印楝提取物对假眼小绿叶蝉的生物活性研究

赵冬香¹, 徐汉虹¹, 高景林², 江定心¹

(1 华南农业大学 昆虫毒理室, 广东 广州 510642; 2 山西省农业科学院 园艺研究所, 山西 太原 030031)

摘要:报道了印楝提取物对假眼小绿叶蝉的室内生物活性测定结果。研究表明:印楝提取物对假眼小绿叶蝉2~3龄若虫有较好的拒食作用,处理后24 h的拒食中浓度为44.17 $\mu\text{g}/\text{mL}$;选择性试验中,浓度为40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,对成虫的拒食效果为57.89%;对假眼小绿叶蝉若虫具有较强的内吸毒杀作用,处理接虫后48 h的致死中浓度为14.11 $\mu\text{g}/\text{mL}$,而且在5、10和20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 3个处理的试虫中,羽化后的成虫出现翅畸形现象。

关键词:印楝; 抽提物; 假眼小绿叶蝉; 生物活性

中图分类号: S482; Q965.9

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2003)03-0030-03

假眼小绿叶蝉 [*Empoasca vitis* (Göthe)]^[1] 是我国各产茶区危害茶树的主要害虫,在全国各茶区普遍发生,严重危害茶叶的产量品质。长期以来,对假眼小绿叶蝉的防治主要以化学防治为主,由此产生的害虫耐药性、害虫再猖獗和环境污染等问题也同时出现。而且,作为饮料作物,茶叶的农药残留有严格的限制,茶叶中的农药残留不仅降低了茶叶质量、危害消费者的健康,而且还直接影响我国茶叶的出口创汇工作。因此,在茶叶生产实践中,对茶树害虫的防治应以茶叶生产的无公害为目标。而植物农药由于其使用方便,易降解,对人畜无害、对有益生物安全,对作物无药害,不污染环境 and 农产品以及害虫不易产生抗药性等特点,很适合在茶园中使用。

本文报道了植物性杀虫剂印楝 (*Azadirachta indica* A. Juss) 种子提取物对假眼小绿叶蝉生物活性的初步研究结果,为印楝用于茶园害虫的综合防治提供基础,同时也增加了印楝应用的害虫活性谱。

1 材料与方 法

1.1 材 料

印楝种子提取物 (neem seed extracts, NSE): 印楝素含量为 $w=4.15\%$, 由华南农业大学昆虫毒理室制备。

假眼小绿叶蝉在茶园中采集,部分室内水培茶梢饲养,试验前将试虫饥饿2~4 h (触杀作用不需要饥饿)。

1.2 生物测定方法

1.2.1 提取物的配制 用少量丙酮溶解提取物,加入 $\varphi=0.1\%$ 的Triton X-100,然后用清水稀释到所需浓度,对照中也加入丙酮和乳化剂。触杀作用用药直接用丙酮配制。

1.2.2 拒食作用 (1)管测法:参照赵善欢等^[2],略

有改进。选取生长良好的茶梢,去掉叶片和顶端部分,截取11 cm长一段,于基部以上6 cm处用记号笔作标记。药剂选取6个浓度,每一浓度10个重复。处理方法如下:每一浓度选取10段茶茎,其中5段上半节用毛笔涂布药剂为处理,下半节做对照,另5段下半节涂布药剂,上半节作对照。涂布药剂后,放于室内自然风干。药液风干后用湿棉花包住基部1 cm,外包parafilm膜,然后装入3.0 cm $\times$ 20.0 cm的试管中。每管接入2~3龄假眼小绿叶蝉若虫约20头,最后用纱布包扎好管口,平放于桌面上,让假眼小绿叶蝉若虫在管内茶茎上自由选择取食或停留着落位置。接虫后24 h,仔细观察记录试虫的停留取食位置及数量,计算着落率、拒食率和拒食中浓度(AFC₅₀)。

(2)选择性试验:在用有机玻璃制成的方型试验观察室(52 cm $\times$ 30 cm $\times$ 30 cm)内进行,剪取适当数量的茶梢,分为2组,一组喷洒药剂作为处理组,另一组不喷药剂的(喷洒溶剂与乳化剂)为对照,茶梢通过覆盖盛有水的10 mL烧杯的parafilm膜中央的小孔浸入水中。分别放于方形室的两内侧壁2~3 cm处。假眼小绿叶蝉成虫约60头于室中央释放,24 h后观察记录两侧茶梢上试虫数量,计算着落百分比和拒食效果。试验重复6次,两两调换味源位置,以消除几何位置造成的误差。

