

植物中硫代葡萄糖苷对小菜蛾产卵的影响^{*}

喻国泉¹ 吴伟坚¹ 吴建雄² 古德就¹ 张维球¹

(1 华南农业大学昆虫生态研究室, 广州 510642; 2 香港理工大学)

摘要 通过测定十字花科蔬菜中硫代葡萄糖苷的含量, 并从种子中提取硫代葡萄糖苷, 测定其对小菜蛾产卵的影响. 在供试的 6 种蔬菜中, 小菜蛾产卵量与其中硫代葡萄糖苷含量的趋势基本相符, 即小菜蛾趋向选择硫代葡萄糖苷含量较高的蔬菜上产卵. 从菜心种子中提取硫代葡萄糖苷进行小菜蛾产卵选择性试验结果表明, 卵全部产于喷有该提取物的通菜上, 在一定的浓度范围内, 浓度越高, 着卵量越多, 两者相关极显著($P < 0.01$, $r = 0.9116$). 寄主植物菜心和硫代葡萄糖苷提取液对小菜蛾产卵影响的试验结果表明, 体积分数分别为 1%、0.1%、0.01% 的硫代葡萄糖苷提取液和菜心都能引诱并刺激小菜蛾产卵, 使其产卵前期缩短, 产卵高峰期提前, 产卵量增加.

关键词 小菜蛾; 硫代葡萄糖苷; 产卵选择性

中图分类号 Q 968.1

小菜蛾 *Plutella xylosella* (L.) 是一种寡食性昆虫, 几乎仅取食十字花科植物, 它寻找寄主的机制早已引起人们的注意. Gupta 等(1960)发现一些十字花科蔬菜的汁液能吸引小菜蛾幼虫取食和雌虫产卵, 认为这些植物中含有某种引诱性物质. 硫代葡萄糖苷是十字花科植物中普遍存在的植物次生物质, 在植物体内在黑芥子酶(myrosinase)的作用下, 水解成具有挥发性的异硫氰酸酯类化合物(芥子油). 已证明硫代葡萄糖苷能刺激一些十字花科蔬菜害虫的取食和产卵, 如菜粉蝶(*Pieris rapae*)、菜蚜等(Nault et al., 1972; Renwick et al., 1983); 挥发性的芥子油是这些昆虫寻找寄主的信息化合物. 本文对寄主植物中硫代葡萄糖苷对小菜蛾产卵的影响作了一些初步研究, 以便对小菜蛾产卵选择性机制进行探讨, 期望从化生态学的角度探讨小菜蛾与其寄主植物的相互作用.

1 材料与方法

1.1 不同品种蔬菜中硫代葡萄糖苷含量对小菜蛾产卵选择性的影响

试验选取 6 种蔬菜即菜心、白菜、芥菜、萝卜、芥蓝、花椰菜, 其种子均购自广东省农业科学院经济作物研究所, 在相同的条件下进行种植.

选取生长期为 20 d 的每种蔬菜各一盆(每盆约 20 棵菜苗), 随机置于 1 m^3 ($1\text{ m} \times 1\text{ m} \times 1\text{ m}$) 的尼龙纱网中, 接入 3 对刚羽化的小菜成虫. 试验共设 4 个重复, 采用随机化完全区组设计. 24 h 后分别检查每盆菜上的卵量.

试验结束后, 剪取各株菜迅速在 105°C 下烘干, 同时也使材料中的黑芥子酶失活, 然后在研钵中研成粉末, 参照 Heaney 等(1988)的方法, 测定各种蔬菜的硫代葡萄糖苷含量.

1.2 硫代葡萄糖苷的提取方法

称取 30 g 菜心种子, 用电动粉碎机粉碎后, 迅速在 105°C 下烘干 1 h, 使种子内的黑芥子

酶失活。然后将烘干的种子装入索氏提取器,加入体积分数(φ)为 99.5% 甲醇 150 mL 和沸石 1 粒,80℃下连续回流 8 h。冷却后,取出烧瓶中的提取液,用石油醚(2× 30 mL)萃取两次,取其甲醇部分,用旋转式减压蒸馏器于 60℃下进行蒸馏,直到溶剂全部蒸发为止,得硫代葡萄糖苷提取液。

