

雷公藤对菜青虫的毒理 效应及防治试验*

童红云** 赵善欢

(植保系)

提 要

本试验研究了雷公藤属 (*Tripterygium*) 二种植物 (雷公藤 (*T. wilfordii*) 及昆明山海棠, (*T. hypoglaucum*) 的抽提物对青菜虫 (*Pieris rapae*) 的一些室内毒理效应及田间防治试验。结果表明, 二种植物的抽提物对菜青虫具有拒食、毒杀、抑制生长发育等作用; 处理后的幼虫大多数在体表出现黑斑, 黑斑部分的表皮结构受到破坏; 从昆明山海棠中抽提的一种纯生物碱——雷公藤次碱对菜青虫的体重和呼吸作用有严重的影响; 同时, 处理幼虫的脂肪体少且不饱满, 消化道干瘪, 中肠肠壁细胞和围食膜受到破坏。雷公藤根皮乙醇抽提物用于田间防治菜青虫效果良好。

关键词 雷公藤; 昆明山海棠; 植物性杀虫剂; 菜青虫

引 言

卫矛科雷公藤属的雷公藤 (*Tripterygium wilfordii* Hook. f.) 及昆明山海棠, (*T. hypoglaucum* (Levl) Hutch) 对黄守瓜、猿叶蝉等多种咀嚼式口器的害虫有拒食、胃毒麻痹作用^[1,2]。目前已从雷公藤属植物中分离出五种有杀虫活性的生物碱^[3,4,5,6]。为了探讨雷公藤用于防治青菜虫 (*Pieris rapae* L.) 的可能性, 我们于1985~1986年就雷公藤对青菜虫的作用效果进行了室内和田间测验, 并对其毒杀机理进行了初步的探讨。

材 料 和 方 法

(一) 材料

1. 雷公藤根皮乙醇抽提物: 雷公藤根皮采自华南农业大学标本园, 经烘干 (50~60°C), 磨碎 (过40目筛), 用95%乙醇进行热抽提, 回流三次, 每次时间依次为3小

*本文在试验过程中承刘秀琼教授指导和帮助。特此致谢。

**现华南环境科学研究所工作

1987年6月17日收稿

时、2小时、1小时,最后浓缩到1毫升抽提物/克根皮粉。

2. 雷公藤总生物碱、非生物碱及雷公藤次碱(wilforine)从昆明山海棠中分离,雷公藤次碱的纯度为90%以上。由中国科学院昆明植物研究所吴大刚同志提供。

3. 95%乙酰甲胺磷结晶:广东省江门农药厂生产。

4. 供试昆虫为菜青虫:(1)五龄幼虫:采自田间四龄后期幼虫,室内饲养1—2天,选取脱皮24小时内的健康五龄幼虫供试验。(2)三龄幼虫:在3×2×2米的塑料网纱笼内人工饲养。从成虫开始饲养,幼虫从卵孵出后用小菜苗喂养。选取脱皮24小时内的健康三龄幼虫供试验。

(二) 方法

1. 对五龄幼虫的拒食效果测定:采用常规的非选择叶碟法进行测定,以甘蓝叶为饲料,试药用丙酮溶解(对照为纯丙酮)(下同)。浸渍后的叶碟放入培养皿内,每皿接入一头幼虫,24小时后用叶面积测定仪测定各虫取食的叶面积。每处理10个重复。按下式计算叶面积保护率,并用最小二乘法计算叶面积保护率为95%时的浓度(PC₉₅)。

$$\text{叶面积保护率(\%)} = \frac{\text{对照组取食叶面积} - \text{处理组取食叶面积}}{\text{对照组取食叶面积}} \times 100\%$$

2. 毒杀作用测定:叶片处理方法同方法1,用处理叶片连续喂养三龄(或五龄)幼虫5天,此后用未处理的新鲜叶片喂养。每处理5个重复,每个重复10头幼虫。每天观察幼虫的发育和变态情况,计算试药的致死中浓度(LC₅₀)以及杀死90%的浓度(LC₉₀)。羽化24小时后,解剖雌成虫,观察其卵巢的发育情况。

3. 对幼虫的取食量和体重影响的观察:取直径2cm的圆形叶碟,其它正面均匀地涂布500ppm的雷公藤次碱溶液40 μl(相当于5.88 μg/cm²)。用处理叶碟喂养已知重量的五龄幼虫,另一处理不放任何饲料,使幼虫完全饥饿。定期称量幼虫的体重和取食量。每天换入新处理叶碟,直至处理幼虫死亡。每处理15~20个重复。

