

马齿苋干粉提取物对棉蚜的毒杀和拒食活性

苏茂文, 罗万春^①, 张俊燕, 陈召亮

(山东农业大学植物保护学院, 山东 泰安 271018)

摘要: 采用9种极性不同的溶剂利用冷浸法从马齿苋(*Portulaca oleracea* L.)干粉中制备提取物,测定了其对于棉蚜(*Aphis gossypii* Glover)的毒杀和拒食活性。浸渍法实验结果表明,处理24 h后,马齿苋甲醇提取物对棉蚜的毒杀活性最高,LC₅₀为6.63 mg·mL⁻¹(以干粉计,下同);二氯甲烷提取物在质量浓度为100 mg·mL⁻¹时对棉蚜的拒食率最高,达83.03%。处理48 h后,丙酮提取物对棉蚜的毒杀活性最高,LC₅₀为1.88 mg·mL⁻¹;二氯甲烷提取物在质量浓度为100 mg·mL⁻¹时拒食率仍表现为最高,达83.97%。在质量浓度为25 mg·mL⁻¹时,以石油醚提取物的拒食率最高,处理24和48 h对棉蚜的拒食率分别达到71.25%和81.20%。

关键词: 马齿苋;提取物;棉蚜;生物活性

中图分类号: S482 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0978(2005)02-0010-05

Bioactivity of extracts from dried powder of *Portulaca oleracea* L. against *Aphis gossypii* SU Mao-wen, LUO Wan-chun^①, ZHANG Jun-yan, CHEN Zhao-liang (College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2005, 14(2): 10-14

Abstract: Dried powder of *Portulaca oleracea* L. were extracted by the dipping method with methanol, ethanol, acetone, ethyl acetate, ether, trichloromethane, dichloromethane, benzene and petroleum ether, and bioactivity of the extracts against *Aphis gossypii* Glover including contact toxicity and antifeeding toxicity were approached. The results indicated that the methanol extract showed the highest contact toxicity with 6.63 mg·mL⁻¹ (dried powder) of LC₅₀ among the 9 different extracts and the dichloromethane extract had the highest antifeeding toxicity with antifeeding rate 83.03% at the quality concentration 100 mg·mL⁻¹ (dried powder) in the extracts after 24 h. After 48 h, the contact toxicity of the acetone extract was the highest with LC₅₀ 1.88 mg·mL⁻¹ and the dichloromethane extract had the highest antifeeding toxicity with antifeeding rate 83.97% at the quality concentration 100 mg·mL⁻¹. Under the concentration of 25 mg·mL⁻¹, the antifeeding rate of the petroleum ether extract was the highest, reached to 71.25% and 81.20% after 24 and 48 h respectively. The sequence of bioassay results for both contact toxicity and antifeeding toxicity of the 9 extracts from *P. oleracea* were also arranged respectively.

Key words: *Portulaca oleracea* L.; extracts; *Aphis gossypii* Glover; bioactivity

随着化学杀虫剂的长期大量应用,其对环境的污染、导致有害生物的抗药性、杀伤天敌及引起害虫再猖獗等副作用已越来越明显,发展包括植物源农药在内的环境友好农药,显得尤为重要。马齿苋(*Portulaca oleracea* L.)又名长寿菜、五行草、瓜子菜等,是最常见的中草药之一。据南北朝《名医别录》、唐代《食疗本草》、明代《本草纲目》等古医书记载,马齿苋具有清热解毒、散血消肿、止痢之功效^[1]。现代药理实验也证明了马齿苋具有很强的抑菌作用^[2],有“天然抗生素”之称。关于马齿苋防治农业害虫方面的研究,前人报道较少,除在《中国

土农药志》^[3]中仅有简单的记录外,张海芝等^[4]报道了马齿苋水提物对棉蚜的防治效果;高占林等^[5]研究了马齿苋丙酮提取物对绣线菊蚜、禾谷缢管蚜和菜缢管蚜的毒效。本文研究了马齿苋干粉的不同溶剂提取物对棉蚜(*Aphis gossypii* Glover)的拒食活性和毒杀活性,以期开发以马齿苋为原料的新型植物性杀虫剂提供线索和理论依据。

