

油菜茎象甲 *Ceuthorrhynchus asper* 寄主选择的偏好性及相关植物挥发物分析*

郑 帅^{1**} 李星昊¹ 李永红^{2***} 刘德广^{1***}

(1. 西北农林科技大学植物保护学院, 杨凌 712100; 2. 陕西省杂交油菜研究中心, 杨凌 712100)

摘 要 【目的】目前油菜茎象甲 *Ceuthorrhynchus asper* Roel 的防治主要依赖化学农药, 本研究将明确该虫成虫对不同品种油菜的行为选择差异, 探究影响该虫寄主选择行为的重要油菜挥发物, 为发展绿色防控手段打下基础。【方法】使用 Y 型嗅觉仪测定油菜茎象甲对不同品种油菜的偏好性; 通过顶空固相微萃取和气相色谱-质谱联用技术, 鉴定不同品种油菜的挥发物成分, 并利用主成分 (Principal component analysis, PCA) 及偏最小二乘法判别分析 (Partial least squares discriminant analysis, PLS-DA) 寻找该虫寄主选择相关的重要寄主挥发物。【结果】茎象甲对测试 4 个油菜品种的选择性明显不同, CKE58 和青杂 5 号对该虫有明显的吸引作用。从 4 个油菜品种中共鉴定到 47 种油菜挥发物, 包括酯类、醇类、醛类、萜类、烯烃类和烷烃类等; 以酯类为主, 在各品种中相对含量都高于 81%。PCA 和 PLS-DA 分析都显示不同油菜品种挥发物组之间有明显区别, 重要的差异性 or 特征性挥发物包括乙酸叶醇酯、十一醇、乙酸己酯、反-3-己烯醇和反-2-十二碳烯等。【结论】油菜茎象甲对油菜品种 CKE58 和青杂 5 号具有显著偏好性。CKE58 和青杂 5 号所含差异性 or 特征性且含量较高的挥发物可能决定着油菜茎象甲的寄主选择性, 这些挥发物主要有乙酸叶醇酯、十一醇、乙酸己酯和反-3-己烯-1-醇等。研究结果能为发展针对油菜茎象甲的新型监测和绿色防控技术打下基础。

关键词 油菜茎象甲; 油菜; 寄主选择; 植物挥发物; 绿色防控

Preferences of the rape stem weevil *Ceuthorrhynchus asper* for plant volatiles from different oilseed rape varieties

ZHENG Shuai^{1**} LI Xing-Hao¹ LI Yong-Hong^{2***} LIU De-Guang^{1***}

(1. College of Plant Protection, Northwest A&F University, Yangling 712100, China;

2. Hybrid Rapeseed Research Center of Shaanxi Province, Yangling 712100, China)

Abstract 【Objectives】To determine the preferences of adult rape stem weevils, *Ceuthorrhynchus asper* Roel for plant volatiles from different varieties of oilseed rape in order to identify the varieties most attractive to this pest, and thereby provide a basis for developing environmentally-friendly control measures. 【Methods】Y-type olfactometers were used to determine the preferences of *C. asper* for volatiles from different varieties of oilseed rape. Volatile components of different rape varieties were extracted and identified using headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. Important volatile components of rape varieties were analyzed with Principal Component Analysis (PCA) and Partial Least Squares Discriminant Analysis (PLS-DA). 【Results】Adult rape stem weevils significantly preferred volatiles from the CKE58 and Qingza 5 varieties to those from the other two varieties tested. A total of 47 volatile compounds were identified, including esters, alcohols, aldehydes, terpenoids, alkenes and alkanes. Esters were the predominant volatile in every variety, comprising > 81% of all volatiles. PCA and PLS-DA analyses indicate significant differences in volatile compounds and their contents among the different oilseed rape varieties. Important or characteristic volatile compounds included

*资助项目 Supported projects: 陕西省重点研发计划项目 2022NY-131

**第一作者 First author, E-mail: shuai-zh@nwafu.edu.cn

***共同通讯作者 Co-corresponding authors, E-mail: yhlion@126.com; dgliu@nwafu.edu.cn

收稿日期 Received: 2022-09-29; 接受日期 Accepted: 2023-02-28

(Z)-3-hexenyl acetate, 1-undecanol, hexyl acetate, (E)-3-hexen-1-ol and (E)-2-dodecene, etc. **[Conclusion]** The rape stem beetle is attracted to the CKE58 and Qingza 5 varieties of oil seed rape. Characteristic volatile components of these varieties, include (Z)-3-hexenyl acetate, 1-undecanol, hexyl acetate and ϵ -3-hexen-1-ol, and may play a key role in the host selection behavior of *C. asper*. These results provide a basis for developing new monitoring and environmentally-friendly control methods for *C. asper*.

Key words *Ceuthorrhynchus asper*; rapeseed; host selection; plant volatiles; green control

油菜 *Brassica napus* L. 是我国重要的油料作物, 保障其生产是我国粮油生产安全的重要组成部分。油菜茎象甲 *Ceuthorrhynchus asper* Roel, 属鞘翅目 Coleoptera, 象甲科 Curculionidae。在陕西、甘肃和青海等地一年发生一代, 以成虫在土壤中越冬。成虫飞行能力较差, 有假死习性, 其在初春出土后, 取食较少, 交配产卵于油菜幼嫩的枝茎, 幼虫在茎秆中钻蛀取食直至 3 龄幼虫钻入土中化蛹 (李永红等, 2009)。雌虫产卵或幼虫取食后会刺激油菜受害部位膨胀变形, 不仅影响其茎秆抗风雨能力, 也会导致其长势变弱和产量降低。由于幼虫钻蛀为害, 普通的防治方法难以控制, 目前其防治主要以成虫为主, 而成虫被坚硬的鞘翅保护, 必须使用渗透性强的化学农药进行防治 (李建厂等, 2018), 这容易带来环境污染和抗药性等问题, 因此, 亟待发展针对油菜茎象甲的绿色防控手段。

