绿盲蝽雄虫体外挥发物研究*

苏建伟** 陈展册 欧阳芳 张广珠 戈 峰***
(中国科学院动物研究所虫害鼠害综合治理国家重点实验室 北京 100101)

摘 要 采用气质联用和嗅觉仪对分部解剖的绿盲蝽 *Apolygus lucorum* (Meyer-Dür)雄虫体外挥发物进行鉴定和生测。结果表明:绿盲蝽雄虫浸提物中的主要组分有 13 种,包括醇类、酸类和酯类。相对含量较高的依次有丁酸己酯、反-2-丁酸己烯酯和己醇。绿盲蝽雄虫从交配不活跃期进入活跃期,其体内的丁酸己酯、反-2-丁酸己烯酯和己醇的含量都明显变化,其中丁酸己酯和反-2-丁酸己烯酯明显增加,而己醇的含量减少,表明绿盲蝽雄虫在交配活跃期,可能有大量的丁酸己酯和反-2-丁酸己烯酯释放到体外。比较绿盲蝽雄虫的不同部位的浸提物的含量,发现丁酸己酯、反-2-丁酸己烯酯和己醇主要存在于虫体胸部。嗅觉反应测试中绿盲蝽雌虫对丁酸己酯和反-2-丁酸己烯酯有明显的趋性,同时含量很少的丁酸庚酯对雌虫有明显引诱作用。因此推测丁酸己酯、反-2-丁酸己烯酯和丁酸庚酯可能是绿盲蝽雄虫释放到体外的挥发性引诱成分,并主要由胸部内的腺体分泌。

关键词 绿盲蝽,浸提物,丁酸己酯,反-2-丁酸己酸,丁酸庚酯

Analysis of compounds extracted from male *Apolygus lucorum*

SU Jian-Wei** CHEN Zhan-Ce OUYANG Fang ZHANG Guang-Zhu GE Feng***
(State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract Semiochemicals extracted from unmated male *Apolygus lucorum* (Meyer-Dür) were analyzed with GC-MS and a Y-type olfactormeter. Thirteen compounds were identified, including esters, alcohols and acids. Among these, hexyl butyrate, (*E*)-2-hexenyl butyrate and hexanol were the most abundant. When males entered the active period, levels of two compounds, hexyl butyrate, and (*E*)-2-hexenyl butyrate, increased significantly whereas hexanol decreased notably. This suggests that large amounts of hexyl butyrate and (*E*)-2-hexenyl butyrate are emitted into the air by *A. lucorum* males. Comparing the content of hexyl butyrate, (*E*)-2-hexenyl butyrate and hexanol in extracts from different parts of male *A. lucorum*, most of these three compounds were extracted from the thorax. In an olfactory bioassay, male *A. lucorum* were attracted to both hexyl butyrate and (*E*)-2-hexenyl butyrate. Females were attracted by a trace compound, heptyl butyrate. We suggest that three compounds, hexyl butyrate, (*E*)-2-hexenyl butyrate and hexanol, are probably attractive semiochemicals of male *A. lucorum* that are secreted by gland(s) in the thorax.

Key words *Apolygus lucorum*, GC-MS, olfactory bioassay, hexyl butyrate, (*E*)-2-hexenyl butyrate

绿盲蝽 *Apolygus lucorum* (Meyer-Dür) 属盲蝽科,寄主植物有 100 多种,在我国南北各地均有分布,是我国重要的作物和果树害虫(朱弘复和孟祥玲, 1958;中国科学院动物研究所, 1979)。近年来,转 Bt 基因抗虫棉的靶标害虫棉铃虫等咀嚼式害虫得到了有效控制,棉田化学农药使用量大幅度减少,但是非靶标的刺吸式害虫(如棉蚜和棉盲蝽)却呈上升趋势(Wu *et al.*, 2002;郭建英等, 2005;张秀梅等, 2005)。当前对棉田绿盲蝽的田间种群监测和调查还依赖于田间的扫网和百株查虫等传统方法,缺乏简便的而高效的方法(Wu and Guo, 2005),利用引诱剂的灵敏性和简便性监测

* 资助项目:公益性行业(农业)科研专项(201103012)、国家自然科学基金重点项目(31030012)。
**E-mail:sujw@ioz.ac.cn
**通讯作者, E-mail:gef@ioz.ac.cn
收稿日期:2012-04-12,接受日期:2012-04-28

