三叶蔓荆子提取物对小菜蛾的拒食活性*

高 燕[1] 盛广为[2] 沈嘉祥[2] 肖 春[2]**

(1. 广东省农业科学院植物保护研究所 广州 510640; 2. 云南农业大学植物保护学院 昆明 650201)

摘 要 室内测定了三叶蔓荆子(*Vitex trifolia* (L.))叶片提取物对小菜蛾 *Plutella xylostella*(L.)3 龄幼虫的拒食活性。非选择性试验结果表明,三叶蔓荆子的不同溶剂(乙酸乙酯、石油醚、氯仿和乙醇)提取物对小菜蛾均有一定的拒食作用。4 种提取物对小菜蛾的毒力顺序为:乙酸乙酯提取物 > 石油醚提取物 > 氯仿提取物 > 乙醇提取物。选择性试验表明,乙酸乙酯提取物对小菜蛾 24、48 h 的拒食中浓度(AFC_{50})分别为 2 520、3 240 mg·L^{-1}。室内盆栽试验结果表明,施用乙酸乙酯提取物(10 000 mg·L^{-1})3 d 后甘蓝(*Brassica oleracea* var. *capitata*)植株上 3 龄小菜蛾的虫口减退率可达 72.76%。

关键词 三叶蔓荆子,小菜蛾,拒食活性

Antifeeding activity of *Vitex trifolia* extracts against third-instar larvae of *Plutella xylostella*

GAO Yan[1] SHENG Guang-Wei[2] SHEN Jia-Xiang[2] XIAO Chun[2]**

(1. Institute of Plant Protection, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China; 2. College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract The antifeeding activity of extracts of *Vitex trifolia* (L.) leaves against the 3rd instar larvae of *Plutella xylostella* (L.) was tested in a laboratory. A no-choice experiment revealed that extracts extracted with either ethyl acetate, petroleum, ether or chloroform had significant antifeeding activity. The relative antifeeding activity of extracts obtained with each of these four solvents was, in descending order; ethyl acetate > petroleum ether > chloroform > ethanol. A choice-experiment indicated that the AFC_{50} of the ethyl acetate extract was 2 520 mg·L^{-1} 24 h after treatment and 3 240 mg·L^{-1} after 48 h. The number of *P. xylostella* larvae on *Brassica oleracea* var. *capitata* plants could be reduced by 72.76% three days after spraying with ethyl acetate extract.

Key words *Vitex trifolia*, *Plutella xylostella*, antifeeding activity

三叶蔓荆子(*Vitex trifolia* (L.))属马鞭草科(Verbenaceae),牡荆属(*Vitex*),为多年生落叶小灌木,主要分布于中国的广东、广西、江西、海南、贵州、云南等地(谢超群和张建英,1991;中华人民共和国卫生部药典委员会,1995;周乐敏和金莉莉,2001)。作为一种药用植物,具有疏风散热、清利头目、止痛的功效,临床上常用于风热感冒、正偏头疼和昏昏多睡等疾病的治疗(中科院中国植物志编委会,1982;谢超群和张建英,1991)。三叶蔓荆子在农业上的应用目前也有一些报道,如对草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* (Smith)具有拒食活性(Hernández *et al.*, 1999),对尘污灯蛾 *Spilosoma oblique* Walker 的 5 龄幼虫具有生长调节作用(Shishir *et al.*, 2008),对棉蚜 *Aphis gossypii* Glover 具有杀虫活性(Devi *et al.*, 2003)等。为了进一步开发和利用该植物资源,研制新型的环境友好型植物杀虫剂,有必要对其杀虫作用、活性成分以及作用机制等进行系统研究。