收稿日期: 2004-07-13

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30270887)

作者简介: 苏茂文(1979-),男,山东宁阳人,硕士研究生,主要从事昆虫毒理学及环境友好农药的研究。

^① 通讯作者

1 材料和方法

1.1 材料来源及提取物制备

1.1.1 材料来源 野生马齿苋(*Portulaca oleracea* L.)于2003年7月采自山东省泰安市郊区。

1.1.2 提取物制备 将自然阴干的马齿苋地上部分置于恒温烘箱内于50℃下烘至发脆,用多功能食品粉碎机粉碎并过40目筛制成干粉,采用冷浸法提取。准确称取干粉20g,分别用9种极性不同的溶剂(甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯、二氯甲烷、三氯甲烷、乙醚、苯和石油醚)于25℃下连续浸提3次,每次4~5d,过滤,合并3次滤液并在旋转蒸发器内减压浓缩至稠膏状。将浸提稠膏(甲醇提取物除外)用丙酮稀释定容至20mL(1mL中含1g干粉),甲醇提取物则用甲醇溶解稀释定容至20mL,然后分别装入棕色广口瓶中置于冰箱中备用。

1.2 试虫来源及饲养

供试昆虫棉蚜(*Aphis gossypii* Glover)采集于山东农业大学校实验地棉田,在温室用水培棉苗法进行人工饲养繁殖^[6]。

1.3 生物活性测定

1.3.1 毒杀活性测定 采用载蚜叶片浸渍法^[7]。于温室中用营养液培育棉苗,每杯2株,于子叶期每株接无翅成蚜数头,待两真叶期自然繁殖近百头,剔除小龄若蚜,仅剩3龄若蚜及无翅成蚜,将供试马齿苋提取物浓度为0.1%十二烷基硫酸钠水溶液(该溶液对提取物有乳化作用)稀释至12.5、25.0、50.0、75.0和100.0mg·mL⁻¹,取出棉苗在药液中浸蘸5s,用吸水纸吸去叶缘多余药液,立即计数茎叶上的蚜虫数,即为处理前虫口基数,每杯为1个重复,每处理重复3次,以用0.1%十二烷基硫酸钠水溶液稀释后的丙酮(或甲醇,仅限甲醇提取物)溶液为对照,于处理后24和48h记录存活蚜虫数,计算虫口减退率、校正虫口减退率和LC₅₀,并用SPSS软件对数据进行分析。

1.3.2 拒食活性测定 参照张钟宁等^[8]的方法,略加改动。将提取物(1mL中含1g干粉)用0.1%十二烷基硫酸钠水溶液稀释至25和100mg·mL⁻¹,并用0.1%十二烷基硫酸钠水溶液稀释后的丙酮溶液做为对照。选取面积约4.5cm²的棉苗子叶在处理 and 对照溶液中分别浸蘸5s,取出晾

干,然后,在其叶背转接20头3~4龄的无翅棉蚜,将棉叶放入培养皿,叶背朝下,并用湿棉球缚叶柄保湿培育。分别在24和48h后检查各处理叶片上棉蚜的栖息数。每处理重复4次。用*t*检验分析处理组与对照组之间的差异显著性,并用SPSS软件对拒食率进行显著性分析。

$$\text{拒食率} = \frac{\text{对照叶片虫数} - \text{处理叶片虫数}}{\text{对照叶片虫数}} \times 100\%$$

