

MFV
4471

BERICHTEN VAN DE AFDELING TROPISCHE PRODUCTEN
VAN HET

KONINKLIJK INSTITUUT VOOR DE TROPEN

(TROPICAL PRODUCTS DEPARTMENT OF THE
ROYAL TROPICAL INSTITUTE)

No. 268

20 JAN 1960
THE HOLLAND-INDONESIA BOARD

SAMENSTELLING EN EIGENSCHAPPEN VAN
ROTENON-HOUDENDE MUNDULEA-BAST

(Composition and properties of rotenone-containing Mundulea-bark)

DOOR

ir. W. Spoon en dr. F. E. Loosjes

Overgedrukt uit:

"Tijdschrift over Planteziekten" 65e jaargang, 1959, afl. 3, blz. 79



Aanplant van *Mundulea sericea* in de Cultuurtuin te Bogor, Java, 15 maanden oud en ongeveer 2 meter hoog (1949) (Cliché bruikleen Uitgeverij W. VAN HOEVE, 's-Gravenhage).

Plat of Mundulea sericea in the Experimental garden of the Agricultural Institute at Bogor, Java, 15 months old and about 2 m high (1949).

SAMENSTELLING EN EIGENSCHAPPEN
VAN ROTENON-HOUDENDE *MUNDULEA*-BAST^{1, 2}

*With a summary: Composition and properties of rotenone containing
Mundulea bark*

DOOR

W. SPOON en F. E. LOOSJES

Koninklijk Instituut voor de Tropen, Amsterdam
en Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen

INLEIDING

Mundulea sericea (WILLD.) CHEVALIER (synoniem *M. suberosa* BENTH.) komt voor in tropisch Afrika, op het eiland Madagascar, in India en op Ceylon (HOLMAN, 1940, MEYER, 1947); in latere jaren is dit gewas ook overgebracht naar Indonesië (TOXOPEUS, 1950). De plant behoort tot de familie der *Leguminosae* en heeft dus o.a. betekenis als groenbemester. Al naar de uiterlijke omstandigheden ontwikkelt de plant zich tot een struik of tot een boom. Op open vlakten (b.v. savannen) blijft de plant struikvormig (verg. de foto), in een gesloten aanplant daarentegen groeit de plant op tot een kleine boom. Zij kan dus als schaduwbom in een aanplant van b.v. koffie worden gebezigd.

Bij de bevolking is bekend, dat de wortels, bast en zaden zeer werkzaam zijn als visvergif. De bestudering van deze werking heeft aangetoond, dat zij berust op de aanwezigheid van rotenon en daaraan verwante z.g. rotenoïde verbindingen. Rotenon-houdende middelen, bereid uit *Derris*-wortel en uit *Lonchocarpus*-wortel, nemen bij de bestrijding van insecten in land- en tuinbouw een bescheiden, maar toch blijvende plaats in vanwege hun betrekkelijke onschadelijkheid voor de mens en hogere dieren, maar tevens vanwege het ontbreken van een giftig residu op de behandelde gewassen. In de meeste landen en ook in ons land is er tussen de bestuiving of bespuiting en de oogst van consumptiegewassen dan ook geen verplichte wachttijd voor deze middelen. Het is jammer, dat deze zeer gunstige eigenschap door de belanghebbenden niet altijd voldoende wordt gewaardeerd; men hecht meestal meer waarde aan de volledige vernietiging van de te bestrijden insecten, zoals de meeste synthetische middelen dat doen. Intussen gaat de moderne overweging, dat men in bepaalde gevallen, als het niet anders kan, slechts de overmaat van de schadelijke insecten met chemische middelen moet opruimen en de rest moet overlaten aan de natuurlijke vijanden, veld winnen. Daarmede valt de aandacht weer meer op misschien wat minder rigoureuze, doch zeker veiliger middelen. Resistentie, opgetreden na vele behandelingen met rotenon, is slechts in enkele gevallen bekend. Zo gezien is uitbreiding van de grondstoffen voor rotenon-houdende produkten dus zeker welkom.

De bast van *Mundulea* kan in veel grotere hoeveelheid worden geoogst dan het zaad en de wortel, zodat het onderzoek zich vooral op de bast heeft gericht.

¹ Aangenomen voor publikatie 23 april 1959.

² Tevens Bericht van de afdeling Tropische Producten van het Koninklijk Instituut voor de Tropen, Amsterdam, no. 268.

Hierbij is gebleken, dat de bast naast rotenon en aanverwante stoffen ook andere bestanddelen met een giftige werking bevat, waaronder vermoedelijk saponinen de belangrijkste zijn. Door de ontvangst van voldoende bastmateriaal waren wij in de gelegenheid zelf onderzoek te doen, zowel over de samenstelling als over de biologische werkzaamheid (SPOON, 1958).

MATERIAAL EN METHODEN

Voor ons onderzoek beschikten wij over materiaal van Java (Indonesië) en uit Nigeria (West-Afrika).

Java. Dit materiaal was afkomstig uit een koffie-aanplant in Oost-Java, die was opgezet met *Mundulea* als hulpschaduw. Na enige jaren moest deze worden uitgedund, waarbij de drie tot vier jaren oude boompjes werden verwijderd. Hiervan werd de bast van takken en stam afzonderlijk verzameld en na droging opgezonden; het hout werd als brandhout verwerkt.

Wij ontvingen de bast in de vorm van opgerolde reepjes. De takbast (T.P.¹ no. 2668-1) was gemiddeld 0,65 mm dik, de stambast (T.P. no. 2668-2) was gemiddeld 1,1 mm dik; de lengte der bastrepen bedroeg bij de takbast ongeveer 20 cm, bij de stambast 30 cm. De bast, zowel van tak als van stam, was glad en zonder een opvallende kurklaag.

Nigeria. Dit materiaal ontvingen wij door bemiddeling van Dr. Ir. K. EBES, die verbonden was geweest aan het University College te Ibadan. Het was afkomstig uit een der proeftuinen en genomen van ongeveer vier jaar oude boompjes, die 15 cm (6 inch) boven de grond op „stump” waren gekapt. De bast van takken en stam was door elkaar gedroogd en vermalen, het poeder was in blik verzonden (T.P. no. 2769). Het begin van de regentijd wordt het gunstigste tijdstip voor de oogst genoemd: de boom vormt dan nieuwe uitlopers en het cambium is actief, waardoor de bast gemakkelijk kan worden geoogst. De „stump” of stronk loopt weldra uit en na twee tot drie jaar heeft deze zich volledig hersteld tot een nieuw boompje. Medegedeeld werd, dat de bast uit deze aanplant ruw van oppervlak is met een uitgesproken kurklaag.

