

13种植物源化合物对南方根结线虫的毒力比较

丁琦^{1,2}, 罗万春^{1,①}, 肖婷¹, 牛洪涛¹, 田立保^{1,3}

(1. 山东农业大学 农药毒理与应用技术省级重点实验室, 山东 泰安 271018;

2. 沈阳化工研究院安全评价中心, 辽宁 沈阳 110021; 3. 黑龙江强尔生化技术开发有限公司, 黑龙江 哈尔滨 150090)

摘要: 利用离体生物测定法比较了 13 种植物源化合物对南方根结线虫 (*Meloidogyne incognita* Chitwood) 的毒力, 并探讨了紫外光照射对这些化合物杀虫活性的影响。结果表明, 对苯二酚、DL-薄荷醇、丁香酚和苦豆碱对南方根结线虫的毒杀活性最强, 邻苯二酚等 6 种化合物的毒杀活性次之, 野靛碱、毒扁豆碱和间苯二酚的毒力较低。紫外光照射可明显降低苦豆碱和柠檬酸对南方根结线虫的毒杀活性, 而其他 11 种化合物的毒杀活性则基本不受紫外光照射的影响。

关键词: 南方根结线虫; 植物源化合物; 毒力

中图分类号: S482.2⁺93 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0978(2007)03-0035-05

Toxicity comparison of thirteen phytochemicals to *Meloidogyne incognita* DING Qi^{1,2}, LUO Wanchun^{1,①}, XIAO Ting¹, NIU Hong-tao¹, TIAN Li-bao^{1,3} (1. Shandong Key Laboratory of Pesticide Toxicology and Application Technique, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China; 2. Safety Evaluation Centre of Shenyang Research Institute of Chemical Industry, Shenyang 110021, China; 3. Heilongjiang Qiang'er Biochemical Technology Development Co., Ltd., Harbin 150090, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2007, 16(3): 35-39

Abstract: The toxicity of thirteen phytochemicals to *Meloidogyne incognita* Chitwood was compared by bioassay and the influence of UV radiation on nematicidal activity of these compounds was also studied. The results showed that the nematicidal activity of hydroquinone, DL-menthol, eugenol and aloperine to *M. incognita* was the highest, that of pyrocatechol, sophoramine, matrine, phloroglucinol, citrazinic acid and citronellol was the second, while cytosine, physostigmine and resorcinol showed poorly nematicidal activity. The nematicidal toxicity of aloperine and citrazinic acid to the pest was obviously debased with UV radiation, and that of the other phytochemicals was not effected by UV radiation.

Key words: *Meloidogyne incognita* Chitwood; phytochemical; toxicity

根结线虫 (*Meloidogyne* spp.) 是危害农作物的重要病原生物之一, 广泛分布于世界各地^[1]。目前, 国际上报道的根结线虫有 80 多种^[2], 主要寄生在蔬菜、粮食作物、经济作物、果树、观赏植物及杂草等 2 000 多种寄主植物上, 温带、亚热带及热带地区的植物受害尤为严重, 根结线虫病害发生后, 一般使作物减产 10% ~ 20%, 严重的可达 75% 以上^[3]。由根结线虫引起的农作物减产损失中, 90% 以上是由南方根结线虫 (*M. incognita* Chitwood)、花生根结线虫 [*M. arenaria* (Neal) Chitwood]、爪哇根结线虫 [*M. javanica* (T.) Chitwood] 及北方根结线虫 (*M. hapla* Chitwood) 引起的。根结线虫除对植物本身造成损害外, 还可以使土壤中的真菌和细菌病害适于侵染, 是发生植物病害的重要诱因之一。

目前, 对根结线虫的防治仍以化学防治为主^[4], 使用人工合成的杀线虫剂, 无论是熏蒸性还是非熏蒸性药剂, 如氯化苦、溴甲烷、克百威、克线磷、灭多威及涕灭威等, 不仅成本高, 而且对植物病原线虫的毒杀作用都是非特异性的。另外, 这些杀线虫剂的毒性较高、环境相容性差, 极易造成对人及其他非靶标生物的危害, 并严重污染人类的生存环境^[5-7]。自 20 世纪 80 年代开始, 从植物中提取天然杀线虫活性物质并将其开发为植物源杀线虫剂的

