

紫茉莉茎提取物及其萃取物对菜粉蝶幼虫的生物活性

彭跃峰 鲁红学 刘铁铮 (长江大学农学院, 湖北荆州 434025)

摘要 用饲喂法、叶片夹毒法、叶碟法测定了紫茉莉茎的3种极性溶剂(石油醚、氯仿和乙醇)提取物及萃取物对菜粉蝶幼虫的毒杀活性、胃毒作用、非选择性拒食活性。结果表明,紫茉莉茎氯仿提取物的毒杀与拒食效果最好,处理第5天后的校正死亡率为89.20%,取食第3天与第5天的拒食率分别为96.80%与99.67%;也测定了紫茉莉茎氯仿提取物(简称MSCE)各萃取物(正己烷、氯仿和水萃取物)对4龄菜粉蝶幼虫的生物活性。结果表明,MSCE的正己烷萃取物第5天与第7天的毒杀效果最好,其校正死亡率分别为79.80%与78.90%;其对4龄菜粉蝶幼虫的胃毒作用明显的强于其他各萃取物。

关键词 紫茉莉;提取物;萃取物;菜粉蝶;生物活性

中图分类号 Q949.96 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)13-03907-02

Biactivity of Extracts and Fractions from Stem of *Mrabilis jalapa* L. to *Pieris rapae* L.

PENG Yue-feng et al (Agricultural College, Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434025)

Abstract The poison activity, stomach toxicity action and nonselective food refusal activity of extracts and fractions obtained by extracting the stem of *Mrabilis jalapa* L. against the 4th instar larvae of *Pieris rapae* L. with 3 polarity solvents (petroleum ether, chloroform and ethanol) were determined by the methods of feeding, leaf sandwich and leaf dish. The results showed that the chloroform extracts had the best poison effects and food refusal action, with the corrected mortality of 89.20% after treatment at 5th day, and the food refusal rates of 96.80% and 99.67% after getting food at 3rd and 5th day respectively. Determination on the bioactivity of 3 fractions (hexane, chloroform and water fraction) of the chloroform fractions from stem of *Mrabilis jalapa* L. (MSCE) against 4th instar larvae of *Pieris rapae* L. indicated that the hexane fraction of MSCE possessed the best poison effects, with the corrected mortality of 79.80% and 78.90% after treatment at 5th and 7th day respectively. Its stomach poison action was remarkably higher than other fractions.

Key words *Mrabilis jalapa* L.; Extract; Fraction; *Pieris rapae* L.; Biactivity

菜粉蝶(*Pieris rapae* L.)是蔬菜上的重要害虫。近年来,其抗药性迅速增强,很多化学农药对其无能为力^[1]。同时,菜青虫(菜粉蝶的幼虫)防治中大量使用毒性较高的化学农药,造成蔬菜污染严重,影响人们的身体健康。因此,寻找对害虫防效好、对作物安全的无公害农药势在必行。植物源农药作为生物农药的重要组成部分,因其来源广、对害虫作用机制独特、不易产生抗性、与环境的兼容性好且又易与其他农药相混配等优点而倍受全世界农药研究及应用部门的广泛重视,已成为新一代农药开发与研究的热点^[2-3]。

紫茉莉具有生态适应广、生长速度快、繁殖力强和抗氯气等特性,我国大部分地区均有栽培。该植物易采收、活性成分的提取方法简单、粗提物收获率高、病虫害危害较少,符合植物源农药研究与开发的要求。目前对紫茉莉的研究还较少,离开发应用还有相当大的距离。为此,笔者就紫茉莉植物茎提取物及萃取物对菜青虫的杀虫活性进行初步研究,旨在开发出新的植物源杀虫剂。

1 材料与方

1.1 植物材料 紫茉莉(*Mrabilis jalapa* L.)为盛花期从长江大学植物园采集,阴干后置于50℃烘箱内鼓风吹干至发脆,再用微型植物试样粉碎机粉碎称重,装入棕色瓶贮存备用。

1.2 供试昆虫 菜粉蝶幼虫(*Pieris rapae* L.),由长江大学农学院养虫室提供。

1.3 方法

1.3.1 紫茉莉茎提取物的制备。称取50g植物茎干粉,用滤纸包好后,置于索氏提取器内,加入干粉重5~6倍的溶剂,回流24h,每份提取液过滤3次,然后用旋转蒸发器减压浓缩至稠膏状并称重。再将稠膏用丙酮定容至1g DW ml (DW为植物干粉重)的原液后,装入棕色细口瓶内备用。试

