

鬼臼毒素和脱氧鬼臼毒素对粘虫生物活性初步研究⁽²⁰⁾

林 翥, 马志卿*, 冯俊涛, 张 兴
(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: 采用小叶碟添加法测定了鬼臼毒素 (Podophyllotoxin)和脱氧鬼臼毒素 (Deoxypodophyllotoxin)对粘虫 (*Mythimna separata* W.)的生物活性。结果表明,二者对粘虫 4龄幼虫均有很强的拒食作用, 24 h、48 h和 72 h的 AFC_{50} 值分别为 1. 4086、12. 4514、0. 8881 mg/mL和 0. 4686、1. 1066、0. 2599 mg/mL;二者对粘虫的生长发育抑制作用也较强,致使粘虫生长发育各历期均延迟,化蛹率、羽化率、产卵量等均明显降低。
关键词: 鬼臼毒素; 脱氧鬼臼毒素; 粘虫; 拒食; 生长发育抑制
中图分类号: S482. 39 文献标识码: A 文章编号: 1004-1389(2005) 01-0094-04

Bioactivity of Podophyllotoxin and Deoxypodophyllotoxin
against *Mythimna separata*

LIN Jin, MA Zhi-qing*, FENG Jun-tao and ZHANG Xing
(Research and Development Center of Bio-rational Pesticide, Northwest A&F University, Yangling Shaanxi 712100, China)

Abstract Bioactivity of Podophyllotoxin and Deoxypodophyllotoxin against armyworm (*Mythimna separata* W.) were tested by method of disc leaf append. The results showed that Podophyllotoxin and Deoxypodophyllotoxin both possessed strong antifeedant, AFC_{50} (concentration causing 50% antifeedant rate) of 24 hour, 48 hour and 72 hour after treatment against the fourth instar larvae were 1. 4086, 12. 4514, 0. 8881 mg/mL and 0. 4686, 1. 1066, 0. 2599 mg/mL, respectively; Moreover, Podophyllotoxin and Deoxypodophyllotoxin had high development inhibition against armyworm. The stage of larvae, pupae and adult were all delayed comparing with that of CK, the pupation rate, eclosion rate and oviposition quantity all reduced obviously.
Key words Podophyllotoxin; Deoxypodophyllotoxin; *Mythimna separata* W.; Antifeedant; Development inhibition

鬼臼毒素和脱氧鬼臼毒素属于木脂素类,主要存在于小檗科多年生草本类群鬼臼亚科的八角莲属、桃儿七属、山荷叶属及足叶草属植物中^[1]。二者均具有抗肿瘤活性^[2,3]。西北农林科技大学无公害农药研究服务中心从柏科植物砂地柏的非精油部分中分离得到这两种化合物,并证明二者对菜青虫均有较强的胃毒和拒食作用,对小菜蛾具有一定的拒食和毒杀活性^[4,5],但这两种化合物对重要农业害虫粘虫的生物活性尚未见报道。本研

究以粘虫为试虫,测定了鬼臼毒素和脱氧鬼臼毒素的拒食活性及其对试虫生长发育的影响。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试样品 鬼臼毒素 (Podophyllotoxin)、脱氧鬼臼毒素 (Deoxypodophyllotoxin)均由西北农林科技大学无公害农药研究服务中心从砂地柏中分离获得,并由兰州大学应用有机化学实验室

⁽²⁰⁾收稿日期: 2004-06-14 修回日期: 2004-09-10
基金项目: 国家自然科学基金项目 (39970506);国家“ 863”计划项目 (2001 A A246016);国家“十五”攻关项目 (2002BA516A04)
作者简介: 林 翥 (1978-),新疆石河子人,在读硕士,主要从事植物保护和农药毒理学研究
* 通讯作者

鉴定 (纯度 > 95%)。

1.1.2 供试昆虫 粘虫 (*Mythimna separata* W.)由西北农林科技大学无公害农药研究中心养虫室提供,选择发育一致、健康的 4龄中期幼虫供试。

1.2 试验方法

1.2.1 拒食活性测定 待测样品拒食活性的测定采用小叶碟添加法^[6]。10头幼虫为一处理,重复 3次,以丙酮处理为对照。统计拒食率,并求出 AFC₅₀(拒食中浓度)。

1.2.2 生长发育抑制作用测定 试虫按 1.2.1 中的方法处理 3 d后换以新鲜无毒叶碟继续饲喂,观察试虫生长发育情况,统计试虫幼虫历期、蛹历期、化蛹率、异常蛹率、羽化率及产卵量、孵化率等。在饲养期间,每 24 h 称重一次,记录试虫体重及取食量。

