

盐酸黄连素对蚜虫生物活性的研究*

李明 曾晞 季祥彪 熊继文 康冀川

(贵州大学昆虫研究所, 贵阳 550025)

摘要 黄连素为黄连 *Coptis chinensis* Franch 体内的主要生物碱成份。用采自贵阳花溪附近的新鲜黄连主根提取盐酸黄连素, 将粗品重结晶一次后, 用 HITACHI-220 紫外可见分光光度计测得一次重结晶产品含盐酸黄连素 91%, 黄连主根中的黄连素含量为 11.56%。室内生物测定结果表明, 盐酸黄连素对甘蓝蚜 *Brevicoryne brassicae* (L.) 具有很强的触杀作用和较好的拒食活性。1% 盐酸黄连素的乙醇溶液点滴蚜虫, 96 h 死亡率高达 92.5%, 校正死亡率为 91.4%, LC_{50} 值为 (2.289 ± 0.0125) g/L, 回归方程 $Y = 7.712 + 1.027X$, 相关系数 r 为 0.958, 达显著水平; 1% 盐酸黄连素的乙醇溶液处理叶片, 24 h 处理和对照叶面的蚜虫栖息率分别为 20.6% 和 79.4%, 拒食效果为 74.04%, ΔFC_{50} 值为 (4.055 ± 0.0215) g/L, 回归方程 $Y = 9.115 + 1.719X$, 相关系数 r 为 0.998, 达极显著水平。

关键词 黄连, 盐酸黄连素, 甘蓝蚜, 触杀毒力, 拒食活性

黄连 *Coptis chinensis* Franch 作为一种名贵的中药材, 在我国具有悠久的历史, 其中的主要生物碱成分——黄连素对人体病原细菌和真菌具有广谱的抗菌活性^[1]。本世纪 60 年代以后, 一些研究还证实了黄连素对许多植物病原细菌和真菌具有显著的抑制作用^[2-4]。国内朱振东等(1991) 研究报道了黄连生物碱对水稻白叶枯病菌 *Xanthomonas campestris* pv. *orgzae* 和多种植物病原真菌的抑菌作用和应用的可行性^[5]。然而, 关于黄连生物碱对昆虫的生物活性, 目前尚未见报道。作者用盐酸黄连素对蚜虫的触杀毒力和拒食活性进行了研究, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 盐酸黄连素的提取

1.1.1 供试黄连: 黄连采至贵阳花溪附近地区, 新鲜主根自然风干后, 在 60℃ 烘箱烘干, 粉碎备用。

1.1.2 盐酸黄连素的提取: 取主根粉按冀春茹^[6]介绍的提取盐酸黄连素的方法进行提取, 得盐酸黄连素粗品, 将粗品加适量水加热 30 min 溶解, 趁热过滤, 同时将适量饱和食盐水加热至沸, 趁热过滤, 合并滤液加热煮沸 2 min, 冷却析出盐酸黄连素黄色结晶后, 抽滤, 少量水洗, 丙酮洗 1~2 次, 抽干, 于 80℃ 烘箱干燥, 得一次重结晶产品。

* 贵州省“八五”科技攻关项目内容之一
1997-09-16 收稿, 1998-01-20 收修改稿

1.2 盐酸黄连素的含量测定

盐酸黄连素样品为上海生化制品厂产品，含量98%，取一次重结晶产品用HITACHI-220可见分光光度计比色，标准曲线法测定含量^[7]。

1.3 生物活性的测定方法

1.3.1 供试蚜虫：甘蓝蚜 *Brevicoryne brassicae* (L.) 为室内盆栽甘蓝饲养的第2代，作试虫用，由贵州农学院植保系天然农药研究室提供。

1.3.2 拒食活性的测定：参照张钟宁(1993)^[8]的方法。将盐酸黄连素的一次重结晶产品，用95%的乙醇稀释成1%、0.5%、0.25%、0.1%浓度梯度，取苗期莲花白嫩叶(叶型周正，叶面积 $(8 \pm 1) \text{ cm}^2$)，以叶片主脉为界，用毛笔在叶片一侧的正反面涂盐酸黄连素的乙醇稀释液(0.1 mL)，另一侧的正反面涂乙醇作对照。在磨口培养皿内放干净滤纸一张，用蒸馏水湿润保湿，待处理叶片乙醇挥发后，放入皿内，然后将甘蓝蚜接到叶主脉附近，每处理接蚜虫40头，加皿盖，置于室温下(18~25℃)观察，重复4次。分别于处理后24 h、48 h、72 h统计处理和对照的蚜虫栖息数，计算处理和对照蚜虫栖息百分率和处理的拒食效果^[9]。

$$\text{拒食效果}(\%) = \frac{\text{对照栖息蚜虫数} - \text{处理栖息蚜虫数}}{\text{对照栖息蚜虫数}} \times 100$$

