

螟黄赤眼蜂与绿豆和棉花植株间协同素研究

郑 礼, 郑书宏, 宋 凯

(河北省农林科学院旱作农业研究所, 河北 衡水 053000)

摘要: 用离心法、蒸馏法、冷凝法和吸附法从 12 个绿豆品种和 5 个棉花品种植株中提取 145 份挥发物。用嗅觉仪测定螟黄赤眼蜂对提取物行为反应结果, 表明协同素主要来自匍匐型绿豆品种, 并主要由吸附法提取获得, 活性物质主要存在于叶片中, 并随生长期的增长而增加。绿豆植株提取物对螟黄赤眼蜂和玉米螟赤眼蜂均有显著引诱作用。螟黄赤眼蜂对非挥发性提取物没有明显反应。

关键词: 螟黄赤眼蜂; 绿豆; 棉花; 协同素

中图分类号: S433 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2003)院庆专辑-0108-04

Behavioral Response of *Trichogramma chilonis* to Extracts from Mung Bean and Cotton Plants

ZHENG Li, ZHENG Shu-hong, SONG Kai

(Dryland Farming Institute, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Hengshui 053000, China)

Abstract: A total of 145 volatile extracts were made from 12 varieties of mung bean and 5 varieties of cotton plants using the centrifugation, distillation, condensation and head-space methods. The responses of *Trichogramma chilonis* females to the plant extracts were evaluated using a 4-source olfactometer chamber. Extracts made using the head-space method showed the greatest number of significant responses of wasps. Synomones were mainly from creeping type mung bean plants. Leaf extracts from creeping type mung bean were the most attractive. Differences occurred between mung bean plants of different ages. *Trichogramma ostrinia* and *T. chilonis* showed similar attractiveness to creeping type mung bean leaf extracts. *T. chilonis* wasps did not show any response to non-volatile extracts.

Key words: *Trichogramma chilonis*; Mung bean; Cotton; Synomone

在生态系统中, 各有机体之间通过传递信息化学物互相联系, 形成化学信息网, 不同生物种间的个体可以通过它感化学物质的释放、传递和接受来识别和定位。一些植物能够释放出含有活性物质协同素(Synomones)的挥发物吸引天敌昆虫, 来攻击取食该植物的害虫。研究挥发性信息化学物质在植物—植食性昆虫—天敌昆虫三重营养阶层关系中的作用, 对于探讨生态系统中植物与昆虫的协同进化、丰富生物种间关系理论, 寻求保护利用自然天敌、控制害虫的新途径, 都具有重要理论和实践意义。

由于生态系统中的化学信息联系并不仅表现在具有直接营养关系的生物体之间, 生物相的改变会影响植物—害虫—天敌之间的化学信息联系, 进而影响害虫和天敌的种群数量变化。赤眼蜂是世界上应用面积最大的一类天敌昆虫, 世界各国应用赤眼蜂防治多种农业害虫取得显著成效, 同时也发现用赤眼蜂防治水稻、玉米、棉花害虫时效果不稳定^[1], 其中, 作物相的改变会影响赤眼蜂对害虫的寄生效果, 如大豆和玉米间作田赤眼蜂对棉铃虫卵的寄生率比平作大豆田高^[2], 玉米—大豆—番茄混作田赤

收稿日期: 2003-03-03

基金项目: 河北省自然科学基金课题资助项目(399453)

作者简介: 郑 礼(1964-), 男, 河北滦州人, 硕士, 副研究员, 主要从事农业害虫综合治理工作。

眼蜂数量比平作玉米田多, 喷洒番茄植株提取物能够提高短管赤眼蜂对玉米穗螟的寄生率^[3,4], 夏玉米田间作匍匐型绿豆对玉米螟赤眼蜂有显著增诱作用, 可明显提高其对玉米螟卵的寄生率^[5~7]。

