

马桑倍半萜内酯的生物活性研究

郭新荣¹, 李亚峰², 李孟楼^{1*}

(1. 西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 712100; 2. 铜川市耀州区林业站, 陕西 铜川 727100)

摘要:采用小叶碟添加法观察经羟基马桑毒素处理后的粘虫中毒症状,并测定3龄、4龄和5龄粘虫的拒食活性。结果表明:①羟基马桑毒素作用后,粘虫表现为行动缓慢—昏迷—复苏—麻痹—失水中毒症状。②浓度大于 $1.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的羟基马桑毒素对3龄粘虫幼虫有明显的拒食作用,且随着药剂浓度的增大,拒食作用增强,最大拒食率达65.68%。③浓度为 $0.25 \sim 1.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的羟基马桑毒素可使4龄粘虫幼虫食量增加,当浓度为 $1.00 \sim 4.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,有稳定的拒食作用,且在 $4.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时拒食作用最强。④浓度大于 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的羟基马桑毒素对5龄粘虫幼虫有稳定的拒食作用。

关键词:羟基马桑毒素; 中毒症状; 拒食率; 粘虫

中图分类号:S767.37 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-7461(2009)06-0133-03

The Study on Biological Activity of Coriaria Lactone I

GUO Xin-rong¹, LI Ya-feng², LI Meng-lou¹

(1. College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2. Forestry Station of Yaozhou, Tongchuan, Shaanxi 727100, China)

Abstract: Toxic symptom and antifeedant activity of tutin were observed on the larvae of *Mythimna separata* with 3, 4 and 5 instar by leaf disk method. The results showed that the poisoning symptoms were slow in action, coma, recovery, paralysis, and dehydration on body surface. Antifeedant activity of tutin on the 3rd-instar larvae of *M. separata* was significant under the concentration of over $1.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, and showed dosage-dependant pattern. The highest antifeedant rate was 65.68%. Which concentration is within $0.25 \sim 1.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, the feed intake of the 4th instar larvae of *M. separata* increased in the concentration range of $0.25 \sim 1.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, antifeedant activity was steady in the concentration range of $1.00 \sim 4.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, and the maximum antifeedant activity was in concentration of $4.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$. Stable antifeedant activity for the 5th instar larvae was in the concentration of over $0.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$.

Key words: tutin; toxic symptom; antifeedant rate; *Mythimna separata*

植物源杀虫剂具有选择性强、对天敌及人畜安全、环境无污染、作用方式独特、害虫不易产生抗性、开发和使用成本较低等优点^[1]。目前,从植物中寻找杀虫剂的先导物质已成为新农药研制的一条重要途径^[2]。羟基马桑毒素来源于藤本植物马桑^[3-4],是马桑的毒性成分之一,可使鼠类产生强烈痉挛;制成的羟基马桑毒素注射液,能治疗精神分裂症^[5-6]。马桑全株有毒,不同部位提取物对许多害虫

有不同程度的毒杀活性,如马桑叶、果等提取物对多种咀嚼式害虫(蚜虫、叶甲等)有毒杀、抑制生长发育的作用^[7-8];对粘虫幼虫的消化酶及解毒酶有明显的影影响^[9-13]。目前,寻找新的低毒、低残留、高效植物源杀虫剂是该领域研究的新课题。

粘虫是禾本科作物的严重害虫之一,主要以玉米、杂草、水稻等作物为取食对象。由于粘虫繁殖生育期正值玉米拔节前期和水稻分蘖期,叶片较嫩,

收稿日期:2008-11-25 修回日期:2009-06-21

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30170777)

作者简介:郭新荣,女,博士,副教授,主要从事森林害虫防治、植物杀虫剂开发利用研究。

* 通讯作者:李孟楼,男,教授,博士生导师,主要从事森林害虫防治、植物杀虫剂开发利用研究。

极有利于幼虫危害。粘虫具有迁飞性、有间歇性和局部大发生特点,防治困难。本文就羟基马桑毒素作用粘虫后的中毒症状及拒食活性进行了研究,为研究羟基马桑毒素致毒机理以及开发合成提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试虫与试剂

