

## 黄杜鹃花提取物对甜菜夜蛾的生物活性

钟国华, 胡美英, 翁群芳

华南农业大学昆虫毒理研究室, 广州 510642

S482.39

S433.4

**[摘要]** 测定了闹羊花素-Ⅱ (Rhodjaponin-Ⅱ, 简称 R-Ⅱ) 等黄杜鹃花提取物对甜菜夜蛾的生物活性。结果表明, 在非选择性和选择性条件下, R-Ⅱ 对甜菜夜蛾 3 龄幼虫拒食作用的  $AFC_{50}$  分别是  $30.71$  和  $7.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 乙酸乙酯 (EtOAc) 萃取物的  $AFC_{50}$  分别是  $808.82$  和  $650.43 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 拒食活性显著高于其他粗提物。连续饲喂 48 h 后, 至第 5 天, R-Ⅱ 和 EtOAc 萃取物对试虫的生长抑制中质量浓度 ( $IC_{50}$ ) 分别是  $13.11$  和  $1153.48 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

**[关键词]** 黄杜鹃花; 闹羊花素-Ⅱ; 甜菜夜蛾; 生物活性; 杀虫剂

**[中图分类号]** S482.39 **[文献标识码]** A

黄杜鹃 (*Rhododendron molle* G. Don), 属杜鹃花科 (Ericaceae) 杜鹃花属 (*Rhododendron*), 又称羊躑躅、闹羊花、三钱三、八厘麻等, 为著名的有毒植物之一, 在中国分布较广<sup>[1]</sup>, 《神农本草》、《本草纲目》均详细记载了其毒性。甜菜夜蛾 (*Laphygma exigua* Hubner) 是重要的世界性杂食害虫, 幼虫取食范围达 35 科 108 属, 近年来在中国南方菜区连续多年大发生, 并已对多种农药, 包括化学农药和苏云金杆菌、阿维菌素 (Avermectin), 产生不同程度的抗药性<sup>[2~4]</sup>。植保工作者面临着严峻的挑战, 迫切需要寻找既能高效防治甜菜夜蛾而又对蔬菜、环境和人畜安全的药剂。

作者在试验时发现, R-Ⅱ 和黄杜鹃花其他提取物对甜菜夜蛾幼虫具有较好的生物活性, 可望发展成为综合防治甜菜夜蛾的生物合理性农药。现将初步试验结果报道如下。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

**甜菜夜蛾** 从广州市蔬菜科学研究所菜地采回健康的幼虫, 以苋菜 (*Amaranthus mangostanus* L.) 饲喂至化蛹, 蛹在沙盆中羽化, 以  $100 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  的蜜糖水为成虫补充营养, 羽化后 24~48 h 接入盆栽苋菜苗, 供其产卵。卵孵化后挑选整齐一致的  $F_1$  代 3 龄幼虫供试。

**黄杜鹃花** 1998 年 3 月采自广东省曲江县和乳源县。

### 1.2 提 取 方 法

黄杜鹃花在 23~27℃ 阳光下晒干或于 40℃ 以下烘干, 用植物粉碎机粉碎 (40 目) 后, 参考文献<sup>[5]</sup>方法得甲醇 (MeOH) 浸提物。然后参考 Klocke 等<sup>[6]</sup>的方法, 按甲醇浸提物 50

**[收稿日期]** 1999-07-13

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目 (39870440); 广东省自然科学基金资助项目 (970026)

**[作者简介]** 钟国华 (1973—), 男, 在读博士

g 溶于 10 倍甲醇-水(体积比 1:1)溶液的比例,装入分液漏斗内,加入等量二氯甲烷萃取分配,重复 3 次,然后在甲醇-水萃取相中再加入等量乙酸乙酯萃取 3 次,合并相同萃取液,分别浓缩至干,获得乙酸乙酯(EtOAc)萃取物、二氯甲烷( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )萃取物、甲醇-水( $\text{MeOH}-\text{H}_2\text{O}$ )萃取物。对 EtOAc 萃取物进行硅胶柱层析(硅胶 G, 200~300 目),以甲醇-二氯甲烷为洗脱剂进行梯度洗脱,以纯 EtOAc 为展开剂,柠檬酸乙醇溶液为显色剂,对各馏分与标准样品 R-Ⅱ 在羧甲基纤维素钠硅胶薄层板(TLC)展开比较。合并与 R-Ⅱ 的比移值(Rf)相同的馏分,减压浓缩并以高效液相色谱仪(HP 1100 型,美国惠普公司制造)测定 R-Ⅱ 的含量。

