分类号： S\_4\_8\_2\_.3\_9 ＵＤＣ：

密 级： 公 开

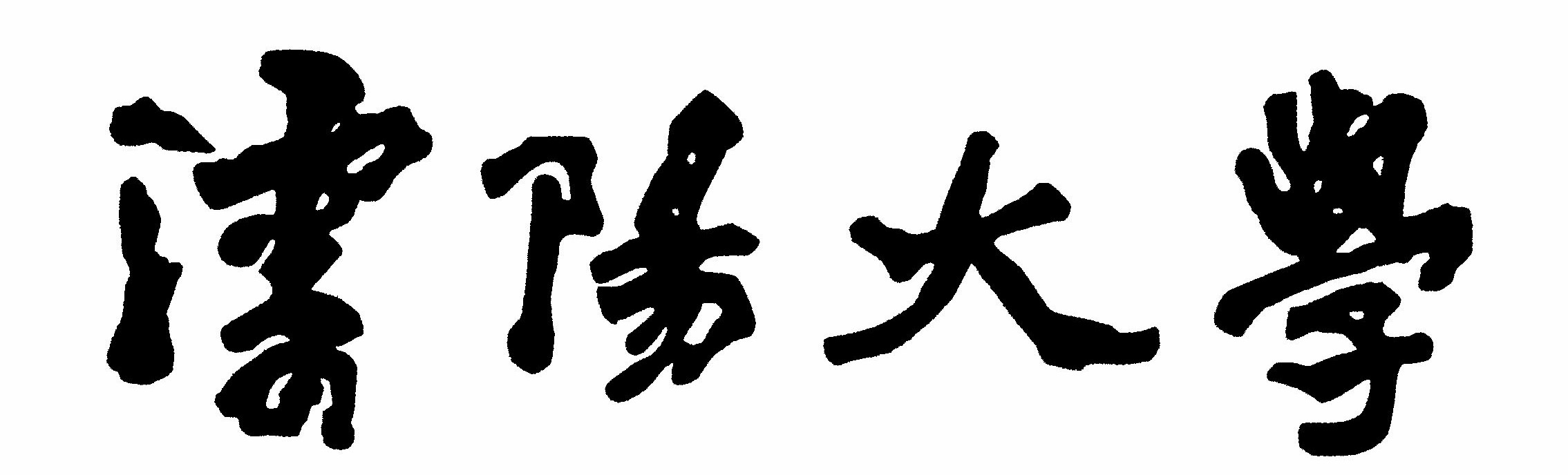
1 1 0 3 5

单位代码：

鳞柄白毒鹅膏菌毒素粗品复合物对榆绿毛萤叶甲的毒效研

韩佳言

沈阳大学



**硕士学位论文**

论文题目：鳞柄白毒鹅膏菌毒素粗品复合物对榆绿毛萤叶甲的毒效研究



学 号： 1\_3\_0\_7\_1\_0\_0\_5\_0\_0\_1\_9 作 者： 韩 佳 言 学 科 名 称： 生 物 学

**2016 年 01 月 08 日**

**论文题目：**鳞柄白毒鹅膏菌毒素粗品复合物对榆绿毛萤叶甲的毒效研究

**作者：**  韩 佳 言

**指导**教**师：**  杨绍斌 教授 **单位：**  沈阳大学

**协助指导教师：**  **单位：**

**单位：**

**论文答辩日期：2016年01月08 日**

**学位授予单位：沈阳大 学**

A Master's Thesis in Bicrobiology

# Toxicity Effects of Composite *Amanita virosa* Lam. : Fr.’s Toxins Crude Products to the *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire)



**Candidate:** Han Jiayan

**Supervisor:** Professor Yang Shaobin

College of Life Science and Bioengineering Shenyang University

January 8, 2016

本人郑重声明：所呈交的论文是我个人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。尽我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写的研究成果，也不包含为获得沈阳大学或其他教育机构的学位或证书所使用过的材料。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中做了明确的说明并表示了谢意。

签名：日期：

**关于论文使用授权的说明**

本人完全了解沈阳大学有关保留、使用学位论文的规定，即：学校有权保留送交论文的复印件，允许论文被查阅和借阅；学校可以公布论文的全部或部分内容，可以采用影印、缩印或其他复制手段保存论文。

**（保密的论文在解密后应遵循此规定）**

签名：导师签名：日期：

摘 要

榆绿毛萤叶甲（*Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire)），是一种严重危害榆树的害虫，在东北、华北地区非常普遍。成虫与幼虫均以叶片为食，常将整株榆树的叶子吃光，仅留叶脉。作者采集并且整理了部分辽宁省大型真菌与植物，提取两者有效成分对榆绿毛萤叶甲成虫进行杀虫试验。试验结果如下：

1. 利用41种采集到的大型真菌的提取物对榆绿毛萤叶甲成虫进行毒杀试验，并对杀虫24 h校正死亡率达到100 %的大型真菌提取物进行稳定性试验，筛选出冠状环柄菇和鳞柄白毒鹅膏菌两种大型真菌的提取物，对试虫毒杀效果最佳的是鳞柄白毒鹅膏菌的提取物。

2. 利用46种采集到的植物的提取物对榆绿毛萤叶甲成虫进行毒杀试验，并对杀虫24 h校正死亡率达到100 %的植物提取物进行稳定性试验，筛选出白头翁、白缘蒲公英和桔梗三种植物乙醇提取物，对试虫毒杀效果最佳的是白头翁的乙醇提取物。

3. 将筛选出的两种大型真菌与三种植物的提取物分别按照100: 1的质量比进行配伍，得到六种复合的生物提取物，分别进行对榆绿毛萤叶甲的毒杀实验。试验结果表明对试虫的毒杀效果提升最为明显的为鳞柄白毒鹅膏菌和白头翁的提取物的复合物，其共毒系数达到117.460，因此选取此复合生物提取物。

4. 用最终选取的复合生物提取物对斑马鱼进行安全性检测试验，得到试验结果为复合生物提取物对斑马鱼72 h时的LC50最小，根据《生物检测技术规范（水环境部分）》中的标准，此复合生物提取物的毒性为低毒。

5. 在野外进行最终选取的复合生物提取物的杀虫试验，并用1000倍液的氯氰菊酯和无菌水作为对照实验组。试验发现此复合生物提取物易受天气影响，对试虫的灭杀效果不如1000倍液的氯氰菊酯。

本实验旨在研究大型真菌与植物的提取物，从中筛选出对榆绿毛萤叶甲有防治效果的种类，为寻找安全有效的环境友好型生物杀虫剂提供新的思路。

**关键词：榆绿毛萤叶甲； 大型真菌提取物； 植物乙醇提取物； 复合Th物提取物； 急； 性毒性实验**

Toxicity Effects of Composite

*Amanita virosa Lam.: Fr*. 's Toxins Crude Products to the *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire)

**Abstract**

*Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire) is a serious pest of elm, it is very common in northeast and north of China. Adults and larvae are feed by leaf, often eat the whole plant elm leaves, leaving only the vein. The authors collected and recognized the parts of large fungi and plant in Liaoning Province, extract the both effective components, and insecticidal tests were carried out on *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire) adults. The main results were listed as follows:

1. Extractions of 41 speciescollected macrofungi were used to testpoison effect on *P. aenescens*(Fairmaire), the stabilityof macrofungi extraction was test, which correction mortality rate achieved100% in 24 h. Extractions from two kinds of large fungi were selected, which are the species of *Lepiota cristata* (Bolt.: Fr.) Quél. and *Amanita virosa Lam.: Fr.*. insect poison effect of *A. virosa Lam.: Fr.* extraction was better.

2. Extractions of 46 species collected plantwere used to testpoison effect on *P. aenescens*(Fairmaire) adults, the stability of plant extraction was test, which correction mortality rate achieved 100% in 24 h. Extractions from three kinds of plant were selected, which are the species of *Pulsatilla chinensis* (bunge) Regel, *Platycodon grandiflorus* (Jacq.)

A. DC. and *Taraxacum platypecidum* Diels. insect poison effect of *T. platypecidum*

Diels ethanol extract was better.

3. The selected two species of macrofungi and three species of plant were matched according to the quality of 100:1. Six kinds of complex biological extractions were respectively used for *P. aenescens*(Fairmaire) poisoning experiment. The results show complexes of *A. virosa Lam.: Fr.* and *T. platypecidum* Diels on insect toxic effect were obviously enhance. The cotoxicity coefficient reached 117.460, therefore, this compound was selected.

4. Complex biological extractions were final selected for safety detection of zebrafish. LC50 of complex biological extractions to zebrafish was minimum in 72 h. According to

《Biological detection technology specification (water environment part)》standard, the

Toxicity of this compound is low.

5. The insecticidal test of final selection composite biological extractions was done in field. and the 1000 times of the CyperMethrin and sterile water were treat as control group. It was found that the extraction of this complex was affected by the weather, and the effect of killing is less than 1000 times CyperMethrin.

The purpose of this experiment is study on macrofungi and plant extractions, and select the type, which can control the *P. aenescens*(Fairmaire). Provide a new way to find safe and effective environmental friendly biological pesticides.

**Key word: *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire)*;* Macrofungi extracts; Ethanol extracts; Plant; Compound; Biological; Extract; Acute; Toxicity test**

目 录

[Toxicity Effects of Composite](#_Toc686714765) *[Amanita virosa](#_Toc686714765)* [Lam. : Fr.’s Toxins Crude Products to the](#_Toc686714765) *[Pyrrhalta aenescens](#_Toc686714765)*[(Fairmaire)](#_Toc686714765) 3

[摘 要](#_Toc686714766) 4

**[Abstract](#_Toc686714767)** 4

[第1章 绪论](#_Toc686714768) 7

[1.1 榆绿毛萤叶甲](#_Toc686714769) 7

[1.2 大型真菌](#_Toc686714770) 8

[1.3 植物源杀虫](#_Toc686714771) 8

[1.4 大型真菌与植物源杀虫剂存在的问题](#_Toc686714772) 9

[1.5 本研究的目的意义](#_Toc686714773) 9

[第2章 试验材料与方法](#_Toc686714774) 10

[2.1 试验材料](#_Toc686714775) 10

[2.2 试验方法](#_Toc686714776) 10

[(](#_Toc686714777)*[Boehmeria silvestrii](#_Toc686714777)* [(Pamp.) W. T. Wang）、ft皂荚（](#_Toc686714777)*[Gleditsia melanacantha Tang et](#_Toc686714777)* 11

[1.4 mg/mL、2.1 mg/mL、2.8 mg/mL、3.5 mg/mL、4.2 mg/mL和4.9 mg/mL，以30头榆绿毛萤叶甲为一组进行每种浓度梯度的植物乙醇提取物的杀虫试验，以添加蒸馏水的一组作为对照组。记录下榆绿毛萤叶甲在五种植物乙醇取物作用12 h、24 h、48](#_Toc686714778) 11

[2.3 数据处理](#_Toc686714779) 12

[第3章 结果分析](#_Toc686714780) 15

[3.1 榆绿毛萤叶甲的实验室饲养结果](#_Toc686714781) 15

[3.2 大型真菌的采集与鉴定](#_Toc686714782) 15

[3.3 大型真菌纯化培养与保藏](#_Toc686714783) 18

[3.4 大型真菌扩繁与有效成分提取结果](#_Toc686714784) 18

[3.5 大型真菌提取物杀虫筛选试验结果](#_Toc686714785) 18

[3.6 植物采集、鉴定与有效成分提取结果](#_Toc686714786) 23

[3.7 植物乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲灭杀试验结果](#_Toc686714787) 28

[3.8 三种大型真菌深层发酵提取物对榆绿毛萤叶甲半数致死浓度的测定结果](#_Toc686714788) 29

[3.9 五种植物乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲灭杀试验LC50的测定结](#_Toc686714789) 37

[3.10 光、热稳定性试验后灭杀试虫结果](#_Toc686714790) 48

[3.11 大型真菌与植物的复合Th物提取物杀虫试验结果](#_Toc686714791) 56

[3.12 复合Th物提取物的安全性评估试验结果](#_Toc686714792) 60

[3.13 复合Th物提取物在野外对榆绿毛萤叶甲的灭杀试验结果](#_Toc686714793) 62

[第4章 结论和讨论](#_Toc686714794) 64

[4.1 大型真菌提取物和植物乙醇提取物杀虫筛选试验结果](#_Toc686714795) 64

[4.2 三种大型真菌提取物和五种植物乙醇提取物杀虫试验结果](#_Toc686714796) 64

[4.3 稳定性试验结果](#_Toc686714797) 65

[4.4 复合Th物提取物杀虫试验结果](#_Toc686714798) 65

[4.5 安全性试验结果](#_Toc686714799) 65

[4.6 野外试验结果](#_Toc686714800) 65

[4.7 讨论](#_Toc686714801) 65

[试验创新点：](#_Toc686714802) 65

[参考文献](#_Toc686714803) 65

[参考文献](#_Toc686714804) 67

[在学期间研究成果](#_Toc686714805) 68

# 第1章 绪论

## 1.1 榆绿毛萤叶甲

榆绿毛萤叶甲(*Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire))又称榆蓝叶甲，榆毛胸萤叶甲，榆绿叶甲，榆绿金花虫，属于鞘翅目（*Coleoptera*），叶甲科（*Chrysomelidae；leaf*

*beetles*），萤叶甲亚科（*Galerucinae*）。在我国主要分布于辽宁、黑龙江、河南、安徽、河北、ft东、内蒙古、浙江和甘肃等地区。榆绿毛萤叶甲幼虫和成虫均以榆树叶为食，并且全部集中在树干与树叶上，榆绿毛萤叶甲分布广而且发生期长，集中发生时部分榆树严重枯黄甚至死亡。在化蛹时，常分泌能生长霉菌的液体，使榆树无法正常生长[1]。

**1.1.1榆绿毛萤叶甲简介**

榆绿毛萤叶甲的发育可分为卵、幼虫、蛹和成虫其四个阶段，属于完全变态型的发育：

（1）榆绿毛萤叶甲的卵

黄色，椭圆形，顶端尖细，长径1.1 mm，短径0.6 mm，颜色越深表明越接近孵

化。

（2）榆绿毛萤叶甲的的幼虫

末龄幼虫体长11 mm，长条形，深黄色，有一条较宽的黑纹于体背1~8节，体略

扁。每节可分为前后两个小节，第1~8腹节前小节、中后胸背面与后小节均有漆黑色毛瘤。

（3）榆绿毛萤叶甲的蛹

榆绿毛萤叶甲的蛹为椭圆形，体长7.5 mm左右，背面有黑褐色刚毛，黄色。

（4）榆绿毛萤叶甲的成虫

榆绿毛萤叶甲成虫体为黄褐色，长7~8 mm，身体呈现为椭圆形，翅鞘为黄绿色。头部较小，复眼为黑色，头顶处有一块黑色的斑纹呈现出钝三角形形状；前胸

背板各有一处黑色斑纹于两侧，在中央部分有处凹陷；鞘翅具有金属光泽，有软的小细毛并且略大于前胸背板，鞘翅两边有两条从顶部至尾部的隆起。体腹面有五节并与足呈现为褐色，雌虫大于雄虫并且腹部末端圆于雄虫[2]。

**1.1.2榆绿毛萤叶甲的生态习性**

榆绿毛萤叶甲的食性单一主要食物是榆树叶片，东北地区一年发生2代，以成虫在石块、屋檐、枯枝落叶层、墙缝和建筑物缝隙等隐蔽的场所越冬，第二年的4月上旬当天气的平均温度达到10℃左右即榆树发芽期时越冬代成虫开始活动；当气温达到15℃左右时大量榆绿毛萤叶甲爬上榆树啃食芽叶[3]。榆绿毛萤叶甲将会在4月下旬将卵生产在榆树树叶的背面，第1代的发生期开始于四月的中旬，4月中旬开始为5天至10天的卵期，5月的上旬开始为23天到27天的幼虫期，6月上旬成熟的幼虫开始10天到15天的蛹期，第一代榆绿毛萤叶甲为害高峰期开始于六月中旬成虫羽化。榆绿毛萤叶甲第2代的发生期为6月中旬到8月中旬，8月下旬开始为第二代为害高峰期，集中发生时部分榆树严重枯黄甚至死亡。成虫于9月中旬后寻找石块、枯枝落叶层以及建筑物缝隙准备越冬，九月下旬进入越冬的休眠期[4]。

榆绿毛萤叶甲成虫在产卵之前需要补充营养，在啃食榆树叶10到15天之后才会开始准备交尾。榆绿毛萤叶甲的卵多数产于榆树叶的背面，一般在数量在20粒左右，呈现左右对称的两排[5]。榆绿毛萤叶甲成虫的飞翔力较强，与大多数昆虫相比趋光性比较弱。当榆绿毛萤叶甲受到外界的刺激时，会立即收缩自己的足装死。

**1.1.3榆绿毛萤叶甲的危害**

榆绿毛萤叶甲幼虫和成虫均以榆树叶为食，并且全部集中在树干与树叶上，榆绿毛萤叶甲分布范围广而且发生期长，集中发生时部分榆树严重枯黄甚至死亡。化蛹时，常分泌能生长霉菌的液体，使榆树无法正常生长。由于榆绿毛萤叶甲对榆树为害严重，导致榆树无法正常生长甚至死亡，对城市环境的改善和城市的美化造成极其恶劣的影响。

**1.1.4榆绿毛萤叶甲在国内外的相关研究及防治**

现在主要有三种方法用来防治榆绿毛萤叶甲，分别是生物防治法、物理防治法和化学防治法。杨占ft等[6]发现40 %的氧化乐果对于越冬代成虫的防治效果要好于对

第一代幼虫期的防治。陈钦华等[7]发现Bt剂、灭幼脲-Ⅲ号、杀虫环和阿维菌素对榆绿毛萤叶甲的灭杀效果均达到95 %以上，但是作用缓慢。刘建军[8]发现呋喃丹对榆绿毛萤叶甲有着较强的灭杀效果，并且灭杀效果持续时间较长，但是毒性太大。问锦曾等[9]发现了一种孢子可以感染越冬成虫，减少第二代的发生，但是感染率只有10 %。黄春堂等[10]根据研究得出可以利用榆绿毛萤叶甲的天敌昆虫，如瓢虫、榆卵啮小蜂、螳螂、蠋蝽等。传统的物理防治法，过于消耗人力物力，而且对于集中发生的榆绿毛萤叶甲很难达到防治效果[11]。

## 1.2 大型真菌

**1.2.1大型真菌国内外的研究与开发进展**

大型真菌又被称作蘑菇或者是蕈菌，是可以形成肉质或者是胶质子实体的一类真菌。大型真菌包括两种，一种既食用菌而另外一种则是有毒真菌，也称作毒蕈，既我们口中说的毒蘑菇，随着人们对大型真菌的研究越来越深入，毒蕈也进入了我们的眼帘。

例如《毒蘑菇》一书是年中科院微生物研究所在1979出版的我国较早介绍毒蕈的书，还有《毒蘑菇的识别》一书是卯晓岚在1987年的时候编写的，在我们现在已知的一千余种毒蕈中此书介绍了180余种[12]。

杨永红等人于2000年对桃潜叶蛾（*Lyonetia clerkella L.*）进行毒杀的试验，发现毒伞（*Amanita phalloides*）、硫磺菌和稀褶黑菇（*Russula nigricans*）以及黄粉牛肝菌

（*Pulver oboletus rave*）四种有毒大型真菌对抑制其生长发有一定程度上的效果[13]。Buchel E还有Sterner O在1997年至1998年间成功从发光类脐菇( *Omphalotus olearius* (Dc.: Fr.) Sing.)这种大型真菌中提取出了脐菇亭A和脐菇亭B[14, 15]。卯晓岚等[16-18]验证了例如毒蝇口蘑（*Tricholoma muscarium*）、黄柄基鹅膏菌（*A.*

