

川黄柏对朱砂叶螨生物活性的研究

周刚, 丁伟, 张永强

(西南大学植物保护学院, 重庆 400716)

摘要:本文系统研究了川黄柏的石油醚(30-60度)、乙醇、丙酮、甲醇和水等溶剂的提取物对朱砂叶螨的生物活性。对不同提取物配制成10mg/ml,测定其对朱砂叶螨的触杀毒力(48h),结果表明:在川黄柏不同溶剂提取物中,以甲醇和丙酮提取物对朱砂叶螨的致死率最高,处理48h校正死亡率均为100%,与同组其他溶剂的提取物间存在明显差异($p < 0.05$)。进一步的毒力测定结果表明,对朱砂叶螨毒性最强的是甲醇提取物,其 LC_{50} 是2.2723mg/ml,其95%的置信限为1.6072~3.2125mg/ml。丙酮的提取物的效果基本与甲醇持平,其 LC_{50} 是4.9257mg/ml,95%的置信限为2.5564~8.7455mg/ml。但从经济安全的角度看,以丙酮为提取溶剂最为合适。

关键词:川黄柏;朱砂叶螨;生物活性

中图分类号:S433

文献标识码:A

文章编号:1008-6390(2006)06-0016-03

朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus* 是我国分布最广、发生最为严重的一种农业害螨。螨类害虫个体小,繁殖快,代数多,适应性强,易产生抗药性,危害十分严重,是公认的最难防治的有害生物群落之一^[1-2]。多年来,对螨类的控制主要依赖化学农药,但大量使用化学农药不可避免地会产生3R(抗性 Resistance、残留 Residue 和害螨再猖獗 Resurgence)等问题。为了克服化学农药带来的副作用,许多研究人员在探讨非化学措施控制该螨的效果,这些措施包括抗性植物品种的筛选,捕食螨的释放等。此外研究植物提取物对螨的控制效果也取得了很大进展。张永强等^[3]报道了姜黄 *Curcuma longa* 不同溶剂提取物对朱砂叶螨的生物活性;方才君等^[4]测定了6种植物精油对朱砂叶螨的毒性;贺春贵^[5]测定了5种中药植物对该螨的控制效果;Chiasson et al.^[6] 研究报道了以三种提取方法从洋艾 *Artemisia absinthium* 和艾菊 *Tanacetum vulgare* 中获得的植物精油对二点叶螨 *T. urticae* 的作用效果。此外国内外专家学者研究报道了印楝、瑞香狼毒等的杀螨活性,并制成了相应的杀螨剂剂型^[7-11]。这些研究报道明确了从植物中可以获得比较理想的杀螨活性物质,为研究开发植物性的杀螨剂奠定了一定的基础。

川黄柏是一种常用清热药,主治湿热痢疾、黄疸、热淋及湿疹,系芸香科黄檗属黄皮树 *Phyllocladon chinense* Schneid 的树皮,含小檗碱、黄

柏酮、黄柏内脂等多种成分,并富含粘液质。川黄柏主产陕西、甘肃、湖北、广西、云南、贵州、四川等地,湖南、广东也有分布和栽培。对中药植物生物活性的研究已经有许多研究报道,但有关川黄柏在农业领域对有害生物活性还鲜有报道,尤其是川黄柏杀螨活性的研究未见报道。为了明确该中药植物的杀螨活性,我们选用不同极性的溶剂,提取得到多种植物提取物,并进行室内生物测定,明确了川黄柏对朱砂叶螨具有显著的生物活性,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试螨类

朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabrinus* Boisdual, 最初采自重庆市北碚区田间的豇豆苗上,在人工气候室内 $26 \pm 1^\circ\text{C}$ 、60%~80%RH 条件下用盆栽豇豆苗饲养了多年所获得的品系。

1.1.2 供试植物材料

川黄柏购自重庆市中药材市场,植物材料置于 60°C 烘箱烘干,小型粉碎机粉碎,过80目筛。称取一定量的川黄柏粉碎料,平分为6份,分别用石油醚(30-60度),石油醚(60-90度),乙醇,丙酮和甲醇冷浸48h提取,过滤,浓缩至一定体积获得相应的提取物。取适量的提取物加入一定量吐温80,用水稀释配制成100倍液,做为供试药液。

收稿日期:2006-09-10

基金项目:西南大学青年基金资助项目

作者简介:周刚(1976-),男,贵州六盘水市人,助教,西南大学硕士研究生,从事天然产物农药的研究。

1.2 实验方法与数据分析

参照 FAO 推荐的测定螨类抗药性的标准方法—玻片浸渍法^[12]并加以改进。挑在玻片双面胶带上供试螨在温度 26±1℃、60%~80%RH 的环境下放置 4h,用双目解剖镜检查,剔除死亡和不活泼的个体,记载活螨数。将带螨的一端浸入事先配好的药液中,5s 后取出,迅速用吸水纸吸干螨体及其周围多余的药液。同样条件下培养 2d,每 24h 检查一次结果。用毛笔轻触其身体,以螨足不动者为死亡。试验重复 3 次。结果进行方差分析,并用 Duncan 方法比较各处理间的效果差异。试验数据方差分析, Duncan's 检验,由 SPSS 完成(SPSS13.0),线性回归按照机率值分析法求得^[13]。