Bij het vermalen van de bastreepjes met een molen met slagkruissysteem bleek het noodzakelijk het toerental zeer hoog op te voeren, om de voor rotenonhoudende spuit- en stuifpoeders verlangde fijnheid te verkrijgen (Bestrijdingsmiddelenbesluit, 1948). Het verliep dus minder gemakkelijk dan bij *Derris*- en *Lonchocarpus*-wortel. Het University College deelde ons mede, dat men in Nigeria de bast eerst in de zon droogt, daarna verkleint tot stukjes van $\frac{1}{2}$ tot 1 inch (ongeveer 2 cm gemiddeld) en die vervolgens in een oven bij 60°C droogt tot ze knappend aanvoelen, in welke toestand ze zich goed laten vermalen. Toch moesten wij constateren, dat het ontvangen poeder nog te grof was en nogmaals gemalen moest worden om tot de verlangde graad van fijnheid te geraken.

Overigens lijkt ons het drogen van rotenonhoudende grondstoffen bij 60°C bezwaarlijk. Zo is bekend, dat bij het kunstmatig drogen van *Derris*-wortel de temperatuur niet boven 50°C mag stijgen, omdat anders gevaar bestaat op verlies van werkzame bestanddelen (KOOLHAAS, 1935).

¹ T.P. = tropische produkten.

Poeders van de voorgeschreven fijnheid blijken een volumegegewicht te hebben van 0,48. *Mundulea*-bastpoeder is dus nog vrij wat lichter dan *Derris*- of *Lonchocarpus*-wortelpoeder, waarvan het volumegegewicht gemiddeld 0,56 bedraagt.

SCHEIKUNDIG ONDERZOEK

Bij het scheikundig onderzoek bleek de methode, in gebruik voor het onderzoek van *Derris*- en *Lonchocarpus*-poeder, de beste resultaten te geven (ROWAAN & SESSELER, 1941). Deze omvat extractie met chloroform (of ether), overbrenging van het extract in tetrachloorkoolstof en afscheiding van rotenon als de tetrachloorkoolstof-verbinding. Eventueel kan het zo verkregen ruwe rotenon nog met ethanol in zuiver rotenon worden omgezet.

In tabel 1 hebben wij de analyses van onze *Mundulea*-monsters bijeengebracht. Er blijken verschillen te zijn tussen de monsters van Java en het monster van Nigeria. In de Java-monsters is rotenon te bepalen, bij het Nigeria-monster vindt geen afscheiding van rotenon plaats. Aan de andere kant levert het Nigeria-poeder een veel hoger extract op dan het Java-materiaal. Dit laatste brengt het tot gemiddeld 4 % extract, of berekend op de watervrije stof 4,4 % tegenover 9,5 % bij het Nigeria-materiaal. Het extract van het Java-materiaal bestaat voor de helft uit onzuiver rotenon; na zuiveren bedraagt dit iets minder dan een vierde deel van het extract.

TABEL 1. Samenstelling van *Mundulea*-bast in %
Composition of Mundulea bark

T.P. no. Omschrijving	2668-1b Java, tak-bast/ <i>bark of branches</i>	2668-2a Java, stam-bast/ <i>bark of stem</i>	2769a Nigeria, bastpoeder/ <i>powdered bark</i>	 T.P. no. Description
vocht	9,2	8,9	5,9	<i>moisture</i>
extract	4,1	3,9	8,9	<i>total extracts</i>
rotenon, ruw	2,2	1,8	—	<i>rotenone, crude</i>
in % v.h. extract	53	47	—	<i>in % of the extract</i>
rotenon, zuiver	1,0	0,8	—	<i>rotenone, pure</i>
in % v.h. extract	24	21	—	<i>in % of the extract</i>
as	3,9	5,1	6,9	<i>ash</i>
ruw zand	—	—	0,4	<i>silica</i>

BESPREKING VAN HET SCHEIKUNDIG ONDERZOEK

Bovengenoemde verschillen in samenstelling van de bast zijn ook in de literatuur beschreven en onwillekeurig brengt men deze in verband met het karakter van de bast, d.w.z. glad dan wel met een duidelijke kurklaag. Toen we deze kwestie met Dr. EBES bespraken, kon deze ons uit zijn ervaring in Nigeria en ter toelichting van het door het University College gezonden materiaal het volgende mededelen. Dit materiaal (T.P. no. 2769) was afkomstig van een zaaisel van een boom uit de buurt van Ibadan, die een uitgesproken kurklaag aan de voet van de stam had ontwikkeld. Dit type heeft zich o.a. in de savanne van Noord-Nigeria ontwikkeld en is gekenmerkt door een dikke kurklaag aan de voet van de stam, die geleidelijk afneemt tot circa 60 cm hoogte; de bast van de rest van de stam en takken is glad. Daarentegen komt in Oost-Afrika een type voor met

een geheel gladde bast, waarvan materiaal op Java is ingevoerd. Dr. EBES is dan ook van mening, dat het hier gaat om twee variëteiten of twee ondersoorten van *Mundulea sericea* en dat de synoniemen, door ons in de inleiding vermeld, nl. *sericea* en *suberosa*, wel overeenstemmen wat de kenmerken van bloem en blad betreft, maar niet met de verdere eigenschappen, in dit geval het karakter en de samenstelling van de bast. Immers, „*sericea*” betekent zijdeachtig en „*suberosa*” betekent kurkachtig. De variëteit of ondersoort met gladde bast behoort dan als *M. sericea* aangeduid te worden, die met een uitgesproken kurkhoudende bast als *M. sericea* variëteit *suberosa*.