被认为是一条可行途径。

目前有关绿盲蝽雌虫的浸泡提取物已有一些报道。苏建伟等(2010) 研究表明,绿盲蝽雌虫主要组分包括醇类、酸类和酯类挥发物,并推测其中反-2-丁酸己烯酯可能是绿盲蝽雌虫的性信息素成分或组分之一,且主要由胸部内的腺体分泌。张立娟等(2010)研究了绿盲蝽雌虫对不同处理具花枣枝挥发物的趋性反应,发现雌虫对寄主植物挥发物表现敏感,而雄虫反应迟钝。但有关绿盲蝽雄虫的体外挥发性仍不清楚。事实上,作者前期田间试验发现,绿盲蝽雄虫对雌虫也存在一定的引诱性。为此,本文通过浸泡法对绿盲蝽雄虫的浸提物进行了提取分析和鉴定,以期发现对绿盲蝽雌虫有引诱作用的成分,为绿盲蝽种群的田间监测和种群调查提供技术基础。

1　材料与方法

1.1　试虫浸提物制备

自河北廊坊绿豆地采集绿盲蝽成虫,室内人工气候箱中 (温度(25 ± 1)℃,相对湿度 60% ± 10%,光周期 L: D = 16: 8)繁殖种群,饲养方法参考陆宴辉等(2008)的方法并改进,用四季豆(*Phaseolus vulgaris*)在室内进行继代饲养。成虫羽化后,雌雄分开饲养。选取 6.5 日龄(已性成熟)的未交配的雄虫进行试验。在绿盲蝽雄虫交配行为的明显活跃期(17:00—19:00)和不活跃期(11:00—13:00),选 10 头绿盲蝽雄虫用 CO_2 进行麻醉后去除头部,将虫体解剖分离为胸部、腹部、翅和足 4 部分,分别浸泡在 1 mL 的 CH_2Cl_2 溶液中,24 h 后提取浸出液,用旋转蒸发仪浓缩至 400 μL 并保存在 6℃冰箱中备用,处理重复 2 次。

1.2　仪器分析

样品用 GC-MSD 分析。气谱为 HP 安捷伦 6890N,连接 DB-WAX 石英毛细管柱(长 30 m,内径 0.25 mm,厚 0.25 μm),质谱为 HP 5973N,70 eV 电离方式。载气为氮气(流速 20 cm·min^{-1})。炉温 200℃,其始温度 30℃ 保持 2 min,以 3℃/min 的速度升温至 120℃后以 10℃ /min 的速度升温至 250℃,保持 5 min。检测器温度 280℃,每次 2 μL 手动无分流进样。鉴定数据与 NIST 数据库和多种标准化合物的总离子流图比对,确定挥发物的成分和释放量。

1.3　雌虫对雄虫浸泡提取物主要成分的嗅觉反应

试验在暗室进行,条件为室温(25 ± 2)℃,红光(200 ± 10) lx,湿度 30% ± 10% 左右。选取 7 日龄成虫在 17:00—21:00 进行。Y 型嗅觉仪为 15 cm 长的玻璃管,夹角为 90°,直管长度为 25 cm,管径 7 mm。测试的化合物分别为丁酸己酯,反-2-丁酸己烯酯、丁酸庚酯和己醇,石蜡油为溶剂,4 种化合物的浓度为 1% (V/V)。测试时滤纸片上滴加 5 μL 化合物,绿盲蝽雌虫从直管单头置入,每组化合物都多次测试直至有反应的成虫数量达到 35 头以上(图 3)。

1.4　数据处理和统计分析

计算绿盲蝽雄虫浸提物样品中各主要成分的平均含量,用 *t*-test 比较不同处理时间的各成分均值,嗅觉反应中对每组化合物有反应的绿盲蝽雌虫数量的比较用 χ^2 检验,取 $P = 0.05$ 为显著度(SPSS10)。

2　结果与分析

2.1　浸提物的成分

通过 GC-MS 分析,确定 13 种化合物为绿盲蝽雄虫的浸提物中的组分,包括醇类,酸类和酯类(丁酸酯类,乙酸酯类)等。丁酸己酯的相对含量最高,达到 40.39%,其次己醇-1、反-2-丁酸己烯酯、反-2-己烯醇、顺-3-己烯醇和顺-3-己烯乙酸酯,其它成分的含量都较低。同时,在部分样品中发现有痕量的丁酸庚酯。

