

细辛精油对 2 种农业害虫保护酶和 解毒酶活性的影响

姬兰柱¹, 王桂清^{2*}, 刘 艳¹, 王远遐^{1,3}, 张 悦^{1,3}, 易雪梅^{1,3}

(1. 中国科学院 沈阳应用生态研究所, 辽宁 沈阳 110016;

2. 聊城大学 农学院, 山东 聊城 252059; 3. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 为评价细辛精油的杀虫潜力和作用机制, 研究了不同方法提取的细辛精油对 2 种农业害虫保护酶和解毒酶活性的影响。3 种细辛精油分别为: 水蒸气蒸馏提取的精油 X1、超临界 CO₂ 萃取的精油 X3、超临界 CO₂ 萃取后经硅胶柱层析得到的馏分 X5。将 X1 以 1 000 mg/L 的剂量喷洒在玉米嫩苗上, 将 X3 和 X5 以 0.5 mg/g 的剂量分别加入玉米螟人工饲料中, 检验黏虫幼虫取食含 X1 的玉米嫩苗以及亚洲玉米螟幼虫取食含 X3 或 X5 的人工饲料的反应, 以不添加细辛精油的处理为对照。结果表明: 在设置剂量下, 细辛精油 X1 和 X3 对试虫超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD) 3 种保护酶总体表现为抑制作用; 精油 X5 对试虫 POD 活性表现出一定的抑制作用, 但对试虫 SOD、CAT 有诱导激活作用。细辛精油对试虫羧酸酯酶(CarE)、酸性磷酸酯酶(ApE)、谷胱甘肽-S 转移酶(GST)均表现出一定的诱导激活作用, 但诱导作用随着处理时间的延长而降低, 碱性磷酸酯酶(ALP)的活性在前期显著升高, 后期显著降低, 表明细辛精油处理下, 试虫可增加解毒代谢能力, 但较长时间处理表现为毒害作用的积累, 导致试虫解毒酶活性和解毒能力随时间不断下降。综合分析, 细辛精油的杀虫作用可能是通过抑制昆虫的保护酶系而实现的。

关键词: 细辛精油; 农业害虫; 超氧化物歧化酶; 过氧化氢酶; 过氧化物酶; 保护酶; 解毒酶

中图分类号: S481⁺.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2013)12-0079-07

Effects of Asarum Essential Oils on Protection/Detoxification Enzyme Activities of Two Agricultural Pest Insects

Ji Lan-zhu¹, Wang Gui-qing^{2*}, Liu Yan¹, Wang Yuan-xia^{1,3}, Zhang Yue^{1,3}, Yi Xue-mei^{1,3}

(1. Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China;

2. College of Agronomy, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China; 3. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: To evaluate the insecticidal potential and mechanism of asarum essential oils, the effects of three kinds of asarum essential oils extracted by different methods on protection/detoxification enzyme activities of Asian corn borer [*Ostrinia furnacalis* (Guenée)] and army worm [*Mythimna separata* (Walker)] were studied. The three asarum essential oils were as follows: essential oil X1 was extracted by steam distillation method, essential oil X3 was extracted by supercritical CO₂ extraction method, and essential oil X5 was a product obtained by refining X3 through a silica gel

收稿日期: 2013-06-27

基金项目: 沈阳市科技计划项目(F11-264-1-22); 辽宁省科技计划项目(2012214001); 山东省自然科学基金联合专项(ZR2012CL17)

作者简介: 姬兰柱(1960-), 男, 辽宁抚顺人, 研究员, 博士, 主要从事昆虫生态学、水生鞘翅目昆虫分类学和森林生态系统健康与管理研究。E-mail: ji.lanzhu@163.com

* 通讯作者: 王桂清(1968-), 女, 河北泊头人, 教授, 博士, 主要从事植物保护的教学与科研工作。E-mail: wangguiqing@lccu.edu.cn

column chromatography. X1 was sprayed on the corn sprout, according to a dose of 1 000 mg/L. X3 and X5 were separately added to the corn borer artificial feed, according to a dose of 0.5 mg/g. The experiment tested the response of Asian corn borer larvae fed on artificial diet containing X3 or X5, and response of army worm larvae fed on tender corn shoots containing X1. In control group, asarum essential oil was not added. The results showed that, under the set experimental concentrations, essential oils X1 and X3 inhibited the activities of three protective enzymes (superoxide dismutase, SOD; catalase, CAT; peroxidase, POD) of the test insects; X5 showed certain inhibitory effect on POD activity of the test insects, but exhibited an activation effect on SOD and CAT. Asarum essential oils showed some activation effect on carboxylesterase (CarE), acid phosphatase (ApE) and glutathione S-transferase (GST), but the degree of activation effect reduced over time, meanwhile alkaline phosphatase (ALP) activity significantly increased early, then significantly reduced, which demonstrated that insects firstly increased their detoxification ability under excessive exogenous compound, and then the detoxification capacity would decrease with the accumulation of toxic substances. The insecticidal effect of asarum essential oils may be achieved by inhibiting the insects' protective enzymes.

