

挥发性植物源害虫引诱剂筛选与 混配方法的新视角*

李为争^{1**} 胡晶晶¹ 陈汉杰² 郭线茹¹ 王 琼¹ 原国辉^{1***}

(1. 河南农业大学植物保护学院, 郑州 450002; 2. 中国农业科学院郑州果树研究所, 郑州 450009)

摘 要 成虫期是农业害虫世代发育链中容易实施人为干预的薄弱环节, 利用植物源引诱剂诱杀成虫具有微量高效、兼容配套、环境友好、不易产生抗性等优点。此前已经筛选出了一些简单配方, 但其害虫诱杀量占自然种群的比例以及诱杀选择性还未达到令人满意的水平。传统化学生态学技术针对植物源害虫引诱剂的筛选存在两个难题, 一是如何将组织程度较高的植物挥发物谱合理地分解为若干子系统, 然后对其功能进行有机的耦合; 二是针对数量众多的电生理或行为活性成分, 如何设计引诱剂配方并进行整体优化。在这篇综述中, 作者指出了传统化学生态学某些技术环节的不足之处; 综述了近年来国内外植物源害虫引诱剂筛选与应用的新思路以及人类调香术对于引诱剂研制的启示; 给出了电生理活性成分的正交组合测定法, 以及引诱剂大田配方设计的关键方法——配方均匀设计的原理和案例。

关键词 引诱剂, 筛选, 气味环渡理论, 超级混配法, 配方均匀设计

A new perspective on the screening and blending of volatile pest attractants derived from plants

LI Wei-Zheng^{1**} HU Jing-Jing¹ CHEN Han-Jie² GUO Xian-Ru¹
WANG Qiong¹ YUAN Guo-Hui^{1***}

(1. College of Plant Protection, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;

2. Zhengzhou Fruit Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450009, China)

Abstract The adult stage of agricultural insect pests represents a window within which artificial interference can affect the entire subsequent generation. Plant-derived attractants that are effective, compatible, environmentally friendly, and long-lasting resistance have proven difficult to develop. Some simple attractant blends have been developed, however, their effectiveness with respect to both luring a significant proportion of the target species population, and reducing the proportion of beneficial non-target insects caught, have never been satisfactory. Two barriers hinder the screening and blending of plant-derived attractants using traditional chemical ecology methods; the first is how to rationally break-down a highly organized plant volatile profile into its constituent chemicals and then to re-organize these to produce compounds with a useful biological function, the second is how to design and optimize attractant blends in trapping experiments after the identification of some individual electrophysiological or behaviorally active components. In this review, we first describe some technical bottlenecks in traditional chemical ecology; then review some recent novel ideas for the screening and application of plant-derived attractants, including the implications of perfumery for attractant development. Finally we recommend two complementary screening methods; the first is laboratory behavioral bioassay of the orthogonal combination of electrophysiologically active components, the second is the principles of uniform formula design, which is a key blending method for attractants in field trapping.

Key words attractant, screening, scent transition circulation, super-blending, formula uniform design

* 资助项目 Supported projects: 国家公益性行业(农业)专项资助项目(201203036); 郑州市重点科技攻关项目(141PZBG200)

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

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: hnndygh@126.com

收稿日期 Received: 2014-09-26, 接受日期 Accepted: 2014-10-30

在农林害虫世代发育链中,成虫期是种群繁衍的关键阶段,易受各种环境因子的影响,也是容易实施人为生态干预的薄弱环节(苏建伟等, 2001)。一方面,成虫是扩散能力最强的虫态,且取食、求偶和产卵主要依赖嗅觉(鲁玉杰和张孝羲, 2001);另一方面,成虫产卵寄主选择决定着后代幼虫分布(Thompson and Pellmyr, 1991),补充营养状况决定着产卵量和后代种群数量。许多农业害虫成虫依赖植物花蜜作为补充营养,对花香挥发物的依赖大约从白垩纪晚期就已经形成,故这类物质极难使害虫产生抗性(王珏, 2013)。因此,可以用性信息素和植物源引诱剂等散布的点气味源控制大尺度空间的成虫运动,二者均具有微量高效、兼容配套、环境友好等优点,易实现害虫种群的可持续控制(李洋洋等, 2014)。多数害虫自然种群性信息素的配比具有进化稳定性,模拟性腺中的自然比例就能制备出活性诱芯,许多害虫种类的性信息素制剂已经走向产业化之路(孟宪佐, 2000; 陈学新, 2010),故作者主要讨论配方设计相对困难的挥发性植物源引诱剂筛选与混配方法。

对农业害虫具有引诱活性的植物种类以及植物源引诱剂配方筛选方面已经出现了几篇很好的综述(Renou and Guerrero, 2000; Cook *et al.*, 2007),一些简单配方也已经筛选出来(Meagher and Landolt, 2010),但害虫诱杀量占自然种群的比例以及诱杀选择性还未达到实际可用的水平(Bruce *et al.*, 2002)。为了促进引诱剂的转化,作者撰写了本综述。

1 挥发性植物源引诱剂筛选的途径

植物在受到昆虫取食(Allmann *et al.*, 2013)、产卵(Meiners and Hilker, 2000)和授粉(Muhlemann *et al.*, 2006)之后,释放的挥发物谱均有可能发生改变,这种挥发物谱也受邻居植物的影响(Ninkovic *et al.*, 2013)。挥发性植物源引诱剂筛选的传统步骤如下:(1)获得活性植物,比较不同生育期的引诱效果,并定位植物活性器官;(2)利用生物测定辅助的化学分离获得

粗提物或者活性馏分;(3)通过气相色谱-触角电位联用技术(Gas chromatography-electroantennographic detection, GC-EAD)等电生理技术缩小行为待测物质的范围;(4)采用气相色谱-质谱联用技术(Gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)进行定性和定量分析;(5)电生理活性物质的嗅觉行为活性;(6)配方优化。在上述流程中,步骤(1)比较容易完成,步骤(4)相当成熟,其他步骤没有普适性方案(闫凤鸣, 2011)。

1.1 化学分离

植食性昆虫究竟是如何依赖嗅觉识别寄主植物挥发物的?这个问题出现过两个对立的观点。第一个观点认为植食性昆虫对植物挥发性混合物的知觉建立在“整体印象”上(Späthe *et al.*, 2013)。例如,智利小植绥螨 *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot 对猎物二斑叶螨 *Tetranychus urticae* Koch. 为害的利马豆 *Phaseolus lunatus* Linnaeus 诱导产生的 30 种挥发物中,除了正辛醇、顺-3-己烯醇和水杨酸甲酯外,其他所有成分在单独测试时均是无活性或驱避性的,而 30 种成分按照自然比例混合则对智利小植绥螨有很强引诱力(van Wijk *et al.*, 2008);大豆释放的 15 种挥发物中,10 种在单独测试时对黑豆蚜 *Aphis craccivora* Koch. 有驱避作用,若将它们混合起来则能激发很强的正趋性反应,尽管混合物中各成分采用的浓度均是独立测试时能激发最强驱避反应的浓度(Webster *et al.*, 2010)。第二种观点认为,植物的不同组织可以释放数百种化合物,但是昆虫的触角只选择对混合气味中的少数成分做出反应,激发行为反应的甚至需要更少的气味就行了(Rojas, 1999; Zhang *et al.*, 1999; Fraser *et al.*, 2003),这方面的案例似乎比第一类更多(Sun *et al.*, 2012)。

事实上,这两种观点的对立可以追溯到还原论和整体论的对立。在一个无组织的系统中,每个子系统均可以显示出整体的部分属性;而在一个组织程度较高的系统中,各个组成部分之间的相互作用远比这些构成要素本身更为重要。昆虫