收稿日期: 2006-11-23

基金项目: 山东省自然科学基金重点项目(2004ZR01001)

作者简介: 丁琦(1980-), 男, 山东梁山人, 硕士研究生, 主要从事天然产物农药与环境毒理研究工作。

① 通讯作者 E-mail: wcluo@sdau.edu.cn

研究引起人们极大的兴趣。由于植物源杀线虫剂来源于自然界,在环境中易降解,对人类安全,具有良好的环境相容性,因此越来越受到人们的重视。目前,已报道的具有杀线虫活性的植物源化合物约10余类100多种,在环境友好杀线虫剂的研究与开发中该类化合物具有很大潜力^[8,9]。作者系统测定和比较了13种具有杀线虫活性的植物源化合物对南方根结线虫的毒杀作用,为深入认识此类化合物的杀线虫活性及其选择性开发,甚至为化学仿生合成、开发环境友好的新型杀线虫剂提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试的植物源化合物有苦豆碱、苦参碱、槐胺碱、野靛碱、毒扁豆碱、邻苯二酚、间苯二酚、对苯二酚、间苯三酚、丁子香酚、香茅醇、*DL*-薄荷醇和柠檬酸,纯度分别为96.0%、98.0%、97.0%、96.0%、99.0%、99.0%、99.5%、98.0%、99.0%、99.0%、96.0%、98.0%和99.8%。其中,前5种为生物碱类化合物,邻苯二酚、间苯二酚、对苯二酚和间苯三酚为酚类化合物,丁子香酚、香茅醇和*DL*-薄荷醇为萜类化合物,柠檬酸则属于有机酸类化合物。苦豆碱、苦参碱、槐胺碱和野靛碱由宁夏盐池三鑫生物技术开发有限公司生产,均来源于苦豆子(*Sophora alopecuroides* L.);毒扁豆碱和邻苯二酚由Aldrich公司生产,前者来源于毒扁豆(*Physostigma venenosum* Balf.),后者来源于弯叶画眉草(*Eragrostis curvula* (Schrad.) Nees);间苯二酚由莱阳市经济技术开发区精细化工厂生产,来源于苦皮藤(*Celastrus angulatus* Max.);对苯二酚和间苯三酚均来源于红景天属(*Rhodiola* spp.)植物,分别由河南焦作市化工三厂和国药集团化学试剂有限公司生产;丁子香酚、香茅醇和*DL*-薄荷醇均由Alfa Aesar公司生产,分别来源于罗勒属(*Ocimum* spp.)、天竺葵(*Pelargonium graveolens* L'Herit.)和薄荷属(*Mentha* spp.)植物;来源于水果中的柠檬酸则由天津市博迪化工有限公司生产。

供试的南方根结线虫采自山东省泰安市良庄镇北宋村蔬菜大棚内,用寄主番茄('毛粉802')在温室内进行根结线虫的扩繁,从番茄根结表面摘取新鲜卵囊,置于自制孵化器中,于(25±1)℃条件下孵

化,每隔24 h收集1次2龄幼虫,备用。

1.2 方法

1.2.1 毒力测定方法 参照万树青^[10]使用的“浸渍法”进行毒力测定。用丙酮分别将13种化合物配制成一定浓度的母液备用。将相同体积的线虫悬浮液注入24孔细胞培养板的样品孔内,再根据实验浓度[实验浓度=(母液浓度×母液体积)/每孔溶液的总体积]计算需要补充无菌水的体积,最后加入相应量的化合物母液,混合均匀后置于25℃培养箱中培养。每处理4次重复,每重复50~100条线虫。分别于处理24和48 h后检查各处理组线虫的死亡和存活情况,并分别计算线虫的死亡率和校正死亡率。

