

## 丁香酚对赤拟谷盗的生物活性<sup>\*</sup>

韩群鑫<sup>1,2</sup>, 黄寿山<sup>2</sup>

( 1. 仲恺农业工程学院 植物保护系, 广州 510225 ; 2. 华南农业大学 昆虫系, 广州 510642 )

**摘要** 采用点滴法、熏蒸法等生物测定的常规方法测定了丁香酚( *Syzygium aromaticum* )对世界性仓储害虫赤拟谷盗( *Tribolium castaneum* ( Herbst ) )的生物活性作用。结果表明, 丁香酚能抑制赤拟谷盗的生长发育, 不同发育时期的赤拟谷盗卵对丁香酚的敏感程度不同, 在( 31 ± 1 ) °C, 相对湿度为 50% ~ 85% 的环境条件下, 发育 72 h 左右的赤拟谷盗卵对丁香酚最敏感, 6 μL/mL 丁香酚即能完全抑制卵的孵化; 丁香酚对赤拟谷盗的幼虫和成虫均有显著的触杀作用, 其对幼虫和成虫的致死中浓度( LC<sub>50</sub> )分别为 218.999 9 μL/mL 和 363.077 4 μL/mL, 表明幼虫对丁香酚比成虫对丁香酚更敏感; 丁香酚对赤拟谷盗成虫具有明显的驱避作用, 对幼虫和成虫也有一定的熏蒸致死作用, 用 2 μL/mL 丁香酚处理赤拟谷盗成虫 3 h, 对赤拟谷盗成虫的驱避率可达到 93.3%, 即可达到最高驱避级别 V 级。

**关键词** 丁香酚 赤拟谷盗 生物活性

**中图分类号** S435.1

**文献标识码** A

**文章编号** 1672-6693( 2009 )03-0016-04

赤拟谷盗( *Tribolium castaneum* ( Herbst ) )是一种重要的仓储害虫, 分布遍及世界各地。该虫食性杂, 除直接取食和危害谷物、油料、动物性产品及加工品、中药材等外, 其分泌物还可污染被害产品, 使被害物结块, 变色变臭<sup>[1]</sup>。目前中国仓储害虫的防治主要是应用化学防护剂和熏蒸剂, 虽然在一定程度上控制了害虫的发生, 但因此所造成的 3R 问题也日趋明显。植物性农药具有对目标物专一、对非目标物安全无污染的特点而备受关注, 这些物质均不同程度对昆虫表现出拒食、驱避、抑制生长发育及直接毒杀作用。除了对印楝( *Azadirachta indica* A. Juss )、鱼藤( *Derris elliptica* Benth )、烟草( *tabacum* Linn. )、除虫菊( *pyrethrum cinerariifolium* )等植物杀虫活性进行研究外<sup>[2]</sup>, 近年来对桃金娘科( Myrtaceae )植物丁香( *Syzygium aromaticum* ( L. ) Merr. et Perry )也进行了相关有害生物防治的研究工作<sup>[3-10]</sup>。丁香对某些病虫害有一定的控制作用, 丁香正己烷提取物对朱砂叶螨( *Tetranychus cinnabarinus* )、玉米象( *Sitophilus zeamais* )具有一定的控制效果<sup>[3]</sup>; 丁香的乙醇和乙醚提取物分别在 200、600 μL/mL 时能完全抑制库蚊( *Culex pipiens* )成虫的羽化, 严重影响幼虫生长发育<sup>[4-5]</sup>; 其花芽提取物对 *Pediculus capitis*

有杀卵和杀成虫的作用<sup>[6]</sup>。含 20% 的丁香油胶体与含 10% 丁香油和 10% makaen 油的混合物对伊蚊、库蚊和按蚊均有明显的驱避作用, 可以作为防蚊虫的药剂<sup>[7]</sup>。上述研究报道明确了从丁香中可以获得比较理想的杀虫活性物质, 具有进一步开发成防治害虫、螨类等的植物性杀虫剂的前景, 因此, 研究丁香的主要成分丁香酚对赤拟谷盗的生物活性作用, 可为进一步开发丁香在防治仓储害虫方面提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验所用丁香酚购于中国医药集团上海化学试剂公司。赤拟谷盗最初虫源来自广东省粮食科学研究所, 参考白明杰等<sup>[11]</sup>的方法进行饲养。