1.3.3 触杀毒力的测定：将盐酸黄连素的一次重结晶产品用95%的乙醇稀释成1%、0.5%、0.25%、0.1%的浓度梯度，采用改进的毛细管点滴法进行测定，即在毛细管内通入细棉线一根，点滴端的棉线超过毛细管端部约1.5 mm。点滴处理时，用毛细管虹吸药液，然后将细棉线触及蚜虫，使药液湿润虫体即可。对照用95%的乙醇作同样处理，每处理点滴蚜虫10头，重复4次，处理后的蚜虫随即接到新鲜甘蓝叶片上，放入用上述方法处理的磨口培养皿内逐日统计死虫数，计算死亡率和校正死亡率。

2 结果

2.1 黄连主根盐酸黄连素的含量

用黄连主根干粉50 g，提取盐酸黄连素得粗品7.2 g，经一次重结晶后，得一次重结晶产品5.78 g，主根中黄连素的含量为11.56%，标准曲线法测定结果表明，盐酸黄连素的一次重结晶产品含量为91%。

2.2 盐酸黄连素对蚜虫的生物活性

2.2.1 盐酸黄连素对蚜虫的拒食活性：室内拒食作用测定结果表明，盐酸黄连素对蚜虫具有较高的拒食活性。1%盐酸黄连素的乙醇溶液，24 h处理和对照叶面的蚜虫栖息率分别为20.6%和79.4%，拒食效果为74.04%， AFC_{50} 为 $(4.055 \pm 0.0215) \text{ g/L}$ ，回归方程 $Y = 9.115 + 1.719X$ ，相关系数 $r = 0.998$ ，达极显著水平，到72 h，处理和对照叶面的蚜虫栖息率分别仍为22.1%和77.9%，拒食效果仍达71.6% (表1)。逐日观察还表明，试验中各处理浓度对莲花白嫩叶均未产生任何药害。

表 1 盐酸黄连素对蚜虫的拒食作用

Table 1 Antifeeding of berberine hydrochloride on the aphid

(1996-09)

浓度 ^① (%)		24 h			48 h			72 h		
		栖息虫数 ^②	栖息率 ^③	拒食效果 ^④	栖息虫数	栖息率	拒食效果	栖息虫数	栖息率	拒食效果
		(头)	(%)	(%)	(头)	(%)	(%)	(头)	(%)	(%)
1	处理 ^⑤	8.50	20.61	74.04	10.50	21.00	73.42	13.50	22.13	71.58
	对照 ^⑥	32.75	79.39		39.50	79.00		47.50	77.87	
0.5	处理	11.50	30.07	57.00	13.00	32.91	50.95	18.25	35.78	44.29
	对照	26.75	69.93		26.50	67.09		32.75	64.22	
0.25	处理	16.25	38.24	38.08	22.00	40.55	31.79	34.25	43.08	24.31
	对照	26.25	61.76		32.25	59.45		45.25	56.92	
0.1	处理	23.00	46.23	14.04	26.25	46.88	11.75	34.25	48.93	4.19
	对照	26.75	53.77		29.75	53.12		35.75	51.07	

注：表内数据系 4 次重复的统计结果 (The results were based on the data from four replicates). ①Concentration; ②Number of landing; ③Landing %; ④Antifeeding activity; ⑤Treatment; ⑥Control

表 2 盐酸黄连素对蚜虫的触杀作用

Table 2 Contact toxicity of berberine hydrochloride on the aphid

(1996-08)

浓度 (%)		1	0.5	0.25	0.1	CK (95% ethanol)
Concentration						
24 h	供试虫数 ^①	40	40	40	40	40
	死虫数 ^②	20	14	9	8	1
	死亡率 ^③	50.0	35.0	22.5	20.0	2.5
48 h	校正死亡率 ^④	48.7	33.3	20.5	17.9	-
	死虫数	24	19	13	11	2
	死亡率	60.0	47.5	32.5	27.5	5.0
72 h	校正死亡率	57.9	44.7	28.9	23.7	-
	死虫数	32	24	22	17	3
	死亡率	80.0	60.0	55.0	42.5	7.5
96 h	校正死亡率	78.4	56.8	51.3	37.8	-
	死虫数	37	29	26	21	5
	死亡率	92.5	72.5	65.0	52.5	12.5
120 h	校正死亡率	91.4	68.6	60.0	45.7	-
	死虫数	38	34	29	25	7
	死亡率	95.0	85.0	72.5	62.5	17.5
	校正死亡率	93.9	81.8	66.7	54.5	-

①Number of tested aphid; ②Number of dead aphid; ③Mortality; ④Adjusted mortality

2.2.2 盐酸黄连素对蚜虫的触杀毒力: 室内点滴法测定结果表明, 盐酸黄连素对蚜虫具有很强的触杀作用。0.5% 盐酸黄连素的乙醇溶液, 96 h 的死亡率为 72.5%, 校正死亡率为 68.6%, 而 1% 的浓度处理, 96 h 的死亡率高达 92.5%, 校正死亡率达 91.4%, LC_{50} 为 (2.289 ± 0.0215) g/L, 回归方程为 $Y = 7.712 + 1.027X$, 相关系数 $r = 0.958$, 达显著水平 (表 2)。从致死时间看, 盐酸黄连素的 LT_{50} 以 1% 的浓度处理 29.104 h 为最短, 且随盐酸黄连素的浓度梯度而呈现有规律的变化, 浓度越高, LT_{50} 越短, 反之, LT_{50} 就长 (表 3)。

