

网络出版时间:2017-10-09 09:39

DOI:10.13207/j.cnki.jnwfufu.2017.11.007

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20171009.0939.014.html>

# 中国粗榧生物碱可溶性液剂的 研制及其杀虫活性

马树杰<sup>1</sup>, 张军辉<sup>1</sup>, 马志卿<sup>1,2</sup>, 张 兴<sup>1,2</sup>

(1 西北农林科技大学 无公害农药研究服务中心, 陕西 杨凌 712100; 2 陕西省生物农药工程技术研究中心, 陕西 杨凌 712100)

【摘 要】 【目的】研制 0.75% 中国粗榧生物碱可溶性液剂, 并评价其田间杀虫效果, 为其进一步开发和应用奠定基础。【方法】采用国标方法对中国粗榧生物碱可溶性液剂进行研制并评价其质量; 采用室内生物活性测定和田间试验方法评价该制剂对小菜蛾(*Plutella xylostella*) 的室内毒力及田间防效。【结果】研制的 0.75% 中国粗榧生物碱可溶性液剂配方为: 20% 中国粗榧丙酮提取物 + 52% 无水乙醇 + 13% 醇类溶剂 A + 15% 吐温-80 (制剂中含 0.75% 的中国粗榧生物碱); 室内生物活性测定结果表明, 0.75% 中国粗榧生物碱可溶性液剂对小菜蛾 3 龄幼虫 24 和 48 h 的  $LC_{50}$  分别为 55.91 和 30.12 mg/L; 田间试验结果表明, 0.75% 中国粗榧生物碱可溶性液剂 200 倍稀释液 (有效成分含量为 40 mg/L) 对白菜上的小菜蛾具有较好防治效果, 施药后 3 和 7 d 的防治效果分别为 73.82% 和 62.71%。【结论】0.75% 中国粗榧生物碱可溶性液剂对小菜蛾有较好的室内生物活性和田间防效。

【关键词】 中国粗榧; 小菜蛾; 杀虫活性; 田间防效; 植物源农药

【中图分类号】 S482.5<sup>+</sup>2

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2017)11-0051-07

## Preparation of *Cephalotaxus sinensis* alkaloids SL and its insecticidal activities

MA Shujie<sup>1</sup>, ZHANG Junhui<sup>1</sup>, MA Zhiqing<sup>1,2</sup>, ZHANG Xing<sup>1,2</sup>

(1 Research & Development Center of Biorational Pesticide, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Research Center of Biopesticide Technology & Engineering, Shaanxi Province, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** 【Objective】The research aimed to develop 0.75% *Cephalotaxus sinensis* alkaloids SL and evaluate its control efficacy against insect pest. 【Method】*C. sinensis* alkaloid SL was developed and evaluated by national standard method and its laboratory virulence and field control efficacy against *Plutella xylostella* were determined. 【Result】The developed 0.75% *C. sinensis* alkaloids SL consisted of 20% acetone extract from *C. sinensis*, 52% absolute ethyl alcohol, 13% alcohols A and 15% Tuwen-80 (0.75% *C. sinensis* alkaloids). Laboratory tests showed that 0.75% *C. sinensis* alkaloids SL had high toxic effect against *P. xylostella*, with the  $LC_{50}$  of 55.91 mg/L (24 h) and 30.12 mg/L (48 h). The application of 0.75% *C. sinensis* alkaloids SL at 40 mg/L after 200 times dilution in the filed showed control efficacies of 73.82% and 62.71% for larvae of *P. xylostella* in cabbages after 3 d and 7 d, respectively. 【Conclusion】The 0.75% *C. sinensis* alkaloids SL developed in this study showed potentially insecticidal activity against *P. xylostella* in both laboratory tests and field trials.

**Key words:** *Cephalotaxus sinensis*; *Plutella xylostella*; insecticidal activity; control efficacy; botanical

〔收稿日期〕 2016-08-23

〔基金项目〕 陕西省农业攻关项目“中国粗榧杀虫作用及其产品研究”(2014K02-10-03)

〔作者简介〕 马树杰(1990—), 男, 山东枣庄人, 在读博士, 主要从事植物源杀虫剂研究。E-mail: mashujie89@126.com

〔通信作者〕 马志卿(1975—), 男, 新疆奇台人, 教授, 博士生导师, 主要从事农药毒理学研究。E-mail: mazhiqing2000@126.com

pesticide

植物源农药具有环境友好、对非靶标生物安全、不易产生抗药性及作用方式特异等特点<sup>[1]</sup>,是国内外新农药研发的热点之一。中国粗榧(*Cephalotaxus sinensis*)隶属三尖杉科三尖杉属,该科仅 1 属(三尖杉属)9 种,中国产 7 种 3 变种,1 引种栽培变种<sup>[2-3]</sup>。在我国民间,三尖杉属植物常被作为消积驱虫药,同时具有消炎、润肺的功能,主治蛔虫病、钩虫病、食积等病症<sup>[4]</sup>。20 世纪 60 年代 Powell 等<sup>[5]</sup>首次发现三尖杉属植物中的三尖杉酯碱类化合物具有抑制小鼠白血病细胞生长的作用,之后,国内外对三尖杉属植物的化学成分、药用活性及活性化合物合成开展了广泛研究<sup>[6-8]</sup>。西北农林科技大学无公害农药研究服务中心对西北地区杀虫活性植物广泛筛选,发现中国粗榧丙酮提取物对粘虫具有较强的拒食和胃毒活性<sup>[9]</sup>;李雪娇<sup>[10]</sup>在对中国粗榧杀虫作用研究中发现,中国粗榧石油醚萃取物对粘虫毒杀和拒食活性最高;马树杰<sup>[11]</sup>进一步研究发现,中国粗榧中主要杀虫成分为生物碱。本研究通过对溶剂和表面活性剂等其他助剂的筛选,初步研制出 0.75% 中国粗榧生物碱可溶性液剂(SL),并测定了该药剂对小菜蛾的室内毒力及田间药效,以期为中国粗榧生物碱的进一步开发和应用奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试害虫