2 结果和分析

2.1 马齿苋干粉提取物对棉蚜的毒杀作用

马齿苋干粉9种溶剂提取物对棉蚜的毒杀活性结果见表1和表2。

由结果可知,马齿苋各提取物在质量浓度为100mg·mL⁻¹时对棉蚜均有很好的毒杀活性,除了石油醚提取物外,其他提取物对棉蚜24和48h毒杀的校正死亡率都在90%以上。24h后的毒杀活性,以甲醇提取物为最高,其LC₅₀为6.63mg·mL⁻¹;乙醇提取物次之;石油醚提取物毒杀活性最差,LC₅₀为38.38mg·mL⁻¹;其他各提取物毒杀活性从高至低依次为二氯甲烷,三氯甲烷,丙酮,乙醚,乙酸乙酯,苯。48h后,以丙酮提取物的毒杀活性最高,其LC₅₀为1.88mg·mL⁻¹;乙醇提取物次之;以苯提取物的毒杀活性最差,其LC₅₀仅为21.86mg·mL⁻¹;其他各溶剂提取物的毒杀活性从高至低依次为二氯甲烷,甲醇,三氯甲烷,乙醚,乙酸乙酯,石油醚。另外,由实验结果可知,处理后48h各提取物毒杀活性较24h均有提高趋势。

2.2 马齿苋干粉提取物对棉蚜的拒食作用

马齿苋干粉9种溶剂提取物对棉蚜的拒食活性测定结果见表3。

由结果可知,在质量浓度为100mg·mL⁻¹时,对棉蚜的拒食活性以二氯甲烷提取物为最高,处理后24和48h拒食率分别为83.03%和83.97%,甲醇、石油醚提取物次之,三者的拒食活性之间无显著性差异。通过*t*检验发现丙酮、乙醚和苯提取物处理组与对照组间差异不显著,表明三者拒食效果较差。在质量浓度为25mg·mL⁻¹时,各提取物的拒食活性较质量浓度为100mg·mL⁻¹时有下降的趋势,在此低浓度下,以石油醚提取物的拒食活性最高,24和48h拒食率分别为71.25%和81.20%,甲

醇、乙酸乙酯提取物次之,三者的拒食率之间差异不显著。值得注意的是,乙醇提取物在此浓度下对棉蚜基本不具有拒食活性。

2.3 马齿苋不同溶剂提取物对棉蚜的毒杀和拒食作用趋势

马齿苋干粉的不同溶剂提取物对棉蚜的毒杀和拒食作用趋势分析见图1和图2。可以看出,对棉蚜具有毒杀作用的活性成分,应以极性溶剂提取物中含量高,非极性溶剂提取物中含量低,但三氯甲烷和二氯甲烷提取物也具有较好的毒杀活性,其活性反而略好于极性稍强的乙酸乙酯和乙醚提取物。因

此,欲寻找马齿苋中对棉蚜具有毒杀作用的化合物,应该进一步研究的提取物应为甲(乙)醇、丙酮和二(三)氯甲烷提取物。此外,在筛选杀虫植物活性成分过程中,虽然选择合适的溶剂是至关重要的,但因为提取物是多种成分的“混合物”,其表象结果也是多种成分综合作用的结果,因此,需在此基础上,进一步将提取物进行分离,以追踪其活性成分。

同理,从图2也可以看出,欲寻找马齿苋中对棉蚜具有拒食作用的化合物,应对乙酸乙酯、二氯甲烷和石油醚提取物进行进一步的研究。

表1 马齿苋干粉不同溶剂提取物对棉蚜的毒杀活性¹⁾
Table 1 Contact toxicity of different solvent extracts from dried powder of *Portulaca oleracea* L. against *Aphis gossypii* Glover¹⁾