4. 对幼虫呼吸作用影响的测定:(1)用瓦勃呼吸计测定处理幼虫的呼吸量,按张龙翔等^[2]的方法测定,第一天的测定时间是处理幼虫食药后出现昏迷约半小时开始,测定时间1小时,此后,每天的同一时间测定一次,直至处理幼虫死亡。每处理5~6个重复。(2)用西德产BINOS 4.2型红外线CO₂分析仪按王荫长的方法^[1]测定处理幼虫的呼吸节律。幼虫取食处理叶片后开始测定,直至幼虫复苏,第二天的同一时间,取一头同龄期、同样大小的正常幼虫用同样的方法测定,比较二者呼吸节律的异同。

5. 对幼虫表皮和消化道组织结构的影响:将毒杀作用测定中500ppm雷公藤次碱处理后第五天的幼虫解剖,观察体内的脂肪和消化道的变化,并将其表皮的黑斑部分和中肠进行石蜡切片,观察其组织结构的变化。

试虫的室内饲养及以上的室内试验均在25±1°C, RH 70~90%,光照12小时的养虫室内进行。

6. 田间小区试验:试验在华南农业大学农场的甘蓝菜地上进行,面积0.2亩。处

理: (1) 3% 雷公藤根皮乙醇抽提物 (用吐温—80 乳化); (2) 0.095% 乙酰甲胺磷; (3) 对照 (等量溶液和乳化剂)。每处理 5 个重复小区, 随机排列, 每重复定点定时调查 10 株菜的虫口数量和叶面积被害指数。按下列计算叶面积被害指数:

$$\text{叶面积被害指数}(\%) = \frac{\sum (\text{级别代表值} \times \text{本级被害叶片数})}{\text{调查叶片总数} \times \text{最高级别代表值}} \times 100\%$$

叶片被害程度分级标准: 零级: 叶片完好无损; 一级: 叶片被食 1/5 以下; 二级: 叶片被食 1/5~2/5; 三级: 叶片被食 2/5~3/5; 四级: 叶片被食 3/5~4/5; 五级: 叶片被食 4/5 以上。

第一次喷药后 8 天用同一浓度进行第二次喷药。

试验结果

(一) 对五龄幼虫拒食效果 PC_{50} 的测定

测定结果表明, 各种雷公藤抽提物均有较强的拒食效果, 雷公藤根皮乙醇抽提物, 雷公藤总生物碱、雷公藤非生物碱, 雷公藤次碱对菜青虫五龄幼虫的 PC_{50} 分别为: 0.81%、646.91 ppm、6.99.28 ppm、428.40 ppm。幼虫取食少量处理叶片后, 行动缓慢, 最后昏迷, 昏迷后排出较正常虫粪较稀的成串粪便, 虫体柔软弯曲, 经一段时间后能复苏, 昏迷时间的长短与食药量有关。复苏后经一段时间, 可继续取食, 取食后又出现麻痹昏迷, 不断重复, 直至死亡。

(二) 对三龄和五龄幼虫的毒杀作用测定

结果见表 1 表 2。

表 1 雷公藤抽提物对菜青虫三龄和五龄幼虫的毒效

试 验 药 剂	广州, 1985 年 12 月			
	三龄幼虫		五 龄 幼 虫	
	LC_{50}	LC_{50}	LC_{50}	LC_{50}
雷公藤根皮乙醇抽提物 (%)	0.14	0.37	0.34	1.51
雷 公 藤 次 碱 (ppm)	32.75	159.71	64.49	430.12

表 2 雷公藤次碱对菜青虫五龄幼虫的毒效*

浓 度	死亡率	蛹 重	黑斑率	羽化率	羽化后 24 小时的雌成虫	
(ppm)	(%)	(mg/头)	(%)	(%)	卵巢总卵量(粒/头)	沉积卵黄卵的比例(%)
1000	95.83	101.00b	68.75	4.17	—	—
50	37.50	116.07b	39.62	62.50	180.25b	26.49
对照	6.38	162.12a	0	93.62	376.00a	32.71