### 1.2 试验方法

1.2.1 丁香酚对赤拟谷盗生长发育的影响 将 1 mL 等分试样的各种浓度丁香酚滴加到滤纸( 直径为 9 cm )上, 将滤纸放在空气中自然风干, 以丙酮为对照。将滤纸嵌入干净的培养皿中, 把 30 粒刚产下的赤拟谷盗卵放在滤纸上。各培养皿中加入一定量的面粉, 密封培养皿, 移入恒温培养箱中培养。每隔

\* 收稿日期 2009-02-19 修回日期 2009-03-29

资助项目 慧源-仲恺科技基金( No. G2004111 )

作者简介 韩群鑫, 女, 副教授, 博士, 研究方向为昆虫学。

24 h 观察记录卵的孵化数量直至无卵孵化为止。因年幼幼虫身体太小不便观察,自第 1 d 观察到有幼虫孵化后的第 9 d 记录存活幼虫的数量。当出现第 1 只成虫的时候,开始记录已羽化成虫的数量直至没有成虫羽化为止。重复 3 次。

1.2.2 丁香酚对赤拟谷盗卵孵化的影响 参照 1.2.1 的方法,但处理的赤拟谷盗卵龄分别为 24、48、72 和 96 h,同样观察记录卵的孵化数量直至无卵孵化为止。重复 3 次。

1.2.3 丁香酚对赤拟谷盗的触杀作用 用丙酮为溶剂将丁香酚精油稀释成一系列浓度,用微量调节注射器分别点滴 0.5 mL 精油溶液于昆虫的前胸背板上,以丙酮为对照。点滴后的试虫放入干净的培养皿中(直径为 9 cm),24 h 后加入新鲜食料,每隔 24 h 观察试虫的死亡数至终点死亡数(死亡数不再增加为止)。重复 3 次。

1.2.4 丁香酚对赤拟谷盗的驱避作用 将滤纸(直径为 9 cm)等分成两半,一半为处理,一半为对照。用丙酮将丁香酚精油稀释成不同浓度后,分别取 1 mL 均匀展布于处理边滤纸上,对照边用 1 mL 丙酮处理。将滤纸置于空气中待丙酮挥发后,在反面用双面胶将处理边和对照边连接起来,置于同等大小的培养皿中。把试虫接种入培养皿中心,让其在滤纸上自由爬行,盖上培养皿并密封,放入(31±1)℃全黑暗条件下的光照培养箱中。观察试虫的行为并定时的检查试虫在培养皿中的分布情况。3 次重复。试验中驱避率的计算公式为

驱避率=(对照边试虫数/总试虫数)×100%  
驱避分级标准为:0 级——无驱避作用;I 级——0%~20%驱避率;II 级——20.1%~40%驱避率;III 级——40.1%~60%驱避率;IV 级——60.1%~80%驱避率;V 级——80.1%~100%驱避率。

1.2.5 丁香酚对赤拟谷盗的熏蒸作用 将 0.5 mL 精油用 1 mL 丙酮稀释,滴加到滤纸条上,以丙酮为对照。将 30 头试虫放入 1 L 容积的玻璃瓶中,将滤纸条夹在玻璃瓶盖上,密封。48 h 后,将试虫转移到干净的盛有新鲜饲料的培养皿中,置于培养箱中直至终点死亡数,记录死虫数并计算校正死亡率。3 次重复。

1.3 数据处理

各项指标均以平均值±标准误(Mean±S.E.)表示,采用 DPS 数据处理软件对其进行数据分析和方差分析。方差分析采用 Duncan(1955)的新复极

差测验法(DMRT)。

2 结果与分析

2.1 丁香酚对赤拟谷盗生长发育的影响

3 μL/mL 丁香酚对赤拟谷盗初产卵的孵化和幼虫的化蛹没有明显抑制作用,但对蛹的羽化有明显抑制作用;当浓度为 6 μL/mL 时,明显抑制了赤拟谷盗的生长发育,即降低了卵孵化率、幼虫化蛹率和成虫羽化率;至浓度为 9 μL/mL 时,则完全抑制了赤拟谷盗的生长发育,使全部卵不能孵化(表 1)。试验结果还显示,用 3 μL/mL 丁香酚处理赤拟谷盗,成虫羽化所需的时间比对照成虫所需的羽化时间要长,对照面粉饲养的赤拟谷盗从卵孵化到全部成虫羽化所需时间为 20 d,而丁香酚处理的赤拟谷盗从卵孵化到全部成虫羽化所需时间为 25 d。这说明低浓度的丁香酚虽然不能抑制赤拟谷盗的生长发育,但能延长其世代发育所需的时间。

