

# 核桃青皮中次生代谢物质的生物活性研究 I 杀虫活性

翟梅枝<sup>1</sup>, 张凤云<sup>2</sup>, 魏花<sup>2</sup>, 王伟<sup>1</sup>

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

**摘 要:**对核桃青皮中次生物质的杀虫活性研究, 结果表明: 核桃青皮 95% 乙醇粗提物及其乙酸乙酯萃取部分对粘虫有较明显的拒食作用, 且乙酸乙酯萃取部分有明显的胃毒作用。但对小菜蛾而言, 石油醚萃取物和乙酸乙酯萃取物的拒食作用不如对粘虫作用明显。研究还表明, 随乙酸乙酯萃取物浓度的变化, 粘虫的拒食率、死亡率及生长发育抑制率都会有相应变化。且随着萃取物浓度的增加, 对粘虫的拒食作用增强。

**关键词:**核桃青皮; 生物活性; 粘虫; 小菜蛾

**中图分类号:** S789.4

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1001-7461(2006)01-0122-04

## A Study on the Bioactivity of Secondary Metabolites from Walnut Green Gull

ZHAI Mei-zhi, ZHANG Feng-yun, WEI Hua, WANG Wei

(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)

### 万方数据

**Abstract:** The green walnut hull extract with 95% ethanol and the fraction extracted from the extract above with ethyl acetate have obvious anti-feeding effect on armyworm and small vegetable-moth, and the fraction has obvious stomach poisoning effect. On contrast, the anti-feeding effects of the extracts from petroleum ether and ethyl acetate to small vegetable-moth are smaller than those to armyworm. The results also indicate that anti-feeding rate and death rate as well as growth inhibition rate of armyworm have correspondingly changed with the concentration change of the extract; the higher the concentration of extracts applied on armyworm, the better the anti-feeding effect.

**Key words:** walnut green hull; bioactivity; armyworm (*Mythimna separata*); small vegetable-moth (*Plutella xylostella*)

植物源农药是指从植物中提取对害虫、病菌、杂草等有害生物具有生物活性的代谢产物, 直接或间接加工成的农药。与化学农药比较, 植物源农药有着突出的优点: 一是由于它们的有效成分为天然物质, 而不是人工合成的化学物质。施用后较易分解为无毒物质, 对环境无污染。二是由于植物源农药有效成分的多元化, 使害虫较难产生抗药性。三是植物源农药对有益生物(即害虫天敌)安全<sup>[1,2]</sup>。据报道, 世界范围内已筛选出 2 400 多种对有害生物有控制作用的高等植物, 约占被筛选植物的 10%。目前全世界

已知具有杀虫作用的植物至少有 1 000 多种。至 2002 年底, 我国已有烟碱、苦参碱、楝素、茴蒿素和茶皂素等 20 多种植物源农药已正式登记注册, 生产厂家达 112 家。张兴等对我国西北地区杀虫植物做过广泛的筛选, 发现有 47 种植物具有明显的杀虫活性<sup>[3~5]</sup>。我国自然资源丰富, 植物种类繁多。从众多植物中筛选出具有农药活性的可开发植物具有越来越大的价值。核桃(*Juglans regia*)为胡桃科核桃属落叶乔木。在我国栽培历史悠久, 分布很广, 资源十分丰富。翟梅枝等人以核桃叶为原料, 对提取物的抑

收稿日期: 2005-06-24 修回日期: 2005-09-05

项目基金: 陕西省科技攻关项目(2004K03-G5), 西北农林科技大学优秀人才专项基金(04ZR005)。

作者简介: 翟梅枝(1963-), 女, 河南西平人, 副教授, 博士, 目前主要从事资源植物利用与病虫害生物防治研究。

菌<sup>[6]</sup>、杀虫<sup>[7~9]</sup>、抗病毒<sup>[10]</sup>等活性进行了研究,取得了较好的结果。但对核桃青皮的农药活性研究方面未见报道,本研究以核桃青皮为原料,对其次生代谢物质进行了提取和萃取分离,以粘虫和小菜蛾为试虫进行农药活性测定,进而确定其活性部位,为进一步分离纯化活性成分打下基础,为深度开发利用核桃青皮这一优势资源提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 核桃青皮 采自陕西省渭北核桃产区黄龙县。经风干、粉碎(40目),冷藏备用。

