

东北红豆杉次生代谢物对舞毒蛾拒食活性的影响

胡 晓 严善春 鲁艺芳 刘 彤

(东北林业大学林学院)

摘要: 野生状态下的东北红豆杉极少受病虫害危害,为了探索其抗虫机理,采用浸渍叶碟法分别测定了东北红豆杉次生代谢化合物三尖杉宁碱和紫杉醇对舞毒蛾幼虫的选择性和非选择性拒食活性。结果表明,三尖杉宁碱和紫杉醇对舞毒蛾幼虫均具有拒食活性。高浓度的三尖杉宁碱的选择性和非选择性拒食率均高于低浓度的,当浓度为 2 mg/mL 时,其非选择性拒食活性可达 67.46%,选择性拒食活性可达 72.37%。紫杉醇在低浓度时就表现出较好的拒食活性,当浓度为 0.25 mg/mL 时,非选择性拒食率就达 87.18%;当浓度低于 1 mg/mL 时,选择性拒食活性随着处理时间的推移而降低;当浓度高于 1 mg/mL 时,选择性拒食活性随着处理时间的推移而增强,在 48 h 时,拒食率可达 74.95%。总体来看,紫杉醇对舞毒蛾幼虫的拒食效果要好于三尖杉宁碱。该研究结果部分解释了东北红豆杉不遭受昆虫危害的原因。

关键词: 三尖杉宁碱;紫杉醇;舞毒蛾;拒食活性

中图分类号: S763.3 文献标志码: A 文章编号: 1000-1522(2011)05-0151-04

HU Xiao; YAN Shan-chun; LU Yi-fang; LIU Tong. **Antifeedant activity of the secondary metabolic compounds of yew against *Lymantria dispar* L. larvae.** *Journal of Beijing Forestry University* (2011) **33**(5) 151-154 [Ch, 15 ref.] College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin, 150040, P. R. China.

The wild populations of yew trees in northeastern China are rarely attacked by insects and diseases. To better understand its defense mechanism behind such phenomenon, potential antifeeding activity of two key secondary metabolic compounds of yew, cephalomannine and taxol, were tested against *Lymantria dispar* L. larvae in both "selective" and "non-selective" birch leaf disc bioassays. Our results showed that both cephalomannine and taxol exhibited significant antifeeding effect on *L. dispar* larvae. The antifeedancy of cephalomannine seemed to increase with its concentration in a dose-responsive fashion in both the "selective" and "non-selective" tests, reaching 67.46% and 72.37%, respectively, at 2 mg/mL. In contrast, taxol showed a very strong antifeeding effect even at the lowest concentration tested, reaching 87.18% of antifeedancy in "no-selective" test at 0.25 mg/mL. In the "selective" bioassay, the antifeeding activity of taxol seemed to decrease with the feeding time at 1 mg/mL or lower, but increased with the time at higher concentrations (> 1 mg/mL), reaching 74.95% after 48 h. In general, taxol showed stronger antifeeding activity against *L. dispar* larvae than did the cephalomannine. The significant antifeeding activity of the two metabolic compounds of yew, especially taxol, might partially explain why the yew trees are not or rarely attacked by insects.

Key words cephalomannine; taxol; *Lymantria dispar* L.; antifeeding activity

近年来,食品的安全问题和人工合成杀虫剂的残留问题备受关注^[1],因此,更多人把目光放在农产品初级生产中农药的使用上^[2],以及如何更有效地降低病原物和害虫的种群密度,保护环境。使用

植物源杀虫剂,能兼顾保护环境与保证食品安全^[3-4]。至今为止,大多数商用植物源杀虫剂都是对害虫具有强烈、持久毒杀作用的植物代谢产物^[4-5]。植物源杀虫剂或植物提取物,常常表现出

收稿日期:2010-11-15

基金项目:林业公益性行业科研专项(200904029)、国家自然科学基金项目(30870464)。

第一作者:胡晓。主要研究方向:昆虫化学生态。电话:13836162794 Email: huxiao0820@163.com 地址:150040 黑龙江省哈尔滨市和兴路 26 号东北林业大学林学院。