1.2.2 紫外光照射处理方法 分别在常规处理(无紫外光照射)、254和365 nm紫外光照射下,检测13种供试化合物的杀线虫活性。各化合物的浓度均为1 g·L⁻¹,紫外光照射时间为10 min。每处理4次重复,每重复50~100条线虫。分别于处理24和48 h后检查各处理组线虫的死亡和存活情况,并分别计算线虫的死亡率和校正死亡率。

1.3 数据处理

线虫死亡率计算公式为:线虫死亡率=(死亡线虫数/供试线虫数)×100%;线虫校正死亡率=[(处理组线虫死亡率-对照组线虫死亡率)/(1-对照组线虫死亡率)]×100%。使用DPS软件对结果进行统计分析,计算LC₅₀值,并进行差异显著性分析。

2 结果和分析

2.1 13种植物源化合物对南方根结线虫的毒力比较

13种植物源化合物对南方根结线虫2龄幼虫的毒力测定结果见表1。由表1可以看出,野靛碱、毒扁豆碱和间苯二酚对南方根结线虫的毒力较低,LC₅₀值为2 000~4 000 mg·L⁻¹;其他10种化合物的毒力较高,但各化合物的LC₅₀值存在较大差异。处理24 h后,13种植物源化合物对南方根结线虫的毒力从高至低依次为槐胺碱、丁子香酚、*DL*-薄荷醇、对苯二酚、间苯三酚、邻苯二酚、苦豆碱、柠檬酸、香茅醇、苦参碱、间苯二酚、野靛碱、毒扁豆碱;处理48 h后,13种植物源化合物对南方根结线虫的毒力

从高至低依次为对苯二酚、*DL*-薄荷醇、丁子香酚、苦豆碱、邻苯二酚、槐胺碱、苦参碱、间苯三酚、柠檬酸、香茅醇、间苯二酚、野靛碱、毒扁豆碱。

比较13种植物源化合物处理24和48 h后对南方根结线虫的 LC_{50} 值可以发现,槐胺碱、间苯三酚、丁子香酚、香茅醇、*DL*-薄荷醇及柠檬酸的48 h毒力低于各自的24 h毒力,可能是因为处理24 h后,上述6种化合物对南方根结线虫的击倒活性较强,但线虫并没有被真正“杀死”,只是暂时处于“麻痹”状态,经过一段时间后中毒的线虫再次复苏,表现出48 h毒力小于24 h毒力的现象。类似的现象在其他实验中都曾出现过。

2.2 紫外光照射对13种植物源化合物毒杀活性的影响

紫外光照射对13种植物源化合物杀线虫活性的影响结果见表2。从表2可以看出,对苯二酚、间苯三酚、丁子香酚、香茅醇及*DL*-薄荷醇的杀线虫活性均不受紫外光照射的影响;而苦豆碱和柠檬酸的杀线虫活性受紫外光照射的影响较大,且较长波长紫外光的影响程度高于较短波长的紫外光,但毒力降低程度与紫外光波长的变化是否存在某种相关性尚有待进一步研究。另外,紫外光照射对其他6种化合物的杀线虫活性也有一定的影响,但影响程度不高,特别是处理48 h后,紫外光照射处理与常规处理之间差异不显著。

表1 13种植物源化合物对南方根结线虫的毒力比较¹⁾
Table 1 Toxicity comparison of thirteen phytochemicals to *Meloidogyne incognita* Chitwood¹⁾

