

文章编号: 1001-4829(2007)05-1012-04

20种植物的乙醇提取物对桔全爪螨生物活性的初步研究

杨会芝^{1,2}, 胡军华¹, 李庆², 李鸿均¹, 刘浩强¹, 姚廷山¹, 雷慧德^{1*}

(1 中国农业科学院柑桔研究所, 重庆 400712 2 四川农业大学农学院植保系, 四川 雅安 625014)

摘要: 为筛选出更加有效的杀螨植物, 采用玻片浸渍法测定了 20 种植物的乙醇提取物对桔全爪螨的生物活性, 结果表明, 石椒草、臭灵丹、香茶菜和菝葜草对桔全爪螨有明显的触杀作用, LC_{50} 分别为 0.9241、0.9827、0.9905、1.0196 $mg \cdot mL^{-1}$ 。这 4 种植物的杀卵活性测定表明, 石椒草具有显著的杀卵作用, 0.008 $g \cdot mL^{-1}$ 杀卵率达 91.87%, 其杀卵 LC_{50} 为 1.7032 $mg \cdot mL^{-1}$ 。

关键词: 植物提取物; 桔全爪螨; 杀螨活性; 杀卵活性; 筛选

中图分类号: S436.661.23 文献标识码: A

Primary studies of acarocidal activity of twenty plants extracts against *Panonychus citri*

YANG Huizhi^{1,2}, HU Junhua¹, LI Qing², LI Hongjun¹, LIU Haoliang¹, YAO Tingshan¹, LEI Huide^{1*}

(1. Institute of Citrus, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Chongqing 400716, China; 2. College of Agriculture, Sichuan Agricultural University, Sichuan Ya'an 625014, China)

Abstract The bioactivities of ethanol extracts from twenty plants against *Panonychus citri* were measured in the laboratory with the glass plate dipping to find the strongest acaricidal plant. The results demonstrated that *Boenninghausenia sessilicarpa*, *Laggera pterodonta*, *Humulus scandens* and *Rabdosia* of ethanol extracts of which LC_{50} were 0.9241, 0.9827, 0.9905 and 1.0196 $mg \cdot mL^{-1}$, respectively. The extracts of *R. sessilicarpa* possessed significantly ovicidal activity. Four extracts of which LC_{50} was 1.7032 $mg \cdot mL^{-1}$.

Key words ethanol extracts; *Panonychus citri*; acaricidal activity; ovicidal activity; bioactivity-screening

植食性螨类在世界各地的农作物上均有发现。具有体积小、繁殖快、适应性强以及易产生抗药性等特点, 是公认的很难防治的一类有害生物。而桔全爪螨则是柑桔上的主要害螨, 在 20 世纪 50 年代后期有机农药大量使用后上升为主要害虫^[1-2]。使用广谱性杀虫剂, 大量杀伤天敌是该螨大量发生的主要原因^[3]。

随着农药的广泛使用, 在生产活动中忽视了化学防治的“3E”问题, 即效力 (Effective)、效率 (Efficiency) 和环境 (Environment), 继而出现“3R”, 即残留 (Residue)、抗性 (Resistance)、再猖獗 (Resurgence) 问题, 这就迫使人类对农药有了更清醒的认

识。由害螨的抗药性和农药残留问题引起的日益突出的生态环境恶化, 使人们加深了人与自然和谐发展的认识。目前中国农药市场上化学杀螨剂很多, 但是符合害螨综合管理 (Integrated Mite Management) 的生物杀螨剂甚少, 因此, 开发研制高效、广谱、对环境污染少、对天敌伤害小、对害螨的各个生活阶段皆有效且不易产生抗性的安全新型杀螨剂, 乃当务之急。

植物源杀螨剂源于植物, 在自然界代谢途径顺畅, 对人畜和天敌毒性小或无毒, 符合现代农业可持续发展的要求, 具有广阔的发展前景。目前已发现有几十种植物具有杀螨活性^[4-6], 而已登记的植物源杀螨剂仅有 Neem oil UDA-245, RotenoneTM, PhytopirataTM、OikosTM 和果圣^[7] 等少数几种。本实验通过对 20 种植物杀螨活性的初步研究, 试图为植物源杀螨剂的开发利用提供理论依据。

收稿日期: 2007-01-19

基金项目: 三峡移民科技开发专项 (2005EP090003); 农业部公益性行业科研项目 (nyhyzx07-057)

作者简介: 杨会芝 (1978-), 女, 硕士研究生, 助讲, 从事植物源杀螨剂的研究, E-mail: yhzandw@163.com, * 为通讯作者。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 植物材料 供试植物材料于 2005年 7月底和 8月初采集或购买, 分别属于 14科, 共 20种植物(表 1)。