表 1 丁香酚对赤拟谷盗生长发育的影响

Tab.1 The effect of eugenol on the development of *T. castaneum*

| 处理浓度/<br>(μL·mL <sup>-1</sup> ) | 孵化率/<br>%              | 化蛹率/<br>%              | 羽化率/<br>%              |
|---------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 0                               | 65.6±13.9 <sup>a</sup> | 65.6±13.9 <sup>a</sup> | 60.0±12.0 <sup>a</sup> |
| 3                               | 53.3±12.0 <sup>a</sup> | 51.1±12.6 <sup>a</sup> | 50.0±14.5 <sup>b</sup> |
| 6                               | 5.6±6.9 <sup>b</sup>   | 5.6±6.9 <sup>b</sup>   | 5.6±6.9 <sup>c</sup>   |
| 9                               | 0.0±0.0 <sup>c</sup>   | 0.0±0.0 <sup>c</sup>   | 0.0±0.0 <sup>c</sup>   |
| 12                              | 0.0±0.0 <sup>c</sup>   | 0.0±0.0 <sup>c</sup>   | 0.0±0.0 <sup>c</sup>   |

注:同一列不同字母上标表示多重比较差异显著( $p<0.05$ )。

2.2 丁香酚对赤拟谷盗卵孵化的影响

在(31±1)℃相对湿度 50%~85%的环境下,赤拟谷盗卵期为 92~100 h<sup>[10]</sup>。由表 2 可见,对不同时期的卵用丁香酚进行处理的结果表明,发育 72 h 的卵对丁香酚最敏感,6 μL/mL 丁香酚即能完全抑制 72 h 卵的孵化;发育 96 h 的卵对丁香酚最

表 2 丁香酚对赤拟谷盗卵孵化的影响

Tab.2 The influence of eugenol on the hatching of *T. castaneum* egg

| 卵龄/<br>h | 处理浓度/(μL·mL <sup>-1</sup> ) |                        |                         |                        |                        | % |
|----------|-----------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|---|
|          | 0                           | 1                      | 3                       | 6                      | 9                      |   |
| 24       | 72.2±19.5 <sup>a</sup>      | 67.8±9.8 <sup>a</sup>  | 53.3±12.0 <sup>ab</sup> | 2.2±1.9 <sup>ef</sup>  | 0.0±0.0 <sup>f</sup>   |   |
| 48       | 74.4±6.2 <sup>a</sup>       | 68.7±9.0 <sup>a</sup>  | 35.3±3.8 <sup>c</sup>   | 1.1±1.9 <sup>ef</sup>  | 0.0±0.0 <sup>f</sup>   |   |
| 72       | 67.8±9.6 <sup>a</sup>       | 62.2±7.7 <sup>a</sup>  | 18.9±6.9 <sup>d</sup>   | 0.0±0.0 <sup>f</sup>   | 0.0±0.0 <sup>f</sup>   |   |
| 96       | 72.2±8.4 <sup>a</sup>       | 63.3±16.7 <sup>a</sup> | 66.7±10.0 <sup>a</sup>  | 54.4±8.4 <sup>ab</sup> | 51.1±13.5 <sup>b</sup> |   |

注:同一不同字母上标表示多重比较差异显著( $p<0.05$ )。

不敏感,即使用 9 μL/mL 丁香酚处理,发育 96 h 的卵孵化率也达到了( 51.1 ±13.5 )% ,而此浓度条件下,72 h 前的赤拟谷盗卵的生长发育已完全被抑制,全部不能孵化。

2.3 丁香酚对赤拟谷盗的触杀作用

在该试验条件下,12 日龄的幼虫正处于 3 龄幼虫阶段。表 3 显示,丁香酚对幼虫和成虫均有显著的触杀作用,幼虫的丁香酚致死中浓度( LC<sub>50</sub> )明显低于成虫,表明幼虫对丁香酚比成虫更敏感。

表 3 丁香酚对赤拟谷盗的触杀作用

| Tab.3 The contact action of eugenol on <i>T. castaneum</i> |                             |                                                 |                       |         |
|------------------------------------------------------------|-----------------------------|-------------------------------------------------|-----------------------|---------|
| 虫态                                                         | 毒力回归方程                      | LC <sub>50</sub> /<br>( μL · mL <sup>-1</sup> ) | 95% 置信限               | 相关系数    |
| 12 日龄幼虫                                                    | $y = 0.668\ 0 + 1.850\ 9x$  | 218.999 9                                       | 179.120 2 ~ 257.707 3 | 0.995 1 |
| 10 日龄成虫                                                    | $y = -8.500\ 2 + 5.273\ 5x$ | 363.077 4                                       | 332.010 3 ~ 403.628 1 | 0.981 2 |

