

# 植物提取物对苏云金芽孢杆菌杀虫活性的影响

魏 辉<sup>1,2\*</sup>, 王前梁<sup>2</sup>, 侯有明<sup>2</sup>, 尤民生<sup>2</sup>

(1. 福建省农业科学院 植物保护研究所, 福建 福州 350013;

2 福建农林大学 植物保护学院, 福建 福州 350002)

**摘要:** 植物提取物对苏云金芽孢杆菌 *B. acillus thuringiensis* (*B. t.*) 的杀虫活性有不同程度的影响。试验结果表明, 处理 48 h 后, 花椒 *Zanthoxylum bungeanum*、假连翘 *Duranta repens*、南洋楹 *A. lizia falcata*、羊蹄甲 *B. auhinia variegata*、番石榴 *Psidium guajava*、荷花玉兰 *M. agnolia grandiflora* 的乙醇提取物对 *B. t.* 的杀虫活性有显著增效作用; 小蜡 *L. ligustrum sinense*、胜红蓟 *A. geratum conyzoides*、一品红 *Euphorbia pulcherrima*、烟草 *Nicotiana tabacum*、南洋杉 *A. raucaria cunninghamii*、繁缕 *S. tellaria media*、光叶子花 *B. ougainvillea glabra*、小飞蓬 *C. canadensis*、地肤 *Kochia scoparia* 的乙醇提取物对 *B. t.* 杀虫活性有显著拮抗作用; 其他植物提取物则没有显著影响。

**关键词:** 植物提取物; 苏云金芽孢杆菌; 相互作用; 杀虫活性

**中图分类号:** S436.6; S482.3; S482.398 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-7303(2003)04-0075-05

自第一个苏云金芽孢杆菌 *B. acillus thuringiensis* (*B. t.*) 菌株分离至今已有百余年的历史, 经过一个世纪的发展, *B. t.* 作为一种对人类安全、对绝大多数有益昆虫和非靶标生物低毒或无毒、对环境无污染的微生物杀虫剂得到了广泛的应用。随着 *B. t.* 在十字花科蔬菜上的大量使用, 小菜蛾 *P. lutella xylostella* 对 *B. t.* 的抗药性问题引起了人们的普遍关注; 而且在田间应用中, *B. t.* 制剂还存在防效不稳、杀虫速度慢、残效期短等缺点<sup>[1~3]</sup>。为了克服这些缺点, 国内外许多学者一直在研究提高 *B. t.* 杀虫效果的方法, 其中包括对 *B. t.* 进行细胞或基因水平的改造、放线菌毒素的耦合、对 *B. t.* 各种助剂进行筛选与优化, 以及对剂型加工技术的改进等多种措施<sup>[3,4]</sup>。

近年来, 植物次生物质作为 *B. t.* 有效的添加剂受到人们的重视。有些植物次生物质会显著地提高昆虫对病原微生物的敏感性<sup>[5]</sup>。研究表明, 川楝素 (Toosendanin)、茶皂素 (Teasaponin)、植物精油等对生物农药有增效作用<sup>[6~10]</sup>。Salam a 等<sup>[11]</sup>研究表明, 对斜纹夜蛾有抑制作用的植物粉末或提取物能大大地提高 *B. t.* 的  $\delta$ -内毒素的毒力。

笔者以小菜蛾为试虫, 研究 23 种植物提取物和 3 种纯化的植物次生物质对 *B. t.* 杀虫活性的影响, 并探讨其对 *B. t.* 增效或拮抗的机理。结果报道如下。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

1.1.1 供试植物提取物 供试植物种类见表 1。将所采植物带回室内, 用清水洗净并晾干后放入恒温箱中 (50~60℃) 烘干 6~8 h, 然后用粉碎机粉碎, 过 40 目筛, 称重后装入广口瓶中, 密封、低温、避光保存备用。用 95% 乙醇为溶剂, 按乙醇与植物干粉质量比约 4:1 的比例, 浸

□ 作者简介: 魏辉 (1972-), 男, 福建平潭人, 博士, 助理研究员, 主要从事植物和植食性昆虫相互关系的研究  
基金项目: 福建省重大科技项目 (2002N007); 福建省青年科技人才创新项目 (2002-J-033); 福建省自然科学基金 (B0320003)。

