

李水清, 张琳琳. 假臭草杀虫成分的微波辅助提取及生物活性[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(1): 136–138.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.01.046

假臭草杀虫成分的微波辅助提取及生物活性

李水清, 张琳琳

(长江大学化学与环境工程学院, 湖北荆州 434023)

摘要:在微波加热条件下, 以石油醚、三氯甲烷、乙酸乙酯、丙酮、乙醇为溶剂对假臭草叶干粉进行提取, 研究了上述溶剂提取物对蓼蓝齿胫叶甲幼虫的触杀、胃毒及拒食活性的影响。研究表明, 各溶剂提取物对蓼蓝齿胫叶甲幼虫均具有一定的触杀、胃毒和拒食活性, 其中以乙醇提取物的触杀作用最强, 处理后 48 h 的校正死亡率达到 39.22%; 丙酮提取物的胃毒活性和拒食活性最强, 处理 48、72 h 后分别达到 45.27%、46.67%。

关键词:假臭草; 蓼蓝齿胫叶甲; 触杀; 胃毒; 拒食

中图分类号:S482.3⁺⁹ **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)01-0136-03

假臭草 (*Eupatorium catarium*) 是菊科泽兰属一年生草本植物。在国内, 假臭草于 20 世纪 80 年代在香港首次被发现, 但一直被误认为是熊耳草 (*Ageratum houstonianum* Mill), 直到 1995 年才被鉴定。上世纪 90 年代假臭草开始在深圳出现, 现在已经占领了广东、福建、澳门、香港、台湾、海南等沿海地区大部分荒地、荒地、滩涂、林地、果园。由于假臭草对土壤肥力的吸收力强, 会极大地消耗土壤养分, 因此对土壤可耕性的破坏极为严重, 严重影响林木的生长^[1-2]。假臭草含有许多

具有生物活性的次生代谢产物, 如邓世明等从假臭草的 70% 乙醇提取物的乙酸乙酯萃取物中分离得到 5 种黄酮化合物^[3]。假臭草挥发油对许多植物种子萌发和生长具有抑制作用, 如邓世明等研究表明高浓度的假臭草超声提取液能显著抑制小粒的种子萌发, 抑制植物幼根的生长^[4]; 林成俊等在假臭草中分离、鉴定出一种全顺-环己烷-1,2,4-三醇的物质, 该物质能抑制萝卜和小白菜种子的萌发^[5]。假臭草的挥发油还能对昆虫和真菌能产生忌避或抑制作用^[4], 如假臭草的甲醇与乙醇的提取物均对螺旋粉虱成虫、荔枝粗胫翠尺蛾具有较强的杀虫活性和拒食活性^[7-8], 岑伊静等发现假臭草挥发油对柑橘木虱成虫也有显著的驱避作用^[9]。本试验在微波加热条件下, 以石油醚、三氯甲烷、乙酸乙酯、丙酮、乙醇为溶剂分别对假臭草中的生物活性物质进行提取, 并研究了各溶剂提取物对蓼蓝齿胫叶甲的触杀、胃毒及拒食活性的

收稿日期: 2014-03-09

基金项目: 湖北省教育厅科研项目 (编号: Q200712003); 长江大学博士科研基金。

作者简介: 李水清 (1969—), 男, 湖北仙桃人, 博士, 教授, 从事化学生态学和害虫综合治理研究。E-mail: shuiqing2000@163.com。

得知, 四斑广盾瓢虫成虫对桃蚜高龄若蚜或成蚜的最佳寻找密度为 32.31, 即以四斑广盾瓢虫控制桃蚜高龄若蚜或成蚜的益害比可设为 1:32.31, 但是四斑广盾瓢虫对桃蚜的寻找效应随着猎物密度的增加而下降, 且室内的环境条件相对简单, 试验所用的小塑料杯也会缩短四斑广盾瓢虫对猎物的寻找时间, 而田间的环境条件相对比较复杂, 势必会影响四斑广盾瓢虫对桃蚜的捕食情况, 拟定益害比为 1:32.31, 也没有考虑到若蚜的情况, 这个结果可能与田间实际情况有偏差, 因此在实际应用时, 应当结合实际的田间条件应用该天敌。但是该试验结果对实际生产还是有一定的参考价值。

