## 青杨脊虎天牛对植物源挥发物的 EAG 和行为反应

## 严善春 程 红 杨 慧 袁红娥 张 健 迟德富

(东北林业大学林学院,哈尔滨 150040)

摘要:测定了青杨脊虎天牛  $Xylotrechus\ rusticus$ (L.)雌、雄成虫对其寄主杨树中的水杨醛(0.95  $\mu$ mol/ $\mu$ L)和非寄主植物中 0.3  $\mu$ mol/ $\mu$ L 的叶绿醇、0.4  $\mu$ mol/ $\mu$ L 的水芹烯和 0.6  $\mu$ mol/ $\mu$ L 的 R 型  $\alpha$ -蒎烯、S 型  $\alpha$ -蒎烯、S 型  $\beta$ -蒎烯和松节油等 10 种植物挥发性气味物质的触角电位(EAG)反应。结果表明,与对照相比,这 10 种植物挥发物多能引起成虫明显的 EAG 反应(P < 0.05, P < 0.01),其中雌虫对松节油、水杨醛、R 型  $\alpha$ -蒎烯和 S 型  $\alpha$ -蒎烯的 EAG 反应最强,松节油次之。根据雌虫对这 10 种挥发物 EAG 反应的强弱,进一步测定了雌虫对 0.00006、0.0006、0.006、0.06、0.06、0.02  $\mu$ mol/ $\mu$ L 的松节油、 $\mu$   $\mu$   $\mu$ -蒎烯、 $\mu$ 0  $\mu$ -蒎烯以及 0.00095、0.0095、0.095 0.095、0.095 0.095

关键词:青杨脊虎天牛;植物挥发物;驱避;引诱;触角电位反应;行为反应;"Y"型嗅觉仪

中图分类号: Q965 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2006)05-0759-09

# Effects of plant volatiles on the EAG response and behavior of the grey tiger longicorn, *Xylotrechus rusticus* (L.)(Coleoptera: Cerambycidae)

YAN Shan-Chun , CHENG Hong , YANG Hui , YUAN Hong-E , ZHANG Jian , CHI De-Fu ( College of Forestry , Northeast Forestry University , Harbin 150040 , China )

Abstract: The electroantennogram (EAG) responses of female and male beetles of Xylotrechus rusticus (L.) to 10 volatiles were tested, including salicylaldehyde (0.95 \( \mu \text{mol} / \nu L \) from poplar, the host plant, and phytol  $(0.3 \,\mu\text{mol/}\mu\text{L})$ ,  $R(-)\alpha$ -phellandrene  $(0.4 \,\mu\text{mol/}\mu\text{L})$ ,  $(1R)(+)\alpha$ -pinene,  $(1S)(-)\alpha$ -pinene, (1S) $(-)\beta$ -pinene  $(+)\beta$ -carene , ocimene , β-myrcene and turpentine  $(0.6 \mu \text{mol}/\mu\text{L})$  from non-host plant. The results showed that the 10 volatiles could evoke very significant EAG responses (P < 0.01) of the adults compared with the control, paraffin. The females exhibited stronger EAG responses to turpentine, salicylaldehyde,  $(1R)(1+\alpha)$ -pinene,  $(1S)(1+\alpha)$ -pinene, while  $(1R)(1+\alpha)$ -pinene and turpentine could induce stronger EAG responses to males. The EAG responses of female and male adults to salicylaldehyde,  $(1R)(+)\alpha$ -pinene and ocimene had no significant differences (P>0.05), but to the rest 7 volatiles had remarkable difference (P < 0.01). The responses and behaviors of females to different doses of turpentine,  $(1R)(+)\alpha$ -pinene ,  $(1S)(-)\alpha$ -pinene and salicylaldehyde , were further tested. The tested concentrations of salicylaldehyde were 0.000095 , 0.00095 , 0.0095 , 0.095 , 0.95 , and 0.19  $\mu mol/\mu L$  ; the rest compounds with the same concentrations of 0.00006, 0.0006, 0.006, 0.06, 0.6, and  $0.12~\mu \text{mol}/\mu \text{L}$ . With the concentration increased, the female EAG response to turpentine, salicylaldehyde and (1R)(+)- $\alpha$ -pinene increased accordingly and kept steady when the concentration of salicylaldehyde reached 0.95 \(\mu\minor{m}\) of \(\mu\) those of turpentine and (1R)  $(1 + \alpha)$ -pinene reached 0.6  $\mu$ mol/ $\mu$ L. When the concentration were less than or

基金项目:黑龙江省攻关项目(GB01B203-02);国家林业局留学人员科技活动择优资助项目

作者简介:严善春,女,1964年1月生 教授,博士,E-mail:yanshanchun@126.com;yanshanchun@nefu.edu.cn

收稿日期 Received: 2006-03-30;接受日期 Accepted: 2006-07-17

equal to  $0.6~\mu \text{mol}/\mu \text{L}$ , turpentine exhibited repellent effect to females and had the best effect at  $0.6~\mu \text{mol}/\mu \text{L}$  ( P < 0.01 ); whereas , it showed lure effect at  $0.12~\mu \text{mol}/\mu \text{L}$  ( P > 0.05 ). When the concentration were lower than  $0.095~\mu \text{mol}/\mu \text{L}$  , salicylaldehyde had no obvious directional action to female ( P > 0.05 ); while higher than  $0.095~\mu \text{mol}/\mu \text{L}$  , it exhibited repellent action ( P < 0.05 ). The females showed no distinct directional behavior to (  $1R~\chi$ ) +  $10^{-4}$  cpinene and (  $18~\chi$ ) -  $10^{-4}$  cpinene.

