

植源昆虫拒食剂苦皮藤的研究进展*

柯治国 南玉生 卢令娴

(中国科学院武汉植物研究所, 武汉 430074)

RECENT ADVANCE IN THE STUDY

ON ANGLED BITTERSWEED

—AN INSECT ANTIFEEDANT FROM PLANT

Ke Zhiguo, Nan Yusheng, Lu Lingxian

(Wuhan Institute of Botany, Academia Sinica, Wuhan 430074)

关键词 苦皮藤种油; 害虫; 喷雾

Key words *Celastrus angulatus* oil; Pest; Spraying

近10余年来, 国内外对昆虫拒食剂的研究极为重视。Reay认为, 拒食剂是控制昆虫行为的一种物质^[1]。周维善认为, 作为用于昆虫激素包括拒食剂的物质, 广泛地存在于植物界。昆虫拒食剂的化学结构往往较为复杂, 一般不易合成, 常由植物直接提供, 因此, 研究植源昆虫拒食剂也为植物资源的利用开辟了新的途径^[2]。植源昆虫抗拒剂在害虫综合防治上的应用, 已成为国内外科学家探讨研究的新型课题^[3-14]。印楝油素是公认的植源昆虫拒食剂, 而钟启谦认为苦皮藤 (*Celastrus angulatus* Maxim.) 有抗拒作用^[15]。1986年本文第一作者在全国农药“七五”论证会上提出了苦皮藤植源昆虫拒食剂的研究。经专家评议立项, 以我国特有的杀虫植物苦皮藤为试验材料, 开展了一系列试验研究, 并取得了良好效果。现将研究进展概述如下。

1 苦皮藤研究状况

据考察, 苦皮藤的根皮粉、叶子粉及茎皮用于防治蔬菜害虫, 在我国农家已有了相当长的历史。

30年代, 我国植物学家刘鹤昌、陈蝶及植保、农药专家黄瑞纶、赵善欢等对苦皮藤的地理分布, 杀虫效果进行过试验研究^[16], 明确了苦皮藤根皮粉对天幕毛虫有胃毒和忌避作用^[17], 对蝗虫、大小猿叶虫有胃毒作用, 对美洲蛱蝶和杂拟谷盗作用甚微。对棉蚜无效。石油醚提取液的重结晶对天幕毛虫、柳叶蚜有强烈忌避和触杀作用, 丙酮提

本文于1992年2月18日收到, 同年8月27日收到修改稿。

* 王国亮、南蓬同志参加其中的化学工作, 林刚同志帮助查阅有关资料。

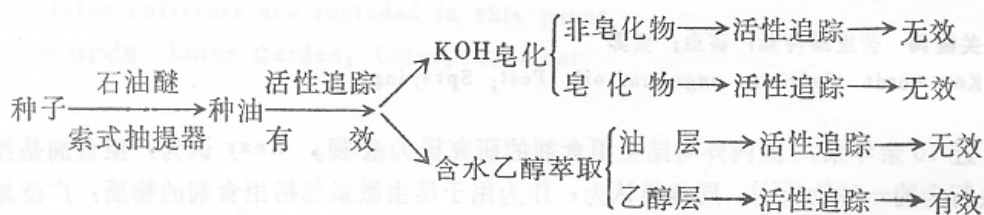
取液对黄守瓜起昏迷击倒作用。50年代北京农业大学农药教研组开展了苦皮藤根皮化学探讨^[18], 提出难溶于石油醚的植物碱为胃毒作用的主要成分, 产生忌避作用的化合物为树脂和香精油等物质。乙醇可以浸出苦皮藤的全部杀虫有效成分。苦皮藤含有3—6%的皂素, 18%的丹宁和大量的醌甙型红色素, 不能皂化的油酯部分分离出3个纯化物, 皆无杀虫作用。80年代我国科技工作者特别注重对苦皮藤的研究, 由利用根皮杀虫到开发种子油杀虫; 从野生资源的调查利用到人工栽培和直接采用生物技术进行组织培养^[19]; 由溶剂抽提到研究其化学结构^[20, 21]。初步探明, 苦皮藤根皮粉和种子油能明显控制玉米象等害虫种群的形成^[22], 杀虫的方式主要是拒食、胃毒、麻醉、抑制产卵和卵的孵化, 控制其生长发育, 直至死亡, 对不同昆虫的作用方式不同^[23]。现已从苦皮藤根皮中分离得到4个新生物碱的化合物^[20]; 从种油中分离得到12个新化合物^[21, 24]。另外, 对我国主产区的苦皮藤资源进行调查, 证实其资源十分丰富。

