文章编号: 1001-411X(2001)04-0033-03

闹羊花素一III 对几种害虫的生物活性研究

程东美,胡美英,张志祥,徐伟松,周利娟(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 对柑桔潜叶蛾、致倦库 蚊和柑桔全爪螨的生物活性. 结果表明, 闹羊花素— III 对柑桔潜叶蛾幼虫具有较好的拒食作用, 处理后 24 和 48 h 的 AFC_{50} 分别为 266. 60 和 49. 35 μ_g / m I, 对致倦库蚊 3 龄幼虫具有很强的毒杀作用, 处理 24 h 的 LC_{50} 为0. 85 μ_g / m I. 对柑桔全爪螨成虫处理后 24 h 的 LC_{50} 为 346. 00 μ_g / m I.

关键词: 闹羊花素— III; 柑桔潜叶蛾; 致倦库蚊; 柑桔全爪螨; 生物活性中图分类号: S482. 39 文献标识码: A

黄杜鹃(Rhodoendron molle G. Don)是我国特有的一种杀虫植物和民间常用的一种中草药,1979年,武汉医学院从其果实中提取分离出一种毒素鉴定为闹羊花素—III(Rhodojapanin—III),随后证实其是黄杜鹃作医药和杀虫的主要有效成分。闹羊花素—III在化学结构上属于四环二萜类,在极性溶剂中溶解度大,如甲醇、二氯甲烷、乙酸乙酯,而不溶于极性很弱或非极性的溶剂,如石油醚。目前研究表明日本杜鹃 R. japonicum 和黄杜鹃中含有该化合物1~4。闹羊花素—III化学结构式如下:

闹羊花素—III 对粘虫(Laucania separata)、马铃薯甲虫(Lepolinotarsa decenlineata)、杂拟谷盗(Tribolium confusium)、菜青虫(Pieris rapae)、亚洲玉米螟(Ostrinia furnacalis)等均有一定的生物活性,且对敏感和抗性小菜蛾的防治结果差异不显著 5~111. 作用方式较为复杂,具有拒食、毒杀、生长发育抑制和产卵忌避作用,且有内吸作用。闹羊花素—III 对菜粉蝶幼虫具有强烈的拒食作用和产卵忌避作用,田间防治亦有较好的防治效果。对近年来传入我国为害的美洲斑潜蝇防治效果也较为理想[111. 因此,进一步研究闹羊花素—III 对害虫的生物活性,为将其开发为新型杀虫剂具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

柑桔潜叶蛾(Phyllocnistis citrella Stainton),鳞翅目,潜叶蛾科,采自华南农业大学杀虫植物园柑桔苗上. 柑桔全爪螨[Panonychus citri(Mcgregor)],蜱螨目,叶螨科,采自华南农业大学柑桔苗圃. 致倦库蚊(Culex pipiens quinquefasciatus Say)3 龄幼虫,双翅目,蚊科,虫种取自中山医科大学,华南农业大学昆虫毒理研究室王新国博士饲养并提供.

1.2 供试药剂

川楝素:四川宜宾制药厂生产.

闹羊花素-III (Rhodojaponin-III), w=95%, 华南农业大学昆虫毒理研究室胡美英教授提供, 植物材料黄杜鹃花采自广东省乐昌县, 在美国犹他州天然产品研究所 (NPI) 分离鉴定.

1.3 生物测定方法

(1)对柑桔潜叶蛾的拒食作用: 拒食作用测定方法参考曾鑫年¹². 在华南农业大学杀虫植物标本园内柑桔苗上选取蛀道 0.5~2.5 cm 的 1~2 龄幼虫叶背被害叶片, 用记号笔在蛀道顶端侧面作一标记, 将叶片平铺于 d=9 cm 培养皿内, 皿内垫有滤纸保湿.用 Potter 喷雾塔将 1 mL 药液对叶片进行喷雾, 沉降 1 min. 每浓度 3 个重复, 每重复 10 片叶, 48 h 后测量蛀道长度, 按下式计算拒食率.

拒食率=[(对照平均蛀道长度-处理平均蛀道 长度)/对照平均蛀道长度]×100%

(2)对柑桔全爪螨的毒杀活性:采用玻片法测定 对柑桔全爪螨的毒性,根据预备试验的结果将药剂 稀释成所需系列浓度,用毛笔挑取健康雌成螨,将其 背部粘贴在有双面胶的载玻片上,每片粘 3 行,约 25 \sim 30 头左右,然后镜检除去死亡虫体,将粘有螨的玻片一端置于已配好的药液中浸 5 s,取出后用吸水纸吸去多余的药液,对照用清水十丙酮 (1:1)处理,每个处理重复 3 次.处理后将载玻片有螨的一面向上,放入垫有滤纸保湿的 d=12 cm 培养皿后,置于 (25 ± 1) °C的养虫室,24 h 后于解剖镜下检查死活螨数,计算死亡率和致死中浓度 LC_{50} .

