

独角莲不同提取液对大豆蚜虫的生物活性及活性浓度的筛选

顾地周¹,车喜全²,朱俊义¹,何晓燕¹,冯 颖¹,姜云天¹

(¹通化师范学院生物系,吉林 通化 134002;²通化师范学院化学系,吉林 通化 134002)

摘 要:基于均匀设计法研究了独角莲球根茎的不同提取液对大豆蚜虫的触杀和拒食作用。结果表明:乙醇浸提液对大豆蚜虫具有较高的触杀活性。水蒸汽蒸馏液对大豆蚜虫具有较强的拒食活性。乙醇浸提液对大豆蚜虫 48 h 的致死中浓度(LC_{50})为 $8.71\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,水蒸汽蒸馏液对大豆蚜虫 24、48 h 的拒食中浓度(AFC_{50})分别为 8.66 、 $7.93\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。乙醚浸提液对大豆蚜虫的触杀和拒食作用不显著。60 h 的同时触杀和拒食活性浓度筛选的结果表明,乙醇浸提液 $24.1545\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和水蒸汽蒸馏液 $23.014\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 联合使用对大豆蚜虫同时触杀和拒食活性最好,死亡率达 100%。

关键词:独角莲;大豆蚜虫;均匀设计;生物活性

中图分类号:S435.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-9841(2008)06-1010-05

Biological Activity Against *Aphis Glycines* of Various Extraction from *Typhonium giganteum* Engler and Preliminary Screening of Activitive Concentration

GU Di-zhou¹,CHE Xi-quan²,ZHU Jun-yi¹,HE Xiao-yan¹,FENG Ying¹,JIANG Yun-tian¹

(¹ Department of Biology, Tonghua Normal University, Tonghua 134002 Jilin;² Department of Chemistry, Tonghua Normal University, Tonghua 134002, Jilin, China)

Abstract: Contacting death and antifeeding against *Aphis glycines* of various extraction from the bulbs of *Typhonium giganteum* Engler were studied through Uniform Design. The results showed that the 48 h LC_{50} of death was $8.71\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ of ethanol extract, the 24 h and 48 h AFC_{50} of antifeedant were 8.66 , $7.93\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ of distillation liquid. The results of contacting death and antifeedant against *Aphis glycines* showed that $24.1545\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ of ethanol extract and $23.014\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ of wet distillation liquid had simultaneously the best contacting death and antifeedant activity, the 60 h rate of death was 100%. As a result, ethanol extract had high contacting death activity, distillation liquid had strong antifeedant activity, ethyl-ether extracts had indistinctively contacting death and antifeedant effect.

Key words: *Typhonium giganteum* Engler; *Aphis glycines*; Uniform Design; Biological activity

独角莲 (*Typhonium giganteum* Engler), 是天南星科犁头尖属多年生草本植物,块茎入药,主治中风、抽搐、祛风湿、逐寒湿、镇痉止痛、抑制结核菌、偏正头痛、淋巴结核等症。目前对独角莲的研究主要集中在化学成分和药理活性的研究,而对其用于农业害虫防治至今未见报道。研究发现,独角莲对几种常见农业害虫,尤其是大豆蚜虫 (*Aphis glycines*) 有较高的活性。大豆蚜虫为大豆害虫,主要危害豆叶,使豆叶卷缩凋萎,严重时植株生长停滞,结荚少,产量低,品质差。以往防治大多采用乐果等高效、高毒、高残留农药。采用不同的活性测试方法研究了独角莲球茎根的乙醇、乙醚浸提液及水蒸汽蒸馏液

对大豆蚜虫的生物活性。应用均匀设计法对数据进行分析 and 处理^[1-2],并对最佳活性浓度进行了筛选,以期获得最佳触杀和拒食作用的浓度配比。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试植物 独角莲采自通化师范学院生物系教学科研基地。用其鲜球根茎部分入药,将鲜球根茎脱去老皮,用清水洗净表面泥土后备用。

