

研究报告

Research Reports

引起小菜蛾盘绒茧蜂雌雄差异反应的气味筛选及行为学检测

朱云, 刘杨, 王桂荣, 杨斌*

(中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193)

摘要 小菜蛾盘绒茧蜂 *Cotesia vestalis* 是小菜蛾 *Plutella xylostella* 幼虫期重要的单性内寄生蜂, 在小菜蛾的生物防治上具有广阔的应用前景。寄主植物受到小菜蛾为害后释放的挥发物的种类和释放量会变化, 这在小菜蛾盘绒茧蜂搜寻小菜蛾过程中也起到了非常重要的作用。然而, 这些寄主植物挥发物对小菜蛾盘绒茧蜂的吸引作用是否存在雌雄差异并不明确。本研究选取了 32 种十字花科蔬菜受小菜蛾为害后发生变化的气味以及小菜蛾幼虫粪便气味和小菜蛾的性信息素, 通过 EAG 测定了小菜蛾盘绒茧蜂对各种气味物质不同浓度 (100、10、1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) 的反应。结果显示, 小菜蛾盘绒茧蜂对 (*E*)-4,8-二甲基-1,3,7-壬三烯 (DMNT)、苯乙腈、(*R*)-(+) -柠檬烯、正庚醛 4 种气味分别在 100、100、1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 和 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的浓度下存在显著雌雄差异。进一步通过“Y”形嗅觉仪对这 4 种气味进行行为学检验, 其中 DMNT、(*R*)-(+) -柠檬烯和正庚醛分别在浓度为 10、10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 和 0.1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时可以引起显著的雌雄行为差异。

关键词 小菜蛾盘绒茧蜂; 触角电位; 寄生; 植物挥发物; 嗅觉

中图分类号: S 476.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2017162

Sex-biased attraction of *Cotesia vestalis* by herbivore-induced plant volatiles

ZHU Yun, LIU Yang, WANG Guirong, YANG Bin

(State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract *Cotesia vestalis* (Hymenoptera: Braconidae) is an important parasitoid wasp for the larvae of *Plutella xylostella*, and represents an effective natural enemy for biological control. Damage induced by herbivores alter the profile of plant volatiles that can attract the parasitoid wasp. However, so far it was unclear whether males and females are equally attracted by these odorants. In this study, 32 herbivore-induced plant volatiles, 3 sex pheromone of *P. xylostella* and 2 larval frass volatiles in different concentrations were used to record electroantennograms (EAG) and observe behavior from both sexes of *C. vestalis*. Different responses were observed between sexes with (*E*)-4, 8-dimethyl-1, 3, 7-nonatriene (DMNT), benzyl cyanide, (*R*)-(+) -limonene and *n*-heptanal, used at the concentrations of 100 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 100 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ and 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, respectively. Y-tube behavior tests performed with these four odorants revealed significant difference between males and females for DMNT, (*R*)-(+) -limonene and *n*-heptanal, at the concentrations of 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ and 0.1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, respectively.

Key words *Cotesia vestalis*; electroantennogram; parasitism; plant volatile; olfactory

小菜蛾 *Plutella xylostella* 隶属于鳞翅目 Lepidoptera, 菜蛾科 Plutellidae, 是十字花科蔬菜的世界性害虫^[1]; 主要为害十字花科的甘蓝、紫甘蓝、花椰

菜、芥菜、白菜、萝卜、油菜等 40 多种作物, 造成巨大的经济损失^[2]。对小菜蛾的防治以化学防治为主, 但大量使用杀虫剂使小菜蛾产生了极强的抗药性,

收稿日期: 2017-05-03 修订日期: 2017-06-13

基金项目: 北京市科技新星计划(Z161100004916119)

* 通信作者 E-mail: byang@ippcaas.cn

因此综合使用其他防治手段在小菜蛾的防治中具有迫切的需求。小菜蛾盘绒茧蜂 *Cotesia vestalis* 是小菜蛾幼虫期一种重要的单性内寄生蜂^[3-4], 主要寄生 2、3 龄幼虫^[5], 造成小菜蛾发育迟缓甚至停滞, 是生物防治小菜蛾的重要天敌资源。

天敌寄生蜂对害虫的定位是通过嗅觉系统完成的^[6]。植物受到植食性昆虫为害后可以产生一些能够吸引天敌的植物挥发物^[7-10]。其中, 十字花科蔬菜被小菜蛾取食后释放的一系列挥发物可以吸引小菜蛾盘绒茧蜂等多种寄生蜂寄生小菜蛾^[3]。通过 GC-MS 对白菜、甘蓝、芥蓝、菜心等十字花科蔬菜受到小菜蛾幼虫为害前后气味物质的种类和释放量进行差异分析, 发现差异变化多为释放量不同, 主要包括顺-3-己烯-1-醇、(R)-(+) -柠檬烯、 α -蒎烯、反-2-己烯醛、(E)-4, 8-二甲基-1, 3, 7-壬三烯(DMNT)等 37 种挥发物^[3]。其中, 壬醛、苯甲醛、 α -葎草烯、反式- β -罗勒烯、樟脑、辛醛、己醛对中红侧沟茧蜂 *Microplitis mediator* 有强烈的吸引作用^[11-13]; 金合欢烯可以吸引红足侧沟茧蜂 *M. croceipes*^[14]; 乙酸香叶酯可以同时吸引三种寄生蜂: 缘腹盘绒茧蜂 *Cotesia marginiventris*、黑唇姬蜂 *Cylloceria melancholica*、红腹侧沟茧蜂 *Microplitis rufiventris*; 缘腹盘绒茧蜂对橙花叔醇则显示出极强电生理反应^[15]; 桉叶油素在粉蝶盘绒茧蜂 *Cotesia glomerata* 的远距离定向过程中起重要作用^[16]; DMNT 和 4, 8, 12-三甲基-1, 3, 7, 11-十三碳四烯(TMTT)是虫害诱导后产生的主要萜烯类化合物, 能够吸引多种寄生蜂^[17], 并帮助天敌识别被植食性害虫为害过的植株^[18]。小菜蛾盘绒茧蜂通过识别这些化合物, 定位被小菜蛾为害的植物, 进而对小菜蛾进行定位^[13, 19-21]。其中, 反-2-己烯醛、顺-3-己烯-1-醇、柠檬烯、苯甲醇、正庚醛、顺-3-己烯基乙酸酯、乙酸己酯、茉莉酮酸甲酯、香芹酮、苯乙腈、柠檬烯、 α -蒎烯、 β -紫罗兰酮均对小菜蛾盘绒茧蜂有吸引作用^[22-24]。香桉烯在卷心菜受到小菜蛾幼虫为害后释放量显著变化, 也可能与小菜蛾盘绒茧蜂的寄主识别有关^[21]。

