

紫背金盘 (*Ajuga nipponensis*) 次生物质对 桔全爪螨 (*Panonychus citri*) 的驱避作用

徐 迪¹, 钟耀垣¹, 曾 玲¹, 陈 永¹, 岑伊静^{1,*}, Beattie GAC²

(1. 华南农业大学昆虫生态研究室, 热带亚热带生态研究所, 广州 510640; 2. 澳大利亚悉尼大学植物与食品科学中心)

摘要:研究了紫背金盘 *Ajuga nipponensis* Makino 各溶剂提取物和部分化合物对桔全爪螨 *Panonychus citri* McGregor 雌成螨及其产卵的驱避作用。结果表明,石油醚萃取物、乙酸乙酯萃取物具有较强的生物活性。在 $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,石油醚和乙酸乙酯萃取物对该螨处理 1d 后的产卵忌避率分别为:84.86%、69.88%;2d 后为 89.49%、82.19%;对雌成螨驱避率分别为:85.08%、68.66%;2d 后为 50.96%、69.84%。乙酸乙酯萃取物经分离得到四类化合物,结果表明:馏分 I 为长链脂肪酸混合物,具有较强生物活性,2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 和 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 处理 1d 后,产卵忌避率分别为:80.77%、74.77%;2d 后为 73.81%、72.59%。2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 处理 1d 后对雌成螨的驱避率为:69.88%;2d 后为 74.24%。刺槐素 II、新克罗烷化合物 III 和 β -蜕皮甾酮 IV 在 2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 均不表现活性。对馏分 I 中的 4 个主要化合物单体进行活性测定,结果表明:十六烷酸、十六烷酸甲酯、十六烷酸乙酯和十八烷酸甲酯在 2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 处理时,1d 后,产卵驱避率分别为:75.18%、61.76%、59.18% 和 66.49%;2d 后产卵驱避率为:66.67%、31.15%、46.75% 和 44.84%;雌成螨驱避率分别为:1d 后,67.53%、63.79%、59.26% 和 68.00%;2d 后,67.23%、43.96%、48.23% 和 64.19%。在 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 处理时,1d 后,产卵驱避率分别为:59.21%、59.16%、57.02% 和 61.40%;1d 后,雌成螨驱避率分别为:69.64%、61.43%、55.76% 和 64.00%。

关键词:紫背金盘;次生物质;桔全爪螨;驱避作用

文章编号:1000-0933(2008)08-3839-09 中图分类号:Q143 文献标识码:A

Repellency effects of secondary compounds of *Ajuga nipponensis* Makino against citrus red mite *Panonychus citri* (McGregor)

XU Di¹, ZHONG Yao-Yuan¹, ZENG Ling¹, CHEN Yong¹, CEN Yi-Jing^{1,*}, Beattie GAC²

1 Laboratory of Insect Ecology, Institute of Tropical & Subtropical Ecology, South China Agricultural University, Guangzhou 510640, China

2 Centre for Plant and Food Science, University of Western Sydney, New South Wales, Australia

Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(8): 3839 ~ 3847.

Abstract: Repellency effects petroleum ether, ethyl acetate and *n*-butanol soluble extracts of *Ajuga nipponensis* Makino (Lamiales: Lamiaceae) against citrus red mite, *Panonychus citri* (McGregor) (Acari: Tetranychidae), adult females were studied. When $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ extracts were applied to mandarin (*Citrus reticulata* Blanco Sapindales: Rutaceae) leaves, oviposition repellency rates of the petroleum ether extracts on the leaf surfaces were 84.86% and 69.88% one and two days after treatment respectively, and those of ethyl acetate extracts were, 89.49% and 82.19% respectively for the same

基金项目:中澳科技合作特别基金资助项目(30471169)

收稿日期:2007-02-08;修订日期:2008-05-02

作者简介:徐迪(1977~),女,云南昆明人,博士,主要从事植物与昆虫关系研究. E-mail: xxudi@scau.edu.cn

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: cennyj@scau.edu.cn

致谢:紫背金盘由华南农业大学林学院庄雪影教授鉴定,桔全爪螨生测研究曾向华南农业大学吴洪基教授咨询,在此表示诚挚感谢。

Foundation item: The project was financially supported by Science Cooperation Foundation of China and Australia: Developing Ecologically Sustainable Pest and Disease Management Strategies for Citrus, with Emphasis on Huanglongbing (No. 30471169)

Received date: 2007-02-08; **Accepted date:** 2008-05-02

Biography: XU D, Ph. D., mainly engaged in relation of plant and insect. E-mail: xxudi@scau.edu.cn

intervals. At the same concentration, and for the same intervals, the female repellency rates of petroleum ether extract were 85.08% and 68.88%, while those for the ethyl acetate extracts were 50.96% and 69.84% respectively. GC-MS, IR, NMR and MS were used to identify and analyze one fraction (fraction I) and three compounds that were isolated from the ethyl acetate extract. Fraction I, which comprised long chain fatty acids, had better bioactivity than the other fractions. At 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and 2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ oviposition repellency rates on treated mandarin leaf surfaces were 74.77% and 80.77%, and, 72.59% and 73.81%, respectively, 1 d and 2 d after mites were placed on treated leaves. At 2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$, the female repellency rates were 69.88% and 74.24%, respectively, 1 d and 2 d after treatment. The three compounds were identified as acacetin II, ajugacumbin B III and 20-hydroxyecdysone IV. None of these compounds had any repellency effect on citrus red mite females when they applied 2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ to mandarin leaves. Repellency effects of four identified compounds in fraction I, hexadecanoic acid, hexadecanoic acid methyl ester, hexadecanoic acid ethyl ester and octadecanoic acid methyl ester, were also studied. All of these compounds were active against citrus red mite females when applied to mandarin leaves at 2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$: oviposition repellency rates were 75.18%, 61.76%, 59.18%, and 66.49% respectively, one day after treatment, and 66.67%, 31.15%, 46.75%, and 44.84% respectively, two days after treatment. At the same concentration, female repellency rates for these chemicals were 67.53%, 63.79%, 59.26% and 68.00% respectively, one day after treatment, and 67.23%, 43.96%, 48.23%, 64.19%, respectively, two days after treatment. For 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 1 d after treatment, oviposition repellency rates were 59.21%, 59.16%, 57.02%, 61.40% respectively for the four chemicals, and the female feeding repellency rates were 69.64%, 61.43%, 55.76%, 64.00% respectively.

