

橘小实蝇和番石榴实蝇卵的提取物对两种实蝇行为的影响及化学成分分析*

魏 波^{1**} 魏成梅¹ 李云国² 唐加菜¹ 胡选升¹ 刘 航¹ 董文霞^{1***}

(1. 云南农业大学植物保护学院, 云南生物资源保护与利用国家重点实验室, 昆明 650201;

2. 昭通市苹果产业发展中心, 昭通 657900)

摘 要 【目的】探究橘小实蝇 *Bactrocera dorsalis* 和番石榴实蝇 *Bactrocera correcta* 卵提取物对 2 种实蝇雌虫行为的影响, 以及 2 种实蝇卵表面化合物的差异, 为 2 种实蝇的化学生态防治提供理论依据。

【方法】利用 Y 型嗅觉仪测定了橘小实蝇交配雌虫和番石榴实蝇交配雌虫对卵表提取物的行为反应, 并利用 EthoVision XT 软件分析雌虫在 Y 管内的运动轨迹; 利用气相色谱-质谱联用仪 (GC-MS) 鉴定分析橘小实蝇卵和番石榴实蝇卵的化合物成分, 并利用标准曲线法测定了各组分的含量。【结果】橘小实蝇卵提取物对橘小实蝇交配雌虫具有显著引诱作用 ($\chi^2=9.383$, $P=0.002$), 对番石榴实蝇交配雌虫具有显著驱避作用 ($\chi^2=6.737$, $P=0.009$), 番石榴实蝇卵提取物对番石榴实蝇交配雌虫 ($\chi^2=4.235$, $P=0.040$) 和橘小实蝇交配雌虫都具有引诱作用 ($\chi^2=5.818$, $P=0.016$)。从橘小实蝇卵表提取物中共鉴定出 11 种化合物, 分别是茴香脑、十五烷、十二烷酸、十二酸乙酯、(Z)-11-十四碳烯酸、十四烷酸、十四酸乙酯、(E)-9-十六碳烯酸乙酯、十六烷酸、十八碳烯酸、(Z)-9-十八碳烯酸乙酯。从番石榴实蝇卵表提取物中仅鉴定出 7 种化合物, 而且这 7 种化合物在橘小实蝇的卵提取物中都存在。仅存在于橘小实蝇卵表的 4 种化合物是茴香脑、十二烷酸、十二酸乙酯、(Z)-11-十四碳烯酸。在 2 种实蝇卵提取物的相同成分中, 十四烷酸、(E)-9-十六碳烯酸乙酯、十六烷酸在橘小实蝇卵表的含量显著高于番石榴实蝇。【结论】番石榴实蝇具有通过卵表化合物识别同种卵和异种卵的能力, 2 种实蝇的卵表化合物具有明显的差异。

关键词 橘小实蝇; 番石榴实蝇; 卵表化合物; 行为反应

The effect of egg extracts on the behavior of gravid female *Bactrocera dorsalis* and *Bactrocera correcta* and analysis of chemicals on the egg surfaces of these species

WEI Bo^{1**} WEI Cheng-Mei¹ LI Yun-Guo² TANG Jia-Cai¹
HU Xuan-Sheng¹ LIU Hang¹ DONG Wen-Xia^{1***}

(1. College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, National Key Laboratory for Conservation and Utilization of Biological Resources in Yunnan, Kunming 650201, China;

2. Apple Industry Development Center of Zhaotong, Zhaotong 657900, China)

Abstract 【Objectives】To investigate the effect of egg extracts on the behavior of gravid female *Bactrocera dorsalis* and *B. correcta* was measured, identify chemicals on the egg surfaces of each species, in order to explain intra- and inter-species differences in the role of semiochemicals in egg recognition, and provide a theoretical basis for the chemical, ecological control of these pests. 【Methods】The behavioral responses of mated female *B. dorsalis* and *B. correcta* to extracts from the eggs of these species were investigated in a Y tube olfactometer, and their activity tracks analyzed with the software EthoVision XT. Compounds on egg surfaces were identified by GC-MS and quantified by calculating absolute calibration

*资助项目 Supported projects: 云南生物资源与保护重点实验室开放基金 (2015-004)

**第一作者 First author, E-mail: weibol5094267816@163.com

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

收稿日期 Received: 2020-12-21; 接受日期 Accepted: 2021-06-24

curves obtained from authentic standards. **[Results]** Egg extracts of *B. dorsalis* attracted gravid females of this species ($\chi^2=9.383$, $P=0.002$), but repelled female *B. correcta* ($\chi^2=6.737$, $P=0.009$). However, egg extracts of *B. correcta* were attractive to both species ($\chi^2=4.235$, $P=0.040$; $\chi^2=5.818$, $P=0.016$). A total of 11 compounds were identified in egg extracts of *B. dorsalis*, including anethole, pentadecane, dodecanoic acid, ethyl dodecanoate, (Z)-11-tetradecenoic acid, tetradecanoic acid, ethyl tetradecanoate, ethyl (E)-9-hexadecenoate, hexadecanoic acid, octadecenoic acid and ethyl (Z)-9-octadecenoate. Only 7 compounds were identified from extracts of *B. correcta* eggs, and these were also identified from extracts of *B. dorsalis* eggs. Anethole, dodecanoic acid, ethyl dodecanoate, (Z)-11-tetradecenoic acid were only detected in extracts from *B. dorsalis* eggs. The amounts of tetradecanoic acid, ethyl (E)-9-hexadecenoate, and hexadecanoic acid were higher in extracts from *B. dorsalis* eggs than in those from *B. correcta* eggs. **[Conclusion]** Species-specific egg surface semiochemicals allow *B. correcta* to distinguish its own eggs from those of *B. dorsalis*, and there are significant differences in the chemical composition of the eggs of these two fruit fly species.

