

# 紫背金盘提取物对四种鳞翅目害虫 作用活性的初步研究

张业光 邱宇彤 赵善欢

(华南农业大学 昆虫毒理研究室)

刘 准 尚稚珍 陈茹玉

(南开大学 元素有机化学研究所)

**摘要** 紫背金盘 (*Ajuga nipponensis* (Makino)) 提取物对菜青虫 (*Pieris rapae* (L.)) 小菜蛾 (*Plutella xylostella* (L.)) 斜纹夜蛾 (*Prodenia litura* (Fabricius)) 和粘虫 (*Mythimna separata* (Walker)) 的幼虫均有显著的抑制生长发育和拒食作用。甲醇提取物及其氯仿提取物对五龄菜青虫的拒食中浓度 (AFC<sub>50</sub>) 分别为0.31%和0.12%; 抑制生长发育有效中量 (ED<sub>50</sub>) 分别为1.36mg/g 和0.34mg/g。氯仿萃取物对3-4龄小菜蛾的 AFC<sub>50</sub>为0.23%, EC<sub>50</sub>为0.29% (饲喂法) 和0.22% (点滴法)。杀虫活性成分是易溶于氯仿的弱极性物质, 分离提纯工作仍在进行中。

**关键词** 紫背金盘, 菜青虫, 小菜蛾, 粘虫, 斜纹夜蛾, 拒食作用, 生长发育抑制作用

紫背金盘为唇形科 (Labiatae)、筋骨草属药用草本植物<sup>[5]</sup>。70年代后期国内应用该植物来源的蜕皮激素进行增产蚕丝的有关研究, 发现其对昆虫的生理活性和应用前景<sup>[1,4]</sup>, 并从中分离出 $\beta$ -羟基蜕皮酮及三种类似物<sup>[3]</sup>。中国科学院武汉植物研究所 (1980) 报道用含蜕皮激素的紫背金盘水煮提取液对几种农业害虫的生物活性测定<sup>[2]</sup>, 揭示了应用该植物性物质防治害虫的潜在可能性。

Shimomura H. 从该植物中先后分离出 Ajugamarin 等7种二萜类化合物<sup>[10,11,12]</sup>, 其中的 Ajugarin-I 是同属植物 *A. Remota* 的杀虫活性成分<sup>[7,8]</sup>。本研究以植物化学与生物测定相结合研究方法, 进一步探索其次生物质对害虫“缓效型”作用活性及相应的活性成分。旨在评价应用该植物提取物作为无污染的杀虫剂和寻求化学合成杀虫剂先导模板的可能性。

## 1 材料与方 法

### 1.1 植物材料来源和提取物制备

紫背金盘由华南农业大学昆虫毒理研究室标本园内种植, 收采盛花期全草地上部分。鲜草自然晾干至一定程度后, 放置恒温箱 (45℃) 内风干。取干植物材料研磨粉碎后, 以重蒸工业甲醇在室温下反复浸提 (12次) 至浸出液无色。浸提液用旋转薄膜蒸发仪减压蒸除溶剂 (<50℃) 获得甲醇提取物。提取率 (提取物/植物干粉, 下同) 为18.3%。

用石油醚 (沸程60-90℃) 在室温下反复搅动提取甲醇提取物10次, 不溶于石油醚的物质再以氯仿 (分析纯) 在50℃水浴温热下搅动反复提取至提取液无色。两提取液分别用旋转薄膜蒸发仪减压蒸除溶剂后, 获得石油醚提取物 (提取率为0.085%)、氯仿提取物 (提