Key Words: *Ajuga nipponensis*; secondary compounds; citrus red mite; repellency effect

桔全爪螨 *Panonychus citri* McGregor, 又称柑橘红蜘蛛、瘤皮红蜘蛛, 是危害柑橘的三大害虫之一。除柑橘外, 其寄主植物还包括桑、梨、桃、琵琶等 30 科 40 多种多年生和 1 年生植物^[1~3]。在 20 世纪 60 年代前, 该虫危害不严重, 但随着化学农药的大量使用, 天敌种群数量减少, 该虫对多种农药产生抗药性, 使其成为柑桔最普遍、最主要和最难防治的害虫^[4,5]。在我国南部, 春、秋两季是柑橘红蜘蛛高发期, 在此时节, 果农每周喷洒 1 次农药, 连续喷洒 4~5 次是普遍现象, 如此高发频率和频繁的喷药次数极易导致严重的“3R”问题, 同时也使柑橘生产成本升高, 给我国生态环境和经济发展产生较大影响^[6,7]。为此, 寻找安全、有效的防治方法是目前所必需。利用植物次生物质对害虫的防御作用, 从植物中寻找有效成分防治病虫害是研究的热点, 对缓解“3R”问题是一种新的、重要的途径^[8~11]。

筋骨草属 (*Ajuga*) 为唇形花科植物, 广泛分布于欧、亚大陆温带地区, 在我国有 35 个种, 大多分布于秦岭以南, 资源极为丰富。我国民间主要将该草用于止咳化痰、消肿凉血和外伤出血等, 为常用草药^[12]。近年国内外报道该草也具杀虫作用^[13,14], 迟德富等人研究了多花筋骨草、多花筋骨草短穗变种、多花筋骨草莲座变种和线叶筋骨草乙醇提取物对一些刺吸式口器昆虫及其鳞翅目幼虫活动的影响^[15], 发现多数提取液对该两类昆虫具有较好的毒杀或拒食作用。但该类植物对害虫产卵驱避效果的研究还未见报道, 本文研究了筋骨草属植物紫背金盘 *Ajuga nipponensis* Makino 溶剂提取物和次生物质对柑橘红蜘蛛驱避效果的影响, 为实现对柑橘红蜘蛛的生态控制提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料和仪器

紫背金盘 2005 年采自安徽; 甜橙苗为 1 年生塑料筒栽苗, 广东省杨村华侨柑桔场生产; 桔全爪螨采自杨村华侨柑桔场生产性果园; 石油醚 (60~90)、三氯甲烷、乙酸乙酯、丙酮、无水乙醇、无水甲醇等溶剂 (均为分析纯) 为天津化学试剂一厂生产; 柱层析硅胶 (100~200 目)、薄层层析硅胶 (H 与 GF₂₅₄) 为青岛海洋化工厂有限公司生产; 羧甲基纤维素钠 (CMC) 为上海化学试剂分厂生产。熔点仪采用 Electrothermal Engineering

Limited, UK IA9100; 红外光谱用 WQF-410 傅立叶变换红外光谱仪测定; 核磁共振谱用 Varian Unity INOVA500 型核磁仪测定(HNMR 谱 500MHz, CNMR 谱为 125 MHz, TMS 为内标); 质谱用 VG Autospec-500 质谱仪测定; 气相色谱/质谱(GC-MS)用 FINNIGAN TRACE GC-MSTM, TR201818 测定。

1.2 试验方法

1.2.1 紫背金盘次生物质的提取分离

紫背金盘地上部分(干重 25kg), 粉碎, 以 80% 乙醇回流提取 3 次, 提取液过滤后在旋转蒸发仪上浓缩至干, 得浸膏 2500g。用水将浸膏溶解, 依次用石油醚、乙酸乙酯及正丁醇各萃取 3 次, 然后用减压蒸馏除去溶剂, 得石油醚萃取物、乙酸乙酯萃取物和正丁醇萃取物。

将乙酸乙酯萃取物(150g)进行硅胶柱层析, 以石油醚-乙酸乙酯进行梯度洗脱, 在 TLC 监测下合并相同部分得八个馏分。馏分 I 为黄色油状液体, 再分别对馏分 IV、馏分 V 和馏分 VI 用三氯甲烷/甲醇在 TLC 监测下进行多次硅胶柱层析, 然后分别对较纯部分进行重结晶得到化合物 II、III 和 IV。

1.2.2 紫背金盘馏分 I 的化学成分分析

将柱层析馏分 I 在气相色谱/质谱仪上进行分析。气相色谱柱采用 DB-5 (30m × 0.25mm), 起始柱温 100℃, 以 10℃/min 速度上升至 200℃, 维持柱温 200℃ 5min, 然后以 5℃/min 上升至 220℃, 保持 3min。进样口 230℃, 分流比 20:1。质谱为电子轰击模式(EI), 轰击电压 70eV, 扫描范围 35 ~ 335amu, 各成分质谱峰经 Wiley/MAINLIB 版分子库检索。