### 1.3 生物活性测定

**非选择性拒食作用** 以叶碟法测定。R-Ⅱ 用丙酮-乙醇-水混合溶剂(体积比 8:1:1)稀释成 200, 100, 50, 25 和 12.5  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  5 种质量浓度,其他提取物以同样的混合溶剂稀释成 10, 5, 2.1 和 0.5  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  的药液,将苋菜叶碟(直径 2 cm)在药液中浸 2 s 后取出,待溶剂挥发干后,放入已适当保湿的培养皿中。每处理 10~15 个重复,每重复 1 虫/皿。对照仅为混合溶剂。以最小二乘法求处理后 24 h 的拒食中质量浓度  $\text{AFC}_{50}$ 。

**选择性拒食作用** 在培养皿中放入并固定交错排列的对照和处理叶碟各 3 片,接入试虫 1 头。拒食率按下式计算。其余同非选择性拒食作用测定。

$$\text{选择性拒食率} = \frac{\text{CK 取食面积} - \text{处理取食面积}}{\text{CK 取食面积} + \text{处理取食面积}}$$

**毒杀作用** 采用饲喂法测定。质量浓度设置同拒食作用测定。苋菜叶浸渍供试样品后,待其溶剂挥发后,再放入培养皿,连续饲喂 48 h 后换用新鲜叶片至第 5 天。每处理 5 个重复,每重复 6 头试虫。求校正死亡率。

**生长抑制作用** 处理方法同毒杀作用测定。处理前后每天称虫体质量,按下式计算第 5 天虫体质量的增长抑制率,求生长抑制中质量浓度  $\text{IC}_{50}$ 。

$$\text{增长抑制率} = \frac{\text{CK 平均增加质量} - \text{处理平均增加质量}}{\text{CK 平均增加质量}}$$

## 2 结果与分析

### 2.1 闹羊花素-Ⅱ的含量

以 HPLC 测得分离所得的 R-Ⅱ 纯度为 81.58%, EtOAc 萃取物中 R-Ⅱ 含量为 96.13  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

### 2.2 拒食作用

R-Ⅱ 和黄杜鹃花提取物对甜菜夜蛾拒食作用的测定结果见表 1, 2。可见 R-Ⅱ 对甜菜夜蛾 3 龄幼虫具有强烈的拒食作用,非选择性和选择性  $\text{AFC}_{50}$  分别为 30.71 和 7.30  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。EtOAc 萃取物对试虫的非选择性和选择性  $\text{AFC}_{50}$  分别为 808.82 和 650.43  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,拒食活性明显高于其他提取物。

表 1 R-Ⅱ 和黄杜鹃花粗提取物对甜菜夜蛾 3 龄幼虫的非选择性拒食毒力

供试样品	毒力回归方程 $Y=a+bX$	相关系数	AFC <sub>50</sub> /(mg·L <sup>-1</sup> )	
			质量浓度	95%置信度
R-Ⅱ	$Y=2.9321+1.3904X$	0.9773*	30.71	19.87~47.48
MeOH 浸提物	$Y=-1.6405+1.8877X$	0.9998**	3294.37	3122.35~3441.49
EtOAc 萃取物	$Y=-0.5633+1.9132X$	0.9882**	808.82	429.87~1603.09
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 萃取物	$Y=-1.3671+1.8469X$	0.9746**	2801.90	1763.25~4174.19
MeOH-H <sub>2</sub> O 萃取物	$Y=-4.2269+2.4770X$	0.9722*	5309.21	2864.59~9844.39

注: \* 表示显著相关, \*\* 表示极显著相关, 下表同。

表 2 R-Ⅱ 和黄杜鹃花粗提取物对甜菜夜蛾 3 龄幼虫的选择性拒食毒力

供试样品	毒力回归方程 $Y=a+bX$	相关系数	AFC <sub>50</sub> /(mg·L <sup>-1</sup> )	
			质量浓度	95%置信度
R-Ⅱ	$Y=3.7784+1.4152X$	0.9931**	7.30	3.36~14.94
MeOH 浸提物	$Y=2.4915+0.8518X$	0.9005*	880.93	99.03~8044.59
EtOAc 萃取物	$Y=2.7500+0.7998X$	0.9893**	650.43	125.97~3123.67
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 萃取物	$Y=-0.8047+1.6779X$	0.9915**	1074.53	790.55~1544.39
MeOH-H <sub>2</sub> O 萃取物	$Y=1.0288+1.2037X$	0.9060*	1990.70	223.82~17846.28

### 2.3 毒杀作用

R-Ⅱ 对甜菜夜蛾毒杀作用的结果见图 1。可见用处理叶碟连续饲喂 48 h 后换用无毒叶片饲喂至第 5 天, R-Ⅱ 在 50 mg·L<sup>-1</sup> 时试虫校正死亡率仅为 56.67%, 其他提取物在 5 g·L<sup>-1</sup> 时校正死亡率也不超过 50%。

