

石蒜总生物碱对家蝇的生物活性

向玉勇, 汪建建

(滁州学院生物与食品工程学院, 安徽滁州 239012)

摘要:在室内测定了石蒜总生物碱对家蝇的生物活性,表明石蒜总生物碱对家蝇具有一定的触杀作用和生长发育抑制作用。石蒜总生物碱不同浓度(15、12.9、6.3 mg/mL)、不同作用时间(24 h、36 h、48 h、60 h、72 h)以及它们的交互作用分别对家蝇幼虫和成虫的触杀作用有显著影响。当石蒜总生物碱的浓度为 15 mg/mL 时,家蝇幼虫(3龄早期)和成虫(羽化 3 d)平均校正死亡率最高,分别为 40.96% 和 38.25%,随着浓度的降低,触杀作用逐渐降低,随着作用时间的延长,触杀作用逐渐增强,72 h 的平均校正死亡率分别达 39.35% 和 37.55%,但总生物碱对家蝇幼虫和成虫的触杀作用间无显著差异。处理 24、36、48、60、72 h 后,石蒜总生物碱对家蝇幼虫的 LC_{50} 值分别为 57.42、36.48、21.92、13.13 和 10.95 mg/mL,对成虫的 LC_{50} 值分别为 86.66、37.86、23.91、14.15 和 11.51 mg/mL。老熟幼虫的平均重量除了在 3 mg/mL 时与对照差异不显著,其他各浓度下都显著低于对照,而在各浓度下的化蛹率、蛹的平均重量和羽化率均显著低于对照。

关键词: 石蒜;总生物碱;家蝇;触杀作用;抑制作用

中图分类号: Q949.96 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7083(2012)05-0813-04

Bioactivity of Total Alkaloids Extracted from *Lycoris radiate* against Housefly

XIANG Yu-yong, WANG Jian-jian

(School of Biology and Food Engineering, Chuzhou University, Chuzhou, Anhui Province 239012, China)

Abstract: Bioactivity of total alkaloids extracted from *Lycoris radiate* against housefly *Musca domestica* was determined in the laboratory. Results showed that total alkaloids had certain contact toxicity against larvae and adults of *M. domestica*, and also inhibit its growth and development. The contact toxicity was significantly related with alkaloids dosages (15, 12, 9, 6, 3 mg/mL), treated time (24 h, 36 h, 48 h, 60 h, 72 h) and their interaction. The highest mortality occurred at the dosage 15 mg/mL, which was 40.96% and 38.25% in larvae (early third instar) and adults (3 d after eclosion), respectively; at 72 h after treatment, the mean contact mortality in larvae and adults reached 39.35% and 37.55%, respectively. The contact toxicity did not differ significantly between housefly larval and adult stages. At 24, 36, 48, 60 and 72 h after treatment, the LC_{50} value for larvae was 57.42, 36.48, 21.92, 13.13 and 10.95 mg/mL separately, and for adult 86.66, 37.86, 23.91, 14.15 and 11.51 mg/mL, respectively. After treated at third instar larvae, the larval weight at mature did not change significantly at the treatment 3 mg/mL, but was significantly reduced at other dosages as compared with the control. Pupation rate, pupal weight and eclosion rate were all significantly lower than that of control at each dosage.

Key words: *Lycoris radiate*; total alkaloids; housefly; contact toxicity; inhibiting effect

家蝇 *Musca domestica* 属双翅目蝇科家蝇亚科家蝇属,是一种分布极广的卫生害虫,是菌痢、霍乱等肠道传染病的重要传播媒介。有效地防治家蝇,对于控制许多重要疾病的传播,保证人类健康具有重要意义。我国目前对家蝇的防治仍然是以化学防治作为主要手段。由于家蝇繁殖快、数量大、分布广、对环境的适应能力强,人们长期过量使用化学杀虫剂,导致家蝇对多种杀虫剂产生了抗药性,防治效果