1.1.2 供试昆虫 试验所用粘虫、小菜蛾幼虫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 乙醇粗提物制备 以95%乙醇为溶剂,冷浸提取核桃青皮粉3次,合并滤液,减压( $P>0.08$  MPa,  $t=34^{\circ}\text{C}$ )浓缩至膏状,得核桃青皮乙醇粗提物(得率4.8%)。

1.1.4 萃取物制备 选用极性由低到高的石油醚、乙酸乙酯、正丁醇3种溶剂,依次对95%乙醇浸膏的水悬液进行萃取分离,各溶剂萃取液减压浓缩得相应溶剂萃取物的浸膏,稀释一定浓度后备用。

1.2 方法

1.2.1 拒食及胃毒毒力测定 采用小叶碟添加法<sup>[12]</sup>,试验共设7个处理,即95%乙醇粗提物,粗提物的石油醚、乙酸乙酯、正丁醇3个萃取相和对照1(纯丙酮)、对照2(水:丙酮=1:2),对照3(水:丙酮=2:1)。各待试物质用适当溶剂溶解、稀释(见表1),浓度均为20 mg·mL<sup>-1</sup>。

1.2.2 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相对明显拒食作用的乙酸乙酯萃取稀释成10、15、20、30 mg·mL<sup>-1</sup>进行不同浓度萃取物的拒食活性测定,试验方法:小叶碟添加法。

1.2.3 结果统计方法

死亡率(/%)=(试虫死亡数/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]%;

蜕皮率(/%)=(蜕皮试虫数/试虫总数×100)%。

表1 供试样品一览表

Table 1 Testing sample

供试药品	溶解所用溶剂
95%乙醇粗提物	水:丙酮=1:2
石油醚萃取物	纯丙酮
乙酸乙酯萃取物	纯丙酮
正丁醇萃取物	水:丙酮=2:1
ck1	纯丙酮
ck2	水:丙酮=1:2
ck3	水:丙酮=2:1

注:各供试药品的对照液为相应得溶解溶剂

2 结果与分析

2.1 不同处理对粘虫的拒食作用

不同处理对粘虫3龄幼虫的拒食及胃毒作用测定结果(表2)表明:在浓度为20 mg·mL<sup>-1</sup>时,各处理对试虫均有一定的拒食及胃毒作用,作用效果因处理不同而异。各处理的作用大小依次为:乙酸乙酯萃取物>95%乙醇粗提物>石油醚萃取物>正丁醇萃取物。乙酸乙酯萃取物对粘虫的拒食率和死亡率最高,处理第1 d的拒食率和校正死亡率分别达到67.9%和60.0%;第3 d时拒食率为65.0%;处理7 d时,试虫死亡率为90.0%。由表2还可看出:乙酸乙酯萃取物处理,粘虫的死亡主要集中在第1 d和第2 d,这说明萃取物引起试虫死亡的原因除拒食引起的饥饿外,还有胃毒作用。正丁醇萃取物对试虫的拒食率最低,而石油醚萃取物处理7 d的试虫死亡率最低(13.3%),比对照低3.4%。推测可能是由于试虫的个体差异所致。由各处理的测定结果可初步推断,核桃青皮中拒食及胃毒活性成分主要集中在乙酸乙酯萃取物中。

2.2 不同处理对小菜蛾的拒食作用

用相同试剂对小菜蛾3龄幼虫进行拒食及胃毒作用试验,结果从表3可看出:浓度为20 mg·mL<sup>-1</sup>时,处理组对小菜蛾都有一定的拒食及胃毒活性。各处理的拒食作用大小依次为:乙酸乙酯萃取物>石

表 2 不同处理对粘虫的拒食效果

Table 2 Antifeeding effect of different extracts on armyworm

%

供试样品	第 1d 的校 正死亡率	第 1d 的拒 食率	第 2d 的校 正死亡率	第 2d 的拒 食率	第 3d 的校 正死亡率	第 3d 的拒 食率	7d 时的死 亡率
95%乙醇粗提物	28.0	33.3	14.3	21.3	0	0	43.3
石油醚萃取物	10.0	8.9	3.3	17.7	0	0	13.3
乙酸乙酯萃取物	60.0	67.9	30.0	30.0	0	65.0	90.0
正丁醇萃取物	5.6	3.4	0	0	0	0	16.7
ck1	—	—	—	—	—	—	16.7
ck2	—	—	—	—	—	—	16.7
ck3	—	—	—	—	—	—	16.7

