石菖蒲根茎甲醇提取物对谷蠹的生物活性*

黄衍章** 杨长举*** 薛 东 宋旭红 邱 艳

（华中农业大学城市有害生物防治研究所 武汉 430070）

Bioactivity of methanol extract from *Acorus gramineus* rhizome against *Rhizopertha dominica*. HUANG Yan-Zhang**, YANG Chang-Ju***, XUE Dong, SONG Xu-Hong, QIU Yan (*The Institute of Urban Pest Control, Huazhong Agricultural University*, Wuhan 430070, China)

Abstract The bioactivities of methanol extracts from *Acorus gramineus* Soland rhizome against *Rhizopertha dominica* (Fabricius) adults were investigated using cool-soaking and solvent extraction. The result indicated that petroleum extraction of methanol extract from *A. gramineus* rhizome was best against *R. dominica*, followed by water extraction. Petroleum extraction had better contact, fumigant, population surpression activities and control effects, and moderate repellency action as well. The LC_{50} and LC_{95} of petroleum extraction against *R. dominica* at 72 h post-treatment by drug-film contact method were 8.30 μg/cm² and 51.75 μg/cm² accordingly. The corrected mortality to *R. dominicaat* 6.25 μL/L was 94.25% after 120 h treatment by drug-paper fumigant method. After treatment of feedstuff mixed with extracts at 250 mg/kg, the control effect of petroleum extraction against *R. dominica* was similar to the treatment with 5 mg/kg malathion, and the population surpression effect of treatment with petroleum extracts on F_1 generation of the beetles was markedly higher than that of 5 mg/kg malathion treatment.

Key words *Acorus gramineus*, extract, *Rhizopertha dominica*, bioactivity

摘　要　采用冷浸法和溶剂萃取法，研究石菖蒲（*Acorus gramineus* Soland）根茎甲醇提取物对谷蠹 *Rhizopertha dominica*（Fabricius）成虫的生物活性。结果表明，石菖蒲甲醇提取物以石油醚萃取物的生物活性最强，水层次之。石油醚萃取物对谷蠹具有较高的触杀、熏蒸、种群抑制活性和防治效果，并具有一定的驱避活性。药膜法触杀处理 72 h 后对谷蠹的 LC_{50} 和 LC_{95} 分别为 8.30 μg/cm²，51.75 μg/cm²。药纸熏蒸法 6.25 μL/L 处理 120 h 后对谷蠹的校正死亡率为 94.25%。饲料拌药法 250 mg/kg 处理对谷蠹的防效与 5 mg/kg 马拉硫磷效果相当，且对 F_1 代的种群抑制效果显著高于 5 mg/kg 马拉硫磷处理。

关键词　石菖蒲，提取物，谷蠹，生物活性

储粮害虫对化学农药的抗药性问题是当前的研究热点之一。在我国，谷蠹 *Rhizopertha dominica*（Fabricius）、米象 *Sitophilus oryzae*（L.）、锈赤扁谷盗 *Cryptolestes ferrugineus*（Stephens）和长角扁谷盗 *Cryptolestes pusillus*（Schönherr）已对磷化氢产生了严重的抗性，其中谷蠹广东种群抗性系数高达 1 149[1]。利用天然杀虫植物，分析其活性成分，寻找人工合成的天然模板进行仿生合成新型农药是解决害虫"3R"问题的一条理想途径。

随着人们消费观念的转变，无公害、绿色食品现已成为人们的迫切需求，因此现在急需一类高效、低毒、低残留的杀虫剂来防治储粮害虫[2]。植物具有多种抵御有害生物侵袭的机制，这些机制包括植物的形态、行为以及植物体内产生的次生性物质。植物次生性物质一般为生物活性化合物，对许多害虫具有不同程度的抑制作用，如拒食、驱避、抑制生长、触杀、胃毒作用等。目前，全世界只有 10% 的植物被研究