Key words: asarum essential oils; agricultural pest insects; superoxide dismutase (SOD); catalase (CAT); peroxidase (POD); protection enzyme; detoxification enzyme

近年来,有关植物源农药的开发和应用研究日益受到重视。相对于化学农药,植物源农药具有特异性、高效性、持久性和安全性等方面的优势,更重要的是害虫对其不易产生抗药性。植物挥发油亦称植物精油,是存在于多种植物组织中的一类重要的次生物质,由分子量较小的简单化合物组成,常温下多为油状液体,易挥发,具有强烈的香味和气味^[1]。植物精油的传统应用领域是香精香料工业和医药卫生工业。但越来越多的研究显示,植物精油也具有较好的杀虫活性和抑菌作用,其中对昆虫可表现出不同程度的引诱、拒食、驱避、抑制生长发育及直接毒杀作用^[2-3]。

我国传统中药材细辛是指马兜铃科多年生草本植物北细辛、汉城细辛或华细辛的全草^[4],前 2 种习称辽细辛,主产于辽宁、吉林,华细辛主产于陕西。在我国医药学中,细辛应用广泛且历史悠久^[5-8]。近年来,细辛也被应用于植物的病虫害防治中。有研究者认为,细辛的有效成分主要存在于其挥发油中^[8-9]。

在虫害控制方面的研究显示,细辛挥发油对几种媒介硬蜱成虫等具有较好的麻痹及驱避作用^[10]。华细辛粉对黄胸散白蚁(*Reticulitermes flaviceps*)有较好的毒杀、驱避活性和阻杀作用^[11]。王桂清等^[12]证明辽细辛精油对淡色库蚊(*Culex pipiens pallens*)幼虫有较强的毒杀作用,对其成虫有较好的熏蒸作用效果。刘树民等^[13]研究显示,北细辛挥发油对栖北散白蚁(*Reticulitermes speratus*)具有较好的驱避作用和熏蒸活性,甲基丁香酚是其熏蒸作

用的活性物质;北细辛醇提物对同种白蚁具有一定的触杀作用,细辛脂素为其触杀作用的有效成分。

在植物病害控制方面,多位研究者分别检验了细辛提取物(挥发油)的抑菌、杀菌活性,结果表明,细辛挥发油具有广谱且较强的抗植物病原真菌活性^[14-17]。周勇等^[18]认为,细辛挥发油及其主要成分黄樟醚具有广谱的抗真菌效力,其中黄樟醚表现为杀菌作用,细辛挥发油对部分试验真菌只起到抗菌作用。刘海燕^[19]研究认为,甲基丁香酚是细辛挥发油中主要的抗菌活性成分。细辛叶的水提取液还具有杀线虫活性,其对南方根结线虫(*Me foldogynce incognita*)二龄幼虫的杀虫效果(24 h)为 100%,致死中浓度(LC₅₀)为 1 020.4 mg/L^[20]。

可见,开发细辛植物源农药防治病虫害具有一定的应用前景,但目前有关细辛提取物杀虫抑菌的作用方式和作用机制还有待深入研究。本研究以 3 种方法提取北细辛精油,通过研究北细辛精油对 2 种农业害虫防御酶系和解毒酶系的影响,分析细辛精油对试虫的作用机制,为下一步有关细辛植物源农药的开发奠定基础。

1 材料和方法

1.1 供试材料

辽细辛根,购于沈阳市同仁堂药房,将其进一步阴干,粉碎,过 0.425 mm 筛备用。供试昆虫为亚洲玉米螟 [*Ostrinia furnacalis* (Guenée)] 和黏虫 [*Mythimna separata* (Walker)] 的幼虫,由沈阳化工研究院农药研究所养虫室提供。

1.2 细辛精油的提取

采用不同方法得到以下提取物:水蒸气蒸馏提取的精油(代号 X1)、超临界 CO₂ 萃取的精油(代号 X3)和超临界 CO₂ 萃取后经硅胶柱层析得到的馏分(代号为 X5)。