取率为2.73%)和不溶于石油醚和氯仿的剩余物(提取率为15.8%)(提取程序见图1)。各提取物样品贮存于冰箱备用。

## 1.2 生物活性测定方法

### 1.2.1 供试昆虫

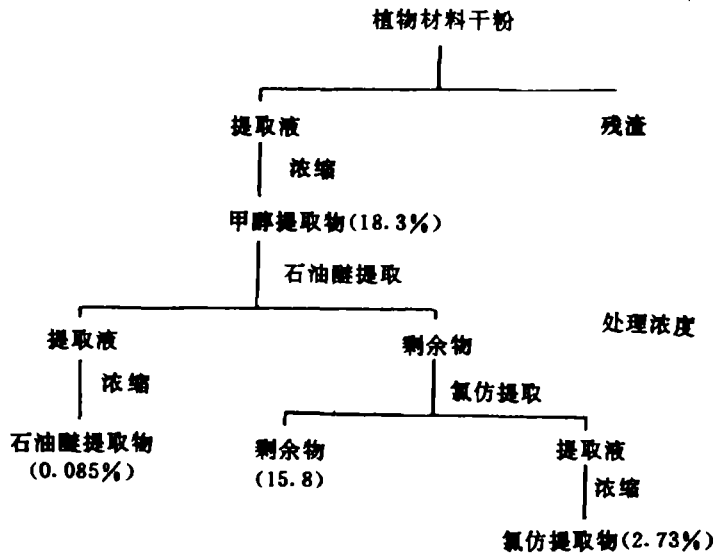


图1. 紫背金盘提取物制备程序 (1989, 11. 南开大学)

菜青虫采自广州市郊菜田, 经室内用甘蓝 (*Brassicaoleracea* var. *capitata* (L.)) 叶片饲养2-3天后挑选发育整齐的幼虫供试; 小菜蛾是采自广东宝安县菜田, 经室内用十字花科蔬菜子叶饲养2-5代的种群; 斜纹夜蛾采自广州市郊农田, 使用经室内以木薯 (*Mamihot esculent* (Crantz)) 叶片饲养了2-5代的种群。粘虫采自广东稻田, 室内以玉米叶饲养3-4代的群体。

### 1.2.2 生物测定方法

**叶碟法** 先用打孔器将植物叶片打成规格一致的叶碟。把叶碟在供试提取物(或杀虫剂)样品的丙酮溶液里浸渍一秒钟即取出(对照组叶碟以纯丙酮作相同处理)。待丙酮自然挥发后, 把叶碟摆放到玻璃培养皿(∅9cm)中。培养皿内事前垫好一层干净滤纸, 并加蒸馏水保湿。选择性拒食试验时, 将处理和对照叶碟在皿中相间摆放; 非选择性拒食试验的同一皿中只摆放处理的叶碟, 在另外的皿中摆放对照叶碟。然后向每培养皿中接入已饥饿两小时的幼虫一头(小菜蛾3-4龄幼虫较小, 每皿接入10头)。让幼虫取食24h后, 将虫取出。用LI-3000型面积测定仪或方格坐标纸测定被取食面积, 以下列公式计算拒食率:

$$\text{拒食率}(\%) = \frac{\text{对照取食面积} - \text{处理取食面积}}{\text{对照取食面积}} \times 100$$

**饲喂法** 把供试各样品处理过的叶片放在培养皿中, 让幼虫取食48h后, 把幼虫移至直径9cm高10cm具透气孔塑料盖的玻璃瓶(每瓶10头虫), 换饲新鲜干净叶片。逐日观察记录

试虫的生长发育情况,直至全部化蛹、羽化或畸形死亡。通过处理浓度或幼虫食入量与畸形死亡率的关系,计算出有效中浓度( $EC_{50}$ )和有效中量值( $ED_{50}$ )。

点滴法 先用高浓度二氧化碳( $CO_2$ )将小菜蛾幼虫麻醉,用微量点滴仪将各样品的丙酮稀液1 $\mu$ l点滴到幼虫中胸背板,待幼虫复苏后,放入培养皿以干净叶片饲喂。其它几种幼虫不需麻醉而直接点滴(每虫2 $\mu$ l),点滴后在玻璃瓶中饲养观察。

生物测定试验均在恒温养虫室( $25\pm 2^\circ C$ )内进行。拒食试验每处理设10个重复,喂饲和点滴试验设3个以上的重复,并进行生物统计分析。

## 2 结果与分析

紫背金盘提取物的生物测定结果表明,甲醇提取物对五龄菜青虫非选择性拒食作用效果显著,1%浓度时拒食率为80.6%。由甲醇提取物中分离出来的氟仿提取物和石油醚提取物有较强的活性,但前者的提取获得率较高而后者获得率很低。而不溶于石油醚和氟仿的剩余物活性很低(详见表1)。可见对菜青虫拒食作用活性成分是易溶于氟仿的弱极性物质。

表1 紫背金盘提取物对五龄菜青虫非选择性拒食作用效果(1990, 3, 广州)

供试样品	浓度 (%)	取食量 <sup>[2]</sup> ( $cm^2$ /虫)	拒食率 <sup>[3]</sup> (%)
甲醇提取物	1.0	2.69	80.6 a
石油醚提取物	0.2	7.87	43.3 b
氟仿提取物	0.2	8.29	40.3 b
	0.5	3.32	78.9 a
剩余物 <sup>[1]</sup>	0.5	11.93	14.1 c
	1.0	9.92	28.6 bc
对 照	—	13.89	—

