西花蓟马表皮碳氢化合物成份分析*

赵成银[1,2] 何余容[2] 钟 锋[1,2] 高 燕[1] 齐国君[1] 邵晓迎[1] 吕利华[1]**

(1. 广东省农科院植物保护研究所 广州 510640; 2. 华南农业大学昆虫学系 广州 510642)

摘 要 西花蓟马 *Frankliniella occidentalis*(Pergande)是一种重要的世界性害虫。为了明确西花蓟马表皮碳氢化合物的主要成分,本文采用改进的进样技术,利用气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)对西花蓟马成虫和若虫表皮碳氢化合物进行分析。经 NIST 数据库检索,并与标准图谱比较,应用色谱峰面积归一法测定各种成分及其相对含量,实验结果表明,西花蓟马成虫和若虫表皮中的主要成分为 C_{25} ~ C_{29}的直链和支链饱和烷烃;成虫表皮中含有 9 种碳氢化合物,若虫表皮中有 8 种碳氢化合物;9-甲基二十五烷是其成虫特有的,其它 8 种碳氢化合物是成虫与若虫共有的,但其含量略有差异。

关键词 西花蓟马,表皮碳氢化合物,GC-MS,分析

Analysis of cuticular hydrocarbons of *Frankliniella occidentalis*

ZHAO Cheng-Yin[1,2] HE Yu-Rong[2] ZHONG Feng[1,2] GAO Yan[1]
QI Guo-Jun[1] SHAO Xiao-Ying[1] LV Li-Hua[1]**

(1. Plant Protection Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China;
2. Department of Entomology, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract The western flower thrip (WFT) *Frankliniella occidentalis* (Pergande) is a serious pest responsible for causing substantial economic losses in a broad range of crops worldwide. The cuticular hydrocarbons from the cuticle of WFT were analyzed by gas charomatography and mass spectrometry (GC-MS) without solvent. The composition of the cuticular hydrocarbons was then determined by the area normalizing method. Searching the NIST database and comparison with standard mass spectra identified nine constituents in the cuticular hydrocarbons of adults, and eight in those of nymphs. With the exception of 9-methylpentacosane, which was detected only in adults, the same hydrocarbon patterns were found in both adults and nymphs. The principal components of WFT cuticular hydrocarbons were straight and branched-chain saturated hydrocarbons ranging from C_{25} to C_{29}.

Key words *Frankliniella occidentalis*, cuticular hydrocarbons, GC-MS, analysis

西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* (Pergande)属于缨翅目(Thysanoptera)、蓟马科(Thripidae)、花蓟马属(*Frankliniella*),是世界性的农业害虫及重要的检疫对象,20 世纪七八十年代在世界范围内迅速传播扩散,给许多国家造成了严重的经济损失(Brodsgaard,1993)。

2003 年以来,西花蓟马已在北京、云南、山东、浙江、贵州等地相继被发现并在田间成功定殖,已成为我国重要的外来入侵有害生物之一,对蔬菜及花卉生产造成巨大的经济损失。(张友军等,2003;徐家菊和韦丽莉,2005;郑长英等,2007;吴青君等,2007;袁成明等,2008)。西花蓟马在中国的最适及潜在分布区在 16.53° N ~ 30.77° N,97.85° E ~ 121.9° E,利用气候相似距原理和 ArcGIS 对西花蓟马在广东省的适生性分析表明西花蓟马在广东省有广泛的适宜分布区(戴霖等,2004;陈洪俊等,2007;齐国君等,2011)。Nuessly 和 Nagata (1995)报道 1993 年西花蓟马和棕榈蓟马在佛罗里达造成的损失就超过了 1 000 万美元。在芬兰,政府曾在 1987 至 1990 年花费近 40 万美

