

苍耳有效成分的提取及其杀虫活性的研究

王国夫, 钟俊燕, 胡春霞

(绍兴文理学院元培学院 生命科学系, 浙江 绍兴 312000)

摘 要:分别用石油醚、苯、丙酮和乙醇 4 种溶剂提取苍耳植株的有效成分, 将获得的 4 种提取物以不同浓度处理菜粉蝶的幼虫, 研究这 4 种提取物对菜粉蝶的杀虫活性。结果表明: 这 4 种提取物对菜粉蝶都具有生物活性, 随着浓度的减小, 杀虫活性也随之降低, 但石油醚提取物在低浓度情况下具有较高的拒食率。其中, 就拒食作用而言, 以乙醇提取物的效果最好, 48 h 不同浓度的提取物(0.08 g/mL 和 0.32 g/mL)拒食率分别为 78.53% 和 96.24%; 就触杀作用而言, 以丙酮提取物的效果最好, 24、48 h 的校正死亡率分别为 77.78% 和 81.48%; 而毒杀作用以乙醇的提取物作用最好, 1、4、7 d 的校正死亡率分别为 73.33%、85.33% 和 92.12%。

关键词:苍耳; 提取物; 杀虫活性; 菜粉蝶

中图分类号:S 573+.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)03-0155-03

有机合成农药因其自身毒性, 对环境和人类会造成很大的影响。随着人类对自身健康和非靶标生物安全重视程度的提高, 为保护生存环境和可持续发展, 高效低毒的植物保护药剂的开发利用也越来越受到关注^[1-2]。我国植物资源丰富, 一些植物在长期进化过程中形成了抵抗害虫的化学防御体系, 植物源杀虫剂是自然存在的物质, 在植物与自然界的长期演化过程中, 自然界对植物中的各种化学物质早已形成了完善的降解机制, 其活性成分在自然界中不积累, 对环境较安全, 而且其安全间隔期短, 特别适用于蔬菜、水果和茶叶等被人直接食用的作物, 对作物也很难产生药害; 另外对害虫的作用机理与常规化学农药差别很大, 植物源杀虫剂能够作用于昆虫的多个器官系统, 有利于克服害虫抗药性, 对非靶标生物比较安全, 有些植物杀虫剂还可刺激作物生长, 而且制造方法简便、成本低廉, 可以因地制宜、就地取材^[3]。植物源杀虫剂因其对害虫有效和独特的作用方式, 将成为未来害虫防治策略的一种重要药剂。

苍耳(*Xanthium sibiricum* Patrin) 属菊科苍耳属草本植物, 为常见的田间杂草。我国各省都有分布。菊科植物不仅都含有黄酮, 并且大多数含有挥发油和三萜烯, 以及 2 类独有结构类型的天然产物: 倍半萜内酯和炔类化合物^[4]。前者对许多昆虫有拒食作用, 后者对多种生物有机体具有光活化毒杀作用^[5]。试验尝试用不同溶剂提取苍耳植株中的有效成分, 并对其进行活性测

试, 为进一步利用苍耳有效生理活性物质, 开发苍耳防虫药剂提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 植物材料 供试的植物材料苍耳采于绍兴文理学院校园内, 包括植株根、茎、叶、种子 4 部分。洗净干燥, 用植物粉碎机粉碎后, 过 40 目筛, 装入密封塑料袋中, 贮于 4℃ 冰箱中备用。

1.1.2 供试昆虫及饲养 菜粉蝶 3 龄幼虫, 捕捉于绍兴文理学院生命科学学院实验基地, 要求寄生叶菜近期未使用农药, 将幼虫放入 1 000 mL 的大烧杯中, 杯口扎上纱布, 温度 25℃, 相对湿度 60%±10%, 光照 12 h, 以小白菜为饲料。

