

不同生长时期黄花蒿提取物对朱砂叶螨的生物活性*

张永强 丁伟** 赵志模 吴静 樊钰虎

(西南大学植物保护学院, 重庆 400716)

摘要 选用不同生长时期(4、5和6月)黄花蒿的根、茎、叶, 采用 30℃~60℃石油醚、60℃~90℃石油醚、乙醇、丙酮和水溶剂等溶剂, 用顺序和平行提取方法获得 81 种提取物, 测定其对朱砂叶螨的生物活性, 同时, 将 81 种提取物分别稀释至 5 mg·ml⁻¹, 测定其对朱砂叶螨的触杀毒力。结果表明: 在杀螨活性方面, 黄花蒿的杀螨活性随植株的生长呈增加的趋势, 总体表现为 6 月 > 5 月 > 4 月。6、5 和 4 月黄花蒿叶的丙酮平行提取物活性最强, 5 mg·ml⁻¹ 浓度处理 48 h 对朱砂叶螨的校正死亡率为 74%~86%, 它们对朱砂叶螨的致死中浓度(LC₅₀)分别为 0.84、0.94 和 1.38 mg·ml⁻¹; 处理浓度为 5 mg·ml⁻¹ 时, 它们的致死中时(LT₅₀)分别为 24.61、27.63 和 37.23 h。

关键词 黄花蒿; 朱砂叶螨; 丙酮平行提取物; 生物活性

中图分类号 S482.5 **文献标识码** A **文章编号** 1000-4890(2007)12-1969-05

Acaricidal bioactivity of different growth period *Artemisia annua* extracts against *Tetranychus cinnabarinus*. ZHANG Yong-qiang, DING Wei, ZHAO Zhi-mo, WU Jing, FAN Yu-hu (College of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400716, China). *Chinese Journal of Ecology*, 2007, 26(12): 1969–1973.

Abstract: The roots, stems and leaves of *Artemisia annua* were collected at its different growth periods (April, May and June), and extracted with petroleum ether 30℃–60℃, petroleum ether 60℃–90℃, ethanol, acetone and water. A total of 81 extracts were obtained by sequential extraction and parallel extraction, and their acaricidal bioactivity against *Tetranychus cinnabarinus* was determined. The extracts were also diluted to 5 mg·ml⁻¹ to examine their contact toxicity against *T. cinnabarinus*. The results showed that the acaricidal bioactivity of the extracts increased with the plant growth of *A. annua*. The acetone parallel extracts of *A. annua* leaves collected in June, May and April all had the highest bioactivity. At the concentration of 5 mg·ml⁻¹ and treated for 48 h, their corrected mortality ranged from 74% to 86%, median lethal concentration (LC₅₀) was 0.84, 0.94 and 1.38 mg·ml⁻¹, and median lethal time (LT₅₀) was 24.61, 27.63 and 37.23 h, respectively.

Key words: *Artemisia annua*; *Tetranychus cinnabarinus*; acetone parallel extract; bioactivities.

1 引言

朱砂叶螨(*Tetranychus cinnabarinus*)是一种重要的植食性叶螨。该螨个体小, 繁殖快, 危害严重。多年来, 对螨类的控制主要依赖化学农药, 但大量使用化学农药不可避免地会产生“3R”(抗性 Resistance, 再增猖獗 Resurgence, 残留 Residue)等问题。为了克服化学农药带来的副作用, 许多研究人员对非化

学措施控制该螨的效果展开了探讨, 这些措施包括抗性植物品种的选育(雷慧德等, 2004)和捕食螨的释放等(张艳璇等, 2006)。此外, 研究植物提取物对螨的控制效果也取得了很大进展。刘燕萍等(2004)研究表明, 紫茎泽兰(*Eupatorium adenophorum*)乙醇提取物 1000 倍液 12 和 24 h 对柑橘全爪螨(*Panonychus citri*)的校正死亡率分别为 71.10% 和 73.53%。Chiasson 等(2001)研究报道了以 3 种提取方法从苦艾(*Artemisia absinthium*)和艾菊(*Tanacetum vulgare*)中提取的植物精油对二点叶螨(*T. urticae*)的作用效果。丁伟等(2003)研究了

