

## 交配和温度对小地老虎雌蛾性信息素产生的影响

向玉勇<sup>1</sup>, 杨茂发<sup>2</sup>, 李子忠<sup>2</sup>

(1. 滁州学院化学与生命科学系, 安徽滁州 239012; 2. 贵州大学昆虫研究所)

**摘要:**研究了交配和温度对小地老虎雌蛾性信息素产生的影响, 结果表明, 交配对性信息素各组分的滴度无显著影响, 因此不影响小地老虎在下一暗期的再次求偶和交配。但环境温度对小地老虎性信息素的含量则有显著的影响, 20~25℃最有利于小地老虎性信息素的生物合成, 而低温和高温则均不利于小地老虎性信息素的正常产生与释放。

**关键词:**小地老虎; 交配; 温度; 性信息素

**中图分类号:**Q96 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-7083(2009)05-0658-03

## Effects of Mating Experience and Temperature on Sex Pheromone Production in Female Black Cutworm Moths

XIANG Yu-yong<sup>1</sup>, YANG Mao-fa<sup>2</sup>, LI Zi-zhong<sup>2</sup>

(1. Department of Chemistry and Life Sciences, Chuzhou University, Chuzhou, Anhui Province 239012, China;

2. Institute of Entomology, Guizhou University)

**Abstract:** The effects of mating experience and temperature on the production of the female black cutworm moth's sex pheromone were studied in this paper. The results indicated that mating experience did not significantly affect the production of sex pheromone. Mating experience did not affect the calling and mating of the black cutworm again in the next scotophase. However, environmental temperatures could affect it significantly. The optimal temperature for the biosynthesis of sex pheromone was from 20°C to 25°C; temperatures beyond this range prohibited the natural production and release of the sex pheromone.

**Key words:** *Agrotis ypsilon*; mating; temperature; sex pheromone

小地老虎 *Agrotis ypsilon* (Rottemberg) 是世界性的重要农业害虫。近年来随着我国耕作制度的改变和全球气候变暖, 小地老虎的生存环境得到极大改善, 种群数量显著上升(魏鸿钧等, 1989), 因其具有迁飞性, 在短时间内极易暴发成灾, 严重危害我国农业生产(丁蕙淑, 1992), 由于长期施用化学农药, 小地老虎已产生了较高水平的抗药性(韩召军, 1986; 曾晓慧等, 1999), 这给有效防治造成困难, 使近年来我国小地老虎的防治效果不尽人意, 因此必须寻求有效的无公害防治方法。应用性信息素来防治害虫是最近发展起来的一种治虫新技术, 它具有活性高、特异性强、不伤害天敌、使用简便等优点, 不仅能节省化学农药用量, 提高防治质量, 而且可减少环境污染, 增强生态效应。

在国外, 对小地老虎雌蛾性信息素的提取鉴定最早始于 1977 年 Hill 等对性信息素组分顺-7-十二

碳乙酸酯(Z7-12: Ac)、顺-9-十四碳乙酸酯(Z9-14: Ac)的鉴定报道(Hill & Roelofs, 1977)。此后在日本、法国和乌克兰有些研究报道, 在顺-7-十二碳乙酸酯(Z7-12: Ac)和顺-9-十四碳乙酸酯(Z9-14: Ac)2种成分中增加顺-11-十六碳乙酸酯(Z11-16: Ac)能增加对雄蛾的诱捕效果(Wakamura *et al.*, 1986; Causse *et al.*, 1988; Buleza, 1991)。Picimbon 等 1997 年报道, 法国种群的小地老虎除了产生顺-7-十二碳乙酸酯(Z7-12: Ac)、顺-9-十四碳乙酸酯(Z9-14: Ac)、顺-11-十四碳乙酸酯(Z11-14: Ac)和顺-11-十六碳稀醇(Z11-16: OH)等性信息素成分之外, 还产生顺-11-十六碳乙酸酯(Z11-16: Ac)(Picimbon *et al.*, 1997)。然而, 在所有这些成分中只有顺-7-十二碳乙酸酯(Z7-12: Ac)、顺-9-十四碳乙酸酯(Z9-14: Ac)、顺-11-十六碳乙酸酯(Z11-16: Ac)3种成分在风洞试验中能引起雄蛾的行为反应。我们采用毛细管气相色谱