溶剂 Solvent	质量浓度/mg · mL ⁻¹ Concentration	处理后 24 h After 24 h		处理后 48 h After 48 h	
		死亡率/% Mortality	校正死亡率/% Adjusted mortality	死亡率/% Mortality	校正死亡率/% Adjusted mortality
甲醇 Methanol	100	95.99	95.81a	99.24	99.16ab
	50	93.01	93.01a	94.90	94.75ab
	25	77.60	77.60a	84.21	83.98a
乙醇 Ethanol	100	98.72	98.66a	100.00	100.00a
	50	88.68	88.68ab	93.45	93.25abc
	25	79.55	79.55a	90.28	90.14a
丙酮 Acetone	100	87.51	86.97bc	92.52	91.72c
	50	82.56	82.56cd	90.48	90.20abc
	25	55.19	55.19ab	83.07	82.83ab
乙酸乙酯 Ethyl acetate	100	99.17	99.13a	100.00	100.00a
	50	78.13	78.13d	90.43	90.15abc
	25	40.22	40.22b	75.58	75.22abc
乙醚 Ether	100	97.37	97.26a	97.24	96.95b
	50	78.63	78.63d	84.24	83.78bc
	25	54.22	54.22ab	74.32	73.94abc
三氯甲烷 Trichloromethane	100	96.81	96.68a	99.07	98.97ab
	50	86.11	86.11bc	93.52	93.33abc
	25	67.50	67.50a	85.28	85.07a
二氯甲烷 Dichloromethane	100	99.24	99.21a	99.24	99.16ab
	50	90.59	90.59ab	97.20	97.11a
	25	71.34	71.34a	85.67	85.46a
苯 Benzene	100	93.40	93.12ab	97.57	97.31ab
	50	80.64	80.64cd	85.46	85.03bc
	25	33.56	33.56b	56.99	56.36c
石油醚 Petroleum ether	100	84.06	83.37c	89.57	88.45d
	50	66.28	66.28e	82.96	82.46c
	25	29.85	29.85b	61.22	60.65bc
CK1		4.17		9.72	
CK2		0		2.86	
CK3		0		1.45	

¹⁾ 所有数据均为3次重复的平均值;同列数据后的不同字母表示经Duncan's新复极差检验在 $P=0.05$ 水平上差异显著。All data are the average values of three replications. The different letters in the same column indicate the significant difference at $P=0.05$ level with Duncan's multiple range test.

表 2 马齿苋干粉不同溶剂提取物对棉蚜毒杀活性的回归分析

Table 2 The regression analyses of contact toxicity of different solvent extracts from dried powder of *Portulaca oleracea* L. against *Aphis gossypii* Glover

溶剂 Solvent	处理时间/h Treatment time	回归方程 Regression equation	相关系数 ¹⁾ Coefficient ¹⁾	LC ₅₀ /mg · mL ⁻¹	95% 置信区间 95% credible limit
甲醇 Methanol	24	$y = 8.29 + 1.51x$	0.971 1 * *	6.63	2.29—19.20
	48	$y = 9.53 + 2.20x$	0.996 3 * *	8.68	4.14—18.22
乙醇 Ethanol	24	$y = 9.81 + 2.58x$	0.966 6 * *	13.58	8.93—20.63
	48	$y = 9.07 + 1.80x$	0.973 7 * *	5.54	1.82—16.91
丙酮 Acetone	24	$y = 7.88 + 1.64x$	0.951 8 * *	17.73	11.22—28.03
	48	$y = 7.32 + 0.85x$	0.933 2 * *	1.88	0.11—33.81
乙酸乙酯 Ethyl acetate	24	$y = 11.56 + 4.31x$	0.991 9 * *	30.07	26.57—34.03
	48	$y = 10.02 + 2.75x$	0.990 3 * *	15.03	10.47—21.57
乙醚 Ether	24	$y = 9.91 + 3.06x$	0.991 1 * *	24.80	19.99—30.75
	48	$y = 8.97 + 2.16x$	0.966 2 * *	14.54	8.98—23.52
三氯甲烷 Trichloromethane	24	$y = 9.19 + 2.37x$	0.996 9 * *	16.87	11.63—24.48
	48	$y = 9.64 + 2.31x$	0.982 1 * *	9.85	5.13—18.92
二氯甲烷 Dichloromethane	24	$y = 10.32 + 3.00x$	0.997 8 * *	16.79	12.63—22.30
	48	$y = 9.63 + 2.18x$	0.965 4 * *	7.49	3.50—16.03
苯 Benzene	24	$y = 10.00 + 3.34x$	0.985 5 * *	31.83	27.83—36.39
	48	$y = 9.94 + 2.97x$	0.998 9 * *	21.86	17.54—27.25
石油醚 Petroleum ether	24	$y = 8.48 + 2.46x$	0.988 6 * *	38.38	33.97—43.36
	48	$y = 7.90 + 1.60x$	0.979 5 * *	15.48	10.20—23.47