1.2.3 紫背金盘各溶剂提取物、馏分 I 和化合物对桔全爪螨选择性驱避和产卵驱避作用测试

将紫背金盘乙醇总提取物、石油醚提取物、乙酸乙酯提取物和正丁醇提取物用 0.1% 的吐温 80 水溶液配制成浓度为 0.1 g·L⁻¹ (每 L 含有 0.1 g 植物干物质提取物) 的待测液, 对照液为 0.1% 的吐温 80 水溶液。测试方法采用半叶法进行: 选用大小一致、刚老熟且无桔全爪螨为害的甜橙叶片, 将叶片采下擦净, 以叶片中脉为界, 一半叶的上下两面用棉签小心涂上处理药液, 另一半涂上对照溶液, 在每片叶的叶柄涂上一圈凡士林后插入吸水花泥中。待药液干后接上桔全爪螨雌成螨, 每叶接 12 头。每隔 24 h 在放大镜下观察左右两半叶的成螨数量和产卵量并将全部卵清除, 然后补充雌成螨至每片叶有 12 头, 连续观察 2d。每处理用 10 片柑橘叶, 一片叶为一个重复。其它各馏分或化合物分别配制成 500 μg/ml, 1000 μg/ml 和 2000 μg/ml 浓度供试, 方法同上。

1.2.4 紫背金盘各溶剂提取物、馏分 I 和化合物对桔全爪螨非选择性产卵驱避作用测试

对选择性驱避和产卵驱避作用较好的溶剂提取物或馏分进行非选择性产卵驱避作用。测试方法采用全叶法进行测试: 选用大小一致、刚老熟且无螨为害的甜橙叶片, 将叶片采下擦净, 叶的上下两面用棉签涂上处理药液, 另设一组对照, 在相同条件下, 涂上空白对照溶液。在每片叶的叶柄涂上一圈凡士林后插入吸水花泥中。待药液干后接上桔全爪螨雌成螨, 每叶接 12 头。每隔 24 h 在放大镜下观察成螨数量和产卵量并将全部卵清除, 然后补充雌成螨至每片叶有 12 头, 连续观察 3d。每处理用 10 片柑橘叶, 一片为一个重复。其它各馏分或化合物分别配制成 500, 1000 μg/ml 和 2000 μg/ml 等 3 个浓度供试, 方法同上。

1.2.5 数据分析

选择性实验用 DPS 统计软件的成对数据 *t* 测验法进行分析, 如处理与对照间差异显著则进一步计算其产卵驱避率。计算方法为: 产卵驱避率 = ((对照区卵量 - 处理区卵量) / 对照区卵量) × 100%, 并比较各处理的产卵驱避效果。

非选择性实验用 DMRT 法进行分析, 判断其处理与对照之间是否差异显著。试验效果则用干扰控制指数 IIPC 进行评价⁽¹⁶⁾。本文以驱避雌成螨产卵作用为评价指标, 不考虑提取物对其它龄期的干扰作用, 因此计算方法简化为:

$$IIPC = N_{0T} / N_{0CK}$$

式中, N_{0T} 为处理区当代开始时的卵量, N_{0CK} 为对照区当代开始时的卵量。

2 结果与分析

2.1 紫背金盘溶剂提取物对桔全爪螨选择性驱避和产卵驱避作用

从表 1 可知,紫背金盘乙醇总提取物驱避效果明显,1d 后对雌成螨产卵驱避率为 82.81%、2d 后为 80.80%,对雌成螨驱避率 1d 为 73.01%、2d 为 69.84%,处理与对照差异均达显著水平。把乙醇总提取物按极性由小到大分为石油醚萃取物、乙酸乙酯萃取物和正丁醇萃取物,分别研究其对桔全爪螨驱避作用。结果表明,3 种萃取物均对桔全爪螨有明显驱避作用,其中石油醚萃取物和乙酸乙酯萃取物的产卵驱避率和雌螨驱避率均大于 50%,作用大于正丁醇萃取物。雌螨在经乙酸乙酯萃取物处理后产卵驱避率 1d 后为 69.88%,2d 后为 82.19%;雌螨驱避率 1d 后为 68.66%,2d 后为 69.84%。与石油醚萃取物驱避作用比较,虽然乙酸乙酯萃取物 1d 后产卵驱避效果低于石油醚萃取物,但 2d 后产卵驱避作用上升,与石油醚萃取物作用相差不大;对雌螨驱避作用,在 1d 和 2d 乙酸乙酯萃取物作用基本保持不变,而石油醚萃取物处理 2d 后的驱避作用大幅下降。综合两者产卵驱避和雌螨驱避作用,乙酸乙酯萃取物与石油醚萃取物相比,随着时间的延长,驱避作用变化不大,表现出较长作用时间,因此对乙酸乙酯萃取物进行分离纯化。

2.2 紫背金盘次生物质对桔全爪螨选择性驱避和产卵驱避作用

从表 2 可知,化合物 II 刺槐素、化合物 III 新克罗烷和化合物 IV β -蜕皮甾酮对桔全爪螨无产卵驱避和驱避作用,而黄色油状馏分 I 对该螨处理 1d 后表现出显著产卵驱避和驱避作用。在浓度为 2000、1000、500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时,该馏分对雌成螨的产卵驱避率分别为 80.77%、74.77% 和 55.71%;对雌成螨驱避率分别为 69.88%、59.70% 和 38.89%。但 2d 后该馏分仅在较高浓度 2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时对雌成螨表现较明显的产卵驱避和驱避作用,其驱避率分别为 73.81% 和 74.24%。由此可知,该馏分对雌成螨的产卵驱避和驱避作用与浓度成正相关,与时间成负相关。根据气相色谱/质谱联用可知,该馏分的化学成分主要为十六羧酸酯和十八羧酸酯等长链脂肪酸酯混合物。为探索该混合物中各化合物单体对桔全爪螨的驱避作用,选择十六烷酸甲酯、十六烷酸乙酯、十六烷酸和十八羧酸甲酯等含量较高的化合物单体对其进行研究。

