

文章编号: 1674-7054(2021)03-0380-05



大叶桃花心木花粉精油的杀虫及抑菌活性

张筑宏, 吴文杰, 吴岳捷, 王兰英, 骆焱平

(海南大学植物保护学院, 海口 570228)

摘要: 采用超临界 CO₂ 萃取大叶桃花心木 (*Swietenia macrophylla*) 花粉精油, 并研究其对 4 种田间害虫的杀虫活性以及 8 种植物病原真菌的抑菌效果。结果表明, 在 2 g·L⁻¹ 浓度下, 大叶桃花心木花粉精油对葛苴指管蚜 (*Uroleucon formosanum*) 具有很好的触杀活性, 对玉米象 (*Sitophilus zeamais*) 有较好的驱避活性, 但对棉蚜 (*Aphis gossypii*) 的触杀活性和 3 龄斜纹夜蛾 (*Spodoptera litura*) 的拒食活性均较低; 对芒果蒂腐病菌 (*Phomopsis mangiferae*)、水稻稻瘟病菌 (*Pyricularia oryzae*)、香蕉炭疽病菌 (*Colletotrichum musae*)、芒果炭疽病菌 [*C. gloeosporioides* (Penz.)] 的菌丝生长具有明显的抑制效果, 但对香蕉枯萎病菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*) 和西瓜枯萎病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *niveum*) 抑制效果稍差; 匍枝根霉病菌 (*Rhizopus nigricans*) 和黑曲霉病菌 (*Aspergillus niger*) 对该精油较敏感, 抑制中浓度 (EC₅₀) 分别为 18.79、7.94 g·L⁻¹。

关键词: 大叶桃花心木; 花粉精油; 杀虫; 抑菌; 活性

中图分类号: S 482.1 **文献标志码:** A

引用格式: 张筑宏, 吴文杰, 吴岳捷, 等. 大叶桃花心木花粉精油的杀虫及抑菌活性 [J]. 热带生物学报, 2021, 12(3): 380-384. DOI: 10.15886/j.cnki.rdsxb.2021.03.016

大叶桃花心木 (*Swietenia macrophylla*) 是楝科 (Meliaceae) 桃花心木亚科桃花心木属 (*Swietenia*) 多年生落叶乔木, 原产于中美洲和南美洲, 广泛分布于印度西部、马来西亚和中国南部^[1]。由于大叶桃花心木具有抗菌、抗炎、抗氧化、抗诱变、抗癌、抗肿瘤和抗糖尿病的药用活性, 其果实和种子在很多亚洲国家被用于民间治疗各种疾病^[2]。大叶桃花心木在农用活性方面的研究, 如花、叶提取物对菜青虫 (*Pieris rapae*)、斜纹夜蛾 (*Spodoptera litura*)、桃花心木斑螟 (*Hypsipyla grandella*) 等农林害虫具有较好的拒食和毒杀活性; 其种子提取物对大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 和蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) 具有一定的抑制活性^[3-7], 但关于其精油的农用研究鲜见报道。植物精油直接来源于植物生物系统, 可作为宿主植物防御微生物入侵机制的一部分, 为此, 植物精油被视为天然的抗菌剂^[8]。植物精油可用于食品储存以防止病原菌入侵引起食品腐烂变质; 植物精油还可用于防治田间有害生物, 实现绿色农业经济效益。由于精油具有可生物降解性、高挥发性和低残留等特点, 对生态环境不会造成负面影响, 被视为绿色农药开发的重要来源之一。本研究以大叶桃花心木的花粉为原材料, 通过超临界 CO₂ 萃取花粉精油, 测试花粉精油的杀虫活性和抑菌活性, 旨在为大叶桃花心木花粉精油农用价值开发提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 供试虫源 葛苴指管蚜 (*Uroleucon formosanum*) 和棉蚜 (*Aphis gossypii*) 取自海南大学实验基地蔬菜叶片。斜纹夜蛾 (*Spodoptera litura*) 和玉米象 (*Sitophilus zeamais*) 由海南大学植物保护学院实验室提供。

收稿日期: 2021-01-08

修回日期: 2021-05-15

基金项目: 海南省高层次人才项目 (2019RC121), 国家自然科学基金项目 (31860513)

第一作者: 张筑宏 (1996-), 女, 海南大学植物保护学院 2018 级硕士研究生. E-mail: 3082315457@qq.com

通信作者: 骆焱平 (1973-), 男, 教授, 博士生导师. 研究领域: 农药仿生与精细有机合成. E-mail: yanpluo2012@hainanu.edu.cn

