

乙醇提取物对斜纹夜蛾细胞 SI-1 的细胞毒性比较

赵欢欢^{1,2} WANTANA Sinsiri³ 黄继光¹ 吴 娇¹ 张卫云¹ 周利娟¹

1.天然农药与化学生物学教育部重点实验室/华南农业大学农学院,广州 510642;
2.广州甘蔗糖业研究所,广州 510316; 3.马哈沙拉堪大学技术学院,泰国 马哈沙拉堪 44150

摘要 用 MTT 法测定 20 种泰国植物乙醇提取物对斜纹夜蛾(*Spodoptera litura*)卵巢细胞系 SI-1 的增殖抑制作用,用倒置相差显微镜观察细胞形态变化,用流式细胞术测定细胞线粒体膜电位变化。结果表明:5 种植物(姜(*Zingiber officinale* Roscoe)、高良姜(*Alpinia galangl* (L.) Willd.)、印楝泰国变种(*Azadirachta indica* A. Juss var. *siamensis* Valetton)、姜黄(*Curcuma longa* Dennst)、泰国青柠(*Citrus hystrix* DC))乙醇提取物的细胞增殖抑制效果较好,抑制率明显大于阳性对照鱼藤酮,并且与提取物浓度成剂量依赖关系。不同提取物处理 24 h 细胞形态发生明显改变,包括细胞贴壁性减弱、空泡化、细胞碎片产生;48 h 后细胞形态变化加强、空泡化严重、细胞碎片增多。5 种植物提取物对细胞线粒体膜电位均有影响,其中印楝泰国变种、泰国青柠效果最好。初步认为姜、高良姜、印楝泰国变种、姜黄、泰国青柠对 SI-1 有细胞毒性作用,值得进一步研究。

关键词 乙醇提取物; 泰国植物; MTT 法; 斜纹夜蛾; SI-1 细胞; 细胞毒性; 线粒体膜电位
中图分类号 Q 969.436.5 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2016)04-0036-06

随着化学农药的广泛应用,农产品的产量和质量有了较大的提高,但由于化学农药本身固有的缺点以及人们长期不合理的使用,导致害虫抗药性上升、环境污染、生态平衡破坏。广泛筛选植物中有杀虫活性的化合物作为杀虫剂先导结构进行结构衍生及优化,已成为新农药创制研究的前沿和热点领域^[1-2]。泰国地处热带,拥有丰富的植物资源,有望从中发现具有农药活性的植物。在杀虫剂的筛选上,多用昆虫个体进行杀虫活性的测定,虽然活体生测可信,但昆虫的生长周期较长,批间差异可能较明显,受限制因素较多。离体培养的昆虫细胞来源稳定可靠、批间差异小,细胞测定灵敏准确、省时省药^[3-4]。因此,笔者研究了 20 种泰国植物乙醇提取物对斜纹夜蛾(*Spodoptera litura*)卵巢细胞系 SI-1 的细胞毒性,通过 MTT 法(microculture tetrazolium assay)^[5]测定了这些乙醇提取物对 SI-1 的细胞增殖抑制作用及对细胞形态的影响,并测定了活性较好的 5 种植物提取物对 SI-1 细胞线粒体膜电位的影响,旨在从细胞水平上初步探讨几种植物源提取物的杀虫活性及作用机制,为利用昆虫细胞系进行植物源农药的开发利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材 料

泰国植物乙醇提取物由泰国马哈沙拉堪大学科技学院农业科技系 WANTANA Sinsiri 教授提供;斜纹夜蛾卵巢细胞系 SI-1 购自中山大学生命科学学院;MTT(噻唑蓝)、Rhodamin123 选自美国 Sigma 公司,Giemsa 染色液选自北京雷根生物技术有限公司。