1.2.1 水蒸气蒸馏提取方法 准确称取 90 g 细辛根粉,装入挥发油提取器中,加入 5 倍于药材量的水,并且使挥发油测定器上端充满水,连接回流冷凝管,浸泡 1 h,加热至沸后,保持微沸 6 h,每小时收集提取物,密封,置 4 ℃ 冰箱中保存备用。

1.2.2 超临界 CO₂ 萃取方法 准确称取样品 1.85 kg,装入 5 L 的萃取罐内,进行超临界 CO₂ 萃取,条件为:萃取压力 20 MPa,萃取温度 40 ℃,流量 20 kg/h;解析釜 I 压力 6~7 MPa,温度 45 ℃;解析釜 II 压力 5~6 MPa,35 ℃,萃取时间为 60 min,每 20 min 收集提取物,密封,置 4 ℃ 冰箱中保存备用。

1.2.3 硅胶柱层析方法 采用硅胶柱层析法对超临界 CO₂ 萃取法得到的细辛精油进行分离。柱长 50 cm,直径 5 cm。硅胶为青岛海洋化工厂分厂生产,型号为粗孔 ZCX-II,粒度 0.15~0.106 mm。装好柱后,将 10 mL 精油从最上端倒入,等精油被硅胶吸附后,从最上端用石油醚与乙酸乙酯的混合液进行洗脱,石油醚与乙酸乙酯的比例依次为 8:1、6:1、4:1、2:1、1:1。用预先编号的 20 mL 指形管接洗脱液,跟踪试样洗脱情况,即每接 1 管洗脱液,用毛细管吸取少量点滴在层析板上,在紫外灯下观察显色情况。最后将显色的洗脱液全部点滴在层析板上进行层析,根据层析情况,合并洗脱液。

1.3 试虫的处理

亚洲玉米螟幼虫采用周大荣等^[21]半合成人工饲料配方即新 7 号配方饲养,取发育一致的四龄玉米螟幼虫,饥饿 4~6 h 后待用。分别称取 X3 及 X5 提取物 0.05 g,先用少许丙酮溶解,再加入 3 mL 无菌水,与 100 g 人工饲料(新 7 号配方)混合均匀,药剂含量为 0.5 mg/g。室温放置 2 h 后,接入 120 头试虫,置于人工气候室中饲养(温度 25 ℃,相对湿度 75%,光照时间 17 h)。以未用药处理的人工饲料为对照。分别于处理之日起第 3 天和第 5 天取幼虫 20 头进行酶活性测定。

黏虫用嫩玉米苗饲养,取发育一致的四龄黏虫幼虫,饥饿 4~6 h 后待用。先用少许丙酮溶解 X1 提取物,再用含吐温-80 的无菌水配制质量浓度为 1 000 mg/L 的药剂。将药液均匀喷布在玉米嫩苗上,晾干后用其饲喂黏虫幼虫,饲养条件同上,以

未用药处理的嫩苗为对照。分别于处理后第 3 天和第 5 天取幼虫 20 头进行酶活性测定。

1.4 酶液提取及活性测定

将各试虫解剖,取中肠,按 1:3(m/V)的比例加入生理盐水,冰浴匀浆,匀浆液于 0~4 ℃ 下 8 000 r/min 离心 10 min,上清液即为粗酶液,贮于 4 ℃ 下待用。

超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物(POD)、酸性磷酸酯酶(ApE)、碱性磷酸酯酶(ALP)及谷胱甘肽-S 转移酶(GST)活性采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定,具体操作步骤按照试剂盒说明书进行。羧酸酯酶(CarE)活性参照慕立义主编的《植物化学保护研究方法》^[22]进行测定。

SOD 活性以每毫克组织蛋白在 1 mL 反应液中 NBT 光化还原抑制率达 50% 时所对应的酶量为一个活力单位(U);CAT 活性以每毫克组织蛋白每秒分解 1 μmol H₂O₂ 的酶量为一个活力单位;POD 活性以在 30 ℃ 条件下,每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1 μg 底物的酶量为一个酶活力单位;CarE 活性以每毫克组织蛋白每分钟生成的 α-萘酚毫摩尔数表示;ApE 活性以每克组织蛋白在 30 ℃ 下与基质作用 30 min 产生 1 mg 酚为一个活力单位;ALP 活性以每克组织蛋白在 30 ℃ 下与基质作用 15 min 产生 1 mg 酚为一个活力单位;GST 活性以每毫克组织蛋白在 30 ℃ 反应 1 min 扣除非酶促反应,使反应体系中 GSH 浓度降低 1 μmol/L 为一个活力单位。

