

文章编号:1000-2642(2006)02-0305-04

青蒿粗提物对朱砂叶螨生物活性的初步研究

周宇杰, 丁伟*, 王春升

(西南大学 重庆市昆虫学及害虫控制工程重点实验室, 重庆 400716)

摘要:用青蒿 *Artemisia annua* L. 的石油醚、苯、乙醚、丙酮和水的平行提取物和顺序提取物对朱砂叶螨进行了系统的触杀活性研究。结果表明青蒿石油醚、苯、乙醚、丙酮和水提取物有一定的杀螨活性, 其中 10 g/L 丙酮顺序粗提物活性最强, 对朱砂叶螨 48, 72 h 的校正死亡率分别为 90.64% 和 100%, 对该螨的致死浓度为 0.206 6 g/L。

关键词:青蒿; 朱砂叶螨; 杀螨活性

中图分类号: S 433.7

文献标识码: A

ACARICIDAL ACTIVITIES OF CRUDE EXTRACT OF *ARTEMISIA ANNUA* L.
AGAINST *TETRANYCHUS CINNABARINUS* (ACARI: TETRANYCHIDAE)

ZHOU Yu-jie, DING Wei*, WANG Chun-sheng

(Key Laboratory of Entomology and Pest Control Engineering of Chongqing; Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract: Extracts of an annual medicinal plant, *Artemisia annua* L. (Asteraceae), were bioassayed to determine their acaricidal activities against *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) in laboratory. The acetone extract of the plant showed the most potent acaricidal activity against *T. cinnabarinus* ($LC_{50} = 0.2066$ g/L). The corrected mortality of acetone extract from *A. annua* at 10 g/L against *T. cinnabarinus* was 90.64% and 100%, respectively, after 48 and 72 h the contact treatment.

Key words: *Artemisia annua* L.; *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval); acaricidal activity

朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) 是一类危害严重的植食性害螨, 在我国分布广泛, 因其具有繁殖力强、世代周期短、近亲交配率高等特点, 比其他害虫容易产生抗药性^[1]。长期以来, 对螨类的控制主要还是依赖化学农药, 但过度频繁的使用无可避免的加剧了螨类抗药性的产生, 杀伤了大量天敌昆虫, 从而导致“3 R”问题的产生。因此, 综合治理螨类的关键是选用对环境友好的能在自然中降解的选择性杀螨剂, 而植物源农药对天敌昆虫伤害较小, 能有效的发挥天敌的作用, 减少杀螨剂的使用和降低环境污染^[2]。

传统抗疟中药青蒿别名黄花蒿、臭蒿, 菊科蒿属 1a 生草本植物, 广泛分布于我国各地, 常生于山坡、林缘、荒山。研究报道证明青蒿有多种生物活性, 如能有效控制烟草花叶病毒 Tobacco mosaic virus^[3]、西瓜花叶病毒 2 号 Watermelon mosaic 2 potyvirus. WMV-2^[4]、小麦赤霉菌 *Fusarium graminearum*^[5], 青蒿次生代谢物对小麦全蚀病菌 *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*、禾谷丝核菌 *Rhizoctonia cerealis* 等真菌也具有抗菌作用^[6~7], 青蒿提取物对番茄灰霉病菌 *Botrytis cinerea*、烟草黑胫病菌 *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* 等病菌也能有效抑制其菌丝生长^[8]。

收稿日期: 2005-08-30

基金项目: 重庆市自然科学基金资助项目(2004-6599)

作者简介: 周宇杰(1978-), 男, 浙江诸暨人, 西南大学硕士研究生, 从事天然产物农药研究。

* 为通讯作者

青蒿除具有抗菌活性外,还具有杀虫和抑制杂草生长活性,不同的青蒿提取物对赤拟谷盗 *Tribolium castaneum*、南部灰翅夜蛾 *Spodoptera eridania*、玉米象 *Sitophilus zeamais*、四纹豆象 *Callosobruchus maculatus*、红蜡 *Dysdercus koenigii*、瓢虫 *Epilachna paenulata* 等具有杀虫、滞育或拒食活性^[9-12]。Bagechi^[13]和Chen^[14]等研究发现青蒿提取物及其衍生物对单子叶及双子叶杂草具有一定的抑制生长作用。