泡植物样品约 24 h。用分液漏斗将浸提液过滤到广口瓶中,重复浸泡 3 次后,将 3 次浸提液合并倒入圆底烧瓶中,减压脱溶并回收溶剂,直至提取物浓缩至膏状并且质量不再变化为止,称重后密封,低温、避光保存备用。配制时用少量乙醇溶解,用清水和吐温 80 配成浓度为 1 g/mL 浓溶液。预备试验表明,用以上浓度的植物提取物处理 48 h 后,小菜蛾的存活率为 100%。

Table 1 The scientific name and source of the extracted plants

Family	Scientific name	Extracted organ
Chenopodiaceae	<i>Kochia scoparia</i> (L.) Schrad (地肤)	Stalk&leaf
Compositae	<i>Artemisia argyi</i> L. et Vant (艾蒿)	Stalk&leaf
Compositae	<i>Ageratum conyzoides</i> L. (胜红蓟)	Stalk&leaf
Compositae	<i>Conyza canadensis</i> (L.) Cronq (小飞蓬)	Stalk&leaf
Moraceae	<i>Humulus scandens</i> (Lour.) Merr (葎草)	Stalk&leaf
Moraceae	<i>Broussonetia papyrifera</i> (L.) Vent (构树)	Stalk&leaf
Theaceae	<i>Camellia oleifera</i> Abel (油茶)	Fruit
Caryophyllaceae	<i>Stellaria media</i> (L.) Cyr (繁缕)	Stalk&leaf
Legumino sae	<i>Albizia falcataria</i> (L.) Fosberg (南洋楹)	Stalk&leaf
Legumino sae	<i>Bauhinia variegata</i> L. (羊蹄甲)	Stalk&leaf
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia hirta</i> L. (飞扬草)	Stalk&leaf
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia pulcherrima</i> Willd ex Klotzsch (一品红)	Stalk&leaf
Magnoliaceae	<i>Magnolia grandiflora</i> L. (荷花玉兰)	Stalk&leaf
Nyctaginaceae	<i>Bougainvillea glabra</i> Choisy (光叶子花)	Stalk&leaf
Solanaceae	<i>Nicotiana tabacum</i> L. (烟草)	Leaf
Rutaceae	<i>Zanthoxylum bungeanum</i> Maxim. (花椒)	Fruit
Oleaceae	<i>Ligustrum sinense</i> Lour. (小蜡)	Stalk&leaf
Araucariaceae	<i>Araucaria cunninghamii</i> Sweet (南洋杉)	Stalk&leaf
Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i> L. (番石榴)	Stalk&leaf
Myrtaceae	<i>Eucalyptus tereticornis</i> Smith (细叶桉)	Stalk&leaf
Verbenaceae	<i>Duranta repens</i> L. (假连翘)	Stalk&leaf
Araceae	<i>Corus calamus</i> L. (菖蒲)	Stalk&leaf
Araceae	<i>Amorphophallus rivieri</i> Durieu ex Carr (魔芋)	Leaf

1.1.2 供试蔬菜 菜薹 *B. rassica parachinensis* Bailey, 品种为“49 菜心”。

1.1.3 供试昆虫 小菜蛾 *P. xylostella* 为室内长期饲养的种群。

1.1.4 供试苏云金芽孢杆菌 苏云金芽孢杆菌 *B. acillus thuringiensis* (Bt) 原粉(32 000 IU/mg), 由福建省浦城县绿安生物农药有限公司提供。

## 1.2 试验方法

以小菜蛾为试虫,按 Bt 浓度为 0.4 mg/mL、植物提取物浓度为 1 g/mL 配制 50 mL Bt 与植物提取物的混合液。将菜薹叶片浸入混合液中 1 min 后,取出自然晾干,放入小花盆内供试。花盆底部用培养皿(∅12 cm)衬底,垫上保湿滤纸,顶部用保鲜膜封住,并用昆虫解剖针刺孔通气。每盆接入小菜蛾 3~4 龄幼虫 30 只,重复 3 次,设含有相同浓度的吐温 80 和酒精的清水为对照。24 h 和 48 h 后检查小菜蛾幼虫死亡虫数,按公式(1)和(2)计算死亡率和校正死亡率,用“SPSS V 10.0 for Windows 标准版统计软件包”对数据进行方差分析(ANOVA)。

$$\text{死亡率}(\%) = (\text{死亡虫数}/\text{供试总虫数}) \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

$$\text{校正死亡率}(\%) = [(\text{处理组死亡率} - \text{对照组死亡率}) / (1 - \text{对照组死亡率})] \times 100 \dots\dots (2)$$

