

## 番茄植株中挥发性组分的鉴定及其对菜粉蝶 (*Pieris rapae* L.)的触角电位活性\*

徐美娟\*\* 管致和

(中国农业大学昆虫学系,北京 100094)

**摘要:** 采用水蒸汽蒸馏法,从番茄(*Lycopersicon esculentum*)植株中分离到2个纯化合物,经光谱法鉴定为二苯胺和N-苯基- $\beta$ -萘胺;番茄植株的粗提物经GC-MS测定,除获得上述2化合物外,还得到2,6-二叔丁基-对-甲基苯酚。经触角电位(EAG)测定表明,二苯胺、N-苯基- $\beta$ -萘胺与番茄植株粗提物对菜粉蝶均有较强的生物活性。

**关键词:** 番茄; 菜粉蝶; 触角电位; 二苯胺; N-苯基- $\beta$ -萘胺; 2,4-二叔丁基-对-甲基苯酚

**中图分类号:** S641.2; S436.22

在茄科植物(*Lycopersicon*)中番茄属是一个比较小的属,但番茄(*Lycopersicon esculentum*)有很大的经济价值,既可食用,又含有抗虫物质<sup>[1]</sup>。作者等曾从番茄植株中分离到对菜粉蝶(*Pieris rapae*)有拒避、拒食活性的番茄苷(tomatine)和黄酮类化合物<sup>[2,3]</sup>。从菜粉蝶成虫决不飞近番茄植株去产卵的现象看,番茄植株中应该有挥发性物质在起拒避产卵的作用。前人分离提纯过番茄植株中的挥发性芳香物质工作,但未涉及生物活性<sup>[5,6]</sup>。本试验研究了其生物活性。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 生物试材及分离流程

①菜粉蝶成虫由田间网捕,当日用于EAG测试。

②番茄植株采自未施化学农药的番茄地,取其叶部,洗净、晾干、捣成糊状,按附图流程分离。

**1.2 鉴定设备** 气质联用为GC-HP5190气质仪;色谱柱HP-5(25 mm $\times$ 0.22 mm),程序升温范围80~140 $^{\circ}$ C,3 $^{\circ}$ C $\cdot$ min<sup>-1</sup>,140~220 $^{\circ}$ C,5 $^{\circ}$ C $\cdot$ min<sup>-1</sup>,220~250 $^{\circ}$ C,10 $^{\circ}$ C $\cdot$ min<sup>-1</sup>,氮气流量0.96 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>;质谱用MAT711质谱仪;'HNMR和<sup>13</sup>CNMR'用AM-500核磁共振仪。

**1.3 生测设备** 测菜粉蝶触角电位(EAG)由中科院动物所虫、鼠害综合治理研究国家开放实验室提供全套设备及服务。

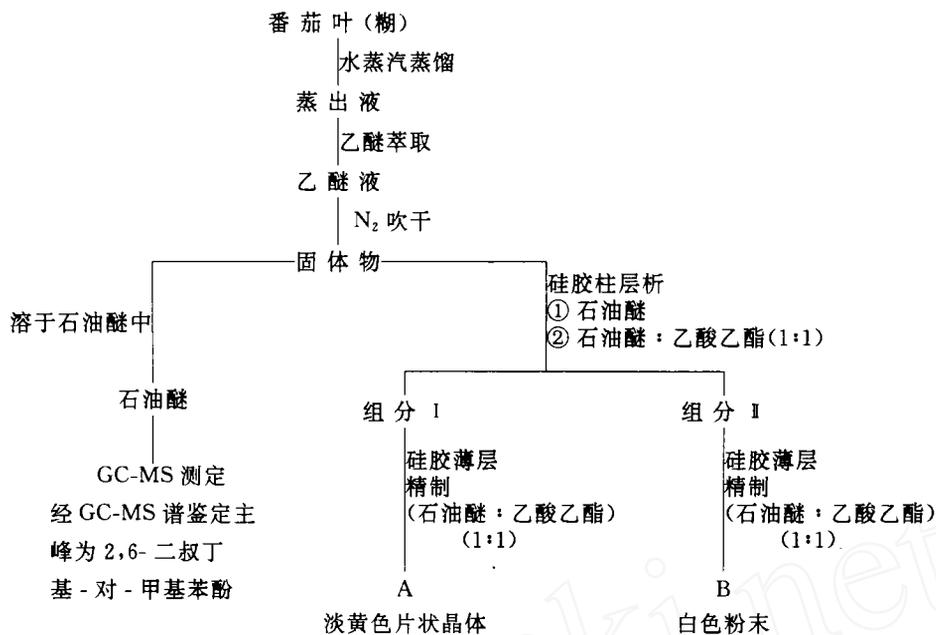
### 2 结果

**2.1 结构分析** 化合物A,淡黄色片状结晶,质谱法测得分子量为169;根据N素规则,可能含N原子。质谱中出现77,51等碎片峰,表明分子中含有苯环。<sup>13</sup>CNMR只有4条谱线,说明分子有对称性,可能有2个苯环,所以分子量还剩169-2 $\times$ 77=15,考虑含有N,故分子片断只可能是NH。化合物A的分子式应为C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>N。另外,其<sup>1</sup>HNMR(CDCl<sub>3</sub>, $\delta$ ppm,