* 资助项目:公益性行业(农业)科研专项(200803025)、广东省科技计划项目(2010B050300014)。

**通讯作者,E-mail: lhlu@gdppri.com

收稿日期:2011-3-18,接受日期:2011-04-21

元用于根除蔬菜和花卉上的西花蓟马(Lewis,1997)。据报道英国温室黄瓜每年直接损失达每公顷 75 000 美元(Lewis,1997)。在中国,西花蓟马在温室大棚辣椒上造成巨大损失,每朵花上都可以发现有数百头的成虫,叶子、叶柄、茎和果实上遍布虫疤(吴青君等,2005)。该虫食性极杂,寄主包括园林花卉、蔬菜和农作物等 60 科 500 多种植物(路虹等,2005)。西花蓟马除直接危害寄主植物外,还传播多种植物病毒病,包括严重侵染多种重要蔬菜作物的番茄斑点萎蔫病毒(TSWV)和凤仙斑点坏死病毒 (INSV),这种间接为害常造成农作物的严重减产(Cho *et al.*,1989;Law *et al.*,1990; Deangelis *et al.*, 1994; EPPO and CABI,1997;陈月颖,2005)。

西花蓟马虫体微小,分类鉴定主要通过成虫形态为主,鉴定难度大,技术含量高,而且若虫形态鉴定仍是目前其种类鉴定的技术难点之一。利用昆虫表皮碳氢化合物鉴别种类相对于鉴定设备要求高,检测成本昂贵,且在检疫及防控监测中受到限制的分子生物学技术具有较强的实用性、可操作性。昆虫表皮碳氢化合物是昆虫表皮蜡质层中的主要成分,存在于昆虫上表皮中的碳原子数为 20 ~ 50 的直链或支链、饱和及不饱和的长链烃类(Blomquist and Dillwith,1985; Lockey,1988)。昆虫表皮碳氢化合物主要由昆虫自身合成的,由基因决定的,可以作为一类有效的分类特征,其组成具有一定的物种特异性和地理种群特异性,可以用于近缘种及种下类群的研究(Lockey,1988;高明媛,2001;杜国兴,2006)。波兰学者 Golebiowski 等(2007)研究了西花蓟马成虫与若虫表皮脂质中碳氢化合物与虫生真菌的关系,国内对西花蓟马的表皮碳氢化合物的研究尚未见报道。本文对西花蓟马表皮碳氢化合物 GC-MS 特征谱进行了研究,为西花蓟马的种类快速鉴别及其检疫监测提供新的技术手段。

1　材料与方法

1.1　供试虫源

供试西花蓟马均由中国农业科学院蔬菜与花卉研究所提供,在(25 ± 1)℃,65 % ± 5% RH 下,用芸豆饲养,试虫饥饿 24 h,备用。

1.2　仪器与试剂

仪器:气相色谱与质谱联用仪(安捷伦-6890N);自制改进的进样针(针管外径 0.7 mm、针管壁厚 0.15 mm、针管长度 80 mm、衬心直径 0.35 mm)等。

试剂 :95 % 酒精(南京化学试剂有限公司),正己烷(国药集团化学试剂有限公司),二氯甲烷(天津市博迪化工有限公司)

1.3　仪器分析条件

将装有试虫的改进的进样针,置于进样口温度 280℃下,在不分流进样模式下解析 5 min。色谱柱为 HP-5MS 石英毛细柱(0.25 mm × 30 m × 0.25 μm)(美国 Agilent 公司),柱温采用升温程序:起始温度为 80℃保留 1 min,以 5℃/min 升至 200℃,保留 2 min,在以 10℃/min 升至 280℃,保留 10 min。载气采用高纯度氮气,柱压为 9.32 psi。

1.4　样品制备方法

试验时,置西花蓟马多头成虫与若虫于冰箱冷冻 0.5 h 备用,取 1 头成虫或 1 头若虫置于改进的进样针中备用。

1.5　数据分析

1.5.1　定性分析　将由气相色谱分离得到的各组份通过质谱仪进行鉴定,组份鉴定主要根据各化合物的质谱图所得的碎片峰与分子离子峰信息,首先推断各组份分子量,再按照分子裂分的一般规律及质谱解析程序,做初步分析之后,再与 EPA/NzHMas、spectral Data 标准谱图对照确定每个组分的结构式。

