

文章编号: 0454-6296 (2000) 04-0364-09

唐古特瑞香提取物对菜粉蝶幼虫的毒杀作用

徐汉虹¹, 陈立¹, 赵善欢¹, 孙洪发², 纪兰菊²

(1. 华南农业大学昆虫毒理研究室, 广州 510642; 2. 中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001)

摘要: 生测表明, 唐古特瑞香 *Daphne tangutica* 的甲醇抽提物具有明显的拒食和胃毒活性, 活性跟踪得到流分 9。流分 9 导致菜粉蝶 *Pieris rapae* 幼虫体小, 中肠组织细胞受到破坏, 脂肪体呈消融状; 对试虫生理指标的影响主要表现在降低血淋巴蛋白质含量和抑制中肠酯酶活力。

关键词: 唐古特瑞香; 菜粉蝶; 生物活性; 生理效应

中图分类号: S482.39 **文献标识码:** A

唐古特瑞香 *Daphne tangutica* 属瑞香科 Thymelaeaceae 瑞香属植物, 常绿灌木, 别名陕甘瑞香、甘肃瑞香、小冬青、矮陀陀等, 生于海拔 1 500 ~ 3 000 m 的高地^[1,2]。作者在对我国青藏高原特有植物进行杀虫活性筛选过程中, 发现唐古特瑞香对斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 和菜粉蝶 *Pieris rapae* 幼虫有良好的毒杀活性。本文报道唐古特瑞香对菜粉蝶幼虫的生物活性及其杀虫成分研究的初步结果。

1 材料与方法

1.1 供试植物材料及提取

唐古特瑞香采自青海省互助县, 采集时间为 1996 年 9 月。将阴干的植物材料放到恒温烘箱内加温至 60 °C, 干燥 4 h 后, 用植物粉碎机将植物材料粉碎, 并通过 40 目筛。干粉的提取采用索氏 (Sohxlet) 提取法, 用甲醇回流提取 48 h, 提取物在旋转蒸发器内减压浓缩至稠膏状, 称重抽提物。

1.2 供试昆虫

供试昆虫为菜粉蝶幼虫。在广州市郊蔬菜地采集高龄幼虫, 在室内用甘蓝 *Brassica oleracea* 叶饲养, 待其 F₁ 代幼虫发育至 5 龄初供试。

1.3 供试药剂与试剂

药剂: 75% 川楝素粉, 四川宜宾红光制药厂生产; 97% 乙酰甲胺磷原粉, 江门农药厂生产; 2201 (乳化剂): 深圳钟南化工有限公司生产。

试剂: 坚固兰 B 盐, 上海化学试剂厂分装; 甲醇、丙酮、乙酸乙酯、苯、乙醚、石油醚

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39300087)

收稿日期: 1999-11-08; 修订日期: 2000-01-20

等均为分析纯；生化分析中所用主要药品牛血清、-萘酚、-萘酚、-乙酸萘酯、-乙酸萘酯均为生化级试剂。

柱层析用硅胶 H，青岛海洋化工厂生产；薄板层析 Kieselgel 60 F₂₅₄，德国 MERCK 公司生产。

1.4 活性成分的初步分离

液-液分配法：称取甲醇抽提物（稠膏状）150 g，加 5 倍量蒸馏水，热溶，装入分液漏斗内，用石油醚萃取 3 次（100 mL/次）。水层再用乙酸乙酯萃取 5 次（100 mL/次）。将石油醚萃取液、乙酸乙酯萃取液以及所剩水层分别减压浓缩至稠膏状，并称重。

柱层析分离：将 30 g 乙酸乙酯萃取物溶于少量乙酸乙酯，加入约 60 g 100 目硅胶 H，拌匀，在旋转蒸发器上减压蒸干溶剂，然后装入层析柱内。用 50 mm × 800 mm 层析柱，装入 400 g 200 ~ 300 目粗孔硅胶 H，加入上述样品胶。按图 1 程序洗脱（每段流程的洗脱液用量为 500 mL），所得洗脱液用 TLC（薄层层析）检验，相同斑点合并，共得 12 个流分。各流分静置过夜后，减压浓缩。如有结晶析出，先过滤结晶。有结晶析出的流分为 4、6、7、9、10。

