

# 华北大黑鳃金龟聚集信息素的分离鉴定及其引诱效果

李 雪<sup>1,2</sup> 李建一<sup>1</sup> 曹雅忠<sup>2</sup> 尹 姣<sup>2</sup> 兰建强<sup>1\*</sup> 李克斌<sup>2\*</sup>

(1. 云南农业大学植物保护学院, 昆明 650100; 2. 中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100193)

**摘要:** 为确定华北大黑鳃金龟 *Holotrichia oblita* 聚集行为产生的原因和是否存在聚集素, 采用 Y 型嗅觉仪和气相色谱-质谱联用仪 (gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS), 观测试虫聚集行为、鉴定后肠粗提物主要成分及其生物活性。结果表明, 在华北大黑鳃金龟雄虫后肠粗提物中发现了顺-9-十八烯醛和乙酸顺-9-十八烯酯等活性物质; 与对照相比, 100  $\mu\text{g/mL}$  和 200  $\mu\text{g/mL}$  浓度的顺-9-十八烯醛对华北大黑鳃金龟雌、雄成虫具有显著的引诱效果, 100  $\mu\text{g/mL}$  浓度引诱的雌、雄虫数分别为 119 头和 102 头, 显著多于对照 (分别为 60 头和 75 头); 而 100  $\mu\text{g/mL}$  和 50  $\mu\text{g/mL}$  浓度的乙酸顺-9-十八烯酯浓度对雌、雄虫具有显著的引诱效果。当顺-9-十八烯醛与 2-乙基-1-己醇混合比例分别为 3:1 和 5:1 时, 华北大黑鳃金龟雌、雄虫对混合物的选择性显著高于对照。当乙酸顺-9-十八烯酯与榆树挥发物混合比例为 3:1、5:1 时, 对华北大黑鳃金龟雌虫的引诱性显著高于对照; 当混合比例为 5:1 和 7:1 时, 对华北大黑鳃金龟雄虫的引诱显著高于对照。表明顺-9-十八烯醛和乙酸顺-9-十八烯酯可能是华北大黑鳃金龟聚集信息素的主要成分。

**关键词:** 华北大黑鳃金龟; 聚集信息素; 趋性反应; 植物挥发物; 混合物

## Identification and bioassay of aggregation pheromone components of northern China scarab beetle *Holotrichia oblita*

Li Xue<sup>1,2</sup> Li Jianyi<sup>1</sup> Cao Yazhong<sup>2</sup> Yin Jiao<sup>2</sup> Lan Jianqiang<sup>1\*</sup> Li Kebin<sup>2\*</sup>

(1. College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming 650100, Yunnan Province, China;  
2. Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

**Abstract:** To examine the aggregation behavior of northern China scarab beetle *Holotrichia oblita* in the laboratory, and screen the potential intraspecific aggregation pheromone of this species, their aggregation behavior was observed, and the main components of crude extract and biological activity were identified by using Y-olfactometer and gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS). The results showed that Z-9-octadecanoic aldehyde and Z-9-octadecene acetate and other active substances were found in the hindgut extracts of male, in which both female and male adults were significantly baited by Z-9-octadecanoic aldehyde at a rate of 100  $\mu\text{g/mL}$  and 200  $\mu\text{g/mL}$  compared with the control. At the rate of 100  $\mu\text{g/mL}$ , the number of attractant insects of female and male were 119 and 102, respectively, which was significantly more than that of the control (60 and 75). Moreover, there was a significant attraction for both male and female when Z-9-octadecene acetate was presented at the concentrations of 100  $\mu\text{g/mL}$  and 50  $\mu\text{g/mL}$ . When mixed with the elm tree volatile (2-ethyl-1-hexanol) in different proportions, both male and female exhibited significant preference to the mixture of Z-9-octadecanoic aldehyde at the proportions of 3:1 and 5:1. When Z-9-octadecene acetate and the elm tree volatile were mixed at 3:1 and 5:1 ratio, there was a notable effect in seducing female. In addition, there was a signifi-

基金项目: 国家自然科学基金(31371997, 31572007)

\* 通信作者 (Authors for correspondence), E-mail: jqlan92@163.com, kbli@ippcaas.cn

收稿日期: 2017-08-30

cant attraction effect at 5:1 and at 7:1 ratio for male. The results suggested that Z-9-octadecanoic aldehyde and Z-9-octadecene acetate were probably the components of the aggregation pheromone of *H. oblita*.

**Key words:** *Holotrichia oblita*; aggregation pheromone; taxis response; plant volatile; mixture

昆虫信息素是同种昆虫个体之间在求偶、觅食、栖息、产卵、自卫等过程中传递信息的化学信息物质,主要有性信息素、聚集信息素、示踪信息素、报警信息素、疏散信息素、蜂王信息素以及那氏信息素等(鲁继红,2008)。在不同种昆虫之间、昆虫与其它生物之间也存在传递信息的化学媒介,即种间信息化学物质,简称种间素,主要有利己素、利它素和协同素等(王郁和邱乐忠,2011)。昆虫聚集信息素通常被定义为由单一性别的昆虫产生,并引起雌、雄两性同种昆虫聚集行为的化学物质(赵博光和张松山,1993)。昆虫通过聚集获得有益的环境或共享资源来抵御外敌的侵袭。目前已经鉴定出较多的昆虫聚集信息素,主要由鞘翅目、半翅目、直翅目、蜚蠊目以及双翅目等昆虫所产生,而且以鞘翅目的昆虫种类最多(姜勇等,2002)。据不完全统计,目前在鞘翅目中已鉴定涉及聚集信息素的昆虫有67种,涉及聚集信息素有效成分的昆虫有134种(李雪等,2017)。鞘翅目昆虫的聚集信息素主要成分为烃、醇、醛、酮、酯、酸类化合物,同科昆虫的聚集信息素化学结构相差不是很大(姜勇等,2002)。聚集信息素在生产、仓储和环境保护中具有巨大的应用潜力,国外特别是北美洲、西欧等国家在此领域研究和应用发展迅速(赵博光和张松山,1993),国内外相继开始利用昆虫信息素防治害虫,并取得了良好的效果。例如,利用云杉八齿小蠹 *Ips typographus* 聚集信息素防治云杉八齿小蠹,信息诱捕器的有效引诱距离可以达到200 m以上,以林缘外25 m的诱集效果最好,以漏斗式诱捕器的诱集效果最佳,诱捕量达9 092头成虫(王泽斌,2013); Ju et al. (2017)将植物挥发物与性信息素按不同的比例混合,该混合物对暗黑鳃金龟 *Holotrichia parallela* 的控制效果显著。但是目前昆虫信息素在田间防治害虫方面尚存在聚集素种类偏少、效果不稳定等突出问题。