(GC) 和气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 分析技术, 对小地老虎中国种群雌性信息素进行鉴定, 结果从其性信息素腺体提取物中分离和鉴定出了顺-7-十二碳乙酸酯 (Z7-12: Ac)、顺-9-十四碳乙酸酯 (Z9-14: Ac)、顺-11-十六碳乙酸酯 (Z11-16: Ac)、顺-5-十碳乙酸酯 (Z5-10: Ac) 和顺-8-十二碳乙酸酯 (Z8-12: Ac) 5 种化合物, 并在田间进行了诱集试验, 其中顺-7-十二碳乙酸酯 (Z7-12: Ac)、顺-9-十四碳乙酸酯 (Z9-14: Ac) 和顺-11-十六碳乙酸酯 (Z11-16: Ac) 3 种成分的混合物显示出一定的引诱活性 (另文发表)。

许多研究结果表明, 昆虫性信息素的产生及释放受到多种因素的影响 (Delisle & McNeil, 1986, 1987; 韩桂彪, 2000; 董双林等, 2002; 鲁玉杰等, 2002), 交配经历和温度就是其中两个非常重要的因素, 尤其是环境温度对性信息素含量影响更为明显 (杨智华, 1992)。了解交配过程和温度对昆虫性信息素产生的影响是利用性信息素控制害虫的基础, 本文研究报道了交配和温度对小地老虎雌性信息素产生的影响, 以期对小地老虎性信息素的田间应用提供科学依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试昆虫的饲养

从野外采集小地老虎幼虫, 带回在智能人工气候室 (宁波江南仪器制造厂制造) 中饲养多代。人工气候室光照周期 (L:D) 为 14 h:10 h、温度为  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度为  $70\% \pm 7\%$ 。幼虫 3 龄前在罐头瓶 (高度约 11 cm, 直径约 7.5 cm) 内小量群养, 3 龄后单头饲养。在罐头瓶内装约 5 cm 厚的沙壤土, 用湿棉花包住菜叶叶柄饲养幼虫, 罐头瓶口用套有纱布的橡皮筋封住。幼虫化蛹后将纱布换成保鲜膜, 保持土壤湿度。逐日检查羽化情况, 把同日羽化的成虫按雌雄分开, 分别放于不同养虫笼内, 并喂以 10% 的蔗糖水, 待用。

### 1.2 交配对性信息素产生的影响

在交配笼 (40 cm × 40 cm × 40 cm) 内放置 1 日龄雌雄蛾 30 对, 经过一个暗期 (2 日龄暗期) 后将雌雄分开。在 3 日龄暗期 7 h 时, 进行性信息素提取。摘取腺体的同时检查雌蛾的交配状况, 交配雌蛾与未交配雌蛾分别提取。设同日龄未交配雌蛾作对照。实验重复 3 次。

### 1.3 温度对性信息素产生的影响

试验在智能人工气候箱内进行。将供试蛹置于

羽化笼内, 放入气候箱。蛹开始羽化后逐日检查并更换羽化笼, 使同日龄雌蛾处于同一个羽化笼内。在 3 日龄暗期 7 h 时进行性信息素提取。温度设  $10^{\circ}\text{C}$ 、 $15^{\circ}\text{C}$ 、 $20^{\circ}\text{C}$ 、 $25^{\circ}\text{C}$ 、 $30^{\circ}\text{C}$ 、 $35^{\circ}\text{C}$  6 个处理, 一个气候箱内进行一个处理。每个温度处理测定 25 头雌蛾。实验重复 3 次。气候箱的光周期 (L:D) 为 14 h:10 h, 相对湿度 (RH) 为  $70\% \pm 7\%$ 。