Key words *Bactrocera dorsalis*; *Bactrocera correcta*; egg surface chemicals; behavioral response

在昆虫的生命周期中,产卵是其繁衍后代、维持种群数量的重要环节,主要通过嗅觉识别和接受寄主,它反映了昆虫与寄主之间的相互适应关系,以及昆虫群落构建机制(Wei *et al.*, 2000; 张茂新等, 2003)。对于雌虫来说,找到一个合适的产卵地点是一项具有挑战性的任务,因为刚孵化出的幼虫活动能力有限,如果雌虫将卵错误地产在非寄主或者非适宜寄主上,初孵幼虫很难找到新的适宜寄主。如果寄主植物已经被其它昆虫产卵,一些昆虫的雌虫能够感受这些卵释放的化学信息,以此来判断该场所是否适合其产卵,避免其后代与其它昆虫的后代之间的食物竞争(Fletcher and Miller, 2008)。已有研究表明,对于部分昆虫而言,寄主上卵的存在可以提高同种昆虫雌虫的产卵选择率,这些昆虫会利用同种卵表携带的化学信息物质来获取寄主资源的线索,并被它们所吸引,导致聚集和产卵(Fletcher and Miller, 2008; Sarin and Dukas, 2009; Battesti *et al.*, 2012)。因此,这些昆虫的卵表化合物对同种雌虫具有引诱作用。例如,暗脉菜粉蝶 *Pieris napi* 的卵表化合物能够引诱雌成虫在有卵的区域产卵(Raitanen, 2014),黑兵蝇 *Hermetia illucens* 的卵表化合物能够引诱同种雌蝇在寄主周围产卵(Zheng *et al.*, 2013),家蝇 *Musca domestica* 的卵提取物具有刺激家蝇雌蝇聚集产卵的作用(Jiang *et al.*, 2002)。还有一些昆虫为了使后代占有适宜的小生境,避免与同种或近缘种竞争资源,雌成虫卵表有标记信息化学物质,

以避免自己再回到这里产卵,或者警告同种或近缘种的雌虫不要在该寄主及其附近产卵(Nakashima *et al.*, 2010; Pervez and Gupta, 2010; 唐宇翀等, 2010)。因此,这些昆虫的卵表化学物质对雌虫起驱避作用。例如,黑纹食蚜蝇 *Episyrphus balteatus* 的卵表化学物质,能够驱避同种雌蝇在寄主周围产卵(Nakashima *et al.*, 2010)。落叶松瓢虫 *Aphidecta oblitterata*、七星瓢虫 *Coccinella septempunctata*、狭臂瓢虫 *C. transversalis*、西南龟瓢虫 *Propylea dissecta* 的卵表都具有驱避同种雌虫产卵的标记信息素(Hemptinne *et al.*, 2000; Oliver *et al.*, 2006; Pervez and Gupta, 2010)。菜粉蝶 *P. rapae* 的卵表化合物包括脂肪酸类、脂肪酸甲酯、苯环类物质,能够使菜粉蝶雌成虫避免在有卵的区域产卵(Schoonhoven *et al.*, 1990)。棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 卵表化合物十四烷酸、十六烷酸、(Z)-9-十八碳烯酸、十八烷酸以自然比例(0.66 : 0.22 : 0.11 : 0.01)配制的混合物对棉铃虫雌成虫产卵有显著的抑制作用(刘慕兰, 2004)。同样,实蝇类昆虫的卵表化合物也会影响同种实蝇的产卵选择行为。例如橘小实蝇 *Bactrocera dorsalis* 卵表提取物在高浓度下对同种雌虫产卵具有驱避作用,低浓度下则具有引诱作用(赵静等, 2014)。总之,昆虫的卵表化学物质对种内雌虫行为的影响,已经有诸多报道。但是,昆虫卵表化合物对不同种昆虫行为的影响,还未见报道。

橘小实蝇和番石榴实蝇 *Bactrocera correcta*

同属双翅目 Diptera、实蝇科 Tephritidae、寡毛实蝇属 *Bactrocera*, 具有环境适应性强、传播扩散速度快、寄主范围广等特点, 是热带、亚热带瓜果作物上的重要害虫。雌成虫在瓜果的表皮下产卵, 卵孵化后幼虫取食瓜果, 造成瓜果腐烂掉落, 从而严重影响其产量和品质 (汪兴鉴和赵明珠, 1989; Ansari *et al.*, 2012)。由于这 2 种实蝇在云南、广东、广西、四川、贵州等地同域发生, 生活史相似, 生物学特性相近, 寄主生态位高度重叠, 在田间不可避免地存在种间竞争。

橘小实蝇与番石榴实蝇是否能够通过卵表化合物识别同种或者异种的卵? 2 种实蝇的卵表化合物有何异同? 鲜见报道。因此, 本文测定了橘小实蝇雌虫和番石榴实蝇雌虫对其卵提取物的行为反应, 并对 2 种实蝇卵表的化学组成进行了定性和定量分析, 以期探明橘小实蝇和番石榴实蝇对种内外卵的化学识别过程, 为 2 种实蝇的化学生态防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

橘小实蝇于 2019 年 5 月采自云南省元江县芒果园, 番石榴实蝇于 2017 年 5 月采自云南省元江县芒果园, 每年采集田间种群进行复壮。橘小实蝇和番石榴实蝇的饲养参照张小娇等 (2020) 的方法, 为获得交配的橘小实蝇雌虫和番石榴实蝇雌虫, 将羽化后雌雄同种实蝇混合饲养, 待其性成熟后, 在暗期利用红光进行观察, 发现雌雄实蝇交配后, 将交配过的雌虫转移至新的养虫笼 (15 cm×15 cm×15 cm) 中, 并分别提供人工饲料和水, 直至达到实验所需的日龄。

