

邢燕燕,韩俊艳,刘广纯. 18 种植物乙醇提取物对二斑叶螨的杀螨活性[J]. 江苏农业科学,2014,42(8):121-123.

# 18 种植物乙醇提取物对二斑叶螨的杀螨活性

邢燕燕,韩俊艳,刘广纯

(沈阳大学/城市有害生物治理与生态安全辽宁省重点实验室,辽宁沈阳 110044)

**摘要:**采用室内玻片浸渍法和叶片浸渍法对 18 种植物乙醇提取物进行了二斑叶螨雌成螨和卵的触杀活性测定。结果表明,紫茉莉、臭椿、鸡爪槭、紫花地丁、牛膝菊和藜对雌成螨的生物活性较高,在 10 mg/mL 时,其 72 h 校正死亡率均为 100%。根据初筛结果对这 6 种植物提取物进行雌成螨和卵的毒力测定,都表现出较强的毒力,其中对雌成螨的  $LC_{50}$  依次为 4.078、4.686、4.358、5.535、3.679、7.378 mg/mL,对卵的  $LC_{50}$  在 11.176~60.651 mg/mL 之间。

**关键词:**植物提取物;二斑叶螨;触杀活性;校正死亡率;毒力

**中图分类号:**S482.3<sup>+</sup>9 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2014)08-0121-03

二斑叶螨(*Tetranychus urticae*)是一种危害严重的农林业害虫,在我国各地普遍存在。由于繁殖能力强、世代周期短,二斑叶螨在适宜的条件下种群可迅速扩大,危害植物达 150 余种,严重影响其产量及品质。对二斑叶螨的控制目前主要依赖于化学农药,但二斑叶螨的生物特性决定了它比其他害虫更易对化学农药产生抗药性<sup>[1]</sup>。而且化学杀螨剂在杀灭害螨的同时,还会非选择性的杀灭天敌及其他有益生物,破坏生态平衡,并会对生态环境和人类健康产生一定的负面影响。植物体内含有一些黄酮类、生物碱类、苦楝素类、香豆素类等次生代谢物质,这些次生代谢物质与害虫长期协同进化来防御病虫害对其自身的侵害,且这些杀虫物质是自然界中本来存在的物质,对环境污染轻,对人畜健康安全;对害虫作用较为缓慢,主要用于抑制害虫种群增长,符合 IPM 理论和农业可持续发展战略。植物源杀螨剂的开发研制成为杀螨剂研究的一个热点。笔者采集了 15 科 18 种植物,利用其乙醇提取物对二斑叶螨雌成螨和卵进行室内触杀活性测定,为筛选植物源杀螨活性物质进而研制杀螨剂提供基础数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

收稿日期:2013-10-24

基金项目:辽宁省教育厅重大科技平台项目。

作者简介:邢燕燕(1987—),女,山东聊城人,硕士研究生,从事植物源农药研究。E-mail:359268317@qq.com。

通信作者:刘广纯,博士,教授,从事昆虫分类与害虫防治研究。E-mail:liugc01@163.com。

试验所用植物材料均采于沈阳大学及其周边绿地,共 15 科 18 种(表 1)。将采集的植物材料洗净、阴干,置于中草药粉碎机中粉碎,过 80 目筛,密封,放入 4℃ 医用冷藏柜中备用。

表 1 18 种测试植物名录

植物名称	科名	采集部分	采集地点
小薊	菊科	干燥全草	沈大社区
黄花蒿	菊科	干燥全草	沈阳大学
蒲公英	菊科	干燥全草	沈阳大学
牛膝菊	菊科	干燥全草	沈阳大学
臭椿	苦木科	叶子	沈大社区
桑	桑科	叶子	沈阳大学
紫花地丁	堇菜科	干燥全草	沈阳大学
景天	景天科	地上干燥部分	沈阳大学
三叶草	豆科	干燥全草	沈阳大学
紫茉莉	紫茉莉科	干燥全草	沈大社区
鸡爪槭	槭树科	叶子	沈大社区
芦荟	百合科	干燥全株	沈阳大学
棕榈	棕榈科	叶子	沈阳大学
爬山虎	葡萄科	叶子	沈阳大学
藜	苋科	干燥全草	沈阳大学
车前草	车前科	干燥全草	沈大社区
紫苏	唇形科	干燥全草	沈大社区
红蓼	蓼科	干燥全草	沈阳大学