究竟是依赖“整体印象”还是“关键组分”识别植物,差别在于植物挥发物谱组织程度的高低。在解析昆虫的嗅觉知觉时,必须以适当的方式将挥发物谱分解成某些适当的子系统,才能对各子系统的功能进行耦合,再现整体属性。例如,在白菜籽象甲 *Ceuthorrhynchus assimilis* (Paykull) 向油菜田远距离迁移阶段,3-丁烯基异硫氰酸酯、4-戊烯基异硫氰酸酯和2-苯乙基异硫氰酸酯起主要引诱作用,然而进入油菜田后异硫氰酸酯类物质不再起作用,苯乙腈和苯甲醇诱导这种象甲优先选择开花的植株 (Smart and Blight, 1997),说明将油菜的气味谱拆分为“十字花科叶片特征挥发物”和“花香气味”两个子系统是适合的。Li 等 (2005) 在筛选黑杨 *Populus nigra* L. 中引诱夜蛾的配方时发现,黑杨萎蔫叶片的挥发物按照气相色谱中的保留时间顺序,可以分为4大类“峰簇”:杂醇油类、绿叶气味类、单萜和芳香族化合物类及长脂肪链化合物。将这些峰簇逐一按照自然比例混配进行诱捕测试,发现芳香族化合物峰簇在引诱夜蛾中最为关键。然而,现代分析仪器是将复杂气味谱直接拆分成最小构成单位——分子,造成了后期配方筛选的盲目性,故萃取、蒸馏、吸附、过滤等 GC-MS 的前导步骤是非常重要的。

然而,上述规律针对植物-昆虫之间的相互通讯也不具有普适性。一般做法是通过柱层析将植物活性粗提物淋洗得到许多馏分,测试不同馏分组合的行为活性,尽可能地避免子系统被过度分解为更小的构成要素。在菜粉蝶 *Pieris rapae* Linnaeus 和暗脉菜粉蝶 *P. napi oleracea* Linnaeus 对葱芥 *Alliaria petiolata* (Bieb.) 产卵接受度分化的研究中,作者们首先将葱芥水提物分为丁醇可溶性部分和丁醇不溶性部分,进一步采用水-甲醇构成的溶剂系统淋洗有活性的丁醇不溶性部分,得到25个馏分。随后作者分别测试下述馏分组合:Fr 1-4、Fr 5-10、Fr 11-18 和 Fr 19-25,成功地弄清了菜粉蝶和暗脉菜粉蝶对葱芥产卵接受度分化的化学基础 (Huang *et al.*, 1995)。遗憾的是,在引诱剂筛选中鲜见这样的思路和做法。

总之,在植物源引诱剂筛选中,直接采用

GC-MS 分析原始提取物,往往会得到几十种甚至数百种挥发物,其购置和合成困难,不利于澄清昆虫与植物之间的化学通讯机制,故寻找构成化学指纹图的“直接子系统”非常关键。

1.2 行为测定

常用的室内行为测试装置有通管嗅觉仪、“Y”形嗅觉仪、“T”形嗅觉仪、四臂嗅觉仪等 (闫凤鸣, 2011), 现以最简单常用的“Y”形嗅觉仪为例探讨其存在的问题。

首先,每头试虫仅有1次测试机会,一旦选择了一个支臂,就很难调转身体进入另一个,没有利用前期经历纠正选择的机会,故生态学关联性较差。而野外的昆虫往往通过行为上的试错与不断微调才能再认寄主。例如,无经历的智利小植绥螨并不偏好番茄受猎物二斑叶螨为害诱导的挥发物,然而暴露于受害番茄+二斑叶螨混合放置的环境下超过15 min 的有经历个体,却能够将螨害诱导的植物挥发物与猎物的存在联系起来 (van Wijk *et al.*, 2008)。棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner) 自然种群偏好的蜜源寄主或产卵寄主往往是局部丰度较高的植物种类,这是由于野外与丰度较高的植物种类接触频次更高造成的 (Jallow *et al.*, 2004)。适合/不适合降落理论 (Appropriate/inappropriate landings) 认为,所有情况下昆虫首次选择降落的植物,即使是“寄主”,也不足以通过跗节或头部附肢的接触性化学感器刺激昆虫滞留在植物上。例如,在接受一种寄主产卵前,白菜根蝇 *Delia radicum* L. 雌虫在沿着植物产卵前平均要做4次盘旋飞行,在搜索合适产卵位置时,高刺激性植株只需访问2片叶,而刺激性较低的植株上则需要访问6片叶,菜粉蝶在产下第一粒卵之前总是与数种叶片接触并做短距离飞行,只有当连续几次降落在合适寄主植物上之后才会产卵 (Finch and Collier, 2000)。

其次,研究者在统计时往往剔除测试结束时仍停留在主臂中的试虫数量,但如果其所占比例特别大,有可能恰好代表了自然界最常见的个体,而选择处理支臂或对照支臂的才应当视为极

端个体。而通过饥饿处理、延长观察时间、缩短臂长、降低“选择反应”标准(如进入支臂 2/3 即视为有效选择)等方案则进一步丧失了生态学关联性。此外,还有一种方法是在处理、对照支臂均辅助强引诱源如食物、光照、色板等,一些强引诱源有时会掩盖处理和对照刺激之间本来应当统计显著的差异。在样品属性未知且试样较多时,标准引诱源的选择是不可能的。

最后,Y 形嗅觉仪采集的数据类型为二项分布的频次数据,一般采用 Yate 修正的 χ^2 测验进行分析。然而,这种统计方法将统计结果判定为“极显著”、“显著”和“不显著”的范围非常狭窄。例如,当测试总虫数为 50 头时,两支臂选择频次之比为 18:32 时会达到显著性差异,15:35 时会达到极显著差异,仅仅 3 头试虫改变其选择就会造成统计结论的质的变化;当测试虫数为 100 头时,40:60 会达到显著性差异,37:63 会达到极显著差异;当测试虫数为 1 000 头时,469:531 会达到显著性差异,460:540 会达到极显著差异。这符合生物学直观经验吗?

1.3 传统化学生态学中的电生理学技术

触角电位技术(Electroantennography, EAG)用来确认能够激活昆虫触角电生理反应的成分,缩小行为测试物质范围,但不能明确化合物激发的行为类型。另外,触角是和触角叶、大脑联合表征嗅知觉的,EAG 值可以准确反映刺激物理量的大小,但感觉量与知觉量呈复杂的非线性关系。在心理学领域已有 Weber-Fechner 定律等数学模型来描述(彭聃龄,2004),但在昆虫触角电位测试时却很少建立过有用的数学模型。行为反应和 EAG 反应有时会出现较大的偏差。例如,菜粉蝶对日本女贞 *Ligustrum japonicum* 花香挥发物成分的喙伸展反应(Proboscis extension response)与自然现象吻合,但和 EAG 测试结果偏差较大(Honda *et al.*, 1998)。Gregg 等(2010)甚至认为触角电位技术不能为棉铃虫引诱剂筛选带来任何帮助。但客观地讲,有电生理活性的物质不一定有行为活性,反过来,没有触角电生理活性的物质具有行为活性的可能性更是微乎

其微,因此该技术对于缩小行为待测物质的范围还是有一定辅助作用的。

色谱是分离效能极高的分析技术,而昆虫的触角是高度灵敏的生物嗅觉检测器,二者的优势互补就形成了 GC-EAD 技术,在性信息素研究领域得到了越来越广泛的应用,但该系统并没有克服以下局限性。首先,单独的 EAG 测试中刺激间隔期一般是 30 s,以便保证离体触角反应活性的恢复,而在 GC-EAD 操作中,刺激时间间隔却是由植物挥发物中各成分在气相色谱仪中的保留时间决定的,每种成分流经触角时的嗅觉疲劳程度无法实现标准化控制;其次,EAG 测试中不同成分的刺激剂量可以精确控制,而在 GC-EAD 中每种化学成分的刺激量取决于其在挥发性混合物中的含量,电生理信号的大小可能与各成分的含量有关;再次,该技术难以克服两种成分之间的协同现象。假设混合物中 A 和 B 两种成分必须共存才能激发电生理或行为反应,但在 GC-EAD 装置中它们由于保留时间的差异是先后刺激触角的;最后,在进样量的要求方面,GC 与 EAG 之间存在尖锐的技术矛盾,为实现前者的色谱峰基线分离要求较小的进样量和较大的分流比,但这样一来,本来特异性就不很强的植物源信息化合物很容易淹没于生物电生理噪声中。因此,当前该技术大量应用于昆虫性信息素领域,而在“特异性”不强的植物源引诱剂筛选应用相对较少,尤其是多食性害虫种类的植物源引诱剂。