1.1.3 供试药剂 分析纯石油醚、苯、丙酮、95% 乙醇。

1.2 苍耳有效成分的提取

植物有效成分提取方法有多种, 索氏提取法、振荡法、超声波法等。这些方法各有优缺点。该试验采用改良冷浸法提取苍耳有效成分来比较提取物的生物活性。

具体方法: 取冷藏的苍耳植株干粉 80 g, 分成 4 份, 分别放入锥形瓶(250 mL), 向瓶内加入 200 mL 的 95% 乙醇、丙酮、苯、石油醚, 浸提 3 d, 收集第 1 次浸提粗液后分别再加入 150 mL 提取液, 浸提 2 d, 收集第 2 次浸提粗液后再分别加入 150 mL 提取液, 浸提 1 d, 以上过程全在摇床上完成(增加振荡, 以利于活性物质的提取), 室内温度保持 25℃, 重复 3 次。将提取液合并过滤, 把提取液放在旋转蒸发器内减压浓缩至膏状, 称取膏状物的重量, 计算提取率(提取物膏状物的重量/干物质的重量)后, 将干粉用乙醇定溶至 0.8 g/mL, 贮藏于棕色瓶中, 冰箱保存。测试时用水临时稀释试验。

第一作者简介:王国夫(1967-), 男, 浙江绍兴人, 实验师, 现主要从事植物生理生化及植物保护的教学和科研工作。E-mail: wgf83@zscas.edu.cn.

收稿日期:2009-10-09

1.3 苍耳的活性测定

苍耳 4 种溶剂提取物均以苍耳干重计算,用蒸馏水进行 2.5 倍、10 倍稀释,对对照样浸蒸馏水。

1.3.1 拒食作用的测定 将新鲜的菜叶片用圆形打孔器打成直径 1.5 cm 叶碟,分别放入到供试样品的石油醚、苯、丙酮、乙醇不同稀释液及蒸馏水(对照组)中浸 3 s,待叶碟晾干后,放入直径为 9 cm 的培养皿中(内垫滤纸,加少许蒸馏水保湿)^[6]。测定选择性拒食率时每皿摆入处理和对照数目相同的叶碟,并且相间排列,每皿放入饥饿了 6 h 的菜粉蝶 3 龄幼虫 3 头(重复 5 次)。在 25℃,相对湿度 60%±10%,光照培养箱饲养,24、48 h 后测量取食叶面积。选择拒食率(%)=[(对照组取食叶面积-处理组取食叶面积)/(对照组取食叶面积+处理组取食叶面积)]×100。

1.3.2 室内毒力的测定 采用浸叶饲喂法。叶片处理方法同拒食作用测定。每皿放入饥饿了 6 h 的 3 龄幼虫 3 头,48 h 后换为新鲜无毒叶片,继续饲喂,重复 5 次,空白对照供新鲜叶碟。在 25℃,相对湿度 60%±10%,光照培养箱饲养,于处理后 1、4、7 d 后调查死亡情况,计算校正死亡率。校正死亡率(%)=[(处理死亡率-对照死亡率)/(100-对照死亡率)]×100。

1.3.3 触杀作用的测定 测定苍耳提取物对菜粉蝶 3 龄幼虫的触杀作用。用微量点滴仪分别将石油醚、苯、丙酮、乙醇提取物稀释液点滴试虫的前脚背板,对照组不加样品。幼虫每头点滴 2 μL,重复 5 头试虫。处理的试虫用新鲜菜叶片,在 25℃,相对湿度 60%±10%,光照培养箱饲养,观察并记录 24、48 h 后试虫的存活情况,计算校正死亡率。

2 结果与分析

2.1 有效成分的提取

该试验用石油醚、苯、丙酮和乙醇为提取液,对苍耳的有效成分进行平行提取。石油醚、苯、丙酮、乙醇 4 种溶剂的苍耳提取率分别为:2.2%、4.5%、6.6%、10.2%。用乙醇作为提取的有机溶剂更有利于苍耳有效成分的提取。植物化学成分中,萜类、甾体等脂环类及芳香类化合物因为极性较小,易溶于氯仿、乙醚等亲脂性溶剂;而糖苷、氨基酸等成分极性较大,则易溶解于水及含水醇,所以苍耳活性物质可能大部分属于极性物质。

2.2 室内生物活性的测定

2.2.1 不同溶剂的苍耳提取物对菜粉蝶幼虫的拒食作用 由图 2、3 可以看出,苍耳植株的提取物对菜粉蝶幼虫都有拒食活性,总体拒食率随着提取物浓度的降低拒食活性也减弱。0.32 g/mL 下,乙醇的苍耳提取物对菜粉蝶的拒食作用效果最好,其次为丙酮提取物,石油醚提取物最低;在 0.08 g/mL 处理浓度时,石油醚苍耳提取物对菜粉蝶的拒食作用相对较好,拒食率接近乙醇提

