

沙打旺的毒性试验^{*}

林秉诚 张守信 王建华

(西北农学院牧医系)

摘 要

沙打旺 (*Astragalus adsurgens* pall) 提取液对一周龄小鸡的毒性, 结果是喂量达2ml/100克体重和4ml/100克体重无中毒症状; 6ml/100克体重出现中毒症状, 死亡率33.3%; 8ml/100克体重, 表现中毒症状, 4小时内全部死亡, 同样剂量给成年鸡饲喂无临床症状。

安哥拉家兔耳静脉注射8ml/1.2kg体重, 10ml/1.5kg体重均无异常表现。

测定沙打旺茎叶含亚硝基 (NO_2^-) 量, 是随其生长开花而增加。试验结果表明, 沙打旺茎叶中是含有 NO_2^- , 偶氮反应呈阳性。从中毒小鸡死后尸检, 主要病变是肺出血、肺气肿, 这与 NO_2^- 中毒有关, 故应适当控制其喂量, 尤其对小鸡应特别注意。

沙打旺提取液用薄层层析分离呈现7个组分, 其结构有待进一步鉴定。

前 言

沙打旺学名为直立黄芪, 别名麻豆秧、薄地犂、青扫条地、地丁等。它是豆科黄芪属多年生草本植物, 具有绿肥、固沙、保持水土等多种用途的牧草, 其适应性强, 适种于干旱半干旱地区, 抗逆性好, 茎叶营养丰富, 根系发达, 能吸收土壤深层水分, 耐旱、耐寒、耐贫瘠和盐硷, 产草量高, 是一种很有发展前途的青绿饲料。

黄芪在世界上约有三千余种, 主要分布于北温带, 稀见于北美和大洋洲, 分布中心在中亚和西亚。北美的黄芪属植物有三百余种, 是豆科植物中最大的属。

我国有250余种, 属于8个亚属50个组。沙打旺是我国六十年代从野种中驯化培育而成。目前, 世界上除日本、苏联有野生种分布外, 尚未见到其它国家有这方面的报道。沙打旺在我国东北、西北、华北等十余省(区)栽培, 面积约达5万亩。陕西省从

^{*} 本文承蒙段得贤教授、卢得仁付教授审阅, 张琼瑶同志作病理切片, 杨得祥同志协助测定 NO_2^- 含量, 特致谢意。

1975年开始引种, 试验数年, 采用飞机播种基本成功。

据国外文献报导, 所有豆科黄芪属植物并不一定均可用作饲草, 有的因含毒使畜禽发生急性或慢性中毒。在北美洲所有有毒植物中黄芪属和棘豆属对家畜危害性最大。1969、1972年Stermitz, F.R先后从黄芪属的A. misen, Var. oblongifolius分离和鉴定了miserotoxin即3-硝基-1-丙醇 β -D-葡萄糖苷, 在消化道里可被分解为毒性高的3-硝基-1-丙醇(3-Nitro-1-propanol, 3NpoH)。

1975年Stermitz, F.R和Harlow, M.C, 分离和鉴定了Hiptagin (1,2,3,4-tetra-3-nitro-propanoyl- β -D-glucopyranoside) Cibarian [1,6-di-(3-nitropropanoyl)-1- β -D-glucopyranoside] 这些硝基化合物能代谢分解为3-硝基丙酸(3-nitropropionic acid 3NPA), 而且这些植物每克组织的毒性大致相等, 可以造成畜禽慢性和急性中毒。慢性中毒表现后躯发生软弱, 综合症状的特点是, 全身虚弱, 后躯平衡失调, 震颤, 腹泻, 消瘦, 呼吸困难, 虚脱, 最后死亡于心肺衰竭。急性中毒的动物往往在采食后2—24小时倒毙。中毒多发生在反刍兽, 驴和马发生中毒的为数极少。

沙打旺对畜禽有毒与否, 迄今未见报道, 为此特进行本试验。

材料和方法

一、试验动物

1. 西北农学院教学农场畜牧站繁育的一周龄健康莱航小鸡32只。
2. 西北农学院牧医系实验动物房饲养的3只成年鸡(本地土种公鸡2只、母鸡1只)。
3. 西北农学院牧医系实验动物房饲养的3只安哥拉家兔。
4. 西北农学院牧医系实验动物房饲养的1头牛(取瘤胃液用)。