1.2.3 内吸毒杀作用 将长度约为13 cm的嫩茶梢浸入不同浓度(1.0, 2.5, 5.0, 10.0, 20.0, 40.0和80.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的药液中,药液放入10 mL的小烧杯中,用parafilm膜封口后,将茶梢从膜中央插入,每杯4个茶梢,这样的装置放入直桶形玻璃养虫罩中(8.0 cm $\times$ 16.5 cm),24 h后接入2龄若虫,每罩放虫10~15头,上部开口用80目尼龙纱覆盖后,用橡皮筋扎紧。于接虫后48 h,将试虫移入正常水培茶梢环境中饲养,并于2、5、7 d记录试虫的死亡率和羽化率,一直到试验结束,试虫全部死亡或者羽化后结束。试验重

复 6 次。

1.2.4 触杀作用 瓶膜法: 供试药液用丙酮配制, 用吸管将药液滴入内径 1.0 cm, 长 10 cm 的玻璃管内, 每管 2 mL, 对照用丙酮, 丙酮挥发后, 药剂就均匀粘着在管壁上。供试叶蝉为 5 龄若虫, 每玻璃管 20 头。试虫与杀虫剂薄膜接触 3 h, 对照虫也放入管内。然后将试虫用水培茶梢装置饲养, 于 24 h 后检查试虫死亡率。

以上试验温度为 $(24 \pm 2)^\circ\text{C}$, 相对湿度为 80% ~ 85%。

1.3 统计分析

试验数据的处理采用 SAS 软件分析。

着落率 = $[A / (A + B)] \times 100\%$;

拒食率 = $[(B - A) / (A + B)] \times 100\%$;

拒食效果 = $[(B - A) / B] \times 100\%$ 。

其中, A 为处理上着落虫数, B 为对照上着落虫数。

2 结果与分析

2.1 管测法

试验结果见表 1。将拒食率和药液浓度分别转换为几率值和对数值, 求得该处理的直线回归方程为 $y = 7.6391 + 0.4860x$ (相关系数 $r^2 = 0.9834$)。表明印楝种子提取物对假眼小绿叶蝉若虫具有较好的拒食作用, 而且, 随着印楝素含量的提高, 拒食率逐渐增大, 处理后 24 h 的拒食中浓度 (AFC_{50}) 为 $44.17 \mu\text{g}/\text{mL}$, 95% 置信区间为 $33.26 \sim 56.04 \mu\text{g}/\text{mL}$, 99% 置信区间为 $30.64 \sim 60.84 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。

表 1 印楝提取物对假眼小绿叶蝉的拒食作用

Tab. 1 Antifeedant effect of neem seed extracts to green leafhoppers (200204, 英德 Yinde)

ρ (提取物 extract) / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	落虫量 number of nymph/ 头		着落率 landing rate/ %	拒食率 antifeed rate/ %	拒食效果 antifeed effect/ %
	处理 treatment	对照 control			
2.5	5.6	6.6	45.90	8.20	15.15
5.0	5.3	7.2	42.40	15.20	26.39
10.0	5.6	8.7	39.16	21.67	35.63
20.0	3.7	8.3	30.82	38.33	55.42
40.0	4.0	10.3	27.97	44.06	61.17
80.0	2.7	12.0	18.37	63.27	77.50
CK	7.0	7.3	48.95	2.10	4.11

2.2 选择性试验

试虫在方型室内的选择试验结果表明: 当浓度为 $40 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 试虫更多的趋向对照一侧 (处理与对照虫数分别为 14.4 和 34.2 头), 拒食效果为 57.89%。

2.3 内吸毒杀作用

结果见表 2。茶梢先浸渍药液 24 h 后接虫, 接虫 48 h 后, 当提取物浓度为 $80.0 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 试虫全部死亡。实验终了, 对照虫羽化率达 89.38%, $1.0 \mu\text{g}/\text{mL}$ 羽化率 79.44%, $2.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ 羽化率 75.00%, 5.0

$\mu\text{g}/\text{mL}$ 羽化率 60.90%, $10.0 \mu\text{g}/\text{mL}$ 羽化率 14.66%, $20.0 \mu\text{g}/\text{mL}$ 羽化率 5.63%。5.0、10.0 和 $20.0 \mu\text{g}/\text{mL}$ 3 个浓度中, 羽化的试虫出现了翅畸形现象, 而且这些畸形翅虫只能存活 1~2 d。这说明提取物具有抑制若虫正常羽化的作用。

将死亡率转换为几率值、浓度转换为对数值, 求得内吸毒杀回归方程 $y = 7.7392 + 0.4206x$ (相关系数 $r^2 = 0.9178$)。内吸致死中浓度 LC_{50} 为 $14.11 \mu\text{g}/\text{mL}$, 95% 置信区间 $8.42 \sim 23.65 \mu\text{g}/\text{mL}$, 99% 置信区间 $7.16 \sim 27.82 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。

表 2 印楝提取物对假眼小绿叶蝉的内吸作用¹⁾

Tab. 2 Systemic effect of neem seed extracts to green leafhoppers (200205, 英德 Yinde)