**Key words**: *Xylotrechus rusticus*; plant volatiles; repellent; lure; EAG response; behavior; Y-tube olfactometry

青杨脊虎天牛 Xylotrechus rusticus ( L. )是杨树的 危险性蛀干害虫,其成虫在主干成堆产卵,幼虫在木质部集中危害,造成杨树风折、断头、枯死(黄咏槐,2004)。由于其独特的生物学特性,在我国自 20 世纪 70 年代末报道其危害以来(徐公天,1979),其危害程度日趋严峻,发生面积不断扩大,国家林业局于2005 年将其定为国内森林植物检疫对象。现有的防治技术对青杨脊虎天牛难以奏效,亟待寻找一种新型、高效的防治方法。

在植食性昆虫与植物间的化学通讯系统中,植物释放的特定的挥发性气味物质能够诱导昆虫定位寄主、选择适宜的产卵场所或对植物产生逃避行为(杜家纬,2001),而昆虫触角感器是接收这些物质的天线装置。随着触角电位技术(EAG),气相色谱-触角电位联机技术(GC-EAG),孔祥波等,2001)和单细胞记录(SSR)等电生理技术的普遍应用和发展,有关昆虫-植物间化学通讯机制的研究,已经深入到了细胞和分子水平上。这将不断完善行为控制在有害生物可持续控制中的应用,进一步开发出对害虫有效的驱避剂和引诱剂。

落叶松挥发物质的主要组分是 α-蒎烯、β-蒎烯、 松节油、罗勒烯、香草烯、3-蒈烯和水芹烯等(Werner, 1995; 严善春等, 1999; 吴俊民等, 2000)。 Zhang 等 (2000)采用顶空进样的方法鉴定出水杨醛是云杉八 齿小蠹 Ips typographus 非寄主杨树 Populus tremula 的 主要成分 其含量为 8.1% 并用该物质测定了云杉 八齿小蠹的 GC-EAG 反应。我国学者分别对松褐天 牛 Monochamus alternatus(王四宝等 2005) 光肩星天 牛 Anoplophora glabripennis(李建光等,1999; Li et al., 2003; Jin et al., 2004) 双条杉天牛 Semanotus bifasciatus(王婷等,2005)进行了嗅觉机理的初步研 究和探索。国外学者研究了墨天牛属 Monochamu、 脊虎天牛属 Xylotrechus 和家天牛属 Hylotrupes 等 20 余属中近百种天牛对其寄主植物挥发物的反应,以 及桉嗜木天牛 Phoracantha semipunctata、暗梗天牛 Arhopalus tristis 和松褐天牛 Monochamus alternatus 等

对非寄主植物挥发物的反应(Allison *et al.*,2004)。 但对青杨脊虎天牛的有关研究尚未见报道。

青杨脊虎天牛是以危害杨树为主的寡食类害虫。寄主植物挥发性物质是昆虫寻找寄主植物的很重要因子 影响昆虫对寄主的选择和产卵行为。同时 外源挥发性物质对昆虫有驱避和阻碍取食的作用 所以可以利用植食性昆虫的这一特点来对其进行驱避或引诱。我们选择青杨脊虎天牛的非寄主植物落叶松的 7 种主要挥发物和其寄主植物杨树挥发物的主要成分水杨醛作为潜在的行为调控物质 ,首次测定了青杨脊虎天牛对这些挥发物的 EAG 反应,并结合" Y "型嗅觉仪的生测结果确定了其 EAG 反应的生物学意义。为筛选出对青杨脊虎天牛具有生物活性的植物源驱避剂、引诱剂 实现对害虫危害的生态控制提供理论依据。

## 1 材料与方法

#### 1.1 供试昆虫

在哈尔滨市呼兰区采伐带有青杨脊虎天牛幼虫 和蛹的杨树 将其锯成 50 cm 长的木段 ,顶端封以石蜡 ,外部罩以 60 目的纱网 ,放置于自然条件下饲养 , 成虫羽化后采集备用。

#### 1.2 供试挥发性气味物质及其配制

供试挥发性气味物质的标准化合物的名称、纯度和来源见表 1。其中,R型  $\alpha$ -蒎烯、S型  $\alpha$ -蒎烯、S 型  $\beta$ -蒎烯、S-蒈烯、罗勒烯、香草烯、松节油、叶绿醇、水芹烯是青杨脊虎天牛非寄主植物的挥发性气味物质,将各化合物分别溶于液体石蜡中,在涡旋混合器上充分混合,前 7 种挥发物配制成  $0.6~\mu$ mol/ $\mu$ L 的溶液,后 2 种挥发物分别配成  $0.3~\mu$ mol/ $\mu$ L 和  $0.4~\mu$ mol/ $\mu$ L 的溶液,水杨醛为青杨脊虎天牛寄主杨树主要的挥发性气味物质,配制成  $0.95~\mu$ mol/ $\mu$ L 的溶液。为进行测定青杨脊虎天牛对同种物质不同剂量的EAG 和行为反应,对松节油、R型  $\alpha$ -蒎烯、S型  $\alpha$ -蒎烯另外配制了 0.00006、0.0006、0.006, 0.006

 $\mu$ mol/ $\mu$ L 5 种浓度 ,对水杨醛另外配制了 0.000095、 0.00095、 0.0095、 0.0095 和 0.19  $\mu$ mol/ $\mu$ L 5 种浓度。

以液体石蜡(化学纯,天津市泰兴试剂厂)为对照。

表 1 10 种标准挥发物的名称、纯度和来源

Table 1	Name, n	ourity and	sources	of ten	standard	volatiles
---------	---------	------------	---------	--------	----------	-----------

化合物 Compounds	纯度 Purity	来源 Source of supply		
R 型 α-蒎烯 (1R )( + )-α-pinene	99%	Sigma		
S 型 α-蒎烯(1S)( – )-α-pinene	>99.5%	Sigma		
S 型 β-蒎烯 ( 1S )( – )-β-pinene	99%	Sigma		
3- <b>蒈烯(</b> + )-3-carene	90%	Sigma		
罗勒烯 Ocimene	70% cis-ocimen and 25% limonene	Fluka		
香草烯 β-myrcene	90%	Sigma		
松节油 Turpentine	分析纯 Analytic pure	沈阳无水化工厂试剂分厂 Reagent Branch of Shenyang Anhydrous Chemical Plant		
叶绿醇 Phytol	97%	Sigma		
水芹烯 R( – )-α-phellandrene	50%	Fluka		
水杨醛 Salicylaldehyde	化学纯 Chemical pure	天津市光厦精细化工研究所 Guangxia Fine Chemical Industry Institute , Tianjin		

