

瑞香狼毒素对菜粉蝶幼虫的杀虫活性

张可君¹ 何义国¹ 周 俗² 肖 波¹ 侯太平^{1*}

(1. 四川大学生命科学学院, 成都 610064; 2. 四川省草原工作站, 成都 610041)

摘要: 在本实验室前期工作中, 发现生长于青藏高原的有毒植物瑞香狼毒对菜青虫具有较好的防治效果。采用微量点滴法研究瑞香狼毒素对菜青虫的触杀活性, 以叶片夹毒法和灌喂法研究胃毒活性。在触杀活性试验中, 72h 的致死中量 (LD_{50}) 为 $0.96 \mu\text{g}/\text{头}$, 以 $6.25 \times 10^3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度的样品液 $2 \mu\text{L}$ 点滴试虫, 即 $1.25 \times 10^4 \mu\text{g}/\text{头}$ 处理组的 72h 校正死亡率为 92.2%。在胃毒活性试验中, 72h 叶片夹毒法的致死中浓度 (LC_{50}) 为 $3.82 \times 10^3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $5.00 \times 10^4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度处理组校正死亡率为 91.2%; 72h 灌喂法的 LD_{50} 为 $3.80 \mu\text{g}/\text{头}$, 以 $5.00 \times 10^4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度的样品液 $2 \mu\text{L}$ 灌喂试虫, 即 $1.00 \times 10^2 \mu\text{g}/\text{头}$ 的处理组的 72h 校正死亡率为 96.8%。结果表明, 瑞香狼毒素对菜青虫具有较好的触杀活性和一定的胃毒活性。

关键词: 瑞香狼毒; 菜粉蝶; 触杀活性; 胃毒活性

The toxicity of the extract from the root of *Stellera chamaejasme* against *Pieris rapae*

ZHANG Ke-jun¹ HE Yi-guo¹ ZHOU Su² XIAO Bo¹ HOU Tai-ping^{1*}

(1. College of Life Science, Sichuan University, Chengdu 610064, China; 2. Sichuan Grassland General Work Station, Chengdu 610041, China)

Abstract: The contact toxicity and stomach toxicity of extract from the root of *Stellera chamaejasme* against the larvae of *Pieris rapae* was tested. The experimentation on contact toxicity was conducted with micro topical application. In 72h, the median lethal dose (LD_{50}) is $0.96 \mu\text{g}/\text{larvae}$ and the corrected mortality of the larvae treated with $1.25 \times 10^4 \mu\text{g}/\text{larvae}$ is 92.2%. The experimentation on stomach toxicity was conducted by leaf-sandwich and mouthparts infusion. In 72h, the median lethal concentration (LC_{50}) of the larvae treated by leaf-sandwich is $3.82 \times 10^3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and the correct mortality of the larvae treated with $5.00 \times 10^4 \mu\text{g}/\text{larvae}$ is 91.2%. LD_{50} of the larvae treated with mouthparts infusion is $3.80 \mu\text{g}/\text{larvae}$ and the correct mortality of the larvae treated with $1.00 \times 10^2 \mu\text{g}/\text{larvae}$ is 96.8%. The toxicity of the extract mentioned above showed well contact toxicity and some stomach toxicity.

Key words: *Stellera chamaejasme*; *Pieris rapae*; toxicity

菜粉蝶 *Pieris rapae* L. 的幼虫俗名菜青虫, 是我国蔬菜上最重要的全国性分布的害虫之一, 每年发生 10 代左右, 尤偏嗜十字花科蔬菜, 如甘蓝、苕蓝、花椰菜、白菜、萝卜等, 大发生时, 能将整株叶片吃光

只余叶脉。此外, 菜青虫为害形成的创口成为软腐病发病的主要诱因, 这些均给蔬菜种植业造成了巨大的经济损失。

瑞香狼毒 *Stellera chamaejasme* L. 广泛分布于我

基金项目: 教育部新世纪优秀人才计划 (NCET-04-0868), 四川省应用基础项目 (01NY051-02)

作者简介: 张可君, 女, 1979 年生, 硕士研究生, 研究方向为植物源农药 (email: zkjrainbow@tom.com)