### 1.4 性信息素的提取及测定

在实体镜下用手轻轻挤压雌蛾腹部, 迫使其伸出性信息素腺体, 将雌蛾尾尖第 8 腹节和第 9 腹节之间的节间膜用解剖刀切下, 置于滤纸上, 挤压除去体液, 放入自制微型玻璃管 (内径 2 mm、长 2.5 cm 左右) 中 (微型玻璃管在使用前经  $300^{\circ}\text{C}$  高温处理 2 h, 清除管中的挥发性杂质), 加入 10  $\mu\text{l}$  含有内标的重蒸正己烷 (内标含量为 10 ng), 并用酒精灯封管。室温下静止浸提 30 min 后, 将腺体取出, 溶液倒入另一干净玻璃管内, 再用酒精灯封管, 放于  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱中等待分析。

GC 分析: 采用 HP-6890 毛细管气相色谱仪, 带分流进样装置, 氢火焰离子化检测器, HP3392A 积分记录仪。毛细管色谱柱为 HP-5MS 5% Phenyl Methyl Siloxane (30 m × 0.25 mm × 0.25  $\mu\text{m}$ ) 弹性石英毛细管柱, 柱温  $80^{\circ}\text{C}$  (保留 2 min), 以  $8^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  升温至  $290^{\circ}\text{C}$ , 保持 2 min; 汽化室温度  $250^{\circ}\text{C}$ ; 载气为高纯 He (99.999%); 柱前压 7.62 psi, 载气流量 1.0 mL · min<sup>-1</sup>; 进样量 1  $\mu\text{L}$ , 分流比 40:1。

GC-MS 分析: 所用气质联用仪为 HP6890 毛细管气相色谱仪和 HP5973A 质谱仪, 工作条件同 GC 分析, 离子源为 EI 源; 离子源温度  $230^{\circ}\text{C}$ ; 四极杆温度  $150^{\circ}\text{C}$ ; 电子能量 70 eV; 发射电流 34.6  $\mu\text{A}$ ; 倍增器电压 1812 V; 接口温度  $280^{\circ}\text{C}$ ; 溶剂延迟 4 min; 质量范围 10 ~ 550 amu。

性信息素组分采用与标准化合物保留时间相比较, 并结合 GC-MS 的方法定性; 采用性信息素组分与内标的气谱峰面积相比较进行定量。

## 2 结果与分析

### 2.1 交配对性信息素产生的影响

测定结果表明, 与未交配同日龄处女雌蛾相比, 小地老虎雌蛾在交配后的第一个暗期, 其性信息素各组分的滴度均有所降低, 但统计分析无显著差异 (表 1)。可见, 对于小地老虎而言, 交配并不影响其性信息素的产生与释放, 亦即不影响雌蛾在下一

个暗期的再次求偶与交配。

表 1 交配对小地老虎雌蛾性信息素含量的影响  
Table 1 Effects of mating experience on the content of each sex pheromone component of female *Agrotis ypsilon* moth

交配状况	测定虫数 (头)	性信息素各成分的含量 (ng/♀)				
		顺-7-十二碳乙酸酯 (Z7-12:Ac)	顺-9-十四碳乙酸酯 (Z9-14:Ac)	顺-11-十六碳乙酸酯 (Z11-16:Ac)	顺-5-十碳乙酸酯 (Z5-10:Ac)	顺-8-十二碳乙酸酯 (Z8-12:Ac)
交配雌蛾	30	0.211 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.071 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.076 ± 0.006 <sup>a</sup>	0.074 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.088 ± 0.01 <sup>a</sup>
未交配雌蛾	30	0.246 ± 0.098 <sup>a</sup>	0.080 ± 0.031 <sup>a</sup>	0.089 ± 0.033 <sup>a</sup>	0.085 ± 0.031 <sup>a</sup>	0.105 ± 0.065 <sup>a</sup>

注:表中数字为  $M \pm SE$ , 后面的英文字母为多重比较的检验结果, 同一列中凡小写字母不同表示在 0.05 水平差异显著, 否则不显著。下同  
Notes: The data in the table are  $M \pm SE$ , the letters after them are the results of multi comparison. The different letters in the same row means significant difference at 0.05 level, or means no difference. The follows are the same.