越来越差(麻毅等,2004;杜俊等,2008;王学军等,2008;向玉勇等,2012)。由于家蝇抗药性的增强,要想进一步防治家蝇,就需加大施药剂量,这样就会导致抗药性的进一步发展、污染环境和危害人们健康。因此,高效、低毒、低残留、低抗性的新型药剂的开发及利用显得越发重要。

从植物中提取高效低毒活性成分用于防治害虫,具有选择性强、作用方式独特、对天敌和人畜毒

收稿日期:2012-03-29 接受日期:2012-05-03 基金项目:安徽省高等学校优秀青年人才基金项目(2009SQRZ147);滁州学院博士科研启动基金(2007-08);滁州学院大学生科研项目(2010xs053)

作者简介:向玉勇(1974~),男,苗族,博士,副教授,从事昆虫化学生态学及害虫防治研究, E-mail: xyy10657@sohu.com

性低、与环境和谐度高、在自然环境下易分解以及害虫不易产生抗药性等诸多优点,已成为害虫防治的一个热点(马志卿,张兴,2003;王小芳,2009)。石蒜 *Lycoris radiate* (L. Herit.) Herb, 又称老鸦蒜、龙爪花、蟑螂花、独蒜,为石蒜科石蒜属植物,多年生草本,生于山地阴湿处、林缘、路旁或溪谷沟边、石缝之间,在我国分布于安徽、山东、河南、江苏、浙江、江西、广东、广西等省区(吴彦等,2007)。其生物活性成分较多,特别是生物碱类。这些生物碱不仅具有抗炎、抗菌、抗癌作用,还具有抑制胆碱酯酶和兴奋神经肌肉作用,在医学上被用于心血管疾病及老年痴呆症的治疗(秦卫华,周守标,2003;邓传良,周坚,2004)。目前,对石蒜生物碱的开发研究主要集中在单一的生物碱的提取分离、含量测定及药理作用等方面(范华均等,2006;范华均,栾伟,2006;王德强,2008),而有关其总生物碱对害虫生物活性的研究则未见报道。本试验对石蒜总生物碱进行了提取分离,研究了石蒜总生物碱对家蝇的生物活性,以期为进一步开发石蒜杀虫剂提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试植物

供试植物石蒜采集于滁州市琅琊山。

1.2 供试昆虫

在滁州市辖区内垃圾处理场等家蝇孳生场所,用捕虫网采集家蝇成虫带回实验室放入养虫笼中(20 cm × 20 cm × 20 cm)饲养。在养虫笼中放入 2 个直径 6 cm 培养皿,一个培养皿中放入吸足红糖水和全脂奶粉(红糖:全脂奶粉:水 = 5:1:50)的棉球,作为饲料盘供其取食,每天更换新鲜的棉球,保持有足够的养分供家蝇吮吸;另一个培养皿中放入含水量约 70% 的麦麸,作为产卵盘供其产卵。将养虫笼放入人工气候箱中(温度为 25℃ ± 1℃,相对湿度 70% ± 10%,光照 L:D = 14 h:10 h)培养。每天定期观察和更换产卵盘,将成虫所产卵块挑出,置于装有幼虫饲料(麦麸:玉米粉:全脂奶粉 = 5:2:3,含水量约 70%,5 cm 厚)的罐头瓶(600 mL)中孵化。选择个体大小一致、健康、活泼的虫作为供试虫。

1.3 试验方法

1.3.1 石蒜总生物碱的提取 将石蒜鳞茎用自来水洗干净,阴干后置于 60℃ 精密烘箱中烘干,用粉碎机粉碎过 60 目筛,制成干粉。称取 30 g 干物质置于烧瓶中,加入 600 mL 95% 乙醇超声波处理 15

min,80℃ 热水回流 2 次,每次 2 h,趁热过滤得到淡黄色液体,合并提取液,经旋转蒸发器减压浓缩回收乙醇,所得浸膏用 2% 盐酸溶解,酸性滤液用石油醚脱脂后加浓氨水调 pH 值至 8~9,然后加氯仿萃取数次,直至无生物碱反应为止(碘-碘化钾试剂检验呈阴性),合并萃取液蒸去氯仿得粘稠浸膏,45℃ 烘干后所得白色粉末即为总生物碱,称重,用丙酮配置成 0.1 g/mL 的原液,放入冰箱中保存。