2.3 长链脂肪酸化合物及其混合物对桔全爪螨选择性驱避和产卵驱避作用

由表 3 可知,十六烷酸、十六烷酸甲酯、十六烷酸乙酯和十八烷酸甲酯均对雌成螨具有显著驱避和产卵驱避作用,且该两种作用均随各化合物浓度升高而增大,随时间延长而减小。其中十六烷酸驱避作用最大,在较高浓度 2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时,对照与处理差异显著,产卵驱避率 1d 后分别达 75.18% 和 59.12%,2d 后为 66.67% 和 50%;雌成螨驱避率 1d 后分别达 67.53% 和 69.64%,2d 后达 67.23% 和 69.46%。但该化合物在较低浓度 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时不表现活性。十八烷酸甲酯和十六烷酸甲酯驱避作用次于十六烷酸,1d 和 2d 的驱避率和产卵驱避率在 31.15% 至 68.22% 之间。十八烷酸甲酯与十六烷酸甲酯相比,十八烷酸甲酯 1d 后和 2d 后的产卵驱避率在相同浓度下均高于十六烷酸甲酯;1d 和 2d 的驱避率在较高浓度 2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时略高于十六烷酸甲酯,在较低浓度 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时略低于十六烷酸甲酯。十六烷酸乙酯对桔全爪螨的驱避作用最小,1d 和 2d 的驱避率和产卵驱避率仅在 34.00% 和 59.26% 之间。

对比筋骨草乙酸乙酯萃取物中的馏分 I 和各长链脂肪酸单体对桔全爪螨的驱避作用可知,在相同浓度下,混合物馏分 I 的驱避作用和产卵驱避作用均略高于各化合物单体。分析原因,有可能是各化合物同时作用的结果。因此将十六烷酸甲酯、十六烷酸乙酯、十六烷酸和十八羧酸甲酯按 1:1:1:1 的比例混合,考察该混合物与各单体化合物活性差异。

从表 3 可知,该混合物对桔全爪螨具有驱避作用和产卵驱避作用,对照与处理差异显著,且驱避作用与浓度成正相关,与时间成负相关。与各化合物单体相比,在高浓度 2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 和 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时,对雌成螨的驱避作用和产卵驱避都略高于各单体化合物,特别在 1d 后,驱避作用和产卵驱避作用达 77.21% ~ 83.76% 之间。但与馏分 I 相比,同浓度时驱避作用和产卵驱避作用却相差不大,这说明在馏分 I 中对桔全爪螨起驱避作用的就是这几类物质。

2.4 紫背金盘溶剂萃取物对桔全爪螨非选择性产卵驱避作用

根据选择性产卵驱避作用的结果,对效果较好的萃取物和馏分 I 进行了非选择性产卵驱避研究,结果如

表 1 紫背金盘不同溶剂提取物对桔全爪螨选择性驱避和产卵驱避作用

Table 1 Repellency and oviposition repellency of different extracts of *A. nipponensis* on citrus red mite

提取物 Extract (0.1g·L ⁻¹)	处理时间 Days after treatments					
	产卵驱避 Oviposition repellency			雌螨驱避 Repellency		
	1d	2d		1d	2d	
	平均每半叶卵量 Number of eggs per half leaf	产卵驱避率 Oviposition repellency rate(%)	平均每半叶卵量 Number of eggs per half leaf	产卵驱避率 Oviposition repellency rate(%)	平均每半叶卵量 Number of eggs per half leaf	雌螨驱避率 Female repellency rate(%)
乙醇提取物	TR 6.10 ± 1.91 **	82.81	7.20 ± 2.34 **	80.80	1.10 ± 0.35 **	73.01
Ethanol extract	CK 22.60 ± 3.99		37.50 ± 5.45		6.40 ± 1.26	69.84
石油醚萃取物	TR 1.11 ± 0.26 **	84.86	1.11 ± 0.39 **	89.49	1.10 ± 0.31 **	85.08
Petroleum ether extract	CK 7.33 ± 0.75		10.56 ± 1.82		2.60 ± 0.62 *	50.96
乙酸乙酯萃取物	TR 2.50 ± 0.60 **	69.88	1.30 ± 0.50 *	82.19	5.20 ± 0.91	69.84
Ethyl acetate extract	CK 8.30 ± 1.30		7.30 ± 2.25		2.20 ± 0.47 **	68.66
正丁醇萃取物	TR 3.60 ± 0.93 *	55.00	2.78 ± 0.88 **	74.21	6.30 ± 0.63	70.37
n-butanol extract	CK 8.00 ± 1.65		10.78 ± 1.75		1.90 ± 0.40 *	63.01
					5.10 ± 0.83	

同组数字后有 * 者表示经成对数据法的 *t* 检验在 0.05 水平上差异显著,有 ** 者表示在 0.01 水平上差异显著 Within the same group, means followed by * are significantly different by the pair sample *t*-test at $\alpha = 5\%$, means followed by ** are significantly different at $\alpha = 1\%$

表 2 紫背金盘次生物质对桔全爪螨选择性驱避和产卵驱避作用

Table 2 Repellency and oviposition repellency of compounds from *A. nipponensis* on citrus red mite

化合物 Compound	浓度 Concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	处理时间 Days after treatments					
		产卵驱避 Oviposition repellency			雌螨驱避 Repellency		
		1d	2d		1d	2d	
		平均每半叶卵量 Number of eggs per half leaf	产卵驱避率 Oviposition repellency rate(%)	平均每半叶卵量 Number of eggs per half leaf	产卵驱避率 Oviposition repellency rate(%)	平均每半叶卵量 Number of eggs per half leaf	雌螨驱避率 Female repellency rate(%)
馏分 I	2000	2.5 ± 0.52 **	80.77	2.2 ± 0.77 **	73.81	1.7 ± 0.40 **	74.24
Fraction I	CK	13.0 ± 1.76		8.4 ± 1.45		6.6 ± 0.45	
	1000	2.7 ± 0.73 **	74.77	3.7 ± 0.90 **	72.59	4.2 ± 0.57	—
	CK	10.7 ± 2.53		13.5 ± 2.81		5.7 ± 0.58	
	500	3.1 ± 0.77 *	55.71	7.0 ± 1.04	—	4.0 ± 0.68	—
	CK	7.0 ± 1.09		12.4 ± 2.89		5.0 ± 0.73	
II 刺槐素	2000	9.6 ± 1.54	—	5.1 ± 0.55	—		
Acacetin	CK	9.6 ± 1.61		3.7 ± 0.50			
III 新克罗烷化合物	2000	11.5 ± 1.41	—	5.3 ± 0.91	—		
Ajugacumbin B	CK	14.5 ± 2.03		4.4 ± 0.65			
IV β -蜕皮甾酮	2000	12.6 ± 1.14	—	2.8 ± 0.42	—		
20-Hydroxyecdysone	CK	12.3 ± 1.12		3.7 ± 0.60			

