

三叶鱼藤提取物对普通大蓟马的杀虫活性初步研究*

黄丹慤 史丹妮 李敦禧 田 蜜 郭 霞

(海南省林业科学研究院, 海南 海口 571100)

摘要 普通大蓟马 *Megalurothrips usitatus* 是冬季海南豇豆 *Vigna unguiculata* 的主要害虫, 每年均对豇豆生产造成严重危害。为了挖掘防治蓟马的药剂, 以普通大蓟马 2 龄若虫和成虫为靶标, 采用药膜法测试三叶鱼藤 *Derris trifoliata* 提取物对靶标害虫的触杀活性。结果表明, 三叶鱼藤乙酸乙酯相对普通大蓟马 2 龄若虫和成虫显示较好的触杀活性, 与对照药剂鱼藤酮无显著性差异; 乙酸乙酯相 24 h 对蓟马 2 龄若虫的触杀活性为 92.22%, EC_{50} 值为 1.158 mg/mL。由此表明三叶鱼藤乙酸乙酯相有较好的活性, 为蓟马防治和三叶鱼藤利用提供了新途径。

关键词 三叶鱼藤; 鱼藤酮; 普通大蓟马; 触杀活性

中图分类号: S482.3 文献标志码: A 文章编号: 2096-2053 (2020) 06-0071-04

Preliminary Study on Insecticidal Activity of *Derris trifoliata* Extract against *Megalurothrips usitatus*

HUANG Danmin SHI Danni LI Dunxi TIAN Mi GUO Xia

(Hainan Academy of Forestry, Haikou, Hainan 571100, China)

Abstract *Megalurothrips usitatus* is the main pest of *Vigna unguiculata* in winter in hainan and causes serious damage every year. In order to finding the control agents for *Megalurothrips usitatus*, in this paper, the contact activities of *Derris trifoliata* extracts were tested against 2-instar nymphs and adults of *Megalurothrips usitatus* using film method. The results showed that the ethyl acetate extract of *Derris trifoliata* exhibited excellent contact activity against the 2-instar nymphs and adults, and there was no significant difference with the control rotenone. The contact activity of ethyl acetate extract against the 2-instar nymph was 92.22% and the EC_{50} value was 1.158 mg/mL at 24 h. Thus, this study indicated that the ethyl acetate phase of *D. trifoliata* had better activity and provided a new way for the control of thrips and utilization of *D. trifoliata*.

Key words *Derris trifoliata*; rotenone; *Megalurothrips usitatus*; contact activity

三叶鱼藤 *Derris trifoliata* 属蝶形花科 Papilionaceae 鱼藤属 *Derris* 多年生藤本植物。该植物分布于亚洲热带及亚热带地区, 在我国的分布主要在广东、广西和海南等地。三叶鱼藤的根、茎、叶均有毒, 民间常用作捕鱼或杀虫剂^[1-3]。1902 年, 日本永井一雄首次从中华鱼藤 *D. chinensis* 根中分离得到有杀虫作用的鱼藤酮, 随后毛鱼藤酮、鱼

藤素、马来鱼藤酚等活性成分被分离^[4]。建国初期, 鱼藤是我国三大传统杀虫植物之一^[5-6]。在 19 世纪中叶, 中国已用鱼藤根制作杀虫剂^[7]。鱼藤杀虫谱很广, 据试验, 它对 18 目 150 科 549 属 784 种害虫均有毒杀力, 而对蓟马、螨、家蝇、蚜虫、夜蛾、玉米螟、小菜蛾等重要的农林害虫的毒杀效果特佳。鱼藤提取物还能抑制某些病原孢

* 基金项目: 海南省重点研发计划项目 (ZDYF2019056)。

第一作者 / 通信作者: 黄丹慤 (1989—), 女, 助理工程师, 主要从事林业有害生物调查研究, E-mail: 327407660@qq.com。

子的萌发和生长,或阻止病菌侵入植株。它是一种理想的植物源杀虫剂^[8],具有绿色环保特性,在当今双减(减肥减药)政策的指导下,三叶鱼藤将有更加广阔的应用空间。

普通大蓟马 *Megalurothrips usitatus* 属缨翅目,蓟马科,是蔬菜、花卉等多种农作物具有毁灭性危害的世界性入侵害虫^[9]。由于其繁殖快、寄主植物广、对农药抗性强,呈放射状向四周扩散的特点^[10-11],对农作物尤其是蔬菜和花卉产业造成惨重损失^[12]。在豇豆种植过程中,蓟马是严重危害豇豆的 2 虫 1 病(蓟马、斑潜蝇、枯萎病)之一,它会造成豇豆减产绝收,给当地农户造成重大经济损失^[13]。