1.2 供试菌种 水稻稻瘟病菌(*Pyricularia oryzae*)、芒果蒂腐病菌(*Phomopsis mangiferae*)、香蕉枯萎病菌(*Fusarium oxysporum f. sp. cubense*)、香蕉炭疽病菌(*Colletotrichum musae*)、西瓜枯萎病菌(*F. oxysporum f. sp. niveum*)、芒果炭疽病菌(*C. gloeosporioides* Penz.)、匍枝根霉病菌(*Rhizopus nigricans*)和黑曲霉病菌(*Aspergillus niger*)均由海南大学植物保护学院实验室提供。

1.3 大叶桃花心木花粉精油制备 大叶桃花心木花粉采自海南大学儋州校园内。将采集的花粉风干后,用粉碎机充分粉碎,制成植物干粉,采用 SFT-100XW 型超临界萃取仪,在 CO₂ 流量为 14.4 mL·min⁻¹,温度为 30 °C,压力为 3750 Pa 的条件下静态萃取 60 min^[9]。萃取率为 0.94%,精油 4 °C 保存,备用。

1.4 大叶桃花心木花粉精油的毒力测定

1.4.1 供试药剂配制 称取 0.2 g 适量大叶桃花心木花粉精油,溶于 V_{丙酮}:V_水=1:4 混合液中,配成 2 g·L⁻¹ 处理药液。以 2 g·L⁻¹ 1% 印楝素乳油为药剂对照,以 V_{丙酮}:V_水=1:4 混合液为溶液对照。

1.4.2 对蚜虫触杀的毒力测定 将莴苣指管蚜和棉蚜连同采样叶片放入各处理药液中浸渍 10 s 后取出,用吸水纸吸去多余药液,放入培养皿中(20 头·皿),25 °C 培养。分别培养 12、24 h 用毛笔尖轻触蚜虫腹部,蚜虫不动则视为死亡。每个处理重复 3 次,统计各处理组试虫死亡数量,计算校正死亡率。

$$\text{校正死亡率}=(\text{处理死亡率}-\text{对照死亡率})/(1-\text{对照死亡率})\times 100\%$$

1.4.3 3 对斜纹夜蛾拒食作用的测定 参照俞瑞鲜等^[10]的方法,在非选择性条件和选择性条件下测定拒食活性。将新鲜蓖麻叶片用圆形打孔器打成直径为 2 cm 的叶碟,放入各处理药液中浸泡 5 s,取出晾干,备用。选择性拒食作用测定:将 2 张处理叶碟和 2 张对照叶碟交错放入直径 9 cm 的培养皿中。在培养皿中央放入 1 头饥饿 4 h,个体大小一致的 3 龄斜纹夜蛾幼虫,每处理 10 个培养皿。非选择性拒食作用测定:将 2 片处理叶碟和 2 片对照叶碟分别放入 2 个直径 9 cm 培养皿内,在培养皿中央分别放入 1 头饥饿 4 h 个体大小一致的 3 龄斜纹夜蛾幼虫,每处理 10 个培养皿。在培养皿中放入棉球保湿。分别于处理 12、24 h,用方格坐标纸统计试虫取食叶片面积,并计算拒食率。

$$\text{非选择拒食率}=(S_{ck}-S)/S_{ck}\times 100\%;$$

$$\text{选择性拒食率}=(S_{ck}-S)/(S_{ck}+S)\times 100\%,$$

其中, S_{ck} 为对照组的平均取食面积; S 为处理组的平均取食面积。

1.4.4 对玉米象驱避作用的测定 将直径 9 cm 的圆形滤纸裁成两半,一半浸入 2 g·L⁻¹ 大叶桃花心木花粉精油或 2 g·L⁻¹ 1% 印楝素乳油,室温晾干;另一半浸入溶剂对照液,晾干作为对照。将两半滤纸重新拼接,用粘胶纸固定后置于直径 9 cm 培养皿内,每个处理重复 3 次。每皿内接入玉米象成虫 20 头。室温 25 °C 培养,培养 12、24 h 后分别检查成虫分布情况,并计算各处理组的驱避率。进一步用 0.5、1.0、2.0、4.0 和 8.0 g·L⁻¹ 大叶桃花心木花粉精油测定对玉米象(培养 12、24、48 h)的驱避率,采用 SPSS 软件绘制毒力曲线,计算 LC₅₀ 值。