同组数字后有 * 者表示经成对数据法的 *t* 检验在 0.05 水平上差异显著,有 ** 者表示在 0.01 水平上差异显著 Within the same group, means followed by * are significantly different by the pair sample *t*-test at $\alpha = 5\%$, means followed by ** are significantly different at $\alpha = 1\%$

表 3 长链脂肪酸化合物及其混合物对桔全爪螨选择性驱避和产卵驱避作用

Table 3 Repellency and oviposition repellency of long chain fatty acid and acid mixture on citrus red mite

化合物 Compound	浓度 concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	处理时间 Days after treatments									
		产卵驱避 Oviposition repellency					雌螨驱避 Repellency				
		1d		2d		产卵驱避率 Oviposition repellency rate(%)	1d		雌螨驱避率 Female repellency rate(%)		成虫驱避率 Female repellency rate(%)
		平均每半叶卵量 Number of eggs per half leaf	产卵驱避率 Oviposition repellency rate(%)	平均每半叶卵量 Number of eggs per half leaf	产卵驱避率 Oviposition repellency rate(%)		平均每半叶卵量 Number of eggs per half leaf	产卵驱避率 Oviposition repellency rate(%)	平均每半叶卵量 Number of eggs per half leaf	雌螨驱避率 Female repellency rate(%)	
十六烷酸 Hexadecanoic acid	2000	TR 3.88 $\pm$ 1.04**	75.18	7.00 $\pm$ 2.02**	66.67		1.38 $\pm$ 0.26**	67.53	2.13 $\pm$ 0.44**	67.23	
	CK	15.63 $\pm$ 1.89		21.00 $\pm$ 0.85			4.25 $\pm$ 0.49		6.50 $\pm$ 0.53		
	1000	TR 7.00 $\pm$ 1.21**	59.21	8.50 $\pm$ 0.89**	50		1.70 $\pm$ 0.40**	69.64	2.2 $\pm$ 0.44**	61.40	
	CK	17.16 $\pm$ 1.83		17.00 $\pm$ 2.15			5.60 $\pm$ 0.56		5.7 $\pm$ 0.62		
	500	TR 2.40 $\pm$ 1.17	-	3.53 $\pm$ 1.05	-		2.71 $\pm$ 0.68	-	3.12 $\pm$ 0.72	-	
十六烷酸甲酯 Hexadecanoic acid methyl ester	CK	6.40 $\pm$ 1.50		5.21 $\pm$ 1.37			3.57 $\pm$ 0.30		3.44 $\pm$ 0.54		
	2000	TR 6.50 $\pm$ 1.82**	61.76	17.13 $\pm$ 1.99*	31.15		1.89 $\pm$ 0.48**	63.79	3.11 $\pm$ 0.26**	43.96	
	CK	17.00 $\pm$ 1.41		24.88 $\pm$ 1.78			5.22 $\pm$ 0.86		5.55 $\pm$ 0.50		
	1000	TR 8.79 $\pm$ 3.59**	59.16	16.17 $\pm$ 2.30	-		1.67 $\pm$ 0.37**	61.43	3.14 $\pm$ 0.46**	42.17	
	CK	13.16 $\pm$ 5.37		17.00 $\pm$ 1.18			4.33 $\pm$ 0.76		5.43 $\pm$ 0.48		
十六烷酸乙酯 Hexadecanoic acid ethyl ester	TR	12.7 $\pm$ 2.36**	55.29	10.33 $\pm$ 3.65	-		2.44 $\pm$ 0.78*	56.12	2.34 $\pm$ 0.54	-	
	CK	28.43 $\pm$ 2.87		12.07 $\pm$ 4.27			5.56 $\pm$ 0.93		3.84 $\pm$ 0.34		
	2000	TR 6.38 $\pm$ 1.16**	59.18	15.38 $\pm$ 1.32**	46.75		2.20 $\pm$ 0.47**	59.26	3.22 $\pm$ 0.43**	48.23	
	CK	15.63 $\pm$ 1.58		28.88 $\pm$ 1.87			5.40 $\pm$ 0.22		6.22 $\pm$ 0.62		
	1000	TR 8.75 $\pm$ 1.67**	57.02	9.05 $\pm$ 3.04*	34.00		2.38 $\pm$ 0.71*	55.76	2.29 $\pm$ 0.52	-	
十八烷酸甲酯 Octadecanoic acid methyl ester	CK	19.00 $\pm$ 1.98		15.00 $\pm$ 4.43			4.9 $\pm$ 0.72		2.29 $\pm$ 0.68		
	500	TR 1.72 $\pm$ 0.70	-	3.25 $\pm$ 0.56	-		1.25 $\pm$ 0.41	-	2.28 $\pm$ 0.56	-	
	CK	3.50 $\pm$ 0.85		4.27 $\pm$ 0.74			2.25 $\pm$ 0.45		2.65 $\pm$ 0.47		
	2000	TR 8.14 $\pm$ 0.86**	66.49	9.14 $\pm$ 2.01*	44.84		1.63 $\pm$ 0.46**	68.22	1.88 $\pm$ 0.30**	64.19	
	CK	24.29 $\pm$ 2.93		16.57 $\pm$ 2.63			5.13 $\pm$ 0.92		5.25 $\pm$ 0.92		
混合物 mixture	1000	TR 5.57 $\pm$ 2.11*	61.40	8.38 $\pm$ 1.71**	49.61		0.63 $\pm$ 0.26*	64.00	2.33 $\pm$ 0.61*	58.91	
	CK	14.43 $\pm$ 5.46		16.63 $\pm$ 1.77			1.75 $\pm$ 0.41		5.67 $\pm$ 1.20		
	500	TR 7.17 $\pm$ 0.83*	46.21	1.13 $\pm$ 0.43	-		2.67 $\pm$ 0.81	-	3.46 $\pm$ 1.23	-	
	CK	13.33 $\pm$ 1.82		3.57 $\pm$ 0.90			3.11 $\pm$ 0.74		3.21 $\pm$ 0.85		
	2000	TR 5.88 $\pm$ 1.41**	78.62	6.25 $\pm$ 1.49**	74.79		0.63 $\pm$ 0.26**	83.76	2.5 $\pm$ 0.42**	64.94	
	CK	27.5 $\pm$ 3.52		24.5 $\pm$ 2.52			3.88 $\pm$ 0.79		7.13 $\pm$ 0.52		
	1000	TR 4.33 $\pm$ 1.65**	77.21	7.43 $\pm$ 1.84**	50.47		1.70 $\pm$ 0.47**	65.31	1.56 $\pm$ 0.24*	36.07	
	CK	19.00 $\pm$ 1.98		15.00 $\pm$ 4.43			4.90 $\pm$ 0.72		2.44 $\pm$ 0.24		
	500	TR 18.86 $\pm$ 0.47*	30.89	23.00 $\pm$ 2.93	-		4.17 $\pm$ 0.54*	34.12	3.83 $\pm$ 0.65	-	
	CK	27.29 $\pm$ 1.89		27.71 $\pm$ 2.00			6.33 $\pm$ 0.42		4.67 $\pm$ 0.61		