小菜蛾的性信息素和幼虫粪便挥发物在小菜蛾盘绒茧蜂的寄主定位过程中也发挥着非常重要的作用^[3, 25]。小菜蛾性信息素主要成分 Z11-16: Ald、Z11-16: Ac 和 Z11-16: OH 对小菜蛾盘绒茧蜂有显著的吸

引作用, 与植物挥发物混合后吸引效果显著提高^[3]。从小菜蛾幼虫粪便中提取到的二甲基三硫醚、异硫氰酸烯丙酯对小菜蛾盘绒茧蜂也有显著的吸引作用^[3]。

小菜蛾盘绒茧蜂通过识别小菜蛾以及受小菜蛾为害的寄主植物气味定位小菜蛾幼虫, 将卵产于小菜蛾幼虫体内, 完成寄生过程^[5]。小菜蛾盘绒茧蜂雌虫慢慢盘旋着靠近被小菜蛾取食为害的十字花科蔬菜, 当距离 2~3 cm 时, 触角以及翅膀的抖动频率加大, 腹部朝向小菜蛾为害位点弯曲探寻小菜蛾^[26-27]; 小菜蛾盘绒茧蜂触角的超微结构研究表明, 雌虫的嗅觉感器数量高于雄虫, 并且钟形嗅觉感器和坛形嗅觉感器只存在于雌虫触角上^[28]。以上特性表明小菜蛾盘绒茧蜂雌雄间应该对不同气味刺激的反应存在差异, 但以往的研究并没有严格区分性别^[24]。本研究选取了包含寄主植物被小菜蛾取食后产生应激变化的 37 种气味物质, 通过触角电位试验筛选了能够引起小菜蛾盘绒茧蜂雌雄间电生理差异的气味物质, 并对筛选到的气味物质进行了行为学验证, 为阐明小菜蛾盘绒茧蜂交配及产卵的嗅觉机制提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试昆虫

小菜蛾于 2016 年 6 月采自北京近郊区的蔬菜田, 在温度 (25 ± 1) °C, 相对湿度 60% 左右, 光周期为 L//D=14 h//10 h 的条件下进行实验室人工饲养 10 代。小菜蛾幼虫饲养于装有新鲜结球白菜的塑料盒内直至化蛹, 将蛹收集并置于挂满新鲜甘蓝叶片的养虫笼 (45 cm×45 cm×45 cm) 内等待羽化、交配及产卵。将被产卵的甘蓝叶片回收后, 放入装有新鲜结球白菜的塑料盒内继续饲养。

小菜蛾盘绒茧蜂的茧于 2016 年 8 月份来自浙江大学昆虫科学研究所陈学新实验室, 在温度 (25 ± 1) °C, 相对湿度 60% 左右, 光周期为 L//D=14 h//10 h, 光照强度 1 000~1 500 lx 的条件下进行实验室人工饲养。成蜂羽化后饲喂 10% 的蜂蜜水, 约 2~3 d 后将交配过的 10 头雌虫放入装有 120 头小菜蛾 2、3 龄幼虫的养虫盒内寄生 4 h, 随后把被寄生的小菜蛾幼虫放入装有新鲜结球白菜的塑料盒内饲养。8 d 以后收集寄生蜂的茧, 取羽化后 2~5 d 的

成蜂用于 EAG 和行为学检测。

1.2 供试试剂

试验中所用到的标准化合物来源和纯度见表

1.除苯乙腈不溶于正己烷,以二氯甲烷作溶剂外,其余化合物均以正己烷作溶剂,定容至 100 μg/μL,保存于一20℃。

表 1 供试气味化合物¹⁾

Table 1 List of odorant compounds tested in this study

编号 No.	化合物 Compound	化合物类型 Compound type	CAS 号 CAS no.	纯度/% Purity	来源 Source
1	顺-3-己烯-1-醇 <i>cis</i> -3-hexen-1-ol	植物挥发物	928-96-1	98	S
2	正己醇 1-hexanol		111-27-3	98	S
3	(-)-芳樟醇 (-)-linalool		126-91-0	97	S
4	橙花叔醇 Nerolidol		40716-66-3	98	S
5	桉叶油素 Eucalyptol		13877-91-3	99	S
6	苯甲醇 Benzyl alcohol		100-51-6	99	S
7	1-己烯-3-醇 1-hexen-3-ol		4798-44-1	98	S
8	β -月桂烯 β -myrcene		123-35-3	95	S
9	(<i>R</i>)-(+)-柠檬烯 (<i>R</i>)-(+)-limonene		5989-27-5	97	S
10	(<i>S</i>)-(-)-柠檬烯 (<i>S</i>)-(-)-limonene		5989-54-8	96	S
11	α -蒎烯 α -pinene		80-56-8	98	S
12	(-)-反式石竹烯 (-)- <i>trans</i> -caryophyllene		87-44-5	98.5	S
13	α -葎草烯 α -humulene		6753-98-6	96	S
14	(<i>E,E</i>)- α -金合欢烯异构体混合物 (<i>E,E</i>)- α -farnesene, mixture of isom	小菜蛾性 信息素	C15H24		S
15	罗勒烯 Ocimene		13877-91-3	90	S
16	香桉烯 Sabinene		3387-41-5	75	S
17	(<i>E</i>)-4,8-二甲基-1,3,7-壬三烯 (<i>E</i>)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene(DMNT)		51911-82-1	95	J
18	(<i>E,E</i>)-4,8,12-三甲基-1,3,7,11-十三碳四烯 (<i>E,E</i>)-4,8,12-trimethyl-1,3,7,11-tridecatetraene(TMIT)		62235-06-7	97	J
19	反-2-己烯醛 (<i>E</i>)-2-hexenal		6728-26-3	98	S
20	苯甲醛 Benzaldehyde		100-52-7	99	S
21	正庚醛 <i>n</i> -heptanal		111-71-7	96	S
22	壬醛 Nonanal		124-19-6	95	S
23	辛醛 Octanal		124-13-0	99	S
24	正己醛 Hexanal		66-25-1	98	S
25	β -紫罗兰酮 β -ionone		79-77-6	96	S
26	香芹酮 (<i>S</i>)-(+)-carvone		2244-16-8	96	S
27	苯乙腈 Benzyl cyanide		140-29-4	98	S
28	樟脑 Camphor		76-22-2	95	S
29	顺-3-己烯基乙酸酯 (<i>Z</i>)-3-hexenyl acetate		3681-71-8	99	S
30	乙酸己酯 Hexyl acetate		142-92-7	97	S
31	茉莉酮酸甲酯 Methyl jasmonate(MeJA)		39924-52-2	95	S
32	乙酸香叶酯 Geranyl acetate		105-87-3	97	S
33	顺-11-十六碳烯-1-醇 Z11-16:OH	小菜蛾幼虫 粪便挥发物	56683-54-6	95	C
34	顺-11-十六碳烯醛 Z11-16:Ald		53939-28-9	95	C
35	顺-11-十六碳烯-1-乙酸酯 Z11-16:Ac		34010-21-4	95	C
36	异硫氰酸烯丙酯 Allylisothiocyanate	小菜蛾幼虫 粪便挥发物	1957/6/7	99	S
37	二甲基三硫化物 Dimethyl trisulfide		3658-80-8	95	S

1) S:SIGMA; J: J&K; C: 常州宁录生物科技有限公司。
S:SIGMA; J: J&K; C: Nimrod.