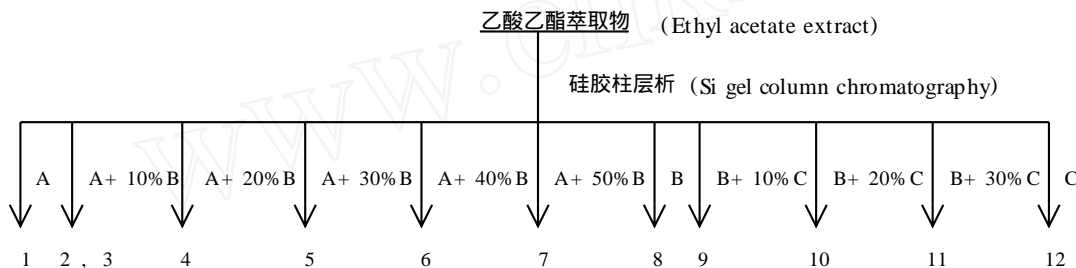


图 1 甲醇抽提物用乙酸乙酯萃取后柱层析洗脱程序

Fig. 1 Schedule of Si gel-column chromatography of ethyl acetate extract

A. 石油醚 Petroleum ether; B. 乙醚 Ether; C. 甲醇 Methanol

1.5 生物活性测定

1.5.1 拒食作用测定：采用叶碟法进行非选择性拒食试验^[3]。用丙酮或甲醇（甲醇抽提物仅能用甲醇溶解）作空白对照，川楝素作标准对照。将芥兰叶碟（直径为 2 cm）浸入待测溶液 1 s，取出晾干后放入垫有滤纸（加 5 滴水保湿）的 9 cm 培养皿中，每个培养皿中放入 5 片处理叶碟，接入 1 头已饥饿 6 h 的菜粉蝶 5 龄初期幼虫。每处理共 30 头虫，一头虫即为一个重复。处理 24 h 后用 LF-3000 型叶面积测定仪测定取食叶面积，更换新处理叶碟。48 h 后再调查取食叶面积，更换新鲜叶片继续观察试虫的反应。计算拒食率，并根据处理后 5 天和 10 天试虫的死亡情况计算校正死亡率。

拒食中浓度 (AFC₅₀) 的测定方法：按照拒食活性大小，采用对半稀释法稀释 5 个浓度测得拒食率，再将拒食率转化成机率值，浓度转化成对数，计算回归方程和相关系数，根据回

归方程求得 AFC_{50} 值。

1.5.2 胃毒和生长发育抑制作用测定：根据拒食作用测定中所测样品的 AFC_{50} 值，配制浓度为 AFC_{50} 左右的甲醇溶液，同拒食作用测定中所用方法处理甘蓝叶碟（直径 2 cm），晾干后放入直径为 12 cm 的培养皿中，每皿 15 片，接 5 头饥饿 6 h 的 5 龄初菜粉蝶幼虫。每处理共 30 头虫，设 6 个重复。空白对照（甲醇）设完全对照（即全 CK）和不完全对照（即半 CK）。对照组每头虫供给 4 片叶碟即为全 CK（足够 24 h 取食），半 CK 每头虫每天只供给 1 片叶碟（约为试虫取食能力的一半）。

在处理的第 0、1、2、3、4、5、6、7、8 天分别称虫重，即每隔 24 h 称一次虫重，并更换新处理叶碟。进入化蛹状态的试虫不称重，死虫也不称重，试虫化蛹后称蛹重。

1.6 中毒症状观察

在生物活性测定过程中，每天观察幼虫取食唐古特瑞香处理的叶碟后的反应。

石蜡切片观察：按 1.5.2 方法处理试虫，60 h 后取待测试虫，用改良 Bouin 氏固定液，24 h 后，取第二对胸足后至第二对腹足前的部位再固定 24 h。用常规方法脱水、透明、浸蜡、包埋、切片（5~6 μm ）、染色，封片、干燥后用光学显微镜进行观察^[4]。