三叶鱼藤在海南伴生在红树林植物中,是红树林植物的重要“杀手”,严重破坏了红树林生态系统^[14-15],海南每年消耗大笔资金用于防除三叶鱼藤植物。为了充分合理利用鱼藤资源,变废为宝,本研究拟开展三叶鱼藤提取物对普通大蓟马的杀虫活性测试,为拓展该植物的应用领域做铺垫。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

普通大蓟马采自乐东县抱由镇抱邱村豇豆地。室内用无农药污染的豇豆豆荚饲养,控制温度为 $28 \pm 2^\circ\text{C}$,光照周期为 12 h/12 h(光/黑),相对湿度为 $75 \pm 2\%$ 。挑选第二代大小相同的 2 龄若虫和成虫进行实验^[16]。

1.2 实验方法

1.2.1 三叶鱼藤提取物的制备 2019 年 3 月,从海口市东寨港红树林保护区采摘危害红树林的三叶鱼藤,晾干、切段、压碎后粉碎,过 40 目筛。随后用 95% 工业酒精浸泡,浸泡时间分别为 6、3、1 d,过滤、合并滤液,在 45°C 下减压浓缩,得墨绿色浸膏粗提物,于 4°C 下保存备用。向浸膏中加入自来水,分别用石油醚、乙酸乙酯、氯仿和正丁醇萃取,分别得到石油醚萃取液、乙酸乙酯萃取液、氯仿萃取液、正丁醇萃取液和水, 50°C 下减压浓缩各萃取液,置于真空干燥箱(宁波江南有限公司, C2F-6020)中干燥,得到石油醚相、乙酸乙酯相、氯仿相、正丁醇相和水相,于 4°C 下保存备用。

1.2.2 三叶鱼藤提取物对普通大蓟马 2 龄若虫和成虫的触杀活性测定 采用药膜法^[17]测试三叶鱼

藤提取物对普通大蓟马 2 龄若虫和成虫的触杀活性。称取三叶鱼藤提取物各 8 mg,取 1 mL 丙酮溶解,配制成 8 mg/mL 溶液,置于指型管中,倾斜指型管,让药液均匀分布在管壁,待丙酮挥发后,管壁附着一层药膜。挑选大小一致普通大蓟马 2 龄若虫和成虫各 30 只,放入指型管中,待虫爬行 30 min 后,取出置于 9 cm 培养皿中,用新鲜豇豆豆荚饲养。鱼藤酮为标准药剂对照(Sigma 公司,含量 99%),清水为空白对照。每个处理重复 3 次,分别于 24、48 h 后检查蓟马 2 龄若虫和成虫的死亡数(以毛笔尖触动虫体,不动者为死亡),按照下列公式计算死亡率或校正死亡率。

死亡率(%) = (处理组死亡数 - 对照组死亡数) / 对照组死亡数 $\times 100$

校正死亡率(%) = [(处理组死亡率 - 对照组死亡率) / (1 - 对照组死亡率)] $\times 100$

1.2.3 三叶鱼藤乙酸乙酯相对普通大蓟马 2 龄若虫和成虫的毒力测定 将三叶鱼藤乙酸乙酯相配置成 8 mg/mL 母液,根据浓度梯度稀释法,用丙酮将其配稀释成 4、2、1、0.5、0.25 mg/mL 5 个浓度。测试方法同上,鱼藤酮为标准药剂对照,浓度为 4、2、1、0.5、0.25 mg/mL。每个处理重复 3 次,24 h 后检查蓟马 2 龄若虫和成虫的死亡率,计算毒力回归方程。

1.3 统计分析

使用 excel 2007 和 SPSS Statistics 22 软件进行数据的统计分析。

2 结果与分析

2.1 三叶鱼藤提取物对普通大蓟马 2 龄若虫和成虫的触杀活性结果

根据药膜法,在质量浓度 8 mg/mL 下,三叶鱼藤提取物对普通大蓟马 2 龄若虫和成虫的触杀活性结果见表 1。由表 1 可知,不同提取物对普通大蓟马触杀活性存在较大差异。其中乙酸乙酯相对蓟马 2 龄若虫和成虫都显示较好的活性,与标准药剂鱼藤酮无差异显著性;其次为正丁醇相和氯仿相。由此表明,活性物质主要集中在乙酸乙酯相。水相的活性低于粗提物活性,表明水相中活性物质很少。不同时间比较可知,乙酸乙酯相对蓟马 2 龄若虫在 24 h 的触杀活性为 92.22%,48 h 的触杀活性为 93.33%;对成虫的触杀活性同若虫,24 h 的触杀活性为 83.33%,48 h 的触杀活

