

## 20种植物提取物对几种昆虫的拒食作用

刘东泽\*, 赵杰, 刘志诚, 孙兴全, 代光辉

(上海交通大学 农业与生物学院, 上海 201101)

**摘要:** 对20种植物的杀虫活性进行了初步筛选, 并对有效植物中的活性成分进行了初步分离。结果表明: 水仙 *Narcissus tazetta* var. *chinensis* 和乌桕 *Sapium sebiferum* 两种植物的提取液对菜粉蝶 *Pieris rapae* 5龄幼虫有较强的生物活性, 对供饲叶碟24 h后的拒食率分别为95.22%和87.12%; 48 h后的拒食率分别为89.64%和79.85%; 7 d后的校正死亡率分别为72.56%和54.62%。水仙鳞茎甲醇提取液(简称N T M E)对小菜蛾 *Plutella xylostella*、大豆毒蛾 *Dasychira locuples* 和枇杷黄毛虫 *Melanograpia flexilineata* Hempson 也有非常强的拒食活性。水仙鳞茎中的活性成分主要存在于乙酸乙酯相中, 浓度为3.0 mg/mL时, 对小菜蛾3龄幼虫24 h和48 h后的拒食率分别为94.89%和89.78%。

**关键词:** 植物提取液; 活性筛选; 拒食作用; 菜粉蝶; 水仙

**中图分类号:** S482.39      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1008-7303(2003)03-0089-05

化学杀虫剂的大量使用带来了严重的3R问题, 农业的可持续发展和环境保护要求开发出高效、安全、低毒、低抗性的新型农药, 因而从植物中分离提取对昆虫有活性物质的研究受到了广泛的重视<sup>[1]</sup>。近年来, 吴文君等<sup>[2, 3]</sup>对卫矛科植物苦皮藤的研究较为深入, 分离制备了具有杀虫活性的新化合物, 开发出了0.2%苦皮藤乳油。张兴等曾对该地区具有杀虫作用的植物进行了广泛的筛选<sup>[4]</sup>, 并对柏科植物砂地柏进行了较为深入的研究<sup>[5, 6]</sup>, 成功地开发出0.5%的楝素乳油和以茄科植物烟草中所含烟碱为主要成分的杀虫剂新品种<sup>[7, 8]</sup>。此外, 人们还对非洲山毛豆 *Tephrosia vogelii*<sup>[9]</sup>、紫背金盘 *Ajuga nipponensis*<sup>[10]</sup>、瑞香狼毒 *Stellera chamaejasme*<sup>[11]</sup>、唐古特瑞香 *Daphne tangutica*<sup>[12]</sup>等植物的杀虫活性进行了研究与报道。为了充分利用我国丰富的植物资源, 寻找有杀虫活性的植物, 为开发新型植物杀虫剂提供线索和理论依据, 作者对20种植物的杀虫活性进行了初步筛选, 并对其中有效植物的活性成分进行了初步分离, 现将结果报道如下。

### 1 材料与方法

#### 1.1 供试材料

1.1.1 供试植物 2001年4月、7月和9月及2002年7月~10月, 分别在上海交通大学实验农场、上海植物园等地采集乔本植物的叶片和杂草; 供试花卉从市场上购买。供试的20种植物隶属于13个科, 其种类见表1。

将新鲜植物材料洗净, 阴干后放于恒温烘箱内烘干(50~55℃), 然后粉碎, 过筛(40目), 于低温条件下保存备用。

1.1.2 供试昆虫 菜粉蝶 *Pieris rapae* 和小菜蛾 *Plutella xylostella*: 在交通大学实验农场采

作者简介: 刘东泽(1977-), 男, 山东威海人, 硕士研究生, 主要研究方向为天然产物研究与开发

集菜粉蝶和小菜蛾高龄幼虫, 在室内用甘蓝 *B. rassica oleracea* L. 叶继代饲养、繁殖, 建立实验种群, 然后分别挑选健康、大小一致的菜粉蝶 5 龄幼虫和小菜蛾 3 龄幼虫供试; 大豆毒蛾 *D. asychira locuples*: 在实验农场采集大豆毒蛾 1 龄幼虫, 用大豆叶饲养至 3 龄供试; 枇杷黄毛虫 *M. elanographia flexilineata* Hempson: 直接从佘山野外采集枇杷黄毛虫 2 龄幼虫供试。

