

大斑芜菁浸提物及其主要成分 对红火蚁的引诱作用*

钟家美^{1,2**} 徐金柱¹ 凌斯全¹ 严政³ 秦长生¹
夏斌² 洪紫琼¹ 林梓楹^{1,4} 邱华龙^{1***}

(1. 广东省林业科学研究院, 广东省森林培育与保护利用重点实验室, 广州 510520; 2. 南昌大学, 生命科学院, 南昌 330031;
3. 兰州大学生态学院, 兰州 730000; 4. 华南农业大学植物保护学院, 广州 510630)

摘要 【目的】分析大斑芜菁 *Mylabris phalerata* 浸提物的主要成分, 并测定其对红火蚁 *Solenopsis invicta* 的引诱活性, 旨在为红火蚁的高效监测和防治提供可靠的物质基础。【方法】使用气相色谱-质谱联用仪 (Gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 对大斑芜菁的正己烷浸提物进行成分分析, 并利用气相-触角电生理联用仪 (Gas chromatography-electroantennographic detection, GC-EAD) 和运动轨迹追踪系统 (Ethovision XT) 分别测定红火蚁对浸提物及 6 种主要成分的触角电生理反应与行为反应。【结果】在大斑芜菁浸提物中共检测出 13 种化合物, 其中相对含量最高的成分为 (E)-9-十八碳烯酸 (49.76% ± 1.04%), 单头含量为 (1.66 ± 0.40) mg。GC-EAD 结果表明乙酸薄荷酯、Isomenthyl acetate、斑蝥素、正十六酸、(E)-9-十八碳烯酸和油酸乙酯 6 种成分能引起红火蚁的触角电生理反应。行为试验表明, (E)-9-十八碳烯酸和油酸乙酯对红火蚁工蚁、有翅雌蚁及有翅雄蚁均具有显著的引诱作用 ($P < 0.05$), 而乙酸薄荷酯对这 3 种品级红火蚁均具有一定的驱避作用。【结论】(E)-9-十八碳烯酸和油酸乙酯是大斑芜菁浸提物中对红火蚁表现出引诱作用的主要功能成分, 具有开发成红火蚁引诱剂的潜力。

关键词 红火蚁; 大斑芜菁; GC-MS; EAD; 引诱作用

Relative attractiveness of the major components of *Mylabris phalerata* extract to *Solenopsis invicta*

ZHONG Jia-Mei^{1,2**} XU Jin-Zhu¹ LING Si-Quan¹ YAN Zheng³ QIN Chang-Sheng¹
XIA Bin² HONG Zi-Qiong¹ LIN Zi-Yun^{1,4} QIU Hua-Long^{1***}

(1. Guangdong Provincial Key Laboratory of Silviculture, Protection and Utilization, Guangdong Academy of Forestry, Guangzhou 510520, China; 2. College of Life Science, Nanchang University, Nanchang 330031, China;
3. College of Ecology, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 4. College of Plant Protection, South China Agricultural University, Guangzhou 510630, China)

Abstract 【Aim】 To determine the attractiveness of the major components of *Mylabris phalerata* extracts to *Solenopsis invicta* with the aim of finding an effective lure to improve the monitoring and control of this pest. 【Methods】 The composition of *M. phalerata* hexane extracts was determined using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The antennal electrophysiological responses of *S. invicta* to *M. phalerata* extracts, and six major components of these, were determined using gas chromatography-electroantennographic detection (GC-EAD) and the behavioral responses of workers, females, and male alates to these compounds were determined using an animal trajectory tracking system (Ethovision XT). 【Results】 Thirteen compounds were identified in the extracts. The most abundant was 9-octadecenoic acid, (E)-, which comprised 49.76% ± 1.04% of the total and had an individual content of (1.66 ± 0.4) mg. GC-EAD results indicate that six compounds, namely menthyl acetate, isomenthyl acetate, cantharidin, palmitic acid, 9-octadecenoic acid, (E)-, and ethyl oleate,

*资助项目 Supported projects: 广东省林业科技创新项目 (2023KJCX030); 广东省重点研发计划 (2022B1111030002); 广州市科技计划 (2023A04J0838)

**第一作者 First author, E-mail: 467519137@qq.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: qiuhaulong2008@163.com

收稿日期 Received: 2024-02-26; 接受日期 Accepted: 2024-04-27

elicited EAD responses. The behavioral experiments indicate that *M. phalerata* extract, 9-octadecenoic acid, (E)-, and ethyl oleate were significantly more attractive to *S. invicta* workers ($P < 0.05$), females, and male alates than the control substance. In contrast, menthyl acetate was repellent to workers, females, and male alates. **【Conclusion】** 9-octadecenoic acid, (E)- and ethyl oleate are major components of *M. phalerata* extracts that are attractive to *S. invicta*. Consequently, there is potential to use these compounds as attractants to monitor and control this pest.

Key words *Solenopsis invicta*; *Mylabris phalerata*; GC-MS; EAD; attractant effect

红火蚁 *Solenopsis invicta* 是一种重大外来入侵的社会性昆虫, 截至 2023 年 6 月底, 已扩散到我国大陆 12 个省(直辖市、自治区), 625 个县(区)(农业农村部办公厅, 2023)。红火蚁以极强的攻击性、繁殖力和环境适应性, 可在多种类型生境区域筑巢并造成破坏性影响, 对我国农林生产、人畜安全、电力基础设施和生态环境都造成了严重危害(Ascunce *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2020; Siddiqui *et al.*, 2021)。及时监测和防治是红火蚁害虫管理的关键环节, 对于遏制红火蚁的进一步蔓延至关重要。目前, 红火蚁的监测主要利用火腿肠等食物作为监测剂, 但该监测方法存在诸多局限, 例如气味短效性、环境敏感性以及对其他动物的潜在吸引(陈利民等, 2019)。红火蚁化学防治使用的药剂主要是低毒饵剂和触杀型杀虫剂, 频繁使用易引发环境污染和本地蚂蚁多样性降低等问题(刘杰等, 2015; 于鑫等, 2015)。因此, 亟待开发针对红火蚁精准监测和绿色防控的相关药剂。

昆虫源天然化合物因其种类多样性和功能独特性, 不仅是昆虫发挥化学防御和化学通讯等生态功能的物质基础, 也为开发新型天然药剂提供了宝贵资源(Hussain *et al.*, 2018; Xu and Chen, 2021)。瓢虫、粉蚧和蜡象等昆虫产生的化学防御物质和体表碳氢化合物对红火蚁的生物活性已有广泛报道(Xu and Chen, 2021; Zhou *et al.*, 2022; Zhong *et al.*, 2024)。例如, 粉斑瓢虫 *Coleomegilla maculata* 分泌释放的生物碱成分可引起红火蚁显著的 EAG 反应(Zhou *et al.*, 2022), *Coleomegilla maculata* 和 *Scymnus creperus* 两种瓢虫的幼虫体表挥发物能显著降低红火蚁的攻击性(Riddick *et al.*, 2023)。扶桑绵粉蚧 *Phenacoccus solenopsis* 的体表碳氢化合物及其蜜露对红火蚁具有引诱活性(关子盈等,