表 1 三叶鱼藤提取物对普通大蓟马 2 龄若虫和成虫的触杀活性结果 %
Table 1 The results of the contact activity of *Derris trifoliata* extracts against the second instar nymphs and adults of *Megalurothrips usitatus*

处理 Treatment	2 龄若虫 The second instar nymphs		成虫 Adults	
	24 h	48 h	24 h	48 h
粗提物 <i>Derris trifoliata</i> extracts	32.22 ± 3.14 d	34.44 ± 5.67 d	20.00 ± 0.00 c	21.11 ± 1.57 d
石油醚相 Petroleum ether phase	40.00 ± 2.72 c	44.44 ± 3.14 c	28.89 ± 1.57 c	30.00 ± 2.72 c
乙酸乙酯相 Ethyl acetate phase	92.22 ± 1.57 a	93.33 ± 2.72 a	83.33 ± 2.72 a	84.44 ± 6.29 a
氯仿相 Chloroform phase	63.33 ± 2.72 b	65.56 ± 4.16 b	52.22 ± 1.57 b	53.33 ± 5.44 b
正丁醇相 N-butanol phase	65.56 ± 6.85 b	66.67 ± 5.44 b	50.00 ± 5.44 b	48.89 ± 4.16 b
水相 Aqueous phase	25.56 ± 3.14 e	26.67 ± 2.72 e	18.89 ± 3.14 c	22.22 ± 5.67 d
鱼藤酮 Rotenone	94.44 ± 4.16 a	95.56 ± 3.14 a	85.56 ± 4.16 a	85.56 ± 3.14 a

注：表中数据为平均值 ± 标准偏差 (n=3)，同一列内不同小写字母差异显著 ($P < 0.05$)。
Note: the data in the table is the mean ± standard deviation(n=3), and different lowercase letters in the same row are significantly different ($P < 0.05$).

表 2 三叶鱼藤乙酸乙酯相对普通大蓟马 2 龄若虫和成虫的毒力结果
Table 2 The toxicity of Ethyl acetate phase of *Derris trifoliata* against the second instar nymphs and adults of *Megalurothrips usitatus*

试虫 Selected insects	处理 Treatment	回归方程 Regression equation	相关系数 R^2 Coefficient of association	$EC_{50}/(mg \cdot mL^{-1})$	95% 置信限 / ($mg \cdot mL^{-1}$) Confidence limit
2 龄若虫 The second instar nymphs	乙酸乙酯相 Ethyl acetate phase	$y=0.08+1.32x$	0.999	1.158	0.944~1.438
	鱼藤酮 Rotenone	$y=0.14+1.25x$	0.995	0.779	0.615~0.966
成虫 Adults	乙酸乙酯相 Ethyl acetate phase	$y=0.41+1.27x$	0.978	2.097	1.656~2.848
	鱼藤酮 Rotenone	$y=0.13+1.28x$	0.999	1.263	1.023~1.588

注：处理时间为 24 h， x 代表质量浓度， y 代表校正死亡率。
Note: treatment time: 24 h, x represents the mass concentration and y represents the adjusted mortality rate.

性为 84.44%，有所增加。同时，提取物对 2 龄若虫的活性明显优于对成虫的活性，表明成虫对提取物的敏感性减低，抗药性增强。

2.2 三叶鱼藤乙酸乙酯相对普通大蓟马 2 龄若虫和成虫的毒力结果

由表 1 可知，乙酸乙酯相对普通大蓟马 2 龄若虫和成虫的触杀活性最好，且 48 h 的活性比 24 h 的活性稍强，但其活性差别不显著。为此，探索乙酸乙酯相在 24 h 对普通大蓟马 2 龄若虫和

成虫的毒力，结果见表 2。
由表 2 可知，经过毒力回归，相关性较好，且方程的斜率都为正数，表明随浓度增加，药剂对靶标的触杀活性增强。不同药剂对比发现，鱼藤酮对靶标的 EC_{50} 值比乙酸乙酯相的 EC_{50} 值低，表明鱼藤酮对靶标更加敏感。对不同龄期靶标害虫差别较大，对 2 龄若虫的 EC_{50} 值分别为 0.779 和 1.158 mg/mL，较成虫 1.263 和 2.097 mg/mL 的低，表明对若虫的活性较成虫好。由此表明，使

