

砂地柏杀虫作用研究概况^{*}

张 兴, 冯俊涛, 陈安良, 马志卿

(西北农林科技大学 无公害农药研究服务中心, 陕西 杨陵 712100)

[摘 要] 概述了杀虫植物砂地柏(*Sabina vulgaris* Ant.) 中杀虫活性物质的化学特性、活性强度、作用方式、作用机理、构效关系及应用等方面的研究情况及进展。通过对砂地柏杀虫作用研究结果的总结和分析, 为其开发和实际应用研究提供依据。

[关键词] 砂地柏; 植物性杀虫剂; 鬼臼毒素; 脱氧鬼臼毒素; 松油烯-4-醇

[中图分类号] S791.440.8

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-2782(2002)04-0130-05

砂地柏(*Sabina vulgaris* Ant.) 属柏科(Cupressaceae)圆柏属植物, 亦称叉子圆柏、臭柏、爬柏, 为常绿匍匐状灌木。20世纪90年代以前, 国内外学者对砂地柏的研究多集中在生物学、化学和药理学上。目前已从中分离出了d-Sabinyl acetate、d-Sabinene、脱氧鬼臼毒素、脱氧苦鬼臼毒素、Coumarsabin、Siderin等多种萜类、木质素类、酚类及烃类物质。对其药理学研究多集中在抗癌活性上。对砂地柏杀虫作用的研究则始于西北农林科技大学无公害农药研究服务中心。1989年, 张兴^[1]在对西北地区杀虫植物的广泛筛选中发现了砂地柏的杀虫作用, 随后对其进行了系统研究。10余年来, 对砂地柏的杀虫作用研究取得了突破性进展。作者试图从砂地柏杀虫活性成分的化学特性、作用方式、作用机理、构效关系、应用研究及发展前景等方面进行扼要的阐述, 旨在为这一杀虫植物的开发利用起到

抛砖引玉的作用。

1 杀虫活性成分的化学特性

砂地柏粗提物可明显分为两部分, 即精油和非精油, 且均具有显著的杀虫活性。余向阳等^[2]以菜青虫为标准试虫, 采用小叶碟添加法进行生物活性跟踪测试, 对砂地柏种子中非精油提取物的杀虫活性成分进行了分离, 经溶剂提取、四次柱层析及重结晶, 得到一种杀虫活性成分纯品, 为白色柱状结晶, 熔点160~164℃, 比旋光度-160°(CHCl₃), 代号为SFO₂。通过光谱(UV、MS、IR、NMR)分析, 并结合其熔点和比旋光度与有关文献进行对比, 鉴定出SFO₂为脱氧鬼臼毒素(图1)^[3]。王继栋等^[4]从砂地柏叶中分离得到对菜青虫具有高拒食活性的鬼臼毒素(图1)。

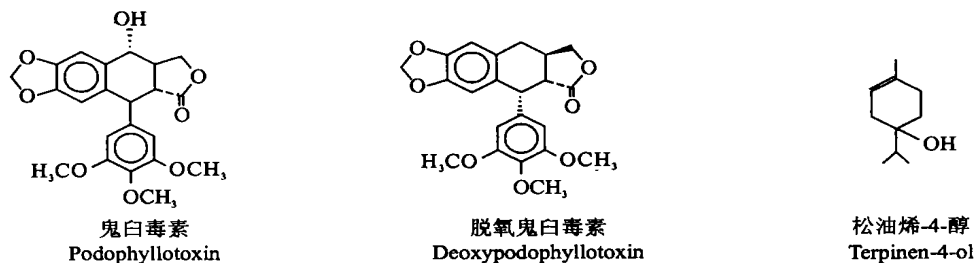


图1 砂地柏中杀虫活性成分分子结构

Fig 1 The structure of insecticidal compound in *Sabina vulgaris* Ant

砂地柏精油对多种昆虫具有强烈的熏蒸作用, 故以3龄中期粘虫为标准试虫, 采用熏蒸法进行活

* [收稿日期] 2001-12-12

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(39970506)

