

齿叶黄皮精油的杀虫作用与有效成分研究^{*}

徐汉虹¹ 赵善欢¹ 朱亮锋² 陆碧瑶²

(1 华南农业大学昆虫毒理研究室, 510642, 广州; 2 中国科学院华南植物研究所)

摘要 生物测定表明, 齿叶黄皮(*Clausena dunniana*) 精油对仓库害虫具有较好的防治作用。使用 20 mg/L 剂量进行熏蒸或 0.2% 剂量拌种都能有效地杀灭赤拟谷盗(*Tribolium castaneum*) 成虫或抑制其种群繁殖。采用柱层析法分离得到齿叶黄皮精油主成分——爱草脑(Estragole) 的纯品。活性跟踪试验确证爱草脑为齿叶黄皮精油的有效杀虫成分。

关键词 齿叶黄皮; 精油; 杀虫作用; 有效成分; 爱草脑

中图分类号 S482.39

齿叶黄皮(*Clausena dunniana* Levl.) 为芸香科黄皮属的常绿乔木或灌木(中国科学院植物研究所, 1985), 分布于广东、广西、云南、贵州、湖南及湖北等省区。在广东省北部石灰岩地区有着相当丰富的自然资源。

朱亮锋等(1987) 曾对齿叶黄皮的精油进行了化学成分的检定, 发现分布于广东北部的齿叶黄皮, 主要为茴香气味类型, 其精油的爱草脑含量高达 93.1%, 对 7 种霉菌具有较强的抑菌活性。作者在对近百种植物精油的杀虫活性筛选试验中发现, 齿叶黄皮精油对仓库害虫具有较好的防治作用。现将试验结果初报如后。

1 材料与方法

1.1 供试材料

齿叶黄皮(*Clausena dunniana*) 精油由中国科学院华南植物研究所提供, 为具浓烈茴香气味的油状液体。齿叶黄皮鲜枝叶样品(茴香气味类型) 采自广东省连县地区, 经水蒸汽蒸馏得到精油, 出油率为 0.7%。

供试昆虫: 玉米象(*Sitophilus zeamais* Motschulsky)、赤拟谷盗(*Tribolium castaneum* (Herbst))、黄粉虫(*Tenebrio molitor* Linne)、谷蠹(*Rhizopertha dominica* Fabricius)

以上虫种由广东省粮食科学研究所提供, 饲养繁殖后供试。

1.2 试验方法

1.2.1 熏蒸试验方法 按照徐汉虹等(1992) 方法。

模拟实仓熏蒸, 方法基本同上。只是试虫接在小麦内, 小麦盛装在自制的白布袋内, 橡皮筋扎口, 放于干燥器内的白瓷板上。

1.2.2 触杀试验法 滤纸接触法: 按照徐汉虹等(1994) 方法。

喷雾法: 按照徐汉虹等(1994) 方法。

1.2.3 饲料拌药法 按照徐汉虹等(1993) 方法。

1993-05-25 收稿

* 广东省自然科学基金资助课题

校正死亡率按 Abott 公式计算, 毒力回归方程的运算, 在 IBM-PC 计算机上完成, 数据统计采用 MSTAT 程序。

1.2.4 齿叶黄皮精油主成分的分离纯化 量取齿叶黄皮精油 300 mL 进行减压蒸馏。馏分分成 4 段: 第 1 段馏分, 36 ~ 122 °C, 约 40 mL; 第二馏分, 122 ~ 139 °C, 约 125 mL; 第 3 馏分, 124 ~ 126 °C, 约 120 mL; 第 4 馏分约 20 mL, 粘稠状。经气相色谱分析, 此 4 馏分的爱草脑含量分别为: 第 1 馏分 67.27%, 第 2 馏分 89.58%, 第 3 馏分 96.23%, 第 4 馏分 72.35%。

取 3 g 齿叶黄皮第 3 馏分样品盛于蒸发皿中, 加入相当量硅胶(青岛海洋化工厂产品)拌匀, 放置过夜, 以使其充分吸附。采用湿法装柱, 将 100 g 通过 200 筛目的硅胶装入玻璃层析柱中, 倒上吸附了样品的硅胶, 先用重蒸过的石油醚洗脱, 后用含 5% 乙酸乙酯的石油醚洗脱, 每 30 mL 洗脱液作为一个流分, 薄层层析(硅胶 GF₂₅₄ 铺板, 6% 乙酸乙酯石油醚溶液展开, 碘蒸汽显色)指导合并。气相色谱分析显示, 混合洗脱的 1~6 流分, 其爱草脑的含量分别都在 99.55% 以上, 第 6 流分达到 100%。将 1~6 流分合并, 回收溶剂, 得无色液体, 即为爱草脑纯品, 存于冰箱中供生物测定用。