1.5 数据分析

数据统计使用 DPS(v3.1)软件进行,采用邓肯氏新复极差检验法(DMRT)进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 细辛精油对害虫体内保护酶活性的影响

结果显示,细辛精油对试虫 SOD 活性具有较强的影响(表 1)。X1 对黏虫幼虫 SOD 活性表现为显著的抑制作用($P<0.05$),且随处理时间的增加酶活性受抑制的程度增大,处理 3 d 时酶活性降低 16.44%,处理 5 d 时酶活性下降 39.94%。X3 对玉米螟幼虫 SOD 活性也表现为显著的抑制作用($P<0.05$),且随处理时间的增加酶活性受抑制的程度增大,处理 3 d 时酶活性降低 31.70%,处理 5 d 时酶活性下降 43.02%。但 X5 对玉米螟幼虫 SOD 活性表现为显著的诱导激活作用($P<0.05$),随处理时间的增加酶活性升高,处理组试虫 3 d 和 5 d 的酶活分别增加了 30.98% 和 115.74%。

表 1 细辛精油对害虫 SOD 活性的影响

害虫	处理	3 d		5 d	
		酶活/(U/mg)	较 CK±/%	酶活/(U/mg)	较 CK±/%
黏虫	CK	6.949 4±0.002 1a		7.057 9±0.001 7a	
	X1	5.806 8±0.004 5b	-16.44	4.238 8±0.009 7b	-39.94
玉米螟	CK	2.407 9±0.011 0b		2.395 2±0.009 5b	
	X3	1.644 6±0.002 0c	-31.70	1.364 9±0.007 0c	-43.02
	X5	3.153 8±0.011 5a	30.98	5.167 4±0.001 5a	115.74

注:不同字母表示处理间差异显著($P<0.05$),下同。

从表 2 可以看出,细辛精油对试虫 CAT 活性也具有一定的影响。X1 对黏虫幼虫 CAT 活性表现为先显著激活而后显著抑制作用($P<0.05$),处理 3 d 时酶活上升 23.44%,处理 5 d 时酶活下降 28.19%。X3 对玉

米螟幼虫 CAT 活性表现为抑制作用,处理 3 d 时酶活降低 0.87%,处理 5 d 时酶活降低 23.88%($P<0.05$)。而 X5 对玉米螟幼虫 CAT 活性表现为激活作用,处理 3 d 时酶活升高 6.97%,处理 5 d 时酶活升高 2.35%。

表 2 细辛精油对害虫 CAT 活性的影响

害虫	处理	3 d		5 d	
		酶活/(U/mg)	较 CK±/%	酶活/(U/mg)	较 CK±/%
黏虫	CK	3.175 2±0.004 2b		3.652 8±0.003 5a	
	X1	3.919 4±0.006 5a	23.44	2.623 0±0.001 5b	-28.19
玉米螟	CK	2.024 0±0.002 1b		2.496 2±0.003 1a	
	X3	2.006 3±0.007 5b	-0.87	1.900 0±0.005 5b	-23.88
	X5	2.165 0±0.008 2a	6.97	2.554 9±0.008 2a	2.35

从表 3 可知,总体上,细辛精油对试虫 POD 活性具有抑制作用,且随处理时间的增加抑制作用增强。X1 对黏虫幼虫 POD 的影响表现为处理 3 d 时酶活降低 15.04%($P<0.05$),处理 5 d 时酶活降低 16.29%

($P<0.05$);X3 对玉米螟幼虫 POD 的影响表现为处理 3 d 时酶活下降 0.79%,处理 5 d 时酶活下降 7.03%($P<0.05$);X5 对玉米螟幼虫 POD 的影响表现为处理 3 d 时酶活降低 3.00%,处理 5 d 时酶活降低 5.52%。

表 3 细辛精油对害虫 POD 活性的影响

害虫	处理	3 d		5 d	
		酶活/(U/mg)	较 CK±/%	酶活/(U/mg)	较 CK±/%
黏虫	CK	15.181 2±0.019 0a		16.572 3±0.020 5a	
	X1	12.897 6±0.001 2b	-15.04	13.873 1±0.017 2b	-16.29
玉米螟	CK	9.253 5±0.013 0a		10.997 2±0.002 5a	
	X3	9.180 3±0.013 5a	-0.79	10.224 4±0.000 5b	-7.03
	X5	8.975 7±0.001 0a	-3.00	10.390 5±0.004 0ab	-5.52