$$\text{驱避率}=(\text{对照区试虫数}-\text{处理区试虫数})/\text{对照区试虫数}\times 100\%$$

1.5 大叶桃花心木花粉精油的抑菌活性测定 称取 2 g 大叶桃花心木花粉精油,溶于 V_{丙酮}:V_水=1:4 混合液中,配成 400 g·L⁻¹ 处理药剂,用无菌滤膜过滤,备用。以 V_{丙酮}:V_水=1:4 混合液作为对照。采用生长速率法测定大叶桃花心木花粉精油的抑菌活性。无菌条件下,取 0.5 mL 过滤药剂和混合溶剂,分别加入到 99.5 mL 已融化的 PDA 培养基内,迅速摇匀后分装于培养皿中制成供试浓度为 2 g·L⁻¹ 的含药平板。每处理 3 次重复。培养基冷却凝固后,将活化培养好的病原菌,用直径为 5 mm 灭菌打孔器自菌落边缘均匀切取菌饼,并用接种针将菌饼接于含药平板中央,将培养皿置于 28 °C 培养箱中培养。当空白对照组的菌落大小长到 2/3 培养皿时,采用十字交叉法测量菌落直径(mm),取平均值,并计算抑制率。按照同样方法测定 0.5、1.0、5.0、10.0 和 20.0 g·L⁻¹ 大叶桃花心木花粉精油对匍枝根霉和黑曲霉的生长抑制率,计算 EC₅₀ 值和用 SPSS 软件计算毒力方程。

$$\text{抑制率}=[(\text{对照菌落直径}-5)-(\text{处理组生长直径}-5)]/(\text{对照组生长直径}-5)\times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 大叶桃花心木花粉精油的毒力

2.1.1 对蚜虫触杀的毒力 处理 12 h 的结果为大叶桃花心木花粉精油 $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度的莴苣指管蚜致死率为 58.3%, 棉蚜致死率为 5%; $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 1% 乳油印楝素处理的莴苣指管蚜、棉蚜的致死率均为 100%, 均显著高于 $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 大叶桃花心木花粉精油处理。处理 24 h 的结果为大叶桃花心木花粉精油对 2 种蚜虫的致死率均有所升高, 莴苣指管蚜致死率可达 81.7%, 棉蚜致死率为 26% (图 1)。总体来看, 大叶桃花心木花粉精油对莴苣指管蚜具有较好的触杀活性, 对棉蚜的触杀毒力不理想, 但随着处理时间的增加, 对 2 种蚜虫的毒力都有所增加, 说明精油的持效期较好, 但大叶桃花心木花粉精油与标准药剂对照相比, 活性不如对照药剂。

2.1.2 对斜纹夜蛾的拒食作用 处理 12、24 h 的结果为 $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 大叶桃花心木花粉精油对 3 龄斜纹夜蛾拒食活性均不理想, 选择性拒食作用和非选择性拒食作用的拒食率均显著低于 $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 1% 印楝素乳油 (药剂对照) 的拒食活性 (图 2)。

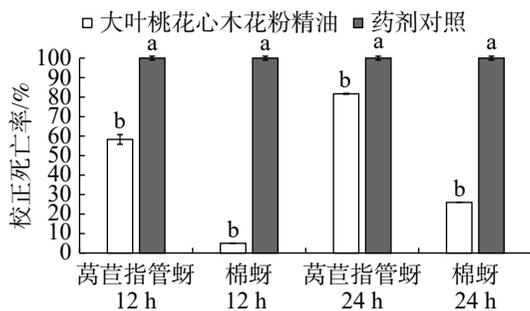


图 1 $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 大叶桃花心木花粉精油对蚜虫的毒力测定

注: 小写字母表示 0.05 水平的差异显著性, 下同。

Fig. 1 Toxicity of the essential oil at $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ extracted from the pollen of *Swietenia macrophylla* to aphids

Note: Lowercase letters indicate the significance of the difference at the 0.05 level, similarly hereinafter.

