

唐古特瑞香对斜纹夜蛾的拒食活性研究

陈立, 徐汉虹, 赵善欢

(华南农业大学昆虫毒理研究室, 广东广州 510642)

摘要:报道了青藏高原特有植物唐古特瑞香(*Daphne tangutica*)的杀虫作用。利用甲醇、丙酮、乙酸乙酯、氯仿、苯、石油醚6种极性不同的溶剂对唐古特瑞香进行了连续抽提,其中甲醇提取率最大,为22.3%,石油醚的提取率最低为2.21%。唐古特瑞香的甲醇、丙酮、乙酸乙酯、氯仿、苯抽提物对斜纹夜蛾3龄幼虫的 AFC_{50} 值分别为以干粉计108.72、111.69、102.14、71.75、65.51 g/L,石油醚抽提物在以干粉计500 g/L的浓度下,拒食率仅为62.31%。苯为拒食活性成分的最有效提取溶剂。

关键词:唐古特瑞香;斜纹夜蛾;拒食活性

中图分类号:S 482.39

文献标识码:A

唐古特瑞香(*Daphne tangutica* Maxim.)为常绿灌木,别名陕甘瑞香、甘肃瑞香、小冬青等,生于海拔1 500~3 000 m高地^[1,2]。唐古特瑞香、黄瑞香(*Daphne giraldii* Nitsche)或凹叶瑞香(*Daphne retusa* Hemsl)的干燥茎皮及根皮入药叫祖师麻^[3]。祖师麻有镇痛、活血、消肿、祛风湿之用,俗称“打得满地爬,离不开祖师麻”,故又有大救驾之称。唐古特瑞香除作为民间草药,尚有毒鱼、杀鼠和杀虫作用。作者将详细报道唐古特瑞香不同溶剂抽提物对斜纹夜蛾(*Spodoptera litura* Fabricius)的拒食活性。

1 材料与方法

1.1 试虫来源和供试材料

从广州市郊菜地芋头[*Colocasia esculenta* (L.) Schott]叶上采集斜纹夜蛾卵块,在室内[温度(25±1)℃,相对湿度70%,L:D为14 h:10 h]孵化后用芋头叶饲养,取生理状态一致的3龄初期幼虫供试。

唐古特瑞香采自青海省互助县,采集时间为1997年9月。

1.2 试验方法

将阴干的植物材料放至恒温烘箱内加温至60℃,干燥4 h后,用植物粉碎机(筛号为40目)将植物材料粉碎。植物材料的提取采用索氏(Sohxlet)抽提法。参照汪文陆^[4]的方法准确称取植物材料干粉120 g,分3份(每份40 g)用滤纸包装后装入索氏提取器,按图1所示程序分别加入干粉5倍量的有机溶剂(即每次200 mL)回流提取,所用溶剂为甲醇、丙酮、乙酸乙酯、氯仿、苯和石油醚(沸点60~90℃)。

然后将提取物在旋转蒸发器内减压浓缩至稠膏状,抽提物称量。

各种抽提物用丙酮溶解(甲醇抽提物、丙酮抽提物只能用甲醇溶解,且溶解时间较长),根据提取率大小,所配制浓度均为以干粉计500 g/L。

拒食作用测定采用叶碟法^[5]。将新鲜木薯(*Manihot esculenta* Crantz)叶片用打孔器打成d为2 cm的叶碟。叶碟浸入待测溶液1 s,取出晾干后放入垫有滤纸(加5滴水保湿)的d为9 cm培养皿中,每个培养皿中放入3片处理叶碟,接入1头已饥饿6 h的斜纹夜蛾3龄初期幼虫。每处理设10个重复,用丙酮作对照(甲醇抽提物和丙酮抽提物用甲醇作对照)。24 h后调查取食叶面积,并按下列公式计算拒食率。

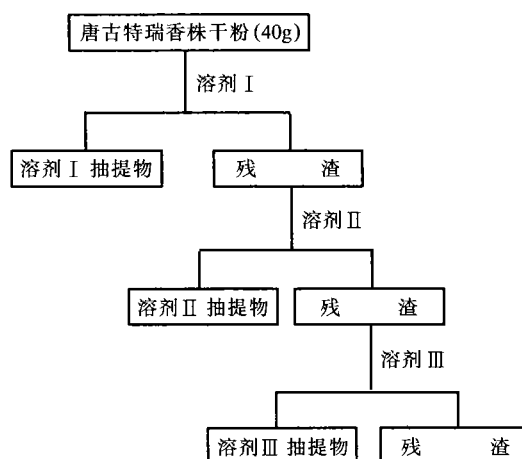


图1 唐古特瑞香的连续抽提流程图

Fig. 1 Successive extracting scheme of *D. tangutica*

收稿日期:1998-10-07

作者简介:陈立(1973~),男,理学硕士,昆虫毒理研究室博士研究生

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39300087)

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.

对拒食活性较高的甲醇、丙酮、乙酸乙酯、氯仿、苯、石油醚抽提物(第1次)采用对半稀释法稀释5个浓度,再按上述方法测得拒食率,再将拒食率转化成机率值,浓度转化成对数进行线性回归,根据回归方程计算拒食中浓度(AFC_{50})值和95%置信限.