¹⁾ * * : $P = 0.01$

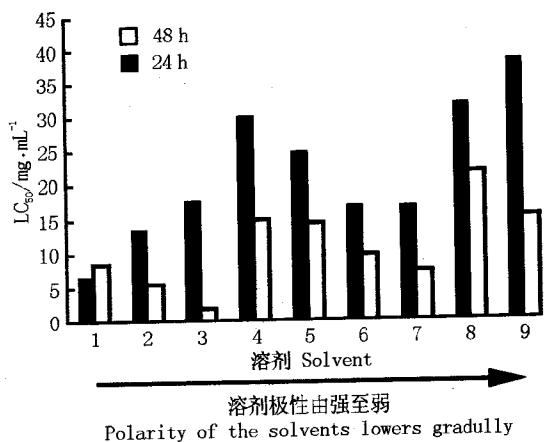
表 3 马齿苋干粉不同溶剂提取物对棉蚜的拒食活性¹⁾

Table 3 Antifeeding toxicity of different solvent extracts from dried powder of *Portulaca oleracea* L. against *Aphis gossypii* Glover¹⁾

溶剂 Solvent	处理 时间/h Treatment time	浓度为 25 mg · mL ⁻¹ 时的拒食活性 Antifeeding toxicity at the concentration of 25 mg · mL ⁻¹			浓度为 100 mg · mL ⁻¹ 时的拒食活性 Antifeeding toxicity at the concentration of 100 mg · mL ⁻¹		
		处理虫数 Insect number of treatment	对照虫数 Insect number of control	拒食率/% Antifeeding rate	处理虫数 Insect number of treatment	对照虫数 Insect number of control	拒食率/% Antifeeding rate
		甲醇 Methanol	24	6.3 * *	22.0	69.40a	3.3 * *
乙醇 Ethanol	48	8.7 *	23.3	56.17ab	4.0 *	11.0	61.54a
	24	11.7	15.0	22.97c	7.0 * *	17.6	60.10ab
丙酮 Acetone	48	9.7	10.7	-7.14b	6.0 *	14.3	52.98a
	24	15.7 *	21.0	24.93c	13.3	19.3	28.62ab
乙酸乙酯 Ethyl acetate	48	16.7	18.7	10.59ab	13.0	20.7	34.98a
	24	9.7 *	22.7	57.43ab	6.3 * *	26.7	73.64ab
乙醚 Ether	48	5.0 * *	17.7	71.09ab	3.3 * *	14.7	77.62a
	24	12.7	16.0	20.45c	10.0	21.0	44.84ab
三氯甲烷 Trichloromethane	48	3.7	12.0	51.99ab	3.3	11.3	72.54a
	24	8.3 * *	23.7	63.46ab	6.0 * *	19.3	70.16ab
二氯甲烷 Dichloromethane	48	5.0 * *	15.7	66.23ab	5.3 * *	14.0	58.09a
	24	13.0	21.0	35.26bc	4.0 * *	25.3	83.03a
苯 Benzene	48	11.7	15.0	16.85ab	2.3 * *	15.3	83.97a
	24	12.7 * *	19.3	34.17bc	9.0	15.0	19.66b
石油醚 Petroleum ether	48	13.7 *	18.0	23.73ab	10.0	16.3	36.49a
	24	4.3 * *	16.0	71.25a	5.0 * *	23.7	77.15a
	48	2.3 *	15.3	81.20a	3.0 * *	16.3	81.11a

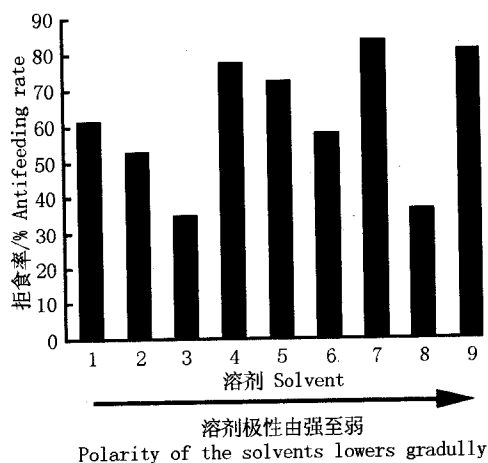
¹⁾ 所有数据均为 4 次重复的平均值; 同列数据后不同字母表示经 Duncan's 新复极差检验在 $P = 0.05$ 水平上差异显著。All data are the average values of four replications. The different letters in the same column indicate the significant difference at $P = 0.05$ level with Duncan's multiple range test. * : $P = 0.05$; * * : $P = 0.01$ (t -test).