植食性昆虫对寄主植物的选择包括启动、定向、降落和接触等一系列行为 (王晓辉等, 2022), 影响这个过程的因素很多, 包括天敌和竞争者的分布情况、植物的理化特性等, 也包括昆虫自身的视觉、味觉和触觉, 特别是嗅觉 (Bar-Yam and Morse, 2011)。昆虫在远距离定位寄主植物的时候, 主要依靠嗅觉, 用以识别寄主植物特有的“气味”。寄主植物挥发物在昆虫寄主选择和产卵过程中起着关键作用 (Abraham *et al.*, 2015)。寄主植物挥发物可以分为两类, 一类是由次生代谢物分解形成的挥发物, 例如十字花科植物的芥子油苷会裂解成硫氰酸酯类化合物 (Pivnick *et al.*, 1994); 另一类是不分解的天然挥发物。不同植物释放的挥发物组有一定的特异性, 形成其特有的化学指纹图谱 (Hatanaka, 1993)。弄清寄主植物挥发物在昆虫寄主选择中的功能, 首先需对相

关挥发物进行提取和鉴定。目前广泛应用于植物挥发物提取的方法包括动态顶空吸附法 (黄代红等, 2015) 和固相微萃取法 (陈晓水等, 2013), 鉴定主要采用气相色谱-质谱联用技术。植物寄主释放的挥发性化合物是多种碳氢化合物及其衍生物的混合物, 包括萜烯、烷烃、烯烃、醇、酯、羰基和酸等 (Peñuelas and Llusà, 2003)。不仅不同植物器官如花、果实、叶片和茎秆等释放出的挥发物会有所不同, 而且不同生长阶段、不同品种植株的挥发物的组成及比例也会有明显区别 (Van Den Boom *et al.*, 2004)。这些特异性或特征性的植物挥发物可用于目标害虫的大规模诱捕、发生动态分析、预测预报以及绿色治理等 (张辉等, 2022)。

目前对油菜重要害虫茎象甲的研究很少, 针对其寄主选择性及相关植物挥发物的研究更是极为缺乏。本研究在田间观察到不同油菜品种对该虫抗性不同的基础上, 选择危害程度较轻和较重的油菜品种各两个在室内进行了测试, 探究油菜茎象甲对不同品种油菜的选择差异性, 并通过顶空固相微萃取方法结合气相色谱-质谱联用技术 (SPME-GC-MS, Solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry) 对不同品种油菜挥发物进行了检测、分析和比较, 寻找对油菜茎象甲具有生物活性的挥发物成分, 旨在为该虫的高效监测和绿色防控打下基础。

1 材料与方法

1.1 供试虫源和植物

2020 年 5 月, 在甘肃省陇南市成县 (33° 45' N, 105° 45' E, 海拔 1 375.01 m) 采集油菜茎象甲成虫, 带回实验室于室温条件下饲养, 以油菜新鲜

叶片饲喂成虫。本次采集成虫主要为油菜茎象甲越冬代成虫,春季出土后一般可存活一到两周左右。田间采集到的油菜茎象甲成虫带回实验室后,选用不同于以下测试品种的油菜 2050A 在室内饲喂 2-3 d,开展选择试验前饥饿处理 2 h。

不同油菜品种采集于同一地点,包括秦优 919、青杂 5 号、CKE57 和 CKE58 等,带回实验室在白天温度 22 °C、夜晚 16 °C、光周期 16 : 8 (L : D)、湿度 60% 的人工培养箱中种植。

1.2 两项选择行为测试

预先准备抽薹期不同品种整株油菜植物,除茎叶部分其余均用锡纸包裹,放入味源瓶中,对照瓶中放置同样的锡纸。将上述味源瓶放置在长方体箱体 (120 cm×90 cm×90 cm) 内,在味源瓶和 Y 型嗅觉仪 (Y 型管内径为 1 cm,各臂均长 15 cm,其中连接味源的两臂夹角为 60°,所有玻璃仪器接口处均为磨口) 中间使用黑色纸板隔开试虫和植物 (预实验发现油菜茎象甲对黑色没有趋性),在自然光下测定试虫行为趋性。为保证气密性,所有仪器的连接处使用封口膜密封,将所有仪器组装好后,将试虫放在箱体内适应环境 30 min,并由大气采样仪 (QC-2 型,北京劳动保护研究所) 泵入经过活性炭瓶和蒸馏水瓶过滤并加湿的空气,空气流速设置为 400 mL/min,通气 30 min 后待系统内气体稳定后开始行为选择测试。将试虫逐一放置在 Y 型管主臂二分之一处,在 10 min 内观察并记录其趋性反应,若试虫进入某一侧臂超过二分之一长度,并停留 30 s 以上,记录为试虫选择该臂味源;若 10 min 内试虫不选择则记为未选择。每测试 5 头调换味源瓶及 Y 型嗅觉仪位置,每测试 10 头更换味源瓶及 Y 型嗅觉仪,使用过的玻璃仪器经过自来水、蒸馏水及无水乙醇清洗后室温晾干,在烘箱内 200 °C 烘干 2 h 后可再次使用;连接胶管清洗步骤相同,在烘箱内 70 °C 烘干 2 h 后可再次使用。因试虫有限,每个重复仅使用单头试虫,每组测试设 30 次重复,测试温度 25 °C,时间 15:00-18:00。

1.3 多项选择行为测试

制作长宽为 70 cm、高为 50 cm 的长方体塑

料笼,并用 80 目纱网封顶,用于透气。准备与 1.2 中相同的四株油菜,放在长方体塑料笼四角,将油菜茎象甲成虫每次单头放在塑料笼底部,静置 24 h 后观察每株油菜的试虫选择情况,设 42 次重复。试验在白天温度 22 °C、夜晚 16 °C、光周期 16 : 8 (L : D)、湿度 60% 的人工培养箱中进行。

1.4 油菜挥发物的收集及成分分析

参照王明等 (2018) 的研究方法,使用固相微萃取法对油菜挥发物进行收集。选择预先准备好的油菜截取 8 cm 茎基部 (保留叶片),在茎秆两端断口使用湿润的脱脂棉包裹后覆盖一层烘干过的锡纸,放入锥形瓶后用锡纸密封静置处理 45 min。固相微萃取进样器在首次使用前在 260 °C 条件下老化 20 min,后插入放有样本的锥形瓶中在 25 °C 条件下萃取 40 min。每个品种设置 3 个重复。