1.7 生理指标测定

1.7.1 血淋巴中蛋白质含量测定：采用“Folin-酚”法^[5]测定血淋巴中蛋白质含量。按 1.5.2 方法处理试虫，60 h 后取待测试虫，用昆虫针刺破试虫腹足后，用血色素吸管吸取血淋巴 50 μL ，用双蒸水稀释 40 倍后进行蛋白质含量测定（取样量为 0.5 mL）。标准蛋白溶液用牛血清配制，并绘制标准曲线^[6]。按下列公式计算试虫血淋巴蛋白质含量。

$$\text{血淋巴蛋白质含量 (mg/mL)} = \frac{\text{实测量 } (\mu\text{g})}{\text{取样量 (mL)}} \times 40 \times 10^{-3}$$

1.7.2 中肠酯酶活性测定：参照 Asperen^[7]、陈巧云^[8]的方法，用比色法测定中肠酯酶活性。试虫处理同血淋巴蛋白质含量测定。60 h 后，每处理取 10 条中肠于玻璃匀浆器中，并加入 10 mL pH7.0 的磷酸缓冲液（0.04 mol/L），在冰浴中匀浆，匀浆液离心 15 min（4 000 r/min），取上清液作酶液，测定 -乙酸萘酯酶和 -乙酸萘酯酶的活力^[6]。同 1.6.1 用“Folin-酚”法测定酶液中蛋白质含量，以每毫克蛋白质每分钟水解 -乙酸萘酯（或 -乙酸萘酯）的 μmol 数作为酶活力指标（ $\mu\text{mol}/(\text{mg} \cdot \text{min})$ ）。

1.8 统计分析

利用 SAS 软件包计算 AFC_{50} 和进行方差分析，差异显著性检验采用邓肯氏新复极差法（DMRT）。

2 结果与分析

2.1 唐古特瑞香甲醇抽提物及其萃取物对菜粉蝶幼虫的生物活性

采用萃取法分离唐古特瑞香甲醇抽提物，分离物用甲醇溶解后测定其对 5 龄菜粉蝶幼虫的生物活性（表 1）。结果表明，唐古特瑞香甲醇抽提物对菜粉蝶幼虫有良好的拒食和胃毒活性，其活性物质主要存在于乙酸乙酯萃取物中。

表 1 唐古特瑞香甲醇抽提物的萃取物对菜粉蝶幼虫的生物活性

Table 1 Bioactivities of methanol extract of *D. tangutica* to the 5th instar larvae of *P. rapae*

试物 Test material	提取率或萃取率 (%) Extracting rate 均 ± SE	处理浓度 (mg/ mL) Test conc.	拒食率 (%) Antifeedancy		校正死亡率 (%) Corrected mortality	
			24 h	48 h	5 d	10 d
			甲醇抽提物 Methanol extract	22.34 ± 1.38	22.34	93.78
石油醚萃取物 Petroleum ether extract	8.61 ± 1.14	10	79.20	78.39	13.79	28.58
乙酸乙酯萃取物 Ethyl acetate extract	27.83 ± 1.69	10	94.84	90.60	41.38	78.57
剩余水层 Water residue	61.64 ± 1.88	10	7.56	12.18	0	3.57

2.2 柱层析分离流分的杀虫活性监测

将乙酸乙酯萃取物进行硅胶柱层析分离，得到 5 个结晶和 12 个流分（图 1），以 5 龄菜粉蝶幼虫为试虫按 1.5.1 方法进行生物活性测定（表 2）。从表 2 可以看出，柱层析所得 5 个结晶基本无拒食活性，胃毒作用也很弱。活性较高的流分为 4、5、8、9、10，从拒食率看，流分 4、8、9、10 均在 90% 以上，从胃毒作用看，流分 9 的死亡率最高，处理后 10 天的校正死亡率为 85.19%，其次为流分 8。

表 2 乙酸乙酯萃取物柱层析各流分对菜粉蝶幼虫的生物活性

Table 2 Bioactivities of fractions of ethyl acetate extract to the 5th instar larvae of *P. rapae*