本试验所用的试虫为未分雌雄的混合种群, 雌虫、雄虫及若虫各自对桃蚜的捕食功能反应有待于深入研究。

参考文献:

- [1] 张 钊. 桃蚜的发生及防治[J]. 现代农村科技, 2009(13): 20.
- [2] 李明桃. 桃蚜的生物学特性与防治措施[J]. 农业灾害研究, 2013, 3(2): 1–4.
- [3] 曾 斌. 异色瓢虫人工大量繁殖与田间释放技术研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013: 4–6.
- [4] 郝丹青, 郝丹东. 七星瓢虫对桃蚜的捕食功能反应研究[J]. 农业

科学研究, 2005, 26(2): 18–20.

- [5] 王延鹏, 吕 飞, 王振鹏. 异色瓢虫开发利用研究进展[J]. 华东昆虫学报, 2007, 16(4): 310–314.
- [6] Holling C S. Some characteristics of simple type of predation and parasitism[J]. Canadian Entomologist, 1959, 91: 385–398.
- [7] Hassell M R, Varley G C. New inductive population model for insect parasites and its bearing on biological control[J]. Nature, 1969, 223: 1133–1137.
- [8] 邹运鼎, 耿继光, 陈高潮, 等. 异色瓢虫若虫对麦二叉蚜的捕食作用[J]. 应用生态学报, 1996, 7(2): 197–200.
- [9] 陈国华, 陶 玫, 杨本立, 等. 黑红缘瓢虫种群动态及捕食功能反应研究[J]. 云南农业大学学报, 2003, 18(2): 136–139.
- [10] 汪世泽, 夏楚贵. Holling-Ⅲ型功能反应新模型[J]. 生态杂志, 1988, 7(1): 1–3.
- [11] 辛肇军, 卓德干, 李照会. 龟纹瓢虫成虫对亚洲玉米螟卵的捕食作用[J]. 山东农业大学学报: 自然科学版, 2011, 42(2): 191–193.
- [12] 刘虎威, 宁 格, 李正跃, 等. 索乔球螋成虫对亚洲玉米螟幼虫和蛹的捕食作用研究[J]. 西南农业学报, 2014, 27(2): 631–634.
- [13] 林长春, 陈国华, 陶 玫, 等. 异色瓢虫对异毛真胸蚜的捕食功能反应研究[J]. 云南农业大学学报, 2009, 24(3): 364–368.

影响,旨在为充分利用植物资源、开发与环境相适应的生物农药提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 植物材料 野生假臭草采自长江大学周边,洗净,取其叶,自然风干,然后在 60 ℃ 恒温干燥箱中干燥 8 h,粉碎,密封保存备用。

1.1.2 供试昆虫 蓼蓝齿胫叶甲 (*Gastrolphysa atrocyanea*) 幼虫,采集于荆州护城河畔皱叶酸模上,室内饲养后挑选整齐一致的幼虫供试。室内饲养条件:温度(27 ± 1) ℃,空气相对湿度(80 ± 5)%,光-暗周期 14 h-10 h。

1.1.3 主要仪器 微电脑微波化学反应器 WBFY-201(巩义市予华仪器有限责任公司);DNP-9052BS-Ⅲ 电热恒温培养箱、QHX-250BS-Ⅲ 人工气候箱(上海新苗医疗器械制造有限公司);RE-52A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)。

1.1.4 化学试剂 石油醚、乙酸乙酯(分析纯,天津市福晨化学试剂厂),三氯甲烷、丙酮(分析纯,武汉市中天化工有限责任公司),乙醇(分析纯,安徽安特生物化学有限公司);琼脂粉(化学纯,北京奥博星生物技术有限责任公司);十二烷基磺酸钠(分析纯,天津市光复精细化工研究所)。

1.2 方法

1.2.1 微波辅助提取 准确称取 10 g 假臭草叶干粉,分为 5 份,分别放入 100 mL 圆底烧瓶中,往烧瓶中分别加入 40 mL 石油醚、三氯甲烷、乙酸乙酯、丙酮、乙醚。将烧瓶放入微电脑微波化学反应器中,并安装好冷凝装置,提取 5 min。将提取液减压抽滤,旋转蒸发器浓缩至稠膏状为止。将稠膏状提取物用丙酮稀释后转入 50 mL 容量瓶中,加入 10 mL 0.1% 十二烷基磺酸钠,配制成 40 mg/mL 的丙酮溶液,供试。

