

侧柏叶总黄酮对槐蚜的杀虫活性研究

王庆忠, 王东方

(潍坊学院 生物与农业工程学院, 山东省高校生物化学与分子生物学重点实验室, 山东 潍坊 261061)

摘要:用乙醇水加热回流法提取侧柏叶总黄酮, 并就提取物对槐蚜的杀虫活性进行了测定。结果表明:室内叶片法生测后, 提取物对槐蚜毒效的 LC_{50} 为 13.71 mg/mL; 田间防治效果测定, 当浓度为 30 mg/mL 时, 对槐蚜的防治效果为 85.19%。因此, 侧柏叶总黄酮对槐蚜有较好的杀虫效果。

关键词:侧柏叶; 总黄酮; 槐蚜; 生物活性

中图分类号:S 482.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)02-0101-03

槐蚜(*Aphis sophoricola* Zhang)属同翅目(Homoptera)蚜科(Aphididae)昆虫, 是绿化树种国槐等的主要害虫之一^[1-2]。目前主要依赖于化学农药对其进行防治, 但大量使用化学农药会促使害虫产生抗药性, 农药残留还会破坏食物链和造成环境污染。植物源生物农药具有安全性高和易降解等优点, 已经成为今后发展的方向。目前针对槐蚜的植物源农药还鲜见报道, 许多研究都集中在利用杀虫植物提取物防治萝卜蚜等方面^[3-6]。公衍玲等^[7]研究表明, 侧柏(*Platycladus orientalis*)叶提取物中主要含有黄酮类、鞣质和挥发油等, 具有良好的药用价值, 并对多种细菌和真菌有较强的抑菌活性^[7]。该研究用乙醇水加热回流萃取了侧柏叶总黄酮, 并就其对槐蚜的杀虫活性进行测定, 以期将侧柏叶提取物开发成一种低毒、低残留、低成本的绿色植物源杀虫剂提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

侧柏叶采集于潍坊高新区路边绿化带。槐蚜采集于潍坊学院校内。主要仪器有 800A 型中药粉碎机(青州市精诚医药装备制造有限公司)、RE-5299 旋转蒸发器、SHZ-III A 循环水真空泵(上海一凯设备有限公司)。主要试剂有乙醇(上海凌峰化学试剂有限公司生产)、二

甲基亚砜(DMSO)(国药集团化学试剂有限公司)、吡虫啉(潍坊大有生物化工有限公司)等。

1.2 试验方法

1.2.1 侧柏叶总黄酮的制备 侧柏叶经清洗和晾干后进行如下处理:①烘箱中 65℃ 烘干后, 用中药粉碎机粉碎 15~30 s;②称取 200 g 粉末置入索氏提取装置的圆底烧瓶中, 加入 75%乙醇 500 mL, 在电磁恒温搅拌器上加热回流萃取 2 h, 真空抽滤, 残渣再经萃取和抽滤, 合并滤液;③用旋转蒸发器 40℃ 浓缩至干;④称重后, 用 10% DMSO 配制成浓度为 80 mg/mL 储存液备用。

1.2.2 侧柏叶总黄酮对槐蚜的杀虫活性测定 采用室内叶片法^[8-9]。采集虫口密度大的国槐枝叶或花序带回实验室, 以大小适中的健康无翅成蚜为试虫, 并将带虫叶片等修剪为每片 25 头虫左右, 置于铺有滤纸的培养皿中。用 10% DMSO 水溶液梯度稀释侧柏叶总黄酮储存液, 并喷洒于各个试验皿中, 以 10% DMSO 水溶液作为对照, 置于温度为 25℃、湿度为 80%的培养箱内培养, 24 h 后统计蚜虫死亡率。每浓度 3 次重复, 死亡率以 3 次重复的平均值计, 用下式计算死亡率和校正死亡率。死亡率(%)=试虫死亡数/试虫总数×100, 校正死亡率(%)=[处理组死亡率(%) - 对照组死亡率(%)]/[100 - 对照组死亡率(%)×100。

