

文章编号: 1001-411X(2000)03-0040-04

黄杜鹃提取物对小菜蛾的产卵忌避和杀卵作用

钟国华, 胡美英, 章玉苹, 周晓梅

(华南农业大学昆虫毒理研究室, 广东 广州 510642)

摘要: 报道了闹羊花素-III(简称 R-III)和黄杜鹃花乙酸乙酯(EtOAc)萃取物等对小菜蛾(*Plutella xylostella* L.)的产卵忌避和杀卵作用。在非选择性和选择性试验处理后 72 h, R-III($\rho=0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)的产卵忌避率分别为 77.54% 和 80.13%, EtOAc 萃取物($\rho=5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)的忌避率分别为 55.86% 和 66.01%。经 R-III 和 EtOAc 萃取物处理后, 叶背与叶面卵数之比显著变小, 卵孵化率明显降低。以 $\rho=0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ R-III 处理后 5 d 杀卵率可达 66%。

关键词: 黄杜鹃; 闹羊花素-III; 小菜蛾; 产卵忌避; 杀卵作用

中图分类号: S432.39

文献标识码: A

黄杜鹃(*Rhododendron molle* G. Don), 又称羊躑躅、闹羊花、三钱三、八厘麻等, 在中国分布广泛^[1]。《神农本草》、《本草纲目》均详细记载其毒性, 在我国南方农村有将其用作土农药的传统^[2], 也有不少文章报道黄杜鹃各种粗提物对害虫的活性^[3~5]。

闹羊花素-III(Rhodojaponin-III, 以下简称 R-III)是从黄杜鹃花分离的四环二萜类物质, 对马铃薯甲虫(*Leptinotarsa decemlineata*)、杂拟谷盗(*Tribolium confusum*)、草地夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)^[6~7]、斜纹夜蛾(*Spodoptera litura*)^[8]、美洲斑潜蝇(*Liriomyza sativae*)^[9]、甜菜夜蛾(*Amaranthus mangostanus*)^[10]等具有强烈的拒食、毒杀、生长发育抑制作用, 但对昆虫的产卵忌避和杀卵作用的报道极少。作者发现, R-III 等黄杜鹃花提取物对小菜蛾(*Plutella xylostella*)具有显著的产卵忌避作用和较明显的杀卵作用, 这为将黄杜鹃开发成害虫行为调节剂提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 植物材料及其提取方法

1998 年 3 月从广东省曲江县和乳源县采回黄杜鹃花。23~27℃阳光下晒干或于 40℃以下烘干, 参考胡美英等的方法^[7]得甲醇(MeOH)浸提物。按钟国华等的方法^[10]分别获得乙酸乙酯(EtOAc)萃取物、二氯甲烷(CH_2Cl_2)萃取物、甲醇-水($\text{MeOH}-\text{H}_2\text{O}$)萃取物。参考 Klocke 等方法^[11]对 EtOAc 萃取物进行硅胶柱层析, 分离得 $w=81.58\%$ 的 R-III。配制供试药液时未折算成纯品。

1.2 产卵忌避作用的测定

非选择性试验: 白菜[*Brassica campestris* L. ssp.

Chinensis (L.)] 栽种 20 d 后, 选取长势良好, 大小基本一致的菜苗, 移植至 $h=12 \text{ cm}$ 、 $d=7 \text{ cm}$ 的小杯, 每杯 1 株, 2~3 d 后供试。以 $\varphi=0.1\%$ 的 APSA-80(乳化剂, 美国 AMWAY 公司生产)水溶液配成供试样品, 手持喷雾器按 2 mL/株的药量对整株菜苗(包括菜叶背面)喷雾(均能湿润全株菜苗)。对照药剂为齐螨素[EC, 有效成分(a.i.) $\rho=1.2\%$, 河北农药厂生产]1000 倍稀释液。空白对照喷等量 APSA-80 水溶液。每处理 4 个重复, 每个重复 1 株。药液干后放入 $d=20 \text{ cm}$ 、 $h=30 \text{ cm}$ 的铁纱笼, 接进羽化 1~2 d 的小菜蛾成虫 5 对, 每笼悬挂 1 个蘸满 $\varphi=10\%$ 蜂蜜的小棉球, 为试虫补充营养。每隔 12 h 移动菜苗, 变换方位。计算非选择性产卵忌避率。