*数字后标相同字母者, 示方差分析 (DMRT) 中 5% 水平上无显著差异。

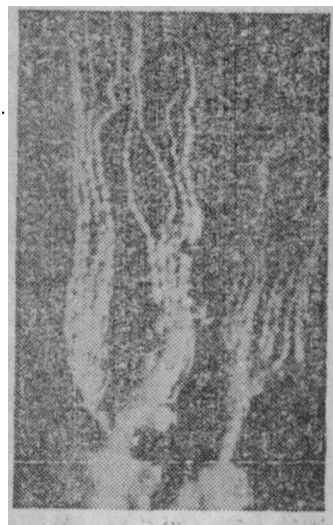
雷公藤次碱和雷公藤根皮乙醇抽提物处理后的多数三龄和五龄幼虫，体表从第三天开始出现黑斑，黑斑多出现在胸足。黑斑较小时，脱皮后能恢复，黑斑大时，不能恢复，龄期变态过程中，会出现黑斑部分不能脱去旧表皮的畸形幼虫，最后死亡。高浓度处理时，多数幼虫在幼虫期死亡，死亡前虫体变黄萎缩、排出水状物。低浓度时，生长发育受抑制，发育历期延长，出现各种畸形蛹，蛹重量显著下降，部分蛹能羽化为成虫，解剖羽化24小时的雌成虫，发现处理雌成虫的卵巢明显比对照短小，卵粒数减少，成熟度下降（图1、表2）。

（三）雷公藤次碱对五龄幼虫的生理影响

1. 对体重和取食量以及呼吸作用的影响：结果见图2、图3，雷公藤次碱对五龄幼虫的体重、取食量和呼吸作用均有显著影响。对照组体重和取食量24小时内明显增加，第三天（由于部分幼虫进入预蛹）又开始下降；处理组体重则逐天下降，第四天基本不食，第五天死亡，完全饥饿状态的幼虫体重下降趋势与后者相似，但稍快，死亡早，第四天已全部死亡。

瓦勃呼吸计测定雷公藤次碱对五龄幼虫的呼吸作用结果与体重变化趋势相似（图3）。处理当天 CO_2 放出量比对照组稍低，而耗氧量明显比对照低。处理幼虫和完全饥饿幼虫的呼吸量变化有共同趋势，但后者下降稍快。二者死亡前一天的呼吸量相似。对照第三天开始进入预蛹，呼吸量明显下降。

红外线 CO_2 分析仪测定处理和对照幼虫的呼吸节律，处理和对照幼虫的体重均为115 mg/头，处理幼虫取食雷公藤次碱0.15 μg /头，上午9:30开始取食，10:00开始测定，测定室温为23~27 $^{\circ}\text{C}$ 。结果发现，正常菜青虫的五龄幼虫白天释放 CO_2 的方式为不规则波动型，晚上关灯后出现周期间歇型，但开灯后又出现不规则波动型。处理幼虫昏迷前释放 CO_2 的方式和节



左：对照 右：处理

图1 雷公藤次碱(50ppm)喂养菜青虫五龄幼虫后，对其羽化成虫的卵巢发育的影响(羽化24小时解剖)

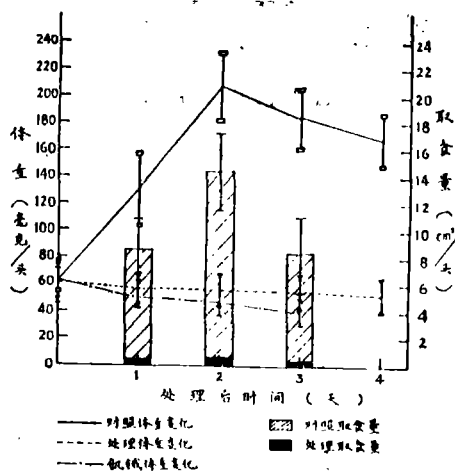


图2 雷公藤次碱对菜青虫五龄幼虫的体重和取食量的影响

律与对照相似,昏迷后呼吸节律峰谷不明显,且昼夜节律无区别。24小时复苏后,节律仍不明显,波幅虽有增大,但小于对照(一直处于饥饿状态)。

2.对表皮和消化道组织结构的影响:处理幼虫的胸背表皮黑斑切片表明(图4)黑斑部分的表皮层增厚,内表皮和真皮细胞之间出现瘤状物,瘤下面的真皮细胞解体,上下分离,在肿瘤周围形成空腔。

解剖500ppm 雷公藤次碱处理第五天的幼虫,发现其脂肪体极少且不饱满,消化道干瘪,消化道内无食物。中肠的纵切切片表明(图5),处理幼虫的围食膜和肠壁细胞受到破坏,肠壁细胞崩溃。