用药剂防治在若虫阶段能取得理想的防治效果。

3 讨论与结论

以体色变为橙红色为依据,挑选普通大蓟马2龄若虫。待指型管中丙酮挥发殆尽后,再放入靶标害虫测试。由于没有检测管内是否残存微量丙酮,为了减少误差,对照空白管中以等量的丙酮试验。在毒力测试中,采用梯度稀释法进行稀释,丙酮挥发,对实验结果有一定影响,为了避免误差,标准对照鱼藤酮的稀释方法一致。因此通过与鱼藤酮的对比进行结果分析,该方法具有一定可信度^[18]。

据测,三叶鱼藤中鱼藤酮的含量为1.97%^[19],经过乙酸乙酯萃取后,鱼藤酮含量由于未检测,所以乙酸乙酯相对靶标的触杀活性是综合结果,同时在活性追踪下,发现乙酸乙酯相的触杀活性。下一步将对乙酸乙酯相进行活性分离,挖掘活性物质。

三叶鱼藤提取物,如三叶鱼藤粗提物、各种萃取相以及标准药剂鱼藤酮对普通大蓟马2龄若虫和成虫显示较好的触杀活性,特别是乙酸乙酯相对靶标害虫的活性与对照鱼藤酮的活性相当。由此表明,三叶鱼藤中活性物质主要集中在乙酸乙酯相,为进一步追踪活性物质提供了依据。

参考文献

- [1] 徐鲁荣,李杉,吴军,等.三叶鱼藤的鱼藤酮化学成分[J].中药材,2007(6):660-662.
- [2] SARKAR M R, HASAN M, SARIFUL M, et al. Antioxidant & analgesic activities of leaves of *Panlata (Derris trifoliata)*: In vitro investigation[J]. Mohammed Raihan Chowdhury, 2012, 1(121): 1-5.
- [3] PETER M G, YENESEW A, TWINOMUHWEZI H, et al. Antiplasmodial and larvicidal flavonoids from *Derris trifoliata*[J]. Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia, 2009, 23(3): 409-414.
- [4] 姜予强,叶燕萍,张林辉,等.生物农药资源:鱼藤的研究进展[J].农业科技通讯,2010(1):108-111.
- [5] 徐汉虹.杀虫植物与植物杀虫剂[M].北京:中国农业出版社,2001:289-289.
- [6] 张秀玲.三大农药植物[J].安徽农学通报,2007,13(3):143-144.
- [7] 赵善欢,黄彰欣.安全高效的鱼藤杀虫剂[J].植物保护,1988(1):44-45.
- [8] 赵善欢,谢尊逸.鱼藤:应该推广繁殖的国产杀虫植物[J].科学通报,1952(5):60-62.
- [9] 张骏,郅军锐,杨广明.西花蓟马对不同处理菜豆及其挥发物的行为反应[J].生态学杂志,2015,34(2):425-430.
- [10] 张友军,吴青君,徐宝云,等.危险性外来入侵生物:西花蓟马在北京发生危害[J].植物保护,2003(4):58-59.
- [11] 罗亚丽,施丹,乔雪莹,等.杀虫剂亚致死浓度对普通大蓟马繁殖的影响[J].应用昆虫学报,2020,57(2):427-433.
- [12] 谢永辉,张宏瑞,刘佳,等.传毒蓟马种类研究进展(缨翅目,蓟马科)[J].应用昆虫学报,2013,50(6):1726-1736.
- [13] 刘子记,贺滢,杨衍,等.海南省冬季瓜菜播种面积变化趋势分析[J].中国蔬菜,2016(4):6-8.
- [14] 黄歆怡,钟诚,陈树誉,等.鱼藤对红树林植物的危害及管理[J].湿地科学与管理,2015,11(2):26-29.
- [15] 黄丹慊,孙秀东,郭霞,等.海南红树林伴生植物三叶鱼藤的风险分析[J].热带林业,2019,47(3):62-65.
- [16] 唐良德,赵海燕,付步礼,等.海南普通大蓟马抗药性监测及对6种杀虫剂的敏感性[J].环境昆虫学报,2018,40(5):1175-1181.
- [17] 马浩伟,董存柱,赵灏.山蓟提取物对斜纹夜蛾和香蕉花蓟马的毒性研究[J].湖南农业科学,2016(8):72-74;77.
- [18] 余森泉,董存柱,苏绿,等.16种含马兜铃内酰胺衍生物类中药甲醇提取物对家蝇和埃及伊蚊活性筛选[J].热带作物学报,2019,40(5):1002-1007.
- [19] 郭霞,黄丹慊,苟志辉,等.运用乙醇渗漉法优化三叶鱼藤中鱼藤酮提取工艺:基于响应面法[J].华中师范大学学报(自然科学版),2020,54(1):60-64.