未来随着化学分析技术的进步,可能会彻底克服上述障碍,例如用自然植物气味混合物刺激试虫群体,然后捕获有行为反应的个体,直接剪取触角并分析其从总挥发物中吸附了哪些关键分子,得到触发行为反应的活性物质,即使嗅觉感受器的受体膜上有高效的降解酶系,根据其降解产物也容易推断其前体,但目前的色谱检测限尚难达到生物感受器的灵敏度。此外,昆虫嗅觉信息的初级处理中心是触角叶(Antennal lobe),其中含有数目不等的基本构成单元即嗅小球(Glomerulus),在不同化学刺激作用下会发生特异性激活,这种激活图式也能为昆虫性信息素

的植物源增效剂筛选提供许多有价值的信息,因为和触角电位等技术相比,该技术检测的是中枢嗅觉系统而不是外周嗅觉系统的变化,如海灰翅夜蛾 *Spodoptera littoralis* (Boisduval) 和烟草天蛾 *Manduca sexta* (Linnaeus) 等模式昆虫方面已经进行的工作 (Sadek *et al.*, 2002; Carlsson and Hansson, 2003; Hansson *et al.*, 2003)。

2 挥发性植物源害虫引诱剂筛选的新思路

近年来在挥发性植物源引诱剂的筛选上出现了一些新思路,基本思想是将害虫取食、产卵和求偶涉及的信息化合物进行整合;另外就是“超级混配法”(Super-blending) (Gregg *et al.*, 2010) 和“气味环渡理论”(林翔云, 2008)。

2.1 不同行为意义的信息化合物整合

尽管植物源引诱剂可以诱杀雌成虫,但诱捕量相对较少,与性信息素混合使用是一个重要的思想 (樊慧等, 2004)。当前已经发现了寄主植物挥发物对害虫性信息素增效的大量事例 (Nakamuta *et al.*, 1997; Meagher and Mitchell, 1998; Rochat *et al.*, 2000; Light *et al.*, 2001; Ochieng *et al.*, 2002; Deng *et al.*, 2004a, 2004b; Yang *et al.*, 2004; Schmidt-Büsser *et al.*, 2009; von Arx *et al.*, 2012), 也出现了几篇很好的综述 (Landolt and Phillips, 1997; 戴建青等, 2010)。植物挥发物对昆虫性信息素的增效机理大致可以归纳为 4 个方面: (1) 寄主植物挥发物刺激雌性信息素释放量的增加; (2) 寄主植物挥发物增强雄虫对性信息素反应的灵敏度; (3) 增强雄虫对过高或过低剂量的性信息素的定向精度 (王振华等, 2008)。双室串联法可以用来鉴别机理 (1) 和 (2), 其中一个小室放置植物挥发物, 另一个小室放置释放性信息素的昆虫, 使洁净空气序贯性地流过两个小室, 再作为气味源输送到嗅觉仪中, 测试性信息素接受者的趋向反应, 并与一个小室留空、另一个小室放置信息素源或者植物挥发物源的对照进行比对, 根据植物挥发物是位于性信息素释放者的上游显著增效还是放在

下游显著增效判断增效机理 (Landolt *et al.*, 1994)。我们认为, 寄主专化性较强的种类和/或飞行能力较差的种类最有可能发生这种协同作用。

同种植物的花香挥发物和绿叶气味之间也会发生嗅觉协同作用。例如, 无经历的、饥饿的烟草天蛾未交配雌蛾对野生二倍体烟草 *Nicotiana attenuata* 和怀特曼陀罗 *Datura wrightii* 各自种内花香挥发物与绿叶气味混合物的趋性显著比种间花香挥发物和绿叶气味交叉结合 (怀特曼陀罗花香气味置于野生二倍体烟草植株叶片气味背景下, 或者烟草花香气味置于怀特曼陀罗植株叶片气味背景下) 的趋性强, 这种趋性属于典型的取食引诱作用而不是产卵引诱作用 (Kárpáti *et al.*, 2013)。需要指出的是, 花香引诱剂一般是直接放在寄主植物田应用, 作物田本身就具有绿叶气味嗅觉背景, 即使在室内发现种内花、叶挥发物的协同作用, 在田间也可能因更加浓重的绿叶气味背景而失去协同效应。又一种观点认为上述种内花叶挥发物结合并不必要, 夜蛾类成虫的蜜源寄主和产卵寄主往往是分离的, 应用的基本方向是将蜜源寄主的花香气味用于产卵寄主田 (李为争, 2003)。

此外, 信息化合物往往在不同情境下对昆虫具有不同的行为学意义, 即所谓的信息多义性 (李洋洋等, 2014)。例如, 在寄主作物少数开花的情况下, 棉铃虫会优先选择在开花植株上或附近产卵, 某些开花期的非寄主植物上的落卵量比未开花的产卵寄主上还多 (Cunningham *et al.*, 1998, 2006), 暗示着花香挥发物与取食寄主和产卵寄主的选择均有关系, 已经明确常见的花香挥发物苯乙醛与乙酸苯甲酯的二元混剂能够增强棉铃虫性信息素的诱捕量 (王珏, 2013)。

2.2 超级混配法

由于害虫取食和产卵存在学习行为, 害虫自然种群对不同寄主作物的偏好程度与这些寄主作物的局部丰度有很大关系, 故人工引诱剂如果在成分和配比上完全模拟某种引诱力强但丰度较低的寄主植物的话, 可能会逐渐失效 (Cunningham *et al.*, 1999)。“超级混配法”

即将对多食性害虫成虫有引诱力的数种植物共性成分混合, 但混配比例不要模拟任何特定引诱性植物中的自然含量, 这样制备的配方不易受到蜜源背景气味的干扰 (del Socorro *et al.*, 2010)。这样的人工配方可能是创造了一种独特的、组织程度较高的气味谱系统, 类似于调香术领域的“陈化 (Aging)”现象 (林翔云, 2008)。害虫引诱剂的应用中, 诱捕夜蛾类害虫常用的糖醋酒液引诱剂就利用了食醋、白酒等充分陈化的发酵物, 其中白酒挥发物中痕量的 3-甲基-1-戊醇和异戊醇等杂醇油成分对乙醇起着强化作用 (Tóth *et al.*, 2010), 而食醋顶空挥发物中痕量的乙偶姻 (3-羟基-2-丁酮) 则对乙酸起着强化作用 (Becher *et al.*, 2010)。又如, 在单独测试时, 来自棉铃虫引诱性植物中的 34 种挥发物中仅 7 种有显著引诱作用, 6 种显著驱避; 然当, 多元配方混合测试时, 31 个配方中的 21 个有显著引诱活性, 仅 1 种显著驱避, 最有引诱力的配方包含 4~6 种成分。因此, 配方的成分构成必须达到一定的复杂度 (Gregg *et al.*, 2010)。但在寡食性烟草天蛾的研究中也发现了截然相反的现象。怀特曼陀罗和野生二倍体烟草叶片释放的气味对无经历的烟草天蛾雌虫均具有很强的引诱力, 但二者顶空挥发物混合在一起则没有任何引诱作用 (Späthe *et al.*, 2013)。这可能在于上述两个研究所用的昆虫种类食性方面存在较大差异。

然而, 我们认为“超级混配法”从理论上是可行的, 但仍然仅是一个试错性的概念。寻找某种多食性害虫有引诱力的植物并鉴定其共性引诱活性成分相对容易, 但怎样“不模拟任何特定引诱性植物中的自然含量”而又要设计出最优化的配方仍然需要大量的诱捕试验。

2.3 气味环渡理论

人类调香产品方面已经有了大量成熟的理论, 可以为植物源害虫引诱剂设计提供新思路。“气味环渡理论”是将各种气味排列在一个圆图上 (图 1), 利用“相邻补强、对角补缺”的规律指导香料之间的相互强化或相互掩蔽 (林翔云, 2008)。例如, 令人厌恶的粪尿气味分布在