总之, 我国对苦皮藤的研究工作已取得了很大进展, 为寻找有效母体化合物, 合成新农药积累了宝贵资料, 同时为开发利用苦皮藤天然植物昆虫拒食剂提供了可靠依据。

2 苦皮藤种油有效化学成分的研究

2.1 试验方法

苦皮藤种油拒食有效成分分离及结构鉴定, 采用生物活性追踪确定有效的部位, 多层析技术分离活性成分。



有效部位提取物用硅胶层分离。分别用石油醚 (30—60℃) 及含不同比例乙酸乙酯的石油醚洗脱 (95:5—15:85, 其中乙酸乙酯以5%递增), 再以荧光硅胶薄层层析检测 (硅胶 GF, 展开剂为石油醚, 乙酸乙酯 = 8:2 到 8:10 以后, 再 1:2, 其中乙酸乙酯以1递增), 将含相同成分的部位合并, 得到102个组分样品, 经活性测定, 最后评价出具较高活性的样品组分10个。

活性样品纯化→活性样品→在紫外灯下 (波长 2540Å) 观察斑点, 测 Rf 值, 采用普通硅胶柱层析, 低压硅胶柱层析及制备硅胶薄层层析的方法, 得到纯化合物→活性测定。

化学成分的结构鉴定, 取纯化合物结晶, 用核磁共振谱及近代波谱方法和二维核磁共振完成。

2.2 试验结果

① 2% 苦皮藤种油对菜青虫的拒食效果为98.532%; 对黄守瓜成虫的拒食效果为92.619%。

② 苦皮藤种油皂化物及非皂化物活性测定均无效果。初步证实不是内酯化合物。

③ 种油的乙醇提取物, 经测定, 活性极好。

④ 乙醇抽提物用硅胶柱层析分离, 得到102个组分样品, 逐个进行活性测定, 只

有10个样品具有较高活性。其中6个样品稀释到300ppm拒食效果为80%以上,而有1个稀释到150ppm拒食效果为83.2%。

⑤ 从活性样品中得到4个针状结晶物,用高分辨质谱、红外光谱、 ^1H 核磁共振、 ^{13}C 核磁共振DEPT谱、 $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY谱、NOESY谱鉴定,发现苦皮藤酯I(Kupitengester I)的结构是母核为 β -dihydroagarofuran的倍半萜酯类生物碱。1—1、8、9位上连乙酯基,6位上连苯甲酸酯基,11角次甲基位上连菸酸酯基。另3个结晶与苦皮藤酯I是同类型化合物(见图3)。只是酯基的种类、数目和母核上连结的位置有所不同。苦皮藤酯II的母核上连2个乙酯基、1个苯甲酸酯基和1个菸酸酯基;苦皮藤酯III的母核上连有4个乙酯基和1个苯甲酸酯基;苦皮藤酯IV的母核上连有3个乙酯基和1个苯甲酸酯基。

⑥ 250ppm苦皮藤酯I对黄守瓜成虫的防治效果为92.35%,苦皮藤酯IV防效为88.75%。但苦皮藤酯II、IV对菜青虫、小菜蛾幼虫几乎无效。

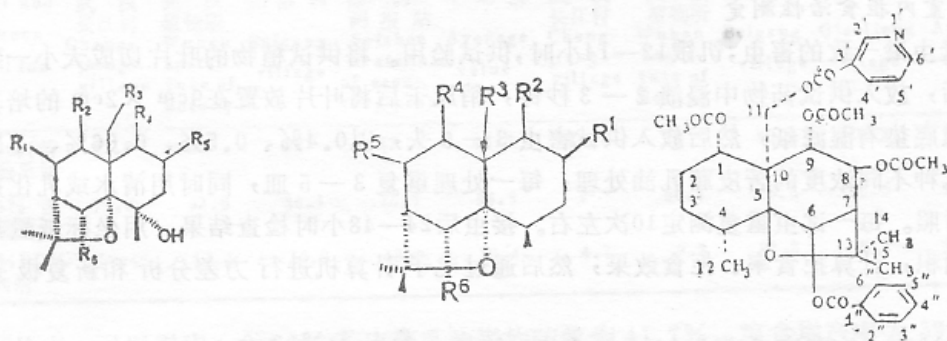


图1 根皮中生物碱的化学结构^[20] 图2 种子中酯类的化学结构^[24] 图3 种油中苦皮藤酯I的化学结构^[21]

