



低浓度吡虫啉削弱多异瓢虫对棉花植株挥发物的嗅觉识别功能

色晨晨^{1,2}, 张涛³, 戴长春^{1,2}, 张蒙皓^{1,2}, 于洪春^{1,*}, 陆宴辉^{2,4,*}

(1. 东北农业大学植物保护学院, 哈尔滨 150030; 2. 中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害综合治理国家重点实验室, 北京 100193; 3. 河北省农林科学院植物保护所, 保定 071000; 4. 中国农业科学院西部农业研究中心, 昌吉 831100)

摘要:【目的】明确低浓度吡虫啉对多异瓢虫 *Hippodamia variegata* 成虫嗅觉行为的影响。【方法】采用 Y 型嗅觉仪测定多异瓢虫成虫在摄入低浓度 (LC_{20} 和 LC_{50}) 吡虫啉后对健康棉株和棉蚜 *Aphis gossypii* 成蚜为害棉株挥发物的行为反应; 并通过固相微萃取收集健康棉株和棉蚜成蚜为害棉株的挥发物, 以气相色谱-质谱联用仪分析鉴定挥发物成分; 进而测试多异瓢虫成虫对棉株挥发物单一组分的选择行为。【结果】未摄入吡虫啉的多异瓢虫成虫对棉蚜成蚜为害的棉株具有显著的正趋性, 但对健康棉株和清洁空气均无显著的趋向性; 摄入低浓度吡虫啉的多异瓢虫成虫对棉蚜成蚜为害的棉株、健康棉株以及清洁空气均无显著的趋向性。对比健康棉株, 从棉蚜成蚜为害棉株的挥发物中鉴定出 8 种挥发量显著增加的化合物, 分别为月桂烯、柠檬烯、1-癸炔、3-萜烯、(3E)-4,8-二甲基-1,3,7-壬三烯 [(3E)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene, DMNT]、 β -石竹烯、 α -葎草烯、(3E, 7E)-4,8,12-三甲基十三碳-1,3,7,11-四烯 [(3E, 7E)-4,8,12-trimethyltrideca-1,3,7,11-tetraene, TMTT]。利用 Y 型嗅觉仪测定多异瓢虫成虫对以上 8 种物质的嗅觉选择行为发现, 未摄入吡虫啉的多异瓢虫成虫对 TMTT 具有显著的正趋性, 对其他 7 种挥发性化合物无显著趋性, 而摄入低浓度吡虫啉的多异瓢虫成虫对 8 种挥发性化合物均无显著正趋性。在行为选择测试中, 低浓度吡虫啉处理后的多异瓢虫成虫对棉株挥发物及单一组分的未选择个体数量均显著多于对照组。【结论】研究结果证实低浓度吡虫啉削弱了多异瓢虫成虫对棉花植株挥发物的嗅觉识别功能, 为新疆棉田多异瓢虫的保护利用及棉田农药的合理使用提供科学依据。

关键词: 多异瓢虫; 吡虫啉; 嗅觉选择行为; 挥发物; 亚致死效应

中图分类号: Q968 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2024)02-0193-10

Low concentrations of imidacloprid weaken the olfactory recognition of *Hippodamia variegata* (Coleoptera: Coccinellidae) to cotton plant volatiles

SE Chen-Chen^{1,2}, ZHANG Tao³, DAI Chang-Chun^{1,2}, ZHANG Meng-Hao^{1,2}, YU Hong-Chun^{1,*}, LU Yan-Hui^{2,4,*} (1. College of Plant Protection, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 2. State Key Laboratory of Integrated Management of Plant Pests and Diseases, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 3. Institute of Plant Protection, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Baoding 071000, China; 4. Western Agricultural Research Center, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changji 831100, China)

Abstract: 【Aim】To clarify the effects of low concentrations of imidacloprid on the olfactory behavior of