(3)对致倦库蚊的毒杀作用: 采用浸液法 ¹³ 测定. 用水配制 10 mL的 2 倍于所需浓度的化合物水溶液, 将其盛于小烧杯中并标明化合物的名称及浓度在其他一些烧杯中倒入约 8 mL 水, 用小纱网取约 30 头致倦库蚊 3 龄幼虫于各个盛水的小烧杯中, 将杯内的水及虫倒入一个有刻度的小试管内, 并定容至 10 mL, 然后将其倒入有化合物溶液的烧杯中, 再加入少量的饲料, 以饲料淀粉不在溶液表面形成膜为度. 将处理好的烧杯置于室温下(平均温度为28 °C), 24 h 后调查幼虫的死亡率.

2 结果与分析

2.1 闹羊花素—III 对柑桔潜叶蛾幼虫的拒食作用闹羊花素—III 对柑桔潜叶蛾幼虫的拒食作用结果见表 1. 由表 1 可以看出闹羊花素—III 对柑桔潜叶蛾幼虫具有较强的拒食作用,处理后 24、48 h 的拒食中浓度 *AFC*50分别为 266.60 和 49.35 μ g/mL,比川楝素的拒食效果好(川楝素的拒食率分别为 289.94、156.44 μ g/mL).

表 1 闹羊花素— III 对柑桔潜叶蛾 幼虫的拒食作用 Tab. 1 Toxicity of rhodojaponin— III to the larvae of Phyllocnistis citrella

——————— 处理	时间	回归方程	相关系数	AFC 5V	
72.1	time	linear regress	coefficient	- 55	
treatment	/ h	equation	correlation	$(\mu_{\mathbf{g}} \cdot \mathbf{mL}^{-1})$	
闹羊花素─Ⅲ	24	y = 3.8535 + 0.6771x	0.9960	266.60	
rhodojaponin-III	48	y=2.3163+1.1064x	0.9828	49. 35	
川楝素	24	y=2.2046+1.1353x	0.981 5	289.94	
toosendanin	48	y = 3.446 0 + 0.708 2x	0 999 4	156.44	

2.2 闹羊花素-III 对柑桔全爪螨的毒性

闹羊花素- III 对柑桔全爪螨成虫的毒杀作用见表 2, 处理后 24 h 的致死中浓度 LC_{50} 为 346.00 $\mu_{\rm g/mL}$,川楝素的 LC_{50} 为 211.65 $\mu_{\rm g/mL}$.

表 2 闹羊花素— III 对柑桔全爪螨的毒杀作用

Tab 2	Toxicity	of r	hodojano	ni n— III	to	Panons	rhus	citri
1 ab. 2	1 UAICILY	VI 1	почојаро		w	1 unon	CH III	cuii

	回归方程	相关系数	-	
处理	I=17=7J1±		LC_{50}	
trealment	linear regress	coefficient	$(\mu_{\mathbf{g}} \cdot \mathbf{mL}^{-1})$	
u eathent	equation	correlation	(≁g mL)	
闹羊花素─Ⅲ	2 775 2 1 022 7	0.002.0	246.00	
rhodojaponin-III	y=2.3752+1.0337x	0. 983 9	346. 00	
川楝素				
toosemlanin	y = 1.5857 + 1.4681x	0. 979 7	211.65	
toosemanin				

2.3 闹羊花素-III 对致倦库蚊幼虫的毒杀作用

采用浸液测定法测定了闹羊花素— III 对致倦库蚊3 龄幼虫的毒杀作用,试验结果见表 3. 由表 3 可以看出,闹羊花素— III 对致倦库蚊 3 龄幼虫具有很强的毒杀作用,处理 24 h 的致死中浓度 LC_{50} 为 $0.85~\mu_{g/mL}$,比川楝素的毒杀活性强.美国生物化学联系中心对一般杀虫药剂筛选时也是选用蚊幼虫的浸液法,根据其筛选规定,初试浓度为 $10~\mu_{g/mL}$,有效时为 $1~\mu_{g/mL}$,根据这一标准,闹羊花素— III 对蚊幼虫的活性为较高.

表 3 闹羊花素— III 对致倦库蚊 3 龄幼虫的毒杀作用 Tab. 3 Toxicity of rhodojaponin— III to 3rd instar larvae *Culex pipiens quinquefusciatus* Say

 处理	回归方程	相关系数	I ICm/	LCos/	
大注 treatment					
u cament	equation	correlation	μg°mL	$^{-1}$)(μ g°mL $^{-1}$)	
闹羊花素一II	$I_{y=5.0892+1.289.99}$	v 0.063.8	0.85	16, 10	
rhodojaponin-[]	y = 5.0882 + 1.2899	0.900	u w	10. 10	
川楝素	y = 4.5579 + 1.3419	r 0.9969	2 14	35, 91	
toosendanin	y 4.551) 1.541 %	. 0.7007	⊿ IT	33.71	

3 讨论

化学杀虫剂的使用,曾大幅度提高了农产品的产量和质量,但由于不合理的使用及化学农药本身固有的缺点,使环境污染和害虫抗药性等问题日趋严重,人畜中毒事故屡有发生,害虫天敌和非靶标生物的大量杀伤,以及害虫"再猖獗"等问题的出现受到人们的普遍关注.因此,寻找新的对人畜安全,具有良好的环境兼容性的杀虫剂成为一个迫切的问题.广泛利用天然产物,尤其是杀虫植物对农、林及卫生害虫进行防治已越来越受到重视.