二斑叶螨来自辽宁省城市有害生物治理与生态安全重点实验室。饲养条件:智能人工气候箱,温度(25±1)℃、相对湿度 60%~65%,光照为 16 h:8 h(L:D)。以雌成螨为试验用虫。

[12]方金瑞,黄维真. 海洋极端微生物的分离及其开发研究——嗜碱、嗜冷微生物的分离及其产生的活性物质[J]. 中国海洋药物,1996(1):5-10.

[13]Shieh W Y, Jean W D, Lin Y T, et al. *Marinobacter lutaoensis* sp. nov., a thermotolerant marine bacterium isolated from a coastal hot spring in Luta, Taiwan[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2003, 49(4): 244-252.

[14]林永成,周世宁. 海洋微生物及其代谢产物[M]. 北京:化学工业出版社,2003:1-32.

[15]袁军,孙福在,田宏先,等. 防治马铃薯环腐病有益内生细菌的分离和筛选[J]. 微生物学报,2002,42(3):270-274.

[16]东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京:科学出版社,2001.

[17]赵斌,何绍江. 微生物学实验[M]. 北京:科学出版社,2002.

[18]刘全永,胡江春,薛德林,等. 海洋微生物活性物质研究[J]. 应用生态学报,2002,13(7):901-905.

[19]何培青,田黎,李光友,等. 海洋细菌 B-9987 胞外代谢产物的纯化及抑菌机理初探[J]. 海洋与湖沼,2002,33(5):492-498.

1.2 方法

1.2.1 植物提取物的制备 取粉碎的植物材料各 20 g 置于锥形瓶中,以 1∶10 的比例加入无水乙醇,室温下浸泡提取 3 次,每次 3~5 d,抽滤,合并浸提液,用旋转蒸发仪减压浓缩得各植物材料提取物,计算提取率,并将各植物提取物配制成 10 mg/mL 的供试药液,备用。

1.2.2 对二斑叶螨雌成螨的室内触杀活性测定 采用联合国粮农组织推荐的玻片浸渍法<sup>[2]</sup>并稍加改进:将双面胶粘在载玻片的一端,用零号毛笔轻轻挑取体色相同、活泼的雌成螨,将其背部贴在双面胶上,在解剖镜下剔除受伤或粘得不合格的螨,最终使每个载玻片上有 30 头雌成螨。将粘有雌成螨的载玻片的一端浸入供试药液或空白对照溶液(1%吐温 80 蒸馏水溶液和少量无水乙醇)中,使螨体完全浸入药液,轻轻振荡 5 s,取出后迅速用吸水纸吸去螨体周围多余药液,然后将载玻片放在与上述饲养条件一致的智能人工气候箱中培养。每隔 24 h 镜检 1 次,用毛笔轻触螨体,螨足不动者视为死亡,每处理重复 3 次。计算各试验组的校正死亡率。

1.2.3 对二斑叶螨卵的室内触杀活性测定 参照联合国粮农组织推荐的叶片浸渍法<sup>[2]</sup>并有所改进:将新鲜、生长旺盛的叶片放在有一定厚度湿棉花的培养皿中,用零号毛笔分别向每张豆叶上挑取健康活泼的雌成螨 10 头,为防害螨逃逸,用湿棉球和湿棉条将叶柄及叶片周边围好。将培养皿放在温度为(25±1)℃,相对湿度 60%~65%的智能人工气候箱中任其产卵 4 h,在解剖镜下剔除雌成螨和多余的卵,最终确保每张叶片上有 30 粒卵。将带卵叶片浸入事先配制好的供试溶液及空白对照溶液中,轻轻晃动 5 s,取出晾干,放置在培养皿中,重新用湿棉条围好,在与上述条件一致的人工气候箱中培养。每天在棉花上加水保湿,每隔 24 h 在解剖镜下观察卵