1.3.2 总生物碱溶液的配制 用丙酮将总生物碱原液配置成 15、12、9、6 和 3 mg/mL 共 5 个浓度的待测溶液备用。

1.3.3 总生物碱对家蝇幼虫的触杀作用试验 采用药膜法。取各浓度的待测溶液 2 mL 分别放入 5 个 100 mL 小烧杯中,转动小烧杯使溶液在烧杯壁形成均匀的药膜,每个烧杯中放入 20 头 3 龄早期幼虫任其在杯中爬行 2 h,然后转入到装有清洁饲料的烧杯中(杯口用纱网扎紧),放在人工气候箱中继续饲养(温度为 25℃ ± 1℃,相对湿度 70% ± 10%,光照 L:D = 14 h:10 h,下同),于 24 h、36 h、48 h、60 h、72 h 各检查一次幼虫的死亡情况,并以丙酮作对照。试验重复 3 次。计算死亡率(并以 Abbott 公式校正)、以机率值分析法求毒力回归方程及 LC₅₀。

1.3.4 总生物碱对家蝇成虫的触杀试验 采用微量滴定法。将羽化后 3 d 的供试成蝇放入冰箱内冷冻 1~2 min 左右,麻痹后立即取出,倒入培养皿内,用微量进样器将药液点滴于家蝇的中胸背板上(2 μL/头)。先用丙酮点滴对照组,然后用不同浓度的药剂处理测试组,由低浓度向高浓度点滴。每个浓度点滴 20 头家蝇。滴完药剂的家蝇投放在相同浓度组的罐头瓶内,瓶口用纱布扎紧,然后放入人工气候箱中继续饲养。分别于 24 h、36 h、48 h、60 h、72 h 后观察并记录死亡数(以腹部上翻,六足抽缩不能爬行作为死亡标准)。试验重复 3 次。计算死亡率(并以 Abbott 公式校正)、以机率值分析法求毒力回归方程及 LC₅₀。

1.3.5 总生物碱对家蝇生长发育的抑制试验 将各浓度的生物碱溶液按 1:100 的比例加到家蝇幼虫饲料中,在 500 mL 烧杯中装入适量处理过的饲料,每个烧杯中接入 3 龄早期幼虫 100 头,烧杯口用纱布扎紧,然后置于人工气候箱中饲养,24 h 后装入正常饲料饲养,每 12 h 检查一次幼虫的发育情况,幼虫老熟后称量体重,化蛹后称量蛹量,直至成虫死亡,计算化蛹率和羽化率。以丙酮作对照。试验重

复 3 次。

1.4 数据处理

试验数据均利用 SPSS 11.5 程序进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 总生物碱对家蝇的触杀作用

触杀试验结果见图,从图中可以看出,石蒜总生物碱 5 种浓度的溶液对家蝇幼虫和成虫均表现出一定的触杀作用。通过方差分析发现(表 1),总生物碱不同浓度对家蝇幼虫和成虫的 *P* 值均小于 0.05,说明生物碱不同浓度分别对家蝇幼虫和成虫的触杀

作用有显著差异,在 15 mg/mL 时的平均校正死亡率最高,分别为 40.96% 和 38.25%,随着总生物碱浓度的降低,对家蝇幼虫和成虫的触杀作用逐渐降低,3 mg/mL 时的平均校正死亡率最低,分别为 7.59% 和 7.02%;总生物碱不同作用时间的 *P* 值均小于 0.05,说明不同作用时间对家蝇幼虫和成虫的触杀作用也有显著差异,随着作用时间的延长,触杀作用逐渐增强,72 h 的平均校正死亡率分别达 39.35% 和 37.55%;浓度和作用时间交互作用的 *P* 值也均小于 0.05,说明总生物碱浓度和作用时间的交互作用对家蝇幼虫和成虫的触杀作用也有显著影响。