1.5.2 定量分析　应用气相色谱仪分析蓟马表皮碳氢化合物,根据所得每种供试虫体的总离子流色谱图,分别对每一组分峰的面积积分,获得相应的各组分峰的面积(在实验条件恒定时,峰面积或峰高与组分的含量成正比)。根据各组分的峰面积,按比例求出其组分的相对含量,以此作为试虫表皮碳氢化合物混合物中各组分的定量指标。

2　结果与分析

2.1　气相色谱 - 谱联用(GC-MS)分析总离子流图

对西花蓟马成虫及若虫表皮碳氢化合物进行 GC -MS 分析,获得了西花蓟马成虫及若虫表皮碳氢化合物的总离子流色谱图(图 1)。GC-MS 分析

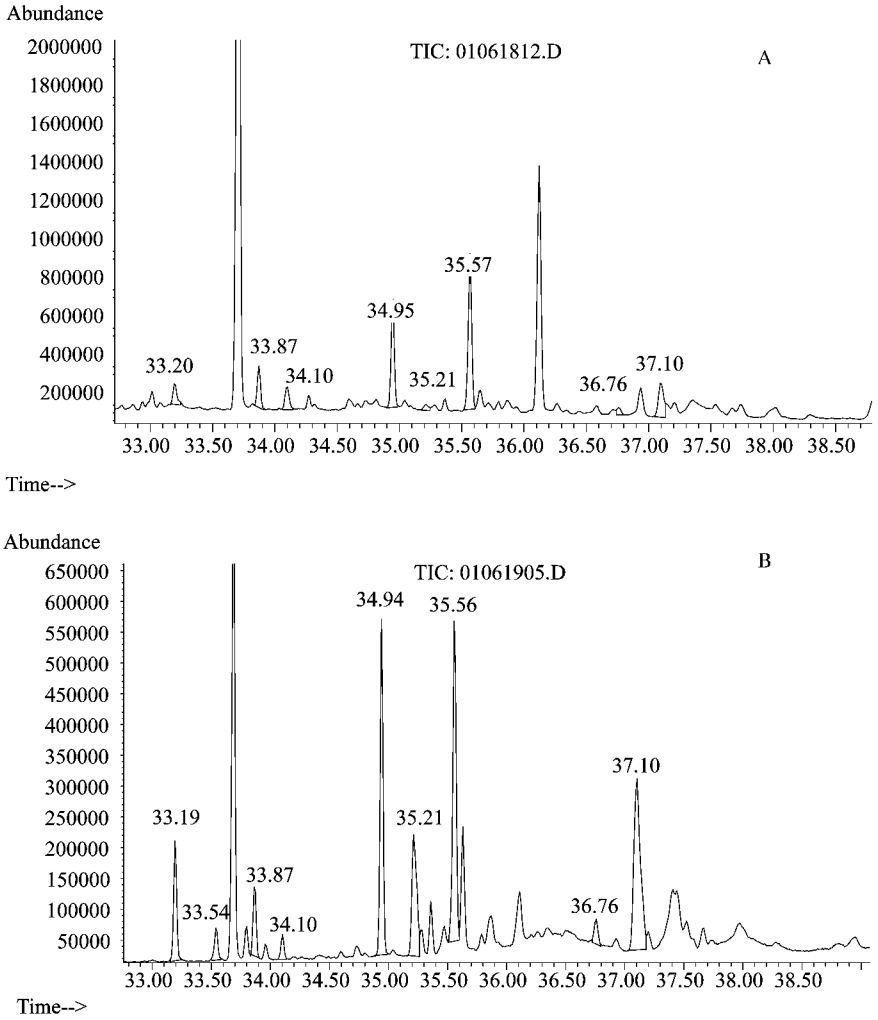


图 1 1 头西花蓟马成虫(A)或若虫(B)表皮碳氢化合物总离子流图

Fig. 1 The total ion chromatogram of an adult(A) or a nymph (B) of *Frankliniella occidentalis*