2 结果与分析

对唐古特瑞香全株干粉采用图1所示方法用3种溶剂连续抽提,极性不同的溶剂第1次抽提率随着溶剂极性的增大而增大(表1),其中甲醇的提取率最大,为22.34%.

以干粉计500 g/L的浓度下,唐古特瑞香甲醇、

丙酮、乙酸乙酯、氯仿、苯抽提物对斜纹夜蛾3龄幼虫的拒食率均在80%以上,石油醚抽提物拒食活性低,拒食率仅为62.31%.从连续抽提物的拒食活性看,除石油醚→氯仿、石油醚→氯仿→甲醇抽提物有一定拒食作用外,其它连续抽提物拒食率均很低,说明甲醇、丙酮、乙酸乙酯、氯仿、苯能较好地提取出唐古特瑞香所含有的拒食活性物质.

为了进一步比较唐古特瑞香不同溶剂抽提物的拒食活性大小,对抽提物进行了 AFC_{50} 测定(表3).由表3可知,唐古特瑞香的甲醇、丙酮、乙酸乙酯、氯仿、苯、石油醚抽提物对斜纹夜蛾3龄幼虫的 AFC_{50} 值分别为以干粉计108.72、111.69、102.14、71.75、65.51、294.77 g/L.说明苯抽提物的拒食活性最高,其次是氯仿抽提物,但两者之间并不存在显著差异.

表1 极性不同的溶剂对唐古特瑞香全株干粉的连续抽提效果¹⁾

Tab. 1 Rates of successive extracts of *D. tangutica* with six solvents¹⁾

溶剂 I ⁽²⁾	提取率/%	溶剂 II	提取率/%	溶剂 III	提取率/%
甲醇	22.34 ± 2.71	氯仿	0.98 ± 0.14	石油醚	≈0
丙酮	16.84 ± 2.51	氯仿	0.26 ± 0.09	石油醚	≈0
乙酸乙酯	10.26 ± 2.45	苯	1.06 ± 0.43	石油醚	≈0
氯仿	3.73 ± 0.66	乙酸乙酯	8.32 ± 1.84	甲醇	12.69 ± 2.17
苯	3.46 ± 0.80	氯仿	0.53 ± 0.09	丙酮	12.61 ± 2.04
石油醚	2.21 ± 0.60	氯仿	2.31 ± 0.88	甲醇	16.52 ± 1.63

1)表中数据为3次(共120 g瑞香全株干粉)的平均值±95%置信限;(2)甲醇、丙酮、氯仿、石油醚的提取温度为75℃,乙酸乙酯和苯的提取温度为89℃

表2 唐古特瑞香连续抽提物对斜纹夜蛾3龄幼虫的拒食活性¹⁾(24 h)

Tab. 2 Antifeeding effects of successive extracts of *D. tangutica* against 3rd-instar larva of *S. litura* (24 h)

第1次 抽提溶剂	取食叶面积 /cm ²	拒食率 /%	第2次 抽提溶剂	取食叶面积 /cm ²	拒食率 /%	第3次 抽提溶剂 ¹⁾	取食叶面积 /cm ²	拒食率 /%
甲醇	0.93 ± 0.45	82.55	氯仿	5.23 ± 0.65	2.11	石油醚	-	-
丙酮	0.85 ± 0.36	84.06	氯仿	3.91 ± 0.83	26.78	石油醚	-	-
乙酸乙酯	0.83 ± 0.42	84.37	苯	2.17 ± 0.96	59.31	石油醚	-	-
氯仿	0.80 ± 0.51	85.01	乙酸乙酯	3.71 ± 1.03	30.57	甲醇	2.36 ± 0.87	55.87
苯	0.70 ± 0.48	86.94	氯仿	4.32 ± 1.22	18.76	丙酮	2.33 ± 0.76	56.34
石油醚	2.01 ± 1.28	62.31	氯仿	1.38 ± 0.57	74.14	甲醇	1.84 ± 0.58	65.48

1)石油醚提取率为0,故未有生物活性测定数据

表3 唐古特瑞香不同溶剂抽提物对斜纹夜蛾3龄幼虫的拒食活性¹⁾(24 h)

Tab. 3 Antifeeding effects of *D. tangutica* extracts against 3rd-instar larva of *S. litura*¹⁾ (24 h)

试验药剂	回归方程 ²⁾	γ	$\rho_{AFC_{50}} / (g \cdot L^{-1})$	95%置信限
石油醚抽提物	$y = 2.4695 + 1.0435x$	0.9960	294.77a	130.17 ~ 667.57
丙酮抽提物	$y = 2.0318 + 1.4493x$	0.9870	111.69b	60.48 ~ 206.25
甲醇抽提物	$y = 1.9684 + 1.4888x$	0.9924	108.72b	60.10 ~ 196.65
乙酸乙酯抽提物	$y = 2.3159 + 1.3359x$	0.9920	102.14b	52.97 ~ 196.97
氯仿抽提物	$y = 2.8062 + 1.1821x$	0.9863	71.75c	31.65 ~ 162.63
苯抽提物	$y = 2.8362 + 1.1913x$	0.9940	65.51c	28.36 ~ 151.32

