

争鸣

松墨天牛是否存在雌性接触信息素？^{*}

樊建庭^{1, 2} 韦 卫¹ 孙江华^{1**}

(1. 中国科学院动物所 农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室 北京 100080
2. 中国科学院研究生院 北京 100039)

Does the contact sex pheromone of Japanese pine sawyer *Monochamus alternatus* exist? FAN Jian-Ting^{1, 2}, WEI Wei¹, SUN Jiang-Hua^{1**} (*State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China; 2 Graduation School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China*)

Abstract A series of experiments with different body parts of females *Monochamus alternatus* Hope separately dissected showed that after head, elytra and prothorax of females were separately dissected, or replacing the abdomen of females with that of males, females still elicited the mating behavior of males. This implied that if contact sex pheromone exists, it should be accumulated on the second half part of body of female *M. alternatus*, especially thorax. However, dead females killed by freezing did not elicited the response of males, and when both live and dead females killed by freezing were offered to males, all males preferred live females, further evidence suggests that contact sex pheromone does not exist in *M. alternatus*, and visual cues may play an important role in the mating behavior of *M. alternatus* since the movement of female beetle attracts male. When antennae of males were dissected at No. 5-6 segment and No. 1 segment of antennae, males still succeeded in finding females to finish the mating behaviors. This suggests that either contact sex pheromone does not exist or males perceive pheromone on the receptors of maxillary and labial palps. Dead females from extraction with hexane did not also elicit the response of males. When the whole body was extracted with hexane or ether, both extracts dripped on dead females due to extract, glass sticks and cobblestones did not elicit the response of males. Further evidence showed that the contact sex pheromone maybe does not exist in the body of *M. alternatus*. Mature females and males aggregate on host stem by perceiving the host volatiles. In the small environment of host stem, visual cues may play an important role in the following mating behavior of *M. alternatus*.

Key words *Monochamus alternatus*, contact sex pheromone, extract mating behavior

摘 要 将松墨天牛 *Monochamus alternatus* Hope 的身体不同部位切除之后的交配试验显示, 分别剪去头部、鞘翅以及前胸部后仍然可以正常交配, 用雄虫的腹部代替雌虫的腹部后, 仍然能够引起雄虫的交配趋势动作, 但不能完成真正交配, 因此推测雌性接触信息素如果存在, 主要集中在雌虫身体后半部, 尤其是中后胸部位。但是冻死后的雌虫不再引起雄虫的交配行为, 而且冻死的雌虫与活雌虫同时放入培养皿中, 雄虫喜欢与活雌虫交配, 不选择冻死的雌虫, 因此推测视觉在其松墨天牛的交配过程中扮演着重要的角色, 而接触性信息素有可能并不存在。将雄虫的触角分别从第 5~6 节和第 1 节剪去的试验结果显示, 雄虫仍然可以很快地找到雌虫, 发生交配行为。这有 2 种可能的解释: 一是雄虫不仅仅靠触角来感受雌虫的接触信息素, 头部下颚须和下唇须上或者足上也有可以感受信息素的感受器; 二是雌虫不存

^{*} 中国科学院知识创新工程重大项目(KSCX1-SW-13-02)。

^{**}通讯作者, E-mail: sunjh@ioz.ac.cn

收稿日期: 2005-12-15, 修回日期: 2005-12-28, 再修回日期: 2006-04-21

在接触信息素, 雄虫通过视觉就可以找到对方, 完成交配过程。浸泡致死的雌虫不再引起雄虫的交配行为, 并且将正己烷和乙醚的浓缩液滴加在浸泡致死的雌虫以及玻璃棒和鹅卵石的生测试验结果显示, 都没有引起雄虫的交配行为。这进一步说明, 松墨天牛可能并不存在体表接触信息素。性成熟后的松墨天牛雌雄成虫是靠衰弱寄主的强烈的挥发性气味聚集到寄主树干上, 在树干这个较为狭小的环境里, 有可能是通过视觉找到配偶, 完成交配过程。

关键词 松墨天牛, 接触信息素, 浸提, 交配行为

松材线虫 *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner and Buhner) Nickle (Nematoda: Aphelenchoididae) 是国际上公认的重要检疫性有害生物^[1]。松材线虫能引起松树毁灭性的流行病害——松材线虫病, 亦称松材线虫萎蔫病、松树萎蔫病或松树枯萎病。目前该病主要分布在美国、加拿大、墨西哥、中国、韩国、日本以及葡萄牙等国, 其中日本、韩国和中国危害最为严重^[2]。