Hippodamia variegata adults. 【Methods】The behavioral responses of *H. variegata* adults to healthy cotton plants and adult *Aphis gossypii*-infested cotton plants after ingestion of low concentrations (LC₂₀ and LC₅₀) of imidacloprid were evaluated by a Y-olfactometer, while the volatiles from healthy and adult *A. gossypii*-infested cotton plants were collected separately by solid-phase microextraction and analyzed by gas chromatography-mass spectrometer to identify the volatile components. In addition, the response of *H. variegata* adults to each volatile component was further tested. 【Results】In the absence of imidacloprid ingestion, *H. variegata* adults showed a significant positive preference for adult *A. gossypii*-infested cotton plants, but had no significant tendency to healthy cotton plants or clean air. Besides, *H. variegata* adults that ingested imidacloprid at low concentrations had no significant tendency to adult *A. gossypii*-infested cotton plants, healthy cotton plants, or clean air. We identified eight significantly increased volatile compounds from the volatiles of adult *A. gossypii*-infested cotton plants compared with healthy cotton plants, including myrcene, limonene, 1-decyne, 3-carene, (3*E*)-4, 8-dimethyl-1, 3, 7-nonatriene (DMNT), β -caryophyllene, α -humulene and (3*E*,7*E*)-4, 8, 12-trimethyltrideca-1, 3, 7, 11-tetraene (TMTT). The olfactory selection behavior of *H. variegata* adults to the above eight compounds measured with Y-olfactometer illustrated that *H. variegata* adults without imidacloprid ingestion had a significant positive tendency towards TMTT and no significant tendency to the other seven volatile compounds, while *H. variegata* adults that ingested imidacloprid at low concentrations had no significant positive preference for any of the eight volatile compounds. In the behavioral selection tests, the numbers of unselected individuals in *H. variegata* adults treated with low concentrations of imidacloprid to both volatiles from cotton plants and their single components were significantly higher than that of the control. 【Conclusion】Our results revealed that low concentrations of imidacloprid weakened the olfactory recognition of cotton plant volatiles by adult *H. variegata*, providing a scientific basis for the conservation and utilization of *H. variegata* and the rational use of pesticides in Xinjiang cotton fields.

Key words: *Hippodamia variegata*; imidacloprid; olfactory selection behavior; volatile; sublethal effects

多异瓢虫 *Hippodamia variegata* 是农田生态系统一种常见的捕食性天敌,成虫和幼虫对蚜虫等害虫具有较强的控制作用,是新疆棉田多种害虫的优势天敌(姜岩等, 2022)。潘洪生等(2020)研究发现,多异瓢虫的成虫与幼虫对棉黑蚜 *Aphis craccivora* 均有较强的捕食能力,幼虫期4龄幼虫捕食能力最强;冯宏祖等(2000)研究了多异瓢虫对棉蚜 *Aphis gossypii* 的室内捕食功能反应以及田间种群消长规律,发现多异瓢虫具有捕食能力强、田间发生量大、持续时间长的特点,而且成虫与幼虫均表现出较强的捕食潜力,是新疆棉蚜的主要生物防治资源。

化学农药使用是棉田害虫防治的一个重要手段,常用杀虫剂有吡虫啉、氟啶虫胺胍、噻虫嗪、吡蚜酮和甲基阿维菌素等(潘洪生等, 2018)。在对棉田害虫进行化学防治时,杀虫剂除对部分天敌具有直接触杀作用外,其残留可能也会影响天敌昆虫在田间的发生分布和对猎物或寄主的定位能力(Ahmad *et al.*, 2003; Torres and Ruberson, 2004; He *et al.*, 2012)。研究发现,低浓度吡虫啉会引起捕食性天