#### 1.3 触角电位(EAG)测定

触角电位仪由荷兰 Syntech 公司的智能化数据 获取控制器 IDAC-4、刺激气流控制器(Syntech CS-55) 微动操作仪(Syntech MN-151)及Syntech 软件处 理系统四部分组成。测定方法参照杜永均等 (1994) 肖春等(2000) 方宇凌等(2002) 以及严福顺 等(2005)。刺激气流流速、持续气流均设定为400 mL/min 刺激时间 0.5 s,两次刺激间隔 30~60 s(依 浓度而定以保证触角的活性完全恢复)。将剪成2 cm×0.5 cm 的定性滤纸纸条折成之字形作为各溶 液的载体 测试剂量为 10 µL。用锋利的刀片将青杨 脊虎天牛触角从基部切下 尖端切除少许后 用导电 胶将其横搭在电极上 ,气味混合管与触角相距 1 cm。 以液体石蜡为对照 测试不同化合物时 不同重复间 样品刺激顺序不同;在测定青杨脊虎天牛对同种化 合物、不同剂量的 EAG 反应时,不同剂量的刺激顺 序按浓度由低到高进行。各种测定每根触角重复3 次 共测试 20 根触角。

EAG 试验分 2 步进行,第 1 步以 EAG 技术测定 青杨脊虎天牛雌、雄成虫对寄主挥发物水杨醛(0.95  $\mu$ mol/ $\mu$ L)和非寄主植物挥发物叶绿醇(0.3  $\mu$ mol/ $\mu$ L)水芹烯(0.4  $\mu$ mol/ $\mu$ L)及余下 7 种非寄主挥发物(0.6  $\mu$ mol/ $\mu$ L)的敏感度。第 2 步分别以引起青杨脊虎天牛雌成虫 EAG 反应最强的 4 种挥发物、松节油、水杨醛、R型  $\alpha$ -蒎烯和 S型  $\alpha$ -蒎烯),测定青杨脊虎天牛雌成虫对同种气味物质不同剂量的 EAG 反应。

#### 1.4 "Y"型嗅觉仪生物测定

生物测定装置参照 Bertschy 等(1997), 李继泉等(2003)以及曹兵等(2004)改进而成。由 QC-1(B)型

大气采样仪、活性炭空气过滤装置、空气加湿器、"Y"形管组成,各部件之间用硅胶管连接,其适应臂长 20 cm、直径 4 cm,测试臂长 20 cm、直径 3 cm,两臂之间夹角 75(图 1)。

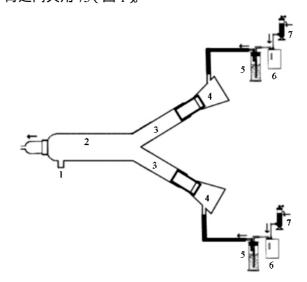


图 1 青杨脊虎天牛嗅觉测定装置简图

Fig. 1 Diagram of Y-tube olfactometry used to test the behavior of *Xylotrechus rusticus* adults to volatiles 1.引虫口 Insect entrance; 2.适应臂 Adapting arm; 3.测试臂 Test arms; 4.三角形陷阱 Triangle traps; 5.空气加湿器 Humidifier; 6.QC-I(B)型大气采样仪 QC-I(B) Air sample collecting equipments; 7.活性炭空气过滤装置 Active carbon equipments for air cleaning.

挥发物松节油、水杨醛、R 型  $\alpha$ -蒎烯、S 型  $\alpha$ -蒎烯的配制方法及浓度同 EAG ,生测剂量 10  $\mu$ L ,以液体石蜡作对照。以 1 cm² 的定性滤纸作为试剂载体。将滤纸分别置于三角瓶内 ,测试臂的空气流量为 500 mL/min。选择交尾后完整强壮的青杨脊虎天牛雌性个体 ,从引虫孔单头引入 ,每次测定 3 头 ,天

牛产生选择行为后观察 2 min 停留在适应臂的记为不反应 ,重复 5 次。梯度反应时由低浓度到高浓度测试。每完成一次测试 ,将样品与对照互换位置 ,更换一次滤纸。测完一组重复后 ,用酒精擦拭" Y "形管 ,通风 30 min 后再进行下一组测试 ,整个试验在室温下进行 ,以两盏 40 W 荧光灯为光源 ,荧光灯与" Y "形管平行。

#### 1.5 数据分析

利用 Duncan 's 多重分析法比较青杨脊虎天牛雌、雄成虫各自对系列挥发物质反应的差异。利用配对 T 检验分析比较雌、雄成虫 EAG 反应之间的差异(董文霞等,2000;刘勇等,2005)。生测数据采用  $\chi^2$  检验比较差异显著性(Hern et al.,2004;Tooker et al.,2005)。驱避率、引诱率及反应率的计算方法如下(丁红建等,1996):

驱避率 =  $\frac{$ 对照臂内的总虫数  $\times 100\%$ 

引诱率 =  $\frac{$ 处理臂内的总虫数  $\times 100\%$ 

反应率 = 对照臂内的总虫数 + 处理臂内的总虫数 × 100%

## 2 结果与分析

- 2.1 青杨脊虎天牛成虫对不同植物挥发物的 EAG 反应及雌虫的行为反应
- 2.1.1 青杨脊虎天牛成虫对不同植物挥发物的

EAG 反应: 青杨脊虎天牛成虫对供试的 10 种植物挥发性气味物质的 EAG 反应的结果见表 2。从 EAG 反应的绝对值来看,雌虫对非寄主成分松节油的 EAG 反应最强,其次是对其寄主成分水杨醛的反应,再者是 S 型  $\alpha$ -蒎烯和 R 型  $\alpha$ -蒎烯。Duncan 's S 重比较表明,雌虫对所测试的 10 种化合物的 EAG 反应值与对照相比差异极显著(P < 0.01),雌虫对松节油的反应与其他挥发物相比差异极显著(P < 0.01),雌虫对水杨醛、S 型  $\alpha$ -蒎烯和 R 型  $\alpha$ -蒎烯的反应差异不显著(P > 0.05),对叶绿醇和 3-蒈烯的 EAG 反应均值最低,二者之间不存在显著差异(P > 0.05),对 3 种蒎烯的反应差异不显著(P > 0.05)。

