

文章编号: 1674 - 7054(2015)03 - 0293 - 05

核桃青皮提取物对斜纹夜蛾的生物活性

王军¹ 闫超² 李益³ 冯岗² 徐麟³ 梅文莉¹ 戴好富¹

(1. 中国热带农业科学院 热带生物技术研究所/农业部热带作物生物学与遗传资源利用重点实验室/海南省黎药资源天然产物研究与利用重点实验室 海南 海口 571101; 2. 中国热带农业科学院 环境与植物保护研究所 海南 海口 571101; 3. 新疆农业科学院 海南三亚农作物育种试验中心, 新疆 乌鲁木齐 830091)

摘要: 室内条件下测定了核桃青皮乙醇提取物对斜纹夜蛾3龄幼虫的生物活性。结果表明 核桃青皮乙醇提取物对斜纹夜蛾3龄幼虫具有较强的毒杀作用,第3天和第7天的 LC_{50} 值分别为8.35和3.96 $g \cdot L^{-1}$;在供试浓度为0.5~2.5 $g \cdot L^{-1}$ 时,对斜纹夜蛾3龄幼虫具有明显的抑制生长发育作用,主要表现为处理组幼虫体质量增长缓慢,幼虫期和蛹期延长,蛹质量和化蛹率显著低于对照。

关键词: 核桃青皮; 斜纹夜蛾; 生物活性

中图分类号: S 481.1

文献标志码: A

DOI: 10.15886/j.cnki.rds wxb.2015.03.012

核桃为胡桃科(Juglandaceae)胡桃属(*Juglans* L.)植物胡桃(*Juglans regia* L.),主要分布于中亚、西亚、南亚和欧洲,在我国原产于华北、西北、西南、华南和华东地区^[1]。目前,我国核桃栽培的分布范围很广,除内蒙古、上海、广东和海南外,其他26个省市均有种植^[2]。截止到2011年底,我国核桃产量为165.56万 $t \cdot a$ ^[3],且保持持续增长的势头。核桃青皮又称青龙衣,为核桃外部一层厚厚的绿色果皮,味辛、苦、性涩、平,具有清热、解毒、止痢、明目和抗肿瘤的功效,能治泄泻、痢疾、白带、目赤等,外用于皮肤疥癣、疣等皮肤病^[4]。核桃青皮的化合物主要为萜醌类(胡桃醌)、多酚类、多糖、二苄基庚烷类等^[5-8],对化学成分的生物活性研究主要集中在抗癌、抗菌和抗氧化等方面^[9-15],部分学者做了杀虫活性方面的研究,如核桃青皮挥发油对苹果小卷蛾^[16]及核桃青皮提取物对玉米螟^[17]、板栗叶螨^[18]、朱砂叶螨^[19]、枸杞蚜虫^[20]、萝卜蚜虫^[21]、小麦蚜虫^[22]、马铃薯蚜虫和瓢虫^[23]、粘虫和小菜蛾^[24]的触杀、毒杀或拒食活性等,但有关核桃青皮提取物对斜纹夜蛾的生物活性经文献检索未见报道。斜纹夜蛾(*Spodoptera litura* Fabricius)属鳞翅目(Lepidoptera)、夜蛾科(Noctuidae),是世界重要的农业害虫之一,以幼虫取食寄主植物的果实、花、叶等,寄主植物多达99科290多种^[25],其在海南各地普遍为害,给海南的支柱产业反季节瓜菜生产造成了严重损失^[26]。为避免由于施用化学药剂造成的环境污染和害虫耐药性等问题,人们倾向于使用天然的高效、安全的物质来开发新型杀虫剂。笔者在室内条件下测定了核桃青皮提取物毒杀斜纹夜蛾幼虫和抑制其生长发育的效果,以期充分利用核桃资源开发新型植物源农药提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料 核桃青皮由新疆农科院徐林研究员提供,采自新疆巴音郭楞蒙古自治州轮台县,置于密封袋中保存备用。斜纹夜蛾采自海南省海口市美兰区桂林洋福云村未施药的莲藕叶上,经室内饲养多代

