

苍耳提取物对大豆蚜及其天敌瓢虫的影响

王 春,王 芊,李新民,徐伟钧

(黑龙江省农业科学院 植物保护研究所,黑龙江 哈尔滨 150086)

摘 要:为明确苍耳杀蚜活性物质的空间分布状态及其对天敌瓢虫的影响,以苍耳根、茎、叶和种子为材料,利用甲醇为有机溶剂,提取杀蚜活性物质,测定苍耳不同器官部位提取物对大豆蚜的生物活性以及对天敌瓢虫的杀伤作用。结果表明:苍耳不同部位的提取物对大豆蚜均有一定的毒杀活性,毒杀活性大小依次为叶>茎>种子>根,其中叶提取物的72 h校正死亡率高达87.07%;苍耳叶提取物浓度在75 mg·mL⁻¹以下对瓢虫杀伤力较小,可以安全应用;叶和茎提取物处理盆栽中的大豆蚜5 d后,对大豆蚜的校正防效可达80%以上。

关键词:大豆蚜;苍耳;毒杀活性;异色瓢虫

中图分类号:S435.651 **文献标识码:**A **DOI:**10.11861/j.issn.1000-9841.2015.05.0906

Impact of Extracts from *Xanthium sibiricum* on *Aphis glycines* and Its Natural Enemy: *Harmonia axyridis*

WANG Chun, WANG Qian, LI Xin-min, XU Wei-jun

(Institute of Plant Pathology, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

Abstract: The aim of this study was to determine the optimal plant parts and the insecticidal activities of *Xanthium sibiricum*. Root, stem, leaf and seed of *Xanthium sibiricum* were selected as materials to extract insecticide by methanol as organic solvent. The insecticidal bioactivities of extracts against *Aphis glycines* and its effect on *Harmonia axyridis* were determined. The results showed that extracts from different parts of *Xanthium sibiricum* could effectively control *Aphis glycines*. The toxicity tendency exhibited the sequence of leaf > stem > seed > root. The corrected mortality of extract from leaf was 87.07% after 72 h against *Aphis glycines* and was safe for *Harmonia axyridis* below the concentration of 75 mg·mL⁻¹. After extracts from leaf and stem treated potted soybean, the corrected mortality was over 80% at 5 days. Because extracts from leaf and stem was not only toxicant against *Aphis glycines* but also safe for *Harmonia axyridis*, it could be acted as the emphases for further study.

Keywords: *Aphis glycines*; *Xanthium sibiricum*; Toxicity; *Harmonia axyridis*

大豆蚜(*Aphis glycines* Matsumura)为异寄主全周期昆虫,在枝叶部吸食汁液,严重发生时使大豆植株发育不良、生长停滞,导致减产^[1]。由于大豆蚜也可传播大豆花叶病毒,并在全球的大豆产区几乎都有发生,现已成为受关注的重要世界性农业害虫^[2-3]。多年来,对大豆蚜的控制主要依靠化学防治,而大量使用化学农药最终会产生农药残留(Residue)、害虫的再狂獗(Resurgence)与抗性(Resistance),即“3R”所谓的问题。为克服化学农药的负作用,许多植保工作者注意到了植物提取物质对蚜虫的控制效果。

苍耳(*Xanthium* spp.)为菊科苍耳属(*Xanthium*)一年生草本植物,在其植株中已经分离得到脂肪油、挥发油、倍半萜内酯、水溶性苷类、氢醌以及蛋白质等物质,其中倍半萜内酯和水溶性苷类是主要的两类活性成分,苷类、毒蛋白、氢醌为毒性成分^[4]。研究利用苍耳毒性成分的结构和作用机制,

使其成为新农药的活性先导化合物,进行人工模拟合成筛选,从中开发新型植物源农药制剂,对于绿色农业生产有重大意义。有关苍耳对大豆蚜的毒杀活性,特别是对其主要天敌异色瓢虫影响的研究仍未见报道。为此,选用苍耳根、茎、叶、种子不同部位的提取物,以大豆蚜和异色瓢虫为指示生物,进行室内生物测定和盆栽防治试验,以明确苍耳提取物对大豆蚜的生物活性及天敌的安全性,为进一步利用苍耳中活性成分研制生物农药和田间应用提供重要依据。