2 结果与分析

2.1 川黄柏不同溶剂提取物对朱砂叶螨的触杀毒力

用 10mg/ml 川黄柏不同溶剂提取物,在实验室条件下测定各自对朱砂叶螨的触杀毒力,结果如表 1 所示:

表 1 川黄柏提取物在 10mg/ml 浓度时对朱砂叶螨的室内毒力比较

植物材料		校正死亡率(%) (平均值±标准误)				
		石油醚 30-60	乙醇	丙酮	甲醇	水
川黄柏	24h	19.88±2.54c	28.42±1.55b	91.25±1.25a	95.45±2.64a	19.46±1.66c
	48h	47.42±1.45b	20.97±4.15c	100.00±0.00a	100.00±0.00a	23.56±1.86c

注:表中数据为 3 个重复的平均值;同一列数值后面字母相同表示邓肯氏新复极差法检验差异不显著(P>0.05)。

从表 1 看出,在川黄柏不同溶剂提取物中,以丙酮和甲醇提取物对朱砂叶螨的致死率最高,处理 48h 校正死亡率均为 100%,与同组其他溶剂的提取物间存在明显差异(p<0.05)。由此可见,姜黄对朱砂叶螨的毒杀活性物质主要存在于极性适中的丙酮和甲醇提取物中。48h 丙酮和甲醇提取物对朱砂叶螨的校正死亡率均为 100%,可能是因为 10mg/ml 浓度过高的缘故。为了进一步明确两种溶剂提取物毒力差异的情况,需要做进一步的毒力测定,以致死中浓度(LC₅₀)来比较两种溶剂提取物的毒力的差异,结果如表 2 所示。

2.2 川黄柏丙酮和甲醇提取物对朱砂叶螨的毒力回归直线

为了进一步确定最佳提取溶剂及杀螨活性物质所在的溶剂范围,分别测定川黄柏不同溶剂提取物对朱砂叶螨的毒力回归,结果见表 2。

表 2 川黄柏丙酮和甲醇提取物对朱砂叶螨的毒力回归直线(48h)

川黄柏	直线回归方程	相关系数(r)	Median lethal concentration LC ₅₀	95% Confidence limit 95%CL
丙酮	y=2.4532+0.6897x	0.9688	4.9257	2.5564~8.7455
甲醇	y=1.0713+1.1705x	0.9839	2.2723	1.6072~3.2125

从表 2 看出,对朱砂叶螨毒性最强的是甲醇提取物。其 LC₅₀ 是 2.2723 mg/ml,其 95%的置信限为 1.6072~3.2125 mg/ml。但丙酮的提取物的效果与甲醇基本持平,其 LC₅₀ 是 4.9257mg/ml,其 95%的置信限为 2.5564~8.7455mg/ml。

3 讨论

川黄柏为常用中药,以干树皮入药,其主要成分黄连素,民间有用其叶治疗皮肤炎症、关节肿痛、咳嗽等症。早期,前苏联和日本对川黄柏叶成分进行过研究,发现黄柏叶中含黄柏甙(Phellamurin)、脱氢黄柏甙(Amurensin)、金丝桃甙(Hyperoside)等黄酮类化合物,其中黄柏甙具有一定的抗癌活性,金丝桃甙则有降低胆固醇、抗炎镇咳的作用。在医药上川黄柏有更为广泛的应用,黄柏抗菌有效成分为小檗碱,故其药理作用与黄连大体相似,但含量较黄连低。体外试验黄柏水煎剂或醇浸剂在体外对金黄色葡萄球菌等多种细菌均有抑制作用。川黄柏的乙醚浸提物对新型隐球菌和红色发癣菌等真菌具有较强的抑菌作用。此外川黄柏对于乙型肝炎表面抗原具有明显的选择性抑制作用。但有关川黄柏杀螨效果的研究未见报道,本文研究了川黄柏的不同溶剂提取物对朱砂叶螨的毒杀作用,结果证实中药植物川黄柏的甲醇和丙酮提取物有明显的杀螨活性,值得引起重视。但对于其杀螨机理和杀螨有效成分的确定等有待进一步研究。

川黄柏的石油醚提取物中主要成分为挥发油类物质,据郭书好等^[14]的报道,用水蒸气蒸馏法提取到的挥发油,用气相色谱-质谱联用技术测定其化学组成,共分离出 40 个组分,鉴定了 10 个化合物,主要成份是柠檬烯。有关柠檬烯的较强的杀虫杀螨效果至今未见报道,这与本研究结果不谋而合。