取物,另外石油醚提取物的拒食率受处理时间、浓度变化影响不大。

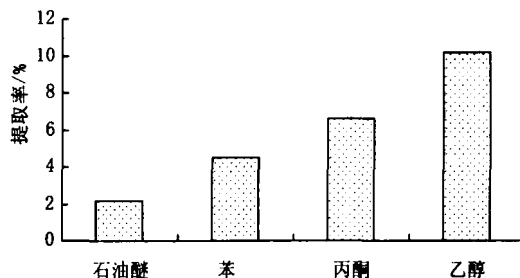


图1 不同溶剂苍耳有效成分提取比较

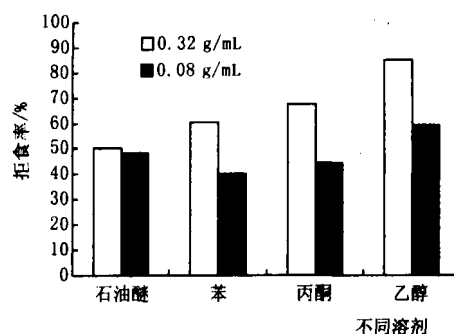


图2 不同溶剂提取物 24 h 选择拒食率比较

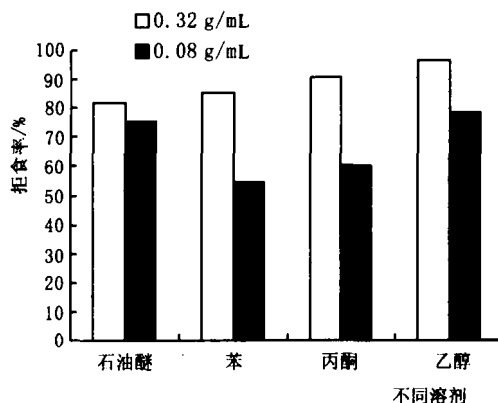


图3 不同溶剂提取物 48 h 选择拒食率比较

2.2.2 不同溶剂的苍耳提取物对菜粉蝶幼虫的毒杀作用 图 4 表明:乙醇提取物对菜粉蝶幼虫的毒杀作用最强,7 d 后的校正死亡率为 92.12%,丙酮提取物其次,7 d 后的校正死亡率为 83.68%,石油醚提取物最差,7 d 后的校正死亡率为 48.67%。这与石油醚在拒食作用中的表现不尽相同,初步推断:苍耳中的主要杀虫活性成分可能存在于较高极性溶剂提取物中,而苍耳拒食作用的活性成分相对比较复杂,既有极性物质,也有非极性物质。

2.2.3 不同溶剂的苍耳提取物对菜粉蝶幼虫的触杀作用 由图 5 知,丙酮提取物对菜粉蝶的触杀作用最好,24、48 h 的校正死亡率分别为 77.78%和 81.48%,乙醇

24、48 h 的校正死亡率分别为 48.12%和 55.56%，苯 24、48 h 的校正死亡率分别为 36.57%和 42.18%，石油醚最低，24、48 h 的校正死亡率分别为 29.25%和 37.03%。所以菜粉蝶触杀作用的活性物质的性质有可能与拒食、毒杀作用的活性物质不同。