1.1.2 供试昆虫 大豆蚜虫捕自通化师范学院附近大豆种植田内。选择健康、大小均匀的大豆蚜虫,以鲜嫩大豆叶饲养。养虫室温度 (22 ± 2)℃,相对

收稿日期:2008-06-26

基金项目:吉林省教育厅自然科学基金资助项目[(2003)-65]。

作者简介:顾地周(1973-),男,讲师,主要从事长白山区珍稀濒危植物和药用植物研究。E-mail:gudizhou@163.com。

湿度 60%~75%,光照强度 600 lx。

1.2 药液制备及制备方法

称取独角莲的鲜球根茎 3 份,每份 10 g,放入研钵中捣成泥状,其中两份分别加入 50 mL 乙醇和乙醚,(25±2)℃恒温震荡提取 6 h。另外一份用蒸馏水浸泡 12 h 后进行水蒸汽蒸馏三次均用两层纱布过滤 3 次。将 3 次水馏液混合后直接定容,乙醇、乙醚浸提液的滤液减压浓缩后加入少量 95% 乙醇溶解后以蒸馏水定容,3 种药液均制备成质量浓度为 10.0、12.5、15.0、17.5、20.0、22.5、25.0 mg·mL⁻¹ 的浸提液,置于 3~5℃冰箱中备用。

1.3 独角莲球根茎乙醇、乙醚浸提液和水蒸汽蒸馏液对大豆蚜虫触杀和拒食活性测定

1.3.1 触杀作用测定 采用浸渍法,将大豆蚜虫放入自制的小培养皿状滤网中,浸没于不同浓度乙醇、乙醚浸提液和水蒸汽蒸馏液(三种药液均加入少量的吐温-80 或洗衣粉作为表面活性剂以确保药液与大豆蚜虫充分接触)中处理 20 s 后迅速取出,用滤纸轻轻吸干大豆蚜虫体表药液,置于有鲜嫩大豆叶的烧杯(500 mL,杯底垫有保湿滤纸 3 层)中,每个处理 30 只大豆蚜虫,重复 3 次,对照分别用 30% 的乙醇和蒸馏水做同样处理。将烧杯置于温度(22±2)℃,相对湿度 60%~75%,光照强度 600 lx 的培养箱内观察,于 24、48 h 后观察大豆蚜虫的死亡情况,统计并计算出死亡率、校正死亡率和致死中浓度(LC₅₀)。计算方法:死亡率(%)=(死亡虫数/供试总虫数)×100,校正死亡率(%)=[(处理组死亡率-对照组死亡率)/(1-对照组死亡率)]×100。

1.3.2 拒食作用测定 采用浸叶法,将鲜嫩的大豆叶用打孔器打成叶碟(直径为 2.0 cm),放入供试样品内浸泡 10 s,取出用吸水纸吸干叶碟表面药液后放入杯底垫有 3 层保湿滤纸的烧杯中,每杯 3 片叶碟,于叶片中央接入已饥饿 12 h 的大豆蚜虫 10 只,每个处理 30 只大豆蚜虫,即重复 3 次,对照分别用 30% 的乙醇和蒸馏水做同样处理。将烧杯置于温度(22±2)℃,相对湿度 60%~75%,光照强度 600 lx 的培养箱内观察,于 24 h 后分别统计对照组和处理组叶碟上蚜虫的栖息数,48 h 后再次调查栖息数。计算栖息率和拒食率。根据平均栖息率计算出拒食率和拒食中浓度(AFC₅₀)。计算方法:栖息率=(处

理组蚜虫栖息数/每个处理蚜虫总数)×100%,拒食率(%)=[(对照组蚜虫栖息数-处理组蚜虫栖息数)/每个处理蚜虫总数]×100%。

1.4 独角莲球根茎乙醇浸提液和水蒸汽蒸馏液对大豆蚜虫同时触杀和拒食活性浓度配比的筛选

因独角莲球根茎乙醇浸提液对大豆蚜虫有显著的触杀活性,而其水蒸汽蒸馏液对大豆蚜虫拒食活性较明显。考虑到杀虫作用的彻底性问题,采取触杀和拒食联合处理的方法,即将同一处理的大豆蚜虫组先以乙醇浸提液处理 20 s 后迅速取出,再放到经水蒸汽蒸馏液浸泡过的叶碟上,统计计算出大豆蚜虫因触杀及未触杀死的大豆蚜虫因拒食后饥饿造成的最终死亡率。每个处理 30 只大豆蚜虫,重复 3 次,对照分别用 30% 的乙醇和蒸馏水做同样处理。

