

# 吴茱萸乙醇提取物对菜青虫的拒食活性研究

蒋春先, 周顺玉, 李庆\*, 王海建, 杨群芳

(1. 四川农业大学农学院, 四川雅安 625014; 2. 信阳农业高等专科学校, 河南信阳 464000)

**摘要** [目的] 为菜青虫的无公害化防治以及开发吴茱萸作为环保型农药提供试验依据。[方法] 室内测定吴茱萸乙醇提取物对菜青虫幼虫的拒食活性。[结果] 结果表明: 采用液-液萃取法对吴茱萸乙醇提取物进行了初步分离, 水相对菜青虫幼虫的拒食活性最强, 其选择性拒食活性和非选择性拒食活性较分离前分别提高了32.48%和22.37%。[结论] 吴茱萸乙醇提取物对菜青虫幼虫有较强的选择性和非选择性拒食活性, 提取物浓度越高, 作用效果越明显。

**关键词** 吴茱萸; 菜青虫; 拒食作用

中图分类号 S481+.9 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)01-0029-02

**Study on the Antifeedant Activity of Ethanol Extracts from *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. against *Pieris rapae* L.**

**JIANG Chun-xian et al** (College of Agronomy, Sichuan Agricultural University, Yaan, Sichuan 625014)

**Abstract** [Objective] The purpose of this research was to provide test base for controlling *Pieris rapae* L. with non-pollution and developing *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth as the environmental protection type pesticide. [Method] The antifeedant activity of ethanol extracts from *E. rutaecarpa* against *P. rapae* was determined in the laboratory. [Result] After the ethanol extracts from *E. rutaecarpa* was separated by liquid-liquid extraction method primarily, the water phase had the strongest antifeedant activity against *P. rapae* larval, with the choice and non-choice antifeedant activity were increased 32.48% and 22.37% resp. than that before separation. [Conclusion] The ethanol extracts from *E. rutaecarpa* had strong choice and non-choice antifeedant activity against *P. rapae*. The higher the extract concentration was, the more obvious the effect was.

**Key words** *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth.; *Pieris rapae* L.; Antifeedant function

菜青虫(*Pieris rapae* L.) 属鳞翅目粉蝶科(Heridae) 为十字花科植物的主要害虫。它取食植株叶片, 严重者能食光叶片, 仅剩下叶脉或叶柄, 造成蔬菜缺口和虫粪污染。此外, 菜青虫造成的伤口易感染大白菜软腐病等病菌而引起病害流行。对菜青虫的防治, 长期以来主要依靠化学农药。随着农药“3R”问题的不断凸显, 迫切要求寻找新的菜青虫治理技术。近年来, 开发天然资源物质, 研制新型高效、低毒杀虫剂倍受人们重视, 特别是利用天然植物作杀虫剂。

吴茱萸(*Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth.) 属芸香科(Rutaceae) 植物, 广泛分布于我国长江流域以南地区, 是一种传统中草药, 具有温中止痛、止呕降逆、助阳止泄等功效。国内对吴茱萸的研究主要集中在栽培管理方法、活性成份分析及药理分析上<sup>[1]</sup>, 而吴茱萸对作物害虫的生物活性国内外未见相关报道。为此, 笔者研究了吴茱萸乙醇提取物对菜青虫的生物活性, 以期对菜青虫的无公害化防治、开发吴茱萸作为环保型农药提供依据。

## 1 材料与方 法

**1.1 试验材料** 吴茱萸(*Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth.) 果实, 由重庆市南川中草药种植研究所提供。菜青虫(*Pieris rapae* L.) 采自四川省雅安市水中坝蔬菜地, 在室内繁殖数代, 试验时取健康活泼的3龄幼虫。

## 1.2 试验方法

**1.2.1 吴茱萸乙醇提取物的制备。**将吴茱萸果实洗净、烘干, 用小型植物试样粉碎机粉碎, 保存在密封瓶中, 备用。称取一定量的吴茱萸植物粉末, 加入5倍量(V/W)的工业酒精, 置于超声波细胞粉碎机中提取1h。工作参数为工作时间7s, 间隙3s, 温度保护50℃。过滤提取液, 减压浓缩得到吴茱萸乙醇提取物。