*国家科技部"十五"重点科技攻关项目（2004BA523B03-02）。

**E-mail: hyz7508@sohu.com

***通讯作者，E-mail: changjuyang@163.com

收稿日期：2006-10-16，修回日期：2006-10-23，

接受日期：2006-11-16

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.n

了化学成分，其产生的次生性物质达 40 多万种[3]。植物源农药符合可持续农业和可持续植保的发展方向，在天然植物中寻找和开发新型的植物源农药已成为当前的研究热点。

谷蠹是一种重要的初期性储粮害虫，具有抗干性、抗热性强、防治难和危害大等特点，是引起低水分粮食发热、结块的主要虫种[4]。已有研究证实，石菖蒲粗提物对多种储粮害虫和蔬菜害虫具有很好的毒杀活性[5~9]，但有关石菖蒲根茎提取物对谷蠹的生物活性尚未见报道。本研究旨在比较石菖蒲不同有机溶剂萃取物对谷蠹的生物活性，为进一步开发防治谷蠹的植物源农药剂型以及分离纯化活性物质提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试植物：石菖蒲鲜根茎，购于湖北省蕲春县中药材市场。

1.1.2 供试害虫：谷蠹成虫源自华中农业大学城市有害生物防治研究所，室内已饲养多代。用粗粉小麦饲养。小麦含水量为 14%±1%。将试虫接入饲料后，放入养虫室内(T：26℃～28℃，RH：70%～80%)，7 d 后移出所有成虫，待下一代成虫羽化后取 14～21 d 虫龄的成虫供试。

1.2 杀虫有效成分的提取

将石菖蒲鲜根茎洗净后于 45℃烘干，粉碎后过 40 目筛。称取石菖蒲干粉 200 g，加入 800 mL 甲醇后置于 25℃室内避光处浸泡，7 d 后将上清液抽滤，再加 300 mL 甲醇继续浸泡 7 d，然后再次抽滤。收集 2 次抽滤液于 45℃用旋转蒸发仪浓缩至恒重。称取 20 g 甲醇冷浸物，用 45℃水浴熔融后加入 250 mL 水，再依次用 250 mL 石油醚(60～90℃沸程)、氯仿、乙酸乙酯进行萃取。所用溶剂均为分析纯。有机溶剂萃取液于 45℃用旋转蒸发仪浓缩，水层则用水浴锅在 60℃下进行蒸干浓缩。

1.3 生物测定方法

1.3.1 不同溶剂萃取物生物活性初筛：采用药膜法。将各有机溶剂萃取浓缩物用丙酮配制成 20 mg/mL 的药液，水层浓缩物则用水配制成 20 mg/mL 的药液。用移液管各取 1 mL 滴入直径为 9 cm 的培养皿内，摇匀使其平铺成均匀一致药膜，皿内载药量为 314.40 μg/cm^2。待溶剂完全挥发后，按 30 头/皿接入试虫。皿内不加饲料，加盖并用透明胶带密闭。重复 3 次，并设丙酮和蒸馏水溶剂对照。

将各处理放入生物测定室内(T：26℃～28℃，RH：70%～80%)，分别于处理 24、48 h 后检查击倒虫数，处理 72 h 后打开皿盖，散气后检查死亡虫数。击倒标准：在 100 W 白炽灯下观察 1 min，虫体无任何刺激性反应视为击倒。死亡标准：以拔针触及成虫触角、足及尾部，不动者视为死亡。校正死亡(击倒)率计算公式为：

校正死亡率(%)＝[(死亡率－对照死亡率)/(1－对照死亡率)]×100。

1.3.2 触杀作用：采用药膜法。将石油醚萃取浓缩物用丙酮稀释成不同浓度，各取 1 mL 滴入直径为 9 cm 的培养皿内，摇匀使其平铺成药膜，待丙酮完全挥发后，将内壁涂有聚四氟乙烯的玻璃环(直径 7 cm，高 6 cm)放入皿内防止试虫上爬。按 30 头/皿接入试虫，皿内不加饲料，并加上铁丝网盖防止试虫逃逸。重复 3 次，并设丙酮溶剂对照。将各处理放入生物测定室内，分别于 24，48，72 h 后调查死亡虫数，计算校正死亡率。

