DOI:10.15933/j.cnki.1004-3268.2007.08.007
河南农业科学

# 附子浸渍液杀虫活性测定及防治卫矛尺蠖药效试验

马建列,白海燕
(西南科技大学 生命科学与工程学院,四川 绵阳 621002)

摘要:利用中药材附子炮制过程产生的大量废液中的乌头类生物碱进行害虫防治研究,用酸碱滴定法(药典法)测定附子浸渍液总生物碱含量为68.32mg/L。毒力测定结果表明,附子浸渍液对五龄期卫矛尺蠖具有较强的触杀作用和毒杀作用,触杀中浓度$LC_{50}$为6.1235mg/L,毒杀中浓度$LC_{50}$为22.4905mg/L,无拒食作用和熏蒸作用。田间药效试验表明,用附子浸渍液原液和稀释3倍的药液防治卫矛尺蠖,具有很好的防治效果,药后7d校正虫口死亡率分别达到92.34%和88.78%。

关键词:附子浸渍液;杀虫活性;卫矛尺蠖;药效试验
中图分类号:S482.3+9　　文献标识码:A　　文章编号:1004-3268(2007)08-0057-04

# Insecticidal Activity Test of Aconitic Steep and Its Effectiveness on Controlling *Calospilos suspecta*

MA Jian-lie, BAI Hai-yan
(School of Life Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621002, China)

**Abstract**: The aconite alkaloid in the waste fluid, resulted from steeping Chinese medicine aconite, was used to prevent pests. Tested with the method of Acid and Alkali Titration (Pharmacopoeia Method), the total alkaloid content of aconitic steep was 68.32mg/L. The toxicity test showed that the aconitic steep had high effects of contact toxicity and lethal toxicity against *Calospilos suspecta*, with a contact toxicity $LC_{50}$ of 6.1235mg/L and lethal toxicity $LC_{50}$ of 22.4905mg/L, and without antifeedant activity and fumigant poison. The controlling effectiveness test in the field indicated that the aconitic steep and its 3-time dilution had good controlling efficacy against *Calospilos suspecta*, the pest mortality being 92.34% and 88.78%, respectively, after 7d of applying.

**Key words**: Aconitic steep; Insecticidal activity; *Calospilos suspecta*; Pesticide effectiveness experiment

附子为毛茛科植物乌头的子根加工品,绵阳市江油为地道中药附子的产地,每年种植面积达333.33hm$^2$。生附子含有大量乌头碱(aconitine)类生物碱,毒性很大,必须经过炮制才能在临床上应用,80%以上的总生物碱流失在炮制(泡、浸、漂)过程中[1]。而生物碱作为可利用的植物源化学物质之一,具有专一性强,活性高,对环境安全,对非靶标生物相对安全,作用机理不同于常规农药等特点。其中的多种次生代谢物质对昆虫具有拒食、毒杀、麻醉、抑制生长发育及干扰正常行为的作用[2]。而目前国内外还未见对附子浸渍液中生物碱杀虫作用的研究报道,为了探讨其对害虫的毒杀作用,变废为

收稿日期:2007-03-23
基金项目:四川省教育厅重点科研项目(2004A126)
作者简介:马建列(1956-),男,四川资中人,副教授,主要从事植物保护、植物资源利用等教学与研究工作。


?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

宝,并为开发利用这一新型植物性杀虫物质提供理论依据,笔者于 2004～2005 年对绵阳市绿化林木冬青卫矛(*Euonymus japonicus* Thunb)上发生危害的卫矛尺蠖进行了附子浸渍液的杀虫活性测定和药效防治试验。

卫矛尺蠖(*Calospilos suspecta* Warren)又名丝棉木金星尺蠖或大叶黄杨尺蠖,属鳞翅目尺蠖蛾科。该虫主要为害冬青卫矛、丝棉木、卫茅、胶州卫茅、扶芳藤,还可为害榆、杨、柳、槐、木槿、女贞等园林绿化林木[3]。近年来,卫矛尺蠖在绵阳市各区县普遍发生,不仅严重影响冬青卫矛等观赏植物的正常生长发育,而且破坏绿化景观效果。将附子浸渍液中的生物碱直接用于园林观赏植物害虫的防治,对于保护环境、避免传统化学农药带来的种种弊端以及研制新型农药具有十分重要的意义。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试材料