1.1.2 供试螨 桔全爪螨 *Panonychus citri* McGregory 采自中国农业科学院柑桔研究所(重庆, 北碚)的柑桔园, 柑桔树品种为枳壳, 采前未打药。

1.2 方法

1.2.1 提取方法 将采集的植物材料洗净, 于通风处阴干, 然后将阴干的植物置于恒温鼓风烘箱中 45℃烘干, 再用植物试样粉碎机粉碎, 并通过 40目筛, 将植物干粉装入塑料保鲜袋中密封, 放在避光处贮存备用。称取一定量的植物干粉, 加入 6倍量的乙醇, 25℃恒温振荡提取 24 h 有机溶剂提取完毕后, 将植物提取液置于旋转蒸发器上减压浓缩, 将粗提取物保存在 4℃冰箱中备用。

表 1 20种植物的乙醇提取率

Table 1 The ethanol extracted rate of twenty plants

植物名称 Plant	科 Family	学名 Species	制样部位 Sampling sites	提取率 (%) Field
石椒草	芸香科	<i>Boenninghausenia sessilicarpa</i> Levl	全株	12.16
麻黄	麻黄科	<i>Ephedra sinensis</i> Schrenk	地上部分	25.48
臭灵丹	菊科	<i>Laggera perdonata</i>	全株	10.5
葎草	菊科	<i>Humulus scandens</i>	茎、叶	5.52
黄莺	菊科	<i>Solidago canadensis</i> L.	地上部分	8.58
苦苣菜	菊科	<i>Lactuca indica</i> L.	全株	6.63
孔雀草	菊科	<i>Taraxacum officinale</i> L.	地上部分	20.34
野胡萝卜	伞形花科	<i>Daucus carota</i> L.	茎、叶	11.21
接骨草	茄科	<i>Sambucus chinensis</i>	地上部分	17.56
龙葵	茄科	<i>Solanum nigrum</i> L.	根	21.37
鸡矢藤	茜草科	<i>Paederia scandens</i> (Lour) Merr	地上部分	13.67
野烟	半边莲科	<i>Lobelia selinifolia</i> L.	茎、叶	13.23
马桑	马桑科	<i>Coriaria sinensis</i> Maxim	茎、叶	7.86
香茶菜	唇形花科	<i>Rabdosia</i> sp.	茎、叶	7.63
独钉子	石竹科	<i>Panicum polyanthemum</i> W. & C. Wu	种子	13.08
马鞭草	马鞭草科	<i>Verbena officinalis</i> L.	地上部分	8.92
臭牡丹	马鞭草科	<i>Clerodendron bungei</i> L.	全株	12.15
昆明山海棠	卫矛科	<i>Tripterygium hypoglaucum</i>	根	15.63
海芒果	夹竹桃科	<i>Cerbera manghas</i> L.	果实	10.49
小木通	毛茛科	<i>Clematis amandii</i>	茎叶	27.71

1.2.2 生测方法 成螨采用 FAO 推荐用于杀螨剂毒力测定和害螨抗药性监测的生测方法——玻片浸渍法, 并稍做修改。具体做法是: 将双面胶带剪成 2~3 cm 长的方形, 贴在载玻片的一端, 用镊子揭去胶带上的纸片。用小毛笔将大小一致、体色鲜艳、行动活泼的雌成螨背粘于双面胶带上, 每片粘 5 行, 每行粘 8 头。放入温度为 25±1℃, 相对湿度 85% 的生化培养箱中 2 h 后, 在解剖镜下观察, 剔除死亡和不活泼的个体。将带螨的一段玻片浸入测试药液中, 轻轻摇动, 5 s 后取出, 迅速用吸水纸吸干螨体及其周围多余的药液。置于生化培养箱中, 24 h 后取出镜检, 用毛笔轻触螨体, 螨足不动者视为死亡, 并用 Abbott 公式计算校正死亡率。对卵的生物活性测定参照 IRAC 的叶片残毒法, 并稍有改进。方法是: 从田间柑桔树上采集成熟未曾施过药的叶片, 洗净晾干, 除掉原有的卵和螨, 放置于铺有湿棉花的培养皿内, 再将雌成螨 50~60 头接入叶片上, 放在温度

表 2 20种植物乙醇提取物对桔全爪螨的生物活性
Table 2 The mortality of *P. citri* contacted in the extracts of twenty plants at 4 mg·mL⁻¹

