

萜类化合物对小菜蛾幼虫的拒食活性^{*}

韩招久^{1**} 王宗德² 姜志宽¹ 金宪杨³ 钱万红¹ 陈超¹ 陈金珠² 郑卫青^{1,2}

(1. 南京军区军事医学研究所 南京 210002; 2. 江西农业大学 南昌 330045;

3. 江苏省有害生物防制工程技术研究中心 常州 213000)

Antifeedant activity of terpene compounds against larvae of the diamondback moth, *Plutella xylostella*. HAN Zhao-Jiu^{1**}, WANG Zong-De², JIANG Zhi-Kuan¹, JIN Xian-Yang³, QIAN Wan-Hong¹, CHEN Chao¹, CHEN Jin-Zhu², ZHENG Wei-Qing^{1,2} (1. *Military Medical Institute of Nanjing Command*, Nanjing 210002, China; 2. *Jiangxi Agricultural University*, Nanchang 330045, China; 3. *Research Centre for Pest Control Engineering and Technique of Jiangsu Province*, Changzhou 213000, China)

Abstract The antifeedant activities of twenty six terpene compounds synthesized from turpentine were tested with 4th instar larvae of diamond back moth, *Plutella xylostella* (L.), using dipped cabbage discs. Six of these compounds numbered 2, 4, 8, 13, 27 and 31, namely nopol, nopyl propyl ether, endo-isocamphanyl methanol propionate, 4-(1-methyl ethylene)-1-cyclohexenyl-1-ethol propionate, hydroxycitronellal propionate and hydroxycitronellal 1, 2-propanediol acetal, showed rather high antifeedant activity, and compound 2, 4 and 8 displayed the highest. Compounds 2, 4 and 8 held 98.33%, 99.80% and 100.00% antifeedant rate respectively 24 hours later, and 92.67%, 89.97% and 98.73% 72 hours later when the leaf discs were treated at the dosage of 0.01 g/mL. While the dosage was 0.001 g/mL, the antifeedant rates were 85.60%, 83.90% and 66.97% 24 hours later, and 63.20%, 63.30% and 45.93% 72 hours later respectively. The results also showed that the antifeedant activity went high with the dosage increase, down with the time going.

Key words terpene compounds, antifeedant rate, *Plutella xylostella*

摘要 采用叶碟浸液法测试从松节油合成的 26 个不同结构萜类化合物样品对小菜蛾 *Plutella xylostella* (L.) 4 龄幼虫的拒食活性。结果显示, 编号为 2, 4, 8, 13, 27, 31 的 6 个化合物, 即诺卜醇、诺卜丙基醚、内型异茨烷基甲醇丙酸酯、4-(1-甲基乙烯基)-1-环己烯-1-乙醇丙酸酯、羟基香茅醛丙酸酯、羟基香茅醛 1, 2-丙二醇缩醛具有较高的拒食活性。处理有效成分为 0.01 g/mL 时, 这 6 个化合物 24 h 拒食率为 70%~100%。其中 2, 4, 8 号 3 个化合物拒食活性最高, 处理有效成分为 0.01 g/mL 和 0.001 g/mL 时, 24 h 拒食率分别为 98.33%, 99.80%, 100.00% 和 85.60%, 83.90%, 66.97%; 并且持效性较好, 72 h 拒食率分别为 92.67%, 89.97%, 98.73% 和 63.20%, 63.30%, 45.93%。

关键词 萜类化合物, 拒食率, 小菜蛾

自从有机杀虫剂出现以来, 以昆虫神经系统为作用靶标的杀虫剂在害虫防治工作中占据重要地位, 成为防治害虫的主导药剂。由于脊椎动物与昆虫在神经生理上的相似性, 大多数杀虫剂的作用靶标在人和其它脊椎动物体内同样存在, 因此这些杀虫剂在有效防治害虫的同时, 也对人、畜的生命安全造成威胁。长期大量地使用杀虫剂, 使得昆虫抗药性迅速发展。到 2000 年, 对杀虫剂产生抗性害虫接近 550 种^[1]。