Table 1 Catalogue of tested plant

Family	Plant name	Tested tissues
石蒜科(Amaryllidaceae)	水仙 <i>Narcissus tazetta</i> Linn. var. <i>chinensis</i> Roem.	鳞茎 (bulb)
大戟科(Euphorbiaceae)	乌桕 <i>Sapinum sebiferum</i> (Linn.) Roxb.	叶 (leaf)
	地锦 <i>Euphorbia humifusa</i> Willd.	全株 (the whole)
菊科(Compositae)	青蒿 <i>A. rtemisia apiacea</i> Hance	全株 (the whole)
	蒲公英 <i>Taraxacum mongolicum</i> Hand-Mazz.	根 (root)
	一支黄花 <i>Solidago decurens</i> Lour.	全株 (the whole)
樟科(Lauraceae)	香叶树 <i>Lindera cannunis</i> Hemsl.	茎 (stem)
蓼科(Polygonaceae)	水蓼 <i>Polygonum hydropiper</i> Linn.	全株 (the whole)
	羊蹄 <i>Rumex japonicus</i> Houtt.	叶 (leaf)
	何首乌 <i>Polygonum multiflorum</i> Thunb.	根 (root)
毛茛科(Ranunculaceae)	毛茛 <i>Ranunculus japonicus</i> Thunb.	茎叶 (stem and leaf)
柏科(Cupressaceae)	侧柏 <i>Platyclusus orientalis</i> (Linn.) Franco	叶 (leaf)
石榴科(Punicaceae)	石榴 <i>Punica granatum</i> Linn.	叶 (leaf)
松科(Pinaceae)	马尾松 <i>Pinus massoniana</i> Lamb.	叶 (leaf)
买麻藤科(Gnetaceae)	小叶买麻藤 <i>Gnetum parvifolium</i> (Warb.) C. Y. Cheng	叶 (leaf)
百合科(Liliaceae)	芦荟 <i>Aloe vera</i> var. <i>chinensis</i> (Haw.) Berg.	叶皮 (leaf skin)
仙人掌科(Cactaceae)	仙人掌 <i>Opuntia dillenii</i> (Ker-Gawl.) Haw.	茎皮 (stem skin)
	黄檀 <i>Dalbergia hupeana</i> Hance	叶 (leaf)
伞形科(Umbelliferae)	野胡萝卜 <i>Daucus carota</i> Linn.	叶 (leaf)
	天胡荽 <i>Hydrocotyle sibthorpioides</i> Lam.	全株 (the whole)

## 1.2 试验方法

1.2.1 植物提取液的制备 采用室温冷浸法: 称取植物材料 50 g, 用甲醇 1 500 mL 提取 3 次, 每次 24 h, 合并 3 次滤液, 并在旋转蒸发器内减压浓缩至膏状, 用丙酮+水(1:1, 体积比, 下同)溶解并定容成相当于干样品 1 g/mL 的质量浓度, 于 4 °C 的冰箱中保存备用。

1.2.2 活性成分的初步分离 采用液-液分配法: 称取水仙鳞茎甲醇提取物(稠膏状) 10 g, 加 10 倍蒸馏水, 超声波助溶, 装入分液漏斗中, 用石油醚萃取 5 次(100 mL/次), 水层再用乙酸乙酯萃取 5 次(100 mL/次)。将石油醚相、乙酸乙酯相和水相分别减压浓缩至膏状, 然后称重, 用丙酮+水溶解成高浓度溶液, 于 4 °C 的冰箱中保存备用。

1.2.3 生物活性测定方法 采用叶碟法<sup>[13]</sup>。将新鲜叶片用圆形打孔器( $\varnothing = 2$  cm)打成叶碟, 放入供试样品的稀释液(以丙酮+水=1:1 稀释)中浸 5 s, 取出晾干后放入垫有滤纸(加少量蒸馏水保湿)的直径为 9 cm 培养皿中, 每个培养皿中放入数片处理叶碟, 接入已饥饿 4 h 的幼虫, 各供试昆虫每处理 10 头, 分别重复 3 次, 丙酮+水为对照。菜粉蝶和小菜蛾用甘蓝叶作叶碟, 大豆毒蛾和枇杷黄毛虫分别用大豆叶和枇杷叶作叶碟。处理后 24 h 和 48 h, 用方格纸测定试虫取食叶面积, 计算拒食率。2 d 后更换新鲜叶片, 7 d 后根据试虫的死亡情况计算校正死