1.3 硫代葡萄糖苷的浓度对小菜蛾产卵选择的影响

取硫代葡萄糖苷提取液,用蒸馏水分别配成 φ 为 10%、5%、1%、0.1%、0.01%、0.001% 共 6 种浓度。用小喷雾器将上述浓度溶液分别喷于盆栽的通菜(旋花科,非小菜蛾寄主植物)上,另以喷清水作为对照。取各种处理的通菜 1 盆随机置于 1 m³ 的尼龙沙网笼内。试验共设 5 个重复,采用随机化完全区组设计。然后在每笼内接入刚羽化的雌雄成虫 3 对。24 h 后检查着卵量。

1.4 硫代葡萄糖苷及寄主植物对小菜蛾产卵和成虫寿命的影响

用指形管收集小菜蛾蛹,每管仅装 1 头,以保证试验前未交配。取刚羽化的成虫,雌雄配对后供试。

取上述硫代葡萄糖苷提取液,用蒸馏水分别配成 φ 为 1%、0.1%、0.01% 3 种浓度,使用后在 4℃下冰箱保存,每隔 2 d 重新配制。在玻璃瓶(d 约 8 cm, h 约 10 cm)中接入 1 对刚羽化的成虫,用内附一滤纸的培养皿盖住瓶口,并以棉球蘸 φ 为 10% 蜂蜜,供成虫补充营养。每天在滤纸上滴加 3 滴上述溶液,对照组每天在滤纸上滴加 3 滴清水。另将生长期约为 20 d 的菜心苗移栽于小塑料杯中,用以塑料和纱布制成的小笼笼罩。每笼内接入 1 对刚羽化的成虫,同样以棉球蘸 φ 为 10% 的蜂蜜供成虫补充营养。

每处理设 20 个重复,置于人工气候箱内,在(26±1)℃,LD 14 :10 的条件下让其产卵,每天检查滤纸、玻璃瓶和菜心上的卵量,并更换滤纸、玻璃瓶和菜心苗,直到成虫死亡。

以上供试虫源均为从广州菜区采集的小菜蛾蛹经室内饲养羽化而来。

2 结果与分析

2.1 不同品种蔬菜中硫代葡萄糖苷的含量对小菜蛾产卵选择的影响

从表 1 可见,小菜蛾产卵对十字花科不同品种蔬菜具有选择性,小菜蛾在菜心、芥菜上产卵最多,白菜、萝卜次之,芥蓝、花椰菜上的卵量最少。经方差分析,小菜蛾在芥菜和菜心上的产卵量明显高于芥蓝和花椰菜。

表 1 不同品种菜苗中硫代葡萄糖苷的含量与着卵量(粒)的关系 (广州,1993—07)

重复	菜心	芥菜	萝卜	白菜	芥蓝	花椰菜
1	28	12	7	4	1	2
2	7	20	18	1	1	0
3	6	12	1	3	0	0
4	11	6	26	9	0	0
平均卵量 ¹⁾ /(粒·盆 ⁻¹)	13.0a (5.1)	12.5a (2.9)	13.0a (5.6)	4.3ab (1.7)	0.5b (0.2)	0.5b (0.5)
硫苷含量/($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$)	14.31	10.22	11.46	8.03	9.71	7.28

1) 括号内的数据为标准误;表内同行具相同字母者表示在 0.05 水平上差异不显著(DM RT)

菜蛾产卵. 小菜蛾对寄主的选择性是否与寄主中的硫代葡萄糖苷的含量有关? 笔者对上述试验的蔬菜品种的硫苷含量进行了测定, 结果见表 1. 各种蔬菜中硫代葡萄糖苷的含量由高到低的顺序为: 菜心> 萝卜> 芥菜> 芥蓝> 白菜> 花椰菜. 这与小菜蛾在不同品种蔬菜上的产卵量大小趋势基本一致, 说明硫代葡萄糖苷的含量与小菜蛾的产卵选择存在一定的关系. 但发现芥蓝中的硫代葡萄糖苷含量较高, 而着卵量较低. 经相关分析, 不同品种蔬菜上着卵量与硫代葡萄糖苷的含量的线性正相关关系不显著($r=P>0.05$), 这可能是由于还存在影响小菜蛾产卵选择的其他因素.