1 材料与方法

1.1 材料

苍耳(*Xanthium sibiricum*)于2013年9月初采集自哈尔滨农田间及周边,阴干后,将其根、茎、叶和种子分别粉碎过40目筛后备用。

试虫:大豆蚜于盆栽大豆苗上繁殖培养;异色

瓢虫 (*Harmonia axyridis*) 采自大豆田间。

1.2 方法

1.2.1 苍耳不同部位甲醇提取物的制备采用超声波提取法^[5-6] 具体操作方法为:准确称苍耳根、茎、叶、种子等部位干物质 20 g,分别放入 250 mL 的锥形瓶中,加入 200 mL 甲醇(分析纯 95%),浸置 24 h,然后放到超声波提取器上震荡 40 min (40 kHz,30℃),抽虑提取液,滤渣重复提取 2 次,合并滤液,将滤液置于旋转蒸发仪内浓缩至稠膏状,用甲醇定容至 1 mg·mL⁻¹(1 mL 甲醇含有 1 g 植物干物质),存于 4℃ 的冰箱备用。

计算各提取物的浸膏质量和提取率,公式如下:
浸膏质量(g) = W₁ - W₂
R(%) = (W₁ - W₂)/W × 100
其中:R 为提取物的提取率;W₁ 为浓缩后平底烧瓶与提取物的总重(g);W₂ 为平底烧瓶本身的重量(g);W 为样品的重量(g)。

1.2.2 提取物的生物活性测定 采用载蚜叶片浸渍法^[7],将准备好的各供试样品 1 g·mL⁻¹ 植物粗提液用含 1% 吐温 80 的无菌水稀释至 50 mg·mL⁻¹。选取寄生大豆蚜的新鲜叶片,剔除多余的蚜虫,每片叶子保留大小较均匀的无翅成蚜约 30 头,将其浸入各处理液中,停留约 5 s 后取出,用吸水纸吸去多余药液,叶片放入 9 cm 直径的培养皿中,培养皿底铺湿润的滤纸,保持湿度。设根、茎、叶、种子提取物和含 1% 吐温 80 的无菌水溶液稀释后的甲醇溶液作为对照,共 5 个处理,重复 4 次。处理后 24,48 和 72 h 记录死亡大豆蚜数,计算虫口死亡率、校正死亡率,公式如下:

虫口死亡率(%) = $\frac{\text{死亡虫数}}{\text{供试虫数}} \times 100$

校正死亡率(%) = $(1 - \frac{\text{对照药前活虫数} \times \text{处理药后活虫数}}{\text{对照药后活虫数} \times \text{处理药前活虫数}}) \times 100$

1.2.3 天敌敏感性测定 根据苍耳室内毒力测定结果,将 1 g·mL⁻¹ 苍耳叶提取物用含 1% 吐温 80 的无菌水依次稀释为 70,50,25,12.5,6.25 mg·mL⁻¹,分别均匀浸润直径 9 cm 定性滤纸,用吸水纸吸去滤纸上的多余药液并风干后放于培养皿内,每皿接入瓢虫 15,并设清水作对照,共 6 个处理,重复 4 次。分别于 24,48 和 72 h 后检查死亡率(以轻触试虫无任何反应者为死亡标准,计算瓢虫的死亡率、校正死亡率^[8],公式同 1.2.2)。

1.2.4 苍耳提取物对大豆蚜的盆栽防效 用 50

mg·mL⁻¹ 的苍耳根、茎、叶和种子提取物作处理,以含 1% 吐温 80 的无菌水溶液稀释后的甲醇溶液作对照。在大豆两片真叶时,每株接 5 头大豆蚜。当每株大豆蚜虫量达 50 头以上时,进行防治试验。试验设置 3 次重复。处理前检查虫口基数,手持喷雾器常量喷雾,直至叶片正反两面均有一层雾珠为止^[9]。药剂处理后 1,3,5 和 7 d 调查试虫死亡情况,计算校正防治效果。

校正防效(%) = $(1 - \frac{\text{对照药前活蚜数} \times \text{处理药后活蚜数}}{\text{对照药后活蚜数} \times \text{处理药前活蚜数}}) \times 100$