收稿日期: 2014 - 12 - 02

基金项目: 海南省重大专项(ZDX2013008-4); 国家科技支撑计划课题(2013BAI11B04); 中医药行业科研专项(201207002); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(1630052012014); 三亚市院地科技合作项目(2013YD81)

作者简介: 王军(1980 -),男,博士,助理研究员,研究方向:植物学、天然产物化学。Tel: 0898 - 66988061, E-mail: wangjun@itbb.org.cn

通信作者: 戴好富(1974 -),男,博士,研究员,研究方向:天然产物化学。Tel: 0898 - 66961869, E-mail: daihao-fu@itbb.org.cn

后,挑选大小一致、健康活泼的 3 龄中期幼虫供试。

2.2 方法

2.2.1 核桃青皮提取物的制备 核桃青皮 609 g,阴干粉碎后得到 365 g 粉末,室温条件下,95% 的工业乙醇抽提 3 次,每次用 1.5 L 乙醇,每次抽提物浸提 7 d,合并滤液并用滤纸过滤,滤液经减压浓缩得到 250 g 浸膏,冷藏备用。

2.2.2 毒杀实验 采用浸虫法^[27]将核桃青皮提取物用 70% 乙醇稀释成质量浓度分别为 50, 25, 10, 5, 1 g · L⁻¹ 的溶液;将斜纹夜蛾 3 龄幼虫浸于不同质量浓度的核桃青皮提取物中 3 s,置于吸水纸上晾干,置于装有人工饲料的 12 孔培养板中,每处理 10 头虫,重复 3 次,以 70% 乙醇作为对照。分别统计处理后第 3, 7 天的死亡情况,计算死亡率。用毛笔轻触虫体,不动或不能正常爬动者计为死亡。

2.2.3 抑制生长发育实验 采用饲料混毒法^[28],分别配制核桃青皮提取物重量比为 1/100 的人工饲料,其中,人工饲料配方采用黄艳君等^[29]的方法。斜纹夜蛾 3 龄中期幼虫饲喂方式:单头饲喂,饲喂前饥饿 4 h。以 70% 乙醇为对照,每处理 10 头虫,重复 3 次。3 d 后换喂正常饲料,直至成虫羽化。分别于处理后第 1, 3, 7 天测试幼虫质量,计算其体质量抑制率。每天定时记载各处理的活虫数,统计幼虫期、蛹期及化蛹的情况,并测定蛹质量,计算化蛹率。

体质量抑制率 = (对照幼虫的平均增加体质量 - 处理幼虫的平均增加体质量) / 对照幼虫的平均增加体质量 × 100。

2.2.4 数据处理 实验结果采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析,将死亡率转化为几率值,浓度转换成对数后进行线性回归,回归方程使用机值分析法计算。采用单因素方差分析 DMRT 法多重比较, $P < 0.05$ 为具有差异显著性。

3 结果与分析

3.1 毒杀效果 核桃青皮提取物处理浓度分别为 50, 25, 10, 5 和 1 g · L⁻¹ 时,对斜纹夜蛾 3 龄幼虫具有不同程度的毒杀作用(表 1)。其中以 50 g · L⁻¹ 处理组的毒杀活性最高,3, 7 d 的校正死亡率分别为 79.26% 和 85.19%; 5 g · L⁻¹ 处理组虽然在处理后第 3 天的毒杀活性较差(33.33%),但随着处理时间的延长杀虫活性随之增强,处理 7 d 的校正死亡率为 50%。以机率值分析法分别对上述结果进行拟合,得到处理后 3 d 和 7 d 的 LC_{50} 值分别为 8.35 和 3.96 g · L⁻¹。

表 1 核桃青皮提取物对斜纹夜蛾 3 龄幼虫的毒杀效果

Tab. 1 Toxic effects of the extract of walnut green husk on 3rd instar larvae of *Spodoptera litura*