2.1.3 对玉米象的驱避作用 采用滤纸药膜法测定 $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下, 大叶桃花心木花粉精油和印楝素乳油对玉米象的驱避活性结果见图 3。处理 12 h, 印楝素乳油的驱避率为 46%, 大叶桃花心木花粉精油的驱避率为 76.1%, 显著高于印楝素乳油; 24 h 时印楝素乳油的驱避率为 82%, 大叶桃花心木花粉精油驱避率 87.9%, 与印楝素乳油效果相当。

为进一步研究大叶桃花心木花粉精油对玉米象的驱避效果, 试验选取了 5 个浓度 (0.5 、 1.0 、 2.0 、 4.0 和 $8.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) 的精油测定对玉米象 12、24 和 48 h 的驱避效果, 并计算对玉米象的毒力回归方程。由结果可知 (表 1), 不同处理时间的方程相关系数 R 值均大于 0.9, 可见方程相关性好, 可信度高;

表 1 大叶桃花心木花粉精油对玉米象的驱避毒力测定

Tab. 1 Determination of repellent toxicity of the essential oil extracted from the pollen of *Swietenia macrophylla* to *Sitophilus zeamais*

测定时间/h Time	回归方程 Regression equation	R 值	$LC_{50}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	置信区间 Confidence interval
12	$y = 0.7879x + 5.7709$	0.9954	0.11	0.05 ~ 0.24
24	$y = 1.15131x + 4.5344$	0.9776	2.54	1.73 ~ 3.73
48	$y = 1.0520x + 4.1923$	0.9515	5.86	3.06 ~ 11.22

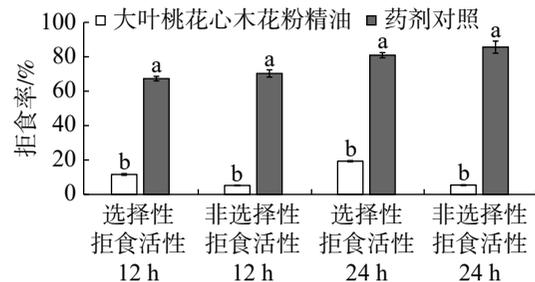


图 2 大叶桃花心木花粉精油对 3 龄斜纹夜蛾幼虫的拒食活性

Fig. 2 Antifeedant activity of the essential oil extracted from the pollen of *Swietenia macrophylla* against the third instar larvae of *Spodoptera litura*

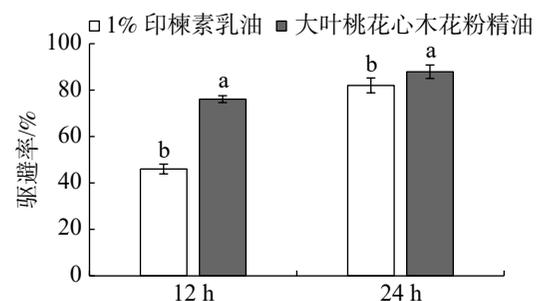


图 3 大叶桃花心木花粉精油对玉米象的驱避活性

Fig. 3 Repellent activity of the essential oil extracted from the pollen of *Swietenia macrophylla* against *Sitophilus zeamais*

12、24、48 h 的驱避中浓度(LC_{50})依次为 0.11、2.54、5.86 $g \cdot L^{-1}$, 可见随着处理时间的延长, 大叶桃花心木花粉精油驱避效果有所下降。

2.2 大叶桃花心木花粉精油的抑菌活性

2.2.1 大叶桃花心木花粉精油对植物病原菌的抑菌活性

由图4可知, 大叶桃花心木花粉精油对不同的植物病原真菌的抑制效果不同, 对芒果蒂腐、水稻稻瘟、香蕉炭疽和芒果炭疽病菌均表现出良好的抑制效果, 抑制率分别达 81.21%、74.32%、69.17% 和 61.76%; 对香蕉枯萎病菌和西瓜枯萎病菌的抑制效果较差。

2.2.2 大叶桃花心木花粉精油对食品微生物的抑菌活性

由表2可知, 测定的毒力方程 R 值均大于 0.9, 说明方程相关性好, 可信度高; 大叶桃花心木花粉精油对食品微生物(匍枝根霉和黑曲霉)的抑制中浓度(EC_{50})分别为 18.79 $g \cdot L^{-1}$ 和 7.94 $g \cdot L^{-1}$, 表明, 黑曲霉对该精油更为敏感。