小菜蛾 *Plutella xylostella* (L.)是世界性十字花科蔬菜的重要害虫,对全球蔬菜生产具有很大

* 资助项目:国家国际科技合作项目(2011DFB30040)和广东省科技计划项目(2011B031500020)。

** 通讯作者,E-mail:x.chun@163.com

收稿日期:2011-06-02,接受日期:2011-08-12

的威胁(Talekar and Shelton, 1993)。由于长期大量不合理使用化学药剂,导致小菜蛾抗药性不断增强,目前控制其危害较为困难(刘虹伶等,2010)。因此,寻找有效的防治措施成为未来小菜蛾综合治理的重点发展方向。植物源农药因其作用机制特殊、靶标专一性强,对环境安全友好而备受人们的关注,成为研究开发的热点。本研究就蔓荆子叶片的不同有机溶剂提取物对小菜蛾幼虫的拒食活性进行了测定,为其在小菜蛾等害虫综合防治中的开发以及综合利用提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　供试昆虫

小菜蛾采用甘蓝(*Brassica oleracea* var. *capitata*)苗饲养。将甘蓝苗移栽于直径 10 cm 塑料花盆中,当 7 ~ 10 片叶片时,放入养虫笼内备用。将田间采回的小菜蛾接到菜苗上,等到化蛹后立即收集,放入三角瓶中,待羽化后向瓶中插入涂有甘蓝汁液的自制吹塑纸产卵板引诱小菜蛾产卵,并用 10% 的蜂蜜水饲喂。每天更换产卵板及蜂蜜水,并将产卵板放入(25 ± 1)℃、RH(80 ± 5)%、光周期 L: D = 14: 10 的温箱内保湿孵化。将已经孵化的产卵板直接放到菜苗上,幼虫在植株上自主取食,待其发育到 3 龄时进行拒食活性的测定。

1.2　三叶蔓荆子叶片提取物的制备

三叶蔓荆子采自云南省德宏州。蔓荆子叶片在室内常温下阴干,置于 50℃ 恒温干燥箱内烘烤 1 h 后,用电动粉碎机粉碎,过 60 目筛。称取 50 g 干粉放入 1 000 mL 三角瓶中,加入 500 mL 有机溶剂(分别为石油醚、氯仿、乙酸乙酯和乙醇)室温下静置 8 h,再经超声波提取 30 min,过滤,滤液用旋转蒸发仪浓缩,得不同溶剂膏状提取物,如此重复 3 次,称重,保存于 4℃ 冰箱中备用。

1.3　拒食活性的测定

采用小叶碟添加法测定供试样品对小菜蛾幼虫的拒食活性(张宗炳,1988)。用丙酮将提取物溶解,配制成 5 个浓度的药液。将新鲜较平整均一的甘蓝叶片用圆形打孔器(直径 1.5 cm)打成叶碟,放入提取物药液中浸渍 3 s(对照用相应溶剂)。自然晾干,放入直径 9 cm 的培养皿中(内铺一层滤纸,加少量蒸馏水保湿),每皿内等距离放 4 片叶碟(盖上培养皿盖,防止试虫逃逸,下同)。非选择性拒食试验中,每皿内等距离放 4 片处理叶碟,十字交叉型排列,4 个对照叶碟另皿放置。选择性拒食试验中,每皿内放对照、处理叶碟各 2 片。接入饥饿 4 h 的小菜蛾 3 龄幼虫,每皿 3 头作为 1 次重复,每处理 20 个重复。供试幼虫在温度(27 ± 1)℃、RH80% ±5%、光周期 L: D = 14: 10 的光照培养箱中饲养,24、48 h 后测定试虫取食叶碟面积,根据平均取食面积计算拒食率。然后将拒食率转化为几率值、浓度转化成对数后进行线性回归,计算拒食中浓度(AFC_{50})。