1.3 数据分析

采用 Excel 2003 和 SPSS 19.0 进行数据分析统计,并用 Duncan's 新复极差进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 苍耳不同部位提取物浸膏质量及提取率比较

用甲醇提取苍耳的不同部位,所得浸膏质量不同,提取率相差较大(表 1)。茎和叶提取的浸膏质量分别为 2.59 和 2.84 g,与根和种子提取的浸膏质量差异显著。不同部位提取率的大小依次为叶 > 茎 > 根 > 种子,其中苍耳叶子的提取率最高为 14.18%,种子的提取率最小为 7.05%。

表 1 苍耳不同部位提取物的浸膏质量和提取率
Table 1 Extract weight and extraction rate of different part of *Xanthium sibiricum*

提取部位 Extracted part	浸膏质量 Extract weight/g	提取率 Extraction rate/%
根 Root	1.49 a	7.48 a
茎 Stem	2.59 b	12.95 b
叶 Leaf	2.84 b	14.18 b
种子 Seed	1.41 a	7.05 a

同列数据后的不同字母表示 0.05 水平差异显著。下同。
Different lowercase letters mean significant difference at 0.05 level.
The same below.

2.2 苍耳不同部位提取物对大豆蚜的毒杀活性

由表 2 可知,苍耳不同部位的提取物对大豆蚜均有一定的毒杀活性,与对照差异显著。处理 48 h 后,苍耳茎和叶提取物对大豆蚜的校正死亡率达 70% 以上,与根和种子的提取物对大豆蚜的毒杀活性差异显著。随着处理时间的延长,大豆蚜的死亡率逐渐增加,但茎叶提取物的毒杀活性明显大于根和种子的提取物,其中叶提取物的 72 h 校正死亡率高达 87.07%。苍耳不同部位对大豆蚜的毒杀活性大小依次为叶 > 茎 > 种子 > 根。

表2 苍耳不同部位提取物对大豆蚜的毒杀活性

Table 2 Toxicity of extracts from different parts of *Xanthium sibiricum* against *Aphis glycines*

提取物部位 Tested part	试虫数 No. of tested aphid	24 h		48 h		72 h	
		存活虫数	校正死亡率	存活虫数	校正死亡率	存活虫数	校正死亡率
		Survival aphid	Adjusted mortality/%	Survival aphid	Adjusted mortality/%	Survival aphid	Adjusted mortality
根 Root	32. 75	29. 25 c	8. 53 a	23. 00 c	21. 76 a	14. 75 c	44. 47 a
茎 Stem	31. 75	15. 25 a	50. 81 c	7. 75 a	72. 81 c	3. 75 a	85. 44 c
叶 Leaf	31. 00	14. 50 a	52. 09 c	6. 50 a	76. 64 c	3. 25 a	87. 07 c
种子 Seed	34. 00	22. 50 b	32. 22 b	15. 25 b	50. 03 b	11. 00 b	60. 11 b
对照 Control	31. 75	31. 00 c	—	28. 5 d	—	25. 75 d	—

2.3 苍耳提取物对天敌的影响

不同浓度的苍耳叶提取物处理天敌瓢虫后,瓢虫在不同时间的累计死亡均较少,各试验浓度苍耳提取物与对照无显著差异(表3)。处理24 h后,苍耳提取物在浓度25 mg·mL⁻¹以下未表现杀伤性,50和75 mg·mL⁻¹表现微弱杀伤性,校正死亡率均为1.69%;48 h后,提取物浓度12.5 mg·mL⁻¹以下对

大豆蚜没有杀伤性,75 mg·mL⁻¹杀伤性最大,校正死亡率为5.26%;72 h后,除6.25 mg·mL⁻¹未表现杀伤性外,其余提取物浓度均表现一定杀伤性,75 mg·mL⁻¹杀伤性最大,校正死亡率达8%,其次为50 mg·mL⁻¹,校正死亡率达为6%,其余浓度提取物均小于5%。