选择性试验: 菜苗的栽种和喷药处理同非选择性试验。药液干后, 各处理(包括 CK)随机取 1 株菜苗, 一并随机放入 $90 \text{ cm} \times 45 \text{ cm} \times 30 \text{ cm}$ 养虫笼内。按 1 对/株接入羽化 1~2 d 的成虫。每处理 4 个重复。计算选择性忌避率。

1.3 对产卵位置影响的测定

在检查小菜蛾产卵情况时, 分别记录每株菜苗的叶背着卵数和叶面着卵数, 计算叶背叶面卵数之比, 以分析各处理对小菜蛾产卵位置的影响。

1.4 杀卵作用的测定

让羽化 1~2 d 的小菜蛾在 20 d 龄菜苗上产卵, 12 h 后取出, 计算卵粒数。喷药处理同产卵忌避作用试验。然后移至隔离虫源的玻璃温室(温度 15~22℃, RH=60%~80%), 正常水肥管理。处理后每天检查孵化情况, 并将幼虫用毛笔扫除。计算处理后 5、7 d 的孵化率和杀卵率。

1.5 统计分析

文中数据均以[平均数 ±标准误 (SE)] 表示, 方差分析采用邓肯氏新复极差检验法(Duncan’s Multiple Ranger Test, DMRT), 以 SAS 软件计算所得.

2 结果与分析

2.1 非选择性产卵忌避作用

表 1 结果表明, R-III 对小菜蛾具有强烈的非选择性产卵忌避作用. 在非选择性条件下, 处理后 24、48 和 72 h, R-III 在 $\rho=0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 忌避率分别为 91.04%、81.17%和 77.54%, 显著高于齐螨素推荐使用剂量的忌避效果; 在 $\rho=0.1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 忌避率分别为 71.67%、64.85%和 57.62%, 与齐螨素无显著差别; 同期 $\rho=5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 EtOAc 萃取物的忌避率分别为 69.98%、61.93%和 55.86%, 与 R-III $\rho=0.1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和齐螨素(a. i. $\rho=0.012\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) 的忌避效果处于同

一水平, 而显著高于 MeOH 浸提物、 CH_2Cl_2 萃取物和 MeOH- H_2O 萃取物, 后 3 种提取物的产卵忌避率均在 35% 以下.

2.2 选择性产卵忌避作用

从选择性试验结果(表 1)可知, R-III 在 $\rho=0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理后 24、48 h 的忌避率分别为 94.64% 和 79.13%, 显著高于齐螨素(a. i. $\rho=0.012\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$); 至 72 h, 忌避率仍高达 80.13%. 处理后 24、48 和 72 h, R-III $\rho=0.1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的忌避率分别为 78.96%、70.46% 和 64.49%, EtOAc 萃取物 $\rho=5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的忌避率分别为 79.66%、68.65%和 66.01%, 两者与齐螨素推荐使用剂量无显著差别. 值得注意的是, 与非选择性试验比较, MeOH 浸提物、 CH_2Cl_2 萃取物和 MeOH- H_2O 萃取物的忌避率有明显提高, 试验期间忌避率均保持在 52.70%~71.89%, 并且处理后 72 h 各处理的忌避率无明显差别.

表 1 黄杜鹃提取物处理对小菜蛾的产卵忌避作用¹⁾ (广州, 199811)

Tab. 1 Extracts from *R. molle* flowers as oviposition deterrentants against *P. xylostella* (Guangzhou)

提 取 物 extracts	$\rho/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	非选择性产卵忌避率			选择性产卵忌避率		
		oviposition deterrent rates in no-choice tests/ %			oviposition deterrent rates in choice tests/ %		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
R-III	0.5	91.04±2.18a	81.17±3.90a	77.54±5.11a	94.64±5.36a	79.13±10.59a	80.13±10.89a
	0.1	71.67±10.55b	64.85±8.28b	57.62±9.97b	78.96±6.99b	70.46±8.20ab	64.49±10.26ab
MeOH 浸 extract	5	26.39±14.26c	28.87±12.61c	21.88±11.41c	61.03±1.42c	57.80±15.33b	59.81±12.69ab
EtOAc 萃 fraction	5	69.98±1.85b	61.93±3.23b	55.86±5.08b	79.66±6.96b	68.65±8.16ab	66.01±8.04ab
CH_2Cl_2 萃 fraction	5	34.38±18.56c	9.21±11.24d	12.70±11.97d	71.89±16.77b	56.23±8.65b	52.70±6.55b
MeOH- H_2O 萃 fraction	5	12.83±15.60d	15.69±14.36c	12.31±14.08c	58.28±23.17c	70.81±10.77ab	68.94±9.51ab
齐螨素 abamectin	0.012 ²⁾	75.54±1.45b	67.36±2.67b	56.64±4.38b	68.86±5.59b	58.96±10.22b	64.31±9.45ab
CK ³⁾	0	108.25±18.87	119.50±26.47	128.00±27.74	80.00±3.61	235.00±33.20	305.33±12.35