分析仪器为气相色谱-质谱联用仪 (GC-MS, Gas chromatography-mass spectrometry): TRACE 1310 气相色谱仪和 ISQTM 单四极杆质谱仪 (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA), 色谱柱为 HP-5MS 毛细管柱 (30 m×0.32 mm×0.25 μm, Agilent Technologies, Santa Clara, USA), 固相微萃取手柄 (Solid-Phase Microextraction, SPME, 65 μm DVB (Divinylbenzene)/PDMS (Polydimethylsiloxane), Supelco, Bellefonte, PA, USA)。萃取完成后,插入上述气质联用仪顶空进样端口,280 °C 解吸 5 min,载气为氦气,无分流进样,流量为 1 mL/min;升温程序:起始温度 40 °C,保持 2 min,以 8 °C/min 的速度逐步升温至 260 °C,并保持 5 min;分析采用电子电离 (Electron ionization, EI) 模式,电离能为 70 eV,质谱范围 45-650 m/z。在同样条件下,对作为外标的乙酸庚酯 (10 ng·μL⁻¹) 也进行了分析。为消除空白对照空气的影响,在同样条件下,对空瓶子内的挥发物成分进行了检测。

基于 GC-MS 分析得到各挥发物的保留时间及质谱图,通过搜索 NIST (National Institute of Standards and Technology) 数据库,与标准图谱比较,对各化合物进行鉴定 (对少数重要挥发物

如反-3-己烯醇和十一醇等使用标品进行验证), 用峰面积归一法对各挥发物组分的相对含量进行比较。

1.5 数据分析

使用 EXCEL 和 SPSS 26.0 统计软件对油菜茎象甲行为选择实验结果进行数据处理和相关分析, 采用 χ^2 检验分析油菜茎象甲成虫对不同油菜品种的选择性。多项选择测试数据采用 χ^2 检验分析后, 采用 Z-test 进行多重比较, 并利用 Bonferroni 法获取校正 P 值(Bonferroni adjusted P-values)。使用 Metaboanalyst 软件对油菜茎象甲挥发物进行主成分 (Principal component analysis, PCA) 分析和偏最小二乘法判别分析

(Partial least squares discriminant analysis , PLS-DA)。

2 结果与分析

2.1 油菜茎象甲对不同品种油菜的行为选择偏好

利用 Y 型嗅觉仪测试了茎象甲对不同油菜品种的选择性 (图 1)。以空气作为空白对照, CKE58 作为气味源时, 对该虫表现出显著的吸引作用 ($\chi^2=5.828, P=0.016$)。与空白对照相比, 油菜茎象甲成虫对青杂 5 号也有趋向性 ($\chi^2=3.571, P=0.059$)。在秦优 919 ($P=0.847$) 和 CKE57 ($P=1$) 与空白对照之间, 油菜茎象甲成虫的趋向性不明显。

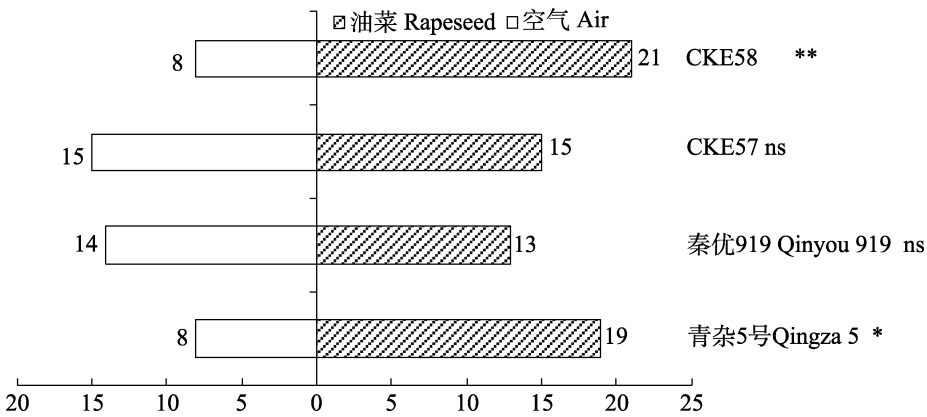


图 1 油菜茎象甲成虫对不同品种油菜的嗅觉反应
Fig. 1 Olfactory responses of *Ceuthorrhynchus asper* adults to different varieties of oilseed rape

*代表处理间差异显著 ($P<0.1$), **代表处理间差异极显著 ($P<0.05$), ns 代表处理间没有显著差异 (Z 检验)。
* means significant differences between treatments ($P<0.1$), ** means extremely significant differences between treatments ($P<0.05$), ns represents no significant difference between treatments (Z-test).

油菜茎象甲的多项选择行为测试结果如图 2 所示。24 头试虫选择青杂 5 号, 13 头试虫选择 CKE58, 3 头试虫选择秦优 919, 2 头试虫选择 CKE57。油菜茎象甲对 4 个品种的选择偏好性有显著差异 ($\chi^2=40.254, P<0.001$), 其偏好顺序趋向于: 青杂 5 号和 CKE58>秦优 919>CKE57。油菜茎象甲成虫对青杂 5 号和 CKE58 选择偏好性差异不显著, 但两者与秦优 919 和 CKE58 有显著性差异。

2.2 不同品种油菜挥发物的组分及含量

不同品种油菜挥发物的种类和含量如表 1

所示, 通过 GC-MS 分析, 共鉴定出包括醇类、醛类、酯类、萜类、烯烴类和烷烴类六类化合物, 共 47 种, 酯类化合物相对含量最高。CKE58 中共鉴定到 30 种化合物, 酯类 10 种 (95.77%)、醇类 3 种 (5.23%)、烷烴类 4 种 (0.68%)、烯烴类 2 种 (0.81%)、醛类 3 种 (0.21%)、萜类 6 种 (1.67%)、其他 2 种 (0.17%); 青杂 5 号共鉴定到 31 种化合物, 酯类 6 种 (83.11%)、醇类 4 种 (13.52%)、烷烴类 8 种 (2.11%)、烯烴类 3 种 (4.63%)、醛类 3 种 (0.55%)、萜类 6 种 (1.69%)、其他 1 种 (0.05%); CKE57 共鉴定到 32 种化合物, 醇类 5 种 (17.02%)、酯类 8

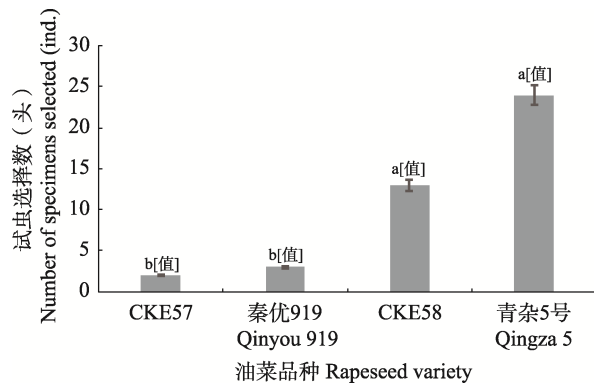


图2 油菜茎象甲成虫对不同品种油菜的选择频次比较

Fig. 2 Comparisons of selection frequency of *Ceuthorrhynchus asper* adults for different varieties of oilseed rape

柱上不同字母代表品种间差异显著, 卡方检验显著后使用 Z 检验进行多重比较, 用 Bonferroni 法校正 P 值。

Different letters above the bars represent significant differences among varieties, multiple comparisons were conducted with Z-tests, and the Bonferroni method was used to adjust P values after significant χ^2 tests.