螟黄赤眼蜂(*Trichogramma chilonis*)是棉田寄生棉铃虫卵的优势蜂种, 在棉田释放螟黄赤眼蜂能够在一定程度上控制棉铃虫的种群数量, 是棉铃虫综合防治的有效措施之一。我们在实践中发现, 在棉田间作某些豆类作物, 能够提高螟黄赤眼蜂对棉铃虫卵的寄生率。本项研究的目的在于明确螟黄赤眼蜂与棉花、绿豆等植物之间的化学信息联系机制, 为寻求赤眼蜂保护利用技术、提高防治害虫效果提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

螟黄赤眼蜂蜂种由吉林农业大学提供, 玉米螟赤眼蜂(*T. ostrinia*)蜂种采自本地玉米田, 两种赤眼蜂均在光照培养箱内 20 ℃, (75±5)%相对湿度条件下饲养。绿豆品种中绿 1 号、VC2768A、潍 8901-32、DO317、DO640、DO658、DO659、DO842、DO966 由中国农科院品资所提供, 3 个农家种绿豆农 1、农 2、农 3 来自衡水。棉花品种泗棉 3 号由中国农科院植保所提供, 石远一 321、中棉 30、杂 29 由河北农科院棉花所提供, 33B 来自冀岱棉公司。吸附剂 Porapak 由加拿大农业部 Saskatoon 研究中心提供。

1.2 方法

1.2.1 挥发物的提取

吸附法: 用二氯甲烷将植物组织洗净, 将叶片和茎秆剪碎, 置于三角瓶中, 将装有 Porapak 吸附剂的玻璃管置于瓶塞上, 用抽真空泵形成气流, 气流经过三角瓶之前用活性炭过滤。每个样本抽提 9 h, 每 3 h 更换 Porapak 吸附剂。用戊烷冲洗吸附剂提取挥发物, 然后用充低温氮气使戊烷挥发的方法将其浓缩(后同), 置于-15 ℃保存待用。

离心法: 将植物组织剪碎后放入无离子水中, 粉碎机打碎, 纱布过滤除去固体杂质, 在 10 ℃, 10 000 r/min 速度下离心 20 min, 取上清液, 加入二氯甲烷并充分振动, 取下清液, 在上述条件下继续离心 20 min, 取下清液, 在-5 ℃下静置 24 h, 用滤纸过滤除去冰晶, 浓缩后置于-5 ℃保存待用。

蒸馏法: 将洗净的植物组织在无离子水中打碎, 在 100 ℃下蒸馏, 按时间顺序分 3 次各取蒸馏液 20 mL, 分别加入二氯甲烷, 充分振动, 取下清液, 在-5 ℃下静置 24 h, 用滤纸过滤除去冰晶, 浓缩后置于-5 ℃保存待用。

液氮冷凝法: 将植物组织依次用自来水和蒸馏水冲洗干净, 打碎后置于三角瓶中。用抽真空泵形成气流, 空气依次流经活性炭过滤器、气流计、样品三角瓶、固体硫酸钠、冷凝管(置于液氮罐中的 U 型管), 最后经气流计和抽真空泵排出。每个样品抽提 6 h 左右。

1.2.2 非挥发物的提取 将洗净的植物组织在 60%乙醇中打碎, 用纱布过滤, 将固体物质再次打碎、过滤, 重复 4 次。用水浴旋转蒸发器将滤液蒸发至干燥, 依次用戊烷、乙醚、乙酸乙酯、乙醇和无离子水提取, 充分震动各 1 min。将上述 4 种有机溶剂的提取物用滤纸过滤, 分别用水浴旋转蒸发器再次蒸发至干燥, 并用相应的溶剂再次分别提取, 将提取液置于-5 ℃保存待用。将上述无离子水提取液, 在 10 ℃, 10 000 r/min 速度下离心 15 min, 取上清液置于-5 ℃保存待用。