气相色谱仪为 Shimadzu GC-9A 型。条件为: SE-54 WCOT 石英毛细管柱, 长 30 m, 内径 0.28 mm, 柱温 70 °C 开始停留 2 min, 续后以 5 °C/min 程序升温至 200 °C。氮为载气, 气化室温度 200 °C, 分流比 30:1。尾吹 37.5 mL/min。检测器为氢火焰离子检测器(FID)。

定量方法: 采用 C-R3A 微处理机对各峰的积分面积进行计算, 求出面积百分比, 通过归一化法进行定量。

2 结果与分析

对仓库害虫的主要防治方法之一是使用熏蒸剂, 而植物精油都具有挥发性。因此, 作者使用齿叶黄皮精油作为熏蒸剂进行了对赤拟谷盗熏杀效果试验, 结果见表 1。由表 1 可知, 在空仓状态下, 用药量为 20 ~ 50 mg/L, 齿叶黄皮精油能基本上杀死全部试虫。但在实

表 1 齿叶黄皮精油对赤拟谷盗成虫的熏蒸效果⁽¹⁾ 1990年, 广州

处理剂量/mg·L ⁻¹	熏蒸时间/h	有无储藏物	处理总虫数 ⁽²⁾ /头	死亡虫数 ⁽²⁾ /头	平均校正死亡率/%
50	24	无	150	150	100
20	24	无	150	149	99.33
10	24	无	150	75	50.00
0	24	无	150	0	0
40	24	有	300	15	5.00
40	168	有	300	38	12.67
0	24	有	300	0	0
0	168	有	300	0	0

(1) 熏蒸温度为 25±1 °C, 相对湿度(RH) 为 70%。

(2) 3次重复的累加值

仓状态下, 精油用量达 40 mg/L, 并且熏蒸时间延长到 7 天, 赤拟谷盗的死亡率平均仅为 12.67%。这说明齿叶黄皮精油是一种良好的空仓消毒剂, 但应用于实仓熏蒸基本上无效。这主要是由于齿叶黄皮精油的活性成分为芳香烃类衍生物, 比起常用的磷化氢、溴甲烷等

熏蒸剂来,其分子量要大得多,挥发速率和穿透力都较弱。实仓应用时,必须设法提高其挥发速率和穿透力,比如对散装粮打渗药管以帮助其渗透等。这有待今后进一步试验。

我国劳动人民有一些传统的保存粮食的方法,如将天名精(*Carpesium abrotanoides*)全草在散装粮的上、中、下3层各铺入1层,可完全防止各类仓库害虫的发生(陈耀溪,1985)。这很可能是植物体中的挥发性成分在缓慢挥发的过程中起到了驱除仓库害虫的作用。由此得到启发,作者采用拌药法测定了齿叶黄皮精油作为谷物保护剂的治虫效果,结果见表2,由表2可知,在0.1%的剂量处理下,齿叶黄皮精油对谷蠹的繁殖抑制率为68.02%,而在0.2%的剂量处理下,对赤拟谷盗的繁殖抑制率达到100%,可完全抑制赤拟谷盗F₁代的产生,对仓储物达到100%的保护效果。

表2 齿叶黄皮精油对仓虫种群繁殖的抑制效果 (1990年,广州)

虫种	处理剂量/(%W/W)	F ₁ 代虫数 ⁽¹⁾ /头	平均繁殖抑制率/%
谷蠹	CK	459	
谷蠹	0.1	146	68.02
赤拟谷盗	CK	289.7	
赤拟谷盗	0.2	0	100

(1) 3次重复的平均值。

作者还分别采用喷雾法和滤纸药膜法测定了齿叶黄皮精油对赤拟谷盗成虫和黄粉虫初孵幼虫的触杀作用,其LC₅₀值分别为12.5%和9.78%(见图1)。由此看出,这种精油的急性触杀作用不强,但如果将精油拌入饲料中,然后接进仓库害虫(特别是赤拟谷盗),其急性致死率明显提高(见表4),这可能有下列几个原因:A.仓库害虫在饲料中爬行,增加了虫体接触药剂的机会;B.饲料吸附精油后缓慢释放出的蒸气对仓库害虫起了熏蒸作用;C.仓库害虫在尝试取食的过程中精油起到胃毒作用。

另采用滤纸药膜法测定了溴氰菊酯与精油混用的效果。从表3可见,0.0006%溴氰菊酯加5%齿叶黄皮精油可使中毒昏迷的虫数明显增加,处理4h后击倒率达72.7%,而单用

