

## 灰毛豆种子甲醇提取物对黑肩绿盲蝽成虫的安全性

李冠华<sup>1,2</sup>, 刘双清<sup>2</sup>, 曹杨<sup>1</sup>, 曾东强<sup>3</sup>, 李有志<sup>1\*</sup>

(1.湖南农业大学 生物安全科学技术学院,湖南 长沙 410128;2.植物病虫害生物学与防控湖南省重点实验室,湖南 长沙 410128;3.广西大学 农药与环境毒理研究所,广西 南宁 530005)

**摘 要:** 为评价灰毛豆种子甲醇提取物对白背飞虱天敌黑肩绿盲蝽的安全性,比较了提取物对黑肩绿盲蝽成虫和白背飞虱 3 龄若虫的杀虫毒力,测定了提取物对黑肩绿盲蝽成虫存活时间和捕食功能的影响。结果表明,提取物对黑肩绿盲蝽成虫的毒力远低于对白背飞虱 3 龄若虫的毒力,处理后 48 h 的  $LC_{50}$  值分别为 298.8 和 16.3 mg/L;用 10 mg/L 的提取物处理后,黑肩绿盲蝽成虫对白背飞虱 3 龄若虫密度变化的功能反应符合 Holling-II 功能反应模型,处理后第 1 天的捕食能力增强,第 2、3 天捕食能力逐日下降;黑肩绿盲蝽成虫接触提取物后,存活时间为 13.3 d,显著低于未接触提取物的存活时间 21.3 d。综合试验结果,灰毛豆种子甲醇提取物对黑肩绿盲蝽成虫不安全。

**关 键 词:** 灰毛豆种子;甲醇提取物;黑肩绿盲蝽;功能反应;安全性评价

中图分类号: S482.3<sup>+</sup>9 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2011)05-503-04

## Safety evaluation of the methanol extracts from *Tephrosia purpurea* seeds on the adults of *Cryptorhinus levidipennis*

LI Guan-hua<sup>1,2</sup>, LIU Shuang-qing<sup>2</sup>, CAO Yang<sup>1</sup>, ZENG Dong-qiang<sup>3</sup>, LI You-zhi<sup>1\*</sup>

(1.College of Biosafety Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128,China; 2. Hunan Provincial Key Laboratory for Biology and Control of Plant Diseases and Insect Pests, Changsha 410128, China; 3. Institute of Pesticide and Environmental Toxicology, Guangxi University, Nanning 530005, China)

**Abstract:** In order to evaluate the safety of the methanol extracts from *Tephrosia purpurea* seeds on *Cryptorhinus levidipennis* adult, the insecticidal toxicity of the extracts were determined against *C. levidipennis* adult and the third instar nymph of *Sogatella furcifera*, the surviving period and function response to the third instar nymph of *S.furcifera* of *C. levidipennis* adult after exposure to the extracts at the dosage of 10.0 mg/L were studied. The results showed that the insecticidal activity of the extracts against the *C. levidipennis* adult was lower than that against the third instar nymph of *S. furcifera*, with respective  $LC_{50}$  value being 298.8 and 16.3 mg/L at 48 h after exposure to the extracts. The function response model belonged to Holling-II type. After exposure to the extracts, the parameters of model changed, in the first day the predatory capacity of the natural enemy was enhanced, and then gradually declined in the second and the third day; the surviving time of the natural enemy after exposure to the extracts was significantly shortened from 21.3 d to 13.3 d. Thus the extract is not safe to *C. levidipennis*.

**Key words:** *Tephrosia purpurea* seeds; the methanol extracts; *Cryptorhinus levidipennis*; functional response; safety evaluation

收稿日期: 2011-02-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(31071715);教育部博士点新教师基金项目(20094320120002);湖南省教育厅青年基金项目(09B048, CX2010B297)

作者简介: 李冠华(1976—),女,湖南耒阳人,硕士研究生,农艺师,主要从事植物源杀虫剂研究, lgh202@126.com; \*通信作者, liyouzhi2008@sina.com

植物源杀虫剂为植物次生代谢产物,易降解为无毒化合物,被认为对天敌等非靶标生物影响较小<sup>[1-2]</sup>,但对于数量庞大且结构复杂多样的植物次生代谢产物尚无可靠的、全面的试验数据证明其对害虫天敌是安全的。灰毛豆(*Tephrosia purpurea*)含有鱼藤酮类杀虫化合物<sup>[3-6]</sup>,笔者研究灰毛豆种子甲醇提取物对稻田害虫天敌黑肩绿盲蝽(*Cryptorhinus levidipennis* Reter)成虫捕食能力的影响,探讨植物源成分对天敌的安全性,以期为灰毛豆植物的合理开发利用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

