

三化螟对海芋挥发油的嗅觉和触角电位反应

刘光华^{1,2}, 梁广文¹, 曾玲¹, 甘泳红²

(1 华南农业大学昆虫生态研究室, 广东广州510642; 2 仲恺农业工程学院植物保护系, 广东广州510225)

摘要:在实验室条件下用四臂嗅觉仪和触角电位(EAG)仪测定了三化螟 *Scirpophaga incertulas* (Walker) 对海芋 *Alocasia macrorrhiza* (L.) 挥发油的嗅觉反应和触角电位。结果表明,三化螟对海芋挥发油极为敏感,具明显的驱避作用,并能激发三化螟触角产生显著 EAG 反应。在相同浓度条件下,雌虫的 EAG 值显著大于雄虫,表明雌虫对植物挥发性物质反应较雄虫强烈。左右触角对挥发油 EAG 反应并不一致,低浓度条件下[即 $V(\text{挥发油}):V(\text{石蜡})=1:16$ 或 $1:8$],左、右触角的 EAG 反应差异不显著,但在高浓度条件下[即 $V(\text{挥发油}):V(\text{石蜡})=1:4,1:2$ 或 $1:1$],右触角的 EAG 反应则显著大于左触角。

关键词:三化螟;海芋;挥发油;嗅觉反应;四臂嗅觉仪

中图分类号:S433.4

文献标识码:A

文章编号:1001-411X(2011)01-0035-04

Electroantennogram and Olfactory Responses of *Scirpophaga incertulas* to Volatiles from *Alocasia macrorrhiza*

LIU Guang-hua^{1,2}, LIANG Guang-wen¹, ZENG Ling¹, GAN Yong-hong²

(1 Laboratory of Insect Ecology, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

2 Plant Protection Department, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China)

Abstract: The four-armed olfactometer and electroantennogram (EAG) were used respectively to measure the olfactory and EAG response of the yellow stem borer, *Scirpophaga incertulas* (Walker), adults to the volatiles from *Alocasia macrorrhiza* (L.) in laboratory. The results showed that the pest was extremely sensitive to the volatiles with a clear repellent effect and there were significant EAG responses to the volatiles. Olfactory and EAG response indicated that the adults of the yellow stem borer had negative response to the volatiles derived from *A. macrorrhiza*. EAG response of female adults was more sensitive than males under the same concentration of volatiles. EAG response of antennae was no significant differences under the conditions of low concentration [$V(\text{volatile}):V(\text{olefin})=1:16$ or $1:8$], but at high concentrations [$V(\text{volatile}):V(\text{olefin})=1:4,1:2$ or $1:1$], the EAG response of the right antenna was significantly more sensitive than the left antenna.

Key words: *Scirpophaga incertulas*; *Alocasia macrorrhiza*; volatiles; olfactory response; four-armed olfactometer

三化螟 *Scirpophaga incertulas* (Walker) 为水稻上重要钻蛀性害虫,发生历史悠久、分布面积广、为害严重。一般发生年份,为害率在 5%~10%,发生重的年份,损失产量在 20% 以上^[1]。近年来,受水稻品种、耕作制度及栽培技术变化的影响,不同区域三化螟发生危害程度相差悬殊,三化螟种群发生区域化特

征明显^[2]。目前防治三化螟的有效措施仍以化学防治为主,化学杀虫剂的大量使用,不仅引起三化螟产生抗药性^[3-4]、造成环境污染,同时还降低了稻米的品质和产量。可见,寻找三化螟生态、可持续控制措施有着重要的意义。

海芋 *Alocasia macrorrhiza* (L.) 属天南星科

收稿日期:2010-03-09

作者简介:刘光华(1972—),男,副教授,博士;通信作者:曾玲(1949—),女,教授,E-mail:zengling@scau.edu.cn

基金项目:国家科技支撑计划项目(2008BADA5B01,2008BADA5B04)