流分 Fractions	浓度 (mg/ mL) Concentration	拒食率 (%) Antifeedancy		校正死亡率 (%) Corrected mortality	
		24 h	48 h	5 d	10 d
		1	10	27.92	9.84
2	10	15.10	- 6.43	13.80	11.11
3	10	38.90	40.34	6.90	7.41
4 结晶 Crystal 4	2	17.34	6.22	0	18.52
4	10	92.85	90.27	34.49	48.14
5	10	86.07	81.91	37.93	51.86
6 结晶 Crystal 6	2	11.40	7.65	13.80	14.81
6	10	67.46	61.31	20.69	18.52
7 结晶 Crystal 7	2	10.53	23.97	24.14	48.14
7	10	78.25	77.16	31.03	37.03
8	10	96.01	93.85	48.28	70.37
9 结晶 Crystal 9	2	15.64	28.14	10.34	14.81
9	10	98.19	97.02	62.07	85.19
10 结晶 (Crystal 10)	2	50.28	58.13	17.24	33.33
10	10	96.82	97.46	51.72	62.97
11	10	51.46	39.57	31.03	40.74
12	10	24.57	20.53	3.46	3.70
川楝素 Toosendanin	1	98.13	99.96	65.52	88.89

2.3 甲醇抽提物和流分 9 的拒食活性

对甲醇抽提物和经生物活性追踪所知活性流分 9 按 1.5.2 方法进行拒食中浓度测定 (川楝素作标准对照)。由表 3 可知, 甲醇抽提物和流分 9 对 5 龄菜粉蝶幼虫有良好的拒食活性, 流分 9 的拒食活性约为甲醇抽提物的 1.6 倍。

表 3 甲醇抽提物和流分 9 对菜粉蝶幼虫的拒食作用

Table 3 Antifeeding effects of methanol extract and fraction 9 on the 5th instar larvae of *P. rapae*

处理 Treatment	处理时间 (h) Time	直线回归方程 Linear regress equation	相关系数 Correlation rate	AFC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	AFC ₉₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
甲醇抽提物 Methanol extract	24	$2.2307 + 1.1878x$	0.9900	214.53	2572.90
	48	$2.2068 + 1.1743x$	0.9333	239.12	2951.09
流分 9 Fraction 9	24	$2.4116 + 1.2121x$	0.9987	136.60	1558.86
	48	$2.3169 + 1.2348x$	0.9737	148.90	1624.81
川楝素 Toosendanin	24	$1.9616 + 2.1111x$	0.9973	27.50	111.26
	48	$2.6660 + 2.0113x$	0.9982	14.47	62.75

2.4 甲醇抽提物和流分 9 对菜粉蝶幼虫的胃毒和生长发育抑制作用

配制甲醇抽提物、流分 9、标准对照川楝素的 AFC₅₀ 左右的甲醇溶液, 处理甘蓝叶碟后饲喂 5 龄初菜粉蝶幼虫, 试虫的生长发育情况见表 4, 死亡情况见图 2。

表 4 甲醇抽提物和流分 9 对菜粉蝶幼虫生长发育的影响

Table 4 Influence of methanol extract and fraction 9 on the growth and development of the 5th instar larvae of *P. rapae*

处理 Treatment	试虫体重 $\pm 95\%$ 置信限 (mg/头)				Larval weight $\pm 95\%$ CL (mg/larva)				
	0 d	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d
全 CK Full control	71.4 ± 1.5 a	131.6 ± 3.7 a	159.2 ± 5.3 a	168.7 ± 6.3 a	141.3 ± 0.5 a	136.4 ± 8.1 a			
半 CK Semi-control	68.4 ± 2.9 a	101.5 ± 7.3 b	132.2 ± 9.3 b	141.7 ± 12.4 b	133.6 ± 11.1 a	124.9 ± 14.4 a	130.3 ± 19.2 a	122.9 ± 15.0 a	
甲醇抽提物 Methanol extract	69.3 ± 2.4 a	101.4 ± 9.8 b	120.2 ± 6.0 b	124.8 ± 4.9 b	118.5 ± 7.1 ab	109.8 ± 5.3 ab	97.8 ± 4.7 ab	93.2 b	
流分 9 Fraction 9	72.6 ± 3.0 a	98.5 ± 8.1 b	121.5 ± 11.9 b	123.4 ± 9.8 b	124.1 ± 12.1 a	115.6 ± 13.9 a	112.8 ± 12.2 a	117.5 ± 8.6 a	113.2
川楝素 Toosendanin	68.1 ± 4.8 a	85.5 ± 6.4 bc	83.2 ± 4.3 c	76.9 ± 7.6 c	75.8 ± 10.9 c	69.9 ± 9.9 c			