灰毛豆种子采集自湖南省江永县。

白背飞虱(*Sogatella furcifera*)于室内用水稻苗继代饲养(温度(28±1)℃,相对湿度(75±5)%),以3龄若虫作试虫;采集田间黑肩绿盲蝽若虫,于室内饲养,用进入成虫期24~48h的成虫作试虫。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 灰毛豆种子甲醇提取物的制备

灰毛豆种子阴干后烘干(温度(55±1)℃),粉碎后过孔径635 μm筛,称取干粉,用约5倍质量的甲醇冷浸72h过滤。共浸提3次,合并滤液后减压浓缩。蒸干溶剂,得种子稠膏提取物。保存于冰箱备用。

#### 1.2.2 灰毛豆种子甲醇提取物生物活性的测定

1) 对白背飞虱和黑肩绿盲蝽的触杀作用。采用药膜法<sup>[7]</sup>,每处理30头虫,重复3次,分别于处理后48h统计活虫数。

2) 对黑肩绿盲蝽成虫捕食白背飞虱功能反应

的影响。将黑肩绿盲蝽成虫分为2组,一组未接触提取物,另一组接触10.0 mg/L的提取物(采用药膜法)。用吸虫管将羽化24~48h的黑肩绿盲蝽成虫吸入直径为3cm的玻璃管内,玻璃管两端用纱布密封。待黑肩绿盲蝽成虫在26℃的环境条件下饥饿4h后,将1株孕穗期的水稻苗(根部包棉花蘸水保湿)放入玻璃管内,再将发育一致的白背飞虱3龄若虫转入玻璃管内,飞虱量分别为1、3、5、8、15、30和40头<sup>[8-9]</sup>。接入飞虱后1、2、3d后统计每管飞虱活虫数,并及时补充到原来的虫口密度。重复3次。

3) 对黑肩绿盲蝽成虫存活时间的影响。分别统计各玻璃管内黑肩绿盲蝽成虫的存活天数,在存活期内每天及时补充饲料和保湿的水分。

### 1.3 数据处理

生物测定毒力回归方程的拟合使用DPS软件(Version 9.5);功能反应数据参照文献<sup>[9-10]</sup>,对功能反应的结果用最小二乘法拟合Holling圆盘方程,拟合结果用 $F$ 和 $\chi^2$ 检验;两组数据之间的比较通过 $t$ 测验。Holling圆盘方程 $Na=a \times N_0 / (1+a \times Th \times N_0)$ ,式中: $Na$ 为捕食量, $N_0$ 为猎物密度, $a$ 为瞬时攻击率, $Th$ 为处理猎物时间。

## 2 结果与分析

### 2.1 灰毛豆种子甲醇提取物对白背飞虱和黑肩绿盲蝽的触杀活性

灰毛豆种子甲醇提取物处理白背飞虱3龄若虫和黑肩绿盲蝽成虫,48h的 $LC_{50}$ 值分别为16.4和298.8 mg/L,提取物对黑肩绿盲蝽成虫的毒力较白背飞虱低。选择毒力系数为18.1,说明提取物在黑肩绿盲蝽和白背飞虱之间有较好的选择作用。

表1 灰毛豆种子甲醇提取物对白背飞虱和黑肩绿盲蝽的毒力

Table 1 Toxicity of the methanol extracts of *T. purpurea* seeds against *C. levidipennis* adult and the third instar nymph of *S. furcifera* at 48 h after treatment

试虫	毒力回归方程	$LC_{50}$ 及其95%置信限/(mg·L <sup>-1</sup> )	卡方值
白背飞虱	$y=2.98+1.66x$	16.3(11.6~21.4)	0.793 7
黑肩绿盲蝽	$y=-1.07+2.45x$	298.8(196.8~376.0)	0.990 6

### 2.2 灰毛豆种子甲醇提取物对黑肩绿盲蝽成虫捕食白背飞虱功能反应的影响

图 1 结果显示,黑肩绿盲蝽成虫捕食白背飞虱 3 龄若虫的数量与白背飞虱的密度呈负加速曲线关系,符合 Holling-II 功能反应模型:即在本试验设计密度范围内,黑肩绿盲蝽的捕食量随白背飞虱密度的增大而增大,当白背飞虱密度达到一定限度时,捕食量会趋于稳定,提取物能刺激黑肩绿盲蝽兴奋,使其捕食能力增强。

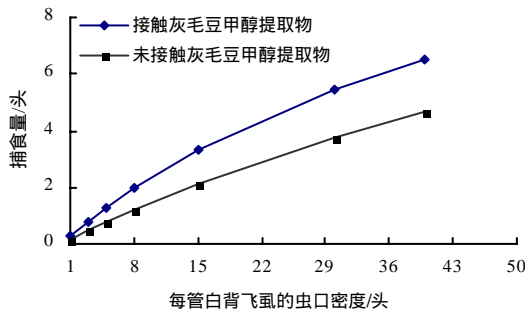


图 1 灰毛豆种子甲醇提取物对黑肩绿盲蝽成虫捕食白背飞虱 3 龄若虫功能反应的影响

Fig.1 Effect of the methanol extracts from *T. purpurea* seeds on function response of *C. levidipennis* adult to the third instar nymph of *S. furcifera* (24 h)

