

3种鬼臼毒类物质杀虫活性测试

高蓉¹, 田暄², 张兴¹

(1 西北农林科技大学 无公害农药研究服务中心, 陕西 杨陵 712100; 2 兰州大学 应用有机化学国家重点实验室, 兰州 730000)

[摘要] 鬼臼毒素、脱氧鬼臼毒素和 α -阿朴苦鬼臼3种化合物对菜青虫均有很强的拒食和毒杀活性。48 h的拒食中质量浓度分别为0.057, 0.052和0.070 g $\cdot$ L⁻¹。以0.04 g $\cdot$ L⁻¹鬼臼毒素、0.05 g $\cdot$ L⁻¹脱氧鬼臼毒素和 α -阿朴苦鬼臼分别处理菜青虫, 最终全部死亡。菜青虫对3种化合物表现出的中毒症状均较缓慢。3种化合物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。

[关键词] 鬼臼毒素; 脱氧鬼臼毒素; α -阿朴苦鬼臼; 植物性杀虫剂

[中图分类号] S482.39

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-2782(2001)01-0071-04

从杀虫植物砂地柏(*Sabina vulgaris* Ant.)中分离得到了一种具杀虫活性的化合物, 经鉴定为鬼臼毒素类化合物——脱氧鬼臼毒素^[1,2]。以鬼臼毒素为原料, 设计合成了脱氧鬼臼毒素等一系列衍生物。在研究该类化合物的结构与杀虫活性的关系时, 发现鬼臼毒素、脱氧鬼臼毒和 α -阿朴苦鬼臼的活性较高。前人曾测试过脱氧鬼臼毒素对家蚕的毒杀效果^[3], 而另两种化合物的杀虫活性尚未见报道。本研

究对这3种化合物进行了较为系统的生物活性测试和比较, 现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 供试材料

鬼臼毒素、脱氧鬼臼毒素和 α -阿朴苦鬼臼均在兰州大学有机分析组合成并鉴定, 其结构式如图1所示。

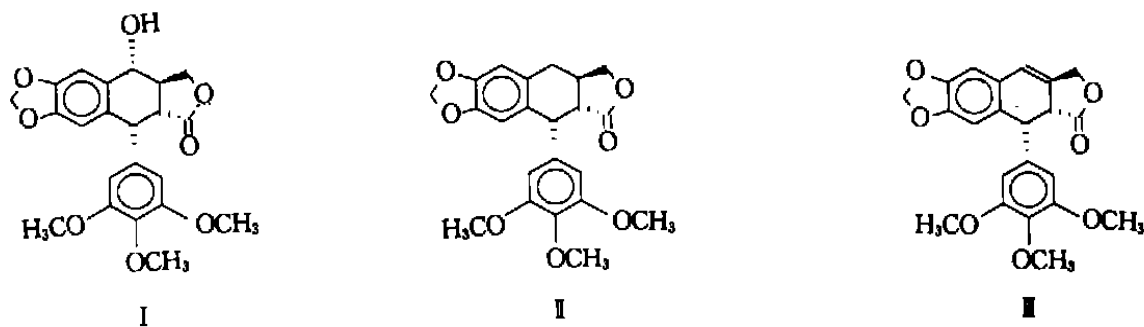


图1 3种鬼臼毒类物质的化学结构

I. 鬼臼毒素; II. 脱氧鬼臼毒素; III. α -阿朴苦鬼臼

Fig 1 The chemical structure of 3 podophyllotoxin analogues

I. Podophyllotoxin; II. Deoxypodophyllotoxin; III. α -apopicropodophyllotoxin

1.2 供试昆虫

(1) 菜青虫(*Pieris rapae* L.): 从未施过药的甘蓝地采回菜青虫幼虫, 经室内($t = (25 \pm 1)^\circ\text{C}$; R. H. = 65%~80%; L/D = 12 h/12 h)饲养, 挑选个体大小一致、发育正常的5龄前期幼虫, 饥饿2~3 h后供试。

(2) 小菜蛾(*Plutella xylostella* (L.)): 从深圳引回田间种群, 于室内人工饲养, 试验时挑选健康、整齐的3龄幼虫, 饥饿2~3 h供试。

(3) 粘虫(*Mythimna separata* Walker): 室内人工饲养种群, 试验时挑取个体大小一致的4龄中期幼虫, 饥饿2~3 h供试。

〔收稿日期〕 2000-02-28

〔基金项目〕 国家自然科学基金资助项目(39970506)