Araceae 海芋属 *Alocasia*, 具有重要的药用价值、观赏价值和经济价值. 有研究表明, 海芋水浸液对防治稻苞虫、粘虫、稻飞虱、稻叶蝉有良好的效果, 其乙醇提取物对三化螟成虫有明显的产卵驱避作用, 产卵驱避率达到 75% 以上^[2]. 众多研究结果表明, 植物次生化合物在保护植物免受昆虫为害中起着十分重要的作用^[5-8]. 在海芋生长过程中, 几乎未发现明显受到害虫为害的症状, 且其水浸液及乙醇提取物对害虫具有明显防御作用^[2], 次生代谢物质可能起着重要作用. 挥发油是植物次生物质中相对分子质量在 100~200 之间具有挥发性的有机化学物质. 挥发性次生物质不但可以影响植食性昆虫的寄主定向行为或逃避行为^[9], 还可以影响植食性昆虫的交配^[10]、产卵^[11-12]以及取食行为, 是植物防御的重要组成部分^[13-14]. 有学者认为, 植物的气味物质(主要为挥发性次生物质)传递着有关昆虫取食、产卵、及其他活动的信息, 对昆虫的行为反应起着关键的作用, 所以对昆虫的嗅觉行为的研究不仅可以揭示害虫与寄主植物间的信息化学联系, 而且可为害虫的防治、预测预报提供新的思路^[15]. 本文通过四臂嗅觉仪和电位测定技术研究了三化螟对海芋挥发油的行为反应和触角电位(EAG)反应, 旨在明确海芋挥发油对三化螟成虫的行为干扰作用及其作用机理, 为今后利用植物次生物质防治三化螟的研究打下基础.

1 材料与方法

1.1 材料

三化螟 *Scirpophaga incertulas* (Walker). 在老熟幼虫或蛹的发生时期将稻田枯心苗连根采回置于实验室网笼中, 保湿, 待蛹羽化成虫后作为供试虫源.

海芋 *Alocasia macrorrhiza* (L.). 将海芋叶表面灰尘洗净、剪碎、风干, 置入水蒸气蒸馏器中蒸取挥发油. 蒸出物用乙醚萃取 3 次后加入无水硫酸钠脱水 12 h, 用 RE-52AA 型旋转蒸发器浓缩, 得到棕黄色挥发油, 置于冰箱中密封保存备用.

1.2 三化螟嗅觉反应测定

采用由华南农业大学昆虫生态研究室根据 Vet 等^[16]描述制作并改进的四臂嗅觉仪进行三化螟嗅觉反应测定. 在处理臂气味瓶中加入 2 mL 植物挥发油溶液、对照臂的气味瓶中则加入等体积溶剂作为对照. 每种挥发油测定 2 个以上不同的流量, 每个流量测试 20 头以上成虫, 雌雄比为 1:1. 测试时试虫单头进行. 当试虫接入观测室 1 min 后开始计时, 越过第一选择线, 即判断做出了第一选择; 若在中心区, 则认为没有做出选择. 每头试虫进入的测定时间最长

为 10 min, 如果试虫进入的抽气管或在某一选择区内某一位置滞留时间超过 2 min, 则终止试验. 试验过程中记录试虫做出的第一选择、停留时间以及进入次数.

1.3 三化螟触角电位测定

将三化螟触角沿基部切下后切去触角末梢, 并用电导胶将其固定在电极上, 气味管与触角相距 1 cm. 调节仪器的工作状态, 待基线平稳后即可给予刺激测定. 测定时间间隔为 1 min. 刺激气流为 40 mL/min, 连续气流为 50 mL/min. 每次用微量进样器吸取 10 μ L 挥发油均匀地滴在折叠成 V 形的滤纸条 (0.5 cm \times 5.0 cm) 上, 然后塞进巴斯德管内, 供试验用. 供试挥发油与液体石蜡体积比设 1:1、1:2、1:4、1:8、1:16 共 5 种不同浓度(配比). 供试触角 12 根, 每根触角平均刺激 5 次, 同时设石蜡和空气为对照. 试验所用触角电位仪和软件均由荷兰 Syntech 公司提供.

1.4 评价方法

利用选择系数 (Selective index, 简称 SI) 来评价植物挥发油对成虫行为的干扰作用^[17]. 计算公式如下:

$$SI = \frac{\text{处理臂滞留时间(次数)}}{\text{对照臂滞留时间(次数)}}, \quad (1)$$

如果 SI = 1, 说明测试昆虫在处理臂与对照臂滞留时间(次数)相当, 表明该挥发油对其行为干扰不明显; 如果 SI < 1, 说明测试昆虫在处理臂滞留时间(次数)比对照臂少, 表明该挥发油具有驱避作用, 且 SI 越小, 则驱避作用越强; 如果 SI > 1, 说明测试昆虫在处理臂滞留时间(次数)比对照臂长(多), 表明该挥发油具有吸引作用, 且 SI 越大, 则吸引作用越强.

1.5 试验数据的分析与处理

试验数据经 Excel 处理后, 用 DPS11.0 数据处理系统分析软件进行分析^[18].