1.2 实验试剂

正己烷 (Hexane, 纯度: 色谱纯, 公司: Merck)、茴香脑 (Anethole, 纯度: 98%, 公司: 上海源叶)、十五烷 (Pentadecane, 纯度: 99%, 公司: TCI)、十二烷酸 (Dodecanoic acid, 纯度: 99%, 公司: TCI)、十二酸乙酯 (Ethyl dodecanoate, 纯度: 99%, 公司: TCI)、十四烷酸 (Tetradecanoic acid, 纯度: 99%, 公司: TCI)、

十四酸乙酯 (Ethyl tetradecanoate, 纯度: 98%, 公司: TCI)、(E)-9-十六碳烯酸乙酯 (Ethyl (E)-9-Hexadecenoate, 纯度: 99%, 公司: Nu-Chek-Prep)、十六烷酸 (Hexadecanoic acid, 纯度: 98%, 公司: J&K)、十八碳烯酸 (Octadecenoic acid, 纯度: 99%, 公司: TCI)、(Z)-9-十八碳烯酸乙酯 (Ethyl (Z)-9-Octadecenoate, 纯度: 99%, 公司: Nu-Chek-Prep)。

1.3 实验方法

1.3.1 卵表面化学成分的提取 将 500 mL 的塑料瓶 (高 23 cm×直径 4 cm) 切成两部分, 在切口到瓶口这部分 (19 cm) 的瓶壁上均匀扎小孔 (使用直径为 0.27 mm 的昆虫针扎通, 小孔之间的距离为 1 cm), 切口到瓶底部分 (4 cm) 放 3 个芒果条 (3 cm×2 cm×1 cm), 芒果品种为三年芒, 用封口膜密封切口, 制成收卵瓶。在橘小实蝇交配雌虫性成熟 (16 日龄) 和番石榴实蝇交配雌虫性成熟 (12 日龄) 时, 将收卵瓶放置于养虫笼中 (有机玻璃箱 38 cm×38 cm×38 cm), 待橘小实蝇和番石榴实蝇产卵 12 h, 取出收卵瓶。用正己烷淋洗并烘干的长针 (14 cm×0.7 mm) 将瓶壁上的虫卵收集到 4 mL 的棕色瓶里, 每一次收集的卵重为 0.3 g 并加入 2 mL 正己烷。在室温下浸泡 1 h 后, 过滤掉虫卵, 从而得到卵表提取物, 置于 -20 °C 下保存备用。

1.3.2 橘小实蝇雌虫和番石榴实蝇雌虫对卵提取物的定向行为测定 采用 Y 型嗅觉仪对 19 日龄的橘小实蝇交配雌虫和 15 日龄的番石榴实蝇交配雌虫进行定向行为测定, 参照魏波等 (2020) 的方法, 取 20 μ L (即 3 mg 当量) 的橘小实蝇卵提取物和番石榴实蝇卵提取物作为处理, 20 μ L 正己烷作为对照。利用流量计测试 Y 型嗅觉仪, 使每个侧臂的气流速度都保持在 10 mL/min, 每个处理重复 60 次, 1 头实蝇只测试 1 次。使用摄像机捕捉实蝇在 10 min 内的行为活动, 视频分析采用 EthoVision XT 软件分析实蝇在 Y 管内的平均移动速度 (单位: mm/s) 以及在每个侧臂停留的时间 (单位: s)。以 30 W 的日光灯照明, Y 型嗅觉仪主臂以及两臂的光照强度为 300 lx, 实验温度为 (25±2) °C, 相对湿

度 $40\% \pm 10\%$ 。

1.3.3 卵表面化学成分的鉴定和定量分析 利用气相色谱-质谱联用仪 (Shimadzu GC-MS QP2010 Ultra, 岛津, 日本) 来鉴定分析橘小实蝇卵和番石榴实蝇卵的提取物成分。毛细色谱柱是 HP-5 毛细管柱 ($30\text{ m} \times 0.32\text{ mm} \times 0.25\text{ }\mu\text{m}$)。气相色谱 GC 条件: 柱温箱初始温度为 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, 以 $2\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度升温至 $70\text{ }^{\circ}\text{C}$, 再以 $5\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 $260\text{ }^{\circ}\text{C}$, 维持此温度 15 min ; 进样口温度为 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$; 载气为高纯氦气, 流速 $3.0\text{ mL}/\text{min}$, 分流进样, 分流比是 $10:1$ 。质谱 MS 条件: 电离电压为 70 eV , 质子扫描范围 $35\text{--}500\text{ amu}$, 扫描速度 $1\text{ }666\text{ amu}/\text{s}$, 扫描间隔 0.3 s , 溶剂延迟 3 min , 离子源温度为 $230\text{ }^{\circ}\text{C}$, 接口温度为 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。将卵提取物由 4 mL 浓缩至 $200\text{ }\mu\text{L}$, 单次进样量 $2\text{ }\mu\text{L}$, 至少重复 3 次。化学成分的鉴定通过对比 NIST 标准谱库、标准品的保留时间及保留指数 (Retention index, RI) 和 NIST Chemistry Web Book (NIST Mass Spec Data Center, 2020) 来进行定性分析。化合物含量采用绝对校正曲线法并通过标准品的峰面积获得。

1.4 数据处理方法

采用 Excel 对实验数据进行平均值和标准误差计算。利用卡方检测 (Chi-square test) 分析橘小实蝇交配雌虫和番石榴实蝇交配雌虫分别选择嗅觉仪两臂之间的数目的显著性差异。采用相关系数法对卵提取物中的各化合物进行定量, 采用 Tukey 检验比较橘小实蝇和番石榴实蝇的卵表化合物含量, 检验其显著性。

