应用昆虫学报 *Chinese Journal of Applied Entomology* 2019, 56(2): 327–332. DOI: 10.7679/j.issn.2095–1353.2019.040

酪蝇雌虫卵巢提取物对其雄虫的引诱效果*

李 颖** 戚敬威 熊 焰 钱晓香 苏发武 肖 春 董文霞***

（云南农业大学植物保护学院，昆明 650201）

摘 要 **【目的】** 本文研究目的是验证酪蝇 *Piophila casei* 雌虫卵巢是否存在性信息素，并为酪蝇性信息素研究提供科学依据。**【方法】** 测定了酪蝇雄虫对不同剂量的雌虫卵巢提取物的行为选择反应和触角电位反应，还利用模拟仓储实验测定了不同剂量的雌虫卵巢提取物对酪蝇雄虫的诱捕效果。**【结果】** 当酪蝇雌虫卵巢提取物的剂量分别为 0.5、1、1.5、2、2.5 头当量时，雄虫对 0.5、1、1.5 头当量的雌虫卵巢提取物有选择反应，雄虫对这 5 个剂量的雌虫卵巢提取物均具有触角电位反应。酪蝇雌虫卵巢提取物对雄虫诱捕效果的模拟仓储实验结果显示：当酪蝇卵巢提取物的剂量分别为 2、4、6、8、10 头当量时，在非选择性实验中各当量的雌虫卵巢提取物对雄虫均有引诱效果，在选择性实验中雌虫卵巢提取物的剂量为 2 头当量时，对雄虫的引诱效果最好。**【结论】** 酪蝇雌虫卵巢提取物对雄虫有显著的引诱效果，表明酪蝇雌虫卵巢中存在吸引雄虫的化学成分，即酪蝇的性信息素。

关键词 酪蝇；卵巢提取；引诱；性信息素

The effectiveness of using ovarian extract from the female cheese skipper, *Piophila casei*, as a lure to trap males of this species

LI Ying** QI Jing-Wei XIONG Yan QIAN Xiao-Xiang SU Fa-Wu XIAO Chun DONG Wen-Xia***

(College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract **[Objectives]** To investigate whether sex pheromones extracted from the ovary of the cheese skipper, *Piophila casei*, are effective lures for trapping males of this species. **[Methods]** The behavioral and electroantennogram (EAG) responses of male cheese skippers to ovarian extracts were measured, and an experiment comparing the effectiveness of different trapping lures was conducted in a simulated warehouse. **[Results]** Significantly more male cheese skippers choose the ovarian extract than the control (acetone). EAG results indicate that all tested doses of the extract elicited EAG responses from males, and all tested doses trapped more males than the control in a non-choice experiment. A choice experiment indicated that a dose equivalent to the amount of pheromone obtained from 2 females was the most attractive to males. **[Conclusion]** The ovarian extract of female cheese skippers was significantly more attractive to males than a control substance.

Key words *Piophila casei*; ovary extract; attraction; sex pheromone

酪蝇 *Piophila casei* 是一种对多种动物性食品均有危害的卫生昆虫。酪蝇的成虫、幼虫主要危害咸肉、咸鱼、火腿、香肠和干酪等多种腌腊制品（董保新等，2007）。该虫全世界广泛分布，在英国、美国、德国、法国、前苏联和我国均有记载，国内主要分布在辽宁、陕西、内蒙古、新疆、湖北、四川、贵州、云南、浙江、广东、福建、江苏、上海等地（张友三等，1984）。以云南为主要分布地，主要危害云南的传统特色食品火腿，雌虫常将卵产于火腿表面凹陷处，幼虫孵

*资助项目 Supported projects：国家自然科学基金项目（31360526）

**第一作者 First author，E-mail：Li_ying6611@163.com

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

收稿日期 Received：2018-08-10；接受日期 Accepted：2018-11-19

化后钻入火腿内部为害，导致火腿腐烂、发臭，失去商品价值（崔霄等，2016），严重地影响火腿的产量和质量。据报道，酪蝇在云南地区的生命周期为 15-20 d，其中卵期 1-2 d，幼虫期 7-8 d，蛹期 6-7 d，成虫期 2-3 d（张荣强等，1992）。由于其生命周期短，繁殖速度快，给防治带来了很大的困难。为了食品安全，迫切需要研制酪蝇引诱剂。

