的深入研究。

参 考 文 献

1 孙耘芹, 李梅, 何凤琴, 齐欣. 昆虫知识, 2003, **48**(7): 1357~1368

2 丛斌, 付海滨, 王翠敏, 戴秋慧. 昆虫学报, 2005, **48**(5): 815~818.

3 段惠, 强胜, 吴海荣, 林金诚. 杂草科学, 2003, **17**(2): 36~38

4 闫乾胜, 杨婕, 李华民, 曹幼程, 陈庆华, 等. 北京师范大学学报(自然科学版), 2006, **1**(42): 70~73

5 傅昀, 宋启示, 方绮军. 云南农业大学学报, 1999, **14**(4): 411~415.

6 胡真铭, 颜发广. 中华卫生杀虫药械, 2002, **3**(8): 37~40

7 徐汉虹, 赵善欢. 中国粮油学报, 1995, **10**(1): 1~5.

8 钦俊德. 昆虫与植物的关系——论昆虫与植物的相互关系及其演化. 北京: 科学出版社, 1987. 38~61.

9 Das N. G., Baruah I., Talukdar P. K. *J. Vector Borne Dis.*, 2003, **40**(1~2): 49~53.

10 Pitasawat B., Choochote W., Tuetun B. *J. Vector Ecol.*, 2003, **28**(2): 234~240.

11 Govere J., Durnheim D. N., Du T. N. *Cent Afr. J Med.*, 2000, **46**(6): 213~216.

12 Seyoum A., Palsson K. *Trans R. Soc. Trop. Med Hyg.*, 2002, **96**(3): 225~231.

13 王琛柱, 钦俊德. 世界农业, 1998, **4**(228): 33~35.

14 王银朝, 赵宝玉, 樊泽锋, 樊月圆, 谭承建. 动物医学进展, 2005, **26**(5): 45~48

15 李云寿, 邹华英, 佴注, 李晚谊, 纳晓燕, 等. 西南农业大学学报, 2000, **22**(4): 331~333.

16 李小平, 胡学难, 罗兴毅. 贵州农业科学, 1995, **23**(1): 48~49.

17 王一丁, 高平, 张其红, 郑勇, 刘昆, 等. 高技术通讯, 2002, **9**: 21~23

18 李云寿, 邹华英, 汪禄祥, 佴注, 李晚谊, 等. 昆虫知识, 2003, **8**(3): 214~216

19 周天雄, 杨美林, 汪禄祥, 佴注, 李晚谊, 等. 云南农业大学学报, 2003, **18**(3): 259~263.

松墨天牛对马尾松挥发物的触角电位和行为反应*

郝德君[1**] 马凤林[2] 王 焱[2] 戴华国[3] 张永慧[3]

(1. 南京林业大学森林资源与环境学院, 南京 210037; 2. 上海市林业总站, 上海 200072; 3. 南京农业大学植保学院 南京 210095)

Electroantennogram and behavioural responses of *Monochamus alternatus* to volatiles from *Pinus massoniana*.

HAO De-Jun[1**], MA Feng-Lin[2], WANG Yan[2], DAI Hua-Guo[3], ZHANG Yong-Hui[3] (1. *College of Forestry Resources and Environment, Nanjing Forestry University* Nanjing 210037, China; 2. *Forest Station of Shanghai*, Shanghai 200072, China; 3. *College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University*, Nanjing 210095, China)

Abstract Electroantennogram (EAG) and behavioural responses of *Monochamus alternatus* Hope at different developmental stages to extracts from healthy and pinewood nematode infested *Pinus massoniana* were investigated. The results indicated that the EAG response potential of unmated beetles to extracts of healthy branch was greater than that to extracts of infested branch, while reverse EAG response was observed in mated beetles had reverse result. "Y" tube olfactory tests revealed that unmated beetle had positive response to extracts of healthy branch and negative response to extracts of infested branch, whilst mated beetle, however, showed positive response to extracts of infested branch and negative response to extracts of healthy branch. The present study suggested that *M. alternatus* at developmental stages have special sensitivity and selectivity to host tree with different physiological conditions.