闹羊花素—III 对柑桔潜叶蛾幼虫具有较好的拒食作用,处理后 48 h 的拒食中浓度为 49.35 $\mu_{\rm g/mL}$,而传统的植物性杀虫剂川楝素为 156.44 $\mu_{\rm g/mL}$,闹羊花素—III 的拒食作用效果显著高于川楝素,柑桔

潜叶蛾幼虫是生长于叶表皮内, 仅有触杀作用的杀虫剂是很难达到较好的防治效果的, 这表明闹羊花素—III 具有一定的内吸性或内渗性, 能渗透植物的表皮进入内部, 控制潜藏在表皮下的害虫的取食作用. 玻片法测定闹羊花素—III 对柑桔全爪螨的触杀作用, 处理后 24 h 的 LC_{50} 高达 346.00 μ_{g}/mL , 触杀活性明显低于川楝素, 这表明触杀不是其主要的作用方式. 而柑桔全爪螨是刺吸式口针, 穿透植物的表皮吸取其汁液, 因此, 将药液喷洒到植物叶片上, 利用其内吸作用来防治应会有较好的效果. 对两种柑桔害虫的试验结果表明, 闹羊花素—III 具有较好的拒食作用, 但触杀作用较强, 这与钟国华等 111 的研究结果是一致的.

冯夏等^[5]研究发现,黄杜鹃花粗提物的馏分 FC -22(其成分后证实为闹羊花素—III)可抑制动物和昆虫的呼吸作用,闹羊花素—III 对致倦库蚊幼虫强烈的毒杀活性产生的原因之—可能是因为其阻止了试虫的呼吸.

参考文献:

- [1] HIKINO H, OHTA T, OHURA M, et al. Stereo structure of rhodojaponin— I, II and III, and toxin of *Rhododendron japonicum*, and of asebotoxin— III, toxin of *Pieris japonica* [J]. Chem pharm Bull, 1969, (17): 1 078— 1 079.
- [2] 濮全龙. 羊踯躅中的闹羊花毒素 III 的结构测定[J]. 中草药, 1983, 14(7):5-6.

- [3] 刘助国,潘心富,陈常英,等.中国羊踯躅花化学成分研究 J. 药学学报, 1990, 25(11); 830—833.
- [4] KLOCK J A, HU M Y, CHIU S F. Grayanoid diterpene insect antifeedants and insecticides from *Rhododendron molle* [J]. Phytochemistry, 1991, 30(6): 1 797—1 800.
- [5] 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.
- [6] 邱宇彤. 小菜蛾抗药性及植物质杀虫剂对其作用研究 [D]. 广州: 华南农业大学, 1991.
- [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 JJ. 华南农业大学学报,1992,13(3):9-15.
- [8] 胡美英,赵善欢.几种植物质杀虫剂对杂拟谷盗的毒力试验[J].华南农业大学学报,1993,14(9):32-37.
- [9] HU M Y, KOLCKE J A, CHIU S F. Response of five insects to botanical insecticides Rhodojaponin— III[J]. J Econ Entomol. 1993, 86(3): 706—711.
- [10] CHIU S F, QIU Y T. Experiments on the application of botanical insecticides for the control of diamondback moth in South China J. J. Applied Entomology, 1993, 116(5): 479—486.
- [11] 钟国华. 闹羊花素— III(Rhodojaponin— III) 的杀虫活性 及作用机理 IJ. 广州: 华南农业大学, 1999.
- [12] 曾鑫年. 柑桔潜叶蛾抗药性及化学防治研究[D]. 广州: 华南农业大学, 1993.
- [13] 万树青. 多炔类化合物杀虫活性及作用研究[D]. 广州: 华南农业大学, 1999.

Studies on the Bioactivity of Rhodojaponin—III Against Several Pests

CHENG Dong-mei, HU Mei-ying, ZHANG Zhi-xiang, XU Wei-song, ZHOU Li-juan (Lab. of Insect Toxicology, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: Bioassays of insecticidal effects of rhodojaponin-III on the larvae of *Phyllocnistis citrella* and *Culex pipiens quinquefasciatus* Say, and *Panonychus atri* were carried out. The results showed that AFC_{50} of rhodojaponin-III against the larvae of P. *citrella* were 266. 60 and 49. 35 $\mu_{\rm g.mL}^{-1}$ in 24 and 48 h after treatment, respectively. LC_{50} of rhodojaponin-III against the 3rd-instar larvae of *Culex pipiens quiquefasciatus* Say was 0. 85 $\mu_{\rm g.mL}^{-1}$. LC_{50} of rhodojaponin-III against *Panonychus citri* was 346. 00 $\mu_{\rm g.mL}^{-1}$.

Key words: rhodojaponin—III; Phyllocnistis citrella; Culex pipiens quinquefasciatus Say; Panonychus atri; bioactivity

【责任编辑 周志红】