*flavipes*）、鳞柄白鹅膏菌（*A. virosa*）、冠状环柄菇(*Lepiota cristata (Bolt.: Fr.)*

*Quél.*）、粘盖牛肝菌（*Suillus* spp.）、残托斑鹅膏菌（*Amanita kwangsinsis* Wang）、土红鹅膏菌（*A. rufoferruginea*）、小托柄鹅膏菌（*A. farinosa*）等一些大型真菌能够灭杀一些昆虫。崔阳等[19]于2011年从5种大型真菌中筛选出对黄粉虫（*Tenebrio molitor* L.）毒杀效果最好的大型真菌同样是冠状环柄菇。Rumack等[20]于1998年发

现了79中对果蝇和夜蛾（*Noctuidae*）的生长有一定的抵制的效果。Sterner O等[21, 22]成功的从担子菌侧耳属和鸡油菌中提取出了对线虫具有灭杀效果的脂肪酸类化合物。李天飞等人在2000年采用侧耳科（*Pleurotaceae*）的侧耳（*Agaricochaete*）、鸡油菌科（*Cantharellaceae*）的鸡油菌（*Cantharellus cibarius*）、多孔菌 科

（*Polyporaceae*）的红栓菌( *Trametes* (*Pycnoporus*) *sanguineus*)、陀螺菌 科

（*Gomphaceae*）的紫陀螺菌（*Neobulgaria pura*）齿菌科（*Hydnaceae*）的分支猴头菌

（*Hericium ramosum*）、和陀螺菌（*Bulgaria inquillans*）、香杏丽菇（*Calocybe*

*gambosa*）、乳白齿耙菌（*Irpex lacteus*）、发光脐菇（*Omphalotus olearius*）、白蘑科（*Tricholoma mongolicum Imai*）的纯白桩菇（*Leucopaxillus albissimus*）对线虫进行毒杀试验，发现以上几种大型真菌均对线虫有不同程度的毒杀效果。Mier 等[23]于

1996年选出79种对果蝇的幼虫有生长抑制作用的大型真菌。从现有的资料来看，可以从大型真菌中提取出来的对昆虫有毒杀效果的提取物有核苷类化合物、非蛋白氨基酸及肽类化合物和酮类化合物等几种[24-27]. Mayer等[28-31]成功地将毒肽与鹅膏菌酸从鹅膏菌中提取了出来；将口蘑氨酸毒肽成功地从毒蝇口蘑（*Tricholoma muscarium* Kawamura）提取了出来，这些都是具有杀虫活性的物质。还有Kubo[32]则是在1986年从某种大型真菌中成功的分离出了核苷—一种具有杀虫活性的物质。还有Anke H[33]等在1995年从子囊菌中分离出衍生物属于芳香烃类化合物的萘类化合物对线虫有显著地毒杀的效果。

**1.2.2大型真菌杀虫剂的开发与利用**

我国地大物博，物种繁多，已知的大型真菌约有420种左右，而已经确定的有毒的大型真菌有30种左右，还有很多没有经过试验证明的有毒的大型真菌可以开发利用，而不是让其在自然环境下自然腐烂。大型真菌作为一种极具开发价值的杀虫剂，可以分为以下两种利用方式：

（1）为了提取所需的有效活性物质，直接对野外采集到的大型真菌的子实体进行繁殖培养，通过物理或者化学方法的改良培养出的菌丝体或者培养大型真菌过程中产生的次级代谢物进行。

（2）将大型真菌的有效活性成分利用人工诱导的方法将大型真菌的活性成分的化学式优化，或者添加辅助成分，能弥补活性成分非靶向与稳定性不强的问题，继而更好地开发利用。

## 1.3 植物源杀虫

**1.3.1植物源杀虫剂国内外的研究与开发进展**

植物源杀虫剂作为一种环境友好型杀虫剂，不会给自然环境带来如化学试剂一样的环境污染问题，因为它是提取植物中的有效活性成分对害虫进行灭杀。植物源杀虫剂不是近代才出现的新兴杀虫剂，在近代化工兴起之前最早时开发的杀虫剂都是植物源杀虫剂，如我国在几个世纪之前就已经知道艾蒿（*A. argyi*）可以使蚊蝇趋避。据国外报道，现在已经分析提取出的对害虫有抑制或灭杀作用的植物源活性成分大约有240种[34-38]。植物源杀虫剂的来源广泛易得，对环境无污染无残留，是研究环境友好型杀虫剂的开发热点。

赵善欢等[39]于1987年试验验证菜青虫（*Pieris rapae crucivora*）的生长会受到川楝素的抑制。冷欣夫等[40]于1996年得到会被苦皮藤根粉麻醉。徐汉虹等[41]验证了巴西拟步甲的繁殖会受到八角茴香（*Illicium verum*）精油的抑制。崔德君[42]发现小菜蛾

（*Plutella xylostella* (L.)）的产卵繁殖会受到万寿菊（*Tagetes erecta L.*）根的甲醇提取物的抑制。杨崇真等[43]在1996年发现蚜茧蜂（*Asaphes vulgaris Walker*）会被楝素杀虫乳油灭杀，但是瓢虫（*ladybird*）和食蚜蝇（*Scaeva pyrastri*）却不会受到影响。成卫宁[44]发现小麦吸浆虫的寄生蜂不会受到烟碱和川楝素的影响，但是小麦吸浆虫

（*Comtarinia tritci*(Kiby)）会被灭杀。

二十世纪初除虫菊酯类农药开始被美国人使用[45, 46]。最近几年，陆续分析提取出的对害虫有抑制或灭杀作用的植物源活性成分至今大约有240种：独角莲

（*Typhonium giganteum* Engl.）、天南星（*Arisaema heterophyllum* Blume）、犁头尖

（*Typhonium divaricatum*）和菖蒲（*Acorus calamus*）等）木兰科（*Magnoliaceae*）

（厚朴（*Magnolia officinalis* Rehd. et Wils）等）、豆科（*Leguminosae sp.*）（皂荚

（*Gleditsia sinensis Lam.* ）、小花棘豆（*Oxytropis glabra DC*. ）、豆薯（*P. erosus*

*Urban*）、二色棘豆（*Oxytropis bicolor*）、补骨脂（*Psoralea corylifolia Linn.*）、百脉

根（*Lotuscorniculatus*）、苦参（*Sophora flavescens*）、紫穗槐（*Amorpha fruticosa*

*Linn.*）和苦豆子（*Sophora alopecuroides L.*）等）、番荔枝科（*Annonaceae*）（圆滑番荔枝（*Annona glabra* Linn）和牛心番荔枝（*Annona reticulata* Linn.）等）、卫矛科

（*Celastraceae*）（南蛇藤（*Celastrus orbiculatus* Thunb*.* ）和苦皮藤（*Celastrus*

*angulatus*）等）、蓼科（*Polygonaceae*）（羊蹄（*Rumex japonicus* Houtt.）、大黄

（*Rheum palmatum* L．）、和辣蓼（*Polygonum flaccidum* Meissn.）等）、罂粟科

（*Papaveraceae*）（白屈菜（*Chelidonium majus*）和博落回(*Macleaya cordata* (Willd.)

R. Br.）等）、马鞭草科（*Verbenaceae*）（马鞭草（*Herba Verbenae* Officinalis）和黄荆（*Vitex negundo* Linn.）等）、紫苑科（*Asteraceae*）（松果菊（*coneflower*）和土木香（*Inula helenium*）等）、瑞香科（*Edgeworthia chrysantha* Lindl.）（芫花（*Daphne genkwa* Sieb. et Zucc.）、断肠草(*Gelsemium elegans* (Gardn. et Champ.) Benth)、和了哥王(*Wikstroemia indica* (Linn.) C. A. Mey)等)、杨柳科（*Salicaceae*）（垂柳

（*Salix babylonica*）等）、夹竹桃科（*Apocynaceae*）（羊角拗（*Strophanthus*

*divaricatus*）、夹竹桃（*Nerium indicum* Mill.）和长春花（*Catharanthus roseus* (L.)

G. Don）等）、石蒜科（*Amaryllidaceae*）（仙茅（*Curculigo orchioides* Gaertn.）和石蒜(*Lycoris radiata* (LHér.) Herb.)等)、伞形花科（*Umbelliferae*）(芹菜(*Oenanthe javanica* (Blume) DC)等)、茄科（*Solanaceae*）(樟柳(*Costus speciosus* (Koen.) SmithBanksea speciosa Koen)、天仙子（*Hyoscyamus niger* L）、曼陀罗（*Datura stramonium* Linn.）、三分三（*Anisodus acutangulus*）、龙葵（*Solanum nigrum* L.）、番茄（*Lycopersicon esculentum* Mill.）和烟草等）、大戟科（*Euphorbiaceae*）（苦楝

（*Melia azedarach* Linn.）、乌桕(*Sapium sebiferum* (L.) Roxb.)、印楝（*Azadirachta Indica* A. Juss）、香椿( *Toona sinensis* (A. Juss.) Roem.)、鹧鸪花( *Trichilia connaroides* (Wight et Arn.) Bentv)、猫眼草（*Euphorbia esula L.*）、米仔兰（*Aglaia odorata* Lour.）和大蓟（*Euphorbia pekinensis*）等）、胡桃科（*Juglandaceae*）（枫杨

（*Pterocarya stenoptera* C. DC. ）和胡桃（*Juglans regia*）等）、白缘蒲公英科

（*Ranunculaceae*）（白缘蒲公英（*Ranunculus*）、白头翁（*Anemone chinensis*）和腺毛翠雀（*Delphinium grandiflorum* L．var．glandulosum W．T．Wang）等）、百合科（*Liliaceae*）（藜芦（*Black False* Hellebore）等）、芸香科（*Rutaceae*）（黄皮

(*Clausena lansium* (Lour.) Skeels)、八角、桔梗(*Platycodon grandiflorus* (Jacq.) A.

DC. ）、芸香（*Ruta graveolens* L. ）等）、唇形科（*Labiatae*）（薄荷（*Mentha haplocalyx* Briq. ）、半枝莲（*Scutellaria barbata* D. Don）、日本筋骨草（*Ajuga nipponensis* Makino）、石蚕（*Teucrium japonicum* Willd. Spikeflower Germander）、九味一枝蒿（*Ajuga Bracteosa* Wall. ex Benth. ）和毛罗勒( *Ocmum basilicum* L. [Var](http://baike.soso.com/lemma/ShowInnerLink.htm?lemmaId=475972). Pilosum (Willd.) Benth.)等)、菊科（*Asteraceae*）（万寿菊、天名精（*Carpesium abrotanoides L.* ）、艾蒿（*Artemisia argyi* H. Lév. & Vaniot）、苍术(*Atractylodes lancea* (Thunb.) DC.)、莴苣（*Lactuca sativa*）和苍耳（*hium sibiricum* Patrin ex Widder X. strumarium L. ）等）、杜鹃花科（*Ericaceae* ）(闹羊 花

（*rhododendronmolle*）和毛杜鹃（*Rhododendron pulchrum*）等）等[47-49]。

在《中国有毒植物》介绍的1300种有毒植物中，大部分是有杀虫活性成分的植物[50]。10多年来47种具有杀虫活性的有毒植物在西北地区发被现[51]。徐汉虹[52-54]在植物源杀虫试验中分别深入研究了樟精油、齿叶黄皮精油、亮叶中南鱼藤的杀虫有效成分。1996年，王兴林等[55]在研棉铃虫（*Helicoverpa armigera* Hubner）受植物源杀虫剂影响，被抑制生长的试验中，证实10种植物有此活性成分。余向阳等[56]提取并分析了对沙地柏（*Sabina vulgaris*）的果实的有效杀虫成分。另外，也有不少报道是关于ft竹夹（*Nerium oleander*）、辣蓼（*Polygonum flaccidum Meissn.*）、大火草

（*Anemone tomentosa* (Maxim．) Pei)、黄地毛（*Digitalis purpureaL*）、紫背金盘

（*Ajuga nipponensis* Makino）和闹羊花等植物的有效杀虫成分[57-60]。

国外也深入的研究了植物源杀虫剂，美国还在计算机录入739种了有杀虫活性的植物的搜索系统。菲律宾在19世纪80年代末发现了具有杀虫活性的200种植物

[61, 62]。印楝、包括鱼藤酮、除虫聚酯和植物精油是四种被广泛在全世界范围内使用

的植物源杀虫剂[63-65]。植物源杀虫剂在我国主要是已经做了毒力测定和作用机理的唇形科、蓼科、卫矛科、楝科、菊科、豆科和柏科的几种植物精油[66-68]。

现在美国常用的植物源杀虫剂是在欧美研究比较成熟的杀虫剂，如：印楝素、尼古丁、柠檬酸烟碱、Sabadilla和天然除虫菊酯[69-72]。

**1.3.2****植物源杀虫剂的有效成分与作用方式及机理**

植物源杀虫剂作为一种有靶向性且低毒高效的环境友好型杀虫剂，有效成分可以分为以下几种：（1）生物碱类：可以使昆虫忌避或者抑制其生长发育。生物碱类主要有：小檗碱、三尖杉碱、毒芹碱和藜芦碱等等。（2）萜类。萜类化合物大多的存在形式是酯类衍生物，作用方式也不少，常见的有苦皮藤酯I、α-蒎烯、苦皮藤酯

II、β-蒎烯苦皮藤酯III、闹羊花毒、苦皮藤酯IV素等。（3）黄酮类。黄酮类化合物作为有效成分多以糖甙的形式存出现，如毛鱼藤酮。（4）精油类。精油类作为有效成分对于生物的毒杀作用机制比较常见的是忌避和毒杀。精油类植物杀虫剂常见的有：芸香精油、香矛油、菊蒿油、芫荽油、肉桂精油、檀香醇。（5）光化学毒素类。光化学毒素作为有效成分，若遇光则对昆虫的灭杀效果极具增强。比较常见的有：聚乙炔（茵陈二炔）、醌类（金丝桃素）、和香豆素类（桔梗毒素）、α-三噻吩等。（6）其他。除了上诉五类有效成分之外还有除虫菊酯、乙醚酰透骨草素、甾体类和糖苷类等[73]。

由于植物源杀虫剂的有效活性成分种类繁多，因此对昆虫的灭杀方式也不尽相同，可以分为以下几类：（1）拒食和忌避作用，如玉米象（*Sitophilus zeamais*）会忌避肉桂精油和齿叶黄皮精油。（2）抑制昆虫生长发育，如棉铃虫和玉米象卵的孵化这一周期的进行会被苦皮藤（*Celastrus angulatus*）破坏[74]。（3）毒杀作用，胃毒作用、触杀作、内吸毒作用、熏杀作用。（4）其他作用，如某些害虫的交配就会被某些植物源杀虫剂的有效成分所影响，达到减少害虫数量的目的。还有些则会对害虫产生麻痹作用[75]。

由于植物源杀虫剂的有效活性成分种类繁多，因此对昆虫的的作用机理也是不同的，下面是五种主要的作用机理：（1）利用植物蛋白酶抑制剂影响害虫的消化系统。（2）通过影响害虫的神经系统使害虫产生神经兴奋，使其最后痉挛而死。

（3）有些有效活性成分可以影响细胞间的离子交换，造成细胞死亡。（4）有些有效活性成分可以影响一些昆虫的呼吸作用，致其缺氧。（5）有些有效活性成分可以影响害虫激素的正常代谢。（6）其他抑制作用[76-79]。

## 1.4 大型真菌与植物源杀虫剂存在的问题

**1.4.1大型真菌杀虫剂研究过程中存在的困难**

（1）某些大型真菌扩繁培养比较困难。某些大型真菌在采集后遇到空气会迅速氧化，在扩繁培养时很难模拟出其生活换进阻止氧化[80]。

（2）开发和利用的不够充分。对作用机制与机理研究的不够充分，导致在大型真菌杀虫剂杀虫活性成分的筛选上存在困难。

（3）某些有效成分的稳定性不好。一些大型真菌杀虫剂的有效活性成分受到酸碱度、光照程度、温度、湿度的影响较大，很容易失去活性[81]。

**1.4.2植物源杀虫剂研究过程中存在的困难**

对植物源杀虫剂的研究一直在进行，在研究过程中可以把对植物源杀虫剂研究所存在的不足和困难分为以下两点原因：

（1）有效的活性成分含量比较少而且有效活性成分的稳定性不强，容易受到酸碱度、光照程度、温度、湿度的影响[82]。

（2）活性成分组成复杂，比较难以分离提纯，因此不容易判断有效的活性成分的作用机理。

## 1.5 本研究的目的意义

随着全世界对环境保护的重视，人们更加注重与自然环境的和谐健康发展。而化学农药的大量使用，会造成大量残留，不但会给土地和水源带来极大的污染，也会给人和动物带来极大的潜在威胁。因此由于生物源杀虫剂高效、低毒而且施药过后无残留，对人类及动物无害的特点，研究生物源杀虫剂便成为开发环境友好型杀虫剂的重要解决途径。但是植物源杀虫剂也有存在的问题，植物源杀虫剂有效的活性成分含量比较少而且有效活性成分的稳定性不强，容易受到酸碱度、光照程度、温度、湿度的影响，而且活性成分组成复杂，比较难以分离提纯，因此不容易判断有效的活性成分的作用机理。

榆绿毛萤叶甲幼虫和成虫均以榆树叶为食，并且全部集中在树干与树叶上，榆绿毛萤叶甲分布范围广而且发生期长，集中发生时榆树严重枯黄甚至死亡。化蛹时，常分泌能生长霉菌的液体，使榆树无法正常生长。由于榆绿毛萤叶甲对榆树为

害严重，导致榆树无法正常生长甚至死亡，对城市环境的改善和城市的美化造成极其恶劣的影响。而当榆绿毛萤叶甲在城市中集中发生时，由于城市口密集，因此不适合使用大量化学杀虫剂。

基于以上原因本文旨在筛选出一种对榆绿毛萤叶甲有灭杀效果的植物乙醇提取物，并且选出一种对榆绿毛萤叶甲有灭杀效果的大型真菌提取物，将两种提取物复配成一种复合型生物源杀虫剂，并将此复合生物源杀虫剂对榆绿毛萤叶甲进行毒杀试验。在达到对榆绿毛萤叶甲理想的灭杀效果的同时，对大型真菌与植物的复合生物提取物的光稳定性、热稳定性及安全性进行进一步的试验，为开发环境友好型生物源杀虫剂提供新的思路。

# 第2章 试验材料与方法

## 2.1 试验材料

**2.1.1供试昆虫及动物**

供试昆虫为榆绿毛萤叶甲成虫，采集于2014年、2015年6月至10月间辽宁省沈阳市市区内，体长约7 mm左右。成虫飞翔能力强，采集后带回实验室进行24 h的饥饿培养，之后进行急性毒性实验。

安全性检测试验的供试动物为斑马鱼，体长约在30 mm，在万柳塘花鸟鱼市场

购得。一组安全性检测试验为两只斑马鱼。经过十天的喂养之后对斑马鱼进行24 h

的饥饿培养，准备进行安全性检测试验。

**2.1.2供试大型真菌采集**

2014年、2015年的6月至10月在辽宁省内各地采集供试大型真菌，采集地点分别是：本溪洋湖沟、本溪湖里、沈阳东陵、本溪磨石峪、沈阳棋盘ft、沈阳大学、丹东宽甸、丹东五龙ft风景区、鞍ft千ft区等地。

