

中国植物源杀虫剂研究进展

王桂清^{1,2}, 姬兰柱¹, 张弘^{1,3}, 王晓伟¹

(1中国科学院沈阳应用生态研究所, 沈阳 110016; 2聊城大学农学院, 聊城 252059; 3沈阳化工研究院, 沈阳 110021)

摘要: 植物源杀虫剂是当前农药研究的热点。本文介绍了中国 2000 年以来植物源杀虫剂最新研究进展, 内容包括杀虫植物筛选、杀虫活性成分鉴定、杀虫物质的生物合成 (组织培养、发状根培养和利用内生真菌)、植物源杀虫剂的作用机理、对非靶标生物的毒性和应用技术等; 并就其发展趋势作了展望。

关键词: 植物源杀虫剂; 组织培养; 发状根培养; 内生真菌; 作用机理; 毒性; 非靶标生物

Current Progress in Research of Botanical Insecticides in China

WANG Gui-qing^{1,2}, JI Lan-zhu¹, ZHANG Hong^{1,3}, WANG Xiao-wei¹

(1Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016; 2College of Agronomy, Liaocheng University, Liaocheng 252059; 3Shenyang Research Institute of Chemical Industry, Shenyang 110021)

Abstract: Botanical insecticides are a hot spot in the research of pesticide at present. This paper summarizes the current progresses in the research of botanical insecticides from 2000 to present in China. The sieving of insecticidal plant, determination of active ingredient, biosynthesis of insecticidal substances (including tissue culture, hairy root culture and utilization of endophytic fungi), effective mechanism, toxicity on non-target organism and application of botanical insecticides were reviewed. The future tendency of the research and development of botanical insecticides were also prospected.

Key words: Botanical insecticides; Tissue culture; Hairy root culture; Endophytic fungi; Effective mechanism; Toxicity; Non-target organism

0 引言

自 2000 年以来, 中国农业部和各级地方政府相继出台有关法规, 禁止了许多高毒、高残留化学农药 (如甲胺磷、呋喃丹、甲基对硫磷等) 的使用; 欧盟也正式颁布了 2076/2002 号法规, 通告在 2003 年 7 月 25 日 (不得迟于 2003 年 12 月 31 日) 后禁止 320 种农药 (或化学物) 的使用, 其中涉及中国仍在生产、使用及销售的多个农药品种。由于这些农药目前已广泛应用于中国的水果、茶叶、蔬菜、谷物等生产, 因此使用这些农药的农产品在出口欧盟时, 有可能被退货或销毁。农产品出口屡遭“绿色壁垒”的冲击, 致使国家不得不限制许多化学农药的使用, 这无形之中为生物农药的发展提供了更广阔的空间。同时随着生

活水平的提高, 健康意识的增强, 人们越来越崇尚天然产品、无污染食品等。因此, 在作物上使用更加安全的生物农药来替代化学农药已经成为当务之急。开发对有害生物高效、对非靶标生物安全、易分解、且分解产物对环境无损害的生物农药是目前广泛研究和应用的领域, 从生物中提取、分离新的天然活性化合物是开发新农药的重要途径。生物农药、以生物成分为先导合成新的化学农药, 成为当今植保界、化工界研究的热点。

1 杀虫资源研究

1.1 杀虫植物筛选与活性成分鉴定

植物是生物活性化合物的天然宝库, 其产生的次生代谢产物超过 40 万种。某些次生代谢物质是在长期

收稿日期: 2005-10-20; 接受日期: 2006-01-13

基金项目: 中国科学院知识创新方向性项目 (KZCX1-SW-19) 和中国科学院农办重点项目

作者简介: 王桂清 (1968-), 女, 黑龙江北安人, 副教授, 博士, 在研博士后, 研究方向为植物保护。E-mail: guiqingwang2003@yahoo.com.cn.

通讯作者姬兰柱 (1960-), 男, 辽宁抚顺人, 研究员, 博士生导师, 研究方向为昆虫生态学、分类学、森林生态系统健康与管理等。Tel: 024-83970302; E-mail: ji.lanzhu@iae.ac.cn

生存竞争中为抵御逆境伤害所形成的, 往往具有某些特异的生物活性, 为研究开发植物源农药提供了丰富的资源。植物中的化学成分十分复杂, 一种植物体内其杀虫活性成分往往不只 1 种, 且它们之间和它们与有机体之间往往呈现十分复杂的相互作用, 对害虫常表现出毒杀、拒食、忌避、拒产卵、抑制种群形成、引诱、麻醉和抑制生长发育等复杂多样的作用方式。

张国洲等^[1,2]从采自青海省的 18 种植物中筛选出高效杀虫植物——瑞香狼毒(*Stellera chameejasme*); 通过对菜粉蝶(*Pieris rapae*)拒食活性跟踪、四大谱(IR、UV、NMR、MS)鉴定, 从瑞香狼毒根的乙醇提取物的石油醚萃取物中分离得活性成分 β -谷甾醇; 从氯仿萃取物中分离得 3 种活性成分, 即伞形花内酯、瑞香亭和狼毒色原酮。高平等^[3]从瑞香狼毒中分离出两种天然杀蚜虫物质: 1,5-二苯基-1-戊酮和 1,5-二苯基-2-戊烯酮, 两个化合物都对棉蚜(*Aphis gossypii*)和麦二叉蚜(*Schizaphis graminum*)有良好的触杀作用和拒食作用, 结构上具有 C₆-C₅-C₆ 骨架的化合物可能代表了一类新的杀蚜虫剂。

李云寿等^[4]用 14 种菊科植物的石油醚、氯仿、丙酮、乙醇、甲醇和水提取物对菜青虫 5 龄幼虫的生测结果表明, 黄花蒿(*Artemisia annua*)、青蒿(*A. apacea*)、艾蒿(*A. argyi*)、鱼眼草(*Dichrocephala auriculata*)、小鱼眼草(*D. benthamii*)、紫茎泽兰(*Eupatorium adenophorum*)、万寿菊(*Tagetes erecta*)等 7 种菊科植物的甲醇和乙醇提取物具有较高的杀虫活性。从紫茎泽兰氯仿萃取物中分离得到的紫茎泽兰素 A 对棉蚜无翅成蚜的致死中浓度(LC₅₀, 浸渍法)为 362.8 mg·L⁻¹^[5]。