1) 表中同列数据后字母不同表示在 5% 水平差异显著(DMRT 法); 2) ρ 为有效成分浓度; 3) 此行数据为着卵数(粒/株)

2.3 对产卵位置的影响

从表 2 可知, 在非选择性试验中, 小菜蛾在对照菜苗叶背与叶面的产卵数之比约为 1.05~1.11, 在选择性试验时, 叶面叶背卵数比为 0.98~1.04, 即在正常情况下, 小菜蛾在供试白菜叶背与叶面上产卵的概率基本相等, 这与文献报道基本一致^[12]. 但在非寄主植物黄杜鹃提取物的干扰下, 这个比例可被显著改变. 在非选择性试验中, R-III 在 $\rho=0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理后 24、48 和 72 h, 叶背与叶面卵数之比分别为 0.62、0.77 和 0.68, 明显低于空白对照, 但浓度降低到 $\rho=0.1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 在处理后 48 h 起即与对照无明显差别. 在选择性试验中, R-III 以 $\rho=0.1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $\rho=0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理后 48、72 h 的叶背叶面卵数比无明显差异, 但均显著低于齐螨素和空白对照. 在非选择性和选择性试验时, 经 $\rho=5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 EtOAc 萃取物处理后, 叶背叶面卵数比均低于 0.85, 明显小

于空白对照和齐螨素(非选择性试验 72 h 除外), 但同浓度的 MeOH 浸提物、 CH_2Cl_2 萃取物和 MeOH- H_2O 萃取物处理后, 叶背叶面卵数比基本上都大于空白对照(CH_2Cl_2 萃取物选择性处理后 24 h 除外).

2.4 杀卵作用

从表 3 可知, R-III 有一定杀卵作用. 以 R-III $\rho=0.5、0.1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理后 5 d, 小菜蛾卵孵化率分别为 25.13%和 25.72%, 杀卵率可达 66.93%和 66.15%, 明显高于齐螨素(46.59%). 这也说明 R-III 达到一定浓度(如 $\rho=0.1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) 时, 卵孵化率不再随浓度提高而显著降低. EtOAc 萃取物的杀卵率也高达 56.97%, 其余提取物处理杀卵率在 36.97%~41.78%. 比较处理后 5 和 7 d 的孵化率可知, 以 EtOAc 萃取物处理的孵化率提高最为明显, 增加 16.29 个百分点, 其次为对照和齐螨素处理, 分别提高 12.38 和 11.25 个百分点, 其余各处理没有明显提高.

表 2 黄杜鹃花提取物处理对小菜蛾选择产卵位置的影响¹⁾

(广州, 199812)

Tab. 2 Effects of extracts from *R. molle* flowers on oviposition location of *P. xylostella*

(Guangzhou)

提 取 物 extracts	$\rho/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	非选择性试验叶面卵数/ 叶背卵数			选择性试验叶面卵数/ 叶背卵数		
		No. of eggs on leaves surface / No. of eggs on leaves back in no-choice tests			No. of eggs on leaves surface/ No. of eggs on leaves back in choice tests		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
R-III	0.5	0.62±0.14d	0.77±0.15d	0.68±0.06d	— ²⁾	0.74±0.20c	0.85±0.13c
	0.1	0.70±0.14d	1.00±0.18c	0.95±0.13c	0.58±0.21c	0.63±0.07c	0.71±0.32c
MeOH 浸 extract	5	2.26±0.64ab	1.87±0.27ab	1.78±0.19a	1.53±0.14a	1.20±0.03ab	1.28±0.10ab
EtOAc 萃 fraction	5	0.64±0.27d	0.85±0.13d	0.91±0.13bc	0.70±0.20bc	0.81±0.09c	0.85±0.39c
CH ₂ Cl ₂ 萃 fraction	5	2.63±0.56a	2.15±0.29a	1.11±0.12bc	0.75±0.25bc	1.36±0.14a	1.36±0.11a
MeOH-H ₂ O 萃 fraction	5	1.97±0.15b	1.58±0.10ab	1.46±0.05b	1.41±0.24ab	1.21±0.11ab	1.17±0.18ab
齐螨素 abamectin	0.012 ³⁾	0.99±0.11c	1.09±0.11c	0.89±0.12bc	1.05±0.43b	1.13±0.24b	1.04±0.29b
CK	0	1.05±0.15c	1.11±0.10c	1.10±0.10bc	1.04±0.07b	0.99±0.08b	0.98±0.09b

