

雷公藤总生物碱分离及杀虫活性研究^{*}

罗都强, 冯俊涛, 胡 瓚, 祝木金, 张 兴

(西北农林科技大学 无公害农药研究服务中心, 陕西 杨陵 712100)

[摘 要] 提取、分离了雷公藤(*Tripertegium wilfordii* Hook)根皮中总生物碱, 并对其杀虫活性和作用方式进行了系统的生物测定。结果表明, 雷公藤总生物碱对5龄菜青虫有很强的麻醉、拒食和毒杀作用; 拒食中浓度AFC₅₀为275.53 mg/L, 毒杀中浓度LC₅₀为77.86 mg/L, 麻醉中量ND₅₀为2.29 μg/g; 雷公藤总生物碱无触杀和熏蒸作用。试虫中毒症状主要为幼虫表皮出现黑斑, 形成黑斑部分不能脱去旧表皮, 最终死亡。

[关键词] 雷公藤; 总生物碱; 杀虫作用; 菜青虫

[中图分类号] S482.3⁺9

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-2782(2001)02-061-04

雷公藤(*Tripertegium wilfordii* Hook)属卫矛科雷公藤属植物, 又名断肠草、菜虫药, 我国主要分布于长江中下游地区, 在很早以前就用于医学和防治多种害虫, 为有名的杀虫植物之一^[1~4]。近年来, 随着使用有机化学农药各种副作用的出现, 人们迫切需要对害虫高效, 而对人、畜、作物、天敌等非靶标生物安全的新农药品种问世, 即“生物合理性农药”。而目前还未见雷公藤杀虫剂产品问世, 为此, 本试验对雷公藤根皮总生物碱进行了提取分离, 并系统研究了雷公藤总生物碱对菜青虫的杀虫活性, 现将试验初步结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材 料

菜青虫 从田间采回菜青虫(*Pieris rapae* L.)幼虫, 用甘蓝(*Brassica oleracea* var. *Coptata* L.)叶室内饲养, 挑选发育正常的5龄幼虫供试。

雷公藤根皮 1999年7月购自福建省泰宁县医药公司。

1.2 提取方法

将雷公藤根皮在60℃以下烘干, 用植物粉碎机粉碎(370 μm)后, 用乙醇回流提取得雷公藤浸膏。雷公藤浸膏加水后有沉淀物生成, 将其过滤后, 晾干成粗粉。用8倍量的质量分数5% HCl溶液渗漉该粗粉, 渗漉液用浓NaOH溶液调至pH 9~10, 静置24 h, 用布氏漏斗过滤出现沉淀物, 用水洗沉淀物1次, 再滤干, 60℃条件下干燥, 得粗雷公藤总碱。用

乙醚溶解, 醚液用质量分数1% HCl溶液萃取, 萃取液用氨水调至pH 9~10。放置过夜, 过滤出沉淀物, 用水洗沉淀物2次, 滤干, 60℃干燥, 得白色粉末状产物(得率约为生药的8 mg/g)。将此总碱用丙酮—甲醇重结晶, 即得无色颗粒状总碱纯品。

1.3 生物活性测定

拒食及毒杀作用 采用张兴等^[5]的小叶碟添加法, 测定雷公藤总生物碱对菜青虫的生物活性。在直径5 cm的培养皿底部铺一层滤纸, 并加水保湿。挑取大小一致健壮饥饿4 h的5龄前期幼虫, 每培养皿放1头, 每处理10头试虫, 重复3次。将待试样品用丙酮稀释成50, 100, 200, 400, 800 mg/L 5个质量浓度的溶液, 从未施过药的甘蓝地采回新鲜甘蓝叶片, 以打孔器打成直径1 cm的叶碟, 在配好的药液内浸1~2 s, 自然晾干(另设丙酮溶液对照)。于每皿内加叶碟一片, 恒温(T: (25 ± 1)℃; RH: 70%~80%)下饲养, 待试虫吃完后再加一片叶碟。记录试虫取食的叶碟数量, 于48 h统计取食量, 计算拒食率; 观察死亡数, 计算死亡率。

