白纹伊蚊对几种引诱物的行为和触角电位反应*

忻伟隆[1,2**] 王宗德[1] 韩招久[2] 姜志宽[2***]

（1．江西农业大学林学院，南昌 330045；2. 南京军区军事医学研究所，南京 210002）

摘 要 **【目的】**了解引诱物对白纹伊蚊 *Aedes albopictus* 行为及触角电生理影响，以揭示白纹伊蚊吸血与传病的行为机制。**【方法】** 采用行为学和触角电位学的方法分别测定了 L-乳酸、氨、1-辛烯-3-醇对白纹伊蚊的行为反应和触角电位强度变化，并分析了几种引诱物对白纹伊蚊活性的影响及其规律。**【结果】**氨、L-乳酸和 1-辛烯-3-醇 3 种引诱物的引诱效果和触角电位变化趋势相同，随着引诱物浓度的增加，对白纹伊蚊的引诱效果和触角电位强度也相应增强。同等浓度下氨对白纹伊蚊的引诱效果较另外两种引诱化合物更显著，且 1-辛烯-3-醇的引诱效果相比 L-乳酸要更强。当引诱化合物浓度在 1 mg/L 以上时，白纹伊蚊触角电位反应增幅随着浓度增大也逐渐增大；在引诱化合物浓度达 1 000 mg/L 时，白纹伊蚊对氨的触角电位反应最强烈。**【结论】** 行为学和触角电位的研究手段相结合能更为全面地反映和评价不同引诱物对蚊虫的引诱效果。

关键词 白纹伊蚊，L-乳酸，氨，1-辛烯-3-醇，行为学，触角电位

Effects of several attractants on the behavior and electroantennograms of *Aedes albopictus*

XIN Wei-Long[1,2**] WANG Zong-De[1] HAN Zhao-Jiu[2] JIANG Zhi-Kuan[2***]

(1. College of Forestry, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 2. Institute of Military Medicine, Nanjing Command, Nanjing 210002, China)

Abstract **[Objectives]** To investigate the influence of attractants on the behavior and electroantennograms of *Aedes albopictus* and thereby reveal the behavioral mechanisms underlying blood-feeding behavior in this species. **[Methods]** Behavioral observation and electroantennography (EAG) were used to test the effects of ammonia, L-lactic acid and 1-octene-3-alcohol on the behavior and physiology of *A. albopictus*. **[Results]** The number of insects attracted, and EAG intensity induced, by the three attractants increased with concentration. At the same concentrations, ammonia was the most attractive compound, followed by 1-octene-3-alcohol and L-lactic acid. At concentrations above 1 mg/L, EAG intensity gradually increased with concentration. At concentrations of up to 1 000 mg/L, ammonia elicited the strongest reaction. **[Conclusion]** Combining behavioral observation with EAG is a better way of determining the relative attractiveness of different substances to mosquitoes.

Key words *Aedes albopictus*, L-lactic, ammonia, 1-octene-3-alcohol, behavioristics, EAG

蚊虫之所以能准确定位人体并进行吸血行为，是因为人体体温及生理代谢的挥发物对蚊虫有极强的引诱作用。L-乳酸、氨、1-辛烯-3-醇则是人体代谢物中的几种主要引诱化合物。L-乳酸

* 资助项目 Supported projects：国家林业公益性行业科研专项经费项目（201304602）；国家自然科学基金项目(31060101)；江西省科技支撑计划项目（20132BBF60057）