化合物 Compound	处理时间/h Treatment time	$LC_{50}/mg \cdot L^{-1}$	相关系数 Correlation coefficient	48 h 毒力排序 48 h toxicity order
对苯二酚 hydroquinone	24	65.51 (25.17 - 349.78)	0.986 1	1
	48	58.41 (18.54 - 662.67)	0.973 4	
<i>DL</i> -薄荷醇 <i>DL</i> -menthol	24	65.01 (28.74 - 235.91)	0.986 7	2
	48	82.95 (28.29 - 607.46)	0.982 5	
丁子香酚 eugenol	24	60.69 (25.72 - 248.74)	0.985 6	3
	48	84.98 (943.54 - 216.35)	0.994 5	
苦豆碱 aloperine	24	112.9 (57.2 - 288.8)	0.996 6	4
	48	93.1 (24.9 - 1 855.3)	0.979 7	
邻苯二酚 pyrocatechol	24	93.29 (66.75 - 137.67)	0.999 2	5
	48	93.25 (59.36 - 162.68)	0.998 2	
槐胺碱 sophoramine	24	51.65 (13.17 - 2 725.87)	0.969 9	6
	48	108.2 (17.5 - 5 819.8)	0.959 4	
苦参碱 matrine	24	224.7 (40.8 - 8 253.2)	0.977 8	7
	48	172.2 (45.8 - 2 295.9)	0.979 6	
间苯三酚 phloroglucinol	24	67.57 (23.08 - 545.59)	0.984 4	8
	48	175.7 (54.1 - 1 442.2)	0.989 4	
柠檬酸 citrazinic acid	24	193.8 (60.3 - 1 503.6)	0.990 3	9
	48	239.8 (38.4 - 45 083.6)	0.971 9	
香茅醇 citronellol	24	195.4 (31.5 - 50 467.6)	0.969 1	10
	48	243.2 (34.5 - 3 649.6)	0.966 9	
间苯二酚 resorcinol	24	3 660 (715 - 53 854)	0.993 2	11
	48	2 469 (490 - 37 889)	0.992 5	
野靛碱 cytosine	24	3 633 (634 - 73 810)	0.991 9	12
	48	3 153 (489 - 96 621)	0.990 1	
毒扁豆碱 physostigmine	24	3 654 (883 - 31 542)	0.995 0	13
	48	3 629 (479 - 188 275)	0.988 0	

¹⁾ 括号内数据为95%置信区间 Datums in brackets represent the 95% credible limit.

表 2 紫外光照射对 13 种植物源化合物杀线虫活性的影响¹⁾Table 2 Effect of UV radiation on nematicidal activity of thirteen phytochemicals against to *Meloidogyne incognita* Chitwood¹⁾

化合物 Compound	24 h 后校正死亡率/% Adjusted mortality after 24 h			48 h 后校正死亡率/% Adjusted mortality after 48 h		
	常规处理 Normal treatment	UV ₂₅₄	UV ₃₆₅	常规处理 Normal treatment	UV ₂₅₄	UV ₃₆₅
苦豆碱 aloperine	69.77a	61.29b	52.67c	77.49a	64.88b	64.97b
苦参碱 matrine	55.61a	42.56b	35.51b	67.27a	61.99a	63.05a
槐胺碱 sophoramine	69.67a	67.57a	56.10b	60.49a	58.16a	64.04a
野靛碱 cytisine	14.23a	4.77b	3.27b	9.53a	2.63a	7.58a
毒扁豆碱 physostigmine	15.46a	8.09ab	6.59b	8.97a	3.62a	5.35a
邻苯二酚 pyrocatechol	82.82a	79.62a	67.85b	93.89a	96.26a	91.52a
间苯二酚 resorcinol	19.77a	9.57b	6.84b	33.34a	20.78b	37.27a
对苯二酚 hydroquinone	83.71a	87.71a	84.06a	94.91a	96.53a	93.27a
间苯三酚 phloroglucinol	83.66a	81.51a	79.72a	87.32a	88.76a	85.91a
丁香酚 eugenol	97.80a	95.20a	94.52a	98.84a	98.44a	97.30a
香茅醇 citronellol	86.00a	84.69a	83.30a	84.76a	86.87a	83.83a
DL-薄荷醇 DL-menthol	97.48a	96.27a	96.65a	98.55a	97.33a	98.16a
柠檬酸 citrazinic acid	84.68a	74.04b	27.71c	81.97a	69.40b	18.81c

¹⁾ 同行中不同的字母表示在 $\alpha=0.05$ 水平上差异显著 The different letters in the same row indicate the significant difference at $\alpha=0.05$ level.