二、材料

1. 仪器: MPS-5000多用分光光度计, 比色杯1.0cm, 负高压300V。
2. 沙打旺: 1981年10月上旬, 1982年3—10月采集于西北农学院饲料试验地(由河南引种栽植), 每月15日采集, 自然干燥, 60℃鼓风干燥24小时, 粉碎后过20目筛, 贮存在密封塑料袋内备用。

3. 提取液制备: 称取40克沙打旺粉(茎叶), 用无水乙醇在索氏提取器内提取48小时, 提取液室温冷却、过滤, 减压浓缩成膏状物, 用100ml蒸馏水溶解、过滤, 滤液用氯仿萃取, 除去杂质, 水层经蒸发浓缩呈棕色糖浆状, 使1毫升提取液相当于1克粉末。

三、方法

1. 测定沙打旺含亚硝基量(NO_2^-)

取测定的被检粉末(40目)0.5克, 加入1N盐酸溶液10ml, 室温提取2小时, 并不断搅拌, 定量滤纸过滤后, 每种滤液再作以下处理: 分别于3个试管(其中一个作对照管, 两个为测定管)中各加1ml滤液, 接着再加1ml 20%氢氧化钾溶液室温过夜。每

管各加 5 ml 蒸馏水, 测定管先加 1 ml 冰醋酸, 再加 1 ml 格林氏液 (Gness-Illosray), 对照管加 2 ml 冰醋酸, 20 分钟后变微红色, 各管 1500 转/分离心 4 分钟, 在分光光度计上用 530 纳米波长, 以对照管校正 0 点, 测定光密度。

2. 亚硝酸钠标准液的测定

准确称取亚硝酸钠 0.1495 克, 溶于 100 ml 无离子水中, 此液 1 ml = 毫克 NO_2^- 的溶液。

标准曲线制备:

取小试管 11 支, 依次分别加入亚硝酸钠标准液 (1 毫升 = 0.01 毫克 NO_2^-): 0, 0.1, 0.09, 0.08, 0.07, 0.06, 0.05, 0.04, 0.03, 0.02, 和 0.01 ml, 各加无离子水至 5 ml, 然后加氨基苯磺酸—甲位萘胺溶液 1 毫升, 混合, 放置 15 分钟, 用 530 纳米波长比色, 光密度为纵座标, 含量为横座标, 作出标准曲线。

3. 薄层层析

制板: 所用硅胶系上海荧光化学厂生产的硅胶 GF, 按正规制板。

取提取液 10 毫升, 减压浓缩至干, 用无水乙醇溶解, 点板, 展开剂: 正丁醇: 乙酸: 水 (6:1:2)。显色: I_2 蒸气。

4. 中毒试验

(1) 一周龄小鸡试验:

将 32 只一周龄健康小鸡, 随机分成四组, 按 100 克体重胃管投服沙打旺提取液分别为 2 ml、4 ml、6 ml、8 ml。对照组用无离子水。试验前一日下午不给喂食。

(2) 成年鸡试验, 按每 100 克体重胃管投服 8 ml 沙打旺提取液。

(3) 安格拉兔试验: 从耳静脉注射提取液 8 ml/1.2 kg 体重, 10 ml/1.5 kg 体重。

5. 消化试验

取牛胃液 100 ml, 加新鲜沙打旺茎叶 20 克在培养箱中 39℃ 培养 1、2、3、4 小时后, 测定含亚硝基量。

结果与讨论

一、中毒试验

一周龄小鸡对沙打旺的敏感性是随含量递增而增加: A 组未发现中毒症状或异常表现; B 组有暂时性的异常表现, 精神沉郁, 粪便粘稠带棕色, 但 3 小时内均恢复正常; C 组有中毒症状, 两翅下垂, 闭眼, 呆立, 头颈下垂, 甚至伏卧, 呼吸轻度困难, 2 只症状严重, 伴有张嘴呼吸, 甚至挣扎倒毙, 死亡时口流棕色粘液; D 组全部出现中毒症状, 均在 4 小时内死亡 (试验结果见表 I)。