1.2 细胞培养

SI-1 细胞用含有 10%新生胎牛血清的 Grace's 培养基置于 27℃ 培养箱中培养。

1.3 20 种泰国植物乙醇提取物的配制

用 DMSO(二甲基亚砷)将泰国植物乙醇提取物配成 20 000 μg/mL 的储备液,并用 0.22 μm 的过滤膜过滤,-20℃ 储存。使用前,用含有 5%胎牛血清的 Grace's 培养基将储备液稀释成所需浓度,DMSO 的体积分数不得超过 0.5%。

1.4 20 种泰国植物乙醇提取物对 SI-1 细胞的增殖抑制活性(MTT 法)

取对数生长期细胞吹打成单细胞悬液,接种于

收稿日期: 2015-08-22
基金项目: 科技部中泰政府间合作项目(20-612J)
赵欢欢,硕士研究生. 研究方向: 植物源农药. E-mail: zhh1071994041@163.com
通信作者: 周利娟,博士,副教授. 研究方向: 天然农药及抗药性. E-mail: zhoulj@scau.edu.cn

96 孔板中,每孔 100 μL 。待细胞贴壁后,加入 100 μL 质量浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的提取物,以 0.5% DMSO 为阴性对照(CK),鱼藤酮为阳性对照,并以不含细胞的培养基作为空白对照用于调零,每处理均设 8 个复孔。27 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养 20 h 或 44 h 后,每孔加入 10 μL MTT(5 mg/mL)混匀。继续培养 4 h 后,倒出上清液,每孔加入 100 μL DMSO,室温放置 30 min,待 Formazan 完全溶解后,置酶联免疫检测仪上,490 nm 读取 OD 值。

细胞增殖抑制率=(试验组 OD 值-对照组 OD 值)/对照组 OD 值 $\times 100\%$

1.5 植物乙醇提取物对细胞形态的影响

将对数期细胞吹打成单细胞悬液,接种于 24 孔板中,贴壁后,每孔加入 500 μL 质量浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的提取物,处理 24 h 和 48 h 后,在倒置相差显微镜下观察细胞形态并拍照。

1.6 Giemsa 染色法观察乙醇提取物对细胞形态的影响

将对数期细胞吹打成单细胞悬液,接种于 24 孔板中,贴壁后,每孔加入 500 μL 质量浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的提取物。处理 48 h 后,弃去上清液,常温 PBS (pH=7.4) 冲洗 1 遍,稍干,加入优质甲醇固定 3 min。吸弃甲醇,稍干,加入 Giemsa stain 工作液

(Giemsa stain 储备液:磷酸盐缓冲液=1:9(体积比),现配现用)染色 30 min,PBS 洗 2 遍后,镜下观察并拍照。

1.7 流式细胞仪测定细胞线粒体膜电位变化

取对数期 SI-1 细胞,接种于 6 孔细胞培养板,每孔加入 2 mL 细胞悬浮液,培养 24 h 后加入不同质量浓度(5、10、20、40 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的提取物,对照组加入终体积分数为 0.5% 的 DMSO。处理 48 h 后,收集细胞,以 PBS 漂洗 3 次,2 000 r/min 离心 5 min,弃上清。加入 200 μL 已配制好的 Rhodamin123,使其终浓度为 10 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 。27 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 30 min,直接上流式细胞仪以 FL1 通道检测 MIF 值,Cell Quest 软件分析。

1.8 数据处理

细胞线粒体膜电位数据经 FACS-Calibur 流式细胞仪和 Cell Quest 软件获取,获得的数据用 Cell Quest 软件分析;方差分析使用 SPSS 20 和 Excel 2010 完成。

2 结果与分析

2.1 对 SI-1 细胞的增殖抑制作用

由表 1 可知,处理 24 h 后,10 种植物提取物对 SI-1 细胞有增殖抑制作用,其中 5 种(姜、高良姜、毛

表 1 20 种泰国植物乙醇提取物(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)对 SI-1 细胞的增殖抑制作用¹⁾

Table 1 Inhibition of cell proliferation of 20 ethanol extracts of Thailand plants (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) on SI-1 cell