冯建菊等^[6]对新疆南疆地区的 11 种植物进行了杀虫(棉铃虫 *Helicoverpa armigera*)筛选, 表明胀果甘草(*Glycyrrhiza inflata*)和蔓陀萝(*Datum stramonium*)具有一定的药效。操海群^[7]对安徽省广德县的 10 种竹类的水提取物进行了生物活性研究, 初步研究发现, 供试竹种提取物对玉米象(*Sitophilus zeamais*)成虫均具有一定程度的驱避作用, 其中以灰水竹(*Phyllostachys platy glossa*)提取物的活性最为显著。徐汉虹等^[8]从 62 种中药材中用家蝇(*Musca domestica*)筛选出千里光属掌叶千里光(*Senecio palmatus*)具有很好的杀虫作用, 并鉴定其结构为 jacaranone。

1.2 杀虫物质的生物合成

从天然植物中提取活性物质并进行有效的利用目前还受到许多限制, 这主要是: (1) 植物资源的限

制。野生植物资源有限、植物引种和驯化困难、可耕地面积日益减少等原因使得植物资源很宝贵; (2) 植物样品标准化的限制。同一种植物不同品种、同一品种因产地及生态地理位置不同、同一种植物的不同部位其有效成份含量差别较大; 同时植物在栽培过程中易受自然环境影响, 使产量和质量难以控制。生物技术是 21 世纪的主导技术, 是解决人类面临的诸多问题的有力武器。应用植物细胞培养技术对高效杀虫植物加大繁殖力度以及对杀虫植物进行器官、细胞大规模发酵培养, 从而解决植物性杀虫剂的来源问题。

1.2.1 组织细胞培养 近年来国内外对鱼藤酮等高效植物源杀虫成分的离体生物合成研究显示出诱人前景, 通过对培养系统、培养条件和各种物理化学因素对离体生物合成的调节, 有望在不远的将来利用生物技术达到工厂化生产植物源杀虫活性成分的目的。

林立东等^[9]试验表明, 在含有 BA 和 NAA 的培养基中可诱导产生印楝(*Azadirachta indica*)愈伤组织, 愈伤组织在无激素的 MS 培养基中光照培养 15~25 d 可发育成完整植株; 从愈伤组织中, 分离鉴定出 5 个化合物: 柳杉酚, 豆甾醇, 软脂酸-1-甘油酯, 豆甾醇-3-O- β -D-吡喃葡萄糖甙, 豆甾醇-3-O- β -D-吡喃葡萄糖甙-6'-十六烷酸酯。董建新, 李小六等^[10,11]分别以除虫菊(*Pyrethrum cinerariifolium*)茎尖和花蕾为外植体, MS 培养基为基本培养基, 对其愈伤组织的诱导和继代进行了系统研究, 探索了常温状态下愈伤组织培养的最佳培养基和培养条件。在银杏(*Ginkgo biloba*)外植体中, 已在叶、茎、根、胚、胚乳等组织中检测到类黄酮, 但是来源不同的外植体组织细胞产生的次生代谢物有明显差异, 而且不同发育阶段的胚乳组织细胞所产生黄酮苷含量也有明显的差异^[12]。曾鑫年等^[13]研究了不同前体物对毛鱼藤(*Derris elliptica*)离体合成鱼藤酮的影响, 结果表明, 供试前体物肉桂酸, 苯丙氨酸和蛋氨酸在低浓度下均对培养物生长有一定的促进作用, 而在较高浓度下则对生长有较明显的抑制作用。

1.2.2 发状根培养 利用发根农杆菌(*Agrobacterium rhizogenes*)感染双子叶植物形成发状根是继植物细胞培养后的又一新的培养系统。由于发根农杆菌的 Ri 质粒转化的发状根生长快, 易于培养, 有用成分高, 具有表达完整的代谢通路, 为植物次生代谢产物的工业化生产提供了广阔前景。20 世纪 90 年代中国曾对药用植物如银杏、红豆杉、绞股蓝、黄芪等进行过发状根培养研究。

侯学文等^[14]以万寿菊幼嫩健壮无菌叶片为材料,与发根农杆菌R1601共培养,成功地诱导并建立起了万寿菊发根离体培养体系,利用HPLC反相柱分析发根中 α -三萜酚的含量在6.10~7.73 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ 之间,高于万寿菊愈伤组织的含量。崔红等^[15]将发根农杆菌Arl334工程菌株与烟草(*Nicotiana tabacum*)叶片共培养,建立了发根的诱导和再生体系,诱导的根在MS无激素培养基上呈现旺盛的生长态势和典型的发状根结构特点。李雅丽等^[16]用蒙古黄芪(*Astragalus membranaceus* var. *mongolicus*)无菌籽苗的不同部位作为外植体,用发根农杆菌R1601进行感染,由下胚轴成功的诱导出发状根;用硅胶薄层层析法检测到发状根中含有冠瘿碱。

1.2.3 利用内生真菌 所谓内生真菌,是指寄生在植物体内度过整个或几乎整个生活周期而不使寄主表现任何病害症状的真菌,是植物微生物系统中的天然组成成份。植物寄主可将其遗传物质或信息传递给其内生真菌,使之在一定程度上具有和寄主相同或类似的代谢途径,并导致其产生特定的物质。因此可从植物体内分离出能产生活性化合物的内生真菌,进行人工培养而获得大量的活性物质。