种 (81.37%)、烷烃类 6 种 (0.82%)、萜类 7 种 (0.62%)、醛类 1 种 (0.05%)、烯烃类 4 种 (0.75%)、其他 1 种 (0.39%); 秦优 919 共鉴定到 36 种化合物, 酯类 8 种 (82.51%)、醇类 5 种 (14.03%)、烷烃类 10 种 (5.94%)、烯烃类 5 种 (1.05%)、醛类 2 种 (1.00%)、萜类 5 种 (2.67%)、其他 1 种 (0.06%)。

由图 3 结合表 1 可以看出, CKE57 特有的挥发物有 1 种 (3-甲基-4-戊醇); 秦优 919 特有的挥发物有 4 种, 分别是异辛醇、4-甲基-1-(1-甲基乙基)-双环(3.1.0)-己二烯、3,6,6-三甲基-双环(3.1.1)庚-2-烯、2,4-二甲基己烷。

2.3 不同品种油菜挥发物组成和含量的 PCA 分析和 PLS-DA 分析

由表 2 可以看出, PCA 分析得到的前 3 个主成分能解释不同品种油菜之间总差异的 79.8%。

表 1 4 个品种油菜的挥发物成分和相对含量

Table 1 Relative contents of volatile components in four oilseed rape varieties

编号 No.	保留时间 Retention time	CAS#	化合物名称 Name of compound	相对含量 (%) Relative content (%)			
				CKE57	秦优 919 Qinyou 919	CKE58	青杂 5 号 Qingza 5
1	4.90	589-43-5	2,4-二甲基己烷 2,4-Dimethyl-hexane	0.11±0.04			
2	4.91	5187-71-3	2-甲基-4-戊醛 2-Methyl-pent-4-enal	0.49±0.02 a	0.39±0.04 b	0.13±0.04 d	0.28 ± 0.06 c
3	6.12	928-97-2	3-己烯-1-醇(Z)-3-hexen-1-ol	0.52±0.08 b	1.87±0.86 ab	3.18±1.86 a	
4	6.30	544-12-7	反-3-己烯醇(E)-3-hexen-1-ol	16.59±4.80 a			1.39 ± 0.25 b
5	6.37	111-27-3	1-己醇 1-Hexanol	0.52±0.06 b 1.22±0.02 a			
6	6.37	51174-44-8	3-甲基-4-戊醇 3-Methylpent-4-en-1-ol	0.59±0.05			
7	7.39	42125-10-0	顺-2-戊烯醇乙酸酯 (Z)-pent-2-en-1-yl acetate	0.35±0.08 b	0.86±0.06 a	0.31±0.06 b	0.38 ± 0.13 b
8	7.69	28634-89-1	4-甲基-1-(1-甲基乙基)-双环(3.1.0)-己二烯 4-Methyl-1-(1-methylethyl)-bicyclo[3.1.0]hex-2-ene	0.35±0.21			
9	7.77	99-83-2	水芹烯 3-Methoxy-1-propanol	0.48±0.05 a		0.43±0.10 a	0.28±0.04 b
10	8.08	4889-83-2	3,6,6-三甲基-双环(3.1.1)庚-2-烯 3,6,6-Trimethyl-bicyclo[3.1.1]hept-2-ene	0.17±0.10			
11	8.16		3-乙基-1,5-辛二烯 3-Ethyl-1,5-octadiene	0.15±0.02 c	0.16±0.02 c	0.86±0.14 a	0.59±0.02 b

续表 1 (Table 1 continued)