试虫 室内饲养 3 龄、4 龄及 5 龄粘虫(*Mythimna separata*)幼虫,由西北农林科技大学农药研究所提供。

试剂 羟基马桑毒素,纯度 97% 以上,配制成浓度为 0.25、0.50、1.00、2.00、4.00 mg · mL⁻¹ 的丙酮溶液。

1.2 方法

1.2.1 试虫处理 采用夹毒叶片饲喂法。挑选生长整齐一致、发育正常的 3 龄、4 龄及 5 龄粘虫幼虫,每个培养皿中放置 1 头。饥饿 12 h 后,随机分为 2 组。处理组用 10 μL 玻璃毛细管点滴器在 0.5 cm × 0.5 cm 小麦叶片上,分别点涂 4 μL 上述浓度的羟基马桑毒素丙酮溶液,待丙酮挥发后,将小麦叶片放入培养皿中,每头试虫 1 张叶片;对照组(CK)饲喂点涂 4 μL 丙酮的叶片。每处理重复 30 次。

1.2.2 测定方法 观察对照组及处理组试虫行为,并分别在处理 8、16、24、32、48 h 后测定拒食率。

拒食率(%) = (CK 组取食量 - 处理组取食

量)/CK 组取食量

2 结果与分析

2.1 粘虫行为反应

粘虫取食载毒叶片后,爬行稍缓慢,食量减少,进入昏迷;随后虫体柔软,可随意弯曲,经一段时间后复苏(昏迷时间的长短与取食量有关),此时若再供给带毒叶片,取食少量后进入麻痹状态;中毒幼虫爬行不稳,体表失水,伴随着大量的返吐胃液,排出稀的粪便。取食少量载毒叶片的粘虫可以经过蜕皮而恢复,继续取食。取食不同浓度梯度载毒叶片的粘虫,昏迷程度不同。

2.2 粘虫的拒食作用

羟基马桑毒素丙酮溶液饲喂后,3 龄粘虫幼虫对其有明显的拒食作用,最大拒食率可达 65.68% (处理浓度为 2.00 mg · mL⁻¹)。随饲喂时间的延长,试虫对羟基马桑毒素的适应能力提高,拒食率有所下降,浓度为 2.00 mg · mL⁻¹ 的羟基马桑毒素饲喂 40 h 后甚至表现出增食效果,在 48 h 时食量达最大,增食率为 2.45%;浓度为 0.25 mg · mL⁻¹ 饲喂也具有一定的增食作用;浓度为 0.50、1.00、4.00 mg · mL⁻¹ 时,饲喂试虫对其毒素有较稳定的拒食作用,拒食率为 8.67%~65.68%。方差分析表明,在饲喂 16、24、40 h 后,各浓度的羟基马桑毒素饲喂试虫拒食率有显著差异($p < 0.05$) (表 1)。

表 1 羟基马桑毒素处理后 3 龄粘虫 48 h 内拒食率变化^①

Table 1 Antifeedant rate of tutin on 3rd instar larvae of *M. separata* in 48 h

处理浓度 (mg · mL ⁻¹)	拒食率/%						回归方程	R ²
	8 h	16 h	24 h	32 h	40 h	48 h		
0.25	40.53a	22.33a	-5.36a	3.62a	-6.48a	-1.45a	$y = -8.00x + 38.00$	1.00
0.50	51.23b	35.13b	24.86b	13.57b	9.13b	8.67b	$y = -8.63x + 53.97$	0.91
1.00	46.46c	49.86c	39.13c	26.98c	13.86c	9.36c	$y = -8.73x + 61.51$	0.93
2.00	65.68d	51.36d	37.56d	14.28d	-2.45d	-1.32a	$y = -14.85x + 79.49$	0.96
4.00	46.59c	42.25e	30.32e	21.33e	21.36e	25.36d	$y = -5.08x + 48.98$	0.77