ρ (提取物 extract) / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	死亡率 mortality/ %				羽化率 hatchrate/ %		
	2 d	5 d	7 d	实验终了 the end	5 d	7 d	实验终了 the end
1.0	17.22	20.56			27.22	57.5	79.44
2.5	20.83	25.00			23.61	55.56	75.00
5.0	26.57	34.56	36.83	39.10	24.11	37.55	60.90
10.0	39.42	54.09	75.72	85.34	6.97	12.72	14.66
20.0	53.30	84.89	92.45	94.37		5.63	
40.0	72.73	100					
80.0	100						
CK	2.27		10.62		28.67	55.33	89.38

1) 表中数据为累积值

2.4 触杀作用

研究表明,印楝种子提取物对假眼小绿叶蝉的触杀作用不强,在1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时都不具触杀作用,瓶膜法处理假眼小绿叶蝉5龄若虫3h,观察时间内(48和60h)无死亡。

3 讨论

1999年欧盟分析资料表明,中国是茶叶农药残留最高的国家之一。欧盟对中国茶叶的检测项目已从原来只对6种农药残留的检测增加到对62种农药残留进行商检。我国茶叶出口量已相应地出现下降,1999年出口欧盟茶叶下降28.3%,2000年下降9.13%,预计今后出口量继续下降。

国内市场上也反响很大。国家茶叶质量检测中心也重视茶叶的质量问题,1999年抽检北京、上海、广州等70余家经销商,结果70%的茶叶有不同程度农残和重金属超标。2000~2001年广州市场销售的茶叶抽样检测不合格率在50%以上。

因此,茶叶生产的当务之急是寻找对人畜安全,具有良好的环境兼容性的杀虫剂,已经有学者报道了关于印楝产品用于茶树害虫的潜在的生物活性。肯尼亚学者Sudo^[3]的研究认为, $\varphi=0.03\%$ 的楝籽油粉剂对茶蚜(*Toxoptera aurantii*)有较强杀伤作用($\varphi=10\%$ 时),喷药后24h的死亡率为76%。Subaharan等^[4]研究表明:室内条件下, $\varphi=0.15\%$ 的Neem Gold

乳油和 $\varphi=0.03\%$ TNAU Neem乳油对茶白点小蠹蛾(*Cydia leucostoma*)有明显的生长发育抑制作用,田间研究也取得了好的效果。

本文实验结果表明,印楝种子提取物对假眼小绿叶蝉表现出较好的拒食作用和强的内吸毒杀作用。对若虫的内吸处理试验结果表明,印楝种子提取物对若虫具有抑制生长发育的作用,随着使用浓度(剂量)的提高,羽化的成虫数量减少,而且出现翅畸形成虫。其作用机理有待进一步研究。

可以说,印楝是茶园害虫管理中的理想用药。其本身固有的作用缓慢效果能使他们很好适应害虫综合治理的需要、很好地协调与生物天敌的控害作用。

当然,本文只是一个初步的室内研究结果,要最终达到推广应用的目的,需进一步进行有关作用机理和田间药效试验。

参考文献:

- [1] 赵冬香, 陈宗懋, 程家安. 茶小绿叶蝉优势种的归属[J]. 茶叶科学, 2000, 20(2): 101-104.
- [2] 赵善欢, 黄炳球, 胡美英. 几种楝科植物种核油对褐稻虱的拒食作用试验[J]. 昆虫学报, 1983, 26(1): 1-9.
- [3] SUDO I V. Evaluation of neem seed oil product for control of tea pests in Kenya. [J]. Tea, 1998, 19(2): 62-65.
- [4] SUBAHARAN K, REGUPATHY A. Neem based formulations for the management of tea flush worm *Cydia leucostoma* (Metric) [J]. Journal of Plantation Crops, 2000, 28(2): 144-148.

Study on the Bioactivities of Neem Seed Extracts to Green Leafhoppers

ZHAO Dong-xiang¹, XU Han-hong¹, GAO Jing-lin², JIANG Ding-xin¹

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

2 Horticulture Research Institute, Shanxi Academy of Agric. Sciences, Taiyuan 030031, China)

Abstract: The bioactivities of the extracts from neem seed to green leafhoppers (*Empoasca vitis*) were studied in laboratory. The results from experiment showed that the extracts had antifeedant action to 2-to 3-instar nymph and the AFC_{50} was 44.17 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in 24 h after treatment, while the antifeedant effect on the adults was 57.89% in selectivity test. The extracts also showed stronger systemic toxicity to the nymph and the LC_{50} was 14.11 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The concentration of 5, 10 and 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ could induce the adults with wings malformed.

Key words: neem; extracts; *Empoasca vitis* (Göthe); bioactivities

【责任编辑 周志红】