1.2.2 触杀活性的测定 采用点滴法^[10],即将各溶剂提取物用微量点滴器点滴于试虫的前胸背板,每虫点滴 1 μL,以用 0.1% 十二烷基磺酸钠水溶液稀释后的丙酮溶液为对照。处理后的幼虫置于培养皿(内垫滤纸,加少许蒸馏水保湿)中,每皿接入大小基本一致的蓼蓝齿胫叶甲幼虫 20 头,以保鲜膜封口,膜上打孔以利通风透气,每个处理重复 3 次。于处理后 12、24、36、48 h 后分别检查并记录死亡情况。以毛笔尖碰触幼虫腹部的末端,头部不能摆动,身体不能向前爬行判为死亡的标记。计算死亡率、校正死亡率,用 DPS 软件分析数据。

死亡率 = 死虫数 / 供试虫数 × 100%;

校正死亡率 = (处理组死亡率 - 对照组死亡率) / (1 - 对照组死亡率) × 100%。

1.2.3 胃毒活性的测定 采用带毒夹片法^[11],即取皱叶酸模叶片,洗净后,用直径 3.0 cm 的打孔器打成直径为 3.0 cm 的叶碟,取 2 片同样大小的皱叶酸模叶碟,在其中一片的背面用医用脱脂棉均匀涂抹不同溶剂的假臭草提取液(40 mg/mL),在另一片的正面涂上琼脂(琼脂粉加水煮沸调配而成),迅速将 2 片叶碟对合,制成带毒夹片。将带毒夹片置于培养皿(内垫滤纸,加少许蒸馏水保湿)中,每皿放 8 个带毒夹片,接入大小基本一致的蓼蓝齿胫叶甲幼虫 20 头。以保鲜膜封口,膜上打孔以利通风透气。以用 0.1% 十二烷基磺酸钠水溶液稀释后的丙酮溶液为溶剂对照,每个处理重复 3 次。于处理

24、48、60、72 h 后分别检查并记录蓼蓝齿胫叶甲幼虫死亡情况,计算死亡率、校正死亡率。

1.2.4 拒食活性的测定 采用小叶碟法^[12],即取皱叶酸模叶片,洗净后用直径 1.5 cm 的打孔器打成直径为 1.5 cm 的叶碟,分别浸渍于不同溶剂的假臭草提取液(40 mg/mL)中 3 s,取出后用吸水纸吸取叶碟边缘的多余药液,放入培养皿(内垫滤纸,加少许蒸馏水保湿)中,每皿放 50 片叶碟,接入 20 只试虫。以保鲜膜封口,膜上打孔以利通风透气。以用 0.1% 十二烷基磺酸钠水溶液稀释后的丙酮溶液为溶剂对照,每个处理重复 3 次。于处理 12、24、36、48 h 后分别调查取食情况,计算取食指数和拒食率。按下面的分级标准及公式统计计算。

零级:无取食痕迹;Ⅰ级:零星取食;Ⅱ级:有明显取食缺刻;Ⅲ级:取食面积约占 1/3;Ⅳ级:取食面积约占 1/2;Ⅴ级:取食面积约占 3/4;Ⅵ级:仅留下少量残渣。

取食指数 = $\frac{\sum(\text{危害级别} \times \text{各级叶碟数})}{\text{总叶碟数} \times \text{最高级别} \times \text{参试总虫数}} \times 100\%$;

拒食率 = $\frac{\text{对照取食指数} - \text{处理取食指数}}{\text{对照取食指数}} \times 100\%$ 。

2 结果与分析

2.1 假臭草各溶剂提取物对蓼蓝齿胫叶甲幼虫的触杀活性 微波加热条件下,假臭草各溶剂提取物对蓼蓝齿胫叶甲幼虫的触杀活性见表 1。从表 1 可看出,在微波辅助加热条件下,5 种溶剂的假臭草提取物在浓度为 40 mg/mL 时,对蓼