敌异色瓢虫 *Harmonia axyridis* 搜索猎物能力下降(Dai *et al.*, 2020),还会影响寄生性天敌中红侧沟茧蜂 *Microplitis croceipes* 搜索寄主害虫的能力(Stapel *et al.*, 2000),并严重损害稻虱缨小蜂 *Anagrus nilaparvatae* 远距离定位能力(刘芳等, 2009)。除吡虫啉以外,其他化学杀虫剂也存在类似现象,如低剂量的毒死蜱会改变寄生蜂对寄主利它素的行为反应(Komez *et al.*, 2001);低剂量的抗蚜威、氯氰菊酯和乐果使菜蚜茧蜂 *Diaeretiella rapae* 出现钝态,导致其功能反应从Holling II型变为S型,搜索能力减弱,攻击效率下降(古德就等, 1991);低浓度的氯氰菊酯、啉虫脒以及两者的复配剂(椰甲清)虽不会改变椰甲截脉姬小蜂 *Asecodes hispinarum* 的功能反应模型,但影响了模型参数,导致椰甲截脉姬小蜂处理猎物时间延长,搜寻效应减弱(唐超等, 2006)。天敌昆虫对害虫的定位通常依靠嗅觉感受植物-害虫-天敌昆虫三重营养关系间的化学信息物质,其中包括植物挥发物、昆虫信息素等(Price *et al.*, 1980; Turlings and Erb, 2018)。有研

究发现,低浓度的杀虫剂会对昆虫的嗅觉造成影响,如低浓度的甲氧虫酰肼使苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* 嗅觉敏感度下降(Barrett *et al.*, 2013),低剂量吡虫啉会降低意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica* 嗅觉学习能力(Li *et al.*, 2019; 候梦赏等, 2021)。

前期研究发现,低浓度的吡虫啉会减少多异瓢虫的产卵量,延长幼虫历期,降低子代的卵孵化率(孙小玲等, 2016),也有报道降低多异瓢虫的寿命、存活率、内禀增长率和净生殖率(Rahmani and Bandani, 2016; Skouras *et al.*, 2019),还会造成多异瓢虫的飞行能力下降(王泽群, 2021)。因此,本研究拟通过 Y 型嗅觉仪试验,明确低浓度吡虫啉对多异瓢虫成虫嗅觉识别能力的影响,为农田生态系统中多异瓢虫的保护利用以及化学农药的合理使用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试昆虫:多异瓢虫为中国农业科学院植物保护研究所廊坊试验基地(简称“廊坊基地”)养虫室饲养的实验室种群,于 2019 年采自中国农业科学院植物保护研究所库尔勒试验基地(简称“库尔勒基地”)棉花田,以活体桃蚜 *Myzus persicae* 进行继代饲喂,养虫室环境条件为温度(24 ± 1) °C、相对湿度 $50\% \pm 10\%$ 、光周期 16L:8D,每年 7 月在库尔勒基地采集多异瓢虫田间种群进行实验室种群复壮。棉蚜 *Aphis gossypii* 和桃蚜为廊坊基地长期饲养的实验室种群,棉蚜于温度(26 ± 1) °C、相对湿度 $50\% \pm 10\%$ 、光周期 16L:8D 的养虫室内以 5 叶期棉花苗饲养;桃蚜饲养环境为温度(20 ± 1) °C、相对湿度 $50\% \pm 10\%$ 、光周期 12L:12D,以子叶期豌豆苗饲养。供试棉花品种为中棉所 49。

1.1.2 药剂:70% 吡虫啉水分散粒剂,由拜耳作物科学(中国)有限公司生产。液体石蜡(纯度 99%),购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司。试验所用 8 种标准化合物及相关信息见表 1。

1.1.3 仪器:RXZ-500D 型人工气候箱,由宁波江南仪器厂生产。Y 型嗅觉仪:根据前期设计(Yu *et al.*, 2010),将由透明玻璃制成的 Y 型嗅觉仪放入顶部有两个平行放置的提供光照强度一致的日光灯(光照强度 2 000 lx,电功率 40 W)的暗箱(100 cm × 100 cm × 60 cm)内。LZB-3 WB 型玻璃转子流量计,购自常州双环热工仪表有限公司。气相色谱-质