同组数字后有*者表示经成对数据的t检验在0.05水平上差异显著,有**者表示在0.01水平上差异显著 Within the same group, means followed by * are significantly different by the pair sample

t-test at $\alpha = 5\%$, means followed by ** are significantly different at $\alpha = 1\%$

表 4。馏分 I、乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物与对照相比,差异不显著。虽然石油醚萃取物在 1d 后差异不显著,但随着时间延长,差异较明显。石油醚萃取物中所含化合物极性较低,沸点较低,多具有挥发性,强烈的气味对雌螨产生了较强的产卵驱避效果,该效果在 2d 和 3d 内有累积效应。

表 4 紫背金盘次生物质对桔全爪螨产卵驱避作用(非选择性)

Table 4 Oviposition repellency of different extracts of *A. nipponensis* on citrus red mite (none choice)

处理 Treatment	浓度 concentration ($\mu\text{g/ml}$)	1d		2d		3d	
		产卵量(粒) Number of eggs per leaf	IIPC	*产卵量(粒) Number of eggs per leaf	IIPC	*产卵量(粒) Number of eggs per leaf	IIPC
馏分 I Fraction I	2000	6.1 $\pm$ 1.6 a	1.20	4.3 $\pm$ 1.4 a	0.93		
乙酸乙酯萃取物 Ethyl acetate extract	100	4.8 $\pm$ 0.9 ab	0.94	4.1 $\pm$ 1.0 a	0.89		
正丁醇萃取物 n-butanol extract	100	3.0 $\pm$ 0.6 b	0.59	3.8 $\pm$ 0.6 ab	0.83		
石油醚萃取物 I Petroleum ether extract	100	2.9 $\pm$ 0.9 b	0.57	1.2 $\pm$ 0.3 b	0.26	1.2 $\pm$ 1.3 b	0.27
CK		5.1 $\pm$ 0.7 ab		4.6 $\pm$ 1.1 a		4.4 $\pm$ 0.6 a	

同列数字后有不同字母者表示经 DMRT 检验在 0.05 水平上差异显著 Within the same column, means followed by different letters are significantly different by DMRT at $\alpha = 5\%$

2.5 紫背金盘次生物质的结构鉴定

经过硅胶分离之后,得到黄色油状物馏分 I,为极性较小化合物。用气相色谱质谱联用检测可知,该组分的主要成分是十六烷酸酯和十八烷酸酯混合物(表 5)。

化合物 II:黄色针状晶体。m. p. 270 ~ 272 $^{\circ}\text{C}$, FAB-MS m/z 285 $[M + 1]^+$; IR (KBr) (cm^{-1}): 3444, 3158, 1652, 1608, 1562, 1509, 1430, 1396;¹³C-NMR(Pyridine- d_5) δ : 182.6 (C-4), 165.9 (C-2), 163.9 (C-7), 163.0 (C-4'), 162.8 (C-5), 158.4 (C-9), 128.5 (C-2',6'), 122.6 (C-1'), 114.8 (C-3',5'), 104.9 (C-3), 104.5 (C-10), 100.0 (C-6), 94.8 (C-8), 55.5 (OCH₃); ¹H-NMR(Pyridine- d_5) δ : 13.66 (1H, s, OH), 7.93 (2H, d, $J = 9.0\text{Hz}$, 2', 6'-H), 7.06 (2H, d, $J = 9.0\text{Hz}$, 3', 5'-H), 6.90 (1H, s, OH), 6.79 (1H, d, $J = 2.0\text{Hz}$, 8-H), 6.73 (1H, d, $J = 2.0\text{Hz}$, 6-H), 3.74 (3H, s, OCH₃)^[17]。