验时量取2ml提取物原液并用清水(98ml)稀释至2g DW ml,对照仅为丙酮水溶液(丙酮水=2:98)。

1.3.2 紫茉莉茎氯仿提取物(简称MSCE)各萃取物的制备。准确称取紫茉莉茎干粉2000g,分4等份,分别装入广口瓶中,加入5倍量的氯仿溶剂,置于50℃的恒温箱中进行浸泡提取;每次浸泡3~5d,重复3~5次,合并浸提液,抽滤、减压浓缩至稠膏并称重后,装入棕色细口瓶内备用。

试验时称取茎氯仿浸提稠膏15g,用1500ml含10%甲醇的水溶液搅拌后,装入分液漏斗中。依次用正己烷、氯仿萃取3~5次,将2种萃取液以及氯仿萃取后的水相分别减压浓缩至稠膏并称重。

1.3.3 毒杀活性测定。采用饲喂法测定毒杀活性。参照汪文陆的方法^[4]略有改动。将甘蓝叶片用圆形打孔器打成直径为3cm的叶碟,在待测药液或对照丙酮水溶液(丙酮水=2:98)中浸渍2~3s,取出晾干后,置于垫有滤纸的9cm培养皿中,每培养皿放入4片处理叶碟,接入饥饿4h的菜粉蝶4龄幼虫,每处理设3次重复,每重复10头试虫。第5天记载死亡情况,每天更换新鲜处理叶碟,按下面的公式计算死亡率和校正死亡率。

$$\text{死亡率} = \frac{\text{死亡虫数}}{\text{供试虫数}} \times 100$$

$$\text{校正死亡率} = \frac{\text{处理死亡率} - \text{对照死亡率}}{1 - \text{对照死亡率}} \times 100$$

1.3.4 胃毒作用的测定。采用叶片夹毒法测定胃毒作用。用打孔器将甘蓝叶片打成均匀的,直径为0.5cm的叶碟150片,将各萃取物配制成不同浓度(1.2、4、6、8 μg/ml)的丙酮溶液,各浓度处理30片叶碟,用微量进样器依次吸取5 μl不同浓度(浓度由低到高)的各萃取物丙酮溶液,均匀涂布到叶碟的一面上,各浓度处理15片叶碟,待丙酮挥发后,另取15片叶碟涂抹面粉糊,并与涂药的各浓度叶碟小心的对合,制成夹毒叶片。将无药叶片作底面,在直径为5cm的培养皿内放入1片(垫有湿滤纸保湿)夹毒叶片。每培养皿接入1头

基金项目 长江大学科学基金项目(HN D200303)。

作者简介 彭跃峰(1975-),女,山西右玉人,硕士,讲师,从事植物源农药的研究工作。

收稿日期 2007-01-21

饥饿4 h 的菜粉蝶幼虫,待其取食完夹毒叶片后,更换新鲜无毒叶碟,每浓度以5 头为一组,3 次重复,共15 头虫,空白对照叶碟仅涂与药液等量的丙酮溶剂,分别于试验后第5 天与第7 天调查结果,计算死亡率与校正死亡率,求出各萃取物的线性回归方程以及胃毒 LD_{50} 。

1.3.5 非选择性拒食活性测定。采用叶碟法。将新鲜甘蓝叶片用打孔器打成直径为2 cm 的叶碟,在药液中浸渍2 ~3 s,待叶碟晾干后,置于垫有滤纸的9 cm 培养皿中。每培养皿放入4 片处理叶碟,接入饥饿4 h 的菜粉蝶4 龄幼虫,对照组用丙酮水处理叶碟。每处理设10 次重复,每重复1 头试虫。第1、3、5 天分别用坐标方格纸测定取食或剩余面积,每天更换新鲜处理叶碟,按下式计算非选择性拒食率。

$$\text{非选择性拒食率} = \frac{\text{对照取食面积} - \text{处理取食面积}}{\text{对照取食面积}} \times 100$$