王梅霞等^[17]从银杏叶片中分离获得了一株可产生黄酮类化合物的内生真菌EG4(刺盘孢*Colletotrichum* sp.)。兰琪等^[18]从苦皮藤(*Celastrus angulatus*)根和侧枝中分别分离得到24株和15株内生真菌,其中1B菌株菌丝体的丙酮粗提物对3龄粘虫(*Mythimna separata*)有毒杀作用,在500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 浓度处理下,24 h后的死亡率为85.3%。另有报道从芦苇草(*Festuca arundinacea*)和黑麦草(*Lolium perenne*)中分离出的内生真菌已达6个属,其中枝顶孢属(*Acrmonium*)菌类可以控制蚜虫的危害^[19]。

但总的来说,利用生物技术进行植物次生代谢物质的生产还主要应用于制药工业中一些价格高、产量低、需求量大的化合物上(如紫杉醇、长春碱等),在植物源农药研究与生产中应用还不多。

2 作用机理研究

植物源杀虫剂按照其作用原理大体分为神经毒剂、呼吸毒剂、消化毒剂和生长调节剂等4种。目前对各个活性成分进行作用机制方面的研究已达到细胞水平和分子水平。

一般来说,具麻醉活性的成分可视为神经毒剂。从疣枝卫矛(*Euonymus verrucosides*)根皮中分离到的

麻醉成分F可使粘虫心搏速率降低,呼吸耗氧量降低,并使试虫体内谷氨酸及 γ -氨基丁酸含量显著增加,化合物F可能影响 γ -氨基丁酸为递质的突触神经兴奋传导^[20]。胡兆农等^[21,22]应用电生理技术、细胞内微电极技术,研究了麻醉成分苦皮藤素IV和毒杀成分苦皮藤素V对果蝇(*Drosophila melanogaster*)3龄幼虫腹纵肌神经-肌肉兴奋性接点电位(EJPs)和自发电位(SP)的作用后表明,苦皮藤素IV可使自发电位发放频率明显降低,而苦皮藤素V可使发放频率先增加,后降低,并且在某些标本中记录到明显的重复簇状发放;苦皮藤素IV和V对神经-肌肉兴奋性接点电位(EJPs)的影响表现为逐渐抑制、最后阻断,其阻断时间与浓度有一定的相关性。杜育哲等^[23]则用膜片钳技术研究了苦皮藤素对棉铃虫幼虫离体培养中中枢神经细胞钠通道门控过程的影响,发现苦皮藤素IV对钠通道具有迅速的浓度依赖性阻滞作用。

鱼藤酮是生物细胞线粒体呼吸链中NADH到泛醌氧化还原酶的高效抑制剂,这也是该类化合物杀虫活性的主要机制。曾鑫年^[24]用新鲜牛心制备电子传递体进行的试验结果表明,毛鱼藤酮和鱼藤酮一样对电子传递体中NADH氧化还原酶具有抑制作用,毛鱼藤酮的抑制中浓度(IC₅₀)为5.27 $\text{nmol}\cdot\text{ml}^{-1}$,低于鱼藤酮的抑制中浓度(2.58 $\text{nmol}\cdot\text{ml}^{-1}$)。

消化毒剂对昆虫的作用靶标一是破坏中肠,二是影响消化酶系。唐古特瑞香(*Daphne tangutica*)提取物能够引起菜粉蝶中肠围食膜消失,组织受到破坏,肠壁细胞分隔模糊,脂肪体呈消融状^[25];芫花(*Flos genkwa*)粗提物对卫矛尺蠖(*Abraxas miranda*)幼虫中肠组织结构也产生影响,使之细胞核减少,围食膜消失,空泡数量增多,肠组织结构变得没有层次性,微绒毛表现出明显的病变^[26]。付昌斌等^[27]证明粘虫幼虫取食砂地柏(*Sabina vulgaris*)提取物(SVB)后,体内羧酸酯酶、蛋白酶及酯酶被激活,而主要解毒代谢酶多功能氧化酶的环氧化作用则被强烈抑制。徐汉虹等^[25]的研究表明,唐古特瑞香能显著降低菜粉蝶幼虫 α -乙酸萘酯酶和 β -乙酸萘酯酶的活力。卫矛尺蠖幼虫取食芫花乙醇粗提物24 h后,中肠淀粉酶、酯酶、转化酶、蛋白酶活力指数不同程度的升高,而海藻糖酶活力指数下降;而且肠组织中酶活力增加的程度比肠腔中大得多,说明芫花粗提物是先作用肠组织,引起分泌的酶量增加,然后才使肠腔中酶活力增加^[26]。张国洲等^[28]采用聚丙烯酰胺凝胶电泳分析法,就瑞香亭和狼毒色原酮对菜粉蝶5龄幼虫处理24 h后的酯酶同工酶

进行了测定, 表明两种物质对试虫的酯酶同工酶有较大的影响, 部分酶带被削弱, 部分酶带被加强, 还产生新酶带。

川楝素为三环四萜类化合物, 经杨东升等^[29]研究发现有效浓度的川楝素能显著抑制家蝇幼虫的生长发育, 并且家蝇的一些蛹出现畸形, 预示其是一种很好的生长抑制剂。

然而, 植物的杀虫活性成分并不是以一种单一的方式作用于试虫, 以苦皮藤素 V 为例, 除了其胃毒作用外, 杨润亚等^[30,31]发现粘虫幼虫经苦皮藤素 V 处理后, 抽搐期和失水期体内的 AchE 活性、 γ -氨基丁酸 (GABA) 含量均下降, 谷氨酸 (Glu) 含量则升高; 抽搐期中肠 Na-K-ATPase 活性与对照无显著差异, 而失水期酶活性升高了 10.07%, 并且苦皮藤素 V 引起中毒试虫中肠环腺苷酸 (cAMP) 的含量显著升高。

3 对非靶标生物的毒性研究

在农药的选择与使用方法上, 人们面临的问题是既要有针对性地防治有害生物, 又不伤害不在防治范围内的非靶标生物。农药对非靶标生物的影响主要是对环境有益生物而言的。关于植物源农药的安全性问题, 许多人都认为植物源农药毒性低, 对环境和人畜以及非靶标生物安全, 属于“绿色农药”。但是并非所有的植物性农药都具有生物合理性, 它很可能对非靶标生物有影响, 甚至对人体健康产生危害。如烟草、狼毒等对高等动物具有较高的毒性, 其中烟碱对人畜毒性相当高 (LD_{50} 为 50~60 mg·kg⁻¹)。杀虫剂对环境非靶标生物的毒性与危害性, 是新农药开发中不可缺少的环节, 同时还可为该药的科学合理使用提供指导。