编号 No.	植物提取物 Plant extract	细胞增殖抑制率/%	
		Cell proliferation inhibition rate (mean $\pm$ SE)	
		24 h	48 h
Rotenone	鱼藤酮 Rotenone	42.08 $\pm$ 0.90d	67.09 $\pm$ 0.78b
TH01	姜花 <i>Hedychium coronarium</i> J. Konig	6.40 $\pm$ 2.36f	13.78 $\pm$ 4.23cd
TH02	姜 <i>Zingiber officinale</i> Roscoe	92.90 $\pm$ 0.31a	96.49 $\pm$ 0.86a
TH03	高良姜 <i>Alpinia galangl</i> (L.) Willd.	84.27 $\pm$ 2.02ab	93.05 $\pm$ 4.80a
TH04	波叶青牛胆 <i>Tinospora crispa</i> L.	13.83 $\pm$ 1.73ef	3.09 $\pm$ 3.30efg
TH05	方茎青紫葛 <i>Cissus quadrangularis</i> L.	-6.20 $\pm$ 3.36hi	19.20 $\pm$ 4.01c
TH06	花叶假杜鹃 <i>Barleria lupulina</i> Lindl.	-5.33 $\pm$ 1.04hi	-5.72 $\pm$ 2.56ghi
TH07	猫尾豆 <i>Uraria crinata</i> (L.) Desv.ex.DC.	-15.06 $\pm$ 6.97ijk	-11.08 $\pm$ 5.24ijk
TH08	毛鱼藤 <i>Derris elliptica</i> (Roxb.) Benth.	53.62 $\pm$ 1.34c	67.38 $\pm$ 2.39b
TH09	印楝泰国变种 <i>Azadirachta indica</i> A.Juss var. <i>siamensis</i> Valetton	77.28 $\pm$ 0.91b	88.55 $\pm$ 7.14a
TH10	马钱子 <i>Strychnos nux-vomica</i> L.	-18.17 $\pm$ 6.58jk	-8.88 $\pm$ 2.18hij
TH11	苦味叶下珠 <i>Phyllanthus amarus</i> Schumach.& Thom.	-10.52 $\pm$ 3.51hij	5.44 $\pm$ 1.64def
TH12	鳄嘴花 <i>Clinacanthus nutans</i> Lindau	-17.86 $\pm$ 0.86jk	-20.13 $\pm$ 0.74k
TH13	万寿菊 <i>Tagetes erecta</i> L.	-8.77 $\pm$ 6.75hij	-12.22 $\pm$ 1.491ijk
TH14	姜黄 <i>Curcuma longa</i> Dennst	86.68 $\pm$ 1.71a	92.48 $\pm$ 1.06a
TH15	腊肠树 <i>Cassia fistula</i> L.	-7.78 $\pm$ 2.57hi	1.32 $\pm$ 1.15fg
TH16	白薯莨 <i>Dioscorea hispida</i> Dennst.	-3.40 $\pm$ 1.90gh	11.97 $\pm$ 1.20ede
TH17	翅荚决明 <i>Senna alata</i> L.	-21.80 $\pm$ 0.77k	-16.03 $\pm$ 4.75jk
TH18	鱼腥草 <i>Houttuynia cordata</i> Thunb.	5.02 $\pm$ 1.92fg	0.53 $\pm$ 3.99fgh
TH19	泰国青柠 <i>Citrus hystrix</i> DC	40.87 $\pm$ 0.33d	76.33 $\pm$ 0.75b
TH20	菱叶 <i>Piper betel</i> Linn.	19.73 $\pm$ 0.77e	11.09 $\pm$ 1.15cdef

注:数据后不同字母表示在 5% 水平上差异显著。下表同。Note:Data with the different letters in column are significant difference at 5% level. The same as below.