附子浸渍液原液(四川江油市附子加工厂提供);20%氰戊菊酯乳油(重庆农药厂生产);80%敌敌畏乳油(山东大成农药股份有限公司生产)。

卫矛尺蠖采自未施农药的冬青卫矛上,于室内用新鲜的冬青卫矛叶片饲养,挑选生长较一致的五龄期幼虫作为试虫。

### 1.2 附子浸渍液中总生物碱含量测定

用酸碱滴定法[4](药典法)对附子浸渍液总生物碱含量进行测定。取样品液 20.0 mL 蒸干,残渣以少量水溶解后置分液漏斗中,以氨水调 pH＝10～11,氯仿萃取 5 次(10,10,10,10,10 mL),合并氯仿液,回收氯仿,水浴挥干,残渣用乙醇 5.0 mL 溶解,精密加入硫酸滴定液(0.01 mol/L)15 mL,水 15 mL 与甲基红指示液 3 滴,用氢氧化钠滴定液(0.02 mol/L)滴定至黄色,读取消耗的 NaOH 溶液的量,计算总生物碱的含量[每 1 mL 硫酸滴定液(0.01 mol/L)相当于 12.9 mg 的乌头碱($C_{34}H_{47}NO_{11}$)]。

### 1.3 附子浸渍液生物活性测定

1.3.1 附子浸渍液预测试验 采用叶片带毒法,将附子浸渍液配制成原液、加水稀释 10 倍、50 倍的药液,将带有卫矛尺蠖幼虫的冬青卫矛叶片分别浸入药液中 5 s,取出后用吸水纸吸干叶缘液滴,置于培养皿中,24 h 后观察记载幼虫死亡情况,计算死亡率,确定后续试验药液浓度。每处理为 20 头幼虫。试虫死亡确定以幼虫有微动但无取食能力、个体明显缩小为标准[5]。

1.3.2 拒食及毒杀作用测定 采用张兴等的小叶碟添加法[6]。经预测试验确定试验药液浓度范围在原液至稀释 10 倍之间,因此设置 5 个处理,即原液、用水稀释 1 倍、2 倍、4 倍和 8 倍的药液。在直径 15 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 的五龄试虫,每处理 10 头,3 次重复。从未施过化学农药的冬青卫矛上采回新鲜叶片,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(另设清水对照)。每皿内加叶碟 10 片,待试虫吃完后再加叶碟,于 48 h 观察记载死亡数,计算死亡率及校正死亡率。

1.3.3 附子浸渍液对卫矛尺蠖的触杀作用测定 采用毛细管点滴法进行[6]。处理药剂浓度同 1.3.2,用点滴量为 1 μL 的毛细管点滴器施药液于试虫前胸背板。试虫平均体重 4.36 g,每处理试虫为 30 头,48 h 检查死亡数,统计死亡率及校正死亡率。

1.3.4 熏蒸作用测定 熏蒸作用测定按三角瓶法进行[6]。给磨口三角瓶(V＝330 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(7～8 $cm^2$),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,48 h 检查死亡数,计算死亡率。

### 1.4 附子浸渍液防治卫矛尺蠖田间药效试验

试验于 2005 年 10 月进行。在绵阳市高新区道路绿化带选择受卫矛尺蠖危害较重的球形冬青卫矛作为试验植物,植株直径为 80～110 cm,高 90～100 cm,试验前未施用其他杀虫药剂。根据室内生物活性测定,田间药效试验选用附子浸渍液原液和稀释 3 倍的药液,与 20%氰戊菊酯乳油 2000 倍和 80%敌敌畏乳油 1000 倍进行对比,并设清水为对照,共设 5 个处理,每处理小区为 3 株,3 次重复,用工农－16 型背负式喷雾器进行喷雾。施药前调查各处理小区虫口数,施药后 1 d,3 d,7 d 调查虫口存活数,计算虫口死亡率和校正虫口死亡率,并对 7 d 后结果进行方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 附子浸渍液中总生物碱含量

测定结果表明,附子浸渍液中总生物碱含量为 68.32 mg/L。

### 2.2 附子浸渍液预测试验结果

附子浸渍液原液处理卫矛尺蠖死亡率为 100%,稀释 10 倍死亡率为 15%,稀释 50 倍为 0。


?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

因此，后续试验浓度范围确定为原液至稀释 10 倍。

2.3 附子浸渍液对卫矛尺蠖的拒食及毒杀作用

试验结果表明，各药剂浓度处理的卫矛尺蠖均可进行取食，与对照无明显差异，表明无拒食作用。

由表 1 可知，附子浸渍液对卫矛尺蠖幼虫具有很好的毒杀作用。处理后的卫矛尺蠖幼虫行动明显变缓，出现阵发性兴奋、痉挛，并开始大量吐丝、瘫软，肛门有大量排泄物溢出，虫体变小最终死亡。以附子浸渍液处理浓度对数为自变量（x），校正死亡率的机率值（y）为因变量作回归，得其回归方程为 $y=2.6918+1.7072x$，$LC_{50}=22.4905$ mg/L，$\chi^2=0.3182$。