$$非选择性拒食率(\%) = \frac{对照取食面积 - 处理取食面积}{对照取食面积} \times 100,$$

$$选择性拒食率(\%) = \frac{对照取食面积 - 处理取食面积}{对照取食面积 + 处理取食面积} \times 100。$$

1.4　室内盆栽试验

将甘蓝菜苗(7 ~ 10 片真叶)移入养虫笼内,每株菜苗接入 15 头小菜蛾 3 龄幼虫,设 5 个重复(每处理 5 棵甘蓝菜苗)。用小型喷雾机常量喷雾,直到植株正反面都均匀喷上一层雾珠为止,对照用相应溶剂。施药前和施药后 1、3、5、7 d 调查每株菜苗上的活虫数,计算虫口减退率和校正虫口减退率。

$$虫口减退率(\%) = \frac{施药前虫口数 - 施药后虫口数}{施药前虫口数} \times 100,$$

$$校正虫口减退率(\%) = \frac{处理区虫口减退率 - 对照区虫口减退率}{100 - 对照区虫口减退率} \times 100。$$

1.5　数据处理

采用 SPSS11.0 和 EXCEL2003 对试验数据进行系统分组分析,数据之间的差异采用邓肯氏新复极差检验。

2　结果与分析

2.1　4 种提取物对小菜蛾拒食作用筛选

三叶蔓荆子叶片的石油醚、氯仿、乙酸乙酯和乙醇提取物对小菜蛾的拒食作用结果见表 1。4 种不同溶剂提取物在浓度为 10 000 $mg \cdot L^{-1}$ 时,对小菜蛾均有一定程度的拒食活性。其中乙酸乙酯的效果最好,24 和 48 h 的拒食率分别为 82.01%

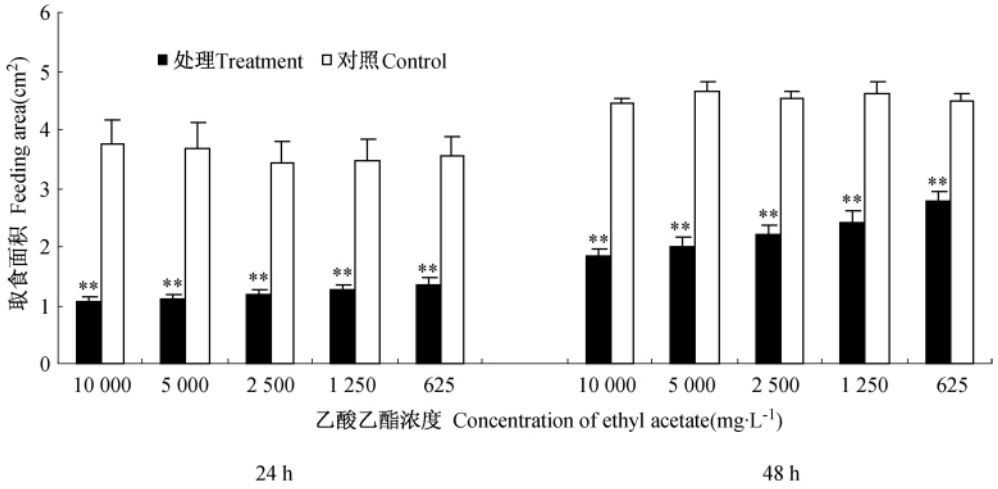

图 1　乙酸乙酯提取物对小菜蛾 3 龄幼虫在甘蓝植株上的拒食活性(选择性试验)

Fig. 1　Antifeeding activity of ethyl acetate extracts against *Plutella xylostella* on *Brassica oleracea* var. *capitata* plants in choice test

每处理 20 个重复,每重复 3 头;**表示处理和对照的取食面积经 t – 测验在 0.01 水平上差异显著。

Twenty replications of each treatment with 3 larvae per replication. Histograms with asterisks indicate significant difference between treatment and control by t-test at 0.01 level.