2.2 硫代葡萄糖苷的浓度对小菜蛾产卵选择的影响

为了进一步研究硫代葡萄糖苷与小菜蛾产卵选择的关系, 本试验将提取的硫苷叶喷于小菜蛾的非寄主植物通菜上, 进行产卵选择试验. 从表 2 可见, 小菜蛾卵全部产于喷有硫苷的通菜上, 且随硫苷浓度的增高, 小菜蛾在其上面的产卵量越大. 在 φ 为 10%处理的通菜上的着卵量显著大于 φ 为 0.1%以下处理的通菜上的卵量. 说明在一定浓度范围内, 小菜蛾一般选择硫代葡萄糖苷浓度较高的地方产卵. 经相关分析, 小菜蛾在非寄主植物通菜上的着卵量与所喷的硫代葡萄糖苷提取液的浓度呈正相关($r=0.9116, P<0.01$).

表 2 不同硫代葡萄糖苷浓度下小菜蛾的着卵量(粒)¹⁾ (广州, 1993—07)

处理		φ (硫代葡萄糖苷) (%)						CK
		10	5	1	0.1	0.01	0.001	
24 h 以	1	58	39	0	7	4	1	0
	2	37	9	25	26	0	9	0
	3	0	17	2	2	0	0	0
	4	9	13	14	26	0	3	0
	5	74	20	30	11	0	2	0
平均值 ²⁾		35.6a	19.6a	14.2b	14.4b	0.8b	3.0b	0.0b
		(14.1)	(5.2)	(6.0)	(4.9)	(0.8)	(1.6)	(0.0)
48 h 以	1	76	69	15	7	4	1	0
	2	45	26	43	26	0	9	0
	3	0	17	4	2	0	0	0
	4	9	16	14	26	0	3	0
	5	100	20	36	14	4	3	0
平均值 ²⁾		46.0a	29.6ac	22.4ab	15.0bc	1.8b	3.2b	0.0b
		(19.0)	(10.0)	(7.3)	(4.9)	(0.9)	(1.6)	(0.0)

1) 硫代葡萄糖苷喷在非寄主植物通菜上; 2) 括号内的数据为标准误; 表内同行具相同字母者表示在 0.05 水平上差异不显著(DM RT)

2.3 硫代葡萄糖苷及寄主植物对小菜蛾产卵和成虫寿命的影响

(1) 对小菜蛾逐日产卵量的影响: 每天检查各处理中小菜蛾的卵量, 结果描述于图 1. 从图 1 可看出, 在寄主植物菜心上, 第 1 d 即为产卵高峰, 在硫代葡萄糖苷处理中, 第 2~3 d 为产卵高峰, 而在清水对照组中, 第 1~2 d 产卵量很少, 第 3 d 才达到产卵高峰. 在产卵高峰期, φ 为 0.01%硫代葡萄糖苷提取液处理组的产卵量最高, 清水对照组最低. 这说明, 寄主植物或硫代葡萄糖苷的存在能使小菜蛾的产卵高峰期提前, 尤其以寄主植物的作用最明显, 这

可能是因为寄主植物不但存在对小菜蛾产卵具有诱导作用的物质——硫代葡萄糖苷,而且其表面状况也较适合小菜蛾产卵.