表 1 假臭草各溶剂提取物对蓼蓝齿胫叶甲幼虫触杀活性的影响

处理后时间 (h)	处理	死亡率 (%)	校正死亡率 (%)
12	A	5.00 ± 0.00	5.00 ± 0.00c
	B	10.00 ± 0.00	10.00 ± 0.00b
	C	11.67 ± 2.89	11.67 ± 2.89b
	D	13.33 ± 2.89	13.33 ± 2.89b
	E	23.33 ± 2.89	23.33 ± 2.89a
	F	0.00 ± 0.00	
24	A	10.00 ± 0.00	5.26 ± 0.00c
	B	15.00 ± 0.00	10.53 ± 0.00b
	C	18.33 ± 2.89	14.04 ± 3.04b
	D	18.33 ± 2.89	14.04 ± 3.04b
	E	30.00 ± 5.00	26.32 ± 5.26a
	F	5.00 ± 0.00	
36	A	13.33 ± 7.64	7.41 ± 3.20ab
	B	21.67 ± 2.89	12.96 ± 3.21b
	C	30.00 ± 5.00	22.22 ± 5.56ab
	D	25.00 ± 5.00	16.67 ± 5.56b
	E	40.00 ± 0.00	33.33 ± 0.00a
	F	10.00 ± 0.00	
48	A	25.00 ± 0.00	11.76 ± 0.00d
	B	30.00 ± 0.00	17.65 ± 0.00c
	C	38.33 ± 2.89	27.45 ± 3.39b
	D	30.00 ± 5.00	17.65 ± 5.88c
	E	48.33 ± 2.89	39.22 ± 3.40a
	F	15.00 ± 0.00	

注:表中 A、B、C、D、E、F 分别代表石油醚、三氯甲烷、乙酸乙酯、丙酮、乙醇、溶剂对照(0.1% 十二烷基磺酸钠水溶液稀释后的丙酮溶液);表中数据均为平均值 ± 标准偏差,数据经反正弦变换后进行方差分析。处理后相同时间校正死亡率数据后有相同字母者是经 Duncan's 新复极差检验差异不显著(P>0.05),表 2、表 3 同。

蓝齿胫叶甲幼虫均有一定的触杀活性。处理 12、24、36、48 h 后,均以乙醇提取物的触杀活性最强,与其他几种溶剂提取物相比,触杀活性存在显著差异,而石油醚提取物的触杀活性最弱。此外,随时间的增加,各溶剂提取物的触杀活性均有增强趋势。

2.2 假臭草各溶剂提取物对蓼蓝齿胫叶甲幼虫的胃毒活性

假臭草各溶剂提取物对蓼蓝齿胫叶甲幼虫的胃毒活性见表 2。由表 2 可看出,5 种溶剂的假臭草提取物在浓度为 40 mg/mL,处理 24、48、60、72 h 后均对蓼蓝齿胫叶甲幼虫表现一定的胃毒活性,以丙酮提取物的胃毒活性最强,处理后 72 h 校正死亡率为 46.67%。

表 2 假臭草各溶剂提取物对蓼蓝齿胫叶甲幼虫胃毒活性的影响			
处理后时间 (h)	处理	死亡率 (%)	校正死亡率 (%)
24	A	10.00±0.00	10.00±0.00c
	B	5.00±0.00	5.00±0.00d
	C	16.67±2.89	16.67±2.89b
	D	23.33±2.89	23.33±2.89a
	E	15.00±0.00	15.00±0.00b
	F	0.00±0.00	
48	A	15.00±0.00	10.53±0.00c
	B	10.00±0.00	5.26±0.00d
	C	23.33±2.89	19.30±3.04b
	D	31.67±2.89	28.66±4.05a
	E	21.67±2.89	17.54±3.04b
	F	5.00±0.00	
60	A	23.33±2.89	11.76±0.00b
	B	20.00±0.00	5.88±0.00b
	C	36.67±2.89	25.49±3.39a
	D	40.00±5.00	29.41±5.88a
	E	31.67±2.89	22.50±4.43a
	F	15.00±0.00	
72	A	36.67±2.89	15.55±3.85d
	B	30.00±0.00	6.67±0.00e
	C	50.00±0.00	33.33±0.00b
	D	60.00±0.00	46.67±0.00a
	E	45.00±0.00	26.67±0.00c
	F	25.00±0.00	

