

猪毛蒿精油的杀虫作用研究

徐汉虹 赵善欢

(昆虫毒理研究室)

摘要 本文首次报道了猪毛蒿 (*Artemisia scoparia*) 精油的杀虫作用。经活性跟踪, 确证茵陈二炔即为猪毛蒿精油中的活性成分。本文还报道了茵陈二炔的光活化特性及其对昆虫酯酶的影响。

关键词 猪毛蒿; 精油; 生物活性; 茵陈二炔; 光活化

半个世纪以来, 有机合成杀虫剂在防治农作物害虫上发挥了巨大作用。然而, 由于长期使用化学杀虫剂带来了农药残留、害虫抗药性和害虫再猖獗等一系列问题, 促使人们积极探索和开发新一代杀虫剂。植物性杀虫剂具有对人畜安全, 害虫不易产生抗药性等特点, 因而受到人们的重视。近年来, 人们在杀虫植物的研究中, 发现了一些对害虫具有很高活性的化合物, 如印楝素、川楝素和苦楝二醇等。但这些化合物分子结构复杂, 异构体多, 难以人工合成, 满足不了工厂化生产的要求。作者从植物精油的研究入手, 试图从植物的次生代谢物中寻找出一些化学结构比较简单, 并具有高度杀虫活性的化合物, 为仿生合成提供切实可行的模板。

自 1988 年以来, 作者采用 88 种植物精油对一些害虫进行了药效筛选。结果发现猪毛蒿等几种精油效果最好。本文仅报道猪毛蒿的试验结果。

1 材料与方法

1.1 供试精油

猪毛蒿 (*Artemisia scoparia*) 样品采自青海省西宁市郊。全草晾干切碎后, 用水蒸汽蒸馏法提取精油。出油率为 0.36%。

1.2 供试昆虫

赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* (Herbst)

黄粉虫 *Tenebrio molitor* Linne

玉米象 *Sitophilus zeamais* Motschulsky

谷蠹 *Rhizopertha dominica* (Fabricius)

以上 4 种仓虫由广东省粮食科学研究所提供, 饲养繁殖后供试。

斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* F.

菜粉蝶 *Pieris rapae* Linnaeus

以上 2 种虫采自广州近郊菜地, 饲喂后供试。

1992-07-13 收稿

1.3 生物活性试验方法

1.3.1 饲料拌药法 按陈年春^[1]方法

1.3.2 点滴法 采用微量点滴仪将精油点滴到试虫的胸部背板,经一定时间后,检查试虫的死亡率和生长发育状况。

1.3.3 酶测定方法 胆碱酯酶活力测定采用 Ellman^[6]方法,酯酶同工酶凝胶电泳按胡能书^[2]方法。

1.3.4 光照对药效的影响试验 参考 Downum 等^[5]方法

2 结果与分析

2.1 猪毛蒿精油对4种仓虫的繁殖抑制作用

采用饲料拌药法初试猪毛蒿精油的生物活性。结果如图1所示。在0.1% (W/W%)的用药量下,猪毛蒿精油对赤拟谷盗、玉米象、谷蠹和黄粉甲等4种仓库害虫的繁殖抑制率都达到了100%。这表明猪毛蒿精油对害虫具有较强的生物活性。