2 结果与分析

2.1 三化螟对海芋挥发油的嗅觉反应

2.1.1 成虫对海芋挥发油的嗅觉反应 从表 1 可以看出, 海芋挥发油的 2 个不同流量条件下三化螟在处理臂的滞留时间及选择次数明显小于对照, 表明三化螟对海芋挥发油极为敏感; 滞留时间的选择系数最小可达 0.20, 选择次数的选择系数最小达到 0.50. 表 1 数据还可以看出, 三化螟对海芋挥发油做出第一选择的百分率相对较低, 范围在 5%~25% 之间, 表明海芋挥发油对三化螟成虫有驱避作用. 三化螟成虫对海芋挥发油做出第一选择率从气流流量 100 mL \cdot min⁻¹ 的 25% 迅速下降为 200 mL \cdot min⁻¹ 的 5%.

表 1 三化螟对海芋植物挥发油嗅觉反应测定

Tab. 1 Behavior response of adult of *Scirpophaga incertulas* against volatile from *Alocasia macrorrhiza*

| 气流流量/ (mL · min ⁻¹) | <i>t</i> _{滞留¹⁾} /min | | | 选择次数 ¹⁾ | | | 第一选 择/% |
|------------------------------------|--|-------------|------|--------------------|-------------|------|------------|
| | 处理 | 对照 | SI | 处理 | 对照 | SI | |
| 100 | 0.38 ± 0.03 ** | 1.92 ± 0.14 | 0.20 | 2.21 ± 0.96 ** | 3.14 ± 0.84 | 0.70 | 25.00 |
| 200 | 0.52 ± 0.26 ** | 1.76 ± 0.12 | 0.30 | 0.80 ± 0.23 ** | 1.60 ± 0.12 | 0.50 | 5.00 |

1) ** 表示相同气流流量处理与对照差异达 0.01 水平(*t* 检验).

2.1.2 成虫嗅觉行为反应中性别差异 在嗅觉反应测试中,三化螟雌、雄个体对海芋挥发油的嗅觉行为反应表现一致(表 2). 各处理的滞留时间和选择

次数都明显低于对照,表明 2 种植物挥发油对雌虫和雄虫都有明显的驱避作用.

表 2 三化螟在海芋挥发油嗅觉行为反应测定中的性别差异

Tab. 2 Sex difference of *Scirpophaga incertulas* in olfactory response test of volatiles from *Alocasia macrorrhiza*

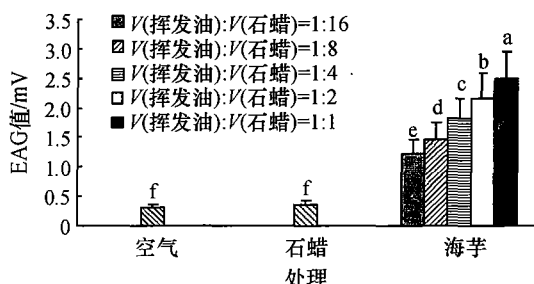
| 气流流量/ (mL · min ⁻¹) | 性别 | <i>t</i> _{滞留¹⁾} /min | | | 选择次数 ¹⁾ | | |
|------------------------------------|----|--|-------------|------|--------------------|-------------|------|
| | | 处理 | 对照 | SI | 处理 | 对照 | SI |
| 100 | ♀ | 0.45 ± 0.06 ** | 1.94 ± 0.29 | 0.23 | 1.89 ± 1.12 ** | 3.04 ± 1.15 | 0.62 |
| | ♂ | 0.32 ± 0.03 ** | 1.99 ± 0.15 | 0.16 | 2.50 ± 1.63 * | 3.23 ± 1.33 | 0.77 |
| 200 | ♀ | 0.54 ± 0.40 ** | 1.78 ± 0.15 | 0.30 | 0.80 ± 0.45 * | 1.67 ± 0.14 | 0.48 |
| | ♂ | 0.36 ± 0.15 ** | 1.89 ± 0.15 | 0.19 | 0.90 ± 0.31 * | 1.67 ± 0.29 | 0.56 |

1) *、** 分别表示相同气流流量和相同性别处理与对照差异达 0.05、0.01 水平(*t* 检验).