编号 No.	保留时间 Retention time	CAS#	化合物名称 Name of compound	相对含量 (%) Relative content (%)			
				CKE57	秦优 919 Qinyou 919	CKE58	青杂 5 号 Qingza 5
12	8.79	3387-41-5	桉烯 Octadiene	0.12±0.09 b	0.42±0.12 a	0.25±0.14 ab	0.45±0.03 a
13	9.15	123-35-3	月桂烯 Sabinene	0.18±0.08 b	0.48±0.16 a	0.24±0.13 b	0.32±0.04 ab
14	9.63	3681-82-1	乙酸叶醇酯(Z)-3-hexenyl acetate	74.32±5.02 a	75.89±1.35 a	83.79±3.84 a	82.29±7.15 a
15	9.79	142-92-7	乙酸己酯 Hexyl acetate	5.84±1.44 a	5.53±0.02 a	6.13±2.26 a	
16	9.97	104-76-7	异辛醇 2-Ethylhexanol		0.38±0.21		
17	9.99	58175-57-8	2-丙基-1-戊醇 1-Pentanol,2-propyl-		0.14±0.04 b		0.24±0.03 a
18	10.14	5989-27-5	右旋萜二烯(+)-Limonene	0.22±0.14 b	1.27±0.55 a	0.48±0.44 ab	0.37±0.39 b
19	10.57	17301-32-5	4,7-二甲基-十一烷 4,7-Dimethyl- undecane		0.14±0.07 c	0.36±0.08 b	0.49±0.03 a
20	10.69	13466-78-9	3-萜烯 Carene	0.27±0.02 ab	0.31±0.13 a	0.13±0.07 bc	
21	10.69	99-85-4	γ-萜品烯 γ-Terpinene	0.64±0.04 a			0.13±0.05 b
22	10.69	508-32-7	环烯 Cyclene	0.35±0.02 a	0.13±0.04 b		
23	11.49		丙酸-4-己烯酯 (E)-4-hexenyl propionate	0.39±0.01 a		0.11±0.03 b	
24	11.56	33467-74-2	丙酸叶醇酯 (Z)-hex-3-en-1-yl propionate	0.12±0.03 b		1.14±0.15 a	
25	11.57	1120-21-4	十一烷 Undecane	0.15±0.03 b	0.77±0.17 a	0.18±0.03 b	0.28±0.09 b
26	11.67	124-19-6	壬醛 Nonyl aldehyde		0.68±0.25 a	0.44±0.13 a	0.14±0.02 b
27	12.41		4-己烯基丁酯 (E)-4-hexen-1-yl butyrate	0.35±0.18 b		3.25±0.20 a	
28	12.41	16491-36-4	顺-3-己烯基丁酯 (Z)-3-hexenyl butyrate		0.16±0.02 b	0.27±0.10 a	
29	12.50	53398-84-8	反-3-己烯基丁酸酯 (E)-3-hexen-1-yl butyrate		0.12±0.10 b	0.88±0.21 a	0.98±0.50 a
30	12.63	103-09-3	醋酸异辛酯 2-Ethylhexyl acetate	0.59±0.24a	0.17±0.06b	0.11±0.03b	0.54±0.09 a
31	13.45	75039-84-8	反-2-十一碳烯-1-醇 (E)-2-undecen-1-ol	0.24±0.11bc	2.13±0.31a		0.49±0.17 b
32	13.63	74663-85-7	壬基环丙烷 Nonylcyclopropane	0.22±0.05 c	0.98±0.65 a	0.37±0.02 ab	0.72±0.12 ab
33	13.64	112-40-3	十二烷 Dodecane	0.26±0.02 b	0.45±0.03 a	0.12±0.02 d	0.19±0.02 c
34	13.82	112-31-2	癸醛 Decanal			0.37±0.12 a	0.13±0.02 b
35	15.41	35852-46-1	戊酸叶醇酯 (Z)-3-hexen-1-yl pentanoate	0.27±0.09 a	0.42±0.16a	0.95±1.14 a	0.30±0.17 a
36	15.42	41446-67-7	顺-3-十四碳烯(Z)-3-tetradecene	0.53±0.42 a		0.73±0.18 a	
37	15.57	74663-91-5	1-庚基-2-甲基环丙烷 1-Heptyl-2-methylcyclopropane	0.30±0.07 ab	2.63±2.40 a		
38	15.57	6975-98-0	2-甲基癸烷 2-Methyldecane	0.67±0.02 a	0.18±0.02 c		0.22±0.02 b
39	16.52	31501-11-8	己酸叶醇酯 (Z)-3-hexen-1-yl hexanoate	0.67±0.13 ab	0.15±0.05 b	0.80±0.51 a	0.67±0.02 ab

续表 1 (Table 1 continued)

编号 No.	保留时间 Retention time	CAS 编号 CAS no.	化合物名称 Name of compound	相对含量 (%) Relative content (%)			
				CKE57	秦优 919 Qinyou 919	CKE58	青杂 5 号 Qingza 5
40	17.26	112-42-5	十一醇 1-Undecanol	0.38±0.31 bc		0.83±0.59 b	2.88±0.04 a
41	17.27	7206-13-5	反-2-十二碳烯(E)-2-dodecene	0.31±0.04 b			4.37±0.02 a
42	17.33	41446-66-6	反-5-十四碳烯(E)-5-tetradecene		0.24±0.02 a		0.25±0.10 a
43	17.40	13833-25-5	倍半萜 A Sesquiterpen A	0.33±0.01 a	0.28±0.10 a	0.19±0.14 a	0.15±0.02 a
44	17.40	629-59-4	正十四烷 Tetradecane		0.25±0.05 b		0.44±0.02 a
45	17.41	629-62-9	十五烷 Pentadecane	0.59±0.03 a	0.41±0.09 b		0.23±0.02 c
46	19.13	192823-15-7	2,3,5,8-四甲基癸烷 2,3,5,8-Tetramethyldecane		0.13±0.06 b		0.59±0.03 a
47	19.14	10147-41-8	1-十八烷磺酰氯 1-Octadecanesulphonyl chloride		0.62±0.14 a	0.51±0.21 a	0.49±0.03 a

对 4 个品种油菜的挥发物成分的相对含量进行单因素方差分析, 并使用 Duncan 氏检验比较不同品种间的差异显著性 ($P<0.05$); 表中数据后不同小写字母表示品种间差异显著。

One-way analysis of variance was performed on relative contents of volatile components in four varieties of rapeseed, and the Duncan's test was used to identify significant differences among varieties ($P<0.05$). Different lowercase letters after the data in the table indicate significant differences between varieties.

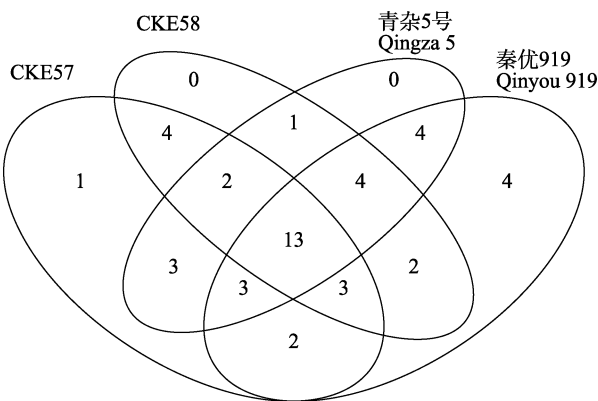


图 3 不同品种油菜挥发物成分的韦恩图

Fig. 3 Venn diagram of volatile components in different varieties of oilseed rape

方差分析结果表明, 在第 1 主成分上, 4 个油菜品种处理间差异性极为显著 ($F_{3,8}=29.54$, $P<$

0.001)。在第 2 主成分上, 4 个油菜品种处理之间也存在显著差异 ($F_{3,8}=4.74$, $P<0.05$), 但在第 3 主成分上 4 个品种之间差异性不显著。

图 4 是基于 PLS-DA 分析以第一和第二成分分别作为 x 轴和 y 轴所作散点图。从图 4 可以看出不同油菜品种样品聚集在不同的区域, 说明测试的 4 种油菜品种在挥发物组上差异较为明显。CKE58 样品分布在靠近 y 轴的居中区域, 而秦优 919 样品分布在图的下方区域; 青杂 5 号样品聚集在第一象限, CKE57 聚集在第四象限。

从图 5 可以看出 PLS-DA 分析中 VIP (Variable importance in projection) 得分最高的前 5 种挥发物包括乙酸己酯、反式-3-己烯醇、3-己烯-1-醇、反-2-十二碳烯和乙酸叶醇酯。其

