部位 Q_a 与 Q_b 之间的电子传递, 是菠菜 *Spinacia oleracea* 类囊体膜光合 O_2 释放抑制剂, 抑制中浓度 IC_{50} 为 0.1 μ mol/L, 与敌草隆近似^[16]。以从莎草中提取的莎草茵 (cyperin) 为先导化合物, 开发出三氟羧草醚 (acifluorfen) 等 10 多个以原卟啉氧化酶 (protoporphyrinogen oxidase) 为作用靶标的二苯醚类除草剂商品化品种中, 氯氟草醚 (etoxifenethyl) 使用剂量仅为有效成分 10 ~ 30 g · hm⁻²^[12-13]。所以, 研究筛选植物源活性物质, 对于寻找新型作用靶标, 开发新型除草剂具有重要意义。

本文供试 12 科 21 种植物水提取物 0.5 g/mL 对稗草种子发芽、茎长、根长和鲜质量均有一定的抑制活性, 蟛蜞菊、紫背金盘、紫花丹、牵牛花、益母草、红花酢浆草、三叉苦等提取物对稗草抑制活性相对较高, 以后可根据目的需要进一步研究, 这些结果中有些与文献基本一致, 如均认为蟛蜞菊的抑制活性较高^[17], 但也有与文献不一致的地方, 如本文结果表明万寿菊水提取物对稗草的抑制活性不高。其原因可能有三: 一是提取物不同, 本文采用的是水浸提法, 很多文献采用有机溶剂提取, 这可能导致提取物成分不同; 二是处理方式的不同, 如文献报道万寿菊提取物需经光照处理活性才更加明显^[18]; 三是供试植物对象不同, 如文献报道三叶鬼针草对小麦和莠苣有生长抑制作用^[19], 本文供试植物是稗草, 试验对象不同而显示不同活性也许正是其选择性的体现。

芽前处理和芽后处理结果均表明,本文供试的油茶水提取物对稗草抑制活性相对较高,均能有效抑制稗草发芽、茎长、根长和鲜质量生长.在芽前处理中,油茶水提取物对稗草根长的 IC_{50} 分别仅为茎长和鲜质量的1/3和1/10左右,在芽后处理中对根长的 IC_{50} 亦仅为茎长和鲜质量的1/3和1/36,所以,初步推测稗草对油茶水浸提液敏感性,以对根长影响最大,其次是茎长,对鲜质量影响最小.从资源情况看,油茶是山茶科 Theaceae 山茶属 *Camellia* L. 常绿灌木或小乔木,主要分布在我国的长江流域及其以南地区,越南、缅甸、泰国、马来西亚和日本等国少量分布,我国现有油茶林面积为400万 hm^2 以上,估计年产茶油1.5亿kg,占我国木本食用油料树种栽培面积的80%以上,是我国南方重要油料树种,已有2300余年的栽培历史,被誉为“国宝级特色资源”^[20].目前国内外对其研究渐多,但多数集中在医学、食品、化工领域,应用于农药研究的报道极少^[21-22].本文研究结果对于高效综合利用油茶这种经济价值高、用途广、适应性强的生物能源植物具有一定的参考价值,今后可系统深入地研究油茶对稗草等杂草的抑制效果,分离、提纯、鉴定其除草活性成分,研究除草机理,寻找提供先导化合物,为进一步人工合成、结构修饰提供理论依据和参考.

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志:第10卷:第1分册[M].北京:科学出版社,1990:252.
- [2] 陈祥,高子瑜,李忠良.稗草对水稻生育影响初探[J].杂草学报,1993,7(2):39-41.
- [3] 龚庆维,李璞,李联芳,等.夹萁稗对水稻生长和产量的影响[J].中国水稻科学,1995,9(2):103-107.
- [4] AHN J K, HAHN S J, KIM J T, et al. Evaluation of allelopathic potential among rice (*Oryza sativa* L.) germplasm for control of *Echinochloa crusgalli* P. Beauv in the field [J]. Crop Protection, 2005, 24(5): 413-419.
- [5] YUN M S, YOGO Y, MIURA R, et al. Cytochrome P-450 monooxygenase activity in herbicide-resistant and -susceptible late watergrass (*Echinochloa phyllopogon*) [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2005, 83(2/3): 107-114.
- [6] TENBROOK P L, TJEERDEMA R S. Biotransformation of clomazone in rice (*Oryza sativa*) and early watergrass (*Echinochloa oryzoides*) [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2006, 85(1): 38-45.
- [7] VIDOTTO F, TESIO F, TABACCHI M, et al. Herbicide sensitivity of *Echinochloa* spp. accessions in Italian rice fields [J]. Crop Protection, 2007, 26(3): 285-293.
- [8] 王忠武.我国稻田稗草抗药性研究进展[J].辽宁农业科学,2006(5):45-47.
- [9] DUKE S O, DAYAN F E, RIMANDO A M, et al. Chemicals from nature for weed [J]. Weed Science, 2002, 50(2):138-151.
- [10] COPPING L G, MENN J J. Biopesticides: A review of their action, applications and efficiency [J]. Pest Manag Sci, 2001, 57: 651-676.
- [11] 慕立义.植物化学保护研究方法[M].北京:中国农业出版社,1994:90-91.
- [12] VYVYAN J R. Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals [J]. Tetrahedron, 2002, 58: 1631-1646.
- [13] 刘长令.源于天然产物的农药品种[J].精细与专用化学品,2004,12(6):1-5.
- [14] VAN KLINK J W, BROPHY J J, PERRY N B, et al. β -Triketone from myrtaceae: isoleptospermone from *Lep-tospermum scoparium* and papuanon from *Corymbiadalla chiana* [J]. J Nat Prod, 1999, 62: 487-489.
- [15] MITCHELL G, BARTLETT D W, FRASER T E M, et al. Mesotrione: A new selective herbicide for use in maize [J]. Pest Manag Sci, 2001, 57: 120-128.
- [16] STREIBIG J C, DAYAN F E, RIMANDO A M, et al. Jointaction of natural and synthetic photosystem II inhibitors [J]. Pestic Sci, 1999, 55:137-146.
- [17] 曾任森,林象联.蟛蜞菊水抽提物的生化他感作用研究[J].华南农业大学学报,1994,15(4):26-30.
- [18] 万树青,陈兴聪,杨天梁.几种植物提取物光活化他感生长抑制作用研究[J].杂草科学,2004(1):5-8.
- [19] 杜凤移,张苗苗,马丹炜.三叶鬼针草化感作用的初步研究[J].中国植保导刊,2007,27(9):8-11.
- [20] 梁雨祥.试谈我国油茶和优质山茶油的产业化开发[J].宏观经济研究,2006(1):25-27.
- [21] LEE C P, SHIH P H, HSU C L, et al. Hepatoprotection of tea seed oil (*Camellia oleifera* Abel.) against CCl_4 -induced oxidative damage in rats [J]. Food and Chemical Toxicology, 2007, 45(6): 888-895.
- [22] XIAO Zhi-shu, ZHANG Zhi-bin, WANG Yu-shan. Impacts of scatter-hoarding rodents on restoration of oil tea *Camellia oleifera* in a fragmented forest [J]. Forest Ecology and Management, 2004, 196(2/3): 405-412.

【责任编辑 李晓卉】