1.2.3 侧柏叶总黄酮对槐蚜的田间防治效果测定 试验在潍坊学院校区内的 3 株生有槐蚜的国槐上进行, 当时气温 31~35℃, 相对湿度为 63.5%。共设对照、农药处理和提取物处理 3 个试验组, 每组设 3 次重复。对照组为 10% DMSO 添加 0.03%吐温-80 乳化液, 农药处理组为将吡虫啉 10%可湿性粉剂配成 1.33 mg/mL 的水剂, 提取物处理组为储存液用 10% DMSO 稀释成 30 mg/mL 后添加 0.03%吐温-80 的乳剂。用手持喷雾器

第一作者简介:王庆忠(1961-), 男, 山东潍坊人, 博士, 教授, 现主要从事生物制药和植物保护方面的研究工作。E-mail: waqizh@163.com.

基金项目:山东省自然科学基金资助项目(ZR2012CQ028); 潍坊市科技发展计划资助项目(2011022, 20111023); 潍坊学院优秀学术团队资助项目(2010Z03)。

收稿日期:2012-10-18

将药液均匀喷于国槐叶背面或花序至滴水为止,施药 24 h 后调查活虫数。虫口减退率(%)=药前虫口数-药后虫口数/药前虫口数 \times 100,防治效果(%)=(处理组虫口减退率-对照组虫口减退率)/(100-对照组虫口减退率) \times 100。

1.3 数据分析

试验数据以 Mean \pm SEM 表示,数据处理用 SPSS 10.0 软件进行,以 One-way ANOVA 判断各组间差异,以 $P<0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 不同浓度侧柏叶总黄酮对槐蚜的室内杀虫活性

从表 1 可以看出,提取物对槐蚜有很好的触杀作用,20 mg/mL 时,校正死亡率达到 58.96%;当浓度为 40 mg/mL 时,校正死亡率达到 86.00%。其触杀作用的毒力回归方程是 $y=18.0x-12$,相关系数为 $R^2=0.9878$, LC_{50} 为 13.71 mg/mL。

表 1 侧柏叶总黄酮对槐蚜的触杀作用

($\bar{x}\pm$ SEM, $n=3$)

Table 1 Contact toxicity of total flavonoids of *Platycladus orientalis* leaves on *Aphis sophoricola* Zhang ($\bar{x}\pm$ SEM, $n=3$)

提取液浓度/mg \cdot mL $^{-1}$	24 h 死亡率/%	24 h 校正死亡率/%
40	86.3 \pm 1.6 * #	86.00
20	69.2 \pm 1.4 * #	58.96
10	31.4 \pm 1.7 * #	29.05
5	17.6 \pm 2.3 * #	14.73
2.5	5.62 \pm 1.8 * #	2.30
对照	3.4 \pm 1.6	—

注: * 表示与对照组比较差异显著($P<0.05$), # 表示与其它处理比较差异显著($P<0.05$)。下同。

2.2 侧柏叶总黄酮对槐蚜的田间防治效果

由表 2 可以看出,处理 24 h 后,30 mg/mL 侧柏叶总黄酮对槐蚜有明显的致死作用,防治效果为 85.19%,与 1.33 mg/mL 吡虫啉农药的防治效果相比显著不差异

表 2 侧柏叶总黄酮对槐蚜的田间防治试验效果

Table 2 Effect of total flavonoids of *Platycladus orientalis* leaves on *Aphis sophoricola* Zhang in the field

处理	减退率/%	防治效果/%
提取液 30 mg \cdot mL $^{-1}$	85.6 \pm 1.4 *	85.19
吡虫啉 1.33 mg \cdot mL $^{-1}$	97.6 \pm 0.8 *	97.53
对照	2.8 \pm 5.6	—

