

华南毛蕨挥发油对美洲斑潜蝇成虫的行为干扰作用

任立云^{1,2}, 曾 玲¹, 张茂新¹, 许益镛¹

(1 华南农业大学 昆虫生态研究室, 广东 广州 510642; 2 广西大学 农学院, 广西 南宁 530005)

摘要: 利用气相色谱—质谱联用仪, 对华南毛蕨 *Cyclosorus parasiticus* 挥发油成分进行分析. 结果表明, 华南毛蕨挥发油中含有 38 种化学成分, 酯类物质占 21.961%, 酸类占 17.199%, 烯醇类占 16.161%, 酚类物质占 14.263%, 醛酮类占 11.026%, 其中, 对昆虫具有驱避作用的糠醛占 2.943%, 香豆素占 1.327%, 丁二酸二异丁酯占 1.126%. 对挥发油进行生物测定的试验结果表明, 2.5、5.0、7.5、10.0 μL 用量对美洲斑潜蝇成虫产卵在施用 24 h 有驱避作用同时表现出一定的拒食作用, 其产卵驱避和拒食作用的大小随施用剂量的增加而增大, 随着时间的增长而逐渐减弱; 施用 48 h 后仅 10.0 μL 有产卵驱避作用和拒食作用. 采用四臂嗅觉仪对美洲斑潜蝇成虫的行为反应测定结果也表明, 其对这种挥发油具有同样的行为趋向.

关键词: 美洲斑潜蝇; 华南毛蕨; 挥发油; 干扰作用

中图分类号: Q968.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2004)04-0035-04

Deterrent effect of volatiles from *Cyclosorus parasiticus* on adult of *Liriomyza sativae*

REN Li-yun^{1,2}, ZENG Ling¹, ZHANG Mao-xin¹, XU Yi-juan¹

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

2 Agricultural College, Guangxi University, Nanning 530005, China)

Abstract: Thirty-eight compounds, including fufural, coumarin and succinic acid, bis (2-methylpropyl) ester, were found in the volatiles extracted from *Cyclosorus parasiticus*, by using facility GC/MS. The bioassay showed that the volatiles in different concentration had the oviposition deterrent effect and antifeeding effect against adults of *Liriomyza sativae* in 24 h after treatment. Furthermore, the effect enhanced with the concentrations improving and weakened with time spending after treatment. The results of the four-armed olfactometer test showed that the volatiles from *C. parasiticus* influenced the behavior of *L. sativae* strongly.

Key words: *Liriomyza sativae*; *Cyclosorus parasiticus*; volatile; deterrent effects

在植物与昆虫的协同进化关系中, 植物的挥发性物质与昆虫之间建立了密切的联系. 昆虫可以藉此找到适合自己的寄主植物, 也可以因此而远离不适合自己取食的植物. 植物的挥发油是昆虫取食、产卵活动的向导. 这种导向作用是昆虫与植物在亿万年来不断协调和进化的结果^[1~4]. 华南毛蕨 *Cy-*

closorus parasiticus Farw. 属蕨类, 金星蕨科 Thelypteridaceae, 阴生类植物. 在自然界中, 很少发现这类植物上有昆虫活动的迹象, 也未见这类植物被某种昆虫取食的报道. 为了探究华南毛蕨挥发性物质与昆虫之间的关系, 本试验开展了该植物挥发油成分分析及对美洲斑潜蝇行为影响的初步研究.

1 材料与方法

1.1 供试材料

美洲斑潜 *Liriomyza sativae* 蝇采自田间, 经室内饲养获得. 华南毛蕨 *Cyclosorus parasiticus* 由华南农业大学校园采集获得. 菜豆 *Phaseolus vulgaris* 品种为双青玉豆 35 号, 由广东省农科院蔬菜研究所提供.

气相色谱-质谱联用仪 (GC/MS) 为 HP6890GC/HP5973MS, 美国惠普公司制造. 数据处理系统为 Wiley 275. 色谱条件: 色谱柱子 Hp-FFAp, SE-30 $m \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$, 柱温 $80 \sim 280 \text{ }^\circ\text{C}$ ($10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$, 25 min), 进样口温度 $280 \text{ }^\circ\text{C}$, 柱前压 40 kPa , 进样量 $1 \mu\text{L}$. 质谱条件: 扫描范围 $29.0 \sim 550.0 \mu\text{m}$, 离子源温度 $230 \text{ }^\circ\text{C}$, 连接线温度 $280 \text{ }^\circ\text{C}$.