* 通讯作者 Author for correspondence (email: houtp@tom.com)

收稿日期: 2004-12-16

国青藏高原及其它高寒地区^[1],是需要防除的草地有毒植物,但瑞香狼毒含有高活性杀虫物质,可开发成为植物源农药^[2~6]。本室前期工作发现瑞香狼毒的有效成分对菜青虫具有较好的防治效果^[7],近期又从瑞香狼毒中分离出了瑞香狼毒素。为将瑞香狼毒研制成为防治菜青虫的植物源农药,作者较系统地研究了瑞香狼毒素对菜青虫的触杀、胃毒等活性,观察分析了幼虫发病症状。

1 材料与方法

1.1 供试药剂与仪器

瑞香狼毒根采自四川若尔盖草原;乳油 6202,金陵石化总厂生产;其它均为分析纯。DF-6Pac 型超声波细胞粉碎仪,宁波新芝科器研究所产;微量进样器,上海安亭微量进样器厂产。

1.2 试虫

菜青虫,采自本试验室的甘蓝试验田,从中选择虫体均匀一致的 3 龄幼虫,试验前将试虫饥饿 6h。采用灌喂法研究胃毒活性时,则选用虫体均匀一致的 4 龄幼虫。

1.3 方法

1.3.1 药品配制

样品处理液以瑞香狼毒素:二甲基亚砜:乳油 = 1:2:1 比例配制;对照液以双蒸水:二甲基亚砜:乳油 = 1:2:1 比例配制。均用超声波细胞粉碎仪充分乳化均匀,备用。

1.3.2 瑞香狼毒素对菜青虫的触杀活性

将样品处理液用水梯度稀释为 6.25×10^3 、 2.08×10^3 、 6.94×10^2 、 2.31×10^2 、 7.72×10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度,将对照液按相同梯度稀释。采用 FAO 推荐的微量点滴法^[8]。每头幼虫点滴 $2\mu\text{L}$ 梯度处理液后,饲喂洁净甘蓝叶片。对照组以梯度对照液同法处理。

1.3.3 瑞香狼毒素对菜青虫的胃毒活性

将样品处理液用水梯度稀释为 5.00×10^4 、 1.67×10^4 、 5.56×10^3 、 1.85×10^3 、 6.17×10^2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度,将对照液按相同梯度稀释。采用叶片夹毒法和灌喂法^[9]进行胃毒活性试验。对照组以梯度对照液同法处理。

叶片夹毒法:以直径为 2cm 的打孔器打取叶碟,将药液均匀涂抹在叶碟一侧,并将 2 片叶碟带毒一侧用明胶粘合牢固,形成夹毒叶碟,饲喂菜青虫。

灌喂法:用 $5\mu\text{L}$ 微量进样器(针头细长,外径为 0.64mm,针尖处 0.48mm)分别取 $2\mu\text{L}$ 上述药液从 4

龄菜青虫的咀嚼式口器灌喂到其体内。具体步骤:直接处理饥饿 6h 的菜青虫,轻微刺激菜青虫口器,继而在口器开合时将针头送入口器,缓慢推动针管,药液渐渐流入菜青虫体内,药液全部推入后,观察到菜青虫腹部有明显蠕动现象后再将针头由口器中轻轻取出,处理后饲喂洁净甘蓝叶片。

每组 20 头虫,重复 3 次。处理后连续观察,分别于 24、48、72h 记录发病及死亡情况,用 Abbott 校正死亡率公式计算校正死亡率,将死亡率转化为机率值,将样品梯度处理液浓度转化为对数,用机率对数绘图法做毒力回归曲线,求出毒力回归方程,并根据毒力回归方程计算出相应的致死中浓度(LC_{50})、致死中量(LD_{50})。

校正死亡率(%) = $[(\text{处理组死亡率} - \text{对照组死亡率}) / (1 - \text{对照组死亡率})] \times 100$

2 结果

2.1 瑞香狼毒素对菜青虫的触杀活性

点滴法研究瑞香狼毒素对菜青虫的触杀活性,其结果见表 1。72h 的致死中量(LD_{50})为 $0.96\mu\text{g}/\text{头}$ 。以 $6.25 \times 10^3 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度的样品液 $2\mu\text{L}$ 点滴试虫,即 $1.25 \times 10^4 \mu\text{g}/\text{头}$ 的处理组,72h 的校正死亡率为 92.2%。表 1 数据表明瑞香狼毒素对菜青虫具有较好的触杀活性。