昆虫信息素引诱剂，特别是蛾类性信息素引诱剂已经成功地应用于害虫防治（韦卫等，2006）。相比之下，蝇类信息素的研究与应用比较少，这是因为蝇类信息素的体内合成、分泌以及化合物结构都比蛾类复杂。蝇类信息素产生的部位因种的不同而不同，例如寡毛实蝇属 *Bactrocera* 的种类信息素由雄虫的直肠腺产生（Nishida *et al.*，1988；Perkins *et al.*，1990），按实蝇属 *Anastrepha* 的种类由唾液腺产生（Lu and Teal，2001；Leopoldo *et al.*，2015），果蝇属 *Drosophila* 的种类由体表产生（Antony and Jallon，1982；Etges and Jackson，2001）。家蝇 *Musca domestica* 的信息素可以从卵、刚孵化的幼虫以及卵巢中提取到，其成分为二十三烷和顺-9-二十三碳烯，顺-9-二十三碳烯不仅具有刺激家蝇雌蝇聚集产卵的作用，还对家蝇雄虫有一定的引诱作用，起着性信息素的作用（Jiang *et al.*，2002；姜勇等，2003）。但是，酪蝇信息素的产生部位目前还没有明确报道。项目组的前期研究发现，酪蝇的蛹、蛹的正己烷提取物对雌雄酪蝇均具有引诱作用，雌性蛹壳对雄虫具有引诱作用，而雄性蛹壳对雌虫没有引诱作用；雌性蛹壳对雌虫具有引诱作用，雄性蛹壳对雄虫具有引诱作用（王占娣等，2009）；而单个卵巢丙酮提取物和二氯甲烷提取物对雄虫具有明显的引诱作用，而卵巢正己烷提取物、水提取物对雄虫无显著引诱活性（张婷婷等，2010）。我们推测，酪蝇的性信息素由雌虫释放，同性蛹壳中存在聚集信息素吸引同性聚集，卵巢存在酪蝇性信息素。

为了验证酪蝇卵巢是否存在性信息素，我们测定了酪蝇雄虫对不同剂量的酪蝇卵巢丙酮提取物的行为选择反应和 EAG 反应，还利用模拟仓储实验测定了不同剂量的卵巢丙酮提取物对酪蝇雄虫的诱捕效果，旨在为进一步探明酪蝇的信息素提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

虫源：酪蝇采自云南宣威火腿加工厂，幼虫用腌制 7 d 的猪后腿肉饲养。室内环境条件为温度：（27±1）℃，相对湿度 50%-70%，光周期 14L∶10D（L：8:30-22:30，D：22:30-8:30）（戚敬威等，2017）。将蛹单头置于玻璃瓶（φ=1.5 cm，h=4 cm）中后封口，待成虫羽化后区分雌、雄成虫以备用。

1.2 酪蝇雄虫对雌虫卵巢提取物的选择反应

取 1 日龄雌虫，置于生理盐水中浸湿，解剖出卵巢。取 25 头酪蝇的卵巢迅速转移到 1 mL 的丙酮中浸泡 20 min，再将提取液转移到 1.5 mL 的棕色安捷伦储样瓶于－20 ℃保存备用。实验时，分别取 20 μL（0.5 头当量）、40 μL（1 头当量）、60 μL（1.5 头当量）、80 μL（2 头当量）、100 μL（2.5 头当量）。用通气性良好的纱网做成正方形蝇笼（其中一面为纱网做成的笼口（20 cm×20 cm×20 cm）里边放 2 个圆形滤纸片（φ=2 cm），取适量的卵巢丙酮提取物滴在一张滤纸片上作为处理，另外一张滤纸片滴有等量的丙酮作为对照，待溶剂丙酮挥发（10 s）后放到蝇笼中。每个蝇笼引入 20 头雄虫，观察 40 min，记录降落次数和滞留时间。重复 4 次。