华北大黑鳃金龟 *Holotrichia oblita* 属鞘翅目金龟子总科,是金龟子种类中为害最严重的昆虫之一;在我国金龟子约有1 800种(魏鸿钧等,1989)。这类昆虫食性广,成虫和幼虫均具有危害性,且为害植物范围广杂,成虫群聚取食且具有一定隐蔽性,对农作物为害很大(胡琼波等,2004)。幼虫通称蛴螬,是重

要的地下害虫,在土内取食多种农作物、林果、牧草、药材和花卉植物等的种子及萌发的幼根、地下茎(张美翠等,2014)。长期以来华北大黑鳃金龟都以化学防治为主,效果虽然好,但是对环境影响大,残留高,对人、畜不安全(姚庆学等,2003),而对昆虫信息物质的研究与利用引起了人们的高度关注(王广利和孙凡,2005),利用信息物质防治害虫具有高效、无毒、专一性强、不伤害天敌、环保等特点(周洪旭等,2011)。王惠等(2002)分离鉴定出华北大黑鳃金龟性信息素,并且在室内活性试验中取得较好的结果。邓思思等(2011)筛选出对华北大黑鳃金龟电生理反应和嗅觉反应较好的几种植物挥发性化合物。但是,目前对华北大黑鳃金龟聚集信息素方面的研究很少。华北大黑鳃金龟的成虫取食寄主植物时有明显的聚集现象,是否该成虫自身存在和释放聚集信息素?目前尚缺乏深入研究。

鉴于华北大黑鳃金龟对榆树叶片有很强的取食嗜好性,张化平等(2014)对榆树叶片挥发物进行了提取和鉴定,其中包含2-乙基-1-己醇等化合物。为解析华北大黑鳃金龟成虫聚集行为产生的原因,在进一步验证华北大黑鳃金龟是否具有聚集性的基础上,对其后肠挥发性物质进行提取和分析鉴定,并通过室内聚集趋向试验,验证其生物活性。同时选取张化平等(2014)鉴定出的榆树叶片含量最高的2-乙基-1-己醇化合物,与华北大黑鳃金龟后肠挥发物按不同比例进行混合,在室内开展趋性试验,检测其是否具有增效或加成作用,以期为寻找和开发防治华北大黑鳃金龟新型、有效的绿色治理技术奠定靶标物质基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试昆虫:于2016年5月在河北省保定市军校广场周边草坪利用罩网采集华北大黑鳃金龟羽化初期的成虫,采集后将雌、雄成虫在室内温度 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ 下分开饲养,养虫盒内土壤湿度维持在15%左右,以新鲜的榆树叶饲喂,每次选择健康的成虫进行试验。

试剂及仪器:正己烷为色谱纯,北京化工厂;顺-9-十八烯醛和乙酸顺-9-十八烯酯,中国农业科学院

植物保护研究所新农药创制研究组合成。GCMS-QP2010 SE型气相色谱-质谱联用仪,株式会社岛津制作所;Y型嗅觉仪,北京兴运科诺玻璃仪器制品厂。

## 1.2 方法

### 1.2.1 华北大黑鳃金龟聚集行为的室内测定

在野外采集成虫的时候发现华北大黑鳃金龟有明显的聚集取食现象,为进一步验证其是否具有聚集行为,采用Y型嗅觉仪在温度 $25\pm 1^\circ\text{C}$ 、相对湿度40%左右的室内对华北大黑鳃金龟成虫进行聚集行为测定(刘丹丹,2016)。根据华北大黑鳃金龟的行为习性,确定试验时间为19:30—21:30时,观察光源为红光灯。试验参照Honda et al.(1999)的方法略有修改,试验设置3个处理6组试验,即雌虫分别对雌、雄虫的引诱,雄虫分别对雌、雄虫的引诱,雌雄混合分别对雌、雄虫的引诱;其中在Y型管的一个侧臂端分别放置30头雌虫、30头雄虫、15头雌虫和15头雄虫的混合作为气味源,另一个侧臂端以过滤的空气作为对照;从Y型管的主臂放入待测试的雌、雄成虫。试验中气体流量设置为500 mL/min,将处理味源的侧臂端两边用纱网固定防止成虫爬出;从距主臂3 cm处接入待测试的雌、雄虫,每次接入雌虫或雄虫1头,当成虫在任意侧臂中停留1 min以上,则认为其已做出趋性选择;从放入开始计时5 min内仍停留在主臂处,则认为无趋性反应。为避免不同处理的影响,一个处理测试完成后更换新的Y型管(嗅觉仪)。在主臂上每个处理接入测试雌、雄成虫各60头,重复3次,即每组试验共测试180头成虫。

### 1.2.2 华北大黑鳃金龟后肠粗提物的引诱试验

首先提取华北大黑鳃金龟后肠粗提物。参照Blomquist et al.(2010)的方法,将分开饲养的华北大黑鳃金龟雌、雄成虫饥饿处理24 h后,确定成虫后肠的位置并切下,将雌、雄成虫的后肠分别放入2个装有2 mL己烷的采样瓶中,每个采样瓶中各放30头雌虫(或雄虫)的后肠,放入4°C冰箱冷却48 h后,用1 mL的注射器提取上清液至注射器内,将针头拔掉,用0.45  $\mu\text{m}$ 的膜将提取液过滤至1.5 mL进样瓶内,-80°C保存,备用。

为确定华北大黑鳃金龟后肠提取的粗提物是否具有引诱性,对提取的不同性别的华北大黑鳃金龟后肠粗提物进行趋向行为试验。若具有引诱性则进行后续分离鉴定,若没有则重新提取。试验吸取10  $\mu\text{L}$ 的后肠粗提物溶液滴在1.5 cm $\times$ 2.0 cm的滤纸上,将滤纸放入Y型管一侧的味源瓶中,另一侧相同位置放入滴有10  $\mu\text{L}$ 正己烷的滤纸作为对照,其它

同1.2.1。每个处理测试雌、雄成虫各60头,重复3次。

### 1.2.3 雄虫后肠粗提物活性成分的分离鉴定

利用GCMS-QP2010SE型气相色谱-质谱联用仪来分离鉴定华北大黑鳃金龟的后肠粗提物,气相色谱工作条件:色谱柱:Rtx-5MS;不分流进样;升温程序:起始温度50°C,保持3 min,以20°C/min上升到190°C,保持3 min,以5°C/min上升到280°C,保持5 min(泽桑梓等,2010)。为减少误差,选取离子图中峰值较高的物质,而且选取仅雄虫有而雌虫没有的峰,并与标准库比对以确定所选峰所代表的化合物成分,再对化合物成分进行活性检验分析。