四臂嗅觉仪为华南农业大学昆虫生态研究室自行研制.

1.2 试验方法

1.2.1 挥发油的提取方法 将华南毛蕨地上部分剪碎, 风干. 经水蒸气蒸馏, 乙醚萃取, 无水硫酸钠干燥, RE-52AA 型旋转蒸发仪减压浓缩, 除去溶剂, 得到挥发油^[5].

1.2.2 挥发油的生物测定方法 将提取的植物挥发油用微量注射器按规定量移至三角形滤纸上, 插于菜豆苗根际, 放入养虫笼中; 对照用清水处理, 然后将羽化 2~3 d 用 φ 为 5% 蜜糖水充分饲喂的美洲斑潜蝇成虫 50 头放入装有菜豆苗的养虫笼内, 于 24、48 h 后在双目镜下分别观察每叶取食斑和产卵粒数. 试验为选择性试验, 处理和对照各设 15 个重复.

1.2.3 行为反应的测定方法 参照彭成旺等^[6]的方法, 将美洲斑潜蝇成虫单头放入测试区内, 在测试时, 将其中一个选择区作为处理区, 其余 3 个选择区作为对照区. 植物挥发油测试流量为 60、100、150、200 mL/min 4 个流量, 每流量测试虫量为 30 头, 每头试虫测试时间为 10 min.

结合 Dazzle MoveStar (2000) 软件, 在计算机上同步观察试虫在观测室内的行为. 用 OLFA 软件记录试虫做出的第一选择, 在每个选择区内的停留时间和选择次数^[6].

1.3 评价方法

1.3.1 干扰作用控制指数评价方法 本研究着重于测试挥发油对成虫的产卵忌避作用. 美洲斑潜蝇成虫产卵于植物表皮以下, 植物次生物质对美洲斑潜蝇卵的杀伤力很小, 因此, 应用于美洲斑潜蝇的干扰

作用控制指数 (interference index of population control, IIPC)^[7] 可减化为:

$$IIPC = \frac{N_{OTr} S_{ETr} S_{STr}}{N_{OCK} S_{ECK} S_{SCK}}$$

其中: N_{OTr} 、 N_{OCK} —处理及对照当代卵量, S_{ETr} 、 S_{STr} —处理区卵、低龄幼虫有活率, S_{ECK} 、 S_{SCK} —对照区卵、低龄幼虫存活率. 当 $IIPC < 1$ 时, 表明该物质对成虫产卵有一定的驱避作用, 驱避作用的大小可以由 IIPC 值的大小来估计, IIPC 越小, 该物质的驱避作用越大, 反之, 则该物质的驱避作用越小; $IIPC = 1$ 时, 表明该植物次生化合物对害虫没有驱避作用; $IIPC > 1$ 时, 表明该物质对害虫成虫产卵有引诱作用.

1.3.2 拒食率 试验为选择性试验, 其拒食率计算公式^[8]为:

$$\text{拒食率} = \frac{\text{对照区取食斑数} - \text{处理区取食斑数}}{\text{对照区取食斑数} + \text{处理区取食斑数}} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 华南毛蕨挥发油的成分分析

经 GC/MS 分析, 从华南毛蕨挥发油中检测出 38 种化学成分, 酯类物质占 21.961%, 酸类占 17.199%, 烯醇类占 16.161%, 酚类物质占 14.263%, 醛酮类占 11.026%, 其中棕榈酸的含量最高, 占挥发油总量的 11.931%, 其次是二苯胺, 占 8.159%, 2-甲氧基苯酚, 2-咪喃甲醇, 邻苯二甲酸二异丁酯, 苯甲醛等也占有很高的比重. 另外, 还含有对昆虫具有驱避作用的糠醛 (2.943%), 香豆素 (1.327%) 和丁二酸二异丁酯 (1.126%)^[1,2] (表 1).

2.2 华南毛蕨挥发油对美洲斑潜蝇的产卵忌避作用

华南毛蕨挥发油对美洲斑潜蝇的产卵驱避作用随施用量的增加而增大. 在处理 24 h, 10.0 μL 用量对美洲斑潜蝇成虫的产卵驱避作用最强, 其 IIPC 值为 0.308, 1.0 μL 用量对美洲斑潜蝇成虫的产卵驱避作用未达显著水平; 处理后 48 h, 仅 10.0 μL 用量对其成虫的产卵驱避作用达显著水平 (表 2).