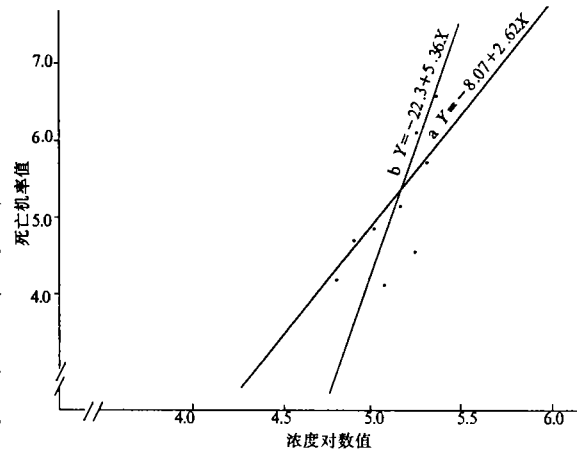


图1 齿叶黄皮精油对赤拟谷盗成虫和黄粉虫初孵幼虫的毒力回归线

a 黄粉虫 r=0.94
b 赤拟谷盗 r=0.99

表3 溴氰菊酯与齿叶黄皮精油对赤拟谷盗成虫的击倒作用(滤纸药膜法)⁽¹⁾ (1991年,广州)

处 理	4 h 击倒率/%	
0.0006% 溴氰菊酯 + 5% 齿叶黄皮精油	72.67	a
0.0012% 溴氰菊酯	5.33	c
0.0006% 溴氰菊酯	0	d
5% 齿叶黄皮精油	11.33	b
对照	0	d

(1) 表内数据为3次重复的平均值,纵列数据后标记字母相同者,示在5%水平上差异不显著(DMRT)。

表4 齿叶黄皮精油与爱草脑对玉米象的活性试验⁽¹⁾(饲料拌药法) 1991年, 广州

样品名称	用药量/(W/W)	接虫数/头	死虫数/头	死亡率/%	F ₁ 代虫数/头	繁殖抑制率/%
齿叶黄皮精油	0.2	50	46	92	0 b	100
爱草脑	0.1	50	48	96	0 b	100
对照		50	0	0	204.6 a	

(1)表内数据为3次重复的平均值。纵列数据后标记字母相同者,示在5%水平上差异不显著(DMRT)。

5% 齿叶黄皮精油中毒昏迷的虫数只有 11.3%。0.000 6% 溴氰菊酯的昏迷虫数为零。由此可见,齿叶黄皮精油对溴氰菊酯有明显的增效作用。

齿叶黄皮精油含有 10 多种化学成分,到底只是爱草脑抑或是另一些成分具有杀虫的活性,还是多种成分组合一起而显示其杀虫的活性?为了弄清这一点,作者采用柱层析方法对齿叶黄皮精油的主成分爱草脑进行了分离纯化,得到了含量达 99.55% 以上的纯品(气相色谱法,如图 2 所示)。用此纯品作试验,发现爱草脑即为齿叶黄皮精油中的有效杀虫成分。如表 4 所示,0.2% 齿叶黄皮精油和 0.1% 爱草脑具有同样的治虫效果。

3 讨论

齿叶黄皮精油的杀虫作用本文属首次报道。而 Okunade(1987)曾报道了爱草脑的杀虫作用。他从 *Clausena anisata* 的枝叶中蒸馏得精油,发现此精油对臭蝗 (*Zonocerus variegatus*) 有毒杀作用,其 LD₅₀ 值为 3 780 mg/kg,从精油中分离出其主成分爱草脑,发现它的毒性为原油的 1.5 倍,其 LD₅₀ 值为 2 430 mg/kg,这说明爱草脑是毒杀臭蝗的有效成分。

齿叶黄皮精油中另一个含量较高的成分——大茴香脑,其分子结构式与爱草脑对比,只是一个双键位置的不同,前人也曾报道了它的杀虫活性。早在 1939 年, Bushland 就采用以大茴香脑为主成分的大茴香油和小茴香油对螺旋蝇 (*Cochiomyia americana*) 进行杀卵毒力试验,结果发现,这两种精油对前期卵和后期卵的致死率均达 100%。

Marcus 等(1979)研究了茴香油对家蝇的毒杀作用。他们认为茴香油的杀虫成分为反式-大茴香脑,此成分对家蝇的 LD₅₀ 值为 75 μg/虫。且发现大茴香脑和大茴香醛与对硫磷、对氧磷、西维因和呋喃丹分别混合后进行局部点滴试验,能提高这些杀虫剂的药效。如果家蝇取食含有 0.5% 大茴香脑的食料时,对氧磷和对硫磷的药效也因而明显提高。进一步的试验证明,家蝇取食含有大茴香脑的食料后,可使对氧磷易于穿透虫体,阻止它代谢为水溶性的无毒物。这些工作为齿叶黄皮精油的杀虫作用提供了有力的佐证。