2 结果与分析

2.1 交配雌虫对卵提取物的定向行为反应

在 Y 型嗅觉仪中, 橘小实蝇选择其卵表提取物一侧的数量显著多于对照 ($\chi^2=9.383$, $P=0.002$), 而番石榴实蝇选择橘小实蝇卵表提取物一侧的数量显著少于对照 ($\chi^2=6.737$, $P=0.009$) (图 1: A); 而橘小实蝇 ($\chi^2=5.818$, $P=0.016$) 和番石榴实蝇 ($\chi^2=4.235$, $P=0.040$) 选择番石榴实蝇卵表提取物一侧的数量均显著

多于对照 (图 1: B)。将两种实蝇在 Y 型嗅觉仪两侧臂中的停留时间做成热区图, 结果与选择反应的趋势相同 (图 2)。这些结果表明, 橘小实蝇卵表提取物对橘小实蝇具有引诱作用, 对番石榴实蝇具有驱避作用, 番石榴实蝇卵表提取物对橘小实蝇和番石榴实蝇均具有引诱作用。当卵提取物对实蝇表现为引诱作用时, 实蝇的平均移动速度较快, 表现为驱避作用时, 实蝇的平均移动速度较慢 (表 1)。

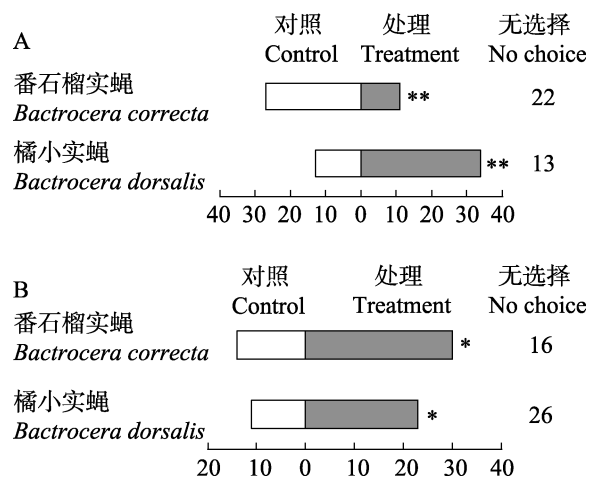


图 1 橘小实蝇和番石榴实蝇的交配雌虫在 Y 型嗅觉仪中对卵提取物的选择反应

Fig. 1 Olfactory responses of mated female of *Bactrocera dorsalis* and *Bactrocera correcta* to the eggs extracts in a Y-tube olfactometer

A. 橘小实蝇和番石榴实蝇的交配雌虫对橘小实蝇卵提取物的嗅觉反应; B. 橘小实蝇和番石榴实蝇的交配雌虫对番石榴实蝇卵提取物的嗅觉反应。*表示为差异显著 $P<0.05$, **表示 $P<0.01$ 。

A. Mated female of *Bactrocera dorsalis* and *Bactrocera correcta* to the eggs extracts of *B. dorsalis* in a Y-tube olfactometer; B. Mated female of *B. dorsalis* and *B. correcta* to the eggs extracts of *B. correcta* in a Y-tube olfactometer. * indicates significant difference at $P<0.05$, ** indicates significant difference at $P<0.01$.

2.2 橘小实蝇卵和番石榴实蝇卵提取物的成分鉴定与定量分析

2.2.1 橘小实蝇、番石榴实蝇卵提取物的成分鉴定 从橘小实蝇卵表提取物中共鉴定出 11 种化合物, 分别是茴香脑、十五烷、十二烷酸、十二酸乙酯、(Z)-11-十四碳烯酸、十四烷酸、十四酸乙酯、(E)-9-十六碳烯酸乙酯、十六烷酸、十八

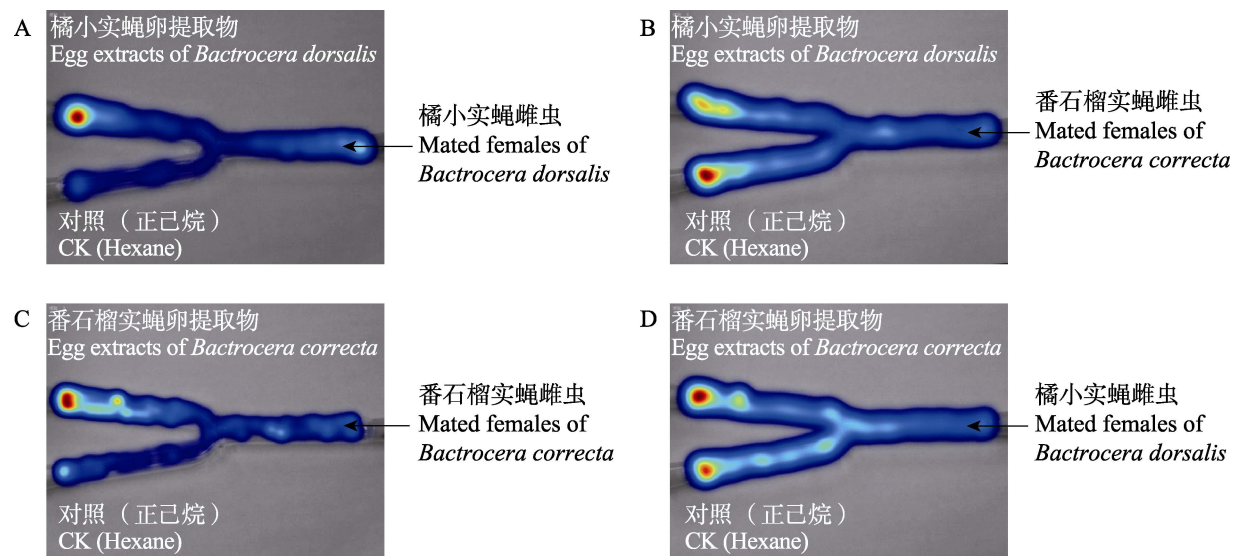


图 2 橘小实蝇和番石榴实蝇的交配雌虫在 Y 型嗅觉仪两臂中停留时间的热区图
Fig. 2 Heat map of residence time of mated female of *Bactrocera dorsalis* and *Bactrocera correcta* in a Y-tube olfactometer

图中 Y 型嗅觉仪热区图的颜色越深, 表明实蝇的停留时间越长。

The darker the color of heat map in a Y-tube olfactometer, the longer the residence time of the fruit fly.