2022)。

芫菁科 Meloidae 昆虫以其典型的化学防御行为著称, 虫体具有特殊气味, 遭受威胁时可反射性出血。芫菁产生的化学物质在自身摄食和防御过程中起着关键作用, 如诱捕猎物、驱避和毒杀捕食者和竞争者(Hashimoto and Hayashi, 2014; Molfini *et al.*, 2022)。已有许多研究表明芫菁源化合物具有广泛的生物活性, 如斑蝥素对峨眉裸蠓 *Atrichopogon emeiensis* 和黄足尼氏蚁 *Nylanderia flavipes* 等多种昆虫具有显著诱集作用(Molfini *et al.*, 2022); *Epicauta brunnea* 释放的防御液可有效驱避西方收获蚁 *Pogonomyrmex occidentalis*(Carrel and Eisner, 1974); 绿芫菁 *Lytta caraganae* 对鸟类具有明显的拒食作用(Yosef *et al.*, 1996)。此外, 芫菁源化合物还展现出抗病毒、抑菌、抗寄生虫和杀虫等生物活性(Zeng *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2019; Díaz-Navarro *et al.*, 2021; Sabira *et al.*, 2022)。这些研究均表明芫菁源化合物具有开发成为害虫天然防控药剂的巨大潜力。前期观察发现, 在使用大斑芫菁饲喂红火蚁的过程中, 出现反射性出血的芫菁个体诱集了更多红火蚁工蚁取食。目前, 大斑芫菁提取液和挥发物的化学成分分析均有研究, 但关于这些化合物对红火蚁的生物活性尚未有报道。因此, 本研究拟测定大斑芫菁浸提物的主要成分, 并评估浸提物及其主要成分对红火蚁触角电生理活性和行为活性, 以期筛选到对红火蚁具有行为活性的化合物, 为开发红火蚁绿色防治的新型药剂提供理论基础和物质资源。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试昆虫: 大斑芫菁成虫采集于广东省韶关

市广东南岭国家级自然保护区周边 (24°58'35" N, 113°07'46" E) 的绿化带蓝花草 *Ruellia simplex* 植株上, 采集到的试虫置于养虫笼 (长度×宽度×高度=40 cm×40 cm×40 cm) 中, 笼内放入新鲜蓝花草花朵以及蘸有 10% 蜂蜜水的棉花球供其取食。红火蚁采集于广东省天河区广东省林业科学研究院苗圃周边 (23°11'50" N, 113°22'52" E), 红火蚁的采集和饲养参考吕利华等 (2006) 和 Qiu 等 (2020) 方法, 采集到的红火蚁转至内壁涂有聚四氟乙烯的塑料盒 (长度×宽度×高度=60 cm×40 cm×15 cm) 中, 盒内放入人工石膏蚁巢、水试管、含 10% 蜂蜜水的棉花球和黄粉虫 *Tenebrio molitor* 用于饲养。以上昆虫均于温度 (25±1) °C, 相对湿度约 50%, 光周期 12 L: 12 D 的环境中饲养。用于活性测试的红火蚁为大型工蚁 (头宽 1.3-1.5 mm)、有翅雌蚁和有翅雄蚁。

主要试剂: 乙酸薄荷酯 (>98%)、正十六酸 (>90%) 和油酸乙酯 (>90%), 上海麦克林生化科技有限公司; Isomenthyl acetate (>99%)、斑蝥素 (>90%) 和 (*E*)-9-十八碳烯酸 (>99%), 上海源叶生物科技有限公司; 正己烷 (色谱纯), 天津福晨化学试剂有限公司; C7-C40 正构烷烃混合标准品 (1 mg/mL, 正己烷配制), 坛墨质检科技股份有限公司; 导电胶, 美敦力 Signa gel, 美国 Parker laboratories。

主要设备: 气相色谱-质谱联用仪 (8890-5977B GC-MS, 美国 Agilent); 气相色谱-触角电生理仪 (GC-EAD, 荷兰 Syntech); 动物运动轨迹追踪系统 (EthoVision XT 11.5, 荷兰 Noldus)。

1.2 试验方法

1.2.1 大斑芫菁浸提物的样品制备与 GC-MS 分析 使用溶剂浸提法提取大斑芫菁成虫的化学成分, 首先利用锐利的镊子对成虫进行适度刺激, 待其腿部关节发生反射性出血后, 立即转至装有 5 mL 正己烷溶剂的 10 mL 样品瓶中。采用 5 头成虫进行浸提, 时间为 5 min, 所得溶液通过管颈堵塞玻璃棉及装有 1.5 g 无水硫酸钠的 13 cm 巴斯德漏斗进行过滤和去水处理 (Yu *et al.*,

2014)。过滤后的浸提物利用氮气吹扫浓缩至 1 mL, 并放至 -20 °C 冰箱保存备用。重复 3 次。

利用 GC-MS 对大斑芫菁浸提物进行化学成分分析。色谱柱为 HP-5 ms 毛细管色谱柱 (长度×直径×内壁厚度=30.00 m×0.25 mm×0.25 μm)。载气为高纯氮气, 流速为 1 mL/min, 不分流。前进样口、柱箱、离子源、四极杆和柱接口温度分别为 250、50、230、150 和 280 °C。升温程序: 初始温度 50 °C, 以 10 °C/min 升温至 200 °C (保持 2 min), 再以 15 °C/min 升温至 280 °C (保持 2 min)。手动进样, 进样量为 1 μL, 重复 3 次, 溶剂延迟 3 min。

在相同的仪器条件下对 C₇-C₄₀ 正构烷烃混合标准品进行分析, 以其保留时间来计算浸提物样品中各色谱峰的保留指数 (Retention index, RI)。利用 Agilent MassHunter Qualitative Analysis 10.0 软件将各色谱峰的质谱图与 NIST17 谱库进行比对, 对各成分进行初步鉴定。通过对照文献和购买标准品验证鉴定结果。采用峰面积归一化法确定样品中各组分的相对含量。

使用外标法对浸提物成分进行单头定量分析。6 种标准品化合物, 即乙酸薄荷酯、Isomenthyl acetate、斑蝥素、正十六酸、(*E*)-9-十八碳烯酸和油酸乙酯, 均配制了 5 个浓度梯度的标准溶液: 0.05、0.10、0.25、0.50 和 1.00 mg/mL, 分析方法同上。建立峰面积 (*Y*) 和浓度 (*X*) 之间的标准曲线, 计算出大斑芫菁浸提物中各目标化合物的含量, 并将其除以所用成虫头数 (5 头) 得到单头成虫的化合物含量。

1.2.2 大斑芫菁浸提物及其有效成分对红火蚁的触角电位活性测定 采用 GC-EAD 测定红火蚁对大斑芫菁浸提物的触角电生理反应, 具体方法参照文献 (程建军等, 2016; Du *et al.*, 2021), 并做适当改进。在体视镜下将红火蚁的触角沿基部剪下, 用刀片将触角末一节尖端切除 (约 0.3-0.5 mm), 将其横搭在两端的电极上并用导电胶粘牢, 电极接入触角电生理仪。气相色谱 GC 型号为 Agilent 7890B, 色谱柱为 HP-5 ms 毛细管色谱柱 (长×直径×内壁厚度=30.00 m×0.25 mm×0.25 μm), 载气为高纯氮气, 进样口与检测器温