油醚萃取物>95%乙醇粗提物>正丁醇萃取物。粗提物处理的试虫在第 1、2 d 的拒食率分别为 1.0%和 11.4%，第 3 d 无拒食现象，虽然该处理的拒食率较低，但死亡率却较高，为 40.0%，仅次于乙酸乙酯萃取物处理的试虫死亡率(57.0%)；乙酸乙酯萃取物处理的试虫其拒食率与死亡率都相对较高，且乙酸乙酯萃取物和石油醚萃取物处理的试虫其拒食率随着处理时间的延长而增加；死亡率在处理前 3 d

都为 0，7 d 时达到 57%。各处理对试虫死亡率的影响大小依次为：乙酸乙酯萃取物>95%乙醇提取物>正丁醇萃取物>石油醚萃取物。由此可初步推断，核桃青皮提取物对小菜蛾拒食作用的农药活性部位主要集中在乙酸乙酯萃取物中，且有一定的胃毒作用。但与各处理对粘虫的拒食及胃毒作用效果比较，核桃青皮的次生物质对粘虫的农药活性更强些。

2.3 不同浓度乙酸乙酯萃取物对粘虫的致毒作用

表 3 不同处理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 的校 正死亡率	第 1d 的拒 食率	第 2d 的校 正死亡率	第 2d 的拒 食率	第 3d 的校 正死亡率	第 3d 的拒 食率	7d 时的死 亡率
95%乙醇粗提物	0	1.0	0	11.4	0	0	40.0
石油醚萃取物	0	1.5	0	12.5	0	32.8	30.0
乙酸乙酯萃取物	0	16.9	0	28.6	0	33.7	57.0
正丁醇萃取物	3.5	2.9	0	0	0	7.3	33.3
ck1	—	—	—	—	—	—	26.7
ck2	—	—	—	—	—	—	23.3
ck3	—	—	—	—	—	—	23.3

表 4 乙酸乙酯萃取物对粘虫的致毒作用

Table 4 Poisoning effect of the extracts from ethyl acetate on armyworm

%

处理浓度 /mg·mL <sup>-1</sup>	第 1d 的 校正死亡 率	第 1d 的 拒食率	第 2d 的 校正死亡 率	第 2d 的 拒食率	第 3d 的 校正死亡 率	第 3d 的 拒食率	第 3d 的 蜕皮率	7 d 时累 计死亡率
10	20.4	24.4	0	0	0	0	85	70.0
15	26.7	32.8	10	0	3.5	0	85	77.5
20	30.1	38.8	0	17.1	3.5	17.2	80	83.3
30	34.5	46.3	0	14.4	6.9	43.9	80	93.3
ck1	—	—	—	—	—	—	95	16.7

表 2 显示，乙酸乙酯萃取物浓度为 20 mg·mL<sup>-1</sup>时，对粘虫具有较强的拒食活性。以不同浓度的乙酸乙酯萃取物进行活性测定，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，随萃取物浓度的增加拒食率呈递增的趋势，且胃毒作用明显。各处理在第 1 d 的校正死亡率依次为

20.4%、26.7%、30.1%和34.5%，7 d时的累计死亡率都在70%以上，且随着处理浓度的提高死亡率递增，30 mg·mL<sup>-1</sup>处理的死亡率达93.3%。20 mg·mL<sup>-1</sup>处理的试虫在7 d后的死亡率为83.3%，低于表2中90%，推测这可能是试虫个体间的差异所致。从饲喂3 d后粘虫的蜕皮率可知，萃取物有抑制粘虫生长发育的作用。随药液浓度的增加，对试虫生长发育的抑制作用增强。浓度10 mg·mL<sup>-1</sup>和30 mg·mL<sup>-1</sup>处理，粘虫在3 d后的蜕皮率分别为85%和80%，对照处理的蜕皮率为95%。试验观察表明，用高浓度药液浸过的叶片饲喂试虫，试虫死后虫体后半部分呈明显的褐色，这与核桃叶提取物的乙酸乙酯萃取物处理粘虫的现象一致，初步推断可能是药液对粘虫中肠有一定的破坏作用所致。