麻醉作用 按改进的夹毒叶片法测定^[6]。将供试样品用丙酮稀释成1 000和500 mg/L, 用1.049 μL微量注射器均匀涂在0.6 cm的叶碟上, 制成夹毒叶片。将从田间采回的5龄幼虫饥饿4 h, 逐头称重后单头置入直径5 cm的养虫盒。共用200头试虫, 于25℃温室中饲养。8 h后弃除未吃完夹毒叶片的试虫, 剩余供试昆虫129头, 换上无毒叶片, 再经2 h检查试虫是否麻醉。虫体平直、瘫痪、镊子

^{*} [收稿日期] 2000-06-06

[基金项目] 高等学校博士点基金资助项目(003518); 杨凌农业科技开发基金资助项目(98A19)

[作者简介] 罗都强(1965-), 男, 陕西扶风人, 讲师, 在读博士, 主要从事农药毒理学研究。

尖刺其尾部, 试虫无反应者为麻醉。然后按照测定杀虫剂胃毒毒力的方法, 统计样品的麻醉中量 ND_{50} 。

熏蒸作用 按三角瓶熏蒸法进行。给磨口三角瓶($V = 330\text{ mL}$)中接入 10 头供试昆虫, 在瓶塞内壁涂少量凡士林, 在内口粘好滤纸条($7\sim 8\text{ cm}^2$), 放入适量叶片。向滤纸条上滴加定量供试样品, 迅速盖好瓶塞, 设空白对照, 每处理重复 3 次, 将三角瓶置于养虫室($T: (25 \pm 1)$; $RH: 70\% \sim 80\%$; $L/D: 12\text{ h}/12\text{ h}$)内, 48 h 检查死亡数, 计算死亡率。

触杀作用 采用毛细管点滴法进行。按不同剂量设置 5 个浓度的药剂处理, 试虫平均体重 4.47 g , 用点滴量为 $1.049\text{ }\mu\text{L}$ 的毛细管点滴器施药液于试

虫前胸背板。点滴后放入温室(25)饲养, 每处理用虫 30 头, 48 h 检查死亡数, 统计死亡率。

2 结果与分析

2.1 雷公藤总生物碱的鉴定

定性检查 所提取总生物碱纯品的乙醇溶液对碘化铋钾和硅钨酸试剂均显正反应。

薄层层析 先将自制的硅胶 G 薄层板用质量分数 1% 盐酸水溶液展开, 晾至 5 成干, 再点样品和各个成份标准品(福建省医科所提供), 然后用乙醚作流动相展开, 烘干, 喷改良的碘化铋钾试剂显色。至少出现 7 个橙色斑点, 薄层结果见图 1。