**1.2.2 吴茱萸乙醇提取物的初步分离。**采用液-液萃取法<sup>[2]</sup>对吴茱萸乙醇提取物进行初步分离。向制备好的吴茱萸乙醇提取物中加入5倍量蒸馏水溶解, 再依次用极性由小到大的溶剂(石油醚、乙酸乙酯、正丁醇)进行萃取, 萃取液用旋转蒸发器浓缩后, 分别得到石油醚萃取物、乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物和水萃取物。

**1.2.3 拒食活性的测定方法。**参照邹向菲的叶碟法<sup>[3]</sup>。用乙醇作溶剂, 将吴茱萸乙醇提取物配制成10、5、2.5、1.25、0.75 mg/ml 5个浓度。将从未施药的新鲜甘蓝叶片用矩形打孔器打成2cm×2cm的正方形, 放入提取物药液中浸3s(处理叶碟)或放入乙醇中浸3s(对照叶碟), 待乙醇自然挥发后, 放入垫有滤纸保湿的培养皿中。选择性试验中每皿交叉摆入处理和对照叶碟各2片, 非选择性试验中每皿摆入处理叶碟4片, 另设对照每皿摆入对照叶碟4片。每皿引入菜青虫3龄幼虫各1头, 重复5次。24h后用坐标纸记录各叶碟被取食面积, 按照以下公式计算拒食率(AFI)。然后, 参照陈立等方法<sup>[4]</sup>, 将拒食率转化为几率值(y)、浓度转化成对数(x)后进行线性回归, 采用自制Excel程序<sup>[5]</sup>计算拒食中浓度(AFC<sub>50</sub>)。

$$\text{选择性拒食率 AFI} = (C - T) / (C + T) \times 100 \quad (1)$$

$$\text{非选择性拒食率 AFI} = (C - T) / C \times 100 \quad (2)$$

式中, C为对照叶片被取食面积; T为处理叶片被取食面积。

测定吴茱萸初步分离物的拒食活性时, 采用5 ng/ml的浓度, 测定方法同上。

## 2 结果与分析

### 2.1 吴茱萸乙醇提取物对菜青虫3龄幼虫的拒食活性

**2.1.1 选择性拒食活性。**从表1可以看出, 吴茱萸乙醇提取物浓度越高, 菜青虫取食处理叶片面积越小。浓度为10 ng/ml的处理中, 菜青虫取食处理叶片面积最小, 与其他浓度处理之间存在0.05水平显著差异。而就取食对照叶面积而言, 各浓度处理之间差异不明显。吴茱萸乙醇提取物对菜青虫表现出较强的选择性拒食作用。拒食作用随吴茱萸乙醇

基金项目 四川省教育厅资助项目(2003A002)。

作者简介 蒋春先(1981-), 女, 四川中江人, 硕士, 助教, 从事农业昆虫与害虫防治的教学与科研工作。\* 通讯作者。

收稿日期 2007-08-15

提取物浓度增加而增强,且各浓度处理之间拒食活性存在 0.05 水平显著差异。浓度为 10 ng/ml 的吴茱萸乙醇提取物对菜青虫 3 龄幼虫的选择性拒食作用最强,为 98.12%。线性回归方程为  $y = 4.2493 + 2.5487x$  ( $r = 0.9717$ ),选择性拒食中浓度( $AFC_{50}$ )为  $1.97 \pm 0.12$  ng/ml。