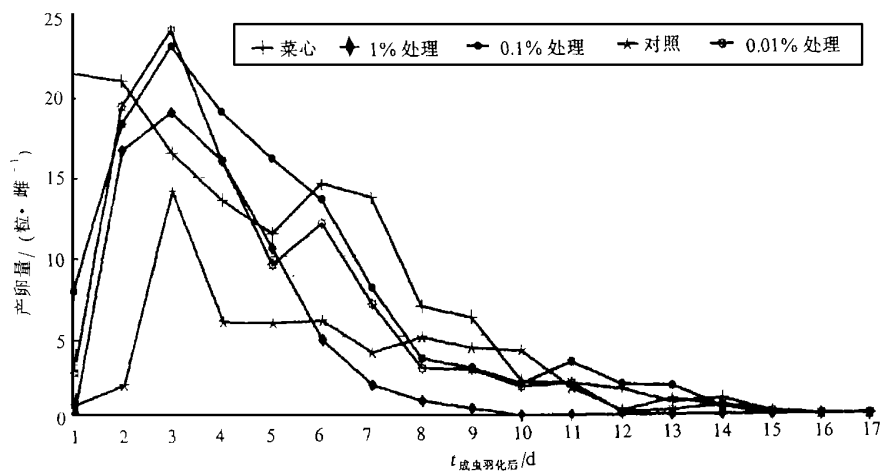


图 1 硫代葡萄糖苷及寄主植物对小菜蛾逐日产卵量的影响

(2) 对小菜蛾产卵前期、平均产卵量和成虫寿命的影响: 从表 3 可见, 在供给寄主植物菜心或硫代葡萄糖苷时, 小菜蛾的产卵量明显高于对照组, 产卵前期也明显比对照组短. 其中, 寄主植物菜心中小菜蛾的产卵量最大, 产卵前期最短, 在既没有寄主植物又没有硫代葡萄糖苷的对照组中, 小菜蛾产卵量最低, 产卵前期最长. 这说明硫代葡萄糖苷能刺激小菜蛾产卵, 使其产卵量增加, 产卵期缩短, 在试验的 3 种浓度之间, 小菜蛾的产卵量和产卵前期均没有显著差异, 但成虫的寿命存在差异, 浓度高时, 寿命缩短, 在 φ 为 1% 处理下的小菜蛾的寿命短于对照组, 说明硫代葡萄糖苷 φ 高的对小菜蛾成虫可能有一定的毒性, 或者是该提取物中还含有对小菜蛾有毒性的物质.

表 3 硫代葡萄糖苷对小菜蛾产卵前期、平均产卵量和成虫寿命的影响 (广州, 1993—07)

处 理 ¹⁾	$t_{\text{产卵前期}}^{1)}/\text{d}$	平均产卵量 ²⁾ / $(\text{粒}\cdot\text{雌}^{-1})$	$t_{\text{成虫寿命}}/\text{d}$
菜 心	$1.44\pm0.15\text{c}$	$134.2\pm31.6\text{a}$	$11.39\pm0.75\text{a}$
1% 硫苷	$2.44\pm0.20\text{b}$	$77.3\pm12.9\text{a}$	$7.83\pm0.75\text{a}$
0.1% 硫苷	$2.06\pm0.32\text{bc}$	$107.8\pm17.0\text{a}$	$9.50\pm0.74\text{ab}$
0.01% 硫苷	$2.06\pm0.32\text{bc}$	$109.9\pm13.9\text{a}$	$9.56\pm0.90\text{ab}$
清水对照	$3.61\pm0.35\text{a}$	$53.2\pm14.2\text{b}$	$11.50\pm0.80\text{a}$

1) 表中数据为 20 个重复的平均值及标准误, 同列中具相同字母者表示在 0.05 水平上差异不显著 (DMRT); 2) 该列的原始数据经 $\text{Log}(x+1)$ 变换后再进行方差分析和邓肯氏复极差检验

(3) 对小菜蛾产卵的引诱作用: 小菜蛾在试验装置内的任何部位均可能产卵. 在试验中硫代葡萄糖苷滴于滤纸上, 因此, 从滤纸上的卵量占总卵量的百分比 (以下简称滤纸上的着卵率) 可看出硫代葡萄糖苷是否对小菜蛾产卵具有引诱作用. 同时也可以分析表面状态对小菜蛾产卵的影响.

从表 4 可看出, 在滴有上述 3 种硫代葡萄糖苷提取液时, 小菜蛾在滤纸上的卵量占总卵

量的 80 %, 显著高于对照组. 说明 3 种浓度均对小菜蛾产卵具有明显的引诱作用, 这与前面的试验结果相符. 在 3 种浓度之间, 滤纸上的着卵率差异不显著. 在对照组中, 滤纸上的着卵率仅为 5. 8 %, 绝大多数卵产于玻璃瓶壁上, 说明小菜蛾产卵还与表面状况有关, 与粗糙的滤纸表面相比, 小菜蛾更喜欢产卵于光滑的玻璃表面上, 但在滴加硫代葡萄糖苷提取液后, 滤纸上的着卵率增加到 80 %, 说明小菜蛾在进行产卵选择时, 硫代葡萄糖苷的引诱作用比接触物的表面状况的影响更大.

