

甜菜夜蛾成虫对黑杨萎蔫叶片挥发性物质的触角电位反应

郭线茹¹, 李为争², 原国辉², 陈 智³, 马继盛², 沈佐锐¹

(1. 中国农业大学 植物保护学院, 北京 100094; 2. 河南农业大学 植物保护学院, 河南 郑州 450002;

3. 河南农业大学科教园区, 河南 郑州 450002)

摘要: 测定了甜菜夜蛾成虫对黑杨萎蔫叶片挥发性物质提取物及其 10 种组分的 EAG 反应。结果表明, 与标准化合物苯甲醛相比, 未交配雌蛾、交配雌蛾和雄蛾对 5~ 40 μ L 的提取物均有显著的反应。不论是未交配雌蛾还是已交配雌蛾, 能引起较强 EAG 反应的化合物均为芳香族化合物的苯乙醛、丁香酚、苯甲醇、 β -苯乙醇、正己醇和环己醇。植醇、2-甲基环己烷和 β -石竹烯仅能引起微弱的反应。以 10 种化合物不同种类及比例的混合物刺激成虫, EAG 反应值均高于单一化合物。

关键词: 甜菜夜蛾; 触角电位; 黑杨; 挥发性化合物

中图分类号: S435.622⁺ 3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7091(2002)03-0118-06

甜菜夜蛾(*Spodoptera exigua*) 为多食性害虫, 近年来在全国各地发生危害日益严重, 对玉米、大豆、花生、棉花及多种蔬菜的生产造成很大影响。对于甜菜夜蛾的防治, 目前多采用化学防治^[1~6], 也有用黄杜鹃花提取物进行防治幼虫的试验, 发现提取物对三龄幼虫有强烈的拒食和抑制生长的作用^[7]。研究发现, 黑杨枝把及其萎蔫叶片的提取物不仅能诱集棉铃虫(*Helicoverpa armigera*), 而且对甜菜夜蛾、小地老虎(*Agrotis ypsilon*)、粘虫(*Pseudaletia separada*) 等多种鳞翅目昆虫都有一定的诱集作用^[8,9]。通过分析提取物的化学组成, 发现其中含有的一些成分如苯甲醛、苯乙醛等同样存在于甜菜夜蛾的主要寄主植物甜菜(*Beta vulgaris*) 叶片中^[10], 因此推测提取物对甜菜夜蛾的引诱活性可能来自于这些物质的作用。在我国杨树枝把已成功用于棉铃虫的预测预报和防治, 但由于杨树枝叶资源有限, 这一无公害的防治手段的推广应用受到很大限制。如能证实萎蔫的杨树叶片中含有对甜菜夜蛾及其他昆虫具生物活性的成分, 就可为进一步开发利用杨树资源提供依据。为此, 本研究采用国内外广泛应用的鉴定植物挥发性次生物质活性组分的触角电位(Electroantennogram, EAG)反应技术^[11,12], 测定了甜菜夜蛾成虫对黑杨萎蔫叶片提取物及其主要组分的 EAG 反应, 现将结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 供试昆虫

供试甜菜夜蛾由中国农业科学院植保所提供。将蛹按雌雄分开, 把同一天羽化的成虫按

收稿日期: 2002-02-21

基金项目: 河南省科技厅重点项目; 国家教育部重点项目

作者简介: 郭线茹(1963-), 女, 在读博士, 副教授, 主要从事农业昆虫及昆虫生态学研究方面的工作, 现在河南农业大学植物保护学院工作。

雌、雄、雌雄配对 3 种类型分别放入 3 个饲养笼中, 喂以 10% 的蔗糖水。

1.2 供试样品及其配制

1.2.1 黑杨萎蔫叶片挥发性物质提取物 提取物为黑杨萎蔫叶片水蒸气蒸馏物的二氯甲烷萃取液, 方法同郭线茹^[9], 提取液浓度为 80 gE (即每毫升萃取液中含有 80 g 黑杨萎蔫叶片的挥发物), 刺激剂量分别为 5, 10, 20, 40 μ L, 以 20 μ L 重蒸二氯甲烷为对照, 0.01 mol 苯甲醛为标准化合物。