**2.1.3供试植物采集**

2014年、2015年6月至10月在辽宁省内各地采集供试植物，采集地点分别是：本溪洋湖沟、本溪湖里、沈阳东陵、本溪磨石峪、沈阳棋盘ft、沈阳大学、丹东宽甸、丹东五龙ft风景区、鞍ft千ft区等地。

**2.1.4试验试剂**

维生素B1、乙酸乙酯、0.1 mol/L氢氧化钠、甲醇、琼脂、磷酸二氢钾、丙酮、葡萄糖、硫酸镁、马铃薯、浓HCl、蒸馏水、0.1 mol/L稀盐酸等、肉桂酸甲醇、95 %乙醇、NaOH、无水乙醇。

**2.1.5****试验设备和仪器**

超声波细胞粉碎机(JY99-2D)、立式压力蒸汽灭菌器(LDZX-75KBS)、TD电子天平、恒温培养振荡器(ZDP-150)、医用净化工作台(SW-CJ-2F（D）型）、电热恒温鼓风干燥箱(DHG9146A)、智能人工气候箱(PRX-205B)、旋转蒸发仪、箱式高速冷冻离心机(GL-161X)。

## 2.2 试验方法

**2.2.1榆绿毛萤叶甲的实验室饲养**

将采集到的榆绿毛萤叶甲成虫以5只一组放入到已完成高压灭菌的500 mL的空罐头瓶子中，空罐头瓶子中放入经确认没有喷洒过杀虫剂的新鲜的榆树叶片，并用纱布将瓶口封住。定时更换榆树叶片，大约12 h更换一次。将放有榆绿毛萤叶甲的罐头瓶子放置于人工气候培养箱中进行培养。将人工气候培养箱的培养条件设置为：一个光照与黑暗的周期为24 h，各12 h。设置光照时的培养条件为：湿度为

70 %，温度为27℃，光照强度为40；设置黑暗时的培养条件为：湿度为75 %，温度为22℃，光照强度为0。若榆绿毛萤叶甲成虫在培养期间产卵，将带有榆绿毛萤叶甲卵榆树叶片挑选出来，并将卵的个数进行统计，放到高温高压灭菌过的培养皿中，并在培养皿底部平铺上湿润的棉花，然后将培养皿放入人工气候培养箱中培养。

**2.2.2大型真菌的野外采集与鉴定**

（1）野外的采集工作

由于在野外的真菌生所需要的长环境的原因，大型真菌的采集工作最好是在炎热多雨的季节进行，主要在6~10月份，采集的最佳时刻是夏季和秋季的雨后2到3天的时间，采集前需准备好所用的工具和器材，如胶皮手套、野外简易接种箱、小铲、斜面培养基等。在采集大型真菌时，应先用小铲子铲去根部周围的泥土，使其根部松动，在挖取时从根部的下方进行。在对大型真菌进行分装时尽量将同种的放入一个采集袋中。如果采集到遇到空气极易氧化的真菌时，应在最短的时间内在野外将其接种到培养基中。在采集大型真菌的同时也要及时对所采集真菌及其周围的生长环境进行拍摄为鉴定大型真菌种类提供材料。

（2）野外采集大型真菌的鉴定

对野外所采集的大型真菌种类的鉴定方法主要有3种：一是观察真菌的形态特征。如子实体大小、子实体的气味是否特殊、菌盖的形态、菌柄、菌幕、菌环和菌肉，是否产生分泌物等。第二种鉴定方式是观察大型真菌的孢子印在显微镜下的形态特征来鉴定。第三种方法是对采集到的大型真菌进行DNA提取测序，再进行序列比对。

**2.2.3大型真菌固体菌管的制作与保藏**

首先在1000 mL中蒸馏水加入去皮的新鲜马铃薯200 g进行加热煮熟，煮熟后

滤除马铃薯残渣，取上清液用蒸馏水定容到1000 mL后加入20 g葡萄糖、0.1 g维生素B1、20 g琼脂、0.5 g硫酸镁、2 g磷酸氢二钾，培养基配置成功后进行试管分装，倒入约每个试管体积三分之一的量，分装好之后加上棉塞放入高压灭菌锅中进行101 kp\121℃的灭菌，灭菌20 min，灭菌结束后取出试管，与实验台成30度角进行放置。在室温环境下放置24 h，观察培养基是否灭菌成功。

接种前，先用蒸馏水对供试大型真菌进行冲洗。接种时在超净医用工作台上用镊子夹住脱脂棉沾取95 %的酒精对供试大型真菌进行5秒消毒后，另换接种用的镊子用酒精灯进行烘烤消毒，挑取少量菌盖内侧的菌肉置于培养基上。要注意的是，整个接种的全部过程要保证试酒精灯的火焰外焰上方不要离开试管管口。

将接种好的固体PDA培养基试管放入人工气候培养箱中进行暗培养。在暗培养三天到五天之后观察菌丝体的生长情况，将生长良好的固体菌管放入冰箱中进行低温保存，设置保存的温度为4℃。

**2.2.4大型真菌液体深层发酵有效成分提取**

液体培养基除了不用加入琼脂之外与固体PDA培养基的配置的所需试剂一样，过程基本相同。将酸碱度调节为7.0的配置好的液体PDA培养基分装入容量为250

mL的锥形瓶中，每瓶分装越三分之一的量，之后加塞进行20 min 121℃\101 kp的灭菌，灭菌后的液体PDA培养基于室温条件下放置24 h。确定无杂菌感染后接种供试真菌后，将供试真菌的固体菌管从冰箱中取出，在20摄氏度的暗环境下放置12 h。用酒精灯灼烧消毒的接种针从菌管中挑取约0.5 cm2的菌种掷入液体PDA培养基中。

将接种后的液体PDA培养基锥形瓶放入恒温振荡培养箱中进行120 r\min、26℃的摇瓶震荡培养，5至7天后观察结果。

取长势良好的菌丝球的液体深层培养产物，全部倒入烧杯中，对烧杯中的全部东西进行超声波破细胞破碎，将超声波细胞破碎仪的细胞破碎条件设置为时间间隔1 s/1 s、30 min、200 W、40℃。将经超声波细胞破碎仪破碎后的物质放入工作条件设置为5℃、1000 r\min的高速冷冻离心机中离心20 min。向灭菌后的培养皿中倒入离心后得到的上清液，将培养皿放入设置工作温度为40摄氏度的鼓风干燥箱中进行干燥，干燥至恒重所得的固体干燥物就是供试大型真菌液体深层发酵后含有效成分的提取物。

**2.2.5大型真菌深层发酵提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀试验**

用蒸馏水将大型真菌的深层发酵提取物配置成100 mg/mL的溶液，然后将溶液涂抹到用于喂养榆绿毛萤叶甲成虫的榆树叶片上，以30只榆绿毛萤叶甲为一组放入叶片，然后将榆绿毛萤叶甲放回人工气候培养箱中继续培养。触碰榆绿毛萤叶甲，榆绿毛萤叶甲在五分钟内虫体不动那么就视为榆绿毛萤叶甲死亡。记录在24 h时榆绿毛萤叶甲的死亡数，对榆绿毛萤叶甲的校正死亡率进行计算。在大型真菌深层发酵提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀试验中，选择大型真菌深层发酵提取物对榆绿毛萤叶甲灭杀的校正死亡率达到100 %的，对其有效成分进行稳定性试验。

**2.2.6植物采集、鉴定与乙醇提取物的提取**

在采集植物之前，通过翻阅资料了解辽宁省内的植物资源。在辽宁省内不同地区采集植物，植物采集时应注意尽量保证植物的完整，并在采集植物的时候拍摄植物生长环境和植物本身，为鉴定植物的种类提供材料。根据《中国药用植物志》、

《中国有毒植物》等资料对采集回来的植物进行鉴定，并且得到了在沈阳大学生命科学与工程学院齐淑艳教授的帮助。植物采集鉴定结果见表3.3。

鉴定采集回来的植物后留下植物有效部分作为实验试验所需，用蒸馏水冲洗除去杂物后进行干燥，将植物用鼓风干燥箱干燥至恒重后进行粉碎，用40目筛在过。按照1: 4的比例将得到的植物粉末与无水乙醇混匀后，放置于设制工作条件为25℃,120 r/min的恒温振荡培养箱中进行96 h的混合。用抽真空过滤泵将混合液进行2

次反复抽提，得到过滤液，为了得到浓缩液把这些过滤液置于50摄氏度的旋转蒸发仪中进行浓缩，之后用设置了参数温度为40摄氏度的鼓风干燥箱将得到的植物浓缩液干燥至恒重。

**2.2.7植物乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀试验**

在试验之前先用1 mL的无水乙醇将0.5 g，的植物乙醇提取物溶解后，用蒸馏水

配制成5 mg/mL的溶液。然后将溶液涂抹到用于喂养榆绿毛萤叶甲成虫的榆树叶片上，以30只榆绿毛萤叶甲为一组放入叶片，然后将榆绿毛萤叶甲放回人工气候培养箱中继续培养。触碰榆绿毛萤叶甲，榆绿毛萤叶甲在五分钟内虫体不动那么就视为榆绿毛萤叶甲死亡。记录在24 h时榆绿毛萤叶甲的死亡数，对榆绿毛萤叶甲的校正死亡率进行计算。在植物乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀试验中，选择植物乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲灭杀的校正死亡率达到100 %的，对其有效成分进行稳定性试验。

**2.2.8三种大型真菌提取物杀虫试验LC50的测定**

根据之前大型真菌提取物对试虫灭杀的筛选试验，筛选出冠状环柄菇提取物、毒红菇提取物和鳞柄白毒鹅膏菌提取物对榆绿毛萤叶甲进行各个时间的半数致死浓度的测定。设置这三种大型真菌深层发酵提取物浓度梯度分别是14 mg/mL、28

mg/mL、42 mg/mL、56 mg/mL、70 mg/mL、84 mg/mL和98 mg/mL，以30头榆绿毛萤叶甲为一组进行每种浓度梯度的大型真菌提取物的杀虫试验，以添加蒸馏水的一组作为对照组。记录下榆绿毛萤叶甲在三种大型真菌深层发酵提取物作用12 h、24

h、48 h、72 h的各自的死亡数，并将每组进行三次试验平行试验。计算各个浓度梯度下三种不同大型真菌提取物灭杀试虫的平均死亡数，得在到在各个浓度梯度下三种大型真菌提取物在12 h、24 h、48 h、72 h的杀虫效率见表3.5-3.7。利用SPSS对表3.5-3.7的数据进行数据分析，得到3种大型真菌提取物对榆绿毛萤叶甲灭杀试验的半数致死浓度和回归方程以及R2。

**2.2.9五种植物乙醇提取物提取物对榆绿毛萤叶甲灭杀试验LC50的测定**

在植物乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲灭杀的筛选试验中，白缘蒲公英（*Taraxacum platypecidum Diels*）、桔梗( *Platycodon grandiflorus* (Jacq.) A. DC.)、赤 麻

### (*B**oehmeria silvestrii* (Pamp.) W. T. Wang）、ft皂荚（*Gleditsia melanacantha Tang et*

*Wang*）和白头翁(*Pulsatilla chinensis* (bunge) Regel)种植物乙醇的提取物对榆绿毛萤叶甲进行不同时间下LC50的测定。设5种植物乙醇提取物浓度梯度为0.7 mg/mL、

## 1.4 mg/mL、2.1 mg/mL、2.8 mg/mL、3.5 mg/mL、4.2 mg/mL和4.9 mg/mL，以30头榆绿毛萤叶甲为一组进行每种浓度梯度的植物乙醇提取物的杀虫试验，以添加蒸馏水的一组作为对照组。记录下榆绿毛萤叶甲在五种植物乙醇取物作用12 h、24 h、48

h、72 h后的各自的死亡数，并将每组进行三次试验平行试验。计算各个浓度梯度下三种不同植物乙醇提取物灭杀试虫的平均死亡数，得在到在各个浓度梯度下五种植物乙醇提取物在12 h、24 h、48 h、72 h的杀虫效率见表3.9-3.13。利用SPSS对表3.9-3.13的数据进行数据分析，得到五种植物乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲灭杀试验的半数致死浓度和回归方程以及R2。

**2.2.10大型真菌和植物乙醇提取物的稳定性试验**

（1）植物乙醇提取物和大型真菌深层发酵提取物的光稳定性试验

将冠状环柄菇、毒红菇、鳞柄白毒鹅膏菌提取物放置于高温高压灭菌后的密闭透明锥形瓶中。设置光照箱的光照度为4500 Lx±500 Lx，将冠状环柄菇、毒红菇、鳞柄白毒鹅膏菌提取物放置其中十天后按照14 mg/mL、28 mg/mL、42 mg/mL、56

mg/mL、70 mg/mL、84 mg/mL和98 mg/mL的不同浓度梯度对30头榆绿毛萤叶甲进行24 h的急毒试验，每组试验重复三次，得在到在各个浓度梯度下三种大型真菌提取物的杀虫效率表3.15，利用SPSS对表3.15的数据进行数据分析，得到冠状环柄菇、毒红菇、鳞柄白毒鹅膏菌提取物对榆绿毛萤叶甲灭杀试验的半数致死浓度和回归方程以及R2。

将白缘蒲公英、桔梗、赤麻、ft皂荚、白头翁五种植物乙醇提取物放置于高温高压灭菌后的密闭透明锥形瓶中。设置光照箱的光照度为4500 Lx±500 Lx，将白缘蒲公英、桔梗、赤麻、ft皂荚、白头翁五种植物乙醇提取物放置其中十天后按照0.7

mg/mL、1.4 mg/mL、2.1 mg/mL、2.8 mg/mL、3.5 mg/mL、4.2 mg/mL和4.9 mg/mL不同浓度梯度对30头榆绿毛萤叶甲进行24 h的急毒试验，每组试验重复三次，得在到在各个浓度梯度下五种植物乙醇提取物的杀虫效率，见表3.17及表3.18，利用

SPS

S对数据进行数据分析，得到五种植物乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲灭杀试验的半数致死浓度和回归方程以及R2。

（2）植物乙醇提取物和大型真菌深层发酵提取物的热稳定性试验

将冠状环柄菇、毒红菇、鳞柄白毒鹅膏菌提取物放置于高温高压灭菌后的密闭透明锥形瓶中，将三种大型真菌的提取物放置于温度为60℃鼓风干燥箱中10 d，10

d后将经过鼓风干燥箱烘烤的三种大型真菌提取物按照14 mg/mL、28 mg/mL、42

mg/mL、56 mg/mL、70 mg/mL、84 mg/mL和98 mg/mL不同浓度梯度对30头榆绿毛萤叶甲进行24 h的急毒试验，每组试验重复三次，得在到在各个浓度梯度下三种大型真菌提取物的杀虫效率见表3.20，利用SPSS对表3.20的数据进行数据分析，得到三种大型真菌提取物对榆绿毛萤叶甲灭杀试验的半数致死浓度、回归方程及R2。

将冠状环柄菇、毒红菇、鳞柄白毒鹅膏菌提取物放置于高温高压灭菌后的密闭透明锥形瓶中，将五种植物乙醇的提取物放置于温度为60℃鼓风干燥箱中10 d，10

d后将经过鼓风干燥箱烘烤的五种植物乙醇提取物按照14 mg/mL、28 mg/mL、42

mg/mL、56 mg/mL、70 mg/mL、84 mg/mL和98 mg/mL不同浓度梯度对30头榆绿毛萤叶甲进行24 h的急毒试验，每组试验重复三次，得在到在各个浓度梯度下五种植物乙醇提取物的杀虫效率，见表3.22及表3.23，利用SPSS对数据进行数据分析，得到三种大型真菌提取物对榆绿毛萤叶甲灭杀试验的半数致死浓度、回归方程及

R2.

（3）大型真菌与植物乙醇提取物光、热稳定性试验后数据的对比分析

将三种种大型真菌提取物和五种植物乙醇提取进行物光、热稳定试验后的对榆绿毛萤叶甲灭杀试验所得的半数致死浓度和回归方程以及R2与进行稳定性试验前的数据对比，对比结果见表3.25及表3.26。

**2.2.11大型真菌与植物的复合生物提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀试验**

根据光、热稳定试验筛选得到所需的大型真菌提取物，与植物乙醇提取物。设

D1、D2为冠状环柄菇提取物、鳞柄白毒鹅膏菌提取物，设Z1、Z2、Z3为白缘蒲公英乙醇提取物、桔梗乙醇提取物、白头翁乙醇提取物。根据各自提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀试验的LC50来复合提取物中二者的质量比。设复合生物提取物D1Z1 为

I1、D1Z2为I2、D1Z3为I3、D2Z1为I4、D2Z2为I5、D2Z3为I6. 设置复合生物

提取物浓度梯度为9 mg/mL、18 mg/mL、27 mg/mL、36 mg/mL、45 mg/mL、54

mg/mL、63 mg/mL，对30头为一组的榆绿毛萤叶甲进行24 h的急毒试验，每组试验重复三次，得在到在各个浓度梯度下六种复合生物提取物的杀虫效率见表3.27，利用

SPSS对表3.27的数据进行数据分析，得到三种大型真菌提取物对榆绿毛萤叶甲灭杀试验的LC50和回归方程以及R2，并根据共毒系数公式算出共毒系数最大的大型真菌提取物与植物乙醇提取物的复合生物提取物，利用供试斑马鱼进行复合生物提取物的安全性检测试验。

**2.2.12安全性检测试验**

为了对筛选出来的大型真菌与植物复合生物提取物的安全性进行评估，需要利用供试斑马鱼对复合生物提取物进行安全性检测试验[83]。

首先需要通过预实验确定筛选出的复合生物提取物对供试动物致死的最小浓度。本试验的安全性检测预试验设置复合生物提取物浓度为1 mg/mL、2 mg/mL、3

mg/mL、4 mg/mL、5 mg/mL，每个浓度梯度投入十只斑马鱼。正式安全性检测试验所选取的复合生物提取物浓度区间，既预试验时斑马鱼死亡率0 %至100 %的浓度区间[84]。

正式安全性检测试验所选取的复合生物提取物浓度区间，既预试验时斑马鱼死亡率0 %至100 %的浓度区间[85]。将此区间分为5个浓度梯度，不同浓度梯度对10条为一组的斑马鱼进行12 h、24 h、48 h和72 h的急毒试验，每组试验重复三次，得在到在各个浓度梯度下供试动物的死亡率见表3.29，利用SPSS对表3.29的数据进行数据分析，得到不同浓度复合生物提取物对供试斑马鱼致死试验的LC50见表3.30。

**2.2.13野外杀虫试验**

2015年10月在沈阳市科普公园，选择15棵未被喷洒杀虫剂的被榆绿毛萤叶甲为害的榆树，标记五棵树为一组，采用树冠防治法对榆树进行施药。第1组，采用浓度为50 mg/mL的500 mL鳞柄白毒鹅膏菌和白头翁乙醇提取的复合生物提取物的水溶物进行施药。第2组，采用500 mL的1000倍液的氯氰菊酯进行施药[85]。第3组，作为空白对照组。野外杀虫试验连续进行三天，每隔一天施药一次。