对川黄柏不同溶剂提取物的生测结果表明,川黄柏杀螨活性物质主要存在于极性适中的提取溶剂中,以甲醇和丙酮的提取物的效果最好。但考虑到经济安全的因素,使用丙酮更为合适。但实际上,从表 1 还可以看出,在极性较小的溶剂的提取物中,仍然可以发现有不少的生物活性。这种情况表明,川黄柏

体内对朱砂叶螨具有生物活性的化合物可能不是一种,而且,分布在不同的极性范围内。从实际应用的 价值来看,以极性较大的溶剂来进行提取,可以减少 极性较小的溶剂提取物中溶剂的污染,减轻对环境 的破坏,而且在制剂加工技术上也比较容易控制。

参考文献:

- [1] 张弘,孟铃. 农用杀螨剂应用、开发现状及展望[J]. 农药,2003,42(3):14-17
- [2] 何林,杨羽,符建章,等. 2004. 朱砂叶螨阿维菌素抗性品系选育及适合度研究[J]. 植物保护学报, 31 (4):395-400.
- [3] 张永强,丁伟,赵志模,等. 姜黄对朱砂叶螨的生物活性[J]. 植物保护学报,2004,31(4): 390-394.
- [4] 方才君,胡仕林. 植物精油对朱砂叶螨的毒性试验[J]. 西南师范大学学报(自然科学版),1997,22(4):470-472.
- [5] 贺春贵. 几种植物杀虫剂的初步研究[J]. 甘肃农业大学学报,1996,(3):233-235.
- [6] CHIASSON H, B?LANGER A, BOSTANLAN N, et al. Acaricidal properties of *Artemisia absinthium* and *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) essential oils obtained by three methods of extraction [J]. Journal of Economic Entomology, 2001, 94(1):167-171.
- [7] SHI G L, LIU S Q, CAO H, et al. Acaricidal Activities of Extracts of *Stellera chamaejasme* Against *Tetranychus viennensis* (Acari: Tetranychidae) [J]. Journal of Economic Entomology, 2004, 97(6):1912-1916
- [8] SUNDARAM K M S, SLOANE L. Effects of pure and formulated azadirachtin, a neem-based biopesticide, on the phytophagous spider mite, *Tetranychus urticae* Koch [J]. Journal of Environmental Science Health B, 1995,30:801-814
- [9] LAWRENCE A D, WILLIAMS, MANSINGH A. The insecticidal and acaricidal actions of compounds from *Azadirachta indica* (A. Juss) and their use in tropical pest management [J]. Integrated Pest Management Reviews, 1996, (1):133-145.
- [10] HIESAAR K, LUIK A, KUUSIK A, et al. The effect of NeemAzal T/S on the mortality of mite *Tetranychus urticae* Koch and some insects- *Aphis gossypii* Glov. and *Thrips tabaci* Lind. Practice Oriented Results on Use and Productions of Neemingredients and Pheromones [J]. Proceeding 8th Workshop, 2000: 41-45.
- [11] SUNDARAM K M S, CAMPBELL R, SLOANE L, et al. Uptake, translocation, persistence and fate of azadirachtin in aspen plants (*Populus tremuloides* Michx.) and its effect on pestiferous two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) [J]. Crop Protection, 1995, 14(5):415-442.
- [12] FAO. Plant production and protection 21, recommended methods for measurement of resistance to pesticides [A]. FAO, 1980: 49-54.
- [13] FINNERY D J. Probit Analysis. [M] 3rd ed. London: Cambridge University Press, 1987, 230-269.
- [14] 郭书好,周明辉,李素梅. 川黄柏果挥发油的化学成分研究[J]. 暨南大学学报(自然科学版),1998,19(3):61-63.

[责任编辑 何永慈]

Study of acaricidal bioactivities of *Phellodendron chinense* Schneid on *Tetranychus cinnabarinus*

ZHOU Gang, DING Wei, ZHANG Yong-qiang

(College of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract: This paper studied the acaricidal bioactivities of petroleum ether (30-60°C), ethanol, acetone, methanol and water extracts from *Phellodendron chinense* Schneid against *Tetranychus cinnabarinus*. Different extracts were dissolved as 10 mg/ml, and their acaricidal activities were determined. The results showed that, of different extracts, the acetone and methanol extracts led to highest mortality, and after 48h treatment, the average corrected death rates were 100 percent, significantly different from the rates of the extracts in other solvents ($p < 0.05$). Further toxicity test results indicated that methanol extracts, whose median lethal concentration (LC_{50}) was 2.2723 mg/ml and whose 95% confidential limit of LC_{50} was 1.6072~3.2125 mg/ml, was the most toxic to *T. cinnabarinus*. However, the effect of acetone extracts was similar to methanol extracts and its LC_{50} was 4.9257mg/ml and its 95% confidential limit of LC_{50} was 2.5564~8.7455 mg/ml. As far as economy and safety are concerned, the acetone is the best candidate.

Key words: *Phellodendron chinense* Schneid; *Tetranychus cinnabarinus*; biological activity