1.3.3 熏蒸作用：采用药纸熏蒸法。用移液枪取不同体积的石油醚萃取浓缩物，滴入到 4 cm^2 的正方形滤纸上，再将滤纸用细白线垂直悬挂在 300 mL 的三角瓶中央。接入试虫后，迅速用软木塞封口密闭。每瓶接入 30 头试虫，瓶内不加饲料。重复 3 次，并设空白对照。将各处理放入生物测定室内，分别于 24，48，72 h 后调查击倒虫数，120 h 后打开软木塞，散气后将试虫倒入干净的培养皿内调查死亡虫数。

1.3.4 驱避作用：采用滤纸药膜法[9]，略加改进。将直径 9 cm 的滤纸剪成相同的两半，一半均匀地滴入 0.5 mL 药剂，另一半滴入 0.5 mL 丙

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

酮作对照。待丙酮完全挥发后，将两半滤纸按原样用胶带粘好，放入直径为9 cm的培养皿中，然后将内壁涂有聚四氟乙烯的玻璃环（直径7 cm，高6 cm）放入培养皿内防止试虫上爬。按30头/皿接入试虫，皿内不加饲料，并加上铁丝网盖防止试虫逃逸。同时设丙酮空白对照，两半滤纸均滴入0.5 mL丙酮，随机设一边为处理。重复3次。将各处理放入生物测定室内，分别于处理后24、48、72 h调查驱避率。驱避率计算公式为：

驱避率（%）=[（对照边虫数－处理边虫数）/对照边虫数]×100。

采用McDonald的分级方法将驱避率分为0～Ⅴ个等级，即0，无驱避作用；Ⅰ级＝0.1%～20%驱避率；Ⅱ级＝20.1%～40%驱避率；Ⅲ级＝40.1%～60%驱避率；Ⅳ级＝60.1%～80%驱避率；Ⅴ级＝80.1%～100%驱避率[10]。

1.3.5　种群抑制作用和防效：采用饲料拌药法。所用小麦均完整未被为害。将石油醚萃取浓缩物用丙酮稀释成不同浓度药剂后，按每瓶60 g小麦加入3 mL药剂，迅速摇匀，于通风橱内将丙酮完全挥干后按每瓶60头接入试虫。重复3次，并设5 mg/kg马拉硫磷对照和丙酮对照。处理3，5，7 d后调查死亡虫数，并于7 d后移出所有成虫，待下一代成虫开始羽化7 d后调查成虫数量，计算种群抑制率。同时按每瓶随机取100粒小麦，调查小麦被害率，计算防效。种群抑制率和防效计算公式分别为：

种群抑制率（%）=[（对照虫数－处理虫数）/对照虫数]×100；

防效（%）=[（对照被害率－处理被害率）/对照被害率]×100。

1.4　统计方法

采用DPS数据处理软件进行方差分析。将各调查数据转化为反正弦平方根后（驱避率数据不转换），用Duncan新复极差法进行多重比较，数据后无相同小写字母表示处理间存在显著差异（P＝0.05）。

2　结果与分析

2.1　石菖蒲根茎甲醇提取物不同溶剂萃取物对谷蠹的生物活性筛选

从表1可知，石菖蒲甲醇提取物4种溶剂萃取物以石油醚和水萃取物对谷蠹的活性较高。在314.40 μg/cm^{2}处理时，石油醚萃取物对谷蠹的校正击倒率和校正死亡率均显著高于水萃取物，药膜法处理72 h后，石油醚萃取物对谷蠹的校正死亡率为100.00%。氯仿和乙酸乙酯萃取物对谷蠹的生物活性均显著低于石油醚和水萃取物。