Key words *Monochamus alternatus*, *Pinus massoniana*, volatile, EAG response, behavioural response

*国家自然科学基金(30500392, 30570282), 上海市科委重大科技攻关项目(03-DZ1939)。

**E-mail: dejunhao@163.com

收稿日期: 2006-09-08, 修回日期: 2006-10-12, 接受日期: 2006-12-14

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

摘 要 利用触角电位和嗅觉测定技术，比较分析松墨天牛 *Monochamus alternatus* Hope 对马尾松(*Pinus massoniana* Lamb)健康和松材线虫危害的枝条挥发物的触角电位和行为反应特点。实验结果表明：未交配松墨天牛对健康枝条挥发物的 EAG 反应值大于被害枝条的，交配后天牛对被害枝条的 EAG 反应值明显大于健康枝条的。在"Y"型嗅觉仪中，未交配天牛对健康枝条挥发物表现为正趋性，对被害枝条挥发物表现为负趋性，而交配后天牛对被害枝条挥发物表现为正趋性，对健康枝条挥发物表现为负趋性。说明不同发育时期的松墨天牛成虫对不同生理状态的寄主具有不同的敏感性和选择性。

关键词 松墨天牛，马尾松，寄主挥发物，触角电生理反应，行为反应

马尾松(*Pinus massoniana* Lamb)具有耐贫瘠、适应性强、速生、丰产、综合利用率高等优良特性，是我国南方重要的工业用材和造林树种[1]。由于松材线虫病 *Bursaphelenchus Xylophilus* 的危害，已造成分布范围内马尾松的大量死亡，对马尾松资源、自然景观和生态环境造成严重破坏[2]。松墨天牛 *Monochamus alternatus* Hope 在我国是松材线虫病的主要媒介昆虫，所以控制松墨天牛是治理松材线虫病的切入点和关键环节。已有研究表明，松树的挥发性物质在松墨天牛成虫寄主搜索、补充营养和产卵等行为的生境定位中起着重要作用[3,4]。然而松墨天牛在选择健康木补充营养时，其所携带的大部分线虫已经随取食伤口进入寄主[5]。因此，研究处于补充营养阶段的松墨天牛与寄主的化学通讯联系，对阐明寄主挥发物对松墨天牛行为的作用机制，开辟松材线虫病治理的新途径具有重要的科学意义和应用价值。但是，马尾松在日本被认为是抗病性较强的树种，而在我国却属于感病树种[6]，关于对马尾松的化学成分及其对松墨天牛行为影响的研究并不多，本研究测定了松墨天牛对马尾松健康和松材线虫危害的枝条挥发物的触角电生理和行为反应，以期为进一步研究松墨天牛对单组分和复合组分的行为反应，为研制和开发取食引诱剂提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

5 月中上旬，在安徽省全椒县马厂镇的人工林内，砍伐 18 ~20 年生松材线虫危害木，锯成长 2 m 的木段，放入 2.5 m×2.5 m×2 m 网笼内，每天上午 8 时检查羽化的松墨天牛成虫，单头装入塑料盒内，供给当年生或 2 年生健康马尾松枝条作为食料，并放入湿棉球。带回实验室后，在温度 25 ℃，湿度为(27±2)℃光照周期 12 L∶12 D 条件下饲养，每隔 2 d 更换 1 次枝条。待发育到 15 日龄，将雌雄成虫转入养虫缸内配对交尾，48 h 后分别放回塑料盒内，作为测试昆虫。

1.2 挥发物的提取

将采集的直径为 1.5 ~2.5 cm 的马尾松健康和松材线虫危害木枝条洗净，自然凉干，剪成 1 cm 长的小段，称取 500 g 材料放入水蒸气蒸馏装置内[7]，加入 1 000 mL 去离子水，连续萃取 4 h，馏出液用乙醚萃取，无水硫酸钠脱水，旋转蒸发除去乙醚，得到具有浓郁芳香气味的淡黄色透明油状物，保存在－4 ℃冰箱中备用。

1.3 触角电位(EAG)反应

测定前用医用手术刀将松墨天牛触角自鞭节第 4 节基部切下，并切除末端 1 mm；用 Spectra^{R}360 导电胶将其固定在 PR (Gain10×)电极上，气味管与触角相距 1 cm。用微量取样器抽取 5 μL 提取物均匀地滴在 5 cm×0.5 cm 的滤纸条上，放入 10 cm 长的样品管中，样品管末端连接气体刺激控制装置。待基线稳定后给予刺激，每次刺激时间 0.5 s，刺激间隔为30 s，以保证触角感受能够完全恢复。实验所用未交配天牛为 8 ~10 日龄，已交配天牛为 23 ~25 日龄，测试的雌雄触角各 6 根，每样品平行刺激 5 次。以重蒸正己烷为对照。将每一样品观测值的平均数除以前后 2 次对照测定值的平均值即得 EAG 反应相对值。实验所用触角电位仪由荷兰 Syntech 公司生产，测定所需软件也由该公