1.3 触角电位(EAG)的测定

玻璃电极与触角的准备: 使用电极拉针仪

P1000/G-1276(Sutter Instrument, USA)制备玻璃电极,切去尖端至内径可容纳触角,吸入离尖端 10~

15 mm 的 0.1 mol/L 的 KCl 电极缓冲液。将羽化后 3 d 的小菜蛾盘绒茧蜂的头部切下,一根触角切除尖端,插入玻璃电极,去除另一根触角,将参比电极插入头部,接通电极进行记录^[29-30]。

化合物的配制:将苯乙腈溶于二氯甲烷,其余化合物溶于正己烷,配制梯度浓度为 100、10、1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的样品。以溶剂为阴性对照,以顺-3-己烯醇为内参,每次取 10 μL 滴在 1 cm $\times$ 5 cm 折成“V”形的滤纸条上,插入巴斯德进样管,用以检测各气味的 EAG 反应值^[13,24]。每根触角的气味刺激顺序为对照、内参、样品,每个化合物做 5 次生物学重复。设置直流电压 2 mV,连续气流流速为 500 mL/min,刺激流速为 500 mL/min,刺激时间为 0.5 s,两次刺激间隔为 40 s。记录到的数据通过以下公式换算: $R=(\text{挥发物反应值}-\text{对照反应值})/(\text{内参反应值}-\text{对照反应值})$,计算供试化合物的 EAG 相对反应值 R 。采用单因素方差分析法(Graph Pad Prism 与 SPSS 18.0)分析雌雄间 EAG 反应值差异。

1.4 行为测定

采用“Y”形嗅觉仪对 EAG 结果中存在雌雄差异的化合物进行行为学验证。“Y”形嗅觉仪基部长 15 cm,两臂长 25 cm,夹角 60°,内径 3 cm,放置在暗箱内(100 cm $\times$ 80 cm $\times$ 80 cm),暗箱底部以日光灯补充光照,室内温度保持在(25 $\pm$ 1) $^{\circ}\text{C}$,流量计流速为 500 mL/min。样品和样品溶剂(空白对照)分别放入“Y”形嗅觉仪两臂,将羽化 3 d 的小菜蛾盘绒茧

蜂放入端部 5 cm 处开始计时,当小菜蛾盘绒茧蜂越过 A 臂或 B 臂 1/2 处且停留 5 s 以上时,视为做出选择;10 min 后无明显趋向,则视为无选择^[31]。每组处理测试雌、雄虫各 30 头,每头小菜蛾盘绒茧蜂只测试一次,每测试 5 头将 A、B 两臂互换位置,10 头后更换新的“Y”形嗅觉仪,更换后的“Y”形嗅觉仪以无水乙醇清洗干净,晾干后可重复使用。各化合物的测试浓度梯度为 100、10、1、0.1 和 0.01 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ^[13],每个浓度重复 3 次。运用 Graph Pad Prism 与 SPSS 18.0 软件,采用卡方检验计算显著性水平 P 值^[24]。

2 结果与分析

2.1 小菜蛾盘绒茧蜂雌、雄触角对 37 种化合物的 EAG 反应

本研究测定了梯度浓度下小菜蛾盘绒茧蜂雌、雄触角对 37 种化合物的 EAG 反应(表 2)。结果表明,浓度为 100 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时,雌虫对辛醛(编号 23,以下各成分括号内数字为表 2 中的编号)的反应值最大,雄虫对壬醛(22)的反应值最大;浓度为 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时,雌、雄虫均对壬醛(22)的反应值最大;浓度为 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时,雌虫对壬醛(22)的反应值最大,雄虫对辛醛(23)的反应值最大;在 DMNT(17)100 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 、苯乙腈(27)100 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 、(R)-(+)-柠檬烯(9)1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 、正庚醛(21)1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 这 4 个条件下雌雄间触角电位反应值有显著差异,有趣的是,这 4 种化合物引起的触角电位值均为雄虫显著高于雌虫。

表 2 小菜蛾盘绒茧蜂雌雄虫对 37 种化合物不同浓度的 EAG 反应值¹⁾

编号 No.	化合物浓度 Concentration of odorant compounds					
	100 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$		10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$		1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$	
	雌虫 Female	雄虫 Male	雌虫 Female	雄虫 Male	雌虫 Female	雄虫 Male
1	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
2	0.629 $\pm$ 0.234	0.959 $\pm$ 0.323	0.475 $\pm$ 0.226	1.113 $\pm$ 1.417	0.686 $\pm$ 0.307	2.189 $\pm$ 1.049
3	0.391 $\pm$ 0.495	0.762 $\pm$ 0.459	0.890 $\pm$ 0.284	2.823 $\pm$ 1.816	1.095 $\pm$ 0.303	2.763 $\pm$ 1.646
4	0.146 $\pm$ 0.232	0.145 $\pm$ 0.122	0.646 $\pm$ 0.202	0.686 $\pm$ 0.337	0.809 $\pm$ 0.301	0.700 $\pm$ 0.216
5	0.148 $\pm$ 0.193	0.043 $\pm$ 0.102	-0.016 $\pm$ 0.392	0.068 $\pm$ 0.241	0.457 $\pm$ 0.899	0.972 $\pm$ 1.168
6	0.179 $\pm$ 0.164	0.245 $\pm$ 0.180	-0.144 $\pm$ 0.238	-0.223 $\pm$ 0.597	0.157 $\pm$ 0.452	-0.053 $\pm$ 0.617
7	0.410 $\pm$ 0.332	0.598 $\pm$ 0.309	0.471 $\pm$ 0.915	0.048 $\pm$ 0.480	0.419 $\pm$ 0.375	0.821 $\pm$ 0.633
8	0.045 $\pm$ 0.246	0.169 $\pm$ 0.130	0.029 $\pm$ 0.130	-0.480 $\pm$ 1.301	0.038 $\pm$ 0.176	-0.173 $\pm$ 0.232
9	0.217 $\pm$ 0.233	0.257 $\pm$ 0.163	0.407 $\pm$ 0.173	0.261 $\pm$ 0.899	0.202 $\pm$ 0.385	1.693 $\pm$ 0.729**
10	-0.004 $\pm$ 0.189	0.063 $\pm$ 0.084	0.045 $\pm$ 0.081	-0.733 $\pm$ 0.235	-0.054 $\pm$ 0.202	-0.321 $\pm$ 0.234
11	-0.019 $\pm$ 0.198	0.080 $\pm$ 0.117	0.095 $\pm$ 0.170	-0.576 $\pm$ 0.465	0.121 $\pm$ 0.156	0.073 $\pm$ 0.186
12	0.020 $\pm$ 0.201	0.107 $\pm$ 0.083	0.102 $\pm$ 0.236	0.524 $\pm$ 1.560	0.274 $\pm$ 0.158	1.031 $\pm$ 0.608
13	-0.042 $\pm$ 0.133	0.077 $\pm$ 0.159	0.097 $\pm$ 0.152	-0.518 $\pm$ 0.496	0.332 $\pm$ 0.223	1.233 $\pm$ 0.749