2.4 丁香酚对赤拟谷盗 1 月龄成虫的驱避作用

1 μL/mL 丁香酚处理 12 h 后,其对赤拟谷盗成虫驱避作用达到 V 级;用 2 μL/mL 丁香酚处理 3 h,驱避作用可达到 V 级;当用 10 μL/mL 丁香酚处理 3 h,可使 100% 的成虫产生负趋向作用。随着处理时间延长至 12 h,其驱避作用也在增强(表 4)。

表 4 丁香酚对赤拟谷盗成虫的驱避率

| Tab.4 The repellent rate of eugol on the adult of <i>T. castaneum</i> |                                |              |              |
|-----------------------------------------------------------------------|--------------------------------|--------------|--------------|
| 处理时间/h                                                                | 处理浓度/( μL · mL <sup>-1</sup> ) |              |              |
|                                                                       | 1                              | 2            | 4            |
| 3                                                                     | 80.0 ±34.6Ⅳ                    | 93.3 ±7.6 V  | 93.3 ±7.6 V  |
| 12                                                                    | 85.0 ±17.3 V                   | 100.0 ±0.0 V | 100.0 ±0.0 V |

| 处理时间/h | 处理浓度/( μL · mL <sup>-1</sup> ) |              |              |
|--------|--------------------------------|--------------|--------------|
|        | 6                              | 8            | 10           |
| 3      | 95.0 ±8.7 V                    | 96.7 ±2.9 V  | 100.0 ±0.0 V |
| 12     | 100.0 ±0.0 V                   | 100.0 ±0.0 V | 100.0 ±0.0 V |

注:罗马数字表示驱避等级。

2.5 丁香酚对赤拟谷盗的熏蒸作用

丁香酚对赤拟谷盗的幼虫和成虫有一定的熏蒸致死作用。在处理后的第 8 d,幼虫最终死亡率为( 50.0 ±8.8 )% ,熏蒸效果并不理想;在处理后的第 7 d,成虫最终死亡率为( 68.9 ±6.9 )% ,熏蒸效果好于幼虫。

3 讨论

本文的研究结果提示,丁香酚能抑制赤拟谷盗卵的生长发育,不同发育时期的赤拟谷盗卵对丁香酚的敏感程度不同,而丁香酚对不同卵龄的赤拟谷盗卵孵化率的影响也存在明显差异。胚胎学研究<sup>[10]</sup>表明在本研究设置的温、湿度条件下,赤拟谷盗卵发育 60 h 后,卵的一端已经明显出现分化;发育 76 h 时,已经可以见到头部发育完整的幼虫;至 92 h 时,卵已经开始孵化。韩群鑫<sup>[9-10]</sup>认为,用足够量的丁香粉末处理的赤拟谷盗卵,卵均不能正常孵化而死亡,丁香对不同发育时期的赤拟谷盗卵的毒杀作用机理不全相同,这与本文的结论一致。丁香酚是植物丁香的主要化学成分之一<sup>[12-13]</sup>,故丁香酚为丁香中毒杀赤拟谷盗卵的有效成分不容置疑。但其否为唯一毒杀成分或与其它化学成分有联合增效作用还需进一步研究。

昆虫卵是一个静止而不取食的虫态,在害虫综合治理中,利用化学药剂毒杀昆虫卵的研究一直备受关注<sup>[14-15]</sup>。与本研究相关的试验发现,丁香酚对其它害虫如黄粉虫 *Tenebrio molitor*、米蛾 *Corcyra cephalonica* 的卵也有毒杀作用(另文发表)。因此,进一步研究丁香对农业上重要害虫卵以及对其天敌昆虫的影响效果及其毒杀昆虫卵的作用机理,对于开发有效的害虫杀卵剂,把害虫控制在尚未为害之前,具有十分重要的现实意义。

参考文献:

[1] 陈耀溪. 仓库害虫(增订本) [M]. 北京:农业出版社, 1985:126-133.

[2] 赵善欢. 植物化学保护(第三版) [M]. 北京:中国农业出版社, 2000:303-308.

