

马 丽,王开梅,李维林,等. 蒺藜提取物作为生物农药的效果[J]. 江苏农业科学,2014,42(3):86-87.

蒺藜提取物作为生物农药的效果

马 丽¹, 王开梅², 李维林¹, 顾玉诚³

(1. 江苏省中国科学院植物研究所, 江苏南京 210014; 2. 湖北省农业科学院生物农药工程研究中心, 湖北武汉 430064;

3. Syngenta Jealott's Hill International Research Centre, Syngenta Berkshire UK RG42 6EY)

摘要:考察了蒺藜水提取物、乙醇提取物的抗真菌、除草、杀虫作用。结果表明,蒺藜乙醇提取物无抗真菌、除草、杀虫作用;蒺藜水提取物无除草活性;蒺藜水提取物具有选择性抑制真菌作用,在终浓度为 20 mg/L 时对小麦颖枯菌和小麦赤霉菌的抑制率均为 70%;蒺藜水提取物具有选择性杀虫作用,在终浓度为 60 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 时对棉铃虫的毒杀率达 100%。

关键词:蒺藜;抗真菌;杀虫;除草

中图分类号: S482.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)03-0086-02

农药是指在农业生产中,为保障、促进农作物成长,所施用的杀虫、杀菌、杀灭有害动物或杂草的一类药物统称。化学农药因其防治效果快、作用明显在农药中一直占据主导地位。人类长期食用带有化学农药残留的瓜果、蔬菜,会引起习惯性头痛、头晕、乏力、多汗、抑郁、记忆力减退、脱发、体弱等症状,农药在人体长期富集后甚至会引发癌症、动脉硬化、心血管病、胎儿畸形、死胎等后果。开发高效、低毒、低残留的新型农药势在必行。植物源农药因其活性成分易降解、残留低、对环境污染较小日益受到人们重视。

蒺藜(*Tribulus terrestris* L.)始载于《神农本草经》,别称白蒺藜、刺蒺藜、三角蒺藜、杜蒺藜。据《中国药典》记载,蒺藜为蒺藜科(*Zygophyllaceae*)、蒺藜属(*Tribulus*)植物蒺藜的干燥成熟果实^[1]。研究表明,蒺藜中含有皂苷类、黄酮类、生物碱类、多糖类、萜类、甾醇类、氨基酸类、有机酸类、脂肪酸类等化学成分^[2-13]。据《中国药典》记载,蒺藜具有平肝解郁、活血祛风、明目止痒等功效,用于治疗头痛眩晕、胸肋胀痛、乳闭乳痛、目赤翳障、风疹瘙痒^[2]。现代药理研究表明,蒺藜水提液具有降血糖、抗衰老、利尿、提高生殖能力等作用;蒺藜醇提取物具有抑制酪氨酸酶的活性;蒺藜总皂苷能够增加心血管、脑血管的血流量,改善心血管、脑血管循环,保护损伤的心组织、脑组织,还具有降血糖功效,能促进肝糖元合成,保护、促进胰岛细胞分泌胰岛素,并可治疗男性性功能低下,增强女性卵巢功能,预防更年期综合征^[4-5,9,11]。一直以来,蒺藜主要被用于治疗人类疾病,而其作为生物农药开发方面的研究鲜有报道。笔者课题组对 100 多种植物乙醇提取物及水提取物进行了杀虫、抗真菌及除草作用筛选,发现蒺藜具有作为植物性农药的潜力。本研究考察了蒺藜水提取物及乙醇提取物在抗真菌、除草、杀虫方面的作用,旨在为开发植物性农药提供参考。

1 材料与方法

收稿日期:2013-07-19

基金项目:江苏省基础设施建设项目(编号:BM2011117)。

作者简介:马 丽(1978—),女,江苏如皋人,博士,助理研究员,主要从事天然产物研究与开发工作。

通信作者:李维林。E-mail: lwlcnb@mail.cnbg.net。

1.1 材料和仪器

供试蒺藜药材购于南京药业股份有限公司。

供试菌:终极腐霉菌(*Pythium ultimum*)、灰霉菌(*Botrytis cinerea*)、小麦颖枯菌(*Septoria nodorum*)、番茄早疫病(*Alternaria Solani*)、小麦赤霉菌(*Fusarium culmorum*)、立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*),由湖北省农业科学院生物农药工程研究中心提供。

半固体培养基:牛肉膏、蛋白胨、氯化钠、琼脂、水。

供试昆虫:棉铃虫(*Heliothis armigera*)、小菜蛾(*Plutella xylostella*)、豆蚜(*Aphis craccivora*),由湖北省农业科学院生物农药工程研究中心提供。

