白星花金龟聚集信息素的分离鉴定及引诱效果*

李明杰** 于海洋 胡 安 王威龙 王少山***

（石河子大学农学院，新疆绿洲农业病虫害治理与植保资源利用重点实验室，石河子 832003）

摘 要 【目的】明确白星花金龟 *Protaetia brevitarsis* Lewis 聚集信息素的有效成分，为白星花金龟的绿色防控提供支持。**【方法】** 通过动态顶空法收集白星花金龟雌虫、雄虫和雌雄虫混合挥发物，用气相色谱-质谱（Gas chromatography-mass spectrometry，GC-MS）联用技术对收集的挥发物进行分析鉴定，并利用触角电位（Electroantennogram，EAG）仪和 Y 型嗅觉仪测定白星花金龟对 8 种化合物的触角电位和行为选择反应。**【结果】** 白星花金龟雌虫、雄虫和雌雄虫混合挥发物中皆鉴定出 8 类 15 种化合物，包括 6 种烷烃类、2 种酚类、2 种芳香烃类、1 种烯类、1 种吡啶类、1 种胺类、1 种醇类和 1 种酮类。EAG 试验结果表明，白星花金龟对 8 种化合物都有 EAG 反应，且不同挥发物间、同种挥发物不同浓度间的 EAG 反应存在差异。白星花金龟对蒎烷胺、3,4-二甲基-6-乙基苯酚、2,3-二甲基苯乙酮和 2,6,10,14-四甲基十七烷 4 种挥发物的 EAG 反应相对值在 1 μg/μL 时达到最大，对萘、苯并噻唑、百里酚和正十四烷 4 种挥发物的 EAG 反应相对值在 10 μg/μL 时达到最大。行为选择反应表明，白星花金龟雌成虫、雄成虫对 2,3-二甲基苯乙酮有明显趋向性，选择反应率大于 70%，对 2,6,10,14-四甲基十七烷、萘、苯并噻唑、百里酚和正十四烷 5 种物质均表现出显著或极显著的驱避效果，对 3,4-二甲基-6-乙基苯酚和蒎烷胺表现出了性别上的差异，雄虫对 3,4-二甲基-6-乙基苯酚表现出显著的趋向性，对蒎烷胺表现出显著的驱避性，而雌虫对这 2 种挥发物却无明显反应。**【结论】** 2,3-二甲基苯乙酮对白星花金龟雌成虫、雄成虫有明显的引诱效果，2,6,10,14-四甲基十七烷、萘、苯并噻唑、正十四烷和百里酚有较强的驱避作用，推测 2,3-二甲基苯乙酮是白星花金龟聚集信息素的有效组分。

关键词 白星花金龟；挥发物；GC-MS；EAG；嗅觉行为选择

Identification and bioassay of components of the aggregation pheromones of *Protaetia brevitarsis* Lewis

LI Ming-Jie** YU Hai-Yang HU An WANG Wei-Long WANG Shao-Shan***

(College of Agronomy, Shihezi University, Key Laboratory for Oasis Agricultural Pest Management and Plant Resource Utilization at Universities of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Shihezi 832003, China)

Abstract [Objectives] Effective components of the aggregation pheromones of *Protaetia brevitarsis* Lewis were identified to facilitate the development of green methods for the prevention and control of this pest. **[Methods]** Volatiles from females, males and both sexes were collected using the dynamic headspace method and identified with GC-MS. An EAG and Y-type olfactometer were used to test the EAG and behavioral responses of adults to 8 compounds. **[Results]** 15 compounds were identified in the volatiles collected from females, males, and both sexes, the main components of which were 6 alkanes, 2 phenols, 2 aromatic hydrocarbons, 1 alkene, 1 pyridine, 1 amine, 1 alcohol and 1 ketone. EAG and behavioral responses of females and males were significantly different to the same concentrations of different volatiles, and to different concentrations of the same volatiles. Relative EAG values to (-)-Isopinocampheylamine, 3,4-Dimethyl-6-ethylphenol, 1-(2,3-Dimethylphenyl) ethenone and 2,6,10,14-Tetramethylheptadecane peaked at 1 μg/μL, whereas relative EAG values to naphthalene, benzothiazole, thymol and tetradecane peaked at 10 μg/μL. A choice experiment showed that >70% of females and males were attracted to

*资助项目 Supported projects：国家自然科学基金项目“白星花金龟寄主定位的化学机制研究”（31460474）

**第一作者 First author，E-mail：1684640076@qq.com

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

收稿日期 Received：2021-03-31；接受日期 Accepted：2021-06-18

1-(2,3-dimethylphenyl) ethenone, but that a significant, or very significant, number were repelled, by 2, 6, 10, 14-tetramethylheptadecane, naphthalene, benzothiazole, thymol and tetradecane. Gender differences were apparent in the responses to 3,4-dimethyl-6-ethylphenol and (-)-Isopinocampheylamine; males were significantly attracted by 3,4-Dimethyl-6-ethylphenol and significantly repelled by (-)-Isopinocampheylamine, whereas females had no obvious response to these 2 volatiles. **[Conclusion]** 2,3-Dimethylacetophenone is attractive to both adult female and male *P. brevitarsis*, whereas 2,6,10,14-Tetramethylheptadecane, naphthalene, benzothiazole, thymol and tetradecane are strongly repellent to both sexes. We suspect that 2,3-Dimethylacetophenone is the active component of the aggregation pheromones of this species.

Key words *Protaetia brevitarsis* Lewis; volatile; GC-MS; EAG; olfactory behavioral selective

白星花金龟 *Protaetia brevitarsis* Lewis 属鞘翅目 Coleoptera 金龟科 Scarabaeidae 花金龟亚科 Cetoniidae，是葡萄、苹果、桃、玉米等多种果树、作物的重要经济害虫，国内分布广泛，在黑龙江、吉林、河南、陕西、新疆等地均有分布，在我国周边国家俄罗斯、日本、朝鲜等国亦有分布（索中毅等，2015）。白星花金龟以成虫为害各种农林作物的果实，玉米受害率达 50%，葡萄受害率达 20%-40%，其成虫的发生高峰期正好是果实成熟期，使用传统化学农药进行防治容易导致果实农药残留（许建军等，2009），在减少化学农药施用的背景下，急需研发防治白星花金龟的绿色防控新方法。