植物名称 Plant	死亡率 (%) Mortality	校正死亡率 (%) Corrected mortality
臭灵丹	97.5 aA	97.28 aA
石椒草	92.17 bB	91.89 bB
香茶菜	90.0 bBC	89.19 bcBC
葎草	86.67 cdCD	86.44 cdCD
接骨草	71.67 dE	70.97 eE
小木通	71.17 dE	70.52 eE
野胡萝卜	70.83 fF	69.14 fF
臭牡丹	68.33 fF	65.76 fF
黄莺	65.83 gFG	64.95 fgFG
野烟	60.83 ghGH	59.12 ghGH
龙葵	57.5 hHI	56.41 hHI
海芒果	52.33 jJK	51.92 jJK
苦苣菜	50.83 jkJKL	49.57 jkJKL
昆明山海棠	50.33 kKL	49.09 kKL
孔雀草	49.67 lL	48.2 lL
独钉子	45.83 lmLM	44.44 lmLM
麻黄	42.17 mMN	41.35 mMN
鸡矢藤	40.17 nN	36.49 nN
马鞭草	38.33 oO	35.58 oO
马桑	18.17 pP	17.27 pP

注: 校正死亡率 (%) 为桔全爪螨触杀活性测定的结果, 表中同列数据后字母相同者表示经 DMRT 法检测差异不显著, 其中大写字母为 1% 水平, 小写字母为 5% 水平, (下同)。

Note: Corrected mortality were calculated for the mortality of adults contacted. Mean values in each column, with the same letter are not significantly different at the $\alpha = 0.05$ level (small letter) and $\alpha = 0.01$ level (capital letter). The same below.

表 3 4种植物对桔全爪螨的生物活性

Table 3 The mortality of *P. citri* in four extracts

处理 Treatments	LC ₅₀ (mg·mL ⁻¹)	毒力方程 Regressive equation	相关系数 r Correlation coefficient	95%置信区间 Confidence limit
葎草	1.0196	$y = -0.2391 + 1.582x$	0.9937	0.9589~1.1027
臭灵丹	0.9827	$y = -0.511 + 1.841x$	0.95608	0.9653~1.0326
石椒草	0.9241	$y = -1.599 + 2.225x$	0.9982	0.9024~1.0621
香茶菜	0.9905	$y = 0.020 + 1.662x$	0.9858	0.9764~1.1008

注: 每种溶液为 5 个浓度, 3 次重复。

Note: Solvents include five concentration respectively which were replicated three times

为 25 ± 1 °C, 相对湿度 85% 的生化培养箱中, 让其产卵 24 h 然后剔除雌成螨。将带有卵的叶片浸入药液中, 轻轻摇动 5 s, 取出晾干, 放回培养皿内, 在双目解剖镜下检查卵数, 每片叶 100 粒左右, 剔除多余的卵。每天在棉花上加水保湿。用双目解剖镜每天观察卵的孵化情况, 观察 10 d 记载孵化情况, 不孵化者视为死卵, 计算孵化率。每个处理设 3 次重复, 以蒸馏水为空白对照^[8]。

2 结果与分析

2.1 不同材料的乙醇提取效果

采用乙醇进行恒温振荡提取, 减压除去溶剂烘干后, 各中药植物的乙醇提取率如表 1 所示。提取率的高低反应了这些植物材料中溶于乙醇物质的多少。从表 1 可以看出, 20 种中药植物的乙醇提取物的提取率有很大差异。小木通的提取率最高为 27.71%, 此外麻黄、孔雀草和龙葵的提取率也比较高, 葎草的提取率最低, 仅为 5.52%。

2.2 20种植物的乙醇提取物对桔全爪螨成螨的触杀结果

以各乙醇提取物 4 mg·mL⁻¹ 浓度测试, 结果(表 2)表明: 供试植物均有不同程度的杀螨活性, 其中马桑的杀螨活性最低, 仅有 17.27%, 石椒草、臭灵丹、香茶菜、葎草乙醇提取物对桔全爪螨有极强的毒杀活性, 臭灵丹的死亡率达到 97.5%, 石椒草、香茶菜、葎草分别达到了 92.17%、90% 和 86.67%, 校正死亡率分别为 97.28%、91.89%、89.19%

表 4 几种植物乙醇提取物对桔全爪螨卵的生物活性

Table 4 The ovicidal activities of four extracts at 4 mg·mL⁻¹

处理 Treatments	死亡率 (%) Mortality	校正死亡率 (%) Corrected mortality
石椒草	91.87	90.75 ± 1.8aA
香茶菜	37.15	36.31 ± 1.2bB
葎草	15.28	14.56 ± 0.7cC
臭灵丹	0.73	-0.71 ± 0.02dD
CK	1.52	-