曾鑫年等^[32]测定过鱼藤酮、印楝素、川楝素和烟碱对玉米螟赤眼蜂 (*Trichogramma ostrinae*) 成蜂的急性毒性。结果表明, 印楝素和川楝素的毒性非常低, 其 LC_{50} 大于 20 000 mg·L⁻¹, 而鱼藤酮和烟碱的急性毒性较高, LC_{50} 分别为 118.9676 mg·L⁻¹ 和 0.4106 mg·L⁻¹; 但植物杀虫剂对赤眼蜂的急性毒性要比高效氯氰菊酯 (LC_{50} 为 0.0378 mg·L⁻¹) 低几个数量级。郑许松等^[33]的试验表明, 雷公藤 (*Tripterygium wilfordii*) 的根皮提取物对寄生蜂黄足绒茧蜂 (*Apanteles flavipes*) 基本无触杀作用。雷公藤质量分数为 10% 高浓度处理 48 h 后, 寄生蜂的死亡率与对照无显著性差异, 处理 72 h 后与对照才表现差异。雷公藤质量分数为 0.1% 和 1% 时, 对寄生蜂未表现出毒性。祁志军等^[34]在国内首次对一种植物源农药进行了系统的安全性评价。研究表明,

0.2% 苦皮藤素乳油在田间稀释 1 000 倍使用时, 对自然界 7 种主要的非靶标生物——鸟类、鱼类、蜜蜂、蚯蚓、瓢虫、蝌蚪及土壤微生物均表现安全低毒; 对家蚕 (*Bombyx mori*) 具有一定的接触毒性, 且会影响产茧量, 但如果蚕农在饲喂幼蚕前对桑叶进行彻底清洗和消毒, 则其实际毒害作用将会变得很小。

4 应用技术研究

目前, 中国植物源农药的开发利用主要从两个方面进行: 一是直接利用, 即对植物中的活性物质进行粗提取后, 直接加工成可利用的制剂, 这种利用方式的主要优点是能够发挥粗提物中各种成分的协同作用, 其投资少, 开发周期短; 二是间接利用, 即研究活性物质的结构、作用机制、结构与活性间的关系, 进而人工模拟合成筛选, 从中开发新型植物源农药制剂。

4.1 直接利用

苦皮藤素是苦皮藤中主要的杀虫活性成分, 以其为主要成分, 已经开发出 0.2% 的苦皮藤素 V 乳油及 0.15% 的苦皮藤素微乳剂等。丁伟等^[35]表明苦皮藤乳油田间防治菜青虫的有效浓度以 50 mg·kg⁻¹ 为宜。翟兴礼等^[36]进一步研究了苦皮藤乳油对菜粉蝶的毒性, 认为苦皮藤乳油对菜粉蝶卵的孵化没有明显影响, 但对幼虫有明显的毒杀作用, 随着龄期的增加, 菜青虫对苦皮藤乳油的敏感性逐渐降低; 而且苦皮藤乳油单用毒力不高, 混入一定量 Bt 即有明显的增效作用, 增效作用最明显的是 Bt 125 mg·L⁻¹ 与 KPT 750 mg·L⁻¹ 混用。

苦参 (*Radix sophorae*) 中活性成分为生物碱如苦参碱等, 已进行农药的开发和田间实际应用。用 0.8% 的苦参碱内酯防治梨二叉蚜 (*Schizaphis piricola*), 使用 800 倍液药后 7~14 d 防效均可达 94% 以上; 防治桃瘤头蚜 (*Tuberocephalus momonis*), 用 800~1 000 倍液药后 7~14 d 防效均在 95% 以上; 对韭菜重要害虫韭蛆 (*Bradysia odoriphaga*) 也具有很好的杀蛹效果和良好的田间防效^[37,38]。

黄杜鹃 (*Flos Rhododendri*, 又称闹羊花) 中的主要杀虫有效成分闹羊花毒素对昆虫有触杀、胃毒和熏蒸作用。用黄杜鹃可加工制作黄杜鹃粉剂和黄杜鹃水剂两种植物农药, 可用于防治叶蝉、稻飞虱、蓟马、蚜虫、黄守瓜、盲蝽象、地老虎等害虫^[39]。

4.2 间接利用

从植物中发现活性化合物后只有采用结构和活性

的定量关系(QSAR)研究方法对先导化合物进行展开和优化才有希望得到更高活性的化合物,结构和活性的研究是植物杀虫剂开发的关键。

结构和活性关系的研究主要采用定性和半定量的方法,比较某一类(如生物碱、苷类、内酯等)数个化合物的骨架结构、取代基种类对生物活性的贡献。严炳丽等^[40]利用酰氯水相简易工艺合成了52个N-甲基取代苯基氨基甲酸酯类化合物,并测定了它们对家蝇的室内毒力。结果表明,烷基单取代化合物中,间位取代物的活性大于邻、对位;单卤素取代物中,邻位取代活性大于间位和对位,邻溴代物大于邻氯代物;对位硫甲基和邻位硫乙基取代物的活性均较高。对于烷基间位苯环取代化合物,在一定限度内随烷基分子量增大,化合物对家蝇的毒力增高,其次序为异丙基>乙基>甲基>未取代。

还有一类的研究叫定量结构活性相关性研究,就是对已知先导化合物的一系列衍生物进行定量的生物活性测定,分析衍生物的理化参数和活性的关系,建立结构-活性数学模型,并以此来指导药物分子的设计和合成。高蓉、田暄等^[41,42]以鬼臼毒素为原料合成了几种衍生物,以菜青虫、小菜蛾(*Plutella xylostella*)和粘虫为试虫,测定了其生物活性。研究发现母体的几种异构体中,鬼臼毒素的活性最强;4'位为甲氧基的生物活性较4'位为羟基的活性要高;内脂环打开的衍生物活性降低,并由此推断出具杀虫活性的鬼臼类似物的理想结构。