2.2 活性跟踪试验

经 GC/MS/DS 联用仪分析,从猪毛蒿精油中检出了92个成分,鉴定出其主成分为茵陈二炔。为了明确茵陈二炔是否为活性成分,采用柱层析方法将猪毛蒿精油分成5段:1~7、8~35,这两段基本不含茵陈二炔;36~54,含茵陈二炔95.49%,55~60,含茵陈二炔91.72%,61~,含茵陈二炔28.14%。用赤拟谷盗和玉米象两种虫进行活性跟踪试验,结果见表1和表2。如表1所示,在第1次接虫时,含有茵陈二炔的流分对玉米象的繁殖抑制率达到了100%,玉米象的死亡率与茵陈二炔的含量成正相关。34d后第2次接虫时,则只有0.1%36~54和0.1%55~60两个流分维持100%的繁殖抑制率,与0.2%的原油效果相当。拌药后第65d接虫,0.1%36~54和0.1%55~60对玉米象的致死率仍达100%。试验中发现一些处理拌药与接虫的时间间隔越长,对玉米象的致死率反而越高。如下列处理第1、2、3次接种玉米象的死亡率:0.1%36~54:70.0%,100%,100%;0.1%55~60:71%,100%,100%;61~:12.2%,16.85%,50.57%。这反映出茵陈二炔对玉米象的生物活性有一个逐步激活,提高的过程。猪毛蒿精油的不同流分对赤拟谷盗的活性试验(表2)也得到了类似的结果。纯品的触杀活性比原油提高了3.44倍,因此可以肯定,茵陈二炔为猪毛蒿精油的有效杀虫成分。

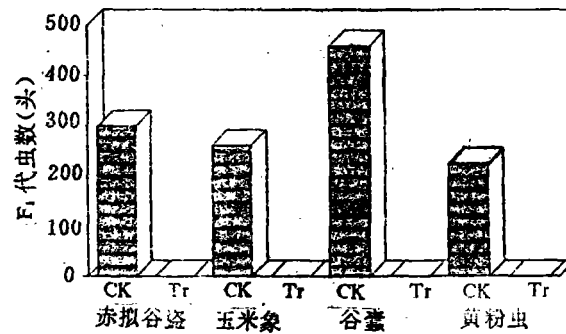


图1 猪毛蒿精油对4种仓虫种群繁殖的影响

表 1 猪毛蒿精油的不同流分对玉米象的生物活性¹⁾

1991~1992 广州

流分 (W/W%)	用 药量 (W/W%)	第 1 次接虫			第 2 次接虫			第 3 次接虫			第 4 次接虫 死亡率 (%)
		平均死 亡率(%)	F ₁ 代虫 数(头)	繁殖抑 制率(%)	平均死 亡率(%)	F ₁ 代虫 数(头)	繁殖抑 制率(%)	平均死 亡率(%)	F ₁ 代虫 数(头)	繁殖抑 制率(%)	
CK	0		278.00 a		1.1	255.33 a		0	232.67 a		0
1-7	0.2	16.67 c	212.00 b	23.74	17.24 c	109 c	57.31				
8-35	0.2	3.33 de	207.00 b	25.54	4.60 de	196.33 b	23.11				
36-54	0.02	4.45 de	0 c	100	5.77 de	22.67 f	91.12				
	0.1	70.00 b	0 c	100	100 a	0 g	100	100	0 b	100	95.38
55-60	0.02	8.89 cde	0 c	100	13.95 cd	18.67 e	80.94				
	0.1	71.11 b	0 c	100	100 a	0 g	100	100	0 b	100	
61-	0.02	1.11 e	0 c	100	2.30 e	78.00 d	69.45				
	0.2	12.22 cd	0 c	100	16.95 c	8.33 fg	96.74	50.57			52.24
原油	0.2	85.56 a	0 c	100	100 a	0 g	100	67.39	0 b	100	78.55

1) 第 1 次接虫为拌药后第 2d, 第 2 次接虫为拌药后第 3d, 第 3 次接虫为拌药后第 65d, 第 4 次接虫为拌药后 120d; 表内数据为 3 次重复平均值; 纵列数据后随字母相同者, 示在 5% 水平上差异不显著(DMRT)。

表 2 猪毛蒿精油的不同流分对赤拟谷盗的生活活性¹⁾

1991~1992 广州

流分 (W/W%)	用 药量 (W/W%)	第 1 次接虫			第 2 次接虫			第 3 次接虫		
		平均死 亡率(%)	F ₁ 代虫 数(头)	繁殖抑 制率(%)	平均死 亡率(%)	F ₁ 代虫 数(头)	繁殖抑 制率(%)	平均死 亡率(%)	F ₁ 代虫 数(头)	繁殖抑 制率(%)
丙酮对照	0		241		1.08	257.67 b		0 b	225	
原油	0.2	27.7 b	0	100 a	6.99 b	0 c	100	4.4 b	0	100
1-7	0.2	3.4 c	201	16.6 b	2.22 b	319.33 a	-23.93			
55-60	0.2	95.0 a	0	100 a	19.29 a	0 c	100	15.75 a	0	100
61-	0.2	0 c	0	100 a	5.81 b	17.00 c	93.40			