%、86.44%。这几种植物提取物与其它植物提取物的生物活性差异达到显著水平。

2.3 4种植物提取物对桔全爪螨成螨的毒力测定

在对 20 种植物提取物初步筛选的基础上, 对 4 种活性较强的植物乙醇提取物按 4.2、1.0、5 和 0.25 mg·mL⁻¹ 5 种浓度, 进行室内毒力测定, 其毒力回归结果见表 3。石椒草、臭灵丹、香茶菜以及葎草均表现出较强的杀螨活性, 其 LC₅₀ 分别为 0.9241、0.9827、0.9905、1.0196 mg·mL⁻¹, 其中石椒草的活性最强。

2.4 石椒草、臭灵丹、香茶菜以及葎草的杀卵活性

为了明确石椒草、臭灵丹、香茶菜和葎草乙醇提取物对桔全爪螨其它螨态是否有生物活性, 笔者进一步研究了这几种乙醇提取物的杀卵活性, 其结果见表 4。结果表明: 除臭灵丹没有杀卵活性以外, 石椒草、香茶菜和葎草都有一定的杀卵活性, 分别为 91.87%、37.15% 和 15.28%, 其中以石椒草提取物的杀卵活性最强, 其校正死亡率达到了 90.75%。室内按 5.2、5.1、2.5、0.83 和 0.62 mg·mL⁻¹ 5 种浓度进行杀卵毒力测定, 石椒草杀卵的毒力方程为 $y = 1.719x - 0.555$ (LC₅₀: 1.7032 mg·mL⁻¹, 相关系数 $r = 0.9711$, SE50: 0.0781)。

3 讨论与结论

植物是天然活性成分的宝库, 很多植物都具有杀螨活性。在筛选的 20 种植物中, 每种植物均有一定的杀螨活性, 其中以臭灵丹、石椒草、香茶菜和葎草杀螨活性较强, 校正死亡率均达到 80% 以上, 与其它植物差异达到显著水平, 经进一步的生物活性测定表明, 石椒草的杀螨活性最好; 通过对桔全爪螨卵生物活性表明, 石椒草乙醇提取物对螨卵亦有较强的活性。

由于受时间的限制, 本实验也可能存在漏筛问题。本试验仅采用广谱性溶媒乙醇为提取溶剂, 但有些植物杀螨活性成分要通过其它有机溶剂才能浸提出来。另外, 螨类的生物测定方法很多, 在本项研

究中对成螨的活性只采用玻片浸渍法, 没有应用其他生物测定方法, 然而植物成分性质和作用方式不同, 导致生物测定的结果不一样, 有可能有些植物活性成分具有杀螨活性, 但在此未被测定出来。因此采用其它有机溶剂对植物样品进行浸提和应用多种生物测定方法测定植物提取物的杀螨活性还待进一步研究。本文只是测定了各种植物的粗提取物对桔全爪螨的生物活性, 杀螨活性成分的分离、纯化以及其杀螨作用机理还有待进一步的研究。

参考文献:

- [1] 陈守坚, 周芬薇, 庄胜慨, 等. 柑桔红蜘蛛爆发的原因及其防治措施 [J]. 华南农业大学学报, 1980, 1(2): 101-111
- [2] 黄明度. 红蜘蛛的综合防治 [M]. 见: 中国主要害虫的综合防治. 北京: 科学出版社, 1979. 361-369
- [3] 田明义, 梁广文, 庞雄飞. 杀虫剂对桔全爪螨自然种群动态的影

响 [J]. 华南农业大学学报, 1995, 16(1): 64-67.

- [4] Chhasson H, Belanger A, Bostanian N, et al. Acaricidal properties of *Artemisia absinthium* and *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) essential oils obtained by different methods of extraction [J]. J Econ Entomol 2001, 94: 167-171
- [5] Antonious G F, Snyder J C. Natural products repellency and toxicity of wild tomato leaf extracts to the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch [J]. J Environ Sci Health 2006, 41(1): 43-55
- [6] Pan W, Luo P, Fu R, et al. Acaricidal activity against *Panonychus citri* of a ginkgolic acid from the external seed coat of *Ginkgo biloba* [J]. Pest Manag Sci 2006, 62(3): 283-287
- [7] Chhasson H, Bostanian N, Vincent C. Acaricidal Properties of a Chenopodium-Based Botanical [J]. J Econ Entomol 2004, 97(4): 1373-1377.
- [8] 张宗炳. 杀虫药剂的毒力测定 [M]. 北京: 科学出版社, 1988.

(责任编辑 李正华)