**第一作者 First author，E-mail：xwlgzxx@163.com

***通讯作者 Corresponding author，E-mail：jzk1953@163.com

收稿日期 Received：2015-06-23，接受日期 Accepted：2015-06-30

和氨是人体汗液中的主要组成成分。Acree 等(1968)研究发现 L-乳酸对于埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 雌性成虫有一定的引诱效果，且乳酸的 L 型异构体的引诱效果可达 D 型异构体的数倍。Geier 和 Boeckh（1999）等发现一定浓度范围类的 L-乳酸对埃及伊蚊有较好引诱活性，但当浓度过高时，其对埃及伊蚊的引诱效果逐渐下降。Barks 等(2001)发现人体汗液中有无 L-乳酸对于冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* 引诱效果影响不大，但 L-乳酸与氨协同作用时，却可以显著增强对冈比亚按蚊的引诱性。同时，触角电位和风洞研究显示，氨单独作用以及与其他引诱物协同作用时，对冈比亚按蚊也均表现出良好的引诱性(Meijerink *et al.*，2001)。Healy 和 Copland(2000)及 Bernier 等(2000)也先后证实氨作为人体分泌汗液的主要成分，对于蚊虫的引诱起着不容小视的作用。

不同于人体汗液中的 L-乳酸和氨，1-辛烯-3-醇是呼吸物中的一种组成成分。1-辛烯-3-醇于 1989 年首次证实为一类蚊虫引诱化合物(Takken and Kline，1989)。Qualls 和 Mullen（2007）证实添加了 1-辛烯-3-醇的引诱装置，可大大提高白纹伊蚊的捕获数量。1-辛烯-3-醇单独作为引诱剂时效果较好；与其他引诱物，如 L-乳酸协同作用时，引诱效果可相应提高(Hoel *et al.*，2007)。Kline 等对比研究蚊虫对 1-辛烯-3-醇和二氧化碳的引诱效果时，发现单独使用 1-辛烯-3-醇对少数种类蚊虫如带喙伊蚊 *Aedes taeniorhynchus* 有很好的引诱作用，而二氧化碳和 1-辛烯-3-醇协同使用时对更多蚊虫种类表现出较好的引诱作用(Kline *et al.*，1990)。

综上所述，不同引诱物对于不同蚊虫的引诱作用也不尽相同。目前国内外的相关研究多集中于冈比亚按蚊、致倦库蚊 *Culex quinquefasciatus*、埃及伊蚊、淡色库蚊 *Culex pipiens pallens* 等几种疾病蚊媒，但对其他疾病蚊媒如白纹伊蚊、中华按蚊 *Anopheles sinensis* 等的研究涉及不多(忻伟隆等，2013)。白纹伊蚊是登革热等疾病的重要传播媒介，开展引诱物对白纹伊蚊行为及触角电位生理影响的研究对于揭示其吸血与传病的行为机制具有重要意义。

1　材料与方法

1.1　试验材料

1.1.1　供试蚊虫白纹伊蚊　江西省竹子种质资源与利用重点实验室昆虫饲养室饲养。饲养条件：温度（26±1）℃，相对湿度 70%±5%，光照 L∶D=14∶10。饲养水源为放置＞24 h 的脱氯水。成虫饲养在长 400 mm、宽 300 mm、高 300 mm 的蚊笼内，羽化后供以 10%蔗糖水。试虫为羽化后 4 ~7 d 未吸血的雌性成虫，测试前停止供应糖餐 24 h。

1.1.2　供试化合物　无水乙醇，含量>99.7%，分析纯，天津市大茂化学试剂厂。氨水，含量 25%~28%，分析纯，天津市大茂化学试剂厂。L-乳酸，含量 80%~90%，分析纯，阿拉丁试剂有限公司。1-辛烯-3-醇，含量 98%，分析纯，阿拉丁试剂有限公司。1-辛烯-3-醇用无水乙醇稀释，氨水和 L-乳酸用蒸馏水稀释，稀释浓度为 1 000，100，10，1 和 0.1 mg/L。