甲醇抽提物、流分 9、川楝素的处理浓度分别为 240、150、25 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 同列数据后字母相同者表示在 5% 水平上差异不显著 (DMRT)

Test concentrations of methanol extract, fraction 9 and toosendanin were 240, 150, 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Values within a column followed by the same letter were not significantly different (DMRT, $P > 0.05$)

从菜粉蝶幼虫的生长发育情况看, 流分 9 对菜粉蝶幼虫生长的影响和饥饿 (半 CK) 处理并无明显的差异 (95% 置信区间有较大程度地重合), 所以可以肯定流分 9 不具有生长发育抑制

作用。全 CK、半 CK、甲醇抽提物、流分 9、川楝素在处理 10 天后的正常蛹数分别为 28、27、4、3、0，对应的蛹重（±95%置信限）分别为（133.6 ±10.5）、（110.6 ±6.7）、（96.3 ±8.6）、（104.6 ±10.6）mg/头。说明饥饿能显著抑制试虫的生长，而对化蛹率无影响。甲醇抽提物和流分 9 处理的试虫化蛹率低，但对发育历期无影响。而标准对照川楝素处理的试虫，生长缓慢，在处理 5 天内体重变化幅度小，试虫无法化蛹，表现出强烈的生长发育抑制作用。

从图 2 可以看出，甲醇抽提物、流分 9 对菜粉蝶幼虫表现出良好的胃毒作用，效果比川楝素略低。

2.5 中毒症状

唐古特瑞香甲醇抽提物在 2000 μg/mL，流分 9 在 1000 μg/mL 的浓度下，菜粉蝶幼虫取食量小（叶碟法），部分试虫取食少量处理叶碟即中毒死亡（48 h 内），未死试虫若不饲喂新鲜叶片，虫体皱缩，体色变淡黄，最后因饥饿而死；若饲喂新鲜叶片，又有以下几种症状表现：1) 取食少量叶片后即停止取食，虫体逐渐皱缩，体色变黄，虽触之可动，但不能爬动，缓慢死去；2) 取食少量叶片后即停止取食，虫体大量脱水致使体表呈水渍状，不能爬行，缓慢死去；3) 能够正常取食，虫体长大，但因生活力下降而病死；4) 能够正常取食，但不能正常化蛹；5) 能够正常取食，正常进入化蛹状态和羽化。

用甲醇抽提物和流分 9 的 AFC₅₀浓度处理 5 龄初菜粉蝶幼虫，试虫能够取食，虫体逐渐长大，48 h 后少部分试虫因中毒而停止取食随即死去，未死试虫取食量逐渐减少，虫体略皱缩。4 天后体色变黄（部分试虫甚至发黑），虫体变软，缓慢死去，极少试虫能正常化蛹。

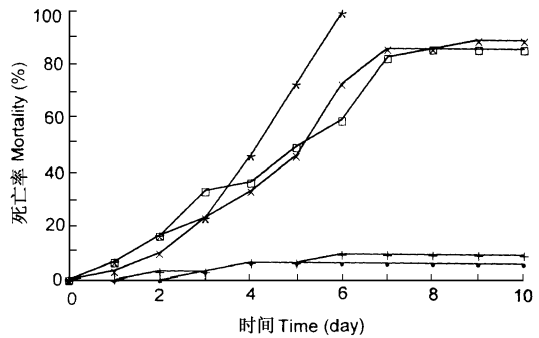


图 2 唐古特瑞香对菜粉蝶幼虫的致死作用

Fig. 2 Stomach poison action of *D. tangutica*

on *P. rapae* larvae

- - 全 CK Full control; - +- 半 CK Semi-control;