Verschillen in gehalten aan extract en rotenon zoals gevonden zijn tussen de gladde en kurkhoudende *Mundulea*-bast, zijn ook van de *Derris*-wortel bekend (SPOON & TOXOPEUS, 1950). Maar hier betreft het twee botanische soorten, nl. *Derris elliptica* en *D. malaccensis*, waarvan de wortels soortgelijke verschillen bij de analyse opleveren als nu bij de twee typen *Mundulea*-bast werd geconstateerd. Dit bevestigt, dat ook de verschillen bij *Mundulea* kunnen samenhangen met het bestaan van twee variëteiten of typen binnen de soort of mogelijk zelfs van twee soorten. De handel gebruikt het rotenongehalte en niet het extract-gehalte als maatstaf voor de waardering. Passen wij dit toe op de onderzochte typen van *Mundulea*-bast, dan zou slechts de gladde bast in aanmerking komen voor gebruik als bestrijdingsmiddel.

BIOLOGISCH ONDERZOEK

Om na te gaan in hoeverre de bovenvermelde vergelijking op zou gaan, zijn in het Insecticiden-laboratorium van de Plantenziektenkundige Dienst te Wageningen enige biologische waarnemingen verricht.

Als vergelijking is uit de verzamelingen van het Instituut voor de Tropen een monster *Derris*-poeder (T.P. no. 2701-2) gekozen met de volgende samenstelling:

vocht/moisture	9,7 %
extract	19,4 %
rotenon, ruw/ <i>crude</i>	7,2 %
rotenon, zuiver/ <i>pure</i>	6,2 %

Met dit poeder en met de beide *Mundulea*-poeders van Java zijn op basis van het luchtdroge gehalte aan zuiver rotenon enkele stuifmengsels met talk bereid (zie tabel 2).

TABEL 2. Samenstelling van stuifmengsels van *Mundulea*-poeders en *Derris*-poeder met talk
Composition of dusting mixtures of Mundulea powders and Derris powder with talcum

T.P. no.	2668-1b <i>M.</i> , takbast	2668-2a <i>M.</i> , stambast	2701-2 <i>D.</i> , wortel
Description	<i>M.</i> , bark of branches	<i>M.</i> , bark of stem	<i>D.</i> , root
rotenon 1,- %	onverdund <i>undiluted</i>	onverdund <i>undiluted</i>	1 op 5
0,5 %	1 op 1	1 op 0,6	1 op 11
0,25%	1 op 3	1 op 2,2	1 op 23
0,12%	1 op 7	1 op 5,4	1 op 47

Als gevolg van het hogere rotenon-gehalte van het *Derris*-poeder (6,2 %) moest dit veel sterker worden verdund dan de beide *Mundulea*-poeders, met als gevolg dat het aantal actieve deeltjes in de *Derris*-stuifmengsels bij opklimmen de verdunning vrij sterk achter bleef vergeleken bij de *Mundulea*-mengsels. Verder maakte het zeer lichte karakter van het *Mundulea*-poeder dat dit vooral bij het stuiven in onverdunde toestand langer bleef zweven dan de sterk talkhoudende mengsels. Met deze onvolkomenheden moet bij de beoordeling van de resultaten rekening worden gehouden.

Het monster uit Nigeria, waarin geen rotenon kon worden aangetoond, is vergeleken met het monster *Derris*-poeder op basis van het extract met chloroform. Op voorstel van Dr. EBES is het Nigeria-poeder eerst scherp afgezeefd (200 mesh) teneinde een verbetering in het gehalte te bereiken. Inderdaad steeg dit tot 13,5 % in het luchtdroge poeder. Tabel 3 geeft de grondslag voor een vergelijking van beide poeders te zien.

TABEL 3. Vergelijking van „Nigeria”- en *Derris*-poeder op basis van extract
Comparison of „Nigeria”- and Derris powder on base of extract

T.P. no. Sample no.	Omschrijving Description	Vocht Moisture	Extract	Extract op droge stof Extract on the dry base
2769-1a	Nigeria-poeder	6,0 %	13,5 %	14,4 %
2701-2	Derris-poeder	9,7 %	19,4 %	21,5 %

Volgens de laatste kolom van tabel 3 is dus de verhouding van het extract-gehalte in beide poeders, berekend op droge stof, 2 tot 3, de verdunningstabel kan dan ook luiden als vermeld in tabel 4.

TABEL 4. Verdunning van „Nigeria”-bast en *Derris*-wortel
Dilution of „Nigeria” bark and Derris root

T.P. no. Omschrijving Description	2769-1a „Nigeria”-bast „Nigeria” bark	2701-2 Derris-wortel Derris root
extract: 14,4 %	onverdund	2 op 1
7,2 %	1 op 1	1 op 2

De verdunningen bij het Nigeria-monster behoeften dus veel minder ver te gaan dan bij de Java-monsters.

Met de op deze wijze verdunde monsters zijn de volgende proeven uitgevoerd.

In de eerste plaats werden graanklanders (*Calandra granaria* L.), bonekevers (*Acanthoscelides obtectus* SAY) en *Tribolium castaneum* HBST. bestoven door middel van de laboratorium-stuifapparatuur (LOOSJES, 1956). De dieren werden na de behandeling in schone schalen overgezet. Het bleek, dat met normale doseringen (22,5 en 30 kg/ha) op deze wijze geen doding van betekenis bij deze soorten kon worden bereikt.

Betere resultaten werden verkregen met jonge ringelrupsen (*Malacosoma neustria* L.) van ca. 6 mm lang. Iedere verdunning werd in vijfvoud verstoven

op totaal 250 rupsjes. Per bestuiving werd 150 mg poedermengsel gebruikt (22,5 kg/ha); de dieren bleven in de bestoven petrischalen. Zie tabel 5A.

TABEL 5. Mortaliteit in %, na 4 en 7 dagen, van jonge ringelrupsen (*Malacosoma neustria* L.) van ca 6 mm lengte in laboratoriumproeven, waarbij iedere verdunning in vijfvoud werd verstoven op totaal 250 dieren, welke zich in petrischalen bevonden.

Mortality in % after 4 and 7 days in experiments with young larvae of Malacosoma neustria L., average length 6 mm, each dilution dusted in five fold on 250 larvae in petri-dishes.

