

薇甘菊对昆虫和病原菌生物活性的初步研究^{*}

冯惠玲¹, 杨长举², 张 兴³, 叶万辉¹
(1. 中国科学院华南植物研究所, 广东 广州 510650;
2. 华中农业大学, 湖北 武汉 430070;
3. 西北农林科技大学, 陕西 杨凌 712100)

摘 要: 研究了薇甘菊 *Mikania micrantha* H. B. K. 的乙醇、丙酮提取物对菜青虫 *Pieris rapae* 和小菜蛾 *Plutella xylostella* 幼虫的生物活性, 结果表明, 提取物对菜青虫和小菜蛾幼虫具有较强的毒杀和拒食作用。质量浓度为 $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的乙醇提取物对 1~2 龄的菜青虫的毒杀作用达到 80%, $\text{LC}_{50} = 293.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 对 2~3 龄小菜蛾幼虫的毒杀作用达到 70% 以上, $\text{LC}_{50} = 343.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。相同质量浓度的丙酮提取物对 2 种幼虫的毒杀作用略低于乙醇提取物。质量浓度为 $125 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的乙醇、丙酮提取物对 2 种幼虫均具有拒食作用, 前者拒食率分别为 97.4% 和 70.4%, 后者提取物的拒食率分别为 96.5% 和 98.3%。薇甘菊 (干样/培养基) 0.02 g/mL 的甲醇、丙酮提取物对辣椒疫霉 *Phytophthora capsuli*、玉米大斑病菌 *Exserohilum turcicum* 菌丝的抑制率均为 100%。

关键词: 薇甘菊 *Mikania micrantha* H. B. K.; 提取物; 昆虫; 植物病原真菌; 生物活性

中图分类号: Q949 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2004) 04-0082-04

薇甘菊 *Mikania micrantha* H. B. K. 为多年生草质或稍木质藤本, 原产中、南美洲, 现广泛分布于亚洲、大洋州、南太平洋岛屿以及非洲的部分地区, 是目前世界上热带、亚热带地区危害最严重的杂草之一。特别对森林、茶园、柚木林、橡胶林、油棕林、果园等地的危害严重, 其产生蔓生茎, 攀缘并缠绕幼树、作物或其他植物, 使其死亡^[1]。在我国大陆, 薇甘菊广泛地分布在珠江三角洲地区, 并对自然植被、人工林、园林景观、果园、农场等绿地生态环境造成了极大危害^[2]。

对于外来杂草, 我们思考的更多的是如何控制。但在进行控制的同时, 能否对其进行有效的利用, 也是一种很好的生态控制手段。通过利用, 不仅增加了人们的经济收益, 一定程度上也减少薇甘菊的数量, 降低用于防治所花费的费用。有学者对薇甘菊的利用价值进行了研究, Facey 等对牙买加传统药用植物所做的系统研究中发现, 被测试植物中有 $1/4$ 种植物的提取物对链菌、葡萄球菌等 5 种常见病菌具有抑制作用。其中, 从薇甘菊中分离出 2 种倍半萜, mikanolide 和 dihydromikanolide, 可抑制 *Streptococcus Aureus* 和 *C. albicans* 的生长^[3]。薇甘菊具有广谱抗菌的功能, 对细菌和真菌均有活

性, 也可作为民间药用, 用于治疗伤口及其他用途^[4]。将薇甘菊干燥的叶片制成粉末施入土壤中, 可提高苏门答腊松 *Pinus merksii* 的高度、总干质量以及松针的数量^[5]。张茂新等研究了薇甘菊挥发油对昆虫的生物活性, 结果表明, $5 \sim 10 \mu\text{L} \cdot \text{株}^{-1}$ 的用量时, 对小菜蛾、黄曲条跳甲和袁叶虫有显著的产卵驱避作用, 同时也有一定的触杀毒力^[6]。