## 2.3 数据处理

**2.3.1供试昆虫死亡率与校正死亡率的计算方法**

死亡率（%）=死亡虫数100%

供试虫数

校正死亡率（%）=处理死亡率-对照死亡率100%

1-对照死亡率

（2.1）

（2.2）

**2.3.2试验数据处理方法方法**

利用SPSS分析试验所得到的数据，通过分析得到毒力回归方程、半数致死浓度

（LC50）、相关系数和95 %置信区间等[45, 46]，并通过利用Excel制出实验数据的分析图。

**2.3.3共毒系数的计算方法**

孙云沛提出的co-toxicity index共毒系数计算方法[46]，如下：

共毒系数实际毒力指数100 =

*LC*50 *A*

*LC*50混实测

100

100

理论毒力指数

*B*

*LC*50 *A*  *P*

100*LC*50 *A* *P*

100

*LC*50 *A*

*A*

1

*LC*50 *B*

= *LC*50混实测

100

PA

LC50A

=

PB

LC50B

1

100

*PA* *PB* *LC*

*a* B50混实测



= 100

*LC*50混实测*PA* *LC*50混实测*PB* 

a b



= 100

*N*1 *N*2

*a* *b*

（2.3）

即：

共毒系数1

（

1

混剂的*LC*50

)*A*的含量( 1

）B的含量

100

（2.4）

单剂*A*的LC50单剂B的LC50

2.3.4**急毒试验安全性检测中安全质量浓度的计算方法**急毒试验安全性检测应用常规方法：

安全质量浓度=96hLC50×0.1[46] (2.5)

# 第3章 结果分析

## 3.1 榆绿毛萤叶甲的实验室饲养结果

根据前文所说的的榆绿毛萤叶的饲养方法，采集的榆绿毛萤叶成虫的生长良好并且非正常死亡率不到1 %。

## 3.2 大型真菌的采集与鉴定

2014年、2015年的6月至10月在辽宁省内各地采集供试大型真菌，采集地点分别是：本溪洋湖沟、本溪湖里、沈阳东陵、本溪磨石峪、沈阳棋盘ft、沈阳大学、丹东宽甸、丹东五龙ft风景区、鞍ft千ft区等地。野外采集的大型真菌的共41种，采集鉴定结果见表3.1。

表3.1 大型真菌采集鉴定结果

Table 3.1 Identification of large fungus

| 供试大型真菌 | 拉丁学名 | 采集地点 |
| --- | --- | --- |
| 白侧耳 | P. albellus (Pat.) Pegler | 沈阳东陵 |
| 小毒蝇鹅膏菌 | A. melleiceps Hongo | 丹东五龙ft |
| 鳞柄白毒鹅膏菌 | A.a virosa Lam. : Fr. | 丹东宽甸 |
| 洁小菇 | M. Pura (Pers.:Fr.)Kummer | 本溪湖里 |
| 杨树口蘑 | T. populinum J.Lange | 本溪磨石峪 |
| 端圆白蚁伞 | T. tyleranus Otieno | 鞍ft千ft |
| 浅白绿杯伞 | C. odera(Bull.:Fr.) Quel. | 丹东五龙ft |
| 大盖小皮伞 | M.s maximus Hongo | 沈阳东陵 |
| 琥珀小皮伞 | M. siccus (Schw.) Fr. | 本溪湖里 |
| 紫丁香蘑 | L. nuda (Bull.:Fr.) Cooke | 沈阳棋盘ft |
| 粉紫香蘑 | L. personata (Fr.:Fr.) Sing. | 丹东宽甸 |
| 冠状环柄菇 | L. cristata (Bolt. : Fr.) Quél. | 丹东宽甸 |
| 球基蘑菇 | A. abruptibulbus Peck | 丹东五龙ft |
| 浅灰白蘑菇 | A. devoniensis Orton | 鞍ft千ft |
| 白林地蘑菇 | A. silvicula(Vitt.)Satt. | 沈阳大学 |
| 毛头鬼伞 | C. comatus (Mull.:Fr) Gray | 本溪洋湖沟 |
| 钟形花褶伞 | P. campanulatus (L.) Fr. | 本溪磨石峪 |
| 荷叶丝膜菌 | C. salor Fr. | 沈阳东陵 |

（续表3.1）

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 供试大型真菌 | 拉丁学名 | 采集地点 |
| 洁灰红褶菌 | *R. mundula* (Lasch) Sing. | 沈阳棋盘ft |
| 桦条孢牛肝菌 | *B. betula* (Schw.) Gilb. | 鞍ft千ft |
| 松林小牛肝菌 | *B. pinetorum* (Chiu) Teng | 鞍ft千ft |
| 酸味粘盖牛肝菌 | *S. acidus* (Peck) Sing. | 本溪洋湖沟 |
| 毒红菇 | *R. emetica* (Schaeff.:Fr.) Pers.exS.F.Gray | 本溪洋湖沟 |
| 茶褐黄菇 | *R. sororia* Fr. | 鞍ft千ft |
| 白杨乳菇 | *L. controversus*(Pers.)Fr. | 丹东五龙ft |
| 米黄枝瑚菌 | *R. obtusissima* (Peck) Corner | 丹东五龙ft |
| 皱韧革菌 | *S. Purpureum* (Pers.) Fr. | 本溪洋湖沟 |
| 波缘多孔菌 | *P.s confluens* (Alb. et Schw.) Fr. | 丹东宽甸 |
| 云芝 | *C. versicolor*(L.:Fr.)Quél. | 本溪湖里 |
| 毛蜂窝菌 | *H. apiaria* (Pers.) Fr. | 沈阳棋盘ft |
| 蛇头菌 | *M. caninus* ( Pers.) Fr. | 鞍ft千ft |
| 红鬼笔 | *L. mokusin* (L. : Pers.) Fr. | 本溪湖里 |
| 毛嘴地星 | *G. fimbriatum* (Fr.)Fisch. | 沈阳东陵 |
| 褐皮马勃 | *L. fuseum* Bon. | 本溪洋湖沟 |
| 头状秃马勃 | *C. craniiformis* (Schw.)Fr. | 本溪洋湖沟 |
| 金黄硬皮马勃 | *S. aurantium* (Vaill.) Pers. | 丹东五龙ft |
| 多根硬皮马勃 | *S. polyrhizum* Pers. | 沈阳东陵 |
| 九州虫草 | *C. kyushuensis* Kobayasi | 丹东五龙ft |
| 羊肚菌 | *M. esculenta* (L. ) Pers | 本溪磨石峪 |
| 小牛肝菌 | *B. paluste*r (peck) peck | 丹东宽甸 |
| 马鞍菌 | *H. elastica* Bull.:Fr. | 沈阳大学 |

## 3.3 大型真菌纯化培养与保藏

在经过2到3天的在固体斜面培养培养后，在培养基斜面上大型真菌组织的附近会有白毛长出，经过5到7天的生长，培养基斜面会布满菌丝体，大部分为淡黄色或白色，一部分真菌由于生长过程中会分泌色数，也会导致菌丝体出现其他颜色。大型真菌的菌丝体保藏在冰箱中时，基本停止生长。

## 3.4 大型真菌扩繁与有效成分提取结果

大型真菌在液体培养基中经过三天左右的摇床培养后，会有比较小的均匀圆滑的菌丝球出现在液体培养基中。由于菌丝球会不断分离出菌丝，因此经过5天左右的时间培养基中的菌丝球会不断增多而且变大。将生长好的液体培养基中的物质进行超声波破碎，对其进行低温高速离心后取上清液进行烘干，得到固体有效成分。

## 3.5 大型真菌提取物杀虫筛选试验结果

大型真菌提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀试验筛选结果见表3.2。

Table 3.2 Result of large fungus killingPyrrhalta aenescens(Fairmaire) experiment

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  |  | 榆绿毛萤叶甲 | 榆绿毛萤叶甲 24 |
| 供试大型真菌 | 拉丁学名 | 24 h 死亡率 | h 校正死亡率 |
|  |  | （%） | （%） |
| 白侧耳 | P. albellus (Pat.) Pegler | 76.3 | 74.8 |
| 小毒蝇鹅膏菌 | A. melleiceps Hongo | 100.0 | 100.0 |
| 鳞柄白毒鹅膏菌 | A.a virosa Lam. : Fr. | 7.3 | 3.0 |
| 洁小菇 | M. Pura (Pers.:Fr.)Kummer | 12 | 7.0 |
| 杨树口蘑 | T. populinum J.Lange | 16.3 | 13.6 |
| 端圆白蚁伞 | T. tyleranus Otieno | 10.8 | 6.9 |
| 浅白绿杯伞 | C. odera(Bull.:Fr.) Quel. | 43.3 | 36.7 |
| 大盖小皮伞 | M.s maximus Hongo | 18 | 15.4 |
| 琥珀小皮伞 | M. siccus (Schw.) Fr. | 16.3 | 13.6 |
| 紫丁香蘑 | L. nuda (Bull.:Fr.) Cooke | 23.3 | 20.7- |
| 粉紫香蘑 | L. personata (Fr.:Fr.) Sing. | 15.9 | 11.2 |
| 冠状环柄菇 | L. cristata (Bolt. : Fr.) Quél. | 0 | 3.4 |
| 球基蘑菇 | A. abruptibulbus Peck | 100 | 100 |
| 浅灰白蘑菇 | A. devoniensis Orton | 36.7 | 34.5 |
| 白林地蘑菇 | A. silvicula(Vitt.)Satt. | 33.3 | 31.1 |
| 毛头鬼伞 | C. comatus (Mull.:Fr) Gray | 0 | -3.40 |
| 钟形花褶伞 | P. campanulatus (L.) Fr. | 3.3 | 17.3 |
| 荷叶丝膜菌 | C. salor Fr. | 10 | 6.9 |
| 洁灰红褶菌 | R. mundula (Lasch) Sing. | 12.0 | 17.3 |
| 桦条孢牛肝菌 | B. betula (Schw.) Gilb. | 3.3 | 0 |
| 松林小牛肝菌 | B. pinetorum (Chiu) Teng | 6.7 | 3.5 |
| 酸味粘盖牛肝菌 | S. acidus (Peck) Sing. | 13.3 | 10.4 |
| 毒红菇 | R. emetica (Schaeff.:Fr.) Pers.exS.F.Gray | 100 | 100 |
| 茶褐黄菇 | R. sororia Fr. | 90 | 89.7 |
| 白杨乳菇 | L. controversus(Pers.)Fr. | 9.7 | 6.4 |
| 米黄枝瑚菌 | R. obtusissima (Peck) Corner | 46.7 | 44.3 |
| 皱韧革菌 | S. Purpureum (Pers.) Fr. | 0 | -3.4 |
| 波缘多孔菌 | P.s confluens (Alb. et Schw.) Fr. | 76.7 | 75.9 |
| 毛嘴地星 | G. fimbriatum (Fr.)Fisch. | 33.3 | 31.1 |
| 褐皮马勃 | L. fuseum Bon. | 23.3 | 20.7 |
| 头状秃马勃 | C. craniiformis (Schw.)Fr. | 26.7 | 24.2 |
| 金黄硬皮马勃 | S. aurantium (Vaill.) Pers. | 23.3 | 20.7 |

（续表3.2）

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 供试大型真菌 | 拉丁学名 | 榆绿毛萤叶甲  24h 死亡率 | 榆绿毛萤叶甲  24h 校正死亡率 |
|  |  | （%） | （%） |
| 多根硬皮马勃 | *S. polyrhizum* Pers. | 33.3 | 31.1 |
| 九州虫草 | *C. kyushuensis* Kobayasi | 13.3 | 10.4 |
| 羊肚菌 | *M. esculenta* (L. ) Pers | 23.3 | 20.7 |
| 小牛肝菌 | *B. paluste*r (peck) peck | 40 | 38 |
| 马鞍菌 | *H. elastica* Bull.:Fr. | 10 | 6.9 |

根据表3.2可知41种大型真菌提取物中大部分对榆绿毛萤叶甲有灭杀的作用，有8种大型真菌提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀效率在70 %以上，有5种大型真菌提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀效率在90 %以上，有3种大型真菌提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀效率达到100 %。



图3.1 8种对榆绿毛萤叶甲灭杀试验中校正死亡率达到70%的大型真菌提取物Fig.3.1 The 8 extracting of the large fungus of the death rate above 70% for *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire)

## 3.6 植物采集、鉴定与有效成分提取结果

（1）植物采集、鉴定结果。2014年、2015的年6月至10月在辽宁省内各地采集供试植物，采集地点分别是：本溪洋湖沟、本溪湖里、沈阳东陵、本溪磨石峪、沈阳棋盘ft、沈阳大学、丹东宽甸、丹东五龙ft风景区等地。通过鉴定共有46种野外采集到的植物见表3.3。

表3.3 植物的采集鉴定结果

Table 3.3 Identification of the collected plants

| 供试植物 | 学名 | 采集部分 | 采集地点 |
| --- | --- | --- | --- |
| 白皮松 | P. bungeana Zucc. | 叶 | 沈阳东陵 |
| 图柏 | S. chinensis (L.)Atoine | 叶 | 丹东五龙ft |
| 银线草 | C. japonicus Sieb. | 全草 | 丹东宽甸 |
| 垂柳 | S. babylonica L. | 茎叶 | 本溪湖里 |
| 萹蓄 | P. aviculare L. | 全草 | 本溪磨石峪 |
| 酸模叶蓼 | P. lapathifolium L. | 全草 | 鞍ft千ft |
| 巴天酸模 | R.x patientia L. | 根茎、根 | 丹东五龙ft |
| 藜 | C. album Linn. | 根茎 | 沈阳东陵 |
| 无翅猪毛菜 | S. komarovii Lljin | 根 | 本溪湖里 |
| 芍药 | P. lactiflora Pall. | 根茎、根 | 沈阳棋盘ft |
| 北乌头 | A. kusnezoffii Reicgb | 花 | 丹东宽甸 |
| 白头翁 | P. chinensis (bunge)Regel | 果荚 | 丹东宽甸 |
| 蝙蝠葛 | M. dauricum DC. | 全草 | 丹东五龙ft |
| 白屈菜 | C. majus L. | 全草 | 鞍ft千ft |
| 三裂绣线菊 | S. trilobata L. | 叶 | 沈阳大学 |
| 龙芽草 | A. pilosa Ledeb | 全草 | 本溪洋湖沟 |
| 翻白草 | P. discolor Bunge | 果实 | 本溪磨石峪 |
| 杏 | P. armeniaca L. | 叶 | 沈阳东陵 |
| ft皂荚 | G. melanacantha Tang et Wang | 叶 | 沈阳棋盘ft |
| 洋槐 | R. pseudoacacia L. | 叶 | 鞍ft千ft |
| 大野豌豆 | V. gigantea Bunge | 种子 | 鞍ft千ft |
| 蓖麻 | R. communis L. | 地上全草 | 本溪洋湖沟 |
| 漆树 | R. verniciflua Stokes | 叶 | 本溪洋湖沟 |
| ft茴香 | C. sinensis Dunn | 地上全草 | 鞍ft千ft |
| 紫丁香 | S. oblata Lindl. | 叶 | 本溪洋湖沟 |
| 打碗花 | C. hederacea Wall. | 全草 | 丹东五龙ft |
| 裂叶牵牛 | P. nil(L.)Choisy | 全草 | 丹东五龙ft |
| 水苏 | S. japonica Miq | 种仁 | 本溪洋湖沟 |
| 地瓜苗儿 | L. Iucidus Turcz. | 种仁 | 丹东宽甸 |
| 薄荷 | M. canadensis L. | 叶 | 本溪湖里 |
| 龙葵 | S. nigrum | 种仁 | 沈阳棋盘ft |
| 桔梗 | P. grandiflorus(Jacq.)A.DC. | 花序 | 鞍ft千ft |
| 大花旋复花 | I. britanica L. | 果荚 | 本溪湖里 |
| 鬼针草 | B. bipinnata L. | 枝 果荚 | 沈阳东陵 |
| 菊蒿 | T. vulgare L. | 叶 | 本溪洋湖沟 |
| 黄花蒿 | A. annua L. | 全草 | 本溪洋湖沟 |
| 砂蓝刺头 | E. gmelinii Turcz. | 全草 | 丹东五龙ft |
| 牛蒡 | A. lappa L. | 全草 | 沈阳棋盘ft |
| 白缘蒲公英 | T. platypecidum Diels | 全草 | 丹东宽甸 |
| 母菊 | M. recutita | 茎 花 | 本溪洋湖沟 |

（续表3.3）

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 供试植物 | 学名 | 采集部分 | 采集地点 |
| 水烛 | *T. angustifolia* L. | 叶 | 本溪洋湖沟 |
| 鸭跖草 | *C. communis L.* | 根 | 丹东五龙ft |
| 赤麻 | *B. silvestrii* (Pamp.) W. T. Wang) | 全株 | 沈阳东陵 |
| 辣椒 | *T. vulgare* L. | 果实 | 丹东五龙ft |
| 小黄花菜 | *H. minor* Mill. | 果实 | 本溪磨石峪 |
| 薤白 | *A.macrostemon* Bunge | 根茎 | 沈阳大学 |

（2）提取植物乙醇提取物的结果。通过2.2.6所述的方法得到呈现固体膏状的植物乙醇提取物。

## 3.7 植物乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲灭杀试验结果

对榆绿毛萤叶甲进行46种植物乙醇提取物的灭杀试验，计算24小时植物乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲的校正死亡率。

表3.4 植物乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲灭杀选试验结果

Table 3.4 The result of the plant extracting compounds kiling*Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire)

供试植物学名采集部分试虫24 h校正

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | | | 死亡率（%） |
| 白皮松 | *P. bungeana* Zucc. | 叶 | 63.3 |
| 图柏 | *S. chinensis* (L.)Atoine | 叶 | 30 |
| 银线草 | *C. japonicus* Sieb. | 全草 | 86.7 |
| 垂柳 | *S. babylonica* L. | 茎叶 | 30 |
| 萹蓄 | *P. aviculare* L. | 全草 | 90 |
| 酸模叶蓼 | *P. lapathifolium* L. | 全草 | 46.7 |
| 巴天酸模 | *R.x patientia* L. | 根茎、根 | 60 |
| 藜 | *C. album* Linn. | 根茎 | 70 |
| 无翅猪毛菜 | *S. komarovii* Lljin | 根 | 100 |
| 芍药 | *P. lactiflora* Pall. | 根茎、根 | 96.7 |
| 北乌头 | *A. kusnezoffii* Reicgb | 花 | 30 |
| 白头翁 | *P. chinensis* (bunge)Regel | 果荚 | 100 |
| 蝙蝠葛 | *M. dauricum* DC. | 全草 | 73.3 |
| 白屈菜 | *C. majus* L. | 全草 | 66.7 |
| 三裂绣线菊 | *S. trilobata* L. | 叶 | 30 |
| 龙芽草 | *A. pilosa* Ledeb | 全草 | 76.7 |
| 翻白草 | *P. discolor* Bunge | 果实 | 30 |
| 杏 | *P. armeniaca* L. | 叶 | 76.7 |
| ft皂荚 | *G. melanacantha* Tang et Wang | 叶 | 73.3 |
| 洋槐 | *R. pseudoacacia* L. | 叶 | 86.7 |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  |  |  | 死亡率（%） |
| 大野豌豆 | *V. gigantea* Bunge | 种子 | 83.3 |
| 蓖麻 | *R. communis* L. | 地上全草 | 30 |
| 漆树 | *R. verniciflua* Stokes | 叶 | 76.7 |
| ft茴香 | *C. sinensis* Dunn | 地上全草 | 56.7 |
| 紫丁香 | *S. oblata* Lindl. | 叶 | 13.3 |
| 打碗花 | *C. hederacea* Wall. | 全草 | 10 |
| 裂叶牵牛 | *P. nil*(L.)Choisy | 全草 | 20 |
| 水苏 | *S. japonica* Miq | 种仁 | 56.7 |
| 地瓜苗儿 | *L. Iucidus* Turcz. | 种仁 | 53.3 |
| 薄荷 | *M. canadensis* L. | 叶 | 60 |
| 龙葵 | *S. nigrum* | 种仁 | 43.3 |
| 桔梗 | *P. grandiflorus*(Jacq.)A.DC. | 花序 | 76.7 |
| 大花旋复花 | *I. britanica* L. | 果荚 | 30 |
| 鬼针草 | *B. bipinnata* L. | 枝 果荚 | 93.3 |
| 菊蒿 | *T. vulgare* L. | 叶 | 40 |
| 黄花蒿 | *A. annua* L. | 全草 | 30 |
| 砂蓝刺头 | *E. gmelinii* Turcz. | 全草 | 76.7 |
| 牛蒡 | *A. lappa* L. | 全草 | 80 |
| 白缘蒲公英 | *T. platypecidum* Diels | 全草 | 83.3 |
| 母菊 | *M. recutita* | 茎 花 | 63.3 |
| 水烛 | *T. angustifolia* L. | 叶 | 90 |
| 鸭跖草 | *C. communis L.* | 根 | 100 |
| 赤麻 | *B. silvestrii* (Pamp.) W. T. Wang) | 全株 | 30 |
| 辣椒 | *T. vulgare* L. | 果实 | 26.7 |
| 小黄花菜 | *H. minor* Mill. | 果实 | 36.7 |
| 薤白 | *A.macrostemon* Bunge | 根茎 | 100 |

（续表3.4）

供试植物学名采集部分试虫24 h校正

根据表3.4可知46种植物乙醇提取物中大部分对榆绿毛萤叶甲有灭杀的作用，有13种植物乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀效率在80 %以上，有8种植物乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀效率在90 %以上。有5种大植物乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀效率达到100 %，分别为：白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚。

## 3.8 三种大型真菌深层发酵提取物对榆绿毛萤叶甲半数致死浓度的测定结果

**3.8.1三种大型真菌深层发酵提取物对榆绿毛萤叶甲灭杀结果**

通过2.2.8所诉的试验方法。设置浓度梯度分别为14 mg/mL、28 mg/mL、42

mg/mL、56 mg/mL、70 mg/mL、84 mg/mL和98 mg/mL的冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物对榆绿毛萤叶甲进行12 h、24 h、48 h、72 h的急毒实验。冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物物对榆绿毛萤叶甲灭杀的试验结果见表3.5-

3.7.