	Verstoven doses in kg per ha Dosage in kg per ha	Perc. rotenon of extract (e) Perc. rotenon or extract (e)	Mundulea takbast bark of branches		Mundulea stambast bark of stem		„Nigeria” bast/bark		Derris- wortel/root	
			4 d.	7 d.	4 d.	7 d.	4 d.	7 d.	4 d.	7 d.
A. De rupsjes bleven na de behandeling in de besto- ven schalen. <i>The caterpillars remaining in the dishes</i>	22,5	1 0,5 0,25 0,12	42 58 52 32	91 97 97 92	68 88 73 56	96 100 99 91			88 33 42 22	100 94 88 72
B. De rupsjes na de behan- deling in schone schalen gezet. <i>The caterpillars after dust- ing transferred to clean dishes</i>	22,5	1 0,5 0,25 0,12	12 40 20 4	38 77 54 22	6 38 26 8	16 86 42 26			38 8 6 8	91 40 16 20
C. De rupsjes na de behan- deling in schone schalen gezet. <i>The caterpillars after dust- ing transferred to clean dishes</i>	30	1 0,5 0,25 0,12	23 72 36 15	100 99 97 78	44 58 66 28	95 100 100 81			91 65 22 —	100 100 90 45
D. De rupsjes bleven na de behandeling in de besto- ven schalen. <i>The caterpillars remaining in the dishes.</i>	22,5	14,4 (e) 7,2 (e)					2 7	24 30	98 93	100 100
E. De rupsjes na de behan- deling in schone schalen gezet. <i>The caterpillars after dust- ing transferred to clean dishes</i>	30	14,4 (e) 7,2 (e)					7 8	32 15	100 90	100 100
F. De rupsjes bleven na de behandeling in de besto- ven schalen. <i>The caterpillars remaining in the dishes.</i>	30	4 (e) 2 (e)	59 84	98 100	84 88	99 100	12 3	40 4	85 64	100 98

— = geen waarneming no observation

De naar verhouding geringe doding bij de *Mundulea*-poeders met 1 % rotenon menen wij toe te moeten schrijven aan het langere zweven van deze zeer lichte

poeders in onvermengde toestand. Alleen indien de bezinkingstijd zeer ruim genomen zou worden, zou mogelijk een beter resultaat worden bereikt, doch zeer lichte poeders bereiken in de praktijk hun doel meestal ook slechts zeer gedeeltelijk. Wij vergelijken in de tabel dus liever de lagere rotenon-percentages, waarbij overigens de zeer grote verdunningen van het *Derris*-poeder weer ongunstig op een vergelijking zouden kunnen werken. Bij de controle na 4 dagen blijkt *Mundulea*-stambast het beste resultaat te geven, dan komt *Mundulea*-takbast en ten slotte *Derris*-poeder. Na zeven dagen is het resultaat van de beide *Mundulea*-monsters vrijwel gelijk en wat gunstiger dan van het *Derris*-monster. Men zou zeggen, dat *Mundulea*-stambast hier wat sneller werkte dan de takbast.

Op gelijke wijze werden nog enige proeven met jonge ringelrupsen uitgevoerd, waarbij echter de dieren na de bestuiving steeds op voedsel (meidoornblad) in onbehandelde schalen of potten zijn overgezet. Zie tabel 5B.

Behoudens het feit, dat stambast en takbast ook na vier dagen ongeveer even werkzaam zijn, komen de resultaten met die van de vorige proef overeen. De doding is over de gehele proef lager, waarschijnlijk door de minder lange duur van het contact.

Wij hebben daarom nog eens gestoven met 200 mg poedermengsel per bestuiving (30 kg/ha), terwijl wederom de rupsjes na de behandeling werden overgezet. Zie tabel 5C.

In deze proef worden dus de reeds gevonden gegevens bevestigd.

Een herhaling gaf nog eens hetzelfde beeld; steeds geven de *Mundulea*-monsters de beste resultaten en meestal is het *Mundulea*-stambast monster het beste.

Het monster uit Nigeria werd op gelijke wijze verstoven, met 150 mg poeder in het stuifapparaat (22,5 kg/ha), terwijl de dieren in de bestoven schalen bleven. Voor de resultaten zie tabel 5D.

Het verschil met het *Derris*-monster is duidelijk.

Een herhaling met 200 mg (30 kg/ha) doch overzetten van de rupsjes na de behandeling, gaf het resultaat dat vermeld is in tabel 5E.

Het „Nigeria”-monster blijft dus duidelijk bij het *Derris*-monster in werkzaamheid achter.

Tot slot van deze serie stuifproeven hebben wij alle vier monsters, verdund met talk op basis van extractgehalte, op jonge ringelrupsen verstoven (200 mg), de dieren bleven in de bestoven schalen. De resultaten zijn vermeld in tabel 5F.

Deze resultaten laten zien dat ook nu weer de onverdunde *Mundulea*-tak- en stambast minder resultaat geeft dan de met talk verdunde. Ook werd weer het beste resultaat bereikt met deze *Mundulea*-typen, daarna volgt *Derris*-wortel. Dit is interessant omdat ditmaal de verdunning niet groot is, zodat daarin geen reden tot mindere werkzaamheid kan schuilen. De Nigeria-bast is wederom zeer weinig werkzaam. Het is dus wel duidelijk het rotenongehalte, dat voor een goede werkzaamheid van primair belang is.

Bij de beoordeling van tabel 5 dient men er rekening mede te houden, dat de proeven A, B, C, enz. op verschillende dagen werden genomen, onder andere omstandigheden wat temperatuur en vochtigheid betreft, zodat alleen vergelijking van de conclusies mogelijk is. Vergelijking van de afzonderlijke dodingspercentages van A en B; enz. moet daarom met de nodige voorzichtigheid geschieden.

Naast deze stuifproeven hebben wij een proef uitgevoerd, waarbij 500, 1000 en 2000 mg poedermengsel met 250 g tarwe werd gemengd (2, 4 en 8 g/kg) en deze tarwe daarna besmet werd met 100 graanklanders. Elk mengsel werd in tweevoud beproefd (experiment with 100 *Calandra granaria* on 250 g wheat mixed with 500, 1000 and 2000 mg *Mundulea* powder, i.e. 2, 4 and 8 g/kg). Zie tabel 6.