[3] 张永强,丁伟,赵志模,等. 中药植物丁香杀虫杀螨活性研究 [J]. 西南农业大学学报, 2004, 26(4):429-432.

[4] El Hag E A, El Nadi A H, Zaitoon A A. Toxic and growth retarding effects of three plant extracts on culex pipiens larvae (Diptera: culicidae) [J]. Phytotherapy Reseach, 1999, 13:388-392.

[5] Makhaik M, Naik S N, Tewary D K. Evaluation of anti-mosquito properties of essential oils [J]. Journal of Scientific & Industrial Research, 2005, 64(2):129-133.

[6] Yang Y C, Lee S H, Lee W J, et al. Ovicidal and adulticidal effects of eugenia caryophyllata bud and leaf oil compounds on pediculus capiti [J]. Journal of Agricultural and Food

Chemistry 2003 51 4884-4888.

- [ 7 ] Trongtokit Y , Rongsriyam Y , Komalamisra N. Laboratory and field trial of developing medicinal local thai plant products against four species of mosquito vectors [ J ]. Southeast Asian Journal of Trop Medical Public Health 2004 35( 2 ) : 325-333.
- [ 8 ] 韩群鑫,陈帽仪,罗俏华,等.丁香对赤拟谷盗蛹和成虫的致死作用[ J ].西南农业大学学报 2005 27( 5 ) 676-679.
- [ 9 ] 韩群鑫,罗俏华,陈帽仪,等.丁香对赤拟谷盗卵和幼虫的致死作用[ J ].植物保护 2006 32( 2 ) 60-62.
- [ 10 ] 韩群鑫,黄寿山.丁香毒杀赤拟谷盗卵的胚胎学研究[ J ].重庆师范大学学报(自然科学版) 2008 25( 2 ) : 16-19.
- [ 11 ] 白明杰,党保华,曹阳,等.赤拟谷盗生活史参数变化的研究[ J ].粮食储藏 1993( 3 ) 8-14.
- [ 12 ] Pino J A , Marbot R , Aguero J et al. Et perry grown in cuba [ J ]. Journal of Essential Oil Research 2001 13( 4 ) 278-279.
- [ 13 ] 邱琴,崔兆杰,赵怡.丁香挥发油化学成分的 GC-MS 分析[ J ].中药材 2003 26( 1 ) 25-26.
- [ 14 ] 弓惠芬,吴志飞.昆虫生长调节剂—灭幼脲 1 号作为二化螟杀卵剂的初步研究[ J ].北京农学院学报 1985 2 : 123-125.
- [ 15 ] [ 作者名不详 ].应用杀卵剂防治三化螟[ J ].今日科技 1972 24 21.

## The Bioactivity of Eugenol Against the Red Flour Beetle *Tribolium castaneum*

HAN Qun-xin<sup>1 2</sup> , HUANG Shou-shan<sup>2</sup>

( 1. Plant Protection Department , Zhongkai University of Agriculture and Engineering , Guangzhou 510225 ;

2. Dept. of Entomology , South China Agriculture University , Guangzhou 510642 , China )

**Abstract** : Eugenol is one of main constituents of medicinal material *Syzygium aromaticum* , and *Tribolium castaneum* ( red flour beetle , RFB ) is one of the most important stored-product insects. The bioactivity of eugenol on RFB is tested with normal bioactivity technique such as topical application and fumigant methods. The results show that treated with eugenol oil , the egg of RFB can not complete its life history. Furthermore , different developmental stages of RFB egg have different sensitivity to eugenol. Under the condition of ( 31 ± 1 ) °C and 50% ~ 85% , the egg at the age of about 72 h is the most sensitive to eugenol , and even at the concentration of 6 μL/mL , it can completely inhibit the egg hatching of RFB. The eugenol has distinctively contact poison to larva and adult. The LC<sub>50</sub> of larva and adult respectively are 218.999 9 μL/mL and 363.077 4 μL/mL , which mean that the larva is more sensitive to eugenol than to adult , and the contact poison of eugenol to larva is higher than to adult. The eugenol also has apparently repellent activity to adult and fumigant poison to larva and adult. When adult is treated with the concentration of 2 μL/mL eugenol for 3 h , the repellent efficacy of eugenol can reach 93.3% , which is the highest repellent grade V.

**Key words** : eugenol ; *Tribolium castaneum* ; bioactivity

( 责任编辑 方 兴 )