2.2　不同取样时间的成分差异

比较绿盲蝽雄虫在交配不活跃期和交配活跃期的提取物组分含量,发现丁酸己酯和反-2-丁酸己烯酯含量都明显增加。其中,反-2-丁酸己烯酯增加 5.4 倍,而丁酸己酯从不活跃期的平均 2 905 ng (占总量的 27.11%) 增加到活跃期的 5 180 ng (占总量的 50.38%)(图 1)。这表明在绿盲蝽雄虫活跃期,有大量的丁酸己酯和反-2-丁酸己烯酯释放到体外。而己醇的含量明显减少,在不活跃期的平均 2 360 ng (占总量的 21.37%) 而在活跃期为 1 185 ng (占总量的 10.39%)。其它 10 种组分的含量差异不明显。

2.3　虫体不同部位的相对含量

如图 2 所示,在绿盲蝽雄虫的不同部位的浸

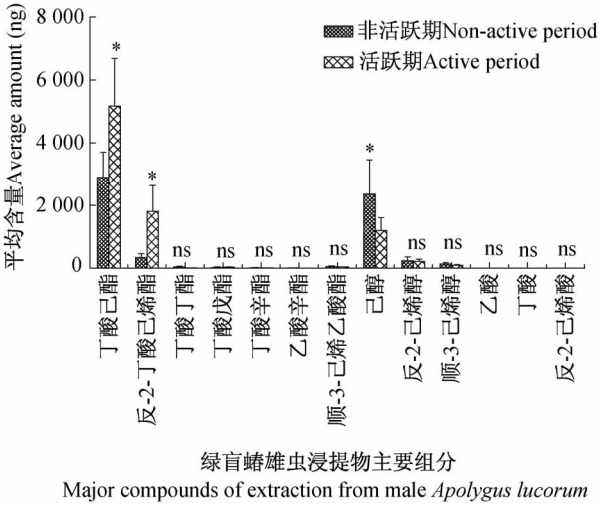


图 1 绿盲蝽雄虫浸泡提取物中主要成分的平均含量

Fig. 1 Average amounts of extracted compounds identified from male *Apolygus lucorum*

ns:没有显著差异;*:有显著差异(*t*-检验,*P* = 0.05 水平)。下图同。

ns means no significant difference, * means significant difference at 0.05 level by *t*-test. The same below.

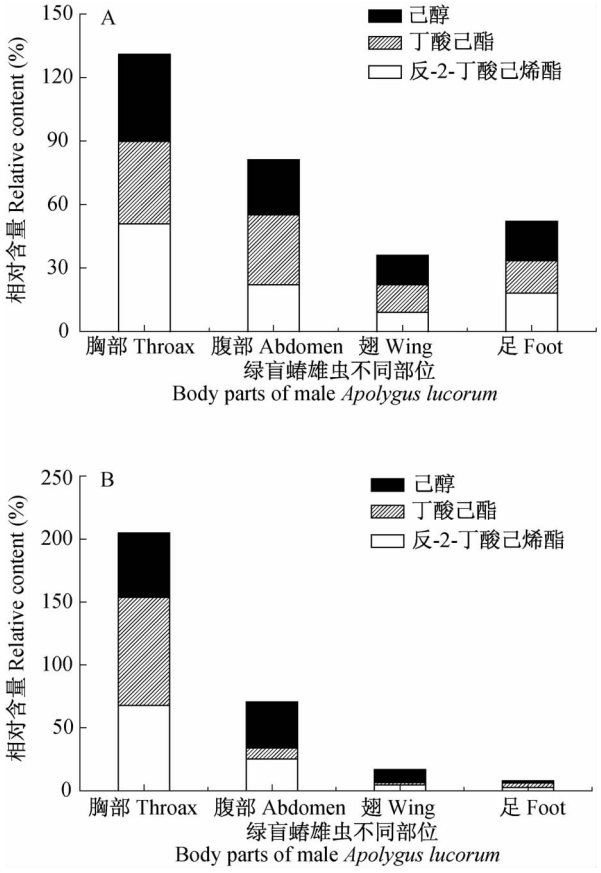


图 2 绿盲蝽雄虫不同部位的主要成分的相对含量(%)

Fig. 2 Relative contents of extracted three main compounds identified from different parts of male *Apolygus lucorum*

A:为交配不活跃期;B:为交配活跃期。

A: in non-active period; B: in sex-active period.