松墨天牛 *Monochamus alternatus* Hope (Coleoptera: Cerambycidae) 是松材线虫在中国的主要传播媒介^[2~5], 属于天牛科, 沟胫天牛亚科, 墨天牛属。对于松墨天牛的防治, 实际应用中主要采用疫木焚烧清除、化学防治^[6]、微生物防治^[7~10] 以及诱捕器诱捕^[11~15] 等方法, 其中诱捕器使用的诱芯都是采用植物源化合物, 还没有性信息素诱芯的产生。

在昆虫信息素领域, 天牛科的研究相对较少。据统计, 全世界已知的 35 000 种天牛种类中^[16], 仅有 6 种天牛的接触性或短距离性信息素以及 10 种天牛的长距离性信息素鉴定出了具体成分, 这些天牛主要都集中在天牛亚科和沟胫天牛亚科^[17~19]。同时, 这 2 个亚科也正是天牛科 9 个亚科中系统发育最为发达的 2 个亚科^[20]。1984 年, Sakai 等人首次从天牛亚科的葡萄虎天牛 *Xylotrechus pyrrhoderus* Bates 上分离鉴定出雄性长距离性信息素^[21]。天牛接触性或者短距离信息素一般由雌虫产生, 主要为具有甲基支链的表皮烃类物质, 长距离性信息素一般由雄虫产生, 主要为 6~10 碳链的 α -羟基酮或 (α , β)-二醇类物质^[17]。另外, 人们也发现大约 20 种天牛的繁殖行为不使用长距离性信息素^[20]。绝大多数天牛科种类不使用性信息素或者聚集信息素, 而是靠感受幼虫寄主的

挥发性气味来完成寄主定位, 然后进行交配繁殖^[17]。

Fauziah 等人对松墨天牛的交配行为进行了描述, 发现雌虫首先在雄虫附近积极活动, 然后雌虫冲过去趴在雌虫体背, 雌虫开始背着雄虫行走, 雄虫敲打着使雌虫平静下来, 并且当雌虫停下后成功地进行了交配^[22]。Kim 认为松墨天牛雄性挥发性信息素和雌性接触性信息素存在, 并提出交配行为分为 2 个阶段: (1)雌虫受雄虫挥发性信息素的吸引; (2)雄虫趴在雌虫身体上, 感受到雌虫体表的接触性信息素后发生交配行为^[23]。但松墨天牛的雄虫和雌虫在田间和套笼试验中都显示出微弱的吸引作用^[24]。迄今为止, 松墨天牛性信息素的具体成分还未见报道。

为了寻找可能存在的接触性信息素在松墨天牛身体上存在的部位, 我们将松墨天牛的身体不同部位切除, 然后对其交配行为进行研究, 并且对松墨天牛虫体进行了溶剂提取, 并将提取液进行生物活性测定, 来探索雌性接触信息素的存在。

1 材料与方法

1.1 试样地及试虫

试验样地位于安徽省宣城市敬亭山茶场山南林区。用于交配行为的试虫是从马尾松的衰弱树的树干上收集而来, 然后带回实验室, 在室内养虫笼里以新鲜马尾松树枝喂养。松墨天牛羽化后需要经过约 15~21d 的时间取食树枝以补充营养^[2, 5], 才能达到性成熟, 而从衰弱树的树干上收集来的试虫基本上已经达到性成熟。另外, 松墨天牛一生当中可以反复多次交配, 且一般持续几个月, 发生交配行为可以看作是其

达到性成熟的一个标志^[20, 22], 所以我们收集刚发生过交配行为的性成熟试虫, 用于接下来的生物测定试验。

1.2 试剂和试验用品

分析纯正己烷(北京化工一厂); 分析纯乙醚(北京化工一厂); 手术剪; 4~20 mL 进口样品瓶(北京康林公司); 120 mm 玻璃培养皿; 胶头滴管。

1.3 交配行为

交配行为试验在实验室内进行, 观察时间为 16:00~22:00。在每个直径 120 mm 的玻璃培养皿中放 1 对刚发生过交配行为的性成熟天牛, 用于接下来的交配行为试验, 各观察 6 h, 设 5 个重复。如果雄虫趴在雌虫体背上, 且雄虫腹末向雌虫腹部发生弯曲, 则记录为有交配趋势; 如果雄虫趴在雌虫体背上, 且雄虫生殖器官成功插入雌虫体内, 则记录为交配成功。