生物源农药研究与开发的一条主要途径是结构修饰半合成,即以活性成分或具有相同分子骨架,但生物活性很低乃至无活性的成分为原料,进行人工半合成,以期获得更优秀的化合物。苦皮藤素(Celangulin V)是杀虫植物苦皮藤中最主要的杀虫活性成分,但苦皮藤素V的毒力与一般化学合成杀虫剂相比,要低1~2个数量级,且仅有胃毒活性。目前研究人员开始进行苦皮藤素结构修饰研究,以期获得新的高效衍生物。张继文等^[43]根据苦皮藤素V分子结构含有C₆-OH的特点,采用常规方法合成了苦皮藤素V的酯、酮及醚衍生物。合成的衍生物与苦皮藤素V一样,对粘虫均不表现触杀活性,而只表现胃毒活性,与苦皮藤素V的杀虫活性相比,其乙酯衍生物的杀虫活性提高了20.9%,烯丙基醚衍生物的杀虫活性提高了11倍,而其酮的衍生物则完全丧失了杀虫活性;另外以苦皮藤提取物水解产物中的多羟基β-二氢沉香呋喃为原料,合成了两个具有杀虫活性的苦皮藤素类似物A和B:

2β,6α,8β,13-四异丁酰氧基-1β,4α,9α-三羟基-β-二氢沉香呋喃及1β,2β,6α,8β,13-五异丁酰氧基-4α,9α-二羟基-β-二氢沉香呋喃。化合物A和B均为新化合物,在20 mg·ml⁻¹的浓度下对3龄粘虫的胃毒活性(死亡率)分别为89.5%和93.2%^[44]。

5 展望

虽然植物源农药与化学农药相比,具有不可替代的优势,但植物源农药的研究还存在一些问题,一是应用范围较窄,只是对少数的病虫害起作用,缺乏广谱性;二是稳定性不够,植物次生代谢物质的种类、含量除受自身遗传因子控制外,还受外界环境条件(如土壤、温度、光照、土壤pH值),土壤营养成分和周围生物群落等的影响;三是有效成分的确定较困难,不同植物,不同部位有效成分不同,同一种植物含有多种不同有效成分,给人工合成带来很大的困难,这也是目前人工模拟合成植物源农药少的一个重要原因,给植物源农药的质量控制带来一定的影响。

徐汉虹等^[45]提出导向农药新理念,所谓“导向农药”就是农药有效成分(杀虫弹头)与导向载体偶联后能在植物体内向特定部位(如果、叶、芽或害虫取食造成的伤口)定向累积的农药制剂。与相应的常规农药相比,导向农药可能使制剂用量降低几倍或几十倍甚至上千倍。导向农药是农药研究中一个全新的概念,将为农药科学开辟一个全新的研究领域。导向药物的研究将延长许多常规化学农药的使用寿命,也将使植物性农药等生物农药的研究实现突破性进展。导向农药制剂中的有效活性成分的含量大大降低,而防效不变,这将使许多因采集量不能达到大规模生产要求而杀虫活性很高的植物性杀虫剂有可能转化为商品化农药产品,这将彻底改变植物性杀虫剂难以大规模生产的难题。

中国由于缺乏相应的资金、人力投入和创新平台,因此植物源农药的研究和创制目前主要集中在活性成分的直接利用和合理配伍上(植物源农药研究的第一、二层次)。随着中国各级政府和企业对新农药创制的投入加大以及研究队伍的扩大,中国的研究重点正在向植物源农药研究的第三、四层次(化学合成、用作先导化合物)转移。植物源农药将会越来越多地为新农药创制提供新的活性先导化合物,对其进一步模拟修饰合成有望发现结构全新、机理独特、安全高效的农药新品种,在新农药开发难度愈来愈大的今天,这将会成为创制新农药的主流。

中国植物资源丰富, 为植物源杀虫剂开发利用提供了丰富的杀虫活性物质, 且具有巨大潜力; 中国研究开发医用植物历史悠久, 对中药材的研究积累了丰富的经验; 随着精密仪器和现代生物技术的使用, 色谱技术、核磁共振、质谱、单晶、X-射线衍射技术的进步, 将使中国对于植物源杀虫剂的研究达到国际先进水平。植物源杀虫剂在中国的发展前景十分广阔, 在今后的害虫综合治理中必将扮演重要的角色。