度分别为 250 和 320 °C, 升温程序与 GC-MS 程序相同, 分流比设置为 1 : 1。采用手动进样方式, 样品量为 1 μ L。通过 GC-EAD 2014 软件采集气相色谱和 EAD 响应值。分别测试红火蚁工蚁、有翅雌蚁和有翅雄蚁, 每种品级红火蚁均使用 6-8 根来自不同个体的触角, 每根触角重复 2-4 次。每次重复中触角对浸提物样品中的化学成分均有响应, 则视该成分为有效成分。

此外, 分别测定不同品级红火蚁对乙酸薄荷酯、Isomenthyl acetate、斑蝥素、正十六酸、(E)-9-十八碳烯酸和油酸乙酯 6 种有效成分的 GC-EAD 反应, 化合物均经正己烷稀释至浓度为 0.5 μ L/mL, 测定方法和重复设置同上。

1.2.3 大斑芫菁浸提物及其有效成分对红火蚁的行为活性测定 用动物运动轨迹跟踪系统 (Ethovision XT 11.5 软件) 跟踪记录红火蚁对大斑芫菁浸提物的行为反应, 具体方法参照文献 (Chen *et al.*, 2022; Zhong *et al.*, 2024)。在直径为 9 cm 的培养皿两侧, 距离边缘 1 cm 的位置对称放置两片直径为 2 cm 的圆形滤纸片 (图 4: A)。使用 Ethovision XT 11.5 软件捕获拍摄画面后, 将整个培养皿设置为观察区, 两个滤纸片设置为处理分析区和对照分析区, 视频模式设置为实时跟踪, 采样频率设置为 30 次/s, 检测方法选用灰度梯度法, 灰度区域范围设置为 40-255。自动设置时, 红火蚁胸部为红色, 头部和腹部为黄色视为有效个体。记录 20 min 之内红火蚁在每个区的持续时间和运动距离。轨迹可视化和热图可视化的所有配置均默认为配置 1。将 1 头红火蚁放入培养皿内, 适应环境 5 min, 随后在处理滤纸片上滴加 2 μ L 待测溶液, 对照滴加 2 μ L 正己烷。分别测定工蚁、有翅雌蚁和有翅雄蚁对大斑芫菁浸提物样品及 6 种标准化合物 (乙酸薄荷酯、Isomenthyl acetate、斑蝥素、(E)-9-十八碳烯酸、正十六酸和油酸乙酯) 的行为反应, 以上化合物均使用正己烷稀释至浓度为 1 mg/mL。每种品级红火蚁测试 10 头有效个体。

使用双向选择测定装置测定 (E)-9-十八碳烯酸和油酸乙酯对红火蚁的引诱作用并与火腿肠进行比较, 方法参照文献 Du 等 (2021)。使

用热熔胶将 4 个 20 mL 样品瓶对称安装在一个内壁涂有聚四氟乙烯圆形塑料盆 (直径 $\times$ 高 = 30 cm $\times$ 5 cm) 底部。选择两个对称的样品瓶作为生测瓶, 在瓶盖中心及塑料盘底部钻一个 2 mm 小孔, 用于气味释放。瓶盖内粘有一片圆形纱网 (目数 = 60, 孔径 = 267 μ m, 丝径 = 150 μ m) 避免红火蚁进入小瓶, 另外两个小瓶仅用于支撑。塑料盆小孔上分别扣放一个具有两个侧边缺口的涂黑培养皿 (35 mm)。设置的各处理组包括 (E)-9-十八碳烯酸: 空白对照; 油酸乙酯: 空白对照; 火腿肠: 空白对照, 其中 (E)-9-十八碳烯酸和油酸乙酯为 1 mg, 火腿肠为 1 g; (E)-9-十八碳烯酸: 火腿肠; 油酸乙酯: 油酸乙酯, 其中两种化合物分别设置 1、10 和 100 mg 3 个梯度, 火腿肠为 1 g。将各处理组放入生测瓶后, 分别对红火蚁工蚁、有翅雌性和有翅雄蚁进行测试, 24 h 后记录每个培养皿中的红火蚁数量, 每处理 6 个重复, 每重复使用了 30 头红火蚁。

1.3 数据处理

使用 SPSS statistics 26 软件对试验数据进行整理和统计分析, 使用 Origin 2022 软件绘制图表, 使用 Ethovision XT 11.5 软件生成红火蚁的行为轨迹图和热图。用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 对 6 种化合物对红火蚁的触角电位响应值进行分析, 并采用邓肯氏 (Duncan's) 新复极差法对不同化合物和不同品级红火蚁之间的触角电位响应值差异进行多重比较。采用成对样本 *t* 检验分析行为试验中红火蚁在不同分析区中的停留时间和运动距离的差异, 及分析两种引诱活性成分和火腿肠处理对红火蚁引诱数量的差异。统计分析中, $P < 0.05$ 或 0.01 表示差异显著水平或极显著水平。

2 结果与分析

2.1 大斑芫菁浸提物的化学成分与含量分析

经 GC-MS 分析, 大斑芫菁浸提物中共有 13 种化学成分 (图 1)。通过 NIST17 谱库和标准品比对等方法, 鉴定了其中 11 种化合物 (表 1),

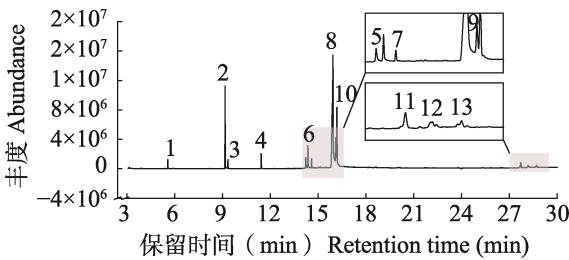


图 1 大斑芫菁浸提物 GC-MS 总离子流色谱图
Fig. 1 GC-MS total ion flow chromatogram of *Mylabris phalerata* extracts

色谱图峰上的数字为成分编号，对应表 1 的编号。

The numbers on the peaks of the chromatogram are the component numbers, corresponding to the numbers in Table 1.