3 结论和讨论

综合表 1 与表 2 结果可以看出,野靛碱、毒扁豆碱及间苯二酚对南方根结线虫 2 龄幼虫的毒杀活性较低;而其他 10 种化合物则表现出较高的毒杀活性。槐胺碱、间苯三酚、丁香酚、香茅醇、DL-薄荷醇及柠檬酸 6 种化合物对南方根结线虫 2 龄幼虫均表现出快速击倒活性,但部分被击倒线虫会随处理时间的延长而复苏,表明这 6 种化合物在实验浓度下并非真正将线虫“杀死”,而只是起“麻痹”作用。研究结果还表明,紫外光照射可降低苦豆碱和柠檬酸对南方根结线虫 2 龄幼虫的毒杀作用,且其影响程度与紫外光波长呈正相关;其余 11 种供试化合物对南方根结线虫 2 龄幼虫的毒杀活性受紫外光照射的影响较小或不受影响。

供试的 13 种植物源化合物多数为已知的具有杀线虫活性的化合物,其中,丁香酚、香茅醇和 DL-薄荷醇对根结线虫具有较好的毒杀活性^[11,12],本研究结果也证实了这一点。有研究表明,邻苯二酚、对苯二酚及间苯三酚可抑制肾形线虫 (*Rotylenchulus reniformis*) 对番茄的侵染^[13],而苦豆碱、苦参碱、槐胺碱及野靛碱可杀死松材线虫^[14-16],本研究丰富了前人的研究结果,并证明上述化合物对南方根结线虫也具有较好的毒杀活性。另外,有

研究指出, $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 毒扁豆碱对绒草茎线虫 [*Ditylenchus dipsaci* (Kuhn) Filipjev] 的运动具有可逆性的抑制作用^[17],但本研究结果表明毒扁豆碱对南方根结线虫基本无毒杀活性。研究还发现,有机酸类化合物(柠檬酸)对南方根结线虫也有较好的毒杀活性,但紫外光照射可影响其杀线虫活性,该结果为杀线虫剂的选择性开发提供了一定的参考依据。

植物源杀线虫剂来源于自然界,具有很好的环境相容性,因而是环境友好杀线虫剂研究开发的重要途径。自然界具有丰富的植物资源,深入开展杀线虫植物资源的调查,有效地从备选植物中分离、提纯杀线虫化合物并鉴定其化学结构,同时,对已经报道的高活性植物源杀线虫化合物进行活性-结构相关性研究,明确其作用机理,开展仿生合成,应成为开发高效、环保型杀线虫剂的重要思路。

参考文献:

- [1] 赵 鸿, 彭德良, 朱建兰. 根结线虫的研究现状[J]. 植物保护, 2003, 29(6): 6-9.
- [2] Schmitz V B, Burgermeister W, Braasch H. Molecular genetic classification of central European *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax* populations [J]. Nachrichtenbl Deut Pflanzenschutzd, 1998, 50(12): 310-317.
- [3] Whitehead A G. Plant Nematode Control[M]. Wallingford, UK: CAB International, 1997.
- [4] 杨秀鹏, 何玉仙, 陈福如, 等. 不同植物提取液的杀线虫活性评价[J]. 江西农业大学学报: 自然科学版, 2002, 24(3): 386-389.