1.2.2 化合物及其制备 根据提取物的组成成分分析结果^[9]购置化合物纯品。本试验用化合物为苯甲醛、苯乙醛、 β -苯乙醇、苯甲醇、正己醇、环己醇、植醇、2-甲基环己烷、丁香酚和 β -石竹烯(表 1)。将各化合物溶于石蜡油, 配制成 0.1, 0.01, 0.001, 0.000 1 mol/L 的系列溶液, 以苯甲醛为标准化合物, 石蜡油为对照进行预备试验, 结果表明, 0.01 mol/L 浓度比较合适。因此本试验采用 0.01 mol/L。

1.2.3 混合样品 将各化合物的 0.01 mol/L 溶液以不同比例混合配成混合样品(表 1)。

表 1 试验用化合物及组成混合样品的化合物比例

化合物名称	纯度 (%)	混合样品中各化合物比例							
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8
正己醇	95	1	1	1	2	1		1	
环己醇	97	1	1	1	2	1		1	
植物醇	95	1	1	1	1	2		1	
苯甲醛	99	1	1	2	1	2	1		2
苯乙醛	50	1	2	2	1	1	1		1
苯甲醇	99	1	2	2	1	2	1		2
β -苯乙醇	98	1	2	2	1	1	1		1
丁香酚	98.5	1	1	1	2	1	1	1	1
β -石竹烯	99	1	2	2	1	2		1	
2-甲基环己烷	98	1	1	1	2	1		1	

1.2.4 电极缓冲液 采用 Kaissling 溶液, 即葡萄糖 354 mmol/L, 氯化钾 6.4 mmol/L, 磷酸二氢钾 20 mmol/L, 氯化钙 1 mmol/L, 氯化镁 12 mmol/L, 氯化钠 12 mmol/L, 氢氧化钾 9.6 mmol/L, pH 值 6.5。

1.3 触角电位测定仪器及方法

触角电位测定在中国科学院动物所进行。在玻璃电极内注入适量的电极缓冲液, 通入银—氯化银电极, 连接微电极交/直流放大器(Syntech AC/DC UN-06)、刺激放大器(Syntech CS-05)和微动操作仪(Syntech MP-15)。测定时, 将 20 μ L 提取物或各化合物样品均匀地滴在 6 cm \times 0.5 cm 的滤纸条上, 待溶剂挥发后, 把滤纸条放入进样管。然后用小剪刀将供试昆虫的触角从基部剪下, 并切下端部数节, 迅速搭在玻璃电极上。刺激气体流量为 20 mL/min, 每次刺激时间为 0.2 s, 两次刺激间隔 30 s。在同一根触角上每个样品测试 2~3 次, 每组样品刺激前、后各用标准化合物和对照刺激一次, 用以校准因触角活力减退而造成的反应值下降。每组样品使用触角 6 根。

1.4 EAG 数据处理

在每根触角上, 根据甜菜夜蛾对每组样品测试前后标准化合物 EAG 反应值下降的百分率

和间隔刺激次数,校正各样品的反应值。样品反应值减去对照反应值为样品的绝对反应值,样品的绝对反应值除以标准化合物的绝对值后再乘以 100,得到样品的 EAG 反应相对值^[13]。把测试的触角根数作为重复,用 SAS 统计软件对不同样品的相对反应值进行方差分析和差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 成虫对提取物的反应

未交配雌蛾、交配雌蛾和雄蛾对提取物各剂量的 EAG 反应结果(图 1)表明,成虫对 5 μL 的反应值即显著高于标准化合物,以后随剂量增大,反应值提高缓慢。差异显著性检验结果表明,与标准化合物相比,各种剂量的提取物都能引起成虫显著的 EAG 反应,但各剂量间的反应无显著差异。同时可以看出,不同性别及生理状态的成虫 EAG 反应有很大差异。由此可以看出,提取物中含有对甜菜夜蛾具某种生物活性的物质。