## 2.2 温度对性信息素产生的影响

对于不同温度下雌蛾性信息素滴度的测定结果表明, 温度对小地老虎性信息素的含量具有较大的影响(表 2)。在 10 ~ 35℃ 范围内, 其性信息素各组

分的含量在 25℃ 时最高, 在 20℃ 和 30℃ 时的含量显著降低, 35℃ 时最低。说明 20 ~ 25℃ 最有利于小地老虎性信息素的产生, 而高温和低温, 特别是 35℃ 的高温不利于小地老虎性信息素的产生和释放。

表 2 温度对小地老虎雌蛾性信息素含量的影响  
Table 2 Effects of temperature on the content of each sex pheromone component of female *Agrotis ypsilon* moth

温度	测定虫数 (头)	性信息素各成分的含量 (ng/♀)				
		顺-7-十二碳乙酸酯 (Z7-12:Ac)	顺-9-十四碳乙酸酯 (Z9-14:Ac)	顺-11-十六碳乙酸酯 (Z11-16:Ac)	顺-5-十碳乙酸酯 (Z5-10:Ac)	顺-8-十二碳乙酸酯 (Z8-12:Ac)
10℃	25	0.053 ± 0.013 <sup>e</sup>	0.013 ± 0.005 <sup>e</sup>	0.019 ± 0.009 <sup>e</sup>	0.015 ± 0.002 <sup>e</sup>	0.025 ± 0.005 <sup>f</sup>
15℃	25	0.151 ± 0.023 <sup>c</sup>	0.051 ± 0.006 <sup>c</sup>	0.054 ± 0.004 <sup>c</sup>	0.05 ± 0.004 <sup>c</sup>	0.057 ± 0.004 <sup>de</sup>
20℃	25	0.209 ± 0.016 <sup>b</sup>	0.069 ± 0.005 <sup>b</sup>	0.068 ± 0.007 <sup>b</sup>	0.067 ± 0.006 <sup>b</sup>	0.08 ± 0.004 <sup>bc</sup>
25℃	25	0.246 ± 0.098 <sup>a</sup>	0.080 ± 0.031 <sup>a</sup>	0.089 ± 0.033 <sup>a</sup>	0.085 ± 0.031 <sup>a</sup>	0.105 ± 0.065 <sup>a</sup>
30℃	25	0.109 ± 0.026 <sup>d</sup>	0.042 ± 0.006 <sup>d</sup>	0.043 ± 0.008 <sup>d</sup>	0.040 ± 0.005 <sup>d</sup>	0.065 ± 0.006 <sup>cd</sup>
35℃	25	0.022 ± 0.022 <sup>f</sup>	0.005 ± 0.004 <sup>f</sup>	0.006 ± 0.005 <sup>f</sup>	0.003 ± 0.002 <sup>f</sup>	0.046 ± 0.007 <sup>e</sup>

## 3 讨论

### 3.1 交配对小地老虎雌蛾性信息素产生的影响

本研究结果表明, 交配对小地老虎雌蛾在其后的第一个暗期性信息素的产生与释放没有明显的影响, 说明交配并不影响小地老虎雌蛾在下一个暗期继续求偶和交配。这一结果与我们的室内实验及田间采虫检查精苞的结果相一致(向玉勇等, 2008), 证实了小地老虎雌雄蛾的多次交配特性。多篇资料报道, 多次交配的昆虫雌虫在交配后由于性信息素的产生受到抑制, 使其在交配后的一段时间内暂时停止求偶和交配, 经过一段时间后又可恢复其性信息素的产生, 重新获得求偶和交配的能力; 单次交配的种类交配后雌虫腺体中性信息素的产生受到永久性抑制, 其求偶和交配能力将不再恢复(Giebultowicz *et al.*, 1991; Foster & Roelofs, 1994; 董双林等, 2002)。小地老虎属于多次交配的昆虫, 因此在利用性信息素防治小地老虎时, 应用交配干扰法应比大量诱捕法将会取得更好的效果。