表1　石菖蒲甲醇提取物不同溶剂萃取物对谷蠹的生物活性（均值±标准差）

萃取物	校正击倒率（%）		校正死亡率（%）
（314.40 μg/cm^2）	24	48	72（h）
石油醚	97.73±6.14a	100.00±0.00a	100.00±0.00a
氯仿	50.00±4.08c	57.47±3.05c	73.26±7.70c
乙酸乙酯	29.55±13.34c	39.08±4.26d	40.70±3.56d
水	79.55±4.09b	85.23±4.16b	88.51±4.70b

2.2　石油醚萃取物对谷蠹的触杀、熏蒸、驱避、种群抑制活性和防效

2.2.1　触杀活性：药膜法试验结果表明：石菖蒲根茎提取物石油醚萃取物对谷蠹具有较好的触杀活性（见表2）。157.20 μg/cm^2，78.60 μg/cm^{2}处理对谷蠹的校正死亡率72 h后差异不显著。在9.83 μg/cm^{2}低浓度处理条件下，对谷蠹仍具有一定触杀活性，72 h后校正死亡率为55.82%。

通过毒力回归分析可知：石油醚萃取物处理72 h后对谷蠹的毒力回归方程为 Y＝3.0986＋2.0691X，LC_{50}和LC_{95}分别为8.30 μg/cm^2，51.75 μg/cm^2，由此表明石菖蒲作为开发防治谷蠹的植物源农药具有较大的应用潜力。

表2　石菖蒲根茎提取物石油醚萃取物对谷蠹的触杀活性（均值±标准差）

处理浓度	校正死亡率（%）		
（μg/cm^2）	24	48	72（h）
157.20	90.70±5.77a	97.67±8.84a	100.00±0.00a
78.60	81.40±1.47a	90.70±2.06b	98.84±6.22a
39.30	59.30±3.13b	76.75±6.65b	88.37±7.37b
19.65	33.72±6.42c	55.82±5.11c	76.75±10.83b
9.83	26.75±8.10c	34.89±8.71d	55.82±4.70c

2.2.2　熏蒸活性：三角瓶药纸熏蒸试验表明，

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.n

石菖蒲石油醚萃取物对谷蠹具有较好的熏蒸活性。从表 3 可知,各浓度熏蒸 120 h 后对谷蠹的校正死亡率均超过 90.00%。随着熏蒸时间的延长,各处理对谷蠹的击倒作用逐步加强。在 100 μL/L 高浓度处理时,对谷蠹 72 h 后校正击倒率为 82.95%,熏蒸 120 h 后校正死亡率为 100.00%。6.25 μL/L 熏蒸处理 120 h 后对谷蠹的校正死亡率为 94.25%,与 50 μL/L 熏蒸处理 120 h 后的校正死亡率无显著差异。

表 3 石菖蒲根茎提取物石油醚萃取物对谷蠹的熏蒸活性(均值±标准差)

处理浓度	校正击倒率(%)			校正死亡率(%)
(μL/L)	24	48	72	120(h)
100	60.00±5.90a	77.53±6.01a	82.95±5.30a	100.00±0.00a
50	13.33±5.81b	41.57±10.02b	61.36±12.07b	97.70±6.18ab
25	6.67±3.97b	38.20±3.05b	59.09±3.47b	97.70±8.79ab
12.5	1.11±6.07c	32.59±3.54b	53.41±6.37bc	95.40±2.61b
6.25	1.11±6.07c	10.11±8.64c	36.37±2.36c	94.25±2.61b

表 4 石菖蒲根茎提取物石油醚萃取物对谷蠹的驱避活性

处理浓度	驱避率(%)(均值)			平均驱避率(%)	驱避
($\mu g/cm^2$)	24	48	72(h)	(均值±标准差)	等级
157.20	87.25	63.89	75.34	75.49±11.68a	Ⅳ
78.60	74.86	46.83	44.87	55.52±16.78ab	Ⅲ
39.30	65.26	40.28	28.78	44.77±18.65bc	Ⅲ
19.65	38.10	16.18	15.28	23.19±12.92cd	Ⅱ
9.83	12.01	18.45	−2.62	9.28±10.80de	Ⅰ
CK	−17.26	0.85	−4.66	7.02±9.28e	