数据中记录的降落次数：酪蝇雄虫 40 min 内降落到滤纸片上的次数。不论雄虫在滤纸上停留时间长短，只要降落到滤纸片上，都记录为降落次数。

数据中记录的滞留时间：降落到滤纸片上的酪蝇雄虫，停留在滤纸上的时间超过 2 s 的，记录其停留在滤纸上的时间，称之为滞留时间。

1.3 酪蝇雄虫对雌虫卵巢提取物的触角电位反应

触角电位（Syntech，德国）测定：卵巢丙酮提取物浓度为 100 头/mL，取 2 日龄未交配雄

虫备用。在双目实体显微镜下，用手术刀将酪蝇头部快速切下，然后用昆虫针刺破两根触角端部。在电极上涂适量导电胶，将酪蝇头部切口处与电极一端导电胶接触，头部两根触角分散开后，端部接触电极另一端的导电胶。确定触角接入闭合回路，待基线平稳后，取 20.0 μL 卵巢丙酮提取物均匀涂于滤纸条(l×w=6.0 cm×0.5 cm)，将其放入巴斯德管，连接在刺激气流上。刺激气流的流量为 1 150 mL/min，连续气流的流量为 850 mL/min。待基线稳定后用脚踏板人为给予刺激，单次刺激时间持续 0.2 s，每次间隔 60 s 以上。以等量丙酮为对照。每测试 1 头酪蝇的触角后互换对照和处理的顺序。每个剂量至少测定 4 头酪蝇的触角。

1.4　卵巢提取物对雄虫的诱捕效果的非选择性模拟仓储实验

分别在 19:00-21:00 与 10:00-12:00 解剖一定量雌虫卵巢并用丙酮浸泡 (20 min) 得到提取物。取 100 头/mL 卵巢丙酮提取物于－20 ℃保存备用。实验时，分别取 20 μL（2 头当量）、40 μL (4 头当量)、60 μL（6 头当量）、80 μL（8 头当量）、100 μL（10 头当量）。自制诱捕器为矿泉水瓶（h=20 cm，v=550 mL），在瓶壁上方开一个边长为 1.5 cm 的正方形孔（离顶 2.5 cm），在相对的一面下方开边长为 1.5 cm 的正方形孔（距底 2.5 cm），在诱捕器中心处悬挂脱脂棉棉棒（l=1 cm，h=20 cm）。将适量的提取液和等量的丙酮分别加入不同诱捕器的棉棒中，作为处理和对照。诱捕器置于室内的养虫室中，2 h 后分别记录诱捕器中的虫量，并记录诱捕的雄虫数量。实验时间为 9:00-13:00，重复 4 次。

1.5　不同当量的卵巢提取物对雄虫的诱捕效果的选择性模拟仓库实验

解剖方法和诱捕器制作方法同 1.4。在 19:00-21:00 解剖出的卵巢得到的 100 头/mL 的卵巢丙酮提取物于－20 ℃保存备用。其中棉棒上滴有卵巢丙酮提取物的诱捕器作为处理，2 头当量、4 头当量、6 头当量、8 头当量、10 头当量的诱芯分别放置在 5 个对应标注为 a、b、c、d、e 的诱捕器中，每个位置至少重复 4 次，重复之后互相调换诱捕器的位置。2 h 后分别记录诱捕器中酪蝇雄虫的数量。实验时间为 9:00-13:00，重复 4 次。

1.6　数据的处理

采用 SPSS21.0 软件进行分析，数据用平均值±标准误差（SE）表示，用 *t*-检验分析酪蝇雄虫对卵巢提取物的选择反应和 EAG 反应的数据以及蝇卵巢提取物对雄虫的诱捕效果的非选择性模拟仓储实验的实验数据，用 Ducan's 检验分析选择性模拟仓储实验中卵巢提取物对雄虫诱捕效果的数据。