尸体剖检:

C 组: 被毛松乱, 口流棕色粘液, 嗦囊扩张内含多量棕色粘液, 浆膜呈树枝状充血, 肠系膜及局部肠浆膜充血, 肝有少数条状或点状出血, 胆囊扩张充满胆汁, 心冠状沟血管充血, 其它未见肉眼变化。

D 组: 鸟喙、皮肤发绀, 咀多数未见流有棕色粘液, 3 只嗦囊扩张, 浆膜及周围组

表 I

沙打旺提取液喂小鸡试验

组别	项目	编号	体重 (克)	喂量 (毫升)	症 状	结 果
A组	2ml/100克	8	49	0.98	采食、饮水，活动等均正常，排泄的粪便稍带棕色。	活泼健康
		9	46	0.92		
		12	42	0.84		
		16	45	0.99		
		20	44	0.88		
		28	37	0.74		
B组	4ml/100克	10	37	1.48	闭眼，精神沉郁，排出粘稠棕色粪便，症状在3小时内消失，恢复正常。	3小时内全部康复
		23	39	1.59		
		13	39	1.59		
		14	37	1.48		
		30	45	1.8		
		29	44	1.76		
C组	6ml/100克	5	42	2.52	闭眼、精神沉郁、低头呆立，被毛松乱，两翅下垂，头颈下垂，甚至向胸下伸曲，伏卧、呼吸困难，2只死亡。	除2只死亡外，其余的在4—8小时内恢复。 见照片(1)(2)(3)
		15	44	2.6		
		17	43	2.58		
		24	45	2.70		
		25	42	2.52		
		26	41	2.46		
D组	8ml/100克	1	50	4.0	精神沉郁、呆立、闭眼，饮食废绝，轻度颤抖，头颈下垂，排棕褐色稀薄粪便，伏卧，呼吸困难，未了呈周期性呼吸，断断续续。	4小时内全部死亡。 见照片(4)(5)
		2	47	3.76		
		3	41	3.28		
		4	45	3.6		
		11	43	3.44		
		22	44	3.52		
对照组 (喂无离子水)		6	45	0.90	无任何临床表现，活泼，一切均正常。	活泼健康
		7	46	0.92		
		18	46	1.84		
		19	45	1.80		
		21	43	2.58		
		27	44	2.64		
		31	45	3.60		
		32	44	3.52		

织有液体浸润，肝脏有淤斑，胆囊充满胆汁，肠系膜及肠粘膜均充血。

病理组织学变化：

C、D两组基本相似，主要在肺脏，毛细血管充血、出血，肺房、副支气管、次级支气管、呼吸性毛细管腔中有多量红细胞，部分副支气管呈现不同程度的扩张、破裂、变形，甚至消失。有的管腔内含有嗜伊红丝状物。D组以呼吸性毛细管扩张、充满气体为主。

肝：中央静脉、窦状隙充满红细胞，肝细胞胞浆中出现大小不等圆形空泡，有的肝被膜下有较宽坏死区，肝细胞胞核消失，红染一片。

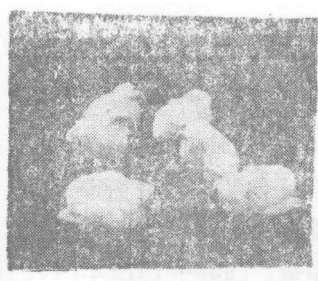
肾：肾小管间小血管充血，严重者出血，肾小管上皮细胞胞浆有大的空泡，上皮细胞脱落入管腔内。