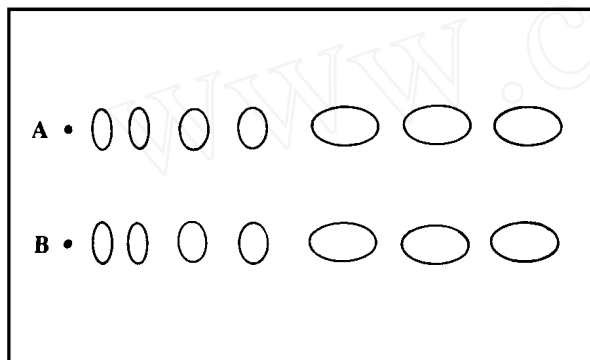


图 1 雷公藤总生物碱的薄层色谱图

A. 标准品; B. 样品

Fig 1 TLC of the alkaloids from

Tripterygium wilfordii Hook

A. Standard; B. Sample

2.2 拒食作用

用小叶碟加法测定拒食作用结果见表 1。从表 1 可见, 雷公藤总生物碱对 5 龄菜青虫有很强的拒食作用, 质量浓度越大, 拒食率越高, 以雷公藤总

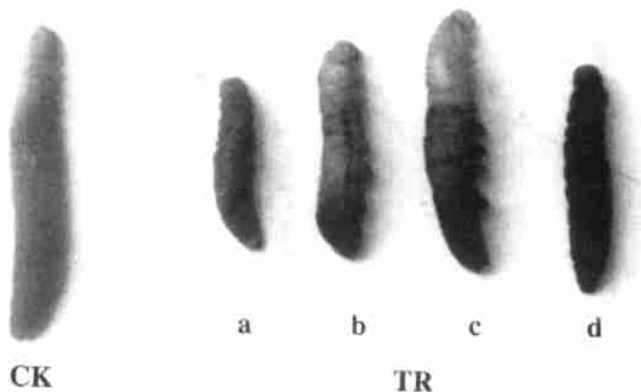


图 2 雷公藤总碱对菜青虫的致毒症状

a, b, c, d 代表处理幼虫出现黑斑的严重程度

Fig 2 The poisoning symptom of the alkaloids from

Tripterygium wilfordii against *Pieris rapae* L.

a, b, c, d Number of black spots

生物碱质量浓度对数为自变量(x), 拒食率的机值(Y)为因变量作回归, 则 $Y = 3.9584 + 0.4268x$, $AF_{50} = 275.53\text{ mg/L}$ ($R^2 = 1.2327^{**}$)。

表 1 雷公藤总生物碱对 5 龄菜青虫的拒食作用

Table 1 Antifeedant activity of the alkaloids from *Tripterygium wilfordii* against the 5th instars larvae of *Pieris rapae* L.

总生物碱质量浓度/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) Concentration	平均取食量/叶碟数 Average feeding amounts	平均拒食率/% Average anti-feeding rate	拒食率机率值 Y
50	93.5	40	4.7467
100	92.7	40.6	4.7622
200	80.0	48.7	4.9674
400	83.3	46.6	4.9147
800	58.6	62.4	5.3160
CK	156	—	—

2.3 毒杀作用

雷公藤总生物碱对 5 龄菜青虫有很强的毒杀作用。用雷公藤总生物碱处理的幼虫大多数在体表出现黑斑(见图 2)。当出现的黑斑小时, 脱皮后能恢

复, 当黑斑大时, 不能恢复, 影响脱皮变态, 形成黑斑部分不能脱去旧的表皮, 最终死亡。用小叶碟加法测定的毒力作用结果见表 2。以雷公藤总生物碱质量浓度对数为自变量(x), 死亡率的机率值(Y)为因

变量作回归, 则 $Y = 3\ 249\ 5 + 0\ 925\ 5x$, $LC_{50} = 77.86\text{ mg/L}$, $\chi^2 = 0\ 346\ 6^{**}$ 。

表 2 雷公藤总生物碱对 5 龄菜青虫的毒杀作用

Table 2 Toxicity of the alkaloids from <i>Tripterygium wilfordii</i> against 5th instars larvae of <i>Pieris rapae</i> L.			
总生物碱质量浓度/(mg · L ⁻¹)	校正死亡率/%	死亡率机率值	剂量对数值
Concentration	Corrected mortality	Y	Logarithm of concentration
50	45.3	4.8819	1.6990
100	51.2	5.0301	2.0000
200	62.8	5.3266	2.3010
400	77.3	5.7488	2.6021
800	82.1	5.9192	2.9031

2.4 麻醉作用

雷公藤总生物碱对菜青虫具有很强的麻醉作用。幼虫取食少量处理叶片后, 在叶片周围, 慢慢爬动, 行动越来越缓慢, 2 h 开始麻醉, 10 h 大部分试虫麻醉, 麻醉后虫体柔软, 可随意弯曲, 经过大约

24 h 后复苏。苏醒后取食少量处理叶片, 又进入麻醉, 不断重复。麻醉作用测定结果见表 3。按照测定杀虫胃毒毒力的方法计算麻醉中量 ND_{50} , $ND_{50} = (a + b)/2 = 2.29\ \mu\text{g/g}$ 。

表 3 雷公藤总生物碱对 5 龄菜青虫的麻醉作用

Table 3 Narcosis of the alkaloids from <i>Tripterygium wilfordii</i> against the 5th instars larvae of <i>Pieris rapae</i> L.					
中间组反应	数量	最低剂量	最高剂量	平均剂量	$ND_{50} = (a + b)/2$
Reaction of middle group	Number	Minimum dosage	Maximum dosage	Average dosage	
麻醉 Narcosis	61	1.777	4.443	2.970	2.29
正常 Normal	27	1.345	1.643	1.610	