1) 第 1 次接虫为拌药后第 2d, 第 2 次接虫为拌药后第 3d, 第 3 次接虫为拌药后第 65d, 表内数据为 3 次重复平均值; 纵列数据后随字母相同者, 示在 5% 水平上差异不显著(DMRT)。

2.3 茵陈二块对昆虫表皮的影响

在对 4 龄斜纹夜蛾幼虫的点滴试验中发现处理 48h 后点滴处的表皮明显变黑, 皱缩, 下陷, 与其邻近表皮有明显的分界线。这样的表皮脱去后出现一明显白斑, 为一透明薄膜。这类幼虫都不能正常发育到蛹期, 从处理后 5d 开始逐渐死亡。

用 1% 的茵陈二块点滴处理菜青虫老熟幼虫, 1μl/头虫, 形成的全部为畸形死蛹。从症状上看, 也是茵陈二块破坏了菜青虫的表皮组织, 导致变态脱皮时大量的血淋巴外渗而死亡(图 2)。

在光照对茵陈二块的药效影响试验中发现, 光照组的所有斜纹夜蛾幼虫表皮都出现坏

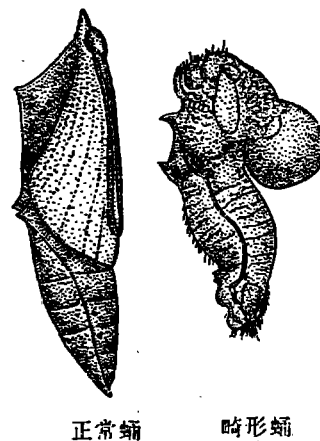


图 2 茵陈二块点滴菜青虫老熟幼虫后形成的畸形蛹

死,处理7d后100%死亡。而黑暗组只有20%试虫表皮出现坏死,7d后死亡率只有30%(表3)。显然,茵陈二炔的生物活性受光的激发而增强。

表3 光照对茵陈二炔药效的影响

1991. 广州

处理	剂量 ($\mu\text{g}/\text{头虫}$)	2d后的体壁组织 坏死的虫数(%)	体重增加量(mg)		7d后的累加 死亡率(%)
			1~24 h	24~72 h	
光照 CK	0	0	82.5 a	151.5 b	0
光照处理	15	100	61.4 c	42.7 d	100
黑暗 CK	0	0	87.4 a	188.0 a	0
黑暗处理	15	20	75.3 b	67.0 c	30

注 试虫为斜纹夜蛾3龄幼虫,表内数据为20头虫的平均值,纵列数据后随字母相同者,示在5%水平上差异不显著(DMRT)。

2.4 茵陈二炔对酯酶活性的影响

2.4.1 茵陈二炔对胆碱酯酶活力的影响 体外抑制试验, 10^{-3}M 和 10^{-5}M 的茵陈二炔能使赤拟谷盗幼虫的胆碱酯酶活力降低。两个浓度处理15 min后,酶的活性只及对照的59.0%和80.7%(表4)。显然,茵陈二炔对胆碱酯酶活性有明显的抑制作用。

表4 茵陈二炔对赤拟谷盗幼虫胆碱酯酶的体外抑制作用

1992 广州

处理	浓度(M)	OD值	剩余活性百分率
茵陈二炔	10^{-3}	0.49	59.04
茵陈二炔	10^{-5}	0.67	80.72
CK		0.83	100