小菜蛾(*Plutella xylostella*),由西北农林科技大学无公害农药研究服务中心养虫室提供,选择个体大小一致、健康活泼的 3 龄小菜蛾幼虫供试。

### 1.2 供试药剂

丙酮、乙酸乙酯、二甲亚砜、甲醇及醇类溶剂 A 均为国产分析纯;OP-10、OP-4、AEO-5、TX5 及吐温-80 等表面活性剂均由市场购得;中国粗榧丙酮提取物原药(含 $\geq 3.75\%$ 的中国粗榧生物碱)、中国粗榧生物碱标准品,由西北农林科技大学无公害农药研究服务中心提供;1.8%阿维菌素(Avermectin)乳油,由山东潍坊润丰化工股份有限公司提供。

### 1.3 0.75%中国粗榧生物碱可溶性液剂的研制

1.3.1 溶剂筛选 参照郭武棣<sup>[12]</sup>的方法进行溶剂筛选,并进行冷贮试验。具体方法如下:向试管中加入中国粗榧丙酮提取物原药( $1.2 \pm 0.02$ ) g,用移液管量取 2 mL 溶剂加入试管中,在室温下摇动观察其溶解(有无沉淀)情况,如不能溶解可微热以加速

溶解;如果原药不能完全溶解,继续向试管中加入 2 mL 溶剂按照前面的方法观察溶解情况。用同样的方法重复上面的操作,直到加至 10 mL 溶剂还不能完全溶解时,舍弃该溶剂,选择另一种溶剂继续筛选。如果原药能完全溶于溶剂时,将其放置在 0℃ 冰箱中检测其稳定性,4 h 后观察有无分层、沉淀或浮油,如无分层或沉淀或浮油,说明稳定性合格。最后,根据其溶解性和冷贮稳定性判断质量是否合格,能溶解中国粗榧丙酮提取物原药且冷贮稳定性合格的溶剂是质量合格的,否则不合格。

1.3.2 表面活性剂筛选及添加量的选择 表面活性剂筛选:以常温制剂外观、低温稳定性、热贮稳定性和 20 倍稀释液稳定性为指标,选择较佳表面活性剂种类。表面活性剂添加量的选择:分别取原药 2.5 g 于 5 支试管中,然后分别加入 0.2、0.5、1.0、1.5 和 2.0 g 表面活性剂于试管中,加溶剂补足 10 g,得到含表面活性剂质量分数分别为 2%、5%、10%、15% 和 20% 溶液,按上述 4 个指标进行评价,确定表面活性剂含量。

1.3.3 原药含量的确定 取 5 支试管,分别取 0.50 g 原药和 0.40 g 表面活性剂于每个试管中,分别加溶剂补足至 5.00、3.33、2.50、2.00 和 1.67 g,配制成原药质量分数分别为 10%、15%、20%、25% 和 30% 的溶液,评价原药在溶剂中的溶解情况。

1.3.4 制剂配方确定 根据上述结果,配制可溶性液剂样品,以此确定该植物源杀虫剂的最终配方。

1.3.5 制剂的质量控制及检测方法 采用 HG/T 2467.7-2003 对制剂的低温稳定性、热贮稳定性进行检测;采用 GB/T 1600-2001 对制剂水分含量进行测定;有效成分含量测定采用紫外分光光度法,具体为:取中国粗榧生物碱标准品 100 mg,加乙醇水溶液( $V(\text{无水乙醇}):V(\text{水})=60:40$ )定容至 100 mL 作为母液。分别取 0、1、2、4、6、8 和 10 mL 母液于编号为 1~7 的 50 mL 容量瓶中定容。以第 1 份未加入样品的容量瓶为空白参比,在 268 nm 下分别测定样品的 OD 值并求出回归方程。分别称取热贮前和热贮后中国粗榧制剂各 100 mg,加乙醇水溶液 100 mL 混匀,5 000 r/min 离心 20 min。取上清液浓缩至较稀膏状,加乙醇适量超声提取 3 次,每次 10 min。合并乙醇提取液并减压回收乙醇近干,用中性  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (1.0 g)拌样后,置中性氧化铝柱(1.5 cm $\times$ 10 cm)上,用氯仿-丙酮(体积比 2:1)90 mL

洗脱,洗脱液减压浓缩至干。浓缩物用 95%乙醇溶解转入 100 mL 容量瓶定容得供试液,于 268 nm 下进行检测。

稀释液稳定性检测:用 CIPAC 标准硬水(硬度 342 mg/L,pH 6.0~7.0,Ca<sup>2+</sup>:Mg<sup>2+</sup>=4:1)在(30±2)℃下稀释 50 倍,静置 18 h 后过 45 μm 筛,只能有痕量沉淀和可见固体颗粒。

与水互溶性:用移液管吸取 5 mL 试样,置于 100 mL 量筒中,用标准硬水稀释至刻度,搅拌均匀,将此稀释液置于(30±1)℃水浴中,如稀释液均一,无析出物为合格。

1.4 室内生物活性测定

采用浸虫浸叶法<sup>[13-14]</sup>测定热贮前后 0.75%中国粗榧生物碱可溶性液剂对小菜蛾 3 龄幼虫的室内毒力。用自来水分别将热贮前和热贮后 0.75%中国粗榧生物碱可溶性液剂稀释 800,400,200,100 和 50 倍,即得生物碱质量浓度分别为 10,20,40,80 和 160 mg/L 的药液,将甘蓝叶片分别在不同质量浓度药液中浸 3 s 后取出,用吸水纸吸去多余药液并晾干,然后将试虫在处理药液中浸渍 3 s,放滤纸上爬行以吸去多余的药液,放入装有甘蓝叶的培养皿中饲养,重复 3 次,每重复 10 头试虫,以自来水为对照,分别于药后 24 和 48 h 统计死亡虫数,计算死亡率及校正死亡率,采用机率值分析法求出毒力回归方程、LC<sub>50</sub>和 95%置信限。计算公式如下:

死亡率=死虫数/总虫数×100%,  
校正死亡率=(处理死亡率-对照死亡率)/  
(1-对照死亡率)×100%。

1.5 0.75%中国粗榧生物碱可溶性液剂田间药效试验

田间药效试验在西北农林科技大学太白试验基

地进行。试验田常规管理,肥力中等,白菜长势较好,小菜蛾发生程度中等。用清水将 0.75%中国粗榧生物碱可溶性液剂分别稀释 200,400 和 600 倍(有效成分含量分别为 40,20 和 13.33 mg/L)喷施,以 1.8%阿维菌素乳油稀释 4 500 倍(有效成分含量为 4 mg/L)作药剂对照,以清水为空白对照,共 5 个处理,喷药剂量 60 L/667 m<sup>2</sup>,每处理重复 4 次,试验共设 20 个小区,每小区面积为 10 m<sup>2</sup>,随机区组排列。于小菜蛾发生危害初期喷药防治 1 次,用手动喷雾器喷雾,以叶片湿润为度。在每小区内连续选择 10 株白菜苗分别于施药前和施药后定期、定株检查活虫数(不分虫龄),并计算防治效果。

防治效果=[1-(对照区施药前活虫数×处理区施药后活虫数)/(对照区施药后活虫数×处理区施药前活虫数)]×100%。

2 结果与分析

2.1 0.75%中国粗榧生物碱可溶性液剂的制备

2.1.1 溶剂筛选 在室温条件下,无水乙醇、丙酮和甲醇对中国粗榧丙酮提取物的溶解性均较好且质量合格(表 1);综合考虑成本、环境安全性等因素的影响,最后确定无水乙醇作为其溶剂。鉴于无水乙醇极易挥发,为进一步增加制剂的稳定性并保持其溶解性,依据前期研发经验,加入挥发性较弱的醇类溶剂 A 以制备混合溶剂,对其比例进行了选择,结果(表 2)表明,随着醇类溶剂 A 加入量的提高,其溶解性变弱,当无水乙醇:醇类溶剂 A=8:2(V/V)时,仍具有较好的溶解性和冷贮稳定性;但当无水乙醇:醇类溶剂 A=7:3(V/V)时,溶解性变差;因此选择无水乙醇:醇类溶剂 A=8:2(V/V)的混合溶剂作为该制剂的最终溶剂。

表 1 中国粗榧提取物在不同溶剂中的溶解性  
Table 1 Solubility of *Cephalotaxus sinensis* extract in different solvents

| 溶剂<br>Solvent            | 溶质/溶剂/(mg·mL <sup>-1</sup> )<br>Solute/Solvent | 溶解性<br>Solubility | 冷贮稳定性<br>Storage stability<br>at 0℃ | 质量合格度(是/否)<br>Quality<br>qualification(Yes/No) |
|--------------------------|------------------------------------------------|-------------------|-------------------------------------|------------------------------------------------|
| 油酸甲酯 Methyl oleate       | 1.2/10                                         | 不溶解 Insoluble     | —                                   | 否 No                                           |
| 环己酮 Cyclohexanone        | 1.2/10                                         | 不溶解 Insoluble     | —                                   | 否 No                                           |
| 无水乙醇 Ethyl alcohol       | 1.2/6                                          | 溶解 Soluble        | 稳定 Stable                           | 是 Yes                                          |
| 苯甲醇 Phenylcarbinol       | 1.2/10                                         | 不溶解 Insoluble     | —                                   | 否 No                                           |
| 二甲基甲酰胺 Dimethylformamide | 1.2/10                                         | 溶解 Soluble        | 分层 Layered                          | 否 No                                           |
| 乙酸乙酯 Ethyl acetate       | 1.2/10                                         | 溶解 Soluble        | 浑浊 Turbid                           | 否 No                                           |
| 二氯甲烷 Dichloromethane     | 1.2/10                                         | 不溶解 Insoluble     | —                                   | 否 No                                           |
| 甲苯 Methylbenzene         | 1.2/10                                         | 不溶解 Insoluble     | —                                   | 否 No                                           |
| 二甲苯 Xylene               | 1.2/10                                         | 溶解 Soluble        | 浑浊 Turbid                           | 否 No                                           |
| 丙酮 Acetone               | 1.2/8                                          | 溶解 Soluble        | 稳定 Stable                           | 是 Yes                                          |
| 甲醇 Methyl alcohol        | 1.2/10                                         | 溶解 Soluble        | 稳定 Stable                           | 是 Yes                                          |

注:“—”表示由于不溶解未进行冷贮稳定性测定。下表同。  
Note:“—” means no cold storage stability due to insolubility. The same below.