表 2 黑肩绿盲蝽成虫接触 10.0 mg/L 灰毛豆种子甲醇提取物后捕食白背飞虱 3 龄若虫的功能反应模型

Table 2 Function response models of *C. levidipennis* adult to the third instar nymph of *S. furcifera* after exposure to the extracts from *T. purpurea* seeds at the dosage of 10 mg/L

时间	捕食者是否接触药剂	模拟方程 $Na=a \times N_0 / (1+a \times Th \times N_0)$	模型检验	回归系数检验	日最大捕食量/头	Th/d	a
第 1 天	未接触	$Na=0.167 \times N_0 / (1+0.167 \times 0.065 N_0)$	$F=173.12 (P<0.01)$	$T=57.3 (P<0.01)$	15.3	0.065	0.167
	接触	$Na=0.283 \times N_0 / (1+0.283 \times 0.042 N_0)$	$F=78.26 (P<0.01)$	$T=61.2 (P<0.01)$	23.8	0.042	0.283
第 2 天	未接触	$Na=0.164 \times N_0 / (1+0.164 \times 0.067 N_0)$	$F=113.47 (P<0.01)$	$T=58.7 (P<0.01)$	14.9	0.067	0.164
	接触	$Na=0.132 \times N_0 / (1+0.132 \times 0.091 N_0)$	$F=119.11 (P<0.01)$	$T=54.6 (P<0.01)$	10.9	0.091	0.132
第 3 天	未接触	$Na=0.172 \times N_0 / (1+0.172 \times 0.063 N_0)$	$F=107.24 (P<0.01)$	$T=52.2 (P<0.01)$	15.8	0.063	0.172
	接触	$Na=0.531 \times N_0 / (1+0.531 \times 0.061 N_0)$	$F=106.65 (P<0.01)$	$T=51.6 (P<0.01)$	1.8	0.061	0.531

### 2.3 灰毛豆种子甲醇提取物对黑肩绿盲蝽成虫存活时间的影响

统计数据表明,接触 10.0 mg/L 提取物后,黑肩绿盲蝽的存活时间为(13.3±2.1) d,而未接触提取物的黑肩绿盲蝽成虫的存活时间为(21.3±1.7) d。t 测验结果表明,两者间差异显著,说明黑肩绿盲蝽成虫接触提取物后存活时间显著缩短。

从第 1 天的结果(表 2)来看,未接触提取物的黑肩绿盲蝽成虫捕食 1 头白背飞虱 3 龄若虫的处理时间为 0.065 d,瞬时攻击率为 0.167,而接触提取物的黑肩绿盲蝽成虫捕食 1 头白背飞虱的处理时间为 0.042 d,瞬时攻击率为 0.283。由于接触提取物的黑肩绿盲蝽处理 1 头白背飞虱的处理时间缩短,瞬时攻击率提高,接触提取物的黑肩绿盲蝽成虫在处理第 1 天的日最大捕食量理论值(23.8 头)大于未接触提取物的日最大捕食量理论值(15.3 头)。

综合第 1、2、3 天结果来看,接触提取物后,黑肩绿盲蝽成虫的瞬时攻击率逐日下降,处理 1 头飞虱的时间逐日延长,日最大捕食量理论值逐日下降;未接触提取物的黑肩绿盲蝽的日最大捕食量理论值、瞬时攻击率和处理时间均变化不大。造成这种结果的原因可能是接触提取物后,提取物刺激黑肩绿盲蝽短时间(第 1 天)内兴奋度提高,捕食能力增强,随后由兴奋变为抑制,捕食能力逐渐降低。

## 3 讨论

黑肩绿盲蝽是稻田飞虱类和叶蝉类害虫的重要天敌<sup>[11]</sup>。以往对该虫的研究主要集中于寄主范围、抗性品种、Bt 水稻、稻株挥发性物质以及稻株伤液流等方面<sup>[12-15]</sup>。对它与猎物关系的研究着重于捕食选择性、捕食能力、功能反应以及与环境的关系<sup>[8-11]</sup>。本研究结果表明,黑肩绿盲蝽成虫捕食白

