

黄杜鹃不同部位有效成分含量 及对害虫拒食作用的研究

程东美, 胡美英, 张志祥

(华南农业大学昆虫毒理研究室, 广东 广州 510642)

摘要: 黄杜鹃(*Rhododendron molle*)中活性最高的化合物闹羊花素(Rhodojaponin)Ⅲ在花、嫩叶、根、茎中的含量分别为 0.20%、0.14%、0.11%、0.08%, 其花、嫩叶、根的粗提物对菜粉蝶 5 龄幼虫和斜纹夜蛾 3 龄幼虫具有一定的拒食作用, 而茎无明显的拒食效果。黄杜鹃花、嫩叶、根、茎各部位甲醇粗提物在 $\varphi=1.00\%$ 时对菜粉蝶 5 龄幼虫 24 h 的拒食率分别为 92.76%、86.78%、74.90%、63.80%, 对斜纹夜蛾 3 龄幼虫的拒食率分别为 89.94%、80.06%、73.48% 和 63.22%, Rhodojaponin Ⅲ的含量与其拒食活性成正相关。

关键词: 黄杜鹃; 闹羊花素(Rhodojaponin)Ⅲ; 菜粉蝶; 斜纹夜蛾; 拒食作用; 活性成分

中图分类号: S 436.341.22

文献标识码: A

黄杜鹃(*Rhododendron molle*)为杜鹃花科杜鹃花属植物, 广泛分布于广东、云南、江苏、浙江、湖北等省, 在广东韶关地区有着丰富的资源。我国人民很早就开始将黄杜鹃作为杀虫植物使用, 它的各部位对多种农业害虫和卫生害虫都有防治效果^[1,2]。近年的研究表明, 黄杜鹃花中杀虫有效成分主要为 Rhodojaponin Ⅲ, 对其作用方式和作用机制的研究也较为深入^[3,4], 但对黄杜鹃叶、根、茎等部位的活性研究较少。作者就黄杜鹃不同部位提取物对菜粉蝶和斜纹夜蛾幼虫的生物活性进行了比较, 并对各部位中 Rhodojaponin Ⅲ的含量和活性关系进行比较, 分析其全株应用的价值。

1 材料与方法

1.1 供试植物材料及提取

1999 年 3 月在韶关市乳源县和曲江县交界处采回黄杜鹃根、茎、叶和花的新鲜样品, 在 40~45℃烘干至脆, 粉碎成粉过 40 目筛。黄杜鹃有效成分的提取采用索氏提取法, 称取植物干粉 45 g, 提取溶剂甲醇 250 mL, 在 65℃下提取 48 h, 提取液置于 R-110 真空旋转蒸发器中浓缩至干, 初步的分离采用液液分配法, 参照 Klock 等^[5]报道的分离技术进行, 最后将所得乙酸乙酯萃取液浓缩至 10 mL, 置于冰箱中待测。

1.2 有效成分含量测定

用 HP1100 型高效液相色谱仪(HPLC)进行测定, Rhodojaponin Ⅲ标准品为美国犹他州天然产品研究所(NPI)分离纯品, 液相色谱柱为 HP ODS Hypersil

125 mm×4 mm, 5 μ m, 流动相为甲醇-水(90:10), 流速为 1 mL/min, 检测波长为 220 nm, 进样量标样为 10 μ L, 样品为 10 μ L。

$$\text{Rhodojaponin Ⅲ含量}(\%) = (S_2 \times M_1) / (S_1 \times M_2) \times 100$$

其中: S_1 : 标样的峰面积; S_2 : 样品的峰面积; M_1 : 标样浓度×进样量; M_2 : 样品浓度×进样量。

1.3 供试昆虫及拒食活性测定

供试昆虫为菜粉蝶(*Pieris rapae*)幼虫和斜纹夜蛾(*Spodoptera litura*)幼虫, 采自广州市郊, 室内用新鲜芥兰叶或木茨叶饲养至 F1 代取适龄幼虫供试。