表 2 无水乙醇和醇类溶剂 A 不同比例混合物对中国粗榧提取物的溶解情况

| Table 2 Dissolution of <i>Cephalotaxus sinensis</i> extract in different mixtures with absolute ethyl alcohol and alcohols A |                   |                                   |                                              |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|-----------------------------------|----------------------------------------------|
| 无水乙醇 : 醇类溶剂 A(体积比)<br>Ethanol : Alcohols A(Volume)                                                                           | 溶解性<br>solubility | 冷贮稳定性<br>Storage stability in 0 ℃ | 质量合格度 (是/否)<br>Quality qualification(Yes/No) |
| 10 : 0                                                                                                                       | 溶解 Soluble        | 稳定 Stable                         | 是 Yes                                        |
| 9 : 1                                                                                                                        | 溶解 Soluble        | 稳定 Stable                         | 是 Yes                                        |
| 8 : 2                                                                                                                        | 溶解 Soluble        | 稳定 Stable                         | 是 Yes                                        |
| 7 : 3                                                                                                                        | 不溶解 Insoluble     | —                                 | 否 No                                         |
| 6 : 4                                                                                                                        | 不溶解 Insoluble     | —                                 | 否 No                                         |
| 5 : 5                                                                                                                        | 不溶解 Insoluble     | —                                 | 否 No                                         |
| 4 : 6                                                                                                                        | 不溶解 Insoluble     | —                                 | 否 No                                         |
| 3 : 7                                                                                                                        | 不溶解 Insoluble     | —                                 | 否 No                                         |
| 2 : 8                                                                                                                        | 不溶解 Insoluble     | —                                 | 否 No                                         |
| 1 : 9                                                                                                                        | 不溶解 Insoluble     | —                                 | 否 No                                         |
| 0 : 10                                                                                                                       | 不溶解 Insoluble     | —                                 | 否 No                                         |

2.1.2 表面活性剂筛选 从表面活性剂的筛选结果(表 3)可以看出,农乳 500 #、吐温-80 和农乳 600 # 2 在外观和低温稳定性方面均符合要求,但农乳 500 # 稀释液稳定性不合格,产生分层;农乳 600 # 2 热贮后产生少量的沉淀,而吐温-80 在外观、低温稳定性、热贮稳定性和稀释液稳定性方面均符合要求,因此选择吐温-80 作为表面活性剂。

表 3 表面活性剂筛选结果  
Table 3 Screening results of surfactants

| 表面活性剂<br>Surfactants                          | 外观<br>Appearance                      | 低温稳定性<br>Low temperature stability     | 热贮稳定性<br>High temperature stability | 稀释液稳定性<br>Diluent stability            |
|-----------------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------------|
| 农乳 500 #<br>Pesticide emulsifier<br>500 #     | 均一、透明<br>Uniform and transparent      | 均一、透明<br>Uniform and transparent       | 微量沉淀<br>Microprecipitation          | 分层<br>Layered                          |
| 农乳 1601<br>Pesticide emulsifier<br>1601       | 浑浊、不透明<br>Turbid and non-transparent  | 微量沉淀<br>Microprecipitation             | 少量沉淀<br>Little of precipitate       | 均一、半透明<br>Uniform and semi-transparent |
| OP-10                                         | 均一、半透明<br>Uniform and semitransparent | 微量沉淀<br>Microprecipitation             | 少量沉淀<br>Little of precipitate       | 沉淀<br>Precipitate                      |
| JFC                                           | 浑浊、不透明<br>Turbid and non-transparent  | 少量沉淀<br>Little of precipitate          | 大量沉淀<br>Amount of precipitate       | 分层<br>Layered                          |
| OP-15                                         | 均一、半透明<br>Uniform and semitransparent | 大量絮状沉淀<br>Amount of flocculent deposit | 少量沉淀<br>Little of precipitate       | 浑浊<br>Turbid                           |
| 吐温-80<br>Tuwen-80                             | 均一、透明<br>Uniform and transparent      | 均一、透明<br>Uniform and transparent       | 均一、透明<br>Uniform and transparent    | 均一、透明<br>Uniform and transparent       |
| 农乳 600 # 1<br>Pesticide emulsifier<br>600 # 1 | 均一、半透明<br>Uniform and semitransparent | 少量絮状沉淀<br>Little of flocculent deposit | 少量沉淀<br>Little of precipitate       | 均一、透明<br>Uniform and transparent       |
| 农乳 600 # 2<br>Pesticide emulsifier<br>600 # 2 | 均一、透明<br>Uniform and transparent      | 均一、透明<br>Uniform and transparent       | 少量沉淀<br>Little of precipitate       | 均一、透明<br>Uniform and transparent       |

表面活性剂添加量的选择结果(表 4)表明,表面活性剂添加量越多,制剂的外观、低温稳定性、热贮稳定性和稀释液稳定性越好;当表面活性剂添加量为 15% 时,4 个指标均符合要求;当添加量为 20% 时,4 个指标均符合要求。考虑到生产成本价格,将表面活性剂的添加量定为 15%。

酮提取物在混合溶剂中具有较好的溶解性,当含量达到 20% 时,仍能被混合溶剂完全溶解,但到 25% 时,溶解性变差,因此,本试验将制剂中原药含量定为 20%。另外,因提供的中国粗榧丙酮提取物原药含≥3.75% 的中国粗榧生物碱,故确定制剂中中国粗榧生物碱含量≥0.75%。

2.1.3 原药含量的确定 由表 5 可知,中国粗榧丙

表 4 表面活性剂添加量对原药乳化效果的影响  
Table 4 Emulsifying effect with different surfactant contents

| 表面活性剂添加量/%<br>Content of<br>surfactant | 外观<br>Appearance                         | 低温稳定性<br>Low temperature<br>stability          | 热贮稳定性<br>High temperature<br>stability | 稀释液稳定性<br>Diluent stability              |
|----------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------------|----------------------------------------|------------------------------------------|
| 2                                      | 浑浊<br>Turbid                             | 浑浊<br>Turbid                                   | 大量沉淀<br>Amount of precipitate          | 浑浊<br>Turbid                             |
| 5                                      | 均一、半透明<br>Uniform and<br>semitransparent | 透明、微沉<br>Transparent and<br>microprecipitation | 大量沉淀<br>Amount of precipitate          | 浑浊<br>Turbid                             |
| 10                                     | 均一、半透明<br>Uniform and<br>semitransparent | 均一、半透明<br>Uniform and<br>semitransparent       | 少量沉淀<br>Little of precipitate          | 均一、半透明<br>Uniform and<br>semitransparent |
| 15                                     | 均一、透明<br>Uniform and transparent         | 均一、透明<br>Uniform and transparent               | 均一、透明<br>Uniform and transparent       | 均一、透明<br>Uniform and transparent         |
| 20                                     | 均一、透明<br>Uniform and transparent         | 均一、透明<br>Uniform and transparent               | 均一、透明<br>Uniform and transparent       | 均一、透明<br>Uniform and transparent         |