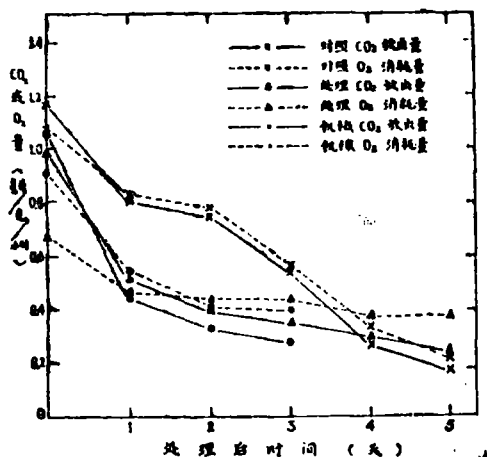
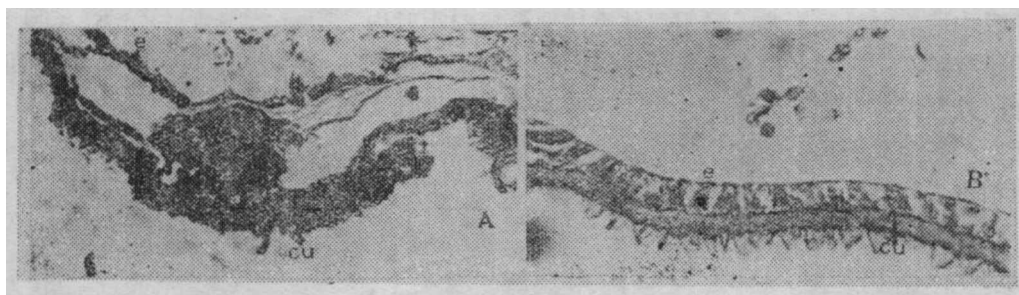


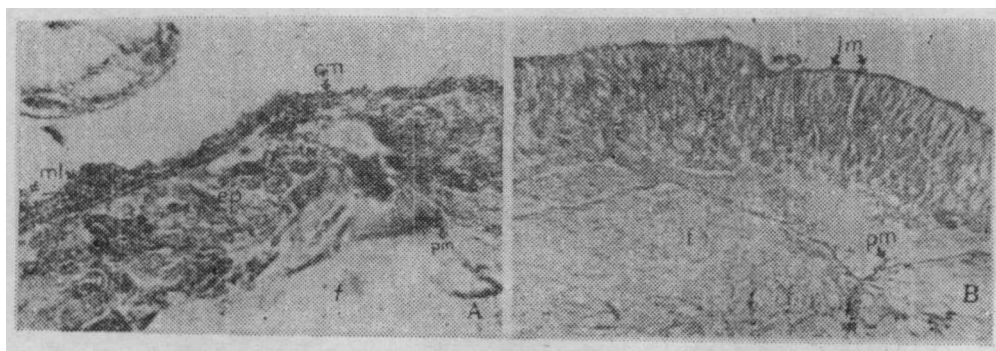
图3 雷公藤次碱对菜青虫五龄幼虫呼吸作用的影响



A, 处理(200×)

B对照(500×) cu.表皮层 e.真皮细胞

图4 雷公藤次碱对菜青虫五龄幼虫表皮结构的影响



A.处理500× B.对照200× ep.肠壁细胞 lm.纵肌 pm.围食膜 cm.环肌 f.食物

图5 雷公藤次碱对菜青虫五龄幼虫消化道(中肠)组织的影响

(四) 田间小区试验

喷药前田间甘蓝受害轻, 90%的植株未受害, 大多数为三龄期前的菜青虫幼虫。试验结果表明, 二种药剂对菜青虫均有良好的防治效果, 3%的雷公藤根皮乙醇抽提物、0.095%的乙酰甲胺磷和对照在喷药后第10天的叶面积被害指数分别为4.76%、5.54%、21.12%, 第20天的叶面积被害指数分别为4.62%、4.21%、29.19%。前二者的叶面积保护效果无差异。在雷公藤试区中发现有胡蜂, 步蟬等天敌捕食昏迷的幼虫, 而在乙酰甲胺磷试区中未发现天敌。试验中未发现药害。试验期间日均气温 $16.15 \pm 6.08^{\circ}\text{C}$, 相对湿度为 $68.39 \pm 14.4\%$, 试验的第12天气温骤降(日均气温 12°C , 最低温 7°C), 并有一小雨, 因此, 对照区虫口密度明显下降。低温一直维持至试验结束。