表 2 基因主成分分析中前 3 个主成分的 4 个品种油菜挥发物组成的比较

Table 2 Comparisons of volatile components for four varieties of oilseed rape based on the first three principal components in PCA analyses

主成分 Principal component	贡献率 (%) Proportion (%)	累计贡献率 (%) Cumulative contribution (%)	F 值 F value	自由度 d.f.	P 值 P value
第 1 主成分 The first principal component	53.6	53.6	29.54	3,8	<0.001
第 2 主成分 The second principal component	16.4	70.0	4.74	3,8	0.035
第 3 主成分 The third principal component	9.8	79.8	2.25	3,8	0.159

续表 2 (Table 2 continued)				
主成分 Principal component	多重比较 Multiple comparisons			
	CKE57	秦优 919 Qinyou 919	CKE58	青杂 5 号 Qingza 5
第 1 主成分 The first principal component	6.62±1.48 b	8.21±0.36 a	2.98±3.00 c	4.57±2.79 b
第 2 主成分 The second principal component	0.57±1.11 b	2.29±1.90 ab	4.26±3.65 a	2.54±2.70 ab
第 3 主成分 The third principal component	2.01±1.61 a	1.25±3.12 a	0.67±0.73 a	2.59±3.14 a

对所提取的前 3 个主成分进行单因素方差分析, 并使用 Waller-Duncan 检验比较不同品种间的差异显著性 ($P<0.05$); 表中数据后不同小写字母表示品种间差异显著。

One-way analysis of variance was performed on the first three composite factors, and the Waller-Duncan test was used to identify significant differences among varieties ($P<0.05$). Different lowercase letters after the data in the table indicate significant differences between varieties.

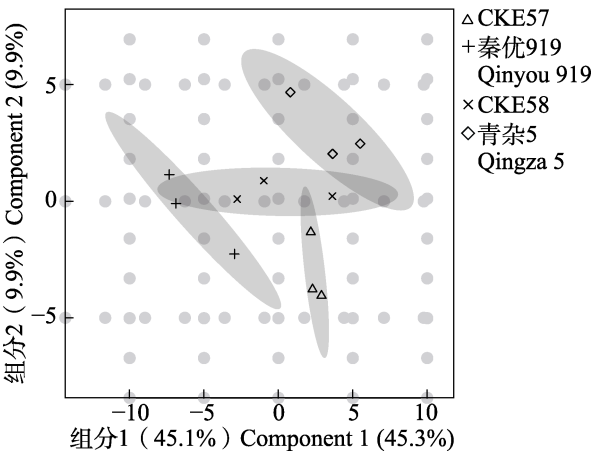


图 4 不同品种油菜在 PLS-DA 分析第 1 和第 2 成分上的二维散点图

Fig. 4 Two-dimensional scatter plot of the first and second PLS-DA components for different varieties of oilseed rape

中乙酸己酯在 CKE58 中含量最高, 在青杂 5 号中含量最低; 反-3-己烯醇在 CKE57 中含量最高, 在 CKE58 中含量最低; 3-己烯-1-醇在秦优 919 中含量最高, 在青杂 5 号中含量最低; 反-2-十二碳烯在中青杂 5 号含量最高, 在 CKE58 中含量最低; 乙酸叶醇酯在 CKE58 中含量最高, 在 CKE57 中含量最低。

3 讨论

植物挥发物是一类分子量小的挥发性有机化合物, 在植食性昆虫寻找寄主的过程具有重要作用, 不同品种作物挥发物组之间的区别能给昆虫取食选择提供重要线索 (赵正萍等, 2015)。本研究针对茎象甲成虫测试了 4 个油菜品种即

CKE58、青杂 5 号、秦优 919 和 CKE57。结果表明, CKE58 和青杂 5 号对油菜茎象甲都有较明显的吸引作用, 但该虫对秦优 919 和 CKE57 的选择性非常微弱。为探究引起油菜茎象甲寄主选择性差异的活性物质, 对上述 4 种品种油菜的挥发物组进行了收集, 鉴定到酯类、醇类、醛类、萜类、烯烃类和烷烃类六类化合物, 共 47 种, 其中酯类化合物相对含量最高。通过比较发现, 两个春油菜品种大黄和青油所释放的挥发物与本研究中的 4 个品种相似, 都以酯类化合物为主 (郝江宁, 2018)。测试的 4 个油菜品种各自特有的挥发物很少, 如 CKE57 仅有 1 种 (即 3-甲基-4-戊醇)。但主成分分析、PLS-DA 等分析都说明这 4 个油菜品种的挥发物组之间有明显区别。因此, 不同油菜品种之间所含挥发物成分差别不大, 但各成分相对含量之间会有明显区别, 从而为油菜茎象甲的寄主选择提供重要线索。

对上述 4 个油菜品种的挥发物组进行了全面深入的比较, 发现对品种间差异贡献最大的挥发物包括乙酸己酯、反-3-己烯-1-醇、3-己烯-1-醇、反-2-十二碳烯、乙酸叶醇酯等。油菜茎象甲选择性较强的 CKE58 中乙酸己酯、3-己烯-1-醇、乙酸叶醇酯、十一醇等含量较高 (图 5)。而反-3-己烯-1-醇、反-2-十二碳烯、乙酸叶醇酯、十一醇等在青杂 5 号含量较高。已有研究表明, 乙酸己酯和 3-己烯-1-醇对草地螟有较好的引诱效果 (范锦胜等, 2013)。3-己烯-1-醇和反-2-己烯-1-醇对棉铃象甲 *Anthonomus grandis* 有一定吸引作用, 而且对该象甲性诱剂有协同增效的作