2 结果与分析

2.1 紫茉莉提取物对4 龄菜粉蝶幼虫的毒杀作用 由表1 可知,4 龄菜粉蝶幼虫在取食经紫茉莉茎各提取物处理的甘蓝叶碟第5 天后,各个紫茉莉提取物对4 龄菜粉蝶幼虫均有不同程度的毒杀作用,其中以紫茉莉的茎氯仿提取物毒杀效果最好,校正死亡率为89.20%。

表1 紫茉莉茎提取物对4 龄菜粉蝶幼虫的毒杀作用

茎提取物	供试虫数	死亡虫数	平均死亡率	校正死亡率
	头	头	%	%
石油醚提取物	30	17	56.60	53.50 a
氯仿提取物	30	27	90.00	89.20 c
乙醇提取物	30	19	63.30	60.70 b
对照	30	2	6.60	

注:供试茎提取物浓度为2 g DW ml;同列数据后的字母相同者表示DMRT 法检测差异不显著($P > 0.05$)。下同。

2.2 紫茉莉提取物对4 龄菜粉蝶幼虫的非选择性拒食作用

表2 表明,处理1 d 后,供试紫茉莉茎的不同极性溶剂提取物对4 龄菜粉蝶幼虫均有显著的非选择性拒食活性。其中紫茉莉茎乙醇提取物具有较强的拒食作用,拒食率为93.22%;其次为茎氯仿提取物,拒食效果为75.37%。处理第3 天与第5 天氯仿提取物对4 龄菜粉蝶幼虫均表现出极强的拒食活性,拒食率分别为96.80%与99.67%,而乙醇提取物的拒食率则下降为70.70%与65.71%。

表2 紫茉莉茎提取物对4 龄菜粉蝶幼虫的非选择性拒食作用

茎提取物	处理第1 天		处理第3 天		处理第5 天	
	取食面积	拒食率	取食面积	拒食率	取食面积	拒食率
	mm ² /头	%	mm ² /头	%	mm ² /头	%
石油醚提取物	102.71	55.36 a	591.40	40.83 a	473.30	47.43 a
氯仿提取物	56.67	75.37 b	32.00	96.80 c	3.00	99.67 c
乙醇提取物	15.60	93.22 c	292.90	70.70 b	308.70	65.71 b
对照	230.11		999.50		900.30	

2.3 MSCE 不同溶剂萃取物对4 龄菜粉蝶幼虫的毒杀作用

表3 表明,各萃取物在不同时间段对4 龄菜粉蝶幼虫毒杀作用不同。以正己烷萃取物饲喂第5 天与第7 天的毒杀效果最好,其中正己烷萃取物饲喂的校正死亡率分别为79.80%与78.90%。这表明对4 龄菜粉蝶幼虫起毒杀作用的活性成分主要为紫茉莉茎中的非极性物质。

2.4 MSCE 不同溶剂萃取物对4 龄菜粉蝶幼虫的非选择拒食作用 表4 表明,各萃取物处理甘蓝叶碟不同时间对4 龄

菜粉蝶幼虫均有显著的非选择拒食作用。但4 龄菜粉蝶幼虫仅对正己烷萃取物处理48 h 的叶碟具有较好的拒食活性,拒食率为61.10%。

表3 MSCE 的各萃取物对4 龄菜粉蝶幼虫的毒杀作用

处理	死亡率 %					校正死亡率 %				
	24 h	48 h	72 h	5 d	7 d	24 h	48 h	72 h	5 d	7 d
	正己烷萃取物	0	10	30	80	80	0a	5.3a	26.3c	79.8c
氯仿萃取物	0	20	20	20	20	0a	15.8b	15.8b	15.8b	26.3c
水萃取物	0	20	20	20	20	0a	15.8b	15.8b	15.8b	15.8b
对照	0	5	5	5	5	0a	0a	0a	0a	0a

注:处理及对照浓度为8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。下同。

表4 萃取物对4 龄菜粉蝶幼虫非选择拒食活性

处理	取食面积 cm ² /头				拒食率 %			
	24 h	48 h	72 h	5 d	24 h	48 h	72 h	5 d
	正己烷萃取物	1.74	3.85	9.81	16.57	11.70d	61.10d	48.10b
氯仿萃取物	1.86	8.62	18.51	30.13	5.60c	13.00c	2.20c	10.50c
水萃取物	1.51	4.81	9.60	15.34	23.70b	51.40b	49.30b	54.40b
对照	1.97	9.92	18.92	33.67	0a	0a	0a	0a