TABEL 6. Mortaliteit in % na 2 en 4 weken
Mortality in % after 2 and 4 weeks

omschrijving description	<i>Mundulea</i> -takbast M., bark of branches						<i>Mundulea</i> -stambast M., bark of stem						<i>Derris</i> -wortel D., root					
	500 mg		1000 mg		2000 mg		500 mg		1000 mg		2000 mg		500 mg		1000 mg		2000 mg	
	2w	4w	2w	4w	2w	4w	2w	4w	2w	4w	2w	4w	2w	4w	2w	4w	2w	4w
rotenon																		
1 %	31	34	39	46	23	38	19	25	18	28	25	40	53	74	65	86	76	98
0,5 %	20	24	13	16	27	36	16	21	13	22	21	32	24	29	46	65	40	84
0,25%	12	13	16	23	11	19	16	17	20	25	21	32	13	23	19	32	23	43
0,12%	7	11	9	17	9	15	8	9	12	13	18	24	12	17	10	17	24	38

Op deze wijze op graanklanders toegepast, blijkt *Derris*-wortel dus het meeste werkzaam te zijn; de *Mundulea*-monsters blijven beide ongeveer evenveel in werkzaamheid achter.

BESPREKING VAN HET BIOLOGISCH ONDERZOEK

Uit bovenstaande proeven blijkt:

1. dat bij verstuiwen op jonge ringelrupsen de verdunde, rotenonhoudende *Mundulea*-stam- en -takbastmonsters duidelijk werkzamer zijn dan een *Derris*-wortelmonster met gelijk rotenon- of extract-gehalte;
2. dat het *Mundulea*-monster uit Nigeria dat geen rotenon bevat zeer weinig werkzaam is;
3. dat bij menging van de onverdunde rotenon-houdende *Mundulea*-stam- en takbastmonsters met tarwe een duidelijk minder sterke werking ten opzichte van daarop gehouden graanklanders blijkt dan bij menging van tarwe met een *Derris*-wortel-poeder met overeenkomend rotenongehalte.

In aansluiting hierop kunnen wij vermelden, dat het University College in Nigeria *Mundulea*-poeder tegen de volgende plagen gebruikt. Ter bestrijding van klander (*Calandra*) in opgeslagen partijen graan worden deze met het poeder vermengd in de verhouding van 12 oz. per 50 lb. graan of 16 g per kg graan. De zgn. „neutral dusts” (inerte poeders) tegen voorraad-insekten in granen gaan uit van een dosering van 6 oz. per 200 lb. of 2 g per kg graan. Dit is heel wat

minder en wijst niet op een bijzondere biologische werkzaamheid van het „Nigeria”-poeder, het betreft dan ook volgens onze waarnemingen een *Mundulea*-poeder waarin rotenon niet is aan te tonen. Voorts wordt het poeder gebruikt tegen muskietlarven door het poeder in de verhouding van 10 g per l op water uit te strooien, met volledig resultaat binnen 18 uren.

CONCLUSIE

Toekomst zit dus in de bast van die variëteit of ondersoort van *Mundulea sericea*, waarin rotenon aanwezig is en die vermoedelijk gekenmerkt is door afwezigheid van een uitgesproken kurklaag; bij het opzetten van cultuurproeven dient in de eerste plaats met dit kenmerk rekening te worden gehouden.

SUMMARY

Mundulea sericea occurs in tropical Africa, on Madagascar and in India and has also been brought to Ceylon and Indonesia. *Mundulea*, like *Derris* and *Lonchocarpus*, belongs to the family of the *Leguminosae*, so these three genera are closely related.

Dependent on outward circumstances the plant develops into a shrub or into a small tree (compare the photograph). The bark is the valuable part of the plant as it possesses insecticidal properties, which are based on the presence of rotenone or rotenoidal compounds in general. Besides these, *Mundulea* bark also contains saponine, which is a disadvantage compared with *Derris* and *Lonchocarpus* root, for saponines are not harmless to man. On the other hand, because of their foamforming ability, the saponines can further the distribution of the powder in water for spraying purposes.

The bark can be harvested by stumping trees which are three to four years old, and removing the bark from stem and branches. The stump soon sprouts and after two to three years a new tree has developed.

We received samples of the bark from Java and from Nigeria. The samples differed in appearance; the bark from Java was smooth, that from Nigeria was distinctly corky. Examination in the laboratory showed further differences between both samples; in the bark from Nigeria no or nearly no rotenone could be found, whereas in the bark from Java its presence could easily be proved (compare table 1). This difference as regards the presence of rotenone also exists between *Derris elliptica* and *D. malaccensis*.

After grinding thoroughly, both samples of bark were compared with a sample of *Derris* powder, the composition of which was known. Biological tests were made with *Calandra granaria*, *Acanthoscelides obtectus*, *Tribolium castaneum* and *Malacosoma neustria* by means of dusting, and in the case of *Calandra* also by mixing the powder with wheat. *Mundulea* powder is lighter than *Derris* powder, the weight per volume is 0.48 against 0.56. In dusting this may have some influence on the results; when mixed with a heavy filler, preferably talcum, the results will be better comparable.

Table 5 shows that the powdered bark from Nigeria had only a weak effect, but that the bark from Java (the type which contains rotenone) was even more effective than the *Derris* powder, when used as a dust on caterpillars. By mixing with wheat the effect was distinctly less. Still, this is one of the principal uses of *Mundulea* bark in Nigeria.

天然胶乳脂质的磷脂组成与分布

鲍 风 许 永 瑞

(中国科学院生物物理研究所, 北京)

赵 勤 修 刘 祖 镗

(华南热带作物研究院热带产品加工设计研究所, 湛江)

摘 要

本文采用单向硅胶薄层色谱对“红星 1 号”(抗风品系)和“93-110”(抗寒品系)两种无性系天然橡胶胶乳脂质的磷脂组成进行定性分析, 分离出 8 种磷脂组分。已检出 6 种, 发现两种是从来没检出过的磷脂组分。此外用薄层色谱扫描和“吸光度比例系数校正法”对两种品系天然胶乳总脂、橡胶相和底层脂质中各种磷脂组分的分布进行了快速定量分析。

关键词 天然胶乳; 磷脂质; 薄层色谱; 薄层色谱扫描

磷脂不仅影响天然胶乳的胶体稳定性, 而且对胶乳的硫化速率、硫化胶的强力性能和化学组分均有明显的影响^[1]。早在 1930 年 Rhodes 等^[2]就阐述过磷脂在胶乳中的作用。Altman 等^[3]从浓缩胶乳离心机的“胶泥”中分离出卵磷脂。Smith^[9]等的研究认为, 胶乳总脂中除卵磷脂之外还有肌醇磷脂和磷脂酰乙醇胺。HO 等^[7]从多种无性系巴西橡胶胶乳的橡胶相和底层脂质检出有磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺两种磷脂, 另有两种磷脂未能检出。关于天然橡胶胶乳脂质的磷脂组成与分布, 到目前为止仍不十分清楚。