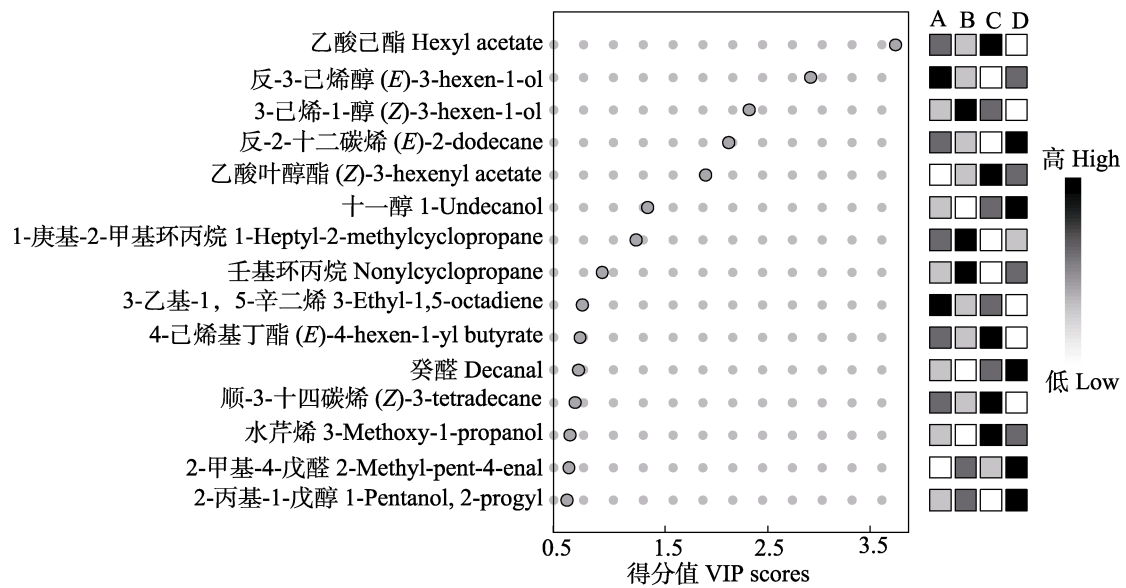


图5 基于 PLS-DA 分析 VIP 得分前 15 挥发物在不同油菜品种之间含量比较

Fig. 5 Comparisons of contents for top 15 volatiles with highest VIP scores in different oilseed varieties based on PLS-DA analyses

A 代表 CKE57; B 代表秦优 919; C 代表 CKE58; D 代表青杂 5 号; VIP 值代表组分的重要性得分。

A stands for CKE57; B stands for Qinyou 919; C stands for CKE58; D stands for Qingza 5;

VIP stands for variable importance in projection.

用 (Dickens, 1989)。白蜡树也能释放 3-己烯-1-醇, 该挥发物对白蜡窄吉丁 *Agrilus planipennis* 有较好的诱捕效果 (de Groot *et al.*, 2008)。乙酸叶醇酯对红缘天牛 *Asias halodendri* 有较强的吸引作用, 呈现出较高的潜在应用价值 (阎雄飞等, 2016)。一般而言, 特定寄主对害虫的吸引作用往往不是由单一化合物引起。如小麦吸浆虫 *Sitodiplosis mosellana* 对寄主挥发物成分的比例变化高度敏感, 当单独使用 6 种能引起小麦吸浆虫电生理活性的化合物对其没有吸引力, 当这 6 种化合物的比例与寄主中比例类似时才有引诱效果 (Birkett *et al.*, 2004)。再如, 单独使用人工合成的 α -法尼烯对白菜籽龟象甲 *Ceutorhynchus assimilis* 没有明显的诱捕效果, 但与其它寄主挥发物组合使用时有协同增效作用 (Evans and Allen-Williams, 1992)。因此, 昆虫对寄主植物的选择性很多时候并不取决于单一特定化合物的存在与否, 而是取决于多种重要挥发物的相对含量和占比 (戴建青等, 2010)。目前仍不清楚上述油菜挥发物对茎象甲是否具有明显的吸引作用, 这需要将来进一步的试验来确证。

特别是乙酸叶醇酯和十一醇为油菜茎象甲的两个偏好寄主 (即 CKE58 和青杂 5 号) 所共有的高含量挥发物。而且, 已有研究发现, 乙酸叶醇酯和十一醇对梨小食心虫 *Grapholita molesta* 的诱捕有协同增效作用 (Yu *et al.*, 2015)。因此, 这两种挥发物组分极可能在油菜茎象甲成虫寄主选择过程中扮演关键角色。总之, 乙酸叶醇酯、十一醇、乙酸己酯、反-3-己烯醇、反-2-十二碳烯等都可能对油菜茎象甲有生物活性的重要寄主挥发物, 但这些挥发物组分不同组合的功效还需要通过触角电位分析、剂量效应分析、田间试验等来验证, 在此基础上筛选对油菜茎象甲有效的植物源引诱剂或驱避剂将是后续的研究重点。

4 结论

油菜茎象甲对测试的 4 个油菜品种的选择性有明显不同, 对 CKE58 和青杂 5 号呈现出明显偏好性。4 个油菜品种中都鉴定到酯类、醇类、醛类、萜类、烯烴类和烷烴类六类化合物, 品种之间挥发物成分类似, 但其相对含量有明显区

别。主成分分析和偏最小二乘判别分析都表明这 4 个油菜品种的挥发物组之间差异显著, 从而能引起油菜茎象甲对其的选择性差异。油菜茎象甲的寄主选择性可能是由于含量较高且品种之间差异明显的寄主挥发物引起的, 如乙酸叶醇酯、十一醇、乙酸己酯、反-3-己烯醇、反-2-十二碳烯、3-己烯-1-醇等。将来需要进一步研究这些重要寄主挥发物的具体功能, 从而发展针对油菜茎象甲的诱剂、趋避剂以及新的监测和绿色防控技术。

参考文献 (References)