虽然涉及青蒿提取物生物活性的研究很多,但关于我国重要的植食性害虫朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus* 的活性研究还未见报道。因此为了明确青蒿的杀螨活性,本研究选用5种不同极性的溶剂,进行平行和顺序提取,并进行室内生物测定,为从青蒿中研制开发新型植物源杀螨剂提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试植物 青蒿 *A. annua* L 采自西南大学校园周围,采集时间为2004年7月上旬。

1.1.2 供试螨类 朱砂叶螨 *T. cinnabarinus*,最初采自重庆市北碚区田间的豇豆苗上,在人工气候室内于 $26 \pm 1^\circ\text{C}$ 、60% ~ 80% RH、光照条件 L : D = 14 h : 10 h 下用盆栽豇豆苗饲养6 a 约100多代所获得的品系。

1.1.3 提取溶剂 石油醚(60 ~ 90℃沸程)、苯、无水乙醚、丙酮(均为分析纯,重庆川东化工有限公司生产)和蒸馏水。

1.2 方法

1.2.1 活性成分提取 将采摘下来的植物叶片洗净,置于60℃烘箱烘干,小型粉碎机粉碎,过80目筛。称取一定量的青蒿叶粉碎物,先用石油醚冷浸48 h,抽滤后减压浓缩获得石油醚粗提物,其残渣用

苯冷浸48 h,抽滤后减压浓缩获得苯粗提物,之后依次用无水乙醚、丙酮和水冷浸提取48 h,获得顺序提取物。称取5份等量青蒿叶粉碎物,分别加入一定量的石油醚、苯、无水乙醚、丙酮和水,抽滤后减压浓缩获得各平行粗提物。取适量的顺序和平行提取物,用水稀释配成相应浓度,置于冰箱中备用。

1.2.2 室内杀螨试验 采用FAO推荐的测定螨类抗药性的方法——玻片浸渍法。将供试雌成螨挑于玻片双面胶带上,背部向下,在温度 $26 \pm 1^\circ\text{C}$ 、60% ~ 80% RH 的环境下放置4 h。在解剖镜下剔除死亡或受伤个体,记录活螨数。将带有螨的玻片在预先备好的药液中浸5 s后取出,用滤纸迅速吸干供试螨周围多余的药液。在同等饲养条件下培养,每24 h检查1次。用毛笔轻触螨体,以螨足不动者为死亡。试验数据方差分析、Duncan氏检验及线性回归均由SPSS 12.0完成。

2 结果与分析

2.1 青蒿不同溶剂平行提取物对朱砂叶螨的触杀活性

从表1中可以看出,青蒿不同平行提取物在24, 48, 72 h对朱砂叶螨的致死效果不明显,其中石油醚、苯和乙醚提取物48 h对朱砂叶螨的校正死亡率为9.51%, 8.26%和7.64%, 72 h校正死亡率为17.46%, 16.66%和19.66%, 3者之间无显著差异($P > 0.05$)。丙酮和水提取物相对石油醚、苯、乙醚提取物对朱砂叶螨有较强的生物活性,48 h对螨的校正死亡率分别为25.25%和16.17%, 72 h为44.87%和23.87%,与同组其他溶剂的提取物间存在明显差异($P < 0.05$)。因此可以推断出青蒿杀螨的活性成分主要分布于极性较强的提取物中,丙酮是最能有效地提取出活性成分的溶剂。

表1 青蒿不同平行提取物在10 g/L浓度(粗提物)时对朱砂叶螨的室内毒力比较

Table 1 Relative toxicity of parallel extracts from leaves of *A. annua* against adult *T. cinnabarinus* using the contact bioassay at 10 g/L