2 结果与分析

2.1 鬼臼毒素和脱氧鬼臼毒素对粘虫拒食作用
鬼臼毒素和脱氧鬼臼毒素对粘虫的拒食作用

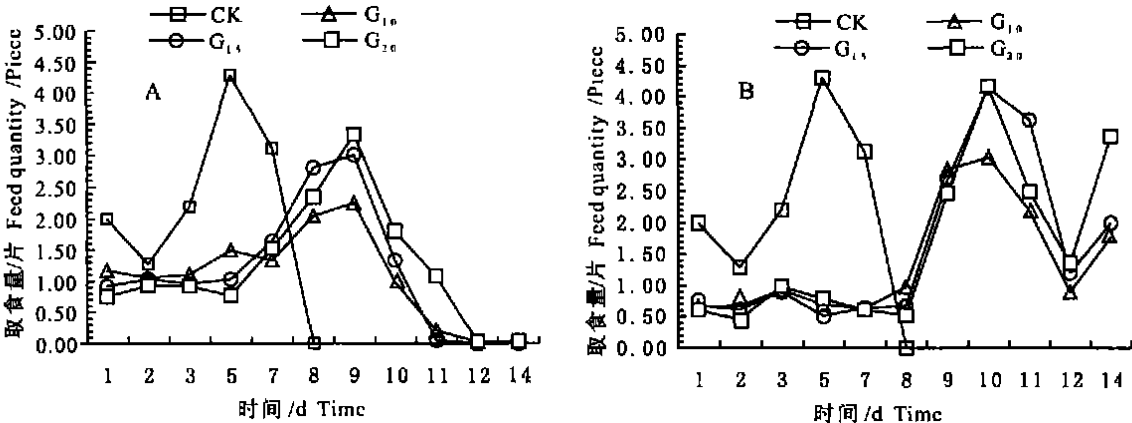
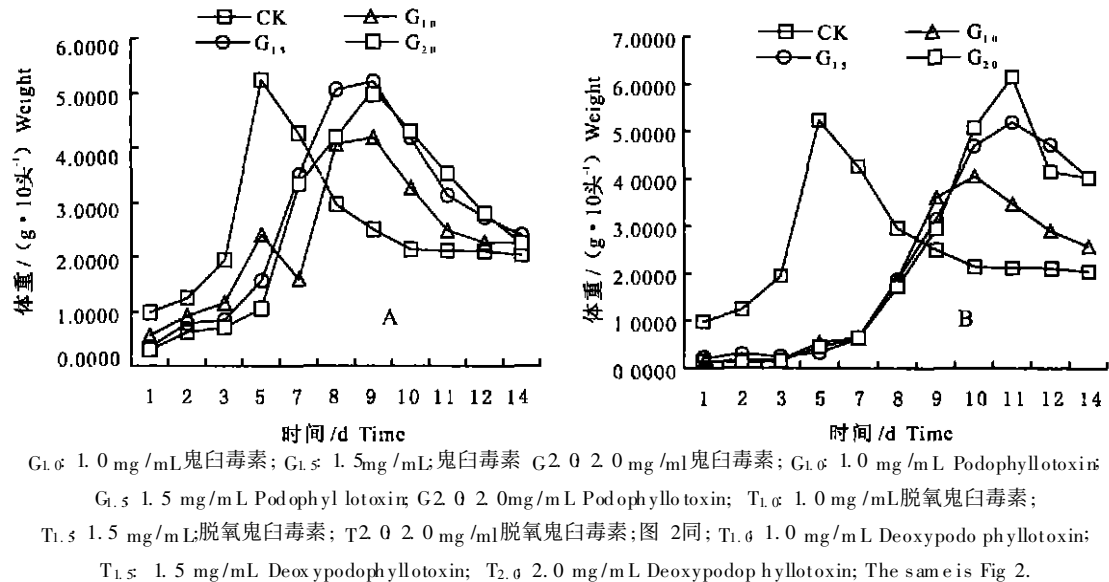
表 1 鬼臼毒素和脱氧鬼臼毒素对粘虫 4龄幼虫拒食作用的测定结果
Table 1 Antifeedant effect of Podophyllotoxin and Deoxypodophyllotoxin against the 4th-instar larve of *Mythimna separata* W.