1) 表中同列数据后字母相同表示在 5% 水平差异不显著(DMRT 法); 2) 选择性试验中 $\rho=0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ R-III 处理后 24 h 卵数太少, 不统计比较; 3) ρ 为有效成分浓度

表 3 黄杜鹃花提取物对小菜蛾卵的毒杀作用¹⁾

(广州, 199812)

Tab. 3 Extracts from *R. molle* flowers as ovicides against *P. xylostella*

(Guangzhou)

提 取 物 extracts	$\rho/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	处理前卵量 / (粒·株 ⁻¹) No. of eggs before treatment per plant	处理后 5 d		处理后 7 d		
			5 d after treatment		7 d after treatment		
			孵化率	杀卵率	孵化率	孵化率增加	杀卵率
			incubation rate/ %	ovicidal rate/ %	incubation rate/ %	increase of incubation rate/ 百分点 (points)	ovicidal rate/ %
R-III	0.5	80.00±9.10	25.13±4.37c	66.91	31.17±5.23c	6.04	64.73
	0.1	89.00±5.20	25.72±1.48c	66.15	35.00±1.90c	9.28	60.39
MeOH 浸 extract	5	82.00±9.86	47.90±11.41b	36.97	49.26±11.94bc	1.36	44.26
EtOAc 萃 fraction	5	88.67±8.34	32.70±5.12bc	56.97	48.99±1.59bc	16.29	44.56
CH ₂ Cl ₂ 萃 fraction	5	88.33±9.53	44.24±3.96b	41.78	50.04±2.45bc	5.80	43.37
MeOH-H ₂ O 萃 fraction	5	87.00±4.73	47.74±3.51b	37.18	55.86±4.85b	8.12	36.79
齐螨素 abamectin	0.012 ²⁾	74.33±18.66	40.59±3.46bc	46.59	51.84±8.02bc	11.25	41.34
CK	0	101.33±16.18	75.99±4.72a	—	88.37±1.38a	12.38	—

1) 表中同列数据后字母相同表示在 5% 水平差异不显著(DMRT 法); 2) ρ 为有效成分浓度

3 讨论

近年来, 人们对杀虫剂的认识越来越深刻, 国内外都特别重视植物次生化合物对害虫的毒杀、拒食和忌避作用, 希望开发出植物源昆虫生长调节剂、忌避剂和拒食剂应用于害虫综合治理(IPM)^[13~15].

抱卵成虫对寄主植物的趋性飞行及着落行为, 很大程度上受到植物释放或外加于其上的引诱剂、滞留剂或忌避剂的影响¹⁶, 因此, 某些非寄主植物提取物处理能明显防止或减少昆虫在寄主植物上的产卵¹⁷. 本文结果表明, R-III、EtOAc 萃取物等黄杜鹃提取物对小菜蛾具有显著的产卵忌避作用和较明显的杀卵作用, 其中, R-III 在 $\rho=0.1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时与齐螨素推荐使用剂量(a.i. $\rho=0.012\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)的忌避效果相当, 在 $\rho=0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时显著优于齐螨素, 值得注意的

是, MeOH 浸提物、CH₂Cl₂ 萃取物和 MeOH-H₂O 萃取物在选择性试验忌避效果明显, 高于非选择性试验, 这可能是这 3 种提取物所含成分的忌避效果不如 R-III、EtOAc 萃取物(含 9.81% R-III), 或者忌避物质含量不高. 在选择性试验中, 在忌避物质的作用下, 试虫可以将更多的卵产在空白对照上, 因而提高了忌避率. 这在生产上有积极意义: 在蔬菜、花卉等作物上喷施黄杜鹃提取物时, 除具有产卵忌避和直接杀卵作用外, 还可使更多害虫产卵于少部分不施药的作物, 再集中处理, 可减少农药使用, 提高防治效果.