- - 甲醇抽提物 Methanol extract; - ×- 流分 9 Fraction 9;

- *- 川楝素 Toosendanin

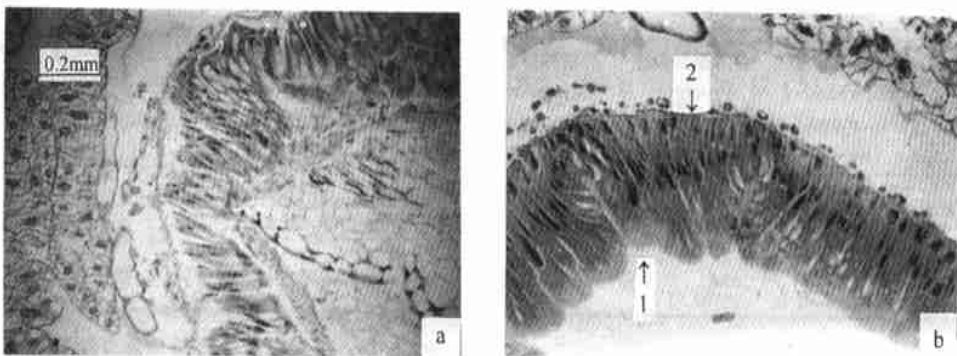


图 3 菜粉蝶 5 龄幼虫取食唐古特瑞香后中肠组织的变化情况（放大 50 倍）

Fig. 3 The histological symptom in the midgut of 5th-instar larvae of *P. rapae* (magnified 50 times)

a. 对照 Control; b. 流分 9 处理 Treatment of fraction 9; 1. 围食膜消失 Peritrophic membrane disappeared;

2. 细胞分隔模糊，只见细胞核 The boundary between midgut cells was illegible, only karyon could be seen

石蜡切片显微观察：流分 9 处理的叶碟饲喂 5 龄初菜粉蝶幼虫，取食 60 h 后，虫体外观正常，但比对照小。从虫体胸腹部横切面可看出，围食膜消失；中肠组织受到破坏，肠壁细胞分隔模糊；脂肪体呈消融状（图 3、图 4）。中肠组织的生理病变和脂肪体的消融，是唐古特瑞香引致菜粉蝶幼虫中毒死亡的一个重要原因。

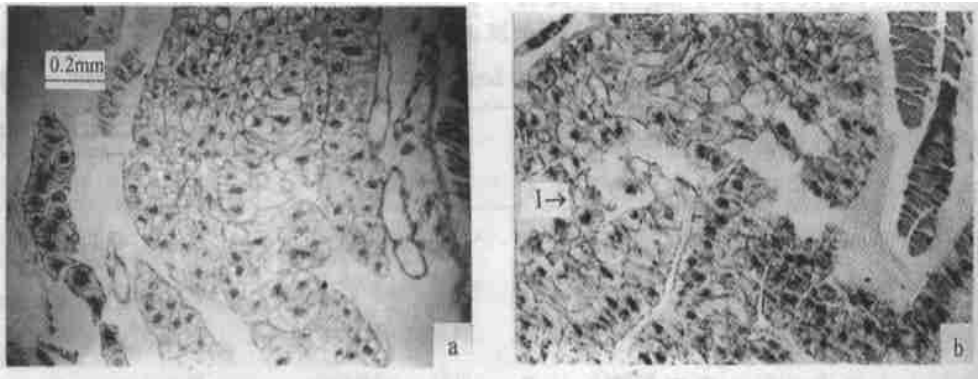


图 4 菜粉蝶 5 龄幼虫取食唐古特瑞香后脂肪体的变化情况（放大 50 倍）

Fig. 4 The histological symptom in the fat body of the 5th instar larvae of *P. rapae* (magnified 50 times)

a. 对照 Control; b. 流分 9 处理 Treatment of fraction 9; 1. 脂肪体呈消融状 Fat body began to disintegrate