表1 吴茱萸乙醇提取物对菜青虫 3 龄幼虫的选择性拒食活性

Table 1 Selective antifeedant activity of Evodia rutaecarpa (Juss.) Benth. ethanol extraction against 3rd instar larvae of *Heris rapae* L. in choice test

| 浓度<br>Concentration<br>ng/ml | 取食面积 Feeding area mm <sup>2</sup> |                   | 拒食率<br>Antifeeding rate % |
|------------------------------|-----------------------------------|-------------------|---------------------------|
|                              | 处理叶片<br>Treated leaves            | 对照叶片<br>Control   |                           |
| 10                           | 6.25 ± 4.480 c                    | 615.75 ± 89.32 a  | 98.12 ± 1.18 a            |
| 5                            | 100.00 ± 19.84 b                  | 616.75 ± 97.43 a  | 72.72 ± 1.80 b            |
| 2.5                          | 108.75 ± 9.44 b                   | 428.50 ± 30.77 ab | 59.35 ± 3.36 c            |
| 1.25                         | 163.25 ± 22.82 ab                 | 371.75 ± 50.40 ab | 38.89 ± 2.38 d            |
| 0.75                         | 259.25 ± 74.01 a                  | 341.25 ± 97.75 b  | 13.17 ± 2.10 e            |

注:表中数据为平均数 ± 标准误;同一列字母不同表示差异在 0.05 水平显著。下同。

Note: Data in the table were mean ± standard error; Different letters in same column means significant differences at 0.05 level. The same as below.

2.1.2 非选择性拒食活性。从表 2 可以看出,在非选择性试验中菜青虫取食处理叶片的面积明显少于取食对照叶片的面积。幼虫取食面积随提取物浓度的增大而减小,各处理之间存在 0.05 水平显著差异。从拒食率来看,吴茱萸乙醇提取物对菜青虫 3 龄幼虫的非选择性拒食活性随提取物浓度的增大而增强,浓度为 10 ng/ml 的处理其拒食作用最强,为 94.41%。线性回归方程为  $y = 4.3088 + 2.0948x$  ( $r = 0.9657$ ),选择性拒食中浓度( $AFC_{50}$ )为  $2.14 \pm 0.15$  ng/ml。

表2 吴茱萸乙醇提取物对菜青虫 3 龄幼虫的非选择性拒食活性

Table 2 Antifeedant effect of Evodia rutaecarpa (Juss.) Benth. ethanol extraction against 3rd instar larvae of *Heris rapae* L. in non-choice test

| 浓度<br>Concentration<br>ng/ml | 取食面积<br>Feeding area<br>mm <sup>2</sup> | 拒食率<br>Antifeeding rate<br>% |
|------------------------------|---|------------------------------|
| 10                           | 39.60 ± 6.79 f                          | 94.41 ± 0.96 a               |
| 5                            | 207.80 ± 36.00 e                        | 70.66 ± 5.08 b               |
| 2.5                          | 337.00 ± 37.70 d                        | 52.41 ± 5.32 c               |
| 1.25                         | 461.20 ± 29.08 c                        | 34.88 ± 4.11 d               |
| 0.75                         | 583.00 ± 39.48 b                        | 17.68 ± 5.57 e               |
| 0                            | 708.20 ± 42.62 a                        | -                            |

2.2 吴茱萸初步分离物对菜青虫 3 龄幼虫的拒食活性 采用液—液萃取法对吴茱萸乙醇提取物进行初步分离。由于在试验过程中得到的石油醚萃取物极少,因此仅对乙酸乙酯、正丁醇、水萃取物进行了拒食活性测定。从表 3 可以看出,乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物和水萃取物对菜青虫 3 龄幼虫的选择性拒食活性存在 0.05 水平显著差异,水萃取物拒食活性最强,其次为正丁醇萃取物,乙酸乙酯萃取物拒食活性最低。从表 4 可以看出,3 种处理的取食面积较对照都有明显减少,且处理之间存在 0.05 水平显著差异。从拒食率来看,3 种萃取物均表现非选择性拒食活性,水萃取物拒