1.1.3　试验器材　行为反应测定装置参照 Geier 的试验装置改进而成(Geier and Boeckh，1999)，由蚊虫释放管、Y 型嗅觉仪、干燥塔、QC-1（S）型大气采样仪、水塔和无味硅胶管构成。Y 型嗅觉仪的规格为一条基臂和两条 Y 臂，基臂长 20 cm，直径 3 cm，末端接蚊虫释放管，Y 臂长 30 cm，直径 3 cm，两臂管夹角 75°，末端连接两个样品室。外界空气经由干燥塔内的活性炭吸附净化后，在大气采样仪的动力推动下进入水塔湿润（大气流速为 150 mL/min），随后进入样品室，通过 Y 型管的臂管进入中管，最后从蚊虫释放管排出室外。触角电位测定采用荷兰 Syntech 公司生产的触角电位仪，主要包括：SyntechUN-06 直流/交流放大器，IDAC-232 双通道串口数据采集控制器，PRG-2 探头及电极固定器，CS-55 刺激气流控制器（含内置泵），MP-15 显微操作台，EAG /GC-EAD 数据记录及分析软件。

1.2 测定方法

1.2.1 测试环境 室内温度（27±1）℃，相对湿度 70%±5%。

1.2.2 行为反应 实验前将待测蚊虫搬入测试室适应环境 1 h 左右。实验采用自然光照，于 14: 00 时开始，18: 00 时结束。测定时每处理分 3 组，每组 10 个重复。测定过程中，先将加了 10 μL 供试化合物溶液的滤纸（2.5 cm×5 cm）和加了等量蒸馏水为对照（测试 1-辛烯-3-醇时以无水乙醇为对照）的相同大小滤纸分别放入左、右测试室，记为对照组和处理组，紧接着把一头试虫放入 Y 型管直管口，观察其 5 min 之内的第一选择，5 min 之内不选择就记为不反应。每进行一次实验就更换一次滤纸，测定了 5 只后，调换 Y 型管两臂的方向，以消除几何位置对试虫趋向行为的影响。测试完一组（10 只）后就用蒸馏水清洗 Y 型管，再用酒精擦拭，待晾干后进行下一组实验。

1.2.3 触角电位 首先抽取 20 μL 待测液均匀滴在 5 cm×0.5 cm 的滤纸上，并将其放入巴斯德管中，用保鲜膜将其两端封死，让其充分挥发。紧接着将白纹伊蚊雌蚊置于 4℃环境下低温麻醉，然后使用眼科剪刀将蚊虫触角从其基部剪断，将剪下的触角两端置于已涂抹适量 SpectraR360 导电胶（由 Syntech 公司提供）的电极上，让其与导电胶充分接触。待蚊虫触角电位基线稳定时，开始实验，将巴斯德管一端连接气体净化装置，另一端插入气流混合管外壁小洞内，持续气流和刺激气流流量均为 500 mL/min，每次给予 500 ms 的刺激，2 次刺激之间间隔 1 min，以保证触角感受能完全恢复。每样品平均刺激 3 次，取平均值，不同样品检测顺序是随机的，每种样品的检测顺序按浓度自低而高进行检测。每一样品前后都要进行相应对照测定，以蒸馏水为对照（测试 1-辛烯-3-醇是以无水乙醇为对照），每样品重复 5 次（余静等，2008）。

1.3 数据分析

EAG 反应相对百分比=（蚊虫触角电位受到待测物刺激前后差值/蚊虫触角电位受到对照物刺激前后差值）×100（Shirai *et al.*，2001）。行为实验数据用 ANOVA 分析，用 LSD 分析法进行差异显著性比较。

2 结果与分析

2.1 氨对白纹伊蚊行为及触角电位反应的影响

氨在浓度为 1 000、100 和 10 mg/L 时，对白纹伊蚊表现出一定的引诱作用（表 1）。从整体

表 1 白纹伊蚊对氨的行为反应

Table 1 Behavioral response of *Aedes albopictus* to ammonia

试虫（只） Test insect (numbers)	重复数（次） Repetition (times)	浓度 Concentration (mg/L)	虫数 Insect numbers (mean±SE)			*F* 值 *F* value
			处理组 Treatment	对照组 Control	不反应组 No reaction	
10	3	1 000	5.67±0.33^{A}	2.67±0.67^{B}	1.67±0.33^{B}	19.500
10	3	100	4.67±0.67^{a}	2.33±0.67^{b}	3.00±0.00^{ab}	4.875
10	3	10	4.33±0.33^{a}	2.67±0.33^{b}	3.00±0.58^{ab}	4.200
10	3	1	4.00±0.58^{a}	2.33±0.33^{a}	3.67±0.88^{a}	1.909
10	3	0.1	2.67±0.33^{a}	3.33±0.33^{a}	4.00±0.58^{a}	2.400