续表 2 Table 2(Continued)

编号 No.	化合物浓度 Concentration of odorant compounds					
	100 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$		10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$		1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$	
	雌虫 Female	雄虫 Male	雌虫 Female	雄虫 Male	雌虫 Female	雄虫 Male
14	0.213 $\pm$ 0.196	0.160 $\pm$ 0.140	0.806 $\pm$ 0.734	0.331 $\pm$ 1.095	0.745 $\pm$ 0.476	2.248 $\pm$ 0.910
15	0.183 $\pm$ 0.246	0.268 $\pm$ 0.237	0.393 $\pm$ 0.423	0.649 $\pm$ 0.906	0.376 $\pm$ 0.524	0.774 $\pm$ 0.291
16	0.149 $\pm$ 0.134	0.162 $\pm$ 0.133	0.331 $\pm$ 0.377	-0.041 $\pm$ 0.218	0.483 $\pm$ 0.480	1.074 $\pm$ 0.988
17	0.168 $\pm$ 0.332	0.605 $\pm$ 0.202*	0.455 $\pm$ 0.259	0.618 $\pm$ 1.101	0.681 $\pm$ 0.666	3.707 $\pm$ 3.431
18	0.011 $\pm$ 0.164	0.287 $\pm$ 0.142	0.467 $\pm$ 0.174	-0.289 $\pm$ 0.243	0.738 $\pm$ 0.411	1.309 $\pm$ 1.069
19	0.925 $\pm$ 0.269	0.990 $\pm$ 0.235	1.466 $\pm$ 0.729	1.594 $\pm$ 1.952	1.348 $\pm$ 0.173	1.761 $\pm$ 0.816
20	0.745 $\pm$ 0.591	0.797 $\pm$ 0.426	1.008 $\pm$ 0.566	1.528 $\pm$ 1.249	0.686 $\pm$ 0.536	2.938 $\pm$ 1.477
21	1.288 $\pm$ 0.513	1.597 $\pm$ 0.803	2.466 $\pm$ 1.474	2.499 $\pm$ 1.501	1.680 $\pm$ 0.506	3.610 $\pm$ 0.329**
22	1.383 $\pm$ 0.538	3.013 $\pm$ 2.528	3.568 $\pm$ 1.985	8.437 $\pm$ 7.947	3.861 $\pm$ 1.397	4.475 $\pm$ 3.373
23	1.472 $\pm$ 0.449	2.351 $\pm$ 1.247	1.929 $\pm$ 1.383	5.423 $\pm$ 3.076	3.613 $\pm$ 1.290	4.934 $\pm$ 2.247
24	1.099 $\pm$ 0.415	1.251 $\pm$ 0.693	0.461 $\pm$ 0.489	0.475 $\pm$ 0.249	1.857 $\pm$ 1.318	1.192 $\pm$ 2.075
25	0.475 $\pm$ 0.249	0.357 $\pm$ 0.107	0.573 $\pm$ 0.229	1.588 $\pm$ 0.659	1.309 $\pm$ 0.559	1.468 $\pm$ 0.849
26	0.345 $\pm$ 0.285	0.682 $\pm$ 0.373	0.943 $\pm$ 0.466	0.939 $\pm$ 0.551	1.323 $\pm$ 0.708	2.779 $\pm$ 1.737
27	0.582 $\pm$ 0.071	0.864 $\pm$ 0.137**	1.026 $\pm$ 0.504	1.978 $\pm$ 1.127	0.765 $\pm$ 0.300	1.203 $\pm$ 1.135
28	0.285 $\pm$ 0.293	0.087 $\pm$ 0.153	0.392 $\pm$ 0.116	0.479 $\pm$ 0.304	0.173 $\pm$ 0.145	0.266 $\pm$ 0.231
29	1.164 $\pm$ 0.713	1.495 $\pm$ 0.425	2.190 $\pm$ 1.859	2.209 $\pm$ 1.460	1.440 $\pm$ 0.582	3.207 $\pm$ 2.325
30	0.981 $\pm$ 0.483	1.004 $\pm$ 0.329	1.833 $\pm$ 1.650	2.488 $\pm$ 1.182	1.110 $\pm$ 0.440	2.379 $\pm$ 1.315
31	0.271 $\pm$ 0.101	0.201 $\pm$ 0.136	0.412 $\pm$ 0.219	-0.081 $\pm$ 0.448	0.916 $\pm$ 0.599	1.839 $\pm$ 1.971
32	0.398 $\pm$ 0.285	0.486 $\pm$ 0.162	0.878 $\pm$ 0.509	2.623 $\pm$ 1.674	1.476 $\pm$ 0.856	2.375 $\pm$ 2.185
33	0.223 $\pm$ 0.107	0.248 $\pm$ 0.119	0.005 $\pm$ 0.221	0.189 $\pm$ 0.274	0.320 $\pm$ 0.220	0.891 $\pm$ 0.622
34	0.281 $\pm$ 0.147	0.307 $\pm$ 0.100	0.949 $\pm$ 0.662	1.949 $\pm$ 1.568	0.836 $\pm$ 0.606	0.555 $\pm$ 0.622
35	0.106 $\pm$ 0.059	0.015 $\pm$ 0.192	-0.092 $\pm$ 0.261	0.399 $\pm$ 0.481	0.261 $\pm$ 0.234	0.199 $\pm$ 0.267
36	0.135 $\pm$ 0.151	0.332 $\pm$ 0.259	0.339 $\pm$ 0.420	0.209 $\pm$ 0.424	0.344 $\pm$ 0.287	0.181 $\pm$ 0.251
37	0.459 $\pm$ 0.280	0.810 $\pm$ 0.772	0.891 $\pm$ 1.101	1.000 $\pm$ 1.417	0.320 $\pm$ 0.213	0.744 $\pm$ 0.685

1) 表中第 1 列气味化合物编号同表 1。表中所示数据为平均值 $\pm$ 标准差。* 表示雌雄间存在显著差异($P<0.05$)；** 表示雌雄间存在极显著差异($P<0.01$)。

The serial number of odorant compounds are shown as the same as in table 1. The data are as mean $\pm$ SD. *: Significant difference is found between sexes with P value less than 0.05; **: extremely significant difference is found between sexes with P value less than 0.01.