亡率。

### 1.3 数据处理

利用 SAS 软件进行统计分析, 差异显著性检验采用 Duncan 新复极差法。拒食率和校正死亡率的计算公式如下:

$$\text{拒食率}(\%) = [(\text{对照组取食叶面积} - \text{处理组取食叶面积}) / (\text{对照组取食叶面积})] \times 100$$

$$\text{死亡率}(\%) = (\text{死虫数} / \text{供试虫数}) \times 100$$

$$\text{校正死亡率}(\%) = [(\text{对照组死亡率} - \text{处理组死亡率}) / (1 - \text{对照组死亡率})] \times 100$$

表中拒食率(%) 和校正死亡率(%) 为 3 次重复的平均值。

## 2 结果与分析

对 20 种植物的甲醇提取液进行非选择性拒食活性测定, 结果(见表 2)表明, 水仙鳞茎甲醇提取液(简称 N T M E)对菜粉蝶 5 龄幼虫有非常强的拒食和毒杀作用, 24 h 和 48 h 后的拒食率分别为 95.22% 和 89.64%, 7 d 后的校正死亡率为 72.56%。此外, N T M E 对小菜蛾、大豆毒蛾和枇杷黄毛虫也有非常强的拒食作用(见表 3), 浓度为 0.1 g/mL 时, 对 3 种昆虫 24 h 的

Table 2 Bioactivities of 20 plant extracts against the 5th instar larvae of *P. rapae*

Plant name	Chewing leaf area each/cm <sup>2</sup>		Antifeeding rate (%)		Corrected mortality (%)
	24 h	48 h	24 h	48 h	7 d
<i>Narcissus tazetta</i> var <i>chinensis</i>	0.97 ± 0.18	1.59 ± 0.23	95.22 a	89.64 a	72.56 a
<i>Sapium sebiferum</i>	5.79 ± 0.28	3.01 ± 0.17	87.12 b	79.85 b	54.62 b
<i>Euphorbia humifusa</i>	6.56 ± 0.29	12.17 ± 0.74	23.62 ji	18.74 i	19.55 fg
<i>Artemisia apiacea</i>	5.11 ± 0.41	8.20 ± 0.79	13.54 kl	45.25 c	7.63 k
<i>Taraxacum mongolicum</i>	5.31 ± 0.34	11.71 ± 0.61	32.55 h	21.78 i	9.83 ki
<i>Solidago decurens</i>	5.31 ± 0.21	12.02 ± 0.68	29.87 hi	19.75 i	17.83 fg
<i>Lindera communis</i>	4.94 ± 0.26	11.39 ± 0.48	34.81 gh	23.92 hi	2.34 i
<i>Polygonum hydropiper</i>	4.11 ± 0.42	9.84 ± 0.33	45.65 ef	34.26 ef	19.88 ef
<i>Rumex japonicus</i>	6.27 ± 0.48	12.04 ± 0.89	17.98 kl	19.56 i	12.73 il
<i>Polygonum multiflorum</i>	3.52 ± 0.12	9.17 ± 0.37	53.56 cd	45.78 c	15.51 fgh
<i>Ranunculus japonicus</i>	3.98 ± 0.23	9.67 ± 0.52	47.94 de	35.42 ef	29.81 d
<i>Piota orientalis</i>	5.84 ± 0.16	12.27 ± 0.76	22.83 j	18.19 i	39.64 c
<i>Punica granatum</i>	3.18 ± 0.24	9.17 ± 0.32	57.97 c	38.75 de	18.99 efg
<i>Pinus massoniana</i>	5.37 ± 0.36	11.90 ± 0.64	29.13 hi	20.53 i	7.98 k
<i>Gnetum parvifolium</i>	4.57 ± 0.38	10.64 ± 0.56	39.62 fg	28.97 gh	14.88 ghi
<i>Aloe vera</i> var. <i>chinensis</i>	6.77 ± 0.12	13.11 ± 0.85	10.56 l	12.45 j	1.48 l
<i>Opuntia dillenii</i>	5.05 ± 0.29	10.80 ± 0.28	33.26 gh	27.86 gh	10.35 ijk
<i>Dalbergia hupeana</i>	3.65 ± 0.32	8.55 ± 0.56	51.82 cde	42.91 cd	27.67 d
<i>Daucus carota</i>	3.94 ± 0.35	10.08 ± 0.23	47.89 de	32.70 gf	22.96 e
<i>Hydrocotyle sibthorpioides</i>	6.14 ± 0.26	8.04 ± 0.92	18.96 jk	46.28 c	0.00 l
CK	7.58 ± 0.43	14.98 ± 0.68	0	0	0

Note: The concentrations of tested plants are 0.2 g/mL. Values within a column followed by the same letter are not significantly different ( $P < 0.05$ ).