表 5 中国粗榧丙酮提取物原药含量的确定  
Table 5 Content of *Cephalotaxus sinensis* extract

| 中国粗榧丙酮提取<br>物原药含量/%<br>Content of<br><i>Cephalotaxus</i><br><i>sinensis</i> extract | 溶解性<br>Solubility | 中国粗榧丙酮提取<br>物原药含量/%<br>The content of<br><i>Cephalotaxus</i><br><i>sinensis</i> extract | 溶解性<br>Solubility | 中国粗榧丙酮提取<br>物原药含量/%<br>The content of<br><i>Cephalotaxus</i><br><i>sinensis</i> extract | 溶解性<br>Solubility |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| 10                                                                                  | 溶解 Soluble        | 20                                                                                      | 溶解 Soluble        | 30                                                                                      | 不溶解 Insoluble     |
| 15                                                                                  | 溶解 Soluble        | 25                                                                                      | 不溶解 Insoluble     |                                                                                         |                   |

2.1.4 配方的确定 通过对溶剂、表面活性剂及原药含量的筛选与评价,最终确定了 0.75%中国粗榧生物碱可溶性液剂的配方:20%中国粗榧丙酮提取物+52%无水乙醇+13%醇类溶剂 A+15%吐温-80(配方中含 0.75%的中国粗榧生物碱)。

2.2 0.75%中国粗榧生物碱可溶性液剂产品质量检测

根据上述配方制成 0.75%中国粗榧生物碱可溶性液剂,采用 HG/T 2467.7—2003、GB/T 1600—2001 和紫外分光光度法等对制剂质量进行了检测,

结果见表 6 和表 7;并采用浸虫浸叶法<sup>[14]</sup>测定了制剂热贮前后的杀虫活性,结果见表 8。

由表 6 可以看出,研制的 0.75%中国粗榧生物碱可溶性液剂制剂,通过各项指标检测,均为合格,达到商品农药要求标准。另外,0.75%中国粗榧生物碱可溶性液剂在热贮前后生物碱含量无明显变化(表 7)。从表 8 可知,0.75%中国粗榧生物碱可溶性液剂在热贮前后生物活性无明显变化,由此可进一步判定所研制的 0.75%中国粗榧生物碱可溶性液剂制剂的热贮稳定性合格。

表 6 0.75%中国粗榧生物碱可溶性液剂质量检测结果

Table 6 Quality inspection of 0.75% *Cephalotaxus sinensis* alkaloids SL

| 检测指标 Test index                        | 检测结果 Test results                         | 检测指标 Test index                 | 检测结果 Test results                |
|----------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| 外观 Appearance                          | 单相透明液体<br>Single-phase transparent liquid | 热贮稳定性<br>Thermal stability      | 均一、透明<br>Uniform and transparent |
| 总生物碱含量/%<br>Content of total alkaloids | 0.773 0                                   | 冷贮稳定性<br>Cold storage stability | 均一、透明<br>Uniform and transparent |
| pH                                     | 7.28                                      | 水分含量/%<br>Water content         | 0.86                             |
| 稀释稳定性<br>Diluent stability             | 均一、透明<br>Uniform and transparent          | 与水互溶性<br>Miscibility with water | 均一、透明<br>Uniform and transparent |

表 7 0.75%中国粗榧生物碱可溶性液剂热贮前后的生物碱含量

Table 7 Alkaloids content of 0.75% *Cephalotaxus sinensis* alkaloids SL before and after heated storage

| 重复<br>Repetition | 热贮前生物碱含量/%<br>Content before heated storage | 热贮后生物碱含量/%<br>Content after heated storage | 分解率/%<br>Decomposed rate |
|------------------|---------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------|
| 1                | 0.773 2                                     | 0.773 1                                    | 0.012 9                  |
| 2                | 0.773 0                                     | 0.772 8                                    | 0.025 9                  |
| 3                | 0.772 9                                     | 0.772 8                                    | 0.012 9                  |
| 均值 Average       | 0.773 0                                     | 0.772 9                                    | 0.017 2                  |

表 8 热贮前后 0.75%中国粗榧可溶性液剂对小菜蛾 3 龄幼虫杀虫活性的影响

| Table 8 Insecticidal activity of 0.75% <i>C. sinensis</i> alkaloids SL against <i>P. xylostella</i> before and after heated storage |                                        |                                                 |                                        |                              |  |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------------------|----------------------------------------|------------------------------|--|
| 处理<br>Treatment                                                                                                                     | 毒力回归方程<br>Toxicity regression equation | 致死中浓度/(mg·L <sup>-1</sup> )<br>LC <sub>50</sub> | 95%置信区间/(mg·L <sup>-1</sup> )<br>95%FL | $\chi^2$ 值<br>$\chi^2$ value |  |
| 热贮前 24 h<br>24 h before heated storage                                                                                              | $Y = -2.11 + 1.21X$                    | 55.91                                           | 42.15~78.37                            | 1.52                         |  |
| 热贮前 48 h<br>48 h before heated storage                                                                                              | $Y = -2.39 + 1.62X$                    | 30.12                                           | 23.43~37.48                            | 2.56                         |  |
| 热贮后 24 h<br>24 h after heated storage                                                                                               | $Y = -2.12 + 1.20X$                    | 59.16                                           | 44.48~84.16                            | 1.07                         |  |
| 热贮后 48 h<br>48 h after heated storage                                                                                               | $Y = -2.41 + 1.61X$                    | 30.99                                           | 24.17~38.56                            | 2.12                         |  |

注: $\chi^2_{0.05}=7.81$ ,若所测方程 $\chi^2$ 小于该值则方程符合实际,否则不符合。  
Note:Equation fits the fact unless “ $\chi^2$ ”is less than 7.81.

