

山石榴果实提取物对小菜蛾的拒食作用

曾东强^{1,2}, 陈丽丽¹, 徐汉虹², 杨克迪³

(1 广西大学农学院, 广西南宁 530005; 2 华南农业大学农药与化学生物学教育部重点实验室, 华南农业大学昆虫毒理研究室, 广东广州 510642; 3 广西大学化学化工学院, 广西南宁 530004)

摘要:以室温冷浸法,用石油醚、乙酸乙酯和甲醇等溶剂对山石榴 *Catunaregam spinosa* 果实进行提取,其提取率分别为 0.44%、1.80% 和 17.10%。拒食活性测定结果表明:在 10 mg/mL 的质量浓度下,甲醇提取物对小菜蛾 *Plutella xylostella* 幼虫的拒食活性最高,24 h 非选择性拒食率达 82.49%。对甲醇提取物进行活性成分分离,初步确定活性成分主要存在于正丁醇萃取物和甲醇/水(体积比为 10/3)的沉淀物中,质量浓度为 10 mg/mL 时,正丁醇萃取物和甲醇/水沉淀物对小菜蛾幼虫 24 h 拒食率分别为 91.24% 和 96.77%。

关键词:山石榴;小菜蛾;拒食活性

中图分类号:S482.39

文献标识码:A

文章编号:1001-411X(2005)04-0034-03

Antifeedant activity of *Catunaregam spinosa* fruit extracts against *Plutella xylostella*

ZENG Dong-qiang^{1,2}, CHEN Li-li¹, XU Han-hong², YANG Ke-di³

(1 College of Agric., Guangxi Univ., Nanning 530005, China; 2 Key Lab of Pesticide and Chemical Biology, Ministry of Education, Lab of Insect Toxicology, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China; 3 College of Chemistry & Chemical Engineering, Guangxi University, Nanning 530005, China)

Abstract: The fruit extracts of *Catunaregam spinosa* were used to tested for antifeedant activity against the larvae of *Plutella xylostella* in the study. The powdered fruit was extracted with petroleum ether, ethyl acetate and methanol, and the extract rates were 0.44%, 1.80% and 17.10%, respectively. The methanol extract showed more antifeedant activity against the larvae of *Plutella xylostella* than the petroleum ether extract and ethyl acetate extract, and the antifeedant rate of the methanol extract in 24 h after treatment in the no-choice bioassay reached 82.49% at the concentration of 10 mg/mL. The active ingredients of the methanol extract were separated preliminarily. The results showed that the antifeedant components were mainly in the precipitate in the methanol/water partition ($V/V = 10/3$), and in the n-butyl alcohol fraction after the methanol extract was partitioned in n-butyl alcohol and water. Antifeedant rates of the precipitate and the n-butyl alcohol fraction in 24 h after treatment were 96.77% and 91.24% at the concentration of 10 mg/mL, respectively.

Key words: *Catunaregam spinosa*; *Plutella xylostella*; antifeedant activity

人们已证实许多来源于植物的生物碱、萜烯类、葡糖苷等化合物对昆虫具有拒食作用^[1,2],特别是从楝科植物中提取分离的印楝素,对多种重要的农业害虫表现出优良的拒食和忌避活性,并已被广泛应

用于害虫防治^[3]。近代农药已不再以“杀死”为唯一特征,因此,从害虫的非寄主植物中寻找对害虫具有拒食活性的化合物,已成为创制农药的一个研究热点^[4]。山石榴 *Catunaregam spinosa*, 又名筋柎树、牛

头筋、刺榴等,系茜草科 Rubiaceae 山石榴属植物.该属植物全世界约有 10 种,在我国仅分布有 1 种^[5].据报道,山石榴的根、叶和果实均可作药用,根利尿、祛风湿;叶可止血;在巴西发现其果实具有消炎和治疗肿瘤的作用^[6].但山石榴对害虫的生物活性鲜有报道.本文报道了山石榴果实提取物对小菜蛾幼虫的拒食活性.

1 材料与方法

1.1 供试材料

山石榴果实:2002年10月采于广西防城港市,植物种名由广西林业勘探设计院钟业聪高级工程师鉴定.果实阴干后,放于恒温烘箱内 55~60℃烘干,粉碎,过 40 目筛,贮于低温干燥地方备用.

小菜蛾 *Plutella xylostella*:在广西大学实验农场采集小菜蛾高龄幼虫,在室内以萝卜苗继代饲养,饲养条件为温度 25~28℃,光照 14 h/d,日光灯光源.挑选健康、大小一致的小菜蛾 3 龄幼虫供试.