表 3 不同浓度的盐酸黄连素对蚜虫的 LT_{50} (h)

Table 3 LT_{50} of different concentration of the berberine hydrochloride on the aphid

浓度 (%)	LT_{50} (h)	回归方程 (Y)	相关系数 (r)
Concentration		Regression equation	Coefficient of correlation
1	29.104	$Y = 4.476 + 0.018X$	0.985 * *
0.5	57.457	$Y = 4.211 + 0.014X$	0.997 * *
0.25	81.746	$Y = 3.875 + 0.014X$	0.977 * *
0.1	107.422	$Y = 3.815 + 0.011X$	0.992 * *

* * 相关极显著 (Very significant)

3 讨论

在化学农药的抗药性, 环境污染、伤害天敌等问题日益严重, 且采用传统的人工合成药物盲目筛选新药已十分困难的今天, 从天然药物中分离出具有生物活性的成分和结构, 并以它作为新药合成的起始和原型 (Prototype), 以便获得防效更高, 毒副作用更小, 生物利用度更为理想的新药, 在农药的理论与生产应用方面都具有很高的科学价值和生态学意义。

据朱振东等^[5]报道, 黄连素在黄连须根, 地上部分的含量均在 1% 以上, 仅须根黄连素的含量达 1.95%, 须根占黄连整株的 50%, 而在医药上则只用主根。另外, 黄连素的生物来源广泛, Philongene 等报道了九个科的多种植物含黄连素^[10]。黄连素也能人工合成, 对人畜无毒, 在自然界无残留^[11]。因此, 该研究不仅对于充分开发利用黄连资源具有重要的经济学意义, 同时还充分显示出将其直接用于生产实践防治蔬菜、烟草等作物的蚜虫以及控制病毒病的发生与危害的广阔前景。

参 考 文 献 (References)

- 1 周金黄等. 中药药理学. 上海: 上海科技出版社, 1986, 99~107
- 2 Amin A H *et al.* Berberine sulfate: antimicrobial activity, bioassay, and mode of action. *Can. J. Microbiol.*, 1969, (15): 1 067~1 076
- 3 Mahajan V M *et al.* Antimycotic activity of berberine sulfate: an alkaloid for an Indian medical herb. *Sabouraudia*, 1982, (20): 79~81
- 4 Eberhard V *et al.* Control of phytophthora infestans with berberine. *C. A.*, 1985 (107): 72 874
- 5 朱振东等. 黄连生物碱对植物病原菌的抑制作用及其应用的初步研究. *华中农业大学学报*, 1991, 10 (4): 342~346
- 6 冀春茹等. 中药化学实验技术与实验. 郑州: 河南科技出版社, 1986. 232

- 7 徐礼麟等. 中草药有效成份分析法. 北京: 人民卫生出版社, 1985, 37~52
- 8 张钟宁等. 蓼二醛对蚜虫的拒食活性. 昆虫学报, 1993, 36 (3): 172~176
- 9 华南农业大学. 植物化学保护. 北京: 农业出版社, 1992. 498
- 10 Philogene B J *et al.* Berberine: a naturally occurring phototoxic alkaloid. *Journal Chemical Ecology*, 1984, (40): 115~123
- 11 李正化等. 药物化学. 北京: 人民卫生出版社, 1987, 241~24

BIOACTIVITY OF BERBERINE HYDROCHLORIDE TO *BREVICORYNE BRASSICAE* (L.)

Li Ming Zeng Xi Ji Xiangbiao Xiong Jiwen Kang Jichuan
(Institute of Entomology, Guizhou University, Guiyang 550025)

Abstract Berberine is one of the alkloids in *Coptis chinensis* Franch. Berberine hydrochloride was extracted from fresh roots of *Coptis chinensis* from Huaxi, Guiyang. The extract was crystalized and the content was measured with spectrophotometer. The crystalized product contains 91% berberine hydrochloride. The percentage of berberine hydrochloride in the *Coptis chinensis* is 11.56%. The result of bioassay in laboratory showed that berberine hydrochloride has very strong contact toxicity and relatively good antifeeding activity to *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus). 1% berberine hydrochloride solution of ethanol was prepared and used to treat the aphid typically. After 96 hours, mortality rate was 92.5%. Its rectified mortality and LC_{50} were 91.4% and (2.289 ± 0.0215) g/L respectively. The regression equation is $Y = 7.712 + 1.027X$. The coefficient of correlation is 0.958, reaching to the significance level. 1% berberine hydrochloride solution of ethanol was also used to treat cabbage leaves. Aphids were subsequently introduced on them. After 24 hours, the landing rate of aphids on the treated and control leave surfaces were 20.6% and 79.4% respectively. The antifeeding effect was 74.04%, $AFC_{50} = (4.055 \pm 0.0215)$ g/L. The regression equation is $Y = 9.115 + 1.719X$. Coefficient of correlation is 0.998, at very significance level.

Key words *Coptis chinensis*, berberine hydrochloride, *Brevicoryne brassicae*, contact toxicity, antifeeding activity