References

- [1] 张国洲, 徐汉虹, 赵善欢, 孙洪发, 纪兰菊. 青藏高原 18 种植物的杀虫活性筛选. 青海大学学报(自然科学版), 2000, 18(1): 3-6.
- Zhang G Z, Xu H H, Zhao S H, Sun H f, Ji L J. Biological activities of extracts of plants from Qinghai-tibet plateau. *Journal of Qinghai University*, 2000, 18(1): 3-6. (in Chinese)
- [2] 张国洲, 徐汉虹, 赵善欢, 王亚维. 瑞香狼毒根提取物杀虫活性成分的分离与鉴定. 湖北农学院学报, 2000, 20(1): 19-22.
- Zhang G Z, Xu H H, Zhao S H, Wang Y W. Separation and identification of insecticidal extracts of *Stellera chamaejasme*. *Journal of Hubei Agricultural College*, 2000, 20(1): 19-22. (in Chinese)
- [3] Gao P, Hou T P, Gao R, Cui Q, Liu S. Activity of the botanical aphicides 1,5-diphenyl-1-pentanone and 1,5-diphenyl-2-penten-1-one on two species of Aphididae. *Pest Management Science*, 2001, 57: 307-310.
- [4] 李云寿, 邹华英, 唐绍宗, 杨益章, 李晚谊, 纳晓燕, 但 注. 14 种菊科植物提取物对菜青虫的杀虫活性. 华东昆虫学报, 2000, 9(2): 99-101.
- Li Y S, Zou H Y, Tang S Z, Yang Y Z, Li W Y, Na X Y, Nai Z. Insecticidal activity of extracts from fourteen compositae plants against larvae of cabbage white butterfly *Pieris rapae* L. *Entomological Journal of East China*, 2000, 9(2): 99-101. (in Chinese)
- [5] 王一丁, 高 平, 郑 勇, 刘 昆, 刘世贵. 紫茎泽兰提取物对棉蚜的毒力及其灭蚜机理研究. 植物保护学报, 2002, 29(4): 337-340.
- Wang Y D, Gao P, Zheng Y, Liu K, Liu S G. The toxicities of the extracts from *Eupatorium adenophom* m against *Aphis gossypii* and their aphid-killing mechanism. *Acta Phytophylacica Sinica*, 2002, 29(4): 337-340(in Chinese)
- [6] 冯建菊, 郭 明, 陈红军, 闫志顺. 南疆特色杀虫植物提取物对棉铃虫的影响. 塔里木农垦大学学报, 2001, 13(2): 1-3.
- Feng J J, Guo M, Chen H J, Yan Z S. The effect of insecticidal plant extrscts on heliothis armigera hiibner in south Xinjiang. *Journal of Tarim University of Agricultural Reclamation*, 2001, 13(2): 1-3. (in Chinese)
- [7] 操海群, 岳永德, 彭镇华, 花日茂, 汤 锋. 竹提取物对玉米象 *Sitophilus zeamais* Motsch. 生物活性的初步研究. 农药学报, 2002, 4(1): 80-84.
- Cao H Q, Yue Y D, Peng Z H, Hua R M, Tang F. Bioactivities of extracts from bamboo against *Sitophilus zeamais* Motsch. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2002, 4(1): 80-84. (in Chinese)
- [8] Xu H H, Zhang N J, Casida J E. Insecticides in Chinese medicinal plants: survey leading to jacaranone, a neurotoxicant and glutathione-reactive quinol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(9): 2544-2547.
- [9] 林立东, 戚树源, 胡厚才. 印楝愈伤组织的化学成分. 天然产物研究与开发, 2000, 12(1): 15-17.
- Lin L D, Qi S Y, Hu H C. The chemical constitute from callus of *Azadirachta indica* A. Juss. *Natural Produci Research and Development*, 2000, 12(1): 15-17. (in Chinese)
- [10] 董建新, 马志卿, 李广洋, 张 兴. 除虫菊愈伤组织的诱导和继代. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2004, 32(3): 77-79, 84.
- Dong J X, Ma Z Q, Li G Z, Zhang X. Induction, preservation and differentiation of calli of *Pyrethrum cinerariifolium* Trev. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry (Natural Science Edition)*, 2004, 32(3): 77-79, 84. (in Chinese)
- [11] 李小六, 李艳梅, 陈 超, 田立民. 除虫菊愈伤组织的诱导与继代培养. 唐山师范学院学报, 2005, 27(2): 1-3.
- Li X L, Li Y M, Chen C, Tian L M. Callus induced and successive transfer culture of *Pyrethrum cinerariifolium*. *Journal of Tangshan Teachers College*, 2005, 27(2): 1-3. (in Chinese)
- [12] 陈发兴, 赖钟雄. 银杏愈伤组织细胞生长及其黄酮苷含量. 福建农林大学学报(自然科学版), 2004, 33(4): 456-458.
- Chen F X, Lai Z X. The callus of *Ginkgo biloba* and its flavonol glycosides. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 2004, 33(4): 456-458. (in Chinese)
- [13] 曾鑫年, 谢建军, 刘新清, 黄彰欣. 前体物对毛茛藤离体合成毛茛酮的影响. 农业生物技术学报, 2001, 9(2): 149-151.
- Zeng X N, Xie J J, Liu X Q, Huang Z X. Effects of precursors on in vitro rotenone biosynthesis of *Derris elliptica*. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2001, 9(2): 149-151. (in Chinese)
- [14] 侯学文, 徐汉虹, 赵善欢. 产生光活化杀虫剂 α -3-连噻吩发根培养体系的建立. 广西植物, 2000, 20(2): 177-180.
- Hou X W, Xu H H, Zhao S H. The foundation of *Tagetes erecta* L. hairy root culturing system producing photoactivated pesticide α -terthienyl. *Guihaia*, 2000, 20(2): 177-180. (in Chinese)
- [15] 崔 红, 宋志红, 时向东, 刘国顺. 烟草发状根的诱导和植株再生. 中国烟草学报, 2003, 9(4): 26-28.
- Cui H, Song Z H, Shi X D, Liu G S. Hairy root induction and plant regeneration in *Nicotiana tabacum*. *Acta Tabacaria Sinica*, 2003, 9(4): 26-28. (in Chinese)