2.2 小菜蛾盘绒茧蜂雌、雄虫对 4 种差异化合物的行为学检测

通过触角电位试验筛选到 4 种引起雌雄间电生理有显著差异的气味成分 DMNT(17)、苯乙腈(27)、(R)-(+) -柠檬烯(9)和正庚醛(21),测定小菜蛾盘绒茧蜂对这 4 种成分的行为学反应。结果显示,小菜蛾盘绒茧蜂雌雄虫对不同化合物表现出了不同的趋向性,基本表现为高浓度驱避,低浓度吸引,但雌雄最适的吸引浓度不同。当 DMNT 浓度为 100 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时,对雌雄均有显著的驱避作用($\chi^2=33.120,df=1,P<0.0001$ 和 $\chi^2=22.327,df=1,P<0.0001$);浓度为 0.1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 对雌虫有显著的吸引作用($\chi^2=7.916,df=1,P=0.009$)(图 1a~b);浓度为 0.1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时雌雄间行为为差异显著($\chi^2=3.037,df=1,P=0.041$),对雌虫有更强的吸引作

用(图 1c)。当苯乙腈浓度为 100 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时,对雌虫的驱避效果显著,但对雄虫并不明显($\chi^2=6.542,df=1,P=0.014$);当浓度降低至 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 和 0.1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时,对雄虫有显著的吸引作用($\chi^2=9.304,df=1,P=0.004$ 和 $\chi^2=6.852,df=1,P=0.014$)(图 2a~b);雌雄虫对苯乙腈的趋向性无显著差异(图 2c)。当(R)-(+) -柠檬烯浓度为 100 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时对雌虫有显著的驱避作用($\chi^2=9.304,df=1,P=0.004$),但浓度降低至 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时变为对雌虫有显著的吸引作用($\chi^2=6.161,df=1,P=0.013$);在浓度为 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时对雄虫有显著的吸引作用($\chi^2=424,df=1,P=0.044$)(图 3 a~b);浓度为 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时雌雄间反应差异显著($\chi^2=5.733,df=1,P=0.017$),对雌虫有更强的吸引作用(图 3c)。正庚醛在浓度为 100 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 和 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时对雌雄均有驱

避作用($\chi^2=24.554, df=1, P=0.000$; $\chi^2=12.343, df=1, P=0.001$), 浓度为 $100\text{ }\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时对雄虫的驱避作用显著($\chi^2=10.612, df=1, P=0.002$)。浓度为 $1\text{ }\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 和 $0.1\text{ }\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时对雌虫的吸引作用显著($\chi^2=11.679, df=1, P=0.001$ 和 $\chi^2=8.283,$

$df=1, P=0.005$)(图 4 a~b); 在浓度为 $10\text{ }\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时对雄虫有更强的吸引作用, 尽管差异并不显著($\chi^2=5.551, df=1, P=0.018$), 但在浓度为 $0.1\text{ }\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时对雌虫有显著的吸引作用($\chi^2=5.048, df=1, P=0.025$)(图 4c)。

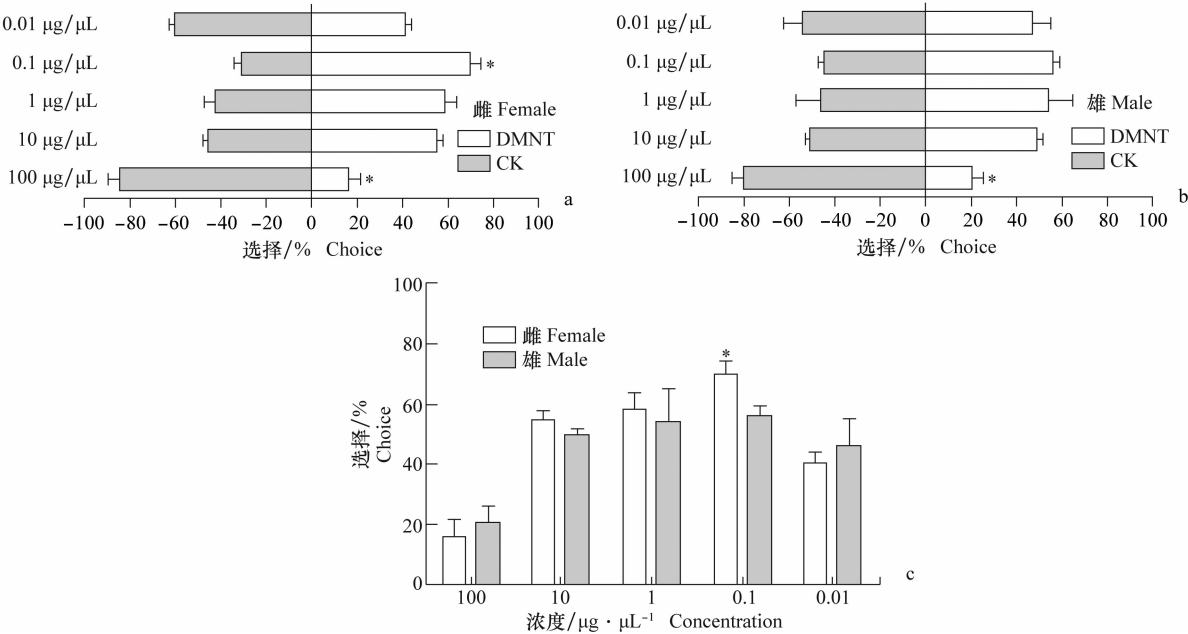


图 1 小菜蛾盘绒茧蜂雌虫和雄虫对不同浓度的 DMNT 的行为趋向反应 (* : $P < 0.05$)
Fig. 1 Behavioral differences observed from female and male of *Cotesia vestalis* in response to (E)-4,8-Dimethyl-1,3,7-nonatriene (DMNT) in different concentrations (* : $P < 0.05$)