[作者简介] 张 兴(1952-), 男, 陕西周至人, 教授, 博士生导师, 主要从事植物化学保护和农药学的教学和科研工作。

性跟踪,有效成分分离,采用常压柱层析分离得到活性单体物质 PEO 4。通过光谱(IR、HNMR、GC-MS)分析,并结合其沸点和比旋光度等测试,鉴定为松油烯-4-醇(图1)^[5]。

上述3种杀虫活性单体对昆虫的作用方式各不相同,表明砂地柏中含有丰富的杀虫活性物质,与烟草、鱼藤等传统的仅含一类活性物质的杀虫植物相比,砂地柏更具有研究价值和开发前景。另有研究表明^[6],砂地柏中脱氧鬼臼毒素的含量与杀虫活性之间无相关性,说明砂地柏中还含有其他杀虫活性物质。对此值得进一步研究。

2 砂地柏的杀虫活性

自发现砂地柏的杀虫活性以来,西北农林科技大学无公害农药研究服务中心就对砂地柏粗提物及其活性单体对多种害虫的活性进行了较为广泛、系统的测试,发现其丙酮粗提物对赤拟谷盗和玉米象的种群抑制率分别达到54.8%和89.4%以上,其种子石油醚粗提物对玉米象种群形成的抑制率可达到100%^[7,8]。用砂地柏丙酮提取物处理载虫饲料后,可明显抑制玉米象成虫产卵、卵孵化及成虫羽化。砂地柏种子提取物对多种试虫均表现出一定的生物活性,对菜青虫具有拒食、胃毒和触杀作用,对粘虫和小菜蛾仅表现出不同程度的拒食和胃毒作用,可抑制玉米象和赤拟谷盗的种群形成^[9,10]。砂地柏果实不同溶剂提取物均能明显抑制棉铃虫幼虫的生长发育,其丙酮提取物可使棉铃虫幼虫化蛹推迟7~9 d,蛹重小于对照组^[11~13]。

砂地柏精油对多种害虫均表现出很强的熏蒸毒杀作用,如对玉米象、赤拟谷盗、粘虫、小菜蛾24 h的熏蒸毒杀的 LC_{50} 分别为158.68, 100.10, 22.16, 9.46 mL/L,表现出对鳞翅目昆虫幼虫的毒杀活性明显高于鞘翅目成虫,尤其是对小菜蛾的活性还可通过增效复配提高其药效5~9倍^[14],这一结果对砂地柏精油的实际应用具有十分重要的意义。研究还发现^[15],砂地柏精油除了熏杀作用外,还有触杀、拒食和抑制种群形成的作用。

对砂地柏中活性单体脱氧鬼臼毒素和鬼臼毒素的杀虫活性测试表明,二者对菜青虫基本上没有触杀作用,有一定的生长发育抑制作用,但有较强的胃毒和拒食作用,其48 h的 AF_{50} 分别为0.052和0.057 g/L;以0.04 g/L鬼臼毒素和0.05 g/L脱氧鬼臼毒素分别处理菜青虫,最终全部死亡;对小菜蛾具有一定的拒食和毒杀活性,对粘虫仅表现出拒食

活性^[16,17]。

陈根强^[18]对松油烯-4-醇的杀虫作用进行了较为系统的研究,结果表明松油烯-4-醇对多种试虫表现出熏蒸和忌避作用,触杀作用较差。对小菜蛾、粘虫、棉铃虫3种昆虫的3龄幼虫的熏杀 LC_{50} 分别为1.832 1, 5.347 3和46.380 1 μ L/L;对家蝇成虫的熏杀 LC_{50} 为2.951 1 μ L/L;对玉米象及赤拟谷盗成虫的熏杀 LC_{50} 分别为27.966 8和136.495 7 μ L/L;在1 μ L/L的剂量下可致温室白粉虱、二斑叶螨100%死亡。

从上述研究可看出,砂地柏中杀虫活性物质对多种昆虫表现出多种作用方式,如胃毒、拒食、熏蒸、抑制生长发育及抑制种群形成等。由此可以认为,该植物源杀虫药剂可加工为多种制剂形态,在不同的场合使用,极具开发应用前景。