Table 3 Antifeedant activity of N T M E against three pest insects<sup>\*</sup>

Tested insects	Concentration /g · mL <sup>-1</sup>	Chewing leaf area each/cm <sup>2</sup>		Antifeeding rate (%)	
		24 h	48 h	24 h	48 h
<i>Plutella xylostella</i>	0.10	0.008 ± 0.003	0.030 ± 0.019	94.52 a	91.20 a
	0.05	0.010 ± 0.006	0.060 ± 0.016	87.41 a	82.57 b
	0.01	0.040 ± 0.015	0.100 ± 0.032	73.86 b	70.58 c
	CK	0	0.150 ± 0.052	0.340 ± 0.039	0
<i>Dasychira locuples</i>	0.10	0.54 ± 0.32	2.44 ± 0.41	96.12 a	90.36 a
	0.05	1.49 ± 0.24	5.00 ± 0.34	89.43 a	80.27 b
	0.01	3.41 ± 0.36	6.86 ± 0.28	75.81 b	72.93 b
	CK	0	14.13 ± 1.75	25.36 ± 1.52	0
<i>Melanographia flexilineata</i>	0.10	0.09 ± 0.03	0.30 ± 0.13	90.50 a	85.75 a
	0.05	0.16 ± 0.07	0.46 ± 0.19	83.74 a	78.26 a
	0.01	0.31 ± 0.10	0.79 ± 0.23	69.46 b	63.82 b
	CK	0	1.03 ± 0.24	2.12 ± 0.45	0

<sup>\*</sup> Values within a column followed by the same letter are not significantly different ( $P < 0.05$ ). The same as in the following table N T M E: Methanol extract of *Narcissus tazetta* bulbs

拒食率分别为 94.52%、96.12% 和 90.50%，48 h 的拒食率分别为 91.20%、90.36% 和 85.75%；浓度稀释 10 倍时，对小菜蛾和大豆毒蛾的拒食率依然比较高，这说明 N T M E 的活性具有一定的广谱性。另外乌柏对菜粉蝶 5 龄幼虫也有非常强的拒食作用（表 2），24 h 和 48 h 后的拒食率分别为 87.12% 和 79.85%，而其他植物提取液的拒食活性和上述两种植物相比差异显著。

对 N T M E 用 3 种极性不同的溶剂依次萃取，从其萃取物对小菜蛾 3 龄幼虫的拒食作用（见表 4）可以看出，N T M E 的活性成分主要存在于乙酸乙酯层中，浓度为 3.0 mg/mL 时，对小菜蛾 3 龄幼虫 24 和 48 h 后的拒食率分别为 93.28% 和 89.78%，其次为石油醚层，水层拒食率最低；由于乙酸乙酯层的拒食率最强，说明活性物质主要为中等极性，这可以为以后的分离纯化提供理论依据。

Table 4 Antifeedant activity of N T M E extraction against the 3rd instar of *P. xylostella*

Tested material	Concentration /mg · mL <sup>-1</sup>	Chewing leaf area each/cm <sup>2</sup>		Antifeeding rate (%)	
		24 h	48 h	24 h	48 h
Petroleum ether extract	3.0	0.07 ± 0.01	0.19 ± 0.05	52.56 b	42.38 b
Ethyl acetate extract	3.0	0.01 ± 0.01	0.03 ± 0.01	93.28 a	89.78 a
Water residue	3.0	0.08 ± 0.01	0.22 ± 0.02	41.30 b	32.45 b
CK	0	0.15 ± 0.05	0.34 ± 0.03	0	0

### 3 讨论

在植物筛选过程中，存在着许多不足之处：1) 在整个植物筛选过程中只使用一种溶剂对植物材料进行提取，可能存在漏筛的可能。2) 只对植物的某一部位进行提取，而对其他部位未进行提取，也可能存在着漏筛的可能。3) 只进行了离体实验，活体实验效果还有待进一步验证。