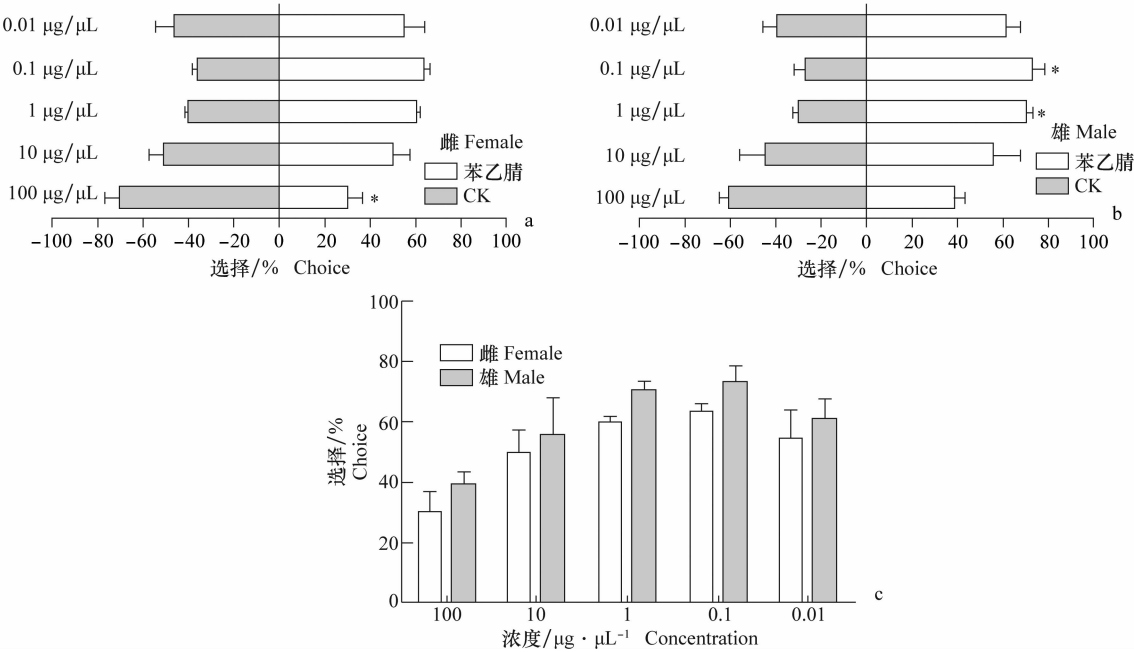


图 2 小菜蛾盘绒茧蜂雌虫和雄虫对不同浓度的苯乙腈的行为趋向反应 (* : $P < 0.05$)
Fig. 2 Behavioral differences observed from female and male of *Cotesia vestalis* in response to benzyl cyanide in different concentrations (* : $P < 0.05$)

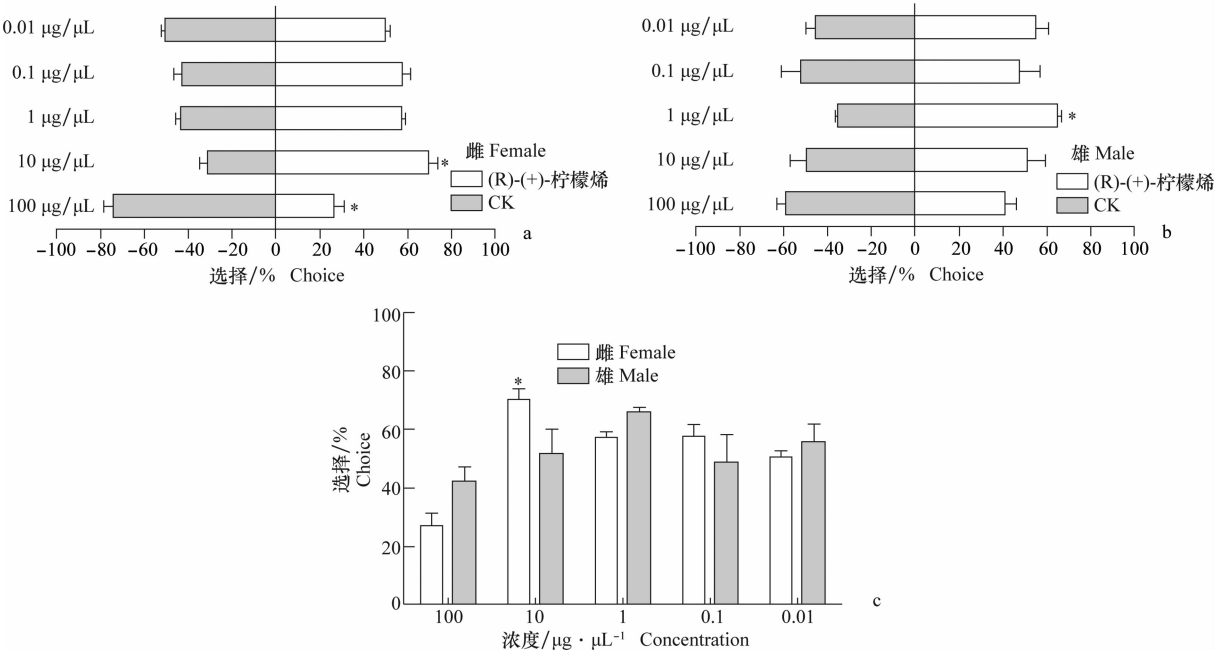


图 3 小菜蛾盘绒茧蜂雌虫和雄虫对不同浓度的(R)-(+)-柠檬烯的行为趋向反应 (* : $P < 0.05$)

Fig. 3 Behavioral differences observed from female and male of *Cotesia vestalis* in response to (R)-(+)-limonene in different concentrations (c * : $P < 0.05$)