- [16] 李雅丽, 张 凯. 用农杆菌 Ri 诱导蒙古黄芪发根培养的研究. 云南植物研究, 2005, 27(2): 204-210.
- Li Y L, Zhang K. Studies on the hairy root of *Astragalus membranaceus* var. *mongolicus* induced by *Agrobacterium rhizogenes* R1601. *Acta Botanica Yunnanica*, 2005, 27(2): 204-210. (in Chinese)
- [17] 王梅霞, 陈双林, 闫淑珍, 霍 娟. 一株产黄酮银杏内生真菌的分离鉴定与培养基质的初步研究. 南京师大学报(自然科学版), 2003, 26(1): 106-110.
- Wang M X, Chen S L, Yan S Z, Huo J. A preliminary study on the isolation, identification and media of an endophytic fungus producing flavones. *Journal of Nanjing Normal University (Natural Science Edition)*, 2003, 26(1): 106-110. (in Chinese)
- [18] 兰 琪, 姬志勤, 顾爱国, 师宝君, 吴文君. 苦皮藤内生真菌中杀虫杀菌活性物质的初步研究. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2004, 32(10): 79-84.
- Lan Q, Ji Z Q, Gu A G, Shi B L, Wu W J. Preliminary study on the insecticidal and fungicidal components of endophytic fungus in *Celastrus angulatus*. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry (Natural Science Edition)*, 2004, 32(10): 79-84. (in Chinese)
- [19] 官 珊, 钟国华, 孙之潭, 胡美英. 植物内生真菌的研究进展. 仲恺农业技术学院学报, 2005, 18(1): 61-66.
- Guan S, Zhong G H, Sun Z T, Hu M Y. Research advances on endophytic fungi of plant. *Journal of Zhongkai University of Agriculture and Technology*, 2005, 18(1): 61-66. (in Chinese)
- [20] 孔祥清, 吴文君. 疣枝卫矛根皮中麻醉成分 F 对昆虫作用的研究. 黑龙江八一农垦大学学报, 2000, 12(2): 21-24.
- Kong X Q, Wu W J. A study of how narcotic activity F from the root of *Euonymus verrucosides* affect insect. *Journal of Heilongjiang August First Land Reclamation University*, 2000, 12(2): 21-24. (in Chinese)
- [21] 胡兆农, 吴文君. 苦皮藤素 IV 杀虫机理电生理研究初报. 西北农业大学学报, 2000, 28(2): 35-38.
- Hu Z N, Wu W J. Narcosis action electrophysiology of celangulin V from *Celastrus angulatus*. *Acta University Agricultural Boreali-occidentalis*, 2000, 28(2): 35-38. (in Chinese)
- [22] 胡兆农, 吴文君, 姬志勤, 刘安西. 苦皮藤素对果蝇幼虫神经肌肉兴奋性接点电位的影响. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2004, 32(6): 59-63.
- Hu Z N, Wu W J, Ji Z Q, Liu A X. Effects of celangulin IV and V from *Celastrus angulatus* on excitatory junction potentials of *Drosophila melanogaster* larvae. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry (Natural Science Edition)*, 2004, 32(6): 59-63. (in Chinese)
- [23] 杜哲哲, 贺秉军, 王 威, 刘安西, 胡兆农, 吴文君. 苦皮藤素 IV 麻醉机理的膜片钳研究. 生物物理学报, 2002, 18: 297-301.
- Du Y Z, He B J, Wang W, Liu A X, Hu Z N, Wu W J. Patch clamp study on the anesthetics mechanisms of celangulin IV. *Acta Biophysica Sinica*, 2002, 18(3): 297-301. (in Chinese)
- [24] 曾鑫年, 张善学, 方剑锋, 韩建勇. 毛鱼藤酮与鱼藤酮杀虫活性的比较. 昆虫学报, 2002, 45: 611-616.
- Zeng X N, Zhang S X, Fang J F, Han J Y. Comparison of the bioactivity of elliptone and rotenone against several agricultural insect pests. *Acta Entomologica Sinica*, 2002, 45: 611-616. (in Chinese)
- [25] 徐汉虹, 陈 立, 赵善欢, 孙洪发, 纪兰菊. 唐古特瑞香提取物对菜粉蝶幼虫的毒杀作用. 昆虫学报, 2000, 43: 364-372.
- Xu H H, Chen L, Zhao S H, Sun H F, Ji L J. Insecticidal activities of *Daphne tangutica* extracts on *Pieris rapae* larvae. *Acta Entomologica Sinica*, 2000, 43: 364-372. (in Chinese)
- [26] 王问学, 廖飞勇, 莫建初. 芫花乙醇粗提物对卫矛尺蠖幼虫消化酶系的影响. 农药, 2000, 39(8): 23-24.
- Wang W X, Liao F Y, Mo J C. The *in vivo* effect of genkwanin toxin on digest enzymes and tissue structures of *A. miranda*. *Pesticides*, 2000, 39(8): 23-24. (in Chinese)
- [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. 植物保护学报, 2000, 27(1): 75-78.
- Fu C B, Zhang X. Effects of the extracts of seven juniper *Sabina vulgaris* Ant. on the activities of several enzymes in *Mythimna separata* walker. *Acta Phytolacica Sinica*, 2000, 27(1): 75-78. (in Chinese)
- [28] 张国洲, 王亚维, 徐汉虹. 瑞香亭和狼毒色原酮对昆虫酯酶同工酶的影响. 湖北农学院学报, 2002, 22(2): 112-114.
- Zhang G Z, Wang Y W, Xu H H. Effects of daphnoretin and chamechromone on the activities of insect esterase isozyme. *Journal of Hubei Agricultural College*, 2002, 22(2): 112-114. (in Chinese)
- [29] 杨东升, 张金铜. 川楝素和印楝素对家蝇生长发育及繁殖的影响. 中国媒介生物学及控制杂志, 2002, 13(3): 185-188.
- Yang D S, Zhang J T. Effects of toosendanin and azadirachtin on the growth development and fecundity of *Musca domestica*. *Chinese Journal of Vector Biology and Control*, 2002, 13(3): 185-188. (in Chinese)
- [30] 杨润亚, 刘惠霞, 胡兆农, 张林生, 田小曼. 苦皮藤素 V 引起粘虫兴奋的作用机理初探. 西北农业大学学报, 2000, 28(5): 18-21.
- Yang R Y, Liu H X, Hu Z N, Zhang L S, Tian X M. Study on the mechanism of action of celangulin V. *Acta University Agricultural Boreali-occidentalis*, 2000, 28(5): 18-21. (in Chinese)
- [31] 杨润亚, 刘惠霞, 吴文君, 王金丽. 苦皮藤素 V 引起粘虫失水的作用机理初探. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2001, 29(2): 77-79.
- Yang R Y, Liu H X, Wu W J, Wang J L. Study on the functioning mechanism of celangulin V. *Journal of Northwest Sci-Tech*