处理浓度 / (g · L ⁻¹) Concentration	3 d		7 d	
	死亡率 / % Mortality rate	校正死亡率 / % Corrected mortality rate	死亡率 / % Mortality rate	校正死亡率 / % Corrected mortality rate
50	79.26 ± 1.28a	79.26a	86.30 ± 5.48a	85.19a
25	63.06 ± 3.37b	63.06b	78.43 ± 8.77ab	77.14ab
10	53.33 ± 8.01b	53.33b	64.44 ± 3.85bc	61.98bc
5	33.33 ± 5.77c	33.33c	53.33 ± 5.77c	50.00c
1	25.74 ± 3.94c	25.74c	36.94 ± 3.37d	32.25d
CK	0.00 ± 0.00d	-	6.67 ± 5.77e	-
回归方程 Regression equation	4.208 7 + 0.858 6x		4.470 6 + 0.886 4x	
相关系数 Correlation coefficient	0.960 3		0.991 9	
LC_{50} / (g · L ⁻¹)	8.35		3.96	
95FL / (g · L ⁻¹)	4.66 ~ 13.11		2.01 ~ 6.21	

3.2 抑制生长发育效果

3.2.1 对幼虫生长的影响 核桃青皮提取物对斜纹夜蛾3龄幼虫的生长具有一定的影响。经核桃青皮提取物处理后可明显影响3龄幼虫取食,致使处理组试虫体质量增长缓慢。 $2.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组的斜纹夜蛾3龄幼虫在处理后的第1、3、7天的体质量抑制率分别为59.26%、43.21%和59.68%,显著高于对照及其他处理(表2)。

表2 核桃青皮提取物对斜纹夜蛾幼虫生长的影响

Tab. 2 Effects of the extract of walnut green husk on the growth of larvae of *Spodoptera litura*

处理浓度/ ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) Concentration	初始体 质量/mg Initial weight	第1天体 质量/mg First day weight	体质量抑 制率/% Weight inhibition rate	第3天体 质量/mg Third day weight	体质量抑 制率/% Weight inhibition rate	第7天体 质量/mg Seventh day weight	体质量抑 制率/% Weight inhibition rate
2.5	2.82a	6.16d	59.06a	32.77d	43.21a	117.17d	59.68a
1.0	2.87a	7.60c	42.02b	44.70c	20.71b	176.33c	37.20b
0.5	2.79a	9.43b	18.62c	52.27b	8.41c	242.77b	9.05c
CK	2.86a	11.02a	-	57.81a	-	267.17a	-

3.2.2 对幼虫生长期及化蛹的影响 在试虫发育期,对照组约15d即可正常化蛹,而经核桃青皮提取物处理后的试虫,幼虫期明显延长。 $2.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组约需22d才可正常化蛹,显著长于对照及其他处理。对照组蛹期只需11d,而处理组的蛹期均在12.5d以上,说明核桃青皮提取物对斜纹夜蛾幼虫的蛹期也有较大影响。处理组存活幼虫均能正常化蛹和羽化,但其蛹质量和化蛹率均显著低于对照(表3)。

表3 核桃青皮提取物对斜纹夜蛾幼虫生长期的影响

Tab. 3 Effects of the extract of walnut green husk on the growth period of larvae of *Spodoptera litura*

处理浓度/ ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) Concentration	幼虫期/d Larval stage	蛹期/d Pupal stage	蛹质量/mg Pupal weight	化蛹率/% Pupation rate
2.5	$22.36 \pm 1.22a$	$15.55 \pm 2.02a$	$304.91 \pm 14.21d$	$46.67 \pm 5.77c$
1.0	$19.18 \pm 0.81b$	$13.29 \pm 1.05ab$	$356.82 \pm 16.91c$	$56.67 \pm 5.77c$
0.5	$18.33 \pm 1.43b$	$12.50 \pm 1.41b$	$396.54 \pm 19.01b$	$70.00 \pm 10.00b$
CK	$15.78 \pm 1.12c$	$11.26 \pm 1.26b$	$461.00 \pm 22.91a$	$90.00 \pm 0.00a$