Fig.1 The structure of the alkaloid isolated from root bark

Fig.2 The structure of the polyesters isolated from seeds

Fig.3 The structure of kupitengester I isolated from seed oil

3 苦皮藤引种栽培研究

我们在本所园地开展了苦皮藤栽培繁殖试验,并在鄂豫陕接壤的嵩县(河南省境内)选择3个不同海拔地段进行人工栽种。

3.1 生物学特性

(1) 生长快,一年生扦插苗最高可达198cm,平均为36.76cm。

(2) 实地调查发现,苦皮藤多数生长在石隙内。说明它耐干旱,抗寒冷,适应性强。

(3) 萌芽力强、结实多。在湖北、陕西、河南、四川等地,农民每年都要砍伐大量的苦皮藤烧火粪或作薪柴,但砍伐过的苦皮藤次年便萌发一丛粗壮肥嫩的幼枝,新发枝当年不结实,2—3年生枝条的顶芽或腋芽抽出果穗枝结实,果如葡萄,果实较多。

3.2 栽培繁殖技术

3.2.1 有性繁殖 果实由青转黄到外壳稍裂开,露出红色种皮,种仁丰满便可采收。种子放在装有细沙的培养皿里,温度在9—15℃时,适合其发芽。

作盆栽发芽试验,发芽率达95%。荫棚喷雾发芽试验,发芽率达90%。苗圃直播,发

芽率达80%。

3.2.2 无性繁殖 ①冬季嫩枝扦插, 500ppm 吲哚丁酸处理, 生根率为32—50%; 200ppm 处理, 生根率为39—52.8%。②秋季嫩枝扦插, 生根率为45.7%。③春季幼根扦插试验, 用250ppm 吲哚丁酸处理, 生根率为91.9%。

3.2.3 组织培养法 用组织培养法进行试管繁殖是可行的, 60—70天即可生根。试管繁殖不受季节限制, 繁殖系数较高。

3.2.4 栽培技术 ①挖苗移栽: 移栽的树苗当年成苗率在63%以上, 移小苗比移大苗成活率高。②扦插苗或实生苗移栽, 插床内插条生根率达40—50%, 即可翻床移栽。

苦皮藤是我国特有的最具潜力的杀虫植物, 资源丰富, 分布在长江、黄河两岸的山丘地带, 适应性强。人工引种栽培繁殖试验, 首次获得成功, 从而为开发利用苦皮藤资源提供了依据。

4 苦皮藤种油防虫拒食效果

4.1 室内拒食活性测定

选虫龄一致的害虫, 饥饿12—14小时, 供试验用。将供试植物的叶片切成大小一致的面积后, 放入供试药物中浸渍2—3秒钟, 稍风干后将叶片放置在9cm × 2cm 的培养皿内, 皿底垫有湿滤纸, 然后放入供试害虫3—5头, 以0.4%、0.5%、0.66%、1%、2%几种不同浓度的苦皮藤乳油处理, 每一处理重复3—5皿, 同时用清水或乳化剂处理作对照。每一试虫重复测定10次左右。接虫后24—48小时检查结果。用坐标纸量其取食叶面积, 计算拒食率、拒食效果, 然后通过电子计算机进行方差分析和新复极差测验。

供试害虫有黄守瓜成虫 *Aulacophora femoralis* (Motschulsky)、猿叶虫成虫和幼虫 *Colaphellus bowrinigi* Baly、菜青虫幼虫 *Pieris rapae* Linnaeus、28星瓢虫成虫和幼虫 *Henosepilachna vigintioctopunctata* (Fabricius)、缀叶丛螟幼虫 *Locastra muscosalis* Walker、黄杨绢野螟幼虫 *Diaphania perspectalis* Walker、丝棉木金星尺蠖幼虫 *Calospilos suspecta* (Warren)、斜纹夜蛾幼虫 *Prodenia litura* Fabricius、茶毒蛾幼虫 *Euproctis pseudoconspersa* Strand、绿豆象 *Callosobruchus chinensis* (Linnaeus)、稻蝗 *Oxya chinensis* Thunberg、烟青虫 *Heliothis assulta* Guenee、土栖白蚁 *Odontotermes formosanus* (Shiraki)、家白蚁 *Coptotermes fimosanus* Shiraki、稻褐飞虱 *Nilaparvata lugens* Stal、棉铃虫 *Heliothis armigera* (Hubner)、红铃虫 *Pectinophora gossypiella* (Saunders)、赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* (Herbst)、玉米象 *Sitophilus zeamais* Motschulsky、谷蠹 *Rhizopertha dominica* Fabricius、小菜蛾 *Plutella xylostella* (Linnaeus), 共21种, 均采于未施药的田间和仓库。