谱联用仪(GC-MS):7890A 型气相色谱 GC、19091S-433 型色谱柱、5975C 型质谱 MS,由安捷伦科技有限公司生产。固相微萃取(SPME):SPME 的萃取纤维为 50/30 μm DVB/CAR/PDMS,由美国 Supelco 公司生产。

1.2 试虫的药剂处理

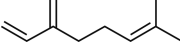
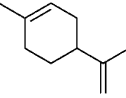
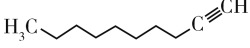
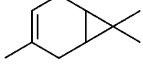
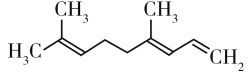
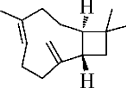
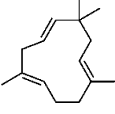
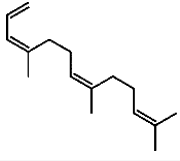
挑选个体大小一致的多异瓢虫蛹,在羽化后 6 ~ 12 h 鉴定成虫雌雄,并分开饲喂桃蚜,72 h 后选取生长一致且健康的成虫进行饲毒处理。选取被棉蚜定殖的棉株,每盆棉株上有充足棉蚜成蚜(约为 2 500 ~ 3 000 头),以确保试验中多异瓢虫可以获取充足食物。使用哈逊 65221 型手动喷雾器对以上棉株进行淋洗式喷雾,使整个棉株表面和所有棉蚜体表均匀布满药液。根据前期吡虫啉对棉蚜成蚜毒力测定研究结果(王泽群, 2021),设置的两个喷施浓度分别为 3.93 mg a. i./L (LC₂₀ 浓度)和 13.62 mg a. i./L (LC₅₀ 浓度),同时设清水对照。喷雾处理后在室内放置 1.5 h,待叶片自然阴干后移入养虫笼(长 × 宽 × 高 = 50 cm × 40 cm × 50 cm),每笼有 6 盆棉株,同时接入 15 头饥饿 12 h 的多异瓢虫成虫,雌雄分开处理,48 h 后在存活的成虫中选取可以正常爬行的个体用于后续试验。

1.3 低浓度吡虫啉对多异瓢虫成虫选择棉花挥发物的行为影响测定

利用 Y 型嗅觉仪测试多异瓢虫成虫嗅觉的行为选择,Y 型嗅觉仪由大气采样仪、装有活性炭的过滤柱、装有超纯水的洗气瓶、味源瓶、玻璃转子流量计和 Y 型管几部分组成。Y 型嗅觉仪测基部为 Y 型无色透明玻璃,管长 18 cm,两臂长 18 cm,内径 4 cm,两臂夹角 60°,两臂通过特氟龙管与 6 L 玻璃罐中的味源相连。在气流进入玻璃罐前,依次经过活性炭柱,蒸馏水瓶和气体流量计,以净化空气、增加湿度并限制气流量在 400 mL/min。每次在进行试验前先将植物放在玻璃罐中密闭,并大气采样仪打开 15 ~ 30 min,使气体充满整个装置并且可以稳定流出。室内温度为(24 ± 1) °C,相对湿度为 $50\% \pm 10\%$ 。

多异瓢虫成虫饥饿处理 12 h 后进行试验。先将多异瓢虫成虫放到 Y 型管主臂,当其到达主臂 1/2 处时,开始计时;当多异瓢虫成虫越过任一支臂的 1/3 处并停留 5 s 以上,则视为有选择,记录选择方向和选择时间;当多异瓢虫成虫在 5 min 内无明显的选择行为,则记为无反应。每测试 5 头成虫交换 1 次左右臂,每 30 min 换 1 根新的 Y 管。每个处理