4 讨 论

核桃青皮对玉米螟^[17]、板栗叶螨^[18]、朱砂叶螨^[19]、枸杞蚜虫^[20]、萝卜蚜虫^[21]、小麦蚜虫^[22]、马铃薯蚜虫^[23]、瓢虫^[23]、粘虫和小菜蛾^[24]均有一定的触杀、毒杀和拒食活性,其中核桃青皮萃取物对板栗叶螨具有一定的触杀作用。新鲜核桃青皮萃取液干物质原药液稀释300倍对板栗叶螨的12h校正死亡率室内外分别为73%和93%^[18]。王海香等^[19]的研究发现,核桃青皮石油醚提取物的杀螨活性较高,浓度为 $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,处理朱砂叶螨雌成螨24h后的死亡率可达83.44%,明显高于氯仿、甲醇提取物。据文献[20-22]报道,核桃青皮萃取物对枸杞蚜虫、小麦蚜虫、萝卜蚜虫都具有一定的毒杀和拒食作用,其中水萃取物和乙醇萃取物的活性最高,48h校正死亡率均可达到90%以上,因而,推断核桃青皮中具有毒杀和拒食活性的物质为一类极性较大的化合物。但王宏虻等^[23]的研究发现,核桃青皮水提取物对马铃薯蚜虫和瓢虫的触杀效果比乙醇提取物、乙酸乙酯提取物、石油醚提取物都差,乙醇提取物对蚜虫的触杀效果比对瓢虫的效果好。翟梅枝等^[24]的研究结果表明,核桃青皮乙醇提取物和乙酸乙酯提取物均对粘虫具有较明显的拒食作用,另外乙酸乙酯提取物还对粘虫具有明显的胃毒作用,但对小菜蛾的作用不明显。上述研究结果表明,核桃青皮提取物对不同的害虫均具有一定的毒杀、拒食等作用,但不同萃取溶剂、不同的萃取部位及对不同的害虫其防治效果不同,如对蚜虫起作用的是极性较大的化合物,对螨虫起作用的是极性较小的化合物。

笔者发现核桃青皮乙醇提取物对斜纹夜蛾幼虫具有一定的控害活性,这种控害活性主要体现在毒杀和

抑制其生长发育上。乙醇提取物的毒杀活性一般,但随着浓度的升高和时间的延长,幼虫的死亡率也随之增加,其中第3天和第7天的 LC_{50} 值分别为 $8.35 \pm 3.96 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。另外,在供试浓度为 $0.5 \sim 2.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,能明显抑制斜纹夜蛾幼虫的生长发育,主要表现为处理组幼虫体质量增长缓慢,幼虫期和蛹期延长,蛹质量和化蛹率显著低于对照。为明确核桃青皮提取物对斜纹夜蛾的毒杀活性,还需要对提取物进一步萃取划段,找出对应不同害虫的活性部位,再进行分离提纯和结构鉴定,找出有效活性成分。

