

白香草木樨等植物对黑绒金龟甲 诱集作用的研究*

韩德元 李咏伟 张芝利 冯玉珠 刘孟英 阎忠澄
(北京市农林科学院植保环保研究所, 北京 100081) (中国科学院动物研究所, 北京)

王 军

(河北省农林科学院特产桑蚕研究所, 承德)

摘 要 桑园点播种植白香草木樨早春诱集黑绒金龟甲等害虫、再集中药杀的技术收到较好的防治效果。本项研究对白香草木樨、几种作物和田间杂草对黑绒金龟甲的引诱作用进行了比较, 并试图找到白香草木樨引诱黑绒金龟甲的化学物质基础。应用嗅觉计、触角电位、田间罩笼试验及室内行为测定等方法研究了白香草木樨对黑绒金龟甲的引诱作用, 分析测定表明了白香草木樨茎叶提取物主要成分香豆素对引诱作用的影响。结果表明, 白香草木樨对黑绒金龟甲的引诱作用大于玉米苗、小麦苗、大豆苗、马铃薯片、狗尾草、桃叶和杨叶; 大豆苗、狗尾草喷上香豆素溶液后对黑绒金龟甲的诱集作用有所提高。黑绒金龟甲对白香草木樨、巴天酸模、藜及香豆素溶液的触角电位反应测定结果中以藜和白香草木樨引起的电位反应最大。

关键词 黑绒金龟甲(*Serica orientalis* Motschulsky) 白香草木樨(*Melilotus alba* Desr.) 嗅觉测定 触角电位 行为测定

黑绒金龟(*Serica orientalis* Motschulsky)是农、林、桑、麻等作物的重要害虫, 该虫发生早, 食性杂, 昼伏夜出, 以成虫取食植物地上幼嫩部位为主, 对农作物造成很大的危害。黑绒金龟甲成虫在桑园嚼食桑树芽苞和嫩叶, 严重时将嫩芽吃光, 桑叶减产甚至造成苗木死亡, 桑园被害率可高达40%。在桑叶上直接喷施农药会污染桑叶, 影响养蚕。河北省农林科学院特产桑所经过多年的研究探索出在桑园点播种植白香草木樨引诱黑绒金龟甲再进行药杀可消灭黑绒金龟甲达95%。


白香草木樨也叫白花草木樨(*Melilotus alba* Desr.), 豆科, 草木樨属, 二年生牧草, 茎叶含有特殊的香味。据文献报道, 该气味主要来自一种挥发性化学物质香豆素。本项研究通过白香草木樨及其成分香豆素对黑绒金龟甲的引诱作用比较, 确证其诱集能力及其化学物质基础, 为推广应用白香草木樨作为引诱植物诱集金龟甲找到理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 白香草木樨 在北京及承德两地种植作为诱集植物及提取分析鉴定。

1.1.2 黑绒金龟甲 在北京房山果园、承德桑园采集近万头黑绒金龟甲成虫进行生物测定。5月上旬将采集到的成虫放在直径为40cm含土的塑料盆内饲养,土层厚度为5~10cm,含水量为10%,每盆约2000头,饲以油菜、马铃薯片,白天昆虫钻入土中,夜间出来取食。5月20日左右开始产卵,卵很快孵化,5月30日左右大部分幼虫变白,取食马铃薯片。该虫在室内存活1个半月左右。仅取成虫作为试验材料。

1.1.3 香豆素 别名氧杂萜邻酮、香豆内酯,结构为,化学纯,沈阳市试剂三厂生产。

1.1.4 其他植物材料 盆栽的小麦苗、玉米苗、大豆苗、藜、油菜苗等;狗尾草、巴天酸模为田间采集,购买新鲜马铃薯薯块。

1.1.5 Y形嗅觉器 自行设计玻璃管制成,玻璃管内径3cm(图1)。

1.1.6 触角电位仪 中国科学院动物所严福顺研究员设计,玻璃电极用内径2mm玻璃毛细管制制而成,玻璃电极内通入直径0.2mm的银-氯化银电极,后者连接微电极交/直流放大器(YSNTech UN-06),示波器(HAMEG, HM-203-6)和记录仪(Gould Recorder 220)。

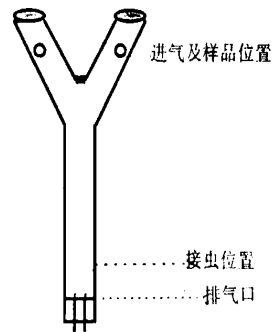


图1 Y形嗅觉计示意图

1.2 方法

1.2.1 白香草木樨茎叶提取物分析 采用乙醇、甲醇、乙酸乙酯进行提取,然后经真空旋转蒸发器浓缩,再用己烷提取。样品用毛细管柱气相色谱分析和气质联用仪分析。

毛细管柱气相色谱分析条件:采用改装有毛细柱的岛津GC7AG型仪,无分馏进样,氢火焰检测,岛津GR1B积分仪,毛细柱为HP20M,50m×0.2mm,柱温条件:程序升温60(1min)~200(8/min)。