### 1.2.4 试虫对后肠粗提物主要成分的趋性测定

为进一步测定华北大黑鳃金龟后肠粗提物主要成分的活性,试验将雄虫后肠粗提物中分离鉴定出的挥发性化合物——顺-9-十八烯醛和乙酸顺-9-十八烯酯分别进行稀释和引诱试验。将顺-9-十八烯醛稀释为25、50、100、200和400  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 五个浓度对雌虫进行引诱试验,将顺-9-十八烯醛稀释为50、100、200、400和800  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 五个浓度对雄虫进行引诱试验;将乙酸顺-9-十八烯酯稀释为12.5、25、50、100和200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 五个浓度分别对雌、雄虫进行引诱试验,吸取10  $\mu\text{L}$ 的化合物溶液滴在1.5 cm $\times$ 2 cm的滤纸上,并将其放到Y型管一侧臂端,另一侧臂端吸取等量的正己烷作为对照,其它同1.2.1。每个处理测试雌、雄成虫各60头,重复3次。

### 1.2.5 后肠粗提物与榆树挥发物混合的趋性试验

为测定华北大黑鳃金龟2种后肠粗提物与榆树挥发物混合后的效果,将后肠粗提物与榆树挥发物成分2-乙基-1-己醇(张化平等,2014)分别以1:1、3:1、5:1、7:1、9:1的比例混合,2-乙基-1-己醇浓度为100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,顺-9-十八烯醛对雌虫、雄虫的引诱浓度分别为100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,乙酸顺-9-十八烯酯对雌、雄虫的引诱浓度均为50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,吸取10  $\mu\text{L}$ 的混合物溶液滴在1.5 cm $\times$ 2 cm的滤纸上,放在Y管一侧臂端,吸取等量的后肠挥发物置于另一侧臂端作为对照,其它同1.2.1。每处理测试雌、雄成虫各60头,重复3次。

## 1.3 数据分析

采用SPSS17.0软件进行数据统计分析,采用 $\chi^2$ (卡方)测验法对数据进行差异显著性检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 华北大黑鳃金龟聚集行为的室内测定结果

华北大黑鳃金龟雄虫处理对华北大黑鳃金龟雌

虫和雄虫的引诱虫数分别为133头和130头,与对照(引诱虫数分别为41头和47头)差异极显著( $P<0.01$ )。华北大黑鳃金龟雌虫处理只对雄虫有引诱效果,引诱虫数为137头,与对照(引诱虫数为40头)

差异极显著( $P<0.01$ )。华北大黑鳃金龟雌、雄混合处理对雌虫有引诱效果,引诱虫数为140头,与对照(引诱虫数为38头)差异极显著( $P<0.01$ ),但对雄虫无明显引诱作用(图1)。

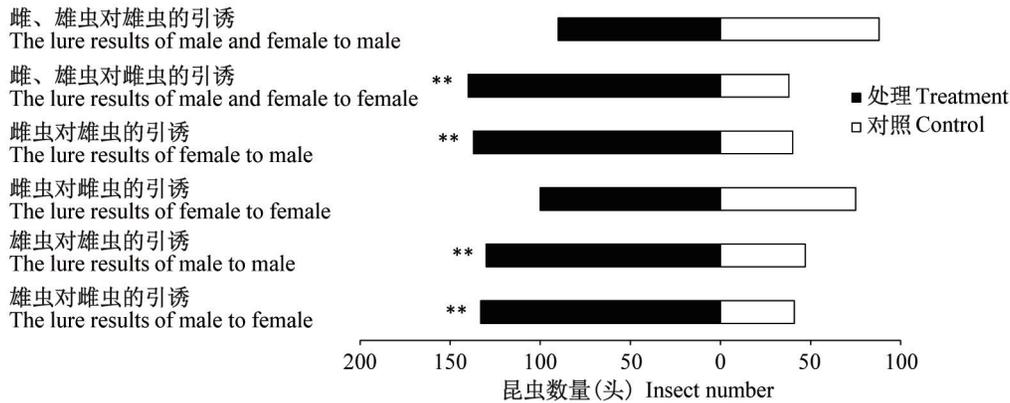


图1 华北大黑鳃金龟成虫不同处理对雌、雄虫的引诱效果

Fig. 1 The lure results of *Holotrichia oblitata* with different treatments to female and male *H. oblitata*

\*\*表示处理与对照之间经卡方测验法检验在 $P<0.01$ 水平差异显著。 \*\* indicates significant difference at the  $P<0.01$  level by  $\chi^2$  test between the treatment and the control.

## 2.2 华北大黑鳃金龟后肠粗提物的引诱效果

华北大黑鳃金龟雄虫后肠粗提物对雌虫、雄虫引诱虫数分别为116头和112头,引诱效果分别与对照(62头和64头)差异极显著( $P<0.01$ )。而华北大黑鳃金龟雌虫后肠粗提物对雄虫的引诱虫数为104头,显著高于对照的75头( $P<0.05$ );但华北大黑鳃金龟

雌虫后肠粗提物对雌虫的引诱效果不明显且与对照差异不显著(图2)。此结果与聚集行为的室内试验结果相吻合。

## 2.3 雄虫后肠粗提物主要活性成分的鉴定结果

初步鉴定华北大黑鳃金龟雄虫后肠粗提物中的主要化合物为顺-9-十八烯醛和乙酸顺-9-十八烯酯(图3)。

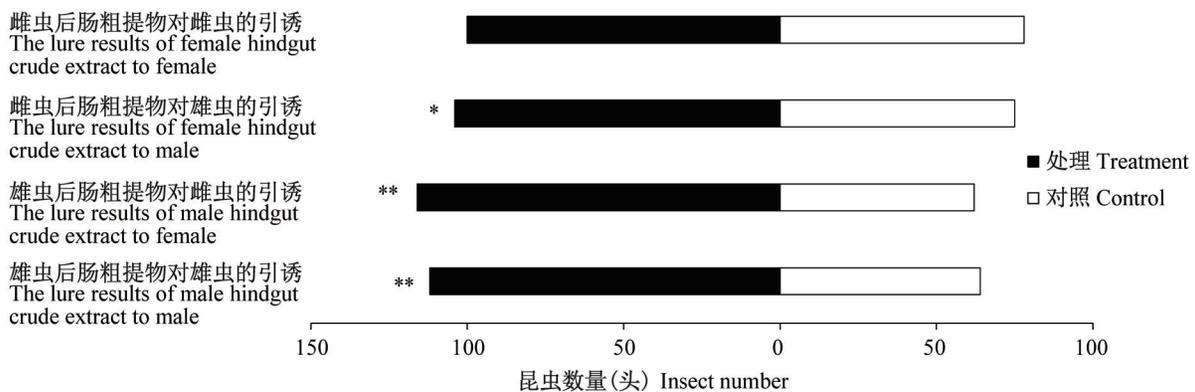


图2 华北大黑鳃金龟雌、雄虫后肠粗提物对其成虫的引诱效果

Fig. 2 The lure results of the hindgut extracts of female and male *Holotrichia oblitata* to the adults

\*和\*\*分别表示处理与对照之间经卡方测验法检验在 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 水平差异显著。 \* or \*\* indicates significant difference at the  $P<0.05$  or  $P<0.01$  level by  $\chi^2$  test between the treatment and the control, respectively.

