

张余杰,秦小萍,周平,等.坡柳皂苷对棉铃虫生长发育的抑制作用[J].江苏农业科学,2014,42(4):103-105.

# 坡柳皂苷对棉铃虫生长发育的抑制作用

张余杰<sup>1</sup>,秦小萍<sup>1</sup>,周平<sup>2</sup>,黎学忠<sup>2</sup>,吴国星<sup>1</sup>

(1. 云南农业大学植物保护学院,云南昆明 650201; 2. 云南省武定县农业技术推广服务中心,云南楚雄 651600)

**摘要:**为了评价坡柳皂苷对棉铃虫的生物活性,在室内采用浸渍叶碟喂法测定坡柳皂苷对棉铃虫生长发育的影响。结果显示:坡柳皂苷对棉铃虫幼虫有明显的抑制作用,对其发育的抑制率随坡柳皂苷处理浓度的升高而逐渐增高;不同坡柳皂苷处理引起的棉铃虫幼虫拒食率大小为 9 mg/mL > 7 mg/mL > 5 mg/mL > 3 mg/mL > 1 mg/mL,24 h 后 9、7、5、3、1 mg/mL 坡柳皂苷处理的拒食率分别为 73.92%、64.18%、62.54%、61.68%、48.02%;坡柳皂苷处理的棉铃虫在化蛹率、羽化率、产卵量及卵的孵化率方面受到一定程度的影响,随着处理浓度的升高,化蛹率、羽化率呈下降趋势,其中不同处理的产卵量与卵的孵化率差异显著。说明坡柳皂苷对棉铃虫的生长发育有明显不利的影响,通过提纯坡柳皂苷活性物质并进行适当的加工,可以开发出绿色环保的鳞翅目害虫抑制剂。

**关键词:**坡柳;乙醇提取物;棉铃虫;拒食率

**中图分类号:** S435.622 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)04-0103-03

坡柳 [*Dodonaea viscosa* (L.) Jacq.] 别称车桑子、铁扫把等,属无患子科,广泛分布于热带与亚热带区域,在我国的云南、广西、贵州等省有大量分布。目前,国内外对坡柳及其提取物的研究报道并不多见,国外主要集中在医学和成分分离等方面,Sachdev 等通过化学研究分离出多种成分,其中包括几种黄酮类化合物和植物酸<sup>[1-2]</sup>、2 种二萜酸<sup>[3]</sup>及一些生物活性成分<sup>[4]</sup>;Wagner 等从坡柳中提取到生物活性皂苷<sup>[5]</sup>;Eloff 等研究证明坡柳叶的甲醇提取物对几种细菌和病毒具有抗菌活性<sup>[6]</sup>;Getie 等报道了坡柳叶的粗提物对链球菌具有抗菌活性<sup>[7]</sup>;Khurram 等通过对坡柳粗提物进行薄层色谱分析发现,坡柳提取物在不同的 Rf 值区域内对芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、藤黄微球菌、大肠杆菌、沙门氏菌、假单胞菌、铜绿假单胞菌具有抑制作用<sup>[8]</sup>;Pirzada 等研究证明,坡柳叶提取物对由黑曲霉、黄曲霉、拟青霉、石膏样小孢子菌、红色毛癣菌引起的皮肤病具有抑制作用,其三氯甲烷、乙醇、甲醇、乙酸乙酯、水提取物都具有抗真菌活性,其中三氯甲烷提取物的抑菌活性较强<sup>[9]</sup>。国内对坡柳的研究主要集中在生态环境、水土保持等方面,陈少瑜等报道了坡柳具有较强的抗旱保水能力<sup>[10]</sup>;李吉跃等研究证明,坡柳在干旱季节可以提高水分利用效率(water use efficiency, WUE),以单位水分消耗换取最大的碳固定,从而节约水分、提高水分利用效率<sup>[11]</sup>;在农药的开发利用方面,赵红艳等报道了坡柳种子提取物对燕麦镰刀菌、番茄早疫病菌、梨黑星病菌、烟草赤星病菌具有较好的抑制作用,同时还发现坡柳种子三氯甲烷提取物对米象具有较高的触杀活性<sup>[12-13]</sup>;杨美林等研究证明了坡柳乙醇提取物对小菜粉蝶幼虫具有很强的拒食活性<sup>[14]</sup>;秦小萍等通过试验发