昆虫信息素，如性信息素和聚集信息素已被广泛用于诱捕、检测和破坏昆虫两性间的交配（Liu *et al.*，2020）。信息素具有特异性，在非常低的浓度下对昆虫就有较好的诱捕效果，与化学杀虫剂相比，信息素的使用对环境更安全（Sampson and Kirk，2013）。与性信息素相比，聚集信息素的来源多样，雌虫、雄虫和幼虫都能产生。在鞘翅目昆虫中，多数种类聚集信息素由雄虫产生，对两性均有吸引力，在诱捕和改变害虫行为方面具有更大的潜力（姜勇等，2002）。利用昆虫信息素调控昆虫的行为已经成为了一种常见的害虫防治技术（陆鹏飞等，2010）。王泽斌等（2013）发现以云杉八齿小蠹 *Ips typographus* L.的聚集信息素顺式鞭草烯酮和 2-甲基-3-丁烯-2-醇做诱芯来防控云杉八齿小蠹，林间有效防控距离可达 200 m 以上，诱集成虫 9 000 多头；泽桑梓等（2010）从华山松木蠹象 *Pissodes punctatus* 雄虫的后肠和虫粪中分离鉴定出该虫的一种聚集信息素 1-甲基-2-异丙烯基-环丁烷乙醇，该物质单独做引诱剂时对华山松木蠹象有较明显的引诱效果，与寄主植物挥发物混合使用时能明显增强寄主植物挥发物的引诱效果；华北大黑鳃金龟 *Holotrichia oblita* 雄虫后肠中鉴定出的顺-9-十八烯醛和乙酸顺-9-十八烯酯在一定浓度对华北大黑鳃金龟雌、雄成虫均有明显引诱效果（李雪等，2018）。鞘翅目昆虫的聚集信息素通常为一些烃、醇、醛、酮、酯、酸类化合物（姜勇等，2002），在金龟科中已有部分种类聚集信息素被鉴定出来，例如椰蛀犀金龟 *Oryctes rhinoceros* 聚集信息素为 4-甲基辛酸、4-甲基辛酸乙酯和 4-甲基庚酸乙酯（Hallett *et al.*，1995），非洲犀金龟 *Oryctes monoceros* 聚集信息素为 4-甲基辛酸（Gries *et al.*，1994），雅蛀犀金龟 *Oryctes elegans* 聚集信息素为 4-甲基辛酸（Rochat *et al.*，2004）。

目前对白星花金龟的研究多集中在生物学特征（王少山等，2011；王萍莉等，2018；杨柳等，2020）、寄主植物化学通讯（龚建等，2017；王瑞笛和王少山，2018）、空间分布（索中毅等，2015）、寄主间转移规律（蔡欢欢，2020）、农业防治（王萍莉等，2014；刘艳玲等，2020）等方面，关于白星花金龟聚集信息素方面的研究相对较少。而明确白星花金龟聚集信息素有效成分，为将来引诱剂的开发具有非常重要的实践意义。本研究利用动态顶空法收集白星花金龟聚集挥发物，通过 GC-MS、EAG 及行为反应测定，分析鉴定白星花金龟聚集挥发物成分，探究对白星花金龟有电生理和嗅觉行为反应的化合物，以期发现白星花金龟聚集信息素物质，为聚集信息素类引诱剂的开发及与寄主植物挥发物的联用提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

供试昆虫为白星花金龟成虫，采自石河子大学农学院实验站葡萄园（86°3′24″E，44°18′45″N）。将采集的成虫经鉴定雌、雄后，带回实验室单独置于养虫盒（45 cm×33 cm×14 cm）内，养虫盒内预先放入厚度为 5 cm 的土壤，以新鲜苹果喂养。选取健壮活跃的成虫进行试验。

1.2 白星花金龟体表挥发物收集及分析鉴定

采用动态顶空法收集白星花金龟雌成虫、雄成虫挥发物，试验前，将白星花金龟雌成虫、雄成虫饥饿处理 24 h，选取 30 头雌虫、30 头雄虫、雌雄成各 15 头分别放入三角瓶中，采用橡胶软管将三角瓶与大气采样仪连接，收集白星花金龟虫体挥发物；以未放任何东西的三角瓶作为对照。每个处理重复 3 次。参照 Pajares 等（2010）的方法，采用活性碳以 500 mL/min 速度过滤抽出三角瓶内空气，采集时间 4 h，吸附管内 PoraPak Q（80-100 目；管内填充吸附剂 200 mg）所收集的挥发物用 99.5%的二氯甲烷（天津永晟精细化工有限公司）洗涤 3 次，共收集 1.5 mL，置于 - 20 ℃冰箱待用。

将收集的挥发物采用气相色谱-质谱联用法分析。GC-MS 工作条件：GC 色谱柱为 HP-5MS 毛细管柱（30 m×250 μm×0.25 μm，Agilent Technologies），进样量 1 μL，无分流进样。进样口温度 250 ℃，升温程序如下：起始温度 50 ℃，保持 5 min，然后以 5 ℃/min 的速率升至 150 ℃保持 5 min，再以 15 ℃/min 的速率升至 230 ℃保持 5 min，之后以 10 ℃/min 的速率升至 290 ℃保持 2 min。电离方式 EI，电离能量为 70 eV，质量扫描范围 30-500 amu。载气流速为 1 mL/min。做 3 次重复，1 个对照（以 99.5%的二氯甲烷为空白对照），通过对 GC-MS 离子图谱分析，鉴定糖醋液挥发物成分。

1.3 供试挥发物

本试验供试标准化合物见表 1，用正己烷（色谱纯，天津市福晨化学试剂厂）将筛选的 8 种标准化合物配置成 3 个浓度梯度，分别为 0.1、1 和 10 μg/μL，密封保存于 4 ℃冰箱待用（表 1 中戊酸乙酯为标准参照物质，非所筛选的标准化合物，且仅配置 10 μg/μL）。

表 1 用于测定白星花金龟触角电位反应的标准化合物

Table 1 Standard compounds used to determine the electroantennogram response of the *Protaetia brevitarsis*

序号 Code	化合物 Compound	CAS 号 CAS number	纯度 Purity (%)	来源 Source
1	蒎烷胺(-)-Isopinocampheylamine	69460-11-3	95.0	天津药明康德
2	萘 Naphthalene	91-20-3	99.5	天津市大茂化学试剂厂
3	苯并噻唑 Benzothiazole	95-16-9	99.9	Sigma
4	3,4-二甲基-6-乙基苯酚 3,4-Dimethyl-6-ethylphenol	2219-78-5	99.9	Sigma
5	百里酚 Thymol	89-83-8	99.0	Dr. Ehrenstorfer
6	2,3-二甲基苯乙酮 1-(2,3-Dimethylphenyl)ethanone	2142-71-4	98.0	常州言己生物科技有限公司
7	正十四烷 Tetradecane	629-59-4	99.5	TCI
8	2,6,10,14-四甲基十七烷 2,6,10,14-Tetramethylheptadecane	18344-37-1	1 mg/mL	百灵威
9	戊酸乙酯 Ethyl valerate	539-82-2	99.5	Macklin