表3.5不同浓度梯度冠状环柄菇提取物对榆绿毛萤叶甲成虫12h、24h、48h、72h的毒杀效率Table3.5 The effect of the *Lepiota cristata* (Bolt.: Fr.) Quél.. s extracting compounds with different

concentration and time for kiling *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire)

浓度平均死亡数（头）校正死亡率（%）

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| （mg/mL） | 12 h | 24 h | 48 h | 72 h | 12 h | 24 h | 48 h | 72 h |
| 14.00 | 0.33 | 1.33 | 2.67 | 4.67 | 1.10 | 3.37 | 6.85 | 12.68 |
| 28.00 | 0.33 | 2.67 | 4.33 | 6.67 | 1.10 | 7.89 | 12.51 | 19.58 |
| 42.00 | 0.67 | 3.33 | 7.67 | 10.33 | 2.23 | 10.11 | 23.89 | 32.20 |
| 56.00 | 2.67 | 6.67 | 8.33 | 11.67 | 8.90 | 21.37 | 26.14 | 36.81 |
| 70.00 | 4.33 | 9.67 | 15.67 | 20.33 | 14.43 | 31.48 | 51.16 | 66.67 |
| 84.00 | 8.00 | 15.33 | 24.33 | 30.00 | 26.67 | 50.56 | 80.67 | 100.00 |
| 98.00 | 17.33 | 30.00 | 30.00 | 30.00 | 57.77 | 100.00 | 100.00 | 100.00 |
| 空白对照组 | 0.00 | 0.33 | 0.67 | 1.00 |  |  |  |  |

表3.6不同浓度梯度毒红菇提取物对榆绿毛萤叶甲成虫12h、24h、48h、72h的毒杀效率Table3.6 The effect of the *Russula emetica* (Schaeff.: Fr.) Pers. exS. F. Gray extracting compounds

with different concentration and time for kiling *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire)

浓度平均死亡数（头）校正死亡率（%）

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| （mg/mL） | 12 h | 24 h | 48 h | 72 h | 12 h | 24 h | 48 h | 72 h |
| 14.00 | 0.33 | 1.33 | 2.33 | 4.33 | 1.10 | 3.37 | 4.62 | 9.36 |
| 28.00 | 1.67 | 3.33 | 4.33 | 7.33 | 5.57 | 10.11 | 11.51 | 19.95 |
| 42.00 | 2.33 | 3.33 | 6.33 | 10.67 | 6.33 | 10.11 | 18.41 | 31.74 |
| 56.00 | 3.67 | 6.33 | 10.33 | 14.33 | 7.77 | 20.22 | 32.20 | 44.67 |
| 70.00 | 4.33 | 6.67 | 10.67 | 18.67 | 14.43 | 21.37 | 33.37 | 59.99 |
| 84.00 | 14.33 | 19.33 | 26.33 | 30.00 | 47.77 | 64.04 | 87.35 | 100.00 |
| 98.00 | 25.33 | 30.00 | 30.00 | 30.00 | 84.43 | 100.00 | 100.00 | 100.00 |
| 空白对照组 | 0.00 | 0.33 | 1.00 | 1.67 |  |  |  |  |

表3.

7不同浓度梯度鳞柄白毒鹅膏菌提取物对榆绿毛萤叶甲成虫12h、24h、48h、72h的毒效率Table3.7 The effect of the *Amanita virosa Lam.: Fr.* extracting compounds with different

concentration and time for kiling *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire)

浓度平均死亡数（头）校正死亡率（%）

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| （mg/mL） | 12 h | 24 h | 48 h | 72 h | 12 h | 24 h | 48 h | 72 h |
| 14.00 | 0.00 | 0.67 | 1.00 | 1.67 | 0.00 | 2.23 | 1.16 | 0.00 |
| 28.00 | 0.00 | 1.00 | 3.33 | 5.67 | 0.00 | 3.33 | 9.10 | 14.09 |
| 42.00 | 1.33 | 4.33 | 7.67 | 12.33 | 4.43 | 14.43 | 23.89 | 37.61 |
| 56.00 | 4.67 | 11.33 | 17.67 | 22.00 | 15.57 | 37.77 | 57.98 | 71.75 |
| 70.00 | 10.33 | 19.33 | 29.33 | 30.00 | 34.43 | 64.43 | 97.72 | 100.00 |
| 84.00 | 17.67 | 29.67 | 30.00 | 30.00 | 58.90 | 98.90 | 100.00 | 100.00 |
| 98.00 | 27.67 | 30.00 | 30.00 | 30.00 | 92.23 | 100.00 | 100.00 | 100.00 |
| 空白对照组 | 0.00 | 0.00 | 0.67 | 1.67 |  |  |  |  |

根据表3.5-3.7可以看出在相同浓度梯度下试虫死亡数量随着冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物对试虫作用时间增长而增长。在相同时间范围内试虫死亡数量随着冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物浓度的增长而增长。在相同的条件下，冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物对试虫灭杀的死亡数不同，说明三种大型真菌提取物对榆绿毛萤叶甲的毒杀作用有差异。

**3.8.2三种大型真菌提取物对榆绿毛萤叶甲LC50的测定结果**

用SPSS17.0处理3.8.1中冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物对试虫灭杀效率的数据，可以得到冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物杀虫的半数致死浓度、R2和回归方程见表3.8。

表3.8 三种大型真菌提取物对榆绿毛萤叶甲成虫的LC50的测定结果Table3.8 The effect of the three fungus extracting compounds on the result of LC50 of

*Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire)

时间冠状环柄菇毒红菇鳞柄白毒鹅膏菌

（h）回归方程R2 LC50回归方程R2 LC50回归方程R2 LC50

| 12 | y=0.006x-0.173 | 0.764 | 106.720 | y=0.009x-0.249 | 0.729 | 84.877 | y=0.011x-0.419 | 0.764 | 74.669 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 24 | y=0.009x-0.245 | 0.807 | 72.525 | y=0.010x-0.257 | 0.778 | 71.219 | y=0.014x-0.416 | 0.838 | 56.123 |
| 48 | y=0.011x-0.195 | 0.920 | 56.008 | y=0.012x-0.246 | 0.875 | 57.628 | y=0.014x-0.343 | 0.802 | 45.343 |

72 y=0.012x-0.128 0.929 44.089 y=0.012x-0.145 0.947 43.350 y=0.014x-0.264 0.803 39.115

通过表3.8可以看出冠状环柄菇提取物对榆绿毛萤叶甲12 h、24 h、48 h、72 h的LC50分别是：106.720 mg/mL、72.525 mg/mL、56.008 mg/mL、44.089 mg/mL. 毒红菇提取物对榆绿毛萤叶甲12 h、24 h、48 h、72 h的LC50分别是：84.877 mg/mL、

71.219 mg/mL、57.628 mg/mL、43.350 mg/mL. 鳞柄白毒鹅膏菌提取物对榆绿毛萤叶甲12 h、24 h、48 h、72 h的LC50分别是：74.669 mg/mL、56.123 mg/mL、45.343

mg/mL、39.115 mg/mL。大型真菌提取物杀虫的LC50随着时间的增大而减小。而且

LC50不同，说明冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物对于榆绿毛萤叶甲的杀虫效果不同。



图3.2 不同大型真菌提取物12 h半致死浓度（LC50）

Fig. 3.2 The result of LC50 of *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire) with the three fungus extracting compounds after 12 hours

由图3.2可以看出在12 h时，冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物杀虫试验的LC50由大到小排列依次为：冠状环柄菇、毒红菇、鳞柄白毒鹅膏菌。因此杀虫效果从高到低排列则为：鳞柄白毒鹅膏菌、毒红菇、冠状环柄菇。



图3.3 不同大型真菌提取物24 h半致死浓度（LC50）

Fig. 3.3 The result of LC50 of *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire) with the three fungus extracting compounds after 24 hours

由图3.3可以看出在24 h时，冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物杀虫试验的LC50由大到小排列依次为：冠状环柄菇、毒红菇、鳞柄白毒鹅膏菌。因此

杀虫效果从高到低排列则为：鳞柄白毒鹅膏菌、毒红菇、冠状环柄菇。



图3.4 不同大型真菌提取物48 h半致死浓度（LC50）

Fig. 3.4 The result of LC50 of *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire) with the three fungus extracting

Compounds after 48 hours

由图3.4可以看出在48 h时，可以看出在12 h时，冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物杀虫试验的LC50由大到小排列依次为：毒红菇、冠状环柄菇、鳞

柄白毒鹅膏菌。因此杀虫效果从高到低排列则为：鳞柄白毒鹅膏菌、冠状环柄菇、毒红菇。



图3.5 不同大型真菌提取物72 h半致死浓度（LC50）

Fig. 3.5 The result of LC50 of *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire) with the three fungus extracting compounds after 72 hours

由图3.5可以看出在72 h时，冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物杀虫试验的LC50由大到小排列依次为：冠状环柄菇、毒红菇、鳞柄白毒鹅膏菌。因此杀虫效果从高到低排列则为：鳞柄白毒鹅膏菌、毒红菇、冠状环柄菇。

通过比图3.2、3.3、3.4、3.5可以看出冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物的杀虫试验在12 h、24 h和72 h的LC50值从大到小为冠状环柄菇最大，毒红菇提取物次之，鳞柄白毒鹅膏菌提取物的LC50数值最小。在24 h到48 h内冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物的杀虫试验LC50从高到低排序为：毒红菇提取物、冠状环柄菇提取物、鳞柄白毒鹅膏菌提取物。对于冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物的杀虫LC50测定试验来说，LC50越小，大型真菌提取物对于榆绿毛萤叶甲杀灭能力越强。冠状环柄菇提取物与毒红菇提取物在榆绿毛萤叶甲的杀虫试验上，对榆绿毛萤叶甲的杀灭能力接近。只有在24 h到48 h时，冠状环柄菇提取

物杀虫的半致死浓度（LC50）小于毒红菇提取物。冠状环柄菇提取物在24 h到48 h时对榆绿毛萤叶甲的灭杀作用略强于毒红菇提取物，而在剩下的三个时间段，毒红菇提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀效果略强于冠状环柄菇提取物。内鳞柄白毒鹅膏菌

提取物对榆绿毛萤叶甲的半致死浓度（LC50）在所有时间段均小于冠状环柄菇和毒红菇提取物。因此对于榆绿毛萤叶甲的杀灭作用最好的是鳞柄白毒鹅膏菌提取物。

## 3.9 五种植物乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲灭杀试验LC50的测定结

果

**3.9.1五种植物乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲灭杀结果**

通过2.2.9中所诉的方法。设置浓度梯度为0.7 mg/mL、1.4 mg/mL、2.1 mg/mL、2.8 mg/mL、3.5 mg/mL、4.2 mg/mL和4.9mg/mL的白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲进行12 h、24 h、48 h、72 h的急毒实验。五种植物乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲灭杀的试验结果见表3.9-3.13。

表3.9不同浓度梯度白缘蒲公英乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲成虫12h、24h、48h、72h的毒杀效率Table3.9 The effect of the Ranunculus extracting compounds with different concentration and time for

kiling *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire)

浓度平均死亡数（头）校正死亡率（%）

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| （mg/mL） | 12 h | 24 h | 48 h | 72 h | 12 h | 24 h | 48 h | 72 h |
| 0.70 | 0.00 | 0.33 | 0.33 | 1.33 | 0.00 | 0.00 | 1.37 | 2.59 |
| 1.40 | 0.33 | 0.67 | 1.67 | 2.67 | 0.00 | 1.23 | 3.14 | 4.23 |
| 2.10 | 1.33 | 3.33 | 4.67 | 6.33 | 3.57 | 12.57 | 13.70 | 19.72 |
| 2.80 | 4.33 | 7.33 | 10.67 | 16.33 | 15.33 | 25.23 | 33.48 | 51.55 |
| 3.50 | 10.33 | 17.33 | 24.67 | 29.33 | 33.57 | 58.78 | 79.86 | 96.97 |
| 4.20 | 18.33 | 26.33 | 30.00 | 30.00 | 59.90 | 88.70 | 100.00 | 100.00 |
| 4.90 | 27.33 | 30.00 | 30.00 | 30.00 | 91.78 | 100.00 | 100.00 | 100.00 |
| 空白对照组 | 0.00 | 0.00 | 0.33 | 0.33 |  |  |  |  |

表3.10不同浓度桔梗乙醇提取物12h、24h、48h、72h对榆绿毛萤叶甲的毒杀效率Table3.10 The effect of the *Platycodon grandiflorus* (Jacq.) A. DC. extracting compounds with

different concentration and time for kiling *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire)

浓度平均死亡数（头）校正死亡率（%）

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| （mg/mL） | 12 h | 24 h | 48 h | 72 h | 12 h | 24 h | 48 h | 72 h |
| 0.70 | 0.00 | 0.00 | 0.33 | 0.33 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.63 |
| 1.40 | 0.33 | 0.33 | 1.33 | 2.33 | 2.90 | 2.57 | 5.23 | 5.14 |
| 2.10 | 2.33 | 4.33 | 6.33 | 13.67 | 8.23 | 15.33 | 22.57 | 43.67 |
| 2.80 | 7.67 | 10.33 | 15.67 | 21.33 | 24.10 | 35.67 | 51.04 | 69.81 |
| 3.50 | 9.67 | 16.33 | 24.33 | 28.67 | 31.43 | 55.66 | 80.43 | 94.96 |
| 4.20 | 17.33 | 23.67 | 28.67 | 30.00 | 58.77 | 76.59 | 94.00 | 100.00 |
| 4.90 | 26.67 | 30.00 | 30.00 | 30.00 | 87.90 | 100.00 | 100.00 | 100.00 |
| 空白对照组 | 0.00 | 0.33 | 0.00 | 0.33 |  |  |  |  |

表3.11 不同浓度赤麻乙醇提取物12h、24h、48h、72h对榆绿毛萤叶甲的毒杀效率

Table 3.11 The effect of the *Boehmeria silvestrii* (Pamp.) W. T. Wang extracting compounds with different

concentration and time for kiling *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire)

浓度平均死亡数（头）校正死亡率（%）

| （mg/mL） | 12 h | 24 h | 48 h | 72 h | 12 h | 24 h | 48 h | 72 h |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 0.70 | 0.67 | 1.67 | 2.33 | 2.67 | 1.77 | 2.89 | 1.27 | 2.04 |
| 1.40 | 3.67 | 5.67 | 8.33 | 9.67 | 11.23 | 15.25 | 23.19 | 27.13 |
| 2.10 | 8.67 | 11.67 | 13.33 | 17.33 | 27.10 | 36.73 | 43.97 | 54.88 |
| 2.80 | 12.33 | 14.33 | 19.33 | 26.33 | 42.10 | 47.35 | 63.05 | 85.11 |
| 3.50 | 17.67 | 22.33 | 26.67 | 28.33 | 57.10 | 72.95 | 83.67 | 95.46 |
| 4.20 | 21.67 | 25.33 | 29.67 | 30.00 | 71.77 | 82.72 | 97.71 | 100.00 |
| 4.90 | 26.33 | 30.00 | 30.00 | 30.00 | 88.23 | 100.00 | 100.00 | 100.00 |
| 空白对照组 | 0.33 | 0.67 | 1.33 | 1.67 |  |  |  |  |

表3.12 不同浓度ft皂荚乙醇提取物12h、24h、48h、72h对榆绿毛萤叶甲的毒杀率

Table 3.12 The effect of the*Gleditsia melanacantha Tang et Wang* extracting compounds with different

concentration and time for kiling *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire)

浓度平均死亡数（头）校正死亡率（%）

| （mg/mL） | 12 h | 24 h | 48 h | 72 h | 12 h | 24 h | 48 h | 72 h |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 0.70 | 0.00 | 0.67 | 1.33 | 1,67 | 0.00 | 0.00 | 3.07 | 3.46 |
| 1.40 | 0.33 | 1.33 | 3.67 | 6.33 | 2.90 | 4.48 | 9.42 | 20.62 |
| 2.10 | 2.33 | 4.67 | 7.67 | 12.33 | 8.23 | 13.52 | 22.16 | 40.21 |
| 2.80 | 4.67 | 6.33 | 13.67 | 18.67 | 14.57 | 21.81 | 43.71 | 60.91 |
| 3.50 | 7.33 | 13.67 | 20.67 | 24.33 | 25.43 | 43.37 | 67.30 | 81.57 |
| 4.20 | 1833 | 24.33 | 28.67 | 30.00 | 60.77 | 82.21 | 94.03 | 100.00 |
| 4.90 | 29.67 | 30.00 | 30.00 | 30.00 | 97.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 |
| 空白对照组 | 0.00 | 0.33 | 0.00 | 0.00 |  |  |  |  |

表3.13不同浓度白头翁乙醇提取物12h、24h、48h、72h对榆绿毛萤叶甲的毒杀率Table3.13 The effect of the *Anemone chinensis* extracting compounds with different concentration

and time for kiling *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire)

浓度平均死亡数（头）校正死亡率（%）

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| （mg/mL） | 12 h | 24 h | 48 h | 72 h | 12 h | 24 h | 48 h | 72 h |
| 0.70 | 1.33 | 2.33 | 4.33 | 6.33 | 2.77 | 4.46 | 12.90 | 17.82 |
| 1.40 | 3.33 | 6.33 | 9.33 | 12.33 | 12.77 | 20.54 | 29.66 | 38.64 |
| 2.10 | 8.67 | 12.33 | 13.33 | 16.33 | 27.23 | 38.81 | 43.83 | 52.77 |
| 2.80 | 13.33 | 17.67 | 20.33 | 27.33 | 43.57 | 56.63 | 67.70 | 91.95 |
| 3.50 | 16.33 | 21.67 | 26.33 | 30.00 | 55.23 | 70.54 | 88.78 | 100.00 |
| 4.20 | 23.67 | 28.33 | 30.00 | 30.00 | 77.57 | 95.44 | 100.00 | 100.00 |
| 4.90 | 30.00 | 30.00 | 30.00 | 30.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 |
| 空白对照组 | 0.00 | 0.33 | 1.00 | 1.00 |  |  |  |  |