讨论和结论

本研究的结果表明, 雷公藤和昆明山海棠的几种抽提物对菜青虫有较强的拒食、毒杀、抑制生长发育作用。雷公藤的主要杀虫成分过去认为是生物碱类。本试验的结果发现, 其生物碱和非生物碱均有较强的拒食作用, 且虫子中毒的症状相似, 这种结果是由于非生物碱中的生物碱类未抽提完全还是由于存在着其它非生物碱类的活性物质, 需作进一步的研究。

雷公藤根皮乙醇抽提物和雷公藤次碱引起菜青虫体表出现黑斑, 且黑斑部分的表皮结构受到破坏。雷公藤次碱还引起菜青虫的体重和呼吸量显著下降、呼吸节律异常, 同时, 使消化道中肠胃食膜和肠壁细胞受到破坏。引起这些现象的原因尚待研究。

田间试验结果初步表明, 雷公藤对菜青虫有较强的拒食、胃毒和抑制生长发育作用, 3%的根皮乙醇抽提物可达到防治目的。

引用文献

- [1] 王荫长等. 南京农学院学报, 1982; 50—58
- [2] 张龙翔等. 生化实验方法和技术, 高等教育出版社, 1985; 265~279
- [3] 赵善欢等. 我国西南各省杀虫植物毒力试验, 国立中山大学农学院, 1944; 1—54
- [4] Beroza, M. 1953. Alkaloids from *Tripterygium wilfordii* Hook. The structure of wilforine, wilfordine, wilforgine and wilfortrine. J. Amer. Chem. soc. 75:44-49
- [5] Beroza, M. 1953. Alkaloids from *Tripterygium wilfordii* Hook.: Isolation and structure of wilforzine. TC. 2136-2138. (RAE(A)12:65(1954))
- [6] Beroza, M. and Bottger, G. T. 1954. The insecticidal value of *Tripterygium wilfordii*. J. Econ. Entomol. 47(1):188-189
- [7] Cheng, T. H. 1945. Field tests of the thunder god vine against melon leaf beetle. J. Econ. Entomol. 38(4):491-492

STUDIES ON THE TOXICOLOGY OF THE BIOACTIVE MATERIALS
FROM *TRIPTERYGIUM* AGAINST THE IMPORTED
CABBAGES WORM (*PIERIS RAPAE* L.)

Tong Hongyun Chiu Shin-Foon

(Department of Plant Protection)

ABSTRACT

The toxicology effects of plant extracts from species of *Tripterygium* (*T. wilfordii* and *T. hypoglaucom*) on the imported cabbage worm (*Pieris rapae*) were studied both in the laboratory and in the field. The results showed that the extracts from the root bark of *Tripterygium* are a strong antifeedant, stomach poison and growth inhibitor. After feeding with the ethanol extract from the root bark of *T. wilfordii* or wilforine (an alkaloid from *T. hypoglaucom*), black spots appeared in the larvae. Microscopic examinations of its section showed that the cuticle became thickened and cancers appeared between the epidermis and endocuticle, the epidermis was destroyed, the endocuticle separated from the epidermis and vacuoles formed.

After treatment with wilforine, the respiration of the larvae of *P. rapae* was markedly affected and their body weight was decreased. After eating the leaves of the cabbage treated with wilforine, the larvae showed paralysis and their respiratory rhythms were not conspicuous. The amplitudes of the respiratory rhythm-waves became lower and the CO₂ output decreased. The larvae treated with wilforine and those fully-starved showed the same change trends in body weight and respiratory rates. Five days after treatment, the larvae were dissected. It was found that the alimentary canal and the fat body were shrivelled, the epithelium of mid-gut and the peritrophic membrane were destroyed. According to these results, it is thought that the lethal mechanism of extracts from *T. wilfordii* and *T. hypoglaucom* against the larvae of *P. rapae* may be as follows: After a slight feeding of the extracts, the larvae shows paralysis. Then the toxic principles of the extracts affects the mid-gut epithelium of alimentary canal. As a result the larvae could not continue to feed. Due to shortage of nutrition, metabolism is hampered. Thus, the larvae finally die of starvation.

Result of field plot trials demonstrated that the cabbage plantation was well protected from the damage of the larvae of *P. rapae* by spraying with the 3% ethanol extract of the root bark of *T. wilfordii*, and it was showed that the natural enemies of the larvae were not attacked by spraying. No phytotoxicity was observed on cabbages.

Key words: *Tripterygium wilfordii*; *Tripterygium hypoglaucom*; Botanical insecticides; *Pieris rapae*