拒食活性测定采用叶碟法在非选择性条件下测定。将新鲜芥兰或木茨叶片打成 $d=2$ cm 的叶碟, 取适量待测样品溶于丙酮和水(1:1)的混合溶液中, 配成所需浓度, 浸渍叶碟 1 s, 晾干后放入垫有滤纸(加水保湿)的 7 cm 培养皿中, 每个培养皿中放入 2 片处理叶碟, 接入 1 头已饥饿 6 h 的菜粉蝶 5 龄幼虫或斜纹夜蛾 3 龄幼虫。每处理设 10 个重复, 用丙酮和水的混合液作为对照。处理后 24 和 48 h 调查取食叶面积, 计算拒食率。

$$\text{拒食率}(\%) = (\text{对照组取食叶面积} - \text{处理组取食叶面积}) / \text{对照组取食叶面积} \times 100$$

2 结果与分析

2.1 黄杜鹃不同部位 Rhodojaponin Ⅲ含量的测定

用高压液相色谱对黄杜鹃不同部位中 Rhodojaponin Ⅲ的含量进行了测定, 在花、嫩叶、根、

茎的含量分别为 0.20%、0.14%、0.11%、0.08% (图 1)。由图 1 可知,黄杜鹃花中 Rhodojaponin—III 含量最高,叶、根其次,茎的含量最低。

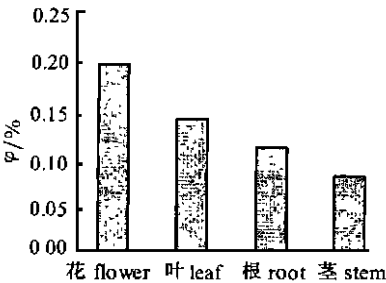


图 1 黄杜鹃不同部位 Rhodojaponin—III 含量
Fig. 1 The content of Rhodojaponin—III in different part of *R. molle*

2.2 黄杜鹃不同部位提取物的拒食活性

黄杜鹃不同部位的粗提物,对菜粉蝶 5 龄幼虫和斜纹夜蛾 3 龄幼虫的试验结果见表 1。黄杜鹃的花、叶、根对菜粉蝶幼虫均有一定的拒食作用,而茎在使用浓度范围内无明显的拒食作用。在根、茎、

叶、花 4 个部位中,花的拒食活性最高,且拒食效果均随浓度的提高而升高。在 $\varphi=0.10\%$ 时,24 和 48 h 花对菜粉蝶幼虫的拒食率为 81.15% 和 79.71%,而同浓度的叶、根、茎几乎无拒食作用。在 $\varphi=0.50\%$,花的拒食率为 87.48% 和 86.07%,同浓度的叶有较弱的拒食作用,根、茎则无明显的拒食效果。在 $\varphi=1.00\%$ 时,24 h 花的拒食率高达 92.76%,48 h 也达到 89.68%,叶也具有较高的拒食率(分别为 87.48% 和 79.62%),根的拒食作用次之(分别为 74.96% 和 75.15%)。黄杜鹃对斜纹夜蛾的拒食效果比菜粉蝶幼虫稍低,但均为在高浓度($\varphi=1.00\%$)时拒食率高,花的拒食效果最好(拒食率为 89.94%),其次为嫩叶和根(80.06% 和 73.48%),茎的效果不明显,在 $\varphi=0.50\%$ 时,花和嫩叶的拒食率分别为 75.26% 和 70.15%,而茎和根则无显著的拒食作用,在 $\varphi=0.10\%$ 时,对根和茎处理的叶片的取食叶面积已与对照相接近,无拒食作用(表 1)。由此可见,黄杜鹃的花和嫩叶是杀虫的主要部位。