1.4 触角电位测定

参照宁眺等（2006）及李为争等（2013）的方法，选取健康活跃的白星花金龟成虫，取 1 根触角，沿着触角基部切下，切除触角尖端少许，然后将切下触角立即用导电胶固定在电极上。调整仪器，观察 EAG 信号记录装置，待基线平稳后开始测试。

将滤纸剪裁成 40 mm×5 mm 的方形纸条，并折叠成“V”形。测定过程中取 10 μL 处理挥发物均匀滴加在滤纸条上，然后放进 1 mL 移液枪枪头内，待 20 s 后开始试验，枪头距离触角 1 cm，持续洁净空气流速 600 mL/min，刺激气体流速 500 mL/min，刺激时间 0.5 s，前后两次刺激时间间隔 60 s。每根触角的挥发物测定顺序按标准参照物质-对照样品-待测挥发物-标准参照物质的顺序进行，以抵消触角逐渐失去活性时带来的不良影响，待测挥发物顺序随机抽取。均以正己烷作为对照，10 μg/μL 戊酸乙酯作为标准参照物质，每种挥发物雌、雄成虫各重复 7 次，每头成虫只取 1 根触角。

EAG 相对反应值计算见公式：

$$\text{EAG相对反应值} = \frac{\text{待测样品反应值} - \text{对照样品反应值}}{\text{标准参照反应值} - \text{对照样品反应值}} \times 100\%$$

1.5　行为反应测定

参照李雪等（2018）方法，用“Y”型嗅觉仪测试白星花金龟对 8 种挥发物的行为反应。将滤纸剪裁成 40 mm×5 mm 的方形纸条，测定时每次用移液枪取不同待测样品 10 μL 滴到滤纸条上，放置于侧臂的一端作为味源；另一端放置滴加相同体积正己烷（色谱纯）的滤纸条作为对照。试验中气体流量设置为 500 mL/min，从距主臂 3 cm 处接入待测试的雌、雄成虫，每次接入雌虫或雄虫 1 头，当成虫在任意侧臂中停留 1 min 以上，则认为其已做出趋性选择；从放入开始计时 5 min 内仍停留在主臂处，则认为无趋性反应。为了避免受气味源位置、试验过程中所附着的气味影响，每做 5 头雌虫或雄虫，更换气味源与对照的位置；每做 30 头雌虫或雄虫，更换新 Y 型管。每种待测样品对应供试白星花金龟雌、雄成虫各 60 头，所有供试成虫皆饥饿处理 24 h。为减少受环境光的影响，本试验在遮光条件下进行，光源由 6W LED 台灯提供。

反应率、选择反应率和选择系数计算见公式（周丽梅等，2009）：

$$\text{反应率} = \frac{\text{选择味源臂试虫数量} + \text{选择对照臂试虫数量}}{\text{测试虫总数}} \times 100\%$$

$$\text{选择反应率} = \frac{\text{选择味源臂试虫数量}}{\text{选择味源臂试虫数量} + \text{选择对照臂试虫数量}} \times 100\%$$

$$\text{选择系数} = \frac{\text{味源臂试虫数量} - \text{对照臂试虫数量}}{\text{选择味源臂试虫数量} + \text{选择对照臂试虫数量}}$$

选择系数大于 0，表示供试昆虫对测试化合物有趋性，值越大，表示趋性越强，选择系数最大值为 1；选择系数若小于 0，则表示供试昆虫对测试化合物有驱避性。

1.6　数据分析

试验数据采用 Excel 2019 统计整理，用 SPSS 20.0 进行数据分析，利用单因素方差分析 Duncan’s 多重比较法分析白星花金龟雌、雄成虫对不同挥发物、同一挥发物不同浓度 EAG 反应相对值的差异显著性，用独立样本 *T*-检验分析白星花金龟雌、雄成虫对同一挥发物相同浓度 EAG 反应相对值的差异显著性；用 χ^2 检验分析白星花金龟雌、雄成虫对不同挥发物的行为选择反应。

2　结果与分析

2.1　白星花金龟体表挥发物成分分析

白星花金龟雌虫、雄虫和雌雄混合挥发物中各物质成分及含量见表 2。在 3 个处理的挥发物中都分析鉴定出 8 类 15 种化合物，其中烷烃类物质 6 种，酚类物质 2 种，芳香烃类物质 2 种，烯类物质 1 种，吡啶类物质 1 种，胺类物质 1 种，醇类物质 1 种，酮类物质 1 种。同一物质在不同挥发物样品中含量存在差异，其中芳香烃类物质含量最高，占挥发物总含量的 60%以上。

2.2　白星花金龟雌、雄成虫对 8 种挥发物的 EAG 反应

白星花金龟雌成虫、雄成虫对 8 种挥发物的 EAG 反应存在明显差异，且同种挥发物不同浓度间也存在明显差异（表 3）。白星花金龟雌虫对浓度为 0.1、1 和 10 μg/μL 的 3,4-二甲基-6-乙基苯酚，1 μg/μL 和 10 μg/μL 的萘、苯并噻唑、

表 2 白星花金龟挥发物组分

Table 2 Volatile components of *Protaetia brevitasis*

序号 No.	保留时间（min）Retention time	挥发物名称 Volatile	化学式 Formula	CAS 号 CAS number	相对含量（%）Relative content		
					雌虫 Male	雄虫 Female	雌雄混合 Mix
1	11.91	6-叔丁基-2,3,4,5-四氢吡啶 2-tert-Butyl-3,4,5,6-tetrahydropyridine	$C_9H_{17}N$	90949-17-0	3.67	3.74	4.48
2	12.70	1,3,8-β-3 甲基三烯 1,3,8-p-Menthatriene	$C_{10}H_{14}$	18368-95-1	4.46	3.78	3.50
3	14.30	2,4,6-三甲基癸烷 Decane,2,4,6-trimethyl-	$C_{13}H_{28}$	62108-27-4	1.31	0.85	1.40
4	14.44	蒎烷胺 (-)-Isopinocampheylamine	$C_{10}H_{19}N$	69460-11-3	1.54	2.24	2.40
5	16.82	萘 Naphthalene	$C_{10}H_8$	91-20-3	28.38	22.75	20.31
6	17.40	2,5,9-三甲基癸烷 2,5,9-Trimethyldecane	$C_{13}H_{28}$	62108-22-9	5.92	4.64	2.82
7	17.57	1,1-二乙酰十二烷二醇 1,1-Dodecanediol, diacetate	$C_{16}H_{30}O_4$	56438-07-4	1.37	0.76	0.86
8	18.05	苯并噻唑 Benzothiazole	C_7H_5NS	95-16-9	31.72	41.43	47.06
9	18.74	3,4-二甲基-6-乙基苯酚 3,4-Dimethyl-6-ethylphenol	$C_{10}H_{14}O$	2219-78-5	1.17	0.90	0.87
10	18.99	百里酚 Thymol	$C_{10}H_{14}O$	89-83-8	2.38	1.85	1.48
11	19.23	2,3-二甲基苯乙酮 1-(2,3-Dimethylphenyl)ethanone	$C_{10}H_{12}O$	2142-71-4	1.26	1.30	1.26
12	20.26	2,6,8-三甲基癸烷 2,6,8-Trimethyldecane	$C_{13}H_{28}$	62108-26-3	2.56	2.46	1.87
13	22.92	正十四烷 Tetradecane	$C_{14}H_{30}$	629-59-4	7.95	7.47	5.25
14	25.48	2,6,10,14-四甲基十七烷 2,6,10,14-Tetramethylheptadecane	$C_{21}H_{44}$	18344-37-1	4.66	4.20	5.06
15	28.53	6-乙基-2-甲基癸烷 Decane, 6-ethyl-2-methyl	$C_{13}H_{28}$	62108-21-8	1.65	1.62	1.37