防治效果(拒食或拒产卵或抑制卵的孵化)在80%以上, 对菜青虫为98.5%; 黄守瓜为99.6%; 猿叶虫为82.7%; 28星瓢虫88.3%; 玉米象为85.7%; 赤拟谷盗为90.6%; 谷蠹为80%; 绿豆象为82.4%; 棉铃虫拒产卵率为81.9%, 抑制卵的孵化率为85.6%; 红铃虫拒产卵率为82.6%。对其它害虫有一定拒食作用, 但对烟青虫、茶毒蛾、稻蝗的效果不明显。

4.2 田间小区防效试验

以 0.5% 苦皮藤乳油防治菜青虫, 北京市农林科学院植环所菜青虫课题组, 在北京市郊顺义县北小营进行了田间小区评价, 虫口减退率为 60.3%, 河南嵩县植保站在城郊闫村、坑上两处试验, 虫口减退率为 96%; 武汉市洪山植保站在北港、长江、大桥、良种场 4 处进行防效试验, 虫口减退率为 89.4%; 我们分别在本所园地、随州市、广济县及洪湖县大同湖农场进行了防效试验, 其中在本所园地虫口减退率为 75%, 在大同湖农场虫口减退率为 80.5%。另外, 0.5% 苦皮藤乳油防小菜蛾, 虫口减退率为 86.9%。

表 1 苦皮藤乳油与 DDVP 防治黄守瓜效果比较

Table 1 Comparison of the controlling effects between *Celastrus angulatus* and DDVP on *Aulacophora femoralis* adults

药名及浓度	防治效果 (%)					增产率 (%)				
	Controlling effect (%)					Rate of increase in production (%)				
Agent and concentration	武汉长江村 Chang-jiang village	武汉植物所 Wuhan Institute of Botany	北港村 Beigang village	随州病虫测报站 Suizhou station of scouting pests	平均值 Average value	武汉长江村 Chang-jiang village	武汉植物所 Wuhan Institute of Botany	北港村 Beigang village	桥梁村 Qiaoliang village	平均值 Average value
0.66% 苦皮藤乳油	23.7	53	32	58	41.7	12.4	68	59.6	16.2	39.1
0.4% 苦皮藤乳油	19.3	51.5	36.1	76.7	33.3	7	56.4	45.5	10.5	29.9
80% DDVP 800倍	17.4	17.4	-13.8	48.3	16.4	4.7	9.8	27.8	8.1	12.6

从表 1 可以看出, 0.66% 苦皮藤乳油平均防效为 41.7%, 粮食增产率为 39.1%。而 DDVP 800 倍液平均防效为 16.4%, 粮食增产率为 12.6%。0.4—0.66% 苦皮藤乳油的防虫效果和增产效果均优于 DDVP。

大田试验表明, 苦皮藤乳油能压低黄守瓜成虫危害指数, 有显著的防治效果, 对黄瓜有较明显的增产作用, 其有效期春季为 7 天, 夏秋季为 5 天。苦皮藤乳油还能压低菜青虫的危害指数, 对花椰菜及甘蓝包菜有较好的保叶作用。对菜青虫的有效期, 秋末冬初 10 天左右。苦皮藤乳油的分解速度、残留期长短与季节和气温有关。

苦皮藤乳油对害虫的致死作用是缓慢的, 一般是干扰害虫的生命活动行为, 抑制其生长发育, 从而达到有效防治。如苦皮藤乳油对黄守瓜等害虫有拒食作用, 对菜青虫幼虫有胃毒作用, 对棉铃虫、红铃虫、菜青虫有拒产卵和抑制卵的孵化作用。

4.3 苦皮藤乳油防治仓虫试验

室内用 1.5% 苦皮藤乳油防治玉米象成虫, 死亡率为 85.7%。每公斤绿豆拌 1 ml 苦皮藤乳油, 防治绿豆象, 2 个月后检查, 防效为 77.64%; 5 ml/kg 8 个月后防效为 100%, 抑制产卵率为 77.64%, 抑制卵的孵化率为 83.72%。苦皮藤乳油对玉米象、谷蠹及赤拟谷盗有明显的拒食与忌避作用, 这对于防治粮食初期蛀食害虫是很有前途的。