雄虫对非寄主成分 R 型  $\alpha$ -蒎烯的 EAG 反应最强 ,松 节 油 次 之 ,其 次 是 其 寄 主 成 分 水 杨 醛。 Duncan 's 多重比较表明 ,与对照相比 雄虫除对浓度为  $0.4~\mu mol/\mu L$  水芹烯反应差异不显著外 ,对其他 9种挥发性气味物质均具有显著的电生理反应( P < 0.05~P < 0.01 )。对 R 型  $\alpha$ -蒎烯、松节油、水杨醛三种挥发物的反应无显著差异( P > 0.05 )。

雌虫除对 R 型  $\alpha$ -蒎烯和 3-蒈烯的 EAG 反应比雄虫弱外 ,其他均比雄虫强。经配对 T 检验表明 , 雌、雄成虫对液体石蜡、寄主成分水杨醛、非寄主成分 R 型  $\alpha$ -蒎烯和罗勒烯的 EAG 反应没有显著差异 (P > 0.05),对其余 7 种非寄主成分的 EAG 反应差异极显著(P < 0.01)(表 2)。

表 2 青杨脊虎天牛雌、雄成虫对不同挥发物的 EAG 反应

Table 2 EAG responses of Xylotrechus rusticus adults to different volatiles

 挥发性化合物	EAG 反应值 E	配对 T 检验概率		
Volatiles	雌虫 Female	雄虫 Male	Paired samples $T$ test (Sig. 2-tailed)	
液体石蜡 Paraffin oil	$0.100 \pm 0.016$ aA	$0.092 \pm 0.013$ aA	0.099	
R型α-蒎烯(1R)(+)-α-pinene	$0.194 \pm 0.034 \text{ cdCDE}$	$0.213 \pm 0.056 \; \mathrm{dD}$	0.254	
S型α-蒎烯(1S)(–)-α-pinene	$0.204 \pm 0.039~\mathrm{deDE}$	$0.149 \pm 0.021  \mathrm{cB}$	0.000	
S 型 β-蒎烯 ( 1S )( – )-β-pinene	$0.187 \pm 0.031 \text{ cdCD}$	$0.161 \pm 0.022 \text{ cBC}$	0.004	
3-蒈烯(+)-3-carene	$0.153 \pm 0.018 \text{ bB}$	$0.180 \pm 0.040 \mathrm{dC}$	0.005	
罗勒烯 Ocimene	$0.173 \pm 0.047 \text{ cBC}$	$0.155 \pm 0.019 \text{ cBC}$	0.157	
香草烯 β-myrcene	$0.174 \pm 0.021 \text{ cBC}$	$0.149 \pm 0.014 \text{ cB}$	0.000	
松节油 Turpentine	$0.249 \pm 0.032 \text{ fF}$	$0.211 \pm 0.038 \text{ dD}$	0.001	
叶绿醇 Phytol	$0.149 \pm 0.020 \text{ bB}$	$0.112 \pm 0.033 \text{ bA}$	0.000	
水芹烯 R( – )-α-phellandrene	$0.192 \pm 0.035 \text{ cdCDE}$	$0.108 \pm 0.020 \text{ abA}$	0.000	
水杨醛 Salicylaldehyde	$0.218 \pm 0.033 \text{ eE}$	$0.205 \pm 0.021 \ \mathrm{dD}$	0.058	

注 Notes:表中数据是平均值  $\pm$  标准差 ,同列数据后不同字母表示差异达显著水平,Duncan 's 多重比较检验,小写字母表示 P < 0.05,大写字母表示 P < 0.01。 Data in the table are mean  $\pm$  SD. Values within a column followed by different letters are significantly different (small letters , P < 0.05; capital letters , P < 0.01; Duncan 's multiple test ).

2.1.2 青杨脊虎天牛雌成虫对不同植物挥发物的行为反应:由于青杨脊虎天牛主要靠成虫产卵进行扩散 因此 雌虫对挥发物的行为反应尤为重要。生测结果(表3)表明,青杨脊虎天牛雌虫对上述 10种

挥发物在测试浓度下均具有较高的反应率 "反应率均在 60% 以上 "最高值达 86.7% "最低值为 66.7%。除 S 型  $\alpha$ -蒎烯、叶绿醇对雌虫没有明显定向作用外 ,其他挥发物均表现出驱避作用。  $\chi^2$  检验结果表

明 松节油对青杨脊虎天牛的驱避、引诱作用差异极显著( *P* < 0.01 ),表现出极显著的驱避作用;水杨醛、水芹烯对青杨脊虎天牛的驱避、引诱作用差异显

著(P < 0.05)表现出显著的驱避作用;余下的7种挥发物对青杨脊虎天牛的驱避、引诱作用没有显著差异,即对雌虫的定向作用不明显(P > 0.05)。

表 3 青杨脊虎天牛雌成虫对不同挥发物的行为反应

Table 3 Behavior responses of female adults of Xylotrechus rusticus to different volatiles in the "Y" tube

挥发性化合物 Volatiles	挥发物浓度 (μmol/μL) Concetrations of volatiles	驱避率(%) Repellent rate	引诱率(%) Luring rate	$\chi^2$	反应率(%) Response rate
R型α-蒎烯(1R)(+)α-pinene	0.6	66.7	20	3.8 <sup>ns</sup>	86.7
$S$ 型 $\alpha$ -蒎烯( $1S$ )( $-$ )- $\alpha$ -pinene	0.6	33.3	46.7	$0.3^{\rm ns}$	80.0
S 型 β-蒎烯(1S )( – )-β-pinene	0.6	60	20	$3^{\rm ns}$	80.0
3-蒈烯(+)-3-carene	0.6	60	20	$3^{\rm ns}$	80.0
罗勒烯 Ocimene	0.6	60	20	$3^{\rm ns}$	80.0
香草烯 β-myrcene	0.6	53.3	20	$0.1^{\rm ns}$	73.3
松节油 Turpentine	0.6	67	6.7	7.4**	73.7
叶绿醇 Phytol	0.3	46.7	20	$1.6^{\rm ns}$	66.7
水芹烯 R( - )-α-phellandrene	0.4	66.7	13.3	5.3*	80.0
水杨醛 Salicylaldehyde	0.95	60	13.3	4.5*	73.3

注 Notes:  $\chi^2$  检验中的 ns '表示 P > 0.05 , \* '表示 P < 0.05 , \* \* '表示 P < 0.05 ), "\* "(P < 0.05) and "\* \* "(P < 0.01). The same below.