抗药性的迅速发展, 不仅使害虫防治工作面临困难, 也引发更加严重的环境问题和农产品安全问题。

昆虫拒食剂与传统杀虫剂的作用机理不同, 具有安全、对环境友好、不易产生抗性的特

* 江苏省自然科学基金项目(BK2005003)。

**E-mail: zhaojiah@yahoo.com.cn

收稿日期: 2006-12-21, 修回日期: 2007-04-04, 再修回: 2007-05-11

点^[2],在害虫防治领域有重要的作用。昆虫拒食剂在应用过程中的着眼点是在于保护,而传统杀虫剂则是杀灭。植物在与昆虫的长期协同进化过程中形成了许多新的代谢途径来产生具有拒食功能的次生代谢物质。从植物中发现、分离昆虫拒食剂是一个重要的研究开发思路。

我国松节油资源丰富,年产量约有 10 万吨,但是我国松节油的深加工利用率却只有约 35%,在深加工比例与产品品种上与发达国家有明显的差距^[3]。松节油的主要组分 α -蒎烯和 β -蒎烯是价廉易得的天然精油,其分子结构赋予了它们良好的化学反应性能,比较容易通过合适的反应得到萜类化合物^[4]。目前发现的活性高,具有应用前景的昆虫拒食剂大部分属于萜类化合物。松节油中也含有微量的倍半萜类物质^[5]。有研究证明松节油本身对一些昆虫具有拒食活性^[6]。

项目组针对性地由松节油合成了多个系列萜类化合物。本研究测试这些化合物对常见的蔬菜害虫小菜蛾 *Plutella xylostella* (L.) 的拒食活性,以期筛选出具有高拒食活性的化合物,为今后小菜蛾的防治提供一些安全的药剂。

1 材料与方法

1.1 试验材料

(1)供试药剂:本小组成员王宗德负责在江西农业大学林学院以松节油为原料合成的 26 个萜类化合物(表 1)。

(2)供试昆虫:小菜蛾 4 龄幼虫为南京农业大学昆虫系在室内饲养并提供(该种群在室内饲养 2 年),饲养方法采用蛭石萝卜苗法^[7]。

1.2 试验方法

(1)药剂配制:用无水乙醇将各化合物分别配制成 0.1 g/mL 的母液,然后用含 5%吐温-20 的水稀释成 0.01, 0.001 g/mL 的有效成分,用作拒食活性的测试。

(2)活性测试:用手动打孔器将甘蓝叶片制成的直径 15 mm 的圆形叶碟,在供试药液或对照溶剂中浸渍 5 s,置吸水纸上晾干。在底部垫有湿润滤纸的直径 9 cm 的培养皿中放入处理

和对照叶碟各 4 片,呈十字形交叉排列。每个培养皿中央空白处放入饥饿 2 h 的小菜蛾 4 龄前期幼虫 10 只,分别于 24, 48, 72 h 观察记录各叶碟上的被取食面积。面积(mm^2)的测量采用透明塑料薄膜坐标卡(精度为 1 mm^2 片)计数。测试时的室内条件控制为 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$, 16 h 光照, 8 h 黑暗,相对湿度 60%~70%。拒食率的计算式:

拒食率(%) =

$$\frac{\text{对照叶碟被取食面积} - \text{处理叶碟被取食面积}}{\text{对照叶碟被取食面积}} \times 100\%$$

2 结果与分析

初筛采用较高浓度(0.01 g/mL),只设 1 个重复对 26 个萜类化合物进行初步快速的筛选,以初步观察这些化合物对小菜蛾 4 龄幼虫的拒食活性的差异。对取食情况观察,24 h 取食面积最大的 1 个处理为 300 mm^2 ,为总面积的 21%;48 h 的最大取食面积为 1 000 mm^2 ,占总面积的 71%,取食面积超过总面积一半的处理有 3 个。各化合物表现出来的拒食率差异显著(表 2),24, 48 h 的拒食率从-58.82%(6 号)到 100%(2 号、4 号等)。其中 2, 4, 8, 13, 27, 31 等化合物(化学名分别为诺卜醇、诺卜丙基醚、内型异蒎烷基甲醇丙酸酯、4-(1-甲基乙烯基)-1-环己烯-1-乙醇丙酸酯、羟基香茅醛丙酸酯、羟基香茅醛 1,2-丙二醇缩醛)表现出的拒食活性最高,24 h 和 48 h 的拒食率均为 100%。因此对这 6 个拒食活性较高的化合物进行进一步的活性试验。

进一步用 0.01 和 0.001 g/mL 有效成分测试编号为 2, 4, 8, 13, 27, 31 等 6 个化合物的拒食活性,每有效成分处理设 3 个重复。结果(表 3)显示,6 个化合物对小菜蛾 4 龄幼虫具有程度不等的拒食活性。2、4 号化合物具有较好的拒食效果,在有效成分 0.01 g/mL 时,24, 48, 72 h 拒食活性基本都在 90%以上,0.001 g/mL 有效成分时,拒食活性在 60%~90%之间。8 号化合物在 0.01 g/mL 有效成分时,24, 48 h 拒食

表 1 26 个萜类化合物的编号、纯度及结构式

编号 (纯度%)	结构式	编号 (纯度%)	结构式	编号 (纯度%)	结构式
2 (98.7)		11 (94.7)		23 (89.3)	
3 (94.2)		12 (96.3)		24 (92.0)	
4 (94.1)		13 (94.2)		25 (88.0)	
5 (96.7)		14 (99.3)		27 (70.0)	
6 (98.9)		15 (99.1)		29 (90.2)	
7 (85.2)		16 (95.2)		30 (81.0)	
8 (85.6)		17 (90.5)		31 (92.2)	
9 (62.6)		18 (80.0)		33 (98.2)	
10 (86.2)		21 (99.0)			

表 2 萜类化合物对小菜蛾拒食活性的初步筛选结果

编号	24 h 取食面积及拒食率			48 h 取食面积及拒食率		
	对照	处理	拒食率	对照	处理	拒食率
	(mm ²)	(mm ²)	(%)	(mm ²)	(mm ²)	(%)
2	112	0	100.00	630	0	100.00
3	73	24	67.12	151	58	61.59
4	85	0	100.00	520	0	100.00
5	95	3	96.84	184	62	66.30
6	90	26	71.11	170	270	-58.82
7	200	0	100.00	440	4	99.09
8	128	0	100.00	176	0	100.00
9	230	0	100.00	250	111	55.60
10	70	0	100.00	180	48	73.33
11	52	0	100.00	78	18	76.92
12	215	8	96.28	222	114	48.65
13	53	0	100.00	93	0	100.00
14	50	2	96.00	180	70	61.11
15	97	6	93.81	230	66	71.30
16	26	3	88.46	219	53	75.80
17	127	0	100.00	560	140	75.00
18	109	7	93.58	446	152	65.92
21	55	0	100.00	68	20	70.59
23	56	10	82.14	83	52	37.35
24	51	8	84.31	80	124	-55.00
25	9	16	-77.78	280	70	75.00
27	29	0	100.00	80	0	100.00
29	130	1	99.23	172	66	61.63
30	26	0	100.00	66	13	80.30
31	14	1	92.86	55	10	81.82
33	240	60	75.00	530	490	7.55

注: 各化合物使用有效成分均为 0.01 g/mL.