注:CK 平均驱避率为 3 次驱避率平均值的绝对值。

2.2.3 驱避活性:从表 4 可知,石油醚萃取物对谷蠹具有一定的驱避活性。在 157.20 $\mu g/cm^2$ 高浓度处理时,72 h 内的平均驱避率为 75.49%,为Ⅳ级驱避水平。随着处理浓度的降低,驱避效果明显下降。9.83 $\mu g/cm^2$ 低浓度处理的平均驱避率为 9.28%,与空白对照差异不显著,基本不具驱避效果。随着处理时间的延长,驱避作用多呈下降趋势,这可能跟药液挥发导致驱避作用下降有关。与此同时,空白对照驱避率波动也比较明显,表明试虫在皿内并非完全随机均匀分布,应进一步增加重复次数,改进实验条件以降低误差。

2.2.4 防治效果和种群抑制活性:防效试验和种群抑制是评价一种药剂应用潜力的有力依据。从表 5 可知,250 mg/kg 石油醚萃取物处理对谷蠹的毒杀作用效果显著高于 5 mg/kg 马拉硫磷处理;防效作用方面,250 mg/kg 石油醚萃取物与 5 mg/kg 马拉硫磷处理效果相当;125 mg/kg 石油醚萃取物与 5 mg/kg 马拉硫磷处理对 F_1 代的种群抑制效果相当。由此表明,作为一种植物源农药,石菖蒲石油醚萃取物对谷蠹具有较好的毒杀作用、防治效果和种群抑制活性,可以考虑作为马拉硫磷的一种替代药剂加以开发利用。

表 5 石菖蒲根茎提取物石油醚萃取物对谷蠹的防治效果和种群抑制活性(均值±标准差)

处理浓度	校正死亡率(%)			防治效果	种群抑制率
(mg/kg)	3	5	7(d)	(%)	(%)
250	97.73±6.56a	100.00±0.00a	100.00±0.00a	100.00±0.00a	100.00±0.00a
125	19.32±4.43c	56.32±4.65b	75.29±4.03b	74.00±10.08b	96.47±0.92b
62.5	4.60±2.61d	26.04±2.44c	57.40±4.72c	58.00±10.72b	77.06±5.08c
马拉硫磷	43.11±3.59b	58.58±2.60b	65.68±5.48bc	94.00±10.40a	96.96±3.53b

注:马拉硫磷质量浓度为 5 mg/kg。

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

3　小结与讨论

石菖蒲甲醇提取物4种溶剂萃取物以石油醚萃取物的生物活性最强，水层次之。石油醚萃取物对谷蠹具有较高的触杀、熏蒸、种群抑制活性和防治效果，并具有一定的驱避活性。药膜法触杀处理72 h后对谷蠹的LC_{50}和LC_{95}分别为8.30 μg/cm²，51.75 μg/cm²。6.25 μL/L熏蒸处理120 h后对谷蠹的校正死亡率为94.25%。饲料拌药法250 mg/Kg处理对谷蠹的防治效果及F_1代的种群抑制率均为100.00%。石菖蒲作为一种传统的中药材，对谷蠹具有很好的生物活性，开发潜力巨大。

本实验研究了石菖蒲对谷蠹的生物活性。将石菖蒲根茎甲醇提取物用极性不同的溶剂进行萃取，既可最大限度地将活性成分提取出来，又可将一些活性较高但含量较低的活性成分进行初步浓缩，为剂型研制带来便利。由于有机溶剂的萃取顺序可能对生物活性产生一定的影响，所以有必要改变萃取顺序来验证有效成分在不同溶剂中的溶解性能。同时，水萃取物对试虫也具有一定的生物活性，因此有必要进一步对其进行深入研究。