3 砂地柏杀虫活性物质作用机理

砂地柏杀虫活性物质所引致的试虫的中毒症状较为复杂,活性成分不同,摄入量不同,试虫不同,所表现的症状和中毒反应过程均有所差异。以不同剂量的鬼臼毒素处理的甘蓝叶片饲喂菜青虫,在开始均不取食,当取食一定量的带毒叶片后,试虫很快瘫软,有的会拉出围食膜,有的排出红褐色粪便,最后逐渐死亡^[19]。而摄食脱氧鬼臼毒素的量不同,试虫的中毒症状不同。一次性摄入量较大时,试虫上吐下泻,虫体干缩僵直;食毒量较小时则虫体瘫软,腹部呈青绿色半透明状,腹足基部膨大,最后腐烂死亡;食毒量很少时,试虫于幼虫阶段基本表现正常,只是在蛹期或预蛹期呈畸形,或羽化成畸形成虫^[20]。

试虫对砂地柏精油的中毒症状可分为两类,对菜青虫、粘虫、小菜蛾等鳞翅目昆虫幼虫表现为,处理后很快兴奋,快速爬动,片刻后开始剧烈翻滚,上吐下泻,体壁大量失水,试虫胸部和腹足部分明显充水膨胀,呈绿色半透明状,个别试虫会拉出直肠,最后试虫的活动减弱,死亡虫体皱缩变软。整个中毒过程可分为兴奋、痉挛、麻痹、死亡4个阶段;玉米象和赤拟谷盗的中毒过程中无兴奋表现,而直接表现为活动减弱,体壁失水,死亡后虫体均因失水而粘在瓶底^[21]。

从精油中分离得到的松油烯-4-醇对玉米象、赤拟谷盗、家蝇、小菜蛾、粘虫等昆虫的致毒症状与精油的相似,但有所区别。松油烯-4-醇对所有供试昆虫的症状都表现为兴奋、痉挛、麻痹、死亡,在麻痹后部分试虫可复苏,恢复运动^[18]。

从其症状表现来看, 鬼臼毒素类物质对试虫的作用比较缓慢, 与神经毒剂、呼吸毒剂显著不同, 似乎作用于昆虫的消化系统, 或与昆虫体内的激素水平失调有关。而砂地柏精油极可能是作用于昆虫的神经系统, 是神经毒剂。从其症状反应过程来看, 松油烯-4-醇的作用机制可能类似于 DDT 及拟除虫菊酯类杀虫剂。

在症状研究基础上, 付昌斌等^[22]研究了砂地柏非精油提取物对粘虫的作用机理, 结果表明, 粗提物对粘虫的血淋巴的主要理化指标: 酯酶、蛋白酶、多功能氧化酶等均有不同程度的影响, 特别是对 MFO 的抑制率达 98.6%, 且使酯酶产生了一些新的酶带; 组织学观察表明, 对粘虫幼虫的中肠、后肠及马氏管均有破坏作用, 对气门的正常开闭也有影响^[23]。

脱氧鬼臼毒素对粘虫的作用机理和非精油提取物的相似。同时, 电生理测试表明, 脱氧鬼臼毒素对蜚蠊腿节神经-肌肉接头处的 mEPSP 发放频率有明显的抑制作用^[20]。

砂地柏精油对粘虫的作用表现为: 可显著地干扰正常呼吸节律和呼吸商; Na^+ , K^+ -ATP 酶的活性先被抑制后又可逐渐恢复; 显著抑制琥珀酸脱氢酶的活性; MFO 活力显著提高; 气门结构被破坏; 体壁的蜡质层颗粒形态发生变化; 体壁内侧底膜上有穿孔现象; 中肠纵肌和环肌外膜严重受损。另外, 还对蜚蠊胸三神经节的第五神经的电位自发放频率有明显影响^[21]。

砂地柏精油主成分松油烯-4-醇对粘虫的组织、呼吸、血淋巴等生理生化指标的影响与砂地柏精油很相似, 但酶学作用有较大差异。以松油烯-4-醇处理粘虫, 中毒试虫头部组织中 Na^+ , K^+ -ATP 酶的活性受到明显抑制, 兴奋期、痉挛期的抑制率分别达 36.4% 和 80.2%; 对中肠组织中 Na^+ , K^+ -ATP 酶活性的抑制率达 50% 左右。 Na^+ , K^+ -ATP 酶的被抑制可能是引起试虫神经传导紊乱、大量失水及最终死亡的主要原因, 对琥珀酸脱氢酶没有影响, 对酯酶则是先激活后抑制^[18]。