2.2 成虫对不同化合物的反应

未交配雌蛾、交配雌蛾和雄蛾对 10 种化合物的 EAG 反应值见图 1。

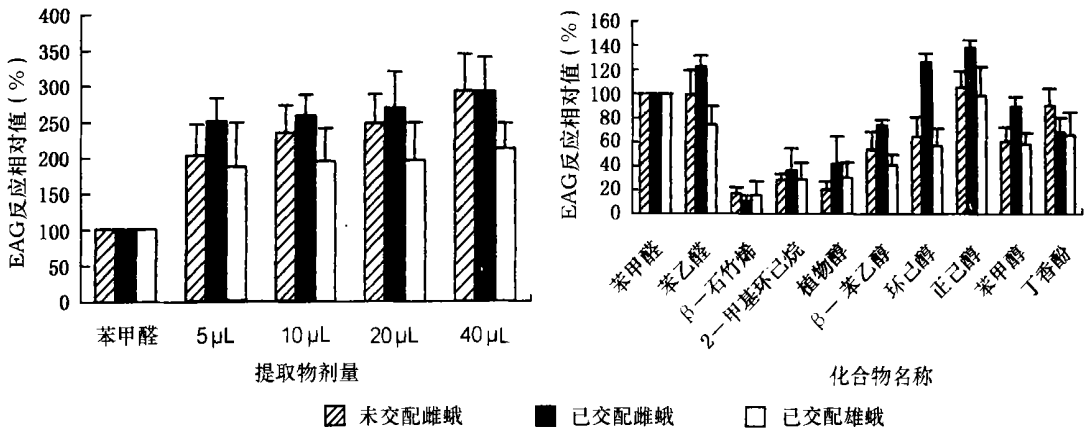


图 1 成虫对不同提取物剂量及不同化合物的 EAG 反应平均值 (±标准误)

由图 1 可知,未交配雌蛾对正己醇的反应最强,苯乙醇和丁香酚次之;已交配雌蛾对苯乙醇、环己醇、正己醇的反应最强,其次是苯甲醇;已交配雄蛾对正己醇的反应最强。在 6 个碳原子的醇类化合物中,碳链为直链的正己醇比环链的环己醇对成虫的嗅觉作用更强,而含有 20 个碳原子的萜类化合物植物醇引起的反应很弱;芳香族化合物苯乙醇、丁香酚、苯甲醇、 β -苯乙醇均能引起成虫较强的 EAG 反应,而烷类化合物 2-甲基环己烷激起的反应极弱, β -石竹烯也仅能引起微弱的反应。

2.3 未交配雌蛾对各化合物混合样品的 EAG 反应

未交配雌蛾对混合样品的反应结果(图 2)表明,处女雌蛾对各混合样品的反应均高于标准化合物苯甲醛。S1~S5 都含有 10 种成分,但对 S1 的反应明显低于 S2~S5,分析其中各组分的比例可知,S1 中各组分的比例相同,而 S2~S5 中都含有种类多少不等的较高比例的

芳香族化合物, 由此可以推测, 芳香族化合物在 EAG 反应中起关键作用; 虽然 S6 和 S8 两者仅含有 5 种芳香族化合物, 但其反应与含有各种组分的 S2~S5 相当, 由此也可看出芳香族化合物对刺激 EAG 反应的作用。尽管正己醇和环己醇的单独刺激能引起成虫较强的 EAG 反应, 但与其他化合物混合后, 混合样品的刺激反应则较小, 如 S7。这些结果表明, 黑杨萎蔫叶片挥发性物质中引起甜菜夜蛾成虫较强 EAG 反应的物质为多种化合物的混合物, 混合物中各组分的性质及其所占比例对 EAG 反应值的大小至关重要, 也即直接影响着混合物生物活性的大小, 其中芳香族化合物对刺激成虫的 EAG 反应起关键作用。

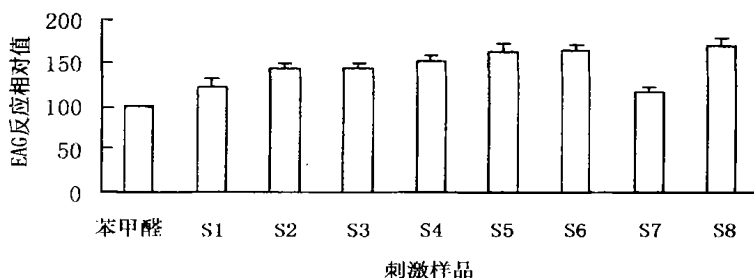


图2 未交配雌蛾对混合样品的 EAG 反应平均值 (± 标准误, N=6)