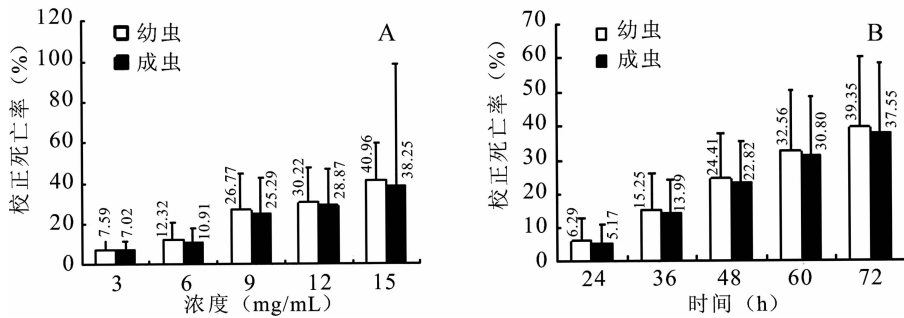


图 石蒜总生物碱对家蝇的触杀作用
 Fig. The contact toxicity of total alkaloids extracted from *Lycoris radiate* against housefly
 A. 不同浓度下的触杀作用, B. 不同作用时间的触杀作用
 A. Contact toxicity at different dosages, B. Contact toxicity at different time after treatment

表 1 石蒜总生物碱对家蝇触杀作用的方差分析
 Table 1 Analysis of variance on the contact toxicity of total alkaloids extracted from *Lycoris radiate* against housefly

虫态	方差来源	SS	DF	MS	F	Sig.
幼虫	SS _A	11 078.64	4	2769.66	546.52	0.00*
	SS _B	10 485.18	4	2621.29	517.25	0.00*
	SS _A * SS _B	2067.31	16	129.21	25.50	0.00*
	SS _e	253.39	50	5.07		
	SS _T	23 884.51	74			
成虫	SS _A	10 046.30	4	2511.58	962.97	0.00*
	SS _B	10 011.79	4	2502.95	959.66	0.00*
	SS _A * SS _B	2113.24	16	132.08	50.64	0.00*
	SS _e	130.41	50	2.61		
	SS _T	22 301.75	74			

把石蒜总生物碱对家蝇幼虫和成虫的触杀作用进行比较,方差分析发现 *P* = 0.86 > 0.05 (表 2),说明石蒜总生物碱对家蝇幼虫和成虫的触杀作用之间无显著差异。

毒力测定结果显示(表 3),处理 24 h、36 h、48 h、60 h、72 h 后,石蒜总生物碱对家蝇幼虫的 LC₅₀ 值分别为 57.42 mg/mL、36.48 mg/mL、21.92 mg/mL、13.13 mg/mL 和 10.95 mg/mL;对成虫的 LC₅₀ 值分别为 86.66 mg/mL、37.86 mg/mL、23.91 mg/mL、

14.15 mg/mL 和 11.51 mg/mL。这说明随着时间的延长,总生物碱的毒力在增强。

2.2 总生物碱对家蝇生长发育的影响

从表 4 可以看出,石蒜总生物碱 5 种浓度的溶液对家蝇的生长发育均表现出一定的抑制作用。老熟幼虫的平均重量随着总生物碱浓度的增加而下降,除了在 3 mg/mL 的浓度下,老熟幼虫的平均重量与对照差异不显著,其它各浓度下均显著低于对照,其中在 15 mg/mL 时最低,比对照下降了 13.40 mg;在总生物碱各浓度溶液的处理下,家蝇的化蛹率、蛹平均重量和羽化率均显著低于对照,并且随着总生物碱浓度的增加而下降,在 15 mg/mL 时的化蛹率、蛹平均重量和羽化率最低,分别比对照下降了 51.09%、14.13 mg 和 50.86%。