表 1 本研究所用挥发性化合物
Table 1 Volatile compounds used in this study

编号 No.	挥发性化合物 Volatile compounds	来源 Source	CAS 登记号 CAS no.	纯度(%) Purity	化学结构 Chemical structure
1	月桂烯 Myrcene	TCI	123-35-3	>98.0	
2	柠檬烯 Limonene	TCI	138-86-3	>98.0	
3	1-癸炔 1-Decyne	TCI	764-93-2	>95.0	
4	3-蒎烯 3-Carene	Acros	13466-78-9	>90.0	
5	DMNT	TRC	19945-61-0	>98.0	
6	β-石竹烯 β-Caryophyllene	TCI	87-44-5	>98.0	
7	α-葎草烯 α-Humulene	TCI	6753-98-6	>93.0	
8	TMTT	TRC	62235-06-7	>95.0	

TCI: 梯希爱(上海)化成工业发展有限公司 TCI (Shanghai) Development Co., Ltd.; Acros: 赛默飞世尔科技(中国)有限公司 Thermo Fisher Scientific (China) Co., Ltd.; TRC: 多伦多研究化学品有限公司 Toronto Research Chemicals Co., Ltd. DMNT: (3E)-4,8-二甲基-1,3,7-壬三烯 (3E)-4,8-Dimethyl-1,3,7-nonatriene; TMTT: (3E, 7E)-4,8,12 三甲基十三碳-1,3,7,11-四烯 (3E, 7E)-4,8,12-Trimethyltrideca-1,3,7,11-tetraene. 下同。The same below.

测定 30 头雌虫和 30 头雄虫,且每头多异瓢虫仅测试 1 次。测试时间为每天 8:00 – 17:00。使用过的特氟龙管、玻璃罐和 Y 型管用无水乙醇进行清洗,再用清水将残留的乙醇冲去,去除残留气味,然后烘干备用。Y 型嗅觉仪共 3 个组合分别为健康棉株 *vs* 清洁空气、棉蚜成蚜为害棉株 *vs* 清洁空气、棉蚜成蚜为害棉株 *vs* 健康棉株。

1.4 健康棉花和棉蚜为害棉花植株挥发物的收集、分离和鉴定

采用 SPME 法收集健康棉株和受棉蚜为害棉株的挥发物。在温度为 (24 ± 1) °C、相对湿度为 45% ± 5% 的实验室内进行。首先将带有纤维头的 SPME 装置在 GC-MS 进样口中活化 30 min (230 °C),同时将 12 ~ 13 片健康棉花叶片或整株棉花被 280 ~ 300 头棉蚜成蚜为害 48 h 的叶片及棉蚜成蚜放入样

品瓶中,再将 SPME 装置插入密封好的样品瓶中,然后推动手柄将涂有石英的纤维头伸出,萃取 4 h。萃取完成后先收起纤维头再拔出装置,然后将其立即插入 GC-MS 进样口热解析 10 min (230 °C) 进样。每组处理重复 3 次。

使用 GC-MS 对抽取到的挥发物进行分离鉴定和分析。GC 升温程序为:柱箱以初始温度 40 °C 保持 1 min;然后以 5 °C/min 的速率升温到 180 °C,保持 2 min;再以 10 °C/min 的速率升温到 230 °C,保持 20 min,总运行时间为 54 min。载气是氦气(纯度 >99.999%)。MS 的工作条件为:电离方式 EI,电离能 70 eV,质量扫描范围 50 ~ 400 m/z,离子源设定为 230 °C,传输线 250 °C。所有挥发物成分均先用 NIST14 谱库检索和初步鉴定,并通过与标准化合物保留时间进行比对、确认,进行定性分析。对于

鉴定出的挥发性化合物,购买其标准化合物,以正己烷为溶剂,分别稀释成 0.001, 0.002, 0.5, 0.1 和 0.2 mg/mL 5 个浓度梯度,然后进行 GC-MS 分析,并通过峰面积进行标准曲线的绘制和相对含量的测定。