- Abraham J, Giacomuzzi V, Angeli S, 2015. Root damage to apple plants by cockchafer larvae induces a change in volatile signals below-and above-ground. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 156(3): 279–289.
- Bar-Yam S, Morse DH, 2011. Host—plant choice behavior at multiple life-cycle stages: The roles of mobility and early growth in decision-making. *Ethology*, 117(6): 508–519.
- Birkett MA, Bruce TJ, Martin JL, Smart LE, Oakley J, Wadhams LJ, 2004. Responses of female orange wheat blossom midge, *Sitodiplosis mosellana*, to wheat panicle volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, 30(7): 1319–1328.
- Chen XS, Hou HW, Bian ZY, Tang GL, Hu QY, 2013. Research progress on application of GC-MS/MS. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 34(5): 308–320. [陈晓水, 侯宏卫, 边照阳, 唐纲岭, 胡清源, 2013. 气相色谱-串联质谱(GC-MS/MS)的应用研究进展. 质谱学报, 34(5): 308–320.]
- Dai HQ, Han SC, Du JW, 2010. Progress in studies on behavioural effect of semio chemicals of host plant to insects. *Journal of Environmental Entomology*, 32(3): 407–414. [戴建青, 韩诗畴, 杜家纬, 2010. 植物挥发性信息化学物质在昆虫寄主选择行为中的作用. 环境昆虫学报, 32(3): 407–414.]
- de Groot P, Grant GG, Poland TM, Scharbach R, Buchan L, Nott RW, Macdonald L, Pitt D, 2008. Electrophysiological response and attraction of emerald ash borer to green leaf volatiles (GLVs) emitted by host foliage. *Journal of Chemical Ecology*, 34(9): 1170–1179.
- Dickens JC, 1989. Green leaf volatiles enhance aggregation pheromone of boll weevil, *Anthonomus grandis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 52: 191–203.
- Evans KA, Allen-Williams LJ, 1992. Electroantennogram responses of the cabbage seed weevil, *Ceutorhynchus assimilis*, to oilseed rape, *Brassica napus* Oleifera, volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, 18(9): 1641–1659.
- Fan JS, Zhang LX, Wang GQ, Fu X, Zhang K, Zheng X, Han X, Leng H, 2013. Electrotentogram responses of medoe moth (*Loxostege sticticalis* L.) to plant volatiles. *Sugar Crops of China*, 2013(3): 44–46. [范锦胜, 张李香, 王贵强, 付雪, 张坤, 郑旭, 韩笑, 冷赫, 2013. 草地螟对合成植物挥发物的活性反应. 中国糖料, 2013(3): 44–46.]
- Hao JN, 2018. Morphological and volatiles of spring rape resistance to *Phyllotreta humilis* weise in Inner Mongolia. Master dissertation. Inner Mongolia: Inner Mongolia Agricultural University. [郝江宁, 2018. 内蒙古地区春油菜抗黄宽条跳甲叶片形态学和挥发物研究 硕士学位论文. 内蒙古: 内蒙古农业大学.]
- Hatanaka A, 1993. The biogenesis of green odour by green leaves. *Phytochemistry*, 34(5): 1201–1218.
- Huang DH, Zhang ZG, Chen GP, Li HH, Shi FC, 2015. Analysis of the components of floral scent in *Glochidion puberum* using gas chromatography-mass spectrometry with dynamic headspace adsorption. *Chinese Journal of Chromatography*, 33(3): 318–322. [黄代红, 张振国, 陈国平, 李后魂, 石福臣, 2015. 应用动态顶空吸附-气相色谱-质谱法分析算盘子花气味的化学成分. 色谱, 33(3): 318–322.]
- Li JC, Li YY, Zhang ZL, Guo J, Wang H, Zhang YW, 2018. Effects of different cultivation measures and pesticides on rapeseed growth and control efficacy rapeseed stem weevil. *Plant Protection*, 44(6): 214–218. [李建厂, 李永红, 张振兰, 郭娟, 王灏, 张耀文, 2018. 不同栽培措施和药剂对油菜茎象甲防治效果及对油菜的影响. 植物保护, 44(6): 214–218.]
- Li YY, Li JC, Ren JR, Tian JH, Li DR, Kong X, 2009. Fluctuation and control strategy of rape seed stem weevil in northwestern China. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 31(4): 509–512. [李永红, 李建厂, 任军荣, 田建华, 李殿荣, 孔新, 2009. 中国西北地区油菜茎象甲的消长与防治策略. 中国油料作物学报, 31(4): 509–512.]
- Peñuelas J, Llusià J, 2003. BVOCs: Plant defense against climate warming? *Trends in Plant Science*, 8(3): 105–109.
- Pivnick KA, Jarvis BJ, Slater GP, 1994. Identification of olfactory cues used in host-plant finding by diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Chemical Ecology*, 20(7): 1407–1427.
- Van Den Boom CEM, Van Beek TA, Posthumus MA, De Groot A, Dicke M, 2004. Qualitative and quantitative variation among volatile profiles induced by *Tetranychus urticae* feeding on plants from various families. *Journal of Chemical Ecology*, 30(1): 1–12.

- 69–89.
- Wang M, Cui XN, Sun KK, Liu DG, 2018. Effects of different inducing conditions on volatiles released from *Malus sieversii* trees. *Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition)*, 46(6): 48–58. [王明, 崔晓宁, 孙可可, 刘德广, 2018. 诱导条件对新疆野苹果树挥发物释放的影响. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 46(6): 48–58.]
- Wang XH, Jin YX, Wang YH, Zhong YN, Li LK, Chen FJ, 2022. Responses of brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål) to specific rice plant volatile organic compounds (VOCs). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 59(1): 50–57. [王晓辉, 金奕轩, 王艳辉, 钟燕妮, 李立坤, 陈法军, 2022. 褐飞虱对水稻特异性挥发物的行为反应. 应用昆虫学报, 59(1): 50–57.]
- Yan XF, Liu YH, Li G, He Y, Liu XY, Liu L, 2016. EAG and olfactory behavioral responses of *Asias halodendri* to six volatiles from Chinese Jujube tree. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 32(36): 177–181. [阎雄飞, 刘永华, 李刚, 贺英, 刘晓英, 刘列, 2016. 红缘天牛对枣树 6 种挥发物 EAG 和嗅觉行为反应. 中国农学通报, 32(36): 177–181.]
- Yu H, Feng JM, Zhang QW, Xu HJ, 2015. (Z)-3-hexenyl acetate and 1-undecanol increase male attraction to sex pheromone trap in *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae). *International Journal of Pest Management*, 61(1): 30–35.
- Zhang H, Li HL, Wang DF, Wu GY, Wang QS, 2022. Effects of *Artemisia argyi* volatiles on the behavior of the tea green leafhopper (*Empoasca onukii*) in tea plantations. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 59(4): 773–784. [张辉, 李慧玲, 王定锋, 吴光远, 王庆森, 2022. 茶园杂草艾蒿挥发物对茶小绿叶蝉行为的影响. 应用昆虫学报, 59(4): 773–784.]
- Zhao ZP, Ji BZ, Liu SW, Wang LP, Xu ZX, 2015. Selective preferences of *Placusa pinearum* to volatiles of pine shoot. *Journal of Environmental Entomology*, 37(5): 1018–1023. [赵正萍, 嵇保中, 刘曙雯, 王丽平, 许忠祥, 2015. 松梢隐翅虫对松梢挥发物的选择. 环境昆虫学报, 37(5): 1018–1023.]