此外, 黄杜鹃花提取物能显著改变小菜蛾在叶背和叶面的产卵数比例, 但各种提取物对产卵位置的影响有明显区别. 经 R-III、EtOAc 萃取物处理, 叶背叶面卵数之比小于 1, 说明叶面卵数比例提高, 这

可使药剂接触卵的机率提高, 增大杀卵机会. 但以同浓度的 MeOH 浸提物、CH₂Cl₂ 萃取物和 MeOH-H₂O 萃取物处理后, 叶背叶面卵数比基本上都大于空白对照, 也即是说, 小菜蛾产在叶背的卵数增加了. 这可能与各提取物所含成分有关.

今后应深入研究 R-III 等黄杜鹃提取物的忌避持效期、产卵忌避机理和杀卵机理等, 以开发成能控制小菜蛾等重要害虫的行为调节剂.

参考文献:

[1] 陈冀胜, 郑 硕. 中国有毒植物[M]. 北京: 科学出版社, 1987. 216—229.

[2] 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.

[3] 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.

[4] CHIU S F. Effectiveness of chinese insecticidal plants with reference to the comparative toxicity of botanical and synthetic insecticides [J]. J Sci Food Agri. 1950 (9): 276—287.

[5] CHIU S F, QIU Y T. Studies on the application of botanical insecticides for the control of the diamondback moth in South China [J]. J Appl Entomol. 1993, 116(5): 479—486.

[6] 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.

[7] 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.

[8] 李晓东, 陈文奎, 胡美英. 印楝素、Rhodojaponin-III 对斜纹夜蛾的生物活性及作用机理的研究[J]. 华南农业大学学报, 1995, 16(2): 80—85.

[9] HU M Y, ZHONG G H, WU Q S, et al. Studies on the biological activities of yellow azalea, *Rhododendron molle* G. Don against the vegetable leafminer, *Lirionza sativae* [J]. Entomologia Sinica. 2000, 7(1): 65—70.

[10] 钟国华, 胡美英, 翁群芳. 黄杜鹃花提取物对甜菜夜蛾的生物活性[J]. 西北农业大学学报, 2000, 28 (2): 98—102.

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

[12] 崔德君, 赵善欢, 刘新青. 万寿菊粗提物对小菜蛾产卵忌避作用研究[J]. 农药, 2000, 37(6): 31—35.

[13] BLUM M S. Semiochemical parsimony in the arthropoda [J]. Annu Rev Entomol. 1996, 41: 353—374.

[14] FOSTER S P, HARRIS M O. Behavioral manipulation methods for insect pest management [J]. Annu Rev Entomol. 1997, 42: 123—146.

[15] 庞雄飞. 植物保护剂与植物免害工程——异源次生化合物在害虫防治中的应用[J]. 世界科技研究与进展, 1999, 21(2): 24—28.

[16] DETHIER V G. Mechanisms of host-plant recognition [J]. Entomol Exp Appl. 1982, 31: 49—56.

[17] 张庆贺, 姬兰柱. 植食性昆虫产卵的化学生态学[J]. 生态学杂志, 1994, 13(6): 39—43.

Studies on Extracts of *Rhododendron molle* as Oviposition Deterrentants and Ovicides against *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae)

ZHONG Guo-hua, HU Mei-ying, ZHANG Yu-ping, ZHOU Xiao-mei
(Laboratory of Insect Toxicology, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: The activities of Rhodojaponin-III (Abbr. R-III), ethyl acetate (EtOAc) extract and other extracts from flowers of *Rhododendron molle* G. Don were investigated as oviposition deterrentants and ovicide against diamond back moth, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). 72 h after treatment with $\rho=0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ R-III in no-choice tests and choice tests, the deterrent rates were 77.54% and 80.13%, those with $\rho=5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ EtOAc extract were 55.86% and 66.01%, respectively. Furthermore, treatment with R-III and EtOAc extract could significantly change the ratio between the numbers of eggs on leaves surface and on leaves back, and could effectively reduce the percentage of eggs incubation, ovicidal rate with $\rho=0.1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ R-III could reach 66%. These results suggest that the use of extracts of *R. molle* as insect pest behavior regulator in integrate pest management deserve consideration.

Key words: *Rhododendron molle*, Rhodojaponin-III, *Plutella xylostella*, oviposition deterrent, ovicidal action

【责任编辑 周志红】