处理时间/h	校正死亡率/(平均值 ± 标准误)				
	石油醚	苯	乙醚	丙酮	水
24	6.49 ± 0.20 ab	6.13 ± 3.86 ab	3.17 ± 2.20 b	13.15 ± 3.04 a	4.08 ± 2.11 b
48	9.51 ± 0.53 c	8.26 ± 1.26 c	7.64 ± 1.11 c	25.25 ± 1.28 a	16.17 ± 0.49 b
72	17.46 ± 0.40 c	16.66 ± 1.28 c	19.66 ± 2.24 bc	44.87 ± 1.53 a	23.87 ± 1.45 b

注:表中所列数据为平均值 ± 标准误,同一行数值后面字母不同表示邓肯氏新复极差法检验差异显著($P < 0.05$)。

Note: The data in table is Mean ± SE, Means with different letters in the same line are significant difference at $P_{0.05}$ level by Duncan's test.

2.2 青蒿不同溶剂顺序提取物对朱砂叶螨的触杀活性

表1中丙酮平行提取物对朱砂叶螨的杀螨活性不明显,考虑可能是由于植物中能溶于丙酮的成分比

较多,从而使溶解在丙酮中的杀螨活性成分的量减少造成,也有可能是能溶于丙酮和其他 3 种有机溶剂的非活性物质对杀螨活性成分有干扰作用,从而导致丙酮平行提取物活性下降。因此对青蒿叶进行了顺序提取,溶剂极性从弱到强依次提取,利用相似相溶原理,将弱极性的植物成分溶于弱极性溶剂中,强极性的溶于强极性溶剂,使非活性化合物先溶解在石油醚、苯和乙醚中,而活性成分溶解于丙酮中。

由于石油醚在顺序提取中是最先提取的溶剂,因此石油醚顺序提取物与平行提取物对朱砂叶螨的校

正死亡率相近。通过表 1 和表 2 比较可以看出,丙酮顺序提取物的杀螨活性明显强于丙酮水平提取物,丙酮顺序提取物在 48 h 和 72 h 对朱砂叶螨的校正死亡率分别为 90.64% 和 100%,与同组其他溶剂提取物存在明显差异($P < 0.05$)。由此说明青蒿杀螨活性成分主要集中于丙酮顺序提取物中。从表 2 中还可看出,乙醚顺序提取物对螨的校正死亡率高于其平行提取物,48,72 h 分别为 15.50% 和 32.12%。表 3 中,对丙酮顺序提取物进行毒力回归分析,其 LC_{50} 和 LC_{95} 分别为 0.206 6 g/L 和 20.102 8 g/L。

表 2 青蒿不同顺序提取物在 10 g/L 浓度(粗提物)时对朱砂叶螨的室内毒力比较

Table 2 Relative toxicity of ordered extracts from leaves of *A. annua* against adult *T. cinnabarinus* using the contact bioassay at 10 g/L

处理时间/h	校正死亡率/% (平均值 ± 标准误)				
	石油醚	苯	乙 醚	丙 酮	水
24	6.40 ± 0.26 b	4.08 ± 1.96 b	5.27 ± 3.48 b	33.77 ± 3.78 a	2.50 ± 2.17 b
48	10.26 ± 0.30 bc	10.98 ± 1.45 bc	15.50 ± 2.24 b	90.64 ± 2.71 a	9.69 ± 0.13 c
72	16.28 ± 1.90 c	16.59 ± 1.88 c	32.12 ± 1.82 b	100 ± 0.00 a	29.52 ± 2.51 b

注:表中所列数据为平均值 ± 标准误,同一行数值后面字母不同表示邓肯氏新复极差法检验差异显著($P < 0.05$)。

Note: The data in table is Mean ± SE, Means with different letters in the same line are significant difference at $P_{0.05}$ level by Duncan's test.