我们对在我国培育的许多无性系天然橡胶胶乳脂质进行了研究。本文主要报道“红星 1 号”和“93-110”两个品系的天然橡胶胶乳脂质的磷脂组成与分布的研究结果。

材 料 与 方 法

(一) 天然胶乳的来源

“红星 1 号”和“93-110”两种无性系天然胶乳采集于湛江地区粤西试验站。

(二) 天然胶乳脂质的提取

天然胶乳总脂: 参考 Folch^[6]的方法, 从新鲜天然胶乳提取。天然胶乳上层(橡胶相)和底层(黄色体粒子)的脂质: 新鲜天然胶乳经冰冻高速离心和分层, 取其上层和底层, 参考 Folch 方法分别提取脂质。

(三) 参考用标准磷脂

磷脂酰胆碱 (PC)、磷脂酰乙醇胺 (PE) 和磷脂酰肌醇 (PI) 为 BDH 产品, 溶血磷脂酰胆碱 (LPC) 和磷脂酸 (PA) 为 Koch-light 产品, 磷脂酰丝氨酸 (PS) 为 Sigma 产品。

(四) 磷脂组成定性分析

采用单向硅胶薄层色谱。硅胶薄板用青岛海洋化工厂生产的硅胶 H 自制。长 15cm, 宽 7.5cm, 厚度 0.2—0.3mm。展开剂: C:M:A:E:W (氯仿:甲醇:冰乙酸:乙醇:水)(25:4:6:3:0.5V/V)。显色用 10% 磷钼酸乙醇溶液和 Dittmer 试剂^[4]。

(五) 磷脂组成定量分析

使用 CS-910 型薄层色谱扫描仪 (C-RIB 型微机) 进行薄层色谱扫描, 再用吸光度比例系数校正法^[2]进行定量。薄层色谱条件同文献^[2]。

结 果 与 讨 论

(一) 天然胶乳脂质的磷脂组成

1. 天然胶乳总脂的磷脂组成 “93-110”和“红星 1 号”两品系天然胶乳总脂经冷丙酮洗涤 4 次, 除去大部中性脂质后, 与参考用各种标准样品同时进行单向硅胶薄层层析 (图 1)。

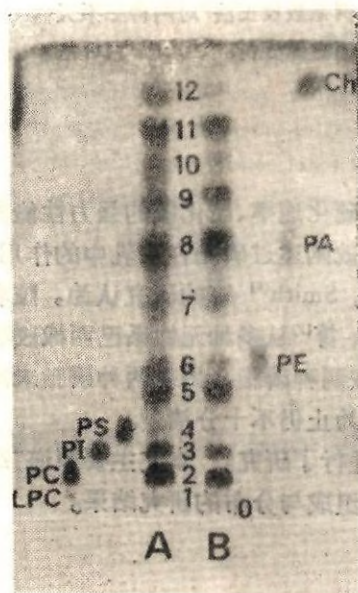


图 1 天然胶乳磷脂组成与标准磷脂对照的 TLC

A. 93-110 品系天然胶乳总脂 B. 红星 1 号天然胶乳总脂

Fig. 1. TLC of comparison of phospholipid composition from *Hevea* latex with standard phospholipids

A. Total lipids of *Hevea* latex of 93-110 clone. B. Total lipids of *Hevea* latex of Hongxing No. 1 clone

迄今的文献报道, 从天然胶乳总脂仅检出了 PC、PE 和 PI 等 3 种磷脂组分。从图 1 A 及 B 可见, 我们从“93-110”和“红星 1 号”两品系天然胶乳总脂各分离出 12 种脂质组分。其中 1、2、3、4、6、8 和 12 等 7 种组分 Rf 分别与 LPC、PC、PI、PS、PE、PA 和胆固醇等标准样品的 Rf 基本一致。经 Dittmer 试剂显色, 1—4、6 和 8 号斑点均显阳性, 证明它们均为磷脂组分。此外发现 Rf 大于磷脂酸的 9 和 10 号两种组分也是含磷的脂质。在同一薄层色谱条件下, 我们从来没发现过 Rf 大于磷脂酸的磷脂类。它们是新的磷脂抑是磷脂降解后的产物, 正在作进一步的研究。11 号组分为未检知的中性脂, 12 号组分为胆固醇。

2. 橡胶相和底层脂质的磷脂组成 “93-110”和“红星 1 号”天然胶乳的橡胶相和底层部分的脂质与两品系天然胶乳总脂同时进行单向硅胶薄层层析, 用磷钼酸显色, 结果见图 2 及图 3。

从图 2 及图 3 可见, “93-110”和“红星 1 号”天然胶乳总脂、橡胶相和底层脂质均分离出 12—14 种脂质组分。经 Dittmer 试剂显色证明 1—4、7、9—11 号 8 个斑点均为磷脂。其中 1—4 号斑点分别与 LPC、PC、PI 和 PS, 7 号斑点与磷脂酰乙醇胺, 9 号斑点与磷脂酸的 Rf 一致。经苔黑酚 (orcinol) 试剂显色表明, 6 号斑点为糖脂, 9 号斑点除磷脂酸外

还含有糖脂。13 号斑点为胆固醇。14 号斑点为色素等物质。

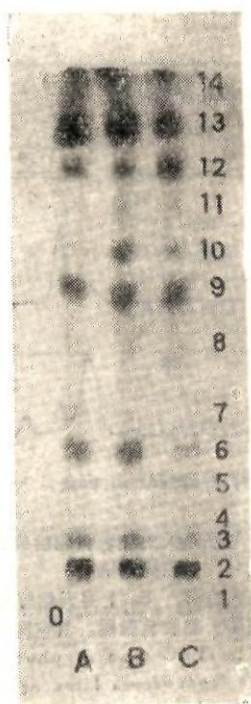


图 2 93-110 品系天然胶乳脂质的 TLC
A. 天然胶乳总脂 B. 上层天然胶乳脂质 C. 底层天然胶乳脂质

Fig. 2. The TLC of lipids from *Hevea* latex of 93-110 clone.
A. Total lipids of *Hevea* latex. B. Lipids from upper layer of *Hevea* latex. C. Lipids from lower layer of *Hevea* latex