化合物 III:白色针状晶体。m. p. 192 ~ 194 $^{\circ}\text{C}$, ESI-MS m/z 455 $[M + \text{Na}]^+$; R (KBr) (cm^{-1}): 3373, 2948, 1779, 1706, 1294, 1137, 1029;¹³C-NMR (CD₃COCD₃) δ :20.5 (C-1), 24.7 (C-2), 29.1 (C-3), 67.6 (C-4), 46.1 (C-5), 72.9 (C-6), 34.1 (C-7), 34.2 (C-8), 39.3 (C-9), 47.5 (C-10), 35.4 (C-11), 21.6 (C-12), 174.3 (C-13), 115.0 (C-14), 172.7 (C-15), 72.7 (C-16), 48.5 (C-17), 62.01 (C-18), 16.9 (C-19), 20.0 (C-20), 168.0 (C-1'), 137.8 (C-2'), 137.0 (C-3'), 13.5 (C-4'), 11.3 (C-5'); ¹H-NMR(CDCl₃) δ :7.00 (1H, q, $J = 7.0\text{Hz}$, 3'-H), 1.77 (3H, d, $J = 7.0\text{Hz}$, 4'-H), 1.83 (3H, s, 5'-H), 5.82 (1H, $J = 1.2\text{Hz}$, 14-H), 4.72 (2H, d, $J = 1.2\text{Hz}$, 16-H), 4.55(2H, s, 18-H), 0.75(3H, s, 19-H), 0.83 (3H, d, $J = 5.6$, 20-H), 3.21(1H, t, $J = 3.2\text{Hz}$, 6-H), 3.41 (1H, s, 17-Ha), 3.53 (1H, dd, $J = 4.4$, 4.4Hz, 17-Hb)^[18]。

化合物 IV:白色针状晶体。ESI-MS: m/z 481 $[M + 1]^+$; m. p. 241 ~ 242. $^{\circ}\text{C}$; IR (KBr) (cm^{-1}): 3432,

表 5 馏分 I 的化学成分

Table 5 Chemical constitute of fraction I

保留时间 (min) Retention time	分子式 Molecular formula	化合物名称 Name of compound	相对含量 (%) Relative content
15.78	C ₁₈ H ₃₆ O	6,10,14-三甲基-2-十五烷酮	13.43
15.87	C ₁₅ H ₂₈ O	Z,Z-2,5-十五碳二烯-1-醇	2.26
16.88	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	十六(烷)酸甲酯	29.16
17.36	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	十六烷酸	6.78
18.05	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	十六(烷)酸乙酯	5.98
20.07	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	Z,Z-9,12-十八碳二烯酸甲酯	9.03
20.15	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	Z,Z-Z-9,12,15-十八碳三烯酸甲酯	4.04
20.29	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	Z-9-十八烯酸甲酯	7.50
21.00	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	十八(烷)酸甲酯	5.03
21.65	C ₁₉ H ₃₆ O	2-甲基-Z,Z-3,13-十八碳二烯醇	3.32

2965, 2877, 1656, 1446, 1382, 1317, 1054; ^{13}C -NMR (Pyridine- d_5) δ : 68.0 (C-2), 68.0 (C-3), 51.3 (C-5), 203.5 (C-6), 121.7 (C-7), 165.8 (C-8), 34.4 (C-9), 38.6 (C-10), 20.9 (C-11), 32.0 (C-15), 21.0 (C-16), 49.9 (C-17), 17.8 (C-18), 24.4 (C-19), 76.7 (C-20), 21.5 (C-21), 79.8 (C-22), 27.8 (C-23), 42.4 (C-24), 69.8 (C-25), 32.3 (C-26), 31.9 (C-27), 22.6 (C-1), 22.0 (C-12); ^1H -NMR (Pyridine- d_5) δ : 1.07 (3H, 19-CH₃), 1.22 (3H, s, 18-CH₃), 1.37 (6H, s, 26, 27-CH₃), 1.59 (3H, s, 21-CH₃), 4.18 (1H, d, J =11.0Hz, 2-H), 4.22 (1H, s, 3-H), 2.99 (1H, J =3.6Hz, 5-H), 3.00 (1H, d, J =3.6Hz, 17-H), 3.59 (1H, s, 9-H), 6.26 (1H, s, 7-H) [19].

3 讨论

植食性昆虫主要借助化学感受器来鉴别植物信号(以植物次生物质为主),在昆虫与植物关系中,化学识别占主导地位[20]。在研究紫背金盘各溶剂提取物对桔全爪螨驱避作用中,发现极性较小、含易挥发小分子较多的石油醚萃取物活性最好,不仅表现出较强的选择性驱避和产卵驱避作用,还表现出较好的非选择性产卵驱避作用。研究紫背金盘各次生物质对桔全爪螨的驱避作用,同样也发现极性较小、易挥发的馏分 I 和长链脂肪酸单体十六烷酸、十六烷酸甲酯、十六烷酸乙酯和十八烷酸甲酯对桔全爪螨表现显著驱避和产卵驱避作用。分析原因,可能易挥发的物质对桔全爪螨化学感受器产生刺激,螨首先感受到气味而使其远离。类似的结果也存在于岑伊静研究的薇甘菊次生物质对桔全爪螨产卵驱避研究中,其中驱避效果最好的是极性较小,易挥发馏分 F₁,其主要成分为苯酚类物质和甾醇[21]。

乙酸乙酯萃取物也具有良好驱避活性,根据对乙酸乙酯萃取物中各化合物和它们的驱避活性测定发现,极性较大,不具挥发性的刺槐素、 β -蜕皮甾酮和新克罗烷型化合物不具有驱避活性。化合物 III 为新克罗烷型二萜分子,根据文献报道[22],该类分子对一些昆虫具有较好的拒食和毒杀作用。化合物 IV 为 β -蜕皮甾酮,为昆虫蜕皮激素类分子,可抑制某些昆虫取食和蜕皮。但在对桔全爪螨的驱避实验中,均不表现活性。从螨的取食行为分析,桔全爪螨为刺吸式口器,取食时口针插入叶中吸取汁液。而生测采用的方法是将化合物涂布在叶子表面,因此螨有可能没取食到化合物而对其不产生影响。而且对 β -蜕皮甾酮和新克罗烷型二萜分子这两类分子而言,虽然分子母体骨架不变,但所含取代基不同,对不同的昆虫也可表现出不同的活性。

纵观紫背金盘溶剂提取物、馏分和化合物对桔全爪螨的驱避作用,总乙醇提取物比单个溶剂萃取物活性较好、乙酸乙酯萃取物较馏分 I 活性较好,馏分 I 较单个化合物活性较好,这可能与紫背金盘次生化合物之间的协同作用有关,也可能是其中具有较好活性的微量化合物没有分离得到。