## 2.4 试虫对2种后肠粗提物趋性行为测定结果

### 2.4.1 对不同浓度顺-9-十八烯醛的趋性反应

当顺-9-十八烯醛浓度为100  $\mu\text{g/mL}$ 时,对华北大黑鳃金龟雌虫引诱虫数为119头,极显著高于对照( $P<0.01$ );当顺-9-十八烯醛浓度为200  $\mu\text{g/mL}$ 时,

对华北大黑鳃金龟雌虫引诱虫数为101头,显著高于对照( $P<0.05$ );当顺-9-十八烯醛浓度为25、50、400  $\mu\text{g/mL}$ 时,各处理与对照差异不显著(图4-A)。

当顺-9-十八烯醛浓度为100  $\mu\text{g/mL}$ 时,对华北大黑鳃金龟雄虫引诱虫数为102头,显著高于对照

( $P<0.05$ );当顺-9-十八烯醛浓度为200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,对华北大黑鳃金龟雄虫引诱虫数为107头,显著高于对

照( $P<0.05$ );当顺-9-十八烯醛浓度为50、400、800  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,各处理与对照差异不显著(图4-B)。

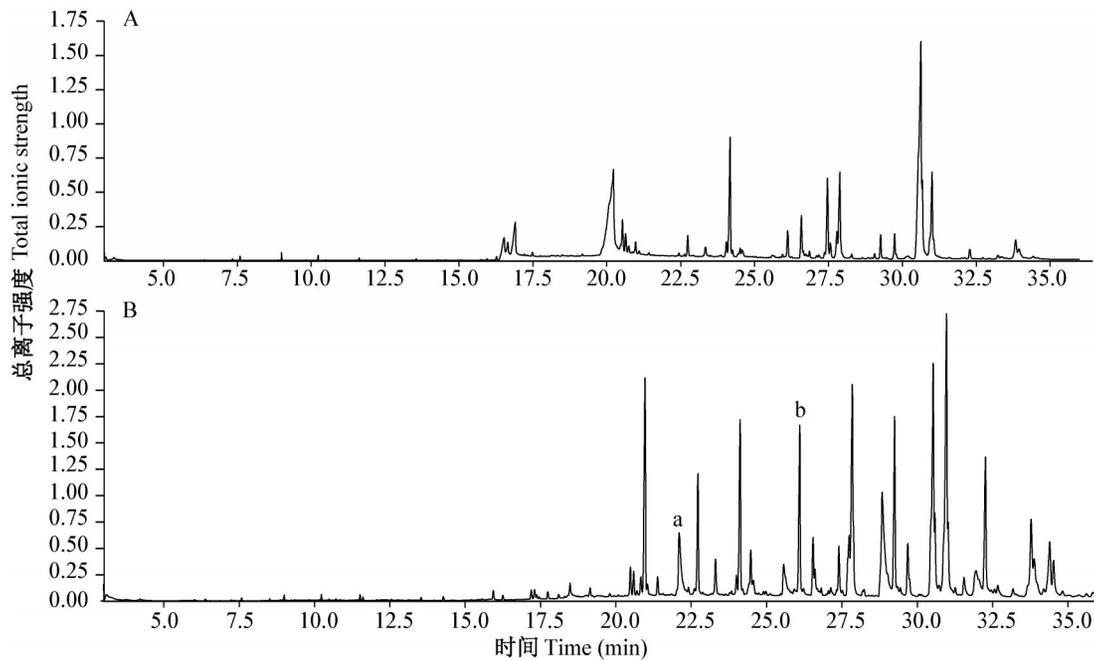


图3 华北大黑鳃金龟雌虫(A)和雄虫(B)后肠粗提物成分的离子图

Fig. 3 The ion chromatogram of hindgut components of female (A) and male (B) *Holotrichia oblitata*

a: 顺-9-十八烯醛; b: 乙酸顺-9-十八烯酯。a: Z-9-octadecanoic aldehyde; b: Z-9-octadecene acetate.

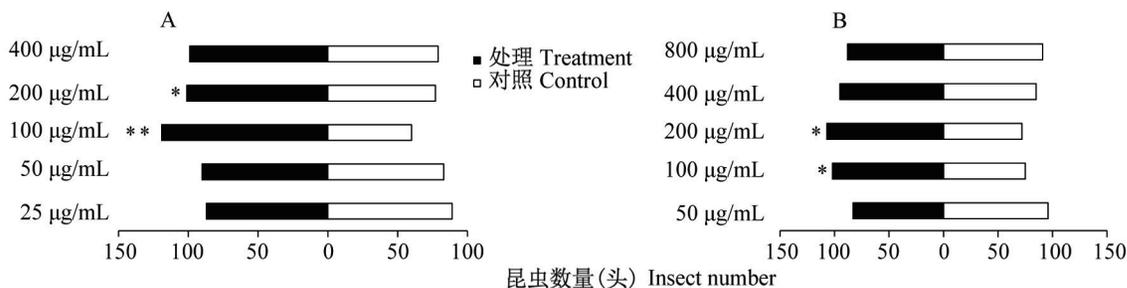


图4 华北大黑鳃金龟雌虫(A)和雄虫(B)对不同浓度的顺-9-十八烯醛的趋性反应

Fig. 4 Behavioral responses of female (A) and male (B) *Holotrichia oblitata* to different concentrations of Z-9-octadecanoic aldehyde

\*和\*\*分别表示处理与对照之间经卡方测验法检验在 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 水平差异显著。\* or \*\* indicates significant difference at the  $P<0.05$  or  $P<0.01$  level by  $\chi^2$  test between the treatment and the control, respectively.