上述研究结果表明, 脱氧鬼臼毒素对昆虫的致毒机理较为复杂, 对中肠组织和肠蛋白酶、羧酸酯酶及多功能氧化酶等酶系均具生物活性, 主要为消化毒剂, 同时对神经-肌肉电传导也有抑制作用而致试虫麻痹; 松油烯-4-醇对昆虫体表有破坏作用, 并可显著抑制昆虫头部及中肠组织中 Na^+ - K^+ -ATP 酶的活性, 可致试虫呼吸商下降而呼吸率明显

提高。这些研究结果说明砂地柏和常规杀虫剂的作用机理显著不同, 对高等动物应较为安全。

4 鬼臼毒素类似物结构与杀虫活性关系

对鬼臼毒素类似物的结构与抗癌活性关系的研究较多, 且较深入^[24]。借鉴该领域研究成果, 高蓉等^[17]以鬼臼毒素为原料, 合成了鬼臼毒素的异构体苦鬼臼和表鬼臼及酯化产物乙酰化鬼臼和丁酰化鬼臼等一系列衍生物, 测定了这些衍生物对 5 龄菜青虫、3 龄小菜蛾和 3 龄粘虫的活性。定性研究表明: 鬼臼毒素类似物对菜青虫表现出明显的结构与活性规律性。母体的几种异构体中, 鬼臼毒素的活性最强; 具反式内酯环的鬼臼衍生物活性显著高于具顺式内酯环的衍生物; 在保证反式内酯环的条件下, 4' 位取代基对杀虫活性影响较大; 4 位为氧基的衍生物较 4 位为羟基的活性要高; 内酯环打开的衍生物活性降低。并定量计算了 4 β -卤代芳香酰胺 4'-去甲表鬼臼和 4 β O-卤代苯甲酰-4'-去甲鬼臼的结构与活性方程。

根据鬼臼类似物的结构与杀虫活性的关系, 推测出具拒食、毒杀活性的鬼臼毒素类似物的结构特点是具反式内酯环, 4 位为甲氧基, 4 位具合适取代基的物质^[25]。在此基础上以减小毒性、提高杀虫活性为目标, 在 C-4 位上修饰合成了 4-O-酰基鬼臼毒素类衍生物及 4 β -酰胺基-4'-去氧鬼臼毒素类衍生物 30 余种, 并测定了对菜青虫和粘虫的活性。结果表明, 鬼臼毒素类衍生物对菜青虫、粘虫表现出明显的结构与活性关系。在 4 g/L 质量浓度下, 对菜青虫而言, 从 48 h 拒食率及最终死亡率来评价, 4-O-酰基鬼臼毒素类衍生物的活性较 4 β -酰胺基-4'-去氧鬼臼毒素类衍生物的高。运用 Mopac 6.0 程序, 用量子化学定量地研究了 12 个新化合物的卤代苯甲酰胺基鬼臼毒素类衍生物的结构与活性的关系, 获得了相关性较好地 3 个结构与活性定量方程^[26]。

对砂地柏中杀虫活性成分鬼臼毒素及其类似物的构效关系的研究, 为获得理想的先导化合物提供了可能, 但此项工作尚需进一步进行。

5 砂地柏杀虫剂的开发应用

在对砂地柏杀虫作用进行基础研究的同时, 分别以脱氧鬼臼毒素和鬼臼毒素为主成分配得可湿性粉剂和乳油各 2 种。采用小叶碟添加法测定了 4 种

制剂对5龄菜青虫的48h拒食方程,结果表明,以鬼臼毒素为主成分配成的制剂对菜青虫的拒食活性比以脱氧鬼臼毒素为主成分配成的制剂拒食活性高。同时,对砂地柏精油和其他精油进行了增效复配试验,筛选出砂地柏精油增效配方5个,并试制出了2个具显著增效作用的砂地柏精油配剂I和配剂II,不但提高了精油的挥发速率,而且两个配剂的作用速度和致死时间均显著快于砂地柏精油单剂,药效提高5~9倍,表现出了实际应用的可能性。