处理 Treatment	时间 Time /h	LD-P	AFC ₅₀ /(mg·mL ⁻¹)	χ ²	AFC ₅₀ 95% 置信限 AFC50 95% FI/(mg·mL ⁻¹)
鬼臼毒素 Podophyllotoxin	24	Y= 4.8477- 1.0236x	1.4086	0.94	0.892~ 2.225
	48	Y= 4.0662- 0.8526x	12.4514	0.09	6.842~ 22.660
	72	Y= 5.0256- 0.4973x	0.8881	0.19	0.348~ 2.268
脱氧鬼臼毒素 Deoxypodophyllotoxin	24	Y= 5.2715- 0.8248x	0.4686	0.19	0.239~ 0.918
	48	Y= 4.9455- 1.2393x	1.1066	1.00	0.754~ 1.625
	72	Y= 5.2003- 0.3424x	0.2599	0.13	0.065~ 1.044

表 2 鬼臼毒素和脱氧鬼臼毒素对粘虫生长发育的影响
Table 2 Effecttion of Podophyllotoxin and Deoxypodophyllotoxin on the developoment of the fourth instar larve of *Mythimna separata* W.

处理 Treatment	浓度 /(mg·mL ⁻¹) Concentration	处理后幼虫历期 /d Larval's period after treatment	化蛹率 % Pupation rate	异常蛹率 % Abmornal pupae rate	蛹历期 /d Pupal period	羽化率 % Eclosion rate	产卵量 /(粒·头雌虫 ⁻¹) Oviposition quantity
鬼臼毒素 Podophyllo-toxin	CK	9.52	93.33	7.62	10.32	66.67	73.23
	1.0	11.12	80.00	29.17	10.88	46.67	67.75
	1.5	11.75	60.00	33.33	10.88	26.67	32.14
	2.0	12.67	30.00	37.50	10.58	13.33	18.50
脱氧鬼臼毒素 Deoxypod-o-phyllotoxin	1.0	14.33	30.00	66.67	15.67	6.67	0
	1.5	14.67	10.00	75.00	14.33	6.67	0
	2.0	14.71	23.33	71.43	13.69	16.67	0

注:表中“处理后幼虫历期”为处理后幼虫从 4龄中期到化蛹之间经历的天数的平均值;化蛹率为化蛹数/总试虫数;异常蛹率为异常蛹数/总化蛹数;蛹历期为试虫从 4龄中期到羽化之间经历的天数的平均值与“处理后幼虫历期”的差值;羽化率为羽化数/总试虫数。
Note In the Table 2, "Larval's period after treatment" is the average days from the fourth instar larvae to pupation after treatment; Pupation rate is the ratio of "the number of pupation insect" and "the number of all tested insect"; Abmornal pupation rate is the ratio of "the number of abmornal pupation insect" and "the number of all pupation insect"; Pupal's period is "the average days from the fourth instar larvae to Eclosion" minus "Larval's period after treatmen"; Eclosion rate is the ratio of "the number of eclosion insect" and "the number of all tested insect".



1. 头壳蜕不掉 2. 尾部不能蜕出 3. 哑铃形 4. 表皮明显厚薄不均
1. The hind of insect's head can't ecdysis completely;
2. The hind of insect's afterbody can't ecdysis completely;
3. "Dumbbell" figure; 4. The thickness of the insect's epidermis is asymmetrical obviously

图 3 脱氧鬼臼毒素处理后试虫蜕皮异常
Fig. 3 Abnormal ecdysis after Deoxypodophyllotoxin treatment

1. CK; 2~ 4 脱氧鬼臼毒素处理后虫体短缩干缩死亡状
1. Control experiment; 2~ 4 After Deoxypodophyllotoxin treatment, polypide got short, dry shrinkage and death

图 4 脱氧鬼臼毒素处理后试虫死亡症状
Fig. 4 Death symptom after Deoxypodophyllotoxin treatment

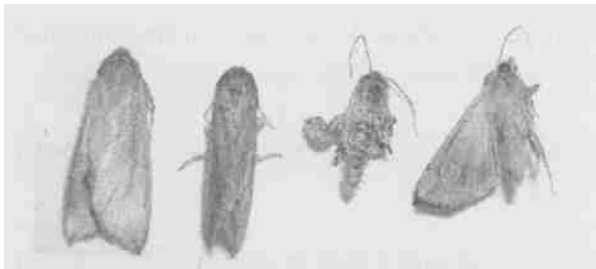
从图 1~ 2可看出,对照试虫取食量在第 5天达到最大值,且在第 5天体重最大。而处理试虫取食量在第 9或第 10天达到最大值,其体重明显小于同期对照试虫,且体重最大值出现在第 8天