鱼藤、印楝泰国变种、姜黄)抑制率显著大于阳性对照鱼藤酮;处理 48 h 后,14 种植物提取物对 SI-1 细胞有增殖抑制作用,其中 4 种(姜、高良姜、印楝泰国变种、姜黄)抑制率显著大于阳性对照鱼藤酮。效果最好的是姜、高良姜、印楝泰国变种、姜黄,24 h 抑制率分别达到 92.9%、84.27%、77.28%、86.68%,48 h 抑制率分别达到 96.49%、93.05%、88.55%、92.48%;泰国青柠处理 24 h 和 48 h 抑制率平均值大于鱼藤酮,分别为 40.87%和 76.33%。其他植物提取物对 SI-1 细胞增殖有促进作用。

由图 1 可知,处理 48 h,5 种植物提取物(姜、高良姜、印楝泰国变种、姜黄、泰国青柠)对 SI-1 细胞的增殖抑制率随着提取物浓度的增加而增大,其中泰国青柠效果较好但随浓度的增加抑制率变化较小,质量浓度为 5 $\mu\text{g/mL}$ 时细胞增殖抑制率已达 71.12%,质量浓度为 80 $\mu\text{g/mL}$ 时,抑制率仍小于

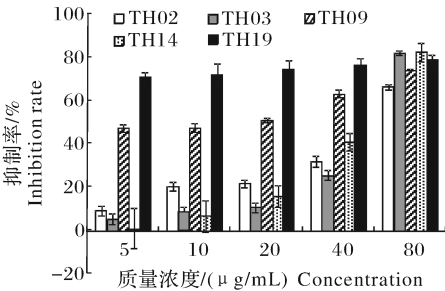
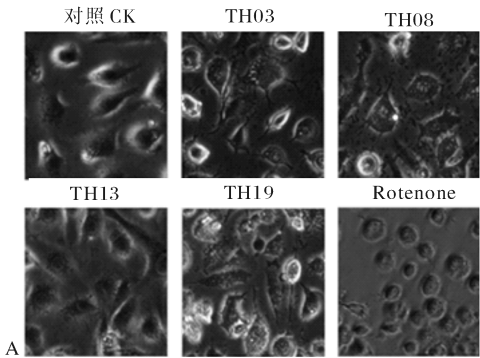


图 1 5 种泰国植物乙醇提取物不同质量浓度处理 48 h 对 SI-1 的细胞增殖抑制作用
Fig.1 Inhibition of cell proliferation of 5 ethanol extracts of Thailand plants on SI-1 cell after treated for 48 h



80%;其次是印楝泰国变种,在质量浓度为 20 $\mu\text{g/mL}$ 时,抑制率达 51.17%;同属于姜科的姜、高良姜和姜黄低浓度时抑制作用稍弱,高浓度抑制作用大,80 $\mu\text{g/mL}$ 时,细胞增殖抑制率分别为 66.54%、82.38%和 82.72%。

2.2 对细胞形态的影响

从图 2 可知,阴性对照组(CK)细胞大多成规则的椭圆形,细胞轮廓清晰,贴壁牢固,大小均一;高良姜(TH03)、毛鱼藤(TH08)、泰国青柠(TH19)等处理组细胞膨大,细胞边缘模糊不清晰,出现空泡,贴壁松散,细胞脱落甚至裂解为碎片悬浮在培养液中,并随着处理时间的增加,细胞形态变化加大,细胞碎片增多;万寿菊(TH13)等处理组对细胞形态无明显影响,呈规则的椭圆形或圆形、轮廓清晰;阳性对照组鱼藤酮(Rotenone)细胞变小变圆,部分脱落(只显示了有代表性的 6 种,其余部分图片未显示)。

2.3 Giemsa 染色观察细胞形态变化

经 Giemsa 染液着色后的细胞核成深蓝色,细胞质成淡蓝色。如图 3,阴性对照组(CK)细胞轮廓清晰,核居中间,呈规则的椭圆形或圆形;提取物处理组细胞形态不规则,胞质回缩(高良姜 TH03、泰国青柠 TH19、鱼藤酮 Rotenone)或裂解(毛鱼藤 TH08),细胞核浓缩深染,偏于一侧,严重的细胞变小、变圆,甚至脱落;万寿菊(TH13)等处理组对细胞影响不明显,形态呈椭圆形(部分图片未显示,只显示了有代表性的 6 种)。