肠：腺上皮细胞脱落、充血。

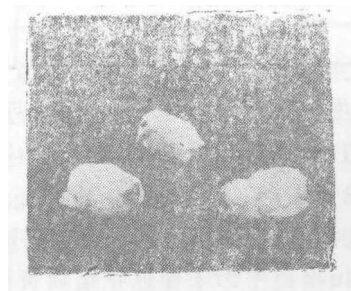
成年鸡，按8ml/100克体重喂沙打旺提取液，均无异常表现。

安格拉家兔耳静脉注射沙打旺提取液，均无异常表现。

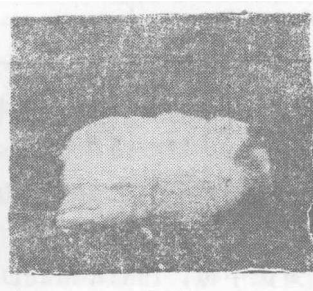
从敏感动物即一周龄小鸡表现出内服2—4克沙打旺提取液，不中毒，而6克的，有1/3中毒，8克即全部死亡，可初步说明沙打旺是含有毒的。但成年鸡未见中毒，其原因也许是幼龄鸡的屏障结构及免疫机能均未发育完善，容易发生疾病，而发病经过也较为严重。成年鸡因神经系统及屏障结构发育成熟，故抵抗力较强。从试验动物结果可认为沙打旺属于低毒黄芪属植物，中毒是与单位时间内的喂量、年龄和品种有关。



(1)



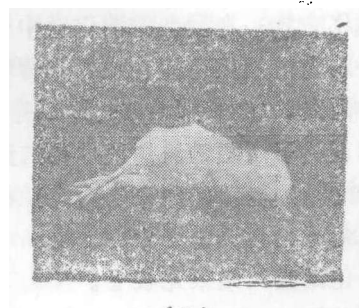
(2)



(3)



(4)



(5)

注：(1) (2) (3) 照片为C组中毒的小鸡

(4) (5) 照片为D组中毒的小鸡

二、亚硝基 (NO_2^-) 含量的测定

每月定时测定沙打旺茎叶含亚硝基 (NO_2^-) 量, 它们偶氮反应均为阳性 (测得结果见表Ⅱ)。

表Ⅱ 沙打旺含亚硝基 (NO_2^-) 季节变化

收集月日	生长阶段	样品	平均光密度	平均百分率植物克/毫克
82年4月15日	花 前	干粉末	0.021	0.07
		新鲜茎叶	0.018	0.06
5月15日	花 前	新鲜茎叶	0.023	0.07
6月11日	" "	" "	0.025	0.084
7月15日	" "	" "	0.025	0.084
8月15日	花 期	" "	0.05	0.15
9月15日	" "	" "	0.055	0.168
10月15日	籽 熟	" "	0.049	0.148
总平均				0.10425 ± 0.035
		干 根	0.04	0.122

沙打旺含 NO_2^- 量有随植物生长不断增加的趋势, 但十月份以后又有所下降。

1920年Marsh和Clawson首次报道了含硝基植物引起中毒, 随后Bruce报道了英国哥伦比亚绵羊、牛和马的铃兰黄芪中毒。1932年Blath等报道在怀俄明放牧海劳菲 鲁斯黄芪的牛发生类似的中毒。1940年Mathews记述了得克萨斯绵羊、山羊和牛的 埃 默里氏黄芪中毒。1952年MacDonald报道牛因采食迟花柔弱黄芪中毒。1969—1972年Stermits、F.R, 从长圆叶柔弱黄芪中分离到毒素mis[rotoxi, 证明含硝基的植物能合成脂肪族硝基化合物, 在反刍兽消化道中柔弱毒素被代谢转变成毒性高的3-硝基-1-丙醇。另外的含硝基植物能合成的化合物在反刍动物消化道里则被代谢转变成弱毒性的3-硝基-丙酸。1981年James.L.F等报道了“家畜黄芪属植物中毒综合症”, 1982年鲁西科等报道了西藏劲直黄芪中毒的调查报告, 汪傲等在沙打旺研究中也指出沙打旺是含有毒性的。这与我们所测的含有亚硝基是一致的。

三、植物在瘤胃内消化过程中的变化

模拟消化试验, 结果见表Ⅲ。 NO_2^- 含量比茎叶测定为高, 随时间延长而下降。

测定值与Stermitz、F.R所报道的相似。

从动物试验及 NO_2^- 含量测定的结果, 都说明了中毒小鸡的死亡与肺出血、肺气肿相联系。

四、从西藏泽当采集的11月份干劲直黄芪(有毒紫云英)含亚硝基(NO_2^-)量测定结果(见表Ⅳ)。

表Ⅱ 牛瘤胃液与沙打旺茎叶培养后测 NO_2^- 含量表(五月采集)