2.2 细辛精油对害虫体内解毒酶活性的影响

从表 4 可以看出,总体上,细辛精油对试虫 CarE 活性具有一定的诱导激活作用,但该作用随处理时间延长有降低的趋势。X1 处理黏虫幼虫 3 d 后,试虫 CarE 活性相对于对照增加 4.08%,处理后

5 d,酶活性增加 3.61%;X3 处理玉米螟幼虫 3 d 后,酶活性增加 11.02%($P<0.05$),处理后 5 d 时,酶活性增加 7.57%($P<0.05$);X5 处理玉米螟幼虫 3 d 和 5 d 时,酶活性分别增加 5.60%、3.89%,但均未达到 0.05 显著水平。

表 4 细辛精油对害虫 CarE 活性的影响

害虫	处理	3 d		5 d	
		酶活/[mmol/(mg·min)]	较 CK±/%	酶活/[mmol/(mg·min)]	较 CK±/%
黏虫	CK	0.273 2±0.011 0a		0.310 2±0.001 5a	
	X1	0.284 4±0.000 6a	4.08	0.321 4±0.005 0a	3.61
玉米螟	CK	0.276 8±0.001 5b		0.375 3±0.004 2b	
	X3	0.307 3±0.007 2a	11.02	0.403 7±0.004 6a	7.57
	X5	0.292 3±0.016 6ab	5.60	0.389 9±0.014 4ab	3.89

磷酸酯酶测定因所采用缓冲液 pH 值不同,可将之分为酸性和碱性磷酸酯酶 2 种。从表 5 可以看出,总体上,细辛精油对试虫酸性磷酸酯酶有诱导激活作用,但随着处理时间的增加,酶活性增加的幅度减小(表 5)。3 种细辛精油对 2 种试虫碱性磷酸酯酶活性的影响也表现出相同的趋势,处理 3 d 时酶活显著增加,处理 5 d 时酶活显著降低(表 6)。

表 5 细辛精油对害虫 ApE 活性的影响

害虫	处理	3 d		5 d	
		酶活/(U/mg)	较 CK±/%	酶活/(U/mg)	较 CK±/%
黏虫	CK	45.935 6±0.005 0b		48.523 1±0.003 5a	
	X1	47.548 6±0.004 6a	3.51	49.422 2±0.009 5a	1.85
玉米螟	CK	55.899 7±0.042 0c		56.001 5±0.009 3a	
	X3	63.678 1±0.005 5a	13.91	56.789 8±0.014 5a	1.41
	X5	59.536 2±0.022 0b	6.51	57.094 7±0.014 1a	1.95

表 6 细辛精油对害虫 ALP 活性的影响

害虫	处理	3 d		5 d	
		酶活/(U/mg)	较 CK±/%	酶活/(U/mg)	较 CK±/%
黏虫	CK	171.074 2±0.014 7b		174.420 9±0.005 8a	
	X1	180.348 6±0.014 0a	5.42	99.549 7±0.045 5b	-42.93
玉米螟	CK	156.265 1±0.093 0c		160.425 5±0.013 3a	
	X3	178.196 0±0.134 1b	14.03	148.623 6±0.044 2b	-7.36
	X5	193.624 3±0.047 1a	23.91	112.130 2±0.016 7c	-30.10

从表 7 可以看出,细辛精油处理 3 d 和 5 d 时,试虫 GST 活性均比对照组显著提高($P<0.05$)。X1 处理黏虫幼虫 3 d 和 5 d 时,黏虫 GST 活性分别增加了 8.77%、7.70%;X3 处理玉米螟幼虫 3 d 和 5 d 时,酶活性分别增加 19.77%、14.92%;X5 处理玉米螟幼虫 3 d 和 5 d 时,酶活性分别增加 11.59%、7.30%。

表 7 细辛精油对害虫 GST 活性的影响

害虫	处理	3 d		5 d	
		酶活/(U/mg)	较 CK±/%	酶活/(U/mg)	较 CK±/%
黏虫	CK	43.359 2±0.003 1b		55.792 3±0.004 9b	
	X1	47.160 2±0.007 0a	8.77	60.090 7±0.003 5a	7.70
玉米螟	CK	38.933 4±0.003 0c		43.507 2±0.002 4c	
	X3	46.630 0±0.002 6a	19.77	49.996 5±0.001 0a	14.92
	X5	43.445 2±0.008 5b	11.59	46.681 6±0.001 0b	7.30