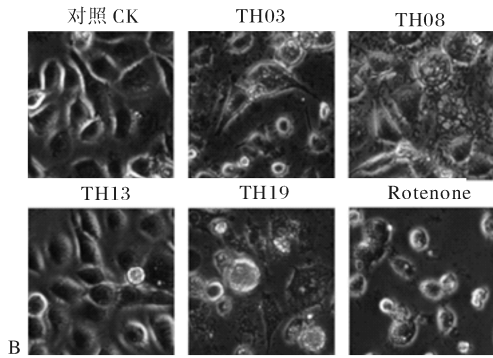


图 2 泰国植物乙醇提取物处理 24 h(A)和 48 h(B)对细胞形态的影响(200 $\times$)
Fig.2 The cell morphological changes of SI-1 treated with ethanol extracts of Thailand plants for 24 h (A) and 48 h (B) (200 $\times$)

2.4 线粒体膜电位变化

本试验用流式细胞仪测定了 5 种植物乙醇提取物处理后 SI-1 细胞线粒体膜电位的变化。由表 2 可知,处理 48 h 后,5 种植物乙醇提取物对 SI-1 细

胞膜电位都有影响。姜(TH02)和高良姜(TH03)对细胞线粒体膜电位的影响较小,10 和 20 $\mu\text{g/mL}$ 姜(TH02)处理组荧光强度值与对照差异不显著;高良姜(TH03)各浓度处理组平均荧光强度值与对

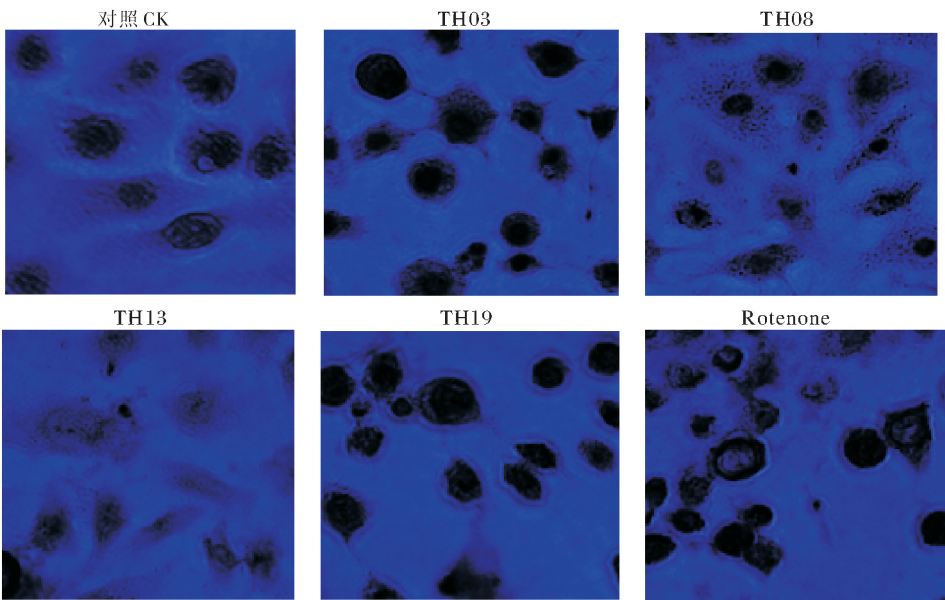


图 3 泰国植物乙醇提取物处理 48 h 对细胞整体形态的影响(400×)

Fig.3 The cell morphological changes of SI-1 treated with ethanol extracts of Thailand plants for 48 h (400×)

表 2 5 种植物乙醇提取物处理 SI-1 细胞 48 h 后 Rhodamine123 的 MIF 值

Table 2 MIF values of SI-1 cell treated with 5 ethanol extracts of Thailand plants for 48 h