3 讨论

甜菜夜蛾成虫对黑杨萎蔫叶片挥发性物质的提取物有强烈的 EAG 反应, 对提取物中部分组分的混合物的反应大于单一化合物, 由此可知, 提取物中含有对甜菜夜蛾具某种生物活性的物质, 该物质为多组分混合物, 其中芳香族化合物对刺激 EAG 反应起关键作用。成虫对不同组分具有不同的 EAG 反应, 从对几种醇类物质的反应可以看出, 成虫对 6 个碳原子的正己醇、环己醇的反应明显高于多个碳原子的萜类物质植物醇, 而对直链碳原子的正己醇的反应又大于对环链的环己醇的反应; 各种芳香族化合物对甜菜夜蛾均有较强的 EAG 活性, 但芳香醛引起的反应大于芳香醇; 植物醇、2-甲基环己烷和 β -石竹烯仅能引起微弱的反应。该结果与棉铃虫对同类样品的反应一致^[14]。

植物挥发性次生物质是昆虫借以寻找寄主或蜜源植物的一类它感信息化合物, 如茉莉花释放的苯乙醛能吸引粉纹夜蛾前去取食^[15]; 橄榄叶子及其半成熟的果实释放的甲苯和乙苯能引诱抱卵的橄榄大实蝇 (*Dacus oleae*)^[16]; 东方芥子 (*Brassica juncea*) 叶子及幼苗的挥发油可引诱小菜蛾 (*Plutella xylostella*) 的雌、雄成虫^[17]; 胡萝卜叶的挥发油能增加北美黑凤蝶 (*Papilio polyxenes*) 成虫的降落频率和产卵量^[18]。EAG 反应是鉴定植物挥发性物质中具生物活性的化学成分的有效方法, 但 EAG 反应强度的大小与昆虫的行为反应以及化合物本身的生物活性并不都呈正相关^[19]。巢蛾属 7 种昆虫对寄主植物的挥发性物质的 EAG 反应表明, 当直链碳醇和醛的碳原子数为 6 个时, EAG 反应最大, 而这些 6 碳化合物是植物挥发性物质中种类和含量最高的^[20]。甜菜是甜菜夜蛾的主要寄主, 其叶片的挥发性物质苯甲醛、苯乙醛、反-2-己烯醇、1-己醇和己醛等^[10]也是黑杨萎蔫叶片及其他多种植物中的挥发性成

分^[21], 研究表明, 甜菜夜蛾成虫对黑杨叶片挥发性物质的提取物及其含有的苯甲醛、苯乙醛、丁香酚、正己醇等有较强的 EAG 反应, 说明提取物的生物活性源于这些化合物的生物活性。但黑杨不是甜菜夜蛾的寄主植物, 也非蜜源植物。这类气味物质对甜菜夜蛾有何生物学作用, 这种非寄主植物气味与昆虫间的关系是如何形成的, 继续探明这些问题有助于进一步了解不同昆虫对植物资源的竞争机制和昆虫与植物之间的化学联系。

鸣谢: 试验得到中科院动物所“农业病虫害鼠害综合治理国家重点实验室”的大力帮助。

参考文献:

- [1] 邓建明. 甜菜夜蛾在棉田爆发成灾[J]. 植物保护, 1992, 18(1): 32.
- [2] 谢海荣, 陈一杭. 几种药剂对斜纹夜蛾和甜菜夜蛾的防治效果[J]. 长江蔬菜, 1993, (1): 23.
- [3] 尹国仁. 甜菜夜蛾的发生及其防治[J]. 昆虫知识, 1990, 27(5): 289–290.
- [4] 江幸福, 罗礼智. 甜菜夜蛾爆发原因及其防治对策[J]. 植物保护, 1999, 25(3): 32–34.
- [5] 林仕容. 甜菜夜蛾的发生与防治[J]. 福建农业科技, 2000, (4): 4–5.
- [6] 罗礼智, 曹雅忠, 江幸福. 甜菜夜蛾发生危害特点及其趋势分析[J]. 植物保护, 2000, 26(3): 37–39.
- [7] 钟国华, 胡美英, 翁群芳. 黄杜鹃花提取物对甜菜夜蛾的生物活性[J]. 西北农业大学学报, 2000, 28(2): 98–102.
- [8] 原国辉, 郑启伟, 马继盛, 等. 杨树树枝把诱虫谱及诱虫机理的初步研究[J]. 河南农业大学学报, 1999, 33(2): 147–150.
- [9] 郭线茹, 原国辉, 范彩玲, 等. 黑杨萎蔫叶片气味物质的化学成分分析[J]. 河南农业大学学报, 2001, 35(1): 24–25.
- [10] Macleod A J, Tronconis N G. Volatile constituents of sugar beet leave[J]. Phytochemistry, 1982, 21: 2292.
- [11] Bernhard W, Joop J A van Loon, Marcel D. Electroantennogram responses of a predator, *Perilus bioculatus*, and its prey, *Leptinotarsa decemlineata*, to plant volatiles[J]. Chem Ecol, 1999, 25(10): 2313–2325.
- [12] Heernandez M M, Sanz I, A delantado M, et al. Electroantennogram activity from antennae of *Ceratitis capitata* (Wied.) to fresh orange airborne volatiles[J]. Chem Ecol, 1996, 22(9): 1607–1619.
- [13] 王 明, 伍德明, 阎云花, 等. 新疆棉铃虫性信息素的电生理研究[J]. 华中农业大学学报, 1999, 18(4): 311–316.
- [14] 郭线茹, 卢邵辉, 范彩玲, 等. 棉铃虫对萎蔫黑杨叶片挥发性物质的电生理及行为反应[J]. 华北农学报, 2001, 16(专辑): 22–27.
- [15] Heath R R, Landolt P J, Dueben R, et al. Identification of floral compounds in night blooming jassemine attractive to cabbage looper moths[J]. Environ Entomol, 1992, 21(4): 854–859.
- [16] Scarpati M L, Lo Scaizo R, Vita G. Olea europea volatiles attractive and repellent to the olive fruit fly (*Dacus oleae* Gmelin)[J]. Chem Ecol, 1993, 19(4): 881–891.
- [17] Kenneth A P, Blair J J, George P S, et al. Attraction of the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) to volatiles of oriental mustard: the influence of age, sex and prior exposure to mates and host plants[J]. Environ Entomology, 1990, 19(3): 704–709.
- [18] Robert B, Paul F, Erich S. Oviposition stimulants for the black swallowtail butterfly: identification of electrophysiologically active compounds in carrot volatiles[J]. Chem Ecol, 1993, 19(5): 919–937.
- [19] Honda K, Omura H H, Hayashi N. Identification of floral volatiles from *Ligustrum japonicum* that stimulate flower visiting by cabbage butterfly, *Pieris rapae*[J]. Chem Ecol, 1998, 24(12): 2167–2180.

- [20] Vander Pers J N C. Comparison of electroantennogram response spectra to plant volatiles in seven species of *Yponomeuta* and in the tortricid *Adoxophyes orana*[J]. Ent Exp Appl, 1982, 30: 181– 192.
- [21] Kumar N, Motts M G. Volatile constituents of peony flowers[J]. Phytochemistry, 1986, (25): 250.

Electroantennogram Response of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) to Volatiles from Withered Black Poplar Leaves

GUO Xiaru¹, LI Weizheng², YUAN Guohui², CHEN Zhi³,
MA Jirsheng², SHEN Zuerui¹

(1. College of Plant Protection, China Agricultural University, Beijing 100094, China;

2. College of Plant Protection, Henan Agricultural University, Zhengzhou Henan 450002, China;

3. Science and Education Garden, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: The paper presents the electroantennogram responses of *Spodoptera exigua* to the extracts and 10 compounds from withered black poplar leaves. Virgin female, mated female and male moths have significant EAG response to extracts at the dosages from 5 μ L to 40 μ L compared to benzaldehyde. The compounds that elicited larger EAGs of adults were as follows: benzeneacetaldehyde, eugenol, benzyl alcohol, β -phenylethyl alcohol, hexanol and cyclohexanol. Phytol, 2-methylcyclohexanone and β -caryophyllene revealed a weaker activeness. EAGs from mixture with different ratios of 10 compounds were more active than the single compound.

Key words: *Spodoptera exigua*; Electroantennogram; Black poplar; Volatile