#### 2.4.2 对不同浓度乙酸顺-9-十八烯酯的趋性反应

当乙酸顺-9-十八烯酯浓度为100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,对华北大黑鳃金龟雌虫引诱虫数为102头,显著高于对照( $P<0.05$ );当乙酸顺-9-十八烯酯浓度为50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,对华北大黑鳃金龟雌虫引诱虫数为104头,显著高于对照( $P<0.05$ );而乙酸顺-9-十八烯酯浓度为12.5、25和200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,各处理与对照差异不显著(图5-A)。

当乙酸顺-9-十八烯酯浓度为100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,对华北大黑鳃金龟雄虫引诱虫数为102头,显著高于对照( $P<0.05$ );当乙酸顺-9-十八烯酯浓度为50  $\mu\text{g}/\text{mL}$

时,对华北大黑鳃金龟雄虫引诱虫数为106头,显著高于对照( $P<0.05$ );当乙酸顺-9-十八烯酯浓度为12.5、25和200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,各处理与对照差异不显著(图5-B)。

#### 2.5 后肠粗提物与榆树挥发物混合的趋性反应

当华北大黑鳃金龟雄虫后肠粗提物顺-9-十八烯醛与榆树挥发物2-乙基-1-己醇混合比例为3:1时,对华北大黑鳃金龟雌虫引诱虫数为113头,极显著高于对照( $P<0.01$ ),当混合比例为5:1时,对华北大黑鳃金龟雌虫引诱虫数为104头,显著高于对照( $P<0.05$ ),当混合比例为1:1、7:1和9:1时,各处理

与对照无显著差异(图6-A)。

当华北大黑鳃金龟雌虫后肠粗提物顺-9-十八烯醛与榆树挥发物2-乙基-1-己醇混合比例为3:1时,对华北大黑鳃金龟雌虫引诱虫数为119头,极显

著高于对照( $P<0.01$ ),在混合比例为5:1时,对华北大黑鳃金龟雌虫引诱虫数为101头,显著高于对照( $P<0.05$ );当混合比例为1:1、7:1和9:1时,各处理与对照差异不显著(图6-B)。

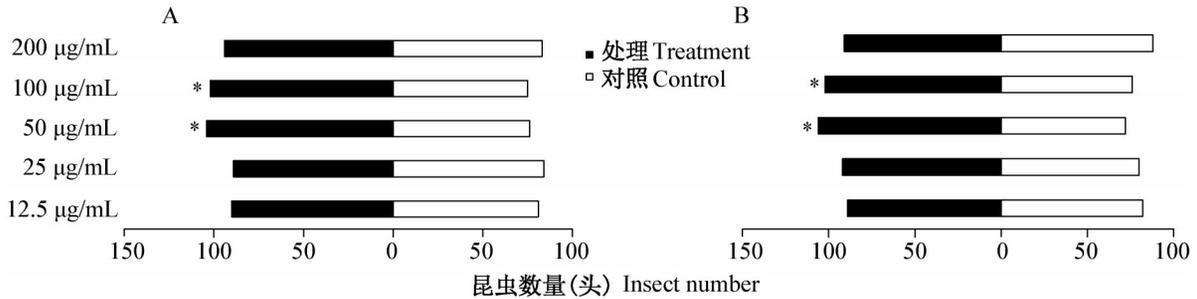


图5 华北大黑鳃金龟雌虫(A)和雄虫(B)对不同浓度的乙酸顺-9-十八烯酯的趋性反应

Fig. 5 Behavioral responses of female (A) and male (B) *Holotrichia oblitata* to different concentrations of Z-9-octadecene acetate

\*表示处理与对照之间经卡方测验法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。\* indicates significant difference at the  $P<0.05$  level by  $\chi^2$  test between the treatment and the control.

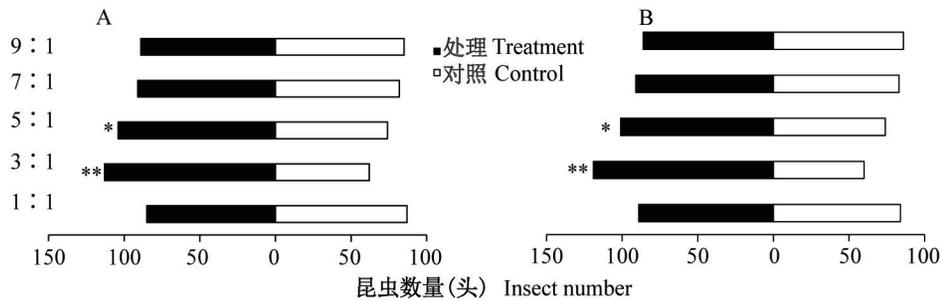


图6 华北大黑鳃金龟雌虫(A)和雄虫(B)对顺-9-十八烯醛与2-乙基己醇不同比例混合物的趋性反应

Fig. 6 Behavioral responses of female (A) and male (B) *Holotrichia oblitata* to different proportions of mixtures of Z-9-octadecanoic aldehyde and 2-ethyl-1-hexanol

\*和\*\*分别表示处理与对照之间经卡方测验法检验在 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 水平差异显著。\* or \*\* indicates significant difference at the  $P<0.05$  or  $P<0.01$  level by  $\chi^2$  test between the treatment and the control, respectively.

当后肠粗提物乙酸顺-9-十八烯酯与榆树挥发物2-乙基-1-己醇混合比例为3:1时,对华北大黑鳃金龟雌虫引诱虫数为102头,显著高于对照(75头, $P<0.05$ );当混合比例为5:1时,混合物对华北大黑鳃金龟雌虫引诱虫数为104头,显著高于对照(70头, $P<0.05$ );当混合比例为1:1、7:1和9:1时,各处理与对照无显著差异(图7-A)。在混合比例为5:1时,对华北大黑鳃金龟雄成虫引诱虫数为112头,极显著高于对照(64头, $P<0.01$ );当混合比例为7:1时,对华北大黑鳃金龟雄成虫引诱虫数为104头,显著高于对照(74头, $P<0.05$ );当混合比例为1:1、3:1和9:1时,各处理与相应对照差异不显著(图7-B)。

### 3 讨论

祝晓云等(2012)报道,花蓟马 *Frankliniella intonsa* 雄虫释放的聚集信息素对其雄性、雌性成虫均

具有明显的吸引作用;在大豆茎象 *Sternechus sub-signatus* 的研究中,也发现雄虫产生的聚集信息素(2E)-2-(3,3-二甲基环己基)-乙醇对雌、雄虫均有吸引性(Ambrogi et al., 2012);但这些研究均是直接提取试虫的挥发物进行的聚集趋性试验,并没有进行活体昆虫聚集行为的验证。本研究是在明确试虫具有聚集行为的基础上进行后肠粗提物的引诱试验,结果表明华北大黑鳃金龟雌虫及其后肠粗提物对雌、雄成虫均具有显著的引诱效果,该结果首次证明了华北大黑鳃金龟成虫具有聚集行为的特性,并通过试虫后肠粗提物的试验进一步证实此特性主要是由雄虫引起的,且对雌、雄成虫均有引诱作用。Beran et al.(2011)和 Lee et al.(2015)研究表明大多数鞘翅目昆虫聚集信息素主要是由雄虫分泌,并且对雌、雄虫都有良好的引诱性(Bartelt et al., 2011)。而关于金龟子类聚集信息素的研究较少,目前只有

