

植物杀虫剂苦皮藤素Ⅳ和Ⅴ混用研究^{*}

胡兆农, 姬志勤, 祁志军, 师宝君, 吴文君

(西北农林科技大学 农药研究所, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 以粘虫为试虫, 采用载毒叶碟法, 根据不同症状指标研究了苦皮藤素Ⅳ和Ⅴ的互作毒力。结果表明, 苦皮藤素Ⅳ与Ⅴ混用(体积比)比例在3:1~1:3时, 苦皮藤素Ⅳ对苦皮藤素Ⅴ的毒杀作用具有增效作用, 苦皮藤素Ⅴ对苦皮藤素Ⅳ的麻醉作用无明显影响。在此基础上, 提出了当研究在症状学指标上有显著差异的杀虫剂间的相互作用时, 应用“互作比值”的概念。

[关键词] 植物杀虫剂; 苦皮藤素; 互作比值

[中图分类号] S482.3⁺9; S481⁺.9

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2004)05-0027-04

目前, 将含有活性物质的植物材料直接加工成制剂使用, 仍是植物性农药开发利用的主要途径之一^[1]。植物性农药利用的是由多种有效成分和“杂质”组成的混合物, 这些物质是植物长期适应外界环境条件而产生的次生代谢物, 各物质间存在着一定的相互作用^[2,3]。这些次生代谢物质间如果存在拮抗作用, 则不利于植物性农药药效的发挥; 次生代谢物质间如果存在增效作用, 则有利于直接加工的植物性农药更好地发挥药效。进行植物性农药各次生物质间相互作用的研究, 能更充分地利用植物资源, 使植物性农药的药效得到更好地发挥, 对于充分认识植物性农药及其应用具有重要意义。

从杀虫植物苦皮藤中已分离出多个具麻醉或毒杀作用的二氢沉香呋喃类化合物^[4~7]。就麻醉和毒杀作用的症状而言, 这类化合物均对神经冲动传导有明显影响, 具麻醉作用的化合物可使供试昆虫的大多数表现为静止不动, 虫体瘫软麻痹, 对刺激无反应^[8]; 而具毒杀作用的化合物作用试虫以后, 中毒试虫表现为兴奋、痉挛等神经兴奋症状^[9]。可见, 两种作用的化合物对神经传导的影响刚好相反。但在实际应用中, 由根皮加工的乳油或可湿性粉在田间防虫、室内生测中都只表现出麻醉症状^[10,11]。作者已从神经生理角度研究了麻醉成分苦皮藤素Ⅳ和毒杀成分苦皮藤素Ⅴ的杀虫作用机理^[12~14], 但这些研究均是以分离提纯的单体化合物进行的, 并不足以解释粗提物加工制剂的作用症状以及该类化合物间的相互作用。本试验以5龄粘虫幼虫为试虫, 研究了苦

皮藤素Ⅳ和苦皮藤素Ⅴ混用后的相互作用, 为今后植物杀虫剂苦皮藤的直接开发应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 药 剂 苦皮藤素Ⅳ(纯度为92%)和苦皮藤素Ⅴ(纯度为95%)均由西北农林科技大学农药研究所提供。

1.1.2 试 虫 为室内累代饲养的粘虫(*Mythimna separata*)5龄幼虫。

1.2 试验方法

药液配制 用丙酮将苦皮藤素Ⅳ和Ⅴ分别配制成质量浓度为5 g/L的母液, 置于冰箱中待用。

试虫准备 挑选蜕皮1 d的5龄粘虫幼虫, 分别置于直径6 cm的培养皿中, 每皿1虫, 饥饿8 h后称重供试。

试验设计 试验设单独使用苦皮藤素Ⅳ和苦皮藤素Ⅴ, 以及苦皮藤素Ⅳ和Ⅴ分别按体积比1:3, 1:1和3:1混用共5个处理, 分别观测各处理的粘虫症状及其毒力, 并比较2种药剂按不同比例混用的互作比值。