1.5 低浓度吡虫啉对多异瓢虫成虫选择棉花植株挥发物单一组分的行为影响测定

选出健康棉株和棉蚜成蚜为害棉株有差异的挥发性化合物,利用 Y 型嗅觉仪对多异瓢虫进行单一挥发物质嗅觉行为试验。用移液枪分别取 10 μL 稀释到 10 μg/L 的标准化合物和对照(石蜡油溶剂)滴于两张滤纸(50 mm × 20 mm)上,放置于尖部剪掉 0.50 cm 的 1 mL 枪头中,两端分别与玻璃转子流量计和洗气瓶连接,气体流速为 400 mL/min。多异瓢虫在试验前进行饥饿处理 12 h,每个处理 30 对雌雄成虫,每测试 5 头多异瓢虫换 1 张滤纸并交换 1 次左右臂,判定标准和试验方法同 1.3 节。

1.6 数据分析

利用 SPSS 27.0 和 Excel 2019 软件进行数据分析,R 4.2.2 和 AI 2022 软件进行作图。多异瓢虫的嗅觉行为反应采用卡方检验法,以 χ^2 值和相应的显著性 P 值判定处理间的差异显著性。选择率计算

公式:选择率(%) = (选择试验组或对照组的总虫数/Y 管内作出选择的总虫数) × 100。未选择率计算公式:未选择率(%) = (未选择试验组或对照组的总虫数/供试总虫数) × 100。挥发性化合物的相对含量采用面积归一法和标准曲线确定(王桃红等, 2020),并采用独立样本 t 检验判定不同处理的挥发性化合物含量间的差异显著性。

2 结果

2.1 低浓度吡虫啉对多异瓢虫成虫嗅觉的行为选择影响

对照组多异瓢虫成虫对棉蚜成蚜为害后的棉株具有显著的正趋向性($P < 0.05$),而对健康棉株和清洁空气无显著的趋向性($P > 0.05$);经低浓度吡虫啉处理的多异瓢虫成虫对棉蚜成蚜为害的棉株、健康棉株以及清洁空气均无显著的趋向性($P > 0.05$),且两个浓度的处理间也不存在显著差异($P > 0.05$)。低浓度吡虫啉处理的多异瓢虫成虫与对照组多异瓢虫成虫相比,对棉蚜成蚜为害的棉株的正趋性显著降低(图 1)。