试验 1: 将 1 对天牛中的雌虫头部剪去, 用蜡将雌虫伤口封上, 然后将没有头部的雌虫和头部一起放回培养皿, 观察交配行为。

试验 2: 将 1 对天牛中的雌虫鞘翅剪去, 然后将没有鞘翅的雌虫和鞘翅一起放回培养皿, 观察交配行为。

试验 3: 将 1 对天牛中的雌虫头部和前胸部剪去, 用蜡将雌虫伤口封上, 然后将没有头部和前胸部的雌虫与头部和前胸部分一起放回培养皿, 观察交配行为。

试验 4: 将 1 对天牛中的雌虫的腹部剪去, 用雄虫的腹部代替, 中间以铁丝相连, 然后将带有雄虫腹部的雌虫放回培养皿, 观察交配行为。

试验 5: 将 1 对天牛中的雌虫在 -15°C 处理 30 min, 将其冻死, 然后将冻死的雌虫放回培养皿, 观察交配行为。

试验 6: 将在 -15°C 冻死的雌虫与活雌虫同时放入培养皿中, 观察雄虫的选择性交配行为。

试验 7: 将 1 对天牛中的雄虫触角从第 5~6 节处剪去, 然后将雄虫放回培养皿, 观察交配行为。

试验 8: 将 1 对天牛中的雄虫触角从第 1 节

(即柄节)基部剪去, 然后将雄虫放回培养皿, 观察交配行为。

以上处理同时以健康的完好无损的雌雄配对成虫和雄雄配对成虫作为 2 个对照。

1.4 溶剂浸提及生物测定

将刚发生过交配行为的性成熟的 50 头雌成虫在 -15°C 处理 30 min 冻死, 每 10 头放入 20 mL 正己烷中浸泡 1 min, 重复 3 次, 将 3 次的浸提液合并, 经无水硫酸钠脱水, 然后氮气浓缩。浓缩液将用于接下来的松墨天牛交配行为的生物测定。乙醚溶剂的浸提方法同上。

浸提液的生物测定试验在实验室内进行, 观察时间为 16:00~22:00。首先, 将用以上方法浸泡致死的雌虫放入直径 120 mm 的培养皿中, 再将 1 头刚发生交配行为的雄虫放进培养皿, 观察交配行为 6 h。然后用胶头滴管将每相当于 1~2 头雌虫的浓缩液的剂量滴加在浸泡致死的雌虫上, 等溶剂挥发掉以后, 将 1 头刚发生交配行为的雄虫放进培养皿, 观察交配行为 6 h。相应地将分别涂有正己烷溶液和乙醚溶液的浸泡致死雌虫作为对照。每个处理设 10 个重复。

此外, 将 1 节玻璃棒(2 cm 长 $\times$ 0.8 cm 直径)和虫体大小的灰褐色鹅卵石 2 种雌虫模拟物分别放在玻璃培养皿中, 然后用胶头滴管将每相当于 1~2 头雌虫的浓缩液的剂量滴加在 1 个玻璃棒或鹅卵石上, 等溶剂挥发掉以后, 将 1 头刚发生交配行为的雄虫放进培养皿, 观察交配行为 6 h。同时, 相应地将分别涂有正己烷溶液和乙醚溶液的玻璃棒和鹅卵石作为对照。每个处理设 10 个重复。

2 结果与分析

2.1 交配行为

试验 1 结果显示, 去头雌虫在观察时间内仍然全部存活, 其中有 4 头雌虫在观察时间内引起了雄虫的正常交配行为; 而无身体的头部都没有能够引起雄虫的交配趋势动作(见表 1)。剪除雌虫鞘翅的试验 2 结果显示, 没有鞘翅的雌虫在观察时间内仍然可以正常存活, 有

3 头雌虫在观察时间内引起了雄虫的正常交配行为,而且雄虫不会对鞘翅产生任何交配趋势动作。

剪除雌虫头部和前胸部的试验 3 结果显示,没有头部和前胸部后,雌虫大约 0.5 h 内就全部死亡,在观察时间内,有 2 头雌虫能引起雄虫的交配行为,而头部和前胸部都没有引起雄虫的交配趋势动作。

更换雌虫腹部的试验 4 结果显示,将雌虫的腹部更换为雄虫的腹部后,雌虫仍然可以正常存活,而且在观察时间内,5 头雌虫都能引起雄虫的交配趋势动作,即雄虫腹部末端弯曲,但是显然不能真正完成整个交配过程。

