

核桃叶提取物对粘虫和小菜蛾的拒食活性研究

翟梅枝¹, 张凤云², 刘朝斌¹, 辛福梅¹

(1. 西北农林科技大学 林学院; 2. 西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨陵 712100)

摘要:研究了核桃叶提取物及萃取物对粘虫、小菜蛾的生物活性。结果表明:核桃叶 95% 乙醇冷提物对小菜蛾有明显的拒食作用;提取物的乙酸乙酯萃取部分对粘虫有较明显的拒食作用,且乙酸乙酯萃取物浓度的变化,对粘虫的拒食率、死亡率及生长发育抑制率均有较大影响。研究还表明:提取时所用乙醇浓度越大,提取物活性越明显,且冷提的效果较热提好。

关键词:核桃叶提取物;拒食活性;粘虫;小菜蛾

中图分类号:S767.37 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-7461(2005)02-0138-03

Study on the Antifeeding Bioactivity of Extracts from Walnut

Leaves to *Mythimna Separatea* and *Plutellu Xylostella*

ZHAI Mei-zhi¹, ZHANG Feng-yun², LIU Chao-bin¹, XIN Fu-mei¹

(1. College of Forestry, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2. College of Life Sciences, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The results of this study show that the walnut leaves extract with 95% ethanol has obvious antifeeding effect on armyworm and small vegetable-moth. The fraction extracted from the extract above with ethyl acetate has more remarkably antifeeding effect on armyworm, the concentration change of extract with ethyl acetate affect antifeeding rate, death rate and growth inhibition rate. The results also indicate that the insecticide activity of the ethanol extract with difference temperature and concentrations is also different.

Key words: walnut leave extract; antifeeding activity; *Mythimna separatea*; *Plutellu xylostella*

从植物体内提取有效杀虫、抑菌活性物质防治病虫害是国内外农药研究领域的重要方向之一^[1]。世界至少有 25 万种植物,但在化学性质上进行过研究的仅占 10%,而作为农药进行研究的则更少。全世界已知具有杀虫作用的植物至少有 1 000 多种,这些植物中的次生物质均不同程度地对昆虫表现出拒食、驱避、抗生、抑制生长发育及直接毒杀作用。我国自然资源丰富、植物种类繁多,前人在这方面已做了许多工作^[2-4],如 0.5% 楝素杀虫乳油已商品化^[5-8],杀虫植物苦皮藤的研究也取得很大的进展。

核桃(*Juglans regia*)是我国分布较广的重要经济树种,核桃叶中含有 1,8-桉叶素、胡桃醌、胡桃甙、金丝桃甙、挥发油等多种生物化学成分^[9]。作者等人已以核桃叶为原料,对提取物的抑菌^[10]、杀蚜等^[11,12]活性进行了研究。现将核桃叶提取物对

两种农业害虫即粘虫(*Mythimna separatea*)、小菜蛾(*Plutellu xylostella*)的生物活性研究结果总结如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 核桃叶 采自西北农林科技大学核桃圃,风干后粉碎备用。

1.1.2 供试昆虫 挑取发育正常的粘虫、小菜蛾 3 龄前期幼虫供试,所用幼虫均为西北农林科技大学无公害农药研究服务中心养虫室提供。

1.1.3 粗提物制备 95% 乙醇冷提物制备 核桃叶粉→95% 乙醇冷浸 3 次→合并滤液→减压浓缩至膏状(得率 4.74%)→稀释备用;95% 乙醇热提物制备 核桃叶粉→95% 乙醇加热回流提取 3 次→合并滤液→减压浓缩至膏状(得率 22%)→稀释备用;75% 乙

醇热提物制备 核桃叶粉→75%乙醇加热回流提取3次→合并滤液→减压浓缩至膏状(得率21.86%)→稀释备用。

1.1.4 萃取物制备 选用极性由低到高的石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇4种溶剂,依序对95%乙醇冷提浸膏进行萃取分离。萃取液减压浓缩得相应的萃取物,稀释后备用。

1.2 方法

拒食及胃毒作用测定 采用小叶碟添加法,试验共设8个处理。即:95%乙醇冷提物,95%乙醇热提物,75%乙醇热提物,95%乙醇冷提物的石油醚、乙酸乙酯、氯仿、正丁醇4个萃取相和对照,各供试样品均用适当溶剂(见表1)溶解、稀释,使浓度为20 mg·mL⁻¹。在直径9 cm的培养皿中,铺一层滤纸,加入少量蒸馏水保湿后,每皿放入10头大小一致并已饥饿4 h的粘虫、小菜蛾3龄幼虫,,每处理设3个重复。然后将已打好的小叶碟在样品稀释液和对照液中浸3~5 s取出,晾干后在 T=24~26℃,RH=70%~80%下饲喂试虫;24 h后将残存叶片取出,记录叶碟被取食情况及试虫死亡情况,并加入经同样处理的数碟,3 d后改喂正常叶片,直到7 d后统计死亡数。试虫死亡标准为虫体失水皱缩,不能取食,触之不动。