我国每年生产160多万t核桃,而核桃青皮废弃物就达320多万t,不仅造成了资源的极大浪费也给环境造成了不同程度的污染。利用核桃青皮开发新型杀虫农药,不仅可以变废为宝而且可以解决环保问题并提高农产品的市场竞争能力。因而,需要进一步研究核桃青皮的杀虫、抗虫活性成分和作用机理,为开发高效、低毒、低残留的新一代植物源杀虫剂提供理论基础。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志——胡桃科 [M]. 北京: 科学出版社, 1979: 1-150.
- [2] 张月玲, 何天明. 新疆核桃产业发展现状及对策分析 [J]. 北方经济, 2014(4): 59-61.
- [3] 武晓霞. 我国核桃生产与贸易比较优势研究 [D]. 太原: 山西农业大学, 2013: 1-61.
- [4] 索绪斌, 高奎滨, 张云凌. 高效液相色谱法测定青龙衣中胡桃醌含量 [J]. 中药材, 2003, 26(11): 793.
- [5] 李海洋, 韩军歧, 李志西. 核桃青皮有效化学成分提取分离研究综述 [J]. 现代园艺, 2012, 15: 9-11.
- [6] COSMULESCU S, TRANDAFIR I, ACHIM G, et al. Phenolics of green husk in mature walnut fruits [J]. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Clujnapoca, 2010, 38(1): 53-56.
- [7] COSMULESCU S, TRANDAFIR I, ACHIM G, et al. Juglone content in leaf and green husk of five walnut (*Juglans regia* L.) cultivars [J]. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Clujnapoca, 2011, 39(1): 237-240.
- [8] LI C Y, DU H J, SU X H, et al. Juglanones A and B: Two novel tetralone dimers from walnut pericarp (*Juglans regia*) [J]. Verlag Helvetica Chimica Acta AG, 2013, 96: 1031-1035.
- [9] 徐巍, 郭彩玲, 高奎滨. 青龙衣粉剂对人肝癌细胞株的作用 [J]. 中医药学报, 2002, 30(5): 47-48.
- [10] OLIVEIRA I, SOUSA A, FERREIRA I C F R, et al. Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) green husks [J]. Food and chemical toxicology, 2008, 46: 2326-2331.
- [11] 董梅, 袁日, 齐凤琴, 等. 青龙衣中细胞毒活性成分的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2011, 23: 805-808.
- [12] FERNANDEZ-AGULLO, PEREIRA E, FREIRE M S, et al. Influence of solvent on the antioxidant and antimicrobial properties of walnut (*Juglans regia* L.) green husk extracts [J]. Industrial crops and products, 2012, 42: 126-132.
- [13] ALSHATWI A A, HASAN T N, SHAFI G, et al. Validation of the antiproliferative effects of organic extracts from the green husk of *Juglans regia* L. on PC-3 human prostate cancer cells by assessment of apoptosis-related genes [J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2012: 1-8.
- [14] 周媛媛, 付蕾, 金阳, 等. 青龙衣抗肿瘤成分的研究 [J]. 中医药学报, 2013, 41(4): 70-71.
- [15] 张卫星, 何开泽, 蒲蕾. 核桃青皮提取物的抗菌和抗氧化活性 [J]. 应用与环境生物学报, 2014, 20(1): 87-92.
- [16] BUTTERY R G, LIGHT D M, NAM Y, et al. Volatile components of green walnut husks [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48: 2858-2861.
- [17] 寇爽. 3种核桃青皮提取物对玉米螟中肠酯酶活性的影响 [J]. 北京农业, 2010, 33: 22-27.
- [18] 陈卫东, 李建飞, 吴桂军. 核桃青皮提取物防治板栗叶螨试验 [J]. 河北果树, 2009(5): 8-11.
- [19] 王海香, 申照静, 杜娟, 等. 核桃青皮提取物对朱砂叶螨的毒力及相关酶活性的测定 [J]. 林业科学, 2008, 40(5): 70-74.
- [20] 梁永锋. 核桃青皮提取物对枸杞蚜虫的触杀和拒食活性研究 [J]. 河南农业科学, 2010, 41: 70-72.
- [21] 梁永锋. 核桃青皮提取物对萝卜蚜虫毒杀和拒食活性研究 [J]. 江苏农业科学, 2011, 39(2): 187-188.
- [22] 梁永锋. 核桃青皮提取物对小麦蚜虫毒杀和拒食活性研究 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38(27): 15020-15021, 15023.
- [23] 王宏虬, 缪福俊, 李彪, 等. 核桃青皮提取物对马铃薯蚜虫与瓢虫的杀虫活性 [J]. 江苏农业科学, 2012, 40(7): 112-114.
- [24] 翟梅枝, 张风云, 魏花, 等. 核桃青皮中次生代谢物质的生物活性研究 I 杀虫活性 [J]. 西北林学院学报, 2006, 21(1): 122-125.
- [25] 华南农学院. 农业昆虫学(下册) [M]. 北京: 农业出版社, 1981: 691-692.
- [26] 金启安, 陈青, 彭正强, 等. 防治斜纹夜蛾高效无公害药剂筛选试验 [J]. 长江蔬菜, 2009(1): 60-61.
- [27] 于伟丽, 张升国, 刘永强, 等. 5种药剂不同生测方法对甜菜夜蛾幼虫毒力比较 [J]. 长江蔬菜, 2010, 18: 116-118.
- [28] 王洪凤, 孙明清, 刘顺, 等. 篇蓄干粉及其提取物对棉铃虫生长发育的影响 [J]. 草业学报, 2007, 16(8): 94-98.
- [29] 朱丽梅, 倪钰萍, 曹晓宇, 等. 斜纹夜蛾的人工饲养技术 [J]. 昆虫知识, 2001, 38(3): 227-228.