A. 橘小实蝇雌虫在橘小实蝇卵提取物和对照中的停留时间热区图; B. 番石榴实蝇雌虫在橘小实蝇卵提取物和对照中的停留时间热区图; C. 番石榴实蝇雌虫在番石榴实蝇卵提取物和对照中的停留时间热区图; D. 橘小实蝇雌虫在番石榴实蝇卵提取物和对照中的停留时间热区图。

A. Heat map of residence time of mated female of *B. dorsalis* in eggs extracts of *B. dorsalis* and control;
B. Heat map of residence time of mated female of *B. correcta* in eggs extracts of *B. dorsalis* and control;
C. Heat map of residence time of mated female of *B. correcta* in eggs extracts of *B. correcta* and control;
D. Heat map of residence time of mated female of *B. dorsalis* in eggs extracts of *B. correcta* and control.

表 1 橘小实蝇和番石榴实蝇的交配雌虫在 Y 型嗅觉仪中的移动速度 (mm/s)

Table 1 Moving speed of mated female of *Bactrocera dorsalis* and *Bactrocera correcta* in a Y-tube olfactometer (mm/s)

提取物 The extracts	橘小实蝇雌虫 Female of <i>B. dorsalis</i>	番石榴实蝇雌虫 Female of <i>B. correcta</i>
橘小实蝇卵 Egg of <i>B. dorsalis</i>	12.21±1.14	8.25±0.95
番石榴实蝇卵 Egg of <i>B. correcta</i>	11.15±0.82	12.46±1.92

碳烯酸、(Z)-9-十八碳烯酸乙酯; 而从番石榴实蝇卵表提取物中仅鉴定出 7 种化合物, 分别是十五烷、十四烷酸、十四酸乙酯、(E)-9-十六碳烯酸乙酯、十六烷酸、十八碳烯酸、(Z)-9-十八碳烯酸乙酯 (表 2)。

2.2.2 橘小实蝇、番石榴实蝇卵提取物的成分含量 仅从橘小实蝇卵提取物中鉴定出的化合物

茴香脑、十二烷酸、十二酸乙酯的含量分别为 (23.78±5.86)、(18.23±0.98) 和 (20.29±2.44) $\mu\text{g/g}$ 。从两种实蝇卵提取物中鉴定出的相同化合物中, 橘小实蝇卵提取物中的十四烷酸、(E)-9-十六碳烯酸乙酯、十六烷酸的含量高于番石榴实蝇卵提取物中的含量 ($P<0.05$), 而十五烷、十四酸乙酯、十八碳烯酸、(Z)-9-十八碳烯酸乙酯在两种实蝇卵提取物中的含量无差异 ($P>0.05$) (表 3)。

3 讨论

实蝇雌虫通过种内外卵表化合物选择适宜的产卵地点, 对其后代的生存和发育具有重要影响 (Fletcher and Miller, 2008)。本研究结果表明, 橘小实蝇卵提取物对橘小实蝇交配雌虫具有引诱作用, 对番石榴实蝇交配雌虫具有驱避作用; 番石榴实蝇卵提取物对 2 种实蝇交配雌虫均

表 2 橘小实蝇卵和番石榴实蝇卵提取物的化学成分

Table 2 Chemical compounds identified from egg extracts in *Bactrocera dorsalis* and *Bactrocera correcta*

序号 Peak number	成分 Compounds	保留指数 Retention index	保留指数参照 Retention index reference	橘小实蝇卵 提取物 Egg extracts of <i>B. dorsalis</i>	番石榴实蝇卵 提取物 Egg extracts of <i>B. correcta</i>
1	茴香脑 Anethole	1 286	1 286	+	—
2	十五烷 Pentadecane	1 503	1 500	+	+
3	十二烷酸 Dodecanoic acid	1 551	1 549	+	—
4	十二酸乙酯 Ethyl dodecanoate	1 597	1 597	+	—
5	(Z)-11-十四碳烯酸 (Z)-11-Tetradecenoic acid	1 763	1 761	+	—
6	十四烷酸 Tetradecanoic acid	1 780	1 780	+	+
7	十四酸乙酯 Ethyl tetradecanoate	1 796	1 796	+	+
8	(E)-9-十六碳烯酸乙酯 Ethyl (E)-9-Hexadecenoate	1 974	1 977	+	+
9	十六烷酸 Hexadecanoic acid	2 000	2 003	+	+
10	十八碳烯酸 Octadecenoic acid	2 150	2 152	+	+
11	(Z)-9-十八碳烯酸乙酯 Ethyl (Z)-9-Octadecenoate	2 170	2 174	+	+

保留指数 (RI) 的计算由毛细色谱柱 (HP-5) 获得, 保留指数参照 (RI_{ref}) 是 NIST 数据库 (NIST Mass Spec Data Center, 2020) 和文献 (Adams, 2001) 中的保留指数。+ 表示检测到, — 表示未检测到。

RI is the retention index on HP-5, and RI_{ref} is the retention index obtained from the National Institute of Standards and Technology (NIST) Chemistry WebBook (NIST Mass Spec Data Center, 2020) and the literature (Adams, 2001), + indicates detected, — indicates not detected.