培养时间	平均光密度	平均百分比 植物克/含 NO_2^- 毫克数
1 小时	0.039	0.13
2 小时	0.034	0.114
3 小时	0.021	0.07
4 小时	0.020	0.066

表Ⅳ 干劲黄芪含亚硝基量的测定

采集时间	生长阶段	样 品	平均光密度	平均百分含量植物克/ NO_2^- 毫克数
1981年11月	成熟期	干茎叶	0.03	0.09
1981年11月	同上	干种子	0.02	0.06
1981年11月	同上	干 根	0.023	0.07

测定结果,茎叶含毒素最高,所以中毒在当地发生由来已久,因此对沙打旺大量采食时要提高警惕,以免中毒的发生。

五、层析结果呈现7个棕色斑点,Rf值分别为:

0.2、0.42、0.56、0.59、0.78、0.81、0.9,其中0.59和文献报道misertoxinin Rf值很接近,由此可见沙打旺所含物质比较多,有待今后作进一步研究。

参考文献

1. Stermitz, F. R. et al: misertoxin, a new naturally occurring nitro Compound《J. Amer. chem. Soc》91, 4599 (1969).
2. Stermitz, F. R. et al: Aliphatic nitro Compounds from Astragalus species《Phytochemistry》11, 1117 (1972).
3. Stermitz, F. R. et al: Screening of Argentine plante for Aliphatic nitro Compounds: Hiptagin from heteroperis Angustifolis《phytochemistry》Vol. 14, 1341—1345 (1975).
4. Horlow, M. C. et al: Isolation of nitro Compounds from Astragalus Species《Phytochemistry》Vol. 14, 1421—1423. (1975).
5. James, L. F. et al: Synadromes of Astragalus Poisoming in livestock

- 《J. Am. vet med Assoc》Vol. 178, No. 2, 146—150 (1981).
6. Williams, M. C. et al: metabolism of miserotoxin to 3—Nitro—1—propanol in Bovine and Ovine Ruminant Fluids《Am. J. Vet, Res》Vol. 31, NO 2, 259—261 (1970).
7. Williams, M. C. et al: miserotoxin A toxic Compound in Astragalus michauxii《phytochemistry》Vol. 16, 1438—1439 (1977).
8. 鲁西科等, 西芷乃东家畜有毒紫云英中毒的调查,《兽医科技》杂志, (1982) 第5期。
9. 汪傲等, 沙打旺毒性的研究初报, 中国农业科学院畜牧研究所(内部资料)。

Tests On The Toxicity Of Milk Vetch

(*Astragalus Adsurgens pall*)

Lin Bin-chen Zhang Shou-xin Wang Jiang-hua

(Northwestern College of Agriculture)

Abstract

The effects of the toxicity of liquid extracted from milk vetch (*Astragalus adsurgens pall*) given to one-week-old chickens were that no toxicosis was found when the respective feeding scale of 2ml and that of 4ml were given to chickens with body weight of 100g, but an apparent toxicosis occurred when the feeding scale of 6ml was given to those with body weight of 100 g, with the death rate of 33.3%; that of 8ml to those with body weight of 100 g Chickens showed the symptoms of toxicosis and all of them died after 4 hours. And yet, when the same dosage of feeds was given to the old chickens, no clinical symptoms of toxicosis were found.

when 8ml was used for ear vein intravenous injection into Angora rabbits with body weight of 1.2kg and 10ml into those with body weight of 1.5kg, no any special expressions were found.

The amount of nitro-compounds (NO_2^-) in leaves and stems determined increased as it grew and flowered. Results obtained from the tests indicated that nitro-compounds (NO_2^-) were contained in the leaves and stems of milk vetch, and the Griess-Ilovsay showed positive reaction. Postmortum examination of poisoning chickens showed that the principal pathological changes were: long bleeding and pulmonary emphysema which were related to toxicity of nitro-compounds. And therefore, special attention should be given to chickens.