昆虫饲料配方:玉米粉、大豆粉、酵母粉、蔗糖、琼脂、山梨酸、对羟基苯甲酸甲酯、维生素 C、维生素 B₅、维生素 B₃、维生素 B₂、维生素 B₁、维生素 B₆、维生素 B₉、维生素 H、维生素 B₁₂、KOH、乙酸、甲醛。

供试植物:白菜[*Brassica rapa* L. ssp. *chinensis* (L.) Makino]、狗牙根(*Cynodon dactylon* L.)、浮萍(*Lemna minor*)。

仪器:万能粉碎机、立式自动压力蒸汽灭菌器、摇床、超声波振荡仪、旋转蒸发仪、恒温水浴锅、电子天平、智能人工气候箱、真空泵、鼓风干燥箱。

1.2 试验方法

1.2.1 药材提取 将 50 g 蒺藜药材用 10 倍体积的 80% 乙醇溶液热回流提取 2 h,再用 8 倍体积的 80% 乙醇溶液热回流提取 2 h,合并提取液,浓缩,得到蒺藜醇提物。将 50 g 蒺藜药材用 10 倍体积的水煎煮 2 h,再用 8 倍体积的水煎煮 1 h,合并提取液,浓缩,得到蒺藜水提物。60 $^{\circ}\text{C}$ 下干燥,得到褐色浸膏,称重后用 5% DMSO 水溶液超声,溶解后配制所需浓度。

1.2.2 抗真菌试验 采用半固体培养基 96 孔细胞培养板进行筛选,筛选靶标包括终极腐霉菌、灰霉菌、小麦颖枯菌、番茄早疫病、小麦赤霉菌、立枯丝核菌。取牛肉膏 3 g、蛋白胨 10 g、氯化钠 5 g、琼脂 2.5 g,加水 1 L,调整 pH 值至 7.4,121 $^{\circ}\text{C}$ 、103.43 kPa 灭菌 15 min。该类靶标筛选方法为半固体培养基法。冷却后每孔加入 90 μL 培养基和待测真菌的菌丝体或孢子的混合物,每孔加入药液量为 10 μL 。初筛时培养基中样品终浓度为 20 mg/L。复筛浓度根据初筛结果进行

调整。

1.2.3 杀虫试验 采用改进后的梁革梅等^[14]的饲料配方：玉米粉 200 g、大豆粉 100 g、酵母粉 90 g、蔗糖 50 g、琼脂 15 g、山梨酸 1.8 g、对羟基苯甲酸甲酯 1.8 g、维生素 C 6.2 g、复配维生素液（每 100 mL 含维生素 B₅ 45.84 mg、维生素 B₃ 45.75 mg、维生素 B₂ 22.92 mg、维生素 B₁ 11.46 mg、维生素 B₆ 11.46 mg、维生素 B₉ 11.46 mg、维生素 H 11.46 mg、维生素 B₁₂ 11.46 mg）15 mL、4 mol/L KOH 40 mL、16.67% 乙酸 15 mL、10% 甲醛 10 mL，加水 912 mL，加热混匀后 121 ℃、103.43 kPa 灭菌 15 min。棉铃虫和小菜蛾的卵用 10% 甲醛溶液消毒 15 min，室内人工饲养，饲养条件为温度 25 ℃，相对湿度 75%~85%，采用 96 孔细胞培养板筛选。每孔加入 300 μL 人工饲料，加入样品稀释液 20 μL。初步筛选时样品浓度为 1 g/L，复筛浓度根据初筛结果进行调整。以小菜蛾、棉铃虫为试虫。1 周后检查试验结果。对豆蚜进行杀虫活性测定时采用浸泡法。初筛浓度为 1 g/L，直接将长有豆蚜的豆苗浸泡在药液中，1 周后检查结果。复筛浓度根据初筛结果进行调整。

1.2.4 除草试验 采用白菜、狗牙根种子作为筛选靶标时，筛选方法为琼脂培养基表面涂布法。采用 96 孔细胞培养板进行筛选，每孔加入水琼脂（14 g 琼脂加 1 L 水加热溶解后高压灭菌）300 μL，在每孔中加入约 10 粒种子，然后加入药液 20 μL，初筛样品浓度分别为 1.0、0.3、0.1 g/L。1 周后检查种子萌发及植株生长情况。复筛浓度根据初筛结果进行调整。以浮萍为靶标进行杀草活性筛选时，采用水培法。采用 24 孔细胞培养板进行筛选，每孔加入浮萍 Hoagland's 营养液^[15] 2 mL，接入 3 张叶片的浮萍，再加入药液 20 μL。初筛时样品浓度为 1 g/L，1 周后检查浮萍生长情况。

2 结果与分析

由表 1 可见，当蒺藜水提取物在终浓度为 20 mg/L 时，对小麦颖枯菌、小麦赤霉菌有较强抑制作用，对其他真菌无抑制作用；蒺藜乙醇提取物对供试真菌均无抑制作用。