3 讨 论



1: 甲醇 Methanol; 2: 乙醇 Ethanol; 3: 丙酮 Acetone; 4: 乙酸乙酯 Ethyl acetate; 5: 乙醚 Ether; 6: 三氯甲烷 Trichloromethane; 7: 二氯甲烷 Dichloromethane; 8: 苯 Benzene; 9: 石油醚 Petroleum ether

图1 马齿苋不同溶剂提取物对棉蚜的毒杀活性趋势线
Fig. 1 The contact toxicity trendline of gossypii solvent extracts from *Portulaca oleracea* L. against *Aphis gossypii* Glover



1: 甲醇 Methanol; 2: 乙醇 Ethanol; 3: 丙酮 Acetone; 4: 乙酸乙酯 Ethyl acetate; 5: 乙醚 Ether; 6: 三氯甲烷 Trichloromethane; 7: 二氯甲烷 Dichloromethane; 8: 苯 Benzene; 9: 石油醚 Petroleum ether

图2 马齿苋不同溶剂提取物(100 mg·mL⁻¹, 48 h)对棉蚜的拒食活性趋势线
Fig. 2 The trendline of antifeeding toxicity of different solvent extracts from *Portulaca oleracea* L. against *Aphis gossypii* Glover (100 mg·mL⁻¹, 48 h)

马齿苋作为传统中草药植物,在治疗人类和动物疾病方面做了很多研究,并取得了丰硕成果,但关于其在防治农业害虫方面的研究却刚刚起步,为了更充分地利用马齿苋这一野生植物资源,本文详细测定了马齿苋不同溶剂提取物对棉蚜的毒杀和拒食活性。初步研究结果表明,马齿苋的丙酮、乙醇、甲醇提取物对棉蚜的毒杀活性较高,二氯甲烷和石油醚提取物对棉蚜的拒食活性突出,预示了马齿苋做为植物源杀虫剂可能具有的良好开发前景。根据高占林等得出的马齿苋丙酮提取物对3种蚜虫(不包括棉蚜)具有稳定活性的结果,结合本研究的丙酮提取物48 h后对棉蚜的毒杀活性在9种不同溶剂提取物中为最高的结论,可以认为,提取马齿苋中对棉蚜具有高毒杀活性的最佳溶剂可能是丙酮,当然,这还需进一步的实验证明。由于马齿苋的甲醇和乙醇提取物对棉蚜的毒杀活性也较高,因此,还需要结合不同的提取方法(比如温浸法、索氏提取法和超声波提取法等)继续筛选确定。

参考文献:

- [1] 陈 灿, 黄 璜, 李爱华. 我国马齿苋研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2002, 21 (6): 6-8.
- [2] 俞佩芳. 三种常见药用植物抗菌作用的探讨[J]. 华东师范大学学报(自然科学版), 1994(3): 89-93.
- [3] 土农药科学研究编辑委员会. 中国土农药志[M]. 北京: 科学出版社, 1959.
- [4] 张海芝, 马 威, 王桂英, 等. 五种植物浸提液对棉蚜的防治效果[J]. 中国棉花, 2003(11): 34.
- [5] 高占林, 潘文亮, 党志红, 等. 几种杀虫植物对蚜虫的生物活性及与化学杀虫剂混用的联合毒力[J]. 河北农业大学学报, 2004, 27(4): 67-70.
- [6] 王开运. 棉苗的水培和棉蚜的繁育[J]. 农药, 1983(5): 46.
- [7] 王金信, 刘 峰, 慕 卫, 等. 几类农药防治抗性棉蚜的药效评价[J]. 农药, 1997, 36(1): 8-10.
- [8] 张钟宁, 方凌宇. 昆虫拒食剂蓼二醛的合成及其对害虫的拒食活性[J]. 昆虫知识, 2001, 38(3): 207-209.

(责任编辑: 惠 红)