薇甘菊为菊科植物, 其杀虫作用尚未被人们认识。以上研究结果, 无疑为薇甘菊的利用探索奠定了基础。本研究于 2002 年 3 月至 6 月, 初步研究了薇甘菊的提取物分别对菜青虫、小菜蛾等 2 种昆虫幼虫的毒杀作用及拒食作用以及对玉米大斑病、辣椒疫病等植物病原真菌的抑制作用, 现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 供试昆虫与病原菌 供试昆虫为 1~5 龄的菜青虫 *Pieris rapae*, 3~5 龄的小菜蛾 *Plutella xylostella*, 以甘蓝为饲料, 实验前禁食 10 h。试验地点在华中农业大学植保系。

供试病原菌为辣椒疫霉菌 *Phytophthora capsuli*、

* 收稿日期: 2003-09-11

基金项目: 国家重点基础研究发展规划资助项目 (G2000046803); 广东省科技百项工程资助项目 (2KB068011S); 深圳市人民政府城市管理局资助项目

作者简介: 冯惠玲 (1968 年生), 女, 高级工程师, 现在深圳仙湖植物园工作;

通讯联系人: 叶万辉; E-mail: why@scib.ac.cn

玉米大斑病菌 *Exserohilum turcicum*。

1.1.2 培养基 PDA 培养基。试验地点在西北农林科技大学无公害农药研究中心。薇甘菊茎叶采自深圳仙湖植物园內，薇甘菊提取物的制备：①采用冷浸法提取样品。将干燥茎叶粉碎至 30 目，分别用丙酮和甲醇提取，每天抽滤 1 次，同时添加适量新鲜溶剂，连续 3 d，合并 3 次滤液，减压浓缩，把浓缩样品转入具塞刻度试管，用相应的溶剂定容至（干样/提取物）1 g/mL，冷藏保存，备用。该样品用于对病原菌的生物测定。②取干燥薇甘菊茎叶，粉碎后，分别用丙酮、φ=95%乙醇浸泡，然后用索氏提取仪提取，经旋转蒸发仪浓缩，分别得到薇甘菊丙酮和乙醇提取物。将最终浓缩的两种黄色透明油状物质各 2 mL 然后分别按试验需要用丙酮制成 500，250，125，62.5，31.25 mg·L⁻¹ 等 5 个质量浓度梯度进行比较实验。该样品用于菜青虫、小菜蛾的生物测定。

1.2 生物测定方法

1.2.1 薇甘菊提取物对昆虫的生物活性测定

毒杀作用实验：取发育一致 1~2 龄、3~4 龄、5 龄的菜青虫，和 2~3 龄小菜蛾进行毒杀作用试验^[7,8]，分别用 500，250，125，62.5，1.25 mg·L⁻¹ 等 5 个质量浓度梯度的提取物浸泡甘蓝菜叶片 15 s 饲喂幼虫进行毒杀作用实验。每个质量浓度重复 3 次，每重复接 10 头幼虫，每 12 h 定时更换药液处理过的菜叶 1 次，连续饲养。24 h 后观察结果并记录，以丙酮为对照。

拒食作用实验：参考张兴等对不同种类昆虫的拒食性的测定方法^[9,10]，用叶碟法将 125 mg·L⁻¹ 薇甘菊乙醇、丙酮提取物分别浸泡打孔为 D=2 mm 均匀一致的甘蓝菜叶片 15 s，晾干后，左右对称放置于 D=10 mm 的透明玻璃罐头瓶中，左右对称放置经丙酮处理后晾干的对照叶片。

菜青虫处理每皿选择 3 头 2~3 龄的幼虫，每处理重复 10 次。对于小菜蛾处理选择 10 头 2~3 龄的幼虫，每处理重复 5 次，每 12 h 定时更换药液处理过的菜叶 1 次，24 h 后，用方格纸测量幼虫的食叶面积，分别统计每重复中处理与对照的总取食量，并计算出幼虫的拒食率。

死亡率 = $\frac{\text{死亡虫量}}{\text{供试虫量}} \times 100\%$

校正死亡率 = $\frac{\text{处理组死亡率} - \text{对照组死亡率}}{1 - \text{对照组死亡率}} \times 100\%$

拒食率 = $\frac{\text{对照组取食叶面积} - \text{处理组取食面积}}{\text{对照组取食叶面积}} \times 100\%$

1.2.2 对植物病原菌离体活性测定 采用生长速率测定薇甘菊提取物对辣椒疫霉、玉米大斑病原菌

丝的离体抑制作用。将薇甘菊提取物与培养基混合，制成每 mL 培养基含 0.02 g 植物干样的带毒培养基，对照用等量溶剂与培养基混合。每种药剂重复 3 次，每次重复用 10 mL 带毒培养基，接 2 个直径 4 mm 的菌饼。在适温下培养，用十字交叉法测量菌落生长直径，计算抑制率。