1.5 数据分析与处理

采用均匀设计(Uniform Design)软件。回归分析均采取全回归(后退法)。

2 结果与分析

2.1 独角莲对大豆蚜虫触杀和拒食作用的影响

用 1.3.1 和 1.3.2 的方法测定了独角莲球根茎不同浓度的乙醇、乙醚浸提液和水蒸汽蒸馏液对大豆蚜虫触杀和拒食作用,为了快速而准确的判断出 3 种药液对大豆蚜虫触杀和拒食作用的显著性,采用均匀设计法,同时考察了不同浓度的乙醇、乙醚浸提液和水蒸汽蒸馏液对大豆蚜虫的触杀致死率和拒食率的影响,结果见表 2。

表 1 U₁₀(10³)因素及水平设计

Table 1 U ₁₀ (10 ³) factors and levels design			
水平	因素 Factors/mg·mL ⁻¹		
Levels	X ₁	X ₂	X ₃
1	10.0	10.0	10.0
2	12.5	12.5	12.5
3	15.0	15.0	15.0
4	17.5	17.5	17.5
5	20.0	20.0	20.0
6	22.5	22.5	22.5
7	25.0	25.0	25.0
8	20.0	20.0	15.0
9	22.5	22.5	12.5
10	25.0	25.0	10.0

表2 $U_{10}(10^3)$ 均匀设计安排及结果
Table 2 $U_{10}(10^3)$ Uniform Design plan and result

处理号 Treatment code	因素 Factors/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$			24 h 致死率和拒食率		48 h 致死率和拒食率	
				Rate of 24 h death and antifeeding/%		Rate of 48 h death and antifeeding/%	
	X_1	X_2	X_3	Y^1	Y^2	Y^1	Y^2
1	10.0	20.0	25.0	59.4 (59.0)	95.5	62.2 (61.0)	97.0
2	12.5	25.0	15.0	65.7 (65.0)	70.1	72.3 (72.0)	71.2
3	15.0	17.5	25.0	72.3 (72.0)	95.5	74.0 (74.0)	96.5
4	17.5	22.5	22.5	78.5 (78.5)	89.5	81.2 (81.0)	90.0
5	20.0	15.0	12.5	84.3 (84.0)	64.0	86.5 (86.5)	65.5
6	22.5	20.0	22.5	89.3 (89.0)	89.5	91.5 (91.5)	91.0
7	25.0	12.5	20.0	94.6 (94.5)	83.0	95.0 (95.0)	84.5
8	20.0	25.0	10.0	83.7 (83.0)	58.0	84.0 (84.0)	60.0
9	22.5	10.0	20.0	90.2 (90.0)	84.0	91.8 (91.5)	86.0
10	25.0	22.5	17.5	93.8 (93.5)	77.0	95.6 (95.5)	79.0

X_1 为乙醇浸提液质量浓度, X_2 为乙醚浸提液质量浓度, X_3 为水蒸汽蒸馏液质量浓度, Y_1 为 24 h 触杀致死率, Y_2 为 24 h 拒食率, Y_3 为 48 h 触杀致死率, Y_4 为 48 h 拒食率, 括号内数值分别代表 Y_1 、 Y_3 在 24 h 和 48h 的校正触杀致死率。

X_1 – The mass concentration of ethanol extracts, X_2 – The mass concentration of ethylether extracts, X_3 – The mass concentration of wetdistillation liquid, Y_1 – The 24 h rate of contacting death, Y_2 – The 24 h rate of antifeedant, Y_3 – The 48 h rate of contacting death, Y_4 – The 48 h rate of antifeedant, The 24 h and 48 h rate of corrected contacting death in the brackets.