根据表3.9-3.13可以看出在相同浓度梯度下试虫死亡数量随着白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物对试虫作用时间增长而增长。在相同时间范围内试虫死亡数量随着白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物浓度的增长而增长。在相同的条件下，白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀结果不同，说明白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀作用有差异。

**3.9.2五种植物乙醇提取物杀虫LC50的测定结果**

用SPSS17.0处理3.9.1中白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物对试虫灭杀效率的数据，可以得到白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物物杀虫的半数致死浓度、R2和回归方程。

表3.14 五种植物乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲灭杀半数致死浓度的测定结果

Table 3.14 The effect of the five plants extracting compounds on the result of LC50 of

*Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire)

|  | 12 h | 24 h | 48 h | 72 h |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 白缘蒲公 回归方程 | y=0.201x-0.328 | y=0.244x-0.348 | y=0.259x-0.332 | y=0.261x-0.277 |

英乙醇提取物

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 提取物 | R2 | 1.01 | 1.078 | 1.075 | 0.9191.020 |
|  | LC50 | 3.690 | 3.125 | 2.596 | 2.168 |

桔梗乙醇

R2 0.978 1.045 1.032 1.021

LC50 3.725 3.093 2.695 2.321

回归方程y=0.189x-0.276 y=0.2129x-0.301 y=0.250x-0.271 y=0.250x-0.184

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 提取物 | R2 | 1.108 | 1.105 | 1.082 | 0.998 |
|  | LC50 | 2.905 | 2.347 | 1.931 | 1.651 |

赤麻乙醇

回归方程y=0.196x-0.173 y=0.218x-0.162 y=0.228x-0.115 y=0.225x-0.033

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 醇提取物 | R2 | 0.933 | 0.843 | 1.081 | 1.087 |
|  | LC50 | 3.687 | 3.172 | 2.514 | 2.116 |
| 回归方程 y=0.213x-0.20 y=0.230x-0.128 y=0.211x-0.017 y=0.197x-0.132 | | | | | |
| 醇提取物 | R2 | 1.096 | 1.101 | 1.074 | 0.976 |
|  | LC50 | 2.728 | 2.156 | 1.789 | 1.417 |

ft皂荚乙

回归方程y=0.201x-0.320 y=0.191x-0.151 y=0.236x-0.246 y=0.230x-0.129

白头翁乙

通过表3.14可以看出白缘蒲公英乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲12 h、24 h、48

h、72 h的LC50分别是：3.725 mg/mL、3.093 mg/mL、2.695 mg/mL、2.321 mg/mL. 桔梗乙醇提取物提取物对榆绿毛萤叶甲12 h、24 h、48 h、72 h的LC50分别是：

3.690 mg/mL、3.125 mg/mL、2.596 mg/mL、2.168 mg/mL. 赤麻乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲12 h、24 h、48 h、72 h的LC50分别是：2.905 mg/mL、2.347 mg/mL、1.931

mg/mL、1.651 mg/mL. ft皂荚乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲12 h、24 h、48 h、72 h 的

LC50分别是：3.687 mg/mL、3.172 mg/mL、2.514 mg/mL、2.116 mg/mL. 白头翁乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲的LC50在12 h、24 h、48 h、72 h分别是：2.728 mg/mL、

2.156 mg/mL、1.789 mg/mL、1.417 mg/mL. 对于同一种植物乙醇提取物来说杀虫的

LC50随着时间的增大而减小。而且LC50不同，说明白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物对于榆绿毛萤叶甲的杀虫效果不同。



图3.6 不同植物乙醇提取物12 h半致死浓度（LC50）

Fig. 3.6 The result of LC50 of *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire) with the five plants extracting compounds after 12 hours

由图3.6可以看出在12 h时，白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物杀虫试验的LC50由大到小排列为：白缘蒲公英、桔梗、ft皂荚、赤麻、白头翁。因此杀虫效果从高到低排列则为：白头翁、赤麻、ft皂荚、桔梗、白缘蒲公英。



图3.7 不同植物乙醇提取物24 h半致死浓度（LC50）

Fig. 3.7 The result of LC50 of *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire) with the five plants extracting compounds after 24 hours

由图3.7可以看出在24 h时，白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物杀虫试验的LC50由大到小排列为：ft皂荚、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、白头翁。因此杀虫效果从高到低排列则为：白头翁、赤麻、桔梗、白缘蒲公英、ft皂荚。



图3.8 不同植物乙醇提取物48 h半致死浓度（LC50）

Fig. 3.8 The result of LC50 of *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire) with the five plants extracting compounds after 48 hours

由图3.8可以看出在48 h时，白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物杀虫试验的LC50由大到小排列为：白缘蒲公英、桔梗、ft皂荚、赤麻、白头翁。因此杀虫效果从高到低排列则为：白头翁、赤麻、ft皂荚、桔梗、白缘蒲公英 。



图3.9 不同植物乙醇提取物72 h半致死浓度（LC50）

Fig. 3.9 The result of LC50 of *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire) with the five plants extracting compounds after 72 hours

由图3.9可以看出在72 h时，白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物杀虫试验的LC50由大到小排列为：白缘蒲公英、桔梗、ft皂荚、赤麻、白头翁。因此杀虫效果从高到低排列则为：白头翁、赤麻、ft皂荚、桔梗、白缘蒲公英 。

对比图3.6、3.7、3.8、3.9可以看出在12 h、24 h和72 h内白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物的杀虫试验LC50从高到低排序为：白缘蒲公英、桔梗、ft皂荚、赤麻、白头翁。在24 h的时候白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物的杀虫试验LC50从高到低排序为：ft皂荚、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、白头翁。对于ft皂荚、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、白头翁提取物的杀虫LC50测定试验来说，LC50越小，植物提取物对于榆绿毛萤叶甲杀灭能力越强。白缘蒲公英、桔梗、ft皂荚的乙醇提取物在榆绿毛萤叶甲的杀虫试验上，对榆绿毛萤

叶甲的杀灭能力相当。而白头翁乙醇提取物在所有时间段对榆绿毛萤叶甲的半致死浓度（LC50）数值最小。因此白头翁乙醇提取物对于榆绿毛萤叶甲的杀灭作用最强。

## 3.10 光、热稳定性试验后灭杀试虫结果

**3.10.1三种大型真菌深层发酵提取物的光稳定性试验后灭杀试虫的结果**

通过2.2.10中的方法，在冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物经过光稳定试验之后对榆绿毛萤叶甲进行24 h的急毒实验见表3.15，得到光稳定试验后冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物24 h对榆绿毛萤叶甲的灭杀效率。

表3.15 三种大型真菌提取物在光稳定试验后24 h对榆绿毛萤叶甲的灭杀结果

Table 3.15 The effection of the 24 hours killing*Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire) by the three fungus

extracting compounds after light stabilizing experiment

冠状环柄菇毒红菇鳞柄白毒鹅膏菌

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| （mg/mL） 死亡数 | | 校正死亡 | 死亡数 | 校正死亡 | 死亡数 | 校正死亡 |
|  | （头） | 率（%） | （头） | 率（%） | （头） | 率（%） |
| 14.00 | 0.67 | 1.57 | 0.33 | 1.25 | 0.00 | 0.00 |
| 28.00 | 1.33 | 5.10 | 3.33 | 11.14 | 1.33 | 5.33 |
| 42.00 | 3.33 | 10.90 | 5.33 | 18.22 | 4.33 | 13.57 |
| 56.00 | 5.33 | 18.00 | 6.67 | 20.00 | 10.67 | 34.57 |
| 70.00 | 9.33 | 30.10 | 11.33 | 35.44 | 19.33 | 65.43 |
| 84.00 | 15.67 | 51.00 | 17.33 | 58.97 | 26.67 | 87.90 |
| 98.00 | 27.67 | 91.33 | 27.67 | 91.67 | 29.33 | 98.77 |
| 空白对照组 | 0.00 |  | 0.33 |  | 0.00 |  |

浓度

根据表3.15，发现榆绿毛萤叶甲的死率随着冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物浓度升高而升高。用SPSS处理表3.15中冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取对试虫灭杀效率的数据，可以得到冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物在光稳定试验后杀虫的半数致死浓度、R2和回归方程见表3.16。

表3.16光稳定试验后三种大型真菌提取物24 h对榆绿毛萤叶甲成虫LC50测定结果Table3.16 The result of the 24 hours LC50 of *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire) by the three

fungus extracting compounds after light stabilizing experiment

回归方程R2 LC50

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 冠状环柄菇提取物 | y=0.010x-0.259 | 0.735 | 75.649 |
| 毒红菇提取物 | y=0.010x-0.219 | 0.773 | 70.142 |
| 鳞柄白毒鹅膏菌提取物 | y=0.013x-0.307 | 0.846 | 59.032 |

通过表3.16可以看出冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物在光稳定性试验后对榆绿毛萤叶甲24 h的LC50分别是：75.649 mg/mL、70.142 mg/mL、59.032 mg/mL。从光稳定试验后冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物杀虫试验的LC50可以看出，冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物杀虫效果从大至小为鳞柄白毒鹅膏菌提取物最大，其次是毒红菇提取物，冠状环柄菇提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀效果最小。

**3.10.2五种植物乙醇提取物光稳定性试验后灭杀试虫的结果**

通过2.2.10的方法，在白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物经过光稳定试验之后对榆绿毛萤叶甲进行24 h的急毒实验见表3.17及表3.18，得到光稳定试验后白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物24 h对榆绿毛萤叶甲的灭杀效率。

表3.17白缘蒲公英、桔梗、赤麻乙醇提取物光稳定试验后24 h对榆绿毛萤叶甲的灭杀效率Table3.17 The effection of the 24 hours killing *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire) by the three plants

extracting compounds after light stabilizing experiment

白缘蒲公英桔梗赤麻

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| （mg/mL） 死亡数 | | 校正死亡 | 死亡数 | 校正死亡 | 死亡数 | 校正死亡 |
|  | （头） | 率（%） | （头） | 率（%） | （头） | 率（%） |
| 0.70 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 1.40 | 0.33 | 2.77 | 1.67 | 4.23 | 2.33 | 6.57 |
| 2.10 | 2.67 | 7.23 | 3.33 | 12.43 | 7.33 | 25.67 |
| 2.80 | 7.33 | 25.67 | 8.67 | 27.33 | 11.67 | 37.57 |
| 3.50 | 17.33 | 56.57 | 13.33 | 43.77 | 16.33 | 55.77 |
| 4.20 | 24.33 | 82.67 | 19.67 | 64.67 | 22.67 | 74.67 |
| 4.90 | 29.33 | 96.23 | 26.33 | 86.43 | 29.33 | 96.43 |
| 空白对照组 | 0.00 |  | 0.00 |  | 0.00 |  |

浓度

表3.18 ft皂荚、白头翁乙醇提取物光稳定试验后24 h对榆绿毛萤叶甲的灭杀效率Table3.18 The effection of the 24 hours killing *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire) by the other two

plants extracting compounds after light stabilizing experiment

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 浓度 |  | ft皂荚 |  | 白头翁 |
| （mg/mL） | 死亡数（头） | 校正死亡率（%） | 死亡数（头） | 校正死亡率（%） |
| 0.70 | 0.67 | 1.43 | 1.67 | 3.22 |
| 1.40 | 1.67 | 4.10 | 6.67 | 20.37 |
| 2.10 | 3.67 | 11.43 | 11.33 | 38.19 |
| 2.80 | 7.67 | 24.10 | 17.33 | 56.22 |
| 3.50 | 13.33 | 43.67 | 21.33 | 69.14 |
| 4.20 | 21.33 | 72.33 | 27.33 | 92.67 |
| 4.90 | 28.33 | 93.67 | 30.00 | 100.00 |
| 空白对照组 | 0.00 |  | 0.33 |  |

从表3.17、3.18中可以看出，榆绿毛萤叶甲的死率随着白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物浓度升高而升高。用SPSS处理表3.17、3.18中白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物对试虫灭杀效率的数据，可以得到白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物在光稳定试验后杀虫的半数致死浓度、R2和回归方程见表3.19。

表3.19光稳定试验后五种植物乙醇提取物24 h对榆绿毛萤叶甲成虫LC50测定结果Table3.19 The result of the 24 hours LC50 of *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire) by the five plants

extracting compounds after light stabilizing experiment

回归方程R2 LC50

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 白缘蒲公英乙醇提取物 | y=0.334x-0.436 | 0.821 | 3.229 |
| 桔梗的乙醇提取物 | y=0.295x-0.357 | 0.843 | 3.437 |
| 赤麻的乙醇提取物 | y=0.314x-0.338 | 0.874 | 2.963 |
| ft皂荚乙醇提取物 | y=0.309x-0.389 | 0.815 | 3.312 |
| 白头翁乙醇提取物 | y=0.319x-0.233 | 0.883 | 2.238 |

通过表3.19可以看出白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物在光稳定性试验后对榆绿毛萤叶甲24 h的LC50分别是：3.229 mg/mL、3.437

mg/mL、2.963 mg/mL、3.312 mg/mL、2.238 mg/mL。从光稳定试验后白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物杀虫试验的LC50可以看出，白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲灭杀效果从大到小为白头翁乙醇提取物最好，然后是赤麻乙醇提取物，然后是白缘蒲公英乙醇提取物，再然后是桔梗乙醇提取物，ft皂荚乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀效果最小。

**3.10.3****三种大型真菌深层发酵提取物的热稳定性试验后灭杀试虫的试结果**

通过2.2.10的方法得知，在冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物经过热稳定试验之后对榆绿毛萤叶甲进行24 h的急毒实验见表3.20，得到热稳定试验后冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物24 h的杀虫效率。

表3.20 三种大型真菌提取物热稳定试验后24 h对榆绿毛萤叶甲的灭杀效率

Table 3.20 The effection of the 24 hours killing*Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire) by the three fungus

extracting compounds after thermal stabilizing experiment

冠状环柄菇毒红菇鳞柄白毒鹅膏菌

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| （mg/mL） 死亡数 | | 校正死亡 | 死亡数 | 校正死亡 | 死亡数 | 校正死亡 |
|  | （头） | 率（%） | （头） | 率（%） | （头） | 率（%） |
| 14.00 | 0.67 | 0.00 | 0.67 | 1.43 | 0.67 | 1.33 |
| 28.00 | 1.33 | 4.00 | 1.67 | 4.10 | 1.33 | 3.10 |
| 42.00 | 3.33 | 9.52 | 3.33 | 12.10 | 4.33 | 15.23 |
| 56.00 | 5.33 | 18.37 | 6.67 | 21.23 | 9.33 | 32.57 |
| 70.00 | 6.33 | 21.00 | 9.33 | 30.43 | 18.33 | 60.90 |
| 84.00 | 15.3 | 49.44 | 16.67 | 54.10 | 25.33 | 85.00 |
| 98.00 | 29.67 | 97.94 | 24.67 | 81.43 | 29.33 | 98.90 |
| 空白对照组 | 0.33 |  | 0.00 |  | 0.00 |  |

浓度

从表3.20中可以看出，榆绿毛萤叶甲的死率随着冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物浓度升高而升高。用SPSS处理表3.20中冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取对试虫灭杀效率的数据，可以得到冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物在热稳定试验后杀虫的半数致死浓度、R2和回归方程见表3.21。

表3.21热稳定试验后3种大型真菌提取物24 h对榆绿毛萤叶甲成虫LC50测定结果Table3.21 The result of the 24 hours LC50 of *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire) by the three fungus

extracting compounds after thermal stabilizing experiment

回归方程R2 LC50

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 冠状环柄菇提取物 | y=0.008x-0.219 | 0.668 | 76.156 |
| 毒红菇提取物 | y=0.008x-0.230 | 0.788 | 77.218 |
| 鳞柄白毒鹅膏菌提取物 | y=0.011x-0.305 | 0.845 | 59.628 |

通过表3.21可以看出冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物在热稳定性试验后对榆绿毛萤叶甲24 h的LC50分别是：76.156 mg/mL、77.218 mg/mL、59.628

mg/mL。从热稳定试验后冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物杀虫试验的

LC50可以看出，冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物对榆绿毛萤叶甲的灭

杀效果从大到小为鳞柄白毒鹅膏菌提取物最大，毒红菇提取物次之，冠状环柄菇提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀效果最小。

**3.10.4五种植物乙醇提取物的热稳定性试验后灭杀试虫的结果**

通过2.2.10的方法，在白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物经过热稳定试验之后对榆绿毛萤叶甲进行24 h的急毒实验，见表3.22及表3.23，得到热稳定试验后白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物24 h对榆绿毛萤叶甲的灭杀效率。

表3.22白缘蒲公英、桔梗、赤麻乙醇提取物热稳定试验后24 h对榆绿毛萤叶甲的灭杀效率Table3.22 effection of the 24hours killing *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire) by the three plants

extracting compounds after thermal stabilizing experiment

白缘蒲公英桔梗赤麻

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| （mg/mL） 死亡数 | | 校正死亡 | 死亡数 | 校正死亡 | 死亡数 | 校正死亡 |
|  | （头） | 率（%） | （头） | 率（%） | （头） | 率（%） |
| 0.70 | 0.67 | 1.30 | 0.00 | 0.00 | 0.33 | 2.67 |
| 1.40 | 1.33 | 3.10 | 0.67 | 1.43 | 6.33 | 17.23 |
| 2.10 | 3.33 | 13.10 | 5.67 | 15.10 | 10.33 | 33.67 |
| 2.80 | 7.33 | 23.10 | 11.33 | 36.43 | 18.33 | 57.23 |
| 3.50 | 13.33 | 43.67 | 17.67 | 55.57 | 24.67 | 78.56 |
| 4.20 | 21.33 | 67.30 | 21.33 | 69.23 | 29.33 | 96.77 |
| 4.90 | 27.33 | 87.90 | 28.33 | 93.90 | 30.00 | 100.00 |
| 空白对照组 | 0.33 |  | 1.00 |  | 0.33 |  |

浓度

表3.23 ft皂荚和白头翁乙醇提取物热稳定试验后24 h对榆绿毛萤叶甲灭杀效率Table3.23 The effection of the 24 hours killing Pyrrhalta aenescens(Fairmaire) by the other two

plants extracting compounds after thermal stabilizing experiment

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| ft皂荚 | | 白头翁 | | |
| 浓度 死亡数（头） 校正死亡率 死亡数（头） 校正死亡率 | | | | |
| （mg/mL） |  | （%） |  | （%） |
| 0.70 | 0.00 | 0.00 | 1.67 | 3.19 |
| 1.40 | 1.67 | 4.10 | 6.33 | 21.33 |
| 2.10 | 3.67 | 11.43 | 12.33 | 39.19 |
| 2.80 | 6.33 | 22.90 | 17.33 | 56.55 |
| 3.50 | 11.33 | 38.33 | 20.33 | 68.01 |
| 4.20 | 20.33 | 66.00 | 27.67 | 91.55 |
| 4.90 | 27.33 | 90.67 | 30.00 | 100.00 |
| 空白对照组 | 0.00 |  | 0.33 |  |