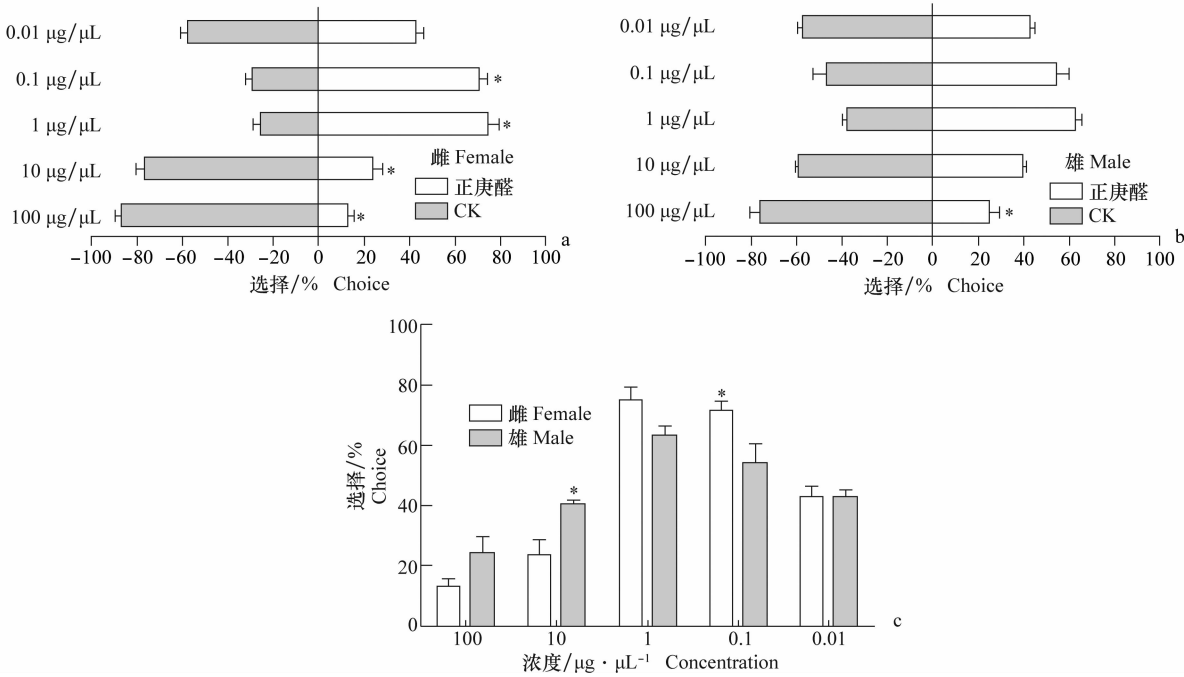


图 4 小菜蛾盘绒茧蜂雌虫和雄虫对不同浓度的正庚醛的行为趋向反应 (* : $P < 0.05$)

Fig. 4 Behavioral differences observed from female and male of *Cotesia vestalis* in response to n-heptanal in different concentrations (* : $P < 0.05$)

3 讨论

本研究选取了 37 种气味物质,包括十字花科蔬

菜受小菜蛾为害后发生变化的气味、小菜蛾幼虫粪便气味和小菜蛾的性信息素,测定了小菜蛾盘绒茧蜂对这些气味不同浓度下 EAG 反应值。结果显示,

33 种化合物均未表现出明显的性别差异,这一结果在红足侧沟茧蜂和绿盲蝽等其他植食性昆虫中也有报道^[11,31-34],说明小菜蛾盘绒茧蜂雌、雄成虫使用相同的化合物来搜寻寄主^[13]。其中小菜蛾盘绒茧蜂雌雄均对辛醛和壬醛有较大的 EAG 反应。这两种气味是常见的绿叶气味,是十字花科蔬菜受到小菜蛾幼虫为害后大量释放的气味,对腰带长体茧蜂雌雄虫、中红侧沟茧蜂、草间小黑蛛、南方小花蝽均有显著的吸引作用^[12,20,24]。

DMNT、苯乙腈、(R)-(+) - 柠檬烯和正庚醛也属于常见的绿叶气味物质,在十字花科蔬菜中广泛存在并对它们的生长发育起到重要作用。研究结果表明这 4 种化合物能引起雌雄虫触角电位的差异,但与预想不同的是,4 种气味的 EAG 值均为雄虫高于雌虫,说明雄虫在寻找配偶的过程中也需要植物源气味,并且可能需要更高的响应值来辅助定位雌性。但在行为学检验中,这几种气味并没有引起雄性显著高于雌性的行为趋性,尽管在低浓度苯乙腈的刺激下雄性的选择趋性略高于雌性。另外 3 种化合物 DMNT、(R)-(+) - 柠檬烯和正庚醛可以引起小菜蛾盘绒茧蜂雌雄趋向性的显著差异,雌虫显著高于雄虫。其中,DMNT 是虫害诱导后产生的主要萜烯类化合物,已被报道可以吸引多种寄生蜂^[17],例如水稻在受到二化螟为害后,DMNT 释放量增加,能够吸引更多的二化螟绒茧蜂,提高对二化螟的寄生率,从而达到自我防御的目的^[35]。(R)-(+) - 柠檬烯也是虫害诱导后产生的主要萜烯类化合物,可单独或其他单萜类化合物混合用于针叶树大小蠹的寄生蜂诱引^[22],它对菜粉蝶盘绒茧蜂雌虫也有较为显著的吸引反应。在双翅目昆虫橘小实蝇中,交配后的雌虫对 (R)-(+) - 柠檬烯的趋向反应要显著高于雄虫,可能与产卵行为密切相关^[36-37]。正庚醛也是常见的绿叶气味,对腰带长体茧蜂雌虫有明显的吸引作用,并且对半翅目昆虫骚扰锥蝽雌虫的吸引作用要显著高于雄虫^[6]。

尽管这 4 种气味的 EAG 与行为学的结果并不是十分吻合,但可以推断这 4 种气味在小菜蛾盘绒茧蜂雌雄虫定位寄主或配偶的过程中具有重要的作用,具体的机制还有待于进一步的深入研究。此外,本研究为针对小菜蛾盘绒茧蜂不同性别开发特异性引诱剂或驱避剂提供了理论依据。

参考文献

- [1] TALEKAR N S, SHELTON A M. Biology, ecology, and management of the diamondback moth[J]. Annual Reviews, 1993, 38(1): 275 - 301.
- [2] FURLONG M J, WRIGHT D J, DOSDALL L M. Diamondback moth ecology and management: problems, progress, and prospects [J]. Annual Review of Entomology, 2013, 58(1): 517 - 541.
- [3] REDDY G V, HOLOPAINEN J K, GUERRERO A. Olfactory responses of *Plutella xylostella* natural enemies to host pheromone, larval frass, and green leaf cabbage volatiles [J]. Journal of Chemical Ecology, 2002, 28(1): 131 - 141.
- [4] SHI Zuhua, LIU Shusheng, LI Yuanxi. *Cotesia plutellae* parasitizing *Plutella xylostella*: Host-age dependent parasitism and its effect on host development and food consumption [J]. BioControl, 2002, 47(5): 499 - 511.
- [5] 施祖华, 刘树生. 菜蛾绒茧蜂的寄主选择性及寄生对寄主发育和取食的影响[J]. 植物保护学报, 1999, 26(1): 25 - 29.
- [6] FONTAN A, AUDINO P G, MARTINEZ A, et al. Attractant volatiles released by female and male *Triatoma infestans* (Hemiptera: reduviidae), a vector of chagas disease: chemical analysis and behavioral bioassay [J]. Journal of Medical Entomology, 2002, 39(1): 191 - 197.
- [7] DICKENS J C. Predator-prey interactions: olfactory adaptations of generalist and specialist predators [J]. Agricultural & Forest Entomology, 1999, 1(1): 47 - 54.
- [8] DICKE M, POECKE R V, BOER J D. Inducible indirect defence of plants: from mechanisms to ecological functions[J]. Basic and Applied Ecology, 2003, 4(1): 27 - 42.
- [9] VUORINEN T, REDDY G V P, NERG A M, et al. Monoterpene and herbivore-induced emissions from cabbage plants grown at elevated atmospheric CO₂ concentration [J]. Atmospheric Environment, 2004, 38(5): 675 - 682.
- [10] IBRAHIM M A, HOLOPAINEN J K. Emission of *Plutella xylostella*-induced compounds from cabbages grown at elevated CO₂ and orientation behavior of the natural enemies [J]. Plant Physiology, 2004, 135(4): 1984 - 1992.
- [11] LI Yongsheng, DICKENS J C, STEINER W W. Antennal olfactory responsiveness of *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae) to cotton plant volatiles [J]. Journal of Chemical Ecology, 1992, 18(10): 1761 - 1773.
- [12] YU Huilin, ZHANG Yongjun, WU Kongming, et al. Field-testing of synthetic herbivore-induced plant volatiles as attractants for beneficial insects [J]. Environmental Entomology, 2008, 37(6): 1410 - 1415.
- [13] PARK K C, ZHU Junwei, HARRIS J, et al. Electroantennogram responses of a parasitic wasp, *Microplitis croceipes*, to host-related volatile and anthropogenic compounds [J]. Physi-