### 3.2 温度对小地老虎雌蛾性信息素产生的影响

环境温度是昆虫求偶、交配等生殖活动的重要外在影响因子, 对于小地老虎也同样如此。我们的研究表明, 不同温度条件下小地老虎雌蛾性信息素的含量变化较大, 温度低时, 雌蛾性信息素含量偏低, 随着温度的升高, 雌蛾性信息素的含量逐渐升高, 而 30℃ 时又有下降趋势, 20 ~ 25℃ 是小地老虎雌蛾性信息素的产生最适宜的环境温度范围, 这和小地老虎成虫夜间活动的最适宜温度为 14 ~ 26℃ 是基本一致的(李云瑞, 2002)。环境温度过高或过低均不利于小地老虎性信息素的正常产生与释放, 这是性信息素通讯系统长期适应和进化的结果。

本实验研究了温度单个因素变量对性信息素各组分含量的影响, 没有考虑光周期等其他因素的影响。对其他环境条件的影响还有待进一步研究。

## 4 参考文献

- 丁蕙淑. 1992. 文山州小地老虎发生及迁飞规律研究[J]. 昆虫知识, 29(1): 10 ~ 13. (下转第 669 页)

- mental pollution on the liver parenchymal cells and Kupffer-melanomacrophagic cells of the frog *Rana esculenta*[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60: 259 ~ 268.
- Kägi JH, Schäffer A. 1988. Biochemistry of metallothionein [J]. *Biochemistry*, 27(23): 8509 ~ 8515.
- Loumbourdis NS. 2005. Hepatotoxic and nephrotoxic effects of cadmium in the frog *Rana ridibunda*[J]. *Archives of Toxicology*, 79: 434 ~ 440.
- Loumbourdis NS, Kyriakopoulou-Sklavounou P, Zachariadis G. 1999. Effects of cadmium exposure on bioaccumulation and larval growth in the frog *Rana ridibunda*[J]. *Environmental Pollution*, 104: 429 ~ 433.
- Loumbourdis NS, Vogiatzis AK. 2002. Impact of cadmium on liver pigimentary system of the frog *Rana ridibunda*[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 53: 52 ~ 58.
- Papadimitriou E, Loumbourdis NS. 2002. Exposure of the frog *Rana ridibunda* to copper: Impact on two biomarkers, lipid peroxidation and glutathione[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 69: 885 ~ 891.
- Papadimitriou E, Loumbourdis NS. 2005. Glycogen, proteins and aminotransferase (GOT, GPT) change in the frog *Rana ridibunda* exposed to high concentrations of copper[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 74: 120 ~ 125.
- Serafini MT, Romeu A, Arola L. 1989. Zn(II), Cd(II) and Cu(II) interactions on glutathione reductase and glucose-6-phosphate dehydrogenase[J]. *Biochemistry international*, 18(4): 793 ~ 802.
- Sura P, Ristic N, Bronowicka P, et al. 2006. Cadmium toxicity related to cysteine metabolism and glutathione levels in frog *Rana ridibunda* tissues[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology, C*, 142: 128 ~ 135.
- Vogiatzis AK, Loumbourdis NS. 1998. Cadmium accumulation in liver and kidneys and hepatic metallothionein and glutathione levels in *Rana ridibunda*, after exposure to CdCl<sub>2</sub>[J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 34: 64 ~ 68.
- Vogiatzis AK, Loumbourdis NS. 1999. A study of glycogen, lactate, total fats, protein, and glucose concentration in the liver of the frog *Rana ridibunda*, after exposure to cadmium for 30 days[J]. *Environmental Pollution*, 104: 335 ~ 340.
- Woodall C, Maclean N. 1992. Response of *Xenopus laevis* to cadmium administration[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part, C*, 101(1): 109 ~ 115.