其中含量较高的几种主要化合物包括 (*E*)-9-十八碳烯酸 ($49.76\% \pm 1.04\%$), 单头含量达到 (1.66 ± 0.4) mg; 油酸乙酯和乙酸薄荷酯的相对含量分别为 ($9.23\% \pm 4.24\%$) 和 ($8.09\% \pm 0.21\%$), 单头含量分别为 (0.48 ± 0.12) mg 和 (0.19 ± 0.05) mg。斑蝥素相对含量较低, 仅为 ($0.83\% \pm 0.03\%$), 单头含量为 (0.16 ± 0.05) mg。

2.2 大斑芫菁浸提物及其主要成分对红火蚁触角电生理活性的影响

从图 2 可知, 红火蚁工蚁、有翅雌蚁和有翅

表 1 大斑芫菁浸提物的化合物成分及含量

Table 1 Table of chemical compositions and contents of *Mylabris phalerata* extracts

编号 No.	保留时间 (min) Retention time (min)	化合物 Compounds	保留指数 Retention index	鉴定方式 Identification method	相对含量± 标准误 (%) Relative percentage ± SE (%)	单头含量± 标准误 (mg) Individual content ± SE (mg)
1	5.57	蒿酮 Artemisia ketone	965	谱库 Mass spectral library	1.01 ± 0.11	—
2	9.16	乙酸薄荷酯 Menthyl acetate	1 301	标准品 Standard chemical	8.09 ± 0.21	0.19 ± 0.05
3	9.34	Isomenthyl acetate	1 320	标准品 Standard chemical	1.84 ± 0.05	0.07 ± 0.01
4	11.42	斑蝥素 Cantharidin	1 562	谱库 Mass spectral library	0.83 ± 0.03	0.16 ± 0.05
5	14.22	Z-11-十六碳烯酸 11-Hexadecenoic acid, Z-	1 942	谱库 Mass spectral library	1.79 ± 0.08	—
6	14.35	正十六酸 Palmitic acid	1 961	标准品 Standard chemical	2.71 ± 0.08	0.14 ± 0.03
7	14.59	十六酸乙酯 Ethyl palmitate	1 995	谱库 Mass spectral library	0.94 ± 0.03	—
8	15.93	(<i>E</i>)-9-十八碳烯酸 9-Octadecenoic acid, (<i>E</i>)-	2 146	标准品 Standard chemical	49.76 ± 1.04	1.66 ± 0.42
9	16.12	十八酸 Stearic acid	2 164	谱库 Mass spectral library	5.39 ± 1.90	—
10	16.18	油酸乙酯 Ethyl oleate	2 171	标准品 Standard chemical	9.23 ± 4.24	0.48 ± 0.11
11	27.71	二十九烷 Nonacosane	2 900	标准品 Standard chemical	1.67 ± 0.12	—
12	28.19	未鉴定 Not identified	2 935	—	0.80 ± 0.50	—
13	28.71	未鉴定 Not identified	2 973	—	0.77 ± 0.33	—

用于比对的谱库是美国国家标准与技术研究院 (National Institute of Standards and Technology, NIST) 出版的大型商用质谱数据库 NIST17。

The spectral library used for the comparison is NIST17, a large commercial mass spectral database published by the National Institute of Standards and Technology (NIST).

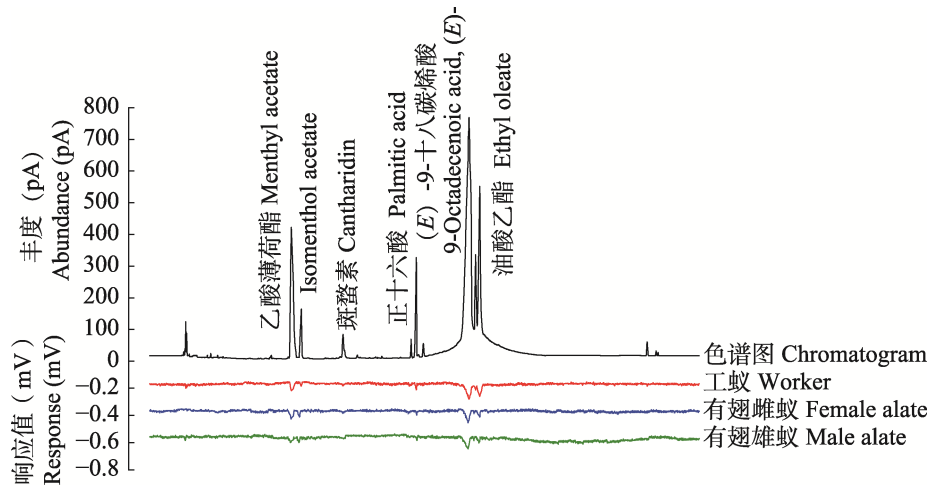


图 2 不同品级红火蚁 (工蚁、有翅雌蚁和有翅雄蚁) 对大斑芜菁浸提物的 GC-EAD 反应

Fig. 2 GC-EAD responses of different castes *Solenopsis invicta* (workers, female and male alates) to *Mylabris phalerata* extracts

雄蚁均对乙酸薄荷酯、Isomenthyl acetate、斑蝥素、正十六酸、(E)-9-十八碳烯酸和油酸乙酯有明显的触角电位反应。其中,红火蚁工蚁对(E)-9-十八碳烯酸的反应最强[(0.112 ± 0.009) mV], 其次为油酸乙酯[(0.095 ± 0.012) mV]和乙酸薄荷酯[(0.078 ± 0.006) mV]。红火蚁有翅雌蚁和有翅雄蚁对(E)-9-十八碳烯酸的响应值分别为(0.105 ± 0.008) mV 和(0.102 ± 0.011) mV, 对油酸乙酯的响应值分别为(0.088 ± 0.008) mV 和(0.082 ± 0.007) mV。

红火蚁不同品级对 6 种有效成分标准品的触角电位反应如图 3。工蚁对乙酯薄荷酯的响应值最强[(0.089 ± 0.002) mV], 其次是 Isomenthyl acetate [(0.087 ± 0.002) mV], 对正十六酸的响应值最小, 仅为(0.045 ± 0.004) mV。不同品级红火蚁对同一种化合物的触角电位响应值存在显著差异, 如乙酯薄荷酯引起工蚁、有翅雌蚁和有翅雄蚁的响应值分别为(0.089 ± 0.002)、(0.082 ± 0.002) 和(0.080 ± 0.001) mV ($F_{(2,47)} = 9.547, P = 0.043$)。同一品级红火蚁如有翅雄蚁对相同浓度的 6 种化合物标准品的触角反应大小也存在显著差异($F_{(5,102)} = 112.254, P < 0.001$)。

2.3 大斑芜菁浸提物和 6 种主要成分对红火蚁行为轨迹的影响

红火蚁个体在不同处理滤纸片上停留时间

的统计分析结果表明,大斑芜菁浸提物对红火蚁工蚁具有显著引诱作用($t = 3.121, P = 0.042$)。有翅雌蚁对大斑芜菁浸提物处理区的平均停留时间显著高于对照区($t = 2.334, P = 0.044$)。对于有效成分,(E)-9-十八碳烯酸对 3 种品级红火蚁表现出显著引诱作用(工蚁: $t = 2.616, P = 0.028$; 有翅雌蚁: $t = 2.681, P = 0.025$; 有翅雄蚁: $t = 2.763, P = 0.022$)。油酸乙酯对工蚁和有翅雄蚁表现出显著引诱活性(工蚁: $t = 2.360, P = 0.043$; 有翅雄蚁: $t = 2.984, P = 0.017$)(图 4: C), 但乙酸薄荷酯均表现出驱避作用(工蚁: $t = -2.584, P = 0.030$; 有翅雄蚁: $t = -2.475, P = 0.035$)。斑蝥素仅对有翅雄蚁表现出驱避作用($t = -2.789, P = 0.021$)。轨迹图及热图结果与上述统计结果高度一致, 如油酸乙酯处理后, 工蚁的运动轨迹密集区域和高热区域均集中在处理区(图 4: B)。