表 4 不同处理滤纸上的着卵率¹⁾

φ(硫苷提取物)(%)	处理虫数/头	总卵量/粒	着卵率(%)
1	18	1 392	84. 3a
0. 1	19	2 067	78. 7a
0. 01	20	2 050	76. 7a
对照	20	1 046	5. 8b

1) 同列中具相同字母者表示在 0. 05 水平上差异不显著 (DMRT)

在有寄主植物菜心时, 小菜蛾卵全部产于寄主植物上, 小菜蛾在与寄主植物的进化过程中, 已对寄主植物形成了多方面的适应.

3 结论与讨论

3. 1 小菜蛾产卵选择性机制探讨

本文试验结果发现, 小菜蛾在非寄主植物通菜上的产卵量与所喷的硫代葡萄糖苷的φ呈线性正相关, 但在各种蔬菜上的产卵量与硫代葡萄糖苷的含量相关性不显著. 小菜蛾产卵对寄主的选择性除化学因素外, 可能还存在其他的影响因素.

Miller 等 (1984) 认为植食性昆虫对寄主的寻找和识别依赖于中枢神经系统对多种信息的质和量的综合感觉. Gupta 等 (1960) 发现小菜蛾的产卵选择除与硫代葡萄糖苷有关外, 还与被接触物的表面状况有关. 甘蓝类蔬菜的叶面有较厚的蜡质层, 不利于小菜蛾初孵幼虫的潜叶取食. 有些十字花科植物中除含有产卵引诱物质以外, 还含有驱避物质 (Gupta et al, 1960; Reed et al, 1989). 引诱性物质和驱避性物质都影响小菜蛾的产卵选择. 另外, 小菜蛾产卵还与视觉有关 (Tabashnik, 1985).

另外, 硫代葡萄糖苷是一组化合物, 目前已鉴定的有 70 多种 (Fenwick et al, 1983), 在不同的植物中, 其种类及含量不同 (林冠伯, 1986; Reed et al, 1989).

硫代葡萄糖苷在植物体内经黑芥子酶作用水解生成具有挥发性的物质——异硫氰酸酯化合物. 这种挥发性物质即芥子油是引诱小菜蛾产卵的信息化合物 (Reed et al, 1989). 因此, 寄主植物的生理状况包括黑芥子酶活性, 挥发性物质的释放状况等均会影响小菜蛾成虫对气味的感应, 从而影响其产卵取向.

小菜蛾的产卵选择性机制可能包括 3 种感觉机制, 即嗅觉、物理机械感觉和视觉. 其中, 嗅觉起最重要作用.

3. 2 硫代葡萄糖苷对小菜蛾产卵的刺激作用

关于硫代葡萄糖苷或异硫氰酸酯化合物对小菜蛾产卵是否具有刺激作用, 目前还存在争论. Gupta 等 (1960) 用丙烯基异硫氰酸酯进行试验, 发现在滴有该物的容器中小菜蛾产卵量较对照多, 认为该物对小菜蛾产卵具有刺激作用. Reed 等 (1990) 用芥菜提取物进行试验,

也发现在加有提取物的容器中小菜蛾的平均产卵量更多,但对产卵 3 h 以后的雌虫的卵巢进行解剖后,发现处理组和对照组中雌虫所怀的成熟卵量并没有显著差异,从而认为该提取物并没有刺激产卵,而是由于怀卵量大的雌虫更容易被引诱的缘故.本文的试验结果表明,硫代葡萄糖苷和寄主植物菜心的供给都使成虫的产卵前期缩短,产卵高峰期提前,平均卵量增加,说明硫代葡萄糖苷能刺激小菜蛾产卵.至于对小菜蛾产卵或引诱作用最强的硫代葡萄糖苷的结构及最适浓度等有待进一步研究.