以脱氧鬼臼毒素处理的 4龄粘虫,在 3个浓度处理中均有幼虫死亡现象,大部分试虫在 5龄末期蜕皮时出现蜕皮不完全现象,具体表现为不能完全脱去头壳、尾部或腹部表皮不能蜕掉、表皮明显厚薄不匀等(图 3~ 6)。以鬼臼毒素处理的试虫,幼虫期死亡率较低,未出现上述现象



1. CK; 2~ 4 脱氧鬼臼毒素处理后的畸形蛹
1. Control experiment; 2~ 4 Malformed pupae after Deoxypodophyllotoxin treatment

图 5 脱氧鬼臼毒素处理后的畸形蛹态
Fig. 5 Abnormal pupae treated by Deoxypodophyllotoxin



1. CK; 2~ 4 脱氧鬼臼毒素处理后的畸形成虫
1. Control experiment; 2~ 4 Malformed imago after Deoxypodophyllotoxin treatment

图 6 脱氧鬼臼毒素处理后的畸形成虫
Fig. 6 Abnormal imago treated by Deoxypodophyllotoxin

3 讨 论

3.1 鬼臼毒素和脱氧鬼臼毒素处理后,粘虫取食受到抑制,体重明显减少,虫态历期均延迟,化蛹率、羽化率、产卵量等均明显降低。这可能主要是由于试虫拒食导致取食量不足,营养不良,并引起生理代谢紊乱而造成的。

3.2 关于拒食剂的作用机理,目前比较认同的有两种观点,一是认为作用于神经系统,二是认为作用于化学感受器。有些拒食剂二者兼而有之^[7]。目

前,对鬼臼毒素和脱氧鬼臼毒素的拒食机理尚不清楚,需进一步深入研究。本研究中,试虫中毒后,昆虫的生长发育受到抑制,可能是昆虫拒食后造成营养不足,也可能是昆虫取食后中肠受损或体内激素失衡,导致昆虫产生畸形虫态^[8]。药理学研究表明,鬼臼毒素和脱氧鬼臼毒素可抑制癌细胞有丝分裂中期微管束的形成^[9],对平滑肌有兴奋作用,且能影响核酸代谢^[10],这些结果可为研究鬼臼毒素和脱氧鬼臼毒素对昆虫的拒食和生长发育抑制机理提供借鉴

3.3 研究表明,脱氧鬼臼毒素对粘虫的拒食和生长发育抑制作用均明显高于鬼臼毒素。但从二者的结构来看,脱氧鬼臼毒素仅比鬼臼毒素少一个羟基,其活性却比鬼臼毒素高得多。故可以推测以鬼臼毒素为模板,进行修饰合成,有望得到杀虫活性更高的化合物。

3.4 鬼臼毒素和脱氧鬼臼毒素对试虫的生长发育历期、变态、产卵量等均有明显影响。在实际应用中,利用这一特性,不但可抑制害虫的生长发育,且能明显压低下代害虫虫口基数,从而抑制害虫种群的增长,这正符合 IPM 的要求。

参考文献:

[1] 杨显志,邵华,张玲琪,等.鬼臼毒素资源研究现状[J].中草药,2001,32(11): 1042~ 1044.
[2] 陈毓亨.我国鬼臼类植物资源的研究[J].药学报,1979,14(2): 101~ 107.
[3] 杨新波.鬼臼毒素抗肿瘤作用研究进展[J].国外医药·植物药分册,1996,11(4): 158~ 159.
[4] 王继栋.砂地柏杀虫活性物质的分离、含量测定及制剂研究[D].西北农林科技大学,1999.
[5] 高蓉,田喧,张兴.3种鬼臼毒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.
[6] 张兴,赵善欢.楝科植物对几种害虫的拒食和忌避作用[J].华南农学院学报,1983,4(3): 1~ 7.
[7] 廖春燕,赵善欢.川楝素对粘虫幼虫拒食作用的研究[J].华南农业大学学报,1986,7(1): 1~ 6.
[8] 张国洲,徐汉虹.瑞香狼毒对菜粉蝶生物活性的研究[J].西北农业学报,2002,11(3): 67~ 70,100.
[9] 国家医药管理局中草药情报中心.植物药有效成分手册[M].北京:人民卫生出版社,1986.
[10] Donald Macrae W, NEIL towers G H Biological Activities of Lignans[J]. Phyto chem, 1984, 23(6): 1207~ 1220.