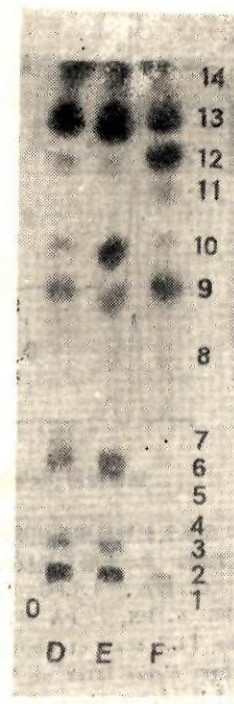


图 3 红星 1 号品系天然胶乳脂质的 TLC
D. 天然胶乳总脂, E. 上层天然胶乳脂质 F. 底层天然胶乳脂质

Fig. 3. The TLC of lipids from *Hevea* latex of Hongxing No. 1 clone.
D. Total lipids of *Hevea* latex. E. Lipids from upper layer of *Hevea* latex. F. Lipids from lower layer of *Hevea* latex

(二) 各种磷脂组分在 6 种天然胶乳脂质中的分布

“93-110”和“红星 1 号”天然胶乳总脂及两种胶乳经离心分离出的橡胶相和底层的脂质,同时经单向硅胶薄层层析,用 Dittmer 试剂显色,密封后进行薄层色谱扫描。结果见图 4 及图 5。

从图 4 A 和图 5 D 谱线可见,“93-110”和“红星 1 号”两品系胶乳总脂均有 8 个色谱峰,即均有 8 种磷脂组分,其中有两种未能检出 (PX)。从图 4 B 和图 5 E 谱线可见,两品系胶乳的橡胶相脂质中均含有 7 种磷脂组分,其中有 1 种未检出。从图 4 C 谱线可见,“93-110”品系胶乳底层脂质中含有 9 种磷脂组分,其中有 3 种未检出。从图 5 F 谱线可见,“红星 1 号”胶乳底层脂质含有 8 种磷脂组分,其中有 2 种未检出。

根据薄层色谱扫描给出的吸光度积分值,利用吸光度比例系数校正法计算出各种磷脂组分在“93-110”和“红星 1 号”天然胶乳脂质中的分布。结果见表 1。

从表 1 可见,在“93-110”和“红星 1 号”两品系天然胶乳总脂中各种磷脂组分的分布很相似,均含 8 种磷脂组分,其中已检知的 6 种磷脂组分分布规律基本一致,都是 PC >

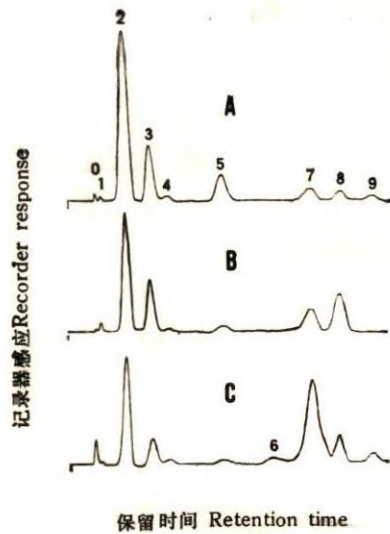


图4 93-110品系天然胶乳磷脂组成的 TLC 扫描图谱
A. 天然胶乳总脂, B. 上层天然胶乳脂质, C. 底层天然胶乳脂质, O. 原点, 1. LPC 2. PC 3. PI 4. PS 5. PE 6. PX_1 7. PA 8. PX_2 9. PX_3

Fig. 4. The TLC scan of phospholipid components from *Hevea* latex of 93-110 clone
A. Total lipids of *Hevea* latex B. Lipids from upper layer of *Hevea* latex C. Lipids from lower layer of *Hevea* latex O. origin
1. LPC, 2. PC 3. PI, 4. PS, 5. PE, 6. PX_1 , 7. PA, 8. PX_2 , 9. PX_3

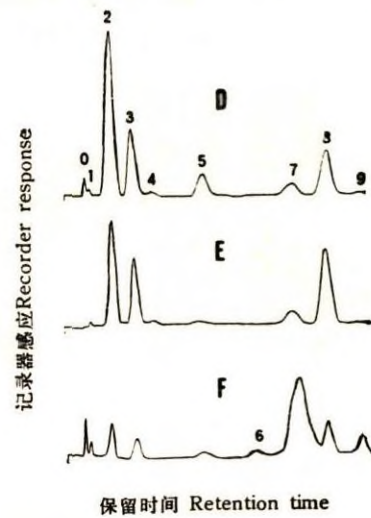


图5 红星1号品系天然胶乳磷脂组成的 TLC 扫描图谱

D. 天然胶乳总脂, E. 上层天然胶乳脂质, F. 底层天然胶乳脂质。其它同图4
Fig. 5. The TLC scan of phospholipid components from *Hevea* latex of Hongxing No. 1 clone.

D. Total lipids of *Hevea* latex. E. Lipids from upper layer of *Hevea* latex. F. Lipids from lower layer of *Hevea* latex. Others is identical with Fig. 4

PI > PE > PA > PS > LPC。最主要的磷脂组分是 PC, 各占总磷脂的 60.1 和 53.8 mol%。PI 次之, 各点总磷脂的 16.9 和 18.1 mol%。PE 占总磷脂的 9.3 和 6.6 mol%。PA 占总磷脂的 4.3 和 3.8 mol%。以上 4 种磷脂合计分别占总磷脂的 92.6 和 82.3 mol%。此外均含有少量至微量的 PS 和 LPC。两种尚未检出的磷脂组分含量较低, 唯“红星 1 号”总脂的 PX_2 的含量较高, 达总磷脂的 12.1 mol%。

各种磷脂组分在“93-110”和“红星 1 号”两品系天然胶乳橡胶相中的分布也很相似。从表 1 可见, 均含 7 种磷脂组分。已检出的磷脂组分有 5 种, 其中仍以 PC 含量为最高, 分别占总磷脂的 46.1 和 38.8 mol%。其次是 PI, 含量为 19.8 和 21.9 mol%。PA 的分布有明显的增加, 为 10.3 和 6.2 mol%。以上 3 种磷脂组分合计各占总磷脂的 76.2 和 66.9 mol%。最明显的是未检出的磷脂组分 PX_2 的含量分别高达 16.7 和 30.5 mol%。而 PE 的含量很低, 仅 2.5 和 1.2 mol%。此外均含有小量至微量的 PS 和 LPC。