References:

- [1] Li Y D. Fruiter Pest. In: Ding J H ed. Agricultural Entomology. Beijing: Chinanese Agricultural Press, 2002. 256—257.
- [2] Ashihara W. Infestation and reproduction of the citrus red mite, *Panonychus citri* (McGregor) (Acari: Tetranychidae) on leguminous plants. Appl. Entomol. Zool., 1987, 22, 512—518.
- [3] Takafuji A, Fujimoto H. Winter survival of the non-diapausing population of the citrus red mite, *Panonychus citri* (McGregor) (Acarina: Tetranychidae) on pear and citrus. Appl. Entomol. Zool., 1986, 21, 467—473.
- [4] Mai X H, Huang M D, Wu W N, et al. Control citrus red mite by protecting *Amblyseius newsami* (Evans) in citrus orchards in mountain area. Natural Enemies of Insects, 1979, 1, 52—56.
- [5] Chen D M, Chen W M. Studies on the effect of two pyrethroids on the development of citrus red mite. Acta Phytophylacica Sinica, 1990, 17(3): 279—282.
- [6] Ho C C. Spider-mite problems and control in Taiwan. Exp. Appl. Acarol., 2000, 24, 453—462.
- [7] Shi W B, Feng M G. Field efficacy of application of *Beauveria bassiana* formulation and low rate pyridaben for sustainable control of citrus red mite *Panonychus citri* (Acari: Tetranychidae) in orchards, Biological Control, 2006, 39, 210—217.
- [8] Dixon R A. Natural products and plant disease resistance. Nature, 2001, 411: 843—847.
- [9] Stuiver M H, Jerome H H V. Engineering disease resistance in plants. Nature, 2001, 411: 865—868.
- [10] Farne E E. Surface-to-air signals. Nature, 2001, 411: 854—864.
- [11] Lnik A, Kuusik A, Metspalu L, et al. Effects of the Estonian local plants on some pests behavior. X I V International Plant Protection Congress.

- 1999, July 25-30, Jerusalem, Israel. 29.
- [12] Liu B, Shir R B. Chemical Constituents and Pharmacological Activities of *Ajuga* Plants, Foreign Medicine. Plant Pharmaceutical Faxcicle, 2001, 16(3), 96—101
- [13] Camps F, Coll J. Insect allelochemicals from *Ajuga* Plants. Phytochemistry, 1993, 26, 1475—1479
- [14] Ben Jannet H, H-Skhir F, et al. Antifeedant activity of plant extracts and of new natural diglyceride compounds isolated from *Ajuga pseudoiva* leaves against *Spodoptera littoralis* larvae. Industrial Crops and Products, 2001, 14, 213—222.
- [15] Shao J W, Chi D F. Effect of Phytoecdysones from *Ajuga* Plants on the Larvae of Lepidoptera Speices. Journal of Northeast Forestry University, 1997, 25(5), 87—90
- [16] Pang X F, Zhang M X, Hou Y M, et al. Evaluation of plant protectants against pest insect. Chin J Appl Ecol, 2000, 11(2): 108—110.
- [17] Alpetch T, Reutrakul V, Tuntiwachwutikul P. Flavonoids in the black rhizomes of *Boesenbergia Pandurata*. Phytochemistry, 1983, 22(2): 625—626
- [18] Min Z D, Wang S Q, Zheng Q T, et al. Four new insect antifeedant neo-Clerodane diterpenoids, Ajugacumbins A, B, C and D, from *Ajuga decumbens*. Chem. Pharm. Bull., 1989, 37(9): 2505—2508.
- [19] Coll J, Reixach N, Sanchez-Baeza F, et al. New ecdysteroids from *Polypodium vulgare*. Tetrahedron, 1994, 50(24): 7274—7252
- [20] Gu W X, He Y B, He T Y, et al. Bioactivity of *Myoporum bontioides* extracts to *Plutell axyloste*. Chinese Journal of Applied Ecology, 2004, 15(7), 1171—1173
- [21] Cen Y J, Pang X F, Ling B, et al. Study on the active components of oviposition repellency of *Mikania micrantha* H. B. K. against citrus red mite, *Panonychus citri* McGregor. Acta Ecologica Sinica, 2004, 24(11), 2542—2547
- [22] Jordi Girona, Insect allelochemicals form *Ajuga* plants. Phytochemistry, 1993, 32, 6, 1361—1370.

参考文献:

- [1] 李云端. 果树害虫. 见: 丁锦华主编. 农业昆虫学南方本. 北京: 中国农业出版社, 2002, 256~2574.
- [4] 麦秀慧, 黄明度, 吴伟南, 等. 山区类型柑桔园自然保护钝绥螨防治柑桔红蜘蛛. 昆虫天敌, 1979, 1: 52~56. 5.
- [5] 陈道茂, 陈卫民. 二种拟除虫菊酯对桔全爪螨繁殖的影响. 植物保护学报, 1990, 17(3): 279~282.
- [11] 刘斌, 石任兵. 筋骨草属植物化学成分与药理活性, 国外医药. 植物药分册, 2001, 16(3), 96~10115.
- [15] 邵景文, 迟德富, 孙凡, 筋骨草提取液对几种鳞翅目幼虫的杀虫效果. 东北林业大学学报, 1997, 25(5), 87~90.
- [16] 庞雄飞, 张茂新, 侯有明, 等. 植物保护剂防治害虫效果的评价方法. 应用生态学报, 2000, 11(2): 108~110.
- [20] 谷文祥, 何衍彪, 何庭玉, 等. 苦槛蓝提取物对小菜蛾的生物活性. 应用生态学报, 2004, 15(7), 1171~1173.
- [21] 岑伊静, 庞雄飞, 凌冰, 等. 薇甘菊提取物对桔全爪螨的产卵驱避作用及有效组分分析. 生态学报, 2004, 24(11), 2542~2547.