红火蚁在不同分析区运动距离的统计分析结果与停留时间的结果高度类似(图 4: D)。有翅雌蚁和有翅雄蚁在大斑芜菁浸提物处理区域的运动距离显著高于对照(有翅雌蚁: $t = 2.812, P = 0.021$; 有翅雄蚁: $t = 2.821, P = 0.02$)。工蚁和有翅雄蚁在油酸乙酯的运动距离显著高于对照(工蚁: $t = 3.098, P = 0.013$; 有翅雄蚁: $t = 2.406, P = 0.039$)。3 种品级红火蚁在乙酸薄荷酯处理区域的运动距离均显著小于对照(工

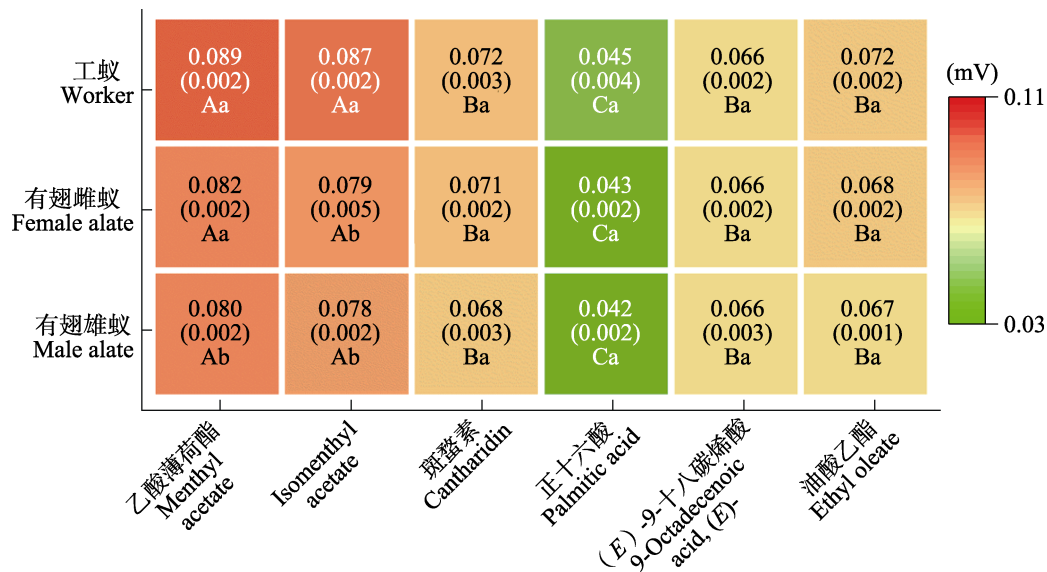


图3 不同品级红火蚁（工蚁、有翅雌蚁和有翅雄蚁）对大斑芫菁浸提物6种成分标准品的GC-EAD反应
Fig. 3 GC-EAD responses of different castes *Solenopsis invicta* (workers, female and male alates) to six standard substances of *Mylabris phalerata* extracts

图中数据为平均值±标准误。图中同一行大写字母表示不同品级红火蚁对同一成分的响应值差异显著 ($P < 0.05$, 邓肯氏新复极差法), 同列不同小写字母表示同一品级红火蚁对不同成分的响应值差异显著 ($P < 0.05$, 邓肯氏新复极差法)。

The data in the figure are mean $\pm$ SE. The capital letters in the figure in the same row indicate significant difference in the responses of *S. invicta* from different castes to the same component ($P < 0.05$, Duncan's new multiple range test), and the lowercase letters in the same column indicate significant difference in the responses of *S. invicta* from the same caste to different components ($P < 0.05$, Duncan's new multiple range test).

蚁: $t = -3.063$, $P = 0.014$; 有翅雌蚁: $t = -2.182$, $P = 0.011$; 有翅雄蚁: $t = -3.388$, $P = 0.005$ 。

2.4 (E)-9-十八碳烯酸和油酸乙酯对红火蚁的双向选择行为的影响

供试火腿肠显著吸引3种品级红火蚁（工蚁: $t = 4.84$, $P = 0.005$; 有翅雌蚁: $t = 4.258$, $P = 0.008$; 有翅雄蚁: $t = 2.892$, $P = 0.034$ ）。（E）-9-十八碳烯酸和油酸乙酯均对红火蚁工蚁和有翅雌蚁具有显著引诱作用[（E）-9-十八碳烯酸: 工蚁: $t = 3.965$, $P = 0.011$; 有翅雌蚁: $t = 3.209$, $P = 0.024$; 油酸乙酯: 工蚁: $t = 6.128$, $P = 0.002$; 有翅雌蚁: $t = 3.636$, $P = 0.015$]，油酸乙酯对有翅雄蚁具有显著引诱作用（ $t = 2.568$, $P = 0.048$ ）（图5: A）。

比较不同含量的引诱活性成分标准品与火腿肠对红火蚁的引诱力, 结果表明, 1 mg (E)-9-十八碳烯酸和油酸乙酯对3种品级红火蚁的引诱性均低于对照（1 g 火腿肠）。10 和 100 mg 油

酸乙酯对工蚁的引诱性显著高于对照（10 mg: $t = 1.856$, $P = 0.048$; 100 mg: $t = 3.139$, $P = 0.026$ ）（图5: B）。100 mg 油酸乙酯和（E）-9-十八碳烯酸对有翅雌蚁的引诱性也显著高于对照[油酸乙酯: $t = 2.033$, $P = 0.045$; （E）-9-十八碳烯酸: $t = 2.744$, $P = 0.041$]（图5: B），但对有翅雄蚁的引诱性无显著差异[油酸乙酯: $t = 0.224$, $P = 0.867$; （E）-9-十八碳烯酸: $t = 0.103$, $P = 0.922$]（图5: B）。

3 讨论

昆虫源天然化合物是生物农药和医药研究领域中的宝贵资源（El-Wahed *et al.*, 2021）。芫菁科昆虫因其分泌的防御物质具有引诱、驱避、毒性、抗微生物和抗寄生虫等生物活性（Zeng *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2019; Díaz-Navarro *et al.*, 2021; Sabira *et al.*, 2022），是研究昆虫源活性化合物的理想材料。本研究首次对广东本地的大