提物的组分比较中,无论是丁酸己酯还是反-2-丁酸己烯酯和己醇,其胸部有较高的含量。其中,在绿盲蝽雄虫活跃期达到 68.25%,其含量明显高于非活跃期的 43.66%。腹部次之,足和翅上的含量最少,推测它可能是来自于虫体胸腹部释放到体外后附着于翅和足上。

2.4 绿盲蝽雌虫嗅觉反应

如图 3 所示,除己醇外,绿盲蝽雌虫对丁酸己酯、反-2-丁酸己烯酯和丁酸庚酯都有明显的趋向性,表明这 3 种化合物对绿盲蝽成虫有明显的引诱作用。而这 3 种化合物的对比显示,丁酸庚酯更吸引雌虫;反-2-丁酸己烯酯和丁酸己酯的比较中,绿盲蝽较多的选择丁酸己酯。

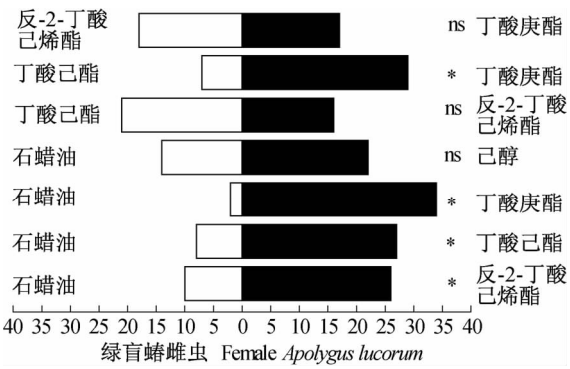


图 3 绿盲蝽雌虫的嗅觉反应

Fig. 3 Olfactory responses of female *Apolygus lucorum*

3 讨论

丁酸酯类化合物被认为是盲蝽科昆虫雌虫性信息素的主要组分,如丁酸丁酯和反-2-丁酸丁烯酯是显角微刺盲蝽 *Campylomma verbas* 的性信息素主要组分(Smith *et al.*,1991),反-2-丁酸己烯酯是美国牧草盲蝽 *L. lineolaris* 和普绿盲蝽 *L. pabulinus* 性信息素的一个主要的组分(Dickens *et al.*, 1995; Groot *et al.*, 1996)。Innocenzi 等(2004)报道丁酸丁酯、反-2-丁酸丁烯酯和反-4-氧-2-己烯醛还是盲蝽 *L. rugulipennis* 的雌性信息素

成分,对雄虫有引诱性。但至今为止对盲蝽科昆虫的雄虫的挥发物报道很少。本研究发现,丁酸酯类物质如丁酸己酯、反-2-丁酸己烯酯和丁酸庚酯都对绿盲蝽雌虫有一定的引诱性。在以前的工作中,我们发现反-2-丁酸己烯酯是绿盲蝽雌虫性信息素的主要成分之一(苏建伟等, 2010),本研究进一步表明,反-2-丁酸己烯酯还在雄虫体内存在,并对绿盲蝽雌虫存在一定的引诱性。但反-2-丁酸己烯酯是否同时具备性信息素和聚集类激素的作用,仍有待研究。

由于盲蝽类昆虫的性信息素的分泌腺的位置不是很确定(Weeler, 2001;Millar, 2005),后胸腺被推测可能是性信息素的分泌腺体,如 Aldrich 等(1988)报道后胸腺提取物中丁酸丁酯和反-2-丁酸丁烯酯这 2 个成分占 70% ~80%。Ho 和 Millar (2002)从豆荚盲蝽 *Lygus hesperus* 的后胸腺中也提取到丁酸丁酯和反-2-丁酸丁烯酯并作为主要成分。本研究使用浸泡法用有机试剂对绿盲蝽进行分部浸泡然后提取,发现丁酸己酯和反-2-丁酸己烯酯这 2 个成分占酯类总量的 85% 以上,且这 2 个组分主要分布在胸部,所以推测其分泌腺可能分布在绿盲蝽的胸部。

陈展册等(2010)在研究绿盲蝽触角的 EAG 反应时测试了 9 种酯类(丁酸酯类、乙酸酯类和甲酸酯类)后发现,绿盲蝽雌虫触角的最高 EAG 反应是由反-2-丁酸己烯酯引发的,其次是丁酸戊酯、乙酸辛酯、丁酸丁酯和丁酸乙酯,对丁酸庚酯的 EAG 反应值相对较低。Chinta 等(1994)发现 *L. lineolaris* 雌虫对醇类和醛类绿叶气味物质有明显的 EAG 反应,这些物质包括反-2-己烯醛和顺-3-己烯醇(试验刺激物量为 100 μg),反应相对值高于丁酸酯类。在本研究中,绿盲蝽雌虫对己醇没有明显的嗅觉反应(试验刺激物量为 50 μg),对丁酸酯类的趋向明显。同时发现,在绿盲蝽雄虫虫体内含量很少的丁酸庚酯对绿盲蝽雌虫有明显的引诱作用。有关丁酸庚酯在盲蝽类的信息通讯中的作用报道很少,需要进一步的研究加以探讨,特别是生测和田间试验进行进一步的确定。