表 2 石蒜总生物碱对家蝇幼虫和成虫的触杀作用比较的方差分析
 Table 2 Analysis of variance on comparison of the contact toxicity of total alkaloids extracted from *Lycoris radiate* against the larva and adults of housefly

方差来源	SS	DF	MS	F	Sig.
Between groups	5.67	1	5.67	0.03	0.86
Within groups	1365.66	8	170.71		
Total	1371.33	9			

表 3 石蒜总生物碱对家蝇的毒力测定
Table 3 Toxicity test of the contact toxicity of total alkaloids extracted from *Lycoris radiate* against housefly

虫态	处理时间(h)	毒力回归方程	LC ₅₀ (mg/mL)	95% 置信限	相关系数(r)	卡方(χ ²)	标准误(S _m)
幼虫	24	y = 1.9148x + 1.6316	57.42	20.0244 ~ 164.6736	0.8703	2.6626	0.2334
	36	y = 1.5401x + 2.5943	36.48	17.3220 ~ 76.8226	0.9223	2.7322	0.1650
	48	y = 1.4586x + 3.0442	21.92	13.3178 ~ 36.0837	0.9719	1.0684	0.1104
	60	y = 1.7599x + 3.0319	13.13	10.1802 ~ 16.9339	0.9741	1.5178	0.0564
	72	y = 2.2093x + 2.7040	10.95	9.1897 ~ 13.0373	0.9761	2.2728	0.0387
成虫	24	y = 1.6430x + 1.8163	86.66	18.5071 ~ 405.7744	0.8769	1.8724	0.3421
	36	y = 1.6482x + 2.3988	37.86	17.9651 ~ 79.7754	0.9376	2.1541	0.1652
	48	y = 1.4830x + 2.9555	23.91	14.0163 ~ 40.7932	0.9734	1.0270	0.1184
	60	y = 1.7684x + 2.9650	14.15	10.7808 ~ 18.5717	0.9748	1.4683	0.0603
	72	y = 2.0488x + 2.8264	11.51	9.4619 ~ 13.9908	0.9579	3.3529	0.0433

表 4 石蒜总生物碱对家蝇幼虫的重量、化蛹率、蛹重及羽化率的影响
Table 4 Influence of total alkaloids extracted from *Lycoris radiate* on larva's weight, pupation rate, pupal weight and eclosion rate of housefly

浓度(mg/mL)	老熟幼虫体重(mg)	化蛹率(%)	蛹重(mg)	羽化率(%)
15	9.6 ± 1.2 ^e	41.5 ± 3.3 ^f	6.4 ± 0.9 ^f	39.8 ± 1.6 ^f
12	12.8 ± 0.8 ^d	49.8 ± 2.1 ^e	10.0 ± 0.9 ^e	47.6 ± 1.3 ^e
9	16.1 ± 1.0 ^c	60.4 ± 3.3 ^d	13.5 ± 1.1 ^d	59.7 ± 2.9 ^d
6	18.7 ± 1.0 ^b	72.8 ± 1.9 ^c	15.7 ± 1.0 ^c	70.3 ± 1.6 ^c
3	21.6 ± 1.8 ^a	83.3 ± 1.8 ^b	18.8 ± 0.8 ^b	80.9 ± 2.7 ^b
CK	22.9 ± 1.2 ^a	92.6 ± 2.6 ^a	20.6 ± 1.1 ^a	90.6 ± 2.1 ^a

注:表中数据为平均数 ± 标准差,后面的英文字母为多重比较的结果,同一列中凡小写字母不同表示在 0.05 水平差异显著

Notes: The data in the table are mean ± SE, the letters after them are the results of multi comparison. The different letters in the same row means significant difference at 0.05 level