研究石菖蒲根茎提取物对害虫的毒杀作用方式，为进一步指导开发合适的石菖蒲植物源农药剂型和改进施药方法提供了理论依据。例如，石菖蒲根茎提取物石油醚萃取物对谷蠹具有较好的触杀、熏蒸和种群抑制活性，可将其制成缓释剂型，延长药剂作用时间。同时，防治储粮害虫时应加强密闭，增加防效。此外，植物源农药单独应用效果缓慢，可将其与化学农药复配或混用，提高药效，降低化学农药用量。石菖蒲为一种传统中药，在我国分布广泛，生物量大且易人工栽培，应用潜力可观。中国植物资源丰富，用植物杀虫历史悠久，随着现代高科技和精密仪器的不断进步和涌现，其应用前景必将更为广阔[11, 12]。

参　考　文　献

1　丁锦华，苏建亚. 农业昆虫学. 中国农业出版社，2002. 349.
2　付昌斌，张兴. 粮食储藏，1996，**12**(5)：25～26.
3　Swain T. *Ann. Rev. Plant Physiol.*，1977，**28**：479～501.
4　梁权. 粮食储藏，1995，**24**(1)：3～9.
5　张立力，权永红. 昆虫知识，1996，**33**(1)：43～45.
6　Lee HK，Park C，Ahn YJ. *Appl. Entomol. Zool.*，2002，**37**(3)：459～464.
7　Park C，Kim SI，Ahn YJ. *J. Stor. Prod. Res.*，2003，**39**：333～342.
8　谢红英，蒋红云，王国平，冯平章. 农药，2004，**43**(8)：367～369.
9　姚英娟，薛东，杨长举. 昆虫学报，2005，**48**(5)：692～698.
10　Juliana G.，Su H. C. F. *J. Econ. Entomol.*，1983，**76**：154～157.
11　郝乃斌，戈巧英. 植物学通报，1999，**16**(5)：495～503.
12　邹先伟，蒋志胜. 农药，2004，**43**(11)：481～486.

第二届"世界农业科学前沿论坛"通知

为扩大国内外农业科研人员之间、作者与审者之间、作者与编者之间的学术与信息交流，促进我国农业科学研究的繁荣与发展，《中国农业科学》编委会/编辑部拟定于2007年11月30日～12月2日在北京举办第二届"世界农业科学前沿论坛"，届时将邀请国内外著名专家、学者作专题报告，内容主要为：中国农业科学研究向世界水平进军的思路与对策；近年美国ARS的使命、研究成就与展望；近年日本农业科学技术发展成就与未来展望；近年CGIAR的成就与发展趋势；CELL办刊理念及与提高投稿命中率有关的影响因素；中国农业科学研究面临的重大使命与挑战；近年NSFC资助的生命(农业)科学优先发展领域解读；从世界农业科技专利发明趋势分析看世界农业科技前沿；通过文献计量学透视世界农业科学前沿；当今科学计量与科学评价走势；世界农业大学排行榜；被SCI收录的世界农业学术期刊影响力排名分析；美国农业与农业科研政策分析；日本农业与农业科研政策分析；世界农业未来30年；农业科学研究机构竞争情报研究理论与方法；农牧业各学科研究热点与展望。

会议费用与交款方式　交通、食、宿费用自理。10月20日以前注册，会务费1100元/人，现场注册1300元/人。在读研究生在10月20日以前注册，按800元/人收取；现场注册，按1000元/人收取。通过邮局或银行汇款均可。

开户银行：中国农业银行北京北下关支行
账　　号：050601040009874
户　　名：中国农业科学院农业信息研究所(请务必注明"论坛注册费")
地　　址：北京中关村南大街12号《中国农业科学》编辑部(100081)
联 系 人：刘　锋　韩媛媛　路文如
电话/传真：010-84897048　62191637　13521053838
E-mail：nongykx@163.com　luwenru@mail.caas.net.cn　lwr@ChinaAgriSci.com

《中国农业科学》编辑部

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.n