

91-94

17

第20卷 第4期
1992年11月西北农业大学学报
Acta Univ. Agric. Boreali-occidentalisVol.20 No.4
Nov. 1992

国产印楝树皮中印楝素测试初报

张 兴

赵善欢

(西北农业大学, 陕西杨陵·712100) (华南农业大学, 广东广州·510642)

摘 要 用 TLC 法测知引入中国种植的印楝树皮中含有印楝素; 用对印楝素有典型中毒反应的菜青虫、玉米螟所做的生物活性测定结果也表明树皮提取物中含有一定量的印楝素; 用 HPLC 法测定印楝素含量为 0.65 mg/g 干树皮。其结果有助于直接用印楝物质作为杀虫剂及印楝产物综合利用的研究。

关键词 印楝, 印楝素, 菜青虫, 玉米螟, 薄层层析, 高效液相色谱

中图分类号 S481.1, S482.39

在植物性杀虫剂研究中, 从印楝(*Azadirachta indica* A. Juss)中已分离出多种杀虫活性物质。其中最高效的是从种子和叶子中分离出的印楝素(Azadirachtin), 由于该物质对多种害虫表现出强烈的拒食和抑制生长发育作用^[1-3]而深受重视。我国有关研究工作者也在此方面做了不少工作^[4,5]。在研究其杀虫作用的同时, 华南农业大学昆虫毒理研究室杀虫植物标本园 1983 年引入了印楝并试种成功。1986 年大面积成功地引种于海南省万宁县^[6]。我们对其杀虫成份做了测试, 发现除了果、叶中含有印楝素外, 其树皮中也有一定含量。现将树皮中印楝素的初步测定结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料

印楝素纯品, 由联邦德国吉森大学 H. Schmutterer 教授提供; 印楝树皮及抽提: 从华南农业大学昆虫毒理研究室杀虫植物标本园内取 5 年生印楝树杆皮(包括韧皮部和木栓层), 阴晾干后机械粉碎并通过 40 号筛目。取粉碎样品 10 g, 装三角瓶中用热水于 80℃ 水浴中多次浸提、过滤、合并滤液, 用石油醚脱脂后再用氯仿萃取。将萃取液脱水并减压浓缩至干, 用甲醇定容至 10 mL 待测。

1.2 印楝素定性定量分析

①薄层层析法(TLC) 用层析硅胶 H 制成薄板。展开剂为氯仿、丙酮(2:1), 显色剂为 0.5% 硫酸香草醛(用 4:1 的硫酸、乙醇混合液溶解香草醛); ②高效液相色谱法(HPLC) 用 WATERS ALC/GPC 244 型高效液相色谱仪进行检测。柱型为 Zorbax C₈, 柱规格为 $\phi 4.6 \text{ mm} \times 25 \text{ cm}$, 流动相为甲醇、水(65:35), 流速为 1 mL/min, 柱压为 1 580 bf/in², 紫外检测波长为 217 nm。

文稿收到日期: 1991-09-20.