责任作者:严善春,教授,博士生导师。主要研究方向:昆虫化学生态。电话:0451-82191825 Email: yanshanchun@126.com 地址:同上。

本刊网址: <http://journal.bjfu.edu.cn>

对害虫的拒食作用及对其生长的抑制作用^[6-9]。这些对昆虫有拒食作用的化合物多为植物的次生代谢产物,如萜类、生物碱类等,能抑制害虫的取食行为,虽不会消灭害虫,但会极大地限制其种群发展。

东北红豆杉(*Taxus cuspidata* Sieb. et Zucc.)为红豆杉科(Taxaceae)红豆杉属植物,又名紫杉、赤必松、米树、宽叶紫杉等。近年,因为在本属植物的茎皮中得到的紫杉烷类物质具有明显的抗肿瘤作用,而引起全世界医药界的广泛关注^[10]。现针对东北红豆杉的研究,多集中于紫杉烷类物质的提取与人工合成,以及东北红豆杉的人工栽植、无性繁殖等方面。野生状态下的东北红豆杉极少受病虫害危害,它的抗病虫机理的研究鲜有报道。

本研究测试了东北红豆杉的2种次生代谢产物紫杉醇和三尖杉宁碱对舞毒蛾(*Lymantria dispar* L.)幼虫的拒食活性,探索东北红豆杉的抗虫机理,为挖掘和仿生合成新型植物源防虫剂提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 供试药品

东北红豆杉提取物三尖杉宁碱、紫杉醇购自上海金和生物工程公司。

1.2 供试昆虫

舞毒蛾新鲜卵块采自于东北林业大学哈尔滨实验林场,消毒后在养虫室内(温度(28±1)℃,相对湿度85%,光照14h/10h(光/暗))孵化,用新鲜无病虫害的白桦(*Betula platyphylla* Suk.)叶片养至3龄备用。

1.3 供试白桦叶片

采自东北林业大学校园内,无病虫害、未喷施药剂的健康白桦叶片。

1.4 非选择性拒食活性测定

采用叶碟法^[11]测试紫杉醇和三尖杉宁碱对舞毒蛾幼虫的拒食活性。将紫杉醇和三尖杉宁碱用

乙醇(天津市永大化学试剂有限公司)配成质量浓度分别为0.25、0.5、1、2 mg/mL的溶液。选择质地均匀的健康白桦叶,用直径1.2 cm的打孔器打成叶碟,放入相应的试液中浸渍3~4 s后取出,自然晾干,放置培养皿内,每皿放置同一处理的4片叶碟。皿底放置直径9 cm的滤纸,喷施少量的蒸馏水保湿。以乙醇处理作为对照(CK)。将4头饥饿8 h的试虫置于放有不同处理叶碟的培养皿中。每皿为1个处理1个重复,各重复10次。分别于12、24和48 h后,用规格为1 mm的格纸统计取食面积,计算拒食率。

1.5 选择性拒食活性测定

每皿中放入1种浓度的处理叶碟和对照叶碟各2片,十字交叉放置。其他处理同1.4。

1.6 数据分析

非选择性拒食率=($S_{ck} - S$)/ $S_{ck} \times 100\%$;选择性拒食率=($S_{ck} - S$)/($S_{ck} + S$) $\times 100\%$ ^[12]。式中: S_{ck} 为对照叶碟的平均取食面积, S 为处理叶碟的平均取食面积。用SPSS 11.5软件对数据进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 对舞毒蛾非选择性拒食活性的影响

三尖杉宁碱对舞毒蛾幼虫非选择性拒食活性试验结果见表1。从表1可以看出,三尖杉宁碱对舞毒蛾幼虫有较强的非选择性拒食活性,4种浓度之间的拒食率在12、24、48 h差异均显著。浓度为2 mg/mL的三尖杉宁碱对舞毒蛾幼虫12、24、48 h的拒食率分别为61.84%、67.46%、56.71%;拒食率随时间推移先上升后下降,24 h拒食效果最明显。浓度为0.5和1 mg/mL时,对舞毒蛾幼虫的拒食效果不明显。浓度为0.25 mg/mL时,在12 h时对舞毒蛾幼虫有较强的拒食效果,拒食率为65.16%,但在24 h时没有拒食效果,甚至表现出促食效果,48 h拒食率仅为7.63%。