收稿日期:1995-06-02

\*国家自然科学基金资助项目。

\*\*现在上海浦东区现代农业开发有限公司。



附图 番茄叶挥发性物质分离流程

Fig. Process for separating volatiles from tomato leaves

TMS)表明:分子含一个活泼质子( $\delta 5.40$ ),其余为单取代苯环质子; $\delta 7.081, 7.086, 7.088, 7.103$ 的双二重峰为2,6-位质子, $\delta 6.934, 6.950, 6.964$ 的三重峰为4-位质子, $\delta 7.260, 7.263, 7.267, 7.274, 7.278, 7.280, 7.291, 7.295$ 的多重峰为3,5位质子。综合以上数据,推定化合物A为二苯胺,其MS数据与文献吻合<sup>[4]</sup>。

化合物B,白色粉末,质谱测得分子量为219,表明分子含有奇数N原子。质谱中出现127, 77, 51碎片峰,说明分子中可能含有苯环或萘环。分子量剩余 $219 - 127 - 77 = 15$ ,与化合物A一样含有NH片断。因此,化合物B的分子式为 $C_{16}H_{13}N$ 。<sup>1</sup>HNMR( $CDCl_3$ ,  $\delta$ ppm, TMS) $\delta 7.184, 7.190, 7.193, 7.199$ 的双二重峰为2,6-位质,  $\delta 7.301, 7.302, 7.315, 7.317, 7.328$ 的多重峰为3,5-位质子,  $\delta 7.001, 7.002, 7.017$ 的三重峰为4-位质子,以及<sup>13</sup>CNMR( $CDCl_3$ ,  $\delta$ ppm, TMS) $\delta 142.79(C-1), 112.32(C-2.6), 127.66(C-3.5), 121.64(C4)$ 与化合物A相似,说明为苯环单取代,剩余部分<sup>1</sup>HNMR和<sup>13</sup>CNMR与 $\beta$ -萘基相吻合,因此推断化合物B为N-苯基-萘胺。其质谱数据与文献相符<sup>[4]</sup>。

化合物C,在粗提物的GC-MS谱中,出现 $m/z 220(M^+)$ , 205, 177, 115, 91, 57等碎片峰,与文献<sup>[7]</sup>对照,其相对丰度与2,6-二叔丁基-对-甲基苯酚完全一致。

在粗提物中,根据GC谱中的峰高,化合物A,B和C均为主要成分。

**2.2 触角电位(EAG)生物活性测定** 附表为EAG8次重复的结果。可以看出,所分离到的3种化合物对菜粉蝶均有较强的活性反应。A+B分别稍高于A,B及C,表明混合天然物活性往往有高于单一天然物活性的倾向。

### 3 讨论

本研究是作者以前研究<sup>[2,3]</sup>的继续。前文分别报道了从番茄植株中分离到黄酮类及生物碱类中对菜粉蝶具有产卵、拒食、致畸活性物质。本文报道的则是具有嗅觉活性挥发性物质。

附表 菜粉蝶对各化合物的 EAG 反应

Table EAG responses of *P. rapae* to extracted chemicals

化合物 <sup>①</sup> Chemical *	相对 EAG 活性 Relative EAG response amplitude as a percentage of the response to cis-3-Hexen-1-ol	相对 EAG 反应值范围 Variant range of relative EAG responses
0	0.751±0.143	0.531~0.95
A	107.4±34.7	75~156.9
B	103.1±40.5	60~157.1
A+B(1:10) <sup>②</sup>	125.7±19.7	93~153.4
C <sup>③</sup>	120.6±42.1	70.6~175.8
CK <sup>④</sup>	60.5±13.4	43.4~78.4

①0=石油醚

②A=1,1-二苯胺, 1,1-diphenylamine; B=N-苯基-β-苯胺, N-phenyl-β-naphthalamine, A+BC

③C=以2,6-二叔丁基-对-苯酚, 2,6-ditert-butyl-p-cresol 占绝对比例的粗提物

④CK=顺式己烯醇, cis-3-Hexen-1-ol (purity 99.7%)

虽然生测只做了 EAG 反应,而 EAG 导出电位强弱只说明活性高低,而不说明这活性的性质是“趋”还是“避”,但田间观察表明菜粉蝶是避开番茄飞行的;笼养观察表明菜粉蝶从不光顾番茄。这些均说明番茄中必定有影响菜粉蝶嗅觉反应而引起忌避作用的挥发性物质。既然本研究分离到的三种化合物均有较强活性,则将此活性理解成忌避活性是顺理成章的。关于 EAG 生物活性问题,由于在连续测定的过程中,触角对化合物的敏感性会逐渐降低,因此安通常惯例,附表中测试化合物的 EAG 生物活性用相对于标准化合物 EAG 活性的百分比来表示。所用的标准化合物为顺式己烯醇(cis-3-Hexen-1-ol),这是因为该化合物对绝大多数昆虫 EAG 反应有较强的刺激活性,因而被国际上选用为测试标样。如试验样品能导出比顺式己烯醇更高的电位,则表明试虫对该化合物十分敏感。而对石油醚(0号)的测试,只是为了跟踪监测昆虫触角的活度。