2,3-二甲基苯乙酮 EAG 反应差异显著（$P<0.05$），蒎烷胺、百里酚、正十四烷和 2,6,10,14-四甲基十七烷 EAG 反应相对值在 3 个浓度下无显著差异；白星花金龟雄成虫对 3 个浓度的 2,6,10,14-四甲基十七烷，0.1 μg/μL 和 1 μg/μL 蒎烷胺、苯并噻唑、3,4-二甲基-6-乙基苯酚，1 μg/μL 和 10 μg/μL 萘、百里酚，0.1 μg/μL 和 10 μg/μL 2,3-二甲基苯乙酮的 EAG 反应差异显著（$P<0.05$）。

比较雌、雄成虫对同种挥发物的 EAG 反应，在设置的 3 个试验浓度梯度中，白星花金龟雌成虫对 3 个试验浓度的 2,6,10,14-四甲基十七烷、0.1 μg/μL 的蒎烷胺、萘、3,4-二甲基-6-乙基苯酚、0.1 μg/μL 和 10 μg/μL 的苯并噻唑、正十四烷的 EAG 反应均高于雄虫；白星花金龟雄成虫对 3 个试验浓度的百里酚和 2,3-二甲基苯乙酮、1 μg/μL 和 10 μg/μL 的蒎烷胺、萘和 3,4-二甲基-6-乙基苯酚、1 μg/μL 的苯并噻唑和正十四烷的 EAG 反应均高于雌虫。

同种挥发物在相同浓度下，白星花金龟雌成虫、雄成虫的 EAG 反应存在性别上的差异。白星花金龟雌成虫、雄成虫对 0.1 μg/μL 的 2,6,10,14-四甲基十七烷（$F=4.72$，$df=14$，$P<0.01$）、1 μg/μL 萘（$F=0.96$，$df=14$，$P<0.01$）、10 μg/μL 的 2,3-二甲基苯乙酮（$F=0.00$，$df=14$，$P<0.01$）的 EAG 反应差异极显著；对 0.1 μg/μL 的 3,4-二甲基-6-乙基苯酚（F=2.01，$df=14$，$P=0.02$）、1 μg/μL 蒎烷胺（$F=0.89$，$df=14$，$P=0.04$）和苯并噻唑（$F=11.88$，$df=14$，$P=0.03$）、10 μg/μL 百里酚（$F=2.78$，$df=14$，$P=0.01$）的 EAG 反应差异显著；白星花金龟雌、雄成虫对各挥发物其余浓度的 EAG 反应差异不显著。8 种挥发物的 EAG 反应结果显示，白星花金龟雌成虫、雄成虫对 1 μg/μL 的蒎烷胺、3,4-二甲基-6-乙基苯酚、2,3-二甲基苯乙酮、2,6,10,14-四甲基十七烷和 10 μg/μL 的萘、苯并噻唑、百里酚、正十四烷有最高的触角电生理活性。

表 3　白星花金龟雌、雄成虫对 8 种挥发物不同浓度的 EAG 反应

Table 3　EAG responses of female and male adults *Protaetia brevitarsis* of the 8 kinds volatiles

化合物 Compound	浓度（μg/μL） Volatiles density（μg/μL）	EAG 相对反应均值（%）（mV） Relative EAG values (%)（mV）		*P*
		雌虫 Female	雄虫 Male	
蒎烷胺 (-)-Isopinocampheylamine	0.1	99.78±4.43a	97.52±20.20Bb	0.916
	1	116.06±15.88a	162.03±12.55Aa	0.039*
	10	86.85±15.16a	118.86±9.10ab	0.092
萘 Naphthalene	0.1	114.21±14.26ab	111.48±12.05B	0.886
	1	80.76±7.96Bb	186.26±10.23A	0.000**
	10	145.36±15.48Aa	183.44±18.81A	0.140
苯并噻唑 Benzothiazole	0.1	123.88±17.67ab	96.91±12.88b	0.238
	1	80.76±6.16Bb	147.95±25.07a	0.032*
	10	144.73±14.46Aa	123.05±17.34ab	0.354
3,4-二甲基-6-乙基苯酚 3,4-Dimethyl-6-ethylphenol	0.1	133.90±14.08ABa	87.40±10.27b	0.018*
	1	145.51±24.95Aa	161.88±32.00a	0.693
	10	60.73±18.01Bb	123.95±23.58ab	0.051
百里酚 Thymol	0.1	145.42±30.24a	164.43±34.06ab	0.683
	1	105.46±11.38a	131.07±7.75b	0.084
	10	104.42±19.61a	210.10±30.85a	0.012*
2,3-二甲基苯乙酮 1-(2,3-Dimethylphenyl)ethanone	0.1	82.90±12.46ab	105.11±13.63b	0.249
	1	109.93±13.04a	133.53±11.14ab	0.190
	10	68.14±10.86b	154.43±11.40a	0.000**
正十四烷 Tetradecane	0.1	152.02±25.39a	104.66±13.42a	0.128
	1	136.06±33.09a	143.94±11.74a	0.826
	10	149.98±16.00a	137.45±21.20a	0.644
2,6,10,14-四甲基十七烷 2,6,10,14-Tetramethylheptadecane	0.1	148.10±18.49a	78.94±6.11Bb	0.007**
	1	200.62±31.70a	189.51±15.89A	0.760
	10	164.91±29.75a	123.03±15.24Ba	0.238

表中 EAG 反应相对值为平均值±标准误差；同列数据后标有不同小写字母和大写字母分别表示同种挥发物不同浓度在 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 水平上差异显著；*和**分别表示白星花金龟雌成虫、雄成虫对同种挥发物同一浓度下经 *T*-检验在 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 水平上差异显著。

The EAG is mean±SE. Data with different small letters and capital letters indicate significant difference of concentration of the same volatile in $P<0.05$ and $P<0.01$ level, respectively. * and ** indicates significant difference in EAG response between female and male adults of *P. brevitarsis* to the same concentration of the same volatile in $P<0.05$ and $P<0.01$ level by *T*-test, respectively.