2.6 唐古特瑞香对血淋巴蛋白质含量的影响

用 AFC_{50} 浓度处理后的叶碟饲喂 5 龄初菜粉蝶幼虫，60 h 后用“Folin-酚”法测定试虫血淋巴中蛋白质的含量（表 5）。从表 5 可以看出，流分 9 处理的试虫，蛋白质含量明显下降，试虫的蛋白质含量是对照的 70.91%，流分 9 的作用效果比川楝素略低。这说明试虫的正常生理代谢已受到影响。

表 5 唐古特瑞香对菜粉蝶幼虫血淋巴蛋白质含量和中肠酯酶活力的影响

Table 5 Effects of *D. tangutica* on the content of protein in haemolymph and the activity of esterase in midgut

处理 Treatment	对血淋巴蛋白质含量的影响 Influence on the content of protein in haemolymph		对中肠酯酶活力的影响 Influence on the activity of esterase in midgut		
	蛋白质含量 The content of protein (mg/mL)	占对照百分比 Percentage compared with control (%)	酶液稀释液蛋白质含量 The content of protein in diluted enzyme solution ($\mu\text{g/mL}$)	-乙酸萘酯酶活力 Activity on - naphthyl acetate ($\mu\text{mol}/(\text{mg}\cdot\text{min})$)	-乙酸萘酯酶活力 Activity on - naphthyl acetate ($\mu\text{mol}/(\text{mg}\cdot\text{min})$)
丙酮 CK	70.79 \pm 2.36 a	—	54.10 \pm 3.13	0.241 \pm 0.028 a	0.211 \pm 0.019 a
川楝素 Toosendanin	38.06 \pm 1.89 c	53.76	45.55 \pm 2.86	0.131 \pm 0.015 b	0.110 \pm 0.027 b
流分 9	50.20 \pm 2.01 b	70.91	53.60 \pm 3.52	0.127 \pm 0.023 b	0.113 \pm 0.032 b

血淋巴蛋白质含量测定的标准曲线： $y = 0.0108 + 4.6811 \times 10^{-4}x$ ($r = 0.9964$)；中肠酯酶活力测定的 -萘酚标准曲线： $y = 0.0102 + 3.5005x$ ($r = 0.9999$)；-萘酚标准曲线： $y = 5.5610 \times 10^{-4} + 3.0070x$ ($r = 0.9992$)；同列数据后字母相同者表示在 5% 水平上差异不显著 (DMRT)

Standard linear equation in determination of the content of protein in haemolymph: $y = 0.0108 + 4.6811 \times 10^{-4}x$ ($r = 0.9964$). Standard linear equations of -naphthyl acetate and -naphthyl acetate in determination the activities of midgut esterases were $y = 0.0102 + 3.5005x$ ($r = 0.9999$), $y = 5.5610 \times 10^{-4} + 3.0070x$ ($r = 0.9992$), respectively. Values within a column followed by the same letter were not significantly different (DMRT, $P > 0.05$)

2.7 唐古特瑞香对中肠酯酶活性的影响

结果表明,唐古特瑞香对菜粉蝶幼虫 α -乙酰萘酯酶和 β -乙酰萘酯酶有一定影响(表5)。流分9能显著降低 α -乙酰萘酯酶和 β -乙酰萘酯酶的活力。标准对照川楝素对 α -乙酰萘酯酶和 β -乙酰萘酯酶有抑制作用,这与川楝素降低中肠酯酶总活性的结论是一致的^[9]。

3 讨论

瑞香科植物多有一定的毒性,在抗生育、抗白血病、抗肝炎、镇痛、镇静、镇咳祛痰等方面有较显著的生理活性,近几十年来为各国药学及化学工作者所瞩目^[10]。国内外对唐古特瑞香的研究主要集中在化学和药理作用方面,其化学成分主要为香豆素^[11~13]、木脂素^[14,15]、二萜内酯^[16]类化合物。陈立等首次报道了唐古特瑞香对斜纹夜蛾的拒食作用^[17]。本试验结果表明,唐古特瑞香对菜粉蝶幼虫有良好的拒食和胃毒作用,活性流分9有较高的杀虫活性,值得进行深入的研究。