2.5 MSCE 不同溶剂萃取物对4 龄菜粉蝶幼虫的胃毒作用

采用叶片夹毒法就MSCE 不同溶剂萃取物对4 龄菜粉蝶幼虫进行胃毒作用测定,采用对半稀释法测定其在不同处理时间段的 LC_{50} ,结果见表5。表5 表明,MSCE 正己烷萃取物对4 龄菜粉蝶幼虫的胃毒作用均明显强于其他萃取物,其处理第5 天与第7 天后的 LC_{50} 分别为4.359 2 与2.487 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。这表明MSCE 正己烷萃取物为4 龄菜粉蝶幼虫胃毒作用的有效萃取物。MSCE 氯仿萃取物对4 龄菜粉蝶幼虫处理5 与7 d 后的胃毒作用仅次于MSCE 正己烷萃取物,其 LC_{50} 分别为13.264 0 与11.758 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

表5 MSCE 的各萃取物对4 龄菜粉蝶幼虫胃毒作用

处理	处理	回归直线方程	相关系数r	LC_{50} $\mu\text{g}/\text{ml}$
	时间 d			
正己烷萃取物	5	$Y = 4.1219 + 1.3733x$	0.9754	4.3592
	7	$Y = 4.2724 + 1.8382x$	0.9808	2.4878
氯仿萃取物	5	$Y = 4.6631 + 0.6557x$	0.9333	13.2640
	7	$Y = 4.1369 + 0.8065x$	0.9910	11.7585
水萃取物	5	$Y = 3.7786 + 0.7691x$	0.9378	38.7337
	7	$Y = 3.9148 + 0.6953x$	0.9802	36.3718

3 小结与讨论

紫茉莉(*Mrabilis jalapa* L.) 为紫茉莉科紫茉莉属1 年生草本植物^[5],具有很高的药用价值,其根、茎、叶、花及种子均可入药。药理研究证明,紫茉莉的根有抗癌、抑菌成分,叶有利尿成分,种子有避孕、溶血和凝血成分^[6]。目前国内对其药用成分和药理的研究较多,而对其在害虫防治上的研究甚少。徐汉虹曾提到紫茉莉花含有生物碱(有效成分为trigonelline) 可驱避和麻醉蚊虫,制成蚊香^[3]。该试验研究发现,紫茉莉茎提取物对4 龄菜粉蝶幼虫的活性与提取溶剂有直接关系。紫茉莉茎氯仿提取物对4 龄菜粉蝶幼虫具有较好的拒食活性与毒杀活性,这说明氯仿为提取紫茉莉茎活性成分的适宜溶剂。为进一步研究紫茉莉的活性成分,采用活性追踪的方法,对紫茉莉茎氯仿提取物作进一步的萃取分离并进行了生物测定,结果发现,4 龄菜粉蝶幼虫在取食经紫

(下转第3937 页)

(上接第3908页)

茉莉茎各萃取物处理的甘蓝叶碟的第5天后,其正己烷萃取物对4龄菜粉蝶幼虫具有较明显的胃毒与毒杀作用。由此可推测,氯仿提取物对4龄菜粉蝶幼虫的毒杀作用属于非神经毒杀作用,也即生长发育干扰作用。

参考文献

[1] 唐振华. 农业害虫抗药性 M. 北京: 农业出版社, 1982.

[2] 赵博光, 杨雪云. 植物源昆虫拒食剂的研究与应用前景 J. 南京林业大学学报: 自然科学版, 1999, 23(5): 70 - 74.

[3] 徐汉虹. 杀虫植物与植物性杀虫剂 M. 北京: 中国农业出版社, 2001: 386.

[4] 汪文陆, 赵善欢, 韩玖, 等. 苦楝中的几种杀虫有效成分对菜青虫和亚洲玉米螟的生物活性 J. 植物保护学报, 1992, 19(4): 359 ~ 364.

[5] 彭学苏. 花卉 M. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1982: 24.

[6] 中国科学院上海药物研究所. 中草药有效成分的提取与分离 M. 上海: 上海科学出版社, 1986.