共检测到 9 种碳氢化合物,其中成虫表皮中检测到 9 种碳氢化合物,若虫表皮中检测到 8 种碳氢化合物。

2.2 西花蓟马表皮碳氢化合物组分及含量分析

经 GC-MS 分析与 NIST 谱库系统检索并与标准图谱比较,获得西花蓟马成虫和若虫表皮碳氢化合物的名称和相对含量(表 1,2)。

西花蓟马成虫表皮有 9 种碳氢化合物(表 1),包括正二十五烷,9 - 甲基二十五烷,3 - 甲基二十五烷,正二十六烷,正二十七烷,9,11,13 - 三甲基二十七烷,3 - 甲基二十七烷,正二十九烷及 11、13、15 - 三甲基二十九烷;其中,11、13、15 - 三甲基二十九烷相对含量最高,为 24.09%,其次为 3 - 甲基二十七烷,相对含量为 23.64%,正二十六烷相对含量最低,为 1.651%。

西花蓟马若虫表皮含有 8 种碳氢化合物(表 2),包括正二十五烷,3 - 甲基二十五烷,正二十六烷,正二十七烷,9,11,13 - 三甲基二十七烷,3 - 甲基二十七烷,正二十九烷及 11、13、15 - 三甲基二十九烷;其中,3 - 甲基二十七烷相对含量最高,为 37.20%,其次为正二十七烷,其相对含量为 24.06%,正二十九烷相对含量最低,为 1.876%。

由此可见,鉴定出的西花蓟马的 9 种碳氢化合物主要是直链和支链的饱和烷烃,其中成虫与若虫具有 8 种共有的碳氢化合物,占全部的 88.89%;在保留时间 33.54 min 的 9 - 甲基二十五烷在西花蓟马成虫相对含量虽只有 2.350%,但其是成虫独有的化合物。

表 1　西花蓟马成虫表皮碳氢化合物

Table 1　The cuticular hydrocarbons of *Frankliniella occidentalisadults*

序号 No	保留时间 Retention time (min)	特征离子 m/z of characteristic ions	碳氢化合物 Hydrocarbon	相对含量 Relative content (%)
1	33.19	M^+ 352	正二十五烷 *n*-Pentadecane	7.785
2	33.54	140/141,252/253	9 - 甲基二十五烷 9 - Methylpentacosane	2.350
3	33.87	$(M-29)^+$ 337	3 - 甲基二十五烷 3 - Methylpentacosane	4.618
4	34.10	M^+ 366	正二十六烷 *n*-Hexacosane	1.651
5	34.95	M^+ 380	正二十七烷 *n*-Heptacosane	20.74
6	35.21	140/141,280/281;168/169,252/253;196/197,224/225	9、11、13 - 三甲基二十七烷 9-,11-and 13-Methylheptacosane	13.09
7	35.56	$(M-29)^+$ 365	3 - 甲基二十七烷 3-Methylheptacosane	23.64
8	36.76	M^+ 408	正二十九烷 *n*-Nonacosane	2.039
9	37.10	168/169,280/281;196/197,252/253;224/225	11、13、15 - 三甲基二十九烷 11-,13-and 15-Methylnonacosane	24.09

表 2　西花蓟马若虫表皮碳氢化合物

Table 2　The cuticular hydrocarbons of *Frankliniella occidentalis* nymphs

序号 No.	保留时间 Retention time (min)	特征离子 m/z of characteristic ions	碳氢化合物 Hydrocarbon	相对含量 Relative content %
1	33.19	M^+ 352	正二十五烷 *n*-Pentadecane	5.349
2	33.87	$(M-29)^+$ 337	3 - 甲基二十五烷 3-Methylpentacosane	9.355
3	34.10	M^+ 366	正二十六烷 *n*-Hexacosane	6.604
4	34.95	M^+ 380	正二十七烷 *n*-Heptacosane	24.06
5	35.21	140/141,280/281;168/169,252/253; 196/197,224/225	9、11、13 - 三甲基二十七烷 9-,11-and 13-methylheptacosane	2.087
6	35.56	$(M-29)^+$ 365	3 - 甲基二十七烷 3-Methylheptacosane	37.20
7	36.76	M^+ 408	正二十九烷 *n*-Nonacosane	1.876
8	37.10	168/169,280/281;196/197,252 / 253; 224/225	11、13、15 - 三甲基二十九烷 11-,13-and 15-methylnonacosane	13.46