表 3 6 个萜类化合物对小菜蛾的拒食活性

编号	有效成分 (g/mL)	不同时间(h)拒食率(%)		
		24 h	48 h	72 h
2	0.01	98.33±2.89	93.50±5.73	92.67±5.14
	0.001	85.60±13.93	58.80±26.26	63.20±15.59
4	0.01	99.80±0.35	90.67±9.25	89.97±12.19
	0.001	83.90±15.40	78.37±9.83	63.30±19.36
8	0.01	100.00±0.00	100.00±0.00	98.73±1.10
	0.001	66.97±17.29	46.20±7.67	45.93±11.38
13	0.01	79.03±20.47	65.83±34.61	63.20±34.89
	0.001	28.47±67.45	33.23±39.04	33.53±33.99
27	0.01	86.43±12.30	77.03±21.73	66.93±34.87
	0.001	9.77±22.48	14.77±27.03	11.87±11.03
31	0.01	86.43±12.40	76.67±40.41	82.37±23.42
	0.001	70.03±15.92	46.07±18.19	4.30±33.96

注: 拒食率为平均值±标准差.

率均为 100%, 72 h 的拒食率为 98.73%, 在

0.001 g/mL 时, 24, 48, 72 h 拒食率在 70%~40% 之间. 13 号化合物在 0.01 g/mL 有效成分时, 24, 48, 72 h 拒食率在 80%~60% 之间, 0.001 g/mL 时, 拒食效果较低, 仅为 28%~35% 之间, 且处理间的差异较大. 27, 31 号化合物在 0.01 g/mL 有效成分时, 24, 48, 72 h 的拒食率为 86%~65%, 当有效成分为 0.001 g/mL 时, 拒食活性较低.

3 小结与讨论

多年来, 我国的科技工作者开展了一些植物源昆虫拒食剂方面的研究, 取得了一定进展. 由于较少对植物源昆虫拒食剂进行成分的分离、鉴定, 以及通过植物次生物质合成拒食剂的尝试, 难以明确分离物中有效成分的化学结构、准确含量等, 影响了在实际中的应用和推广.

我国松节油资源丰富, 但是深加工比例不高, 途经不多. 近年来, 我国松节油在农业领域的研究与应用有所拓展, 但还局限于作为农药的有机溶剂和农药增效剂等狭小的范围^[8]. 利用松节油为原料合成一系列萜类化合物, 进行拒食活性的筛选是开辟松节油深加工产业新领域的有益尝试.

小菜蛾是蔬菜种植过程中危害最为严重的害虫之一. 由于年发生代数多, 发育不整齐, 世代重叠, 生产上主要依赖化学防治, 且农药使用的剂量大、频度高, 从而导致抗药性发展迅速. 在很多国家, 小菜蛾已经对所有的用于对其进行防治的合成杀虫剂产生了抗性^[9,10]. 如果能够筛选出对小菜蛾幼虫有较高活性的拒食剂, 将会丰富对小菜蛾的防治策略.

课题组在大量分析探讨的基础上, 有针对性地由松节油合成了多个系列萜类化合物. 本研究测试了这些化合物对小菜蛾的拒食活性. 在对 26 个化合物进行初步活性筛选后, 发现其中拒食活性明显较高的有 6 个化合物. 这 6 个化合物中, 以 2, 4, 8 号 3 个化合物的拒食活性最高.

本研究表明, 萜类化合物对小菜蛾幼虫的拒食活性表现出明显的剂量效应和时间效应

(表 3), 即浓度越高, 活性也越高, 但是, 随着时间增加, 活性降低。另外, 萜类化合物对小菜蛾幼虫拒食活性还表现出结构多样性, 可以是醇类如 2 号, 醚类如 4 号, 酯类如 8, 13, 27 号, 也有缩醛类如 31 号(表 1)。这种多样性虽然体现了萜类化合物结构与拒食活性的复杂性, 但是也增加了针对不同昆虫筛选出特异拒食剂的可能性, 拓宽了筛选化合物的范围。随着研究的深入, 如合成化合物种类的增加, 测试昆虫种类的丰富, 将有可能根据需要, 筛选出或高效广谱、或高效特异的萜类昆虫拒食剂。