表1 三尖杉宁碱对舞毒蛾幼虫的非选择性拒食活性

Tab. 1 Non-selective antifeeding activity of cephalomannine to *L. dispar* larvae

提取物浓度/ (mg·mL ⁻¹)	12 h		24 h		48 h	
	取食面积/mm ²	拒食率/%	取食面积/mm ²	拒食率/%	取食面积/mm ²	拒食率/%
0.25	39.25 ± 7.18	65.16a	187.68 ± 6.24	-10.38a	216.62 ± 49.00	7.63a
0.5	79.00 ± 4.83	29.88b	107.01 ± 5.50	37.06b	148.76 ± 13.47	36.57b
1	106.50 ± 5.22	5.48c	145.33 ± 3.21	14.53c	171.77 ± 5.85	26.77c
2	43.00 ± 1.73	61.84d	55.33 ± 4.04	67.46d	101.52 ± 5.57	56.71d
CK	112.67 ± 11.02		170.03 ± 9.85		234.52 ± 16.13	

注:表中数据为10次重复的平均值±标准差,同列数据后标注的不同字母表示经LSD多重比较,在 $P < 0.05$ 水平差异显著,表2~4同此。

紫杉醇对舞毒蛾幼虫非选择性拒食试验结果见表2。从表2可以看出,紫杉醇对舞毒蛾幼虫有很强的非选择性拒食活性,4种浓度之间的拒食率

在12、24、48 h差异均显著。浓度为0.25和1 mg/mL时,拒食率在12 h分别为86.26%和91.82%,24 h分别为87.18%和79.52%,48 h分别为

69.68% 和 81.53%; 浓度 2 mg/mL 的 12、24、48 h 拒食率分别为 48.97%、74.80%、62.80%。浓度为 0.5 mg/mL 拒食效果不明显,12 和 24 h 拒食率分别

为 20.33% 和 26.70%,在 48 h 不表现拒食活性。浓度 0.25、2 mg/mL 拒食率随时间延长先上升后下降,两者 24 h 拒食效果最明显。

表 2 紫杉醇对舞毒蛾幼虫的非选择性拒食活性

Tab.2 Non-selective antifeeding activity of taxol to *L. dispar* larvae

提取物浓度 / (mg·mL ⁻¹)	12 h		24 h		48 h	
	取食面积 /mm ²	拒食率 /%	取食面积 /mm ²	拒食率 /%	取食面积 /mm ²	拒食率 /%
0.25	16.80 ± 4.32	86.26a	33.00 ± 2.65	87.18a	97.13 ± 13.42	69.68a
0.5	97.76 ± 16.39	20.33b	188.64 ± 11.84	26.70b	366.14 ± 27.42	-14.30b
1	10.00 ± 3.00	91.82c	52.17 ± 12.08	79.52c	59.18 ± 18.08	81.53c
2	62.39 ± 8.51	48.97d	64.84 ± 6.73	74.80d	119.17 ± 14.36	62.80d
CK	122.25 ± 4.99		257.35 ± 21.56		320.34 ± 42.12	

2.2 对舞毒蛾选择性拒食活性的影响

三尖杉宁碱对舞毒蛾幼虫的选择性拒食活性测定结果见表 3。从表 3 中可以看出,三尖杉宁碱 4 种浓度之间对舞毒蛾幼虫的拒食率在 12、24、48 h 差异均显著。在浓度为 2 mg/mL 时对舞毒蛾幼虫

有较高的拒食率,12、24、48 h 分别为 69.55%、59.50%、72.37%;拒食率随时间延长先下降后上升,48 h 拒食效果最明显。低浓度下拒食效果不明显。