2.2 青杨脊虎天牛雌虫对 4 种挥发物不同浓度的 EAG 反应及生测结果

2.2.1 青杨脊虎天牛雌虫对 4 种挥发物不同浓度的 EAG 反应:根据青杨脊虎天牛雌虫对 10 种挥发物的

EAG 反应结果 ,其雌虫对松节油、水杨醛、R 型  $\alpha$ -蒎烯和 S 型  $\alpha$ -蒎烯的 EAG 反应最强 ,因此 ,测定了雌虫对这 4 种物质不同剂量的 EAG 反应 结果见图 2。

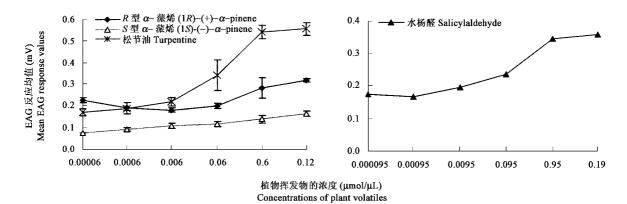


图 2 青杨脊虎天牛雌虫对 4 种挥发物不同剂量的 EAG 反应

Fig. 2 EAG responses of female adults of Xylotrechus rusticus to the different concentrations of four volatiles

青杨脊虎天牛雌成虫对 4 种物质的 EAG 反应值随浓度的增大而增大 ,对松节油和 R 型  $\alpha$ -蒎烯的 EAG 反应值从 0.00006 到 0.006 时平缓增加 ,在 0.006 至 0.6 时明显增大 ,浓度超过 0.6 时 ,EAG 反应值趋于平缓 ,说明此时的浓度已超出雌虫的感受阈值。雌虫对 S 型  $\alpha$ -蒎烯不同梯度浓度的 EAG 反应 随着浓度的增加而呈明显的线性增加(  $R^2$  = 0.9765 )。对水杨醛的 EAG 反应变化趋势同松节油 ,当水杨醛浓度增加到 0.95  $\mu$ mol/ $\mu$ L 以后 ,EAG 反应值趋于平稳。

2.2.2 青杨脊虎天牛雌虫对 4 种挥发物不同浓度的行为反应:利用" Y"型嗅觉仪测定了青杨脊虎天牛雌虫对松节油、R 型  $\alpha$ -蒎烯和 S 型  $\alpha$ -蒎烯的 0.00006、0.0006、0.006、0.06、0.6、0.12  $\mu$ mol/ $\mu$ L 以及水杨醛的 0.000095、0.00095、0.0095、0.095、0.95、0.19  $\mu$ mol/ $\mu$ L等 6 个不同浓度的行为反应,雌虫对这 4 种挥发物的 6 个不同浓度的反应率虽没有明显的上升或下降趋势,但其行为反应却明显不同(表4)。

#### 表 4 青杨脊虎天牛雌虫对不同物质不同浓度的行为反应

Table 4 Response of female adults of *Xylotrechus rusticus* to different concentrations of different standard volatiles in the "Y" tube

标样名称 Volatiles	浓度( µmol/µL ) Concentrations	驱避率(%) Repellent rate	引诱率(%) Luring rate	$\chi^2$	反应率(%) Response rate
水杨醛 Salicyladehyde	0.19	73.3	13.3	6.2*	86.7
	0.95	60.0	13.3	4.5*	73.3
	0.095	46.7	46.7	$0^{ m ns}$	93.3
	0.0095	46.7	40.0	$0.8^{\rm ns}$	86.7
	0.00095	46.7	20.0	$1.6^{\rm ns}$	66.7
	0.000095	26.7	46.7	$0.8^{\mathrm{ns}}$	73.3
松节油 Turpentine	0.12	26.7	53.3	$1.3^{\mathrm{ns}}$	80.0
	0.6	67.0	6.7	7.4**	73.7
	0.06	40.0	46.7	$0.8^{\rm ns}$	86.7
	0.006	60.0	13.3	4.5*	73.3
	0.0006	66.7	26.7	$2.6^{\mathrm{ns}}$	93.3
	0.00006	53.3	20.0	$2.3^{ m ns}$	73.3
R 型 α-蒎烯(1R)( + )-α-pinene	0.12	66.7	20.0	$3.8^{\rm ns}$	86.7
	0.6	66.7	20.0	$3.8^{\rm ns}$	86.7
	0.06	53.3	20.0	$2.3^{\rm ns}$	73.3
	0.006	46.7	53.3	$0.1^{\rm ns}$	100.0
	0.0006	66.7	20.0	$3.8^{\rm ns}$	86.7
	0.00001	46.7	40.0	$0.8^{\mathrm{ns}}$	86.7
S 型 α-蒎烯(1S)( – )-α-pinene	0.12	66.7	20.0	$3.8^{\rm ns}$	86.7
	0.6	33.3	46.7	$0.3^{ m ns}$	80.0
	0.06	60.0	26.7	$1.9^{\mathrm{ns}}$	86.7
	0.006	53.3	26.7	$1.3^{\rm ns}$	80.0
	0.0006	53.3	20.0	$2.3^{\mathrm{ns}}$	73.3
	0.00006	46.7	26.7	$0.8^{ m ns}$	73.3

水杨醛在浓度为  $0.95~\mu mol/\mu L$  和  $0.19~\mu mol/\mu L$  时 对青杨脊虎天牛雌虫表现为驱避作用 驱避率分别为 60.0% 和 73.3%。  $\chi^2$  检验表明 ,驱避虫数和引诱虫数之间差异显著( P < 0.05 ),表明对雌虫有驱避作用;浓度低于 0.095 时,对雌虫没有明显的定向作用( P > 0.05 )。

松节油对雌虫的行为影响,在浓度为 0.6 和  $0.006~\mu mol/\mu L$ 时,驱避作用明显,浓度为 0.6 时驱避效果最佳,驱避率(67.0%)为引诱率(6.7%)的 10 倍;浓度为 0.12 时,对雌虫表现为引诱作用,引诱率为 53.3%。