现,坡柳种子乙醇提取物对菜青虫 4 龄虫具有显著的拒食活性,且对其生长发育的抑制作用明显<sup>[15]</sup>。

棉铃虫属于鳞翅目夜蛾科,是棉花的主要害虫,在我国南、北方棉区均有分布,其 1~2 龄幼虫主要危害棉花的幼蕾、嫩叶或苞叶,3~4 龄幼虫主要危害棉花的生殖器官,从而造成大量蕾铃脱落和烂铃,危害严重时甚至可造成棉花严重减产甚至绝收。据报道,由于连年单一无节制地使用化学农药,棉铃虫的抗性迅速增高,多地棉区的棉铃虫对化学农药及菊酯类农药的抗性达到几十倍甚至 100 倍以上。

目前国内关于棉铃虫的抗性表达和抗性机制方面的研究较多,防治方面的研究主要集中在转基因棉防治、病毒防治、生物防治等方面,有关植物源农药防治棉铃虫的报道较少。本试验以坡柳皂苷为试验材料,研究其对棉铃虫取食和生长发育的影响,以期为进一步在农药中应用坡柳皂苷提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验时间和地点

本研究的室内试验于 2013 年 5—7 月在云南农业大学植物保护学院昆虫系的实验室内进行。

### 1.2 材料与仪器

试验用坡柳皂苷由云南农业大学植物保护学院农药系的植物源农药实验室提供。

供试甘蓝叶采集云南农业大学植物保护学院的温室。

供试用棉铃虫 (*Heliothis armigera* Hübner) 采集于云南农业大学的后山农场油菜地,采集 1~2 龄幼虫后,在云南农业大学植物保护学院的养虫室内用饲料扩繁饲养至 4 龄。选取同一世代、同一虫龄、体重相似的幼虫作为试验用虫。

供试仪器主要有:BCD-215YD 冰箱,青岛海尔股份有限公司;HS-Z68.10 蒸馏水器,北京中兴伟业仪器有限公司;FA2004 上皿电子天平,上海精科仪器有限公司;打孔器、直尺等常用仪器由云南农业大学植物保护学院的植物源农药实验室提供。

收稿日期:2013-08-13

基金项目:云南省教育厅科学研究基金(编号:2013Z029)。

作者简介:张余杰(1984—),男,河南柘城人,硕士研究生,主要从事植物源农药研究。E-mail: yujie840704@126.com。

通信作者:秦小萍,女,山东高密人,博士,副教授,主要从事生物农药的研究。Tel: (0871)65227723; E-mail: qxp99@163.com。

1.3 试验方法

1.3.1 完全拒食活性测定 本试验采用浸渍叶碟饲喂法<sup>[16]</sup>。先在实验室内用分析天平准确称量一定量的坡柳皂苷,再加入适量蒸馏水,分别配制成 1、3、5、7、9 mg/mL 等 5 个质量浓度的药液,用封口膜封好,备用。取若干直径为 6 cm 的小玻璃培养皿,在底部垫入 1 片滤纸后加入少量的蒸馏水保湿,每个培养皿中放入 1 头饥饿 4 h 的 4 龄棉铃虫幼虫;然后用打孔器将甘蓝叶片打成叶碟,将叶碟分别在 5 个不同质量浓度的供试药液中浸渍 1 s,每个对应处理的培养皿中放入 2 张,每个处理重复 25 次;采用蒸馏水处理的叶碟作为对照。当处理组和对照组的试验虫将叶碟取食一定面积后,及时添加新的叶碟。将处理好的培养皿放入室温 25 ℃、相对湿度 70% 的温室内培养,分别于处理后 0、24、48 h 用分析天平逐个称量试验虫的体重;于处理后 24、48 h 后分别用方格纸逐个测量试验虫的取食面积。试验结束后将试验虫按照不同的处理组分别放入指形管中,用饲料饲养至化蛹。当幼虫化蛹后,将蛹取出并放到养虫笼内,然后置于温湿度适宜的环境中等待羽化。将羽化后的成虫在养虫笼内用 5% 蜂蜜水进行营养补充。详细记录试验中各处理组的蛹数、羽化的蛾数、卵粒数及孵化的幼虫数。