2　结果与分析

2.1　酪蝇雄虫对卵巢提取物的选择反应

当滤纸片上的剂量为 0.5 头当量、1 头当量时，酪蝇雄虫在其滤纸片上的降落次数显著高于对照，滞留时间也显著长于对照(P<0.01，N=400，图 1，图 2)。表明 0.5 头当量、1 头当量的卵巢提取物对未交配雄虫具有引诱作用。

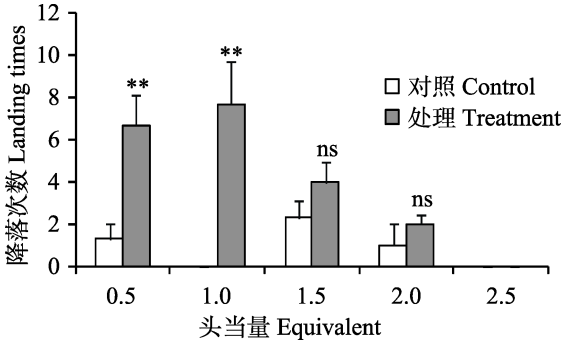

图 1　卵巢提取物对未交配雄虫的引诱效果（降落次数）

Fig. 1　Choice responses of male cheese skippers to the ovary extract (landing times)

*表示对照和处理之间差异显著（P<0.05）；**示对照和处理之间差异极显著（P<0.01），ns 表示对照和处理之间差异不显著（P>0.05）。下图同。

* indicates that there is a significant difference between the control and the treatment (P<0.05), while ** indicates that there is a extremely significant difference between the control and the treatment (P<0.01), ns indicates that there is no difference between the control and the treatment (P>0.05). The same below.

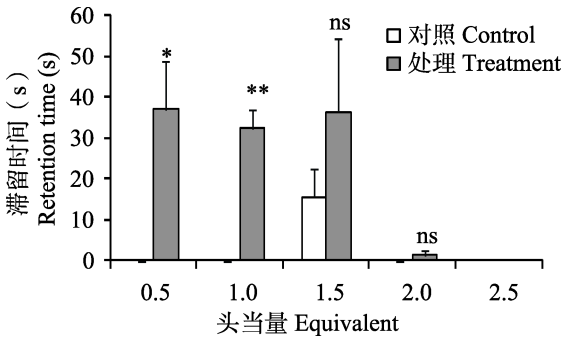

图 2 酪蝇丙酮卵巢粗提物对未交配雄虫的引诱效果（滞留时间）

Fig. 2 Choice responses of male cheese skipper to the ovary extract (retention time)

2.2 酪蝇雄虫对卵巢提取物的 EAG 反应

酪蝇雄虫对卵巢提取物的 5 个剂量（0.5、1、1.5、2、2.5 头当量）的 EAG 反应值均显著高于对照丙酮（P <0.05，N=80）（图 3），表明酪蝇未交配雄虫对 5 个剂量的卵巢提取物均有 EAG 反应。

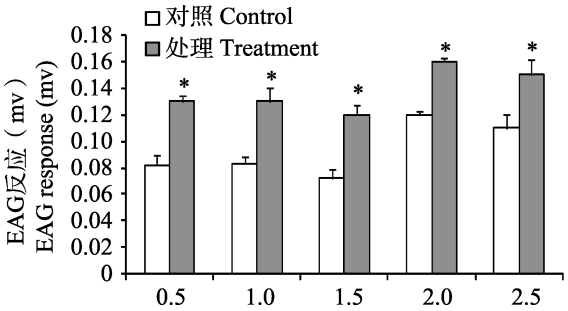

图 3 酪蝇雄虫对卵巢丙酮提取物的 EAC 反应

Fig. 3 EAG responses of male cheese skipper to the ovary extract

2.3 酪蝇卵巢提取物对雄虫的诱捕效果的非选择性模拟仓储实验

在 19:00-21:00 解剖的卵巢，当滤纸片上卵巢丙酮提取物的剂量为 2 头当量、4 头当量、8 头当量、10 头当量时，诱捕器诱捕到的雄虫数量显著高于对照，表明 19:00-21:00 解剖的卵巢丙酮提取物对雄虫具有引诱效果（P<0.05）（图 4：A）。在 10:00-12:00 解剖的卵巢，在同样的剂量下，含有卵巢丙酮提取物的诱捕器诱捕到的雄虫数量与对照差异不显著（P>0.05）（图 4：B），表明 10:00-12:00 解剖的卵巢的丙酮提取物对雄虫没有引诱效果。