抑制率 = $\frac{\text{对照组菌落平均直径} - \text{处理组菌落平均直径}}{\text{对照组菌落平均直径}} \times 100\%$

2 结果与分析

2.1 薇甘菊提取物对昆虫的生物活性

2.1.1 提取物对昆虫的毒杀作用 用乙醇、丙酮提取液对菜青虫和小菜蛾幼虫进行毒杀作用测定，结果见表 1。1.500 mg·L⁻¹ 乙醇提取物对菜青虫 1~2 龄、3~4 龄、5 龄幼虫的校正死亡率分别为 76.7%、63.3% 和 16.7%，以 1~2 龄的死亡率最高。随着提取物浓度的降低，幼虫的死亡率也随之降低。500 mg·L⁻¹ 乙醇提取物处理对小菜蛾幼虫的校正死亡率达 66.7%，随着质量浓度的降低，幼虫的死亡率也随之降低。各质量浓度的丙酮提取物对 2 种幼虫的毒杀作用略低于乙醇提取物。薇甘菊的乙醇、丙酮提取物对 2 种幼虫均具有明显的毒杀效果。提取物毒力与供试昆虫的关系见表 2。

表 1 薇甘菊提取物对幼虫的毒杀作用

Tah 1 Toxicity of extracts from <i>M. micrantha</i> to insect larvae					
测试昆虫	ρ(提取物) (mg·L ⁻¹)	乙醇提取物		丙酮提取物	
		死亡率/%	d ¹⁾ /%	死亡率/%	d /%
1~2 龄 菜青虫	500	80.0	76.6	73.3	69.2
	250	43.3	34.5	43.3	34.5
	125	23.3	11.5	16.7	3.92
	62.5	16.7	3.92	13.3	0
	31.25	13.3	0	13.3	0
	CK	13.3	—	13.3	—
3~4 龄 菜青虫	500	63.3	60.7	60.0	57.1
	250	36.7	32.2	26.7	21.5
	125	16.7	10.7	10.0	3.6
	62.5	10.0	3.6	10.0	3.6
	31.25	6.7	0	6.7	0—
	CK	6.7	—	6.7	—
5 龄 菜青虫	500	16.7	16.7	6.7	6.7
	250	10.0	10.0	0	0
	125	0	0	0	0
	62.5	0	0	0	0
	31.25	0	0	0	0
	CK	0	—	0	—
2~3 龄 小菜蛾	500	70.0	66.7	56.7	51.9
	250	40.0	33.3	36.7	29.7
	125	16.7	7.4	13.3	3.7
	62.5	16.7	7.4	13.3	3.7
	31.25	10.0	0	10.0	0
	CK	10.0	—	10.0	—

1) d 为平均校正死亡率

2.1.2 对昆虫的选择性拒食作用 薇甘菊乙醇、丙酮提取物 125 mg·L⁻¹对菜青虫、小菜蛾幼虫拒食作用测定结果表明, 乙醇提取物处理的菜青虫取食量明显降低处理, 拒食率达 97.4% (表 3)。对小菜蛾幼虫的拒食作用较菜青虫低, 平均拒食率为

70.4%。而丙酮提取物对菜青虫和小菜蛾的均有显著的拒食作用, 平均拒食率分别为 96.6% 和 98.3%。说明薇甘菊乙醇、丙醇提取物对 2 种幼虫均有一定的拒食作用。

表 2 薇甘菊提取物毒力与供试昆虫的关系
Tah 2 Relationship between insects and toxicity of extracts from *M. micrantha*