2.2 瑞香狼毒素对菜青虫的胃毒活性

2.2.1 灌喂法研究瑞香狼毒素对菜青虫的胃毒活性

灌喂法研究胃毒活性的试验结果见表 2。72h 致死中量(LD_{50})为 $3.80 \mu\text{g}/\text{头}$;以 $5.00 \times 10^4 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度的样品液 $2\mu\text{L}$ 灌喂试虫,即 $1.00 \times 10^5 \mu\text{g}/\text{头}$ 的处理组中,72h 的校正死亡率为 96.8%。结果表明瑞香狼毒素对菜青虫具有胃毒活性。

2.2.2 叶片夹毒法研究瑞香狼毒素对菜青虫的胃毒活性

叶片夹毒法研究胃毒活性的试验结果见表 3。72h 致死中浓度(LC_{50})为 $3.82 \times 10^3 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; $5.00 \times 10^4 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度处理组中,72h 的校正死亡率为 91.2%。该方法试验结果也表明瑞香狼毒素对菜青虫有胃毒活性。

施药后连续动态观察,发现菜青虫经瑞香狼毒素处理后,表现出以下发病症状:出现远离甘蓝菜叶、乱爬、不取食等避忌、拒食现象;出现头胸昂举,不停抽搐的痉挛症状,也有体节皱缩或侧卧躺倒等

表 1 瑞香狼毒素对菜青虫的触杀活性

Table 1 The contact toxicity of the extract from *Stellera chamaejasme* against *Pieris rapae*

药量 (μg/larva) Dose	校正死亡率 Correct mortality (%)		
	24h	48h	72h
1.25 × 10	62.2	73.2	92.2
4.16	38.8	51.8	77.2
1.38	26.3	34.7	60.8
4.62 × 10 ⁻¹	16.8	20.0	38.7
1.54 × 10 ⁻¹	7.8	10.3	13.2
毒力回归式 (Y = a + bX) Toxicity regression	Y = 4.2832 + 0.8582X	Y = 4.4920 + 0.9806X	Y = 5.0249 + 1.2668X
相关系数 Correlation coefficient	0.9940	0.9988	0.9950
LD ₅₀ (μg/larva)	6.84	3.30	0.96

注:Y,死亡率机率值;X,每头菜青虫所用药剂剂量(μg)对数值。表2同。Note:Y, probit of mortality; X, log dose (μg) of the extract treated per larva. The same for Table 2.

表 2 灌喂法研究瑞香狼毒素对菜青虫的胃毒活性

Table 2 The stomach toxicity of the extract against *Pieris rapae* treated by mouthparts infusion

药量 (μg/larva) Dose	校正死亡率 Correct mortality (%)		
	24h	48h	72h
1.00 × 10 ²	77.2	85.3	96.8
3.34 × 10	58.8	72.8	85.2
1.12 × 10	46.7	59.7	74.7
3.70	19.3	40.0	49.3
1.23	9.2	19.8	26.8
毒力回归式 (Y = a + bX) Toxicity regression	Y = 3.5808 + 1.1027X	Y = 4.1488 + 0.9680X	Y = 4.2656 + 1.2666X
相关系数 Correlation coefficient	0.9920	0.9925	0.9826
LD ₅₀ (μg/larva)	19.4	7.57	3.80

表 3 叶片夹毒法研究瑞香狼毒素对菜青虫的胃毒活性

Table 3 The stomach toxicity of the extract against *Pieris rapae* treated by leaf-sandwich

浓度 (mg · L ⁻¹) Concentration	校正死亡率 Correct mortality (%)		
	24h	48h	72h
5.00 × 10 ⁴	57.8	82.3	91.2
1.67 × 10 ⁴	40.0	58.3	78.8
5.56 × 10 ³	28.2	45.8	57.8
1.85 × 10 ³	15.3	27.7	35.7
6.17 × 10 ²	6.3	12.2	16.0
毒力回归式 (Y = a + bX) Toxicity regression	Y = 0.9561 + 1.0403X	Y = 0.9546 + 1.0407X	Y = 0.6207 + 1.2223X
相关系数 Correlation coefficient	0.9974	0.9932	0.9996
LC ₅₀ (mg · L ⁻¹)	2.89 × 10 ⁴	7.71 × 10 ³	3.82 × 10 ³

注:Y,死亡率机率值;X,药剂浓度对数值。Note:Y, probit of mortality, X, log concentration.