2.3　白星花金龟对不同挥发物的行为选择反应

选择 8 种挥发物电生理活性最佳的浓度进行行为反应测定（图 1），试验表明，白星花金龟对这 8 种挥发物均表现出一定的偏好性。白星花金龟雌虫对 2,3-二甲基苯乙酮（χ^2=9.62，*df*=1，$P<0.01$）表现出明显的偏好性，选择反应率达 70.91%（表 4），与对照相比差异达到极显著水平；对 3,4-二甲基-6-乙基苯酚（χ^2=1.79，*df*=1，P=0.18）和蒎烷胺（χ^2=0.29，*df*=1，P=0.59）未

表现出明显偏好性，选择反应率分别为 41.07%和 53.57%，与对照相比差异不显著；对 2,6,10,14-四甲基十七烷、萘、苯并噻唑、正十四烷和百里酚均表现出明显驱避性，与对照相比差异达到显著或极显著水平（2,6,10,14-四甲基十七烷，χ^2=5.40，*df*=1，*P*=0.02；萘，χ^2=7.48，*df*=1，*P*<0.01；苯并噻唑，χ^2=9.28，*df*=1，*P*<0.01；正十四烷，χ^2=16.67，*df*=1，*P*<0.01；百里酚，χ^2=22.27，*df*=1，*P*<0.01），选择反应率分别为 35.00%、32.20%、29.83%、22.22%和 18.18%。白星花金龟雄虫对 2,3-二甲基苯乙酮（χ^2=14.00，*df*=1，*P*<0.01）和 3,4-二甲基-6-乙基苯酚（χ^2=4.41，*df*=1，*P*=0.04）均表现出明显的偏好性，与对照相比差异达到显著或极显著水平，选择反应率分别达 70.00%和 63.79%；对蒎烷胺、2,6,10,14-四甲基十七烷、萘、苯并噻唑、正十四烷和百里酚均表现出明显驱避性，与对照相比差异达到显著或极显著水平（蒎烷胺，χ^2=6.33，*df*=1，*P*=0.01；2,6,10,14-四甲基十七烷，χ^2=10.59，*df*=1，*P* < 0.01；萘，χ^2=6.33，*df*=1，*P*=0.01；苯并噻唑，χ^2=19.11，*df*=1，*P* < 0.01；正十四烷，χ^2=5.07，*df*=1，*P*=0.02；百里酚，χ^2=10.67，*df*=1，*P*<0.01），选择反应率分别为 33.33%、28.81%、33.33%、21.05%、35.09%和 27.78%。综上所述，2,3-二甲基苯乙酮对白星花金龟雌雄成虫均有极显著的引诱作用，而 3,4-二甲基-6-乙基苯酚仅对白星花金龟雄虫有明显引诱作用，雌虫对其不敏感。

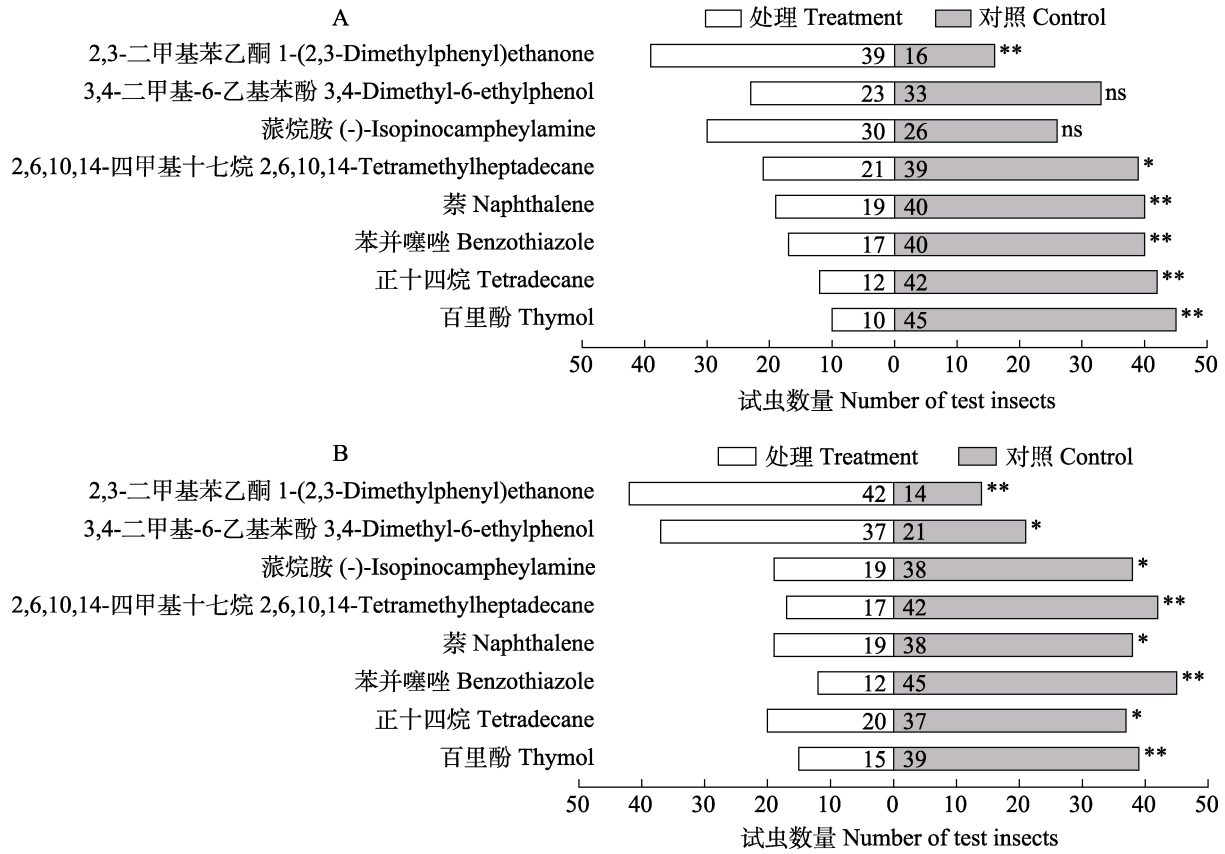

图 1 白星花金龟雌（A）、雄（B）成虫对 8 种挥发物的行为选择反应

Fig. 1 Behavioral selective responses of female (A) and male (B) adults of *Protaetia brevitarsis* to 8 kinds volatile

图中数字表示白星花金龟试虫选择数量；*和**分别表示处理与对照之间经 χ^2 检验在 *P*<0.05 和 *P*<0.01 水平上差异显著，ns 表示 χ^2 检验结果差异不显著。

The numbers in the figure indicate the number of test insects selected by the *P. brevitarsis*. * and ** indicates significant difference between the treatment and the control at the 0.05 and 0.01 level by χ^2 test, respectively. ns indicates no significant difference by the results of the χ^2 test.