表 1 黄杜鹃不同部位提取物对菜粉蝶幼虫、斜纹夜蛾幼虫的拒食活性¹⁾ (广州 199904~199905)
Tab. 1 Antifeeding ratio of the extracts of *R. molle* tested on two cabbage worms (Guangzhou)

植物部位 parts	φ 提取物 concentration/ %	斜纹夜蛾幼虫 the larvae of <i>S. litura</i>		菜粉蝶幼虫 the larvae of <i>P. rapae</i>			
		24 h 取食叶面积	24 h 拒食率	24 h 取食叶面积	24 h 拒食率	48 h 取食叶面积	48 h 拒食率
		ave. area / mm ²	antifeeding ratio/ %	ave. area / mm ²	antifeeding ratio/ %	ave. area / mm ²	antifeeding ratio/ %
花 flower	0.10	37.37	63.39c	1.25	81.15ab	2.36	79.71b
	0.50	91.88	75.26b	0.83	87.48a	1.62	86.07a
	1.00	147.13	89.94a	0.48	92.76a	1.20	89.68a
叶 leaf	0.10	55.50	51.57d	5.08	23.38f	8.50	26.91f
	0.50	110.88	70.15b	2.38	64.10c	4.58	60.61cd
	1.00	179.88	80.06a	0.83	87.48a	2.37	79.62b
茎 stem	0.10	136.63	25.29e	5.58	15.84f	9.41	19.09g
	0.50	182.13	50.43d	4.35	34.39e	7.92	31.90f
	1.00	227.50	63.22c	2.40	63.80c	4.95	57.44cd
根 root	0.10	98.50	12.33f	5.56	16.14f	9.25	20.46g
	0.50	205.25	51.13d	2.82	57.47d	5.27	54.69d
	1.00	325.63	73.48b	1.66	74.96b	2.89	75.15b
对照 CK		371.40		6.63		11.63	

1) 表中数据为 10 个重复的平均数,纵列数字后标有相同字母者表示在 5% 水平上无显著差异(DMRT 法)

研究表明,黄杜鹃花中有生物活性的化合物主要为 Rhodojaponin—III、Kalmanlo 和 Grayanotosin—III³,而前者的活性和含量都比后两者高的多,是主要的杀虫成分。Rhodojaponin—II 对菜粉蝶 5 龄幼虫和斜纹夜蛾 3 龄幼虫也很强的拒食作用,拒食中浓度分别为 15.85 和 15.20 mg/L⁴。由图 1 和表 1 的数据可知,黄杜鹃不同部位对菜粉蝶幼虫的生物活性与 Rhodojaponin—III 的含量成正相关。黄杜鹃花乙酸乙酯萃取物中

Rhodojaponin—II 的含量为 14%,若折算为纯品相同剂量处理杂拟谷盗,其杀虫效果与 Rhodojaponin—II 处理无显著差异^{5,9}。试验结果还表明黄杜鹃的嫩叶也具有较高的拒食活性,与童红云⁷报道黄杜鹃叶乙醇抽提物对菜粉蝶 5 龄幼虫具有较的拒食效果相一致,也与嫩叶中 Rhodojaponin—II 含量较其根、茎高相一致。这表明黄杜鹃各部位控制害虫的效果与其的 Rhodojaponin—II 含量成正相关。

3 讨论

近年来, 随着人们环境意识的逐渐增强以及传统农药的“3R”问题, 迫使世界各国都在寻找对人畜安全, 对环境污染小的新型生物合理型农药, 植物性杀虫剂的研究日益受到重视. 黄杜鹃是我国民间使用的一种杀虫植物, 为我国特有. 有研究表明, 其花的浸提液对多种害虫有控制作用, 如菜粉蝶幼虫、蚜虫、粘虫、褐稻虱等具有胃毒、触杀、拒食和熏蒸作用^[2,8]. 本试验的结果亦表明, 黄杜鹃各部位对菜粉蝶幼虫、斜纹夜蛾幼虫均有拒食作用, 其甲醇粗提物在 $\varphi=1.00\%$ 时 24 h 的拒食率均在 90% 左右. 试验中还发现, 黄杜鹃粗提物对菜粉蝶幼虫有一定的生长发育抑制作用.