同一行数据后标有相同字母表示数值之间差异无统计学意义（$P>0.05$），标有不同字母表示差异有统计学意义（大写字母表示 $P<0.01$，小写字母表示 $P<0.05$）。下表同。

Data followed by the same letters on the same line indicate no statistically significant difference（$P>0.05$）, while followed by the different letters indicate statistically significant difference（capital letter shows $P<0.01$, lowercase letter shows $P<0.05$）. The same below.

趋势来看，随着氨的浓度的逐渐增大，其对白纹伊蚊的引诱效果也随之增大；当氨浓度为 1 000 mg/L 时，引诱效果最好，LSD 分析法也显示其差异极显著。随着氨浓度逐渐减小，白纹伊蚊对氨的不反应率也逐渐增大，在 0.1 mg/L 浓度时达到最大值。同时，在此浓度下，对照组中蚊虫数量要多于处理中的蚊虫数量。从触角电位反应也显示（图 1），随着浓度的增大，氨所引起的白纹伊蚊触角电位反应也逐渐增大，在氨浓度为 1 000 mg/L 时白纹伊蚊触角电位反应达到最大值。

2.2　L-乳酸对白纹伊蚊行为及触角电位反应的影响

L-乳酸在浓度为 1 000、100 mg/L 对白纹伊蚊表现出一定的引诱作用（表 2）。从整体趋势来看，随着 L-乳酸的浓度逐渐增大，其对白纹伊蚊的引诱效果也随之增大。且在 L-乳酸浓度为 1 000 mg/L 时，引诱效果最好，LSD 分析法也显示其差异极显著。随着氨浓度逐渐减小，对照组蚊虫的数量逐渐增大，在 0.1 mg/L 浓度时达到最大值。同时，5 个浓度的 L-乳酸的不反应率都明显偏大。触角电位反应显示（图 2），随着浓度的增大，L-乳酸所引起白纹伊蚊触角电位的反应也逐渐增大，在 L-乳酸浓度为 1 000 mg/L 时白纹伊蚊触角电位反应达到最大值。

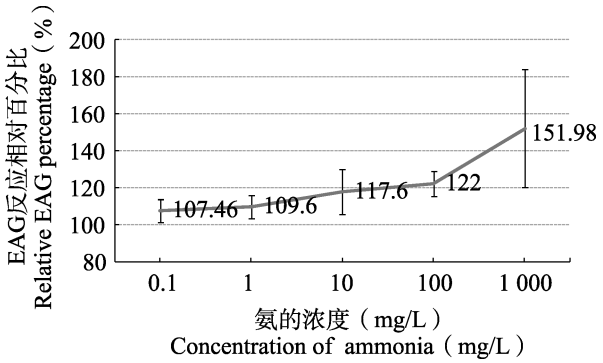


图 1　氨对白纹伊蚊触角电位反应相对值的影响

Fig. 1　Influence of ammonia on the relative EAG response of *Aedes albopictus*

2.3　1-辛烯-3-醇对白纹伊蚊行为及触角电位反应的影响

1-辛烯-3-醇在浓度为 1 000、100 mg/L 对白纹伊蚊表现出一定的引诱作用（表 3）。从整体趋势来看，随着 1-辛烯-3-醇的浓度的逐渐增大，其对白纹伊蚊的引诱效果也随之增大。且在 1-辛烯-3-醇浓度为 1 000 mg/L 时，引诱效果最好，LSD 分析法也显示其差异极显著。随着 1-辛烯-3-醇浓度逐渐减小，蚊虫的不反应率也逐渐增大。触角电位反应显示（图 3），随着浓度的增大，1-辛烯-3-醇所引起的白纹伊蚊触角电位的反应也逐渐增大，在 1-辛烯-3-醇浓度为 1 000 mg/L 时，白纹伊蚊触角电位反应达到最大值。