表 3 橘小实蝇卵和番石榴实蝇卵已鉴定化学成分的含量

Table 3 The amount of the identified compounds in the egg extracts from *Bactrocera dorsalis* and *Bactrocera correcta*

成分 Compounds	校正的浓度 范围 ($\mu\text{g/mL}$) Calibration range	校准公式 Calibration equation	相关系数 (R^2) Correlation coefficient	橘小实蝇卵 提取物 (ng/g) Egg extracts of <i>B.</i> <i>dorsalis</i>	番石榴实蝇卵提 取物 (ng/g) Eggs extracts of <i>B. correcta</i>
茴香脑 Anethole	15, 30, 50, 100, 150	$y=4.367\ 5x-9.81$	0.998 5	118.87 $\pm$ 29.28	—
十五烷 Pentadecane	15, 30, 50, 100, 150	$y=8.579\ 5x-55.81$	0.997 4	45.73 $\pm$ 5.95	40.23 $\pm$ 2.95
十二烷酸 Dodecanoic acid	15, 30, 50, 100, 150	$y=10.499\ 2x-175.82$	0.970 7	91.17 $\pm$ 4.91	—
十二酸乙酯 Ethyl dodecanoate	15, 30, 50, 100, 150	$y=8.774\ 7x-102.09$	0.999 1	101.44 $\pm$ 12.20	—
十四烷酸 Tetradecanoic acid	15, 30, 50, 100, 150	$y=7.670\ 4x-124.64$	0.976 3	245.69 $\pm$ 14.56*	101.69 $\pm$ 4.82
十四酸乙酯 Ethyl tetradecanoate	15, 30, 50, 100, 150	$y=9.648\ 1x-95.99$	0.998 3	96.62 $\pm$ 33.66	67.40 $\pm$ 7.93
(E)-9-十六碳烯酸乙酯 Ethyl (E)-9-Hexadecenoate	15, 30, 50, 100, 150	$y=7.853\ 5x-58.03$	0.998 3	1 815.77 $\pm$ 275.74**	485.46 $\pm$ 100.77
十六烷酸 Hexadecanoic acid	15, 30, 50, 100, 150	$y=8.702\ 1x-147.18$	0.975 5	931.97 $\pm$ 132.70**	430.90 $\pm$ 45.38
十八碳烯酸 Octadecenoic acid	15, 30, 50, 100, 150	$y=19.425\ 6x-448.29$	0.961 8	208.89 $\pm$ 60.88	190.53 $\pm$ 27.97
(Z)-9-十八碳烯酸乙酯 Ethyl (Z)-9-Octadecenoate	15, 30, 50, 100, 150	$y=7.258\ 7x-83.80$	0.998 9	158.96 $\pm$ 24.03	129.92 $\pm$ 22.26

— 表示未检测到, * 表示差异显著 ($P<0.05$), ** 表示差异极显著 ($P<0.01$)。

— indicates not detected. * indicates significantly different ($P<0.05$), ** indicates extremely significantly different ($P<0.01$).

具有引诱作用。橘小实蝇和番石榴实蝇卵提取物对种内雌虫均具有引诱作用, 与赵静等 (2014) 研究结果一致, 他们发现橘小实蝇卵表甲醇提取物在低浓度时对雌虫产卵行为表现为引诱作用。卵提取物对不同种实蝇的作用不同, 橘小实蝇卵提取物对番石榴实蝇雌虫具有驱避作用, 而番石榴实蝇卵提取物对橘小实蝇雌虫仍旧表现出引诱活性。推测番石榴实蝇可能具有辨别同种卵与异种卵的能力, 而橘小实蝇卵表可能存在驱避番石榴实蝇前来产卵的信息化物质, 通过 2 种实蝇卵表提取物的定量和定性分析证明了这一推测。橘小实蝇卵表化合物相较于番石榴实蝇卵表化合物多了茴香脑、十二烷酸、十二酸乙酯、(Z)-11-十四碳烯酸 4 种化合物, 同时橘小实蝇卵提取物中的十四烷酸、(E)-9-十六碳烯酸乙酯、十六烷酸 3 种化合物的含量显著高于番石榴实蝇。张小娇等 (2018) 对橘小实蝇和番石榴实蝇对寄主挥发物中的 12 个组分及甲基丁香酚进行了 EAG 测定, 结果发现番石榴实蝇交配雌虫对其中 7 个化合物的敏感性高于橘小实蝇交配雌虫, 仅对其中 3 个化合物的敏感性低于橘小实蝇。这些研究表明番石榴实蝇交配雌虫嗅觉的感受能力强于橘小实蝇, 这可能也是番石榴实蝇辨别同种与异种卵的能力强于橘小实蝇的原因之一。

番石榴实蝇卵提取物对橘小实蝇交配雌虫有引诱作用, 然而橘小实蝇卵提取物对番石榴实蝇交配雌虫具有驱避作用。一方面表明橘小实蝇和番石榴实蝇在分布重叠的区域, 橘小实蝇的种间竞争强于番石榴实蝇, 以及能在寄主占领地驱赶靠近的番石榴实蝇, 例如在同一寄主上, 南亚实蝇 *Bactrocera tau* 的竞争能力较强于瓜实蝇 *Bactrocera cucurbitae* (张金龙, 2017); 另一方面种间竞争影响着植食性昆虫分布及种群数量, 这也可能是在我国表现出橘小实蝇在多个地区危害严重, 而番石榴实蝇目前我国仅在极少数地区分布的原因之一 (吕文刚等, 2010; Wan and Yang, 2016)。