左下方, 其相邻位置是鱼腥味和虾蟹腥味, 而在其相对方向则是樟脑香、桉叶香等, 这就可以理解为什么要在卫生间放置樟脑而不是死鱼和死虾等, 当前急需验证该理论是否在不同害虫的气味感觉方面存在普适性, 或总结出害虫专用的气味环渡理论。

3 基于应用数学的引诱剂筛选技术

植物挥发物成分极为复杂, 害虫引诱剂不需要将所有成分全部混入, 也不需要按其自然比例混配。研究难点主要有两方面: 一是植物挥发物谱怎样合理地分解为若干子系统, 准确再现害虫对诱集植物挥发物的嗅觉识别机制; 二是引诱剂配方的整体优化, 提高对靶标害虫自然种群的诱杀量和降低对益虫的杀伤作用。

针对第一个难题, 我们认为按照“次生代谢途径”来分解气味谱是合适的, 即划分为乙酰-丙二酸途径产物 (例如绿叶气味)、乙酰-甲羟戊酸途径 (萜类) 和莽草酸途径 (芳香族化合物)、糖酵解产物等, 因为信息化化合物的生态学意义就是为植食性昆虫提供寄主存在以及营养质量的信息, 而唯独次生代谢产物才能被植物弥散到大气中并在较远的距离被昆虫识别, 但次生代谢产物与基本营养物质存在对应的生化关系; 针对第二个难题, 需要适于多因素、多水平的配方设计方案, 中国数学家王元、方开泰开发的配方均匀设计可以有效地解决这个问题。结合上述传统化学生态学步骤的薄弱环节, 我们从柱层析、电生理活性化合物行为筛选、诱捕配方设计三方面提出一些建议。

3.1 采用逐步减少馏分组合法对柱层析产物进行行为测定

柱层析是植物材料初步筛选和后期化学分析之间的关键步骤。一般选择沸点较低、相互可溶的两种溶剂 (如石油醚-乙醚, 二氯甲烷-乙醚, 正己烷-乙酸乙酯), 按不同体积比混成一系列淋洗液, 将活性粗提物样品置于层析柱中, 按极性最弱到极性最强的顺序依次淋洗并分别收集相应馏分, 每个馏分收集 1~5 mL, 馏分收集总数

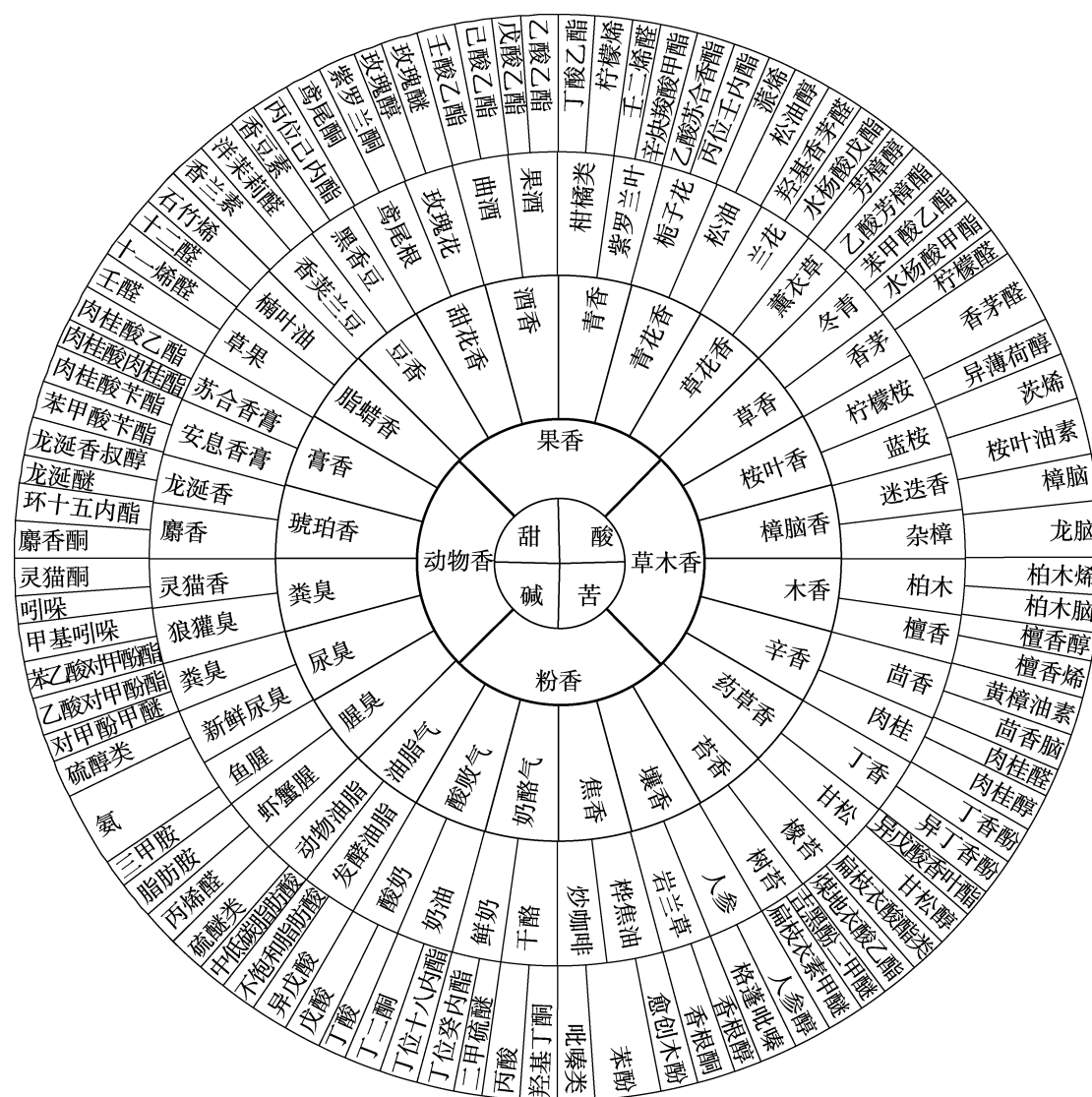


图1 人类嗅觉感觉的自然界气味环渡理论图 (林翔云, 2008)

Fig. 1 Transition circulation diagram of natural scents based on the smell of human beings (Lin, 2008)

以 10~20 个为宜。采用从末端逐步减少馏分的方法进行生物测定, 以等当量母液为参照, 获得生物活性和母液差异不显著的最简馏分组合, 再进行 GC-MS 或 GC-EAD 测定。假设收集了 10 个馏分, 按照收集顺序分别编号为 Fr1、Fr2、Fr3.....Fr10。第一步, 将所有馏分全部混合起来, 浓缩后与母液进行生物活性比较, 判断淋洗溶剂系统是否有效; 第二步, 从馏分全组合中去除 Fr10, 浓缩后再次与母液比较, 若活性相当则进一步去掉 Fr9 和 Fr10。该过程持续进行, 直到去掉某个馏分后生物活性和母液相比显著下降

为止。然后保留该馏分并从另一端开始重复上述筛选步骤, 从而获得最简活性馏分。

3.2 采用两水平正交设计对电生理活性物质进行筛选

经过初步筛选后电生理活性物质一般不超过 15 个, 适合采用 2 水平正交设计进行行为测定。假设获得了 6 种电生理活性物质 (A、B、C、D、E 和 F), 两个水平分别是某物质在配方中不存在和以自然浓度存在 (表中的“+”), 试验指标是引诱百分率 (a、b、c、d、e、f、g 和 h)。应当选择 $L_8(2^7)$ 正交表, 将 6 种成分随机安排在

表 1 6 种电生理活性物质的 $L_8(2^7)$ 正交设计方案示例
Table 1 Example of an $L_8(2^7)$ orthogonal design for behavioral bioassay of six candidate electrophysiological active compounds