测试昆虫	乙醇提取物			丙酮提取物		
	回归方程	<i>r</i>	LC ₅₀ ¹⁾	回归方程	<i>r</i>	LC ₅₀
1~2 龄菜青虫	$Y = 9.217 + 0.139x$	0.995	293.4	$Y = 7.980 + 0.129x$	0.983	325.7
3~4 龄菜青虫	$Y = 4.034 + 0.120x$	0.995	383.1	$Y = 2.309 + 0.11x$	0.983	433.6
5 龄菜青虫	$Y = -1.529 + 0.03703x$	0.965	1391.5	$Y = -0.957 + 0.01284x$	0.882	3968.6
2~3 龄小菜蛾	$Y = 7.063 + 0.125x$	0.991	343.5	$Y = 7.126 + 0.10x$	0.981	428.7

1) LC₅₀ 的单位为 mg·L⁻¹

表 3 薇甘菊提取物对幼虫的拒食作用
Tah 3 Antifeedant activity of extract from *M. micrantha* to insect larvae

供试昆虫	ρ (mg·L ⁻¹)	供试虫数 (头)	乙醇处理			丙酮处理		
			处理 <i>A</i> /cm ²	对照 <i>A</i> /cm ²	拒食率/%	处理 <i>A</i> /cm ²	对照 <i>A</i> /cm ²	拒食率/%
菜青虫	125	3	0.21±0.32	3.3±2.90	97.4	0.31±0.30	3.08±0.41	96.5
小菜蛾	125	10	0.98±0.53	3.5±0.68	70.4	0.12±0.13	3.7±1.05	98.3

2.2 薇甘菊提取物对植物病原菌的生物活性
薇甘菊提取物对不同病原菌的活性测试结果见表 4。在每 mL 培养基含 0.02 g 植物干样的条件下, 薇甘菊的丙酮、甲醇提取物对辣椒疫霉、玉米大斑病菌菌丝的抑制率均为 100%, 说明薇甘菊提取对辣椒疫霉、玉米大斑病菌菌丝较强抑制作用。

表 4 薇甘菊提取物对植物病原真菌的抑制作用
Tah 4 Inhibitory effect of extract from *M. micrantha* to plant pathogen

处理	ρ (g·mL ⁻¹)	菌落平均直径/mm		抑制率/%	
		辣椒疫病	玉米大斑	辣椒疫	玉米大斑
丙酮提取物	0.02	0	0	100	100
丙酮(对照)	0.02	27.2	7.3	—	—
甲醇提取物	0.02	0	0	100	100
甲醇(对照)	0.02	15.3	20.7	—	—

3 讨 论

薇甘菊提取物对昆虫以及植物病原真菌的初步生物测定结果显示, 薇甘菊乙醇、丙酮提取液均具有一定的杀虫活性, 其中乙醇提取液的对昆虫的毒杀活性更强一些, 其植物化学成分以及对昆虫的毒理须进一步试验。在拒食作用方面, 乙醇与丙酮提取液对菜青虫的拒食作用影响差别不大, 但丙酮提取液对小菜蛾幼虫的拒食作用差异明显。乙醇与丙

酮提取液对不同龄期幼虫的生理活性是不同的。龄期越大则毒杀作用越差; 相同质量浓度的提取物对于低龄幼虫的毒杀作用大于高龄幼虫。实际应用时需要通过提高提取物质量浓度或在低龄期时使用才能达到理想的毒杀效果。

目前尚无报道薇甘菊对植物病原菌的毒理作用。如能从薇甘菊中找到具有抗植物病原菌活性物质, 将为薇甘菊利用提供理论依据。

参考文献:

[1] 孔国辉, 吴七根, 胡启明. 外来杂草薇甘菊 (*Mikania micrantha* H. B. K.) 在我国的出现[J]. 热带亚热带植物学报, 2000, 8(1): 27.

[2] 冯惠玲, 曹洪麟, 梁晓东, 等. 薇甘菊在广东的分布与危害[J]. 热带亚热带植物学报, 2002, 10(3): 267—270.

[3] FACEY P C, PASCOE K O, PORTER R B, et al. Investigation of plants used in *Jamaican* folk medicine for antibacterial activity [J]. *J Pharmacy and Pharmacology*, 1999, 51(12): 1455—1460.