橘小实蝇卵提取物中鉴定出茴香脑、十五烷、十二烷酸、十二酸乙酯、(Z)-11-十四碳烯酸、

十四烷酸、十四酸乙酯、(E)-9-十六碳烯酸乙酯、十六烷酸、十八碳烯酸、(Z)-9-十八碳烯酸乙酯 11 种化合物, 而 Ji 等 (2016) 共鉴定出 12 种化合物, 仅十二酸乙酯、十四酸乙酯、十六烷酸 3 种化合物与本研究的结果相同。这种差异可能是由于实验用的橘小实蝇地理种群不同造成的。目前, 有关番石榴实蝇卵表化合物的研究尚未见报道, 本研究发现番石榴实蝇的卵表有 7 种化合物, 且在橘小实蝇的卵表都存在, 这可能是由于番石榴实蝇和橘小实蝇同属寡毛实蝇属 *Bactrocera*。在这 7 种化合物中, 番石榴实蝇卵表有 3 种化合物的含量显著低于橘小实蝇, 可能是 2 种实蝇通过含量的不同进行种间隔离。

利用挥发性化合物对害虫的引诱和驱避作用防治害虫, 已经有一些成功的例子。美国已经将 1-辛烯-3-醇制成驱避剂, 并且已经商品化, 用于斑翅果蝇 *Drosophila suzukii* 的防治, 又筛选出了对斑翅果蝇驱避效果更好、更为安全的新的驱避剂 2-戊基呋喃 (Cha et al., 2020)。由乙酸、乙醇、3-羟基-2-丁酮、甲硫基丙醇混合制成的引诱剂, 可以有效诱杀斑翅果蝇 (Cha et al., 2014)。本研究结果表明, 橘小实蝇和番石榴实蝇卵表存在对 2 种实蝇具有引诱或者的驱避作用的化学物质, 但是具体是哪种或几种物质在起作用, 其作用浓度和配比如何, 目前还不清楚。同时, 橘小实蝇卵表化合物比番石榴实蝇多 4 种化合物, 分别是茴香脑、十二烷酸、十二酸乙酯、(Z)-11-十四碳烯酸, 这 4 种化合物是否是导致番石榴实蝇和橘小实蝇反应差异的原因? 我们将重点研究两种实蝇对这几种化合物的单个组分及混合组分的反应。本研究中采用的是 3 mg 当量的卵提取物, 橘小实蝇提取物中 3 种化合物的含量分别为 (0.738±0.044)、(5.453±0.828) 和 (2.799±0.398) ng, 而番石榴实蝇提取物中 3 种化合物的含量分别为 (0.305±0.014)、(1.458±0.303) 和 (1.294±0.136) ng。2 种实蝇对不同卵提取的行为反应的差异, 也有可能是由于这 3 种化合物的含量不同造成的。因此, 后续实验还将测定橘小实蝇和番石榴实蝇对这 3 种化合物单组分的及其混合物的剂量反应。在此基础上, 还需要测定

两种实蝇对所有活性组分的混合物的不同配比的行为反应, 并进行田间验证, 才能明确究竟是哪些组分在起关键作用, 为进一步研制橘小实蝇和番石榴实蝇的产卵引诱剂或者驱避剂提供理论基础。

参考文献 (References)

