

杠柳根皮乙醇提取液 对蔬菜害虫小菜蛾的生物活性

朱九生^①, 乔雄梧, 王 静, 秦 曙

(山西省农药重点实验室, 山西省农业科学院植物保护研究所, 山西 太原 030031)

摘要 采用 95% 乙醇对杠柳(*Periploca sepium* Bunge)根皮进行热提取, 以叶片浸渍法和点滴法测定了提取液对小菜蛾(*Plutella xylostella* L.)的杀虫活性及其作用方式。结果显示, 杠柳乙醇提取液稀释 100 倍处理对小菜蛾 3 龄和 4 龄幼虫 24 h 后的非选择性拒食率分别为 87.3% 和 96.3%; 100 倍液浸叶饲喂处理对小菜蛾 2 龄幼虫 72 h 后的校正死亡率为 80%, 对小菜蛾 3 龄幼虫 24 h 和 48 h 后的生长抑制率为 100%。杠柳乙醇提取液对小菜蛾幼虫具有较高的生物活性, 其作用方式包括拒食作用、胃毒作用和生长抑制作用。此外, 乙醇提取液对小菜蛾幼虫还有一定的触杀和内吸效应, 并对小菜蛾成虫产卵有明显的忌避活性, 但对小菜蛾卵没有杀伤作用。

关键词: 杠柳; 乙醇提取液; 生物活性; 小菜蛾

中图分类号: S482 文献标识码: A 文章编号: 1004-0978(2004)03-0031-04

The bioactivity of the ethanol extracts from root bark of *Periploca sepium* against *Plutella xylostella*
ZHU Jiu-sheng^①, QIAO Xiong-wu, WANG Jing, QIN Shu (Shanxi Key Laboratory of Pesticide Science, Institute of Plant Protection, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030031, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2004, 13(3): 31-34

Abstract: The root barks of *Periploca sepium* Bunge were hot-extracted with 95% ethanol, and leaf immersion method and topical application were used to test the bioactivity of the extracts against *Plutella xylostella* L. The results indicated that antifeeding rate was 87.3% and 96.3% against 3rd and 4th instar larvae of *P. xylostella* after 24 h of treatment with 100 times dilution of the ethanol extracts in no-choice test respectively. The corrected mortality of the larvae within 72 h reached 80% when the 2nd instar larvae of *P. xylostella* were fed by the leaf discs treated with 100 times dilution of the extracts. The growth inhibition rate of 100 times dilution of the extract was 100% to 3rd instar larvae. It is clear that the ethanol extracts has strong antifeeding property, stomach poison and growth inhibition to larvae of *P. xylostella*. In addition, the ethanol extracts of *P. sepium* possesses certain contact poison and systemic toxicity on the insect. The experimental results also showed that the crude extracts had obvious deterrent effect against the oviposition of *P. xylostella*. However, the extracts showed no killing effect on the eggs of *P. xylostella*.

Key words: *Periploca sepium* Bunge; ethanol extracts; bioactivity; *Plutella xylostella* L.

生物性农药的重要组成——植物源杀虫剂, 因其具有化学结构新颖、对环境安全、选择性高、不易产生抗药性等特点而受到国内外农药界的高度重视, 是当前新型杀虫剂创制研究的热点^[1,2]。杠柳(*Periploca sepium* Bunge)是萝藦科(Asclepiadaceae)蔓性灌木, 又名羊角桃、羊交叶、臭槐等, 属有毒植物, 主要分布在河北、山西、吉林、辽宁等地, 生长在干燥山坡、砂质地、砾石山坡上, 资源丰富^[3]。据报道, 杠柳根皮粉对白菜叶甲有一定的胃毒活性, 对二十八星瓢虫具有较强的胃毒和忌避作用^[4], 但是, 有关杠

柳对其他害虫生物活性研究目前国内外未见报道。研究杠柳对十字花科蔬菜重要害虫小菜蛾(*Plutella xylostella* L.)的生物活性, 旨在明确杠柳对小菜蛾的杀虫活性及其作用方式, 为合理开发利用这一杀虫植物资源提供理论依据和应用基础。