5 苦皮藤种油的生物毒性评价

同济医科大学环境毒理教研室完成了急性毒性及致突变作用等四项试验。苦皮藤种油对小鼠急性毒性, 经口 LD₅₀ 对雄雌性分别为 7.7669 mg/kg 及 18.583 mg/kg; 经皮

LD₅₀ 对雄性和雌性小鼠均大于 9.500mg/kg, 说明苦皮藤油的急性毒性很小, 属于微毒物质, 即弱蓄积性物质, 进入人体后易被排出。引起慢性中毒的可能性很小。

微核试验表明, 苦皮藤种油对小鼠有致突变作用, 而 SCE 试验则反映出有突变作用的可能性。

据陕西省卫生防疫站提供资料^[25], 苦皮藤根皮经口 LD₅₀ 大于 6000mg/kg。

6 苦皮藤资源调查

苦皮藤根皮粉及种子油为植源昆虫拒食剂, 用于防治蔬菜、贮粮及经济作物害虫的效果是肯定无疑的。为了进一步开发研制我国特有的植源昆虫拒食剂新农药, 我们对苦皮藤资源的储积量进行了实地考察, 并查阅了有关文献。苦皮藤分布在我国黄河、长江两岸的山区, 特别是次生林地或稀疏林地^[26-28]。生长在海拔自湖北省的100米到云南省的2050米。北纬21.5°—42.5°, 东经182°—120.5°的广阔地域均有苦皮藤的自然分布, 但较为集中地分布在武陵山和秦巴山及伏牛山, 因此在湖北、陕西、河南最为集中。如武陵山系的宣恩县苦皮藤的分布面积约有 97 万亩, 占全县山地面积的 23.5%; 秦岭山脉的华县^[30], 全县干根皮储量为 2—3 千万公斤, 陕西省的洛南县及河南省的卢氏、嵩县均盛产苦皮藤。据初步统计, 苦皮藤分布在我国 17 省(区), 100 多个县, 估测根皮和种子蕴藏量十分丰富。若能有计划地科学保护其资源并合理开发利用, 在湖北西部、陕西的秦岭及河南的伏牛山, 各建一个年产 100 吨的植源昆虫拒食剂工厂, 不仅能提供天然性农药, 为城乡生产无公害食品, 而且还能获得较好的经济效益, 意义特别重大。

7 讨论

“七五”期间, 植源性杀虫拒食剂的研究工作得到了化工部和中国科学院的资助。现已对我国特有的苦皮藤资源进行了调查和引种栽培试验, 开展了对杀虫有效成分的研究, 并取得了重大进展, 肯定了苦皮藤种油对蔬菜及贮粮主要害虫的应用效果。而收种子制药, 不需挖根, 有利山林水土保持。为开发利用苦皮藤资源提供了科学数据。但尚有许多内容有待深入研究。

(1) 苦皮藤种油对 21 种害虫有不同程度的拒食效果, 可能种油含有不同的有效成分, 尚未逐个摸清, 深入研究对于寻找母体化合物, 合成专一性新农药有重大价值。

(2) 苦皮藤叶的杀虫有效成分未进行研究, 如能利用茎叶杀虫, 既可保护资源, 又可保护生态环境。

(3) 苦皮藤的生境和采收时节与杀虫有效成分含量间的关系有待研究。

(4) 不同品种苦皮藤所含杀虫有效成分尚未研究。

(5) 苦皮藤的天然红色素、纤维、油脂、藤本绿化等有待于进一步开发利用。

(6) 苦皮藤杀虫拒食剂的开发利用前景广阔。仅湖北宣恩县就约有 90 余万亩荒山生长苦皮藤, 若每年采收 5% 的面积, 每亩采收 20 公斤, 可收种子 100 万公斤, 每斤按 1 元出售, 山民可收入 100 万元。加工成乳油约 100 吨, 加工成粉剂约 200 吨, 乳剂每吨 2 万元, 100 吨乳油可收入约 200 万元; 粉剂每吨 0.5 万元, 200 吨粉剂可收入 100 万元。扣除辅料及加工费 100 万元, 生产厂家可获税利 100 万元。200 吨粉用于贮粮防虫, 20 万吨粮食, 按挽回粮食损失 10% 计, 约挽回粮食 2 万吨, 每吨 500 元, 投资 100 万元, 挽回经济损失约 1 千万元。更重要是的 20 万吨无毒粮食可供 40—50 万人食用 1 年。