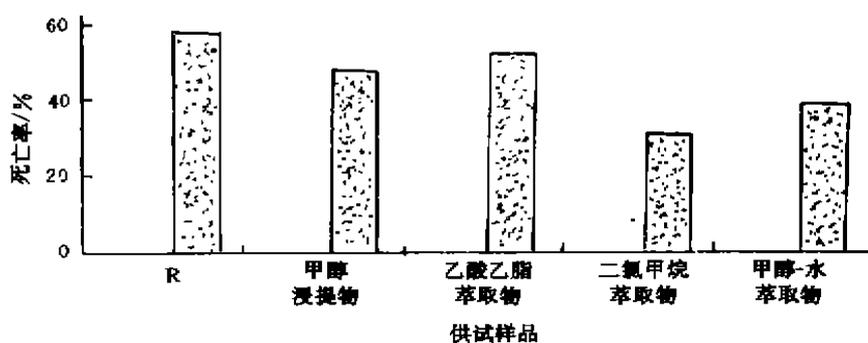


图 1 黄杜鹃花提取物对甜菜夜蛾 3 龄幼虫的毒杀作用

R 为 R-Ⅱ 50 mg·L<sup>-1</sup> 处理, 其他提取物的处理质量浓度为 5 g·L<sup>-1</sup>

### 2.4 生长抑制作用

甜菜夜蛾 3 龄幼虫虫体质量的生长情况如图 2 所示。经 50 mg·L<sup>-1</sup> R-Ⅱ 处理后第 5 天试虫质量增加 40.22 mg·头<sup>-1</sup>, 而对照增加 120.54 mg·头<sup>-1</sup>; 经 DMRT 法统计表明, 各处理生长抑制作用差异显著。处理第 5 天, R-Ⅱ 对试虫的 IC<sub>50</sub> 是 13.11 mg·L<sup>-1</sup>, 生长抑制作用强烈; EtOAc 萃取物的 IC<sub>50</sub> 为 1153.48 mg·L<sup>-1</sup> (表 3), 抑制作用显著高于其余提取物。

表 3 R-Ⅱ 和黄杜鹃花粗提取物对甜菜夜蛾 3 龄幼虫的生长抑制作用

供试样品	处理前 试虫质量/ (mg·头 <sup>-1</sup> )	毒力回归方程 $Y=a+bX$	相关系数	IC <sub>50</sub> /(mg·L <sup>-1</sup> )	
				质量浓度	95%置信度
R-Ⅱ	40.53±1.05 c	$Y=3.8135+1.0618X$	0.9978**	13.11	10.14~16.94
MeOH 浸提物	41.63±1.16 c	$Y=1.4472+0.8764X$	0.9426*	11320.27	3034.59~50138.39
EtOAc 萃取物	41.19±0.85 c	$Y=1.4199+1.1692X$	0.9641*	1153.48	397.75~3314.76
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 萃取物	41.00±1.10 c	$Y=1.9075+0.7988X$	0.9997**	7437.59	6764.38~8193.82
MeOH-H <sub>2</sub> O 萃取物	41.68±1.15 c	$Y=2.7264+0.5961X$	0.9912**	6518.17	3264.69~13043.05

注:处理前试虫质量后标字母相同者,表示在 5% 水平上差异不显著(DMRT 法)。

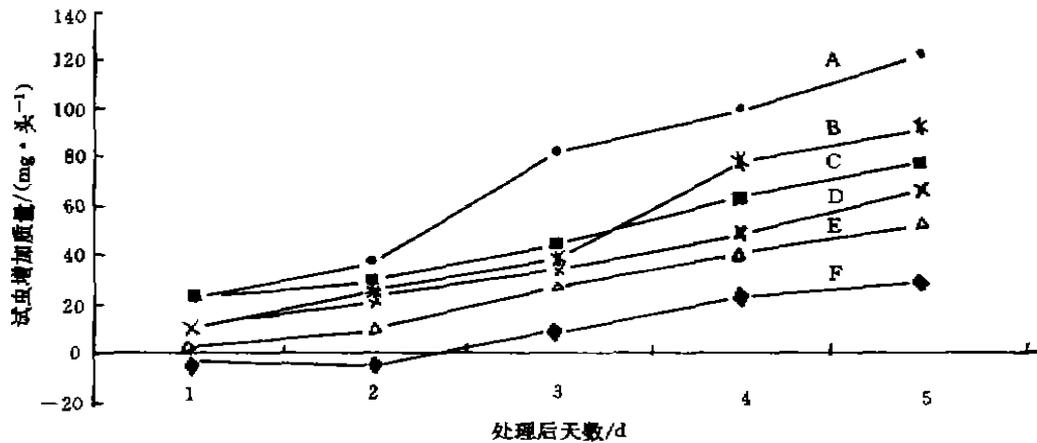


图 2 R-Ⅱ 和黄杜鹃花提取物对甜菜夜蛾 3 龄幼虫虫体质量增长的影响  
A. CK; B. MeOH-H<sub>2</sub>O 萃取物; C. MeOH 浸提物; D. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 萃取物; E. EtOAc 萃取物; F. R  
R 表示 R-Ⅱ 50 mg·L<sup>-1</sup> 处理,其他提取物处理质量浓度为 5 g·L<sup>-1</sup>