* 国家自然科学基金项目(30671392)和重庆市科技攻关资助项目(20016599)。

** 通讯作者 E-mail: dwing818@yahoo.com.cn

收稿日期: 2007-02-28 接受日期: 2007-09-10

14种中药植物的杀螨活性。张永强等(2004a,b)报道了姜黄(*Curcuma longa*)根茎和丁香(*Syringa oblata*)的苯提取物对朱砂叶螨具有较强的生物活性。

黄花蒿(*A. annua*)是1年生草本菊科植物。其生态适应性非常广,常生于山坡、林地、荒地。黄花蒿药用价值很高(Youn & Noh, 2001; Juteau *et al.*, 2002; Eckstein-Ludwig *et al.*, 2003),其主要活性成分是青蒿素,青蒿素及其衍生物可生产很多系列药品,主治疟疾、结核病、潮热、伤寒、低热、无汗等。有关黄花蒿在农业生物活性的研究也有报道,如Kordalis等(2006)报道了从3种蒿属植物的地上部分提取的精油对谷象(*Sitophilus granarius*)都有明显的致死作用。李云寿等(2000)报道了黄花蒿精油对米象(*S. oryzae*)、玉米象(*S. zeamais*)、绿豆象(*Callosobruchus chinensis*)和蚕豆象(*Bruchus rufimanus*)等4种重要仓库害虫的成虫具有很强烈的熏杀活性。黄花蒿提取物对棉蚜(*Aphis gossypii*)、二斑叶螨(*T. urticae*)及豇豆荚螟(*Etiella zinckenella*)也具有较强的拒食性(朱芬等,2003)。黄花蒿地上部分的乙醇提取物对*Epilachna paenulata*(鞘翅目:瓢甲科)幼虫有很强的拒食作用。同样的浓度对南部灰翅夜蛾(*Spodoptera eridania*)(鳞翅目:夜蛾科)的取食抑制率为87%(Maggi *et al.*, 2005)。黄花蒿具有明显的杀螨活性,但有关黄花蒿杀螨活性的时间和空间分布动态还未见报道。本文为了明确中药植物黄花蒿的杀螨活性,采用不同极性的溶剂,获得提取物,以朱砂叶螨为作用对象,进行室内生物测定,明确黄花蒿对朱砂叶螨的生物活性,对综合开发的黄花蒿资源,开发植物性杀螨剂具有一定的理论和指导意义。

2 材料与方法

2.1 材料

2.1.1 供试螨类 朱砂叶螨,最初采自重庆市北碚区田间的豇豆苗上,在人工气候室内(26 ± 1)℃、60%~80% RH条件下用盆栽豇豆苗饲养了多年所获得的品系。

2.1.2 供试植物来源与提取方法 2006年4月25日、5月25日和6月25日,在重庆市北碚区西南大学附近,分别采集黄花蒿植物全株。将采得的黄花蒿分成根、茎、叶3部分,置于60℃烘箱烘干,小型粉碎机粉碎,过80目筛。称取一定量的粉碎物,先

用30℃~60℃石油醚冷浸48h,过滤,浓缩至一定体积获得30℃~60℃石油醚提取物;浸泡后的残渣用60℃~90℃石油醚冷浸48h,过滤,浓缩至一定体积获得60℃~90℃石油醚提取物,之后再用乙醇、丙酮和水重复以上操作,获得顺序提取物。称取一定量的粉碎物,平分为5份,分别用30℃~60℃石油醚、60℃~90℃石油醚、乙醇、丙酮和水冷浸48h提取,后期工作同上,获得平行提取物(张永强等,2004a)。