($P>0.05$),而与对照相比差异显著($P<0.05$)。试验期间没有观察到各处理药物对国槐的生长有不良的影响。

3 结论与讨论

该研究通过室内叶片法测定了侧柏叶总黄酮对槐蚜的杀虫活性,结果表明侧柏叶总黄酮中含对槐蚜有很好的触杀活性的物质。田间防治效果试验结果进一步表明,提取物对槐蚜有明显的防效,30 mg/mL 提取物处理 24 h 后的防效达 85.19%,与目前使用的化学农药吡虫啉的防治效果相比无显著差异($P<0.05$)。这些结果说明,侧柏叶总黄酮可以开发为一种植物源生物农药。

侧柏是我国特产树种,广泛分布于全国各地。侧柏叶总黄酮和侧柏叶挥发油的提取已经有较成熟的工艺^[7,10],这些提取物目前主要用于多种疾病的预防与治疗。如果以侧柏叶总黄酮原料开发出一种安全广谱的植物源生物农药,将具有诱人的前景。至于侧柏叶总黄酮对其它种类蚜虫的活性,以及对其它农业害虫的触杀作用,还需要进一步的研究。

参考文献

- [1] 刘金英,庞建军,翟善民. 国槐主要害虫可持续防治技术[J]. 中国森林病虫,2001(增刊):58-59.
- [2] 卫天星,郭小侠,甘赖丽. 西安市行道树主要害虫发生规律及防治研究[J]. 陕西师范大学学报(自然科学版),2003(增刊):93-95.
- [3] 赵伯涛,王康才,钱骅,等. 苦参总生物碱提取工艺优化及杀蚜虫活性研究[J]. 中国野生植物资源,2008,27(1):43-46.
- [4] 刘艳华,邓业成,邓志勇. 75 种植物提取物对萝卜蚜杀虫活性的测定[J]. 河南农业科学,2008(1):72-75.
- [5] 赵彦君,师宝君,胡兆农. 杠柳毒素 NW 的杀虫活性[J]. 昆虫知识,2008,45(6):950-952.
- [6] 高占林,潘文亮,党志红,等. 几种杀虫植物对蚜虫的生物活性及与化学杀虫剂混用的联合毒力[J]. 河北农业大学学报,2004,27(4):67-70.
- [7] 公衍玲,金宏,王洪波. 侧柏叶挥发油提取工艺及其抑菌活性研究[J]. 化学与生物工程,2009,29(2):36-38.
- [8] 刘月,霍清,张盛宇,等. 臭椿叶提取液对蚜虫防治效果的研究[J]. 北方园艺,2009(9):94-95.
- [9] 乔淑芬,孙智慧,顾地周. 长白山区三种龙胆乙醇浸提液对大豆蚜虫的触杀活性[J]. 农药,2009,48(12):929-931.
- [10] 陈兴芬,单承莺,姜洪芳,等. 侧柏叶总黄酮的纯化工艺研究[J]. 江苏农业科学,2011,39(3):400-402.

Study on the Insecticidal Activity of Total Flavonoids from Leaves of *Platycladus orientalis* on *Aphis sophoricola* Zhang

WANG Qing-zhong, WANG Dong-fang

(Key Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology in University of Shandong Province, College of Bio-engineering and Agriculture, Weifang University, Weifang, Shandong 261061)

黑龙江省西瓜枯萎病菌生理小种鉴定及抗病鉴定方法筛选

王喜庆, 贾云鹤, 尤海波

(黑龙江省农业科学院 园艺分院, 黑龙江 哈尔滨 150069)