表 3 三尖杉宁碱对舞毒蛾幼虫的选择性拒食活性

Tab.3 Choice antifeeding activity of cephalomannine to *L. dispar* larvae

提取物浓度 / (mg·mL ⁻¹)	12 h		24 h		48 h	
	取食面积 /mm ²	拒食率 /%	取食面积 /mm ²	拒食率 /%	取食面积 /mm ²	拒食率 /%
0.25	26.00 ± 1.11	35.02a	33.97 ± 6.21	31.25a	91.56 ± 11.87	24.04a
CK	54.02 ± 3.87		64.85 ± 0.54		149.42 ± 17.83	
0.5	19.00 ± 5.20	-34.61b	37.33 ± 4.16	9.98b	65.63 ± 13.46	16.61b
CK	9.23 ± 0.58		45.61 ± 5.00		91.78 ± 3.88	
1	4.00 ± 0.24	27.27c	13.50 ± 2.12	13.38c	24.26 ± 8.09	36.78c
CK	7.00 ± 3.46		17.67 ± 1.02		52.49 ± 7.88	
2	10.33 ± 3.79	69.55d	10.00 ± 5.66	59.50d	18.33 ± 6.11	72.37d
CK	57.52 ± 9.40		39.38 ± 6.33		114.36 ± 2.32	

紫杉醇对舞毒蛾幼虫的选择性拒食活性测定结果见表 4。从表 4 中可以看出,紫杉醇对舞毒蛾幼虫有较强的选择性拒食活性,4 种浓度之间的拒食率在 12、24、48 h 差异显著。浓度为 0.25 和 0.5 mg/mL 的拒食率随时间变化有所下降,在 12 h 分别为 58.46% 和 52.38%,24 h 分别 40.80% 和

47.66%,48 h 分别为 48.47% 和 25.48%;浓度为 1 和 2 mg/mL 拒食率随时间的变化均有所上升,12 h 分别为 2.3% 和 37%,24 h 分别为 15.91% 和 55.51%,48 h 拒食效果最明显,拒食率分别为 71.94% 和 74.95%。总之,低浓度表现为快速拒食活性;高浓度表现为滞后的拒食活性。

表 4 紫杉醇对舞毒蛾幼虫的选择性拒食活性

Tab.4 Choice antifeeding activity of taxol to *L. dispar* larvae

提取物浓度 / (mg·mL ⁻¹)	12 h		24 h		48 h	
	取食面积 /mm ²	拒食率 /%	取食面积 /mm ²	拒食率 /%	取食面积 /mm ²	拒食率 /%
0.25	5.33 ± 0.21	58.46a	9.67 ± 6.66	40.80a	8.33 ± 0.39	48.47a
CK	20.33 ± 5.70		23.00 ± 6.52		24.00 ± 6.52	
0.5	5.00 ± 0.00	52.38b	8.33 ± 2.87	47.66b	24.00 ± 6.46	25.48b
CK	16.00 ± 5.66		23.50 ± 2.12		40.41 ± 19.41	
1	7.00 ± 2.65	2.30c	9.67 ± 5.69	15.91c	14.67 ± 7.51	71.94c
CK	7.33 ± 4.51		13.33 ± 2.87		89.89 ± 3.80	
2	5.67 ± 0.58	37.00d	6.00 ± 1.73	55.51d	10.00 ± 1.73	74.95d
CK	12.33 ± 3.21		20.97 ± 1.22		69.84 ± 1.56	

3 结论与讨论

紫杉醇和三尖杉宁碱都表现出了对舞毒蛾幼虫的拒食活性。三尖杉宁碱,在低浓度下的非选择性和选择性拒食活性都较低,高浓度 2 mg/mL 表现出很强的拒食活性,拒食率达 55% 以上。紫杉醇在低浓度时均表现了较强的拒食活性,其非选择性和选择性拒食活性都极强。紫杉醇低浓度非选择性拒食活性强于高浓度,如 0.25 mg/mL 非选择性拒食率可高达 87.18%;选择性拒食活性表现为低浓度快于高浓度,如 0.25 mg/mL 的 12 h 选择性拒食率最高,达 58.46%,而 2 mg/mL 的 48 h 选择性拒食率最高,为 74.95%。

紫杉醇和三尖杉宁碱表现的对舞毒蛾幼虫强烈的拒食效果,正是野生状态下东北红豆杉抵抗昆虫侵袭的一种途径,同时也为舞毒蛾的防治提供了一种可控制其种群发展的药剂。

秦小萍等^[13]在 2008 年研究坡柳 (*Salix myrtilleacea*) 种子对小菜蛾 (*Plutella xylostella*) 的拒食活性中提到,拒食率变化随时间的不规律性变化存在两种原因:一是有效成分可能不稳定,持效期短;二是与试虫对提取物的适应性有关,对拒食剂的不敏感也是拒食剂的一个特有现象。试验中,不同浓度的紫杉醇和三尖杉宁碱对舞毒蛾幼虫拒食活性的波动原因有待进一步的研究。