- University of Agriculture and Forestry (Natural Science Edition), 2001, 29(2): 77-79. (in Chinese)
- [32] 曾鑫年, 韩建勇, 魏西成. 植物杀虫剂对玉米螟赤眼蜂成蜂的急性毒性. 华南农业大学学报, 2002, 23(1): 90-91.
- Zeng X N, Han J Y, Wei X C. Acute toxicity of botanical insecticides to wasps of *Trichogramma ostrinae* Pang et Chen. *Journal of South China Agricultural University*, 2002, 23(1): 90-91. (in Chinese)
- [33] 郑许松, 俞晓平, 吕仲贤, 陈建明, 徐红星, 叶恭银. 雷公藤根皮提取物对茭白二化螟的生物活性. 植物保护, 2003, 29(3): 31-35.
- Zheng X S, Yu X P, Lu Z X, Chen J M, Xu H X, Ye G Y. Bioactivity of root bark crude extracts of *Tripterygium wilfordii* Hook to striped stem borer, *Chilo suppressalis* Walker on *Zizania caduciflora*. *Plant Protection*, 2003, 29(3): 31-35. (in Chinese)
- [34] 祁志军, 胡兆农, 时春喜, 吴文君, 李恩才. 0.2%苦皮藤素乳油对非靶标生物的影响. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2004, 32(2): 31-34.
- Oi Z J, Hu Z N, Shi C X, Wu W J, Li E C. Effects of 0.2% celangulins EC on non-target organisms in environment. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry (Natural Science Edition)*, 2004, 32(2): 31-34. (in Chinese)
- [35] 丁伟, 吴文君, 董全雄. 植物性杀虫剂苦皮藤乳油控制菜青虫有效剂量的研究. 西南农业大学学报, 2000, 22(3): 226-228.
- Ding W, Wu W J, Dong Q X. An investigation of the effective dosage of the botanical insecticide KPT emulsifiable concentrate for the control of cabbage worm. *Journal of Southwest Agricultural University*, 2000, 22(3): 226-228. (in Chinese)
- [36] 翟兴礼, 李方远, 汤明立. 苦皮藤乳油对菜粉蝶的毒性研究. 河南农业科学, 2003(2): 24-27.
- Zhai X L, Li F Y, Tang M L. Studies on toxicity of KPT EC for cabbage butterfly. *Henan Agricultural Sinica*, 2003(2): 24-27. (in Chinese)
- [37] 陈修会, 孙从法, 张贵国, 张清香, 商红丽. 0.8%苦参碱内酯防治梨二叉蚜、桃瘤头蚜药效试验. 农药, 2002, 41(2): 46-47.
- Chen X H, Sun C F, Zhang G G, Zhang Q X, Shang H L. Effectiveness tests on Matrine-Lactone 0.8% for controlling *Schizaphis piricola* Matsumura and *Tuberocephalus momonis* Matsumura. *Pesticides*, 2002, 41(2): 46-47. (in Chinese)
- [38] 郑方强, 刘忠德, 裴翠花. 无公害杀虫剂防治韭蛆的药效试验及苦参碱杀虫作用研究. 农药, 2002, 41(6): 26-28.
- Zheng F Q, Liu Z D, Pei C H. Studies on the control of Chinese chive maggot by some insecticides and the insecticidal action on the pest. *Pesticides*, 2002, 41(6): 26-28. (in Chinese)
- [39] 潘胜贵. 植物源农药—闹羊花制剂. 农药市场信息, 2003(5): 27-28.
- Pan S G. Botanical insecticides—*Flos Rhododendri* preparation. *Pesticides Market Information*, 2003(5): 27-28. (in Chinese)
- [40] 严炳丽, 曾益良, 任连奎, 王同顺, 解立华. N-甲基取代苯基氨基甲酸酯的系列合成及其对家蝇的生物活性. 昆虫学报, 2001, 44(4): 439-446.
- Yan B L, Zeng Y L, Ren L K, Wang T S, Xie L H. Synthesis of N-methyl substituted phenyl carbamates and their activities to housefly. *Acta Entomologica Sinica*, 2001, 44(4): 439-446. (in Chinese)
- [41] 高蓉, 田喧, 张兴. 鬼臼毒素类似物结构与杀虫活性关系初探. I. 几种衍生物的合成及杀虫活性测试. 西北农业大学学报, 2000, 28(5): 8-13.
- Gao R, Tian X, Zhang X. A study on the relationship between structure and insecticidal activity of podophyllotoxin analogues I. The synthesis of podophyllotoxin analogues and their insecticidal activities. *Acta University Agricultural Boreali-occidentalis*, 2000, 28(5): 8-13. (in Chinese)
- [42] 田喧, 高蓉, 张兴. 鬼臼毒素类似物结构与杀虫活性关系初探. II. 构效关系分析及理想结构推测. 西北农业大学学报, 2000, 28(6): 20-24.
- Tian X, Gao R, Zhang X. Study on the relationship between structure and insecticidal activity of podophyllotoxin analogues II. Analysis of structure-activity relationship and prediction of optimal structure. *Acta University Agricultural Boreali-occidentalis*, 2000, 28(6): 20-24. (in Chinese)
- [43] 张继文, 姬志勤, 吴文君. 苦皮藤素 V 的结构修饰及生物活性. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2004, 32(10): 99-101.
- Zhang J W, Ji Z Q, Wu W J. Synthesis and bioactivities of celangulin V derivatives. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry (Natural Science Edition)*, 2004, 32(10): 99-101. (in Chinese)
- [44] 张继文, 吴文君, 田喧. 苦皮藤素类似物的合成与结构鉴定. 农药学报, 2004, 6(3): 21-25.
- Zhang J W, Wu W J, Tian X. Synthesis and structure elucidation of celangulin analogues. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2004, 6(3): 21-25. (in Chinese)
- [45] 徐汉虹, 张志祥, 查友贵. 中国植物性农药开发前景. 农药, 2003, 42(3): 1-10.
- Xu H H, Zhang Z X, Zha Y G. The prospect of botanical pesticides in China. *Pesticides*, 2003, 42(3): 1-10. (in Chinese)

(责任编辑 王红艳)