5种金龟子的聚集信息素被报道,且主要集中在犀金龟科中,即非洲蛀犀金龟甲 *Oryctes monoceros* (Gries et al., 1994)、雅蛀犀金龟甲 *O. elegans* (Rochat et al., 2004)、椰蛀犀金龟甲 *O. rhinoceros* (Hallett et al., 1995)、美柄犀金龟甲 *Scapanes australis*

(Rochat et al., 2002)和椰独疣犀金龟甲 *Strategus aloeus* (Rochat et al., 2000),其均由雄性成虫释放聚集信息素。本研究在鳃金龟科中又发现了一种金龟子具有聚集行为特性并鉴定出信息素的成分,与已有研究结果一致,从而丰富了金龟子聚集信息素的种类。

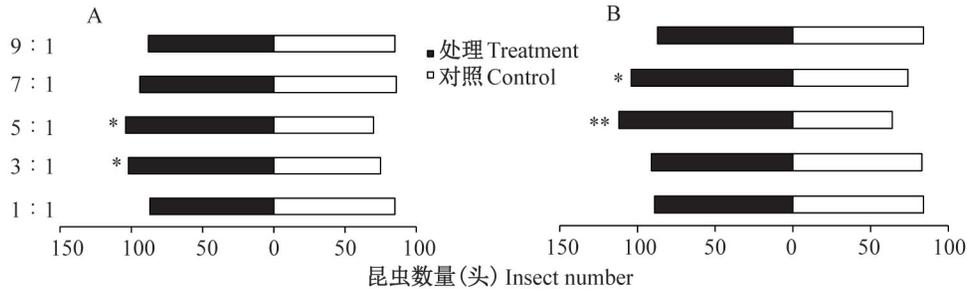


图7 华北大黑鳃金龟雌虫(A)和雄虫(B)对乙酸顺-9-十八烯酯与2-乙基-1-己醇不同比例混合物的趋性行为

Fig. 7 Behavioral responses of female (A) and male (B) *Holotrichia oblita* to different proportions of mixtures of Z-9-octadecene acetate and 2-ethyl-1-hexanol

\*和\*\*分别表示处理与对照之间经卡方测验法检验在 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 水平差异显著。\* or \*\* indicates significant difference at the  $P<0.05$  or  $P<0.01$  level by  $\chi^2$  test between the treatment and the control, respectively.

随着气相色谱-质谱联用(GC-MS)、气相色谱-触角电位联用(gas chromatography-electroantennogram detectio, GC-EAD)等高效微量分析仪器的应用和分离提取技术的发展,昆虫信息素化学结构鉴定所需的昆虫已从数十万头减少到几百头、几十头甚至几头,而且缩短了研究周期,提高了工作效率(鲁继红,2008)。本研究采用GC-MS的鉴定方法,将30个后肠作为1个样品进行分析,在雄虫后肠粗提物中鉴定出顺-9-十八烯醛和乙酸顺-9-十八烯酯2种化合物。进一步证明此方法可对提取物直接进行定性,同时可通过计算机质谱库检索组分结构,无需标准品,但此方法不能判断活性组分,还需要进行活性试验。

对顺-9-十八烯醛和乙酸顺-9-十八烯酯2种化合物的进一步试验结果显示,在一定浓度下,2种化合物对雌、雄成虫均能产生显著的引诱效果。由此说明,顺-9-十八烯醛和乙酸顺-9-十八烯酯可能是华北大黑鳃金龟聚集信息素的主要成分,并且可以同时吸引雌、雄成虫。但是2种化合物在过低浓度或者过高浓度时试虫的趋向性较低,甚至产生驱避现象。本试验结果与闫争亮等(2004)的研究结果相似,红脂大小蠹 *Dendroctonus valens* LeConte后肠挥发物马鞭草烯酮在较高浓度下对红脂大小蠹具有驱避活性。说明华北大黑鳃金龟可能具有调控聚集素分泌量的能力,以实现个体间充分聚集的信息通信作用。Pajares et al. (2010)报道,樟子松墨天牛 *Monochamus galloprovincialis* (Olivier)雄虫产生一

种聚集性信息素2-十一烷氧基-1-乙醇,该信息素能诱捕到樟子松墨天牛雌虫和雄虫,而且聚集性信息素对植物源信息素有增效作用,联合使用聚集性信息素或植物源信息素比单独使用效果提高80%~140%。Nehme et al. (2009; 2010)报道在雄性信息素中添加芳樟醇、顺-3-己烯-1-醇、氧化芳樟醇和松香芹醇等植物源挥发物能增加对光肩星天牛 *Anoplophora glabripennis* (Motschulsky)的诱捕效果。同样, Dickens (2006)研究表明,马铃薯甲虫 *Leptinotarsa decemlineata* (Say)雄性成虫产生的聚集性信息素与3种植物源信息素联合使用比植物源信息素单独使用增效显著。本研究通过顺-9-十八烯醛和乙酸顺-9-十八烯酯分别与榆树植物挥发物——2-乙基-1-己醇不同混合比例的试验结果也表明,混合物引诱试虫的数量比单一化合物引诱试虫的数量多。由此可见,华北大黑鳃金龟后肠的聚集信息素组分与榆树挥发物混合后可产生显著的引诱加成作用。

随着人类对环境越来越重视,许多国家对化学农药使用的限制也越来越严格(郑卫青等,2014)。昆虫在寻找寄主时往往是通过多种化合物的共同作用来实现的(路荣春等,2008),来自昆虫自身、其寄主或存在于环境中的物质,经常会以混合方式起作用,并可提高种的特异性(范丽华等,2015)。本试验只是初步确定华北大黑鳃金龟的聚集信息素或是其主要成分为顺-9-十八烯醛和乙酸顺-9-十八烯酯2种化合物,虽然单一化合物以及与寄主植物挥发物混合有显著的引诱效果,但这仅是室内试验,尚需

要田间试验来进一步验证。另外,华北大黑鳃金龟的寄主植物种类很多,而本试验也只是与榆树含量最高的一种挥发物进行混配,在实际应用中单一化合物浓度的确定以及与哪些种类的植物挥发物联合使用可显著提高华北大黑鳃金龟聚集信息素的引诱效果尚不清楚,还需开展深入的系统研究。