### 3 讨论与结论

许多试验和民间作为土农药使用的实践证明,黄杜鹃对多种害虫具有较强的触杀、胃毒、熏蒸、拒食和抑制生长发育等作用<sup>[5,7,8]</sup>,其主要成分 R-Ⅱ 对草地夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)、斜纹夜蛾(*Spodoptera litura*)等多种害虫的作用方式多样,活性较高<sup>[9-12]</sup>。甜菜夜蛾是一种易产生抗药性、较难防治的重要害虫。本试验发现 R-Ⅱ 等黄杜鹃花提取物,尤其是 EtOAc 萃取物,对甜菜夜蛾 3 龄幼虫具有强烈的拒食作用和生长抑制作用,R-Ⅱ 对试虫的选择性 AFC<sub>50</sub> 仅为 7.30 mg·L<sup>-1</sup>,IC<sub>50</sub> 为 13.11 mg·L<sup>-1</sup>。本试验结果为开发利用黄杜鹃防治甜菜夜蛾等害虫开拓了思路。通过分析 R-Ⅱ 的构效关系,修饰改造或合成最具经济价值的结构式,就有可能将其发展为商品化生产的天然产物农药,这方面的研究目前正在进行。

## [参考文献]

- [1] 谭沛祥. 华南杜鹃花志[M]. 广州: 广东科学技术出版社, 1983.
- [2] 苏建亚. 甜菜夜蛾的迁飞及在我国的发生[J]. 昆虫知识, 1998, 35(1): 55~57.
- [3] 尹仁国. 12 种常用农药防治甜菜夜蛾试验[J]. 中国蔬菜, 1993, (4): 35~36.
- [4] 关 雄, 黄志鹏, 彭建立, 等. 不同种类杀虫剂对甜菜夜蛾和小菜蛾药效测定[J]. 福建农业大学学报, 1996, 25(2): 168~172.
- [5] 胡美英, 赵善欢. 黄杜鹃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.
- [6] Klocke J A, Hu M Y, Chiu S F. Granyanoid diterpene insect antifeedants and insecticides from *Rhododendron molle*[J]. Phytochemistry, 1991, 30(6): 1797~1800.
- [7] 中华人民共和国农业部. 上农药志[M]. 北京: 农业出版社, 1958.
- [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.
- [9] 尚稚珍, 张庆林, 刘 准, 等. 黄杜鹃杀虫物质的提取与活性研究[J]. 化学生态物质, 1990, (2): 6~9.
- [10] 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.
- [11] 李晓东, 陈文奎, 胡美英. 印楝素、Rhodojaponin-Ⅱ对斜纹夜蛾的生物活性及作用的研究[J]. 华南农业大学学报, 1995, 16(2): 80~85.
- [12] Hu M Y, Klocke J A, Chiu S F. Response of five insects to botanical insecticidal insecticides, Rhodojaponin-Ⅱ[J]. J Econ Entomol, 1993, 86(3): 706~711.
- [13] 赵善欢. 2000 年杀虫剂及害虫化学防治的展望[J]. 农药, 1985, 24(4): 1~3.

## Bioactivities of the extracts from *Rhododendron molle* flowers against beet armyworm *Laphygma exigua*

ZHONG Guo-hua, HU Mei-ying, WENG Qun-fang

(Laboratory of Insect Toxicology, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** Preliminary studies on the bioactivities of the extracts from *Rhododendron molle* flowers against beet armyworm *Laphygma exigua* were conducted. The values of medium antifeeding concentration (AFC<sub>50</sub>) of R-Ⅱ and ethyl acetate (EtOAc) extract against 3rd larvae of *L. exigua* were 30.71 and 808.82 mg · L<sup>-1</sup> in no-choice tests, and were 7.30 and 650.43 mg · L<sup>-1</sup> in choice tests, respectively. Given the treated diet with R-Ⅱ and EtOAc extract for 48 h to larvae and after 5 days treatment, the values of IC<sub>50</sub> (the medium inhibitory concentration) were 13.11 and 1 153.78 mg · L<sup>-1</sup>, resp.

**Key words:** *Rhododendron molle* flowers; rhodojaponin-Ⅱ; *Laphygma exigua*