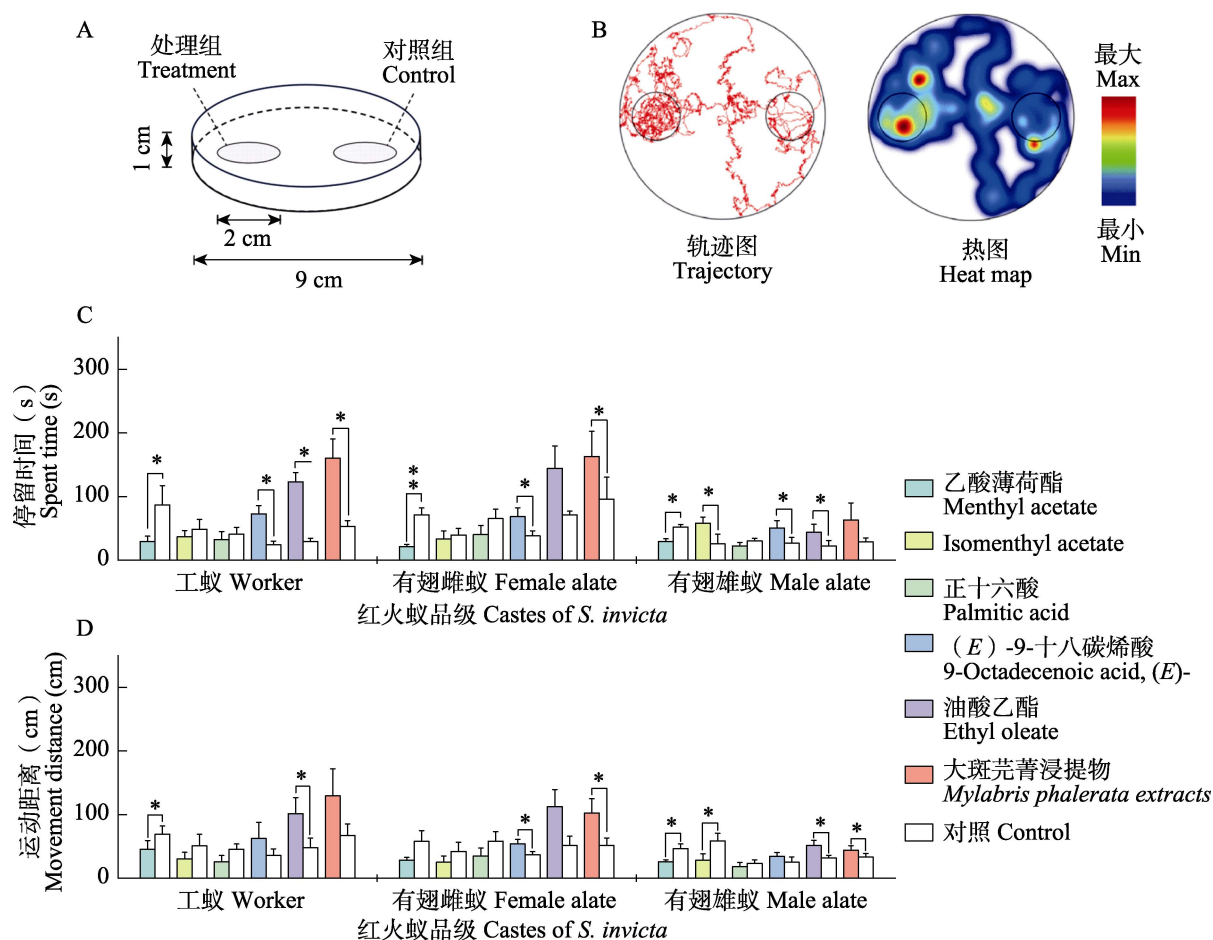


图4 不同品级红火蚁(工蚁、有翅雌蚁和有翅雄蚁)对大斑芫菁浸提物及其6种成分的行为反应

Fig. 4 Behavioral responses of different castes *Solenopsis invicta* (workers, female and male alates) to *Mylabris phalerata* extracts and six major components

A. 运动轨迹测定装置; B. 工蚁对大斑芫菁浸提物行为反应的轨迹图(左)和热图(右); C. 红火蚁在两个分析区内的停留时间对比; D. 红火蚁在两个分析区内的运动距离对比。对照为正己烷溶剂。图中数据为平均值+标准误。

星号表示红火蚁在处理组和对照组区域的停留时间或运动距离差异显著(* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, t 检验)。

A. The trajectory measurement device; B. The trajectory and thermogram of the behavioral response of *S. invicta* worker ants to *M. phalerata* extracts generated by Ethovision XT 11.5 software; C. The comparison of spent time of *S. invicta* within the two analyzed regions; D. The comparison of movement distance of *S. invicta* within the two analyzed regions.

The control was hexane solvent. The data are mean + SE. Asterisks indicate significant difference in spent time or movement distance for *S. invicta* in the treatment and control group (*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$, t -test).

斑芫菁浸提物进行成分鉴定和定量分析,共获得13种化学成分,主要成分和其它已报道的斑芫菁属 *Mylabris* 物种具有一定相似性,如长链烯酸类、乙醇酯类和斑蝥素等物质。这些化合物的普遍存在不仅表明斑芫菁属昆虫在化学防御机制上具有共同特征,也反映了它们在长期进化过程中形成的共同防御策略。然而,次要成分随种类、食性和地理分布等因素的不同而存在一定差异,例如大斑芫菁和眼斑芫菁 *M. cichorii* 提取物的

次要成分在种类和含量上有所区别(李晓飞等, 2012a, 2012b)。此外,贵州、云南、海南和广西等地的大斑芫菁提取物中乙醇酯类化合物的种类具有差异(李晓飞等, 2012a)。这种差异性进一步表明昆虫化学防御策略的复杂性和多样性,以及它们在不同环境压力下的适应性变化。

许多昆虫可被芫菁科昆虫个体吸引,斑蝥素对一些昆虫的引诱作用已被证实(Molfini et al., 2022)。但是,对于芫菁科昆虫体内其他

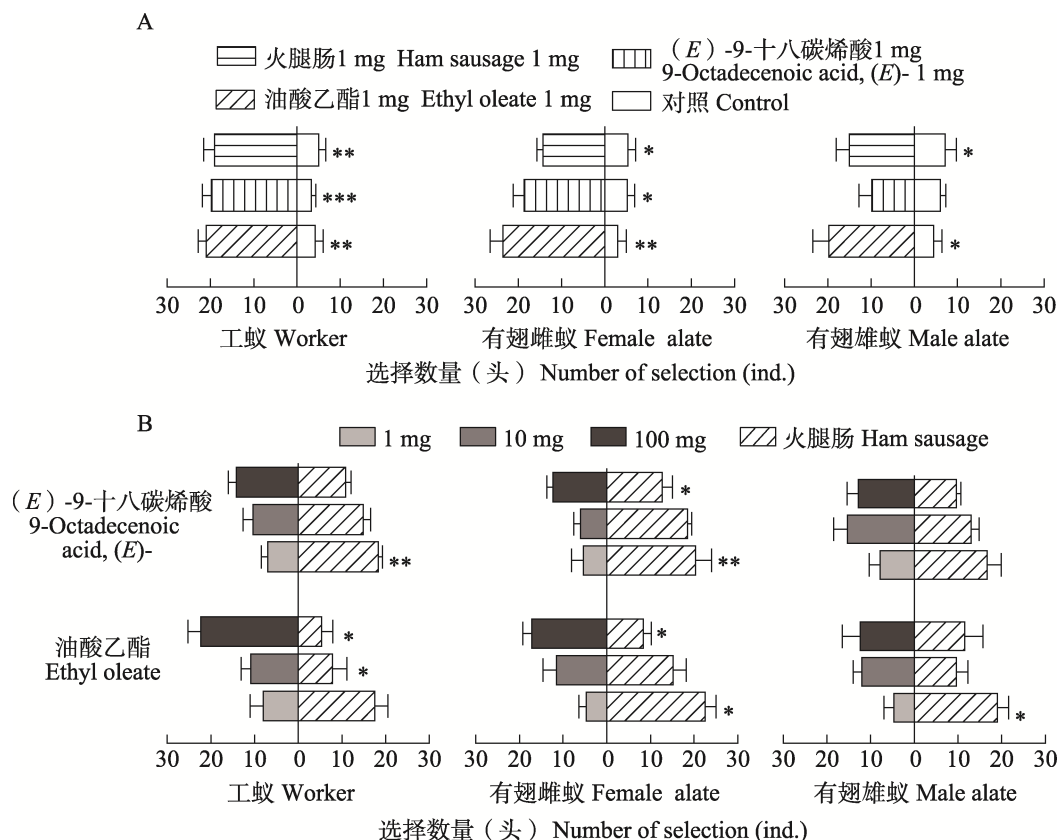


图 5 两种化合物和火腿肠对不同品级红火蚁（工蚁、有翅雌蚁和有翅雄蚁）的引诱活性
Fig. 5 Comparison of the relative attractive activities of two compounds and ham sausage on different castes *Solenopsis invicta* (workers, female and male alates)