配方编号 Blend code	配方中的电生理活性成分 Electrophysiological active components in blends							引诱百分率 Percentage of attraction
	A	B	空白 CK	C	D	E	F	
1			1					a
2			1	+	+	+	+	b
3		+	2			+	+	c
4		+	2	+	+			d
5	+		2		+		+	e
6	+		2	+		+		f
7	+	+	1		+	+		g
8	+	+	1	+			+	h
K_1	a+b+c+d	a+b+e+f	a+b+g+h	a+c+e+g	a+c+f+h	a+d+e+h	a+d+f+g	
K_2	e+f+g+h	a+d+g+h	c+d+e+f	b+d+f+h	b+d+e+g	b+c+f+g	b+c+e+h	
R	$K_{2A}-K_{1A}$	$K_{2B}-K_{1B}$	K_2-K_1	$K_{2C}-K_{1C}$	$K_{2D}-K_{1D}$	$K_{2E}-K_{1E}$	$K_{2F}-K_{1F}$	

表中第 2 行的大写字母代表 7 种成分的编号, 最后一列的小写字母表示 8 个相应配方的引诱百分率, K_1 和 K_2 是正交设计极差分析步骤引入的中介变量, 其下角标代表的是水平编号, R 指的是极差, 即某一因素列下方一系列 K 值的最大值和最小值之差。

Capital letters in the second row represent codes of the seven components, small letters in the last column indicate attracting percentages of the eight corresponding blends, “ K_1 ” and “ K_2 ” indicate mediator variables in the range analysis of orthogonal design, whose subscripts represent level code, “ R ” indicates range, i.e. the difference of maximum K value subtract the minimum K value in a certain factor column.

7 个列上并留下 1 个空白列估计随机误差 (表 1 中为第 3 列)。测试结束后, 通过极差分析和方差分析判断各成分的效应是否显著, 哪些成分是冗余的, 哪些是关键组分。正交设计的极差分析可以借助 Microsoft excel 软件直接进行, 方差分析可方便地通过 SPSS 统计软件的一般线性模型完成。

3.3 以配方均匀设计为指导的野外诱捕

任何电生理、行为学等研究结果最终必须放在自然环境下检验才有可能被推广应用, 而大田诱捕是实现该目的的终端步骤, 也是植物源引诱剂研发最困难的环节。当前国内外植物源引诱剂的许多配方是凭随机合成筛选得到的, 耗时长, 代价大。例如, 在蔷薇刺蛾金龟 *Macrodactylus subspinosus* Fabricius 引诱剂的配方优化中, 第 1 个季节比较了 20 种化合物与标准引诱剂 (缬草酸+己酸+丁酸辛酯=1:1:1) 的活性, 发现并确定了 2 个引诱剂配方 (缬草酸+1-壬醇=1:1;

缬草酸+己酸+丁酸辛酯+1-壬醇= 1:1:1:1:1) 优于标准引诱剂, 研究者将二者确定为“新标准引诱剂”;第 2 个季节将 36 种化合物单剂与新标准引诱剂对比, 发现上述“新标准引诱剂”中的 1-壬醇如果替换成其同系物(*E*)-2-壬烯醇后则诱捕效能大大提高;第 3 次试验采用 29 种新的候选化合物与缬草酸复配, 并与“新标准引诱剂”之一 (缬草酸+己酸+丁酸辛酯+1-壬醇=1:1:1:1) 进行比较, 发现 α -紫罗兰酮+缬草酸引诱力更强;最后研发了一种新的五元组分诱芯: 缬草酸+己酸+丁酸辛酯+(*E*)-2-壬烯醇+ α -紫罗兰酮 (Williams *et al.*, 2000)。即使如此, 这个五元配方也不一定是最优的, 因为其中各种化合物均为等比例混合, 微调一下相对含量也许效果更好。类似案例还有日本弧丽金龟 *Popillia japonica* Newman、玉米根萤叶甲 *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte、油菜露尾甲 *Meligethes aeneus* Fabricius 及各种金翅夜蛾花香成分引诱剂研究, 因篇幅所限参考文献不再列出。

另一种常见的方式是模拟设计 (Simulation design), 即模拟自然植物释放挥发物的成分及其比例, 购买纯试剂进行混合和大田检验, 该方法适于活性物质种类单一、特异性强的配方, 如性信息素。但植物源引诱剂往往活性物质种类较多, 特异性并不强, 不同成分之间的相互作用关系非常复杂, 这种配方因大田背景气味的强干扰作用, 很难做到“源于自然, 超越自然”。例如, Gregg 等 (2010) 发现棉铃虫引诱剂的配方不必模拟任何一种蜜源寄主或者产卵寄主挥发物的配比, 人工制备的配方效果更强, 其他的多食性害虫可能普遍存在这个现象。

后来出现了单纯形格子点设计和单纯形重心设计等 (李云雁和胡传荣, 2008)。在单纯形格子点设计中, 设正规单纯形的高为 1, 这样在正规单纯形组成的超几何空间中, 各个点到各边 (或面) 的距离总和为 1, 因此这些点可以方便地用来表示各成分组成的配方在超几何空间中的分布。例如, 假设有 3 种组分 A、B 和 C, 其 2 阶单纯形格子点设计的 6 个配方如下: (1) 100% A; (2) 100% B; (3) 100% C; (4) 50% A + 50% B; (5) 50% A + 50% C; (6) 50% B + 50% C。可以看到, 这 6 个配方中没有 1 个包含所有 3 种组分。3 种成分的 3 阶单纯形的 10 个配方中才仅仅包含一个 3 种成分的等比例混合物。如果在害虫引诱中必须 3 种成分协同才能发生作用, 那么事实上仍无研究 3 成分之间剂量相互作用的机会 (图 2: 左)。这种设计的缺陷是试验点分布在单纯形顶点和边线上的过多, 而单纯形空间内部的试验点太少, 需要的试验次数随着组分数和阶数 (即每种成分的水平数) 上升快速增多。假设组分数为 m , 每种成分的水平数为 d , 则试验的总配方数计算公式为:

$$\{m, d\} = \frac{(m+d-1)!}{d \times (m-1)!}$$

适于植物源害虫引诱剂配方设计方法主要有正交设计 (Orthogonal design) 和配方均匀设计 (Formula uniform design) 两种, 前者适于待测物质较多时的情况, 这时每种物质的剂量水平

数不能太多, 常用于初步筛选, 而后者适用于活性物质已经明确且数量不很多、但需要精益求精地优化配方时。两种设计有机结合是大田引诱剂筛选最关键的途径。

配方均匀设计的基本思想是通过 Monte Carlo 模拟或数论的方法在因素 $\times$ 水平组成的超几何多面体内部找到一系列有代表性的试验点, 每个点代表一个多元配方, 使这些点在该空间尽可能散布均匀。实际应用中, 常利用配方均匀设计表 [$UF_n(n^m)$ 或 $UF_n^*(n^m)$] 来设计配方, n 代表一组优化试验制备的总配方数或每个成分的剂量数, m 代表配方中的组分数, 根据配方均匀设计表相应的使用表进行配方设计。试验完成后利用逐步回归法剔除无关因素, 或引入二阶交互项、二次项等虚拟变量, 获得高效、简易的配方 (李云雁和胡传荣, 2008)。例如, 此前已经发现花香挥发物中具有诱蛾活性的多是芳香族化合物, 但采用配方均匀设计进行野外诱捕却发现, 一个最优的配方仅苯乙醛、乙酸苯甲酯和水杨醛 3 种成分就够了, 而经常报道的两种活性成分苯甲醛和苯甲醇的混入反而对多数蛾类的诱捕具有普遍的抑制作用 (李为争等, 2014)。以 3 种组分为例, 在总配方数均为 10 个的情况下, 配方均匀设计与单纯形格子点试验点的分布对比如图 2 (左) 所示, 总配方数为 15 个的情况下两种设计方法的对比如图 2 (右) 所示。从中明显可以看出, 配方均匀设计中试验点在 3 种组分的配方构成空间中散布的更加均匀。