收稿日期: 2004-03-12

基金项目: 山西省农业科技攻关资助项目(971011)和山西省青年基金资助项目(971033)

作者简介: 朱九生(1963-), 男, 山西新绛人, 硕士, 副研究员, 主要从事农药残留分析和农药应用技术研究。

^① 通讯作者

1 材料和方法

1.1 供试材料

杠柳根皮采自山西省寿阳县,由榆次升华生物技术公司提供。将杠柳根皮晾干,粉碎,用索氏抽提器抽提。提取溶剂为95%乙醇,提取温度93℃,抽提时间6 h,抽提前需加提取溶剂浸泡12 h。将提取液于45℃在旋转蒸发器上浓缩至合适体积(浓度相当于1 mL溶剂含1 g杠柳根皮粉),8℃冰箱中保存备用。

1.2 供试昆虫

小菜蛾采自太原市古城营蔬菜区,在温室[温度(25±1)℃,相对湿度70%±10%,每天光照14 h]条件下人工饲养。幼虫饲喂小油菜叶,成虫饲喂5%葡萄糖液,分别取同一龄期的幼虫或同一批羽化后的成虫进行测试。

1.3 实验方法

1.3.1 触杀作用 采用点滴法。将杠柳乙醇提取液用5%水丙酮(加少量苏丹红)配成100、200和400倍稀释液,对照为95%乙醇100倍稀释液(用5%水丙酮液稀释)。用毛细管点滴器将药液点滴在小菜蛾2龄或3龄幼虫前胸背板上。点滴量为0.134 1 μL。点滴后每10头幼虫置于同一保湿培养皿中,饲以小油菜叶,一定时间后调查死亡率、化蛹率和蛹重。每处理重复3次。

1.3.2 胃毒作用 采用浸渍叶碟法。用丙酮水溶液[V(丙酮):V(水)=2:8]将乙醇提取液稀释至所需倍数,对照为95%乙醇100倍稀释液(用丙酮水溶液稀释,下同),每10 mL稀释液需加1滴吐温二甲苯溶液[V(吐温):V(二甲苯)=1:9]。用打孔器将油菜叶片打成直径为2 cm的叶碟,将叶碟在药液中浸渍2 s,待溶剂挥发后,转入垫有保湿滤纸的培养皿中,叶碟背面朝上,每个培养皿放5枚。将小菜蛾2龄幼虫接入培养皿中,每皿10头,48 h后更换无毒新鲜小油菜叶碟,一定时间后调查死亡率。每处理重复3次。

1.3.3 拒食作用 采用浸渍叶碟法,叶碟处理同胃毒作用。非选择性拒食作用:每个培养皿放2枚处理叶碟,接1头幼虫,对照叶碟放入另一培养皿,同样接1头幼虫。选择性拒食作用:每个培养皿放处理和对照叶碟各一枚,接1头幼虫。每处理重复10

次,24 h后用坐标法测量取食面积,用下列公式计算拒食率:选择性拒食率/%=[(对照组试虫取食面积-处理组试虫取食面积)/(对照组试虫取食面积+处理组试虫取食面积)]×100%;非选择性拒食率/%=[(对照组试虫取食面积-处理组试虫取食面积)/对照组试虫取食面积]×100%。

1.3.4 生长发育抑制作用 采用浸渍叶碟法处理试虫。处理前称试虫体重,处理后每隔24 h称重1次,记录各处理试虫的体重变化情况。用下列公式计算生长抑制率:生长抑制率/%=[(对照组试虫增长体重-处理组试虫增长体重)/对照组试虫增长体重]×100%

1.3.5 内吸作用 用12 cm×20 cm花盆种植油菜苗,待菜苗长至5片叶时(8 cm高),用浓度为1%杠柳乙醇提取液200 mL(提取液用水稀释)浇灌油菜苗,24 h后取油菜叶做3龄幼虫非选择拒食活性测定。测定方法同1.3.3。