参 考 文 献

- Denholm I., Devine G. J., Williamson M. S. *Science*, 2002, **297** (5 590): 2 222~2 223.
- Edwin A., Klein G., Ben J. M. J., Aede de G. *Phytochemistry*, 2002, **61**(7): 737~770.
- 宋湛谦. 林产化学与工业, 2005 **25**(增刊): 10~14.
- 王宗德, 姜志宽, 宋湛谦. 中华卫生杀虫药械 2004, **8**(1): 37~40.
- 赵振东, 刘先章. 林产化工通讯, 2001, **35**(1): 42~47.
- 秦玉洁, 吴伟坚, 黄寿山, 梁广文. 植物保护, 2001, **27**(6): 4~6.
- 刘传秀, 韩招久, 李凤良, 陈之浩. 昆虫知识, 1993 **30**(6): 341~344.
- 赵振东, 刘先章. 林产化工通讯, 2002, **36**(2): 37~42.
- Talekar N. S., Yang J. C., Lee S. T. (eds.), Annotated Bibliography of Diamondback Moth Volume 2 Shanhu, Taiwan; Asian Vegetable Research and Development Center, 1990 199.
- Talekar N. S., Yang H. C., Lee S. T., Chen B. S., Sun L. Y. (eds.), Annotated Bibliography of Diamondback Moth. Shanhu, Taiwan; Asian Vegetable Research and Development Center, 1985 469.

柑橘大实蝇的产卵特性^{*}

张小亚¹ 周兴苗¹ 黄绍哲¹ 韩庆海² 雷朝亮^{1**}

(1. 华中农业大学昆虫资源研究所 武汉 430070; 2 湖北省宜昌市夷陵区植保站 宜昌 444100)

The oviposition preference of *Bactrocera (Tetradacus) minax*. ZHANG Xiao-Ya¹, ZHOU Xing-Miao¹, HUANG Shao-Zhe¹, HAN Qin-Hai², LEI Chao-Liang^{1**} (1. *Institute of Insect Resources, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China*; 2. *Yiling Plant Protection Station, Yichang 444100, China*)

Abstract The selection characteristics of oviposition of *Bactrocera (Tetradacus) minax* (Enderlein) was studied on 3 kinds of citrus in the orchard to understand the oviposition behavior and the temporal changes of oviposition of *B. minax*. The results showed that *B. minax* preferred laying eggs on hybrid citrus and the fruits of 3 kinds of citrus were all seriously infected by *B. minax* in the north of middle layer on the trees. The research also showed that *B. minax* preferred ovipositing on the fruits with $\Phi(3.3 \pm 0.2)$ cm.

Key words *Bactrocera (Tetradacus) minax*, oviposition, host, damage rate

摘 要 通过田间调查, 明确柑橘大实蝇 *Bactrocera (Tetradacus) minax* (Enderlein) 的产卵特性和在 3 种寄主植物上产卵的时间动态。柑橘大实蝇对杂柑为害率最高, 3 个寄主品种均以中层北面果实受害严重。柑橘大实蝇最喜在直径为 (3.3 ± 0.2) cm 的果实上产卵。

关键词 柑橘大实蝇, 产卵, 寄主, 危害率

柑橘大实蝇 *Bactrocera (Tetradacus) minax* (Enderlein), 隶属于双翅目, 实蝇科, 果实蝇属, 大实蝇亚属^[1]。是国家公布的对内检疫性害虫之一, 可危害柑橘等多种寄主植物。目前, 有关该虫对不同寄主植物的危害报道较少^[2~4], 而对不同寄主植物产卵选择性的研究尚未见报

道。为进一步了解该虫的生物学习性, 探明该

* 湖北省科技攻关项目(2003AA201C01)。

** 通讯作者: joir @mail.hzau.edu.cn

收稿日期: 2006-11-20, 修回日期: 2006-12-15,

接受日期: 2007-03-13