现以 5 种成分、每种成分 15 个剂量水平为例, 逐步介绍该方法的实施。

第一步, 构造均匀设计表 [$U_{15}(15^8)$]。首先在第一列输入 1~15, 在第一行上输入比 15 小、且与 15 互质的数字, 分别是 1、2、4、7、8、11、13、14; 然后在每个交叉格中计算出该交叉格对应的行与列数字的乘积关于 15 的同余 (表 2)。例如, 第 6 列第 3 行的交叉格中, 列的数字是 11, 行的数字是 3, 交叉中的数字即为: $\text{mod}(11 \times 3, 15) = \text{mod}(33, 15) = \text{mod}(2 \times 15 + 3, 15) = 3$ 。

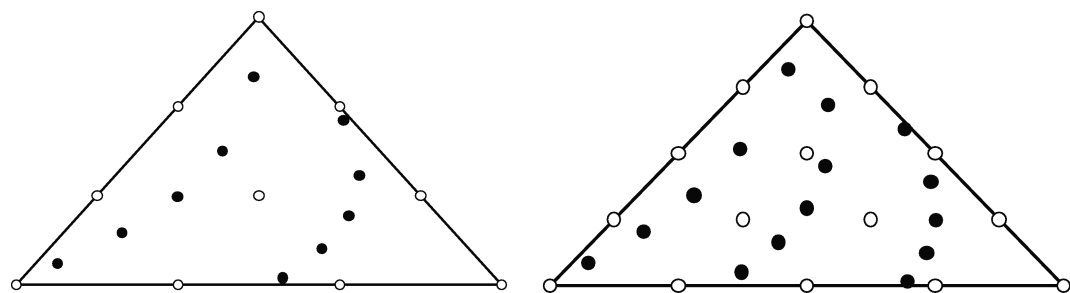


图 2 相同试验次数情况下配方均匀设计与单纯形格子点设计的试验点分布对比

Fig. 2 Comparison of formula uniform design and simplex-lattice design with the same total experiment numbers

黑点表示配方均匀设计的试验点, 白点表示单纯形格子点设计的试验点。左: 成分数为 3, 总配方数为 10, 配方均匀设计采用的是 $UM_{10}^*(10^3)$ 表, 单纯形格子点集为 $\{3, 3\}$; 右: 成分数为 3, 总配方数为 15, 配方均匀设计采用的是 $UM_{15}(15^3)$ 表, 单纯形格子点集为 $\{3, 4\}$ 。

Solid points in the figures indicate the blends of Formula Uniform Design, and hollow points indicate those of simplex-lattice design. Left: Three components, a total of ten blends, comparison of $UM_{10}^*(10^3)$ and $\{3, 3\}$ Simplex-lattice Design; Right: Three components, a total of fifteen blends, comparison of $UM_{15}(15^3)$ and $\{3, 4\}$ Simplex-lattice Design.

表 2 5 种成分、每种成分 15 个剂量水平的均匀设计表 $[UM_{15}(15^5)]$ 及其生成过程

Table 2 Generation process of the final Formula Uniform Design table with 5 components and 15 dose levels each $[UM_{15}(15^5)]$

试验号 Experiment No.	均匀设计表因素列 Factor column								C 值表 C-value table					UM ₁₅ (15 ⁵)各组分百分含量 Percent content in UM ₁₅ (15 ⁵)				
	1	2	4	7	8	11	13	14	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	x ₅
1	1	2	4	7	8	11	13	14	0.03	0.10	0.23	0.43	0.83	0.57	0.23	0.10	0.05	0.04
2	2	4	8	14	1	7	11	13	0.10	0.23	0.50	0.90	0.70	0.44	0.22	0.10	0.02	0.22
3	3	6	12	6	9	3	9	12	0.17	0.37	0.77	0.37	0.57	0.36	0.18	0.06	0.25	0.15
4	4	8	1	13	2	14	7	11	0.23	0.50	0.03	0.83	0.43	0.31	0.14	0.45	0.02	0.08
5	5	10	5	5	10	10	5	10	0.30	0.63	0.30	0.30	0.30	0.26	0.10	0.29	0.24	0.10
6	6	12	9	12	3	6	3	9	0.37	0.77	0.57	0.77	0.17	0.22	0.07	0.18	0.13	0.41
7	7	14	13	4	11	2	1	8	0.43	0.90	0.83	0.23	0.03	0.19	0.03	0.07	0.55	0.17
8	8	1	2	11	4	13	14	7	0.50	0.03	0.10	0.70	0.90	0.16	0.57	0.19	0.03	0.06
9	9	3	6	3	12	9	12	6	0.57	0.17	0.37	0.17	0.77	0.13	0.39	0.19	0.24	0.05
10	10	5	10	10	5	5	10	5	0.63	0.30	0.63	0.63	0.63	0.11	0.29	0.12	0.17	0.30
11	11	7	14	2	13	1	8	4	0.70	0.43	0.90	0.10	0.50	0.09	0.22	0.04	0.59	0.07
12	12	9	3	9	6	12	6	3	0.77	0.57	0.17	0.57	0.37	0.06	0.16	0.46	0.14	0.18
13	13	11	7	1	14	8	4	2	0.83	0.70	0.43	0.03	0.23	0.04	0.11	0.29	0.54	0.02
14	14	13	11	8	7	4	2	1	0.90	0.83	0.70	0.50	0.10	0.03	0.06	0.15	0.38	0.38
15	15	15	15	15	15	15	15	15	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.01	0.01	0.02	0.03	0.93

“均匀设计表因素列”中第 5、6、8 三列下方的水平代码删除线表示, 根据均匀设计表的使用表, 这些列在本案例的转化过程中不使用。

The strikethroughs on the level codes in the fifth, sixth, and the eighth columns in the factor columns indicate that these columns should be discarded during the transformation process in this case, based on the utilization table of Uniform Design.

第二步, 根据 $U_{15}(15^8)$ 均匀设计表的使用表, $U_{15}(15^5)$ 表。

如果是 5 种组分 (即 5 个因素), 应当使用第 1、2、3、4、7 列, 将用不到的列全部删除, 得到

第三步, 将上述 $U_{15}(15^5)$ 表转换成 C 值表, C 值表每个交叉格中的数字计算公式如下:

$$c_{ji} = \frac{2q_{ji} - 1}{2n}, j = 1, 2, \dots, m-1$$

其中 j 表示第 j 列 (注意这里的“ j ”指的是按从表格中左到右的实际列顺序编号, 不是上表中第一行的数字), i 表示第 i 行。 C_{ji} 是表 2 中 C 值表交叉格中的数字, q_{ji} 是均匀设计表中相应的表格数字, n 为试验总次数 15。

第四步, 将 C 值表转换成配方均匀设计表 $UM_{15}(15^5)$ 。该表中除了最后一列外, 每个交叉格中的数字计算公式如下:

$$x_{ji} = (1 - C_{ji}^{m-j}) \times \prod_{k=1}^{j-1} C_{ki}^{m-k}$$

以第 1 行为例, 第 j 列交叉格中的数字计算公式是:

$$x_j = [1 - (m-j)\sqrt{C_j}] \times (m-1)\sqrt{C_1} \times (m-2)\sqrt{C_2} \times \dots \times (m-j+1)\sqrt{C_{j-1}}$$

最后一列中每一行的数字等于该行前几列数字之和被 1 减除。这样即得配方均匀设计表。很显然, 这样的设计不存在两种组分剂量反应之间的共线性现象, 所有的试验点在 5 维超几何多面体中是均匀散布的。试验完成之后, 以试验指标 (针对本文指的是诱捕量等) 为因变量, 5 种成分为自变量, 建立多元一次回归方程, 并检验回归系数和相关系数的显著性, 采用逐步回归法剔除冗余自变量, 根据回归系数符号性质和大小确定该组分在配方中的贡献是正面还是负面, 以及贡献的大小。

4 展望

当前昆虫对引诱性信息化合物的识别逐渐深入到细胞、神经元、基因等微观层次, 植物源害虫引诱剂筛选出的单体成分越来越多, 但在农业害虫防治实践中可用的引诱剂配方非常少, 对昆虫识别植物挥发物的嗅觉机理仍然是一知半解的。其中的关键在于我们应当如何看待植物挥发物的“化学指纹图”。如果总是用“整体论”的观点去解释昆虫与植物的化学通讯, 是现代以分析为主导思想的实验科学精神不能接受的, 必