齿叶黄皮是多年生常绿小灌木,生长繁殖容易,十分适宜于石灰岩地区种植,是粤北贫

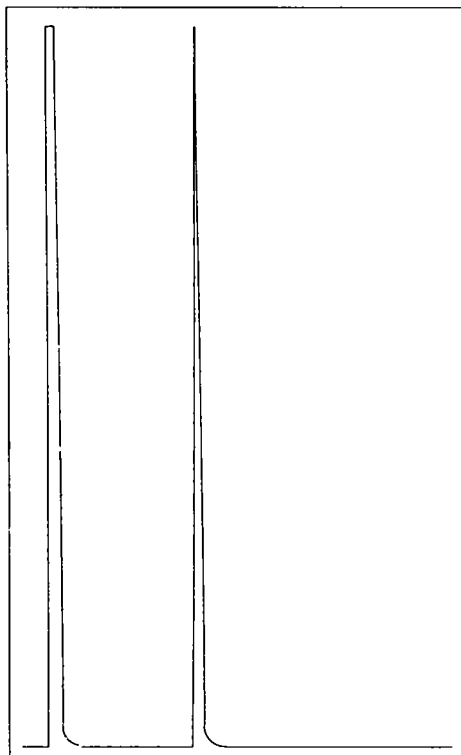


图2 分离后的齿叶黄皮精油气相色谱图

困山区的常见植物,其出油率高达0.7%。如能合理地种植开采,既可绿化山区。改善当地生态环境,又可促进山区经济的发展,值得作进一步的开发研究。

参 考 文 献

- 中国科学院植物研究所. 1985. 中国高等植物图鉴补编: 第2册. 北京: 科学出版社, 160
- 朱亮锋, 陆碧瑶, 李毓敬, 等. 1987. 异大茴香脑新资源——齿叶黄皮的研究. 植物学报, 29(4):416~421
- 陈耀溪. 1985. 仓库害虫(增订本). 北京: 农业出版社, 481~482
- 张泽溥, 夏宏世, 叶于芳, 等. 1963. 杀虫剂及杀菌剂的生物测定. 北京: 中国工业出版社, 87~88
- 徐汉虹, 赵善欢, 朱亮锋. 1992. 植物精油对仓库害虫的熏蒸作用研究. 广东粮油科技, 46:1~10
- 徐汉虹, 赵善欢, 朱亮锋. 1993. 精油对储粮害虫种群的繁殖抑制作用研究. 中国粮油学报, 8(2):11~17
- 徐汉虹, 赵善欢. 1994. 肉桂油的杀虫活性与有效成分研究. 华南农业大学学报, 15(1):27~32
- Bushland Raymond C. 1939. Volatile oils as ovicides for the Screwworm, *Cochoimya americana* C & P. J Econ Ent, 32(3):430~431
- Marcus C, Lichtenstein E P. 1979. Biologically active components of anise: Toxicity and interactions with insecticides in insects. J Agric Food Chem, 27(6):1217~1223
- Okunade A L, Olifa J L. 1987. Estragole, an acute toxic principle from the volatile oil of the leaves of *Clausena anisata*. J Nat Prod, 50(5):990~991

STUDIES ON INSECTICIDAL ACTIVITY OF THE ESSENTIAL OIL FROM *Clausena dunniana* AND ITS TOXIC COMPONENT

Xu Hanhong¹ Zhao Shanjuan^{*} Zhu Liangfeng² Lu Biyao²

(1 Lab. of Insect Toxicology, South China Agr. Univ., 510642, Guangzhou;

2 South China Botanical Institute, Academia Sinica.)

Abstract Results of bioassays showed that the essential oils from *Clausena dunniana* was very effective against stored-product insects, *Sitophilus zeamais* and other species. It caused 99.33% of mortality and completely inhibited the reproduction of red flour beetle (*Tribolium castaneum*) when was used for fumigation at a dosage of 20 mg/L, or mixed with wheat flour at a concentration of 0.2% by weight. Estragole, the predominant component of the essential oil, was isolated by means of column chromatography and proved to be the insecticidal component of this plant by a series of bioassays.

Key words *Clausena dunniana*; Estragole; Toxic component; Essential oil; Insecticidal activity

* Chiu Shin-Foon