1.2.3 赤眼蜂对挥发性提取物的行为反应测定 采用 15 cm×15 cm 四臂式昆虫嗅觉仪测定赤眼蜂对各种挥发性提取物的行为反应。按照气流路径将嗅觉仪中腔分为 4 个区域。光源位于嗅觉仪下方, 以保证光线均匀。用抽真空泵形成气流, 经活性炭过滤后进入嗅觉仪, 由四臂进入, 中心导出。每次测定前, 将赤眼蜂置于嗅觉仪中心处, 每次运行 10 min。挥发性提取物作为气味源随气流由四臂进入, 每次测定 1 种或 2 种挥发物, 对照为相应的溶剂。将摄像探头置于嗅觉仪正上方, 记录各次测定过程中赤眼蜂的活动情况。将赤眼蜂第一次进入的区域作为其初次选择, 每次测定结束时所在区域为最终选择。根据录像统计赤眼蜂在各区域的数量和在不同区域活动与停留时间, 以此反映不同气味源对赤眼蜂的引诱作用。

1.2.4 赤眼蜂对非挥发性提取物的行为反应测定

将浸有提取物的滤纸和赤眼蜂同时置于玻璃皿中, 以相应溶剂为对照, 记录赤眼蜂在滤纸上的停留时间, 并观察记载赤眼蜂触角在滤纸上的探测情况。

1.2.5 化学成分初步分析 用气谱-质谱联机系统测定对赤眼蜂有显著引诱作用的提取物的化学成分, 初步分析引诱赤眼蜂的活性物质。

2 结果与分析

2.1 提取结果

从 12 个绿豆品种和 5 个棉花品种植株不同生长期以及不同器官共提取了 145 份挥发物。其中吸附法 42 份,蒸馏法 42 份,离心法 28 份,液氮冷凝法 33 份挥发物。提取非挥发物 45 份。

2.2 螟黄赤眼蜂对挥发性提取物的行为反应测定结果

将全部 145 份挥发性提取物进行行为反应测定,发现其中 18 份提取物对赤眼蜂有显著或极显著引诱作用(表 1)。对赤眼蜂有引诱作用的挥发物有 10 份是用吸附法提取的,其他 5 份用冷凝法、2 份用离心法、1 份用蒸馏法提取,说明不同方法提取的挥发物成分或含量不同,表现出对赤眼蜂的作用不同。有引诱作用的挥发物除 1 份来自棉花外,其余 17 份来自 6 个品种的绿豆植株,与其他被测绿豆品种相比较,这 6 个绿豆品种的共同特点是匍匐蔓生,表明绿豆植株中含有对螟黄赤眼蜂具有强烈引诱作用的挥发性化学物质,并且不同绿豆品种之间差别明显。

表 1 对螟黄赤眼蜂有引诱作用的挥发性提取物					
作物种类	作物品种	植株部位	生长期(d)	提取方法	引诱作用
绿豆	农 1	叶片	48	吸附法	+
		叶片	75	冷凝法	++
	农 2	整株	53	离心法	+
		叶片	68	冷凝法	+
	农 3	叶片	82	冷凝法	++
		整株	51	吸附法	++
		叶片	75	吸附法	++
		叶片	99	吸附法	++
		花	80	吸附法	+
		整株	60	冷凝法	+
		叶片	80	冷凝法	++
		叶片	89	蒸馏法	+
	DO 640	花	76	离心法	+
	DO 659	叶片	73	吸附法	+
	DO 842	叶片	50	吸附法	+
		叶片	95	吸附法	++
棉花	杂 29	叶片	112	吸附法	++
		花	88	吸附法	+

注: * + 引诱作用显著 ($P < 0.05$); ++ 引诱作用极显著 ($P < 0.01$); - 有显著抗拒作用 ($P < 0.05$); χ^2 测试 3×4 表, $v = (3 - 1) \times (4 - 1) = 6$, $\chi^2_{0.05} = 12.59$, $\chi^2_{0.01} = 16.81$

从同一品种不同部位的绿豆植株中提取的挥发物对赤眼蜂引诱作用不同,叶片的提取物对赤眼蜂的引诱作用表现最为强烈。以农家种 3 号绿豆植株不同部位提取物对赤眼蜂的引诱结果为例,从花中