3　讨论

本研究通过应用触角电位和行为学的方法探讨了氨、L-乳酸、1-辛烯-3-醇 3 种人体引诱物对白纹伊蚊的影响。从结果可以看出，3 种人体引诱物对于白纹伊蚊的引诱效果和触角电位反

表 2　白纹伊蚊对 L-乳酸的行为反应

Table 2　Behavioral response of *Aedes albopictus* to L-lactic acid

试虫（只）Test insect（numbers）	重复数（次）Repetition (times)	浓度 Concentration（mg/L）	虫数 Insect numbers（mean±SE）			*F* 值 *F* value
			处理组 Treatment	对照组 Control	不反应组 No reaction	
10	3	1 000	4.33 ± 0.33^{A}	0.67 ± 0.33^{B}	5.00 ± 0.00^{A}	73.500
10	3	100	3.33 ± 0.33^{B}	1.00 ± 0.00^{C}	5.67 ± 0.33^{A}	73.500
10	3	10	3.00 ± 0.58^{ABb}	1.33 ± 0.33^{Bb}	5.67 ± 0.88^{Aa}	11.727
10	3	1	2.67 ± 0.33^{B}	2.00 ± 0.00^{B}	5.33 ± 0.33^{A}	42.000
10	3	0.1	2.00 ± 0.00^{B}	2.33 ± 0.33^{B}	5.67 ± 0.33^{A}	55.500

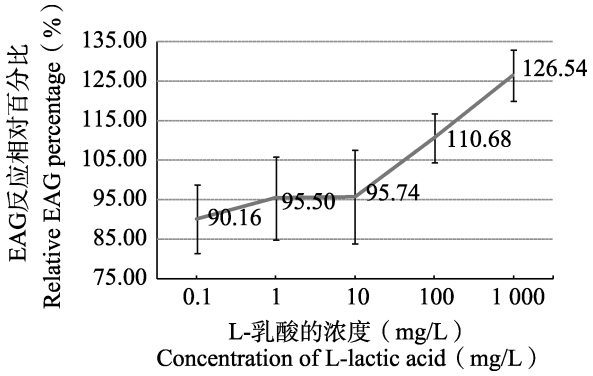


图 2 白纹伊蚊对 L-乳酸的触角电位反应相对值的影响

Fig. 2 Influence of L-lactic acid on the relative EAG response of *Aedes albopictus*

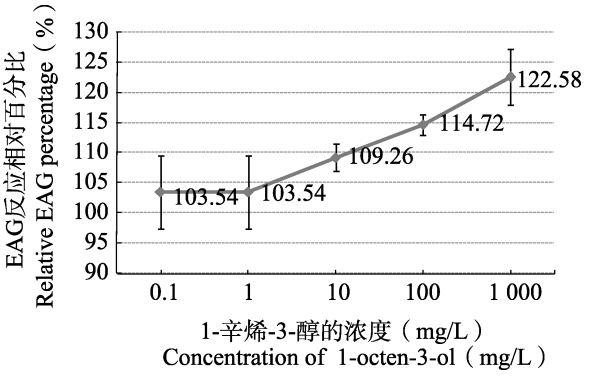


图 3 白纹伊蚊对 1-辛烯-3-醇的触角电位反应相对值的影响

Fig. 3 Influence of 1-octen-3-ol on the relative EAG response of *Aedes albopictus*