表 4　白星花金龟雌、雄成虫对不同挥发物的行为选择反应率

Table 4　Behavioral selective response rate of female and male adults of *Protaetia brevitarsis* to different volatiles

挥发物 Volatiles	性别 Sex	反应率（%） Response rate	选择反应率（%） Selection response rate	选择系数 Selection coefficient
2,3-二甲基苯乙酮 1-(2,3-Dimethylphenyl)ethanone	雌虫 Female	91.67	70.91	0.42
	雄虫 Male	93.33	70.00	0.50
3,4-二甲基-6-乙基苯酚 3,4-Dimethyl-6-ethylphenol	雌虫 Female	93.33	41.07	–0.18
	雄虫 Male	96.67	63.79	0.26
蒎烷胺(-)-Isopinocampheylamine	雌虫 Female	93.33	53.57	0.07
	雄虫 Male	95.00	33.33	–0.33
2,6,10,14-四甲基十七烷 2,6,10,14-Tetramethylheptadecane	雌虫 Female	100.00	35.00	–0.30
	雄虫 Male	98.33	28.81	–0.42
萘 Naphthalene	雌虫 Female	98.33	32.20	–0.36
	雄虫 Male	95.00	33.33	–0.33
苯并噻唑 Benzothiazole	雌虫 Female	95.00	29.83	–0.40
	雄虫 Male	95.00	21.05	–0.58
正十四烷 Tetradecane	雌虫 Female	90.00	22.22	–0.56
	雄虫 Male	95.00	35.09	–0.30
百里酚 Thymol	雌虫 Female	91.67	18.18	–0.64
	雄虫 Male	90.00	27.78	–0.44

3　讨论

昆虫自身所释放的挥发物中含有多种信息素如聚集信息素、性信息素，是昆虫用于种内个体间通讯交流的微量物质，在昆虫交配、产卵、寻找食物等方面起着重要作用(巩雪芳等，2018；Serrano *et al.*，2019）。目前对金龟子类聚集信息素的研究较少，只有少数几种被报道，且多都集中在犀金龟科(Gries *et al.*，1994；Hallett *et al.*，1995；Rochat *et al.*，2004；)。本研究通过 GC-MS 对所采集的白星花金龟雌虫、雄虫和雌雄虫混合的挥发物进行分析鉴定，从中发现了 8 类 15 种化合物，分别为烷烃类、酚类、芳香烃类、烯类、吡啶类、胺类、醇类和酮类物质，且这些物质在雌虫、雄虫和雌雄虫混合挥发物中均有发现，但各物质在三者间的含量存在差异，其中芳香烃类物质含量最高，占挥发物总含量的 60%以上。

触角是昆虫感受信息物质的主要器官，通过对气味物质的感知识别，能快速有效的识别环境中对生存繁衍起重要作用的信息（Matsuo *et al.*，2007）。EAG 结果表明，白星花金龟雌、雄成虫对 8 种挥发物 3 个浓度均有 EAG 反应，在同一浓度下，白星花金龟雌、雄成虫对同一挥发物的反应有一定的差异，这种差异可能与白星花金龟雌、雄成虫触角感受器的不同有关（王瑞笛，2019）。通常情况下，昆虫对挥发物的反应存在浓度阈值，高于这个阈值或低于这个阈值昆虫对挥发物的反应都会下降（王霞等，2009；李俊龙等，2019）。在 8 种挥发物中，白星花金龟对蒎烷胺、3,4-二甲基-6-乙基苯酚、2,3-二甲基苯乙酮和 2,6,10,14-四甲基十七烷 4 种挥发物的 EAG 反应相对值在 1 μg/μL 时达到最大，对萘、苯并噻唑、百里酚和正十四烷 4 种挥发物的 EAG 反应相对值在 10 μg/μL 时达到最大。郝双红等（2005）以白星花金龟活成虫作为引诱源田间诱捕白星花金龟，发现以雌虫和雄虫分别作引诱源均能诱捕到白星花金龟两性成虫，可见白星花金龟雌、雄成虫均能释放对两性成虫具有引诱作用的物质；王惠等（1999）从华北大黑鳃金龟成虫后肠中分离鉴定出一种化合物——苯乙酮，田间

试验过程中发现其对白星花金龟具有良好的引诱效果，诱虫数在性比上接近 1∶1，推测苯乙酮可能是白星花金龟聚集信息素的组分之一。本试验未在白星花金龟挥发物中发现苯乙酮，但发现了 2,3-二甲基苯乙酮，行为选择反应显示，一定浓度的 2,3-二甲基苯乙酮单个组分即对白星花金龟雌、雄成虫具有明显引诱作用。由此可见，2,3-二甲基苯乙酮可能是白星花金龟聚集信息素的有效组分，能同时吸引雌、雄成虫。白星花金龟不仅会释放聚集信息素引诱同种昆虫，也会释放对同种昆虫产生驱避作用的物质，刘艳玲等（2020）报道，白星花金龟成虫捣碎后加水的浸泡液，喷在果树上可达到驱避成虫的效果。本研究也发现，在试验的 8 种挥发物中，白星花金龟雌、雄成虫对 2,6,10,14-四甲基十七烷、萘、苯并噻唑、正十四烷和百里酚 5 种物质均表现出显著或极显著的驱避效果，虽不清楚这些驱避物质在其生长发育中起到的作用，但这些物质可作为白星花金龟驱避剂的主要成分，用于白星花金龟的绿色防控。

引诱剂的成功开发需要在田间开展大量的诱捕、筛选试验，需要反复对配方的物质组成、比例进行调整优化。本研究仅初步确定白星花金龟聚集信息素为 2,3-二甲基苯乙酮，虽然单个组分即对白星花金龟雌、雄成虫具有引诱作用，但这仅是室内试验结果，还需田间试验来进一步验证。寄主植物挥发物与昆虫聚集信息素已广泛用于害虫的防控，两者混配后能明显增强诱虫效果（Nehme *et al.*，2009；Pajares *et al.*，2010），目前已有对于白星花金龟寄主植物挥发物的相关研究，已筛选出一些对白星花金龟有较好引诱作用的植物源挥发物（龚建等，2017；王瑞笛，2019），在今后若能将白星花金龟聚集信息素与植物源挥发物进行组合混配，通过室内行为选择和田间引诱试验，筛选出田间诱捕效果良好的引诱剂配方，将对监测和防控白星花金龟具有重大的实践意义。

参考文献 (References)

Cai HH, 2020. Movements among hosts and control technology of *Protaetia brevitarsis* Lewis. Master dissertation. Shihezi: Shihezi University. [蔡欢欢, 2020. 白星花金龟成虫的寄主转移规律和控制技术研究. 硕士学位论文. 石河子: 石河子大学.]