3 讨论

植物总生物碱杀虫活性的研究已有较多的报道(周琳等,2006;刘海峰等,2007;冯岗等,2008;刘迪等,2009)。由于不同植物中含的生物碱种类可能不一样,且对不同害虫作用方式也不同,具有明显的杀虫选择性。本研究从开发植物源杀虫剂的角度测定了石蒜总生物碱对家蝇的生物活性,结果表明石蒜总生物碱对家蝇具有一定触杀作用,其对家蝇幼虫和成虫的触杀作用之间无显著差异,但分别显著受生物碱不同浓度、不同作用时间以及它们交互作用的影响,15 mg/mL 时的平均校正死亡率最高,分别为 40.96% 和 38.25%,随着浓度的降低,触杀作用逐渐降低;随着作用时间的延长,触杀作用逐渐增强,72 h 的平均校正死亡率分别达 39.35% 和 37.55%;随着作用时间的延长,毒力也在不断增强,其深层次的原因还需进一步研究。总生物碱对家蝇的生长发育还具有一定的抑制作用,表现在幼虫体重、化蛹率、蛹重和成虫羽化率均明显降低,这必然会降低下一代家蝇虫口基数,从而抑制家蝇种群增

长。由此可见,石蒜总生物碱所具有的多种作用方式综合发挥作用必将有效地控制家蝇的危害,在害虫防治上具有较好的应用前景。

4 参考文献

邓传良,周坚. 2004. 石蒜属植物生物碱研究概况[J]. 中国野生植物资源, 23(6): 13~14.

杜俊,唐慧明,赵华,等. 2008. 家蝇对常用杀虫剂抗性状况及防治对策的研究[J]. 中华卫生杀虫药械, 14(4): 272~274.

范华均,栾伟. 2006. 微波辅助提取/HPLC 分析石蒜中的生物碱[J]. 分析测试学报, 25(3): 27~30.

范华均,肖小华,刘玉竹,等. 2006. 微波辐射溶剂回流法提取石蒜中石蒜碱、力可拉敏和加兰他敏[J]. 中山大学学报(自然科学版), 45(3): 46~49.

冯岗,张静,李修伟,等. 2008. 小果博落回生物碱对几种农业害虫的生物活性[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 34(2): 187~192.

刘迪,吴卫,李冠. 2009. 白喉乌头总生物碱抑菌杀虫活性的初步研究[J]. 新疆农业科学, 46(3): 620~624.

刘海峰,全炳武,田官荣,等. 2007. 几种长白山有毒植物提取的生物碱杀虫活性[J]. 农药, 46(1): 55~57.

麻毅,姜志宽,韩招久. 2004. 我国家蝇抗药性的现状及防治对策分析[J]. 中华卫生杀虫药械, 10(5): 277~280.

马志卿,张兴. 2003. 植物源杀虫物质的作用特点[J]. 植物保护, 26(2): 37~39.

秦卫华,周守标. 2003. 石蒜药用价值[J]. 植物杂志, (3): 28.

王德强. 2008. 石蒜中生物碱的提取条件优化[J]. 食品与生物技术学报, 27(6): 53~56.

王小芳. 2009. 植物源杀虫剂的研究进展[J]. 广州化工, 37(8): 42~45.

王学军,霍新北,宫学诗,等. 2008. 家蝇对化学杀虫剂抗药性及抗性自然衰减趋势[J]. 中国公共卫生, 24(11): 1330~1331.

吴彦,周守标,王安. 2007. 石蒜中总生物碱提取条件研究[J]. 生物学杂志, 24(1): 61~62.

向玉勇,程凯,周书芹,等. 2012. 滁州市家蝇对 6 种杀虫剂的抗药性调查[J]. 四川动物, 31(1): 113~115.

周琳,冯俊涛,马志卿,等. 2006. 雷公藤总生物碱对粘虫的生物活性[J]. 植物保护学报, 33(4): 401~406.