2.3　室内盆栽试验

室内盆栽试验结果表明(表 3),4 种不同溶剂提取物在浓度为 10 000 mg·L^{-1}时对小菜蛾均有一定的防治效果,并且在药后 3 d 虫口减退率达到最高。其中以乙酸乙酯提取物的防治效果最好,1、3、5、7 d 的虫口减退率分别为 50.78%、72.76%、62.43% 和 42.35%;氯仿提取物的防治效果次之,1、3、5、7 d 的虫口减退率分别为 46.18%、68.63%、58.05% 和 38.89%;乙醇提取物的防治效果最差。

表 3　三叶蔓荆子叶片提取物防治小菜蛾的室内盆栽试验

Table 3　Pot experiment of extracts from *Vitex trifolia* leaves against *Plutella xylostella* in greenhouse

处理 Treatment	校正虫口减退率(%) Corrected population reduction rate			
	药后 1 d 1 day after treatment	药后 3 d 3 days after treatment	药后 5 d 5 days after treatment	药后 7 d 7 days after treatment
石油醚 Petroleum ether	37.64 ± 0.78c	60.48 ± 0.33c	45.77 ± 1.23c	38.45 ± 0.29b
氯仿 Chloroform	46.18 ± 0.87b	68.63 ± 0.67b	58.05 ± 0.75b	38.89 ± 0.75b
乙酸乙酯 Ethyl acetate	50.78 ± 1.07a	72.76 ± 1.45a	62.43 ± 0.92a	42.35 ± 1.73a
乙醇 Ethanol	29.40 ± 1.35d	46.33 ± 0.57d	37.59 ± 0.67d	34.09 ± 0.72c

注:表中数据是 5 个重复的平均值 ± SE,同列数据后标有不同字母表示在 0.05 水平差异显著(Duncan 氏多重比较,$P < 0.05$)。

Data in the table are mean ± SE of five repeats, and followed by different letters in the same column indicate significantly different at 0.05 level by Duncan's multiple range test.

3 讨论

通过对小菜蛾的拒食作用研究可以看出，三叶蔓荆子叶片用不同溶剂进行提取的提取物对小菜蛾幼虫的拒食率明显不同，其中乙酸乙酯提取物的效果最好。乙酸乙酯提取物对小菜蛾幼虫具有显著的拒食作用，且 24 h 的拒食活性明显大于 48 h。可能是活性成分不稳定，持效期较短（秦小萍等，2008）。另外，盆栽试验结果表明，乙酸乙酯提取物防治效果相对较好，这与溶剂筛选试验结果一致。石油醚提取物在拒食试验中的拒食率仅次于乙酸乙酯提取物，而在盆栽试验中效果较差，可能在温室条件下更容易挥发，而表现不出拒食试验中的相应效果。4 种不同溶剂提取物对小菜蛾的防治效果均表现出先上升后下降的趋势，其中药后 3 d 达到最高，可见对小菜蛾的高效拒食作用时间为 3 ~ 5 d，这与赵斌等（2010）利用蓖麻叶片提取物防治烟粉虱 *Bemisia tabaci*（Gennadius）的结果一致。三叶蔓荆子叶片提取物对小菜蛾的这种拒食作用的有效成分及作用方式、作用机理将是今后进一步研究的重点。

目前，国内外十分重视植物源杀虫物质的开发利用，其中已商品化开发的杀虫植物主要有除虫菊、印楝、川楝、鱼藤、烟草、苦参和苦皮藤等（郝乃斌和戈巧英，1999），在害虫无公害治理中发挥了较大的作用。蔓荆子是一种喜阳光充足、较耐高温和短期霜冻、耐旱怕涝、耐碱怕酸的植物（周学毛，1998），凡土层深厚的沙滩荒洲上都能种植。因其对生长环境要求不高，可以大面积种植，既可以绿化河滩、保持水土，又可以作为医药、农药原料。研究结果表明，蔓荆子可能是一种优良的杀虫植物，对蚜虫（Devi *et al.*，2003）、致倦库蚊 *Culex quinquefasciatus* 幼虫具有杀虫活性（Kannathasan *et al.*，2007，2008），对某些鳞翅目昆虫具有拒食活性（Hernández *et al.*，1999；Hemchandra and Singh，2006）和生长调节作用（Shishir *et al.*，2008）。此外，蔓荆子提取物对某些植物真菌性病害及细菌性病害亦有较强的抑制作用（Ansari，1995；Hernández *et al.*，1999；Hossain *et al.*，2001；朱立成等，2007）。因此，开发利用这一新的植物杀虫（菌）资源尚有许多问题需要进一步研究。