2.4.2 茵陈二炔对酯酶同工酶的影响 采用聚丙烯酰胺垂直平板凝胶电泳方法,测定了茵陈二炔对斜纹夜蛾幼虫血淋巴中酯酶同工酶的影响。试验发现,点滴24h后,处理的E1-E5、E7、E11-E13酶带完全消失,说明这些同工酶的活性完全被抑制。E6、E10酶带由紫色变为浅棕色,可以推测,这两种同工酶的结构很可能发生了变化。点滴120h后,E3-E5、E7、E11和E13酶带基本恢复正常,但E1、E2和E12酶带完全未恢复,E6酶带部分恢复(图3)。

3 结论与讨论

猪毛蒿精油能有效抑制赤拟谷盗、玉米象等4种仓虫的种群繁殖,其有效成分茵陈二炔对玉米象成虫有较强的触杀作用。对斜纹夜蛾、菜青虫等重要农业害虫也具有明显的生物活性。因此,猪毛蒿精油是一种很有前途的植物性杀虫剂。

猪毛蒿资源遍布全国,在青藏高原尤为丰富,其采收容易,出油率高,精油中茵陈二炔含量高达42.4%,具有很高的开发价值。如能加以利用,不仅解决了天然杀虫剂的资源问题,而且对改变这些地区的贫穷面貌将起到一定作用。

用茵陈二炔点滴斜纹夜蛾时发现,光照组表皮坏死的虫数及死亡率明显高于黑暗组。也就是说,光照可以提高茵陈二炔的杀虫效果。但茵陈二炔的光活化效应不象国外报道的那些光活化物质那么强烈,有光时活性几十倍提高^[3,4,5,7]。这可能与供试虫种、光照强度和光波长短有关系。

植物光活化物质用作农药正日益受到人们的重视。一些登记作为食品着色剂的合成染

料首次获准登记作为杀虫剂用的光活化物质。这些染料对哺乳动物的毒性很低 ($LD_{50}=2\sim 16g/Kg$)。但在光线的照射下,它们对昆虫的毒性却很高。

田间的环境条件与室内有很大差异,特别是太阳光对药效的影响,需要通过田间的实际药效来考查。众所周知,有机合成杀虫剂大多是光分解的,在有光照的条件下药效降低,如辛硫磷等。植物体内发现的许多杀虫物质也是光分解的,如除虫菊酯、鱼藤酮等。而茵陈二炔由于光照的诱导而使活性显著提高。这说明田间的某一环境条件有时对杀虫剂的药效起着决定性的作用。仅用常规的生测方法筛选新农药是不够的。这证明了提出杀虫剂田间毒理概念的重要科学意义,丰富了田间毒理学的内容。

聚乙炔类化合物在植物中是广泛存在的。化学结构已知的有650种之多,尤以菊科和伞形花科植物中含的多。这类化合物是植物对昆虫产生抗性的化学基础,植食性昆虫在与这类植物的协同进化中也产生了适应性。例如,一些鳞翅目幼虫有卷叶的习性,这很可能是昆虫在长期的进化中产生的一种行为适应,昆

虫卷叶将身体包裹起来,避免了光照,使食入体内的光活化毒素不被激活,被逐步代谢掉从而避免中毒^[5]。斜纹夜蛾幼虫夜间活动觅食,进入暴食期后还有钻入土内的习性。作者认为这一习性的形成可能与斜纹夜蛾取食含有光活化毒素的植物有关,是协同进化的结果。象斜纹夜蛾这种食量大的杂食性昆虫,为害的植物有99科290多种^[1],对光活化毒素的接触机会多,食入量大,其行为适应显得尤为重要。斜纹夜蛾的行为也证明了这一点。初孵幼虫食量小,不怕光,3令后进入暴食期才出现避光性。斜纹夜蛾的夜出性是个现象,表面上看似乎是光的影响,但与植物也是密切相关的。研究夜出性的成因是有很大实际意义的。

茵陈二炔对人无害,容易合成,作为一类新型杀虫剂具有发展前途,值得更进一步研究。

致谢 本研究得到中国科学院昆明植物所植物化学开放实验室和国家自然科学基金资助。化学工作得到昆明植物所周俊教授,丁靖地、喻学俭高级工程师的直接指导,中科院西北高原生物所孙洪发副研究员、纪兰菊助理研究员协助采集植物材料,谨此致谢!