## 2 结果与分析

方差分析结果表明(表 2), 处理后 24 h, 各种植物提取物对 *Bt* 杀虫效果的差异达到极显著水平; 多重比较(DMRT)结果表明(表 2), 经艾蒿、羊蹄甲、魔芋、繁缕的乙醇提取物与 *Bt* 的混合物处理, 小菜蛾校正死亡率与 *Bt* (38.89%) 无显著差异, 而在其余植物提取物与 *Bt* 混合物处理下, 小菜蛾的校正死亡率与 *Bt* 有显著差异, 其中花椒、菖蒲、番石榴、胜红蓟、南洋楹、葎草、假连翘、细叶桉和构树乙醇提取物对 *Bt* 有显著增效作用, 荷花玉兰、南洋杉、油茶、光叶子

Table 2 Influences of secondary plant metabolites on the *Bt* insecticidal activity against *P. xylostella*\*

Treatment	24 h	48 h
	Adjusted mortality rate (%) ( $\bar{X} \pm SE$ )	Adjusted mortality rate (%) ( $\bar{X} \pm SE$ )
<i>Z. bungeanum</i>	62.22 ± 1.11 Aa	93.33 ± 1.93 Aa
<i>D. repens</i>	50.00 ± 1.92 BCDd	86.67 ± 1.93 Bb
<i>A. falcataria</i>	55.56 ± 1.11 ABbc	85.56 ± 1.11 Bb
<i>B. variegata</i>	40.00 ± 1.92 EFGfg	84.44 ± 2.94 BCbc
<i>P. guajava</i>	58.89 ± 0.11 Aab	78.89 ± 2.94 BCDcd
<i>M. grandiflora</i>	30.00 ± 1.92 Hli	78.89 ± 1.11 BCDcd
<i>E. tereticornis</i>	46.67 ± 0.93 CDEde	75.56 ± 5.88 CDEde
<i>B. papyrifera</i>	46.67 ± 1.93 CDEde	75.56 ± 1.13 CDEde
<i>A. argyi</i>	42.22 ± 0.94 EFGef	72.22 ± 2.22 DEdef
<i>A. calamus</i>	60.00 ± 0.92 Aab	70.00 ± 1.92 DEef
<i>Bt</i>	38.89 ± 1.11 FGfg	68.89 ± 1.11 DEFef
<i>E. hirta</i>	22.22 ± 0.11 JKLkl	67.89 ± 1.12 DEFef
<i>H. scandens</i>	51.11 ± 0.11 BCcd	66.67 ± 1.93 EFGf
<i>A. rivieri</i>	40.00 ± 0.92 EFGfg	66.67 ± 5.77 EFGf
<i>C. oleifera</i>	27.78 ± 0.11 Iij	65.55 ± 2.22 EFGHf
<i>L. sinense</i>	17.78 ± 0.11 Lm	57.78 ± 1.11 FGHlg
<i>A. conyzoides</i>	56.67 ± 0.93 ABab	55.56 ± 1.11 H Ijg
<i>E. pulcherrima</i>	21.11 ± 0.11 KLkl	52.22 ± 1.11 IJKgh
<i>N. tabacum</i>	18.89 ± 0.11 KLm	52.22 ± 1.11 IJKgh
<i>A. cunninghamii</i>	27.78 ± 0.22 Iij	46.67 ± 3.85 IJKlhi
<i>S. media</i>	35.55 ± 0.12 GHgh	45.56 ± 1.11 JKLhi
<i>B. glabra</i>	24.45 ± 0.22 IJKjk	40.00 ± 1.92 Lmi
<i>C. canadensis</i>	22.22 ± 0.22 JKLkl	31.11 ± 1.11 Mj
<i>K. scoparia</i>	17.78 ± 0.11 Lm	28.89 ± 1.11 Mj
Control	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Analysis of variance	$F = 72.2580^{**}$ $P = 0.0000$	$F = 45.9880^{**}$ $P = 0.0000$

\* Values along the column bearing the same letters are not significantly different at 0.05 (lowercase letters) or 0.01 (capital letters) level according to DMRT of One-Way ANOVA.