表 1 松墨天牛交配行为研究

试验 编号	处理	观察时 间(h)	试虫 (头)	存活 (头)	交配 趋势 (头)	交配 成功 (头)
1	剪除雌虫头部	6	5	5	4	4
2	剪除雌虫鞘翅	6	5	5	3	3
3	剪除雌虫头部和前胸部	6	5	0	2	2
4	替换雌虫腹部	6	5	5	5	0
5	冻死雌虫	6	5	0	0	0
6	冻死雌虫(加活雌虫)	6	5	0	0	0
7	雄虫触角从第 5~6 节剪除	6	5	5	5	5
8	雄虫触角从第 1 节剪除	6	5	5	5	5
9	健康雌雄成虫(CK1)	6	5	5	5	5
10	健康雄雄成虫(CK2)	6	5	5	1	0

冻死雌虫的试验结果 5、6 显示,在观察时间内冻死后的雌虫没有 1 头能够引起雄虫的交配行为。而冻死的雌虫与活雌虫同时放入培养皿中,在观察时间内所有雄虫都只喜欢与活雌虫产生交配行为,而没有 1 头雄虫与冻死的雌虫发生交配行为。

将雄虫的触角从第 5~6 节处剪除的试验 7 结果显示,在观察时间内没有末端触角的雄虫都仍然可以很快地找到雌虫,发生交配行为。

将雄虫的触角从第 1 节剪除的试验 8 结果显示,在观察时间内没有整个触角的雄虫都仍然可以找到雌虫,发生交配行为。

2.2 溶剂浸提

溶剂浸提液的交配行为试验显示,浸泡致

死后的雌虫也不再引起雄虫的交配行为,而且将正己烷浓缩液滴加回浸泡致死雌虫后,仍然没有引起雄虫任何交配趋势动作。另外,滴加正己烷浓缩液的玻璃棒或者鹅卵石在观察时间内都没有引起雄虫的任何交配趋势动作。

同样地,滴加乙醚浓缩液的浸泡致死雌虫、玻璃棒和鹅卵石也都在观察时间内,没有发现引起雄虫的任何交配行为。

3 讨论

桑黄星天牛 *Psacothoe hilaris*, 胸斑星天牛 *Anoplophora malasiaca* 等天牛种类雌性接触信息素的提取鉴定方法是通过浸泡鞘翅得到的^[25, 26]。松墨天牛的鞘翅被剪去后,仍然可以引起雄虫的交配行为,而雄虫不会与鞘翅有交配趋势,这说明如果松墨天牛雌虫存在体表信息素,鞘翅部分不会是接触信息素的主要聚集部位。

雌虫腹部被更换为雄虫的腹部后,仍然能够引起雄虫的交配趋势行为,这说明如果松墨天牛雌虫存在体表接触信息素,腹部不会是接触信息素的主要聚集部位。

将松墨天牛雌虫的头部和前胸部一起剪除后,仍然能够引起雄虫交配行为。另外,据我们观察,雄虫在交配时一般用前足和中足牢牢地抱住雌虫,而后足用来支撑身体,从体位上来看,雄虫只有机会接触雌虫的前胸以后的部位(不包括前胸)。因此我们可以进一步推测,松墨天牛雌性接触信息素如果存在,很可能主要聚集在雌虫身体后半部,尤其是中后胸部分。

将雌虫冷冻致死,不再引起雄虫的交配行为,而且在将冻死雌虫和活体雌虫同时放在一起的情况下,雄虫会偏向地只与活体雌虫发生交配行为,没有 1 头雄虫选择与冻死雌虫交配。接触信息素属于不容易挥发的物质,不会因为冷冻条件挥发或者被破坏,因此我们推测接触性信息素在松墨天牛上有可能并不存在,而视觉作用可能在其交配过程中发挥着重要的角色。

将雄虫的触角从中间剪下和从基部剪下,

都能正常找到配偶完成交配,有2种可能的解释,一是雄虫不仅仅靠触角来感受雌虫的接触信息素,头部下颚须和下唇须上或者足上也有可以感受信息素的感受器;二是雌虫不存在接触信息素,雄虫通过视觉作用就可以找到对方,完成交配过程。