A. 两种化合物和供试火腿肠对红火蚁的引诱性测试；B. 两种化合物和火腿肠对红火蚁的引诱活性相对强弱比较。图中数据为平均值+标准误。星号表示处理组和对照组的红火蚁选择数量存在显著差异（* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ，*** $P < 0.001$ ， t 检验）。

A. Attractant activity test of two compounds and ham sausages towards *S. invicta*; B. The comparison of the relative attractive activity of two compounds and ham sausage on *S. invicta*. The data are mean + SE. Asterisks indicate significant difference in the number of *S. invicta* selections in the treatment and control groups (*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$, t -test).

化合物是否具有相似的引诱活性仍不清楚。本研究首次报道了红火蚁对大斑芜菁浸提物具有较强趋性。在 GC-EAD 试验中，大斑芜菁浸提物中的 6 种成分引起红火蚁较强的触角电生理反应，其中 (E)-9-十八碳烯酸、油酸乙酯和乙酸薄荷酯的响应值相对更高，且与其在浸提物中的相对含量呈正相关，表明这些化合物是刺激红火蚁化学感知系统的关键物质。行为试验表明 (E)-9-十八碳烯酸和油酸乙酯是大斑芜菁浸提物对红火蚁产生引诱活性的主要功能成分。相比于两种单一化合物，大斑芜菁浸提物对红火蚁工蚁和有翅雌蚁的引诱作用更强，这可能与各成分的比例和相互作用有关。本研究中乙酸薄荷酯、

Isomenthyl acetate 和斑蝥素对红火蚁表现出一定的驱避作用，但两种化合物在浸提物中的总体含量较低，因此浸提物在整体上对红火蚁表现出引诱活性。乙酸薄荷酯和斑蝥素对其他昆虫也表现出驱避活性，如乙酸薄荷酯对埃及伊蚊 *Aedes aegypti*、长红锥蝽 *Rhodnius prolixus* 和家蝇 *Musca domestica* 等昆虫具有驱避活性 (Kumar et al., 2014; Lutz et al., 2014; Manh and Tuyet, 2020); 斑蝥素对小菜蛾 *Plutella xylostella* 和斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 等具有驱避活性 (Huang et al., 2015; Li et al., 2019)。因此，这些化合物在大斑芜菁的化学通讯和防御机制中起到重要作用，通过精确调控不同化合物的释放量和

相互作用, 不仅能够引诱猎物, 还可以驱避天敌和竞争者。这种复合的化学策略提高了大斑芫菁在不同环境和情境下的适应性和竞争力。

综上所述, 本研究筛选的 (E)-9-十八碳烯酸和油酸乙酯对红火蚁表现出较强的引诱活性, 而乙酸薄荷酯具有较强驱避活性, 这些活性化合物有望开发成为红火蚁的行为调节剂, 应用于红火蚁的监测与防控。未来的研究可以将这些化合物整合到现有的红火蚁防治策略中, 评估其在田间条件下的应用潜力和生态安全性, 为红火蚁及其它有害蚂蚁的害虫管理提供重要依据。

参考文献 (References)

- Ascunce MS, Yang CC, Oakey J, Calcaterra L, Wu WJ, Shih CJ, Goudet J, Ross KG, Shoemaker DW, 2011. Global invasion history of the fire ant *Solenopsis invicta*. *Science*, 331(6020): 1066–1068.
- Carrel JE, Eisner T, 1974. Cantharidin: Potent feeding deterrent to insects. *Science*, 183(4126): 755–757.
- Chen J, Zhou YY, Lei YY, Shi QX, Qi GJ, He YR, Lyu LH, 2022. Role of the foraging gene in worker behavioral transition in the red imported fire ant, *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). *Pest Management Science*, 78(7): 2964–2975.
- Chen LM, Huang J, He TJ, Zhang JM, Yang X, Lyu YB, Wu QC, 2019. Study on attraction effect of ham sausage baits on worker ants of red imported fire ant (*Solenopsis invicta* Buren). *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 31(3): 444–449. [陈利民, 黄俊, 何天骏, 章金明, 杨选, 吕要斌, 吴全聪, 2019. 火腿肠饵料对红火蚁引诱效果的对比研究. 浙江农业学报, 31(3): 444–449.]
- Cheng JJ, Zhu J, Liu F, 2016. EAG response of *Cnaphalocrocis medinalis* to 43 graminaceous plant volatiles. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 53(3): 472–481. [程建军, 朱均, 刘芳, 2016. 稻纵卷叶螟对 43 种禾本科植物挥发物的触角电位 (EAG) 反应. 应用昆虫学报, 53(3): 472–481.]
- Díaz-Navarro M, Bolívar P, Andrés MF, Gómez-Muñoz MT, Martínez-Díaz RA, Valcárcel F, García-París M, Bautista LM, González-Coloma A, 2021. Antiparasitic effects of potentially toxic beetles (Tenebrionidae and Meloidae) from steppe zones. *Toxins*, 13(7): 489.
- Du YZ, Zhou AM, Chen J, 2021. Olfactory and behavioral responses of red imported fire ants, *Solenopsis invicta*, to ylang ylang oil and its components. *Journal of Pest Science*, 94: 1031–1044.
- El-Wahed AA, Yosri N, Sakr HH, Du M, Algethami AFM, Zhao C, Abdelazeem AH, Tahir HE, Masry SHD, Abdel-Daim MM, Musharraf SG, El-Garawani I, Kai GY, Al Naggar Y, Khalifa SAM, El-Seedi Hesham R, 2021. Wasp venom biochemical components and their potential in biological applications and nanotechnological interventions. *Toxins (Basel)*, 13(3): 206.
- General Office of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, 2023. National List of Agricultural Plant Quarantine Pests Distribution. http://www.moa.gov.cn/nybg/b/2023/202310/202311/t20231101_6439586.htm. [农业农村部办公厅, 2023. 全国农业植物检疫性有害生物分布行政区名录. http://www.moa.gov.cn/nybg/b/2023/202310/202311/t20231101_6439586.htm.]
- Guan ZY, Shao CC, Shi QX, Chen T, Lyu LH, Chen J, Qi GJ, 2022. Recruitment effect of female adult individuals and honeydew of *Phenacoccus solenopsis* Tinsley to the workers of *Solenopsis invicta* Buren. *Journal of Environmental Entomology*, 44(6): 1486–1492. [关子盈, 邵翠翠, 石庆型, 陈婷, 吕利华, 陈洁, 齐国君, 2022. 扶桑绵粉蚧及其蜜露对红火蚁的召集作用. 环境昆虫学报, 44(6): 1486–1492.]
- Hashimoto K, Hayashi F, 2014. Cantharidin world in nature: A concealed arthropod assemblage with interactions via the terpenoid cantharidin. *Entomological Science*, 17(4): 388–395.
- Huang Z, Wang Y, Zhang Y, 2015. Lethal and sublethal effects of cantharidin on development and reproduction of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Economic Entomology*, 108(3): 1054–1064.
- Hussain MI, Qamar AS, Reigosa MJ, 2018. Activities and novel applications of secondary metabolite coumarins. *Planta Daninha*, 36: 018174040.
- Kumar P, Mishra S, Malik A, Satya S, 2014. Biocontrol potential of essential oil monoterpenes against housefly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 100: 1–6.
- Li XF, Yan R, Li Y, Lou FM, 2012a. Analysis of volatile components from *Mylabris cichorii* Linnaeus by GC-MS. *Acta Academiae Medicinae Zunyi*, 35(5): 375–378. [李晓飞, 晏容, 刘云, 娄方明, 2012a. 气质联用分析眼斑芫菁挥发性成分. 遵义医学院学报, 35(5): 375–378.]
- Li XF, Yan R, Liu Y, Hou XH, Lou FM, 2012b. Analysis on the chemical components in *Mylabris varieties* from different areas by GC-MS. *Hubei Agricultural Sciences*, 51(20): 4621–4623. [李晓飞, 晏容, 刘云, 侯晓晖, 娄方明, 2012b. 不同产地与品种斑蝥中化学成分 GC-MS 分析. 湖北农业科学, 51(20): 4621–4623.]
- Li YF, Sun H, Xi N, Zhang Y, 2019. Effects of cantharidin and norcantharidin on larval feeding and adult oviposition preferences of the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of*