表 3 青蒿丙酮顺序提取物对朱砂叶螨的毒力回归./48 h

Table 3 The toxicity regression line of acetone extraction from leaves of *A. annua* against *T. cinnabarinus* ./48 h

	毒力回归线	相关系数	$LC_{50} \pm SE_{50}/(g \cdot L^{-1})$	$LC_{95} \pm SE_{95}/(g \cdot L^{-1})$
丙酮提取物	$Y = 5.566 6 + 0.827 3 x$	0.976 9	0.206 6 ± 0.074 84	20.102 8 ± 9.550 1

3 讨 论

已研究发现大部分中药植物除具有医学用途外,还可作为植物源农药使用,其中有些中药植物中还存在某些杀螨活性成分。如瑞香狼毒 *Stellera chamaejasme* 提取物对山楂叶螨 *Tetranychus viennensis* 有杀螨活性^[15];茴芹 *Pimpinella anisum*、川芎 *Cnidium officinale*、丁香 *Eugenia aromatica* 和牡丹 *Paeonia suffruticosa* 均能有效的控制仓储害螨粉尘螨 *Dermatophagoides farinae* 和屋尘螨 *Dermatophagoides pteronyssinus*^[16-20];姜黄 *Curcuma longa* 对朱砂叶螨具有较强的杀螨活性^[21];川芎、八角和薄荷根茎提取物同时也对腐食酪螨具有活性^[22-23];荜茇 *Piper longum* L.、苦艾 *Artemisia absinthium* 等对二斑叶螨 *Tetranychus urticae* 具有致死作用^[24-25] 等等。虽然目前涉及杀螨活性植物的研究内容相当多,但多数还是仅限于粗提物的生物测定,对于更深层次的活性成分结构化合物的分离、鉴定和衍生化研究的相对较少。

通过不同溶剂的平行和顺序提取物的生测结果表明,青蒿杀螨活性成分主要存在于极性较强的溶剂中,以丙酮顺序提取物效果最佳。从表 1、表 2 可见,

丙酮平行提取物杀螨活性明显弱于顺序提取物,这存在 2 种可能性:(1)由于溶于平行提取溶剂的非活性成分含量较多,而能溶在溶剂中的总量一定,从而活性成分含量减少;(2)能溶解于丙酮和其他 3 种有机溶剂的非活性成分对杀螨活性成分存在干扰作用,导致丙酮平行提取物活性不强,而在丙酮顺序提取物中,由于能溶于石油醚、苯、乙醚的非活性成分已被这 3 种溶剂溶解,而活性成分又不溶于这 3 种溶剂,因此丙酮顺序提取物活性明显强于平行提取物。所以,为了能利用最少的溶剂提取出尽可能多的杀螨活性成分,在未来的研究中我们将以顺序提取为主。在表 1 和表 2 中可见,青蒿平行、顺序提取物对朱砂叶螨的校正死亡率随着处理时间的延长而逐渐增加,48 h 后丙酮顺序提取物对朱砂叶螨的校正死亡率才达到 90.64%,相对于化学杀螨剂来说作用时间过长,这也是众多活性植物的共同缺陷,如何缩短作用时间有待于进一步研究。

对青蒿的杀螨活性进行生物测定研究,旨在证明青蒿的杀螨活性,为进一步从中分离出杀螨活性成分奠定了基础,从而为其综合利用提供理论依据。当前国内外对青蒿的化学成分已经研究的比较清楚,主要

含有挥发油、倍半萜、黄酮、香豆素 4 大类。医学中对青蒿起作用的化学成分研究比较详细,但农业方面的活性成分研究还相当欠缺,不论是在杀虫还是抑菌方面都还未见有相关活性化合物报道。因此,下一步目标主要是活性追踪、分离纯化和鉴定青蒿杀螨活性化合物,并对其作用机理进行研究,进行仿生合成,达到开发高效、低毒、速效、低残留杀螨剂的目的。

参考文献:

- [1] 何林,杨羽,符建章,等. 朱砂叶螨阿维菌素抗性品系选育及适合度研究[J]. 植物保护学报, 2004, 31(4):395-400.
- [2] MANSOUR F, AZAIZEH H, SAAD B, et al. The potential of middle eastern flora as a source of new safe bio-acaricides to control *Tetranychus cinnabarinus*, the carmine spider mite[J]. Entomology, 2004, 32(1):66-72.
- [3] ABID M M, KHAN A, JAIN D C, et al. Occurrence of some antiviral sterols in *Artemisia annua* [J]. Plant Science, 1991, 75(2):161-165.
- [4] 陈志敏,商文静,吴云峰,等. 几种中草药丙酮提取物对西瓜花叶病毒 2 号的抗性研究[J]. 西北农业学报, 2003, 12(4):35-37.
- [5] 冯俊涛,祝木金,于平儒,等. 西北地区植物源杀菌剂初步筛选[J]. 西北农业大学学报, 2002, 30(6):129-133,137.
- [6] LIU C H, ZOU W X, LU H, et al. Antifungal activity of *Artemisia annua* endophyte cultures against phytopathogenic fungi[J]. Journal of Biotechnology, 2001, 88:277-282.
- [7] LU H, ZOU W X, MENG J C, et al. New bioactive metabolites produced by *Colletotrichum* sp., an endophytic fungus in *Artemisia annua* [J]. Plant Science, 2000, 151(1):67-73.
- [8] SONG SU-QIN, ZHOU LI-GANG, LI DUAN, et al. Antifungal activity of five plants from xinjiang[J]. Natural Product Research and Development, 2004, 2(14):157-159.
- [9] TRIPATHI A K, PRAJAPATI V, AGGARWAL K K, et al. Toxicity, Feeding Deterrence, and Effect of Activity of 1,8-Cineole from *Artemisia annua* Progeny Production of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) [J]. Journal of Economic Entomology, 2001, 94(4):979-983.
- [10] MAGGI M E, MANGEAUD A, CARPINELLA M C, et al. Laboratory Evaluation of *Artemisia annua* L. Extract and Artemisinin Activity against *Epilachna paenulata* and *Spodoptera eridania* [J]. Journal of Chemical Ecology, 2005, 3(7):1527-1536.
- [11] RAO P J, KUMAR K M, SINGH S, et al. Effect of *Artemisia annua* oil on development and reproduction of *Dysdercus koenigii* F. (Hem., Pyrrhocoridae) [J]. Journal of Applied Entomology, 1999, 123(5):315-318.
- [12] TRIPATHI A K, PRAJAPATI V, AGGARWAL K K, et al. Repellency and Toxicity of Oil from *Artemisia annua* to Certain Stored-Product Beetles [J]. Journal of Economic Entomology, 2000, 93(1):43-47.
- [13] BAGCHI G D, JAIN D C, KUMAR S. Arteether; A Potent plant growth inhibitor from *Artemisia annua* [J]. Phytochemistry, 1997, 46(5):1131-1133.
- [14] CHEN P K, LEATHER G R. Plant growth regulatory activities of artemisinin and its related compounds [J]. Journal of Chemical Ecology, 1990, 16(6):1867-1876.
- [15] SHI G L, LIU S Q, CAO H, et al. Acaricidal Activities of Extracts of *Stellera chamaejasme* Against *Tetranychus viennensis* (Acari: Tetranychidae) [J]. Journal of Economic Entomology, 2004, 97(6):1912-1916.
- [16] LEE H S. Food Protective Effect of Acaricidal Components Isolated from Anise Seeds against the Stored Food Mite, *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) [J]. Journal of Food Protection, 2005, 68(6):1208-1210.
- [17] LEE H S. P-anisaldehyde: acaricidal component of *Pimpinella anisum* seed oil against the house dust mites *Dermatophagoides farinae* and *Dermatophagoides pteronyssinus* [J]. Planta Medica, 2004, 70(3):279-281.
- [18] KWON J H, AHN Y J. Acaricidal activity of butylidenephthalide identified in *Cnidium officinale* rhizome against *Tyrophagus putrescentiae* (Acari: Acaridae) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(16):4479-4483.
- [19] CHOI J H, SUNG B H, LIM M Y, et al. Acaricidal components of medicinal plant oils against *Dermatophagoides farinae* and *Dermatophagoides pteronyssinus* [J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2004, 14(3):631-634.
- [20] KIM H K, TAK J H, AHN Y J, et al. Acaricidal activity of *Paeonia suffruticosa* root bark-derived compounds against *Dermatophagoides farinae* and *Dermatophagoides pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(26):7857-7861.
- [21] 丁伟,张永强,陈仕江,等. 14 种中药植物杀虫活性的初步研究[J]. 西南农业大学学报(自然科学版), 2003, 25(5):417-420.
- [22] GULATI R, MATHUR S. Effect of *Eucalyptus* and *Metha* leaves and *Curcuma* rhizomes on *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) (Acarina: Acaridae) in wheat [J]. Experimental and Applied Acarology, 1995, 19(9):511-518.