目前对水仙的杀虫活性尚未有研究报道，因此它是一种极具开发潜力的杀虫植物；但由于水仙是一种花卉，不可能大面积栽培，只能对其中活性成分的结构进行研究，通过仿生来合成植物杀虫剂。另外乌柏对菜粉蝶也有非常强的拒食作用，也是一种很有前途的杀虫植物，目前对它的杀虫活性研究报道较多。

水仙中存在拉丁可等毒素,能引起人体中毒;同时其中也存在一种生物碱,能抑制白菜种子萌发及幼苗生长<sup>[14]</sup>;而其鳞茎内存在的对菜粉蝶等多种害虫有很强生物活性的物质与上述两种物质在化学结构上有何异同,需要对其作进一步的分离纯化及结构鉴定等研究。

## 参考文献:

- [1] 曾鑫年 植物杀虫剂和拒食剂:新来源及展望[J]. 农药译丛, 1995, 17(3): 21-24
- [2] 吴文君 杀虫植物苦皮藤研究[J]. 农药, 1991, 30(6): 10-12
- [3] 吴文君,刘惠霞 麻醉成分苦皮藤素 IV 的结构鉴定[J]. 西北农业大学学报, 1993, 21(1): 1-5
- [4] 张兴 西北地区杀虫植物筛选[J]. 西北农业大学学报, 1999, 27(2): 22-28
- [5] 张兴 砂地柏果实中杀虫成分的结构鉴定[J]. 西北农业大学学报, 1999, 27(4): 16-18
- [6] 付昌斌,张兴 砂地柏提取物对粘虫幼虫体内几种酶系活性的影响[J]. 植物保护学报, 2000, 27(1): 75-78
- [7] 张兴,王兴林,冯俊涛,等 植物性杀虫剂川楝素的开发研究[J]. 西北农业大学学报, 1993, 21(4): 1-5
- [8] 冯俊涛,赵小公,陈安良,等 29% 油酸烟碱氯氰乳油的研制[J]. 西北农业大学学报, 2000, 28(2): 39-44
- [9] 张业光,徐汉虹,黄继光,等 非洲山毛豆对几种鳞翅目害虫的拒食作用[J]. 华南农业大学学报, 2000, 21(4): 26-29
- [10] 张业光,邱宇彤,赵善欢,等 紫背金盘提取物对四种鳞翅目害虫作用活性的初步研究[J]. 华南农业大学学报, 1992, 13(4): 63-68
- [11] 张国洲,王亚维,徐汉虹,等 瑞香狼毒根提取物杀虫活性成分的分离与鉴定[J]. 湖北农学院学报, 2000, 20(1): 19-22
- [12] 徐汉虹,陈立,赵善欢,等 唐古特瑞香提取物对菜粉蝶幼虫的毒杀作用[J]. 昆虫学报, 2000, 43(4): 364-372
- [13] 黄彰欣 植物化学保护实验指导[M]. 北京:中国农业出版社, 1993 36-37.
- [14] 毕玉蓉,汤红官,容拱兴 水仙鳞茎分泌物中抑制物质的分离与鉴定[J]. 兰州大学学报, 2000, 36(1): 92-97.

## Studies on Antifeedant Activity of 20 Plant Crude Extracts against Several Pest Insects

LIU Dong-ze\*, ZHAO Jie, LIU Zhi-cheng, SUN Xing-quan, DA I Guang-hui

(Shanghai Jiao-tong University, Agricultural and Biological College, Shanghai 201101, China)

**Abstract:** The insecticidal activity of 20 plant extracts against the 5th instar larvae of *Pieris rapae* were tested and the active ingredients of effective plants were separated primarily. The results showed that the extracts of *Narcissus tazetta* var. *chinensis* and *Sapium sebiferum* had very strong bioactivities against the 5th instar larvae of *P. rapae*. Antifeeding rate in 24 h reached 95.22% and 87.12% respectively, antifeeding rate in 48 h reached 89.64% and 79.85% respectively, corrected mortality in 7 d reached 72.56% and 54.62% respectively. Methanol extract of *N. tazetta* var. *chinensis* bulbs also had very strong antifeedant activity against *Plutella xylostella*, *Dasychira locuples* and *Melanographia flexilineata* Hempson. The active ingredient in *N. tazetta* var. *chinensis* bulbs mainly existed in the extract of ethyl acetate and at the concentration of 3.0 mg/mL, antifeeding rate in 24 h and 48 h reached 94.89% and 89.78% respectively.

**Key words:** plant extract; activity screening; antifeedant activity; *Pieris rapae*; *Narcissus tazetta* var. *chinensis*