1.3.2 数据的计算方法及统计分析 各处理的拒食率<sup>[17]</sup>、发育抑制率<sup>[18]</sup>、化蛹率、羽化率、孵化率分别按以下公式计算。拒食中浓度通过 DPS V6.55 软件进行计算。

拒食率 =  $\frac{\text{对照组取食量} - \text{处理组取食量}}{\text{对照组取食量}} \times 100\%$  ;

发育抑制率 =  $\frac{\text{对照组体重增加量} - \text{处理组体重增加量}}{\text{对照组体重增加量}} \times 100\%$  ;

化蛹率 = 蛹数/试虫总数 × 100% ;

羽化率 = 羽化的蛹数/试虫总数 × 100% ;

孵化率 = 孵化的卵粒数/卵粒总数 × 100% 。

2 结果与分析

2.1 坡柳皂苷对棉铃虫幼虫生长发育的影响

由表 1 可见,坡柳皂苷对棉铃虫幼虫的生长发育抑制率随着其浓度的增加而升高,处理后 24 h,9、7、5、3、1 mg/mL 坡柳皂苷的抑制率分别为 74.24%、70.93%、47.16%、39.37%、19.55%,抑制顺序为 9 mg/mL > 7 mg/mL > 5 mg/mL > 3 mg/mL > 1 mg/mL;从处理后 48 h 的抑制率看,9 mg/mL 处理的效果最好,能达到 65.69%,1 mg/mL 处理效果最差,仅为 16.74%,这可能是由于随着处理浓度的升高,棉铃虫幼虫的味觉感受器受到抑制,从而使得取食量减少。可见,坡柳皂苷对棉铃虫幼虫的生长发育具有较好的抑制作用。

表 1 坡柳皂苷对 4 龄棉铃虫幼虫 24、48 h 的发育抑制率					
坡柳皂苷 质量浓度 (mg/mL)	处理前 虫质量 (mg/头)	处理后 24 h		处理后 48 h	
		虫质量 (mg/头)	抑制率 (%)	虫质量 (mg/头)	抑制率 (%)
9	93.10	112.60	74.24	138.60	65.69
7	108.10	130.10	70.93	159.20	61.46
5	96.40	136.40	47.16	166.50	47.13
3	112.30	158.20	39.37	197.20	35.97
1	103.80	164.70	19.55	214.20	16.74
对照(CK)	95.70	176.40		228.30	

2.2 坡柳皂苷对棉铃虫的拒食活性

从表 2 可以看出,处理后 24 h,9 mg/mL 坡柳皂苷处理的拒食率达到 73.92%,拒食效果较好,1 mg/mL 处理的拒食效果一般,达 48.02%,拒食中浓度为 1 205.62 μg/mL;处理后 48 h,拒食活性随浓度降低而减弱,拒食率分别为 69.95%、67.58%、64.36%、50.58%、31.47%,拒食中浓度为 2 721.31 μg/mL。

由结果可以看出,坡柳皂苷对棉铃虫幼虫具有较好的拒食效果,这可能是坡柳皂苷处理后的叶碟口感较差,从而影响棉铃虫幼虫的味觉系统,进而产生拒食或取食减少。

表 2 坡柳皂苷处理棉铃虫 4 龄幼虫 24、48 h 后的拒食率				
坡柳皂苷质量 浓度(mg/mL)	处理后 24 h		处理后 48 h	
	取食面积 (mm <sup>2</sup> /头)	拒食率 (%)	取食面积 (mm <sup>2</sup> /头)	拒食率 (%)
9	131.99	73.92	238.56	69.95
7	181.25	64.18	257.44	67.58
5	189.57	62.54	282.98	64.36
3	193.92	61.68	392.40	50.58
1	263.07	48.02	544.10	31.47
对照(CK)	506.06		793.99	
回归直线方程	$y = 0.6115x + 3.1158$ $r = 0.9390$		$y = 1.0967x + 1.2330$ $r = 0.9932$	