Bio-activity of the Extract of Walnut Green Husk Against *Spodoptera litura*

WANG Jun¹, YAN Chao², LI Yi³, FENG Gang², XU Lin³, MEI Wenli¹, DAI Haofu¹

(1. Key Laboratory of Biology and Genetic Resources of Tropical Crops, Ministry of Agriculture / Hainan Key Laboratory for Research and Development of Natural Products from Li Folk Medicine, Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou, Hainan 571101; 2. Environment and Plant Protection Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou, 571101, China; 3. Hainan Sanya Crop Breeding Test Center, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi, Xinjiang Uygur Autonomous Region 830091, China)

Abstract: The bio-activity of walnut green husk extracts against the 3rd instar larvae of *Spodoptera litura* was tested by immersion method in the laboratory. The results indicated that the ethanol extract of walnut green husk had a strong toxic effect on the 3rd instar larvae with the LC_{50} values of the larvae at day 3 and day 7 being $8.35 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ and $3.96 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively. The growth of the 3rd instar larvae of *S. litura* was also inhibited by the extract at the test concentration of $0.5 - 2.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. The weight of the treated larvae increased slowly, the larval development and pupal stage were obviously prolonged, and the pupal weight and pupation rate were significantly lower than those of the control.

Key words: walnut green husk; *Spodoptera litura*; bio-activity

中国科技核心期刊、中国农业核心期刊、全国中文核心期刊、全国优秀农业期刊

《植物遗传资源学报》征订启事

《植物遗传资源学报》是中国农业科学院作物科学研究所和中国农学会主办的学术期刊,为中国科技论文统计源期刊、中国科学引文数据库来源期刊(核心期刊)、中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊、中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊,又被《中国生物学文摘》和中国生物学文献数据库、中文科技期刊数据库收录。据中信所2014年期刊学术影响因子年报统计,《植物遗传资源学报》影响因子为1.146(综合影响因子1.396),在全国农艺和园艺类期刊中排名第5,在全国1998种科技核心期刊中排名第157位。

报道内容为大田、园艺作物、观赏、药用植物、林用植物、草类植物及其一切经济植物的有关植物遗传资源基础理论研究、应用研究方面的研究成果、创新性学术论文和高水平综述或评论。诸如种质资源的考察、收集、保存、评价、利用、创新、信息学、管理学等;起源、演化、分类等系统学;基因发掘、鉴定、克隆、基因文库建立、遗传多样性研究。

双月刊 大16开本,196页。定价20元,全年120元。各地邮局发行。

邮发代号:82-643。国内刊号CN11-4996/S,国际统一刊号ISSN1672-1810。

本刊编辑部常年办理订阅手续,如需邮挂每期另加3元。

地 址:北京市中关村南大街12号《植物遗传资源学报》编辑部

邮 编:100081 电 话:010-82105794 010-82105796(兼传真)

网 址:www.zwyczy.cn

E-mail: zwyczyxb2003@163.com zwyczyxb2003@caas.cn