的孵化情况,记录 7 d,7 d 内未孵化的卵视为死亡,每处理重复 3 次。计算各试验组及对照组卵的孵化率。

1.2.4 6 种植物提取物对二斑叶螨雌成螨和卵的毒力测定 将杀螨活性较好的植物提取物在初试的基础上分别配制成 12.8、6.4、3.2、1.6、0.8 mg/mL 5 个质量浓度不同的溶液,采用玻片浸渍法和叶片浸渍法对二斑叶螨的雌成螨和卵进行毒力测定,确定 6 种植物提取物的杀螨毒力。

1.2.5 数据统计分析 试验数据根据 Abbott 公式<sup>[3]</sup>计算校正死亡率,用 Tukey test 进行方差分析,按 Probit 分析法<sup>[4]</sup>进行线性回归,计算毒力回归方程、致死中浓度(LC<sub>50</sub>)及 95%置信区间等。

2 结果与分析

2.1 18 种植物乙醇提取物对二斑叶螨雌成螨和卵的触杀活性

利用相似相容原理,采用冷浸法对 18 种植物材料在无水乙醇中进行浸提。由表 2 可知,各植物材料提取率各不相同,其中牛膝菊的提取率最低,仅为 5.1%,芦荟的提取率最高,为 29.75%,这主要与植物材料本身的性质有关。通过对二斑叶螨雌成螨的触杀结果可知,随着时间的延长,18 种植物提取物对害螨的触杀活性逐渐增强,处理 24 h 后芦荟、臭椿、鸡爪槭对害螨的校正死亡率超过了 80%,处理 72 h 后紫茉莉、臭椿、鸡爪槭、紫花地丁、牛膝菊和藜对雌成螨都表现出较强的触杀活性,校正死亡率均达到了 100%。对卵孵化率测定结果显示,除紫苏、红蓼外,其他植物材料均对害螨的卵有一定的触杀活性,只是对卵的触杀活性没有对雌成螨的触杀活性强。

表 2 18 种植物乙醇提取物对二斑叶螨雌成螨和卵的触杀活性及提取率(n=30)

植物名称	提取率(%)	24 h 校正死亡率(%)	72 h 校正死亡率(%)	7 d 卵孵化率(%)
芦荟	29.75	80.95±2.06hi	97.22±4.81ef	76.67±3.33bc
景天	15.15	21.43±6.19bc	84.72±2.41cde	92.22±1.92defgh
紫茉莉	10.80	64.29±7.14gh	100f	85.56±5.09bcdefgh
黄花蒿	23.00	23.81±5.46bc	83.33±4.17cd	82.22±11.71bcdef
臭椿	18.30	88.10±2.06i	100f	51.11±5.09a
三叶草	16.75	35.71±3.57cde	88.89±6.36cdef	83.33±3.33bcdefg
爬山虎	20.08	23.33±3.33bc	76.81±2.51c	87.78±5.09bcdefg
牛膝菊	5.10	55.56±5.09fg	100f	74.44±5.09b
蒲公英	21.05	24.44±5.09bcd	76.81±6.64c	91.11±6.94cdefgh
紫花地丁	17.40	56.67±5.77fg	100f	78.89±1.92bcd
桑叶	10.75	34.44±5.09cde	50.72±5.02b	87.78±3.85bcdefgh
鸡爪槭	16.00	89.29±12.37i	100f	80.00±3.33bcde
棕榈	16.30	78.57±3.57hi	92.75±2.51def	91.11±5.09cdefgh
小蓟	13.20	25.29±7.18bcde	81.94±8.67cd	94.44±1.92efgh
车前草	10.90	41.38±9.12def	86.11±6.36cde	93.33±3.33defgh
红蓼	15.05	2.22±1.92a	4.76±2.06a	98.89±1.92h
紫苏	10.95	15.56±1.92ab	90.48±8.99cdef	97.78±1.92gh
藜	11.65	42.22±1.92ef	100f	78.89±6.94bcd