注:表中 x、y 分别为处理组浓度的对数剂量、拒食率。

2.3 坡柳皂苷对棉铃虫幼虫化蛹数及化蛹率的影响

由表 3 可以看出,不同坡柳皂苷浓度处理的棉铃虫化蛹数目、化蛹率与 CK 之间有差异。整体上看,随着药液浓度的升高,化蛹数及化蛹率均下降,因此可以认为坡柳皂苷对棉铃虫幼虫后期的化蛹具有一定程度的影响,且化蛹率随处理浓度的增加而减小。同时在试验过程中观察到处理组有少量的试验虫未能正常化蛹而出现畸形,可能是因为试验虫的取食量受到抑制,进而干扰到正常的生长发育,或者是由于取食后叶碟上的药液扰乱了试验虫的化蛹激素而造成的。

表 3 坡柳皂苷对棉铃虫幼虫化蛹率的影响		
坡柳皂苷处理浓度 (mg/mL)	化蛹数 (个)	化蛹率 (%)
对照(CK)	20	80
1	17	68
3	15	60
5	14	56
7	14	56
9	12	48

2.4 坡柳皂苷对棉铃虫蛹的羽化数和羽化率的影响

由表 4 可以看出,坡柳皂苷对棉铃虫后期蛹的羽化影响较大,羽化率随着坡柳皂苷处理浓度的增高逐渐降低,9 mg/mL 处理的羽化率仅为 32%,1 mg/mL 处理的羽化率为 64%。此外,本研究还发现少量蛹未能正常羽化,出现仅羽化一半的情况,另外一部分死亡,这可能是由于前期未能正常化蛹,或者在蛹期体内坡柳皂苷影响到其正常发育的结果。

2.5 坡柳皂苷对棉铃虫蛾的产卵量和孵化率的影响

由表 5 可见,坡柳皂苷对棉铃虫后期蛾的产卵量、幼虫数量及孵化率具有较明显影响,CK 与 9 mg/mL 处理之间差异

表 4 坡柳皂苷对棉铃虫蛹的羽化数和羽化率的影响

坡柳皂苷处理 浓度 (mg/mL)	羽化数 (头)	羽化率 (%)	坡柳皂苷处理 浓度 (mg/mL)	羽化数 (头)	羽化率 (%)
对照 (CK)	18	72	5	13	52
1	16	64	7	11	44
3	14	56	9	8	32

较大。产卵量、孵化的幼虫量、孵化率随着坡柳皂苷浓度升高而降低。坡柳皂苷对棉铃虫蛾产卵量及孵化率的影响从高到低依次为 9 mg/mL>7 mg/mL>5 mg/mL>3 mg/mL>1 mg/mL。

表 5 坡柳皂苷对棉铃虫蛾的产卵量及孵化率的影响

坡柳皂苷处理浓度 (mg/mL)	卵粒数 (粒)	幼虫数 (头)	孵化率 (%)
对照 (CK)	2 932	888	30.29
1	2 681	705	26.29
3	2 037	401	19.69
5	1 742	247	14.18
7	1 509	153	10.14
9	1 047	27	2.58

棉铃虫的蛾所产的正常卵粒均呈分散状,卵粒之间有间距,然而在试验中观察到 9 mg/mL 处理组蛾所产的部分卵畸形并凝结成块(图 1),直到这些成块的卵粒变黑、试验完全结束时均未观察到有幼虫孵化,这可能是由于 9 mg/mL 坡柳皂苷严重干扰到蛾的生殖系统,使其不能正常产卵或所产卵为畸形,以致于不能孵化而造成的。

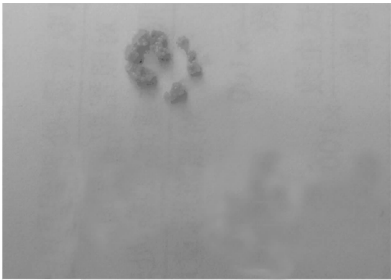


图 1 9 mg/mL 坡柳皂苷处理组蛾所产的部分畸形卵块

3 结论与讨论

棉铃虫为杂食性害虫,不仅严重危害棉花,同时还危害西瓜、番茄、烟草、小麦等作物,但尚未有侵害坡柳的报道。本试验证实坡柳皂苷对棉铃虫幼虫的生长发育和取食具有较好的抑制作用,但是随着时间的增加,发育抑制率和拒食率却下降,这可能是由于棉铃虫幼虫能很快适应坡柳皂苷,从而对其不敏感,这是拒食剂所特有的应用问题之一<sup>[14]</sup>,在以后的研究进程中应改善这一问题。此外,试验中人为操作也会对试验结果产生一定程度的影响。本试验只进行了坡柳皂苷对棉铃虫生长发育影响的研究,未进行坡柳皂苷的进一步纯化、改造、盆栽试验及对害虫作用机制研究,这些是未来研究重点。