松墨天牛成虫经常会出现雄抱雄的现象发生,但是时间比较短暂,这也说明雄虫在寻找配偶的时候视觉首先发生了作用,但是由于不能完成真正的交配,而最终放弃。

由于我们的交配试验结果发现,鞘翅不是体表接触信息素的主要聚集部位,因此我们在提取体表信息素时采用了整个虫体浸提。同时,我们采用鞘翅目昆虫提取信息素类物质最常用的2种提取试剂正己烷和乙醚,将浓缩液滴加回浸泡致死雌虫以及玻璃棒和鹅卵石2种模拟物的生物测定试验,都没有能够观察到引起雄虫的交配行为。Kim^[23]的工作是迄今为止对于松墨天牛接触信息素唯一的1篇试验探索性研究,但也只是报道了一些行为现象和推论。我们的工作表明,松墨天牛体表接触信息素可能不存在。

松墨天牛性成熟后的雌雄成虫是靠衰弱寄主的强烈的挥发性气味聚集到寄主树干上^[23, 27],在树干这个较为狭小的环境里,有可能是通过视觉作用找到配偶,从而完成整个交配过程。

致谢 安徽宣城市宣州区森防站的领导和工作人员对本实验提供试验条件以及在野外采样中的大力支持;张龙娃博士对本试验的设计以及论文撰写提出了很多宝贵建议,作者在此一并表示感谢。

参 考 文 献

1 宁眺,方宇凌,汤坚,孙江华. 昆虫知识, 2004. 41(2): 97~104.
2 杨宝君,潘宏阳,汤坚,王玉珣,汪来发主编. 松材线虫病. 北京:中国林业出版社, 2003 61~62
3 Fujio K., Akiomi Y., Toshiya L. *Annu. Rev. Entomol.*,

1984. 29: 115~135
4 Yang B., Wang Q. *Can. J. For. Res.*, 1989. 19: 1 527~1 530.
5 柴希民,蒋平主编. 松材线虫病的发生和防治. 北京:中国农业出版社, 2004. 70~75.
6 Togashi K. *Appl. Entomol. Zool.*, 1990, 25(2): 187~197.
7 Tadahisa U. *Bull. FFPRI*, 2003, 2(4): 255~262
8 Shimazu M. *Appl. Entomol. Zool.*, 1994. 29(1): 127~130.
9 Shimazu M., Sato H. *Appl. Entomol. Zool.*, 2003, 38(1): 1~5
10 Shimazu M. *Appl. Entomol. Zool.*, 2004, 39(3): 485~490.
11 Ikeda T., Enda N., Yamane A., Oda K., Toyoda T. *Appl. Entomol. Zool.*, 1980, 15: 358~361.
12 Ikeda T., Yamane A., Enda N., Oda K., Makihara H., Ito K., Okochi I. *Jap. For. Soc.*, 1986, 68: 15~19.
13 Yamasaki T., Sunago T. *J. Jap. For. Soc.*, 1980, 62(3): 99~102
14 Yamasaki T., Sunago T. *J. Jap. For. Soc.*, 1982, 64(9): 340~345
15 Yamasaki T., Sunago T. *J. Jap. For. Soc.*, 1983, 65(10): 388~391
16 Lawence J. F. In: Parker S. P. (ed.), *Synopsis and Clasification of Living Organisms*, Vol 2 USA, New York: McGraw Hill, 1982. 482~533.
17 Allison J. D., Borden J. H., Seyhold S. J. *Chemoecology*, 2004. 14: 123~150.
18 Ginzal M. D., Miller J. G., Hanks L. M. *Chemoecology*, 2003. 13: 135~141.
19 Lacey E. S., Ginzal M. D., Millar J. G., Hanks L. M. *J. Chem. Ecol.*, 2004, 30: 1 493~1 507.
20 Hanks L. M. *Annu. Rev. Entomol.*, 1999. 44: 483~505.
21 Sakai T., Nakagawa Y., Takahashi J., Iwabuchi K., Ishii K. *Chem. Lett.*, 1984, 263~264.
22 Fauziah B., Hidaka T., Tabata, K. *Appl. Entomol. Zool.*, 1987. 22: 272~285.
23 Kim G. H., Takabayashi J., Takahashi S., Tabata K. *Appl. Entomol. Zool.*, 1992, 27: 489~497.
24 Kishi Y., Otsu S. *Jap. For. Soc.*, 1987, 69: 537~538
25 Fukaya M., Yasuda T., Wakamura S., Honda H. *J. Chem. Ecol.*, 1996, 22: 259~270.
26 Yasui H., Akino T., Yasuda T., Fukaya M., Ono H., Wakamura S. *Entomol. Experim. Appl.*, 2003. 107: 167~176.
27 Nakamura K., Koichi S., Hiromi O. *Jap. J. Appl. Entomol. Zool.*, 1999. 43: 55~59.