2.2 实验方法与步骤

取适量的顺序和平行提取物加入一定量丙酮和Tween 20,用水稀释配制成 $5 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$,作为供试药液。在初试的基础上选用5~7个浓度,做毒力回归分析。参照联合国粮农组织(Food and Agriculture Organization, FAO)推荐的测定螨类抗药性的标准方法—玻片浸渍法并加以改进,测定不同提取物对朱砂叶螨的触杀活性。将供试螨背面朝下粘在玻片双面胶带上,在温度(26 ± 1)℃、60%~80% RH的环境下放置4h,用双目解剖镜检查,剔除死亡和不活泼的个体,记载活螨数。用内径0.5mm的玻璃毛细管利用虹吸现象吸取药液,点滴在螨体上,测定药剂的触杀毒力。同样条件下培养3d,每12h检查1次结果,以求致死中时(median lethal time, LT_{50}),即供试螨死亡一半所需的时间(h)。用毛笔轻触其身体,以螨肢不动者为死亡。试验重复5次。结果进行方差分析,并用Duncan氏新复极差法比较各处理间的效果差异。线性回归由机率值分析法完成(Finney, 1971)。

3 结果与分析

3.1 黄花蒿不同月份提取物对朱砂叶螨的触杀毒力

将黄花蒿4、5和6月的不同溶剂提取物均稀释至 $5 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$,在实验室条件下测定各自对朱砂叶螨的触杀毒力(图1)。

从图1看出,4月黄花蒿根和茎提取物对朱砂叶螨活性不高,但叶的30℃~60℃石油醚和丙酮提取物活性相对较高,48h对朱砂叶螨的校正死亡率分别为52.09%和74.55%。5月黄花蒿根、茎、叶的乙醇、丙酮平行提取物和丙酮顺序提取物对朱砂叶螨都表现出一定的生物活性,处理48h叶的乙醇、丙酮平行提取物和丙酮顺序提取物对朱砂叶螨的生物活性较高,校正死亡率分别为66.39%、