处理 Concentration	平均荧光强度值 MIF value				
	姜 TH02 <i>Z. officinale</i> Roscoe	高良姜 TH03 <i>A. galangl(L.)</i> Willd.	印楝泰国变种 TH09 <i>A. indica A. Juss var.</i> <i>siamensis</i> Valeton	姜黄 TH14 <i>C. longa</i> Dennst	泰国青柠 TH19 <i>C. hystrix</i> DC
对照 Control	21.28±0.07a	21.28±0.07a	37.67±0.27c	37.67±0.27e	37.67±0.27e
5 μg/mL	19.57±0.20b	20.56±0.10ab	48.76±0.90b	46.12±0.44a	43.95±0.87d
10 μg/mL	22.14±0.12a	17.68±0.69c	50.86±0.45a	43.88±0.40b	53.73±0.49a
20 μg/mL	22.15±0.57a	19.47±0.21b	49.97±0.00ab	39.63±0.32d	51.77±0.21b
40 μg/mL	17.48±0.14c	17.49±0.46c	49.18±0.18b	42.02±0.74c	49.72±0.38c

照差异均不显著。印楝泰国变种(TH09)对线粒体膜电位影响较大,不同质量浓度(5、10、20 和 40 μg/mL)处理后细胞内平均荧光强度值分别为 48.76、50.86、49.97、49.18,与对照组 37.67 差异显著,其中在 10 μg/mL 时,荧光强度值达到最大,之后随着浓度增加而减小。姜黄(TH14)处理组细胞线粒体膜电位变化显著,细胞膜发生轻微去极化;5 μg/mL处理组线粒体膜电位变化最大,平均荧光度值为 46.12。泰国青柠(TH19)各浓度处理组细胞线粒体膜电位发生明显改变,产生去极化作用;细胞内平均荧光强度值分别为 43.95、53.73、51.77、49.72,与对照差异显著,组间差异显著,在 10 μg/mL时平均荧光强度值最大。结果表明印楝泰国变种(TH09)和泰国青柠(TH19)各处理组线粒体膜电位发生明显改变,产生去极化,在 10 μg/mL

时去极化作用最强。

3 讨 论

本研究结果表明:姜、高良姜、印楝、姜黄、泰国青柠在 100 μg/mL 质量浓度下处理 24 h 和 48 h 可明显抑制 SI-1 细胞增殖,并且处理 48 h 的抑制率与提取物呈剂量依赖关系;质量浓度为 100 μg/mL 时,这 5 种植物提取物可以诱导细胞体积膨大、出泡,进而裂解为细胞碎片;5 种植物提取物均可引起细胞线粒体膜电位变化,其中印楝泰国变种、泰国青柠引起去极化作用较强。

细胞是最基本的生命系统,是构成昆虫的基本单位,是进行物质与能量交换的重要场所,细胞的衰弱和死亡直接影响到昆虫的生命活动^[6]。线粒体是细胞内一种非常重要的细胞器,是细胞氧化磷酸化

的场所,95%的 ATP 是在线粒体内产生的^[7]。能量供应是昆虫赖以生存的基础,而细胞氧化磷酸化与线粒体膜电位的稳定有密不可分的关系,膜电位的变化会打破维持细胞正常生命活动的离子分布的平衡状态,引起细胞内不利的生理生化状态产生,进而影响昆虫组织器官的功能。所以,能够抑制细胞增殖和线粒体膜电位变化的植物源活性成分有望开发成为新农药。研究报道植物源农药印楝素不仅对蚜虫、草蛉、蚊子等虫体有杀虫活性^[8-9],而且可以致使粉纹夜蛾细胞形态改变、线粒体膜去极化,喜树碱、烟碱和茛菪素类似物对 SI-1 细胞有毒杀作用^[10-11]。