2.5 熏蒸作用

试虫放置于三角瓶内之后, 很快寻找到食物, 不受悬挂的携药滤纸的影响, 48 h 观察无死亡现象。统计结果表明, 雷公藤总生物碱 500, 1 000, 2 000, 4 000, 8 000 mg/L 5 个处理, 2 d 后平均死亡率分别为 0%, 3.3%, 3.3%, 6.6%, 6.6%, 与对照无显著差异, 说明雷公藤总生物碱对试虫无明显熏蒸杀虫作用。

2.5 触杀作用

雷公藤总生物碱设置 100, 1 000, 1 600, 5 000, 10 000 mg/L 5 个处理, 用 1.049 μL 微量点滴器施药液于试虫前胸背板后, 用正常甘蓝叶片饲喂 48 h, 结果发现处理试虫的最高校死率仅为 10.3%, 说明雷公藤总生物碱对试虫无明显触杀作用。

3 结论和讨论

试验结果表明, 雷公藤总生物碱对菜青虫有强

的拒食、麻醉和毒杀作用, 无熏蒸和触杀作用。在试验过程中, 还观察到雷公藤总生物碱对粘虫 *Leucania separata* walker 有毒杀作用, 对玉米象 *Sitophilus zeamais* (Motsch.) 有一定的胃毒作用, 对棉铃虫 *Heliothis amigera* (Hübner) 也有一定的抑制生长发育作用。据此作者认为, 雷公藤总生物碱对多种害虫有效, 详细的杀虫作用谱值得进一步研究确定。

在本试验中, 作者还发现, 除总生物碱外, 非生物碱对菜青虫也有很强的拒食和毒杀作用, 总生物碱与非生物碱的中毒症状相似。对非生物碱的有效成份, 目前还不清楚, 需要作进一步的研究。另外, 在总生物碱中哪些是主效成分, 哪些是副效成分, 各成分之间有无协同、增效、拮抗作用, 还需要更深入地进行研究。这些问题的解决将为雷公藤这一杀虫植物的利用提供理论基础。

[参考文献]

[1] 陈同素 国产杀虫药雷公藤研究[J]. 中华化学工业会志, 1934, 9(2): 20
[2] Beroza M, Bottger G T. The insecticidal value of *Tripterygium wilfordii*[J]. J Econ Entomot, 1954, 47(1): 188- 199
[3] 董红云 雷公藤 黄杜鹃对菜青虫的毒理效应及防治的研究[D]. 广东广州: 华南农业大学植物保护系, 1986
[4] 罗都强, 张 兴, 冯俊涛 杀虫植物雷公藤研究进展[J]. 西北农业大学学报, 2000, 28(3): 84- 89
[5] 张 兴, 潘文亮 缓效型杀虫剂室内生物测定的药效计算和评价[J]. 北京农业科学, 1989, (3): 6- 10

[6] 吴文君, 文惠霞, 朱靖博, 等. 天然产物杀虫剂—原理、方法、实践[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1997.

Isolation and bioactivities of the alkaloids from *Tripterygium wilfordii* against *Pieris rapae* L.

LUO Du-qiang, FEN Jun-tao, HU Zan, ZHUMu-jin, ZHANG Xing

(Biorational Pesticides Research and Service Center, Northwest Science and Technology University of

Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract Alkaloids were extracted from the root bark of *Tripterygium wilfordii* Hook and identified. The results showed that the alkaloids has obviously insecticidal activities to imported cabbage worm (*Pieris rapae* L.). LC₅₀ values of poisoning to the 5th instars of *Pieris rapae* is 77.86 mg/L. The values of medium antifeedant concentration (AFC₅₀) of the alkaloids against 5th larvae of *Pieris rapae* is 275.53 mg/L. Median narcosis dosage (ND₅₀) is 2.29 µg/g. The alkaloids have neither fumigant nor contact poisoning to the insect. The main poisoning symptoms are that the activity of the tested insect was decreasing and the epidem of the larvae turns black, the larvae are dead at the last.