气质联用仪分析条件:气相色谱仪为HP5890A,氦为载气,质谱是Finnigan 800ITD。毛细柱及分析条件与前相同。

1.2.2 嗅觉计测定 白香草木樨、小麦苗、玉米苗、马铃薯及藜等两两不同的植物样品切碎研磨后放置在嗅觉计两臂前端小孔内(香豆素1000mg/kg,溶液滴在脱脂棉球后放入小孔内),玻管前端用橡胶塞塞住,中间接入黑绒金龟甲(实验前饥饿24h),每次接虫20头。接虫后15、20、25、30min计算两臂内金龟甲数目,共计数4次。清洁嗅觉计,换上新虫再进行测定,重复4批金龟甲。将各对数据进行t测验,比较黑绒金龟甲栖息数量的差异显著性。

1.2.3 触角电位记录(EAG) 将金龟甲自前胸和中胸间切下头部,除去前足和一条触角,将另一条触角切去顶端,记录电极套在触角顶端上,将参考电极插入触角基部。玻璃电极内灌注适量的Kaissling生理液。对触角进行气味脉冲刺激,空气流量80ml/min,每次刺激时间0.2s,

刺激间隔 30s 以上。刺激物样品为白香草木樨、巴天酸模、藜等植物鲜叶研磨捣碎汁液; 香豆素 50、250、500、1000mg/ kg 水溶液。触角活性可能随时间变化而变化, 用反-3-己烯醇为对照刺激物, 并进行间隔刺激。每处理重复 8~16 次。根据公式计算触角电位相对 EAG 反应值(%)。

$$Sr = \frac{Sc}{\frac{Ra + Rb}{2}} \times 100\%$$

式中, Sr : 刺激样品的 EAG 反应相对值;

Sc : 刺激物的振幅;

Ra : 样品前对照化合物刺激振幅;

Rb : 样品后对照化合物刺激振幅。

1. 2. 4 室内生测 采用长 30cm, 宽 20cm, 高 6cm 的透明玻璃标本盒, 将测试的植物切碎, 香豆素溶液和乙醇采用剪碎的滤纸吸附。盒内对角线两角分别放入被测材料, 中间接入 20 头金龟甲, 为防止光线的影响, 放入虫后立即以黑布罩住。10min 后记录栖息在诱源的金龟甲数目, 记录后盖好, 并变更标本盒放置角度。30min 内调查 3 次, 取平均值, 然后换上新虫再进行测定, 重复 6 次。金龟甲测定前饥饿 1~2d。

1. 2. 5 田间罩笼生测 用长 1m, 宽 0. 8m, 高 1m 的纱笼扣在地面上, 将盆栽的植物分别埋在笼内对角线两角, 每天上午在笼内接虫 50 头, 埋入中间土内, 第二天上午挖植物根茎部土壤内的金龟甲。计数后再将虫埋入土中。连续调查, 并补充虫源, 累计观察 15 次。测定的植物有: 白香草木樨、藜、玉米苗、大豆苗、油菜、鲜马铃薯片、狗尾草及香豆素 1000mg/ kg 溶液。每笼放两种材料, 每组重复 6 次。对数据进行 t 测验, 比较差异显著性。

2 结果与分析

2. 1 嗅觉计测定结果

采用毛细管柱气相色谱分析和气质联用仪分析白香草木樨的提取物, 确定主要成分为香豆素。香豆素在风干的白香草木樨茎部中含量为 0. 28%, 在风干的叶部含量为 0. 43%。白香草木樨的特殊气味主要来自香豆素。

表 1 嗅觉计测定几种植物材料引诱金龟甲作用比较

诱虫材料	诱虫头数 (平均)	t 测验	诱虫材料	诱虫头数 (平均)	t 测验
白香草木樨	5. 667	4. 535	白香草木樨	5. 700	5. 156
空 白	0. 867		巴天酸模	7. 100	
白香草木樨	8. 533	6. 245	白香草木樨	4. 600	1. 128
马铃薯片	2. 200		香豆素 1000mg/ kg	3. 467	
白香草木樨	5. 600	3. 211	香豆素 1000mg/ kg	5. 600	1. 165
小麦苗	2. 200		藜	4. 000	
白香草木樨	4. 400	1. 163	香豆毒 1000mg/ kg	5. 800	2. 201
玉米苗	3. 200		玉米苗	3. 400	
白香草木樨	6. 400	3. 572	香豆素 1000mg/ kg	6. 800	3. 411
藜	2. 000		巴天酸模	2. 667	