3 结论与讨论

3.1 细辛精油对害虫保护酶系统具有抑制作用

昆虫等生物体内存在由 SOD、CAT 及 POD 构成的保护酶系统,这 3 种酶系协调一致处于动态平衡而使自由基维持在一个较低水平^[23]。一般认为,昆虫体内 SOD、CAT、POD 的活性若受到抑制,虫体内超氧自由基(O_2^-)、氢氧自由基($HO\cdot$)等不能被有效清除,将对虫体产生毒害,最终可能导致昆虫死亡。

本试验结果表明,精油 X1 和 X3 对试虫 3 种保护酶(SOD、CAT、POD)总体表现为抑制作用;精油 X5 对试虫 POD 活性有显著抑制作用,但对 SOD、CAT 有诱导激活作用,并且从处理第 3 天到第 5 天,其对 SOD 的诱导作用还表现出逐步增强的趋势。

就细辛精油 X1 和 X3 而言,其对试虫保护酶活性的抑制作用与其他研究者发现的植物提取物和次生物抑制试虫保护酶系的结果一致。例如,蒋志胜等^[24]研究认为, α -二噻吩对库蚊体内保护酶活性的抑制是其造成试虫正常生理功能失衡直至死亡的主要原因。马志卿等^[25]研究结果表明,以松油烯-4-醇处理黏虫五龄幼虫后,在兴奋期和痉挛期,试虫 CAT 活性变化不大,POD 被稍微抑制;但在麻痹期,CAT 和 POD 均被明显抑制,CAT 的活性仅为对照的 78.0%,POD 的活性仅为对照的 65.0%。有关 X5 诱导试虫 CAT 和 SOD 活性提高的原因还需要进一步分析。

3.2 细辛精油对害虫解毒酶系统具有诱导激活作用

羧酸酯酶、磷酸酯酶、谷胱甘肽转移酶是昆虫体内重要的解毒酶系,在对外源化合物的解毒代谢和

杀虫剂的抗性机制中起着重要作用。有关农药、植物提取物、化合物对昆虫解毒酶系的影响已有较多的报道。王光峰等^[26]研究发现,多杀菌素诱导甜菜夜蛾羧酸酯酶活性增加,药后 24 h,处理试虫相对于对照组其活性增加了 1.61 倍。付昌斌等^[27]研究显示,砂地柏提取物对黏虫羧酸酯酶活性表现出诱导激活作用,是昆虫对外来物的一种自身防御机制。牟少飞等^[28]研究结果表明,槲皮素对烟粉虱羧酸酯酶的诱导作用具有明显的剂量效应和时间效应,低剂量的槲皮素可诱导羧酸酯酶活性增加,而高剂量的槲皮素对该解毒酶没有诱导激活作用,甚至还表现出抑制作用。本试验设置剂量下的细辛精油对试虫羧酸酯酶同样表现出显著的诱导激活作用,然而诱导作用随着处理时间的延长而降低,说明细辛精油处理后,试虫羧酸酯酶的解毒能力随着精油处理时间的延长而下降。

本试验结果显示,细辛精油处理也可诱导试虫酸性磷酸酯酶活性提高,但随着处理时间的延长,其诱导激活作用降低,从而推测,试虫的酸性磷酸酯酶解毒能力随处理时间延长而逐渐减弱。细辛精油处理后,试虫碱性磷酸酯酶活性变化规律表现为:前期(第 3 天)酶活显著升高,后期酶活显著降低,说明本试验设置剂量下的细辛精油在前期对试虫碱性磷酸酯酶有诱导激活作用,但当处理持续一段时间后,精油对试虫碱性磷酸酯酶开始表现出显著的抑制作用,导致试虫解毒能力显著降低。

谷胱甘肽-S 转移酶(GST)能使内源谷胱甘肽(GSH)与有害的亲电子基团结合并排出体外,使昆虫免受这些化合物和基团的危害,从而起到解毒作用^[29-30]。许多农业害虫对杀虫剂特别是有机磷类杀虫剂的抗药性与 GST 的活性增加有关^[31]。牟少飞等^[28]的研究表明,槲皮素对 GST 的诱导作用具有明显的剂量效应和时间效应,低剂量的槲皮素可诱导 GST 活性的增加,而高剂量的槲皮素对该解毒酶没有诱导增加作用,甚至还有抑制作用。本试验设置剂量下的细辛精油对试虫 GST 有显著诱导激活作用,但随着处理时间的增加,GST 活性增加的幅度有降低的趋势。说明细辛精油短时间处理试虫后诱导 GST 活性的增加,可能是昆虫的一种应激反应^[31],增加了昆虫的解毒代谢能力,但长时间处理对昆虫的毒害作用逐渐积累,从而会导致酶活不断降低。