[1] 剩余物是指甲醇提取物中不溶于石油醚和氟仿的物质

[2] 取食量为10个重复的平均值

[3] 纵列数据后随字母相同者,示方差分析(DMRT法)在0.05水平差异不显著

用一系列不同浓度的甲醇提取物和氟仿提取物以叶碟法和饲喂法处理五龄菜青虫的试验结果表明,处理浓度(和剂量)与作用效果呈显著的正相关。根据浓度与拒食率回归计算得甲醇提取物的 $AFC_{50}$ 为0.31%( $y=1.806x+2.296$ ;  $r=0.9729$ );氟仿提取物 $AFC_{50}$ 为0.12%( $y=1.457x+3.420$ ;  $r=0.9984$ ) (详见图2)。饲喂法强迫饥饿的菜青虫取食紫背金盘甲醇和氟仿提取物后,幼虫在蜕皮羽化时出现无法蜕出旧表皮、蛹的部分体壁变薄和破裂等症状,形成各种各样不能继续正常生长发育的畸形蛹体和幼虫。用定量处理叶碟,根据幼虫取食叶面积换算提取物食入量的方法测得甲醇提

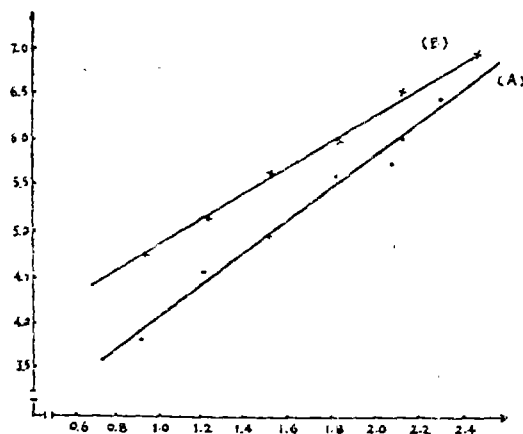


图2.紫背金盘甲醇提取物(A)和氟仿提取物(B)对五龄菜青虫非选择性拒食作用毒力回归线(1990.4 广州)

取物对五龄菜青虫抑制生长发育有效中量 ( $ED_{50}$ ) 为1.36mg/g 虫体; 氟仿提取物的  $ED_{50}$  为0.34mg/g 虫体. 但紫背金盘石油醚提取物和不溶于石油醚和氟仿的剩余物饲喂法的抑制生长发育作用活性不显著. 同样表明抑制生长发育的活性物质属于弱极性部分. 另外, 点滴处理五龄菜青虫结果表明各样品的接触毒性均很微弱.

对多种常用有机化学农药已发生很强抗性的小菜蛾 (广东省宝安县菜区田间种群), 对紫背金盘氟仿提取物的反应却较为敏感. 叶碟法, 饲喂法和点滴法试验结果表明该提取物有较强的抑制生长发育, 拒食和毒杀作用 (详见表2). 处理后幼虫取食量减少, 有的中毒死亡, 有的化蛹时变为畸形, 幼虫表皮出现黑斑瘤突或成虫展翅不良. 部分残余成虫虽能正常飞翔, 交配和产卵, 但产卵量显著受到影响. 处理浓度与平均每雌虫产卵量呈极显著的负相关 ( $y=13.56-0.003x$ ;  $r=-0.95^{**}$ ). 解剖成虫发现三种异常现象: (1) 卵巢发育不良; (2) 成熟的卵粒滞留于中输卵管; (3) 卵粒不能正常受精. 此外, 用几种提取物对四龄小菜蛾幼虫的饲喂法毒力测定的比较, 又以氟仿提取物的效果最佳 (表3).

表2 紫背金盘氟仿提取物对四龄小菜蛾的生物活性 (1990, 3. 广州)

处理方法	有效中浓度 (%)		毒力回归方程	相关系数
	AFC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>		
叶碟法 (非选择)	0.23	—	$y=2.2113+0.8293x$	0.9305
饲喂法	—	0.29	$y=-0.344+1.5415x$	0.9304
点滴法	—	0.22	$y=0.7918+1.2613x$	0.9495

表3 几种紫背金盘提取物对四龄小菜蛾饲喂法生测结果 (1991, 3. 广州)