2.2 三化螟对海芋挥发油的触角电位反应

2.2.1 三化螟对不同浓度海芋挥发油的 EAG 反应

海芋挥发油能激起三化螟成虫产生显著 EAG 反应(图 1). 在 *V*_{挥发油}:*V*_{石蜡} = 1:1 时,海芋挥发油引起的 EAG 值最高,为 2.50,显著高于对照,分别是空气(EAG = 0.31 mV)和石蜡对照(EAG 值 = 0.37 mV)的 8.06 和 6.76 倍;*V*_{挥发油}:*V*_{石蜡} = 1:16 时 EAG 值最小,仅为 1.22 mV,也明显高于对照,分别是空气和石蜡对照的 3.94 和 3.30 倍.此外,从图 1 还可以看出,不同浓度挥发油激起的触角电位值差异显著,表明触角电位反应的强度与被测试的挥发物的浓度有着密切的关系,随着浓度的升高,EAG 值增大.



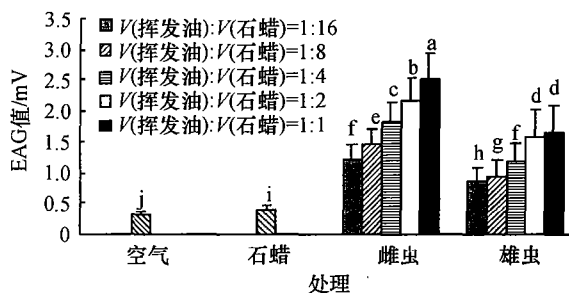
误差线为标准误. 凡是有一个小写字母相同者,表示经 DMRT 检验在 0.05 水平上差异不显著.

图 1 三化螟对不同浓度海芋挥发油的 EAG 反应

Fig. 1 EAG responses of *S. incertulas* to the different concentration of volatiles from *A. macrorrhiza*

2.2.2 三化螟对海芋挥发油的 EAG 反应的性别差异
三化螟雌、雄虫对海芋挥发油均有较明显的触角

电位反应,且在相同浓度条件下,雌虫的 EAG 值显著大于雄虫(图 2),表明雌虫对植物挥发性物质反应较雄虫强烈.



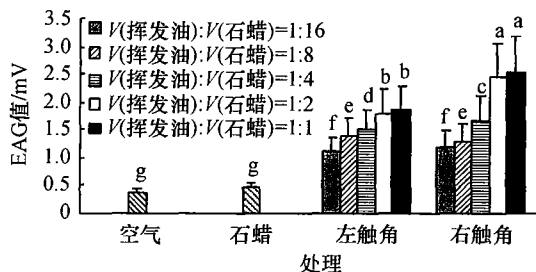
误差线为标准误. 凡是有一个小写字母相同者,表示经 DMRT 检验在 0.05 水平上差异不显著.

图 2 三化螟对海芋挥发油触角电位反应的性别差异

Fig. 2 Sex difference of EAG responses of *S. incertulas* to plant volatiles from *A. macrorrhiza*

2.2.3 三化螟左右触角对海芋挥发油的 EAG 反应差异

一般认为,昆虫的左、右触角对外界刺激物质的嗅觉行为反应是一致的,但从图 3 可以看出,三化螟左、右触角对挥发油反应并不一致. 在海芋挥发油浓度较低条件下[即 *V*(挥发油):*V*(石蜡) = 1:16 或 1:8],左、右触角的 EAG 反应差异不显著;但在高浓度条件下[即 *V*(挥发油):*V*(石蜡) = 1:4、1:2 或 1:1],右触角的 EAG 反应则显著大于左触角(图 3),表明三化螟的左、右触角对挥发油刺激引起的 EAG 反应也存在差异.



误差线为标准误。凡是有一个小写字母相同者,表示经 DMRT 检验在 0.05 水平上差异不显著。

图3 三化螟左、右触角对海芋挥发油 EAG 反应差异

Fig. 3 Difference of EAG responses between left and right antennae of *S. incertulas* to volatiles from *A. macrorrhiza*

3 讨论与结论

自然界昆虫选择食料的行为活动一般分为两部分:一是依靠昆虫的视觉和嗅觉在环境中寻找适宜的植物;二是选择一定的植物进行试探取食和产卵,确定这种植物是否满足自身的需要^[19]。这一过程中昆虫视觉、嗅觉、触觉和味觉不断收集来自植物的各种信息,并做出选择判断。植物次生物质的刺激和阻碍作用依靠昆虫的各种感受器互相作用、互相影响,最终平衡的结果决定接受或拒绝某一植物^[20]。本研究测定了三化螟对海芋挥发油嗅觉反应,结果表明,三化螟对海芋挥发油极为敏感,具明显的驱避作用,且能激发三化螟触角产生显著 EAG 反应,说明三化螟的触角具有感觉植物挥发油的化学感受器,而且雌、雄虫触角的化学感应器的反应强度不一致。一般认为,昆虫的左、右触角对外界刺激物质的嗅觉行为反应是一致的,但本试验表明,三化螟左、右触角对挥发油 EAG 反应并不一致,这可能与左、右触角嗅觉感器种类、数量和特异性有关。