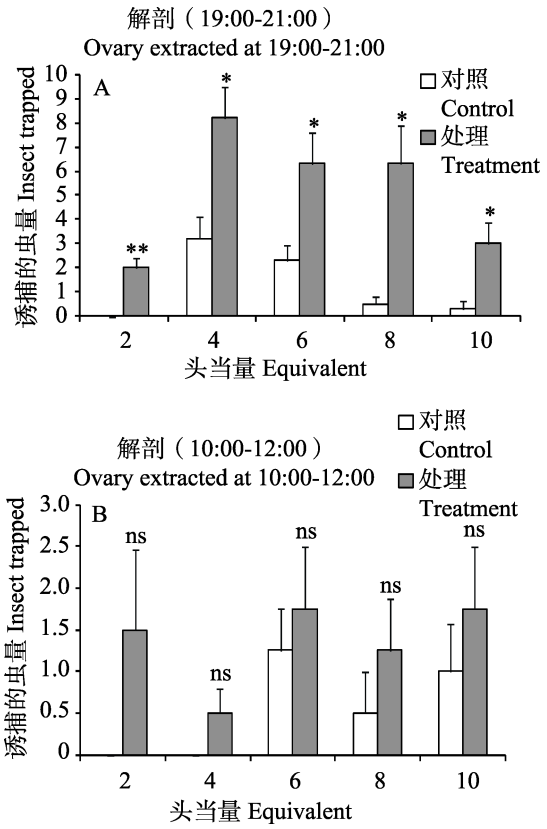

图 4 酪蝇卵巢丙酮提取物对雄虫的诱捕效果的非选择性模拟仓储实验

Fig. 4 Attraction of the ovary extract of cheese skippers to the males in non-choice simulated warehouse experiment

A. 提取物在 19:00-21:00 提取获得；

B. 提取物在 10:00-12:00 提取获得。

A. Ovary extracted at 19:00-21:00;

B. Ovary extracted at 10:00-12:00.

2.4 不同当量的卵巢提取物对雄虫的诱捕效果的选择性模拟仓储实验

当滤纸片上卵巢提取物的剂量为 2 头当量、4 头当量、6 头当量、8 头当量、10 当量时，2 头当量引诱的雄虫所占比例数最大。可得出初步结论，低剂量比高剂量对酪蝇雄虫的引诱效果更好，其中 2 头当量为最佳引诱剂量（图 5）。

3 讨论

早在 1915 年，Sturtevan 就发现黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 存在性信息素。Rogoff 等（1964）发现家蝇 *Musca domestica* 雌虫释放的挥发物对雄虫具有引诱作用，表明家蝇雌虫存

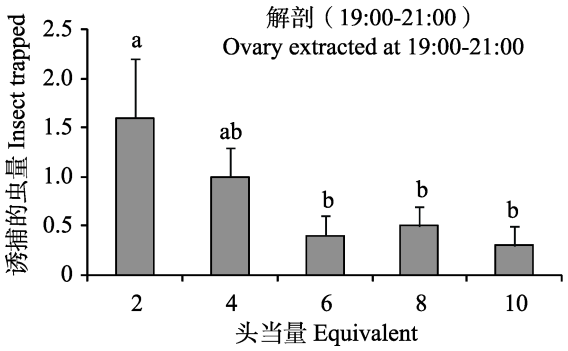

图 5　酪蝇卵巢丙酮提取物在选择性模拟仓储实验中的诱捕虫量

Fig. 5　Attraction of the ovary extract of cheese skippers to the males in simulated warehouse experiment

柱上标有不同小写字母表示差异显著（$P < 0.05$）。

Histograms with different small letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