青杨脊虎天牛雌虫对 R 型  $\alpha$ -蒎烯和 S 型  $\alpha$ -蒎烯的反应率都在 70% 以上 ,说明雌虫能够检测到上述 6 种浓度下的两种蒎烯。  $\chi^2$  检验表明 ,两种蒎烯在 6 种浓度下对雌虫的驱避率和引诱率都没有显著差异( P>0.05 ) ,表明这两种蒎烯对雌虫没有明显的定向作用。

## 3 讨论

青杨脊虎天牛雌虫对  $0.95~\mu mol/\mu L$  的水杨醛和

 $0.6 \ \mu \text{mol}/\mu \text{L}$  的松节油、 $R \supseteq \alpha$ -蒎烯和  $S \supseteq \alpha$ -蒎烯的 EAG 反应较强。雄虫对  $0.6 \, \mu \text{mol}/\mu \text{L}$  的  $R \, \text{型} \, \alpha$ -蒎烯 的 EAG 反应最强,松节油次之。雌、雄成虫对非寄 主植物挥发物 0.3 μmol/μL 叶绿醇、0.4 μmol/μL 水 芹烯和  $0.6 \, \mu \text{mol}/\mu \text{L}$  的  $S \, \text{型} \, \alpha$ -蒎烯、 $S \, \text{型} \, \beta$ -蒎烯、3-蒈 烯、香草烯、松节油的 EAG 反应存在极显著差异(P < 0.01 ) 对寄主植物挥发物 0.95 μmol/μL 水杨醛的 反应无差异。昆虫不同性别的个体在寻找寄主、繁 殖后代等行为中所起的作用不同 ,反映了雌、雄成虫 触角感受器可能存在特殊的与性别有关的数量差 异 或存在嗅觉生理方面的定性差异(Raguso et al., 1996)。青杨脊虎天牛雌、雄成虫触角的嗅觉感受器 对来自环境中的气味具有不同的敏感性和选择性, 暗示雌、雄成虫触角感受器可能存在类型和数量的 差异,或存在嗅觉生理方面的差异。用扫描电镜观 察到青杨脊虎天牛雌、雄成虫触角上的感器类型的 性二型现象证明了这一点(另文发表)。

水杨醛是青杨脊虎天牛寄主的主要气味物质, 在低浓度时没有明显的定向作用,在高浓度时则表现驱避作用。寄主释放的挥发性的信息物质直接决 定成虫对补充营养和产卵寄主的选择(Hanks, 1999)。植食性昆虫在寻找寄主阶段,主要通过嗅觉感受器对寄主植物特异性的化学指纹图谱的识别而到达植物(Barata et al., 2002)。同一物质的不同浓度对植食性昆虫表现出不同的生理活性(樊慧等,2004),说明植物挥发物的特定浓度和不同挥发物的特定比例是影响昆虫反应的重要因子。

松节油、R型  $\alpha$ -蒎烯和 S型  $\alpha$ -蒎烯是青杨脊虎天牛的非寄主植物挥发性物质。松节油在浓度  $\leq$  0.6  $\mu$ mol/ $\mu$ L 时对青杨脊虎天牛雌虫表现为驱避作用 i浓度为 0.6 时驱避效果最佳 i在浓度为 0.12 时对雌虫表现为引诱作用。青杨脊虎天牛雌虫对 i型 i0-蒎烯和 i0 型 i0-蒎烯没有明显的行为反应趋势。

害虫的非寄主植物对其成虫寻找寄主、选择产 卵场所以及产卵过程起着干扰作用(张茂新等, 2003 )。Suckling 等(2001)对暗梗天牛 Arhopalus tristis 的研究表明,用非寄主植物的(E)-2-己烯-1醇和 (E)-2-己烯醛与矿物油以 1:1:2 比例混合后处理其 嗜袭的火烧后的松树,林间诱捕率仅为未处理松树 的 20% 产卵率减少了 98.5%。 青杨脊虎天牛成虫 没有补充营养的习性,幼虫又不能在寄主树木间转 移 其发生范围的大小,主要决定于成虫产卵的范 围。本试验中对青杨脊虎天牛有驱避作用的物质, 就可能是其产卵抑制物质。在其寄主植物上喷施这 种物质后 能够破坏原寄主植物气味组分的相对比 例 使昆虫无法识别寄主 从而达到保护目标树种的 目的。Borden 等(2001)的研究表明,1-己醇和苯甲 醇的混合物使黑条木小蠹 Trypodendron lineatum 的 诱捕率减少了80%;以香茅提取液处理包装板,使 拟谷盗 Tribolium castaneum 滋生率减少了 50% (Wang, 2005); Aharoni 等(2003)的研究表明,转基 因的拟南芥 Arabidopsis 植株产生的芳樟醇(linalool) 对桃蚜 Myzus persicae 有明显的驱避作用,这些研究 成果为我们应用昆虫化学生态技术控制有害生物展 示了广阔的应用前景。

在实际应用中植物气味物质最佳浓度的控制以及缓释方法是技术的关键和研究的重点。植物所释放的气味是多种微浓度的挥发次生物质组成的复杂混合物,外源的挥发性物质在喷施到活体植物上后,与活体植物的挥发性物质一起共同作用于昆虫,其对昆虫的作用会发生改变(严善春等,2003)。本研究中 0.6 µmol/µL 松节油对青杨脊虎天牛雌虫的驱避效果还有待于进一步的林间生测。

本研究中青杨脊虎天牛对寄主植物挥发物水杨 醛的6种浓度均未表现出正趋性反应。昆虫的嗅觉 作用是对植物气味化学图谱的综合识别,是一个非常复杂的辨识过程。以植物挥发性物质的单组分与全组分刺激时 EAG 反应会有较大差异(张同心,2005)。Tooker(2005)用"Y"型嗅觉仪测试黄蜂Antistrophus rufus 对其寄主萜类挥发物的试验表明,黄蜂对5种萜类的混合物有明显的正趋性反应,当去除挥发物中的香草烯时,其引诱活性与寄主顶空提取物反应相当,表明香草烯不是黄蜂定向的主要物质,但当香草烯与余下的四种萜类的任意一种同时去除时,任意三种挥发物组成的气味源均不表现活性,表明香草烯的存在能够加强其他挥发物的引诱作用。水杨醛在青杨脊虎天牛对寄主定位过程中是否也存在类似情况还有待于进一步研究测定。

#### 参考文献(References)

- Aharoni A , Giri AP , Deuerlein S , Griepink F , de Kogel WJ , Verstappen FW , Verhoeven HA , Jongsma MA , Schwab W , Bouwmeester HJ , 2003. Terpenoid metabolism in wild-type and transgenic *Arabidopsis* plants. *Plant Cell* , 15(12):2866 2884.
- Allison JD, Borden JH, Seybold SJ, 2004. A review of the chemical ecology of the Cerambycidae (Coleoptera). *Chemoecology*, 14:123-150.
- Barata EN, Mustaparta H, Pickentt JA, Wadhams LJ, Araujo J, 2002.