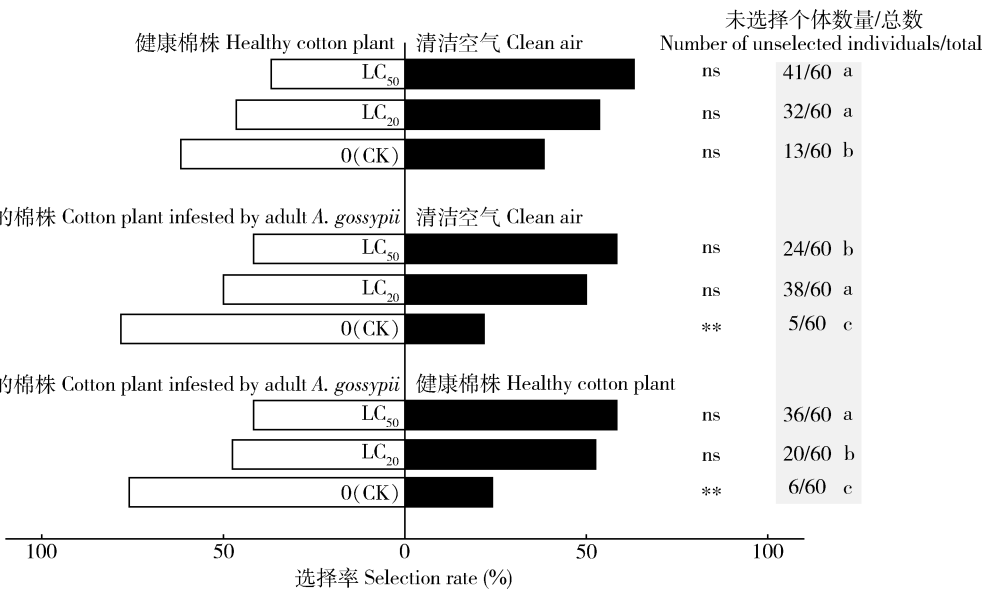


图 1 低浓度吡虫啉对多异瓢虫成虫选择寄主行为的影响

Fig. 1 Effects of low concentrations of imidacloprid on the host selection behavior of *Hippodamia variegata* adults
LC₂₀: 3.93 mg a. i. /L 吡虫啉 3.93 mg a. i. /L Imidacloprid; LC₅₀: 13.62 mg a. i. /L 吡虫啉 13.62 mg a. i. /L Imidacloprid; CK: 石蜡油 Paraffin oil. 下同。The same below. 星号和 ns 分别表示同一吡虫啉浓度两个味源组间差异显著($P < 0.05$)和不显著($P > 0.05$)(卡方检验);不同小写字母表示相同味源组合不同吡虫啉浓度间未选择个体数量的差异显著($P < 0.05$, 卡方检验)。The asterisk and ns indicate significant difference ($P < 0.05$) and no significant difference ($P > 0.05$), respectively, between two odor groups for the same imidacloprid concentration (χ^2 -square test). Different lowercase letters indicate significant difference in the number of unselected individuals among different imidacloprid concentrations for the same odor combination ($P < 0.05$, χ^2 -square test).

在健康棉株 *vs* 清洁空气味源组合中,LC₂₀ 浓度处理组和 LC₅₀ 浓度处理组多异瓢虫的未选择个体数量无显著差异 ($P > 0.05$), 且二者均显著多于对照组多异瓢虫的未选择个体数量 ($P < 0.05$)。在棉蚜成蚜为害棉株 *vs* 清洁空气味源组合中,LC₂₀ 浓度处理组多异瓢虫的未选择个体数量显著多于 LC₅₀ 浓度处理组多异瓢虫的未选择个体数量 ($P < 0.05$), 且二者均显著多于对照组多异瓢虫的未选择个体数量 ($P < 0.05$)。在棉蚜成蚜为害棉株 *vs* 健康棉株的味源组合中, LC₅₀ 浓度处理组多异瓢虫的未选择个体数量显著多于 LC₂₀ 浓度处理组多异瓢虫的未选择个体数量 ($P < 0.05$), 且二者均显著多于对照组多异瓢虫的未选择个体数量 ($P < 0.05$)。摄入低浓度吡虫啉的多异瓢虫成虫与对照组多异瓢虫成虫相比,未选择个体数量显著增多。

2.2 棉蚜成蚜为害棉株和健康棉株挥发性化合物的差异

收集棉蚜成蚜为害的棉株和健康棉株的挥发性化合物,并经过 GC-MS 分析后将两者进行对比,共鉴定出 8 种差异化合物,分别为月桂烯、柠檬烯、1-癸炔、3-萜烯、(3*E*)-4, 8-二甲基-1, 3, 7-壬三烯 [(3*E*)-4, 8-dimethyl-1, 3, 7-nonatriene, DMNT)、β-石竹烯、α-葎草烯、(3*E*, 7*E*)-4, 8, 12 三甲基十三碳-1, 3, 7, 11-四 烯 [(3*E*, 7*E*)-4, 8, 12-trimethyltrideca-1, 3, 7, 11-tetraene, TMTT]。对 8 种鉴定出来的差异化合物含量制作了标准曲线(表 2), 并进行了定量分析(表 3), 8 种化合物在棉株受为害前后的释放量差异均达到显著水平 ($P < 0.05$), 其中在健康棉株中未发现 TMTT, DMNT 释放增加最多,在棉蚜成蚜为害后增长了 55.97 倍,其