麻痹现象;死亡后,虫体弯曲为头尾翘起的“C”型或“V”型。根据试验中菜青虫发病症状,初步推测昆虫神经系统可能是瑞香狼毒素的作用位点之一。

持续观察杀虫活性试验中72h后未死亡的菜青虫,发现幼虫无法正常发育为预蛹,或无法由预蛹变

为蛹、由蛹变为成虫,即使变为成虫,也多表现为翅膀发育不健全。从试验中普遍出现的畸形预蛹、畸形蛹、畸形成虫,可知瑞香狼毒素对菜青虫生长发育也有一定影响。

总之,上述试验结果表明瑞香狼毒素对菜青虫

具有较好的触杀活性和一定的胃毒活性,结合发病症状的观察,初步推测瑞香狼毒素对菜青虫的作用靶标之一为昆虫神经系统。简而言之,瑞香狼毒素可研制成为防治菜青虫的触杀和胃毒类型的植物源农药。

3 讨论

瑞香狼毒是一种需要防除的草地有毒植物,我室探索了将该植物研制为植物源农药的可能性。本文较系统的研究了瑞香狼毒素对菜青虫的农药活性,发现对菜青虫有较好的触杀活性及一定的胃毒活性。同时,通过观察菜青虫的发病症状推测瑞香狼毒素可能对昆虫神经系统有影响。

在研究胃毒活性时,选用过几种方法,如叶碟法、叶片夹毒法及灌喂法等。由于瑞香狼毒素对菜青虫有拒食现象,为保证试验结果的正确性,最终选择灌喂法和叶片夹毒法来进行胃毒活性试验。采用灌喂法这种一次性投毒的试验方法来确定瑞香狼毒素的胃毒活性大小;用叶片夹毒法避免了菜青虫体表与瑞香狼毒素样品液的接触,确保试验中对菜青虫的杀虫活性是由胃毒作用引起。

此外,在试验中已出现菜青虫的蛹无法羽化为成虫,或羽化为畸形成虫的现象。鳞翅目成虫若无法飞翔,将导致其无法婚舞,从而不能完成交配,进

而无法繁殖后代,可大大降低菜粉蝶后代繁殖率,降低菜青虫在蔬菜田中的虫口密度。

参 考 文 献 (References)

- 1 陈冀胜(主编). 中国有毒植物. 北京: 科学出版社,1987
- 2 秦宝福,周乐,苗芳,等. 瑞狼毒根的抑菌活性研究(I). 西北植物学报,2003,23(11):1977-1980
- 3 Gao P, Hou T, Gao R, *et al.* Activity of the botanical aphicides 1.5-diphenyl-1-pentanone and 1.5-diphenyl-2-Penten-1-one on two species of Aphidinae. *Pesticide Management Science*, 2001, 57(3):307-310
- 4 高平,刘世贵,侯太平,等. 瑞香素对蚜虫生物活性研究. 植物保护学报,2001,8(3):265-268
- 5 侯太平,崔球. 瑞香狼毒中灭蚜活性物质的结构鉴定. 有机化学,2002,22(1):67-70
- 6 张国洲,陈于年. 瑞香科杀虫植物——瑞香狼毒. 华中师范大学学报(自然科学版),2000,34(3):326-330
- 7 蒲玮,张可君,侯太平,等. 防治菜青虫的杀虫植物筛选及活性的初步研究. 四川大学学报(自然科学版),2004,(1):184-188
- 8 FAO. Recommended Methods for Measurement of Pest Resistance to Pesticides. FAO Plant Production and Protection Paper 21. Rome, 1980,25-28,119-121
- 9 张宗炳(主编). 杀虫药剂的毒力测定. 北京: 科学出版社,1988,178-198