6 结语与展望

综上所述,可以看出砂地柏中杀虫活性成分种类多,活性较高,对害虫的作用方式多样,防治谱广,与化学合成农药相比作用机理独特。对砂地柏理论上的研究为其开发利用提供了可靠的依据。但是,也应当看到若要全面开发砂地柏杀虫药剂还有大量的

工作要做,主要包括以下几个方面:砂地柏中杀虫抑菌活性成分的进一步分离、鉴定;各有效成分单体间相互作用的探讨;对砂地柏中杀虫活性成分的致毒机理进行深入研究,主要从细胞和分子水平进行,以确定作用靶标,为杀虫剂生物合理设计提供线索;进一步探讨鬼臼毒素类似物的构效关系,创制我国自主知识产权的农药“模板”;适合于砂地柏杀虫剂的制剂形态研究,及与其他杀虫药剂的混配增效研究;砂地柏杀虫活性物质的毒性及环境毒理研究等。

砂地柏自然资源丰富,且人工扦插研究试验的成功^[1],为其资源开发又提供了一条新的途径。总之,砂地柏的现有资源和潜在资源为其应用开发提供了足够的物质基础。

可以预见,随着研究的深入以及对砂地柏杀虫资源的综合开发,在不久的将来,定可创制出一类新型的生物农药。

[参考文献]

- [1] 张 兴 新杀虫植物砂地柏研究进展[J]. 西北农业大学学报, 1995, 23(4): 53- 57.
- [2] 余向阳, 张 兴 砂地柏果实中杀虫活性成分研究[J]. 西北农业大学学报, 1999, 27(3): 11- 15
- [3] 张 兴, 高 蓉, 田 暄, 等 砂地柏果实中杀虫活性成分的结构鉴定[J]. 西北农业大学学报, 1999, 27(4): 16- 18
- [4] 王继栋, 田 暄, 张 兴 砂地柏叶中鬼臼毒素的分离与鉴定[J]. 西北农业大学学报, 2000, 28(6): 25- 29
- [5] 魏红梅 几种植物精油的熏蒸杀虫作用及其活性成分研究[D]. 陕西杨陵: 西北农林科技大学植保学院, 2000
- [6] 王继栋, 张 兴 砂地柏中脱氧鬼臼毒素含量与杀虫活性测试[J]. 西北农业大学学报, 2000, 28(5): 14- 17.
- [7] 张 兴, 王兴林, 杨 凌 抑制玉米象种群的植物样品筛选研究[J]. 粮食贮藏, 1993, 22(4): 3- 8
- [8] 张 兴 抑制赤拟谷盗种群形成的植物样品筛选研究[J]. 粮食贮藏, 1992, 21(3): 3- 9
- [9] 余向阳, 高聪芬, 张 兴 砂地柏果实提取物杀虫活性初探[J]. 西北农业大学学报, 1999, 27(2): 55- 59
- [10] 刘建宏, 王东昌, 张 兴, 等 砂地柏提取物对粘虫和玉米象取食、存活及繁殖的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2000, 22(4): 45- 47.
- [11] 付昌斌, 张 兴 砂地柏果实提取物对棉铃虫生长发育的影响[J]. 西北农业大学学报, 1998, 26(1): 8- 12
- [12] 王兴林, 杨崇珍, 崔婧芳, 等 10种植物提取物对棉铃虫生长发育的影响[J]. 西北农业大学学报, 1996, 24(6): 99- 102
- [13] 刘建宏, 段立超, 张 兴, 等 砂地柏提取物对棉铃虫生长发育的影响初探[J]. 吉林农业大学学报, 2000, 22(2): 34- 37.
- [14] 高聪芬, 张 兴 砂地柏精油的熏蒸杀虫活性初探[J]. 南京农业大学学报, 1997, 20(3): 50- 53
- [15] 侯华民 植物精油的杀虫活性及熏蒸机理的研究[D]. 陕西杨陵: 西北农林科技大学植保学院, 1997
- [16] 高 蓉, 田 暄, 张 兴 3种鬼臼毒素类物质杀虫活性测试[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2001, 29(1): 71- 74
- [17] 高 蓉, 田 暄, 张 兴 鬼臼毒素类似物结构与砂型后活性关系初探 I——几种衍生物的合成及杀虫活性测试[J]. 西北农业大学学报, 2000, 28(5): 8- 13
- [18] 陈根强 砂地柏精油主成分松油烯-4-醇杀虫作用研究[D]. 陕西杨陵: 西北农林科技大学植保学院, 2001
- [19] 高 蓉 鬼臼毒素类似物结构与杀虫活性关系初探[D]. 陕西杨陵: 西北农林科技大学植保学院, 1998
- [20] 余向阳 砂地柏果实中杀虫活性成分的分离及生物活性研究[D]. 陕西杨陵: 西北农林科技大学植保学院, 1997
- [21] 高聪芬 砂地柏精油熏蒸杀虫作用研究[D]. 陕西杨陵: 西北农林科技大学植保学院, 1996
- [22] 付昌斌, 张 兴 砂地柏提取物对粘虫幼虫体内几种酶活性的影响[J]. 植物保护学报, 2000, 27(1): 75- 78
- [23] 付昌斌, 张 兴 砂地柏提取物对粘虫肠道组织的影响[J]. 西北农业大学学报, 1998, 26(3): 6- 9
- [24] 高 蓉, 田 暄, 张 兴, 等 鬼臼毒素类生物活性物质的研究概况[J]. 农药学报, 2000, 2(3): 1- 6
- [25] 田 暄, 高 蓉, 张 兴 鬼臼毒素类似物结构与砂型后活性关系初探 II——构效关系分析及理想结构推测[J]. 西北农业大学学报, 2000, 28(6): 20- 24
- [26] 徐 晖 鬼臼类木脂素衍生物合成及构效关系初探[D]. 陕西杨陵: 西北农林科技大学植保学院, 2000