2.3 0.75%中国粗榧生物碱可溶性液剂大田药效  
试验结果

0.75%中国粗榧生物碱可溶性液剂对白菜上小菜蛾的田间药效试验结果(表 9)表明,0.75%中国粗榧生物碱可溶性液剂对白菜上小菜蛾具有良好的防治效果,其 40 和 20 mg/L 2 种质量浓度喷施后 3

d,防治效果均在 60%以上;7 d 后防治效果分别达 62.71%和 45.74%,其中 40 mg/L 与阿维菌素 4 mg/L 的药效无显著差异;13.33 mg/L 的中国粗榧生物碱可溶性液剂对小菜蛾的防治效果不显著。试验期间未观察到各处理药液对白菜生长有不良影响。

表 9 0.75%中国粗榧生物碱可溶性液剂对白菜上小菜蛾的田间防治效果

| Table 9 Field trials of 0.75% <i>C. sinensis</i> alkaloids SL against <i>P. xylostella</i> in cabbages |                                                                      |                                                  |                              |                                 |                               |                                 |                               |                                 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| 供试药剂<br>Pesticide                                                                                      | 有效成分<br>质量浓度/<br>(mg·L <sup>-1</sup> )<br>Treatment<br>concentration | 药前虫口<br>基数<br>Number of<br>pests before<br>spray | 施药后 1 d<br>1 day after trial |                                 | 施药后 3 d<br>3 days after trial |                                 | 施药后 7 d<br>7 days after trial |                                 |
|                                                                                                        |                                                                      |                                                  | 虫口数<br>Number of<br>pests    | 防治效果/%<br>Corrected<br>efficacy | 虫口数<br>Number of<br>pests     | 防治效果/%<br>Corrected<br>efficacy | 虫口数<br>Number of<br>pests     | 防治效果/%<br>Corrected<br>efficacy |
| 0.75%中国粗榧生物碱                                                                                           | 40                                                                   | 128                                              | 75                           | 45.12 a                         | 40                            | 73.82 a                         | 80                            | 62.71 a                         |
| 可溶性液剂                                                                                                  | 20                                                                   | 120                                              | 83                           | 35.24 a                         | 55                            | 61.52 b                         | 109                           | 45.74 b                         |
| 0.75% <i>C. sinensis</i><br>alkaloids SL                                                               | 13.33                                                                | 68                                               | 52                           | 28.46 b                         | 40                            | 50.63 c                         | 74                            | 35.06 b                         |
| 1.8%阿维菌素乳油                                                                                             | 4                                                                    | 127                                              | 85                           | 37.32 a                         | 65                            | 57.00 b                         | 70                            | 67.15 a                         |
| 1.8% Avermectins EC                                                                                    |                                                                      |                                                  |                              |                                 |                               |                                 |                               |                                 |
| 空白对照<br>CK                                                                                             | —                                                                    | 89                                               | 95                           | —                               | 106                           | —                               | 149                           | —                               |

注:表中数据为 4 次重复之平均值;同列数据后标不同小写字母表示经 Duncan’s 新复极差测验差异显著( $P<0.05$ )。  
Note:Data are means from 4 duplications. Different lowercase letters indicate significant difference at  $P<0.05$  by Duncan’s multiple range test.

3 讨 论

3.1 中国粗榧生物碱可溶性液剂具有潜在开发应用价值

本研究通过室内生物活性测定结合田间试验,证明了中国粗榧生物碱可溶性液剂对小菜蛾具有较好防效。与同类研究相比,该制剂的杀虫活性较为理想,如:1.0%雷公藤生物碱乳油对小菜蛾 3 龄幼虫 48 和 72 h 的 LC<sub>50</sub> 值分别为 69.62 和 20.35 mg/L,其 250 倍稀释液(有效含量为 40 mg/L)施药后 3 和 7 d 的田间防治效果分别为 67.41%和 82.93%<sup>[15]</sup>;0.3%的印楝素乳油对小菜蛾 5 d 的 LC<sub>50</sub> 值为 28.77 mg/L<sup>[16]</sup>,其施药后 3 d 的田间防治效果为 76.80%<sup>[17]</sup>;而 0.75%中国粗榧生物碱可溶

性液剂对小菜蛾 3 龄幼虫 24 和 48 h 的 LC<sub>50</sub> 分别为 55.91 和 30.12 mg/L,其 200 倍稀释液(有效含量为 40 mg/L)药后 3 和 7 d 的田间防治效果分别为 73.82%和 62.71%。可见,相比而言,中国粗榧生物碱可溶性液剂杀虫活性高于或相当于同类制剂。另外,中国粗榧为我国特有植物,资源丰富,分布广泛。因此,中国粗榧生物碱可溶性液剂具有潜在开发应用价值。

3.2 对植物源农药的质量检测应采用化学分析与生物活性测定相结合的方法

农药的质量检测通常采用仪器分析法来进行,如高效液相色谱法、紫外分光光度法等。然而,目前市场上的植物源制剂多数是以植物材料的粗提物直接加工而成,其有效成分不是单一的化合物,而是多

组分的混合<sup>[18]</sup>,化学分析法不能测出所有活性成分的含量,因此,吴文君等<sup>[19]</sup>首次提出了对植物源农药的质量检测应采用化学分析与生物活性测定相结合的方法。中国粗榧主要杀虫活性成分为生物碱,但非生物碱部分也具有一定的杀虫活性<sup>[20]</sup>。因此,本研究对 0.75% 中国粗榧生物碱可溶性液剂的质量检测采用主要活性成分含量分析与室内生物活性测定相结合的方法来检测,结果表明,仪器分析法和生物活性检测的结果具有一致性,且 2 种方法的结合更为全面地反映制剂的稳定性。但该方法是否适合于在其他植物源农药的质量检测上进行推广,还有待进一步探讨。