将本文与作者的前两篇论文联系起来可以看出,番茄对菜粉蝶的化学防御有一系列的次生性代谢物在起作用,而且起着“层层设防”的作用:在一定距离内忌避菜粉蝶接近,拒避产卵,使幼虫拒食,使取食的幼虫致畸。这种设多种障碍的防御“策略”使菜粉蝶很难对付。菜粉蝶绝不上番茄就不难理解了。

这项研究实际上并未完结,因为植物还有因受伤害(包括昆虫为害)被诱导产生的防御物质<sup>[8,9]</sup>。番茄植株是否还有类似现象尚且不知。为保证试验的准确,本研究在采用番茄枝时都不用已受过伤害的植株。

中国科学院动物所严福顺、杜永均曾为本研究提供 EAG 服务,谨致衷心谢意。

## 参 考 文 献

- 1 Atherton J G, Rudich J. 郑光华,沈征言译. 番茄. 北京农业大学出版社,1986
- 2 徐美娟,管致和. 番茄植株中黄酮类对菜青虫的生物活性及其对截形叶螨的毒效. 北京农业大学学报, 1993,19(2):55~61
- 3 徐美娟,管致和. 番茄植株中生物碱类对菜青虫活性组分的分离和提纯. 北京农业大学学报,1994,29(2):153~156
- 4 Mass Spectrometry Data Centre. Eight-Peak Index of Mass Spectra The Royal Society of Chemistry Nottingham UK, 1983, 337

- 5 Buttery Ron G, Teranish Roy. Fresh tomato aroma volatiles; A quantitative study. J Agric Food Chem, 35: 540~544
- 6 Buttery Ron G, Ling Louisa C. Tomato leaf volatile aroma compounds. J Agric Food Chem, 1987, 35: 1039~1042
- 7 Adams R P. Identification of Essential Oils of Ion Trap MS. Academic Press, NY, 1989
- 8 Harborne J B. Introduction to Ecological Biochemistry (3rd ed). Academic Press, London, 1988
- 9 Tallamy D W, Raupp M J. Phytochemical Induction by Herbivores John-Wiley & Sons, NY, 1991

## The Identification of Volatile Components from Tomato Plant and Their EAG Responses to *Pieris rapae*

Xu Meijuan                      Guan Zhihe

(Dept. of Entomology, CAU, Beijing 100094)

**Abstract:** By steam distillation, the authors isolated two pure compounds from tomato leaves which were identified by spectrum analysis as diphenylamine and N-phenyl- $\beta$ -naphthamine. Through GC-MS test of the crude extract of tomato leaves, 2,6-ditert-p-cresol was isolated were quite active to *P. rapae*. The strategy of chemical defense of tomato to *P. rapae* was also briefly discussed.

**Key words:** tomato; *Pieris rapae*; EAG; Dipheylamine; N-phenyl- $\beta$ -naphthamine; 2,4-ditert-butyl-p-cresol

(上接第 64 页)

4 假单胞杆菌属(*Pseudomonas*) 共 2 种:

①产氮假单胞菌(*P. azotoformans*) 由龙井、北京、永宁土壤分离,

②固氮假单胞菌(*P. diazotrophicus*) 由永宁、沈阳土壤分离。

5 土壤杆菌属(*Agrobacterium*) 共 1 种:

根癌土壤杆菌(*A. tumefaciens*) 由龙井、北京土壤分离。

6 棒状杆菌属(*Corynebacterium*) 共 1 种:

棒状杆菌(*Corynebacterium sp.*) 由龙井土壤分离。

7 黄色杆菌属(*Xanthobacter*) 共 1 种:

自养黄色杆菌(*X. autotrophicus*) 由龙井土壤分离。

8 拜叶林克氏菌属(*Beijerinckia*) 共 1 种:

印度拜叶林克氏菌白色变种(*B. indica var. alba*) 由北京土壤分离。

这 8 属 18 种固氮菌按地区分, 哈尔滨 3 属 7 种、龙井 5 属 6 种、沈阳 2 属 3 种、北京 4 属 8 种、永宁 3 属 7 种、米泉 2 属 4 种。

经生物学、微生物学、植物学、生物技术、土壤学等文献的光盘检索, 在国际上, 这 18 种固氮菌中, 产氮芽孢杆菌(*B. azotoformans*)、球形芽孢杆菌(*B. sphaericus*)、中间肠杆菌(*E. intermedium*)、产氮假单胞菌(*P. azotoformans*) 等 4 种菌还未发现作为固氮菌的报道, 其余 14 种菌的固氮能力已有报道。在国内, 这 18 种菌, 除阴沟肠杆菌在广东稻田有分离的报道外, 其余均未见分离报道。