表3 苍耳提取物对瓢虫的影响

Table 3 Impact of extracts from *Xanthium sibiricum* on ladybug

提取物浓度 Extracts concentration /mg·mL ⁻¹	试虫数 No. of tested ladybug	处理后 24 h		处理后 48 h		处理后 72 h	
		存活虫数	校正死亡率	存活虫数	校正死亡率	存活虫数	校正死亡率
		Survival ladybug	Adjusted mortality/%	Survival ladybug	Adjusted mortality/%	Survival ladybug	Adjusted mortality/%
75	15	14. 50 a	1. 69 a	13. 50 a	5. 26 a	11. 50 a	8. 00 a
50	15	14. 50 a	1. 69 a	14. 00 a	1. 75 a	11. 75 a	6. 00 a
25	15	14. 75 a	0 a	14. 00 a	1. 75 a	12. 00 a	4. 00 a
12. 5	15	14. 75 a	0 a	14. 25 a	0 a	12. 25 a	2. 00 a
6. 25	15	14. 75 a	0 a	14. 25 a	0 a	12. 50 a	0 a
对照 Control	15	14. 75 a	—	14. 25 a	—	12. 50 a	—

2.4 盆栽防治效果

苍耳不同部位提取物对盆栽大豆植株上的大豆蚜均有一定的防治效果(表4)。处理5 d后,茎和叶甲醇提取物校正防效达80%以上,其中叶提取物校正防效为81.45%,而根和种子甲醇提取物校正防效均小于60%,校正防效最小的根提取物只有

51.01%。7 d后,除根提取物外,其余部位提取物校正防效均达60%以上,其中叶提取物校正防效为82.82%。处理7 d后,叶和茎提取物校正防效对比,差异不显著,但二者的提取物校正防效与根和种子的差异显著,其中叶和根提取物校正防效相差达28.59%。

表4 苍耳不同部位的提取物对大豆蚜的盆栽防治效果

Table 4 Control effect of extracts from *Xanthium sibiricum* on *Aphis glycines*

提取物部位 Tested part	处理前虫数 No. before treatment	1 d		3 d		5 d		7 d	
		药后虫数(头)	校正防效	药后虫数(头)	校正防效	药后虫数(头)	校正防效	药后虫数(头)	校正防效
		No. after treatment	Control effect/%	No. after treatment	Control effect/%	No. after treatment	Control effect/%	No. after treatment	Control effect/%
根 Root	225. 00	196. 00 b	23. 69 a	151. 67 b	33. 46 a	116. 67 b	51. 01 a	111. 00 b	54. 23 a
茎 Stem	271. 33	121. 67 a	51. 30 b	92. 67 a	66. 29 b	56. 67 a	80. 27 b	53. 33 a	81. 76 b
叶 Leaf	237. 67	137. 67 a	56. 22 b	71. 00 a	70. 51 b	46. 67 a	81. 45 b	44. 00 a	82. 82 b
种子 Seed	254. 33	184. 67 b	30. 45 a	143. 33 b	44. 37 a	114. 00 b	57. 65 a	106. 67 b	61. 09 a
对照 Control	256. 67	246. 67 c	—	260. 00 c	—	271. 67 c	—	276. 67 c	—

3 结论与讨论

在植物源农药的研究中,因为杀虫活性物质可能分布在植物的各个不同部位,也可能只分布于其中一个部位,所以对植物生物活性的空间分布进行研究是必不可少的^[10]。本研究对苍耳的根、茎、叶和种子等部位分别进行了分离提取,系统分析了苍耳杀蚜活性的空间分布情况。苍耳茎和叶的干物质提取率显著大于根和种子,同时,杀蚜活性物质在植株体内的分布趋势,总体表现为叶>茎>种子>根,对大豆蚜的72 h校正死亡率为44.47%~87.07%,其中叶部杀蚜活性物最强为87.07%。

在植物次生代谢物质的杀虫活性成为研究热点的同时,对害虫有高活性的次生代谢物对害虫天敌的影响也不可忽视^[11]。对天敌的毒性作用研究,对于环境保护和害虫持续控制有着十分重要的意义。本研究结果表明,苍耳叶提取物浓度在75 mg·mL⁻¹以下,各提取物浓度处理瓢虫后的存活虫数与对照相比,均未达显著差异,可以认为苍耳甲醇提取物在此浓度下对瓢虫是安全的。盆栽防治试验表明,叶和茎提取物处理盆栽5 d后,校正防效达80%以上,二者防效显著高于根和种子提取物。苍耳茎叶提取物不但对大豆蚜杀虫活性好,而且对其天敌瓢虫的安全性也好。因此,苍耳的有效杀虫成分定量分析及其对大豆蚜的作用机理值得进一步研究。

参考文献

[1] 刘兴龙,王克勤,刘春来,等. 播期对大豆蚜及其天敌种群动态的影响[J]. 应用昆虫学报, 2014, 51(2): 375-384. (Liu X L, Wang K Q, Liu C L, et al. Effect of planting date on the population dynamics of the soybean aphid and its natural enemies[J]. Chinese Journal of Applied Entomology, 2014, 51(2): 375-384.)