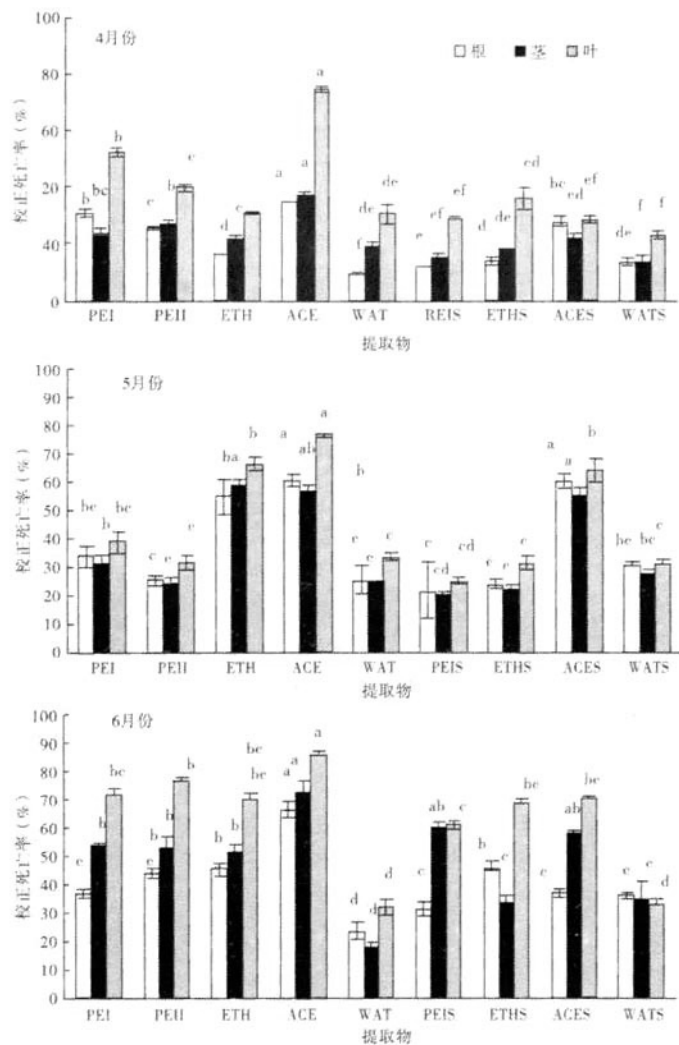


图1 不同月份黄花蒿不同溶剂提取物对朱砂叶螨的触杀毒力
Fig.1 Acaricidal bioactivities of different solvents extracts of *A. annua* in different months against *T. cinnabarinus*
PEI-石油醚30℃~60℃平行提取物;PEII-石油醚60℃~90℃平行提取物;ETH-乙醇平行提取物;ACE-丙酮平行提取物;WAT-水平行提取物;PEIS-石油醚60℃~90℃顺序提取物;ETHS-乙醇顺序提取物;ACES-丙酮顺序提取物;WATS-水顺序提取物。图柱上方不同小写字母分别为根、茎、叶各自的在不同溶剂提取物活性之间差异显著。

78.47%和63.92%。6月几乎全部的黄花蒿根、茎、叶提取物对朱砂叶螨比4和5月都表现出较高的生物活性,尤其是叶,除水平行和顺序提取物之外,都表现出较强的生物活性,处理48 h,对朱砂叶螨的校正死亡率均在60%以上。6月黄花蒿叶的丙酮平行提取物对朱砂叶螨的校正死亡率最高,处理48 h为85.11%。

3.2 黄花蒿几种提取物对朱砂叶螨的毒力
对4、5和6月的黄花蒿的81种提取物生物测定结果表明,3个月份黄花蒿叶的丙酮平行提取物

对朱砂叶螨的生物活性与同组的提取物均存在显著差异($P < 0.05$,4月, $F = 66.36$;5月, $F = 58.51$;6月, $F = 109.40$; $df = 8, 18$)。为进一步研究3种提取物的活性差异,测定了3种提取物对朱砂叶螨的毒力并进行回归分析,求出了3种丙酮提取物在 $5\text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ 浓度下的致死中时。从表1看出,黄花蒿不同月份叶的丙酮平行提取物对朱砂叶螨的致死中浓度(median lethal concentration, LC_{50})随采集的季节的不同而有所变化,6、5和4月的 LC_{50} 分别为0.84、0.94和 $1.38\text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$,6月表现出较强的杀螨活性。

表1 不同月份黄花蒿叶平行提取物对朱砂叶螨的毒力回归分析

Tab.1 Toxicity regression analysis of leaves acetone extracts of *A. annua* in different months against *T. cinnabarinus*

月份	毒力回归直线	相关系数	致死中浓度及其95%置信区间(mg·ml ⁻¹)
4	$y = 1.37 + 1.15x$	0.99	1.38 (1.01 ~ 1.89)
5	$y = 0.94 + 1.36x$	0.96	0.94 (0.71 ~ 1.25)
6	$y = 0.11 + 1.67x$	0.99	0.84 (0.65 ~ 1.05)

从表2可见,黄花蒿叶的几种丙酮提取物对朱砂叶螨的LT₅₀也是随着采收季节的不同而有所差异。在5 mg·ml⁻¹浓度下,6、5和4月的黄花蒿叶的丙酮平行提取物对朱砂叶螨的LT₅₀分别为24.61、27.63和37.23 h。

表2 不同月份黄花蒿叶平行提取物对朱砂叶螨的致死中时

Tab.2 Median lethal time of leaves acetone extracts of *A. annua* in different months against *T. cinnabarinus*

月份	毒力回归直线	相关系数	致死中时及其95%置信区间(h)
4	$y = 0.40 + 2.93x$	0.96	37.23 (32.52 ~ 42.63)
5	$y = -1.53 + 4.53x$	0.97	27.63 (25.10 ~ 30.43)
6	$y = -0.97 + 4.29x$	0.98	24.61 (22.10 ~ 27.41)

4 讨论

黄花蒿作为一种重要的中药植物,目前的主要用途是提取青蒿素,在三峡库区、广西等地已经成为一个重要的栽培植物,形成了初步的生产、加工的产业链。国内外在黄花蒿杀虫活性的研究上有许多报道(Tripathi *et al.*, 2000, 2001)。本研究表明,4、5和6月的黄花蒿的丙酮提取物都表现出较强的触杀活性,与同组的其它提取物的生物活性存在极显著差异。提取物对朱砂叶螨还表现为熏蒸、驱避等作用。