表 1 附子浸渍液对卫矛尺蠖幼虫的毒杀作用

| 处理 | 48h 校正死亡率（%） | 死亡率机率值 y | 浓度对数值 |
|---|---|---|---|
| 附子浸渍液原液（68.32mg/L） | 79.62 | 5.8274 | 1.8345 |
| 附子浸渍液稀释 1 倍（34.16mg/L） | 68.57 | 5.4817 | 1.5335 |
| 附子浸渍液稀释 2 倍（17.08mg/L） | 51.62 | 5.0401 | 1.2325 |
| 附子浸渍液稀释 4 倍（8.54mg/L） | 25.14 | 4.3287 | 0.9315 |
| 附子浸渍液稀释 8 倍（4.27mg/L） | 10.23 | 3.7298 | 0.6304 |
| ck | 3.33 | | |

2.4 附子浸渍液对卫矛尺蠖的触杀作用

试验结果见表 2。附子浸渍液对试虫表现出很高的触杀作用，处理后 2h，试虫开始出现中毒症状，行动缓慢，但仍能取食，此后出现阵发性的兴奋、痉挛，表现为剧烈的抽搐、扭动，有体液排出。死亡虫，体明显缩短、缩小，弯曲成 C 字型，虫体表失去光泽颜色变暗。以附子浸渍液处理浓度对数为自变量（x），校正死亡率的机率值（y）为因变量作回归，得 $y=3.8064+1.5167x$，$LC_{50}=6.1235$ mg/L，$\chi^2=0.2534$，由点滴量1μL可计算出$LD_{50}$为4.3226μg/g。

表 2 附子浸渍液对卫矛尺蠖幼虫的触杀作用

| 处理 | 48h 校正死亡率（%） | 死亡率机率值 y | 浓度对数值 |
|---|---|---|---|
| 附子浸渍液原液（68.32mg/L） | 91.3 | 6.3595 | 1.8345 |
| 附子浸渍液稀释 1 倍（34.16mg/L） | 87.5 | 6.1503 | 1.5335 |
| 附子浸渍液稀释 2 倍（17.08mg/L） | 83.4 | 5.9701 | 1.2325 |
| 附子浸渍液稀释 4 倍（8.54mg/L） | 68.9 | 5.4930 | 0.9315 |
| 附子浸渍液稀释 8 倍（4.27mg/L） | 27.6 | 4.4052 | 0.6304 |
| ck | 5.0 | | |

2.5 附子浸渍液对卫矛尺蠖的熏蒸作用

熏蒸作用测试结果表明，试虫于三角瓶内照常取食，未受悬挂滤纸条影响，48h 无死亡，所有浓度处理与对照均无差异，死亡率为 0，说明附子浸渍液无熏蒸作用。在室内试验中，冬青卫矛叶片未出现药液过敏性反应，因此进行了室外药效试验。

2.6 附子浸渍液防治卫矛尺蠖田间药效试验

田间试验结果表明（表 3），附子浸渍液原液和稀释 3 倍的药液杀虫效果都比较理想，药后 1d 校正死亡率即达到 90.20%和 88.33%。7d 后校正死亡率分别达到 92.34%和 88.78%，与 20%氰戊菊酯校正死亡率 90.69%无显著差异；附子浸渍液原液杀虫效果显著优于 80%敌敌畏，稀释 3 倍的附子浸渍液与 80%敌敌畏无显著差异。

表 3 附子浸渍液防治卫矛尺蠖田间药效试验

| 处理 | 处理前虫口数 | 药后 1d 活虫数 | 药后 1d 死亡率（%） | 药后 1d 校正死亡率（%） | 药后 3d 活虫数 | 药后 3d 死亡率（%） | 药后 3d 校正死亡率（%） | 药后 7d 活虫数 | 药后 7d 死亡率（%） | 药后 7d 校正死亡率（%） |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 附子浸渍液原液（68.32mg/L） | 136 | 13 | 90.44 | 90.20 | 11 | 91.91 | 91.57 | 10 | 92.65 | 92.34a |
| 附子浸渍液稀释 3 倍（22.77mg/L） | 158 | 18 | 88.61 | 88.33 | 17 | 89.24 | 88.78 | 17 | 89.24 | 88.78ab |
| 20%氰戊菊酯乳油 2000 倍 | 112 | 12 | 89.29 | 89.02 | 11 | 90.18 | 89.76 | 10 | 91.07 | 90.69a |
| 80%敌敌畏乳油 1000 倍 | 98 | 14 | 85.71 | 85.35 | 12 | 87.76 | 87.24 | 12 | 87.76 | 87.24b |
| ck | 123 | 120 | 2.44 | | 118 | 4.06 | | 118 | 4.06 | |