本试验证明,坡柳皂苷不仅对棉铃虫幼虫的取食具有较好的抑制作用,也对后期幼虫的化蛹、蛹的羽化、蛾的产卵及卵的孵化有不利影响。因此,将坡柳皂苷进一步纯化和加工就可以用来制造绿色环保的新型植物源农药。同时,将现有

的理论和手段与其他防治方式相结合,能为棉铃虫的防治提供更多思路。

参考文献:

[1] Sachdev K, Kulshreshtha D K. Aliarin, a new flavonoid from *Dodonaea viscosa* Linn[J]. Indian Journal of Chemistry, Section B: Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry, 1982, 21B(8): 798-799.

[2] Sachdev K, Kulshreshtha D K. Flavonoids from *Dodonaea viscosa* [J]. Phytochemistry, 1983, 22(5): 1253-1256.

[3] Hsü H Y, Chen Y P, Kakisawa H. Structure of hautriwaic acid[J]. Phytochemistry, 1971, 10(11): 2813-2814.

[4] Dimbi M Z, Kapundu M, Darimont E, et al. Triterpentrôides de *Dodonaea viscosa* [J]. Bulletin des Sociétés Chimiques Belges, 1985, 94(2): 141-148.

[5] Wagner H, Ludwig C, Grotjahn L, et al. Biologically active saponins from *Dodonaea viscosa* [J]. Phytochemistry, 1987, 26(3): 697-701.

[6] Eloff J N, Teffo L S, Toms R B, et al. The possible interaction between an edible insect and five antibacterial kaempferol methyl ethers isolated from *Dodonaea viscosa* Jacq. var. *angustifolia* (Sapindaceae) leaf extracts[J]. Planta Medica, 2007, 73(9): 808.

[7] Getie M, Gebre - Mariam T, Rietz R, et al. Evaluation of the anti - microbial and anti - inflammatory activities of the medicinal plants *Dodonaea viscosa*, *Rumex nervosus* and *Rumex abyssinicus* [J]. Fitoterapia, 2003, 74(1/2): 139-143.

[8] Khurram M, Khan M A, Hameed A, et al. Antibacterial activities of *Dodonaea viscosa* using contact bioautography technique[J]. Molecules, 2009, 14(3): 1332-1341.

[9] Pirzada A J, Shaikh W, Usmanghani K, et al. Antifungal activity of *Dodonaea viscosa* Jacq extract on pathogenic fungi isolated from superficial skin infection[J]. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 2010, 23(3): 337-340.

[10] 陈少瑜, 郎南军, 贾利强, 等. 干旱胁迫对坡柳等抗旱树种幼苗膜脂过氧化及保护酶活性的影响[J]. 植物研究, 2006, 26(1): 88-92.

[11] 李吉跃, 贾利强, 郎南军, 等. 金沙江干热河谷坡柳的光合特性[J]. 北京林业大学学报, 2003, 25(5): 20-24.

[12] 赵红艳, 秦小萍, 杨美林. 坡柳种子提取物对米象触杀作用初报[J]. 云南农业大学学报, 2007, 22(6): 942-944.

[13] 赵红艳, 杨美林. 坡柳种子提取物对 4 种植物病原真菌的抑菌作用[J]. 云南农业大学学报, 2006, 21(4): 467-470.

[14] 杨美林, 周天雄, 顾 芳. 瑞香狼毒和坡柳提取物对小菜粉蝶幼虫的拒食活性测定[J]. 云南农业大学学报, 2003, 18(4): 354-357.

[15] 秦小萍, 赵红艳, 杨美林. 坡柳种子提取物对菜青虫取食和生长发育的影响[J]. 农药, 2007, 46(7): 494-495, 499.

[16] 张宗炳. 杀虫剂的毒力测定[M]. 北京: 科学出版社, 1988: 123-128.

[17] 慕立义. 植物化学保护研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994: 76-79.

[18] 朱九生, 乔雄梧, 王 静, 等. 杠柳根皮粗提液对菜青虫生物活性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2006, 14(1): 185-188.