

万寿菊提取物对白纹伊蚊幼虫的光活化活性及有效成分研究^{*}

乐海洋 赵善欢

(华南农业大学昆虫毒理室, 广州, 510642)

摘要 在有近紫外光照下, 万寿菊根甲醇浸提物、根甲醇索氏提取物、全株乙醇浸提物、花石油醚萃取物和 α -三连噻吩对白纹伊蚊(*Aedes albopictus*)4龄幼虫的毒力分别是无近紫外光照下的73.8、10.4、16.6倍、大于5.2和101.7倍; 通过采用高效液相色谱法(HPLC)测定上述提取物中 α -三连噻吩(α -terthienyl)的含量, 证明除根甲醇索氏提取物外, 其它提取物的光活化毒力基本上依赖于所含的 α -三连噻吩; 模拟室外防治试验结果表明, 12 mg/L的万寿菊根甲醇索氏提取物能有效防治白纹伊蚊。

关键词 光活化活性; 万寿菊; 提取物; α -三连噻吩; 白纹伊蚊

中图分类号 S 482.39

万寿菊是一年生草本植物, 我国各地均有栽培, 关于其杀虫作用, 有报道表明自然阳光照射能显著提高其对蚊幼虫的毒杀效果(乐海洋, 1992); α -三连噻吩是最初从万寿菊中分离出的一种化学成分(Zechmeister et al, 1947), 国外的研究证明其具有显著的光活化杀虫活性(Hasspieler et al, 1988). 本研究探讨了特定强度的近紫外光对万寿菊提取物毒杀白纹伊蚊效果的影响, 并通过测定提取物中 α -三连噻吩的含量, 对其活性成分进行了分析。

1 材料与方法

1.1 供试材料

万寿菊(*Tagetes erecta*)采自华南农业大学昆虫毒理研究室杀虫植物标本园. 供试化合物: α -三连噻吩由加拿大渥太华大学 Arnason 博士提供。

1.2 供试昆虫

白纹伊蚊(*Aedes albopictus*)由中山医科大学寄生虫学教研室提供虫种, 饲养繁殖后供试。

1.3 试验方法

根和全株采用浸提或索氏提取, 花的提取参考 Zechmeister 等(1947)的方法。

光活化毒力测定是参考 Hasspieler 等(1988)的方法, 光源采用 YHG-20 荧光灯, 光照组是先让幼虫在黑暗中吸取 0.5 h 的药液后照射 3 h(对照组不加药但同样接受 3 h 光照), 24 h 后检查幼虫死亡数, 计算死亡率, 每处理重复 3 次。

光活化比是根据有光照射下的 $LC_{50}(LC_{50} + UV)$ 和无光照射下 $LC_{50}(LC_{50} - UV)$ 计算, 公式为: 光活化比 = $(LC_{50} - UV) / (LC_{50} + UV)$

提取物中 α -三连噻吩含量的测定参考 Downum 等(1983)的方法, 作了一些修改,

用 Shimadzu LC-4A 型高效液相色谱仪 (HPLC) 进行测定, 固定相: Zorbax Cg 反相 7.9 mm × 250 mm; 流动相: 甲醇/水 = 82/18, 加体积分数为 0.1% 醋酸, 流速 1.5 mL/min, 柱温 35℃; 检测器: UV 350 nm, 样品均用体积分数为 95% 乙醇 (AR) 稀释. 通过保留时间和峰高等进行定性、定量分析.

模拟室外防治试验参考 Philogene (1985) 的方法, 把双层聚乙烯薄膜垫于约 (0.5 m × 0.5 m × 0.15 m) 大小的木箱内, 四周用铁夹固定, 箱内灌满自来水并让其暴晒 3 d 后开始试验, 每个木箱内放两个 h 11.5 cm, d 10.5 cm 的铁笼子, 笼内套一自制的尼龙纱网袋, 试验时每笼内接入 25 头 3~4 龄蚊子幼虫, 让其稳定 2 h 后开始喷药, 施药时记录气温、水温 and 光照强度, 于施药后不同时间观察、记录死亡虫数并在接入新的一批幼虫后继续观察药效.