3　讨论

早在 1903 年,Fielde 就报道了白蚁用触角辨认同伴可能是化学物质(表皮碳氢化合物或其挥发物)的作用。Moore 于 1969 年首先报道了一种白蚁表皮碳氢化合物主要由 C_{24} ~ C_{43} 烷烃组成,

Blomquist 和 Dillwith (1985), Lockey 和 Metcalfe (1988), Howard 和 Blomquist (2005) 对昆虫表皮碳氢化合物组成进行了研究分析,并发现近缘种之间有明显差异,他们认为这种差异可用于种以及其它分类阶元的识别特征。

本研究通过 GC-MS 分析结果表明,西花蓟马成虫与若虫均含有 8 种相同的碳氢化合物,图谱具有很高的相似性,且西花蓟马若虫表皮中大部分碳氢化合物在成虫表皮中都有存在,即西花蓟马成虫及若虫的表皮碳氢化合物高度一致性,种类和量的相对稳定性可能被用来鉴别西花蓟马及其在形态学难以鉴别的若虫虫态。鉴定出来的这些化合物主要为直链和支链烷烃。波兰学者 Golebiowski 等(2007)利用 GC-MS 分析西花蓟马的有机溶剂浸提液中的碳氢化合物的成分为正二十五烷、9 - 甲基二十五烷、3 - 甲基二十五烷、正二十六烷、正二十七烷、9,11,13 - 三甲基二十七烷、3 - 甲基二十七烷、正二十九烷、11,13,15 - 三甲基二十九烷、正三十一烷,鉴定出来的这些化合物主要为直链和支链烷烃。本文采用改进进样针直接进样技术检测西花蓟马北京种群及西花蓟马荷兰种群碳氢化合物的研究结果与 Golebiowski 等(2007)的研究结果基本吻合,分析得到的碳氢化合物的组分有 9 种一致,但含量存在略微的差异,这种差异的存在可能与所用试虫为北京、波兰 2 个不同的地理种群有关。

本实验对西花蓟马成虫和若虫表皮中的碳氢化合物成分进行了 GC-MS 的定性分析,从中鉴定共得到 9 种碳氢化合物,这些碳氢化合物的定量分析方法及西花蓟马成虫和若虫表皮碳氢化合物存在的差异的原因有待进一步研究。本研究结果对于西花蓟马的快速鉴定及口岸检疫具有重要的作用,将大大提高入侵害虫检疫鉴定的效率及准确性。

致谢:中国科学院动物研究所韦卫高级工程师在 GC-MS 仪器使用、化合物分析及进样器改进等方面给予大力支持及技术指导;中国农业科学院蔬菜花卉研究所吴青君副研究员提供了供试西花蓟马试虫,在此表示衷心感谢。

参考文献(References)

Blomquist GJ, Dillwith JW, 1985. Cuticular lipids//Kerkut GA, Gilbert L (eds.). Comprehensive Insect Physiology Biochemistry and Pharmacology. Oxford: Pergamon Press. 595—645.

Brodsgaard HF, 1993. Cold hardiness and tolerance to submergence in water in *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). *Environmental Entomology*, 22 (3): 647 ~ 653

陈洪俊, 刘海军, 李镇宇, 马晓光, 2007. 西花蓟马在我国的潜在分布区预测. 植物检疫, 21 (3): 160—163

陈月颖, 2005. 西花蓟马发生危害与防治. 植物保护, 183 (5): 20—21.