[4] LENTZ D L, CLARK A M, HUFFORD C D, et al. Antimicrobial properties of *Honduran medicinal* plants [J]. *J Ethnopharmacology*, 1998, 63(3): 253—263.

[5] SUHARTI M, SANTOSO E. The possibility of using *Mikania* leaves as green manure [J]. *Bulletin Penelitian Hutan Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan*. 1985, 467: 1—11.

[6] 张茂新, 凌冰, 孔垂华, 等. 薇甘菊挥发油的化学成分及

- 其对昆虫的生物活性[J]. 应用生态学报, 2003, 14 (1): 93—96.
- [7] 崔德君, 赵善欢, 刘树青. 万寿菊初提物对小菜蛾产卵忌避作用的研究[J]. 农药, 2000, 37(6): 31—35.
- [8] 黄彰欣. 植物化学保护实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 1993: 36—37.
- [9] 张兴, 赵善欢. 楝科植物对几种害虫的拒食和忌避作用[J]. 华南农业大学学报, 1983, 4(3): 1—7.
- [10] 廖春燕, 赵善欢. 川楝素对粘虫幼虫拒食作用研究[J]. 华南农业大学学报, 1986, 7(1): 1—5.
- [11] 张业光, 徐汉虹, 黄继光, 等. 非洲山毛豆对几种鳞翅目害虫的拒食作用[J]. 华南农业大学学报, 2000, 21(4): 26—29.

Preliminary Studies on the Bioactivity of Crude Extract from *Mikania micrantha* on Insect and Plant Pathogen

FENG Hui ling¹, YANG Chang ju², ZHANG Xing³, YE Wan hui¹

(1. South China Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China;

2. Huazhong Agriculture University, Wuhan 430070, China;

3. Northwest Science & Technology University of Agriculture & Forestry, 712100, China)

Abstract: Preliminary studies on the bioactivity of crude extracts from *Mikania micrantha* H. B. K. on larva of *Pieris rapae* & *Plutella xylostella* were conducted. The results showed that the inhibitory and antifeedant activity of crude extract from *M. micrantha* against larvae of *Pieris rapae* and *Plutella xylostella* are remarkably effective. The toxicity of 500 mg °L⁻¹ ethanol extract against 1~2 instar larva of *Pieris rapae* were 80%, LC₅₀=293.4 mg °L⁻¹, while to 2~3 instar larva of *Plutella xylostella* were over 70%, LC₅₀=343.5 mg °L⁻¹. The toxicity of ethanol extracts to these two kinds of larva are better than that of acetone extract. Antifeedant activity of 125 mg °L⁻¹ of ethanol extracts are good to both larva and antifeedant ratio are 97.4% and 70.4% respectively. The antifeedant ratio of acetone extracts are 96.5% and 98.3% respectively. In 0.02 g mL⁻¹ (dry substance of *M. micrantha* / culture medium) concentration, inhibitory effect of carbinol and ethanol extract to *Phytophthora capsici* & *Exserohilum turcicum* are 100%.

Key words: *Mikania micrantha* H. B. K.; crude extract; insect; plant pathogen; bioactivity

(上接第 81 页)

Regeneration of Transgenic Alfalfa (*Medicago sativa* L.) by *Agrobacterium* -Mediated Transformation

LI Yin, HUANG Xue lin, XIAO Jie ning, HUANG Xia, LI Xiao ju

(Key Laboratory of the Ministry of Education for Genetic Engineering,

School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Somatic embryos of alfalfa (*Medicago sativa* L.) were used as receptors for transformation of *GUS* gene by *Agrobacterium tumefaciens* LBA4404/pCambia2301. Results indicated that the transient expression rate was increased by negative pressure treatment and obtained a transient expression rate as high as 35%. Via transformation, we obtained 15 kanamycin resistance plants from 158 explants inoculated with *Agrobacterium tumefaciens*. Histochemical GUS assay, PCR and PCR-Southern blot analysis have confirmed that *GUS* gene was already integrated into the genome of alfalfa. And *GUS* gene expressed steadily in transgenic plants after planted in soil for three months.

Key words: alfalfa (*Medicago sativa* L.); transformation; *Agrobacterium tumefaciens*; somatic embryo