提取的挥发物对赤眼蜂引诱作用显著低于叶片和全株的提取物(表 2)。表明绿豆植株主要通过叶片释放化学物质来引诱赤眼蜂。

表 2 螟黄赤眼蜂对农 3 绿豆植株不同部位提取物的反应							
植株部位	总数(头)	区 1 处理	区 2 对照	区 3 对照	区 4 对照	P *	χ^2
全株	32	17	5	4	6	< 0.01	13.75
叶片	41	28	6	4	3	< 0.01	41.44
花	44	19	9	6	10	< 0.05	8.55

注: 卡平方测试, $v = 3$, $\chi^2_{0.05} = 7.81$, $\chi^2_{0.01} = 11.34$

不同生长期的绿豆植株,其挥发性提取物对赤眼蜂的引诱作用不同。从测定结果来看,植株幼苗期一般不含有活性挥发物,生长后期特别是开花结实期,植株体内活性挥发物显著增加,表现出对赤眼蜂具有强烈引诱作用。以 DO842 绿豆品种为例,5 片叶幼苗期提取物对赤眼蜂无显著引诱作用,23 片叶时植株提取物有显著引诱作用,而花期和结实期的提取物对赤眼蜂表现出极显著引诱作用(表 3)。

表 3 螟黄赤眼蜂对不同生长期的 DO842 绿豆植株提取挥发物的反应							
生长期	总数(头)	区 1 处理	区 2 对照	区 3 对照	区 4 对照	P *	χ^2
20 d(五叶)	43	16	9	11	7	> 0.05	4.16
50 d(23 叶)	44	20	8	7	9	< 0.05	10.00
95 d(花期)	41	23	5	5	8	< 0.01	21.73
112 d(结荚)	39	24	7	5	3	< 0.01	28.59

注: a 植物生长条件: 25 $^{\circ}\text{C}$, 65% RH, 20L : 4D, 人工气候室; * χ^2 测试, $v = 3$, $\chi^2_{0.05} = 7.81$, $\chi^2_{0.01} = 11.34$

绿豆与棉花植株提取物对赤眼蜂的混合作用与绿豆植株提取物单独作用没有显著区别,但显著高于棉花植株提取物单独对赤眼蜂引诱作用(表 4)。

表 4 螟黄赤眼蜂对杂 29 棉花和农 3 绿豆植株提取物及二者混合物的反应							
	N	区 1 绿豆	区 2 混合	区 3 棉花	区 4 对照	P	χ^2
首次选择	36	13a	14a	5b	4b	< 0.05 *	9.11
二次选择	36	14a	16a	4b	2b	< 0.01 *	16.44
最终选择	31	11a	17a	3b	0b	< 0.01 *	23.06
平均(%)		38.3	50.9	7.7	3.1	< 0.01 **	

注: * χ^2 测试, $v = 3$, $\chi^2_{0.05} = 7.81$; $\chi^2_{0.01} = 11.34$; ** Friedman 双因子变量分析

通过比较螟黄赤眼蜂和玉米螟赤眼蜂对部分提取物的反应表明,对螟黄赤眼蜂具有显著引诱作用的绿豆植株提取物,对玉米螟赤眼蜂也表现出不同程度的引诱作用,但玉米螟赤眼蜂对棉花植株提取

物没有明显反应。例如两种赤眼蜂对农 3 绿豆叶片挥发物表现出不同程度的反应(表 5), 但玉米螟赤眼蜂对棉花花中提取的挥发物没有显著反应(表 6)。

表 5 玉米螟赤眼蜂和螟黄赤眼蜂对用吸附法从农家 3 号绿豆叶片提取的挥发物的反应比较

蜂种	选择	总数	区 1	区 2	区 3	区 4	P *	χ^2
		(头)	处理	对照	对照	对照		
玉米螟	首次	36	17	7	5	7	< 0.05	10.00
赤眼蜂	最终	33	21	4	3	5	< 0.01	26.51
螟黄	首次	36	16	8	8	4	< 0.05	8.44
赤眼蜂	最终	28	14	3	4	7	< 0.05	10.71