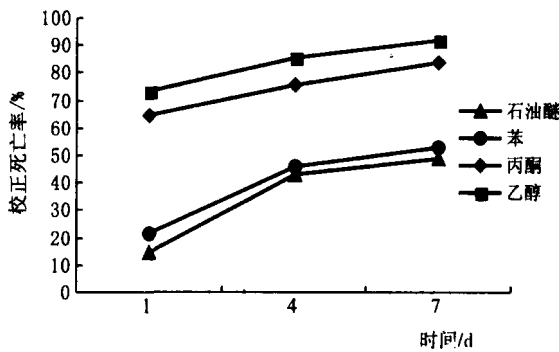


图 4 不同溶剂的苍耳提取物(0.08 g/mL)对菜粉蝶幼虫的毒杀作用

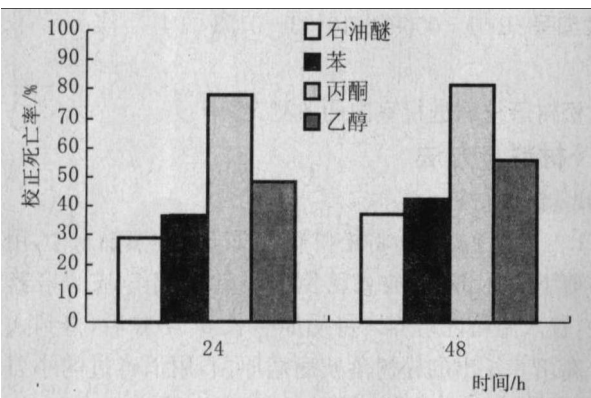


图 5 不同溶剂的苍耳提取物(0.08 g/mL)对菜粉蝶幼虫的触杀作用

3 讨论

从不同溶剂提取物对菜粉蝶幼虫的拒食作用、触杀作用和毒杀作用来看，不同溶剂提取的苍耳有效生理活

性物质有较大的差异，乙醇提取物的拒食作用、毒杀作用相对强一些，而丙酮提取物的触杀作用相对强一些，这意味着在苍耳中可能含有多种较大的活性物质。在筛选杀虫植物活性成分过程中，虽然选择合适的溶剂至关重要，但因为提取物是多种成分的“混合物”，其最终结果也是多种成分综合作用的反映，因此，需要在此基础上，进一步研究苍耳不同溶剂提取物的有效成分，进一步分析单位提取物的生理活性，将苍耳提取物有效成份进行细化，追踪其活性成分所对应的本质作用。

该试验提取的是苍耳整株的有效活性成分，没有对苍耳植株的根、茎、叶、果分部位进行有效成分的提取和测试，尚不知植株各部位有效成分生理活性的差别。由于试验在实验室内进行，环境条件相对封闭，试验结果也有一定的局限性，没有考虑温度、湿度、光照等环境因子的变化对测试的影响^[8]，因此，还需要进一步田间试验。另外，试验仅进行了苍耳提取物对菜粉蝶的拒食、毒杀、触杀活性测定，对其它试虫的试验效果，仍有待于进一步研究。

参考文献

[1] 刘玉杰,王宝增.植物源杀虫剂的研究进展[J].生物学教学,2008(2):8-10.
[2] 冷欣夫,邱星辉.我国昆虫毒理学五十年来的研究进展[J].昆虫知识,2000,37(1):24-28.
[3] 徐汉虹,张志祥,程东美.植物源农药与农业可持续发展[J].科技导论,2002(7):42-43.
[4] 侯翠丽.偏基苍耳杀虫活性研究[D].福建:福建农林大学硕士学位论文,2005.
[5] 乐海洋,胜红蓊.万寿菊和柔毛水要提取物对农业害虫的生物活性测试[J].广东农业科技,1992(6):34-36.
[6] 张兴,赵善欢.樟科植物对几种害虫的拒食和忌避作用[J].华南农学院学报,1983,4(3):1-7.
[7] 高红明,王兆龙.植物提取液对菜青虫的杀虫活性研究[J].江苏农业研究,1999,20(4):32-34.
[8] 刘林.苍耳农用抑菌生物活性的初步研究[D].山东:莱阳农学院硕士学位论文,2004.

Extraction of Active Ingredients in *Xanthium Sibiricum* Patrín and Analysis of Its Insecticidal Activity

WANG Guo-fu,ZHONG Jun-yan,HU Chun-xia

(Department of Life Science,Shaoxing University Yuanpen College,Shaoxing Zhejiang,312000)

Abstract: To investigate the insecticidal activity of the four kinds of active ingredients which was extracted from *Xanthii* plants using petroleum ether, benzene, acetone and ethanol solvent respectively, the larvae of *Pieris rapae* were treated with the extracts. The results showed the four kinds of solvent extracts had less biological activity with the decrease of concentration, and the petroleum ether extract had the best antifeedant rate in the case of low concentration. The antifeedant rate of the ethanol extract for 48 h were the best and were 78.53% and 96.24% respectively at the quality concentration 0.08 g/mL and 0.32 g/mL; Contact toxicity activities of acetone extract was the best, and the adjusted mortalities for 24 h and 48 h were 77.78% and 81.48% respectively; the insecticidal toxicity of ethanol extract was the highest, and the adjusted mortalities for 1 d, 2 d and 3 d were 73.33%, 85.33% and 92.12% respectively.

Key words: *Xanthium sibiricum* Patrín; extract; insecticidal activity; *Pieris rapae*