Gong J, Chen L, Wang SS, 2017. Electroantennogram responses of female and male adults of *Protaetia brevitasis* Lewis to volatile alcohols and aldehydes. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 54(6): 1085–1092. [龚建, 陈立, 王少山, 2017. 白星花金龟对醇和醛类植物挥发物的触角电位反应. 新疆农业科学, 54(6): 1085–1092.]

Gong XF, Xie SA, Che XR, Lu SJ, Lu N, 2018. Relationship between insect pheromone and host volatiles in green control and research progress review. *Shaanxi Forest Science and Technology*, 46(5): 91–98. [巩雪芳, 谢寿安, 车显荣, 吕淑杰, 吕妮, 2018. 昆虫信息素与寄主挥发物在绿色防控中的关系及研究进展. 陕西林业科技, 46(5): 91–98.]

Gries G, Gries R, Perez AL, Oehlschlager AC, Gonzales LM, Pierce HD, 1994. Aggregation pheromone of the african rhinoceros beetle, *Oryctes monoceros* (Olivier) (Coleoptera: Scarabaeidae). *Zeitschrift fur Naturforschung C*, 49(5): 363–366.

Hallett RH, Perez AL, Gries G, Gries R, Pierce HD, Yue J, Oehlschlager AC, Gonzalez LM, Borden JH, 1995. Aggregation pheromone of coconut rhinoceros beetle, *Oryctes rhinoceros* (L.) (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Chemical Ecology*, 21(10): 1549–1570.

Hao SH, Li GZ, Zhang T, Zhang Q, Feng JT, Zhang X, 2005. Behavior of the scarab beetle, *Protaetia brevitarsis* and pheromone attraction effects. *Chinese Journal of Biological Contol*, 21(2): 124–126. [郝双红, 李广泽, 张涛, 张强, 冯俊涛, 张兴, 2005. 白星花金龟行为学观察及其信息素的诱虫效果. 中国生物防治, 21(2): 124–126.]

Jiang Y, Lei CL, Zhang ZN, 2002. The aggregation pheromones of insects. *Acta Entomologica Sinica*. 45(6): 822–832. [姜勇, 雷朝亮, 张钟宁, 2002. 昆虫聚集信息素. 昆虫学报, 45(6): 822–832.]

Li JL, Chen L, Liu CM, 2019. Olfactory and behavioral responses of *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae) workers to cotton volatiles induced by cotton aphids. *Acta Entomologica Sinica*, 62(5): 594–601. [李俊龙, 陈立, 刘长明, 2019. 红火蚁工蚁对棉蚜诱导的棉花挥发物的嗅觉和行为反应. 昆虫学报, 62(5): 594–601.]

Liu P, Qin Z, Feng M, Zhang L, Huang X, Shi W, 2020. The male-produced aggregation pheromone of the bean flower thrips *Megalurothrips usitatus* in China: Identification and attraction of conspecifics in the laboratory and field. *Pest Management Science*, 76(9): 2986–2993.

Lu PF, Huang LQ, Wang CZ, 2010. Semiochemicals used in chemical communication in the oriental fruit moth, *Grapholitha molesta* Busck (Lepidoptera: Tortricidae). *Acta Entomologica Sinica*, 53(12): 1390–1403. [陆鹏飞, 黄玲巧, 王琛柱, 2010. 梨小食心虫化学通信中的信息物质. 昆虫学报, 53(12): 1390–1403.]

Li WZ, Yang L, Shen XW, Yuan YH, Yuan GH, Luo MH, Guo XR, 2013. Electroantennographic and behavioural responses of scarab beetles to *Ricinus communis* leaf volatiles. *Acta Ecologica Sinica*, 33(21): 6895–6903. [李为争, 杨雷, 申小卫, 袁莹华, 原国辉, 罗梅浩, 郭线茹, 2013. 金龟甲对蓖麻叶挥发物的触角电位和行为反应. 生态学报, 33(21): 6895–6903.]

Li X, Li JY, Cao YZ, Yin J, Lan JQ, Li KB, 2018. Identification and bioassay of aggregation pheromone componentsof northern China scarab beetle *Holotrichia oblita*. *Journal of Plant Protection*, 45(2): 257–265. [李雪, 李建一, 曹雅忠, 尹姣, 兰建强, 李克斌, 2018. 华北大黑鳃金龟聚集信息素的分离鉴定及其引诱效果. 植物保护学报, 45(2): 257–265.]

Liu YL, Lei JF, Bai GS, Yan ZH, Pang LX, 2020. Occurrence and prevention of *Protaetia brevitarsis* in cherry orchard in Guanzhong plain. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 48(6): 122–126. [刘艳玲, 雷金繁, 白岗栓, 燕志辉, 庞录侠, 2020. 关中平原樱桃园白星花金龟子的发生与防治. 安徽农业科学, 48(6): 122–126.]

Matsuo T, Sugaya S, Yasukawa J, Aigaki T, Fuyama Y, 2007. Odorant-binding proteins OBP57d and OBP57e affect taste perception and host-plant preference in *Drosophila sechellia*. *PLoS Biology*, 5(5): 985–996.

Nehme ME, Keena MA, Zhang A, Baker TC, Hoover K, 2009. Attraction of *Anoplophora glabripennis* to male-produced pheromone and plant volatiles. *Environmental Entomology*, 38(6): 1745–1755.

Ning T, Fan JT, Fang YL, Sun JH, 2006. Changes in contents of host volatile terpenes under different damaged states and electroantennogram response of *Monochamus alternatus* Hope to these volatiles. *Acta Entomologica Sinica*, 49(2): 179–188. [宁眺, 樊建庭, 方宇凌, 孙江华, 2006. 不同危害状态下寄主萜烯挥发物含量的变化及松墨天牛对其组分的触角电位反应. 昆虫学报, 49(2): 179–188.]

Pajares JA, Álvarez G, Ibeas F, Gallego D, Hall DR, Farman DI, 2010. Identification and field activity of a male-produced aggregation pheromone in the pine sawyer beetle, *Monochamus galloprovincialis*. *Journal of Chemical Ecology*, 36(6): 570–583.