参考文献(References)

Aldrich JR, Lusby, WR, Kochansky JP, Hoffmann MP, Wilson LT, Zalom FG, 1988. *Lygus* bug pheromones vis-à-vis stink bugs. Proceedings, Beltwide Cotton Conference. National Cotton Council of America, Memphis, TN. 213—216.

Chinta S, Dickens JC, Aldrich JR, 1994. Olfactory reception of potential pheromones and plant odors by tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae). *J. Chem. Ecol.*, 20(12):3251—3267.

Dickens JC, Callahan FE, Wergin WP, Erbe EF, 1995. Olfaction in a hemimetabolous insect: Antennal-specific protein in adult *Lygus lineolaris* (Heteroptera:Miridae). *J. Insect Physiol.*, 41(10):857—867.

Groot AT, Schuurman A, Visser JH, 1996. Laboratory bioassay of sex pheromone activity in *Lygocoris pabulinus* (L.) (Heteroptera: Miridae). Proceedings of the 13th Annual ISCE meeting, August 18—22, Prague. International Society of Chemical Ecology. 189.

Ho HY, Millar JG, 2002. Identification, electroantennogram screening, and field bioassays of volatile chemicals from *Lygus hesperus* Knight (Heteroptera: Miridae). *Zool. Stud.*, 41(3):311—320.

Innocenzi PJ, Hall DR, Masuh H, Phythian SJ, Chittamaru S, Guarino S, 2004. Investigation of long-range female sex pheromone of the European tarnished plant bug, *Lygus rugulipennis*: Chemical, electrophysiological, and field studies. *J. Chem. Ecol.*, 30(8):1509—1529.

Millar JG, 2005. Pheromones of true bugs. *Top. Curr. Chem.*, 240:37—84.

Smith RF, Pierce HD, Borden JH, 1991. Sex pheromone of the mullein bug, *Campylomma verbasci* (Meyer) (Heteroptera:Miridae). *J. Chem. Ecol.*, 17(7):1437—1447.

Weeler AG, 2001. Biology of the Plant Bugs (Hemiptera: Miridae): Pests, Predators, Opportunists. Cornell University Press, Ithaca and London. 105—135.

Wu KM, Guo Y, 2005. The evolution of cotton pest management practices in China. *Annu. Rev. Entomol.*, 50:31—52.

Wu K, Li W, Feng H, Guo Y, 2002. Seasonal abundance of the mirids, *Lygus lucorum* and *Adelphocoris* spp. (Hemiptera:Miridae) on Bt cotton in northern China. *Crop Prot.*, 21(20):997—1002.

陈展册, 苏丽, 戈峰, 苏建伟, 2010. 绿盲蝽对性信息素类似物和植物挥发物的触角电位反应. 昆虫学报, 53(1):47—54.

郭建英,周洪旭,万方浩, 刘小京, 韩召军, 2005. 两种防治措施下转 Bt 基因棉田绿盲蝽的发生与为害. 昆虫知识, 42(4):424—428.

陆宴辉, 吴孔明, 蔡晓明, 2008. 利用四季豆饲养盲蝽的方法. 植物保护学报, 35(3):215—219.

苏建伟,陈展册,张广珠, 戈峰, 2010. 绿盲蝽雌虫的浸提物分析. 昆虫知识, 47(6):1113—1117.

张立娟, 崔建洲, 李继泉, 刘春琴, 潘文亮, 高占林, 2010. 绿盲蝽对不同处理具花枣枝挥发物的趋性反应. 河北农业大学学报, 33(4):82—84.

张秀梅, 刘小京, 杨艳敏, 段德玉, 2005. 绿盲蝽在 Bt 转基因棉及枣树上的发生规律. 华东昆虫学报, 14(1):28—32.

中国科学院动物研究所主编, 1979. 中国主要害虫综合防治. 北京:科学出版社. 1—467.

朱弘复, 孟祥玲, 1958. 三种棉盲蝽的研究. 昆虫学报, 8(2):97—117.