1.3.6 产卵忌避作用 采用浸渍叶碟法,叶碟处理同胃毒作用。每个培养皿放处理和对照叶碟各2枚,交错排列,其中1枚叶正面朝上,另1枚叶背面朝上。用玻璃罩罩住,同时接入1对同1天羽化的小菜蛾成虫,放进养虫室中,24 h和48 h后检查叶碟上的落卵量,计算产卵忌避率。

产卵忌避率/%=[(对照组落卵量-处理组落卵量)/对照组落卵量]×100%。

2 结果和分析

2.1 杠柳提取液对小菜蛾的触杀作用

杠柳乙醇提取液对小菜蛾幼虫有一定的触杀作用(表1),且对2龄幼虫的触杀作用大于对3龄幼虫的作用,前者72 h的校正死亡率为41.6%~56.9%,后者为24.0%~31.9%。杠柳处理后的幼虫虽然有一些能化蛹,但总的化蛹率明显低于对照,并且蛹重也比对照轻,特别是高剂量(1.341 μg·头⁻¹)处理。小菜蛾3龄幼虫经前胸背板点滴后,虽无明显中毒反应,但取食量明显减少,24 h后个别试虫开始死亡,部分死亡虫体中间发黑,肛门分泌少量粘液。

2.2 杠柳提取液对小菜蛾的胃毒作用

杠柳根皮提取液对小菜蛾具有较强的胃毒活性,且随浓度增高其胃毒作用增强(见表2)。100倍液处理48 h和72 h后试虫校正死亡率分别为

表 1 杠柳乙醇提取液对小菜蛾 2 龄和 3 龄幼虫的触杀作用¹⁾

Table 1 Contact toxicity of the ethanol extracts from *Periploca sepium* Bunge against the 2nd and 3rd instar larvae of *Plutella xylostella* L.¹⁾

试虫龄期 Instar of larvae tested	剂量/ $\mu\text{g}\cdot\text{头}^{-1}$ Dose	试虫数 Number of tested larvae	72 h 死亡虫数 Number of died larvae after 72 h	死亡率/% Mortality ($\bar{X} \pm SE$)	校正死亡率/% Corrected mortality	化蛹率/% Pupation rate	蛹重/mg Weight of pupa
2 龄幼虫 2nd instar	1.341	29	19	65.6 \pm 2.9a	56.9	10.3	3.33
	0.671	28	16	57.1 \pm 9.6a	46.4	21.4	3.67
	0.335	30	16	53.3 \pm 3.3a	41.6	26.7	3.75
	CK	30	6	20.0 \pm 5.8b		53.3	4.00
3 龄幼虫 3rd instar	1.341	30	13	43.3 \pm 8.8a	31.9	53.3	3.47
	0.671	30	12	40.0 \pm 5.8a	28.0	56.7	3.75
	0.335	30	11	36.7 \pm 3.3a	24.0	63.3	3.88
	CK	30	5	16.7 \pm 3.3b		80.0	4.91

¹⁾ 同列中相同字母表示同一龄期试虫处理间在 $P = 0.05$ 水平上差异不显著。The same letters in the same column indicate no significant difference for same instar larvae ($P = 0.05$).

59.2% 和 80.0%。饥饿后的试虫接触处理过的叶碟,先从叶碟边缘开始取食,多数试虫取食少量染毒叶片后便停止取食,头胸部抬起,挪动位置,又稍加

尝试便停止取食,如此反复几次后,便在某一处固定下来,间断性取食,但取食量极少。

2.3 杠柳提取液对小菜蛾的拒食作用

杠柳提取液 3 种浓度处理对 3 龄幼虫的非选择性拒食率均在 60% 以上(表 3);对 4 龄幼虫的拒食活性高于对 3 龄幼虫的拒食活性,非选择性拒食率均在 80% 以上。对 4 龄幼虫的选择性拒食率为 65.5% ~ 70.5%,虽低于非选择性拒食率,但试虫取食叶碟的面积并没有增加(100 倍液除外)。