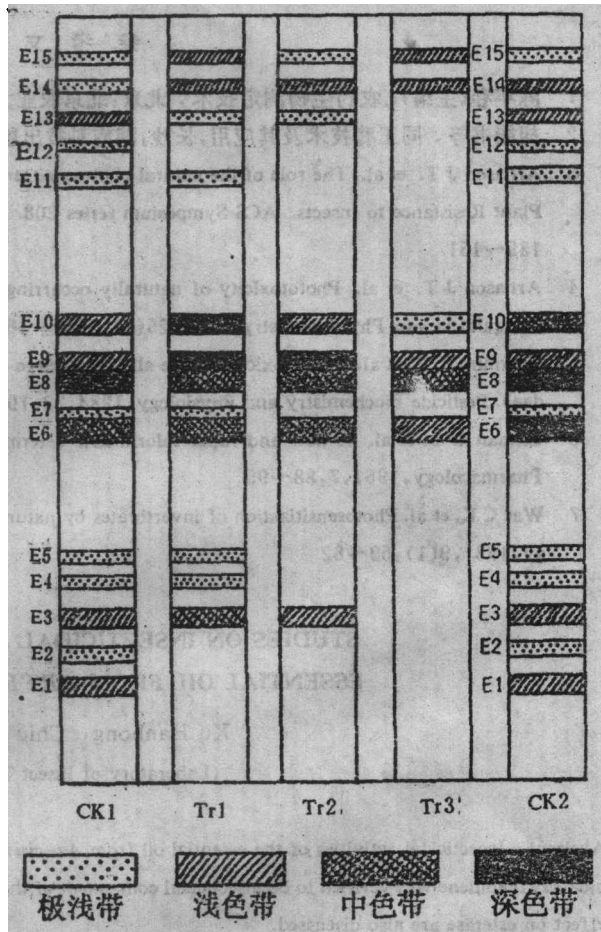


图3 茵陈二炔对斜纹夜蛾幼虫酯酶同工酶的影响—凝胶电泳图

参 考 文 献

- 1 陈年春(主编). 农药生物测定技术. 北京:北京农业大学出版社,1991,55
- 2 胡能书等. 同工酶技术及其应用,长沙:湖南科技出版社,1985,96~104
- 3 Arnason J T. et al. The role of the natural photosensitizers in plant resistance to insects. In, Hedin P A. (Ed.) *Plant Resistance to Insects*. ACS Symposium series 208. Washington, DC, American Chemical Society, 1983, 139~151
- 4 Arnason J T. et al. Phototoxicity of naturally occurring and Synthetic thiophene and acetylene analogues to mosquito larvae. *Phytochemistry*, 1986, 25(7), 1609~1611
- 5 Downum K R. et al. Phototoxicity of the allelochemical, α -Terthienyl, to larvae of *Manduca sexta* (L.) (Sphingidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 1984, 22, 104~109
- 6 Ellman G L. et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 1961, 7, 88~95
- 7 Wat C K. et al. Photosensitization of invertebrates by natural Polyacetylenes. *Biochemical Systematic and Ecology*, 1981, 9(1), 59~62

STUDIES ON INSECTICIDAL ACTIVITIES OF THE
ESSENTIAL OIL FROM *ARTEMISIA SCOPARIA*

Xu Hanhong Chiu Shin-Foon
(Laboratory of Insect Toxicology)

Abstract Insecticidal activities of the essential oil from *Artemisia scoparia* are first reported in this paper. By means of bioassay, capillene was verified to be insecticidal component of the oil. The photoactivity of capillene and its inhibitory effect on esterase are also discussed.

Key words *Artemisia scoparia*, Essential oil, Biological activity, Capillene, Photoactivity