2.3 华南毛蕨挥发油对美洲斑潜蝇的拒食作用

华南毛蕨挥发油对美洲斑潜蝇的拒食作用随施用量的增加而增大, 在处理 24 h 仅 1.0 μL 用量对其没有拒食作用, 其余各用量都有拒食作用, 并达显著水平, 10.0 μL 用量对美洲斑潜蝇成虫的拒食作用最强, 其拒食率为 43.433%; 处理后 48 h 仅 10.0 μL 用量对美洲斑潜蝇的拒食作用达显著水平 (表 3).

表 1 华南毛蕨挥发油的成分分析

Tab. 1 Constituent analysis on essential oil of *Cyclosorus parasiticus*

保留时间 retain time of GC/min	化合物 compounds	相似度 φ/ % similarity / %	保留时间 retain time of GC/min	化合物 compounds	相似度 φ/ % similarity / %		
1. 774	糠醛 C ₅ H ₄ O ₂	2. 943	96	20. 133	1-十八烯 C ₁₈ H ₃₆	0. 758	96
2. 048	2-呋喃甲醇 C ₅ H ₆ O ₂	5. 818	98	20. 929	邻苯二甲酸二异丁酯 C ₁₆ H ₂₂ O ₄	5. 321	90
2. 480	2-乙酰基呋喃 C ₆ H ₆ O ₂	1. 852	90	21. 024	新植二烯 C ₂₀ H ₃₈	1. 956	93
3. 087	苯甲醛 C ₇ H ₆ O	4. 072	92	21. 167	2, 6, 10, 14-四甲基-2-十六烯 C ₂₀ H ₄₀	0. 684	98
3. 414	苯酚 C ₆ H ₆ O	3. 704	95	21. 410	植醇 C ₂₀ H ₄₀ O	0. 956	92
5. 213	2-甲氧基苯酚 C ₇ H ₈ O ₂	7. 165	95	21. 630	邻苯二甲酸二丁酯 C ₁₆ H ₂₂ O ₄	0. 722	98
7. 256	2-甲氧基-4-甲基苯酚 C ₈ H ₁₀ O ₂	0. 869	96	21. 749	植醇 C ₂₀ H ₄₀ O	1. 533	95
8. 159	4-苯基-2-丁酮 C ₁₀ H ₁₂ O	0. 604	95	22. 509	邻苯二甲酸二丁酯 C ₁₆ H ₂₂ O ₄	4. 645	97
9. 139	4-乙基-2-甲氧基苯酚 C ₉ H ₁₂ O ₂	1. 195	98	22. 913	异植醇 C ₂₀ H ₄₀ O	2. 097	96
10. 624	4-苯基-3-丁烯-2-酮 C ₁₀ H ₁₀ O	1. 921	97	23. 275	棕榈酸 C ₁₆ H ₃₂ O ₂	11. 931	99
12. 139	香豆素 C ₉ H ₆ O ₂	1. 327	92	23. 685	5-二十烯 C ₂₀ H ₄₀	1. 185	98
12. 483	α-紫罗兰酮 C ₁₃ H ₂₀ O	0. 708	91	23. 822	正二十烷 C ₂₀ H ₄₂	0. 317	95
13. 380	丁二酸二异丁酯 C ₁₂ H ₂₄ O ₄	1. 126	96	25. 782	亚油酸 C ₁₈ H ₃₂ O ₂	3. 178	96
13. 707	β-紫罗兰酮 C ₁₃ H ₂₀ O	0. 778	95	25. 930	油酸 C ₁₈ H ₃₄ O ₂	2. 090	97
14. 313	二氢猕猴桃醇酸内酯 C ₁₁ H ₁₆ O ₂	2. 012	98	26. 281	植醇 C ₂₀ H ₄₀ O	1. 174	92
15. 494	戊二酸二丁酯 C ₁₃ H ₂₆ O ₄	1. 960	96	28. 900	4, 8, 12, 16-四甲基十七烷-4-内酯 C ₂₁ H ₄₀ O ₂	0. 813	97
16. 243	二苯胺 C ₁₂ H ₁₁ N	8. 195	94	29. 975	正二十四烷 C ₂₄ H ₅₀	0. 419	98
17. 597	己二酸二异丁酯 C ₁₄ H ₂₈ O ₄	1. 481	98	31. 685	邻苯二甲酸二异丙酯 C ₁₄ H ₁₈ O ₄	0. 285	90
19. 165	N, N-二苯基甲酰胺 C ₁₃ H ₁₁ O ₂ N	0. 800	95	31. 697	邻苯二甲酸二异丁酯 C ₁₆ H ₂₂ O ₄	3. 596	93