* 本研究中部分工作得到国家教委优秀年轻教师基金资助。

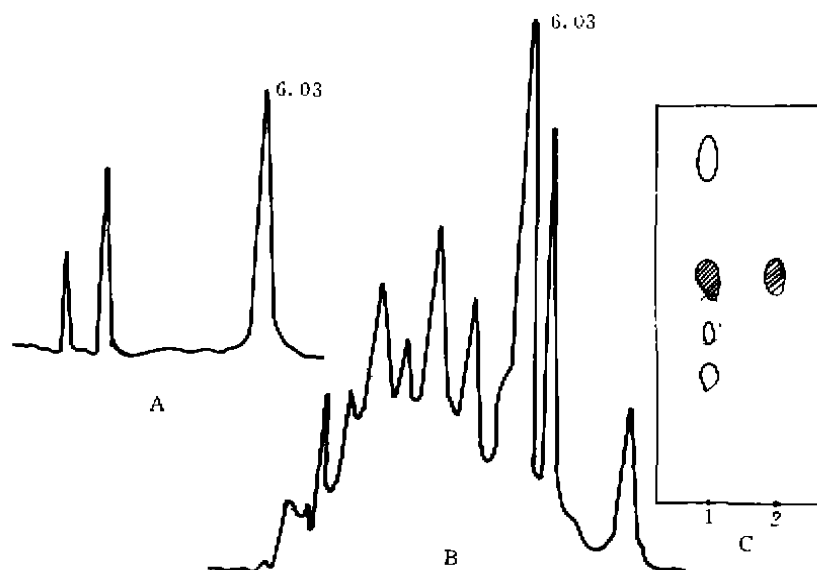
1.4 印楝素生物测定

①注射法 取 1 mL 提取液, 吹干甲醇后加入 4 mL 注射用溶剂(丙酮: 双蒸无菌水 = 1: 1)制成注射液。印楝素纯品制成浓度为 0.2 g/L 的注射液。测试时选取 5 龄中期菜青虫(*Pieris rapae* L.) 幼虫, 从腹侧注射药液于幼虫体内($1 \mu\text{L}/\text{头}$); ②饲喂法 参照赵善欢等^[7]的方法进行。取人工饲料饲养的亚洲玉米螟(*Ostrinia furnacalis* Guen.) 4 龄幼虫, 分别饲喂含提取液 $2 \mu\text{L}/\text{g}$ 、印楝素 $20 \mu\text{g}/\text{g}$ 的混合人工饲料。每处理配制饲料 100 g, 接入试虫 65 头。养虫室条件: 光照 16 h/d、温度 $26 \pm 0.5^\circ\text{C}$, 相对湿度 70%~80%。

2 测试结果

2.1 印楝树皮中印楝素的含量

TLC 法检测结果(见附图 C), 在印楝素纯品显色点(紫红色)的相同比移植处(R_f 值为 0.55), 树皮提取液也出现相同颜色的斑点。初步表明提取液样品中含有印楝素; HPLC 法测定结果(见附图 A, B), 在 RT 6.03 处, 印楝素纯品和树皮提取液样品均出现一明显的峰。证明样品液中含有印楝素。经计算, 其含量为 $0.65 \text{ mg}/\text{g}$ 干树皮。



附图 印楝素和印楝皮提取物的色谱图

A, B. HPLC 检测结果: A 印楝素; B. 印楝树皮提取物; C. TLC 检测结果;

1. 印楝树皮提取物; 2 印楝素; 具斜线的斑点为印楝素, 显紫红色

2.2 树皮提取液生物活性的测定

生物测定中, 用对印楝素的注射和取食有典型反应症状的菜青虫和亚洲玉米螟幼虫, 对样品中的印楝素进行测试。由表 1, 2 可以看出, 试虫对印楝树皮提取液和印楝素纯品均表现出相似的中毒反应。菜青虫成为畸形蛹及成虫, 玉米螟一直处于幼虫状

态, 不能化蛹, 成为“永久性”幼虫。幼虫期最长的比对照组要长出 40 多天, 最后因不取食, 失水等原因而死亡, 仅个别的试虫可以成为幼虫—蛹中间态畸形体。

表 1 菜青虫五龄幼虫注射印楝素、
印楝皮提取物的试验结果

处 理	试虫数	畸虫(蛹, 成虫)率 (%)	死亡率 (%)
印楝皮提取物 (稀释 4 倍)	90	94.4	96.7
印楝素 (0.2mg/mL)	93	80.6	91.4
对 照	119	2.5	6.3

表 2 亚洲玉米螟 4 龄幼虫饲喂印楝素、
印楝皮提取物的试验结果

处 理	浓 度	死亡率 (%)	平均幼虫 历 期 (d)	最 长 的 幼虫历期 (d)
印楝皮 提取物	2 μ L / g	100	23.2	48
印楝素	20 μ g / g	92.3	24.7	51
对 照	—	9.2	10.4	12