### 3 结论与讨论

试验表明，核桃青皮95%乙醇提取物及其石油醚、乙酸乙酯、正丁醇的3种萃取物对粘虫与小菜蛾都有一定的拒食和胃毒作用，对粘虫的作用效果更明显。萃取物中的杀虫活性成分主要集中在乙酸乙酯部分，不同浓度的乙酸乙酯萃取物对粘虫的拒食作用，随萃取物浓度的增加拒食率呈递增的趋势，且胃毒作用明显。处理7 d时的累计死亡率都在70%以上，30 mg·mL<sup>-1</sup>处理的试虫死亡率达93.3%。

乙醇是最常用的有机溶剂，毒性小，价格便宜，来源方便，沸点适中，易于回收，提取物不易发霉变质。乙醇对植物细胞的穿透能力强，除蛋白，粘液质，果胶，淀粉和部分多糖外，大多数次生代谢物质都能在乙醇中溶解。因此，试验中采用95%乙醇提取核桃青皮中的次生代谢物质。

本试验仅对核桃青皮的醇提取物及其萃取物的拒食和胃毒作用进行了初步研究，要证实其有无触杀作用及进一步确定其拒食和胃毒的活性成分仍需深入

研究。同时由于小菜蛾不易饲喂，试验中存在着许多不确定因素。如果选择更多的试虫来进行核桃青皮中杀虫活性的筛选，有可能找到对青皮中次生代谢物质更敏感的害虫。另外将已确定的杀虫活性物质如苦楝素、鬼臼毒素等与核桃青皮提取物或杀虫活性成分进行毒力对比试验，则可以进一步确定核桃青皮中活性成分的杀虫效果。当然，若能分离和纯化到起活性作用的化合物，对开展有害生物的生物防治和充分利用核桃青皮这一优势资源都将会有更广阔的应用前景。核桃青皮中杀虫活性化合物的分离、纯化和活性跟踪等研究工作正在进行。

### 参考文献:

- [1] 何衍彪, 詹儒林, 赵艳龙. 植物源农药的研究和应用[J]. 热带农业科学, 2004, 24(3): 58-62.
- [2] 张兴. 植物性农药在生防中的地位和作用[J]. 世界农业, 2003, 2(1): 31-32.
- [3] 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.
- [4] 张兴, 付昌斌. 新杀虫植物砂地柏研究进展[J]. 西北农业大学学报, 1995, 23(4): 53-57.
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] 翟梅枝, 张凤云, 刘朝斌, 等. 核桃叶提取物对粘虫和小菜蛾的拒食活性研究[J]. 西北林学院学报, 2005, 20(2): 138-140.
- [10] 翟梅枝, 高芳奎, 沈建国, 等. 抗TMV的植物筛选及提取条件对看病毒物质活性的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2004, 32(7): 45-49.
- [11] 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.
- [12] 吴文君. 植物化学保护实验技术导论[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1988.
- [5] 王海晖, 朱霁平, 姜伟, 等. 森林地表火行为估算的数学模型[J]. 火灾科学, 1994, 3(1): 35-41.
- [6] Rothermel R C. Mathematical model for predicting fire spread in wildland fuels USDA[M]. Forest Service Research Paper INT, 1972. 115.
- [7] 中国人民武装部队学院. 火灾爆炸事故实例选编[M]. 北京: 群众出版社, 1985. 381-383.
- [8] 郑焕能. 火场参数的计算与应用[J]. 森林防火, 1988, (4): 17.
- [9] Kurbatsky N, Ivanova G. . Fire danger of forests-steppe pine forests and ways of its decrease [M]. V. N. Sukachev Forest and Wood Institute, Krasnoyarsk, 1987. 113.

(上接第121页)

### 参考文献:

- [1] 王永安. 对城市林业的几点看法[J]. 国土绿化, 1995, (4): 25-27.
- [2] 范维澄, 王清安, 张人杰, 等. 火灾科学导论[M]. 武汉: 湖北科学技术出版社, 2002.
- [3] 郝育军, 苑铁军. 血与火的创痛记忆—大兴安岭火灾十五周年祭[J]. 森林与人类, 2002, (5): 11-12.
- [4] 张贵, 肖化顺. 广州市城市森林生态网络建设[J]. 河南科技大学学报, 2003, (4): 35-38.