(上接第 660 页)

- 董双林, 杜家纬. 2002. 交配和温度对甜菜夜蛾 (*Spodoptera exigua*) 雌性信息素产生的影响[J]. *应用生态学报*, 13(12): 1633 ~ 1636.
- 韩桂彪. 2000. 枣粘虫交配行为生态学研究[J]. *应用生态学报*, 11(1): 99 ~ 102.
- 韩召军. 1986. 小地老虎对几类杀虫剂的毒力反应及其抗性变化[J]. *植物保护学报*, 13(2): 125 ~ 130.
- 李云端. 2002. 农业昆虫学[M]. 北京: 中国农业出版社: 174.
- 鲁玉杰, 张孝羲, 翟保平. 2002. 温度和光周期对棉铃虫雌性信息素成分的含量与比例的影响[J]. *生态学报*, 22(4): 567 ~ 570.
- 魏鸿钧, 张治良, 王荫长. 1989. 中国地下害虫[M]. 上海: 上海科学技术出版社: 276.
- 向玉勇, 杨茂发. 2008. 小地老虎交配行为和能力的[J]. *昆虫知识*, 45(1): 50 ~ 53.
- 杨智华. 1992. 化学生态学[M]. 上海: 上海科学技术出版社: 19 ~ 24.
- 曾晓慧, 喻子牛, 胡萃. 1999. 苏云金芽孢杆菌在防治夜蛾科害虫中的应用[J]. *昆虫天敌*, 21(1): 38 ~ 41.
- Buleza VV. 1991. Role of components of sex pheromone in reproductive behavior of male black cutworm (*Agrotis ipsilon*) [J]. *Dokl Biol Sci*, 318: 271 ~ 273.
- Causse R, Bues R, Barthes J, et al. 1988. Mise en évidence expérimentale de nouveaux constituants des phéromones sexuelles de *Scotia ipsilon* Hüfn. et *Mamestra suasa* Schiff (Lépidoptères, Noctuidae) [A]. In: *Médiateurs Chimiques. Comportement et Systématique des Lépidoptères* [C]. Paris: Application en Agronomic. INRA: 75 ~ 82.
- Delisle J, McNeil JN. 1986. The effect of photoperiod on the calling behaviour of virgin females of the True Armyworm, *Pseudaletia unipuncta* (Haw.) (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. *Insect Physiol*, 32(3): 199 ~ 206.
- Delisle J, McNeil JN. 1987. Calling behavior and pheromone titer of true armyworm *Pseudaletia unipuncta* (Lepidoptera: Noctuidae) under different temperature and photoperiod conditions [J]. *Insect Physiol*, 33: 315 ~ 324.
- Foster SP, Roelofs WL. 1994. Regulation of pheromone production in virgin and mated females of two tortricid moths [J]. *Arch Insect Biochem Physiol*, 25: 271 ~ 285.
- Giebultowicz JM, Raina AK, Uebel EC, et al. 1991. Two-step regulation of sex pheromone decline in the mated gypsy moth females [J]. *Arch Insect Biochem Physiol*, 16: 95 ~ 105.
- Hill AS, Roelofs WL. 1977. Sex pheromone of the black cutworm moth, *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. *NY Entomol Soc*, 85: 179 ~ 180.
- Picimbon JF, Gadenne C, Becard JM, et al. 1997. Sex pheromone of the French black cutworm moth, *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae): Identification and regulation of a multicomponent blend [J]. *Chem Ecol*, 23: 211 ~ 230.
- Wakamura S, Struble DI, Matsuura H, et al. 1986. Sex pheromone of the black cutworm moth, *Agrotis ipsilon* Hüfnagel (Lepidoptera: Noctuidae): Attractant synergist and improved formulation [J]. *Appl Entomol Zool*, 21: 299 ~ 304.