研究植物的杀螨活性,可分别采集植物的根、茎、叶、花、果等不同的部位,因为有些杀螨植物,其杀虫活性物质可能分布于植物的各个部位,也可能只分布于其中一个部位。采集时间上因不同的植物种类和具体要求也很有讲究(吴文君等,1998)。本研究在杀螨活性方面,黄花蒿的杀螨活性随植株的生长而呈增加的趋势,总体表现为6月>5月>4月。丙酮平行提取物的活性最强,对朱砂叶螨的校正死亡率介于74%~86%,丙酮顺序提取物的活性也较强,5和6月叶丙酮顺序提取物对朱砂叶螨校

正死亡率均>60%。黄花蒿叶的丙酮平行提取物对朱砂叶螨的生物活性随生育期不同而有所变化。

黄花蒿中含有多种植物的次生代谢物质,其中主要的成分包括青蒿素,青蒿甲、乙、丙、丁、戊素,青蒿酸,蒿酸甲酯,青蒿醇,以及桉油精、蒿酮、樟脑、石竹烯、氧化石竹烯等多种挥发油,这些次生代谢物质的生理活性多样(魏兴国等,2004)。尚德斌等(2007)对黄花蒿6月叶的丙酮提取物进行柱层析分离,得到13个组分,处理48 h,组分11和组分12的活性相对于6月叶的丙酮提取物而言都有大幅度提高,并与青蒿素标准品进行比对,证明这2个组分并非青蒿素。

致谢 西南大学园艺园林学院李先源教授鉴定植物标本,尚德斌、骆星丹同学参加了黄花蒿采集工作,在此表示感谢!

参考文献

丁伟,张永强,陈仕江,等. 2003. 14种中药植物杀虫活性的初步研究. 西南农业大学学报, 25(5): 417-420.
雷慧德,胡军华,李鸿筠,等. 2004. 不同柑桔品种上桔全爪螨的生长和种群动态差异. 昆虫学报, 47(5): 607-611.
李云寿,唐绍宗,邹华英,等. 2000. 黄花蒿提取物的杀虫活性. 农药, 39(10): 25-26.
刘燕萍,高平,潘为高,等. 2004. 紫茎泽兰等几种植物提取物对两种农业害螨的毒力作用研究. 四川大学学报, 41(1): 212-215.
尚德斌,骆星丹,李春华,等. 2007. 黄花蒿杀螨活性物质的提取分离及活性评价. 中国农学通报, 23(2): 360-363.
魏兴国,董岩,崔庆新,等. 2004. 德州野生青蒿挥发油化学成分的GC/MS分析. 山东中医药大学学报, 28(2): 140-143.
吴文君,刘惠霞,朱靖博,等. 1998. 天然产物杀虫剂——原理·方法·实践. 西安:陕西科学技术出版社.
张艳璇,王福堂,季洁,等. 2006. 胡瓜钝绥螨对香梨害螨控制作用的评价及其应用策略. 中国农业科学, 39(3): 518-524.
张永强,丁伟,赵志模,等. 2004a. 姜黄对朱砂叶螨的生物活性. 植物保护学报, 31(4): 390-394.
张永强,丁伟,赵志模,等. 2004b. 中药植物丁香杀螨活性研究. 西南农业大学学报, 26(4): 429-432.
朱芬,雷朝亮,王健. 2003. 黄花蒿粗提物对几种害虫拒食性的初步研究. 昆虫天敌, 25(1): 16-19.
Chiasson H, Bélanger A, Bostanlan N, *et al.* 2001. Acaricidal properties of *Artemisia absinthium* and *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) essential oils obtained by three methods of extraction. *Journal of Economic Entomology*, 94(1): 167-171.
Eckstein-Ludwig U, Webb RJ, van Goethem IDA, *et al.* 2003.