载毒叶碟法 用毛细管点样器将1 μL供试药液均匀涂抹于0.5 cm×0.5 cm的小麦叶片上, 待丙酮挥发后饲喂粘虫, 每头虫喂1片麦叶。每处理共计35头试虫, 在室温下, 一皿一虫饲养。记录24 h内中毒(包括麻醉、兴奋、痉挛和失水等症状)的试虫个数, 并用方格纸计量取食面积, 计算麻醉中量或致死

* [收稿日期] 2003-04-22

[基金项目] 国家自然科学基金倾斜项目(39970505); 国家自然科学基金重点项目(30130130)

[作者简介] 胡兆农(1970-), 男, 甘肃临夏人, 副教授, 博士, 主要从事天然产物农药和昆虫毒理学研究。

中量^[15]。

不同比例混用的效果用麻醉或毒杀互作比值来衡量, 麻醉或毒杀互作比值计算公式如下:

麻醉互作比值= 苦皮藤素Ⅳ的麻醉中量/(混用麻醉中量×苦皮藤素Ⅳ的体积分数);

毒杀互作比值= 苦皮藤素Ⅴ的致死中量/(混用致死中量×苦皮藤素Ⅴ的体积分数)。

另外, 用孙云沛共毒系数法直接计算以麻醉和

毒杀症状为指标的共毒系数(CTC)以及互为增效剂的增效倍数, 以判断二者的相互作用^[16]。

2 结果与分析

2 1 苦皮藤素Ⅳ和Ⅴ混用的症状学观察

苦皮藤素Ⅳ和Ⅴ单用及混用后, 粘虫幼虫所表现出的症状见表 1。

表 1 苦皮藤素Ⅳ和Ⅴ混用对粘虫幼虫的作用

Table 1 Symptoms of the different ratio mixture of celangulin Ⅳ and Ⅴ against amywom larvae

处 理 Treatment	麻醉 Narcosis	毒杀 Lethal poisoning		
		兴奋 Excitation	痉挛 Convulsion	失水 Losing of body fluid
苦皮藤素Ⅳ Celangulin Ⅳ	√			
苦皮藤素Ⅴ Celangulin Ⅴ		√	√	√
V _Ⅳ :V _Ⅴ = 1:3		√	√	√
V _Ⅳ :V _Ⅴ = 1:1	√			√
V _Ⅳ :V _Ⅴ = 3:1	√			√

注: “√”表示供试昆虫出现表中症状。“V_Ⅳ:V_Ⅴ”表示苦皮藤素Ⅳ和Ⅴ以体积比混用, 下同。

Note: “√”indicates that the tested insects had the symptom in the table “V_Ⅳ:V_Ⅴ”stands celangulin Ⅳ and Ⅴ was mixed in volume ratio and the following tables are the same

从表 1 可以看出, 试虫单用苦皮藤素Ⅳ中毒后, 仅表现出麻醉症状, 虫体瘫软麻痹, 但在一定剂量范围内, 麻醉试虫可以苏醒, 并继续取食。单用苦皮藤素Ⅴ中毒的试虫, 首先表现出兴奋症状, 随后痉挛、失水, 最终死亡。这些均与文献报道一致^[17, 18]。

不同比例苦皮藤素Ⅳ和Ⅴ混用, 中毒昆虫部分个体只表现出麻醉或是毒杀症状, 也有一部分个体在中毒早期(取食 1~2 h)表现出麻醉症状, 然后又表现出毒杀的部分症状。

2 2 不同比例苦皮藤素Ⅳ和Ⅴ混用的毒力

苦皮藤素Ⅳ和Ⅴ单用以及二者按不同比例混用的毒力见表 2。从表 2 可看出, 单用苦皮藤素Ⅳ的麻醉中量(ND₅₀)平均为每 g 虫重 22.28 μg, 苦皮藤素Ⅴ的致死中量(LD₅₀)平均为 58.77 μg/g。从毒力角度表明, 苦皮藤素Ⅳ的作用大于苦皮藤素Ⅴ, 这也可能是田间使用苦皮藤制剂仅表现出麻醉症状的原因之一。

表 2 不同比例苦皮藤素Ⅳ和Ⅴ混用的毒力

Table 2 Interaction toxicity of the different ratio mixture of celangulin Ⅳ and Ⅴ