2.4 杠柳提取液对小菜蛾的生长抑制作用

用乙醇提取液处理小菜蛾 3 龄幼虫,试虫平均体重的增长明显低于对照(见表 4)。随乙醇提取液剂量增加,试虫生长受抑程度增大。处理后 24 h 和 48 h,经 100 倍液处理的试虫,其体重与处理前相比几乎没有增长,可见杠柳根皮的乙醇提取液对小菜蛾幼虫的生长具有明显的抑制作用。

表 2 杠柳乙醇提取液对小菜蛾 2 龄幼虫胃毒作用¹⁾

Table 2 Stomach toxicity of the ethanol extracts from *Periploca sepium* Bunge against the 2nd instar larvae of *Plutella xylostella* L.¹⁾

稀释倍数 Dilution	供试虫数 Number of larvae tested	处理后 48 h 48 h after treatment		处理后 72 h 72 h after treatment	
		死亡率/% Mortality ($\bar{X} \pm SE$)	校正死亡率/% Corrected mortality	死亡率/% Mortality ($\bar{X} \pm SE$)	校正死亡率/% Corrected mortality
100	30	63.3 \pm 3.3a	59.2	83.3 \pm 3.3a	80.0
200	30	43.3 \pm 8.8ab	37.0	73.3 \pm 3.3a	67.9
400	30	36.7 \pm 8.8b	29.7	46.7 \pm 8.8b	36.0
CK	30	10.0 \pm 0.0c		16.7 \pm 3.3c	

¹⁾ 同列中相同字母表示处理间在 $P = 0.05$ 水平上差异不显著。The same letters in the same column indicate no significant difference ($P = 0.05$).

表 3 杠柳乙醇提取液对小菜蛾幼虫的拒食作用¹⁾

Table 3 Antifeeding toxicity of the ethanol extracts from *Periploca sepium* Bunge against the larvae of *Plutella xylostella* L.¹⁾

稀释倍数 Dilution	3 龄幼虫 (非选择性) 3rd instar larvae (No-choice)		4 龄幼虫 4th instar larvae			
	取食面积/ mm^2 Intake area	拒食率/% Antifeeding rate ($\bar{X} \pm SE$)	非选择性 No-choice		选择性 Choice	
			取食面积/ mm^2 Intake area	拒食率/% Antifeeding rate ($\bar{X} \pm SE$)	取食面积/ mm^2 Intake area	拒食率/% Antifeeding rate ($\bar{X} \pm SE$)
100	3.3	87.3 \pm 2.9a	2.0	96.3 \pm 1.2a	7.1(41.1)	70.5 \pm 9.7a
200	6.8	73.8 \pm 5.1b	6.7	87.7 \pm 3.4b	5.9(31.9)	68.8 \pm 10.5a
400	9.7	62.7 \pm 4.0b	9.5	82.6 \pm 4.5b	6.9(33.3)	65.5 \pm 11.2a
CK	26.0		54.6			

¹⁾ 同列中相同字母表示处理间在 $P = 0.05$ 水平上差异不显著。The same letters in the same column indicate no significant difference ($P = 0.05$). 圆括号内的数字为试虫取食对照叶碟的面积 Values in parentheses represent the leaf disc area of the control which were fed by larvae.

表4 杠柳乙醇提取液对小菜蛾3龄幼虫生长速率的抑制活性
Table 4 Inhibitory activity of the ethanol extracts from *Periploca sepium* Bunge against the 3rd instar larvae of *Plutella xylostella* L.