本研究发现的对 SI-1 细胞具有活性的姜、姜黄、高良姜同属于姜科植物。已有研究表明,姜根茎提取物对尘污灯蛾表现出中等的生长调节作用和拒食作用^[12];姜黄提取物对异白蚁、尘污灯蛾、麦蛾等有杀虫活性^[13-16],表明这 2 种植物提取物对昆虫的生物活性在细胞水平与活体水平结果一致。高良姜属于姜科山姜属植物,对它的研究主要集中在医学方面:有温中、散寒、理气、镇痛、止呕等功效^[17];关于其杀虫活性方面的研究鲜有报道^[18-19],尤其对昆虫细胞水平的研究尚未见报道。泰国青柠是芸香科柑橘属植物,有化痰、止咳、健胃、止痛等功能,在农药活性方面研究较少,仅有人报道了其对于玉米象和蟑螂的杀虫活性^[20-21];本试验所用 TH09 为印楝泰国变种,对其研究鲜见。本试验结果可为利用昆虫细胞系开发植物源新农药提供重要的参考价值,高良姜、印楝变种和泰国青柠的杀虫活性成分及其作用机制值得深入研究。

参 考 文 献

- [1] 杜小凤,徐建明,王伟中,等.植物源农药研究进展[J].农药,2000(11):8-10.
- [2] 滕春红,陶波,吕志超,等.植物源除草剂研究进展[J].农药,2013(9):632-634.
- [3] 周青春,杨红,汪虹,等.农药生物测定新方法的研究Ⅱ.杀虫剂细胞生测体系的建立及改进[J].华中师范大学学报(自然科学版),1997(4):84-87.
- [4] 张欣,冯颖,丁伟峰,等.常用农药对 5 种昆虫细胞系的毒力测定及分析[J].林业科学,2011(4):182-189.
- [5] MOSMANN T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays [J]. Journal of immunological methods, 1983, 65(2): 55-63.
- [6] 彩万志,庞雄飞,花保祯,等.普通昆虫学[M].北京:中国农业大学出版社,2001:124-126.
- [7] 杨梧华,胡以平,胡火珍,等.医学细胞生物学[M].北京:科学出版社,2007:176-179.
- [8] SONG H J, LIU Y X, LIU Y X, et al. Design, synthesis, anti-TMV, fungicidal, and insecticidal activity evaluation of 1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline-3-carboxylic acid derivatives based on virus inhibitors of plant sources [J]. Bioorganic & medicinal chemistry letters, 2014, 24: 5228-5233.
- [9] REDDY G V P, ZHAO Z H, HUNBER R A. Laboratory and field efficacy of entomopathogenic fungi for the management of the sweetpotato weevil, *Cylas formicarius* (Coleoptera: Brentidae) [J]. Journal of invertebrate pathology, 2014, 122: 10-15.
- [10] 黄星艳,李文欧,张志祥,等.印楝素 A 与印楝素 B 对粉纹夜蛾 BTI-Tn-5B1-4 的细胞毒性[J].昆虫学报,2010(6):664-669.
- [11] 张志祥,徐汉虹,程东美,等.利用 MTT 法以茛菪素类似物对昆虫细胞毒力筛选及测定[J].华南农业大学学报,2000,21(3):30-32.
- [12] AGARWAL M, WALIA S, DHINGRA S, et al. Insect growth inhibition, antifeedant and antifungal activity of compounds isolated/derived from *Zingiber officinale* Roscoe (ginger) rhizomes [J]. Pest management science, 2001, 57(3): 289-300.
- [13] DAMALAS C A. Potential uses of turmeric (*Curcuma longa*) products as alternative means of pest management in crop production [J]. Plant omics, 2011, 4(3): 136-141.
- [14] CHOWDHURY H, KAR C S, SARKAR S K, et al. Feeding inhibitory effect of some plant extracts on jute hairy caterpillar (*Spilosoma obliqua*) [J]. Indian journal of agricultural science, 2012, 82(1): 59-62.
- [15] SALJOQI A, KHAN M A, ZELL E H, et al. Behavioral changes of *Heterotermes indicola* (Isoptera: Rhinotermitidae) against some natural products [J]. Pakistan journal of zoology, 2012, 44(6): 1613-1622.
- [16] IQBAL J, JILANI G, ASLAM M. Growth inhibiting effects of plant extracts against the grain moth, *Sitotroga cerealella* (Oliv.) (Gelechiidae: Lepidoptera) [J]. Pakistan journal of zoology, 2010, 42(5): 597-601.
- [17] 杨全,严寒静,庞玉新,等.南药高良姜药用植物资源调查研究[J].广东药学院学报,2012(4):382-386.
- [18] SUKHIRUM N, PLUEMPANUPAT W, BULLANGPOTI V, et al. Bioefficacy of *Alpinia galanga* (Zingiberaceae) rhizome extracts, (E)-p-acetoxycinnamyl alcohol, and (E)-p-coumaryl alcohol ethyl ether against *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae) and the impact on detoxification enzyme activities [J]. Journal of economic entomology, 2011, 104(5): 1534-1540.
- [19] CHANDEL B S, VAJPAI S, PANDEY A C. Aphidicidal exploration of *W. somnifera* Dun., *A. calamus* Linn. and *A. galanga* (L.) Willd against mustard aphid, *Lipaphis erysimi* Kaltendach (Hemiptera: Aphididae) [J]. Agricultural and biological research, 2011, 27(1): 66-77.
- [20] THAVARA U, TAWATSIN A, BHAKDEENUAN P, et al. Repellent activity of essential oils against cockroaches (Dic-