表3 独角莲对大豆蚜虫的触杀和拒食活性回归分析结果
Table 3 Regression analysis result for activity of contacting death and antifeedant against *Aphis glycines* from *Typhonium giganteum*

统计时间 Statistics time/h	触杀活性 Activity of contacting death				拒食活性 Activity of antifeedant			
	毒力回归方程	复相关系数(R)	剩余标准差 S	检验值 F_t	毒力回归方程	复相关系数(R)	剩余标准差 s	检验值 F_t
	Regression equation	Multiple correlation coefficient	Residual standard deviation	Check value	Regression equation	Multiple correlation coefficient	Residual standard deviation	Check value
	of virulence	coefficient	deviation		of virulence	coefficient	deviation	
24	$Y_1 = 36.3 + 2.34X_1$	0.9976	0.890	1663	$Y_2 = 32.7 + 2.52X_3$	0.9996	0.381	$1.055e^{+4}$
48	$Y_3 = 42.0 + 2.16X_1$	0.9904	1.650	412.0	$Y_4 = 34.9 + 2.48X_3$	0.9985	0.752	2618

$N = 10, \alpha = 0.05, F_{(0.05, 1, 8)} = 5.318, F_t > F_{(0.05, 1, 8)}$

2.1.1 独角莲对大豆蚜虫触杀作用的影响 所得数据(见表2)经均匀设计软件分析处理后(见表3)可知, 24 h 的毒力回归方程分析结果表明, 乙醇浸提液对大豆蚜虫有较好触杀作用, 随着乙醇浸提液质量浓度的增大校正死亡率升高; 由表2和48 h 的毒力回归方程(见表3)发现, 乙醇浸提液对大豆蚜虫保持着较好的触杀作用, 当乙醇浸提液质量浓度为 $25.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 其 48 h 校正死亡率可达到 95.5%, $LC_{50} = 8.71 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。大豆蚜虫接触乙醇浸提液后, 先是迅速无方向的四处爬动, 然后爬动速度逐渐减慢直至静止不动, 断定大豆蚜虫虫体已瘫痪或麻痹, 大部分虫体不能恢复正常状态, 直接死亡, 死亡状态为静止萎缩; 24 h 内的观察和统计发现: 少数大豆蚜虫虽经历瘫痪或麻痹一段时间后还可以恢复, 但表现出明显不取食现象, 直至死亡。由回归分析的结果可知, 乙醚浸提液和水蒸汽蒸馏提取液对大豆蚜虫的触杀活性不显著。

2.1.2 独角莲对大豆蚜虫拒食作用的影响 通过表2和24 h 的回归方程及其回归分析结果(见表3)看出, 水蒸汽蒸馏液对大豆蚜虫均有较强的拒食作用, 水蒸汽蒸馏提取液质量浓度的增大拒食率增高, 乙醇浸提液和乙醚浸提液对大豆蚜虫的拒食不起作用。由48 h 的回归方程和表2发现, 水蒸汽蒸馏液对大豆蚜虫保持显著的拒食作用, 随质量浓度的增大和时间的延长拒食率升高, 大豆蚜虫在处理叶碟上的栖息数比在对照叶碟上少, 在高质量浓度处理叶碟又比低质量浓度处理的叶碟上显著减少, 24 h 和 48 h 的水蒸汽蒸馏液拒食中浓度 AFC_{50} 值分别为 8.66 、 $7.93 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; 不同处理时间的拒食率不同, 48 h 的拒食率均高于 24 h 的拒食率, 说明 48 h 的拒食活性明显高于 24 h 的拒食活性。

2.2 独角莲对大豆蚜虫同时触杀和拒食活性浓度配比的筛选

由 2.1.1 和 2.1.2 中触杀和拒食的回归贡献分

析及 48 h 的作用结果可知,独角莲球根茎的乙醇浸提液具有显著触杀作用,而水蒸汽蒸馏提取液具有显著拒食活性。为达到对大豆蚜虫同时触杀和拒食饥饿致死的显著效果,即用 1.4 的方法,采用均匀设计法,同时考察了不同浓度的乙醇浸提液和水蒸汽蒸馏液对大豆蚜虫死亡率的影响,结果见表 5。