表 3 白纹伊蚊对 1-辛烯-3-醇的行为反应

Table 3 Behavioral response of *Aedes albopictus* to 1-octen-3-ol

试虫（只）Test insect（numbers）	重复数（次）Repetition (times)	浓度 Concentration（mg/L）	虫数 Insect numbers（mean±SE）			*F* 值 *F* value
			处理组 Treatment	对照组 Control	不反应组 No reaction	
10	3	1 000	5.00 ± 0.00^{A}	3.33 ± 0.33^{B}	1.67 ± 0.33^{C}	37.500
10	3	100	4.67 ± 0.33^{A}	2.67 ± 0.33^{B}	2.67 ± 0.33^{B}	12.000
10	3	10	3.67 ± 0.33^{Aa}	2.33 ± 0.33^{Bb}	4.00 ± 0.00^{Aa}	10.500
10	3	1	3.00 ± 0.00^{a}	3.00 ± 0.58^{a}	4.00 ± 0.58^{a}	1.500
10	3	0.1	3.33 ± 0.33^{a}	3.33 ± 0.33^{a}	3.67 ± 0.33^{a}	0.333

应强度随着实验浓度的增大，对白纹伊蚊的引诱效果和触角电位强度也相应增强。行为学和触角电位均显示，同等浓度下氨对白纹伊蚊的引诱效果较另外两种引诱化合物更显著；且 1-辛烯-3-醇的引诱效果相比 L-乳酸要更强。1 mg/L 以上的浓度时，其触角电位的反应增幅也逐渐增大，同时行为实验中白纹伊蚊对氨和 1-辛烯-3-醇两种人体引诱物的不反应率随着浓度的减小，而逐渐提高。可以看出在一定浓度范围内，3 种人体引诱物都表现出对浓度有一定的依赖性。但从 L-乳酸的行为学数据可以发现，L-乳酸对与白纹伊蚊的不反应率相对另外两种引诱物要高，且引诱效果要差于另外两种引诱物，这与 Shirai 等（2001）的研究结果有一定相似性，他们在研究人体表皮分泌物时，以水处理作为对照，用不同浓度的 L-乳酸涂抹于人的手臂发现，较高浓度的 L-乳酸对白纹伊蚊有着一定的驱避作用。

行为学和触角电位的研究手段相结合，针对性地研究不同蚊种对气味物质的反应，能更全面地反映和评价气味物质对不同蚊虫的引诱或驱避效果，并且大大提高筛选引诱或驱避物质的效率。Cork 和 Park 等（1996）利用触角电位仪研究冈比亚按蚊对人体汗液中化合物的外围嗅觉神经反应，结果表明，对于冈比亚按蚊来说，人体汗液中的短链的饱和羧酸（甲酸，乙酸，丙酸，丁酸，戊酸和己酸）相对于长链饱和羧酸所引起触角电位反应更为显著。Meijerink 等（2000）在试验中发现雌性冈比亚按蚊对于新鲜人类汗液样本没有任何反应，然而对于培养 42~52 h 的人类汗液样本却产生了明显的触角电位反应，进一步通过筛选测定发现这主要是由培养汗液样

本中的吲哚，6-甲基-5-庚烯-2-酮和香叶基丙酮所引起的。余静(2008)等测定了淡色库蚊雌蚊对L-乳酸、苯甲醛、氨水等几种化合物的行为反应和触角电位强度的变化，得到的结果表明氨水具有引诱作用而苯甲醛和壬醛具有潜在驱避作用。另外有些气味物质可能不直接表现出引诱或驱避效果，Knols 等（1997）结合冈比亚雌性按蚊对林堡干酪中提取分离出的脂肪酸类物质的电生理和行为反应的结果，从而推测出这些脂肪酸类物质可以表现出利它素的作用。因此，行为学和触角电位的研究手段相结合，对我国重要蚊虫的防治研究具有十分重要的意义。

参考文献 (References)

Acree F Jr, Turner RB, Gouck HK, Beroza M, Smith N, 1968. L-lactic acid: a mosquito attractant isolated from humans. *Science*, 161(3848): 1346–1347.

Bernier UR, Kline DL, Barnard DR, Schreck CE, Yost RA, 2000. Analysis of human skin emanations by gas chromatography/mass spectrometry.2.Identification of volatile compounds that are candidate attractants for the yellow fever mosquito (*Aedesaegypti*). *Anal. Chem*., 72(4): 747–756.