1.2 试验方法

1.2.1 提取物的制备 采用室温冷浸法.称取山石榴果实干粉 100 g,分别用定量的甲醇、乙酸乙酯和石油醚提取,提取液减压浓缩至膏状,分别称质量,计算各溶剂的提取率.提取物置于 4℃ 的冰箱中保存备用.

1.2.2 活性成分的初步分离 称取山石榴果实甲醇提取物 10 g,用 100 mL 甲醇溶解后,加 30 mL 蒸馏水沉降,抽真空过滤,沉淀物连同滤纸放入干燥箱中 60℃ 烘干,将沉淀物刮下,称质量,保存备用.滤液即甲醇/水相,分别用等体积的石油醚、三氯甲烷萃取 3 次,将石油醚相、三氯甲烷相和甲醇/水相分别减压浓缩至膏状.

称取山石榴果实甲醇提取物 10 g,用 100 mL 水溶解后,用等体积的正丁醇萃取 3 次,将正丁醇相和水相分别减压浓缩至膏状.

1.2.3 拒食活性测定 采用非选择性叶碟法^[7].

选取洁净的甘蓝叶片,用圆形打孔器(直径为 1.5 cm)打成叶碟,将叶碟在供试药液中浸 1~2 s 后取出,自然晾干,置于垫有保湿滤纸的培养皿中,每皿放入叶片 2 片,接入已饥饿 6 h 的幼虫 1 头.供试样品以 $w = 60\%$ 的丙酮水溶液稀释溶解,超声波助溶,配成质量浓度为 10 mg/mL 的药液,以 $w = 60\%$ 丙酮水溶液作对照.每个处理设 15 个重复.24 和 48 h 后,用透明方格纸测定试虫取食面积,计算拒食率.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 $\times 100\%$.

2 结果与分析

2.1 不同溶剂的提取效果

以 3 种不同极性的溶剂甲醇、乙酸乙酯和石油醚分别对山石榴果实进行提取,按所得的浸膏质量(分别为 17.10、1.80 和 0.44 g)计算提取率,结果表明:甲醇的提取率最高,可达 17.10%,而乙酸乙酯和石油醚的提取效果较差,提取率分别仅为 1.80% 和 0.44%.

2.2 不同溶剂提取物对小菜蛾幼虫的拒食作用

在 10 mg/mL 的质量浓度下,测定不同溶剂的山石榴果实提取物对小菜蛾幼虫的非选择性拒食活性.结果(表 1)表明,甲醇提取物对小菜蛾幼虫表现出较高的拒食活性,24 h 的拒食率达 82.49%,显著高于石油醚和乙酸乙酯提取物的拒食率,(分别仅为 38.77%、44.54%).

2.3 不同萃取物的拒食活性

山石榴甲醇提取物用 2 种方法进行初步分离,得到不同萃取物.活性跟踪测定结果表明,甲醇提取物用甲醇溶解后,经水沉降得到的沉淀物,和甲醇提取物水溶后经正丁醇萃取得到的正丁醇萃取物,对小菜蛾幼虫具有较强拒食活性,在 10 mg/mL 的质量浓度下,24 h 拒食率分别为 96.77% 和 91.24%,显著高于其他萃取物的拒食率.其次为氯仿萃取物,拒食率为 57.70%,石油醚萃取物和 2 种水相萃取物的拒食率均低于 20% (表 2).

表 1 不同溶剂提取物对小菜蛾 3 龄幼虫的拒食活性¹⁾

Tab. 1 Antifeedant activity of different solvent extracts against 3rd instar larvae of *Plutella xylostella*

提取溶剂 extract solvents	处理后 24 h 24 h after treatment		处理后 48 h 48 h after treatment	
	取食叶面积 fed area/mm ²	拒食率 antifeedant rate/%	取食叶面积 fed area/mm ²	拒食率 antifeedant rate/%
	石油醚 petroleum ether	39.65 ± 2.51b	38.77 ± 0.39a	58.33 ± 4.36b
乙酸乙酯 ethyl acetate	36.53 ± 3.57b	44.54 ± 0.55a	62.21 ± 9.19b	30.98 ± 9.84a
甲醇 methanol	11.33 ± 2.06c	82.49 ± 0.38b	17.17 ± 3.54c	80.96 ± 3.03b
对照 control	64.71 ± 6.99a		90.14 ± 4.36a	

1) 表中同列数据后具相同字母者表示在 0.05 水平上无显著差异(DMRT 法);提取物的处理浓度均为 10 mg · mL⁻¹

表2 山石榴果实甲醇提取物的不同萃取物对小菜蛾幼虫的拒食活性¹⁾Tab.2 Antifeedant activity of extracts partitioned with some solvents from methanol extract of *Catunaregam spinosa* fruit against the larvae of *Plutella xylostella*