总之, 苦皮藤杀虫拒食剂的开发利用其经济效益、社会效益及环境效益可观, 实有开发的必要, 应积极组织力量开发利用。

主要参考文献

- 1 Reay R C. *Int J Environ, stud.* 1973, 5(2): 80—93
- 2 周维善. 植源性昆虫生长调节剂. 植物学报, 1981, 23(2): 152—161
- 3 姚康, 杨长举. 用山苍子芳香油防治蚕头象. 昆虫学报, 1984, 27(2): 173—181
- 4 Chiu Shin-Foon. Recent research findings on Meliaceae and other promising botanical insecticides in China. *Zeitschrift fur pflanzen-krankheiten und pflanzenschutz*, 1985, 92(3): 310—319
- 5 杜正文. 几种植物油对水稻害虫生物活性及利用方法研究. 植物保护学报, 1986, 13(2): 13—15
- 6 赵善欢. 天然产品的研究与害虫防治新途径的探索. 植物保护, 1988, 14(5): 38—39
- 7 柯治国等. 野生植物苦皮藤种油对黄守瓜成虫防治效果初步研究. 植物保护学报, 1985, 12(4): 283—284
- 8 吴文君等. 杀虫植物苦树的作用方式及对菜青虫的防治试验. 植物学报, 1985, 12(1): 57—62
- 9 Chiu Shin-Foon. Studies on plants as a source of insect growth regulators for crop protection. *Zeits. fur Angewandte Entomologie*, 1989, 107(1989): 185—192
- 10 Bowers S W et al. Discovery of insect anti-juvenile hormones in plants. *Science*, 1976, 193: 542—547
- 11 Gill J S, Lewis C T. Systemic action of an insect feeding deterrent. *Nature*, 1971, 232: 402
- 12 Kubo I et al. Muzigadial and Warburganal, potent antifungal antiyeast and African army worm antifeedant. *Tetrahedron Lett.* 1977, 2553
- 13 Liu Jikai. Investigation on the bioactive principles of Celastraceae. Chemical constituents from insecticidal and medicinal plants *Colatrus angulatus* and *C. glaucophyllus* Ph. D. thesis. Institute of Organic Chemistry, Lanzhou University China, 1988
- 14 Wada K, Enomoto Y. *Tetrahedron Letters*. 1986, 45: 4673—4676
- 15 钟启谦. 雷公藤植物杀虫剂对黄守瓜防治的研究. 中国农业研究, 1950, 1(2): 29—34
- 16 黄瑞纶. 杀虫药剂学. 北京: 财政经济出版社, 1957, 529—531
- 17 赵善欢. *J Sc. Food Agr.* 1950(9): 276
- 18 北京农业大学农药教研组. 土农药研究简报. 昆虫知识, 1959(10): 41
- 19 卢令娴等. 杀虫植物苦皮藤引种繁殖研究初报. 湖北林业, 1989(3): 8—10
- 20 刘吉开. 南蛇藤植物中四个新生物碱的化学结构. 科学通报, 1988, 1586—1588
- 21 王国亮. 新倍半萜酯——苦皮藤酯 I 的结构鉴定. 科学通报, 1990, 1156—1158
- 22 柯治国. 苦皮藤种油对几种蔬菜和贮藏害虫拒食的研究. 武汉植物学研究, 1992, 10(4): 363—370
- 23 柯治国等. 野生植物苦皮藤种油对几种主要害虫防治研究报告. 武汉植物学研究, 1987, 5(2): 185—196
- 24 程清泉. 杀虫植物苦皮藤种子的倍半萜酯. 云南植物研究, 1990, 12(2): 233—234
- 25 王娥. 苦皮藤粉急性的服毒性试验. 农业情报, 1985, 55—60
- 26 中国科学院西北植物研究所. 秦岭植物志, 第一卷第三册. 北京: 科学出版社, 1981, 211
- 27 江苏新医学院. 中药大辞典, 上册. 上海: 上海人民出版社, 1975, 884—885
- 28 中国科学院云南植物研究所. 云南种子植物名录, 上册. 昆明: 云南人民出版社, 1984, 750
- 29 史作阳. 华县秦岭北麓苦皮藤资源调查. 农业情报, 1985, 63—64