\*\* Means One-Way ANOVA is significant at the 0.01 level

花、小飞蓬、飞扬草、一品红、烟草、小蜡、地肤的乙醇提取物对 *Bt* 杀虫活性有显著拮抗作用。

方差分析结果表明(表 2), 处理后 48 h, 各种植物提取物对 *Bt* 杀虫效果的差异达到极显著水平; 多重比较表明, 艾蒿、菖蒲、飞扬草、葎草、魔芋、细叶桉、构树、油茶的乙醇提取物与 *Bt* 的混合物所处理小菜蛾的校正死亡率与 *Bt* (68.89%) 无显著差异; 其中花椒、假连翘、南洋楹、羊蹄甲、番石榴、荷花玉兰的乙醇提取物对 *Bt* 有显著增效作用; 小蜡、胜红蓟、一品红、烟草、南洋杉、繁缕、光叶子花、小飞蓬、地肤乙醇提取物对 *Bt* 杀虫活性有显著拮抗作用。

### 3 讨论

目前, 化学杀虫剂在害虫防治中仍起着重要作用, 为了减少化学杀虫剂的负面影响, 研究人员在杀虫剂的化学合成方法及使用技术、天然杀虫活性成分的开发利用等方面进行了大量研究。微生物和植物的代谢产物是新一代杀虫剂的重要来源之一, 进行微生物和植物代谢产物的生物活性和相互作用研究, 对于环境保护和害虫持续控制有着十分重要的意义<sup>[12]</sup>。

本试验结果表明, 一些供试植物提取物能够显著影响 *Bt* 的杀虫活性, 这对利用丰富的植物资源, 开发植物源的农药添加剂有一定的指导意义。相关文献报道, 植物提取物对杀虫剂的影响与不同植物提取物的物理和化学性状、植物提取物或杀虫剂对昆虫的作用机理, 以及植物提取物与杀虫剂的相互作用有着密切关系, 植物提取物由于改变了某些杀虫剂的物理性状<sup>[13-15]</sup>, 干扰昆虫的生理生化指标<sup>[16,17]</sup>, 从而影响一些化学农药的杀虫活性。小菜蛾幼虫头部存在能够感受不同植物次生物质的复杂感觉系统, 这个感觉系统对小菜蛾取食行为的调节起到重要作用<sup>[18-21]</sup>, 所以在研究植物提取物对杀虫剂的增效机制时, 应该考虑到小菜蛾化学感觉器的作用。植物提取物、杀虫剂和害虫之间的相互作用比较复杂, 在这方面还有待于深入研究; 同时, 在实际应用中还要综合考虑植物提取物和杀虫剂的理化性质、最佳配比、影响因子, 以及害虫的发育期、寄主等生理和生态学因素, 以减少植物提取物与杀虫剂的拮抗作用, 提高杀虫效果。

### 参考文献:

- [1] 李建洪, 伍建宏, 喻子牛. 小菜蛾对苏云金芽孢杆菌抗药性研究[J]. 华中农业大学学报, 1998, 17(3): 214-217.
- [2] Talekar N S, Shelton A M. Biology, ecology, and management of the diamondback moth[J]. *Ann Rev Entomol*, 1993, 38: 275-301.
- [3] 刘波, 苑宝玲, Sengonca C, 等. 高效生物杀虫剂 BtA 耦合技术的研究[J]. 中国生物防治, 2000, 16(增刊): 28-34.
- [4] 邱思鑫. 苏云金芽孢杆菌高效菌株的选育、发酵培养与添加剂筛选[D]. 福州: 福建农林大学, 2001.
- [5] Berenbaum M R. Allelochemicals in insect-microbe-plant interactions: agents provocateurs in the coevolutionary arms race[A]. Barabosa P, *et al*. Novel aspects of insect-plant interaction[C]. New York: Wiley, 1988: 97-123.
- [6] Lichtenstein E P, Liang T T, Schulz K R. Insecticidal and synergistic components isolated from dill plants[J]. *J Agric Food Chem*, 1974, 22(4): 658-664.
- [7] Fuhremann T W, Lichtenstein E P. Insecticide toxicity and degradation in houseflies as affected by naturally occurring food plant components[J]. *J Agric Food Chem*, 1979, 27(1): 87-91.