表 2 华南毛蕨挥发油对美洲斑潜蝇的产卵驱避作用¹⁾

Tab. 2 Oviposition deterrent effect of essential oil on adult of *Liriomyza sativae*

施用量 dosage/ μ L	24 h			48 h		
	产卵数 No. of eggs per leaf/(粒·叶 ⁻¹)		IIPC	产卵数 No. of eggs per leaf/(粒·叶 ⁻¹)		IIPC
	处理 treatment	对照 control		处理 treatment	对照 control	
1. 0	2. 07±0. 41a	2. 83±0. 82a	0. 731	1. 67±0. 40a	0. 92±0. 27a	1. 815
2. 5	0. 83±0. 18a	1. 73±0. 28b	0. 480	1. 52±0. 25a	0. 97±0. 16a	1. 567
5. 0	0. 63±0. 12a	1. 34±0. 28b	0. 470	1. 43±0. 44a	1. 36±0. 31a	1. 051
7. 5	0. 43±0. 16a	1. 00±0. 22b	0. 430	0. 59±0. 16a	1. 27±0. 26a	0. 465
10. 0	1. 13±0. 24a	3. 67±0. 58b	0. 308	0. 81±0. 18a	1. 97±0. 35b	0. 411

1) 表中相同处理时间同行数据后字母相同表示在 0.05 水平上差异不显著, 不同字母示 0.05 水平上差异显著(t 检验)

表 3 华南毛蕨挥发油对美洲斑潜蝇的拒食作用¹⁾

Tab. 3 Antifeeding effect of essential oil on adult of *L. sativae*

施用量 dosage/ μ L	24 h			48 h		
	取食斑数		拒食率 rate of antifeeding/ %	取食斑数		拒食率 rate of antifeeding/ %
	处理 treatment	对照 control		处理 treatment	对照 control	
1. 0	37. 57±4. 88a	35. 00±4. 99a	— 3. 541	22. 13±2. 14a	18. 85±2. 09a	— 8. 004
2. 5	17. 17±1. 59a	29. 70±4. 53b	26. 734	24. 07±2. 75a	23. 90±2. 20a	— 0. 354
5. 0	16. 07±2. 35a	38. 17±3. 97b	40. 745	32. 33±2. 08a	32. 79±3. 21a	0. 706
7. 5	10. 73±1. 61a	26. 46±5. 68b	42. 296	14. 26±1. 49a	15. 62±1. 65a	4. 552
10. 0	11. 00±1. 36a	27. 90±3. 40b	43. 433	8. 89±1. 43a	12. 30±0. 68b	16. 092

1) 表中相同处理时间同行数据后字母相同表示在 0.05 水平上差异不显著, 不同字母示 0.05 水平上差异显著(t 检验)

2.4 美洲斑潜蝇对华南毛蕨挥发油的行为反应

美洲斑潜蝇对华南毛蕨挥发油具有不选择性。在所测定的 4 个流量中, 处理区的停留时间、进入次数和第一选择率显著低于对照; 不论是处理区还是

对照区, 其进入次数和第一选择率均随气流流量的增大而减小; 而停留时间方面, 处理区的停留时间有所增加, 但未达显著水平, 对照区的停留时间减少, 但也未达显著水平(表 4)。

表 4 美洲斑潜蝇对华南毛蕨挥发油的行为反应¹⁾

Tab. 4 Behavior reaction of adult of *L. sativae* against essential oil

气流流量 flux of air current/(mL·min ⁻¹)	停留时间 time spending /min		进入次数 number of entris		第一选择率 rate of first choice/%	
	处理 treatment	对照 control	处理 treatment	对照 control	处理 treatment	对照 control
60	0.338±0.244a	2.673±0.127b	0.633±0.068a	1.122±0.130b	20.00	80.00
100	0.365±0.175a	2.562±0.202b	0.700±0.094a	1.278±0.211b	16.67	76.67
150	0.366±0.119a	2.540±0.282b	0.520±0.084a	0.850±0.103b	15.79	68.42
200	0.379±0.170a	2.484±0.209b	0.211±0.187a	0.483±0.076b	15.79	63.16