2.3 假臭草各溶剂提取物对蓼蓝齿胫叶甲幼虫的拒食活性

假臭草各溶剂提取物对蓼蓝齿胫叶甲幼虫的拒食活性见表 3。从表 3 可看出,假臭草的丙酮提取物对蓼蓝齿胫叶甲幼虫的拒食活性最强。

3 结论与讨论

本研究结果表明,在微波辅助加热条件下,石油醚、三氯甲烷、乙酸乙酯、丙酮、乙醇的假臭草叶提取物对蓼蓝齿胫叶甲幼虫均表现出一定的触杀、胃毒和拒食活性。其中,以乙醇提取物的触杀作用最强,而丙酮提取物的胃毒活性和拒食活性最强。今后将对假自草乙醇和丙酮提取物进行分离、提纯,鉴定出具有杀虫活性的物质,开发与环境相适应的植物源农药。

表 3 假臭草各溶剂提取物对蓼蓝齿胫叶甲幼虫拒食活性的影响			
处理后时间 (h)	处理	取食指数 (%)	拒食率 (%)
12	A	2.07±0.01	13.16±0.88c
	B	2.34±0.02	1.68±0.01d
	C	1.70±0.02	28.57±0.24b
	D	1.70±0.02	28.56±1.44b
	E	1.64±0.02	31.08±1.42a
	F	2.38±0.02	
24	A	3.13±0.01	2.49±0.01d
	B	2.88±0.02	10.19±0.91c
	C	2.72±0.02	15.18±0.90b
	D	2.44±0.02	23.91±0.41a
	E	2.76±0.02	13.93±0.39b
	F	3.21±0.01	
36	A	3.18±0.02	21.87±0.88c
	B	3.42±0.02	15.97±0.08d
	C	3.53±0.01	13.35±0.23e
	D	2.46±0.01	39.47±0.41a
	E	2.85±0.01	29.81±0.04b
	F	4.07±0.02	
48	A	3.25±0.02	28.57±0.12b
	B	3.73±0.01	17.95±0.44d
	C	3.89±0.01	14.43±0.20e
	D	2.49±0.02	45.27±0.23a
	E	3.30±0.02	27.47±0.12c
	F	4.55±0.02	

参考文献:

[1]Huang Q Q,Wu J M,Bai Y Y,et al. Identifying the most noxious invasive plants in China:role of geographical origin,life form and means of introduction[J]. Biodiversity and Conservation,2009,18(2):305-316.

[2]Weber E,Sun S G,Li B. Invasive alien plants in China:diversity and ecological insights[J]. Biological Invasions,2008,10(8):1411-1429.

[3]邓世明,杨先会,王 宁,等. 外来入侵植物假臭草的黄酮类成分研究[J]. 西北植物学报,2009,29(12):2548-2550.

[4]邓世明,王 宁,汤丽昌,等. 外来入侵植物假臭草的化感作用研究[J]. 中国农学通报,2010,26(16):277-280.

[5]林成俊,郭焕佳,庞淇尹. 入侵植物假臭草化感物质的分离及鉴定[J]. 安徽农业科学,2008,36(9):3497-3498.

[6]王真辉,安 锋,陈秋波. 外来入侵杂草——假臭草[J]. 热带农业科学,2006,26(6):33-37.

[7]钟宝珠,吕朝军,孙晓东,等. 青箱提取物对螺旋粉虱的杀虫活性研究[J]. 热带作物学报,2010,31(11):2025-2029.

[8]成家宁,陈炳旭,曾鑫年,等. 14 种植物乙醇提取物对荔枝粗胫翠尺蛾成虫产卵和幼虫取食的影响[J]. 果树学报,2011,28(2):290-295.

[9]岑伊静,叶峻铭,徐长宝,等. 柑橘木虱对几种非嗜食植物挥发油的趋性反应测定[J]. 华南农业大学学报,2005,26(3):41-44.

[10]慕立义. 植物化学保护研究方法[M]. 北京:中国农业出版社,1994:54-60.

[11]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,1988:43-49.

[12]张 兴,赵善欢. 楝科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.