- [5] 文艳华, 冯志新, 徐汉虹, 等. 植物抽提物对几种植物病原线虫的杀线活性筛选[J]. 华中农业大学学报, 2001, 20(3): 235-238.
- [6] Thomas S H, Schroerer J, Murray L W. *Cyperus* tubers protect *Meloidogyne incognita* from 1,3-dichloropropene [J]. Journal of Nematology, 2004, 36(2): 131-136.
- [7] Zasada I A, Tenuta M. Chemical-mediated toxicity of N-Viro soil to *Heterodera glycines* and *Meloidogyne incognita* [J]. Journal of Nematology, 2004, 36(3): 297-302.
- [8] Chitwood D J. Phytochemical based strategies for nematode control [J]. Annual Review of Phytopathology, 2002, 40: 221-249.
- [9] Claudia B D, Angelica N M, Norma V A, et al. Nematicidal activity of the essential oils of several argentina plants against the root-knot nematode [J]. Journal of Essential Oil Research, 2004, 16(6): 626-628.
- [10] 万树青. 杀线虫剂生物活性测定[J]. 农药, 1994, 33(5): 10-11.
- [11] Sangwan N K, Verma K K, Dhindsa K S. Nematicidal activity of some essential plant oils [J]. Pestic Sci, 1990, 28: 331-335.
- [12] Leela N K, Khan R M, Reddy P P, et al. Nematicidal activity of essential oil of *Pelargonium graveolens* against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* [J]. Nematol Medit, 1992, 20: 57-58.
- [13] Mahmood I, Siddiqui Z A. Effect of phenolics on the growth of tomato and reproduction of *Rotylenchulus reniformis* [J]. Nematol Medit, 1993, 21: 97-98.
- [14] 赵博光. 苦豆碱对松材线虫的杀线活性 [J]. 林业科学, 1996, 32(3): 243-247.
- [15] Matsuda K, Kimura M, Komai K, et al. Nematicidal activities of (-)-*N*-methylcytisine and anagryne from *Sophora flavescens* against pine wood nematodes [J]. Agric Biol Chem, 1989, 53: 2287-2288.
- [16] Matsuda K, Yamada K, Kimura M, et al. Nematicidal activity of matrine and its derivatives against pine wood nematodes [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 1991, 39(1): 189-191.
- [17] Bijloo J D. The "Pisum" test: a simple method for the screening of substances on their therapeutic nematicidal activity [J]. Nematologica, 1965, 11: 643-644.

欢迎订阅 2008 年《植物资源与环境学报》

中国科技核心期刊 中国科学引文数据库核心期刊

“中国期刊方阵”双效期刊 “江苏期刊方阵”优秀期刊

季刊, 单价 10 元, 邮发代号: 28-213, 国内统一连续出版物号: CN32-1339/S

《植物资源与环境学报》系江苏省·中国科学院植物研究所、江苏省植物学会及中国环境科学学会植物园保护分会联合主办的学术刊物, 国内外公开发行。本刊为 BA、CA、CAB、Elsevier's、中国生物学文摘、中国环境科学文摘、中国科学引文数据库、万方数据——数字化期刊群、中国学术期刊(光盘版)和中文科技期刊数据库等国内外著名刊库收摘。本刊围绕植物资源与环境两个中心命题, 报道我国植物资源的考察、开发利用和植物物种多样性保护, 自然保护区与植物园的建设和管理, 植物在保护和美化环境中的作用, 环境对植物的影响以及与植物资源和植物环境有关学科领域的原始研究论文、研究简报和综述等。凡从事植物学、生态学、自然地理学以及农、林、园艺、医药、食品、轻化工和环境保护等领域的科研、教学、技术人员及决策者, 可以从本刊获得相关学科领域的研究进展和信息。

本刊于 1992 年创刊, 全国各地邮局发行, 若错过征订时间或需补齐 1992-2007 年各期者, 请直接与编辑部联系邮购, 订价 1992 年和 1993 年每年 8 元, 1994 年至 2000 年每年 16 元, 2001 年至 2005 年每年 24 元, 2006 年至 2008 年每年 40 元(均含邮资)。编辑部地址: 江苏省南京市中山门外前湖后村 1 号江苏省·中国科学院植物研究所内, 邮编: 210014; 电话: 025-84347016; Fax: 025-84432074; E-mail: nbgxx@jlonline.com 或 zwzy@mail.cnbg.net。