- Economic Entomology*, 112(4): 1634–1637.
- Liu J, Qi GJ, Lv LH, He YR, 2015. Effects of using fipronil to control *Solenopsis invicta* Buren on ant colony diversity in a greenbelt. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 52(6): 1385–1391. [刘杰, 齐国君, 吕利华, 何余容, 2015. 氟虫腈防治红火蚁对绿地蚂蚁群落多样性的影响. 应用昆虫学报, 52(6): 1385–1391.]
- Lutz A, Sfara V, Alzogaray RA, 2014. Repellence produced by monoterpenes on *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae) decreases after continuous exposure to these compounds. *Journal of Insect Science*, 14(1): 254.
- Lü LH, Feng X, Chen HY, Liu J, Liu XY, He YR, 2006. A technique for field collecting and laboratory rearing red imported fire ant, *Solenopsis invicta*. *Chinese Bulletin of Entomology*, 43(2): 265–267. [吕利华, 冯夏, 陈焕瑜, 刘杰, 刘晓燕, 何余容, 2006. 介绍红火蚁的野外采集和实验室饲养的方法. 昆虫知识, 43(2): 265–267.]
- Manh HD, Tuyet OT, 2020. Larvicidal and repellent activity of *Mentha arvensis* L. essential oil against *Aedes aegypti*. *Insects*, 11(3): 198.
- Molfini M, Stefanuto L, Gisondi S, Gasperi T, Di Giulio A, Mancini E, Bologna MA, 2022. New evidence of canthariphily: *Tilloidea transversalis* (Coleoptera: Cleridae) sequestering cantharidin from *Lydus trimaculatus* (Coleoptera: Meloidae). *Journal of Insect Science*, 22(3): 1–7, 16.
- Qiu HL, Qin CS, Fox EGP, Wang DS, He YR, 2020. Differential behavioral responses of *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae) workers toward nestmate and non-nestmate corpses. *Journal of Insect Science*, 20(4): 11.
- Riddick EW, Wu Z, Chen J, 2023. Differential susceptibility of *Coleomegilla maculata* and *Scymnus creperus* larvae to aggression by *Solenopsis invicta* workers. *Insects*, 14(4): 318.
- Sabira O, Vignesh AR, Ajaykumar AP, Varma SR, Jayaraj KN, Sebastin M, Nikhila K, Babu A, Rasheed VA, Binitha VS, Vasu ZK, Sujith MS, 2022. The chemical composition and antimicrobial, antioxidant, antibacterial and cytotoxic properties of the defensive gland extract of the beetle, *Luprops tristis* Fabricius. *Molecules*, 27(21): 7476.
- Siddiqui JA, Bamisile BS, Khan MM, Islam W, Hafeez M, Bodlah I, Xu YJ, 2021. Impact of invasive ant species on native fauna across similar habitats under global environmental changes. *Environmental Science and Pollution Research International*, 28(39): 54362–54382.
- Wang L, Zeng L, Xu YJ, Lu YY, 2020. Prevalence and management of *Solenopsis invicta* in China. *NeoBiota*, Pensoft Publishers, 54: 89–124.
- Xu T, Chen L, 2021. Chemical communication in ant-hemipteran mutualism: Potential implications for ant invasions. *Current Opinion in Insect Science*, 45: 121–129.
- Yosef R, Carrel JE, Eisner T, 1996. Contrasting reactions of loggerhead shrikes to two types of chemically defended insect prey. *Journal of Chemical Ecology*, 22(2): 173–181.
- Yu X, Wang L, Zeng XN, Zeng L, 2015. Residual half-life of pesticides used to control *Solenopsis invicta*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 52(6): 1361–1367. [于鑫, 王磊, 曾鑫年, 曾玲, 2015. 红火蚁防治区农药残留动态规律研究. 应用昆虫学报, 52(6): 1361–1367.]
- Yu YT, Wei HY, Fadamiro HY, Chen L, 2014. Quantitative analysis of alkaloidal constituents in imported fire ants by gas chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(25): 5907–5915.
- Zeng YB, Liu XL, Zhang Y, Li CJ, Zhang DM, Peng YZ, Zhou X, Du HF, Tan CB, Zhang YY, Yang DJ, 2016. Cantharimide and its derivatives from the blister beetle *Mylabris phalerata* Palla. *Journal of Natural Products*, 79(8): 2032–2038.
- Zhong JM, Fox EGP, Ling SQ, Yan Z, Xu JZ, Yang H, Hong ZQ, Qin CS, Qiu HL, 2024. Bioactivities of scent gland chemicals from *Mictis fuscipes* Hsiao (Hemiptera: Coreidae) on *Solenopsis invicta* Buren (Hymenoptera: Formicidae). *Pest Management Science*, 79(8): 2032–2038.
- Zhou AM, Du YZ, Riddick EW, Li L, Chen J, 2022. Behavioral and electrophysiological response of sugarcane aphid and imported fire ant to 2,4,6-trimethylpyridine, an alkaloid from the pink-spotted lady beetle. *Journal of Pest Science*, 95(1): 187–201.