〔作者简介〕 高蓉(1974-), 女, 陕西铜川人, 南京林业大学在读博士生(邮编 210037), 主要从事植物源农药研究。

1.3 生物活性测定方法

菜青虫生物活性的测定 采用小叶碟添加法^[4]进行。

小菜蛾生物活性的测定 采用叶片分级法^[5]进行。

粘虫拒食活性的测定 在直径 9 cm 的养虫盒底铺 1 层滤纸,加水保湿,每盒中放入 5 头生长正常、饥饿 12 h 的 4 龄粘虫,用丙酮将样品稀释成一定质量浓度的溶液,将新鲜小麦叶片剪成 1 cm × 2 cm 的叶碟,于药液内浸 1~2 s,晾干后放入盒内,每样品设 6 个重复(即用试虫 30 头)。记录 48 h 试虫的取食情况,按下列公式计算 48 h 拒食率,并求出回归方程和拒食中浓(AFC₅₀)。

$$\text{拒食率} = \frac{\text{对照平均取食量/头} - \text{处理平均取食量/头}}{\text{对照平均取食量/头}} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 鬼臼毒素类物质对菜青虫的生物活性

由不同质量浓度鬼臼毒素对 5 龄菜青虫的作用(表 1)可以看出,随着鬼臼毒素质量浓度的降低,试虫的取食量增加,发育抑制率降低,但校正死亡率则不随质量浓度的改变而变化。因此可知,随着质量浓度的降低,鬼臼毒素的生物活性也越来越低。在高浓度(0.5 g · L⁻¹)处理中,由于拒食率高,试虫取食量少而致校正死亡率较低,但致毒速度最快(MD 值为 0)。从而可明显看出其死亡率和总取食量有关。

表 1 鬼臼毒素对菜青虫的生物活性

Table 1 The bioassay results of podophyllotoxin against *P. rapae*

质量浓度/(g · L ⁻¹) Concentration	48 h 拒食率/% Antifeedant rate of 48 h	发育指数/% Growth index	发育抑制率/% Growth inhibition index	校正死亡率/% Adjusted mortality	MD 值 MD
0.5	90.3	20.0	77.8	72.3	0
0.2	86.3	11.1	87.7	100.0	0.12
0.1	64.3	22.2	75.3	100.0	0.74
0.04	38.2	36.1	60.0	87.5	1.26

注:生测时, $t = (25 \pm 2)$, RH = 25% ~ 80%; 每处理用菜青虫 10 头; 鬼臼毒素 48 h 拒食回归方程为: $y = 6.8034 + 1.4383x$, $r = 0.9550$, $AFC_{50} = 0.057 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

Note: Bioassay conditions $t = (25 \pm 2)$, RH = 25% ~ 80%; 10 larva per treatment; The linear regression formulation of podophyllotoxin in 48 h was $y = 6.8034 + 1.4383x$, $r = 0.9550$; $AFC_{50} = 0.057 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

以不同质量浓度的脱氧鬼臼毒素和 α -阿朴苦鬼臼处理菜青虫 5 龄幼虫,各处理试虫最终全部死

于 5 龄阶段,不同质量浓度处理试虫 12 h, 48 h 的拒食活性见表 2。

表 2 脱氧鬼臼毒素和 α -阿朴苦鬼臼对菜青虫的拒食活性

Table 2 The antifeedant activities of deoxypodophyllotoxin and α -apocropodophyllotoxin against *P. rapae*

样品 Sample	时间/h Time	各质量浓度下的拒食率/% Antifeedant rates					拒食回归方程 Antifeedant formulation	r	AFC ₅₀ /(g · L ⁻¹)
		1	0.5	0.25	0.125	0.05			
脱氧鬼臼 Deoxypodophyllotoxin	12	84.1	74.6	56.2	44.5	-	$y = 6.0071 + 1.3011x$	0.9950	0.168
	48	-	91.2	83.0	71.0	43.5	$y = 6.5069 + 1.1742x$	0.9719	0.052
α -阿朴苦鬼臼 α -apocropodophyllotoxin	12	80.2	70.6	54.4	44.9	27.4	$y = 5.9312 + 1.1213x$	0.9699	0.148
	48	80.2	80.9	78.5	57.7	43.5	$y = 6.2960 + 1.1232x$	0.9700	0.070