表 1 蒺藜提取物对供试真菌的抑制作用

供试菌	终浓度为 20 mg/L 下的抑制率(%)	
	蒺藜水提取物	蒺藜乙醇提取物
终极腐霉菌	—	—
灰霉菌	—	—
小麦颖枯菌	70	—
番茄早疫菌	—	—
小麦赤霉菌	70	—
立枯丝核菌	—	—

注：“—”表示无抑制作用。下同。

杀虫试验结果表明，蒺藜水提取物在终浓度为 60 μg/cm² 时对棉铃虫有毒杀作用，强度达 100%，而对小菜蛾和豆蚜无毒杀作用；蒺藜乙醇提取物对供试虫无毒杀作用（表 2）。

除草试验结果显示，蒺藜水提取物、乙醇提取物均无除草作用。

3 结论

考察了蒺藜水提取物、乙醇提取物作为生物性农药在抗

表 2 蒺藜提取物杀虫试验结果

供试虫	终浓度为 60 μg/cm ² 下的抑制率(%)	
	蒺藜水提取物	蒺藜乙醇提取物
小菜蛾	—	—
棉铃虫	100%	—
豆蚜	—	—

真菌、除草、杀虫方面的作用，结果表明蒺藜具有活性的成分集中在水提取物中，乙醇提取物在抗真菌、除草、杀虫方面均无活性。蒺藜的水提取物无除草活性，但在一定浓度下具有抗真菌、杀虫作用。在抗真菌试验中，蒺藜的水提取物终浓度为 20 mg/L 时对小麦颖枯菌、小麦赤霉菌有选择性抑制作用，抑制率为 70%。在杀虫试验中，蒺藜的水提取物终浓度为 60 μg/cm² 时对棉铃虫有很强的毒杀作用，抑制率达 100%。研究表明，蒺藜的水提取物可结合其他农药对小麦颖枯菌和小麦赤霉菌引起的小麦病变进行防治。可尝试将蒺藜水提取物应用于棉铃虫防治。关于蒺藜水提取物在大田中的应用情况，仍须进一步研究。

参考文献：

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：一部[M]. 北京：中国医药科技出版社，2010：330.

[2] 蔡利锋，景凤英，张建国，等. 蒺藜化学成分的研究[J]. 药学报，1999，34(10)：759-761.

[3] Chen G, Su L, Feng S G, et al. Furostanol saponins from the fruits of *Tribulus terrestris*[J]. Phytochemistry, 2013, 27(13)：1186-1190.

[4] 孙国珍，张洁，马百平. 蒺藜中甾体皂苷类化学成分及其药理活性研究进展[J]. 中草药，2007，38(7)：1111-1115.

[5] 王艳. 刺蒺藜药理作用及化学成分的研究概况[J]. 北京中医学院学报，1989，12(6)：30-33.

[6] Li J X, Shi Q, Xiong Q B, et al. Tribulusamide A and B, new hepatoprotective lignanamides from the fruits of *Tribulus terrestris*: indications of cytoprotective activity in murine hepatocyte culture[J]. Planta Medica, 1998, 64(7)：628-631.

[7] 师勤，余伯阳，徐珞珊，等. 反相高效液相色谱法测定蒺藜类 3 种水解黄酮苷元的含量[J]. 药物分析杂志，1999，19(2)：75-78.

[8] 师勤，马果玉，徐珞珊，等. 比色法测定蒺藜中多糖的含量[J]. 中国药科大学学报，1997，28(5)：39-41.

[9] 刘启福，陈裕明，王健梅，等. 刺蒺藜多糖对遗传损伤防护作用的研究[J]. 中国中药杂志，1995，20(7)：427-429, 449.

[10] 黄雪莲，张翼仲，梁志岩. 蒺藜中水溶性多糖的研究[J]. 药学报，1991，26(8)：578-583.

[11] 张健，李俊，莫琪，等. 蒺藜提取物的药理研究进展[J]. 中医药研究，1998，14(6)：56-57.

[12] 王学东，邵健新，翟筱，等. 蒺藜中氨基酸的含量测定[J]. 氨基酸杂志，1994(2)：29-30.

[13] 陈海生，陈前进，宣伟东. 蒺藜中一个新的有机酸成分的分离与鉴定[J]. 第二军医大学学报，2004，25(11)：1241-1242.

[14] 梁革梅，谭维嘉，郭予元. 人工饲养棉铃虫技术的改进[J]. 植物保护，1999，25(2)：16-18.

[15] 肖波，焦晋川，王琰莉. 三种观赏植物水培营养液配方初步研究[J]. 北方园艺，2008(2)：125-126.