表 4 $U_{10}(10^2)$ 因素及水平设计

Table4 $U_{10}(10^2)$ factors and levels design

水平	因素 Factors/mg · mL ⁻¹	
Levels	X_1	X_2
1	10.0	10.0
2	12.5	12.5
3	15.0	15.0
4	17.5	17.5
5	20.0	20.0
6	22.5	22.5
7	25.0	25.0
8	20.0	20.0
9	22.5	22.5
10	25.0	25.0

表 6 独角莲对大豆蚜虫的同时触杀和拒食活性回归分析结果

Table 6 Regression analysis result for activity of simultaneously contacting death and antifeedant

统计时间/h	毒力回归方程	复相关系数(R)	剩余标准差 S	检验值 F_t
Statistics time/h	Regression equation of virulence	Multiple correlation coefficient	Residual standard deviation	Check value
24	$Y_1 = 61.8 + 0.974X_1 + 0.507X_2$	0.9983	1.220	1039
48	$Y_2 = 68.4 + 0.924X_1 + 0.324X_2$	0.9824	0.993	98.42
72	$Y_3 = 74.4 + 0.754X_1 + 0.321X_2$	0.9627	1.220	44.37

$N = 10, \alpha = 0.01, F_{(0.01,2,7)} = 9.547, F_t > F_{(0.01,2,7)}$

所得数据(见表 5)经均匀设计软件分析处理后(见表 6)可知,根据 72 h 的回归方程求出 Y 的最优组合为: $X_1 = 25.0, X_2 = 25.0$,将其代入方程,求得 $y = 101$,此解为回归方程的解析解,需按公式 $Y = y \pm u_\alpha \cdot s$ 计算出优化值区间估计为 $Y = 101(\pm 4.27)$,即 96.73 ~ 105.27%。以 72 h 的死亡率 100% 为准,当 $X_1 = 25.0$ 时, $X_2 = 21.028$; 当 $X_2 = 25.0$ 时, $X_1 = 23.309$,取平均值可得: $X_1 = 24.1545, X_2 = 23.014$,以平均值进行验证,将同一处理的大豆蚜虫组先以质量浓度为 24.1545 mg · mL⁻¹ 的乙醇浸提液处理 20 s 后迅速取出,再放入有经质量浓度 23.014 mg · mL⁻¹ 水蒸汽蒸馏液浸泡过的叶碟的烧杯中观察大豆蚜虫 24、48、72 h 的死亡率及观察结果表明,24 h 大豆蚜虫的死亡率达 96.8% 以上,未死亡的大豆蚜虫行动缓慢,在叶碟上四处爬动后离开叶碟,在离叶碟较远且较湿润的地方趴伏不动。随着时间延长至 48 h,统计死亡率达 98%,60 h 后大豆蚜虫全部死亡,即死亡率 100%。在估计区间范围内,60 h 独角莲球根茎乙

表 5 $U_{10}(10^2)$ 均匀设计安排及结果

Table 5 $U_{10}(10^2)$ Uniform Design plan and result

处理号	因素 Factors/mg · mL ⁻¹		致死死亡率 Rate of death(%)		
Treatment code	X_1	X_2	Y_1	Y_2	Y_3
1	10.0	25.0	84.0	85.0	89.0
2	12.5	15.0	82.0	84.0	87.5
3	15.0	25.0	89.0	91.5	95.0
4	17.5	22.5	90.5	93.0	96.5
5	20.0	12.5	87.0	90.5	93.0
6	22.5	22.5	95.0	95.5	97.5
7	25.0	20.0	96.5	97.0	99.0
8	20.0	10.0	86.5	91.0	94.0
9	22.5	20.0	94.0	96.0	98.0
10	25.0	17.5	95.0	97.5	98.5

X_1 为乙醇浸提液质量浓度, X_2 为水蒸汽蒸馏液质量浓度, Y_1 为 24 h 校正死亡率, Y_2 为 48 h 校正死亡率, Y_3 为 72 h 校正死亡率。

X_1 - The mass concentration of ethanol extracts, X_2 - The mass concentration of wetdistillation liquid, Y_1 - The 24 h rate of corrected contacting death, Y_2 - The 48 h rate of corrected contacting death, Y_3 - The 72 h rate of corrected contacting death.