须采用适当的方式去分解这个整体, 并且反过来将构成这个整体的子系统重新整合在一起能够再现引诱作用发生的自然现象。然而, 当前的电生理技术和色谱分析有可能分别过度分解了昆虫的嗅觉系统和植物的挥发物谱, 造成子系统重组的极大困难。配方均匀设计是解决从行为测试到大田实践应用的必由之路。

参考文献 (References)

- Allmann S, Späthe A, Bisch-Knaden S, Kallenbach M, Reinecke A, Sachse S, Baldwin IT, Hansson BS, 2013. Feeding-induced rearrangement of green leaf volatiles reduces moth oviposition. *eLife*, 2: e00421. doi: 10.7554/eLife.00421
- von Arx M, Schmidt-Büsser D, Guerin PM, 2012. Plant volatiles enhance behavioral responses of grapevine moth males, *Lobesia botrana* to sex pheromone. *J. Chem. Ecol.*, 38(2): 222–225.
- Becher PG, Bengtsson M, Hansson BS, Witzgall P, 2010. Flying the fly: long-range flight behavior of *Drosophila melanogaster* to attractive odors. *J. Chem. Ecol.*, 36(6): 599–607.
- Bruce TJ, Cork A, Hall DR, Dunkelblum E, 2002. Laboratory and field evaluation of floral odours from African marigold, *Tagetes erecta*, and sweet pea, *Lathyrus odoratus*, as kairomones for cotton bollworm *Helicoverpa armigera*. *IOBC Wprs Bull.*, 25: 315–322.
- Carlsson MA, Hansson BS, 2003. Dose-response characteristics of glomerular activity in the moth antennal lobe. *Chem. Sens.*, 28(4): 269–278.
- Cook SM, Khan ZR, Pickett JA, 2007. The use of push-pull strategies in integrated pest management. *Annu. Rev. Entomol.*, 52: 375–400.
- Cunningham JP, Moore CJ, Zalucki MP, Cribb BW, 2006. Insect odour perception: recognition of odour components by flower foraging moths. *Proc. R. Soc. B*, 273(1597): 2035–2040.
- Cunningham JP, Jallow MFA, Wright DJ, Zalucki MP, 1998. Learning in host selection in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Anim. Behav.*, 55(1): 227–234.
- Cunningham JP, Zalucki MP, West SA, 1999. Learning in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae): a new look at the behavior and control of a polyphagous pest. *Bull. Entomol. Res.*, 89(3): 201–207.
- Dai JQ, Han SC, Du JW, 2010. Progress in studies on behavioural effect of semiochemicals of host plant to insects. *Journal of Environment Entomology*, 32(3): 407–414. [戴建青, 韩诗畴, 杜家纬, 2010. 植物挥发性信息化学物质在昆虫寄主选择行为中的作用. 环境昆虫学报, 32(3): 407–414.]
- Deng JY, Huang YP, Wei HY, Du JW, 2004a. EAG and behavioral response of *Helicoverpa armigera* males to volatiles from poplar

- leaves and their combinations with sex pheromone. *J. Zhejiang Univ. Sci.*, 5(12): 1577–1582.
- Deng JY, Wei HY, Huang YP, Du JW, 2004b. Enhancement of attraction to sex pheromones of *Spodoptera exigua* by volatile compounds produced by host plants. *J. Chem. Ecol.*, 30(10): 2037–2045.
- Fan H, Jin YJ, Li JQ, Chen HJ, 2004. Advances on plant volatile semiochemicals attracting herbivorous insects. *Journal of Beijing Forestry University*, 26(3): 76–81. [樊慧, 金幼菊, 李继泉, 陈华君, 2004. 引诱植食性昆虫的植物挥发性信息化合物的研究进展. 北京林业大学学报, 26(3): 76–81.]
- Finch S, Collier RH, 2000. Host-plant selection by insects—a theory based on ‘appropriate/inappropriate landings’ by pest insects of cruciferous plants. *Entomol. Exp. Appl.*, 96(2): 91–102.
- Fraser AM, Mechaber WL, Hildebrand JG, 2003. Electroantennographic and behavioral responses of the sphinx moth *Manduca sexta* to host plant headspace volatiles. *J. Chem. Ecol.*, 29(8): 1813–1833.
- Gregg PC, del Socorro AP, Henderson GS, 2010. Development of a synthetic plant volatile-based attracticide for female noctuid moths. II. bioassays of synthetic plant volatiles as attraction for adults of cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *Aust. J. Entomol.*, 49(1): 21–30.
- Honda K, Ômura H, Hayashi N, 1998. Identification of floral volatiles from *Ligustrum japonicum* that stimulate flower-visiting by cabbage butterfly, *Pieris rapae*. *J. Chem. Ecol.*, 24(12): 2167–2180.
- Huang XP, Renwick JAA, Chew FS, 1995. Oviposition stimulants and deterrents control acceptance of *Alliaria petiolata* by *Pieris rapae* and *P. napi oleracea*. *Chemoecology*, 2(5/6): 79–87.
- Hansson BS, Carlsson MA, Kalinova B, 2003. Olfactory activation patterns in the antennal lobe of the sphinx moth, *Manduca sexta*. *J. Comp. Physiol. A*, 189(4): 301–308.
- Kárpáti Z, Knaden M, Reinecke A, Hansson BS, 2013. Intraspecific combinations of flower and leaf volatiles act together in attracting hawkmoth pollinators. *PLoS ONE*, 8(9): e72805. Doi:10.1371/journal.pone.0072805.
- Jallow MFA, Cunningham JP, Zalucki MP, 2004. Intra-specific variation for host plant use in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae): implications for management. *Crop Prot.*, 23(10): 955–964.
- Landolt PJ, Heath RR, Millar JG, Davis-Hernandez KM, Dueben BD, Ward KE, 1994. Effects of hostplant, *Gossypium hirsutum* L., on sexual attraction of cabbage looper moths, *Trichoplusia ni* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Chem. Ecol.*, 20(11): 2959–2974.
- Landolt PJ, Phillips TW, 1997. Host plant influences on sex pheromone behavior of phytophagous insects. *Annu. Rev. Entomol.*, 42: 371–391.
- Li WZ, 2003. Mechanism of withered black populus leaves attract *Helicoverpa armigera* moths and screening of attractant. Master dissertation. Zhengzhou: Henan Agricultural University. [李为争, 2003. 黑杨 *Populus nigra* L. 萎蔫叶片诱蛾机理分析与棉铃虫成虫引诱剂配方筛选. 硕士学位论文. 郑州: 河南农业大学.]
- Li WZ, Li HL, Wang J, Guo XR, You XF, Yuan GH, 2014. Optimization of floral attractant formula with broad-trapping spectrum of moths using uniform design. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 30(4): 304–311. [李为争, 李慧玲, 王珏, 郭线茹, 游秀峰, 原国辉, 2014. 蛾类花香型广谱引诱剂配方的均匀设计. 中国农学通报, 30(4): 304–311.]
- Li WZ, Yuan GH, Sheng CF, Guo XR, 2005. Active compounds in *Populus nigra* L. wilted leaves responsible for attracting *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lep., Noctuidae) and new agarosectin formulation. *J. Appl. Entomol.*, 129(9/10): 557–562.
- Li YY, Wang J, Yuan GH, Guo XR, Li HL, Li WZ, 2014. Semiochemical parsimony of two key floral volatiles to *Helicoverpa armigera*. *Chinese Journal of Ecology*, 33(2): 340–345. [李洋洋, 王珏, 原国辉, 郭线茹, 李慧玲, 李为争, 2014. 两种关键花香挥发物对棉铃虫的信息多义性. 生态学杂志, 33(2): 340–345.]
- Li YY, Hu CR, 2008. Experiment Design and Data Processing (2nd edition). Beijing: Chemical Industry Press. 203–214. [李云雁, 胡传荣, 2008. 试验设计与数据处理(第2版). 北京: 化学工业出版社. 203–214.]
- Light DM, Knight AL, Henrick CA, Rajapaska D, Lingren B, Dickens JC, Reynolds KM, Buttery RG, Merrill G, Roitman J, Campbell BC, 2001. A pear-derived kairmone with pheromonal potency that attracts male and female codling moth, *Cydia pomonella* (L.). *Naturwissenschaften*, 88(8): 333–338.
- Lin XY, 2008. Perfumery (2nd edition). Beijing: Chemical Industry Press. 3–54. [林翔云, 2008. 调香术(第2版). 北京: 化学工业出版社. 3–54.]
- Lu YJ, Zhang XX, 2001. Effect of infochemicals on insect behavior. *Entomological Knowledge*, 38(4): 262–266. [鲁玉杰, 张孝羲, 2001. 信息化合物对昆虫行为的影响. 昆虫知识, 38(4): 262–266.]
- Meagher RL, Landolt PJ, 2010. Binary floral lure attractive to velvetbean caterpillar adults. *Fla. Entomol.*, 93(1): 73–79.
- Meagher RL, Mitchell ER, 1998. Phenylacetaldehyde enhances upwind flight of male fall armyworm to its sex pheromone. *Fla. Entomol.*, 81(4): 556–559.
- Meiners T, Hilker M, 2000. Induction of plant synomones by oviposition of a phytophagous insect. *J. Chem. Ecol.*, 26(1): 221–232.
- Meng XZ, 2000. Progress in the research and application of insect pheromones in China. *Entomological Knowledge*, 37(2): 75–84. [孟宪佐, 2000. 我国昆虫信息素研究与应用的进展. 昆虫知识, 37(2): 75–84.]
- Muhlemann JK, Waelti MO, Widmer A, Schiestl FP, 2006.