[2] 刘健,赵奎军. 大豆蚜的生物学防治技术[J]. 昆虫知识, 2007, 44(2): 179-185. (Liu J, Zhao K. Biology and control techniques of soybean aphid[J]. Chinese Bulletin of Entomology, 2007, 44(2): 179-185.)

[3] 苗进,吴孔明,李国勋. 大豆蚜的研究进展[J]. 大豆科学, 2005, 24(2): 135-138. (Miao J, Wu K M, Li G X. Advances in

research on soybean aphid[J]. Soybean Science, 2005, 24(2): 135-138.)

[4] 许玉娟,柳韶华,徐亮,等. 苍耳中的活性物质在植物保护上的应用[J]. 农药, 2008, 47(8): 551-553, 560. (Xu Y J, Liu S H, Xu L, et al. The active substances from cocklebur and the application in plant protection[J]. Agrochemicals, 2008, 47(8): 551-553, 560.)

[5] 张静,李慕春,古丽克孜·阿日甫. 10种植物粗提物对棉蚜的室内毒力测定[J]. 农产品加工(创新版), 2010(4): 25-28. (Zhang J, Li M C, Gulikz A. Study on indoor toxicity of 10 plant extracts to *Aphis gossypii* [J]. Farm Products Processing (Innovational edition), 2010(4): 25-28.)

[6] 王慧,马玲,韩小冰,等. 五种蒿属植物源杀虫剂活性成分的提取工艺[J]. 东北林业大学学报, 2007, 35(3): 92. (Wang H, Ma L, Han X B, et al. Extraction technology for active components of plant-based pesticides from five *artemisia* species [J]. Journal of Northeast Forestry University, 2007, 35(3): 92.)

[7] 苏茂文,罗万春,张俊燕,等. 马齿苋干粉提取物对棉蚜的毒杀和拒食活性[J]. 植物资源与环境学报, 2005, 14(2): 10-14. (Su M W, Luo W C, Zhang J Y, et al. Bioactivity of extracts from dried powder of *Portulacaoleracea* L. against *Aphis gossypii* [J]. Journal of Plant Resources and Environment, 2005, 14(2): 10-14.)

[8] 张治科,南宁丽,张蓉,等. 防治甘草萤叶甲生物源农药筛选及其对生物多样性的影响[J]. 昆虫知识, 2010, 47(1): 110-114. (Zhang Z K, Nang N L, Zhang R, et al. Screening of biogenic pesticides to *Diorhbdatarsalis* and effects of biogenicpesticides to bio-diversity [J]. Chinese Bulletin of Entomology, 2010, 47(1): 110-114.)

[9] 马安勤,钟国华,胡美英,等. 骆驼蓬等植物提取物杀虫活性研究[J]. 华南农业大学学报, 2003, 24(1): 38-41. (Ma A Q, Zhong G H, Hu M Y, et al. The insecticidal activity of the extract of *Peganumharmala* and other plant species against pest insects [J]. Journal of South China Agricultural University, 2003, 24(1): 38-41.)

[10] 张永强,丁伟,赵志模,等. 黄花蒿提取物对朱砂叶螨生物活性的研究[J]. 中国农业科学, 2008, 41(3): 720-726. (Zhang Y Q, Ding W, Zhao Z M, et al. Studies on acarcidalbioactivities of the extracts from *Artemisia annua* L. against *Tetranychuscinnabarinus* Bois [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2008, 41(3): 720-726.)

[11] 朱麟,古德祥. 昆虫对植物次生性物质的适应策略[J]. 生态学杂志, 2000, 19(3): 36-45. (Zhu L, Gu D X. The adaptive strategies of insects to plant alleochemicals [J]. Chinese Journal of Ecology, 2000, 19(3): 36-45.)