### 参 考 文 献 (References)

- Ambrogi BG, Cortés AMP, Zarbin PHG. 2012. Identification of male-produced aggregation pheromone of the curculionid beetle *Sternenechus subsignatus*. *Journal of Chemical Ecology*, 38(3): 272–277
- Bartelt RJ, Zilkowski BW, Cossé AA, Schnupf U, Vermillion K, Momany FA. 2011. Male-specific sesquiterpenes from *Phyllotreta* flea beetles. *Journal of Natural Products*, 74(4): 585–595
- Beran F, Mewis I, Srinivasan R, Svoboda J, Vial C, Mosimann H, Bolland W, Büttner C, Ulrichs C, Hansson BS, et al. 2011. Male *Phyllotreta striolata* (F.) produce an aggregation pheromone: identification of male-specific compounds and interaction with host plant volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, 37(1): 85–97
- Blomquist GJ, Figueroa-Teran R, Mory Aw, Song MM, Gorzalski A, Abbott NL, Chang E, Tittiger C. 2010. Pheromone production in bark beetles. *Insect Biochemical Molecular Biology*, 40(10): 699–712
- Deng SS, Yin J, Cao YZ, Luo ZX, Wang W, Li KB. 2011. Electroantennographic and behavioral responses of *Holotrichia oblita* to plant volatiles. *Plant Protection*, 37(5): 62–66 (in Chinese) [邓思思, 尹姣, 曹雅忠, 罗宗秀, 王伟, 李克斌. 2011. 华北大黑鳃金龟对20种植物源挥发物的电生理和行为反应. *植物保护*, 37(5): 62–66]
- Dickens JC. 2006. Plant volatiles moderate response to aggregation pheromone in Colorado potato beetle. *Journal of Applied Entomology*, 130(1): 26–31
- Fan LH, Niu HL, Zhang JT, Liu JL, Yang MH, Zong SX. 2015. Extraction and identification of aggregation pheromone components of *Scolytus schevyrewi* Semenov (Coleoptera: Scolytidae) and trapping test. *Acta Ecologica Sinica*, 35(3): 892–899 (in Chinese) [范丽华, 牛辉林, 张金桐, 刘金龙, 杨美红, 宗世祥. 2015. 脐腹小蠹聚集信息素的提取鉴定和引诱效果. *生态学报*, 35(3): 892–899]
- Gries G, Gries R, Perez AL, Oehlschlager AC, Gonzales LM, Pierce HD Jr., Zebeyou M, Kouame B. 1994. Aggregation pheromone of the African rhinoceros beetle, *Oryctes monoceros* (Oliver) (Coleoptera: Scarabaeidae). *Zeitschrift für Naturforschung C*, 49(5/6): 363–366
- Hallett RH, Perez AL, Gries G, Gries R, Pierce HD Jr., Yue J, Oehlschlager AC, Gonzalez LM, Borden JH. 1995. Aggregation pheromone of coconut rhinoceros beetle, *Oryctes rhinoceros* (L.) (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Chemical Ecology*, 21(10): 1549–1570
- Honda T, Kainoh Y, Honda H. 1999. The persistence of a learned response in the egg-larval parasitoid *Ascogaster reticulatus* Watanabe (Hymenoptera: Braconidae). *Entomological Science*, 2(3): 335–340
- Hu QB, Ren SX, Huang Z. 2004. Research progress on biological control of grubs. *Contemporary entomological studies: Proceedings of the 60th Anniversary Memorial Conference and Academic Symposium of the Entomological Society of China*, 6: 477–482 (in Chinese) [胡琼波, 任顺祥, 黄振. 2004. 蛴螬生物防治研究进展. *当代昆虫学研究——中国昆虫学会成立60周年纪念大会暨学术讨论会论文集*, 6: 477–482]
- Jiang Y, Lei CL, Zhang ZN. 2002. The aggregation pheromones of insects. *Acta Entomologica Sinica*, 45(6): 822–832 (in Chinese) [姜勇, 雷朝亮, 张钟宁. 2002. 昆虫聚集信息素. *昆虫学报*, 45(6): 822–832]
- Ju Q, Guo XQ, Li X, Jiang XJ, Jiang XG, Ni WL, Qu MJ. 2017. Plant volatiles increase sex pheromone attraction of *Holotrichia parallela* (Coleoptera: Scarabaeoidea). *Journal of Chemical Ecology*, 43(3): 236–242
- Lee SM, Hong DK, Park J, Lee J, Jang SH, Lee CW. 2015. Field bioassay for longhorn pine sawyer beetle *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae) in Korea based on aggregation pheromone 2-(undecyloxy) ethanol. *Journal of Life Science*, 25(12): 1445–1449
- Li X, Ma YH, Li JY, Rizwangu Abdukerim, Wang CQ, Cao YZ, Yin J, Zhang S, Lan JQ, Li KB. 2017. Development and research on aggregation pheromone of Coleoptera. //Chen WQ. Sustainable development of green ecology and plant protection: Academic Annual Conference of Botanical China Society of Plant Protection in 2017. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, pp. 194–206 (in Chinese) [李雪, 马艳华, 李建一, 热孜宛古丽·阿卜杜克热木, 王超群, 曹雅忠, 尹姣, 张师, 兰建强, 李克斌. 2017. 鞘翅目昆虫聚集信息素研究与应用现状. //陈万权. 绿色生态可持续发展与植物保护——中国植物保护学会2017年学术年会论文集. 北京: 中国农业科学技术出版社, pp. 194–206]
- Liu DD. 2016. Study on octopamine analysis and function in *Holotrichia parallela*. Master Thesis. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences (in Chinese) [刘丹丹. 2016. 暗黑鳃金龟体内章鱼胺的时空分析及功能研究. 硕士学位论文. 北京: 中国农业科学院]
- Lu JH. 2008. Extraction and identification of semiochemicals about *Holotria diomphalia* Bates. Master Thesis. Harbin: Northeast Forestry University (in Chinese) [鲁继红. 2008. 东北大黑鳃金龟信息物质的提取与鉴定. 硕士学位论文. 哈尔滨: 东北林业大学]
- Lu RC, Wang HB, Zhang Z, Jin YJ. 2008. Research advances on using *Pinus yunnanensis* volatiles to monitor and control *Tomicus yunnanensis* (Coleoptera: Scolytidae). *Journal of Northwest Forestry University*, 23(2): 124–128 (in Chinese) [路荣春, 王鸿斌, 张真, 金幼菊. 2008. 利用云南松挥发性化学物质监测和防治云南纵坑切梢小蠹的研究进展. *西北林学院学报*, 23(2): 124–128]
- Nehme ME, Keena MA, Zhang A, Baker TC, Hoover K. 2009. Attraction