tyoptera; blattidae, blattellidae, and blaberidae) in Thailand [21] KERDCHOECHUEN O, LAOHAKUNJIT N, SINGKOR-
[J].Southeast Asian journal of tropical medicine and public NARD S,et al.Essential oils from six herbal plants for biocon-
health,2007,38(4);663-673. trol of the maize weevil [J].Hortscience,2010,45(4);592-598.

Cytotoxicity of ethanol extracts on *Spodoptera litura* (SI-1) cell line

ZHAO Huanhuan^{1,2} WANTANA Sinsiri³ HUANG Jiguang¹
WU Jiao¹ ZHANG Weiyun¹ ZHOU Lijuan¹

- 1.Key Laboratory of Natural Pesticide and Chemical Biology,Ministry of Education/
College of Agriculture,South China Agricultural University,Guangzhou 510642,China;
- 2.Guangzhou Sugarcane Industry Research Institute,Guangzhou 510316,China;
- 3.Faculty of Technology,Maharakham University,Maharakham 44150,Thailand

Abstract The inhibition of cell proliferation, cell morphological change and mitochondrial membrane potential change of ethanol extracts of 20 Thailand plants on *Spodoptera litura* (SI-1) cell were investigated by MTT test, inverted phase contrast microscope and flow cytometry, respectively. The results showed that the SI-1 cell proliferation inhibition effect of 5 ethanol extracts including Thailand plants (*Zingiber officinale* Roscoe, *Alpinia galangl* (L.) Willd., *Azadirachta indica* A. Juss var. *siamensis* Valeton, *Curcuma longa* Dennst and *Citrus hystrix* DC) was better than that of the control rotenone, and the inhibition was dose-dependent. After 24 h of the treatment, cells showed obvious morphological changes, including adhesion capacity reduction, vacuole and debris appearance. After 48 h of the treatment, more and more vacuoles and debris were present obviously in the media. Moreover, these five ethanol extracts could induce cell mitochondrial membrane potential change, among which *A. indica* A. Juss var. *siamensis* Valeton and *C. hystrix* DC were more effective. In conclusion, *Z. officinale* Roscoe, *A. galangl* (L.) Willd., *A. indica* A. Juss var. *siamensis* Valeton, *C. longa* Dennst and *C. hystrix* DC possessed cytotoxicity on SI-1 cells and deserved further researches.

Keywords ethanol extracts; Thailand plants; MTT test; *Spodoptera litura*; SI-1 cell; cytotoxicity; mitochondrial membrane potential

(责任编辑:边书京)