注:同列数据后不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著(P<0.05)。

2.2 6 种植物提取物对二斑叶螨雌成螨和卵的毒力测定

18 种植物提取物对二斑叶螨雌成螨和卵的触杀活性测定结果表明,鸡爪槭、紫花地丁、牛膝菊、紫茉莉、臭椿和藜提

取物对二斑叶螨具有良好的生物活性。对这 6 种植物提取物进行雌成螨和卵的毒力测定,结果见表 3。鸡爪槭、紫花地丁、牛膝菊、紫茉莉、臭椿和藜等 6 种植物提取物 24 h 内对二

斑叶螨雌成螨均表现出较强的杀螨活性,LC<sub>50</sub> 在 3. 679 ~ 7. 378 mg/mL 之间;7 d 内对卵也表现出一定的触杀活性,其 LC<sub>50</sub> 分别为 13. 911、44. 548、43. 931、52. 968、11. 176、60. 651 mg/mL。

表 3 6 种植物提取物对二斑叶螨雌成螨和卵的毒力(n = 20)

作用对象	植物提取物	回归方程	相关系数(r)	致死中浓度及其 95% 置信区间 (mg/mL)
雌成螨	鸡爪槭	$y = 0. 039 + 0. 073x$	0. 9510	4. 358(3. 726 ~ 5. 144)
	紫花地丁	$y = 0. 008 + 0. 067x$	0. 9790	5. 535(4. 618 ~ 6. 815)
	牛膝菊	$y = 0. 026 + 0. 084x$	0. 9262	3. 679(3. 009 ~ 4. 536)
	紫茉莉	$y = -0. 006 + 0. 084x$	0. 9660	4. 078(3. 569 ~ 4. 685)
	臭椿	$y = 0. 040 + 0. 070x$	0. 9400	4. 686(3. 967 ~ 5. 612)
	藜	$y = -0. 044 + 0. 063x$	0. 9900	7. 378(6. 208 ~ 9. 089)
卵	鸡爪槭	$y = -0. 028 + 0. 040x$	0. 9772	13. 911(10. 561 ~ 21. 444)
	紫花地丁	$y = 0. 010 + 0. 017x$	0. 9187	44. 548(21. 697 ~ 268. 705)
	牛膝菊	$y = 0. 015 + 0. 018x$	0. 8832	43. 931(21. 330 ~ 262. 894)
	紫茉莉	$y = -0. 004 + 0. 014x$	0. 9236	52. 968(24. 378 ~ 489. 896)
	臭椿	$y = -0. 015 + 0. 046x$	0. 9721	11. 176(8. 702 ~ 16. 086)
	藜	$y = -0. 012 + 0. 011x$	0. 8922	60. 651(25. 963 ~ 1445. 836)

注:以处理 24 h 试验数据计算对雌成螨的 LC<sub>50</sub>,以处理 7 d 试验数据计算对螨卵的 LC<sub>50</sub>。

3 结论与讨论

用乙醇浸提的 18 种植物提取物对二斑叶螨雌成螨和卵的触杀结果表明,鸡爪槭、臭椿、藜、紫茉莉、紫花地丁和牛膝菊这 6 种植物提取物对二斑叶螨的雌成螨和卵均具有较强的触杀活性,其中臭椿提取物对二斑叶螨卵的触杀活性最强,卵的孵化率仅为 51. 11%。鸡爪槭、牛膝菊等 6 种植物提取物对二斑叶螨的毒力测定结果表明:6 种植物提取物对二斑叶螨雌成螨均有较强的触杀活性。臭椿提取物对二斑叶螨卵的毒力最高,其 LC<sub>50</sub> 为 11. 176 mg/mL。