  Encoding of host and non-host plant odours by receptor neurons in the eucalyptus woodborer, *Phoracantha semipunctata* (Coleoptera: Cerambycidae). *J. Comp. Physiol.*, 188:121–133.
- Bertschy C, Turlings TCJ, Bellotti AC, Dom AS, 1997. Chemically-mediated attraction of three parasitoid species to mealybug-infested cassava leaves. Florida Entomologist, 80(3):383-395.
- Borden JH, Chong LJ, Gries R, Pierce HD, 2001. Potential for nonhost volatiles as repellents in integrated pest management of Ambrosia beetles. *Integrated Pest Management Reviews*, 6:221-236.
- Cao B, Li ZZ, Ji XL, Xu XZ, 2004. A study on scattering effects of the extracts from Ailanthus altissima on Anoplophora glabripennis. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition), 28(1):50-52.[曹兵李治中 姬学龙,徐锡增,2004.臭椿提取物对光肩星天牛的驱避作用.南京林业大学学报(自然科学版),28(1):50-52]
- Ding HJ, Guo YY, Wu CH, 1996. Design and application of four arms olfactometry with the study of olfaction behavior of insect. *Entomological Knowledge*, 33(4):241 243.[丁红建 郭予元 ,吴才宏 ,1996. 用于昆虫嗅觉行为研究的四臂嗅觉仪的设计、制作和应用. 昆虫知识 *33*(4):241 243]
- Dong WX, Wang R, Zhang ZN, 2000. Electroantennal responses of a parasitoid ( *Microplitis mediator* ) to cotton plant volatiles. *Acta Entomol*. Sin., 43( Suppl.):119 125. [董文霞,王睿,张钟宁, 2000. 中红侧沟茧蜂对棉花挥发性物质的触角电位反应. 昆虫学报 43(增刊):119 125]
- Du JW, 2001. Plant insect chemical communication and its behavior control.

  \*\*Acta Phytophysiologica Sinica, 27(3):193 200. [杜家纬, 2001. 植

- 物-昆虫间的化学通讯及其行为控制.植物生理学报 27(3):193-200]
- Du YJ, Yan FS, Han XL, Tang J, 1994. Olfaction in host plant selection of the soybean aphid "Aphis glycines. Acta Entomol. Sin., 37(4):385—392. [杜永均 "严福顺 韩心丽 唐觉 "1994. 大豆蚜嗅觉在选择寄主植物中的作用. 昆虫学报 37(4):385—392]
- Fan H, Jin YJ, Li JQ, Chen HJ, 2004. Advances on plant volatile semiochemicals attracting herbivorous insects. *Journal of Beijing Forestry University*, 26(3):76-81. [ 樊慧,金幼菊,李继泉,陈华君 2004. 引诱植食性昆虫的植物挥发性信息化合物的研究进展.北京林业大学学报 26(3):76-81]
- Fang YL, Zhang ZN, 2002. Influence of host plant volatile components on oviposition behavior and sex pheromone attractiveness to *Helicoverpa armigera*. *Acta Entomol*. *Sin*., 45(1):63-67. [方宇凌,张钟宁, 2002. 植物气味化合物对棉铃虫产卵及田间诱蛾的影响. 昆虫学报 45(1):63-67]
- Hanks LM , 1999. Influence of the larval host plant on reproductive strategies of cerambycid beetles. Annu. Rev. Entomol., 44:483 – 505.
- Hem A, Dorn S, 2004. A female-specific attractant for the codling moth, Cydia pomonella, from apple fruit volatiles. Naturwissenschaften, 91 (2):77 – 80.
- Huang YH, 2004. Studies on the Biological Characteristics and Control Techniques of *Xylotrechus rusticus* Linnaeus. Harbin: MSc Dissertation, Northeast Forestry University. [黄咏槐, 2004. 青杨脊虎天牛(*Xylotrechus rusticus* Linnaeus)生物学特性及防治技术研究. 哈尔滨: 东北林业大学硕士学位论文]
- Jin YJ, Li JQ, Li JG, Luo YQ, Stephen AT, 2004. Olfactory response of Anoplophora glabripennis to volatile compounds from ash leaf maple ( Acer negundo ) under drought stress. Scientla Silvae Sinicae, 40(1): 99 – 105.
- Kong XB, Wang R, Gao W, Zhao CH, 2001. Technique and applications of coupling gas chromatography with electroantennographic detector. Entomological Knowledge, 38(4):304-309. [孔祥波,王睿,高伟, 赵成华 2001. 气相色谱与触角电位检测器联用技术及其应用. 昆虫知识 38(4):304-309]
- Li JG , Jin YJ , Luo YQ , Xu ZC , Chen HJ , 2003. Leaf volatiles from host tree Acer negundo: diurnal rhythm and behavior responses of Anoplophora glabripennis to volatiles in field. Acta Botanica Sinica , 45 (2):177 – 182.
- Li JG, Luo YQ, Jin YJ, 1999. Electroantennogram activity of ash leaf maple (Acer negundo) volatiles to Anoplophora glabripennis (Motsch.).