## 4 结 论

研制出了质量合格的 0.75% 中国粗榧生物碱可溶性液剂,其配方为:20% 中国粗榧丙酮提取物+52% 无水乙醇+13% 醇类溶剂 A+15% 吐温-80(制剂中含 0.75% 的中国粗榧生物碱),其对小菜蛾有较好的室内毒力和田间防效,具有一定的开发和应用前景。

## 【参考文献】

- [1] 张 兴,马志卿,冯俊涛,等. 植物源农药研究进展 [J]. 中国生物防治学报,2015,31(5):685-698.  
Zhang X, Ma Z Q, Feng J T, et al. Review on research and development of botanical pesticides [J]. Chinese Journal of Biological Control, 2015, 31(5): 685-698.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1978: 432-482.  
Editorial Board of Flora of China. Flora of China [M]. Beijing: Science Press, 1978: 432-482.
- [3] 周秀佳,胡之璧. 中国三尖杉属植物资源研究 [J]. 湖北农学院学报, 1997, 17(2): 100-103.  
Zhou X J, Hu Z B. Study on the plant resources of *Cephalotaxus* [J]. Journal of Hubei Agricultural College, 1997, 17(2): 100-103.
- [4] 浙江省三尖杉研究协作组. 三尖杉属植物生物碱的临床研究 [J]. 浙江肿瘤通讯, 1976, 8(2): 14-18.  
Research Group of *Cephalotaxus*. The clinical research of the alkaloids from *Cephalotaxus* [J]. Zhejiang Tumor Communication, 1976, 8(2): 14-18.
- [5] Powell R G, Milolajczak K L, Weisheder D, et al. Alkaloids of *Cephalotaxus wilsoniana* [J]. Phytochemistry, 1972, 61(8): 1227-1230.
- [6] 孙南君,薛 智,梁晓天. 新抗癌有效成分海南粗榧内酯结构的研究 [J]. 药学报, 1979, 14(1): 39-43.  
Sun N J, Xue Z, Liang X T. The structure research of new anticancer active ingredient-Hainanolide [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 1979, 14(1): 39-43.
- [7] Morita H, Nagakura Y, Hosoya T, et al. Cepha-stigiamide a, and antiplasmodial activity of *Cephalotaxus alkaloids* from *Cephalotaxus harringtonia* forma Fastigiata [J]. Heterocycles, 2010, 81(2): 441-450.
- [8] Politi M, Braca A, De Tommasi N, et al. Antimicrobial diterpenes from the seeds of *Cephalotaxus harringtonia* var. drupacea [J]. Planta Medica-Natural Products and Medicinal Plant Research, 2003, 69(5): 468-469.
- [9] 张宏利,冯俊涛,张 兴,等. 秦岭山区 204 种植物对粘虫生物活性测定 [J]. 西北林学院学报, 2004, 19(3): 92-94.  
Zhang H L, Feng J T, Zhang X, et al. Insecticidal activity of 204 plants to mythimna separate in the Qinling Mountains [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2004, 19(3): 92-94.
- [10] 李雪娇. 203 种植物杀虫活性筛选及中国粗榧杀虫作用初步研究 [D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2012.  
Li X J. Evaluation of insecticidal activity of extracts from 203 plants and *Cephalotaxus sinensis* [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2012.
- [11] 马树杰. 中国粗榧(*Cephalotaxus sinensis*)生物碱的分离及农用活性研究 [D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2015.  
Ma S J. Separation and pesticidal activity of alkaloids from *Cephalotaxus sinensis* [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2015.
- [12] 郭武棣. 农药剂型加工丛书: 液体制剂 [M]. 3 版. 北京: 化学工业出版社, 2004.  
Guo W L. The pesticide agent producing-liquid preparations [M]. 3rd ed. Beijing: Chemical Industry Press, 2004.
- [13] 李治伟,陆德玲,张 兴,等. 巴东醉鱼草不同方法提取物的杀虫活性 [J]. 西北农业学报, 2009, 18(5): 109-112.  
Li Z W, Lu D L, Zhang X, et al. The insecticidal activity of extracts with different methods from *Buddleja albi flora* Hemsl [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2009, 18(5): 109-112.
- [14] 吴文君. 植物化学保护实验技术导论 [M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1988: 72-77.  
Wu W J. Introduction to experimental technology of plant chemical protection [M]. Xi'an: Shaanxi Science and Technology Press, 1988: 72-77.
- [15] 周 琳,马志卿,冯俊涛,等. 雷公藤生物碱制品对小菜蛾和菜青虫的控制效果 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2006, 34(12): 169-173.  
Zhou L, Ma Z Q, Feng J T, et al. Control efficacy of alkaloid products from *Tripterygium wilfordii* Hook against *Plutella xylostella* L. and *Pieris rape* [J]. Journal of Northwest A&F University(Natural Science Edition), 2006, 34(12): 169-173.
- [16] 胡美英,赵善欢,王良川,等. 印楝素制剂对小菜蛾毒杀和生长发育抑制作用的研究 [J]. 华南农业大学学报, 1996, 17(4): 1-5.  
Hu M Y, Zhao S H, Wang L C, et al. Studies on the effectiveness and growth inhibitory effect of margosan-on diamond-back moth (*Plutella xylostella*) [J]. Journal of South China Agricultural University, 1996, 17(4): 1-5.

cultural Sciences,2006(5):28-30.

[13] 杨安平,张恩慧,王莎莎,等. 甘蓝类蔬菜小孢子培养研究进展 [J]. 中国农学通报,2008,24(7):332-335.  
Yang A P,Zhang E H,Wang S S,et al. The advances of studies on microspore culture in cabbage vegetables [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin,2008,24(7):332-335.