Rochat D, Mohammadpoor K, Malosse C, Avand-Faghih A, Lettere M, Beauhaire J, Morin J, Pezier A, Renou M, Abdollahi GA, 2004. Male aggregation pheromone of date palm fruit stalk borer *Oryctes elegans*. *Journal of Chemical Ecology*, 30(2): 387–407.

Sampson C, Kirk WDJ, 2013. Can mass trapping reduce thrips damage and is it economically viable? Management of the western flower thrips in strawberry. *PLoS ONE*, 8(11): e80787.

Serrano JM, McElfresh JS, Zou Y, Millar JG, 2019. Identification of aggregation-sex pheromone components for a “living fossil”, the false click beetle, *Palaeoxenus dohrni* Horn (Coleoptera: Eucnemidae). *Journal of Chemical Ecology*, 45(4): 366–370.

Suo ZY, Bai M, Li S, Yang HD, Li T, Ma DY, 2015. A geometric morphometric analysis of the morphological variations among Chinese populations of *Protaetia brevitarsis* (Coleoptera: Scarabaeidae) with an inference of the invading source of its Xinjiang populations. *Acta Entomologica Sinica*, 58(4): 408–418. [索中毅, 白明, 李莎, 杨海东, 李涛, 马德英, 2015. 中国白星花金龟地理变异的几何形态学分析及其新疆种群的入侵来源推断. 昆虫学报, 58(4): 408–418.]

Wang H, Hao SH, Wang ZM, 1999. Seperation ang identification of a botanic aggregation pheromone of a scarab beetle. National Symposium on Research and Development of Plant Pesticides. Xi'an. 124–127. [王惠, 郝双红, 王正明, 1999. 一种植物源金龟甲聚集素的分离与鉴定. 全国植物性农药研究与开发学术讨论会. 西安. 124–127.]

Wang PL, Li XW, Rao XJ, 2014. Comparison of effect of different attractants on *Protaetia brevitarsis*. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, (12): 79–81. [王萍莉, 李小万, 饶晓娟, 2014. 不同引诱剂对白星花金龟的引诱效果比较. 黑龙江农业科学, (12): 79–81.]

Wang PL, Li XW, Gao P, Wen JB, 2018. The emergence and mating behavior of *Protaetia brevitarsis* Lewis. *Plant Protection*, 44(1): 174–178. [王萍莉, 李小万, 高朋, 温俊宝, 2018. 白星花金龟的羽化及交配行为. 植物保护, 44(1): 174–178.]

Wang RD, Wang SS, 2018. Olfactory behavioral responses of *Protaetia brevitarsis* Lewis to 10 kinds of host volatiles. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 55(9): 1656–1662. [王瑞笛, 王少山, 2018. 白星花金龟成虫对 10 种寄主挥发物的嗅觉行为反应. 新疆农业科学, 55(9): 1656–1662.]

Wang RD, 2019. Behavioral responses of *Protaetia brevitarsis* Lewis to different volatiles. Master dissertation. Shihezi: Shihezi University. [王瑞笛, 2019. 白星花金龟对不同挥发物的行为反应. 硕士学位论文. 石河子: 石河子大学.]

Wang SS, Zhou TY, Liu Z, Chen B, Mao JC, Cheng J, Li GY, 2011. Investigation on occurrences and damages of *Postosia brevitarsis* Lewis in Shihezi. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 27(18): 288–292. [王少山, 周天跃, 刘政, 陈波, 毛建才, 程静, 李国英, 2011. 石河子白星花金龟发生为害调查研究. 中国农学通

报, 27(18): 288–292.]

Wang X, Xu J, Shen YL, Liu FY, Du YJ, 2009. Electroantennogram responses of *Maruca testulalis* (Lepidoptera: Pyralidae) to plant volatiles and sex pheromone. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 20(8): 1973–1979. [王霞, 徐静, 沈幼莲, 刘凤英, 杜永均, 2009. 豆野螟成虫触角对植物挥发性和性信息素化合物的触角电位反应. 应用生态学报, 20(8): 1973–1979.]

Wang ZB, Chen YQ, Wang FY, Wang HH, Xu HZ, Li XP, Song LW, 2013. Research on the application technology of aggregation pheromone of *Ips typographus* L. *Journal of Jilin Forestry Science and Technology*, 42(3): 24–26. [王泽斌, 陈越渠, 王福有, 王恒海, 徐华哲, 李兴鹏, 宋丽文, 2013. 云杉八齿小蠹聚集信息素应用技术研究. 吉林林业科技, 42(3): 24–26.]

Xu JJ, Yuan Z, Liu ZJ, Liu H, Guo WC, Tu EX·AHMT, He J, 2009. A study on host, distribution and occurrence pattern of *Protaetia brevitarsis* Lewis in Xinjiang. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 46(5): 1042–1046. [许建军, 袁洲, 刘忠军, 刘红, 郭文超, 吐尔逊·阿合买提, 何江, 2009. 白星花金龟在新疆农田生态区的寄主、分布及其发生规律. 新疆农业科学, 46(5): 1042–1046.]

Yang L, Zhang GJ, Xu T, Zhang LJ, Li JL, Zhang S, Qiang S, Ma DY, Liu YS, 2020. The effects of different agricultural organic wastes on the biological characteristics of *Protaetia brevitarsis* Lewis. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 57(4): 946–954. [杨柳, 张广杰, 徐韬, 张连俊, 李金兰, 张帅, 羌松, 马德英, 刘玉升, 2020. 不同农业有机废弃物对白星花金龟生物学特性影响研究. 应用昆虫学报, 57(4): 946–954.]

Zhou LM, Ju Q, Qu MJ, Zhao ZQ, Dong SL, Han ZJ, Yu SL, 2009. EAG and behavioral responses of the large black chafer, *Holotrichia parallela* (Coleoptera: Scarabaeidae) to its sex pheromone. *Acta Entomologica Sinica*, 52(2): 121–125. [周丽梅, 鞠倩, 曲明静, 赵志强, 董双林, 韩召军, 禹山林, 2009. 暗黑鳃金龟对性信息素的触角电生理及行为反应(英文). 昆虫学报, 52(2): 121–125.]

Ze SZ, Yan ZL, Zhang Z, Ma HF, 2010. Identification and bioassay of aggregation pheromone components of *Pissodes punctatus* (Coleoptera:Curculionidae). *Acta Entomologica Sinica*, 53(3): 293–297. [泽桑梓, 闫争亮, 张真, 马惠芬, 2010. 华山松木蠹象聚集信息素分离鉴定和引诱效果. 昆虫学报, 53(3): 293–297.]