食活性最强,其次为正丁醇萃取物,乙酸乙酯萃取物拒食活性最低。

表3 吴茱萸初步分离物对菜青虫 3 龄幼虫的选择性拒食活性

Table 3 Antifeedant effect of Evodia rutaecarpa (Juss.) Benth. primary isolate against 3rd instar larvae of *Heris rapae* L. in choice test

| 萃取物<br>Extract                   | 取食面积 Feeding area mm <sup>2</sup> |                  | 拒食率<br>Antifeeding rate % |
|----------------------------------|-----------------------------------|------------------|---------------------------|
|                                  | 处理叶片<br>Treated leaves            | 对照叶片<br>Control  |                           |
| 乙酸乙酯萃取物<br>Ethyl acetate extract | 254.20 ± 22.51 a                  | 445.20 ± 67.55 a | 25.63 ± 6.01 c            |
| 正丁醇萃取物<br>Butanol extract        | 91.60 ± 17.70 b                   | 552.40 ± 60.14 b | 71.45 ± 5.10 b            |
| 水萃取物<br>Water extract            | 11.60 ± 5.11 c                    | 625.00 ± 58.67 c | 96.34 ± 1.52 a            |

表4 吴茱萸初步分离物对菜青虫 3 龄幼虫的非选择性拒食活性

Table 4 Antifeedant effect of Evodia rutaecarpa (Juss.) Benth. primary isolate against 3rd instar larvae of *Heris rapae* L. in non-choice test

| 处理<br>Treated             | 浓度<br>Concentration<br>ng/ml     | 取食面积<br>Feeding area<br>mm <sup>2</sup> | 拒食率<br>Antifeeding rate<br>% |
|---------------------------|----------------------------------|---|------------------------------|
|                           | 乙酸乙酯萃取物<br>Ethyl acetate extract | 5                                       | 520.00 ± 22.14 b             |
| 正丁醇萃取物<br>Butanol extract | 5                                | 228.00 ± 19.53 c                        | 67.30 ± 2.80 b               |
| 水萃取物<br>Water extract     | 5                                | 62.60 ± 4.45 d                          | 91.02 ± 0.64 a               |
| CK                        | 0                                | 697.20 ± 47.47 a                        | -                            |

### 3 讨论

(1) 试验表明,吴茱萸乙醇提取物对菜青虫 3 龄幼虫具有较强的选择性和非选择性拒食活性,且拒食作用随着提取物浓度的增加而增强。

(2) 采用液—液萃取法对吴茱萸乙醇提取物进行了初步分离,结果表明随着萃取物极性的增加,拒食活性增强,水萃取物拒食活性最强。相同浓度(5 ng/ml)水萃取物对菜青虫的选择性拒食率较分离前吴茱萸乙醇提取物的选择性拒食率提高了 32.48%;非选择性拒食率较分离前提高了 22.37%。这说明吴茱萸中对菜青虫具有拒食活性的成分主要分布在大极性范围内。虽然在试验过程中舍去了量极少的石油醚萃取物,但活性成分并没有受到损失。所以,采用液—液萃取法对吴茱萸乙醇提取物进行初步分离是可行的。

(3) 国内外还未见吴茱萸提取物对害虫的拒食作用相关报道,因此进一步研究吴茱萸对蔬菜害虫的生物活性,并对其活性成分进行分离纯化,对开发新的植物源农药、进行无公害蔬菜生产都有重要意义。

### 参考文献

- [1] 黄慧莲,刘贤旺,罗光明,等. 吴茱萸研究进展[J]. 现代中药研究与实践,2003,12(3):62-64.
- [2] 吴文君,刘惠霞,朱靖博,等. 天然产物杀虫剂——原理方法实践[M]. 西安:陕西科学技术出版社,1998.
- [3] 邹向菲,施祖华,施英利. 桔皮提取物对斜纹夜蛾与甜菜夜蛾幼虫的生物活性作用[J]. 浙江大学学报:农业与生命科学版,2005,31(1):76-81.
- [4] 陈立,徐汉虹. 唐古特瑞香狼毒对斜纹夜蛾的拒食活性研究[J]. 华南农业大学学报,2001,21(1):44-46.
- [5] 张志祥,程东美. EXCEL 在毒力回归计算中的应用[J]. 昆虫知识,2002,39(1):67-70.