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

司提供。

1.4　行为反应

"Y"型嗅觉仪基管长 30 cm，两臂长 20 cm，内径 7 cm，两臂夹角 75°，在两臂距基部 10 cm 处伸出 2 个样品室；嗅觉仪两臂分别通过 Teflon 管与样品室相连。在气流进入样品室之前，由电磁式空气压缩机推动空气先经过一个活性炭过滤器和装有蒸馏水的特氏多孔滤瓶，以净化空气和增加空气湿度，每臂的气流流量通过 LZB-4 型玻璃转子流量计控制在 300 mL/min。

生测时，"Y"型管两臂端口用脱脂棉塞住。用微量取样器吸取 5 μL 待测物质，滴在 5 cm ×0.5 cm 的滤纸条上，放入样品管中，将不滴加任何物质的同样规格的滤纸条，放入另一个样品管中作为对照。从嗅觉仪基管末端接入测试天牛，10 min 后分别记录进入味源管、对照管及停留在基管中的虫数。以天牛爬至超过某臂 5 cm，并持续 5 min 以上，记为天牛对该臂的气味源作出了选择。如 5 min 后仍未作出选择，则记为不反应。整个生测过程在温度为(27 ±2)℃，湿度 70% ±5%的室内进行，采用人工光源照明。

在测定松墨天牛对马尾松挥发物的行为反应中，实验所用未交配天牛为 8 ~ 11 日龄，交配天牛为 23 ~26 日龄。测定前将试虫饥饿 2 h，5 头为 1 组，每生测 1 组，用丙酮清洗嗅觉仪，并用电吹风吹干，调换两臂的方向。每个处理重复 10 次，计算其反应率、选择反应率和选择系数[8]。

2　结果与分析

2.1　松墨天牛成虫对马尾松枝条挥发物的 EAG 反应

实验结果见图 1，提取的 2 种挥发物对松墨天牛成虫均能引起比较明显的触角电位反应。交配前，雌雄天牛对健康枝条提取物的 EAG 反应值均大于松材线虫危害枝条的 EAG 反应值，但是雄虫对 2 种提取物的 EAG 反应差异显著($P < 0.05$)，而雌虫对 2 种提取物的 EAG 反应差异不显著($P > 0.05$)；交配后，雌雄天牛对松材线虫危害木枝条提取物的 EAG 反应值显著大于对健康木的 EAG 反应值($P < 0.05$)，方差分析结果证明，雌、雄天牛对 2 种提取物的触角电位反应无性别上的差异($P > 0.05$)。

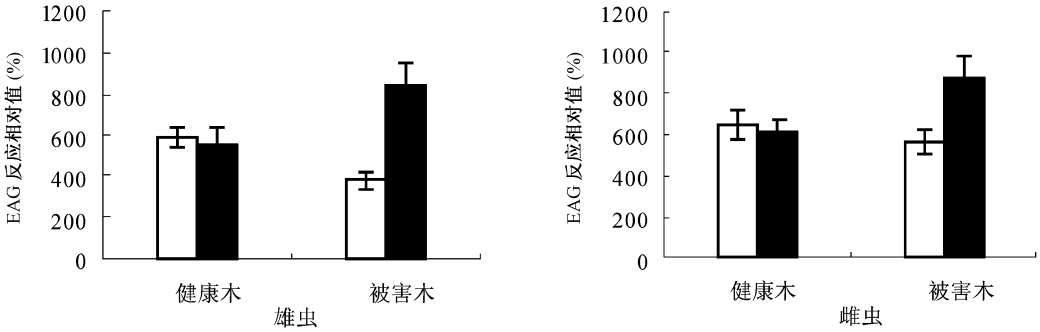

图 1　松墨天牛对马尾松枝条挥发物的 EAG 反应不同字母表示差异显著($P < 0.05$, $n = 30$)
□交配前　■交配后

2.2　松墨天牛成虫对马尾松挥发物的嗅觉反应

松墨天牛成虫对马尾松 2 种挥发物具有较强的嗅觉反应，如表 1 所示，反应率均超过 80%。雌雄天牛对健康枝条的提取物选择反应率在未交配时大于 50%，交配后小于 50%；而对松材线虫危害枝条的选择反应率实验结果相反。选择系数表现为，交配前的雌雄成虫对松材线虫危害的马尾松枝条提取物均呈负趋性(雌雄虫的选择系数分别为 −0.32 和 −0.08)，对马尾松健康枝条提取物均呈正趋性(选择系数分别为 0.13 和 0.02)；交配后的成虫对马尾