Cho JJ, Mau RFL, German TL, 1989. A multidisciplinary approach to management of tomato spotted wilt virus in Hawaii. *Plant Disease*, 73 (5): 375—383.

戴霖, 杜予州, 张刘伟, 周福才, 龚伟荣, 鞠瑞亭, 2004. 西花蓟马在中国的适生性分布研究初报. 植物保护, 30 (6): 48—51

Deangelis JD, Sether DM, Rossignol PA, 1994. Transmission of impatiens necrotic spot virus in peppermint by western flower thrips. *J. Econ. Entomol.*, 87: 197—201.

杜国兴, 刘勇, 庄永林, 2006. 浅析表皮碳氢化合物分析技术在白蚁检疫鉴定中的应用. 植物检疫, 20 (1): 58—60.

EPPO, CABI, 1997. 欧洲检疫性有害生物. 北京: 中国农业出版社. 98 —101.

Fielde AM, 1903. Artificial mixed nests of ants. *The Marine Biological Bulletin Laboratory, Woods Hole*, 7: 227—250

高明媛, 2001. 昆虫表皮碳氢化合物在昆虫分类中的应用. 昆虫学报, 44 (1): 119—122.

Golebiowski M, Maliński E, Nawrot J, Szafranek J, Stepnowski P, 2007. Identification of the cuticular lipid composition of the western flower thrips *Frankliniella occidentalis*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 147 (2): 288—292.

Howard RW, Blomquist GJ, 2005. Ecological, behavioral, and biochemical aspects of insect hydrocarbons. *Annu. Rev. Entomol.*, 50 (1): 371—393.

Law MD, Moyer JW, 1990. A tomato spotted wilt-like virus with a serologically distinct N protein. *J. Gen. Virol.*, 71: 933—938.

Lewis T, 1997. Thrips was Crop Pests. Wallingford, UK: CABI. 1—349.

Lockey KH, 1988. Insect cuticular lipids. *Comp. Biochem. Physiol.* (*B*), 89: 595—645.

Lockey KH, Metcalfe NB, 1988. Cuticular comparisons of adult Himatismus species and a comparison with 21 other

species of adult tenebrionid beetle using multivariate analysis. *Comp. Biochem. Physiol.* (*B*), 91: 371—382.

路虹，石宝才，宫亚军，2005. 西花蓟马寄主植物研究初报. 第五届生物多样性保护与利用高新科学技术国际研讨会. 北京. 494—496

Moore BP, 1969. Biochemical studies in termites//Krischna K, Weesnereds FM (eds.). Biology of Termites. New York: Academic Press. 407—432

Nuessly GS, Nagata RT, 1995. Pepper varietals response to thrips feeding//Parker BL, Skinner M, Lewis T (eds.). Thrips Biology and Management. New York: Plenum Press. 15—118.

齐国君，高燕，钟锋，赵成银，吕利华，2011. 基于 GIS 与生物气候相似性的西花蓟马在广东的适生性研究. 环境昆虫学报，33(1): 1—7.

吴青君，徐宝云，张治军，2007. 京、浙、滇地区植物蓟马种类及分布调查. 植物保护导刊，27 (1): 32—34

吴青君，张友军，徐宝云，2005. 入侵害虫西花蓟马的生物学、危害及防治技术. 昆虫知识，42 (1): 11—13.

徐家菊，韦丽莉，2005. 临沧市新发现外来有害生物——西花蓟马. 植物检疫，19(5): 294—295.

袁成明，郅军锐，李景柱，2008. 贵州省蔬菜蓟马种类调查研究. 中国植保导刊，28 (7): 8—11

张友军，吴青君，徐宝云，2003. 危险性外来人侵生物——西花蓟马在北京发生危害. 植物保护，29(4): 58—59.

郑长英，刘云虹，张乃芹，赵希丽，2007. 山东省发现外来入侵有害生物——西花蓟马. 青岛农业大学学报，24 (3): 172—174.