2 结果与分析

2.1 万寿菊提取物和 α-三连噻吩对白纹伊蚊幼虫的光活化毒力测定

如表 1 所示, 万寿菊根甲醇浸提物、根甲醇索氏提取物、全株乙醇浸提物、花石油醚萃取物和 α-三连噻吩在有近紫外光照射下对白纹伊蚊 4 龄幼虫的 LC_{50} 分别为 0.76、1.40、8.52、38.31 和 0.01 mg/L, 而在无近紫外光照射条件下的 LC_{50} 分别是 56.05、14.60、141.39、大于 200.00 和 1.23, 因光照杀虫效果分别提高了 73.8、10.4、16.6 倍、大于 5.2 和 101.7 倍. 但是, 单独光照 (不加药) 并不引起幼虫死亡.

表 1 万寿菊提取物和 α-三连噻吩在有近紫外光照射下对白纹伊蚊 4 龄幼虫的毒力¹⁾

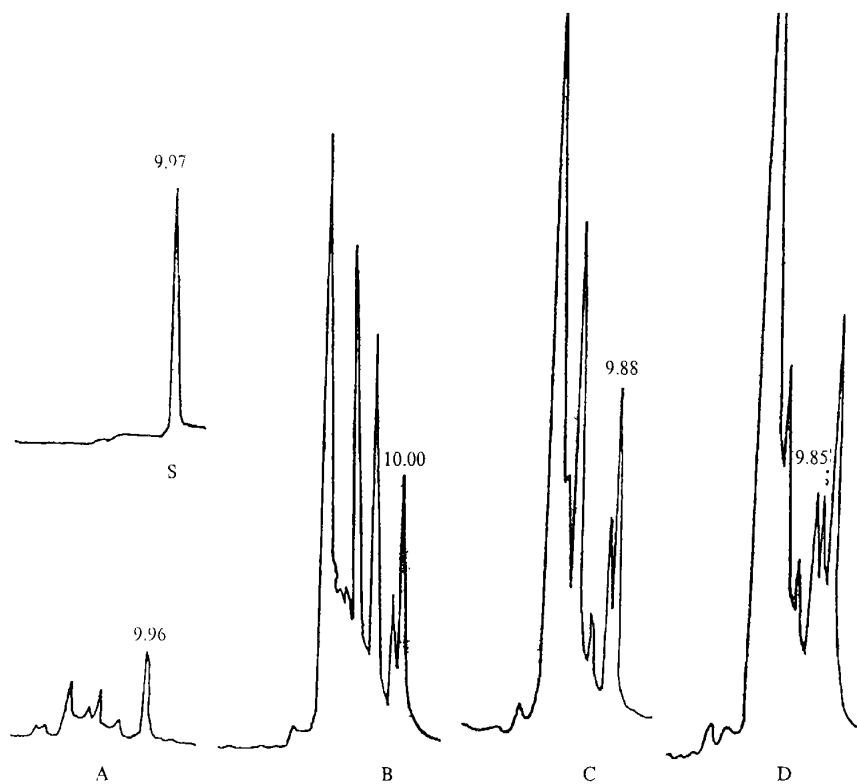
提取物类型	近紫外光照	回归方程	相关系数	$LC_{50}/(mg \cdot L^{-1})$	95% 置信限	光活化比
根甲醇浸提	有	$Y = 5.2983 + 2.4680X$	0.9975	0.76	0.60 ~ 0.95	73.8
	无	$Y = 1.9666 + 1.7348X$	0.9885	56.05	39.50 ~ 79.80	
根甲醇索氏提取	有	$Y = 4.5342 + 3.2191X$	0.9712	1.40	1.19 ~ 1.64	10.4
	无	$Y = 0.6827 + 3.7052X$	—	14.60	12.80 ~ 16.40	
全株乙醇浸提	有	$Y = 2.5780 + 2.6031X$	0.9852	8.52	7.10 ~ 10.20	16.6
	无	$Y = -4.5664 + 4.4486X$	0.9831	141.39	126.80 ~ 157.40	
花石油醚萃取	有	$Y = 1.6715 + 2.1022X$	0.9871	38.31	31.96 ~ 45.86	> 5.2
	无	—		> 200.00	—	
α-三连噻吩	有	$Y = 0.6310 + 4.0359X$		0.01	10.60 ~ 13.60	101.7
	无	$Y = 4.7827 + 2.3882X$	0.9926	1.23	1.03 ~ 1.48	

1) 光照组是黑暗 0.5 h 后, 近紫外光照射 3.0 h ($I_0 = 1.3 \text{ w/m}^2$); 1993 年, 广州

2.2 万寿菊提取物杀虫有效成分的分析

采用高效液相色谱法 (HPLC) 测定了万寿菊提取物中 α-三连噻吩的含量, 这些提取物的 HPLC 图如图 1 所示.