脱氧鬼臼毒素 12 h 拒食中浓是 48 h 的 3 倍, α -阿朴苦鬼臼为 2 倍。这说明在处理 12 h 内,菜青虫还有一定的取食能力,12 h 后试虫继续取食的能力下降。在试验中也观察到在 12 h 内因取食而中毒的试虫基本不再取食,48 h 中毒试虫增加,最后全部死亡。

2.2 鬼臼毒素类物质对粘虫和小菜蛾的生物活性

3 种化合物对粘虫和小菜蛾的生物活性见表 3。由表 3 可见,3 种化合物对小菜蛾均有一定的拒食作用,其中脱氧鬼臼毒素的拒食活性最高。鬼臼毒素

还有毒杀作用,而脱氧鬼臼毒素、 α -阿朴苦鬼臼的毒杀作用却较弱。3 种化合物对粘虫均表现出一定的拒食活性,换以正常叶片后虽然虫体较对照为小,但仍能正常生长。

2.3 菜青虫中毒症状观察

用鬼臼毒素处理菜青虫,开始的 4 h 中试虫几乎不取食,12 h 后有的试虫取食少量叶片,但很快瘫软,几乎丧失取食能力。中毒试虫中有的虫体呈背向式弯曲;有的腹部呈青绿色,用镊子轻压,可拉出围食膜,内包绿色液体,无明显食物残渣。48 h 后,

瘫痪试虫拉出红色粪便。有的试虫自始至终几乎不取食, 较对照提前化蛹, 但蛹体明显比对照小。进一步降低鬼臼毒素的质量浓度至 $0.04 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 则拒食率下降为 38.2%, 但试虫死亡率很高。试虫取食少量处理食料后, 取食能力大为降低, 背部逐渐发黄, 最后中毒死亡。脱氧鬼臼毒素、 α -阿朴苦鬼臼均对菜青虫表现出较高的拒食和毒杀活性。处理后 4 h 内试虫就有取食, 但取食的试虫吐出绿色胃液, 可能是药物引起试虫不适所致或者是中毒反应。12 h

后大部分取食的试虫外观与正常试虫无差异, 呈挺直爬伏状, 只有用镊子触动时才可发现其已中毒昏迷。随后呈瘫痪、蜷缩无力、或背向式“C”字状, 腹部呈半透明青绿色。整个中毒症状表现缓慢, 试虫最后干缩死亡。将脱氧鬼臼毒素和 α -阿朴苦鬼臼质量浓度降低至 $0.05 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 48 h 拒食率降低, 但死亡率仍高达 100%。中毒症状与高质量浓度下相似, 只是症状出现较晚。

表 3 3 种化合物对粘虫和小菜蛾的生物活性

Table 3 The bioassay activities of *P. lutella xylostella* and *M. ythina separata* by 3 podophyllotoxin analogues

化合物 Compounds	小菜蛾 <i>P. xylostella</i>		粘虫 48 h 拒食率/% Antifeedant rate of <i>M. separata</i> in 48 hr
	48 h 拒食率/% Antifeedant rate in 48 hr	最终死亡率/% Mortality	
鬼臼毒素 Podophyllotoxin	56.3	73.3	56.0
脱氧鬼臼毒素 Deoxypodophyllotoxin	76.3	4.9	46.3
α -阿朴苦鬼臼 α -apopicropodophyllotoxin	49.3	38.4	79.1

注: 生测时, $T = 25 \pm 2$, $RH = 65\% \sim 80\%$; 小菜蛾实验中每处理设 3 个重复, 每重复用虫 10 头。粘虫试验中每处理重复 6 次, 每重复用虫 5 头; 各样品浓度均为 $4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

Note: Bioassay conditions $T = (25 \pm 2)$, $RH = 65\% \sim 80\%$, 10 *P. xylostella* larva as a group and a treatment was divided into 3 groups, 5 *M. separata* as a group and a treatment was divided into 6 groups. The concentration of treatment was $4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$.