- Artemisinins target the SERCA of *Plasmodium falciparum*. *Nature*, **424**: 957–961.
- Finney DJ. 1971. Probit Analysis (3rd ed.). Cambridge: Cambridge University Press.
- Juteau F, Masotti V, Bessiere JM, et al. 2002. Antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia annua* essential oil. *Fitoterapia*, **73**: 532–535.
- Kordalis S, Aslan I, Calmasur O, et al. 2006. Toxicity of essential oils isolated from three *Artemisia* species and some of their major components to granary weevil, *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Industrial Crops and Products*, **23**: 162–170.
- Maggi ME, Mangeaud A, Carpinella MC, et al. 2005. Laboratory evaluation of *Artemisia annua* L. extract and artemisinin activity against *Epilachna paenulata* and *Spodoptera eridania*. *Journal of Chemistry Ecology*, **31**: 1527–1536.
- Tripathi AK, Prajapati V, Aggarwal KK, et al. 2000. Repellency and toxicity of oil from *Artemisia annua* to certain stored-product beetles. *Journal of Economic Entomology*, **93**: 43–47.
- Tripathi AK, Prajapati V, Aggarwal KK, et al. 2001. Toxicity, feeding deterrence, and effect of activity of 1,8-cineole from *Artemisia annua* on progeny production of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Economic Entomology*, **94**: 979–983.
- Youn HJ, Noh JW. 2001. Screening of the anticoccidial effects of herb extracts against *Eimeria tenella*. *Veterinary Parasitology*, **96**: 257–263.
-
- 作者简介 张永强,男,1980年生,博士研究生。主要从事植物源杀螨剂研究。E-mail: zhangyq80@tom.com
- 责任编辑 刘丽娟
-

欢迎订阅 2008 年《应用生态学报》

《应用生态学报》(1990年创刊)是由中国科学院主管、中国生态学学会和中国科学院沈阳应用生态研究所联合主办,科学出版社出版的国内外发行的综合性学术刊物。本刊宗旨是坚持理论联系实际的办刊方向,结合科研、教学、生产实际,报道生态科学诸领域在应用基础研究方面具有创新的研究成果,交流基础研究和应用研究的最新信息,促进生态学研究为国民经济建设服务。

本刊专门登载有关应用生态学(主要包括森林生态学、农业生态学、草地生态学、渔业生态学、自然资源生态学、景观生态学、全球变化生态学、城市生态学、产业生态学、生态规划与生态设计、污染生态学、化学生态学、生态工程学、恢复生态学、生物入侵与生物多样性保护生态学、流行病生态学、旅游生态学和生态系统管理等)的综合性论文、创造性研究报告和研究简报等。

本刊读者对象主要是从事生态学、地学、林学、农学和环境科学研究、教学、生产的科技工作者,有关专业的研究生及经济管理和决策部门的工作者。

《中国科学引文数据库》、《中国科技论文与引文数据库》、《中国生物学文摘》、美国《生物学文摘》(BA)、美国《Medline》、美国《BIOSIS Previews》、美国《BIOTECHNO》、美国《化学文摘》(CA)、英国《生态学文摘》(EA)、日本《科学技术文献速报》(CBST)和俄罗斯《文摘杂志》(PKJ)等十几种权威检索刊物均收录本刊的论文摘要(中英文),并被认定为《中国核心期刊(遴选)数据库》和《中国科学引文数据库》来源期刊。本刊的整体质量与水平已达到新的高度,1992年荣获全国优秀科技期刊三等奖和中国科学院优秀期刊二等奖,1996年荣获中国科学院优秀期刊三等奖,2000年荣获中国科学院优秀期刊二等奖,2001年入选中国期刊方阵双效期刊,2004和2005年入选“百种中国杰出学术期刊”。

本刊为月刊,A4开本,224页,每月18日出版,每册定价65.00元,全国各地邮政局(所)均可订阅,邮发代号8-98。错过订期也可直接向本刊编辑部邮购,个人订阅优惠30%。地址:110016 辽宁省沈阳市文化路72号《应用生态学报》编辑部。电话:(024)83970393,E-mail:cjae@iae.ac.cn