- [8] Marcus C, Lichtenstein E P. Biologically active components of anise: toxicity and interactions with insecticides in insects[J]. *J Agric Food Chem*, 1979, 27(6): 1217-1223
- [9] 赵善欢, 张兴. 植物性物质川楝素的研究概况[J]. 华南农业大学学报, 1987, 8(2): 57-67.
- [10] 徐汉虹, 赵善欢. 利用植物精油防治害虫的研究进展[J]. 华南农业大学学报, 1993, 14(4): 145-154
- [11] Salama H S, Sharaby A. Feeding deterrence induced by some plants in *Spodoptera littoralis* and their potentiating effect on *Bacillus thuringiensis* Berliner[J]. *Insect Science and its Application*, 1988, 9(5): 573-577.
- [12] 尤民生, 魏辉. 环境保护与害虫持续控制[J]. 福建农业大学学报, 2001, 30(3): 280-289
- [13] 王小艺, 黄炳球. 茶皂素对农药的增效机理-I 对药液表面张力的影响[J]. 茶叶科学, 1998a, 18(2): 125-128
- [14] 王小艺, 黄炳球. 茶皂素对农药的增效机理-II 对药液接触角的影响[J]. 茶叶科学, 1998b, 18(2): 129-133
- [15] 王小艺, 黄炳球. 茶皂素对农药的增效机理-III 对药液沉积量的影响[J]. 茶叶科学, 1998c, 18(2): 134-138
- [16] Felton GW, Dahman D L. Allelochemical induced stress: effects of L-canavanine on the pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* in *Manduca sexta*[J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1984, 44: 187-191.
- [17] Sivamani E, Rajendran N, Senrayan R, et al. Influence of some plant phenolics on the activity of  $\delta$ -endotoxin of *Bacillus thuringiensis* var. *galleriae* on *Heliothis armigera*[J]. *Entomology Experience and Apply*, 1992, 63: 243-248
- [18] 魏辉, 杨广, 王前梁, 等. 小菜蛾幼虫头部化学感觉器的电镜扫描[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2003, 32(4): 434-437.
- [19] Dethier V G. Mechanisms of host plant recognition[J]. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 1982, 31: 49-56
- [20] Loon J J A van. Chemosensory basis of feeding and oviposition behaviour in herbivorous insects: a glance at the periphery[J]. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 1996, 80: 7-13
- [21] Schoonhoven L M, Jemmy T, Loon J J A van. Insect-plant biology: from physiology to evolution[M]. London: Chapman & Hall, 1998 172-182

## Influence of Secondary Plant Metabolites on the Insecticidal Activity of *Bacillus thuringiensis*

WEI Hui<sup>1,2\*</sup>, WANG Qian-liang<sup>2</sup>, HOU You-ming<sup>2</sup>, YOU Min-sheng<sup>2</sup>

(1. Institute of Plant Protection, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350013, China;

2. College of Plant Protection, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

**Abstract:** Adjusted mortality rates were used to measure the influences of secondary plant metabolites on *Bacillus thuringiensis*. Forty-eight hours after treatment, a significant difference ( $P < 0.01$ , One-Way ANOVA) was found among the mixtures of ethanol extracts and *Bacillus thuringiensis* (*Bt*). While the ethanol extracts of *Zanthoxylum bungeanum*, *Duranta repens*, *Albizia falcataria*, *Bauhinia variegata*, *Psidium guajava* and *Magnolia grandiflora* had synergistic effects on *Bt*, ethanol extracts of *Ligustrum sinense*, *Ageratum conyzoides*, *Euphorbia pulcherrima*, *Nicotiana tabacum*, *Araucaria cunninghamii*, *Stellaria media*, *Bougainvillea glabra*, *Conyza canadensis* and *Kochia scoparia* had antagonistic effect on *Bt*. There were no effects on *Bt* caused by the others.

**Key words:** plant extract; *Bacillus thuringiensis*; interaction; insecticidal activity