1)同列数据后标相同字母者,表示经方差分析5%水平差异不显著(DMRT);2) y 为拒食率机率值, x 为浓度对数

3 讨论

试验结果证实,在唐古特瑞香的甲醇、丙酮、乙酸乙酯、氯仿、苯、石油醚抽提物中,苯抽提物对斜纹夜蛾 3 龄幼虫的拒食活性最高,在以干粉计 500 g/L 浓度下拒食率为 86.94%,用抽提物的质量浓度表示为 17.3 g/L. 张兴等^[6]报道, $\rho = 20$ g/L 的苦楝、川楝种核粉石油醚提取物对斜纹夜蛾 3 龄幼虫的拒食率分别为 93.2%、89.5%. 由此可见,唐古特瑞香的拒食活性可与苦楝、川楝相比,具有作为昆虫拒食剂开发的潜力.

选择不同的溶剂按不同的顺序对植物材料进行连续抽提,能够进一步评价各种溶剂提取活性物质的能力. 例如唐古特瑞香经甲醇或丙酮抽提后,接着用氯仿抽提,氯仿抽提物无拒食活性,最后再用石油醚抽提,根本得不到抽提物,说明甲醇、丙酮的提取效果好. 经氯仿抽提后接着用乙酸乙酯抽提,氯仿抽提物具有较好的生物活性,乙酸乙酯抽提物也具有中等程度的生物活性(如表 2),这就进一步肯定了氯仿并不是最有效的提取溶剂. 苯抽提后再用氯仿、丙酮抽提,氯仿、丙酮抽提物的拒食活性低,说明苯的抽提效果是很好的. 因此在研究唐古特瑞香的拒食活性成分时,就可直接选择苯作提取溶剂,接着用石油醚进行萃取而去除无活性物质.

唐古特瑞香的毒性成分主要为二萜内酯类和香豆素类化合物^[7-9],如土沉香毒素(excoecariatoxin,属

二萜内酯)具有强烈毒鱼作用,与鱼藤酮的毒性相当^[10]. 从拒食活性和溶剂极性的关系看,唐古特瑞香的拒食活性成分的极性较低,很可能属于二萜内酯类化合物. 对唐古特瑞香杀虫作用的全面评价和有效成分的探索,还有待于进一步的研究.

参考文献:

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴[M]. 北京:科学出版社,1972.953.
- [2] 中国科学院西北高原生物研究所. 青海经济植物志[M]. 西宁:青海人民出版社,1990.392~393.
- [3] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典[Z]. 北京:人民卫生出版社,1978.445.
- [4] 汪文陆. 苦楝杀虫有效成分及生物活性的研究[D]. 广州:华南农业大学,1989.
- [5] 黄彰欣. 植物化学保护实验指导[Z]. 北京:中国农业出版社,1993.36~37.
- [6] 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.
- [7] 王明时,刘卫国,忻莉娟,等. 唐古特瑞香化学成分的研究[J]. 南京药学院学报,1984.15(2):1~5.
- [8] 王成瑞,王清莲,刘柏年,等. 唐古特瑞香生物活性二萜的研究 I:抗生育活性二萜唐古特瑞香甲素的分离与结构[J]. 化学学报,1987.45:982~986.
- [9] 刘延泽,冀春如,冯卫生. 瑞香科植物的化学成分与药理作用[J]. 中草药,1987.18(2):32~41.
- [10] OHGASHI H, KATSUMATA H, KAWAZU K, et al. A piscicidal constituent of *Excoecaria agallocha* [J]. Agric Biol Chem, 1974.38:1093~1095. •

Studies on Antifeeding Activity of *Daphne tangutica* Against Tobacco Cutworm, *Spodoptera litura*

CHEN Li, XU Han-hong, ZHAO Shan-huan*

(Lab. of Insect Toxicology, South China Agric. Univ., Guangzhou, 510642, China)

Abstract: Insecticidal activity of *Daphne tangutica*, a local endemic plant from Qinghai-Tibet plateau, was first reported in this paper. The air-dried and powdered plant was extracted with methanol, acetone, ethyl acetate, chloroform, benzene and petroleum ester, and the results showed that the extractive rate in methanol was the largest (22.34%), and the smallest (2.21%) in petroleum ester. The crude extracts of former five solvents were proved to possess strongly antifeeding effect on the 3rd instar larvae of tobacco cutworm, *Spodoptera litura*, through the preliminary bioassay with AFC_{50} s of 108.72, 111.69, 102.14, 71.15 and 65.51 g dried powder/L. At concentration of 500 g dried powder/L, antifeedant effect of the petroleum ester extract against the tested insects was 62.31%. Therefore benzene was the most effective extracting solvent.

Key words: *Daphne tangutica*; *Spodoptera litura*; antifeeding activity

【责任编辑 张 砾】

* Chiu Shin - Foon