  Journal of Beijing Forestry University, 21(4):1-5.[李建光,骆有庆,金幼菊,1999.复叶槭挥发性物质对光肩星天牛的触角电位反应.北京林业大学学报,21(4):1-5]
- Li JQ, Fan H, Jin YJ, 2003. Behavior response of *Anoplophora glabripennis* to the mechanical-wounded and herbivore-fed ash leaf maples. *Journal of Beijing Forestry University*, 25(5):42 46. [李继泉, 樊慧, 金幼菊, 2003. 光肩星天牛对损伤后复叶槭植株的行为反应.北京林业大学学报 25(5):42 46]
- Liu Y, Guo GX, Chen JL, Ni HX, 2005. Behavioral and electrophysiological responses of four predatory insect species to semiochemicals of wheat. Acta Entomol. Sin., 48(2):161-165.

- [刘勇,郭光喜,陈巨莲,倪汉祥,2005. 瓢虫和草蛉对小麦挥发物组分的行为及电生理反应. 昆虫学报 48(2):161-165]
- Raguso RA, Light DM, Pickersky E, 1996. Electroantennogram responses of Hyles lineata (Sphingidae: Lepidoptera) to flord volaliles compounds from Clarkia breweri (Onagraceae) and other moth-pollinated flowers. J. Chem. Ecol., 22:1735 – 1766.
- Suckling DM, Gibb AR, Daly JM, Chen X, Brockerhoff EG, 2001.

  Behavioral and electrophysiological responses of *Arhopalus tristis* to burnt pine and other stimuli. *J. Chem. Ecol.*, 27(6):1091-1104.
- Tooker JH, Crumrin AL, Hanks LM, 2005. Plant volatiles are behavioral cues for adult females of the gall wasp *Antistrophus rufus*. Chemoecology, 15:85–88.
- Wang SB, Zhou HC, Miao XX, Fan MZ, Li ZZ, Si SL, Huang YP, 2005.

  Scanning electron microscopic observations of *Monochamus alternatus* antennal sensilla and their electroantennographic responses. *Chin. J. Appl. Ecol.*, 16(2):317 322. [王四宝,周弘春,苗雪霞,樊美珍,李增智,司胜利,黄勇平,2005. 松褐天牛触角感器电镜扫描和触角电位反应.应用生态学报,16(2):317 322]
- Wang T, Zhou CG, Li B, Shen WX, Wang XH, 2005. Electroantennogram response of *Semanotus bifasciatus* (Matsch.) to volatiles for different ways of extraction from *Biota orientalis* (L.). *Shandong Agricultural Science*, (1):44-61.[王婷,周成刚,李波,申卫星,王新花,2005.双条杉天牛对不同提取法所得侧柏挥发油的触角电位反应.山东农业科学(1):44-61]
- Werner RA , 1995. Toxicity and repellency of 4-allylanisole and monoterpenes from white spruce and tamarack to the spruce beetle and eastern larch beetle (Coleoptera: Scolytidae). *Environmental Entomology*, 24:372
- Wu JM, Li BN, Liu GP, Wang XS, Wu BG, 2000. Effect of volatile substance of larch on the growth of ash in mixed forest plantation.

  Journal of Northeast Forestry University, 28(1):25-28.[吴俊民 李波宁, 刘广平, 王晓水, 吴保国, 2000.混交林中落叶松挥发性物质对水曲柳生长的影响.东北林业大学学报, 28(1):25-28]
- Xiao C, Du JW, Zhang ZN, 2000. Electroantennogram responses of cotton bollworm ( *Helicorerpa armigera* ) to several plant volatiles. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 12(3):27 31. [ 肖春, 杜家纬, 张钟宁, 2000.棉铃虫成虫对几种植物挥发物的触角电位反应.江西农业学报,12(3):27 31]
- Xu GT, 1979. Primary study of Xylotrechus rusticus L. Scientia Silvae Sinicae, 15(2):159. [徐公天,1979. 青杨虎天牛的初步研究. 林业科学,15(2):159]
- Yan FS ,Yan YH ,Zhang Y ,Hou ZY ,Wang CZ ,2005. Electroantennogram responses of two parasitoid wasps and their host aphids to volatiles from soybean plants. *Acta Entomol* . *Sin* . ,48(4):509 513. [ 严福顺 , 阎云花 涨瑛 ,侯照远 ,王琛柱 ,2005. 两种蚜茧蜂及其寄主蚜虫 对大豆植株挥发性次生物质的触角电位反应 .昆虫学报 *A8*(4):509 513]
- Yan SC, Hu YY, Sun JH, Alain Roques, Sun F, 1999. Larch cone volatile profile and its damage by cone fly ( *Strobilomyia* spp.) in northeastem China. *Scientia Silvae Sinicae*, 35(3):58-62.[严善春 胡隐月 孙 江华, Alain Roques, 孙凡, 1999.落叶松挥发性物质与球果花蝇危害的关系. 林业科学,35(3):58-62]

- Yan SC, Sun JH, Chi DF, Zhang DD, Zhao QK, 2003. The repellency effects of plant volatiles to *Strobilomyia* spp. damaging larch cones. *Acta Ecologica Sinica*, 23(2):314 319. [严善春,孙江华,迟德富 张丹丹,赵启凯,2003.植物挥发性物质对落叶松球果花蝇的驱避效果,生态学报,23(2):314 319]
- Zhang MX, Ling B, Pang XF, 2003. Progress and application of oviposition deterrents of non-preferable plants on insect. *Natural Enemies of Insects*, 25(1):28-36.[张茂新,凌冰,庞雄飞,2003.非嗜食植物中的昆虫产卵驱避物及其利用.昆虫天敌,25(1):28-36]
- Zhang QH, Schlyter F, Birgersson G, 2000. Bark volatiles from nonhost

- angiosperm trees of spruce bark beetle, *Ips typographus* (L.) (Coleoptera: Scolytidae): Chemical and electrophysiological analysis. *Chemoecology*, 10(2):69-80.
- Zhang TX, Cui WZ, Sun XG, Zhang WG, Liang ZG, 2005.

  Electroantennogram responses of Acantholyda posticalis Matsumura to volatiles of different trees. Acta Entomol. Sin., 48(4):514-517.

  [张同心,崔为正,孙绪艮,张卫光,梁中贵,2005.松阿扁叶蜂对不同树种挥发物的触角电位反应.昆虫学报,48(4):514-517]

(责任编辑:黄玲巧)