[14] 曾爱松,冯 翠,高 兵,等. 结球甘蓝小孢子培养技术体系的优化研究 [J]. 华北农学报,2010,25(S):40-44.  
Zeng A S,Feng C,Gao B,et al. The optimization study of isolated microspore culture system in cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.) [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2010,25(S):40-44.

[15] 刘莹莹,张恩慧,许忠民,等. 甘蓝小孢子胚状体分化不定芽再生植株的研究 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2013,41(8):149-154.  
Liu Y Y,Zhang E H,Xu Z M,et al. Adventitious bud regeneration plant differentiation from cabbage microspore embryoid [J]. Journal of Northwest A&F University(Natural Science Edition),2013,41(8):149-154.

[16] 张恩慧,程芳芳,杨安平,等. 株龄、栽培环境及温度对甘蓝小孢子诱导出胚的影响 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2014,42(1):120-124.  
Zhang E H,Cheng F F,Yang A P,et al. Influence of plant age, cultivation environment and temperature on cabbage embryo induction by isolated microspore culture [J]. Journal of Northwest A&F University(Natural Science Edition),2014, 42(1):120-124.

[17] 刘 争,张恩慧,程永安,等. 影响甘蓝小孢子 DH 植株生长的几个因素 [J]. 西北农业学报,2016,25(4):605-611.  
Liu Z,Zhang E H,Cheng Y A,et al. Influence of several factors on growth of DH plants regenerated from microspore in cabbage [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2016,25(4):605-611.

[18] Kolar J,Machackova I. Melatonin in higher plants: occurrence and possible functions [J]. Journal of Pineal Research,2005, 39(4):333-341.

[19] Hernández-Ruiz J,Cano A,Arnao M B. Melatonin act as a growth-stimulating compound in some monocot species [J]. Journal of Pineal Research,2005,39(2):137-142.

[20] Pelagio F R,Munoz P E,Ortiz C R,et al. Melatonin regulates *Arabidopsis* root system architecture likely acting independently of auxin signaling [J]. Journal of Pineal Research,2012, 53(3):279-288.

[21] Afreen F,Zobayed S M A,Kozai T. Melatonin in *Glycyrrhiza uralensis*: response of plant roots to spectral quality of light and UV-B radiation [J]. Journal of Pineal Research,2006,41 (2):108-115.

[22] 张来军,贾敬芬,王凤琴,等. 外源褪黑素对离体培养虎杖生长的影响 [J]. 江苏农业科学,2015,43(8):58-60,105.  
Zhang L J,Jia J F,Wang F Q,et al. Effect of melatonin on the growth of *in vitro* cultured *Polygonum cuspidatum* [J]. Jiangsu Agricultural Sciences,2015,43(8):58-60,105.

[23] Chen Q,Qi W B,Reiter R J,et al. Exogenously applied melatonin stimulates root growth and raises endogenous indoleacetic acid in roots of etiolated seedlings of *Brassica juncea* [J]. Journal of Plant Physiology,2009,166(3):324-328.

[24] Sarropoulou V N,Theios I N,Dimassi-Theriu K N. Melatonin promotes adventitious root regeneration in *in vitro* shoot tip explants of the commercial sweet cherry rootstocks CAB-6P (*Prunus cerasus* L.), Gisela 6 (*P. cerasus*×*P. canescens*), and MxM 60 (*P. avium*×*P. mahaleb*) [J]. Journal of Pineal Research,2012,52(1):38-46.

[25] 马勇斌,张恩慧,李殿荣,等. 利用甘蓝游离小孢子不定芽叶片再生 DH 植株技术研究 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2011,39(4):111-116.  
Ma Y B,Zhang E H,Li D R,et al. Study on plantlet regeneration technique of DH lines with leaf of adventitious buds from isolated microspore culture in cabbage (*Brassica oleracea* L.) [J]. Journal of Northwest A&F University(Natural Science Edition),2011,39(4):111-116.

[26] 许念芳,张恩慧,李殿荣,等. 甘蓝 CMS 下胚轴和子叶的离体培养与植株再生研究 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2010,38(4):115-120.  
Xu N F,Zhang E H,Li D R,et al. Study on tissue culture and plant regeneration of hypocotyl and cotyledon of cytoplasmic male sterile line in cabbage [J]. Journal of Northwest A&F University(Natural Science Edition),2010,38(4):115-120.

(上接第 57 页)

[17] 何道航,徐汉虹,田永清,等. 0.3%印楝素乳油防治小菜蛾效果 [J]. 现代化农业,2001(6):8.  
He D H,Xu H H,Tian Y Q,et al. Control efficacy of 0.3% azadirachtin EC against *Plutella xylostella* L. [J]. Modernizing Agriculture,2001(6):8.

[18] 王桂清,姬兰柱,张 弘,等. 中国植物源杀虫剂研究进展 [J]. 中国农业科学,2006,39(3):510-517.  
Wang G Q,Ji L Z,Zhang H,et al. Current progress in research of botanical insecticides in China [J]. Scientia Agricultura Sinica,2006,39(3):510-517.

[19] 吴文君,曹金娟. 植物源农药的质量控制 [J]. 农药科学与管理,1997,61(1):24-25.  
Wu W J,Cao J J. The quality control of botanical pesticide [J]. Pesticide Science and Administration,1997,61(1):24-25.

[20] 马树杰,李雪娇,马志卿,等. 中国粗榧杀虫活性初步研究 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2016,44(8):155-161.  
Ma S J,Li X J,Ma Z Q,et al. Preliminary studies on the insecticidal activity of extracts from *Cephalotaxus sinensis* [J]. Journal of Northwest A&F University(Natural Science Edition),2016,44(8):155-161.