参考文献（References）

Ansari MM，1995. Control of sheath blight of rice by plant extracts. *India Phytopathol.*，48（3）:256—263.

Devi MN，Singh TK，Devil LC，2003. Efficacy of certain botanical insecticides against cotton aphid，*Aphis gossypii* Glover on brinjal. *Pestology*，27（3）:8—11.

Hemchandra O，Singh TK，2006. Evaluation of antifeedant properties of some plant extracts against Diamondback moth，*Plutella xylostella*（L.）. *Pestology*，30（10）:18—23.

Hernández MM，Heraso C，Villarreal ML，Vargas-Arispuro I，Aranda E，1999. Biological activities of crude plant extracts from *Vitex trifolia* L.（Verbenaceae）. *J. Ethnopharmacol.*，67（1）:37—44.

Hossain MM，Paul N，Sohrab MH，Rahman E，Rashid MA，2001. Antibacterial activity of *Vitex trifolia*. *Fitoterapia*，72（6）:695—697.

Kannathasan K，Senthikumar A，Chandrasekaran M，Venkatesalu V，2007. Differential larvicidal efficacy of four species of *Vitex* against *Culex quinquefasciatus* larvae. *Parasitol. Res.*，101:1721—1723.

Kannathasan K，Senthikumar A，Venkatesalu V，Chandrasekaran M，2008. Larvicidal activity of fatty acid methyl esters of *Vitex* against *Culex quinquefasciatus*. *Parasitol. Res.*，103:999—1001.

Shishir T，Ashutosh KM，Pant AK，2008. Insect growth regulatory activity of *Vitex trifolia* and *Vitex agnus-castus* essential oils against *Spilosoma oblique*. *Fitoterapia*，79:283—286.

Talekar NS，Shelton AM，1993. Biology，ecology and management of the diamondback moth. *Annu. Rev. Entomol.*，38:275—301.

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

刘虹伶，李庆，李凤良，李忠英，金剑雪，2010. 小菜蛾不同抗性品系杂交后代对药剂敏感性分析. 西南农业学报，23（2）:416—419.

秦小萍，赵红艳，杨美林，2008. 坡柳种子提取物对小菜蛾的拒食活性. 昆虫知识，45（4）:577—579.

谢超群，张建英，1991. 蔓荆子与牡荆子的鉴别. 中药材，14（7）:25—26.

张宗炳，1988. 杀虫剂的毒力测定. 北京：科学出版社. 123—128.

赵斌，周福才，李传明，周桂生，黄付根，周泽华，顾爱祥，吴蔚，2010. 蓖麻和苘麻叶片提取物对大棚番茄烟粉虱的作用. 扬州大学学报（农业与生命科学版），31

(4):86—89.
中华人民共和国卫生部药典委员会，1995. 中华人民共和国药典(一部). 广州:广东科技出版社∥北京:化学工业出版社. 322.
中科院中国植物志编委会，1982. 中国植物志(马鞭草科). 北京:科学出版社. 10—15.
周乐敏，金莉莉，2001. 蔓荆子真伪鉴别. 时珍国医国药，12(1):50.
周学毛，1998. 太湖县蔓荆子生产调查. 基层中药杂志，12(3):5—6.
朱立成，王祥胜，刘文，张明浪，刘信忠，2007. 牡丹皮等16种中草药提取物抑制植物病原菌的研究. 植物保护，33(3):83—86.

* * * \