冯学环等^[14]在 2010 年研究 7 种精油对甜菜夜蛾 (*Spodoptera exigua*) 的拒食活性中提到,植物精油对昆虫的拒食作用可能是由于精油对昆虫感受器受体产生刺激或抑制作用,从而引起昆虫的拒食作用。紫杉醇和三尖杉宁碱对舞毒蛾幼虫的拒食作用机理有待进一步研究。

Daniewski 等^[15]在 1998 年通过试验证实,欧洲短叶红豆杉 (*Taxus baccata*) 针叶提取物中巴卡亭、去乙酰基巴卡亭等次生代谢产物对鞘翅目 3 种仓储害虫有拒食作用。这几种次生代谢产物是否对舞毒蛾幼虫有拒食活性,有待于进一步研究。

参 考 文 献

[1] KARABELAS A J, PLAKAS K V, SOLOMOU E S *et al.* Impact of

European legislation on marketed pesticides—a view from the standpoint of health impact assessment studies [J]. *Environ Int*, 2009, 35(7): 1096–1107.

[2] KAUSHIK G, SATYA S, NAIK S N. Food processing a tool to pesticide residue dissipation—a review [J]. *Food Res Int*, 2009, 42(1): 26–40.

[3] PAVELA R. Possibilities of botanical insecticide exploitation in plant protection [J]. *Pest Technol*, 2007, 1(1): 47–52.

[4] DAYAN F E, CANTRELL C L, DUKE S O. Natural products in crop protection [J]. *Bioorgan Med Chem*, 2009, 17(12): 4022–4034.

[5] PAVELA R, KAZDA J, HERDA G. Effectiveness of *Neem* (*Azadirachta indica*) insecticides against *Brassica* pod midge (*Dasineura brassicae* Winn) [J]. *Pest Sci*, 2009, 82(3): 235–240.

[6] PAVELA R, HERDA G. Repellent effects of pongam oil on settlement and oviposition of the common greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* on chrysanthemum [J]. *Insect Sci*, 2007, 14(3): 219–224.

[7] PAVELA R, HERDA G. Effect of pongam oil on adults of the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Trialeurodidae) [J]. *Entomol Gener*, 2007, 30(3): 193–201.

[8] KOUL O. Phytochemicals and insect control: an antifeedant approach [J]. *Plant Sci*, 2008, 27(1): 1–24.

[9] RANI A S, MURTY U S. Antifeedant activity of *Spilanthes acmella* flower head extract against *Spodoptera litura* (Fabricius) [J]. *Entomol Res*, 2009, 33(1): 55–57.

[10] 张艳平, 刘同祥. 东北红豆杉的研究进展 [J]. 中央民族大学学报(自然科学版), 2009, 18(3): 29–32.

[11] 汤清波, 王琛柱. 一种测定鳞翅目幼虫取食选择的方法——叶碟法及其改进和注意事项 [J]. 昆虫知识, 2007, 44(6): 912–915.

[12] 陈旭, 王迎儿, 王燕燕, 等. 白前提取物对斜纹夜蛾拒食活性的研究 [J]. 中国生物防治, 2009, 25(增刊 1): 36–39.

[13] 秦小萍, 赵红艳, 杨美林. 坡柳种子提取物对小菜蛾的拒食活性 [J]. 昆虫知识, 2008, 45(4): 577–579.

[14] 冯学环, 蒋红云, 何志伟, 等. 7 种精油对甜菜夜蛾的拒食活性 [J]. 农药, 2010, 49(7): 530–532.

[15] DANIEWSKI W M, GUMULKA M, ANCZEWSKI W *et al.* Why the yew tree (*Taxus baccata*) is not attacked by insects [J]. *Phytochemistry*, 1998, 49(5): 1279–1282.

(责任编辑 董晓燕)