表1 供试样品一览表

Table 1 Testing samples	
供试样品	溶解所用溶剂
75%乙醇热提物	水:丙酮=1:1
95%乙醇冷提物	水:丙酮=1:2
95%乙醇热提物	水:丙酮=1:2
石油醚萃取物	纯丙酮
氯仿萃取物	纯丙酮
乙酸乙酯萃取物	水:丙酮=1:1
正丁醇萃取物	水:丙酮=1:1
对照液	水:丙酮=1:1

注:各供试样品的对照液为相应的溶解溶剂

乙酸乙酯萃取物对粘虫的拒食活性测定 将筛选出的对粘虫具有明显拒食作用的乙酸乙酯萃取物稀释成10、20、30、40、50 mg·mL⁻¹进行拒食活性测定,试验方法仍用小叶碟添加法。

结果统计方法 死亡率、蜕皮率、拒食率计算依据为:死亡率(%)=(试虫死亡数/试虫总数×100)%,蜕皮率(%)=(蜕皮试虫数/试虫总数×100)%,校正死亡率(%)=[(处理组死亡率/%-对照组死亡率/%)/(100-对照组死亡率/%)×100]%,拒食率(%)=[(对照组取食叶面积-处理组取食叶面积)/对照组取食叶面积×100]%。

2 结果与分析

2.1 提取物对粘虫的拒食作用

7种提取物对粘虫3龄幼虫的拒食测定结果见表2。即在浓度为20 mg·mL⁻¹时,各处理对试虫均有一定的拒食活性。醇提物处理中,95%乙醇冷提物较两种热提物有相对明显的拒食率和死亡率;95%乙醇冷提物的乙酸乙酯萃取物的拒食作用最为明显,饲喂第3 d的拒食率为42.8%,而氯仿萃取物处理的试虫拒食率为18.6%,其他处理均无拒食现象。结果还显示:所用提取溶剂的浓度及提取温度对提取物质的活性大小有一定的影响。乙醇浓度越大,提取物活性越强;相同浓度提取时,冷浸提取物的活性大于加热回流提取物的活性。由此可初步推断,核桃叶中拒食成分主要集中在乙酸乙酯萃取物中。提取温度的升高可能引起了活性物质的变化或失活,从而降低了提取物的活性。

表2 不同提取物对粘虫的拒食作用

Table 2 Antifeeding effect of different extracts on armyworm %	供试样品	第1d	第1d	第2d	第2d	第3d	第3d	第7d
		的校正	的拒	的校正	的拒	的校正	的拒	的校正
		死亡率	食率	死亡率	食率	死亡率	食率	死亡率
75%乙醇热提物	0	2.2	0	—	3.4	21.5	6.7	
95%乙醇冷提物	6.7	20.0	0	6.8	0	0	13.3	
95%乙醇热提物	0	19.8	0	4.3	0	0	6.7	
石油醚萃取物	0	8.9	0	14.0	0	0	3.3	
氯仿萃取物	0	26.2	0	14.0	3.3	18.6	10.0	
乙酸乙酯萃取物	0	31.5	0	14.8	0	42.8	6.7	
正丁醇萃取物	0	18.4	0	0.3	0	0	6.7	
对照液	—	—	—	—	—	—	6.7	

2.2 提取物对小菜蛾的拒食作用

7种提取物对3龄小菜蛾的拒食试验结果见表3。在浓度为20 mg·mL⁻¹时,处理组对小菜蛾的拒食作用基本与对粘虫的作用相同。但除氯仿萃取物处理拒食率低于40%外,其他3个萃取物处理的拒食率都在60%以上,而以正丁醇萃取物处理的拒食作用达65.8%;95%乙醇冷提物处理的试虫前期死亡率高,石油醚萃取物和氯仿萃取物处理试虫的死亡率有随处理时间延长逐渐增大的趋势,而95%乙醇热提物处理虽有很高的拒食率,但试虫死亡率一直0。由此可初步推断,核桃叶95%乙醇冷提物中对小菜蛾有拒食作用的活性成分主要在正丁醇萃取部分,石油醚和氯仿萃取物处理在试验后期死亡率增大可能是萃取物中具有胃毒作用的活性物质。

2.3 乙酸乙酯萃取物对粘虫的作用

乙酸乙酯萃取物活性生测结果(表4)表明,不

同浓度的乙酸乙酯萃取物对粘虫的拒食作用,随萃取物浓度的提高拒食率逐渐递增,但胃毒作用不明显;从饲喂3 d后粘虫的蜕皮率可知,萃取物有抑制试虫生长发育的作用。观察表明用高浓度药液浸过的叶片饲喂试虫后,试虫死亡后虫体的后半部分呈明显的褐色,这可能是药液对其中肠有一定的破坏作用所致。