醇浸提液和水蒸汽蒸馏液对大豆蚜虫同时具有显著触杀和拒食饥饿致死的活性质量浓度为:乙醇浸提液 24.1545 mg · mL⁻¹,水蒸汽蒸馏液 23.014 mg · mL⁻¹。

3 结论与讨论

结果表明,独角莲球根茎中含有对大豆蚜虫具有显著生物活性的物质,主要表现在对大豆蚜虫的触杀和拒食作用。

在触杀试验中,通过对 24 h 的毒力回归方程分析结果和表 2 可知,乙醇浸提液对大豆蚜虫具有较好触杀作用,24 h 校正死亡率高达 94.5%,说明独角莲球根茎中具有触杀作用的生物活性物质能被乙醇浸提出来。部分大豆蚜虫虽未死亡,但取食量明显较对照少。对 48 h 的毒力回归方程分析结果和表 2 可知,乙醇浸提液对大豆蚜虫保持着较好触杀作用,48 h 校正死亡率可达到 95.5%,触杀的中浓度 LC_{50} 值为 8.71 mg · mL⁻¹,且致死率均比 24 h 的

高,分析原因大致有两种情况:第一种情况是独角莲球根茎中起触杀作用的活性物质极易溶于乙醇且浸提量较多或者是在乙醇中保持较好的稳定性;第二种情况是独角莲球根茎中含有多种具有触杀活性的不同物质,其各自的触杀作用机理不同,触杀活性物质表现的快慢不同,随着时间的延长均表现出的触杀作用。乙醚浸提液和水蒸汽蒸馏提取液对大豆蚜虫的触杀作用表现不明显,可能是具有触杀活性的物质在乙醚和水蒸汽蒸馏液中含量少导致现象不显著。也可能是乙醚浸提液和水蒸汽蒸馏液中的拒食活性物质较乙醇浸提液中的拒食活性物质易被大豆蚜虫产生抗药免疫力等原因。

在拒食试验中,仅水蒸汽蒸馏提取液有显著效果,说明独角莲球根茎中具有拒食作用的生物活性物质能通过水蒸汽蒸馏出来。从48 h的拒食活性分析和表2看出,水蒸汽蒸馏液仍然保持着显著的拒食效果。24 h和48 h的水蒸汽蒸馏液拒食中浓度 AFC_{50} 值分别为8.66、7.93 $mg \cdot mL^{-1}$,且48 h的拒食率都高于24 h,这可能是独角莲球茎根中含有多种具有拒食的活性物质,只是作用的快慢有差异而已。也可能是乙醇浸提液和乙醚浸提液中的拒食活性物质含量少导致不显著,还有可能是乙醇和乙醚浸提液中的拒食活性物质较水蒸汽蒸馏液中的拒食活性物质易被大豆蚜虫产生抗药免疫力等原因。同时,应用均匀设计法初步筛选了独角莲球根茎的乙醇浸提液和水蒸汽蒸馏液对大豆蚜虫触杀和拒食的活性浓度,结果表明,独角莲球根茎乙醇浸提液24.1545 $mg \cdot mL^{-1}$,水蒸汽蒸馏液23.014 $mg \cdot mL^{-1}$,对大豆蚜虫同时具有显著的触杀和拒食活

性,60 h的死亡率达100%。目前,国内外利用植物防治病虫害的研究和报道较多^[3-7],但犁头尖属植物对杀虫生物活性的研究未见报道。此研究结果为利用独角莲进一步研究和开发新型的植物源农药可能有一定的参考价值。

参考文献

[1] 方开泰. 均匀设计—数论方法在试验设计的应用[J]. 应用数学学报,1980,3(4):363-372. (Fang K T. Application of Uniform Design-number theoretic method in trial design[J]. Acta Mathematicae Applicatae Sinica,1980,3(4):363-372.)