①同一列字母不相同,表明不同浓度差异显著($p < 0.05$)。下同。

4 龄粘虫的食量受不同浓度的羟基马桑毒素的影响不同,饲喂 48 h 内,既有增食作用又有拒食作用。羟基马桑毒素浓度 ≤ 0.50 mg · mL⁻¹ 时,对试虫有明显的增食作用,浓度为 0.25 mg · mL⁻¹ 和 0.50 mg · mL⁻¹ 时,增食率在 48 h 分别为 8.12%~23.46% 和 6.32%~20.06%;而浓度为 1.00 mg · mL⁻¹ 和 2.00 mg · mL⁻¹ 饲喂 8 h 后,试虫有较稳定的拒食作用,拒食率分别为 11.20%~17.48% 和 5.32%~23.56%。方差分析表明,每个浓度羟基马桑毒素处理粘虫后,在 8、16、24、40、48 h 拒食率均

有显著差异($p < 0.05$) (表 2)。

不同浓度的羟基马桑毒素丙酮溶液对 5 龄粘虫的影响较为稳定,浓度为 0.25 mg · mL⁻¹ 的羟基马桑毒素饲喂 16 h 后,具有增食效果,增食率达到 6.35%;而浓度大于 0.50 mg · mL⁻¹ 时,饲喂后粘虫有稳定的拒食作用,且随羟基马桑毒素浓度提高,拒食率上升,最大拒食率达到 52.37% (表 3)。

方差分析表明,不同浓度羟基马桑毒素饲喂 5 龄粘虫后,在 8、16、24、32、40、48 h 各时段的拒食率均有显著差异($p < 0.05$)。

表 2 羟基马桑毒素处理后 4 龄粘虫 48 h 内拒食率变化
Table 2 Antifeedant rate of tutin on 4th instar larvae of *M. separata* in 48 h

处理浓度 ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	拒食率/%						回归方程	R^2
	8 h	16 h	24 h	32 h	40 h	48 h		
0.25	-23.46a	-16.14a	-15.24a	-8.12a	-10.56a	-13.45a	$y = 6.87 \ln x - 22.03$	0.74
0.50	-20.06b	-10.08b	0.00b	-6.32a	-8.6b	-6.58b	$y = -1.59x^2 + 13.03x - 30.03$	0.79
1.00	-4.79c	11.20 c	14.02c	12.35b	12.56c	17.48c	$y = 10.45 \ln x - 0.99$	0.79
2.00	-3.46d	5.32 d	12.53d	16.98c	16.35d	23.56d	$y = 14.28 \ln x - 3.78$	0.97
4.00	36.49e	25.50 e	27.56 e	24.46d	26.98e	33.56e	$y = 1.60 x^2 - 11.59 x + 45.37$	0.85

表 3 羟基马桑毒素处理后 5 龄粘虫 48 h 内拒食率变化
Table 3 Antifeedant rate of tutin on 5th instar larvae of *M. separata* in 48 h

处理浓度 ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	拒食率/%						回归方程	R^2
	8 h	16 h	24 h	32 h	40 h	48 h		
0.25	0.08a	0.36a	-3.14a	-4.58a	-5.34a	-6.35a	$y = -1.45 x + 1.91$	0.92
0.50	35.56b	35.12b	25.56b	26.08b	25.46b	26.62b	$y = 0.78 x^2 - 7.56 x + 43.68$	0.83
1.00	37.05c	36.54c	35.21c	36.49c	32.13c	25.24c	$y = -2.03 x + 40.88$	0.75
2.00	48.26d	45.12d	36.12d	38.13d	36.15d	36.93d	$y = -2.33 x + 48.27$	0.74
4.00	44.44e	52.37e	46.46e	46.39e	46.39e	41.03e	$y = -0.76 x^2 + 4.35 x + 42.55$	0.74