供试样品	浓度 (%)	供试虫数 (头)	嗜死虫数 (头)	嗜死率 (%)
甲醇提取物	0.2	45	10	22.2
	0.1	44	8	18.2
石油醚提取物	0.2	45	3	6.67
	0.1	44	0	0
氟仿提取物	0.2	46	25	54.35
	0.1	43	18	41.9
对照	—	46	0	0

斜纹夜蛾和粘虫对紫背金盘甲醇和氟仿提取物均表现显著的拒食和生长发育受抑制 (表4). 氟仿提取物的拒食活性显著强于甲醇提取物. 选择性拒食试验中0.5%氟仿提取物对两种虫的拒食效果均在90%以上, 而非选择性试验中效果只有60.25% (斜纹夜蛾5龄幼虫) 和46.71% (四龄粘虫). 喂饲法处理后较多幼虫不能正常蜕皮而畸形死亡. 药效常持续到下一龄的蜕皮和变态. 2%甲醇提取物抑制生长发育的效果显著高于0.5%氟仿提取物, 这可能是由于氟仿提取物强烈的拒食作用影响了幼虫对提取物的食入量, 需要进一步测定提取物被食入量与抑制生长发育有效率的关系.

表4 紫背金盘提取物对斜纹夜蛾和粘虫生物活性测定结果 (1990, 10. 广州)

供试昆虫	供试样品	浓度 (%)	叶碟法 (选择性*)		叶碟法 (非选择性*)		饲喂法					
			取食面积 (cm <sup>2</sup> /虫)		拒食率** (%)	取食面积 (cm <sup>2</sup> /虫)		拒食率** (%)	试虫数 (头)	嗜死虫数 (头)		校正时
			处理	对照					幼虫	蛹	死亡率*** (%)	
斜纹夜蛾 (五龄)	甲醇提取物	1.0	8.32	15.69	47.99a	19.2	23.26a	30	15	4	57.69 b	
		2.0	9.28	17.14	45.80a	14.65	41.70a	30	19	6	80.76 a	
	氯仿提取物	0.5	1.71	17.22	90.01b	9.99	60.25b	30	19	3	69.22 ab	
	对照	—	—	—	—	25.13	—	33	4	0	—	
粘虫 (四龄)	甲醇提取物	1.0	2.70	7.05	61.36A	8.14	13.59A	40	8	5	25.06 A	
		2.0	3.48	7.36	52.73A	5.98	36.52B	40	21	11	77.8 B	
	氯仿提取物	0.5	0.417	8.28	94.90B	5.02	46.71B	40	10	4	27.8 A	
	对照	—	—	—	—	9.42	—	40	4	—	—	

\* 叶碟法拒食试验数据为10个重复平均值

\*\* 纵列数据后随字母相同者示方差分析 (DMRT 法) 在0.05水平差异不显著

### 3 讨论与结论

紫背金盘提取物对昆虫的拒食和抑制生长发育的作用特点目前在国内外尚未有报导。这种“缓效型”植物杀虫剂的毒理特有别于常用的化学杀虫剂。该物质成分较复杂,低毒安全,并已有实验结果证实其与有机磷和拟除虫菊酯类杀虫剂不产生交互抗性。最近的试验结果已表明,紫背金盘甲醇提取物对台湾家白蚁 (*Coptotermes formosanus*) 有很强的缓效致毒活性<sup>[6]</sup>。可见研究利用紫背金盘提取物作为新型杀虫剂是有前途的。但有必要扩大其杀虫谱范围的测定,并从植物化学和昆虫毒理学的角度研究协调拒食作用和胃毒作用的发挥。此外,在种植,加工以及化学杀虫剂的配合使用等方面仍需要做大量的研究工作。

化学提取分离与生物测定相结合的研究,证明紫背金盘对以上几种供试害虫作用活性较高的物质均存在于易溶于氯仿的弱极性流分,可为设计该物质大量提取的方法,以及进一步分离提纯有效成分单体提供可靠的依据。目前,探索活性化合物的工作正以植化与生测相结合的方法在进行之中,旨在寻找出合成新型杀虫剂的化学模式,为综合利用这一天然物质打下良好基础。

国外对筋骨草属的 *Ajuga remota* 等多种杀虫植物的研究<sup>[8,9]</sup>,揭示了该属植物应用于杀虫方面的巨大潜力。紫背金盘在我国广为分布,易于栽培,是很有利用价值的杀虫植物。此外,在我国广泛分布的金疮小草 (*A. decumbens*)、筋骨草 (*A. ciliata*) 和多花筋骨草 (*A. multiflora*) 等该属植物亦值得进行杀虫活性利用的研究。