在性信息素。Carlson 等（1971）从家蝇雌虫体表和虫粪中提取并鉴定出性信息素成分为顺-9-二十三碳烯。随后的研究发现，只有在家蝇卵巢中产生了卵黄才能诱导顺-9-二十三碳烯的开始合成，在家蝇产卵后该物质继续合成（Dillwith *et al.*，1983）。因此，顺-9-二十三烯对家蝇既起着性信息素的作用，又起着聚集信息素的作用。Schal 等（1998）的研究表明，卵巢也是信息素转运的标靶组织。

本研究的行为选择反应和模拟仓储实验均证明：未交配酪蝇雌虫卵巢提取物对雄虫具有引诱作用，引诱效果因提取物的剂量而异，都存在最高剂量效果最差的问题，这可能是由于在有限空间内充满信息物质，导致雄虫寻找雌虫定向的能力降低，即产生“迷向”。

模拟仓储实验结果表明晚间 19:00-21:00 解剖的卵巢丙酮提取物明显比上午 10:00-12:00 解剖的引诱的效果好。这可能由于酪蝇在晚上这个时间段合成性信息素，而在上午酪蝇的交配高峰期 10:00-12:00 释放性信息素，这也与酪蝇对单个卵巢丙酮提取物的反应高峰期为 9:00-13:00 相吻合（张婷婷等，2010）。

本文首次测定了酪蝇雄虫对卵巢丙酮提取物的触角电位反应，发现不同当量的卵巢提取物均能引起酪蝇雄虫的电生理反应，这表明酪蝇雄虫触角上存在感受卵巢中化学信息物质的感受器。

研究结果表明，未交配的雌虫卵巢中也存在对雄虫具有引诱作用化学信息物质，起着性信息素的作用。这些物质的组成与比例如何，卵巢的发育状态与产卵与否，是否影响这些物质的合成？这些物质对雌虫的作用如何，是否也在充当聚集信息素的作用？这些问题有待于进一步研究。

参考文献 (References)

Antony C, Jallon JM, 1982. The chemical basis for sex recognition in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Physiology*, 28(10): 873–880.

Carlson DA, Mayer MS, Silhacek DL, James JD, Beroza M, Bierl BA, 1971. Sex attractant pheromone of the house fly: isolation, identification and synthesis. *Science*, 174(4004): 76–78.

Cu X, Li ZP, Qi JW, Hu CH, Dong ZS, Tang GW, 2016. Timing of emergence and mating of *Piophila casei* (Diptera: Piophilidae). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 53(4): 817–823. [崔霄, 李志鹏, 戚敬威, 胡纯华, 董智森, 唐国文, 2016. 酪蝇的羽化节律和交配行为. 应用昆虫学报, 53(4): 817–823.]

Dillwith JW, Adams TS, Blomquist GJ, 1983. Correlation of housefly sex pheromone production with ovarian development. *Journal of Insect Physiology*, 29(5): 377–386.

Dong BX, Bai L, Li ZY, Ge CR, Li Q, 2007. A study on laboratory rearing technique for cheese skipper, *Piophila casei* L. *Journal of Yunnan Agricultural University*, 22(6): 931–934. [董保新, 白璐, 李正跃, 葛长荣, 李强, 2007. 酪蝇室内饲养技术研究. 云南农业大学学报, 22(6): 931–934.]

Etges WJ, Jackson LL, 2001. Epicuticular hydrocarbon variation in *Drosophila mojavensis* cluster species. *Journal of Chemical Ecology*, 27(10): 2125–2149.

Jiang Y, Lei C, Niu C, Fang Y, Xiao C, Zhang Z, 2002. Semiochemicals from ovaries of gravid females attract ovipositing female houseflies, *Musca domestica*. *Journal of Insect Physiology*, 48(10): 945–950.

Jiang Y, Lei CL, Niu CY, Fang YL, Xiao C, Zhang ZN, 2003. Semiochemicals from mature ovaries of gravid females attracting the oviposition of female *Musca domestica*. *Entomological Knowledge*, 40(2): 150–153. [姜勇, 雷朝亮, 牛长缨, 方宇凌, 肖春, 张钟宁, 2003. 家蝇卵巢中的信息化学物质引诱雌蝇产卵的研究. 昆虫知识, 40(2): 150–153.]