3 结论与讨论

近年来,有关植物源昆虫拒食剂方面的研究取得了很大进展。由于对植物源昆虫拒食剂的成分分离、鉴定以及通过植物次生物质合成拒食剂的研究较少,分离物中有效成分的化学结构及准确含量等不明确,影响了其在实际中的应用和推广。

羟基马桑毒素丙酮溶液对 3 龄粘虫幼虫有明显的拒食作用,随着浓度的增大,拒食作用增强。4 龄粘虫幼虫在浓度为 $1.00 \sim 4.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 羟基马桑毒素处理 8 h 后,表现出较稳定的拒食作用,且浓度为 $4.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时对粘虫的拒食作用最强。因为 4 龄幼虫体大,适应性较 3 龄强,对进入体内羟基马桑毒素有一定的适应和分解能力。5 龄粘虫幼虫对浓度大于 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的羟基马桑毒素有稳定的拒食作用。5 龄期的试虫对低浓度的羟基马桑毒素反应敏锐,可能因为试虫更加成熟。仅 $4 \mu\text{L}$ 的羟基马桑毒素对粘虫幼虫的拒食率有明显的影响,且试虫中毒行为表现明显,因而有望开发成为粘虫拒食剂或高效特异的昆虫杀虫剂。

羟基马桑毒素是马桑中重要的有毒化学成分,其结构简单,资源丰富。我国马桑在农业领域的研究与应用有所拓展,但还局限于作为治疗人类及动物癫痫等狭小的范围^[5-6]。利用马桑资源分离提取一系列内酯类化合物,进行毒杀活性的筛选是开辟马桑深加工产业新领域的有益尝试。

参考文献:

[1] 操海群,岳海德,花日茂,等.植物源农药研究进展[J].安徽农业大学学报,2000,27(1):40-44.

[2] 郝斌,戈巧英.中国植物源杀虫剂的研制与应用[J].植物学通报,1999,16(5):495-503.

[3] 尉芹,马希汉,苏印泉.亟待开发的马桑资源[J].陕西林业科技,1995(4):36-38.

[4] RODRIGUEZ B C. Effective nodulation of *C. myrtifolia* L. induced by frankia strains from *Alnus glutinosa* L. [J]. Plant and Soil,1988,110(2):167-176.

[5] 四川医学院马桑研究小组.桑寄生和马桑治疗精神分裂症的初步研究[J].中草药通,1973(5):33-38.

[6] 四川医学院马桑研究小组.羟基马桑毒素生产工艺的研究[J].中草药通讯,1978(8):14-16.

[7] 李孟楼,郭新荣,谢恩魁,等.马桑毒素提取物对几种蚜虫的毒力试验[J].西北林学院学报,1996,11(4):55-59.

[8] 马希汉,郭新荣,李孟楼.马桑籽提取物对黑肩毛胸榆叶甲取食及生殖的研究[J].西北林学院学报,1995,10(1):64-67.

[9] 李孟楼,郭新荣,唐光辉.侧柏毒蛾幼虫酯酶对马桑毒素及 4 种杀虫剂的应激性反应[J].西北农业学报,2000,9(3):23-27.

[10] 李孟楼,庄世宏,宗娜.马桑毒素 B 对粘虫几种生理生化指标的影响[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2003,31(6):54-58.

[11] 庄世宏,宗娜,李孟楼.马桑毒素 B 对试虫马氏管及中肠组织的影响[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2007,35(7):127-130.

[12] 郭新荣,张雅林,李孟楼.马桑内酯对粘虫体内蛋白质和消化酶的影响[J].西北植物学报,2007,27(12):2456-2460.

[13] 郭新荣,张雅林,李孟楼.马桑内酯对粘虫幼虫体内 3 种酶活性的影响[J].西北植物学报,2007,27(8):1656-1660.