从表3.22、3.23中可以看出，榆绿毛萤叶甲的死率随着白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物浓度升高而升高。用SPSS处理表3.22、3.23中白头

翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物对试虫灭杀效率的数据，可以得到白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物在热稳定试验后杀虫的半数致死浓度、R2和回归方程见表3.24。

表3.24热稳定试验后五种植物乙醇提取物24 h对榆绿毛萤叶甲成虫LC50测定结果Table3.24 The result of the 24 hours LC50 of *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire) by the five plants

extracting compounds after thermal stabilizing experiment

回归方程R2 LC50

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 白缘蒲公英乙醇提取物 | y=0.177x-0.373 | 0.818 | 3.377 |
| 桔梗乙醇提取物 | y=0.191x-0.376 | 0.859 | 3.112 |
| 赤麻乙醇提取物 | y=0.211x-0.276 | 0.872 | 2.241 |
| ft皂荚乙醇提取物 | y=0.178x-0.381 | 0.810 | 3.492 |
| 白头翁乙醇提取物 | y=0.194x-0.223 | 0.884 | 2.238 |

通过表3.24可以看出白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物在热稳定性试验后对榆绿毛萤叶甲24 h的LC50分别是：3.377 mg/mL、3.112

mg/mL、2.241 mg/mL、3.492 mg/mL、2.238 mg/mL。从热稳定试验后白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物杀虫试验的LC50可以看出，白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀效果从大到小为白头翁乙醇提取物最大，赤麻乙醇提取物次之，桔梗乙醇提取物再次之，然后是白缘蒲公英乙醇提取物，ft皂荚乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀效果最小。

**3.10.5光、热稳定性试验后提取物LC50的对比分析**

通过2.2.10的方法，对冠状环柄菇、毒红菇、鳞柄白毒鹅膏菌的提取物在稳定性试验前后对榆绿毛萤叶甲进行24 h灭杀试验的半数致死浓度进行对比。

表3.25 稳定性试验前后三种大型真菌提取物对榆绿毛萤叶甲的LC50对比

Table 3.25 The result of the LC50 of *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire) by the three fungus extracting

compounds before and after the stabilizing experiment

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | | 光稳定试  验后 | 热稳定试  验后 | 光稳定试  验后 | 热稳定试  验后 |
| 冠状环柄菇提取  物 | 72.525 | 75.649 | 76.156 | 3.124 | 3.631 |
| 毒红菇提取物 | 71.219 | 70.142 | 77.218 | -1.077 | 5.999 |
| 鳞柄白毒鹅膏菌  提取物 | 56.123 | 59.032 | 59.628 | 2.909 | 3.497 |

大型真菌提取物

稳定性试验前

LC50 (mg/mL)

稳定性试验后

LC50 (mg/mL)

稳定性试验前后LC50变化量（mg/mL）

从表3.25中可以看出冠状环柄菇、毒红菇、鳞柄白毒鹅膏菌的提取物在稳定性试验后，对榆绿毛萤叶甲的LC50都有所变化，除了毒红菇提取物光稳定试验后对榆绿毛萤叶甲的LC50有所降低外，冠状环柄菇、鳞柄白毒鹅膏菌的提取物在稳定性试验后，对榆绿毛萤叶甲的24 h灭杀实验的LC50都有所提高，说明无论是光和热都会对大型真菌的提取物的活性物质造成影响，使杀虫效果的下降。

通过2.2.10的方法，对植物乙醇提取物在光、热稳定性试验前后得到的24 h对榆绿毛萤叶甲的灭杀的半致死浓度进行对比见表3.26。

表3.26光、热稳定性试验前后五种植物乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲的LC50对比Table3.26 The result of the LC50 of *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire) by the five fungus extracting compounds before and after the stabilizing experiment

植物乙醇

稳定性试验前

LC50(mg/mL)

稳定性试验后

LC50(mg/mL)

稳定性试验前后

LC50变化量（mg/mL）

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 提取物 |  | 光稳定试验  后 | 热稳定试验  后 | 光稳定试验  后 | 热稳定试验  后 |
| 白缘蒲公英  提取物 | 3.093 | 3.229 | 3.377 | 0.136 | 0.284 |
| 桔梗提取物 | 3.125 | 3.437 | 3.112 | -0.312 | -0.013 |
| 赤麻提取物 | 2.347 | 2.963 | 2.241 | 0.616 | -0.106 |
| ft皂荚  提取物 | 3.172 | 3.312 | 3.492 | 0.140 | 0.320 |
| 白头翁  提取物 | 2.156 | 2.238 | 2.238 | 0.082 | 0.082 |

从表3.26中可以看出在稳定性试验后白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲灭杀的半致死浓度，除了桔梗和赤麻热稳定试验后对榆绿毛萤叶甲的半致死浓度有所降低外，其余的植物乙醇提取对榆绿毛萤叶甲的24 h灭杀实验的LC50都有所提高，说明植物乙醇提取物的活性物质比较受到光和热的破坏。

根据3.10.5的试验结果可以看出，白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物和冠状环柄菇、毒红菇、鳞柄白毒鹅膏菌的提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀效果受关照和温度影响较大。同时根据稳定性试验结果，选择大型真菌提取物中稳定性相对较好的冠状环柄菇提取物和鳞柄白毒鹅膏菌提取物，以及植物中的白头

翁乙醇提取物、白缘蒲公英乙醇提取物和桔梗乙醇提取物进行复合，灭杀榆绿毛萤叶甲。

## 3.11 大型真菌与植物的复合Th物提取物杀虫试验结果

进行大型真菌与植物源的复合生物提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀试验，计算试虫的平均死亡数与校正死亡率，得到大型真菌与植物源的复合生物提取物24 h对榆绿毛萤叶甲的灭杀效率见表3.27。

表3.27 复合生物提取物24 h杀虫效率

Table 3.27 The effection of the killing*Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire) by the mixed

Extracting bio-compounds

浓度平均死亡数量（头）校正死亡率（%）

| （mg/mL） | I1 | I 2 | I 3 | I 4 | I 5 | I 6 | I 1 | I 2 | I 3 | I 4 | I 5 | I 6 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 9.00 | 0.33 | 0.00 | 0.00 | 0.33 | 0.33 | 1.00 | 2.56 | 1.43 | 1.67 | 2.90 | 2.57 | 4.63 |
| 18.00 | 1.33 | 1.00 | 1.67 | 2.33 | 3.33 | 4.33 | 5.23 | 4.10 | 6.10 | 8.23 | 12.57 | 14.52 |
| 27.00 | 3.33 | 4.33 | 4.67 | 6.00 | 6.33 | 7.67 | 12.57 | 13.76 | 16.57 | 21.43 | 22.57 | 23.44 |
| 36.00 | 4.33 | 4.67 | 8.33 | 10.67 | 10.33 | 12.67 | 15.23 | 17.33 | 26.57 | 34.10 | 35.53 | 40.59 |
| 45.00 | 7.00 | 9.33 | 10.33 | 14.67 | 14.33 | 15.67 | 23.67 | 30.43 | 35.67 | 47.10 | 48.23 | 50.34 |
| 54.00 | 11.33 | 13.00 | 14.33 | 18.67 | 18.33 | 20.67 | 36.33 | 44.33 | 46.10 | 61.77 | 62.90 | 67.56 |
| 63.00 | 15.67 | 15.33 | 16.33 | 23.67 | 24.67 | 26.67 | 51.23 | 52.10 | 55.33 | 77.10 | 81.63 | 87.72 |

空白对照组0.00 0.33 0.00 0.00 0.33 0.33

通过表3.27可以看出，榆绿毛萤叶甲的死亡率随着复合生物提取物浓度的升高而升高。在相同条件下，各个复合物对榆绿毛萤叶甲的灭杀作用也是不同的。用

SPSS处理表3.27复合生物提取物对榆绿毛萤叶甲灭杀效率的数据，表由3.28，可以得到复合生物提取物提取物对榆绿毛萤叶甲的半数致死浓度、R2和共毒系数等。

表3.28 24 h复合生物提取物对榆绿毛萤叶甲的LC50和共毒系数结果Table3.28 The result of the LC50 of *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire) by the mixed extracting

bio-compounds and the co-toxicity coefficient

复合生物提取物LC50 R2回归方程共毒系数

| I 1 | 68.946 | 0.821 | y=0.007x-0.216 | 85.799 |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| I 2 | 62.213 | 0.857 | y=0.008x-0.235 | 95.089 |
| I 3 | 57.188 | 0.885 | y=0.008x-0.216 | 95.417 |
| I 4 | 43.573 | 0.880 | y=0.012x-0.260 | 110.125 |
| I 5 | 43.050 | 0.879 | y=0.012x-0.252 | 111.468 |
| I 6 | 38.216 | 0.873 | y=0.013x-0.244 | 117.460 |

由表3.28得到，榆绿毛萤叶甲24 h的LC50的不同是因为复合生物提取物配伍不同。由数据可以看出六种复合生物提取物中对榆绿毛萤叶甲灭杀效果最好的为I6，I

6的共毒系数值最大，并且根据孙云沛提出的co-toxicity index共毒系数计算方法中的理论，当共毒系数大于80时复合物具有相互促进作用。因此安全性试验选用I 6即鳞柄白毒鹅膏菌和白头翁复合生物提取物作为最佳组合。

## 3.12 复合Th物提取物的安全性评估试验结果

**3.12.1安全性评估预试验结果**

通过2.2.12的方法，将鳞柄白毒鹅膏菌提取物和白头翁乙醇提取物按照100: 1的质量比进行复配，进行安全性评估试验的预试验。通过预实验得到48小时鳞柄白毒鹅膏菌提取物和白头翁乙醇提取物的稀释液对斑马鱼死的安全值为0.5 mg/mL，致死

值为4.4 mg/mL。因此将鳞柄白毒鹅膏菌提取物和白头翁乙醇提取物的复合生物提取物的浓度设置为：0.8 mg/mL、1.6 mg/mL、2.4 mg/mL、3.2 mg/mL、和4.0 mg/mL进行安全性评估试验。

**3.12.2安全性评估试验正式试验结果**

将鳞柄白毒鹅膏菌和白头翁乙醇提取物的复合提取物对斑马鱼进行12 h、24 h、48 h、72 h的急性毒性试验。计算鳞柄白毒鹅膏菌和白头翁乙醇提取物的复合提取物对斑马鱼平均死亡数和校正死亡率见表3.29。

表3.29 复合生物提取物安全性试验杀虫效率

Table 3.29 The effection of the killing*Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire) by the mixed extracting

bio-compounds in security experiment

浓度平均死亡数量（条）校正死亡率（%）

| （mg/mL） | 12 h | 24 h | 48 h | 72 h | 12 h | 24 h | 48 h | 72 h |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 0.80 | 0.00 | 0.67 | 1.67 | 2.67 | 0.00 | 3.70 | 13.70 | 23.70 |
| 1.60 | 0.00 | 1.33 | 3.67 | 4.67 | 0.00 | 10.30 | 33.70 | 43.70 |
| 2.40 | 1.33 | 2.67 | 5.67 | 7.33 | 10.30 | 23.70 | 53.70 | 70.30 |
| 3.20 | 2.67 | 4.67 | 7.67 | 8.33 | 23.70 | 43.70 | 73.70 | 86.30 |
| 4.00 | 4.67 | 6.67 | 9.67 | 10.00 | 43.70 | 63.70 | 93.70 | 100.00 |
| 空白对照组 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |  |  |  |  |

从表3.29中可以看出，斑马鱼的死亡率随着鳞柄白毒鹅膏菌和白头翁乙醇提取物的复合提取物浓度升高而升高。用SPSS处理表3.29中鳞柄白毒鹅膏菌和白头翁乙

醇提取物的复合提取物对斑马鱼灭杀效率的数据，可以得到鳞柄白毒鹅膏菌和白头翁乙醇提取物的复合提取物对斑马鱼的半数致死浓度、R2和回归方程见表3.30。

表3.30 复合生物提取物安全性试验LC50的测定结果

Table 3.30 The result of the LC50 of *Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire) by the mixed extracting bio-compounds in security experiment

回归方程R2 LC50 95%置信区间

| 12 h | y=0.148x-0.166 | 0.787 | 4.096 | 3.332-15.171 |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 24 h | y=0.203x-0.162 | 0.854 | 3.341 | 2.457-7.292 |
| 48 h | y=0.361x-0.056 | 0.889 | 1.829 | 1.257-2.422 |
| 72 h | y-0.357x-0.045 | 0.874 | 1.441 | 0.875-1.923 |

从表3.30可以看出72 h时鳞柄白毒鹅膏菌和白头翁乙醇提取物的复合生物提取物对斑马鱼的LC50最小，换算后为1441 mg/L。根据毒性判断标准，鳞柄白毒鹅膏菌和白头翁复合生物提取物为低毒，因此可以用作为在城市对榆绿毛萤叶甲进行灭杀的杀虫剂。

## 3.13 复合Th物提取物在野外对榆绿毛萤叶甲的灭杀试验结果

在野外进行鳞柄白毒鹅膏菌和白头翁乙醇提取物的复合生物提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀试验，试验分为三组。第一试验组为白头翁和鳞柄白毒鹅膏菌提取物的复合生物提取物；第二试验组为1000倍液的氯氰菊酯；第三试验组为无菌水。对榆绿毛萤叶甲进行药剂喷洒，对各组造成榆绿毛萤叶甲死亡数进行记录。

表3.31 复合生物提取物在野外对榆绿毛萤叶甲灭杀试验结果

Table 3.31 The result of the killing*Pyrrhalta aenescens*(Fairmaire) by the mixed extracting

bio-compounds in outside experiment

榆绿毛萤叶甲死亡数（头）

第1天第2天第3 天

|  | 一 | 二 | 三 | 四 | 五 | 总数 | 一 | 二 | 三 | 四 | 五 | 总数 | 一 | 二 | 三 | 四 | 五 | 总数 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 第 1 组 | 4 | 5 | 4 | 5 | 8 | 26 | 5 | 6 | 6 | 6 | 10 | 33 | 10 | 8 | 11 | 10 | 13 | 52 |
| 第 2 组 | 12 | 12 | 16 | 11 | 13 | 64 | 13 | 13 | 12 | 16 | 15 | 69 | 14 | 18 | 11 | 13 | 16 | 72 |
| 第 3 组 | 0 | 1 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |

可以从表3.31得出结论，鳞柄白毒鹅膏菌提取物和白头翁乙醇提取物复配而成的复合生物提取物的毒性没有1000倍液的氯氰菊酯强。但是在也对榆绿毛萤叶甲的防治有一定效果。

# 第4章 结论和讨论

## 4.1 大型真菌提取物和植物乙醇提取物杀虫筛选试验结果

本试验对辽宁省不同地区采集到的41种大型真菌提取物中大部分对榆绿毛萤叶甲有灭杀的作用，有8种大型真菌提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀效率在70 %以上，有5种大型真菌提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀效率在90 %以上，其中冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌的发酵提取物24 h对榆绿毛萤叶甲的灭杀效率100 %。

本试验对辽宁省不同地区采集到的46种植物乙醇提取物中大部分对榆绿毛萤叶甲有灭杀的作用，有13种植物乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀效率在80 %以上，有8种植物乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀效率在90 %以上。有5种大植物乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀效率达到100 %。，分别为：白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚。

## 4.2 三种大型真菌提取物和五种植物乙醇提取物杀虫试验结果

冠状环柄菇提取物对榆绿毛萤叶甲12 h、24 h、48 h、72 h的LC50分别是：106.720 mg/mL、72.525 mg/mL、56.008 mg/mL、44.089 mg/mL. 毒红菇提取物对榆绿毛萤叶甲12 h、24 h、48 h、72 h的LC50分别是：84.877 mg/mL、71.219 mg/mL、57.628 mg/mL、43.350 mg/mL. 鳞柄白毒鹅膏菌提取物对榆绿毛萤叶甲12 h、24 h、

48 h、72 h的LC50分别是：74.669 mg/mL、56.123 mg/mL、45.343 mg/mL、39.115

mg/mL。大型真菌提取物杀虫的LC50随着时间的增大而减小。而且LC50不同，说明冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物对于榆绿毛萤叶甲的杀虫效果不同。冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物的杀虫试验LC50在12 h、24 h和72 h内由大到小为冠状环柄菇最大，毒红菇提取物次之，鳞柄白毒鹅膏菌提取物的LC50数值最小。在24 h到48 h内冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物的杀虫试验LC50从高到低排序为：毒红菇提取物、冠状环柄菇提取物、鳞柄白毒鹅膏菌提取物。对于冠状环柄菇、毒红菇和鳞柄白毒鹅膏菌提取物的杀虫LC50测定试验来说，

LC50越小，大型真菌提取物对于榆绿毛萤叶甲杀灭能力越强。冠状环柄菇提取物与

毒红菇提取物在榆绿毛萤叶甲的杀虫试验上，对榆绿毛萤叶甲的杀灭能力接近。只有在24 h到48 h时，冠状环柄菇提取物杀虫的半致死浓度（LC50）小于毒红菇提取

物。冠状环柄菇提取物在24 h到48 h时对榆绿毛萤叶甲的灭杀作用略强于毒红菇提取物，而在剩下的三个时间段，毒红菇提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀效果略强于冠状环柄菇提取物。内鳞柄白毒鹅膏菌提取物对榆绿毛萤叶甲的半致死浓度（LC50）在所有时间段均小于冠状环柄菇和毒红菇提取物。因此对于榆绿毛萤叶甲的杀灭作用最好的是鳞柄白毒鹅膏菌提取物。

在相同浓度梯度下试虫死亡数量随着白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物对试虫作用时间增长而增长。在相同时间范围内试虫死亡数量随着白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物浓度的增长而增长。在相同的条件下，白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀结果不同，说明白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀作用有差异。在12 h、24 h和72 h内白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物的杀虫试验LC50从高到低排序为：白缘蒲公英、桔梗、ft皂荚、赤麻、白头翁。在24 h的时候白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物的杀虫试验LC50从高到低排序为：ft皂荚、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、白头翁。对于ft皂荚、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、白头翁提取物的杀虫LC50测定试验来说，LC50越小，植物提取物对于榆绿毛萤叶甲杀灭能力越强。白缘蒲公英、桔梗、ft皂荚的乙醇提取物在榆绿毛萤叶甲的杀虫试验上，对榆绿毛萤叶甲的杀灭能力相当。而白头翁乙醇提取物在所有时间段对榆绿毛萤叶甲的半致死浓度（LC50）数值最小。因此白头翁乙醇提取物对于榆绿毛萤叶甲的杀灭作用最强。

## 4.3 稳定性试验结果

白头翁、白缘蒲公英、桔梗、赤麻、和ft皂荚乙醇提取物和冠状环柄菇、毒红菇、鳞柄白毒鹅膏菌的提取物对榆绿毛萤叶甲的灭杀效果受关照和温度影响较大。同时根据稳定性试验结果，选择大型真菌提取物中稳定性相对较好的冠状环柄菇提取物和鳞柄白毒鹅膏菌提取物，以及植物中的白头翁乙醇提取物、白缘蒲公英乙醇提取物和桔梗乙醇提取物进行复合，灭杀榆绿毛萤叶甲。

第4章结论和讨论

## 4.4 复合Th物提取物杀虫试验结果

将白头翁、白缘蒲公英、桔梗的乙醇提取物和鳞柄白毒鹅膏菌、冠状环柄菇的提取物按照质量比为1: 100的份额配伍，对榆绿毛萤叶甲成虫进行六种复合生物提取物的24 h的灭杀实验。试验得到除了冠状环柄菇和白缘蒲公英提取物的复合物外，其他五种复合生物提取物均呈现不同程度增效作用。其中增效作用最为明显的为鳞柄白毒鹅膏菌和白头翁复合生物提取物，其共毒系数达到117.460。