- tion of *Anoplophora glabripennis* to male-produced pheromone and plant volatiles. *Environmental Entomology*, 38(6): 1745–1755
- Nehme ME, Keena MA, Zhang A, Baker TC, Xu Z, Hoover K. 2010. Evaluating the use of male-produced pheromone components and plant volatiles in two trap designs to monitor *Anoplophora glabripennis*. *Environmental Entomology*, 39(1): 169–176
- Pajares JA, Álvarez G, Ibeas F, Gallego D, Hall DR, Farman DI. 2010. Identification and field activity of a male-produced aggregation pheromone in the pine sawyer beetle, *Monochamus galloprovincialis*. *Journal of Chemical Ecology*, 36(6): 570–583
- Rochat D, Mohammadpour K, Malosse C, Avand-Faghih A, Lettere M, Beauhaire J, Morin JP, Pezier A, Renou M, Abdollahi GA. 2004. Male aggregation pheromone of date palm fruit stalk borer *Oryctes elegans*. *Journal of Chemical Ecology*, 30(2): 387–407
- Rochat D, Morin JP, Kakul T, Beaudoin-Ollivier L, Prior R, Renou M, Malosse I, Stathers T, Embupa S, Laup S. 2002. Activity of male pheromone of the Melanesian rhinoceros beetle *Scapanes australis*. *Journal of Chemical Ecology*, 28(3): 479–500
- Rochat D, Ramirez-Lucas P, Malosse C, Aldana R, Kakul T, Morin JP. 2000. Role of solid-phase microextraction in the identification of highly volatile pheromones of two rhinoceros beetles *Scapanes australis* and *Strategus aloeus* (Coleoptera: Scarabaeidae: Dynastinae). *Journal of Chromatography A*, 885(1/2): 433–444
- Wang GL, Sun F. 2005. Semiochemicals in phytophagous scarab beetles. *Acta Entomologica Sinica*, 48(5): 785–791 (in Chinese) [王广利, 孙凡. 2005. 植食性金龟子信息化学物质的研究. *昆虫学报*, 48(5): 785–791]
- Wang H, Zhang X, Mi HB. 2002. Isolation and identification of aggregation pheromone of *Holotrichia obliqua* Fald. *Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition)*, 30(2): 91–95 (in Chinese) [王惠, 张兴, 米宏彬. 2002. 华北大黑鳃金龟性信息素组分的分离与鉴定. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 30(2): 91–95]
- Wang Y, Qiu LZ. 2011. The application and prospect of insect pheromones. *Fujian Agricultural Science and Technology*, (2): 48–50 (in Chinese) [王郁, 邱乐忠. 2011. 昆虫信息素的应用及前景. *福建农业科技*, (2): 48–50]
- Wang ZB, Chen YQ, Wang FY, Wang HH, Xu HZ, Li XP, Song LW. 2013. Research on the application technology of aggregation pheromone of *Ips typographus* L. *Journal of Jilin Forestry Science and Technology*, 42(3): 24–26 (in Chinese) [王泽斌, 陈越渠, 王福有, 王恒海, 徐华哲, 李兴鹏, 宋丽文. 2013. 云杉八齿小蠹聚集信息素应用技术研究. *吉林林业科学*, 42(3): 24–26]
- Wei HJ, Zhang ZL, Wang YC. 1989. *China soil pests*. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers (in Chinese) [魏鸿钧, 张治良, 王荫长. 1989. 中国地下害虫. 上海: 上海科学技术出版社]
- Yan ZL, Fang YL, Sun JH, Zhang ZN. 2004. Identification and electroantennal olfactory and behavioral tests of hindgut-produced volatiles of red turpentine beetle, *Dendroctonus valens* LeConte (Coleoptera: Scolytidae). *Acta Entomologica Sinica*, 47(6): 695–700 (in Chinese) [闫争亮, 方宇凌, 孙江华, 张钟宁. 2004. 红脂大小蠹后肠挥发性物质的鉴定、触角电位和室内趋向实验. *昆虫学报*, 47(6): 695–700]
- Yao QX, Zhang Y, Ding Y. 2003. Review on the advance and prospect of scarabs control research. *Journal of Northeast Forestry University*, 31(3): 64–66 (in Chinese) [姚庆学, 张勇, 丁岩. 2003. 金龟子防治研究的回顾与展望. *东北林业大学学报*, 31(3): 64–66]
- Ze SZ, Yan ZL, Zhang Z, Ma HF. 2010. Identification and bioassay of aggregation pheromone components of *Pissodes punctatus* (Coleoptera: Curculionidae). *Acta Entomologica Sinica*, 35(3): 293–297 (in Chinese) [泽桑梓, 闫争亮, 张真, 马惠芬. 2010. 华山松木蠹象聚集信息素分离鉴定和引诱效果. *2010. 昆虫学报*, 35(3): 293–297]
- Zhang HP, Fei RL, Li KB, Xiao C. 2014. Purification and identification of volatiles compounds from *Ulums pumila*. *Journal of Hubei University (Natural Science)*, 36(5): 426–428 (in Chinese) [张化平, 费仁雷, 李克斌, 肖春. 2014. 榆树挥发物的提取及鉴定. *湖北大学学报(自然科学版)*, 36(5): 426–428]
- Zhang MC, Yin J, Li KB, Cao YZ, Wu JX. 2014. Research progress on occurrences of white grub and its control. *China Plant Protection*, 34(10): 20–28 (in Chinese) [张美翠, 尹姣, 李克斌, 曹雅忠, 仵均祥. 2014. 地下害虫蛴螬的发生与防治研究进展. *中国植保导刊*, 34(10): 20–28]
- Zhao BG, Zhang SS. 1993. Introduction to foreign researches on insect aggregation pheromones. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 17(1): 84–90 (in Chinese) [赵博光, 张松山. 1993. 国外昆虫聚集信息素研究概况. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 17(1): 84–90]
- Zheng WQ, Chen HY, Liu XQ, Ma HM, Han ZJ, Jiang ZK. 2014. A brief review of the researching situation and application of insect pheromones. *Chinese Journal of Hygienic Insecticides & Equipments*, 20(6): 591–594 (in Chinese) [郑卫青, 陈海婴, 柳小青, 马红梅, 韩招久, 姜志宽. 2014. 昆虫信息素研究与应用概况. *中华卫生杀虫药械*, 20(6): 591–594]
- Zhou HX, Li LL, Yu Y. 2011. Scale control over *Grapholitha molesta* with mating disruption of sex pheromone. *Journal of Plant Protection*, 38(5): 385–389 (in Chinese) [周洪旭, 李丽莉, 于毅. 2011. 信息素迷向法规规模化防治梨小食心虫. *植物保护学报*, 38(5): 385–389]
- Zhu XY, Zhang PJ, Lü YB. 2012. Isolation and identification of the aggregation pheromone released by male adults of *Frankliniella intonsa* (Thysanoptera: Thripidae). *Acta Entomologica Sinica*, 55(4): 376–385 (in Chinese) [祝晓云, 张蓬军, 吕要斌. 2012. 花蓟马雄虫释放的聚集信息素的分离和鉴定. *昆虫学报*, 55(4): 376–385]

(责任编辑:张俊芳)