注：表中数据为 3 次重复的平均数，数字后小写字母表示 0.05 水平的差异显著性

## 3 讨论

生物活性测定结果表明，附子浸渍液对卫矛尺蠖具有较好的毒杀作用和很强的触杀作用，对害虫击倒快，达到了常用化学药剂的杀虫效果。触杀作用强于毒杀作用，无拒食作用和熏蒸作用。田间试验表明，附子浸渍液原液与 20%氰戊菊酯乳油 2000 倍防治效果接近，7d 后校正防效为 92.34%和 90.69%。稀释 3 倍的附子浸渍液与 80%敌敌畏乳油 1000 倍防治效果接近，7d 后校正防效为88.78%和 87.24%。因此，我们认为附子浸渍液稀释 3 倍以内可以作为防治卫矛尺蠖的药剂使用。

附子浸渍液是中药生产过程中产生的废液，长期以来未被利用。作为植物性杀虫物质，具有在自然环境中易降解，不污染环境等优点，如进一步深入进行研究、开发和利用，具有十分重大的现实意义和非常可观的应用前景。今后还将继续进行附子浸渍液对其他害虫的防治试验。



?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

# 小麦全蚀病拮抗微生物的分离及其拮抗性能研究

韩艳霞[1]，陈太政[2]，侯彦喜[1]，王　刚[2]
（1. 开封大学 化工学院，河南 开封 475004；2. 河南大学 环境规划学院 生命科学学院，河南 开封 475004）

摘要：从开封北郊的麦田土壤中分离筛选出 11 株对小麦全蚀病菌（*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*）有拮抗作用的细菌，通过对它们进行生理生化检验，确定为 4 个种，即：巨大芽孢杆菌（*Bacillus megaterium*）、蜡样芽孢杆菌（*Bacillus cereus*）、苏云金芽孢杆菌（*Bacillus thuringiensis*）、凝结芽孢杆菌（*Bacillus coagulans*）。分别利用平板拮抗和小麦活体拮抗对分离到的 11 株拮抗菌株的拮抗能力进行检测。结果表明，菌株的平板拮抗能力较强，在活体试验中，可以降低病害的发病强度。

关键词：小麦全蚀病；生物防治；拮抗细菌；拮抗作用；作用机制
中图分类号：S435.121　　文献标识码：A　　文章编号：1004－3268（2007）08－0060－04

# The Isolation of Bacteria against the Fungi of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* and Its Antagonism

HAN Yan-xia[1], CHEN Tai-zheng[2], HOU Yan-xi[1], WANG Gang[2]
（1. Department of Chemical Engineering, Kaifeng University, Kaifeng 475004, China;
2. Istitute of Resources and Environment, and Institute of Life Science, Henan University, Kaifeng 475004, China）

**Abstract**: 11 stranis of bacteria against the fungi of *G. graminis var tritici* were isolated from the soils in the suburbs of Kai feng city. The physiological and biochemical analysis were carried out to identify these bacteria. The results showed that these bacteria belonged to *Bacillus magaterium*, *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. coagulans*, respectively. The antagonism capacity of 11 strains were tested using plate and wheat seedlings, indicating that most of the strains had strong antagonism to the pathogen in the plates. All the strains had antagonism on the wheat seedlings, which could reduce the degree of disease.

**Key words**: Take-all; Biological control; Inhibitory bacteria; Antagonism; Mechanisms

收稿日期：2007－02－12
作者简介：韩艳霞（1971－），女，河南漯河人，硕士，主要从事微生物学的教学与研究工作。

致谢：园艺专业 01 级同学参与部分试验工作，在此表示感谢！

参考文献：

[1] 刘道平. 炮制对附子中化学成分的影响[J]. 山东医药工业，2001，20(2)：25.
[2] 张兴，马志卿，李广泽，等. 生物农药评述[J]. 西北农林科技大学学报（自然科学版），2002，30(2)：143－148.
[3] 萧刚柔. 中国森林昆虫[M]. 北京：中国林业出版社，1993：886－889.
[4] 何军，祝林，奉建芳. 附子总生物碱含量测定方法比较[J]. 现代中药研究与实践，2003，17(6)：20－22.
[5] 慕立义. 植物化学保护研究方法[M]. 北京：中国农业出版社，1994：47－48，55－56.
[6] 罗都强，冯俊涛，胡瓒，等. 雷公藤总生物碱分离及杀虫活性研究[J]. 西北农林科技大学学报（自然科学版），2001，29(2)：61－64.



?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net