A brief review on insecticidal function of Savin Juniper (*Sabina vulgaris*)

ZHANG Xing, FENG Jun-tao, CHEN An-liang, MA Zhi-qing

(Biorational Pesticide Research and Service Center, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The research development concerning chemistry, toxic, mode of function, mechanism relation of structure and bioactivity of insecticidal components in Savin Juniper (*Sabina vulgaris*) is reviewed in this paper. The summary and evaluation of the research results would lay a foundation for a further study on the basic theory and practical use of the Savin Juniper.

Key words: Savin Juniper (*Sabina vulgaris*); botanical insecticide; podophyllotoxin; deoxy-podophyllotoxin, terpinen-4-ol

欢迎订阅 2003 年《干旱地区农业研究》

《干旱地区农业研究》由国家教育部主管、西北农林科技大学主办,是全面反映我国干旱、半干旱及半湿润易旱地区农业科学技术研究新成果、新理论、新技术及国外有关最新研究进展的学术性期刊。

《干旱地区农业研究》为农业科学中文核心期刊,全国及陕西省优秀科技期刊。被中国科学引文数据库、中国学术期刊综合评价数据库、中国学术期刊(光盘版)、中国期刊网及俄罗斯《文摘杂志》等国内外多家权威检索系统收录。

《干旱地区农业研究》主要刊登有关干旱、半干旱及半湿润易旱地区的旱农耕作与栽培、土壤与作物营养、作物与土壤水分动态、节水灌溉、旱区资源开发利用、作物抗旱生理、综合评述、国外旱农动态等内容。以旱作农业为重点,重视水资源合理利用和灌溉农业的发展;应用科学研究与应用基础科学研究并重是本刊的主要特色。适合广大从事旱农研究的专家、学者、科技人员、生产管理工作者和农林及有关院校师生阅读参考。此外,本刊以优惠价格为广大客户提供有关广告业务服务,有意者请随时与编辑部联系。

欢迎订阅,欢迎投稿,欢迎刊登广告。

《干旱地区农业研究》(季刊)国内外公开发行。国际大 16 开本,128 页,每期定价 8.00 元,全年 32 元,全国各地邮局均可订阅。本刊邮发代号:52-97,若漏订者可直接汇款至编辑部补订。国外总发行:北京中国图书进出口总公司。编辑部地址:陕西杨凌西北农林科技大学西农校区 96 号信箱;邮编:712100;电话:(029) 7092370;E-mail: yangy@nwsuaf.edu.cn