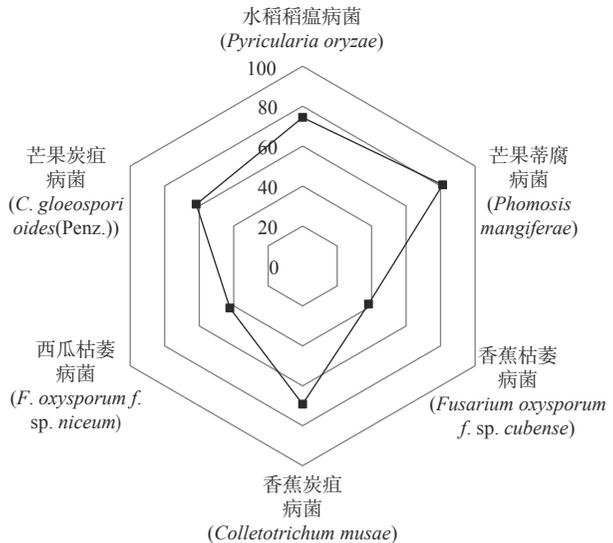


图4 $2 g \cdot L^{-1}$ 大叶桃花心木花粉精油对 6 种真菌的抑菌活性测定

Fig. 4 Antifungal activity of the essential oil at $2 g \cdot L^{-1}$ extracted from the pollen of *Swietenia macrophylla* against six species of fungi

表2 大叶桃花心木花粉精油对匍枝根霉和黑曲霉抑菌活性统计分析

Tab. 2 Statistical analysis of bacteriostatic activity of the essential oil extracted from the pollen of *Swietenia macrophylla* against *Rhizopus nigricans* and *Aspergillus niger*

靶标菌 Bacterium	回归方程 Regression equation	R	$EC_{50}/(g \cdot L^{-1})$	置信区间 Confidence interval
匍枝根霉	$y = 0.7576x + 4.0349$	0.9979	18.79	18.42 ~ 19.25
黑曲霉	$y = 1.0332x + 4.0700$	0.9849	7.94	5.19 ~ 8.82

3 讨论

活性植物资源的筛选一直是植物源农药研发中最基础的工作^[11], 而大叶桃花心木的花粉包含着植物体生命的遗传信息以及孕育生命体的全部营养成分, 是筛选活性资源的良好材料。该树种为我国行道树, 非常常见。大叶桃花心木的花小且具有自然大量落花特性, 海南每年 3~4 月份, 该树种大量落花, 会造成环境不整洁, 也给环卫工人清扫造成负担。采用吸尘器或清扫的方法能快速有效地收集大叶桃花心木的落花, 并开展其农用活性的研究, 不仅可以提升环境清洁度, 还能够开发利用植物的天然资源。本研究大量收集大叶桃花心木的落花, 并对其进行超临界萃取, 对获得的花粉精油进行农用活性测定。研究发现, 大叶桃花心木的花粉精油对葛苴指管蚜具有很好的触杀活性, 对玉米象有较好的驱避活性, 对芒果蒂腐、水稻稻瘟、香蕉炭疽和芒果炭疽病菌具有良好的抑制效果。由此可见, 大叶桃花心木的花粉精油具有潜在的防治农业病虫害的研究价值。此外, 大叶桃花心木的花粉精油对引起食品腐烂变质的病原微生物黑曲霉也有一定的抑菌活性。

精油通常是含有多种不同化合物的混合物^[12], 精油成分的不同使得精油具有不同的农用活性, BURT 等^[13]报道含酚类等较多的精油往往具有很好的抑菌活性, AMARAL 等^[14]发现树胡椒精油中的橙花叔醇、 β -石竹烯和 α -蛇麻烯对棉叶螨具有很好的杀螨和趋避活性, β -石竹烯还具有熏蒸作用。有研究报道, 大叶桃花心木的叶、果实提取物中的化学成分复杂多样, 有柠檬苦素, 甾体, 黄烷醇, 挥发油等^[15-17]。本研究测定了大叶桃花心木的花粉精油部分农用活性, 但未对该精油的活性物质进行追踪, 其所含的物质与前人报道的提取物中是否一致也有待进一步确定。因此, 在后续的进一步研究中有必要对其活性物质进行分析鉴定, 为该精油的应用奠定基础。

参考文献:

- [1] Mi C N, WANG H, CHEN H Q, et al. Polyacetylenes from the Roots of *Swietenia macrophylla* King [J]. *Molecules*, 2019, 24(7): 2 – 9.
- [2] MOGHADAMTOUSI S, GOH B, CHAN C, et al. Biological Activities and Phytochemicals of *Swietenia macrophylla* King [J]. *Molecules*, 2013, 18(9): 10465 – 10483.
- [3] PAMPLONA SÔNIA, ARRUDA M, CASTRO K, et al. Phragmalin Limonoids from *Swietenia macrophylla* and Their Antifeedant Assay against Mahogany Predator [J]. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2018, 29(8): 1621 – 1629.
- [4] MURSITI S, SUPARTONOL. Isolation and antimicrobial activity of flavonoid compounds from mahogany seeds (*Swietenia macrophylla*, King) [J]. *IOP Conference Series Materials Science and Engineering*, 2017, 172: 012055.
- [5] 刘奎, 符悦冠, 彭正强, 等. 大叶桃花心木的花、叶提取物对斜纹夜蛾的拒食活性[J]. *热带作物学报*, 2004(2): 28 – 32.
- [6] 刘奎, 符悦冠, 彭正强, 等. 大叶桃花心木的花、叶提取物对斜纹夜蛾的拒食作用研究[J]. *植物保护*, 2004(2): 72 – 74.
- [7] 李晓东, 赵善欢. 大叶桃花心木提取物对菜青虫的杀虫活性研究[J]. *仲恺农业技术学院学报*, 1997(2): 71 – 74.
- [8] CALO J R, CRANDALL P G, O'BRYAN C A, et al. Essential oils as antimicrobials in food systems—A review [J]. *Food control*, 2015, 54: 111 – 119.
- [9] HILMI M L B, SALLEH L M, JAMALUDIN R, et al. Solubility of *Swietenia Macrophylla* Seeds In Supercritical Carbon Dioxide Extraction [J]. *IOP Conference Series Materials Science and Engineering*, 2020, 884: 012021.
- [10] 俞瑞鲜, 胡秀卿, 吴声敢, 等. 几种植物精油对小菜蛾的趋避活性及其增效作用[J]. *浙江农业科学*, 2018, 59(5): 767 – 771.
- [11] 田向荣, 李彦涛, 王智辉, 等. 5种植物源农药对假眼小绿叶蝉的田间药效[J]. *热带生物学报*, 2019, 10(3): 264 – 267.
- [12] 邱海燕, 刘奎, 付步礼, 等. 香蕉假茎精油成分的 GC-MS 分析[J]. *热带生物学报*, 2016, 7(2): 274 – 278.
- [13] BURT S A. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2004, 94(3): 223 – 253.
- [14] AMARAL A C F, RAMOS A D S, PENA, MÁRCIA REIS, et al. Acaricidal activity of *Derris floribunda* essential oil and its main constituent [J]. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2017, 7(9): 791 – 796.
- [15] 张荣, 曹明明, 何红平, 等. 大叶桃花心木中的柠檬苦素成分 (英文)[J]. *天然产物研究与开发*, 2013, 25(5): 581 – 584+633.
- [16] FALAH S, SUZUKI T, KATAYAMA T. Chemical Constituents from *Swietenia macrophylla* Bark and Their Antioxidant Activity [J]. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 2008, 11(16): 2007 – 2012.
- [17] 米承能, 梅文莉, 李薇, 等. 大叶桃花心木根的化学成分研究[J]. *热带亚热带植物学报*, 2017, 25(6): 610 – 616.

Insecticidal and Bacteriostatic Activities of the Essential oil Extracted from the Pollen of *Swietenia macrophylla*

ZHANG Zhuhong, WU Wenjie, WU Yuejie, WANG Lanying, LUO Yanping
(College of Plant Protection, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

Abstract: Essential oil was extracted from the pollen of *Swietenia macrophylla* by supercritical carbon dioxide, and its insecticidal activity against four species of field insect pests and its bacteriostatic effect against eight species of pathogenic fungi were determined. The results showed that the essential oil extracted from the pollen of *Swietenia macrophylla* had significant contact activity against *Uroleucon formosanum* and excellent repellent activity against *Sitophilus zeamais*, but low contact toxicity to *Aphis gossypii* and antifeedant activity to the third instar larvae of *Spodoptera litura*.; and the pollen essential oil could effectively inhibit the growth of *Phomopsis mangiferae*, *Pyricularia oryzae*, *Colletotrichum musae*, and *Colletotrichum gloeosporioides*, but had a less inhibitory effect on *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *Niveum* at the concentration of $2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. *Rhizopus nigricans* and *Aspergillus niger* were sensitive to the pollen essential oil with the EC_{50} values of the essential oil being $18.79\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ and $7.94\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively.

Keywords: *Swietenia macrophylla*; pollen essential oil; insecticidal; bacteriostatic; activity