摘 要:从黑龙江省西瓜主产区采集枯萎病病样 8 份, 从病原菌生理小种鉴定入手, 研究了黑龙江省西瓜枯萎病菌生理小种的分化, 并筛选出抗病性鉴定的方法, 并对 26 份西瓜育种材料进行抗病性鉴定。结果表明: 黑龙江省西瓜主产区采集的 8 个菌株侵染西瓜的枯萎病发病率都在 70% 以上, 轻度侵染黄瓜和甜瓜, 发病率在 20% 以下, 8 个菌株都为西瓜专化型镰刀菌。黑龙江省西瓜枯萎病的主要致病菌为生理小种 1; 西瓜抗枯萎病鉴定最佳方法为 1×10^5 孢子/mL 的孢子悬浮液、浸根接种法、在子叶展平时进行接种; 从 26 份西瓜材料中筛选出西瓜高抗枯萎病材料 3 份, 即 07W26、07W28、BW19, 发病率 $< 20\%$ 。

关键词:西瓜枯萎病; 生理小种; 抗病鉴定

中图分类号:S 436.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)02-0103-05

西瓜枯萎病是一种世界性的严重土传真菌性病害, 该病是由尖镰孢菌西瓜专化型(*Fusarium oxysporum* f. *spniueum*(E. F. Smith) Snyder & Hansen) 侵染引致的维管束系统病害。西瓜枯萎病在我国各地西瓜生产中均有发生。枯萎病导致西瓜减产, 甚至绝产。1894 年美国的 Smith 首次报道西瓜枯萎病, 自此, 有关此病的研究报道逐渐增多, 研究领域也包括病原、传播途径、致病机制、抗病机制、抗病育种及综合防治等方面^[1-3]。国际上公认的西瓜枯萎病菌有 3 个生理小种, 即生理小种 0 号、1 号、2 号。其中生理小种 2 号的侵染性最强^[4-7]。

第一作者简介:王喜庆(1973-), 男, 硕士, 副研究员, 硕士生导师, 国家西甜瓜产业技术体系哈尔滨综合试验站站长, 现主要从事瓜类育种与栽培技术等研究工作。E-mail: xiqingwang100@163.com.

基金项目:国家现代农业产业技术体系建设专项资助项目(CARS-26-27); 黑龙江省农业科学院创新工程重点资助项目。

收稿日期:2012-10-22

我国大多数学者研究认为, 中国以生理小种 1 号占主导, 除以上 3 个生理小种外, 还有其它的小种分化^[8-9]。近年来, 黑龙江省西瓜生产每年因枯萎病导致减产 10% 左右, 已成为西瓜生产的限制因素之一^[10]。该试验从病原菌生理小种鉴定入手, 研究了黑龙江省西瓜枯萎病菌生理小种的分化, 并筛选出抗病性鉴定的方法, 并对一些育种材料进行抗病性鉴定, 以期抗病育种打下基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

西瓜枯萎病病原菌来源: 枯萎病菌的病样采集自黑龙江省西瓜主产区, 分离后进行单孢培养, 获得 8 个菌株 FON-1~FON-8。

致病力测定采用中抗西瓜品种“京欣 1 号”。

专化型鉴定的其它材料为: 西瓜材料为中抗品种“京欣 1 号”, 其它种类作物和品种有黄瓜品种“816”、甜瓜品种“龙甜 4 号”、南瓜品种“谢花面”、葫芦品种“京欣砧 1 号”、冬瓜品种“绿皮大冬瓜”。

Abstract: The total flavonoids of *Platycladus orientalis* leaves was extracted with alcohol-water solution by heating to reflux for 2 hours, and the insecticidal activities of extracts were detected against *Aphis sophoricola* Zhang. The results showed that the total flavonoids of indoor leaf bioassay were toxic to *Aphis sophoricola* Zhang with LC_{50} of 13.71 mg/mL. The results of the control efficiency determination experiment in the field indicated that the control efficiency of the total flavonoids was 85.19% against the insect when the concentration of extracts was 30 mg/mL. Therefore, the total flavonoids of *Platycladus orientalis* leaves had a good insecticidal activity against *Aphis sophoricola* Zhang.

Key words: leaves of *Platycladus orientalis*; total flavonoids; *Aphis sophoricola* Zhang; insecticidal activity