稀释倍数 Dilution	试虫体重/mg Weight of larva			生长抑制率/% Inhibitory rate	
	0 h	24 h	48 h	24 h	48 h
100	2.1	2.1	2.0	100.0	104.8
200	2.2	2.6	2.4	80.0	90.5
400	2.2	2.8	2.7	70.0	76.2
CK	2.2	4.2	4.3		

2.5 杠柳提取液的内吸作用

用灌药24 h后的小油菜叶片饲喂小菜蛾3龄幼虫,测定其内吸拒食活性。结果表明,杠柳乙醇提取液对小菜蛾有一定的内吸拒食活性,24 h和48 h后的拒食率分别为45.4%和40.9%。在做拒食活性测定的同时,对毒杀活性也进行了测定,结果显示杠柳

乙醇提取物对小菜蛾没有内吸毒杀活性。

2.6 杠柳提取液对小菜蛾成虫产卵忌避作用

浸渍叶碟法测定结果(表5)表明,杠柳乙醇提取液对小菜蛾成虫产卵具有较强的忌避活性,其忌避活性随浓度增加而增强。处理后24 h和48 h,其产卵忌避率分别为36.0%~72.7%和41.5%~58.7%。经观察,小菜蛾雌成虫并不完全拒绝接触处理过的叶碟,可以在处理的叶碟上爬行,也经常把产卵器伸出来,但很多情况下又马上收缩回去,并不产卵,说明杠柳乙醇提取液可能对小菜蛾产卵器上的感受器有影响。用100~400倍稀释的乙醇提取液浸渍处理新鲜小菜蛾卵,4d后的累计孵化率为86.1%~87.8%,与对照(86.8%)没有显著差异,说明杠柳乙醇提取液对小菜蛾卵没有杀伤作用。

表5 杠柳乙醇提取物对小菜蛾成虫的选择性产卵忌避效果
Table 5 Oviposition deterrent effect of the ethanol extracts from *Periploca sepium* Bunge against *Plutella xylostella* L.

处理 Treatment	稀释倍数 Dilution	调查时间/h Time after treatment	落卵量 Number of egg			产卵忌避率/% Oviposition deterrent rate
			叶正面 Leaf right side	叶背面 Leaf reverse side	总量 Total	
乙醇提取液 Ethanol extracts	100	24	58	63	121	36.0
		48	68	69	137	41.5
乙醇对照 Ethanol control	100	24	94	95	189	
		48	120	114	234	
乙醇提取液 Ethanol extracts	50	24	8	9	17	51.4
		48	9	9	18	50.0
乙醇对照 Ethanol control	50	24	9	26	35	
		48	9	27	36	
乙醇提取液 Ethanol extracts	25	24	1	11	12	72.7
		48	5	21	26	58.7
乙醇对照 Ethanol control	25	24	19	25	44	
		48	37	26	63	

3 结 论

实验结果表明:杠柳根皮的乙醇提取液对小菜蛾幼虫的毒杀作用方式包括拒食作用、胃毒作用、触杀作用和生长抑制作用。其中饲喂拒食作用和胃毒作用较强。杠柳乙醇提取液对小菜蛾成虫产卵有较强的忌避活性,但对卵无杀伤作用。此外,乙醇提取液对小菜蛾幼虫还有一定的触杀和内吸效应。

在实验过程中,还观察到杠柳乙醇提取液对菜青虫(*Pieris rapae* L.)有类似的毒杀作用,对温室白粉虱(*Trialeurodes vaporariorum* W.)有一定的忌避活

性,对蔬菜蚜虫(*Myzus persicae* S.)有较强的触杀作用。据此,初步认为杠柳根皮中含有丰富的杀虫活性物质,其杀虫作用方式是多样的,杀虫谱比较广,值得进一步研究和开发。

参考文献:

- [1] 吴文君,刘惠霞,朱靖博.天然产物杀虫剂——原理、方法、实践[M].西安:陕西科学技术出版社,1998.
- [2] Benner P. Pesticidal compounds from higher plants[J]. Pesticide Science, 1993(39): 95.
- [3] 山西植物志编辑委员会.山西植物志(第三卷)[M].北京:中国科学技术出版社,2000.
- [4] 钟启谦,齐瑞霖.几种植物的杀虫效力测定[J].昆虫学报, 1953,3(1):25-40.