3 讨 论

这 3 种鬼臼毒素类化合物均表现出较强的拒食活性, 但也具明显的毒杀活性。拒食剂是指可以干扰或抑制昆虫取食行为的物质。昆虫的取食行为是一复杂的行为序列反应, 它既依赖于昆虫化学感受神经信息的传入, 又依赖于中枢神经对这些传入信息的综合分析。鬼臼类物质多数都具有拒食活性, 但引起这种拒食活性的原因还应进一步研究。如果是仅作用于化学感受器, 那么在换以正常叶片后试虫就会继续取食而不致影响其后期的生理反应。粘虫对该类物质的反应如上所述, 但菜青虫和小菜蛾在处理后期换以正常叶片却表现出滞后致毒效应, 即试虫在后期可中毒或死亡。因此, 这种“拒食作用”实际上是一种中毒反应, 而并非真正意义上的“拒食”。具体的作用机理还应进一步研究, 特别是应用电生理方法来加以证实。

这几种物质的毒杀作用机理较为复杂。脱氧鬼

臼毒素和 α -阿朴苦鬼臼对菜青虫的致毒症状和作用方式非常相似。二者的 12 h 拒食中浓是 48 h 的 2 ~ 3 倍, 这说明 12 h 内试虫取食较多, 12 h 以后取食能力下降。实验中观察到, 12 h 中毒的试虫, 以后基本上不取食, 48 h 后中毒个体增加。有的试虫上吐下泄; 有的试虫因食物不能消化而于中肠内结块; 有的试虫虫体瘫痪, 腹部呈青绿色半透明状, 可观察到内部白色脂肪体组织, 体内充满大量体液而使虫体显的臃肿。经解剖发现, 肠道内没有食物残渣, 体壁极薄, 呈灰白色半透明状, 角质化程度高。这些症状与 Inamori^[3]所描述的脱氧鬼臼毒素对 5 龄家蚕的作用症状非常相似。结合 Inamori 的观点推测其作用机理, 脱氧鬼臼毒素进入虫体后可能分布在体壁、脂肪体、中肠、马氏管中较多, 从而导致试虫体壁变薄、角质化程度增高, 使新表皮不能形成, 中肠内食物结块, 体内水分代谢失衡, 最终导致试虫死亡。但这还有待于进一步的研究证实。

[参考文献]

- [1] 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
- [2] 张 兴, 高 蓉, 田 暄. 砂地柏杀虫活性物质结构鉴定[J]. 西北农业大学学报, 1999, 27(4): 16- 18

- [3] Inanori Y M K, H Tsujibo M Mechanism s of insecticidal action of deoxypodophyllotoxin[J]. Chem. Pharm. Bull, 1986, 34(5): 2247- 2250
- [4] 张 兴 缓效型杀虫剂室内生物测定的药效计算和评价[J]. 北京农业科学, 1989, (3): 6- 10
- [5] 余向阳, 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): 96- 99

Study on insecticidal activities of 3 podophyllotoxin analogues

GAO Rong¹, TIAN Xuan², ZHANG Xing¹

(1 Research and Development Center of Biorational Pesticide, Northwest Science and Technology University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2 National Laboratory of Applied Organic Chemistry, Lanzhou University, Gansu 730000, China)

Abstract Research on 3 strong insecticidal derivatives, podophyllotoxin, deoxypodophyllotoxin and α -apopropodophyllotoxin showed that they all exhibited high antifeeding and poisonous activities against *Pieris rapae*. AFC50 was $0.057 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $0.052 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ and $0.070 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ respectively. All insects died finally after treatment with podophyllotoxin at a concentration of $0.04 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ deoxypodophyllotoxin and $0.05 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ α -apopropodophyllotoxin respectively. These chemicals all showed delayed insecticidal activities. The activity to *Plutella xylostella* and *Mythimna separata* were also determined.

Key words podophyllotoxin; deoxypodophyllotoxin; α -apopropodophyllotoxin; botanical insecticide

(上接第 54 页)

Study on soil urease thermodynamic characteristics of major soils in Shaanxi

HE Wen-xiang, ZHU Ming-e, ZHANG Yiping

(College of Resources and Environment, Northwest Science and Technology University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract The urease thermodynamic parameters were analyzed in nineteen samples of seven soil types in Shaanxi. The results showed as follows: The soil urease $\Delta G^\circ > 0$, $\Delta H^\circ > 0$, $\Delta S^\circ < 0$ showed that it was not possible for soil urease reaction until energy imposed; the higher fertile samples urease ΔG° were higher than the lower samples except paddy soil; urease ΔH° , ΔS° values did not observably vary among soils tested; ΔG° was remarkable correlation with soil fertility by correlation analyses and the average of all thermodynamic parameters varied by the same law.

Key words soil urease; thermodynamic parameter; soil fertility