3.3 细辛精油中的活性化合物及其对试虫可能的影响

目前,国内多位研究者分析了细辛及其挥发油中的成分。杨大峰^[32]等研究显示,细辛中主要成分

(按大小次序)包括甲基丁香酚(methyl eugenol)、优葛缕酮(eucarvone)、榄香脂素(elemicin)、黄樟醚(safrole)、 α -蒎烯(α -carene)、 β -蒎烯(β -pinene)等。张峰等^[33]、曾虹燕等^[34]、杨厚玲等^[35]的研究显示,除上述成分外,细辛挥发油中还可能包括(含量较低)肉豆蔻醚(myristicin)、细辛脂素(D-asarinin)、爱草醚(estragole)等活性成分。Perumalsamy 等^[36]在北细辛中还检测出墙草碱(pellitorine)和 α -细辛醚(α -asarone)。

一些研究者以细辛精油中含有的化合物对昆虫进行了生物测定。张静等^[37-39]的研究证明,细辛醚对家蝇、淡色库蚊和部分农业害虫有明显的杀虫效果,其对昆虫的致毒症状与神经毒剂类似。Perumalsamy 等^[36]研究发现,北细辛根提取物中的细辛脂素和墙草碱显示出对已有抗药性的蚊子种群的控制作用,值得进一步研究,有望开发为杀蚊剂。

综合本试验结果,细辛精油对昆虫的控制作用还可能通过抑制其保护酶系(SOD、CAT、POD)而实现的。由于细辛精油是一种混合物,成分较为复杂,下一步需要确定细辛精油中具体的活性化合物种类以及各自的作用机制。

参考文献:

- [1] 徐汉虹,安玉兴.生物农药的发展动态与趋势展望[J].农药科学与管理,2001,22(1):32-34.
- [2] 侯华民,张兴.植物精油对玉米象的熏蒸和种群抑制活性研究[J].粮食储藏,2001,30(3):8-11.
- [3] 刘学文,徐汉虹,鞠荣,等.植物精油在农药领域中的研究进展[J].香料香精化妆品,2004(2):36-39.
- [4] 杜成智,陈玉萍,覃洁萍,等.不同产地细辛挥发油的 GC-MS 分析[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(7):57-59.
- [5] 熊玉兰,荆宇,尚明英,等.细辛非挥发性提取物抗炎镇痛作用研究[J].中国中药杂志,2009,34(17):2252-2257.
- [6] 袁晓琴,孙莲芬.细辛挥发油镇痛作用机制的初步实验研究[J].现代生物医学进展,2009,9(4):718-720.
- [7] 杨浩,王磊,魏景莉,等.细辛替代吗啡镇痛可行性实验研究[J].中国临床研究,2010,23(7):568-570.
- [8] 谢伟,陆满文.毛细辛挥发油的中枢抑制、解热镇痛和抗炎作用[J].中国药理学通报,1993,9(5):389.
- [9] 段鹤君,付朝晖.细辛挥发油化学成分研究[J].中药材,2010,33(4):562-565.
- [10] 杨银书,刘增加,张继军,等.8种植物挥发油对媒介硬蜱的驱避效果研究[J].医学动物防制,2002,18(5):234-235.
- [11] 莫建初,张时妙,滕立,等.细辛对黄胸散白蚁的毒效