三化螟为单食性昆虫,理论上其对次生物质的适应力较杂食性昆虫差,表现为对植物次生物质敏感,从异源植物中筛选出对其行为有明显干扰作用的次生物质并不难。昆虫嗅觉反应测定的结果反映昆虫对挥发性次生物质的敏感程度,在异源植物次生物质对昆虫的行为干扰作用评价中,有着十分重要的意义,但是因为挥发油具有成分复杂、含量少、易挥发等特点,在生产上较难评价其对害虫的控制作用。本文只研究了三化螟成虫触角对海芋挥发油的行为反应,对海芋挥发油化学组成、起主要作用的化学成分以及挥发性植物次生物质的应用有待进一步的深入研究。

参考文献:

[1] 王华弟. 水稻三化螟及其治理[M]. 北京:中国农业科技出版社,2001.

- [2] 刘光华,曾玲,梁广文. 海芋的利用研究进展[J]. 广东农业科学,2008(8):61-62.
- [3] 黄端平,肖整玉,黄彰欣. 水稻三化螟对杀虫剂的抗药性研究[J]. 广东农业科学,1995(2):33-36.
- [4] 吕亮,陈其志,张舒,等. 湖北省水稻二化螟和三化螟的抗药性监测[J]. 华中农业大学学报,2008,27(2):213-216.
- [5] 钦俊德. 植物对昆虫的防御[M]//钦俊德. 昆虫与植物的关系:论昆虫与植物的相互作用及演化. 北京:科学出版社,1987:38-61.
- [6] FOSTER S P, HARRIS M O. Behavioral manipulation methods for insect pest management[J]. Annu Rev Entomol,1997,42:123-146.
- [7] 庞雄飞. 植物保护剂与植物免害工程:异源次生化合物在害虫防治中的应用[J]. 世界科技研究与发展,1999,21(2):24-28.
- [8] 庞雄飞. 害虫种群生态控制:种群生灭过程控制研究方法[M]. 北京:高等教育出版社,2002.
- [9] 杜家纬. 植物-昆虫间的化学通讯及其行为控制[J]. 植物生理学报,2001,27(3):193-200.
- [10] 杜家纬. 昆虫信息素及其应用[M]. 北京:中国林业出版社,1988.
- [11] MITCHELL E R, TINGLE F C, HEATH R R. Ovipositional responses of three *Heliothis* species (Lepidoptera: Noctuidae) to allelochemicals from cultivated and wild host plants [J]. J Chem Ecol,1990,16(6):1817-1827.
- [12] BINDWR B F, ROBBINS J C, WILSON R L. Chemically mediated oviposition behaviors of the European cornborer [J]. J Chem Ecol,1995,21(9):1315-1327.
- [13] HSIAO T H. Feeding behavior[M]//KERKUT G A. Comprehensive insect physiology, biochemistry, and pharmacology. London:Oxford Pergamon Press,1985:417-512.
- [14] 杜永均,严福顺. 植物挥发性次生物质在植食性昆虫? 寄主植物和昆虫天敌中的作用机理[J]. 昆虫学报,1994,37(2):133-250.
- [15] 丁红建,郭予元,吴才宏. 用于昆虫嗅觉行为研究的四臂嗅觉仪的设计、制作和应用[J]. 昆虫知识,1996,33(4):241-243.
- [16] VET L E M. From chemical to population ecology: infochemical used in an evolutionary context [J]. J Chem Ecol,1999,25(1):31-49.
- [17] 周琼,梁广文,孔垂华,等. 白蝴蝶挥发油对蚜虫的驱避作用及其化学成分[J]. 应用生态学报,2004,15(5):856-858.
- [18] 唐启义,冯明光. DPS 数据处理系统:实验设计、统计分析 & 数据挖掘[M]. 北京:科学出版社,2007.
- [19] 钦俊德. 诠释植食性昆虫是怎样选择食料植物的[J]. 生物学通报,2003,38(6):1-3.
- [20] CHAPMAN R E. Host-plant selection behaviour of phytophagous insect[M]. New York:Chapman & Hall,1994.

【责任编辑 周志红】