植物源杀螨剂是环境友好型农药的发展方向,也是目前农药研制的热点,韩俊艳等利用石油醚、丙酮、甲醇等有机溶剂对中草药北细辛进行浸提,并测定其对二斑叶螨雌成螨和卵的触杀活性,发现北细辛甲醇提取物对害螨雌成螨和卵具有较好的触杀作用<sup>[5]</sup>。杀螨植物中的杀螨活性物质一般可以直接利用,也可以将这些杀螨活性物质作为杀螨先导化合物,对其进行修饰合成,为进一步研制此类农药新品种奠定基础。在我国,邹怀波等曾把中草药姜黄中的活性成分姜黄素进行修饰改造成姜黄素缩二,发现其对二斑叶螨触杀效果较好<sup>[6]</sup>。但是,目前对杀螨植物中活性成分分离鉴定的研究仍较少,大都集中在对杀螨植物的筛选与生物活性测定上。近年来,对臭椿皮提取物的研究较多,表明其氯仿提取物对人宫颈癌细胞、骨肉瘤细胞 SAOS 等有细胞毒作用<sup>[7]</sup>;其水提取物腹腔注射对小鼠肉瘤 S180 和肝癌 H22 移植性肿瘤有较强的抑制作用<sup>[8]</sup>;其醇提取物在抗病毒<sup>[9-11]</sup>、抗炎<sup>[12]</sup>、抑菌<sup>[13]</sup>等方面有较好的抑制作用;此外,臭椿提取物在触杀光肩星天牛<sup>[14]</sup>、驱避米象、赤拟谷盗<sup>[15]</sup>等储粮害虫方面也有较好的防治效果。目前还未有关于臭椿杀螨活性物质的相关报道。因此,有必要进一步开发植物资源,并进行生物活性测定及杀螨活性物质化学成分分离、活性跟踪及鉴定,为植物源杀螨剂的研制提供技术数据。

参考文献:

[1]何 林,杨 羽,符建章,等. 朱砂叶螨阿维菌素抗性品系选育及

适合度研究[J]. 植物保护学报,2004,31(4):395-400.  
[2]Ismail M S,Soliman M F,El Naggat M H,et al. Acaricidal activity of spinosad and abamectin against two - spotted spider mites[J]. Experimental & Applied Acarology,2007,43(2):129-135.  
[3]Abbott W S. A method of computing the effectiveness of an insecticide[J]. Journal of the American Mosquito Control Association,1987,3(2):302-303.  
[4]王 燕,师光禄,王有年,等. 中草药提取物对朱砂叶螨杀螨活性的筛选[J]. 中国农学通报,2008,24(5):323-326.  
[5]韩俊艳,王 军,孙晓逊,等. 北细辛提取物对二斑叶螨的毒性[J]. 江苏农业学报,2011,27(5):1007-1010.  
[6]邹怀波,丁 伟,周 刚. 姜黄素缩二(2,4-二硝基苯胍)的合成及杀螨活性[M]//成卓敏. 农业生物灾害预防与控制研究. 北京:中国农业科学技术出版社,2005.  
[7]de Feo V,Martino L D,Santoro A,et al. Antiproliferative effects of tree - of - heaven(Ailanthus altissima Swingle)[J]. Phytotherapy Research,2005,19(3):226-230.  
[8]李雪萍. 臭椿皮提取物体内抗肿瘤作用的实验研究[J]. 甘肃科学学报,2003,15(4):124-125.  
[9]Okano M,Fukamiya N,Tagahara K,et al. Anti - HIV activity of quassinoids[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,1996,6(6):701-706.  
[10]Ohmoto T,Koike K. Antiherpes activity of Simaroubaceae alkaloids in vitro[J]. Shoyakugaku Zasshi,1988,42(2):160-162.  
[11]Jin MeiHua,Yook J, Lee E, et al. Anti - inflammatory activity of Ailanthus altissima in ovalbumin - induced lung inflammation[J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin,2006,29(5):884-888.  
[12]沈建国,张正坤,吴祖建,等. 臭椿和鸦胆子抗烟草花叶病毒作用研究[J]. 中国中药杂志,2007,32(1):27-29.  
[13]何 颖,刘 伟,陈忠伟,等. 苦木生物碱体外抑制大肠杆菌效果的研究[J]. 安徽农业科学,2008,36(7):2777-2778.  
[14]曹 兵,李治中,姬学龙,等. 臭椿提取物对光肩星天牛的驱避作用[J]. 南京林业大学学报:自然科学版,2004,28(1):47-49.  
[15]吕建华. 臭椿树皮提取物对四种主要储粮害虫的生物活性研究[J]. 粮食储藏,2007,36(2):17-20.