黄杜鹃花的主要杀虫成分 Rhodojaponin—III 在根、茎、叶中的含量与其拒食活性成正相关, 花的含量最高, 其拒食作用也最强, 茎的含量最低, 在相同浓度处理下无明显的拒食效果. 有研究表明, 黄杜鹃花是最有效的杀虫部位, 但其花期短, 花期不一致, 开花时节多为阴雨天 (广东为元月初至 3 月底, 开花盛期为 3 月), 不利于采摘和收购. 并且当年生的植株一般较少开花, 这为黄杜鹃花的推广应用带来了困难. 本文的研究表明, 黄杜鹃的叶和根也具有较好的拒食作用, Rhodojaponin—III 的含量也比较高. 叶中的 Rhodojaponin—III 含量相当于花的 71%, 且利用叶进行

研究比花更经济, 更方便, 因为叶的采集量大, 在一年中有三季可以采集. 对工业化生产来说, 大规模的栽培和种植黄杜鹃是可行的, 但采集的花却几乎不可能够工厂生产, 而利用叶进行生产是可能的, 也是可行的.

参考文献:

[1] 中华人民共和国农业部. 土农药志[M]. 北京: 农业出版社, 1958. 61~62

[2] 钟国华. 闹羊花素—III 的杀虫活性和作用机理研究[D]. 广州: 华南农业大学. 1999.

[3] 胡美英, 赵善欢. 黄杜鹃花杀虫活性成分及其对害虫毒杀作用的研究[J]. 华南农业大学学报, 1992, 13(3): 9~15.

[4] HU M Y, KLOCKE J A, CHIU S F. Response of five insects to botanical insecticides. Rhodojaponin—III [J]. J Econ Entomol. 1993, 86(3): 706~711.

[5] KLOCKE J A, HU M Y, CHIU S F, et al. Grayanoid diterpene insect antifeedants and insecticides from *Rhododendron molle* [J]. Phytochemistry, 1991, 30(6): 1 797~1 800.

[6] 胡美英, 赵善欢. 几种植物杀虫剂对杂拟谷盗的毒力试验[J]. 华南农业大学学报, 1993, 14(4): 32~37.

[7] 童红云, 雷公藤、黄杜鹃对菜青虫的毒理效应及防治研究[D]. 广州: 华南农业大学. 1986.

[8] 冯 夏, 赵善欢. 黄杜鹃提取物对几种害虫的生物活性及其作用机理的初步研究[J]. 华南农业大学学报, 1990, 11(2): 68~76.

Studies on the Activity Content of Different Parts of *Rhododendron molle* and Pest Antifeedant

CHENG Dong-mei, HU Mei-ying, ZHANG Zhi-xiang

(Lab. of Insect Toxicology, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: Rhodojaponin—III was the main toxic component of *Rhododendron molle* and the content of the flower, leaf, foot and stem was about 0.20%, 0.14%, 0.11% and 0.08%, respectively. Treatment with 1% ethanol extracts of the flower, leaf and foot against the larvae of *Pieris rapae* and *Spodoptera litura* showed high antifeeding, the antifeedant rate of flower, leaf and foot to 5th-instar larvae of *P. rapae* was 92.76%, 86.78%, 74.90% and to 3th-instar larvae of *S. litura* was 89.94%, 80.06%, 73.48%, respectively, but the extract of the stems had no obvious antifeedant. The content of Rhodojaponin—III had good positive relationship to its antifeedant ratio.

Key words: Rhodojaponin—III; *Rhododendron molle*; *Spodoptera litura*; *Pieris rapae*; antifeedant; content

【责任编辑 张 砾】