萃取物 extract	处理后 24 h 24 h after treatment		处理后 48 h 48 h after treatment	
	取食叶面积 fed area/mm ²	拒食率 antifeedant rate/%	取食叶面积 fed area/mm ²	拒食率 antifeedant rate/%
	甲醇/水沉淀物 precipitate of methanol/water	1.07 ± 0.46c	96.77 ± 2.89a	2.62 ± 0.95d
石油醚萃取物 petroleum ether extract	29.92 ± 4.45a	10.63 ± 2.12c	69.50 ± 4.56ab	12.69 ± 1.62c
氯仿萃取物 chloroform extract	14.00 ± 4.61b	57.70 ± 2.89b	34.38 ± 3.41c	56.81 ± 1.04b
甲醇/水萃取物 methanol/water extract	27.59 ± 3.96a	16.71 ± 2.73c	58.35 ± 5.87b	26.70 ± 2.20c
正丁醇萃取物 n-butyl alcohol extract	2.90 ± 0.50c	91.24 ± 1.52a	8.80 ± 2.58d	88.94 ± 3.18a
水萃取物 water extract	28.89 ± 4.14a	12.72 ± 1.31c	71.00 ± 3.14ab	10.80 ± 1.94c
对照 control	33.10 ± 4.52a		79.60 ± 8.33a	

1) 表中同列数据后具相同字母者表示在 0.05 水平上无显著差异(DMRT 法);提取物的处理浓度均为 10 mg · mL⁻¹

3 讨论与结论

选择适当的提取溶剂是进行活性植物研究的关键。吴文君等^[8]提出选用不同极性的溶剂(石油醚、苯、乙醚、丙酮、甲醇、水等)进行系列提取,可以避免活性成分的遗漏。山石榴果实分别用 3 种不同极性溶剂提取,甲醇极性最强,提取率最高,达 17.10%,石油醚极性最低,提取率也是最低,仅为 0.44%,这表明山石榴果实含有较多种极性较强的次生物质。不同溶剂提取物对小菜蛾幼虫的拒食活性有很大的差异。甲醇提取物的拒食活性最高,拒食率达 80% 以上,石油醚和乙酸乙酯提取物的拒食活性较低,拒食率均低于 50%。因此,甲醇是提取山石榴果实拒食活性成分较适宜的提取溶剂。

本文对山石榴果实甲醇提取物的拒食活性成分进行了初步分离,并进行活性跟踪测定,结果表明,山石榴果实对小菜蛾幼虫的拒食活性成分主要存在于甲醇/水的沉淀物和正丁醇萃取物中,在 10 mg · mL⁻¹的质量浓度下,这 2 部分对小菜蛾幼虫的 24 h 拒食率都高于 90%,而石油醚萃取物和 2 种水相萃取物的拒食率均低于 20%。虽然,氯仿萃取物的拒食率达 57.70%,但这有可能是残留溶剂导致拒食率偏高的结果。由此推测山石榴果实中的拒食活性成分可能是难溶于水的、极性较强的物质。这为今后山石榴果实活性成分的进一步分离纯化研究提供了理论依据。山石榴果实对小菜蛾幼虫具有良好的拒食活性,从中寻找出高活性的拒食物质,指导生

物合理性杀虫剂的仿生合成,具有重要意义。

致谢:广西大学农学院植保系 2001 级杨刚、韦家书同学参与了部分试验,邓国荣研究员、黄大兴副研究员在试验研究过程中提出了宝贵的建议,特此致谢!

参考文献:

- [1] BENNER P. Pesticide compounds from higher plants [J]. *Pesticide Sci*, 1993, 39(1): 95.
- [2] 徐汉虹. 杀虫植物及植物性杀虫剂[M]. 北京:中国农业出版社, 2001. 41-42.
- [3] IMMARAJU J A. The commercial use of azadirachtin and its integration into viable pest control programmes [J]. *Pesticide Sic*, 1998, 54: 285-289.
- [4] PICKETT J A, WADHAMS L J, WOODCOCK C M. Developing sustainable pest control from chemical ecology [J]. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 1997, 64(2): 149-156.
- [5] 罗献瑞. 中国植物志:第 71 卷[M]. 北京:科学出版社, 1999. 338-340.
- [6] HAMERSKI L, FURLAN M, SIQUEIRA S, et al. Iridoid glucosides from *Randia spinosa* (Rubiaceae) [J]. *Phytochemistry*, 2003, 63(4): 397-400.
- [7] 慕立义. 植物化学保护研究方法[M]. 北京:中国农业出版社, 1997. 67-68.
- [8] 吴文君, 刘德霞, 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. 152-154.

【责任编辑 李晓卉】