Key words: *Tripterygium wilfordii* Hook; alkaloids; insecticidal activity; *Pieris rapae* L.

“陕西关中小麦品种食品加工特性研究”课题通过鉴定

由西北农林科技大学魏益民教授主持完成的“陕西关中小麦品种食品加工特性研究”于 2001-03-19 在杨陵通过鉴定。该研究是在国家“九五”农业科技攻关子专题——小麦优质亲本材料创新与品质测试(96-002-02-03-06), 农业部“九五”部重点课题——优质小麦生产加工与开发工程, 陕西省“九五”科技攻关课题——陕西关中小麦新品种(品系)品质性状研究, 及企业协作课题的资助下完成的。经过课题组的共同努力, 取得以下研究成果: 首次对陕西关中地区业已应用的 125 个小麦品种(系)的籽粒品质进行了系统分析与综合评价。发现上述品种容重较高、籽粒硬度中等或较高, 蛋白质和湿面筋含量较高, 但沉淀值较低, 多数品种的面团稳定性差, 软化度较高; 近年来育成的荔垦 2 号、陕优 225、小偃 6 号、早优 504、小偃 503、长武 134、陕 16Q、陕农 7801、陕 15Q、长武 131 等品种可以代表陕西优质小麦品种的水平, 在黄淮麦区及全国有一定影响; 且近期推广面积较大的新品种(系), 有些品种品质有下降的趋势。这一研究结果不仅对陕西关中的小麦品种选育有前瞻作用, 而且对该地区小麦生产、品种结构布局有重要的指导价值。1996/97、1997/98 年, 以 29 个品种在 12 个县的区试种子为试材, 对其 12 个品质性状进行了分析, 用数量化的方法研究了关中地区小麦品种籽粒基因和环境对品质性状的影响, 完善了小麦品质性状随时空、遗传及环境要素的变化, 得出同一品种的品质性状在不同年份以及在同一年份的不同试点之间均表现出较大差异; 不同品种的同一品质性状及同一品种的不同品质性状的稳定性和适应性不同; 品质性状间的相关性同时受到遗传和环境因素的共同影响的科学论断。这一结论为优质小麦品种的区域布局、良种良法配套以及选育遗传稳定性高的优质品种提供了科学依据。综合研究了关中地区的小麦品种(系)制作面包、面条、馒头三大主要食品的适应性, 结果表明: 陕优 225、小偃 6 号、陕 15Q 适宜制作面包; 小偃 6 号、陕优 225、远丰 898、西农 1376 适宜制作面条; 小偃 6 号、小偃 107、远丰 898 适宜制作馒头。其中小偃 6 号为优质面包、面条、馒头兼用型小麦品种, 陕优 225 为优质面包、面条兼用型小麦品种, 远丰 898 为面条、馒头兼用型小麦品种。陕西关中地区缺少强筋小麦品种, 适宜馒头和面条制作的品种较多。这一研究结果不仅为该地区小麦专用面粉生产和食品质量改进提供了重要科学依据, 而且为该地区优质专用小麦品种选育指明了方向。在小麦品质与普通机制面条品质相关性研究的基础上, 确定了影响面条品质的主要亚性状在面条品质中作用的顺序为: 干物质失落率、蒸煮吸水率和蛋白质损失率。在该试验使用的品种范围内, 评选出了适宜制作优质机制面条和方便面的小麦品种有小偃 6 号、秦麦 11 号、陕 16Q、小偃 503、大粒 878 等品种。创造性地提出了面条品质综合评价方法, 以及优质面条小麦品种的品质评价指标, 填补了国内该领域研究的空白。

综上所述, 鉴定委员会一致认为: 该研究持续时间长, 选取材料规模大, 研究方法科学, 测试手段先进, 其研究结果对调整优化种植业结构、改进食品加工质量、增加农民收入, 提高麦类产品的竞争力及提高我国农业应对 WTO 竞争力等方面均具有重要的作用。其研究总体上达到国内领先水平, 其中小麦品种品质与面条品质关系及评价标准居国际先进水平。

(申云霞 供稿)