处 理 Treatment	I		II		平均 Average	
	LD ₅₀	ND ₅₀	LD ₅₀	ND ₅₀	LD ₅₀	ND ₅₀
苦皮藤素Ⅳ Celangulin Ⅳ	—	18.35	—	26.20	—	22.28
苦皮藤素Ⅴ Celangulin Ⅴ	56.42	—	61.11	—	58.77	—
V _Ⅳ :V _Ⅴ = 1:3	34.71	—	34.81	—	34.76	—
V _Ⅳ :V _Ⅴ = 1:1	33.29	42.58	31.59	43.07	32.44	42.82
V _Ⅳ :V _Ⅴ = 3:1	38.55	33.66	*	33.86	38.55	33.76

注: “—”表示供试昆虫不出现表中症状。“*”表示死亡个体较少, 无法计算。

Note: “—”indicates that the tested insects had no the symptom in the table. The following table is the same “*” indicates that the data was not calculated because the lethal insects was little

表 3 为苦皮藤素Ⅳ和Ⅴ混用的互作比值与常用混剂评价方法的比较。由表 3 可见, 不同比例苦皮藤素Ⅳ和Ⅴ混用, 随着麻醉成分苦皮藤素Ⅳ比例的升高, 对毒杀成分苦皮藤素Ⅴ的增效作用增强, 互作比值分别为 2.25、3.62 和 6.10; 而苦皮藤素Ⅴ对麻醉

成分并无增效作用, 苦皮藤素Ⅳ和Ⅴ在体积比为 1:1 和 3:1 时, 互作比值分别为 1.04 和 0.88。若互为增效剂, 以增效倍数来衡量, 在 3 个比例下, 苦皮藤Ⅳ对苦皮藤素Ⅴ的毒杀作用具有增效作用, 增效倍数都在 1.5 以上; 而苦皮藤素Ⅴ对苦皮藤素Ⅳ

的麻醉作用具有拮抗性, 增效倍数均小于 0.8。如果以孙云沛的共毒系数(CTC)来考察苦皮藤素Ⅳ和Ⅴ在 3 个比例混用下的互作情况, 以毒杀症状为指标时, 苦皮藤素Ⅳ和Ⅴ在 1:3 比例下有一定增效作用, 共毒系数为 119.96, 另外 2 个比例下仅是相加作用; 而以麻醉症状为指标, 所测定的比例仅表现出相加作用。

表 3 苦皮藤素Ⅳ和Ⅴ混用的互作比值与常用混剂评价方法的比较

Table 3 Comparison of the interaction ratio of celangulin Ⅳ and Ⅴ mixed with common methods of evaluation of mixed insecticides

处 理 Treatment	互作比值 Interaction ratio		增效倍数 Synergistic ratio		共毒系数 Co-toxicity coefficient	
	毒杀 Lethal poisoning	麻醉 Narco sis	毒杀 Lethal poisoning	麻醉 Narco sis	毒杀 Lethal poisoning	麻醉 Narco sis
VⅣ:VⅤ=1:3	2.25	—	1.69	—	119.96	—
VⅣ:VⅤ=1:1	3.62	1.04	1.81	0.52	99.60	75.46
VⅣ:VⅤ=3:1	6.10	0.88	1.52	0.66	69.8	79.79

3 讨 论

3.1 有关苦皮藤制剂田间症状表现的解释

从苦皮藤素Ⅳ和苦皮藤素Ⅴ对粘虫幼虫的毒力测定结果来看, 苦皮藤制剂在田间表现出麻醉症状的原因之一是苦皮藤素Ⅳ的毒力比苦皮藤素Ⅴ高; 此外, 从试验中也观察到, 单用苦皮藤素Ⅳ表现出神经中毒症状的时间要比苦皮藤素Ⅴ早, 说明苦皮藤素Ⅳ对神经系统的作用速度比苦皮藤素Ⅴ快, 这可能是苦皮藤制剂在田间表现出麻醉症状的另一个原因。

3.2 杀虫剂互作研究中应用“互作比值”的可能性

杀虫剂相互作用研究中, 以何种方法界定互作关系是工作的基础。本研究在应用孙云沛共毒系数法的基础上, 结合对苦皮藤素Ⅳ和Ⅴ混用的认识, 提出了“互作比值”的概念, 用以探讨在症状学上存在显著差异的杀虫剂间的相互作用。