注: * χ^2 测试, $v=3$ $\chi^2_{0.05}=7.81$; $\chi^2_{0.01}=11.34$

表 6 玉米螟赤眼蜂和螟黄赤眼蜂对用吸附法从杂 29 棉花花中提取的挥发物的反应比较

蜂种	选择	总数	区 1	区 2	区 3	区 4	P *	χ^2
		(头)	处理	对照	对照	对照		
玉米螟	首次	40	18	5	8	9	< 0.05	9.40
赤眼蜂	最终	32	15	8	3	6	< 0.05	9.75
螟黄	首次	40	13	7	11	9	> 0.05	2.00
赤眼蜂	最终	29	10	7	5	7	> 0.05	1.76

注: * χ^2 测试, $v=3$ $\chi^2_{0.05}=7.81$; $\chi^2_{0.01}=11.34$

2.3 螟黄赤眼蜂对非挥发性提取物的行为反应测定结果

通过测定螟黄赤眼蜂对 45 份不同非挥发物的反应, 表明非挥发性提取物对螟黄赤眼蜂均未表现出显著引诱作用。

2.4 气谱—质谱仪测定结果

用 HP5989X 气谱—质谱仪对从匍匐型绿豆植株中提取的对螟黄赤眼蜂有引诱作用的挥发物的化学成份分析结果表明, 对赤眼蜂可能的引诱物质为烯醛、烯醇和烷酸类。

匍匐型绿豆特别是某些农家种绿豆植株存在对螟黄赤眼蜂具有显著引诱作用的挥发性化学物质—

协同素, 通过在棉田间作绿豆, 提高赤眼蜂对害虫的寄生效果。田间应用结果证明, 间作绿豆比不间作绿豆棉田赤眼蜂对棉铃虫卵寄生率提高 30% 以上。通过进一步分析具有引诱作用的挥发物的化学成分, 明确其有效活性化合物种类及其组分, 通过人工合成或提取天然物质, 应用于天敌昆虫的保护利用, 将为农业害虫综合治理提供新途径。

参考文献:

[1] Hassan S A. Strategies to select Trichogramma species for use in biological control Biological Control with Egg Parasitoids[J]. CAB International, 1993, 55—71.

[2] Altieri M A, Lewis W J, Nordlund D A, et al. Chemical interactions between plants and Trichogramma wasps in Georgia soybean fields[J]. Protection Ecology, 1981, 3: 259—263.

[3] Nordlund D A, Lewis W J, Gleedner R G, et al. Arthropod populations, yield and damage in monocultures and polycultures of corn, beans and tomatoes[J]. Agric Ecosystems Environ, 1984, 11: 353—367.

[4] Nordlund D A, Chalfant R B, Lewis W J. Response of Trichogramma pretiosum females to volatile synomones from tomato plants[J]. J Entomol Sci, 1985, 20(3): 372—376.

[5] 周大荣, 宋彦英, 郑礼, 等. 玉米螟赤眼蜂适宜生境的研究和利用: I. 玉米螟赤眼蜂在不同生境中的分布与种群消长[J]. 中国生物防治, 1997, 13(1): 1—5.

[6] 周大荣, 宋彦英, 郑礼, 等. 玉米螟赤眼蜂适宜生境的研究和利用: II. 夏玉米间作匍匐型绿豆对玉米螟赤眼蜂寄生率的影响[J]. 中国生物防治, 1997, 13(2): 49—52.

[7] 周大荣, 宋彦英, 郑礼, 等. 玉米螟赤眼蜂适宜生境的研究和利用: III. 夏玉米间作匍匐型绿豆对玉米螟赤眼蜂的增效作用及其在穗期玉米螟防治中的作用[J]. 中国生物防治, 1997, 13(3): 97—100.