- ological Entomology, 2001, 26(1): 69–77.
- [14] NGUMBI E, CHEN Li, FADAMIRO H Y. Comparative GC-EAD responses of a specialist (*Microplitis croceipes*) and a generalist (*Cotesia marginiventris*) parasitoid to cotton volatiles induced by two caterpillar species [J]. Journal of Chemical Ecology, 2009, 35(9): 1009–1020.
- [15] GOUNGUENÉ S, PICKETT J A, WADHAMS L J, et al. Antennal electrophysiological responses of three parasitic wasps to caterpillar-induced volatiles from maize (*Zea mays mays*), cotton (*Gossypium herbaceum*), and cowpea (*Vigna unguiculata*) [J]. Journal of Chemical Ecology, 2005, 31(5): 1023–1038.
- [16] PINTO D M, BLANDE J D, NYKÄNEN R, et al. Ozone degrades common herbivore-induced plant volatiles: does this affect herbivore prey location by predators and parasitoids? [J]. Journal of Chemical Ecology, 2007, 33(4): 683–694.
- [17] DEGENHARDT J, GERSHENZON J, BALDWIN I T, et al. Attracting friends to feast on foes: engineering terpene emission to make crop plants more attractive to herbivore enemies [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2003, 14(2): 169–176.
- [18] DE BOER J G, POSTHUMUS M A, DICKE M. Identification of volatiles that are used in discrimination between plants infested with prey or nonprey herbivores by a predatory mite [J]. Journal of Chemical Ecology, 2004, 30(11): 2215–2230.
- [19] SHIOJIRI K, TAKABAYASHI J, YANO S, et al. Infochemically mediated tritrophic interaction webs on cabbage plants [J]. Population Ecology, 2001, 43(1): 23–29.
- [20] PINTO D M, NERG A M, HOLOPAINEN J K. The role of ozone-reactive compounds, terpenes, and green leaf volatiles (glvs), in the orientation of *Cotesia plutellae* [J]. Journal of Chemical Ecology, 2007, 33(12): 2218–2228.
- [21] SHIOJIRI K, OZAWA R, KUGIMIYA S, et al. Herbivore-specific, density-dependent induction of plant volatiles: honest or “cry wolf” signals? [J]. PLoS ONE, 2010, 5(8): e12161.
- [22] IBRAHIM M A, NISSINEN A, HOLOPAINEN J K. Response of *Plutella xylostella* and its parasitoid *Cotesia plutellae* to volatile compounds [J]. Journal of Chemical Ecology, 2005, 31(9): 1969.
- [23] BUKOVINSZKY T, GOLS R, POSTHUMUS M A, et al. Variation in plant volatiles and attraction of the parasitoid *Diaegma semiclausum* (Hellen) [J]. Journal of Chemical Ecology, 2005, 31(3): 461–481.
- [24] YANG Guang, ZHANG Younan, GURR G M, et al. Electroantennogram and behavioral responses of *Cotesia plutellae* to plant volatiles [J]. Insect Science, 2016, 23(2): 245–252.
- [25] BEYAERT I, WÄSCHKE N, SCHOLZ A, et al. Relevance of resource-indicating key volatiles and habitat odour for insect orientation [J]. Animal Behaviour, 2010, 79(5): 1077–1086.
- [26] CHEN L, SHARMA K R, FADAMIRO H Y. Fire ant venom alkaloids act as key attractants for the parasitic phorid fly, *Pseudacteon tricuspidis* (Diptera: Phoridae) [J]. Die Naturwissenschaften, 2009, 96(12): 1421–1429.
- [27] SHIOJIRI K, TAKABAYASHI J, YANO S, et al. Herbivore-species-specific interactions between crucifer plants and parasitic wasps (Hymenoptera: Braconidae) that are mediated by infochemicals present in areas damaged by herbivores [J]. Applied Entomology & Zoology, 2000, 35(4): 519–524.
- [28] 杨广, 魏辉, 尤民生. 小菜蛾盘绒茧蜂触角的超微结构 [J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2003, 32(1): 32–35.
- [29] 陈伟. 褐飞虱对水稻挥发物的触角电位反应及其气味结合蛋白基因的克隆 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2012.
- [30] 黄翠虹, 李静静, 周琳, 等. 昆虫触角电位 (EAG) 及其与气谱联用 (GC-EAD) 技术 [J]. 应用昆虫学报, 2014, 51(2): 579–585.
- [31] 张俊宇, 林克剑, 黄欣燕, 等. 绿盲蝽对七种锦葵科植物挥发物的 EAG 和趋向行为反应 [J]. 中国生物防治学报, 2016, 32(2): 135–141.
- [32] FEIN B L, REISSIG W H, ROELOFS W L. Identification of apple volatiles attractive to the apple maggot, *Rhagoletis pomonella* (Diptera, Tephritidae) [J]. Journal of Chemical Ecology, 1982, 8(12): 1473–1487.
- [33] FITZPATRICK S M. Age-specific titer and antennal perception of acetic acid, a component of male *Pseudaletia unipuncta* (Haw.) hairpencil secretion [J]. Journal of Chemical Ecology, 1989, 15(2): 641–648.
- [34] HANSSON B S, PERS JNCVD, LÖFQVIST J. Comparison of male and female olfactory cell response to pheromone compounds and plant volatiles in the turnip moth, *Agrotis segetum* [J]. Physiological Entomology, 2010, 14(14): 147–155.
- [35] LI Fengqi, LI Wei, LIN Yongjun, et al. Expression of lima bean terpene synthases in rice enhances recruitment of a beneficial enemy of a major rice pest [J]. Plant Cell and Environment, 2018, 41: 111–120.
- [36] 王国红, 刘勇, 戈峰, 等. 粉蝶盘绒茧蜂中国和荷兰种群学习行为及 EAG 反应的比较 [J]. 生态学报, 2012, 32(2): 351–360.
- [37] 涂蓉. 桔小实蝇及其幼虫寄生蜂的嗅觉行为研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2012.

(责任编辑: 田 喆)