根据保留时间和峰高计算出 A、B、C、D 样品中 α-三连噻吩的含量, 如表 2 所示, 其含量由大到小的顺序为 A > B > C > D. 由表 2 还可看出, 除根甲醇索氏提取物外, 其它提取物的光活化毒力基本上依赖于所含的 α-三连噻吩; 而根甲醇氏提取物中还有其它非光敏剂的杀虫有效成分起作用.



S 为 α -三连噻吩标样, A 为根甲醇浸提物, B 为根甲醇索氏提取物, C 为全株乙醇浸提物, D 为花石油醚萃取物

图 1 万寿菊提取物的 HPLC 图

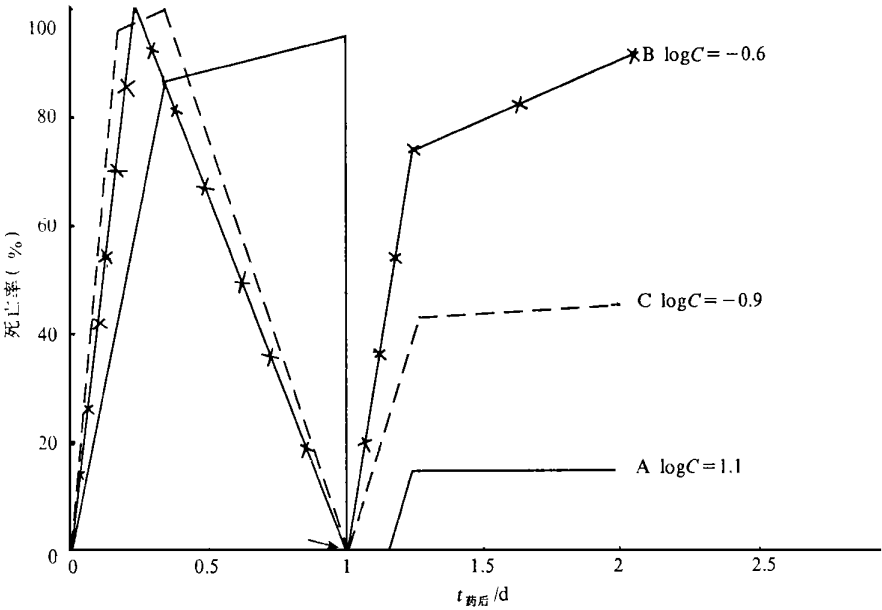
表 2 万寿菊提取物中 α -三连噻吩(α -T)含量的测定结果及其对白纹伊蚊光活化毒力的比较
(1994 年, 广州)

样品 名称	$t_{\text{保留}}$ / min	提取物中含量 / $\mu\text{mol}(\text{L}^{\circ}\text{g})^{-1}$	对白纹伊蚊的 $LC_{50}/(\text{mg}^{\circ}\text{L})^{-1}$	折纯 α -T 量 / $(\mu\text{g}^{\circ}\text{L}^{-1})$	光活 化比
A	9.96	48.7	0.76	9.2	73.8
B	10.00	12.7	1.40	4.4	10.4
C	9.88	5.2	8.52	11.0	16.6
D	9.85	1.1	38.31	11.4	> 5.2
S	9.97		0.01	12.1	101.7

2.3 模拟室外防治试验结果

万寿菊根甲醇索氏提取物和 α -三连噻吩对白纹伊蚊幼虫的室外防治效果如图 2 所示, 其中 A 是万寿菊根甲醇索氏提取物的效果, B、C 是 α -三连噻吩的效果. 药剂质量浓度的对数值分别为 1.1、-0.6、-0.9. 施药时间为 1994 年 4 月 19 日上午 11 时, 当时气温 32℃, 水温 29℃, 辐照度 700 w/m² 左右, 4 月 20 日白天天气类似, 但晚上下了一场大雨. 由图 2 可知, 12 mg/L 的提取物药后 6 和 24 h 引起的死亡率分别为 86%和 96%; 0.24 mg/L 的 α -三连噻吩药后 4 h 的死亡率就达到 100%. 接入新虫 1 d 后的死亡率仍有 88%, 0.12 mg/L 的 α -三连噻吩药后 4 h 的死亡率就达到 100%. 接入新虫 1 d 后的死亡率仍有 88%, 0.12 mg/L 的 α -三连噻吩药后 4 h 的死亡率就达到 100%.