互作比值不同于混剂毒力测定中常用的“增效倍数”, 增效倍数是在所使用增效剂单用没有明显毒力的情况下采用的, 而本研究中苦皮藤素Ⅳ和Ⅴ混用与各自单用相比, 昆虫中毒症状是麻醉和毒杀症状的叠加, 即在有效成分总量不变的情况下, 混用中苦皮藤素Ⅳ含量较低时, 大部分试虫直接表现毒杀症状, 仅个别先表现麻醉症状, 经一段时间后再表现毒杀症状; 但随着苦皮藤素Ⅳ比例升高和苦皮藤素Ⅴ比例降低, 试虫均表现出麻醉症状, 经过相当长的时间后再出现毒杀症状。因此, 如果研究苦皮藤素Ⅴ对苦皮藤素Ⅳ麻醉作用的影响, 就不能单纯以“增效倍数=苦皮藤素Ⅳ麻醉中量/混用麻醉中量”的方法计算, 因为其中的苦皮藤素Ⅴ还引起了试虫的毒杀症状, 因此必然要考虑苦皮藤素Ⅴ的作用, 反之亦是

如此。

若是直接用共毒系数法来计算苦皮藤素Ⅳ和Ⅴ的互作效应, 尽管也可以看出是否增效等, 但随着苦皮藤素Ⅳ和Ⅴ各自比例的变化, 对相互作用的影响并不清楚, 这主要与考察的症状指标有关。在试验中发现, 当苦皮藤素Ⅴ所占比例低而苦皮藤素Ⅳ比例高时, 试虫最终更多地表现出毒杀症状而不是麻醉症状。但以苦皮藤素Ⅳ的麻醉中量和苦皮藤素Ⅴ的致死中量计算对毒杀或麻醉作用的共毒系数是不合理的, 因为应用的混剂毒力(混用麻醉中量或致死中量)并不是二者作用后所有效应叠加的计算结果。

从试验结果还可以看出, 增效倍数尽管可以说明确苦皮藤素Ⅳ对苦皮藤素Ⅴ的毒杀作用有增效, 但无法确定它们彼此之间比例变化对相互作用的影响程度。从增效倍数的角度来看, 苦皮藤素Ⅴ对苦皮藤素Ⅳ麻醉作用表现出拮抗, 而共毒系数和互作比值反映出的是相加作用。另外, 就毒杀症状而言, 共毒系数反映的互作关系是随着苦皮藤素Ⅴ比例的提高, 逐渐表现出增效作用, 反之, 则趋向拮抗; 但是, 互作比值和增效倍数反映出的都是增效作用。

本研究中, 互作比值与增效倍数和共毒系数相比, 能够克服后两者的不足, 将二者所反映的关系更为清楚地展现出来。互作比值表明, 在有效成分总量不变的情况下, 苦皮藤素Ⅳ含量越高, 与苦皮藤素Ⅴ的互作比值就越大, 这与症状学观察中供试昆虫表现毒杀症状的趋势是一致的。同样, 苦皮藤素Ⅴ对苦皮藤素Ⅳ麻醉作用的互作比值都在 1 左右, 反映出在一定比例范围内, 苦皮藤素Ⅴ对苦皮藤素Ⅳ麻醉作用影响不大, 只能对试虫的麻醉程度产生影响。这一点也可从症状学观察证明: 在单用情况下, 麻醉症状的出现要比毒杀症状的出现迅速。

通过以上分析认为,在对像苦皮藤素Ⅳ和Ⅴ这样,作用症状相反、反应速度不同的杀虫剂的有效成分进行互作研究时,互作比值能够提供一些常用方

法所不能反映的信息,具有一定的应用价值。但这仅是在本研究中的一次初步尝试,还有待于进一步的验证和补充。

[参考文献]