- [J]. 农药学报, 2003, 5(4): 80-84.
- [12] 王桂清, 姬兰柱, 张弘. 辽细辛精油对淡色库蚊的杀伤作用[J]. 中国生物防治, 2008, 24(2): 112-115.
- [13] 刘树民, 罗明媚, 杜心懿, 等. 细辛挥发油对栖北散白蚁毒效作用[J]. 中药材, 2006, 29(6): 539-541.
- [14] 王桂清, 张军华, 张敏, 等. 辽细辛提取物对拟盘多毛孢菌的离体抑制作用[J]. 河南农业科学, 2008(2): 60-63.
- [15] 王树桐, 胡同乐, 张凤巧, 等. 中药细辛提取物对番茄灰霉病菌的抑菌作用及防病效果研究[J]. 河北农业大学学报, 2006, 29(1): 59-62.
- [16] 王树桐, 曹克强, 胡同乐, 等. 对番茄灰霉病菌有抑菌活性的丁香和细辛提取物提取条件研究[J]. 河北农业大学学报, 2004, 27(1): 69-72.
- [17] 张国珍, 樊瑛, 丁万隆, 等. 麻黄和细辛挥发油的抗真菌作用[J]. 植物保护学报, 1995, 22(4): 373-374.
- [18] 周勇, 姚三桃, 吴琦, 等. 细辛挥发油抗真菌作用及其有效成分黄樟醚的研究[J]. 中医杂志, 1981, 22(12): 62-64.
- [19] 刘海燕. 细辛挥发油抗植物病原真菌活性及作用机理研究[D]. 北京: 中国协和医科大学, 2006.
- [20] 杨秀娟, 何玉仙, 陈福如, 等. 不同植物提取液的杀线虫活性评价[J]. 江西农业大学学报: 自然科学版, 2002, 24(3): 386-389.
- [21] 周大荣, 王玉英, 刘宝兰, 等. 玉米螟人工大量繁殖研究: I. 一种半人工饲料及其改进[J]. 植物保护学报, 1980, 7(2): 113-122.
- [22] 慕立义. 植物化学保护研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994.
- [23] Fridovich I. Oxygen is toxic[J]. Bioscience, 1977, 27(7): 462-467.
- [24] 蒋志胜, 尚稚珍, 万树青, 等. 光活化杀虫剂 α -二噻吩的电子自旋共振分析及其对库蚊保护酶系统活性的影响[J]. 昆虫学报, 2003, 46(1): 22-26.
- [25] 马志卿, 颜瑞莉, 陈根强, 等. 松油烯-4-醇对粘虫体内保护酶活力的影响[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2004, 32(10): 85-88.
- [26] 王光峰, 张友军, 柏连阳, 等. 多杀菌素对甜菜夜蛾多酚氧化酶和羧酸酯酶的影响[J]. 农药学报, 2003, 5(2): 40-46.
- [27] 付昌斌, 张兴. 砂地柏提取物对粘虫幼虫体内几种酶系活性的影响[J]. 植物保护学报, 2000, 27(1): 75-78.
- [28] 牟少飞, 梁沛, 高希武. 槲皮素对 B 型烟粉虱羧酸酯酶和谷胱甘肽-S 转移酶活性的影响[J]. 昆虫知识, 2006, 43(4): 491-495.
- [29] 唐振华. 昆虫抗药性及其治理[M]. 北京: 农业出版社, 1990.
- [30] 张宗炳. 杀虫药剂的分子毒理学[M]. 北京: 农业出版社, 1987.
- [31] 董向丽, 高希武, 郑炳宗. 植物次生物质对棉铃虫谷胱甘肽-S 转移酶和乙酰胆碱酯酶的影响[J]. 植物保护学报, 1998, 25(1): 72-78.
- [32] 杨大峰, 闫汝南, 杨春澍, 等. 五个不同来源细辛挥发油气相色谱-质谱分析[J]. 中国中药杂志, 1997(7): 426-428.
- [33] 张峰, 王龙星, 罗茜, 等. 气相色谱-质谱分析北细辛根和根茎中的挥发性成分[J]. 色谱, 2002, 20(5): 467-470.
- [34] 曾虹燕, 李昌珠, 蒋丽娟, 等. 不同方法提取光皮树籽油的 GC-MS 分析[J]. 中国生物工程杂志, 2004, 24(11): 83-86.
- [35] 杨厚玲, 邱琴, 陈婷婷, 等. 不同方法提取的北细辛挥发油的气质联用成分分析[J]. 中国药学杂志, 2007, 42(13): 1031-1033.
- [36] Perumalsamy H, Chang K S, Park C, et al. Larvicidal activity of *Asarum heterotropoides* root constituents against insecticide-susceptible and -resistant *Culex pipiens pallens* and *Aedes aegypti* and *Ochlerotatus togai*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(18): 10001-10006.
- [37] 张静, 马志卿, 冯俊涛, 等. 细辛醚对家蝇和淡色库蚊的生物活性[J]. 农药学报, 2005, 7(1): 85-87.
- [38] 张静, 冯岗, 马志卿, 等. 细辛醚对粘虫幼虫的毒力及几种重要酶系的影响[J]. 昆虫学报, 2007, 50(6): 574-577.
- [39] 张静, 冯岗, 马志卿, 等. 细辛醚对 6 种农业害虫的杀虫活性[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2008, 36(4): 166-170.