从中毒症状看,唐古特瑞香能破坏试虫的中肠组织,并使脂肪体逐渐消融。唐古特瑞香对菜粉蝶幼虫生理指标的影响主要表现在降低血淋巴蛋白质含量和抑制中肠酯酶活力两个方面。但杀虫成分的分离提纯和结构鉴定还有待于进一步的研究。

参 考 文 献 (References)

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴. 北京: 科学出版社, 1972. 953
- [2] 中国科学院西北高原生物研究所. 青海经济植物志. 西宁: 青海人民出版社, 1990
- [3] 黄彰欣. 植物化学保护实验指导. 北京: 中国农业出版社, 1993. 36~37
- [4] 张 兴, 赵善欢. 川楝素对菜青虫中肠组织的影响. 昆虫学报, 1991, 34 (4): 501~502
- [5] Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L *et al.* Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, (193): 265~275
- [6] 陈长琨. 昆虫生理生化实验. 北京: 中国农业出版社, 1993
- [7] Asperen K van. A study of housefly esterase by means of a sensitive colorimetric method. *J. Insect Physiol.*, 1962, 18: 545~557
- [8] 陈巧云, 姜家良, 林 浩. 黑尾叶蝉对有机磷的抗性及增效机制的研究. 昆虫学报, 1978, 21 (4): 360~368
- [9] 张 兴, 赵善欢. 川楝素对菜青虫体内几种酶系活性的影响. 昆虫学报, 1992, 35 (2): 171~177
- [10] 刘延泽, 冀春如, 冯卫生. 瑞香科植物的化学成分与药理作用. 中草药, 1987, 18 (2): 32~41
- [11] Zhuang L G, Seligmann O, Jurcic K *et al.* Inhaltsstoffe von *Daphne tangutica* (constituents of *Daphne tangutica*). *Planta Medica*, 1982, 45: 172~176
- [12] Zhuang L G, Otto S, Hildebert W. Daphneticin, a coumarinolignoid from *Daphne tangutica*. *Phytochemistry*, 1983, 22 (2): 617~619
- [13] 王明时, 刘卫国, 忻莉娟等. 唐古特瑞香化学成分的研究. 南京药学院学报, 1984, 15 (2): 1~5
- [14] Zhuang L G, Otto S, Hermann L *et al.* (-)-Dihydrosesamin, a lignon from *Daphne tangutica*. *Phytochemistry*, 1983, 22 (1): 265~267
- [15] 庄林根. 矮陀陀中木脂素化合物的¹³C核磁共振研究. 中草药, 1983, 14 (6): 3~6
- [16] 王成瑞, 王清莲, 刘柏年等. 唐古特瑞香生物活性二萜的研究. 抗生育活性二萜唐古特瑞香甲素的分离与结构. 化学学报, 1987, 45: 982~986
- [17] 陈 立, 徐汉虹, 赵善欢. 唐古特瑞香对斜纹夜蛾的拒食作用研究. 华南农业大学学报, 2000, 21 (1): 45~47

Insecticidal activities of *Daphne tangutica* extracts on *Pieris rapae* larvae

XU Han-hong¹, CHEN Li¹, ZHAO Shan-huan¹, SUN Hong-fa², JI Lan-ju²

(1. Laboratory of Insect Toxicology, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

2. Northwest Plateau Institute of Biology, the Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China)

Abstract : Bioassays of the methanol extract of *Daphne tangutica*, a local endemic plant in Qinghai-Tebet Plateau, for insecticidal effects on the imported cabbage worm, *Pieris rapae*, were carried out. The results showed that the extract possessed high effects of antifeedant and stomach poison. Fraction 9 of Silica gel column chromatography proved to be the most active fraction among those partitioned from the methanol extract by bioassay-driven separation. The larvae fed on leaf discs treated with fraction 9 grew slowly, and their bodies were smaller than those of the control. Histological study indicated that the tissue of midgut was destroyed and fat-body became to fade out by autolysis. The preliminary physiological reaction studies showed that fraction 9 could reduce the content of protein in haemolymph and inhibited the activity of esterase in midgut significantly.

Key words : *Daphne tangutica*; *Pieris rapae*; bioactivity; physiological reaction