3 讨 论

对国产印楝树皮中含有印楝素这一问题仍需作进一步的调查和研究。据文献报道⁽¹⁻³⁾, 印楝素主要存在于印楝种子中, 叶子中也有少量分布, 但还没有见到树皮中也含有印楝素的报道。Schmutterer(1990 年)⁽⁸⁾ 曾对印楝的研究进展情况作了全面的综述, 仍没有提及到关于树皮中含有印楝素的研究报道。究竟是国外对此方面未进行研究还是由于植物生长的地域生态型不同而致树皮中不含或含量甚少的缘故, 需做进一步的调查。

印楝树皮中含有印楝素的研究和发现将会有助于印楝物质的综合利用。印楝素、川楝素等楝科植物中所含有的多种杀虫活性物质均属于四环三萜烯类化合物⁽⁹⁾, 且以印楝素的化学结构最为复杂。美国、西德等国家的专家已断言, 印楝素的人工合成几乎为不可能的。在生产实践中也是以大量引种栽植印楝树而直接利用印楝产品(主要为种子)加工成杀虫剂的。我国已在海南省、广东徐闻等地引种印楝成功, 并且正在研究利用印楝产品直接作为杀虫剂使用。所以对印楝树皮中是否含有印楝素这一问题的证实, 无疑有助于产品的综合利用及其潜能的充分发挥。

参 考 文 献

- 1 Schmutterer H, Ascher K R S, Rembolu H. Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss). Proc. 1st Int. Neem Conf, Rottach-Egern, W. Germany, 1980. 1981
- 2 Schmutterer H, Ascher K R S. Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) and other tropical plants. Proc. 2nd Int. Neem Conf, Rauscholzhausen, W. Germany, 1983. 1984
- 3 Schmutterer H, Ascher K R S. Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) and other tropical plants. proc. 3rd Int. Neem Conf, Nairobi, Kenya. 1986. 1987
- 4 Chiu Shin-Foon, Zhang Xing, Liu Xiu-Kong *et al.* Grow-disrupting effects of azadirachtin on the larvae of Asiatic corn borer (*Ostrinia furnacalis* Guen.). *Zeitschrift fur angewandte Entomologie*. 1985; 99(3): 276~284
- 5 Zhang Min-Li, Chiu Shin-Foon. The effects of azadirachtin on the ecdysteroid titre in the larvae of *Ostrinia*

- furnacalis* Guen. *Zeitschrift fur angewandte Entomologie*, 1987; 103(4): 355~359
- 6 赵善欢, 张业光, 蔡得智等. 印楝引种试验初报. 华南农业大学学报, 1989; 10(2): 34~39
 - 7 赵善欢, 张 兴, 刘秀琼等. 印楝素对亚洲玉米螟幼虫生长发育的影响. 昆虫学报, 1984; 27(3): 241~247
 - 8 Schmutterer H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annu Rev Ent*, 1990; (35): 271~397
 - 9 赵善欢, 张 兴. 植物性物质川楝素的研究概况. 华南农业大学学报, 1989; 10(2): 34~39

Azadirachtin Found in the Bark of Neem Tree Grown in China

Zhang Xing¹ Chiu Shin-Foon²

(1 Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi, 712100)

(2 South-China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong, 510642)

Abstract Azadirachtin was found in the bark of introduced neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) grown in China by TLC examination. The bioassays made with imported cabbage worm (*Pieris rapae*) and Asiatic corn borer (*Ostrinia furnacalis*) having typical poisoning reaction to azadirachtin indicated that the extracts from the crushed bark of neem tree contained a certain amount of azadirachtin. The content of azadirachtin in the bark of neem tree was tested and calculated to be 0.65 mg/g in dried bark by HPLC, those findings could be very helpful to directly use the substances from the neem tree as insecticide and the comprehensive utilization of the products of the neem tree.

Key words *Azadirachta indica* A Juss, Azadirachtin, *Pieris rapae* L.; *Ostrinia furnacalis* Guen, TLC, HPLC