1) 表中同组同行数据后字母相同表示在 0.05 水平上差异不显著, 不同字母示 0.05 水平上差异显著(*t* 检验)

3 讨论

华南毛蕨挥发油成分分析结果表明, 在其挥发油中含有对昆虫具有驱避作用的活性物质, 如糠醛(furfural), 香豆素(coumarin)和丁二酸二异丁酯(succinic acid, bis(2-methylpropyl)ester), 酚类物质被普遍认为具有杀菌、杀虫的作用^[1~4,9], 其在华南毛蕨挥发油中占有相当大的比例(14.263%)。作为植物与昆虫协同进化的结果, 在不被美洲斑潜蝇取食的华南毛蕨上所提取的挥发油中, 存在对美洲斑潜蝇具有驱避作用的物质可能性较大, 美洲斑潜蝇成虫通过嗅觉感受器, 可以远距离感受到这类物质的存在, 从而趋向于远离被处理的寄主植物。这种非嗜食植物挥发性物质对嗜食寄主植物气味物质的屏蔽作用有效地保护了寄主植物免受其害。这是植物免害工程中的重要手段之一, 它为降低某一类害虫在其寄主上为害的种群数量, 减轻寄主的受害程度发挥了应有的作用。

另一方面, 被挥发油处理过的寄主植物和对照寄主植物在试验条件下, 无一完全避免美洲斑潜蝇成虫在其上的产卵和取食, 说明非嗜食寄主植物挥发性物质只能有效地降低美洲斑潜蝇对寄主植物的为害程度, 不能完全掩盖寄主植物气味物质, 而且在挥发性物质随着时间的延长而逐渐挥发以后, 美洲斑潜蝇的嗅觉感受器越来越明显地探测到寄主植物的气味物质, 对寄主植物的趋向性逐步加强, 被应用的挥发性物质则失去了作用。因此, 这类挥发性物质以原型施用田间, 其发挥的作用是有限的, 如果将其制成缓释剂, 延长其对害虫的控制时间, 将是一条有效的途径。缓释剂的研究与应用还有待于进一步研

究。

致谢: 中国科学院广州分院有关人员帮助分析华南毛蕨挥发油成分, 特此致谢!

参考文献:

- [1] 平立岩, 沈应柏, 金幼菊, 等. 几个树种机械损伤诱导挥发物的比较初报[J]. 植物学报, 2001, 43(3): 261—266.
- [2] 张 瑛, 严福顺. 虫害诱导的植物挥发性次生物质及其在植物防御中的作用[J]. 昆虫学报, 1998, 4(2): 204—213.
- [3] BALDWIN I T, PRESTON C A. The eco-physiological complexity of plant responses to insect herbivores[J]. Planta, 1999, 208: 137—145.
- [4] DU Y Z, POPPY G M, POWELL W, et al. Identification of semiochemicals released during aphid feeding that attract parasitoid *Aphidius ervi*[J]. J Chem Ecol, 1998, 24: 1355—1368.
- [5] 路 平, 邱国福, 肖生强, 等. 苦瓜果肉挥发油成分研究[J]. 南京医药大学学报, 1999, 15(4): 219.
- [6] 彭成旺, 宗良炳. 介绍一种研究寄主—寄生昆虫关系的四臂气流式测定仪[J]. 昆虫知识, 1986, 25(4): 248—250.
- [7] 庞雄飞, 张茂新, 侯有明, 等. 植物保护剂防治害虫效果的评价方法[J]. 应用生态学报, 2000, 11(1): 108—110.
- [8] 侯有明, 尤民生, 庞雄飞, 等. 植物保护剂保卫德对黄曲条跳甲种群控制作用评价[J]. 福建农业学报, 2002, 17(1): 16—19.
- [9] 陈冀胜, 郑 硕. 中国有毒植物[M]. 北京: 科学出版社, 1987. 11—29.

【责任编辑 周志红】