## 4.5 安全性试验结果

斑马鱼的死亡率随着鳞柄白毒鹅膏菌和白头翁乙醇提取物的复合提取物浓度升高而升高，72 h时鳞柄白毒鹅膏菌和白头翁乙醇提取物的复合生物提取物对斑马鱼的

LC50最小，换算后为1441 mg/L。根据毒性判断标准，复合生物提取物的毒性为低毒。

## 4.6 野外试验结果

鳞柄白毒鹅膏菌提取物和白头翁乙醇提取物复配而成的复合生物提取物的毒性没有1000倍液的氯氰菊酯强。但是在也对榆绿毛萤叶甲的防治有一定效果。

## 4.7 讨论

**4.7.1优点与创新点**

本实验从采集大型真菌，处理植物，饲养试虫入手，首先获得大型真菌提取物和植物乙醇提取物，并进行了12 h、24 h、48 h、72 h杀虫筛选试验，用筛选的冠状环柄菇、毒红菇、鳞柄白毒鹅膏菌提取物白缘蒲公英、桔梗、ft皂荚、赤麻、白头翁乙醇提取物对榆绿毛萤叶甲进行了急性毒性试验，记录不同阶段毒杀效果，确定最佳毒杀浓度。然后进行稳定性试验，即对大型真菌与植物复配后生物提取物进行杀虫试验，选取其中杀虫效果最佳的提取物组合实施安全性评估检验，并将其于野外环境下进行杀虫试验，通过一步一步的方法验证杀虫剂的效果，以期在保证杀虫效果的同时，将其毒性及对人体的伤害降到最低，实现开发环境友好型新型杀虫剂。

### 试验创新点：

试验方法的创新：试验在传统的榆绿毛萤叶甲防治方法的基础上，通过将植物与大型真菌复合提取物应用于树冠的方式，检验在自然环境条件下复合生物提取物的杀虫效果。

（2）试剂组分的创新：本试验中利用了冠状环柄菇、毒红菇、鳞柄白毒鹅膏菌

3种大型真菌提取物复合白缘蒲公英、桔梗、ft皂荚、赤麻、白头翁5种植物乙醇提取物组成杀虫物质，并检验其对榆绿毛萤叶甲的杀虫效果，同时利用冠状环柄菇和鳞柄白毒鹅膏菌的提取物与白缘蒲公英、桔梗和白头翁的乙醇提取物进行复配后，得到一种新型的复合型提取物，探究该种复合型提取物对榆绿毛萤叶甲的杀虫效果。

**4.7.2存在问题**

本次试验虽通过复合提取物对榆绿毛萤叶甲进行了全面的毒杀试验，但在一些试验干扰因素的影响仍未排除，在对杀虫剂稳定性检验的过程虫，由于试验温度的光照的干扰，使复合提取物的杀虫效果受影响。优势在于：由于复合提取物进行过安全性检验，在今后的使用中将更易于降解，是具有环境友好性的杀虫剂。劣势在于，在生产和投放市场的一系列过程中，对各个环节的具有严格的要求，储存运输等较为困难。本次试验检验了复合生物提取物对榆绿毛萤叶甲的毒杀效果，首先应注意到将不同种类的提取复合后是否会达到更佳好的效果，其次要注意其是否到达稳定要求。通过本次试验，发现虽然复合生物提取物在自然环境的条件下，会受到气候等条件的制约，杀虫效果低于化学杀虫剂，不能达到预期的效果，但也为未来杀虫剂的发展方向提供了有利的支持，对杀虫剂的有效性检验方法提供了依据。

参考文献

[1]冯文全，王树娟，赵建奇，等．榆绿毛萤叶甲生物学特性观察及防治方法[J]．内蒙古林 业，2015，(9)：14-15．

[2]王小丽，刘少辉．榆蓝叶甲和榆黄叶甲的生态习性与防治措施[J]．现代农村科技，2015，

17: 28．

[3]胡春海，刘晶晶，牛静．榆蓝叶甲的发生与防治[J]．现代农村科技，2012，(9)：34-34．

[4]付丽，徐连峰，刘景江，等．齐齐哈尔市园林景区榆蓝叶甲的发生特点与防治技术[J]．防 护林科技，2008, 2: 91-92．

[5]白锦涛，祁金ft，孔繁奇，等．灭幼脲防治榆蓝叶甲示范区试验报告[J]．ft东林业科技，

1989，02: 27-32．

[6]杨占ft，鲁和平，贾留身．防治榆蓝叶甲越冬代成试验研究技术报告[J]．河北林业科技，

1986，3: 24-27．

[7]陈钦华，姜平，于顺龙．榆树食叶害虫榆蓝叶甲综合防治技术初步研究[J]．防护林科技，

2006，4: 29-31．

[8]刘建新．呋喃丹及乐果防治榆蓝叶甲试验初报[J]．ft东林业科技，1986, 01: 58-60．

[9]简锦曾，黄虹．榆绿毛萤叶甲寄生微粒子虫新种记述（微孢子门：微粒子科）[J]．动物分类学 报，1995, 20(2)：129-132．

[10]黄春堂，牛春林，张福海，等．克拉玛依市甘草榆蓝叶甲的发生与防治[J]．新疆农业科 学，2007, 44(B06): 179-180．

[11]王海涛，张丽丽．佳木斯市榆紫叶甲的发生与防治[J]．现代化农业，2011, 3: 7-8．

[12]何嘉，张陶，李正跃，等．我国食用菌害虫研究现状[J]．中国食用菌，2005，24(1)：21- 24．

[13]杨永红．蘑菇和毒蕈子实体的杀虫作用研究[J]．中国食用菌，1998, 17(6)：40-43．

[14] Bates S T. A preliminary checklist of Arizona macrofungi[M]. Vascular Plant Herbarium, Arizona State University, 2006.

[15] Pérez‐Moreno J, Ferrera‐Cerrato R. A review of mushroom poisoning in Mexico[J]. Food Additives & Contaminants, 1995, 12(3): 355-360.

[16]卯晓岚．中国毒菌物种多样性及其毒素[J]．菌物学报，2006, 25(3)：245-263．

[17]武妍，杨绍斌．白黄盖鹅膏菌对牛皮蝇的毒杀作用研究[J]. 黑龙江畜牧兽医（科技版），

2010，(7)：135-136．

[18]汪国轮，郭学武，龚建华．蘑菇菌丝体代谢产物对果蝇的致死效应[J]．云南植物研究，

2005，27(1)：71-80．

[19]陈明艳．几株高等真菌发酵产物抑菌活性研究[D]．西北农林科技大学，2007．

[20]张富丽，宁红，张敏．毒蕈的毒素及毒蕈的开发利用[J]．云南农业大学学报，2004，

19(3): 283-286．

[21] Sanmee R, Tulloss R E, Lumyong P, et al. Studies on Amanita (Basidiomycetes: Amanitaceae) in Northern Thailand[J]. Fungal Divers, 2008, 32: 97-123.

[22] Kirchmair M, Carrilho P, Pfab R, et al. Amanita poisonings resulting in acute, reversible renal failure: new cases, new toxic Amanita mushrooms[J]. Nephrology Dialysis Transplantation, 2011: gfr511.

[23] Hackman W, Meinander M. Diptera feeding as larvae on macrofungi in Finland[C] //Annales zoologici fennici. Finnish Academy of Sciences, Societas Scientiarum Fennica, Societas pro Fauna et Flora Fennica and Societas Biologica Fennica Vanamo, 1979: 50-83.

[24] Daniewski W M, Gumułka M, Przesmycka D, et al. Sesquiterpenes of Lactarius origin, antifeedant structure-activity relationships[J]. Phytochemistry, 1995, 38(5): 1161-1168.

[25] Faulstich H, Buku A, Bodenmueller H, et al. Virotoxins: actin-binding cyclic peptides of Amanita virosa mushrooms[J]. Biochemistry, 1980, 19(14): 3334-3343.

[26] STERNER O. Toxic terpenoids from higher fungi and their possible role in chemical defence systems[J]. Cryptogamie. Mycologie, 1995, 16(1): 47-57.

[27] Sterner O, Bergman R, Kihlberg J, et al. The sesquiterpenes of Lactarius vellereus and their role in a proposed chemical defense system[J]. Journal of natural products, 1985, 48(2): 279-288.

[28]陈琳，崔阳，杨绍斌．豹斑毒鹅膏菌毒素粗品对二斑叶螨的毒性研究[J]．广东农业科学，

2011，38(24)：69-70．

[29]魏艳．黄硬皮马勃化学成分及农药活性研究[D]．西北农林科技大学，2005．

[30]秦建春．蛹虫草发酵物化学成分及生物活性研究[D]．西北农林科技大学，2006．

[31]葛蓓蕾，江晓路．北虫草的研究现状[J]．中国食用菌，1999, 18(1)：26-27．

[32] Kubo I, Kim M, Hood W F, et al. Clitocine, a new insecticidal nucleoside from the mushroom Clitocybe inversa[J]. Tetrahedron letters, 1986, 27(36): 4277-4280.

[33] Anke H, Stadler M, Mayer A, et al. Secondary metabolites with nematicidal and antimicrobial activity from nematophagous fungi and Ascomycetes[J]. Canadian Journal of Botany, 1995, 73(S1): 932-939.

[34] Tsukamoto T, Ishikawa Y, Miyazawa M. Larvicidal and adulticidal activity of alkylphthalide derivatives from rhizome of Cnidium officinale against Drosophila melanogaster[J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2005, 53(14): 5549-5553.

[35] Gonzĺez-Coloma A, Cabrera R, Monzón A R S, et al. Persea indica as a natural source of the insecticide ryanodol[J]. Phytochemistry, 1993, 34(2): 397-400.

[36] Chander H, Ahuja D K, Nagender A, et al. Repellency of different plant extracts and commercial formulations used as prophylactic sprays to protect bagged grain against Tribolium castaneum: A field study[J]. Journal of food science and technology, 2000, 37(6): 582-585.

[37] Park I K, Shin S C, Kim C S, et al. Larvicidal activity of lignans identified in Phryma leptostachya Var. asiatica roots against three mosquito species[J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2005, 53(4): 969-972.

[38] Suzuki Y, Koike K, Ohmoto T. Eight picrotoxane terpenoids, picrodendrins KR, from Picrodendron baccatum[J]. Phytochemistry, 1992, 31(6): 2059-2064.

[39]郑和斌，郭海明，王金辉，等．植物源杀虫剂开发利用现状及其前景展望[J]．湖南农业科

学，2006，(1)：52-54.

[40]王桂清，姬兰柱，张弘，等．中国植物源杀虫剂研究进展[J]．中国农业科学，2006, 3：

510-517．

[41]徐河ft，马雅军．植物源杀虫剂作用方式和机理的研究进展[J]．热带医学杂志，2006，

6(6): 743-744．

[42]杨凯凯，高德良，刘峰．植物源杀虫剂的研究现状与展望[J]．农药科学与管理，2011，

32(7): 19-23．

[43]韩俊艳，张立竹，纪明ft．植物源杀虫剂的研究进展[J]．中国农学通报，2011, 27（21）：

229-233．

[44]郝乃斌，戈巧英．中国植物源杀虫剂的研制与应用[J]．植物学通报，1999，16(5)：495- 503．

[45]李晓楠，杨绍斌. 复合生物提取物对榆紫叶甲毒杀效果研究[J]．湖北农业科学，2014，

53(8): 1815-1818．

[46]来健．复合生物提取物对黄粉甲杀虫效果研究[D]．沈阳大学，2013．

[47]贝纳新，高萍，石承民，等．植物源杀虫剂研究进展[J]．沈阳农业大学学报，2002，

33(4): 309-314．

[48]王燕，师光禄，吴振宇，等．植物源杀虫剂作用机理研究进展[J]．北京农学院学报，

2008，23(4)：70-73．

[49]赵莉，刘德立．国外植物源杀虫剂研究进展[J]．农药，2008，(2)：82-86．

[50]赵千，杨春清．植物源杀虫剂研究进展[J]．中国植保导刊，2007, 27(7)：9-12．

参考文献

[51]潘文亮，张春民，刘钰，等．植物源杀虫剂的研究现状与发展前景[J]．河北农业科学，

2003，7(3)：45-49．

[52]罗都强，张兴．植物源杀虫剂研究进展[J]．西北农林科技大学学报（自然科学版），2001，

29(S): 94-99．

[53]王小艺．中国植物源杀虫剂的研究与应用[J]．世界农业，2000, 2: 30-32．

[54]潘悦，曾凡海，张有伟，等．4 种植物源杀虫剂对烟蚜的药效及其对异色瓢虫的毒力测定

[J]．云南农业大学学报（自然科学），2013, 28(3)：302-305．

[55]蔡璞瑛，毛绍名，章怀云，等. 植物源杀虫剂国内外研究进展[J]．农药，2014, 8: 3．

[56]何海，刘小宁．新疆有毒植物资源及其植物源杀虫剂开发应用前景[J]．干旱区研究，

2012，29(1)：115-121．

[57]黄悦宇．植物源杀虫剂在档案虫害防治中的应用研究[D]．云南大学，2012．

[58]黄园．微藻培养过程中轮虫污染防治研究[D]．中国科学院研究生院（海洋研究所），2014．

[59]李晓玲，金晓弟．植物源杀虫剂研究进展[J]．中国媒介生物学及控制杂志，2004，

15(5): 406-409．

[60]倪斌．中国植物源杀虫剂研究进展[J]．安徽农学通报，2007, 13(17)：155-155．

[61] Pandji C, Grimm C, Wray V, et al. Insecticidal constituents from four species of the Zingiberaceae[J]. Phytochemistry, 1993, 34(2): 415-419.

[62] Suzuki Y, Koike K, Ohmoto T. Eight picrotoxane terpenoids, picrodendrins KR, from Picrodendron baccatum[J]. Phytochemistry, 1992, 31(6): 2059-2064.

[63] Gonzĺez-Coloma A, Cabrera R, Monzón A R S, et al. Persea indica as a natural source of the insecticide ryanodol[J]. Phytochemistry, 1993, 34(2): 397-400.

[64] Morgan E D. Azadirachtin, a scientific gold mine[J]. Bioorganic & medicinal chemistry, 2009, 17(12): 4096-4105.

[65] Williams L A D, 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(3): 133-145.

[66]何君，谢令德，贺艳萍．植物源杀虫剂作用方式研究进展[J]．粮油仓储科技通讯，2010，

（6）：30-32．

[67]张兴．植物源卫生杀虫剂的研发思路与策略及其实践[J]．中华卫生杀虫药械，2013, 2：

3．

[68]吕朝军，钟宝珠，孙晓东，等．几种植物源杀虫剂对螺旋粉虱的生物活性及田间防治效果

[J]．热带作物学报，2009，(12)：1865-1869．

[69] Singh U P, SRNASTAVA B P, SINGH P, et al. Control of powdery mildew of pea by ginger extract[J]. Indian Phytopathology, 1991, 44(1): 55-59.

[70] Singh U P, Prithiviraj B, Wagner K G, et al. Effect of ajoene, a constituent of garlic (Allium sativum), on powdery mildew (Erysiphe pisi) of pea (Pisum sativum)[J]. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, 1995, 102(4): 399-406.

[71] Mohamed S, Saka S, El‐Sharkawy S H, et al. Antimycotic screening of 58 Malaysian plants against plant pathogens[J]. Pesticide science, 1996, 47(3): 259-264.

[72] Wilson C L, Solar J M, El Ghaouth A, et al. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against Botrytis cinerea[J]. Plant disease, 1997, 81(2): 204-210.

[73]李永夫，罗安程．植物源农药的研究和应用进展[J]．科技通报，2003, 19(5)：434-438．

[74]刘彦超，韩巨才，刘慧平．植物源杀虫剂的研究进展[J]．杨凌职业技术学院学报，2005，

4(2): 1-4．

[75]王元兰．植物源杀虫剂及其混配增效研究[D]．中南林学院，2004．

[76]刘玉杰，王宝增．植物源杀虫剂的研究进展[J]．生物学教学，2008，(2)：8-10．

[77]张一宾．植物源杀虫剂及由其仿生合成的杀虫剂[J]．农药，2013, 10: 710-716．

[78]张珣，周莹莹，李燕，等．植物源杀虫剂对葡萄绿盲蝽和斑叶蝉的防治效果[J]．科技导 报，2014, 32(12)：36-40．

[79]罗茂斌，李忠峪，仝艳锋．植物源杀虫剂在文献害虫防治中的应用研究[J]．档案学研究，

2011，5: 76-79．

[80] Wieland T. Poisonous principles of mushrooms of the genus Amanita Four-carbon amines acting on the central nervous system and cell-destroying cyclic peptides are produced[J]. Science, 1968, 159(3818): 946-952.

[81] Zhang P, Chen Z H, Hu J S, et al. Production and characterization of amanitin toxins from a pure culture of Amanita exitialis[J]. FEMS microbiology letters, 2005, 252(2): 223-228.

[82] Deng W Q, Li T H, Xi P G, et al. Peptide toxin components of Amanita exitialis basidiocarps[J]. Mycologia, 2011, 103(5): 946-949.

[83]赵春青，钱坤，李学锋，等．不同类型农药对斑马鱼的急性毒性与安全评价[J]．安徽农业

科学，2008, 36(34)：1502-1502．

[84] 王小芳． 植物源杀虫剂的研究进展[J]． 广州化工, 2009, 37(8): 42-45．

[85]李建飞．植物源杀虫剂概述[J]．安徽农学通报，2009, 15(1)：160-161．

### 在学期间研究成果

参考文献

1.韩佳言，杨绍斌.冠状环柄菇和豹斑毒鹅膏菌的复合毒素粗品对玉米象的毒效研究已修改[J].贵州农业科学.2015，43(12):82-85.

2.杨绍斌，杨萌，韩佳言，李晓楠.普通院校生物工程专业课程建设与改革探索

[J].教育教学论坛.2013，41（2）.

致谢

参考文献

时光荏苒，岁月如梭，转眼间两年半的研究生生活即将结束，回首漫漫求学路，对那些一路上激励我、帮助我、指导我的人，我心中充满感激。

值此论文完成之际，首先要向我的导师杨绍斌老师致以我最真挚的谢意和崇高的敬意，本次论文工作是在我的导师杨绍斌老师的悉心指导下完成的，杨绍斌老师对待科学和工作严谨的态度给了我极大的帮助和影响，以深厚的学术修养指导指导我完成了各部分的工作，杨老师开阔的思维，永不言弃的精神使我学习的楷模，同时，在学习和生活中也给予了我极大的关心和帮助，让我在学校中体会到了家般的温暖，在此再次向杨绍斌老师表示衷心的感谢！

开展实验时，各位老师在实验和论文创作期间给予我极大的帮助和鼓励，实验的难点部分给予了热心的讲解，生活中给予无微不至的关心和爱护，在各位老师帮助下，实验研究得以顺利完成，在此对各位老师的悉心指导表示诚挚的感谢！

论文工作顺利完成，也要感谢在论文开题和中期时给予批评指正的各位老师，在各位老师的耐心指导下，我的问题迎刃而解，不仅理清了工作的思路，明确了努力的方向，还使我在实验研究和论文创作过程中少走了许多弯路！

感谢所有关心和支持我的同学们，你们与我朝夕相处，共同进步，陪我走过充实快乐的两年时光，你们的关心和帮助，使我终生难忘！

感谢我的家人，他们给予我永远的理解和支持，使我在学校能够专心完成学业，他们无私的爱和照顾是我奋斗路上不断前进的最大动力！