Leopoldo, Cruz-López, Malo EA, Rojas JC, 2015. Sex pheromone of *Anastrepha striata*. *Journal of Chemical Ecology*, 41(5): 458–464.

Lu F, Teal PEA, 2001. Sex pheromone components in oral secretions

and crop of male caribbean fruit flies, *Anastrepha suspensa* (Loew). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 48(3): 144–154.

Nishida R, Tan KH, Fukami H, 1988. Cis-3,4-dimethoxycinnamyl alcohol from the rectal glands ofmale oriental fruit fly, *Dacus dorsalis*. *Chemistry Express*, 3(2): 207–210.

Perkins MV, Kitching W, Drew RAI, Moore CJ, König WA, 1990. Chemistry of fruit flies: composition of the male rectal gland secretions of some species of South-East Asian Dacinae. reexamination of *Dacus cucurbitae* (melon fly). *Journal of Chemical Society Perkin Transations*, 21(29): 1111–1117.

Qi JW, Li Y, Hu CH, Xiong Y, Wang CY, Dong WX, Xiao C, 2017. A sort of simple and practical artificial diet for cheese skipper, *Piophila casei*. *Acta Agriculturea Jiangxi*, 29(11): 59–62. [戚敬威, 李颖, 胡纯华, 熊焰, 王春娅, 董文霞, 肖春, 2017. 一种简易实用的酪蝇人工饲料. 江西农业学报, 29(11): 59–62.]

Rogoff WM, Beltz AD, Johnsen JO, Plapp FW, 1964. A sex pheromone in the housefly, *Musca domestica*. *Journal of Insect Physiology*, 10(2): 239–246.

Schal C, Sevala VL, Young HP, Bachmann JAS, 1998. Sites of synthesis and transport pathways of insect hydrocarbons: cuticle and ovary as target tissues. *American Zoologist*, 38(2): 382–393.

Sturtevant AH, 1915. Experiments on sex recognition the problem of sexual selection in *Drosophila*. *Journal of Animal Behavior*, 5(5): 351–366.

Wang ZD, Ge CR, Xu ZQ, Zhang ZN, Fang YL, Xiao C, 2009. Attraction of pupae of *Piophila casei* for adults. *Acta Ecologica Sinica*, 29(11): 6281–6284. [王占娣, 葛长荣, 徐志强, 张钟宁, 方宇凌, 肖春, 2009. 酪蝇蛹对其成虫的引诱效果. 生态学报, 29(11): 6281–6284.]

Wei W, Zhao LL, Sun JH, 2006. Recent advances on Lepidopterous (moths) sex pheromones. *Acta Entomologica Sinica*, 49(5): 850–858. [韦卫, 赵莉蔺, 孙江华, 2006. 蛾类性信息素研究进展. 昆虫学报, 49(5): 850–858.]

Zhang TT, Dou TS, Xu ZQ, Li SH, Wang K, Xiao C, 2010. Semiochemicals from ovary of cheese skipper *Piophila casei* attract male cheese skipper. *Agrochemicals*, 49(9): 671–673. [张婷婷, 窦体寿, 徐志强, 李思函, 王凯, 肖春, 2010. 卵巢对酪蝇雄虫的引诱效果. 农药, 49(9): 671–673.]

Zhang RQ, Cheng JQ, Li HJ, 1992. The biological charactersitcs of cheese skipper *Piophila casei* (L.). *Journal of Southwest Forestry University*, 14(3): 266–270. [张荣强, 程惊秋, 李洪军, 1992. 酪蝇 *Piophila casei* (L.)的生物学特性研究. 西南农业大学学报, 14(3): 266–270.]

Zhang YS, Wei PD, Zhang BX, Li CM, Wan DS, 1984. The occurrence and control of cheese skipper in salted meat. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, (6): 44–47. [张友三, 魏培德, 张宝祥, 李长明, 万堆善, 1984. 腌腊肉制品酪蝇(*Piophila casei* L.)发生规律和防治研究. 中国兽医杂志, (6): 44–47.]