表3 不同提取物对小菜蛾的拒食作用
Table 3 Antifeeding effect of different extracts on *Plutella xylostella*

供试样品	第1d		第2d		第3d		第7d	
	的校正 死亡率	的拒 食率	的校正 死亡率	的拒 食率	的校正 死亡率	的拒 食率	的校正 死亡率	的拒 食率
75%乙醇热提物	—	58.5	2.9	22.0	1.3	28.0	—	—
95%乙醇冷提物	—	75.3	67.0	56.0	9.3	75.5	—	—
95%乙醇热提物	—	63.1	—	61.3	—	53.0	—	—
石油醚萃取物	—	60.3	7.0	2.1	9.3	67.0	59.0	—
氯仿萃取物	—	50.0	13.7	68.0	40	38.0	48.0	—
乙酸乙酯萃取物	—	—	—	53.3	—	60.9	—	—
正丁醇萃取物	—	62.7	—	33.3	—	65.8	—	—
对照液	—	—	—	—	—	—	—	—

表4 乙酸乙酯萃取物对粘虫的作用结果
Table 4 Effect of ethyl acetate extract on armyworm

处理浓度 ·mL ⁻¹	第1d		第2d		第3d		第7d	
	校正 死亡率	拒食 率	校正 死亡率	拒食 率	校正 死亡率	拒食 率	蜕皮 率	校正 死亡率
10	0	18.8	5	4.6	0	0	85	0
20	0	38.8	0	9.2	0	1.3	85	22
30	0	48.2	5	12.6	5.2	19	83	17
40	10	51.8	16	16.7	6	23	80	33
50	10	55.3	16	24.7	16	45	73	22
ck	—	—	—	—	—	—	95	22

3 讨论

核桃叶提取物及95%乙醇冷提物的石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇的4种萃取物对粘虫与小菜蛾均有一定的拒食作用,但以95%乙醇冷提物的活性较高。

95%乙醇冷提物的乙酸乙酯萃取物对粘虫的拒

食作用随浓度的增加而增加,并有抑制粘虫生长发育的作用;95%乙醇冷提物对小菜蛾的拒食活性成分主要集中在正丁醇萃取物中。

由于小菜蛾不易饲养,提取物药液对其作用也存在着许多不确定因素,如选择更多的试虫来测定,有可能发现对核桃叶提取物中农药活性成分更敏感的害虫。另外将核桃叶提取物与其它已确定的植物源杀虫活性物质如苦楝素、鬼臼毒素等进行毒力对比试验,及对核桃叶提取物的拒食活性部位进行分离、纯化和活性跟踪等均有待进一步研究。

参考文献:

[1] 张兴. 植物性农药在生防中的地位 and 作用[J]. 世界农业, 2003,2(1):31-32.

[2] 姚宇澄,李广仁. 牛心朴子草植物农药的生物活性研究[J]. 内蒙古工业大学学报,2001,20(1):1-5.

[3] 胡美英,徐汉虹. 羊角扭对菜粉蝶幼虫的生物活性及药效研究[J]. 华南农业大学学报,2000,21(1):41-43.

[4] 陈立,徐汉虹. 唐古特瑞香对斜纹夜蛾的拒食活性研究[J]. 华南农业大学学报,2000,21(1):43-46.

[5] 张兴,赵善欢. 楝树植物对几种害虫的拒食和忌避作用[J]. 华南农学院学报,1983,4(3):1-7.

[6] 张兴. 几种川楝素提制品对菜青虫的生物活性[J]. 植物保护学报,1989,16(3):205-210.

[7] 张兴. 川楝素引致菜青虫中毒症状研究[J]. 西北农业大学学报,1993,21(1):27-30.

[8] 张兴,王兴林. 植物性杀虫剂川楝素的开发与研究[J]. 西北农业大学学报,1993,21(4):1-5.

[9] 郝荣庭,张毅萍. 中国果树志. 核桃卷[M]. 北京:中国林业出版社,1991.

[10] 翟梅枝,李晓明,林奇英,等. 核桃叶抑菌成分的提取及其抑菌活性测定[J]. 西北林学院学报,2003,18(4):89-91.

[11] 翟梅枝,杨秀萍,刘路. 核桃叶提取物对蚜虫的触杀作用[J]. 西北林学院学报,2001,16(4):55-56.

[12] 翟梅枝,杨秀萍,林奇英,等. 核桃叶提取物对杨毒蛾生物活性的研究[J]. 西北林学院学报,2003,18(2):65-67.

[13] 吴文君. 植物化学保护试验技术导论[M]. 西安:陕西科学技术出版社,1988.