致谢 本研究得到刘秀琼教授提出宝贵意见。植保系廖春燕讲师,87级李宏伟,陈伟洲同学参加部分工作,谨此致谢。

#### 参 考 文 献

1. 中国农林科学院蚕桑科技服务组等.应用植物源蜕皮激素调节蚕儿生长发育和增产蚕丝的研究.昆虫

- 学报, 1977, 20 (2): 147~153
2. 中国科学院武汉植物研究所植物性蜕皮激素组. 蜕皮激素防治几种农业害虫的室内试验. 植物保护, 1980, 6 (6): 24~25.
  3. 中国科学院上海有机化学研究所昆虫激素组. 紫背金盘中植物蜕皮激素的分离和鉴定. 化学学报, 1981, 39 (5): 466~469
  4. 江苏省植物研究所植化室激素组等. 国产植物中蜕皮激素的分离鉴定和对家蚕生理活性的试验. 昆虫学报, 1979, 11 (4): 396~403
  5. 《全国中草药汇编》编写组. 散瘀草《全国中草药汇编》下册. 北京: 人民出版社1978 121
  6. 黄珍友, 张业光, 赵善欢. 紫背金盘提取物对台湾家白蚁毒杀作用的初步研究. 昆虫天敌, 1990, 12 (4): 187~193
  7. Kubo I, Y W Lee, V Balogh-Mair, K. Makanishi et al. Structure of Ajuagar in J. C. S. Chem Comm 1976, 949~950
  8. Kubo I and J A Klocke. Isolation of phytoecdysones as insect ecdysis inhibitors and feeding deterrence. Amiri Chem Soci 1983, 329~346
  9. Kubo I, J A Clocke, I Ganjian, N Ichikawa and T Matsumoto Efficient isolation of phytoecdysones from Ajuga plants by high-performance liquid chromatography and droplet countercurrent chromatography. Journal of Chromatography, 1983, 257: 1157~161
  10. Shimomura H, Y Sashida, K Ogawa and Y Iitaka. The Chemical constituents of Ajuga Plants I. neoclerodanes from the leaves of Ajuga nipponensis Makino. Chem Pharm Bull, 1983, 31 (7): 2192~2199
  11. Shimomura H, Y Sashida, K Ogawa et al. Ajugamarin, a new bitter diterpene from Ajuga nipponensis Makino Tetrahydron Letters, 1981, 22 (14): 1367~1368
  12. Shimomura H, Y Sashida and K Ogawa. Neo-clerodane diterpenes from Ajuga nipponensis. Chem Pharm Bull, 1989, 37 (2): 354~357

PRILIMINARY STUDIES ON THE BIOACTIVITY OF THE EXTRACTS FROM  
AJUGA NIPPONENSIS MAKINO AGAINST FOUR SPECIES OF LEPIDOPTEROUS INSECT PESTS

Zhang YeGuang Chiu Yutong Chiu ShinFoon

(Laboratory of Insect Toxicology, south china Agric. Univ.)

Liu Zhun Shang Zhi Zhen Chen Ruyu

(Institute of Elemental Organic-Chemistry, Nan Kai University)

**Abstract** A bioassay of the crude extracts, as well as its fractions of different organic solvents partitions of *A. nipponensis* against four species of insect pests were carried out in the laboratory. The results showed that the methanol extract and its chloroform fraction presented a significant activity of growth and ecdysis inhibitory as well as antifeedant action against the larvae of *Pieris rapae* L. *Plutella xylostella* L., *Prodenia litura* and *Mythimna separata* Walder. As to the 5th-instar larvae of *P. rapae*, their antifeeding median concentrations (AFC<sub>50</sub>) of the methanol extract and its chloroform fraction were 0.31% and 0.12%, respectively by the method of the leaf disc tests, and their effective median dosage (ED<sub>50</sub>) of growth and ecdysis inhibition were 1.36mg/g and 0.34mg/g, respectively in quantitative feeding tests. For the 3-4th instar larvae of *P. xylostella* which are very resistant to the conventional insecticides, the chloroform fraction of the crude extract were very effective and its AFC<sub>50</sub> was 0.23%, and its EC<sub>50</sub> were 0.29% by feeding and 0.22% by topical application. The survival adults were inhibited in oviposition. This study indicates that the main insecticidal principles of the extracts exist in the weak pole parts.

**Key words** *Ajuga nipponensis*; *Pieris rapae*; *Plutella xylostella*; *Mythimna separata*; *Prodenia litura*; Antifeedant; Growth inhibition