Dupont 等^[5]报道, 巴西天然胶乳的黄色体膜 (membrane of luteoids) (胶乳底层) 中的磷脂 82% 为 PA, 还有两种未检出的磷脂占 18%。从表 1 可见, 在“93-110”品系天然胶乳的底层胶乳脂质中主要的磷脂组分为 PC 和 PA 分别占总磷脂的 36.5 和 32.2 mol%。其次是 PI 占 11.2 mol%。此外含有小量的 LPC、PS 和 PE 以及三种未检出的磷脂组分, 其中仍以 PX_2 含量最高, 为 8.4 mol%。“红星 1 号”天然胶乳底层脂质中 PA 的

表 1 93-110 和红星 1 号天然胶乳脂质的组成与分布

Table 1 Composition and distribution of phospholipids from *Hevea* latex of No. 93-110 clone and Hongxing No. 1 clone

天然胶乳分类 Classification of latex lipids		磷脂分布 Phospholipid distribution ¹⁾				
		Origen	LPC	PC	PI	PS
93-110 号 No. 93-110	总脂 Total lipids	0.6±0.3	1.3±0.4	62.1±1.3	16.9±0.4	1.8±0.1
	上层胶乳脂质 Lipids of Upper layer latex	0.5±0.3	2.8±0.2	46.1±0.7	19.8±0.1	1.3±0.1
	底层胶乳脂质 Lipids of lower layer latex	3.6±0.4	1.6±0.6	36.5±0.3	11.2±0.2	1.5±0.4
红星 1 号 Hongxing No. 1	总脂 Total lipids	3.8±0.1	Tr	53.8±0.3	18.1±0.1	1.8±0.4
	上层胶乳脂质 Lipids of upper layer latex	Tr	0.4±0.3	38.8±0.3	21.9±0.6	1.0±0.4
	底层胶乳脂质 Lipids of lower layer latex	7.2±0.1	3.8±0.1	10.2±0.3	7.3±0.1	

天然胶乳分类 Classification of latex lipids		磷脂分布 Phospholipid distribution ¹⁾				
		PE	PX ₁ ²⁾	PA	PX ₂	PX ₃
93-110 号 No. 93-110	总脂 Total lipids	9.3±0.5		4.3±0.2	2.7±0.1	1.0±0.1
	上层胶乳脂质 Lipids of upper layer latex	2.5±0.5		10.3±0.4	16.7±0.6	
	底层胶乳脂质 Lipids of lower layer latex	1.3±0.6	1.7±0.3	32.2±0.3	8.4±0.1	2.1±0.2
红星 1 号 Hongxing No. 1	总脂 Total lipids	6.6±0.1		3.8±0.1	12.1±0.1	Tr
	上层胶乳脂质 Lipids of upper layer latex	1.2±0.1		6.2±0.3	30.5±1.1	
	底层胶乳脂质 Lipids of lower layer latex	3.1±0.1	3.7±0.1	46.5±0.3	11.9±0.1	7.0±0.1

1) 克分子%(三次实验平均值) 2) PX. 未检知磷脂组分

1) mol% (mean values of three experiments). 2) PX. Undetected phospholipid

含量最高占总磷脂的 46.5 mol%。PC 含量较少, 只占 10.2mol%。PI 只占 7.3mol%。还有小量的 LPC, PE 和三种未检出的磷脂组分。在未检出的磷脂中同样以 PX₂ 组分为最高, 达 11.9mol%。

参 考 文 献

- [1] 赵勤修、刘建民、刘祖德, 1981: 胶乳中磷脂的提取和分离及其对橡胶性能的影响。热带作物学报, 2:100—105。
- [2] 鲍风、张克、许永瑞, 1985: 生物膜磷脂组成的快速定量分析。科学通报, (20):1574—1576。
- [3] Altman, R. F. A. and G. M. Kraay, 1940: Separation and identification of lecithins. *Rubb. Chem. Technol.*, 13: 750.
- [4] Dittmer, J. C. and R. L. Lester, 1964: A simple, specific spray for the detection of phospholipids on thin-layer chromatograms, *J. Lipid Res.*, 5: 126—127.
- [5] Dupont, J., F. Moreau, C. Lance and J. L. Jacob, 1976: Phospholipid composition of the membrane of

- luteoids from *Hevea brasiliensis* latex. *Phytochemistry*, 15: 1215—1217.
- [6] Folch, J., M. Lees and G. H. S. Stanley, 1957: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226: 497—509.
- [7] Ho, C. C., A. Subramaniam and W. M. Yong, 1975: Proceeding of the international rubber conference, In "Lipids Associated with the Particles in *Hevea* latex", Kuala Lumpur, p. 152—159.
- [8] Rhodes, E. and R. O. Bishop, 1930: The lipid of *Hevea* latex. *J. Rubb. Res. Inst. Malaya*, 2: 125.
- [9] Smith, R. H., 1954: The phosphatides of the latex of *Hevea brasiliensis*. *Biochem. J.*, 57: 130—139.

COMPOSITION AND DISTRIBUTION OF PHOSPHOLIPIDS IN *HEVEA* LATEX LIPIDS

Bao Feng, Xu Yong-rui

(Institute of Biophysics, Academia Sinica, Beijing)

Zhao Qin-xiu and Liu Zu-tang

(South China Research Institute of Processing of Tropical Crop Products, Zhan Jiang)

Abstract

In this paper qualitative analyses of the phospholipid components of *Hevea* latex of two asexual progeny Hongxing No. 1 (wind-tolerant species) and the 93-110 (chill-tolerant species) were carried out by using one dimensional thin-layer chromatography. Eight phospholipid components were separated, and six of them were detected, the two among them are phospholipid components never detected before.

Besides, authors have conducted rapid quantitative analysis of the distribution of various phospholipid components in total lipid, rubber phase and lower layer of *Hevea* latex by thin-layer chromatographic scanning and the corrective method of absorbance proportional coefficient.

Key words *Hevea* latex; Phospholipids; Thin-layer chromatography; Thin-layer chromatographic scan