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.n

松健康枝条提取物呈负趋性(选择系数分别为－0.18 和－0.32),而对松材线虫危害木呈正趋性(选择系数分别为 0.17 和 0.13)。

表 1 松墨天成虫对感病和健康马尾松枝条挥发物的嗅觉反应

反应指标	成虫类型	性别	感病马尾松	健康马尾松
反应率(%)	交配前	雌虫 ♀	80.00c	86.67bc
		雄虫 ♂	86.67bc	100.00a
	交配后	雌虫 ♀	90.00abc	93.33ab
		雄虫 ♂	100.00a	90.00abc
选择反应率(%)	交配前	雌虫 ♀	33.89±0.13b	56.67±0.20a
		雄虫 ♂	45.83±0.12ab	50.83±0.12ab
	交配后	雌虫 ♀	58.33±0.12a	40.83±0.24ab
		雄虫 ♂	56.67±0.08a	34.17±0.14b
选择系数	交配前	雌虫 ♀	－0.32±0.26b	0.13±0.40a
		雄虫 ♂	－0.08±0.24ab	0.20±0.00b
	交配后	雌虫 ♀	0.17±0.23a	－0.18±0.48ab
		雄虫 ♂	0.13±0.16a	－0.32±0.29b

注:表中数据为平均值±SE,同一列数据后的字母不同表示差异显著($P<0.05$, Waller-Duncan 多重比较法检验, $n=50$)。

3 结论与讨论

本研究中,未交配天牛对健康木挥发物表现为正趋性,对被害木挥发物表现为负趋性,而交配后天牛对被害木挥发物表现为正趋性,对健康木挥发物表现为负趋性;表明松墨天牛在各发育阶段对不同生理状态的寄主气味具有不同的敏感性和选择性。松墨天牛在补充营养和产卵寄主间的飞行扩散依赖于成虫取食和下一代幼虫栖境的需要[9]。在松墨天牛对寄主树木的产卵选择行为的研究中发现,松墨天牛在松材线虫危害木上的产卵痕数明显多于健康木[10],可能与松材线虫病感染的马尾松枝条的挥发性物质发生了变化有关。雌雄天牛之间在 EAG 和行为上无明显差异,表明两者对寄主挥发物的行为感受机制相同。

植物的次生代谢所产生的挥发性物质在植物与昆虫间的化学通讯中起着决定性的作用,它调控着昆虫对寄主植物的定向、识别和取食等行为[11]。许多天牛选择健康寄主补充营养,选择生理衰弱寄主作为交配和产卵场所,对寄主的生理状况的选择性,是受化学机制调控的[12,13]。针叶树挥发出的单萜和倍半萜的组分和含量会随着取样部位、取样时间、植食性昆虫为害与否、真菌是否侵染以及干旱、污染胁迫等因素的影响而不同[14]。Ikeda 等研究表明,松材线虫感染的病树或伐倒木能释放出α－蒎烯、β－蒎烯、β－水芹烯等单萜是引诱松墨天牛选择寄主的主要挥发物[3]。本研究初步测定了松墨天牛对马尾松枝条水蒸气提取物的触角电位和行为反应,尚需结合其它提取方法如固相微萃取、动态吸附、CO_2 超临界点萃取等方法确定寄主植物中的主要挥发性物质的组成和含量,进一步测定松墨天牛的行为反应,为研制和开发取食引诱剂奠定基础。

参 考 文 献

1 陈有民. 园林树木学. 北京:中国林业出版社, 238～240. 1990

2 宁眺, 方宇凌, 汤坚, 孙江华. 昆虫知识, 2004, **41**(2): 97～104.

3 Ikeda T., Oda K., Yamane A., Enda N. *Jap. For. Soc.*, 1980, **62**(4): 150～152.

4 Sakai M., Yamasaki T. *J. Jap. Wood. Res. Soc.*, 1989, **35**: 537～542.

5 赵锦年, 张常青, 戴建昌, 蒋平, 孙胜利, 等. 林业科学研究, 1999, **12**(6): 572～576.

6 杨宝君, 潘宏阳, 汤坚, 王玉燕, 汪来发. 松材线虫病. 北京:中国林业出版社, 2003. 67～68.

7 王云云, 董戈, 刘卫斌. 吉林林业科技, 2002, **31**(3): 51～52.

8 张红兵, 李小鹰, 戴华国, 周秋君. 昆虫知识, 2005, **42**(3): 298～301.

9 Shibata E. *Res. Popul. Ecol.*, 1987, **29**: 347～367.

10 郝德君, 张永慧, 戴华国, 王焱. 昆虫学报, 2005, **48**(3): 460～464.

11 杜家纬. 植物生理学报, 2001, **27**(3): 193～200.

12 Allison J. D., Borden J. H., Seybold S. J. *Chemoecology*, 2004, **14**: 123～150.

13 Hanks L. M. *Ann. Rew. Entomol.*, 1999, **44**: 483～505.

14 Sweeney J., de Groot P., MacDonald L., Smith S., Cocquempot C., *et al*. *Environ. Entomol.*, 2004, **33**(4): 844～854.

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n