- Postpollination changes in floral odor in *Silene latifolia*: adaptive mechanism for seed-predator avoidance? *J. Chem. Ecol.*, 32(8): 1855–1860.
- Nakamura K, Leal WS, Unakashima T, Tokoro M, Ono M, Nakanishi M, 1997. Increase of trap catches by a combination of male sex pheromones and floral attractant in longhorn beetle, *Anaglyptus subfasciatus*. *J. Chem. Ecol.*, 23(6): 1635–1640.
- Ninkovic V, Dahlin I, Vucetic A, Petrovic-Obradovic O, Glinwood R, Webster B, 2013. Volatile exchange between undamaged plants—a new mechanism affecting insect orientation in intercropping. *PLoS ONE*, 8(7): e69431.
- Ochieng SA, Park KC, Baker TC, 2002. Host plant volatiles synergize responses of sex pheromone-specific olfactory receptor neurons in male *Helicoverpa zea*. *J. Comp. Physiol. A*, 188(4): 325–333.
- Peng RL, 2004. General Psychology (3rd edition). Beijing: Beijing Normal University Press. 77–127. [彭聃龄, 2004. 普通心理学 (第3版). 北京: 北京师范大学出版社. 77–127.]
- Renou M, Guerrero A, 2000. Insect parapheromones in olfaction research and semiochemical-based pest control strategies. *Annu. Rev. Entomol.*, 45: 605–630.
- Rochat D, Meillour PN, Esteban-Duran JR, Malosse C, Perthuis B, Morin JP, Descoins C, 2000. Identification of pheromone synergists in American palm weevil, *Rhynchophorus palmarum*, and attraction of related *Dynamis borassi*. *J. Chem. Ecol.*, 26(1): 155–187.
- Rojas JC, 1999. Electrophysiological and behavioral responses of the cabbage moth to plant volatiles. *J. Chem. Ecol.*, 25(8): 1867–1883.
- Sadek MM, Hansson BS, Rospars JP, Anton S, 2002. Glomerular representations of plant volatiles and sex pheromone components in the antennal lobe of the females *Spodoptera littoralis*. *J. Exp. Biol.*, 205(10): 1363–1376.
- Schmidt-Büsser D, von Arx M, Guerin PM, 2009. Host plant volatiles serve to increase the response of male European grape berry moths, *Eupoecilia ambiguella*, to their sex pheromone. *J. Comp. Physiol. A*, 195(9): 853–864.
- Smart LE, Blight MM, 1997. Field discrimination of oilseed rape, *Brassica napus* volatiles by cabbage seed weevil, *Ceutorhynchus assimilis*. *J. Chem. Ecol.*, 23(11): 2555–2567.
- Späthe A, Reinecke A, Haverkamp A, Hansson BS, Knaden M, 2013. Host plant odors represent immiscible information entities—blend composition and concentration matter in hawkmoths. *PLoS ONE*, 8(10): e77135. Doi:10.1371/journal.pone.0077135
- del Socorro AP, Gregg PC, Alter D, Moore CJ, 2010. Development of a synthetic plant volatile-based attracticide for female noctuid moths. I. potential sources of volatiles attractive to *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Aust. J. Entomol.*, 49(1): 10–20.
- Su JW, Fan WM, Wang HT, Xuan WJ, Sheng CF, 2001. Technology system for adult controlling of pest insect. *Entomological Knowledge*, 38(6): 405–409. [苏建伟, 范伟民, 王红托, 宣维健, 盛承发, 2001. 浅谈害虫成虫防治技术. 昆虫知识, 38(6): 405–409.]
- Sun JG, Huang LQ, Wang CZ, 2012. Electrophysiological and behavioral responses of *Helicoverpa assulta* (Lepidoptera: Noctuidae) to tobacco volatiles. *Arthropod-Plant Interact.*, 6(3): 375–384.
- Thompson JN, Pellmyr O, 1991. Evolution of oviposition behavior and host preference in Lepidoptera insects. *Annu. Rev. Entomol.*, 36: 65–89.
- Tóth M, Szarukán I, Dorogi B, Gulyás A, Nagy P, Rozgonyi Z, 2010. Male and female noctuid moths attracted to synthetic lures in Europe. *J. Chem. Ecol.*, 36(6): 592–598.
- Wang J, 2013. Optimization of noctuid floral attractants and associative learning of *Helicoverpa armigera* adults to key floral components. Master dissertation. Zhengzhou: Henan Agricultural University. [王珏, 2013. 夜蛾花香引诱剂的优化及棉铃虫成虫对关键活性物质的联系性学习行为. 硕士学位论文. 郑州: 河南农业大学.]
- Wang ZH, Zhao H, Li JF, Zeng XD, Feng HL, Xu JW, 2008. Synergism of plant volatiles to insect pheromones and related mechanisms. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 19(11): 2533–2537. [王振华, 赵晖, 李金甫, 曾宪东, 陈建军, 冯汉利, 徐家文, 2008. 植物源挥发物对昆虫信息素的增效作用及其增效机制. 应用生态学报, 19(11): 2533–2537.]
- Webster B, Bruce T, Pickett JA, Hardie J, 2010. Volatiles functioning as host cues in a blend become nonhost cues when presented alone to the black bean aphid. *Anim. Behav.*, 79(2): 451–457.
- van Wijk M, de Bruijn PJA, Sabelis MW, 2008. Predatory mite attraction to herbivore-induced plant odors is not a consequence of attraction to individual herbivore-induced plant volatiles. *J. Chem. Ecol.*, 34(6): 791–803.
- Williams RN, Fickle DS, McGovern TP, Klein MG, 2000. Development of an attractant for the scarab pest *Macrodactylus subspinosus* (Coleoptera: Scarabaeidae). *J. Econ. Entomol.*, 93(5): 1480–1484.
- Yan FM, 2011. Chemical Ecology (2nd edition). Beijing: Science Press. 216–367. [闫凤鸣, 2011. 化学生态学 (第2版). 北京: 科学出版社. 216–367.]
- Yang ZH, Bengtsson M, Witzgall P, 2004. Host plant volatiles synergize response to sex pheromone in codling moth, *Cydia pomonella*. *J. Chem. Ecol.*, 30(3): 619–629.
- Zhang AJ, Linn CJ, Wright S, Prokopy R, Reissig W, Roelofs WL, 1999. Identification of a new blend of apple volatiles attractive to the apple maggot, *Rhagoletis pomonella*. *J. Chem. Ecol.*, 25(6): 1221–1232.