[2] 王万能,全学军,陆天健. 均匀设计超声波提取豆粕异黄酮的研究[J]. 生物数学学报,2007,22(1):153-156. (Wang W N, Quan X J, Lu T J. Research on the extraction of isoflavones from soy residue with Uniform Design[J]. Journal of Biomathematics, 2007,22(1):153-156.)

[3] Kim S I, Roh J Y, Kim D H, et al. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis* [J]. Journal of Stored Products Research, 2003,39:293-303.

[4] Broadway R M, Duffey S S. Plant proteinase inhibitors: Mechanism of action and effect on the growth and digestive physiology of Larval *Heliothis zea* and *Spodoptera exiqua* [J]. Insect Physiology, 1986, 32(10):827-833.

[5] Klock J A, Hum Y, Chiu S F. Grayanoid diterpene insect antifeedants and insecticides from *Rhododendron molle* [J]. Phytochemistry, 1991,30(6):1797-1800.

[6] Miyazawa M, Tsukamoto T, Anzai J, et al. Insecticidal effect of phthalides and furanocoumarins from *Angelica acutiloba* against *Drosophila melanogaster* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004,52(14):4401-4405.

[7] Wu W J, Wang M A, Zhu J B, et al. Five new insecticidal sesquiterpenoid from *Celastrus angulatus* [J]. Journal of Natural Products, 2001,64(3):364-367.

(上接第1009页)

[6] 胡春江,薛德林,王书锦,等. 大豆连作障碍研究Ⅲ-海洋放线菌MB-97促进大豆连作增产机理[J]. 应用生态学报,2002,13(9):1095-1098. (Hu C J, Xue D L, Wang S J, et al. Obstacles of soybean continuous cropping Ⅲ. Mechanism of soybean yield increment by marine actinomycetes MB-97[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2002,13(9):1095-1098.)

[7] 郭荣君,刘杏忠,杨怀文,等. 芽孢杆菌BH1防治大豆根腐病的效果及机制[J]. 中国生物防治,2003,19(4):180-184. (Guo R J, Liu X Z, Yang H W, et al. Mechanism of rhizobacteria BH1 (*Bacillus* sp.) to suppress soybean root rot disease caused by fusarium spp [J]. Chinese Journal of Biological Control, 2003, 19(4):180-184.)

[8] 温广月,许艳丽,李春杰,等. 6株生防细菌对大豆根腐病防治效果初步评价[J]. 大豆科学,2005,24(2):121-125. (Wen G Y, Xu Y L, Li C J, et al. Evaluation of six potential biocontrol against soybean root rot [J]. Soybean Science, 2005, 24(2):121-125.)

[9] 李淑彬,刘玉焕,刘芳,等. 降解甲胺磷农药高效菌株的筛选[J]. 湘潭师范学院学报,1998,19(3):60-64. (Li S B, Liu Y H, Liu F, et al. Screening of highly efficient bacteria of degrading methamidophos-pesticide [J]. Journal of Xiangtan Normal University, 1998,19(3):60-64.)

[10] 张忠辉,洪青,张国顺,等. 杀螟硫磷降解菌FDS-1的分离鉴定及其降解特性[J]. 中国环境科学,2005,25(1):52-56. (Zhang Z H, Hong Q, Zhang G S, et al. Identification and characterization of FDS-1 [J]. China Environmental Science, 2005, 25(1):52-56.)

[11] 李文鹏,吴颖运,张克勤. 一种简便的冻冻样芽孢杆菌(*Bacillus mucilaginosus*)定向驯育及保藏方法[J]. 土壤通报,2003,34(6):602-604. (Li W P, Wu Y Y, Zhang K Q. A simple and convenient method for directive breeding and preservation of *Bacillus mucilaginosus* [J]. Chinese Journal of Soil Science, 2003,34(6):602-604.)