- Adams RP, 2001. Identification of essential oil components by gas chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. Carol Stream: Allured Publishing Corporation. 10–41.
- Ansari MS, Hasan F, Ahmad N, 2012. Threats to fruit and vegetable crops: Fruit flies (Tephritidae)-ecology, behaviour, and management. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 15(3): 169–188.
- Battesti M, Moreno C, Joly D, Mery F, 2012. Spread of social information and dynamics of social transmission within *Drosophila* groups. *Current Biology*, 22(4): 309–313.
- Cha DH, Adams T, Werle CT, Adamczyk JJ, Rogg H, Landolt PJ, 2014. A four-component blend of fermented bait volatiles is attractive to spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Pest Management Science*, 70(2): 324–331.
- Cha DH, Roh GH, Hesler SP, Wallingford A, Stockton DG, Park SK, Loeb GM, 2020. 2-Pentylfuran: A novel repellent of *Drosophila suzukii*. *Pest Management Science*, 77(4): 1757–1764.
- Fletcher RJ, Miller CW, 2008. The type and timing of social information alters offspring production. *Biology Letters*, 4(5): 482–485.
- Hemphill JL, Lognay G, Gauthier C, Dixon AFG, 2000. Role of surface chemical signals in egg cannibalism and intraguild predation in ladybirds (Coleoptera: Coccinellidae). *Chemoecology*, 10(3): 123–128.
- Ji Q, Bi K, Chen J, 2016. Response of egg-pupal parasitoid *Fopius arisanus* (Sonan) to infochemicals from the host eggs surface of *Bactrocera dorsalis* (Hendel). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 19(4): 1151–1157.
- Jiang Y, Lei CL, Niu CY, Fang YL, Xiao C, Zhang ZN, 2002. Semiochemicals from ovaries of gravid females attract ovipositing female houseflies, *Musca domestica*. *Journal of Insect Physiology*, 48(10): 945–950.
- Liu ML, 2004. Chemical identification and effects of oviposition-detering pheromones (ODPS) from eggs of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). Nanjing: Nanjing Agricultural University. [刘慕兰, 2004. 棉铃虫卵上抑卵物质的化学组成与生物活性. 博士学位论文, 南京: 南京农业大学.]
- Lü WG, Deng YL, Li ZH, Lin W, Wan FH, Wang ZL, 2010. A predication of potential geographical distribution of guava fruit fly, *Bactrocera correcta* (Bactrocera) in China. *Journal of Plant Protection*, 37(6): 529–534. [吕文刚, 邓裕亮, 李志红, 林伟, 万方浩, 王之岭, 2010. 番石榴果实蝇在我国的潜在地理分布. 植物保护学报, 37(6): 529–534.]
- Nakashima Y, Teshiba M, Hirose Y, 2010. Flexible use of patch marks in an insect predator: Effect of sex, hunger state, and patch quality. *Ecological Entomology*, 27(5): 581–587.
- NIST Mass Spec Data Center, 2020. NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69. <http://webbook.nist.gov>.
- Oliver TH, Timms JEL, Taylor A, Leather SR, 2006. Oviposition responses to patch quality in the larch ladybird *Aphidecta oblitterata* (Coleoptera: Coccinellidae): Effects of aphid density, and con- and heterospecific tracks. *Bulletin of Entomological Research*, 96(1): 25–34.
- Pervez A, Gupta AK, 2010. Role of surface chemicals in egg cannibalism and intraguild predation by neonates of two aphidophagous ladybirds, *Propylea dissecta* and *Coccinella transversalis*. *Journal of Applied Entomology*, 128(9/10): 691–695.
- Raitanen J, Forsman JT, Kivela SM, Maenpaa MI, Valimaki P, 2014. Attraction to conspecific eggs may guide oviposition site selection in a solitary insect. *Behavioral Ecology*, 25(1): 110–116.
- Schoonhoven LM, Beerling EAM, Braaksma R, Vugt YV, 1990. Does the imported cabbageworm, *Pieris rapae*, use an oviposition deterring pheromone? *Journal of Chemical Ecology*, 16(5): 1649–1655.
- Sarin S, Dukas R, 2009. Social learning about egg-laying substrates in fruitflies. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 276(1677): 4323–4328.
- Tang YC, Zhou CL, Chen XM, 2010. Progress in the oviposition behavioral ecology of herbivorous insects. *Forest Research*, 23(5): 770–777. [唐宇翀, 周成理, 陈晓鸥, 2010. 植食性昆虫产卵行为生态学研究进展. 林业科学研究, 23(5): 770–777.]
- Wan FH, Yang NW, 2016. Invasion and management of agricultural alien insects in China. *Annual Review of Entomology*, 61: 77–98.
- Wang XJ, Zhao MZ, 1989. Notes on the genus *Dacus fabricius* in China with descriptions of five new species (Diptera: Tephritidae). *Acta Zootaxonomica Sinica*, 14(2): 209–219. [汪兴鉴, 赵明珠, 1989. 中国寡鬃实蝇属记述(双翅目: 实蝇科). 动物分类学报, 14(2): 209–219.]
- Wei B, Chen BY, Zhang XJ, Wei CM, Jing Y, Li CY, Dong WX, 2020. Electrophysiological and behavioral responses of *Myzus*

- persicae* to alarm pheromone and tobacco plant volatiles. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 57(1): 173–180. [魏波, 陈宝源, 张小娇, 魏成梅, 荆英, 李成云, 董文霞, 2020. 桃蚜对报警信息素和烟草挥发物的电生理和行为反应. 应用昆虫学报, 57(1): 173–180.]
- Wei GS, Zhang QW, Zhou MZ, Wu WG, 2000. Studies on the phototaxis of *Helicoverpa armigera*. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 16(1): 89–95.
- Zhang JL, Tao M, Yan ZH, Fang XJ, Wu H, Liu HP, 2017. Oviposition selectivity and competitive research on *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) and *Bactrocera tau* (Walker). *Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science)*, 32(3): 427–431. [张金龙, 陶玫, 闫振华, 方薛交, 吴浩, 刘红萍, 2017. 瓜实蝇与南亚实蝇产卵选择性及种间竞争研究. 云南农业大学学报(自然科学), 32(3): 427–431.]
- Zhang MX, Ling B, Pang XF, 2003. Progress and application of oviposition deterrents of non-preferable plants on insect. *Natural Enemies of Insects*, 25(1): 28–36. [张茂新, 凌冰, 庞雄飞, 2003. 非嗜食植物中的昆虫产卵驱避物及其利用. 昆虫天敌, 25(1): 28–36.]
- Zhang XJ, Zhang XG, Yan NS, Dong WX, 2018. Electrophysiological responses of *Bactrocera dorsalis* and *Bactrocera correcta* to volatiles from mango fruits. *Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science)*, 33(6): 1030–1036. [张小娇, 张秀歌, 严乃胜, 董文霞, 2018. [橘小实蝇和番石榴实蝇对芒果挥发物的电生理反应. 云南农业大学学报(自然科学版), 33(6): 1030–1036.]
- Zhang XJ, Qian C, Yang LS, Liu HC, Li CY, Dong WX, 2020. Behavioral responses of sexually immature, mature virgin, and mated, guava fruit flies to host plant odor. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 57(1): 166–172. [张小娇, 钱诚, 杨六三, 刘洪翠, 李成云, 董文霞, 2020. 不同生理状态的番石榴实蝇对寄主气味的行为反应. 应用昆虫学报, 57(1): 166–172.]
- Zhao J, Wang HT, Zeng XN, Zhao J, 2014. Effects of egg-surface chemicals on the oviposition behaviors of *Bactrocera dorsalis* Hendel. *Journal of Environmental Entomology*, 36(1): 89–94. [赵静, 王华堂, 曾鑫年, 赵洁, 2014. 卵表化合物对桔小实蝇产卵行为的影响. 环境昆虫学报, 36(1): 89–94.]
- Zheng L, Crippen TL, Holmes L, Singh B, Pimsler ML, Benbow ME, Tarone AM, Dowd S, Yu Z, Vanlaerhoven SL, 2013. Bacteria mediate oviposition by the black soldier fly, *Hermetia illucens* (L.), (Diptera: Stratiomyidae). *Scientific Reports*, 3: 2563.