—三连噻吩药后 6 h 的死亡率也达到 100%。



A: 万寿菊根甲醇索氏提取物对白纹伊蚊的效果; B、C: α -三连噻吩对白纹伊蚊的效果
(箭头指接入新的幼虫)

图 2 万寿菊根甲醇索氏提取物和 α -三连噻吩对白纹伊蚊幼虫的室外防治效果

3 讨论与结论

万寿菊在我国广泛分布,其花美丽,有很好的观赏价值.从华南农业大学昆虫毒理研究室杀虫植物标本园多年的种植情况看,万寿菊较易栽培.据菲律宾报道,万寿菊植于油菜周围,可减轻小菜蛾的为害(Morallo, 1987),可以认为,把万寿菊用于以杀虫为目的的开发,其资源是比较容易获得的.

本研究证实了万寿菊提取物显著的光活化杀虫活性,并获得了良好的模拟室外防治效果,对于这种植物,有希望开发用于对蚊幼虫的防治.

万寿菊提取物的光活化杀虫活性主要依赖其所含的 α -三连噻吩,? 根甲醇索氏提取物在非光照条件下也表现较高活性,提示有其它非光敏化杀虫成分起作用,这有待进一步研究.

参 考 文 献

乐海洋. 1992. 胜红蓟、万寿菊和柔毛水蓼对农业害虫生物活性初试. 广东农业科学, 6: 34~36
Downum K R Towers G H N. 1983. ? Analysis of thiophenes? in the *Tageteae* (Asteraceae) by HPLC. J Nat Prod, 46(1): 98 ~ 103
Hasspieler B M, Arnason J T, Downe A E R et al. 1988. Toxicity, localization and elimination of the photo-toxin, Alpha-terthienyl, in mosquito larvae. J Am Mosquito Control Assoc, 4(4): 479 ~ 484
Morallo R B. 1987. Botanical pest control research in the Philippines. Philipp Ent, 7(1): 1 ~ 30

- Philogene B J R, Arnason J T, Berg C W, et al. 1985. Synthesis and evaluation of the naturally occurring phototoxin, alpha-terthienyl, as a control agent for larvae of *Aedes intrudens*, *Aedes atropalpus* (Diptera: Culicidae) and *Simulium verecundum* (Diptera: Simuliidae). J Econ Entomol, 78(1): 121~126
- Zechmeister L, Sease J W. 1947. A blue-fluorescing compound alpha-terthienyl isolated from marigolds. J Am Chem Soc 69: 273~275

PHOTOACTIVATED TOXICITIES OF EXTRACTS FROM *Tagetes erecta* TO LARVAE OF *Aedes albopictus* AND ANALYSIS OF THEIR INSECTICIDAL PRINCIPLES

Yue Haiyang Zhao Shanhuan

(Lab. of Insect Toxicology, South China Agric. Univ., Guangzhou, 510642)

Abstract

The median lethal concentrations of methanol extracts obtained by maceration method and by Soxhlet method from the root, the ethanol extract from the whole plant, the petroleum ether extract from the flower of *Tagetes erecta* and alpha-terthienyl to the 4th instar larvae of *Aedes albopictus*, in the absence of near-UV light, were 73.8, 10.4, 16.6, > 5.2 and 101.7 times of those in the presence of near-UV light, respectively. The contents of alpha-terthienyl in the extracts were investigated by using reverse-phase HPLC and results showed that the phototoxicities of the extracts were generally due to the alpha-terthienyl contained in them. The results in the simulated pond experiment showed that effective control of the larvae of *Aedes albopictus* was achieved with application of 12 mg/L methanol extract by Soxhlet method from the root.

Key words photoactivated toxicity; *Tagetes erecta*; extracts; alpha-terthienyl; *Aedes albopictus*