- [1] 陈万义,王明安 对我国植物源农药研究中几个问题的思考[J]. 农药, 2002, 41(2): 45
- [2] 沈建国,翟梅枝,林奇英,等 我国植物源农药研究进展[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2002, 31(1): 26- 31
- [3] 朱俊洪,程立生 植物次生性物质与植物抗虫性的关系及其在害虫防治中的应用前景[J]. 华南热带农业大学学报, 2001, 7(1): 26- 32
- [4] WU Wen-jun, WANG Ming-an, ZHOU Wen-ming, et al Insecticidal sesquiterpene polyol esters from *Celastrus angulatus*[J]. Phytochemistry, 2001, 58: 1183- 1187.
- [5] WU Wen-jun, WANG Ming-an, ZHU Jing-bo, et al Five new insecticidal sesquiterpene polyol esters from *Celastrus angulatus*[J]. J Nat Products, 2001, 64: 364- 367.
- [6] 吴文君,王明安,朱靖博,等 杀虫植物苦皮藤毒杀成分的研究[J]. 有机化学, 2002, 22(9): 631- 637.
- [7] 吴文君,王明安,刘惠霞,等 杀虫植物苦皮藤麻醉成分的研究[J]. 农药学报, 2001, 3(1): 46- 48
- [8] 吴文君 杀虫植物苦皮藤研究概况[J]. 植物保护, 1991, 17(3): 34- 35
- [9] 刘惠霞,董育新,吴文君 苦皮藤素Ⅴ对东方粘虫中肠细胞及其消化酶活性的影响[J]. 昆虫学报, 1998, 41(3): 258- 262
- [10] 丁伟,吴文君,董全雄 植物杀虫剂苦皮藤乳油控制菜青虫有效剂量的研究[J]. 西南农业大学学报, 2000, 22(3): 226- 228
- [11] 丁伟,赵志模,黎阳燕 丝棉木金星尺蠖的生物学特性及防治技术[J]. 植物保护, 2002, 28(3): 29- 31
- [12] 胡兆农,吴文君,高永闯,等 苦皮藤Ⅳ杀虫机理电生理研究初报[J]. 西北农业大学学报, 2000, 28(2): 35- 38
- [13] 杜哲哲,贺秉军,王 葳,等 苦皮藤素Ⅳ麻醉机理的膜片钳研究[J]. 生物物理学报, 2002, 18(3): 297- 301.
- [14] 杨润亚,刘惠霞,胡兆农,等 苦皮藤素Ⅴ引起昆虫兴奋的作用机理初探[J]. 西北农业大学学报, 2000, 28(5): 18- 21.
- [15] 吴文君 植物化学保护实验技术导论[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1988 44- 94
- [16] Sun Y P, Johnson E R. A analysis of joint action of insecticides against houseflies[J]. J Econ Entomol, 1960, 53: 887- 892
- [17] 杨润亚,刘惠霞,吴文君,等 苦皮藤素Ⅴ引起粘虫失水的作用机理初探[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2001, 29(1): 77- 79
- [18] 刘惠霞,赵德金,钱 红 苦皮藤麻醉成分对粘虫生理生化指标的影响[J]. 西北农业大学学报, 1992, 20(3): 37- 41.

Toxicity interaction of Celangulin Ⅳ and Ⅴ from *Celastrus angulatus* against *Amywom* (*Mythimna separata*) Larvae

HU Zhao-nong, JI Zhi-qin, QI Zhi-jun, SHI Bao-jun, WU Wen-jun

(Institute of Pesticide Science, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Celangulin Ⅳ and celangulin Ⅴ isolated from the root bark of the plant *Celastrus angulatus* are the major active ingredients of this botanical insecticide. The toxicity interaction of the different mixture of celangulin Ⅳ and Ⅴ has been examined by means of the leaf disk method against *amywom* (*Mythimna separata*) larvae. The bioassay results showed that the insecticidal efficacy of celangulin Ⅴ against *amywom* larvae was synergized by celangulin Ⅳ, but celangulin Ⅴ has no synergistic effects on the narcotic efficacy of celangulin Ⅳ when the mixed ratio (Ⅴ/Ⅳ) of celangulin Ⅳ and Ⅴ is from 3:1 to 1:3. On the basis of the results, "interaction ratio" which might be used to evaluate the toxicity interaction of the mixture of several insecticides with different symptom guideline was put forward.

Key words: botanical insecticide; celangulin; interaction ratio