参 考 文 献

- 林冠伯. 1986. 十字花科蔬菜的硫代葡萄糖苷含量及其变化. 中国蔬菜, (4): 47 ~ 51
- Fenwick G R, Heaney R K, Mullin W J. 1983. Glucosinolates and the breakdown products in food and food plant. CRC Crit Rev Food Sci Nutr, 18: 123 ~ 201
- Gupta P D, Thorsteinson A J. 1960a. Food plant relationship of diamondback moth *Plutella maculipennis* (Curt.): I Gustation and olfaction in relation to botanical specificity of the larvae. Entomol exp appl, 3: 241 ~ 250
- Gupta P D, Thorsteinson A J. 1960b. Food plant relationships of the diamondback moth *Plutella maculipennis* (Curt.): II Sensory regulation of oviposition of the adult female. Entomol exp appl, 3: 305 ~ 314
- Heaney R H, Spinks E A, Fenwick G R. 1988. Improved method for the determination of the total glucosinolate content of rape seed by determination of enzymically released glucose. Analyst, 113: 1515 ~ 1518
- Miller J R, Strickler K L. 1984. Finding accepting host plants. In: Bell W J, Carde R T, eds. Chemical Ecology of Insect. Sunderland: Sinauer Associates Inc, 85
- Nault L R, Styer W E. 1972. Effects of sinigrin on host selection by aphids. Entomol Exp Appl, 15: 423 ~ 437
- Reed D W, Pivnick K A, Underhill E W. 1989. Identification of chemical oviposition stimulants for the diamondback *Plutella xylostella* present in three species of *Brassicaceae*. Entomol Exp Appl, 53: 277 ~ 286
- Renwick J A A, Radke C D. 1983. Chemical recognition of host plants for oviposition by the cabbage butterfly, *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae). Environ Entomol, 12: 466 ~ 450
- Tabashnik B E. 1985. Deterrence of diamondback moth oviposition by plant compounds. Environ Entomol, 12: 450 ~ 466

EFFLUENCE OF THE GLUCOSINOLATES OF CRUCIFEROUS PLANTS ON OVIPOSITION OF DIAMONDBACK MOTH

Yu Guoquan¹ Wu Weijian¹ Wu Jianxiong² Gu Dejiu¹ Zhang Weiqiu¹

(1 Lab. of Insect Ecology, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642;

2 The Hong Kong Polytechnic Univ.)

Abstract

The relationship between glucosinolates content of cruciferous plants and oviposition preference of the diamondback moth (DBM), *Plutella xylostella* L. was studied. It showed that the DBM adults preferred to lay their eggs on the plants with high content of glucosinolates. It was also

supported by an oviposition bioassay experiment ($n=5$) which was conducted with the glucosinolates extracts from the seeds of *Brassica parachinensis* at seven serial diluted concentrations at a range from 10% to 0.001%. The linear regression relationship between the number of eggs laid and the concentration of glucosinolates was highly significant ($r=0.9116$, $P<0.01$). The results of the non-choice and its glucosinolates all accelerated DBM oviposition and increased the number of eggs laid. The results in these experiments demonstrated that glucosinolates played on attractive and stimulant for DBM oviposition, and played an important role in host-plant selection.

Key words *Plutella xylostella* (L.); glucosinolate; oviposition preference

(上接第 7 页)

Christou P, Ford T L, Kofron M. 1991. Production of transgenic rice (*Oryza sativa* L.) Plants from agronomically important indica and japonica varieties via electric discharge particle acceleration of exogenous DNA into immature zygotic embryos. *Bio-Technology*, 9(10): 957~962

Hilder V A, Gatehouse A M R, Sheerman S E, et al. 1987. A novel mechanism of insect resistance engineered into tobacco. *Nature*, 330: 160~163

PRELIMINARY STUDIES ON THE INSECT RESISTANCE OF TRANSGENIC RICE

Zhang Liangyou¹ Wu Hongji¹ Xiao Zhengyu¹ Xu Xinping² Hu Ming² Li Baojian²

(¹ College of Natural Resources & Environment, South China Agric. Univ., Guangzhou, 510642

² Biotechnology Research Center of Zhongshan Univ.)

Abstract

With the particle gun, the gene of *GaInathus nivalis* agglutinin (GNA) and gene of soybean Trypsin Inhibitor were introduced into the calli of the rice Taibei 309, respectively. After screening for resistant activity and plant regeneration, transgenic plants I and II were obtained respectively. According to the international standard, bioassays showed that both transgenic plants I and II had insect-resistant activity. Of which, the rate of insect-resistant plants of the transgenic plant I to the brown plant hopper (*Nilaparvata lugens* Stal) was 26.7%, and that of the transgenic plant II to the rice case worm (*Cnaphalocrocis medinalis* Guenee) and the yellow rice borer [*Scirpophaga incertulus* (Walker)] were 30.18% and 1.5%, respectively.

Key words transgenic; resistance-insect; gene conversion