注: 表中黑绒金龟甲头数为 15 个观察值平均数。 $t_{0. 05} = 2. 145$; $t_{0. 01} = 2. 977$

用 Y 形管测定黑绒金龟甲向两叉爬动全靠气味源的作用,也就能测定金龟甲的嗅觉反应和选择。从表 1 可见,白香草木樨的诱虫头数大于马铃薯、小麦苗、玉米苗、藜和香豆素溶液,而小于巴天酸模。在早春田间采集金龟甲也发现了在巴天酸模根部聚集了一些黑绒金龟甲,说明巴天酸模也是黑绒金龟甲喜食植物。单纯的香豆素溶液气味诱集作用大于藜、玉米和巴天酸模,而低于白香草木樨的诱集作用(表 1)。

2.2 黑绒金龟甲对不同刺激物的触角电位反应(EAG)

以反-3-己烯醇为对照刺激物,其反应振幅为 1,将几种植物和香豆素引起的反应振幅与标准值比较计算。换算为百分数,白香草木樨和藜引起的反应最大,分别为 58% 和 72%,纯香豆素 5000mg/kg 溶液次之。香豆素最低和最高浓度均不能引起触角电位反应(表 2)。

2.3 室内行为测定 采用标

表 2 黑绒金龟甲对不同刺激物的触角电位(EAG)反应

刺激源	触角电位反应波幅(200×)	相对 EAG 值
反-3-己烯醇(对照)	8.24	1.00
白香草木樨	4.76	0.58
藜	5.90	0.72
巴天酸模	1.71	0.21
香豆素 50mg/kg	0.00	0.00
香豆素 250mg/kg	1.53	0.19
香豆素 500mg/kg	3.65	0.44
香豆素 1000mg/kg	0.07	0.04

本盒内放置不同植物测试金龟甲趋向性更能说明植物实际诱集能力。白香草木樨与油菜、马铃薯片、藜等植物诱集的金龟甲数目之间无显著差异,而白香草木樨与狗尾草、香豆素溶液(浸泡滤纸)之间差异显著。说明了除气味外,金龟甲爬到某种植物材料处还有植物的

鲜嫩程度、养分、口感及其他因素在起作用。但对于原本不喜欢的狗尾草经香豆素溶液浸沾后,诱集作用就大大提高了(表 3)。

表 4 田间罩笼法测定植物引诱黑绒金龟甲实验

表 3 室内测定植物引诱黑绒金龟甲实验					
诱虫材料	诱虫头数 (平均)	t 测验	诱虫材料	诱虫头数 (平均)	t 测验
白香草木樨	6.00	2.756	白香草木樨	13.80	4.407
油 菜	5.20		大豆苗	7.30	
白香草木樨	5.20	1.123	白香草木樨	3.70	6.515
马铃薯片	5.30		油菜	9.20	
白香草木樨	4.20	3.689	白香草木樨	10.30	3.013
藜	6.70		马铃薯片	8.30	
白香草木樨	6.80	3.588	白香草木樨	11.00	19.307
狗尾草	4.00		玉米苗	1.70	
白香草木樨	7.30	19.365	白香草木樨	6.50	4.603
香豆素 1000mg/kg	0.80		藜	12.30	
狗尾草+ 香豆素 1000mg/kg	6.00	17.633	白香草木樨	7.30	9.872
狗尾草	2.20		狗尾草	1.50	
香豆素	2.00	10.968	白香草木樨	32.00	33.124
乙 醇	0.30		桃叶	7.00	
			白香草木樨	25.30	18.715
			杨叶	8.30	
			大豆苗+ 香豆素	4.20	1.102
			大豆苗	2.80	
			狗尾草+ 香豆素	7.80	3.121
			狗尾草	2.70	

注:每次接虫 20 头,重复 6 次计算平均数。 $t_{0.05} = 2.145; t_{0.01} = 2.977$ 注:每次接虫 50 头,观察 15 次取平均数。 $t_{0.05} = 2.145; t_{0.01} = 2.977$

2.4 田间罩笼生测 将盆栽的白香草木樨分别与 8 种植物诱集作用比较试验,结果表明白香草木樨对黑绒金龟甲的诱集作用高于大豆苗、马铃薯片、狗尾草、桃叶和杨叶,而低于油菜、藜。大豆苗和狗尾草喷上香豆素后的引诱作用有所提高(表 4)。