背飞虱 3 龄若虫符合 Holling-II 功能反应模型(表 2), 与以往的研究结果<sup>[9-10,15]</sup>基本一致。灰毛豆种子甲醇提取物对白背飞虱若虫和黑肩绿盲蝽成虫的选择性较好; 可短期内刺激黑肩绿盲蝽成虫兴奋, 捕食能力增强; 能刺激黑肩绿盲蝽短时间内兴奋, 但随后由兴奋变为抑制。黑肩绿盲蝽成虫接触提取物后存活时间显著缩短。如果仅考虑该植物种子提取物对黑肩绿盲蝽毒力远低于白背飞虱(表 1)和第 1 天该天敌捕食能力增强的结果(表 2), 该植物提取物似乎对黑肩绿盲蝽成虫是安全的。但综合黑肩绿盲蝽成虫接触提取物后存活时间明显缩短和表 2 中第 2、3 天的结果, 表明低剂量的提取物对黑肩绿盲蝽成虫并不安全。

有关杀虫剂对天敌安全性评价, 通常是比较杀虫剂对害虫及其天敌毒力值的大小, 或者测定其功能反应<sup>[7, 16-17]</sup>后, 据此评估杀虫剂对天敌是否安全。从本研究的结果来看, 在研究杀虫活性成分对天敌安全性评价时, 仅仅观察 1~2 个指标是不够的; 因此, 如何建立合理的杀虫活性成分对天敌安全的评价体系值得进一步深入研究。

#### 参考文献:

- [1] Laurence D, Jean-Philippe D, Christiane G. The evolutionary ecology of insect resistance to plant chemicals[J]. Trends in Ecology and Evolution, 2007, 22(6): 298-307.
- [2] Veal L. The potential effectiveness of essential oil as a treatment for headlice, *Pediculus humanus capitis*[J]. Complement Ther Nurs Midwifery, 1996, 2(4): 97-101.
- [3] 李有志, 黄素青, 徐汉虹. 灰毛豆甲醇提取物的杀虫活性[J]. 昆虫知识, 2007, 44(5): 680-684.
- [4] Gupta R K, Krishnamurti M, Parthasarathi L. Purpurin, a new flavanone from *Tephrosia purpurea* seeds[J]. Phytochemistry, 1980, 19(6): 1264.
- [5] Andrei C C, Ferreira D T, Faccione M, et al. C-prenylflavonoids from roots of *Tephrosia tunicate*[J]. Phytochemistry, 2000, 55(7): 799-804.
- [6] Ahmad V U, Ali Z, Hussaini S R, et al. Flavonoids of *Tephrosia purpurea*[J]. Fitoterapia, 1999, 70(4): 443-445.
- [7] 赵学平, 俞瑞鲜, 苍涛, 等. 不同农药对褐飞虱及其天敌黑肩绿盲蝽的影响[J]. 农药, 2008, 47(1): 74-76.
- [8] 吕仲贤, 余晓平, Heong Kong Luen, 等. 稻田氮肥施用量对黑肩绿盲蝽捕食功能的影响[J]. 昆虫学报, 2005, 48(1): 48-56.
- [9] 张清泉, 张雪丽, 陆温. 黑肩绿盲蝽对褐飞虱密度变化的功能反应[J]. 农家之友: 理论版, 2008(3): 9-11.
- [10] 王智, 宋大祥, 朱明生. 低剂量农药作用下拟环纹豹蛛对褐飞虱的功能反应及搜寻行为[J]. 昆虫学报, 2006, 49(2): 295-301.
- [11] 娄永根, 程家安. 黑肩绿盲蝽对褐稻飞虱卵的功能反应及搜索行为[J]. 植物保护学报, 1996, 23(4): 321-326.
- [12] Senguttuvan T, Gopalan M. Predator efficiency of mired bugs (*Cryptorhinus levidipennis*) on eggs and nymphs of brown planthopper (*Nilaparvata lugens*) on resistant and susceptible varieties of rice[J]. Indian J Agric Sci, 1990, 60: 285-287.
- [13] Geetha N, Gopalan M, Galasubramanian G. Ovipositional behavior of mired bug, *Cryptorhinus levidipennis* on rice and weeds[J]. J Entomol Res, 1993, 17(1): 17-20.
- [14] Bernal C C, Aguda R M. Effect of rice lines transformed with *Bacillus thuringiensis* toxin genes on the brown planthopper and its predator *Cryptorhinus levidipennis*[J]. Entomol Exp Appl, 2002, 102: 21-28.
- [15] 娄永根, 程家安, 郭华伟, 等. 水稻品种对黑肩绿盲蝽功能反应的影响[J]. 中国水稻科学, 2001, 15(2): 158-160.
- [16] 曾兆华, 周喆, 魏志娟, 等. 五种杀虫剂对圆果大赤螨毒力及其对假眼小绿叶蝉捕食作用的影响[J]. 茶叶科学, 2007, 27(2): 147-152.
- [17] 孙定炜, 苏建亚, 沈晋良, 等. 杀虫剂对褐飞虱捕食性天敌黑肩绿盲蝽的安全性评价[J]. 中国农业科学, 2008, 41(7): 1995-2002.

责任编辑: 罗慧敏