Braks MAH, Meijerink J, Takken W, 2001. The response of the malaria mosquito, *Anopheles gambiae*, to two components of human sweat, ammonia and L-lactic acid, in an olfactometer. *Physiol. Entomol*., 26(2): 142–148.

Cork A, Park KC, 1996. Identification of electrophysiologically-active compounds for the malaria mosquito, *Anopheles gambiae*, in human sweat extracts. *Med. Vet. Entomol*., 10(3): 269–276.

Geier M, Boeckh J, 1999. A new Y-tube olfactometer for mosquitoes to measure the attractiveness of hostodours. *Entomol. Exp. Appl*., 92(1): 9–19.

Healy TP, Copland MJW, 2000. Human sweat and 2-oxopentanoic acid elicit a landing response from *Anopheles gambiae*. *Med. Vet. Entomol*., 14(2): 195–200.

Hoel DF, Kline DL, Allan SA, Grant A, 2007. Evaluation of carbon dioxide, 1-octen-3-ol, and latic acid as baits in Mosquito Magnet Pro^{TM} traps for Aedesalbopictus in north central Florida. *J. Am. Mosquito Control Assoc*., 23(1): 11–17.

Kline DL, Takken W, Wood JR, Carlson DA, 1990. Field studies on the potential of butanone, carbon dioxide, honey extract, 1-octen-3-ol, L-lactic acid and phenols as attractants for mosquitoes. *Med. Vet. Entomol*., 4(4): 383–391.

Knols BGJ, Loon VJJ, Cork A, Robinson RD, Adam W, Meijerink J, Jonga RD, Takken W, 1997. Behavioural and electrophysiological responses of the female malaria mosquito *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) to Limburger cheese volatiles. *Bull. Entomol. Res*., 87(2): 151–159.

Meijerink J, Braks MAH, Brack AA, Adam W, Dekker T, Posthumus MA, Beek VTA, Loon VJJ, 2000. Identification of olfactory stimulants for *Anopheles gambiae* from Human sweat samples. *J. Chenm. Ecol*., 26(6): 1367–1382.

Meijerink J, Braks MAH, Van Loon JJA, 2001. Olfactory receptors on the antennae of the malaria mosquito, *Anopheles gambiae*, are sensitive to ammonia and other sweat-borne components. *J. Insect Physiol*., 47(4): 455–464.

Qualls WA, Mullen GR, 2007. Evaluation of the mosquito magnet Pro^{TM}trap with and without 1-octen-3-ol for collecting *Aedesalbopictus* and other urban mosquitoes. *J. Am. Mosquito Control Assoc*., 23(2): 131–136.

Shirai Y, Kamimura K, Seki T, Morohashi M, 2001. L-lactic acid as a mosquito (Diptera: Culicidae) repellent on human and mouse skin. *J. Med. Entomol*., 38(1): 51–54.

Takken W, Kline DL, 1989. Carbon dioxide and 1-octen-3-ol as mosquito attractants. *J. Am. Mosquito Control Assoc*., 5(3): 311–316.

Xin WL, Jiang ZK, Lu PY, Liao SL, Wang ZD, 2013. Electroantennogram technique and its application in mosquito attractant and repellent research. *Chin. J. Hyg. Insect & Equip*., 19(2): 162–165. [忻伟隆, 姜志宽, 卢平英, 廖圣良, 王宗德, 2013. 触角电位技术及其在蚊虫引诱与驱避研究中的应用. 中华卫生杀虫药械, 19(2): 162–165.]

Yu J, Li CX, Dong YD, Zhao TY, 2008. Behavior and antenna electrophysiology response of*Culexpipienspallens* to several compounds. *Acta Parasitol. Med. Entomol. Sin*., 15(3): 154–157. [余静, 李春晓, 董言德, 赵彤言, 2008. 淡色库蚊对一些化合物的触角电生理及行为反应. 寄生虫与医学昆虫学报, 15(3): 154–157.]