3 讨论

从田间实验和室内生测来看,白香草木樨对黑绒金龟甲的引诱作用大于小麦苗、大豆苗、狗尾草、桃叶和杨叶,而小于油菜、藜(苗期)和鲜马铃薯片。其中马铃薯与藜在嗅觉计测定中,气味的引诱作用不如白香草木樨。这说明了金龟甲在嗅觉选择过程中白香草木樨的气味起主要作用,但取食过程中鲜嫩的油菜、藜和马铃薯也是金龟甲偏爱的食物。香豆素具有的浓郁气味在嗅觉计测定中对黑绒金龟甲有较强的引诱作用;但在田间或室内生测中,金龟甲不会取食单纯的香豆素滤纸屑。说明香豆素在白香草木樨引诱金龟甲中起一定作用,但对杂食的金龟甲来说,还有很多因素影响金龟甲的取食行为。

在桑园、果园点片植株白香草木樨,利用其二年生越冬后出苗早、嫩芽营养丰富并有特殊香味的特点引诱金龟甲取食,然后在白香草木樨上喷药杀死害虫,方法简便易行。白香草木樨本身是豆科牧草,植株可做饲料,并可培肥地力。尽管藜和巴天酸模等苗期黑绒金龟甲也喜欢取食,但藜和巴天酸模等为农田危害性杂草,应尽早防除,不可利用。

本试验中生测材料新鲜及幼嫩程度直接影响金龟甲的取食情况。茁壮的、新鲜幼嫩的植物苗金龟甲喜食,趋向性高;反之,趋向性低。试验要采用均匀一致的材料,否则,会影响试验的准确性。

鸣谢:中科院动物所严福顺研究员及侯照远、张英等先生在本项研究中给予大力协助,特此致谢。

参 考 文 献

- 1 王军. 桑树芽期黑绒金龟子的综合治理新技术. 中国昆虫学会大会交流材料. 1997
- 2 吴立军,何培谭. 毒枝(叶)诱杀大黑金龟子的研究. 江苏农业科学, 1989(10): 19~20
- 3 李兰珍,崔永三,郭志红等. 东北地区苗圃金龟子的发生与防治. 森林病虫通报, 1992(2): 31~33
- 4 浑志英,张立新. 沧州地区果园幼树金龟子发生规律及防治技术研究. 河北农业科学, 1992(2): 14~18
- 5 杜永均,严福顺,韩心丽,等. 大豆蚜嗅觉在选择寄主植物中的作用. 昆虫学报, 1994, 37(4): 385~391
- 6 Gorz HJ, Haskins FA, Manglitz GR. Effect of coumarin and related compounds on blister beetle feeding in sweetclover. Journal of Economic Entomology, 1972, 63(6): 1632~1635
- 7 Manglitz GR, Gorz HJ, Haskins FA, et al. Interactions between insects and chemical components of sweet clover. Journal of Environmental Quality, 1976, 5(4): 347~352
- 8 Walter Soares leal, Nakoto Hasegawa, et al. Identification and field evaluation of *Anomala octiescostata* (Coleoptera scarabaeidae) sex pheromone. Journal of Chemical Ecology, 1994, 20(7): 1644~1646

A Study on the Attractive Effects of White Sweetclover and Other Plants to Chafer Beetle

Han Deyuan Li Yongwei Zhang Zhili

(Plant and Environment Protection Institute, Beijing Academy of Agriculture
and Forestry Sciences, Beijing 100081)

Liu Mengying Yan Zhongcheng

(Institute of Zoology, China Academy of Sciences, Beijing 100080)

Wang Jun

(Institute of Sericulture, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Chengde 067000)

Abstract White sweetclover (*Melilotus albus* Desr.) was planted in a mulberry garden to attract chafer beetle (*Serica orientalis* Motschulsky) and other insects, and then sprayed with insecticides to kill the insects. The new technique was a good way to control beetles in spring. In this study, the attraction effects of white sweetclover to *Serica orientalis* were compared with some crop seedlings and weeds.

In this paper the olfactory test, electroantennogram (EAG) responses, indoor bioassay and field tests were employed to study the attractive effects of white sweetclover to chafer beetles. The main component coumarin of sweetclover plant extracts was analyzed and identified. The results showed that the attraction of white sweetclover to chafer beetle was stronger than corn, wheat, soybean seedlings, potato pieces, leaves of peach and poplar trees. The attraction to beetles was improved when seedling of soybean and foxtailgrass were sprayed with coumarin solution. Chafer beetles' EAG responses to Lambsquarters and white sweetclover were most significant as compared with Patience Dock and coumarin solutions.

Key words: *Serica orientalis* Motschulsky; *Molilotus alba* Desr.; Olfactory selection; electroantennogram; Bioassay