表4 生根培养基结果观察表

Table 4 Result of root culture

培养基编号	激素组合		接种数量/个	长根株数/根	根粗壮整齐度	根数整齐度	根长整齐度
	IBA	NAA					
(1)	0	0	10	10	较细	整齐	整齐
(2)	0	0.5	10	9	较细	不整齐	不整齐
(3)	0	1.0	10	9	较细	较整齐	整齐
(4)	0	2.0	10	8	较细	整齐	不整齐
(5)	0.5	0	10	10	较细	整齐	较整齐
(6)	0.5	0.5	10	10	普通较粗	较整齐	整齐
(7)	0.5	1.0	10	9	6株较粗	整齐	较整齐
(8)	0.5	2.0	10	10	5株较粗	整齐	较整齐
(9)	1.0	0	10	10	6株较粗	较整齐	较整齐
(10)	1.0	0.5	10	9	8株较粗	较整齐	不整齐
(11)	1.0	1.0	10	10	普遍较粗	较整齐	不整齐
(12)	1.0	2.0	10	7	2株较粗	较整齐	整齐
(13)	2.0	0	10	9	2株较粗	较整齐	不整齐
(14)	2.0	0.5	10	7	3株较粗	较整齐	不整齐
(15)	2.0	1.0	10	10	普遍较粗	整齐	整齐
(16)	2.0	2.0	10	6	普遍较粗	不整齐	不整齐

注:激素浓度:mg/L。Note: Hormone:mg/L.

2.4 过渡移栽技术

绞股蓝移栽比较容易成活,一年中春、秋二季都可进行,对环境的变化适应能力强^[4]。其移栽成活率高达95%以上,在移栽后7 d左右即可生新根长新叶,30 d左右牵蔓生长。

3 结论与讨论

绞股蓝在MS+6-BA 1.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L培养基中分化成芽,快速繁殖。利用快繁技术,不仅可缩短育种年限,而且可使新品种在短时期内得以推广应用。在工厂化生产中,为了节约成本,减少化学物质残留,提高产品品质,建议选择MS培养基。

参考文献:

- [1] 郑小江,刘金龙.绞股蓝研究与开发[J].湖北民族学院学报(自然科学版),1997,15(6):31-33,45.
- [2] 刘欣,叶文才,萧文鸾,等.绞股蓝的化学成分研究[J].中国药科大学学报,2003,34(1):21-23.
- [3] 汪丽琴,杨貌仙.绞股蓝的组织培养及细胞组织学观察[J].北京师范大学学报(自然科学版),1992,28(1):93-98.
- [4] 赵志顺,卜秀艳.药用植物生产技术问答(叶、全草、菌类)[M].北京:中国农业大学出版社,2002:40-60.

(上接第308页)

- [23] KWON J H, AHN Y J. Acaricidal activity of *Cnidium officinale* rhizome-derived butyridenepthalide against *Tyrophagus putrescentiae* (Acari: Acaridae) [J]. Pest Management Science, 2003, 59(1):119-123.
- [24] PARK B S, LEE S E, CHOI W S. Insecticidal and acaricidal activity of piperonaline and piperocetadecalinone de-

rived from dried fruits of *Piper longum* L [J]. Crop Protection, 2002, 21(3):249-251.

- [25] ASLAN I, KORDALI S, CALMASUR O. Toxicity of the vapours of *Artemisia absinthium* essential oils to *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabasi* (Genn.) [J]. Fresenius Environmental Bulletin, 2005, 14(5):413-417.