表 2 棉蚜成蚜为害的棉株释放的活性物质标准含量曲线

Table 2 Standard content curve of active substances released from cotton plants damaged by <i>Aphis gossypii</i> adults					
活性物质 Active substances	标准含量曲线 Standard content curve	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>R</i> ²	
月桂烯 Myrcene	$y = 518\ 998.08x - 3\ 396\ 212.34$	420.087	<0.001	0.991	
柠檬烯 Limonene	$y = 380\ 315.72x + 238\ 051.14$	32\ 761.977	<0.001	0.999	
1-癸炔 1-Decyne	$y = 274\ 890.88x + 1\ 189\ 624.21$	52.671	0.005	0.928	
3-萜烯 3-Carene	$y = 849\ 746.00x + 5\ 465.30$	45\ 417.641	<0.001	0.999	
DMNT	$y = 1\ 009\ 277.26x - 3\ 613\ 491.82$	210.317	<0.001	0.981	
β-石竹烯 β-Caryophyllene	$y = 1\ 791\ 212.80x - 246\ 005.61$	120.142	0.002	0.968	
α-葎草烯 α-Humulene	$y = 496\ 058.55x - 2\ 295\ 569.54$	782.426	<0.001	0.995	
TMTT	$y = 1\ 082\ 995.30x - 9\ 071\ 898.39$	67.213	0.004	0.943	

表 3 棉蚜成蚜为害诱导的棉株释放的挥发性化合物的变化

Table 3 Changes in volatile compounds released from cotton plants before and after being damaged by <i>Aphis gossypii</i> adults					
活性物质 Active substances	为害前释放量 Release amount before being damaged (μg/mL)	为害后释放量 Release amount after being damaged (μg/mL)	<i>t</i>	<i>df</i>	<i>P</i>
月桂烯 Myrcene	9.57 ± 0.11	23.24 ± 0.44	32.544	2	0.001
柠檬烯 Limonene	3.80 ± 0.38	31.82 ± 0.24	84.340	3	<0.001
1-癸炔 1-Decyne	33.71 ± 1.39	129.92 ± 2.17	8.936	3	0.005
3-萜烯 3-Carene	0.35 ± 0.03	0.64 ± 0.05	10.408	2	0.008
DMNT	6.57 ± 0.44	367.70 ± 4.11	10.065	2	0.010
β-石竹烯 β-Caryophyllene	5.89 ± 0.39	16.86 ± 0.39	24.219	4	<0.001
α-葎草烯 α-Humulene	8.00 ± 0.33	29.47 ± 0.66	21.996	2	0.001
TMTT	0.00 ± 0.00	11.10 ± 0.32	51.920	2	<0.001

表中数据为平均值 ± 标准误。Data in the table are mean ± SE.

后依次是柠檬烯、1-癸炔、 α -葎草烯、 β -石竹烯、月桂烯和3-萜烯,分别为健康植株释放量的8.38, 3.85, 3.68, 2.86, 2.43和1.82倍。

2.3 低浓度吡虫啉对多异瓢虫成虫感知挥发性化合物的嗅觉行为影响

在8种标准挥发性化合物中,对照组多异瓢虫成虫仅对TMTT表现出显著的正趋性($P < 0.05$),对月桂烯、柠檬烯、1-癸炔、3-萜烯、DMNT、 β -石竹烯和 α -葎草烯均无显著趋向性($P > 0.05$),而2个低浓度吡虫啉处理的多异瓢虫成虫对8种挥发性化合物均无显著趋向性($P > 0.05$)(图2)。

在月桂烯、柠檬烯、1-癸炔、3-萜烯、DMNT、 β -石竹烯和 α -葎草烯中,LC₂₀浓度处理组多异瓢虫的未选择个体数量和LC₅₀浓度处理组多异瓢虫的未选择个体数量间无显著差异($P > 0.05$),但二者均显著多于对照组多异瓢虫的未选择个体数量($P < 0.05$)。在TMTT中,LC₅₀浓度处理组的多异瓢虫未选择个体数量显著多于LC₂₀浓度处理组的未选择个体数量($P < 0.05$),二者均显著多于对照组多异瓢虫的未选择个体数量($P < 0.05$)。低浓度吡虫啉处理组多异瓢虫与对照组多异瓢虫相比,未选择个体数量显著增加。

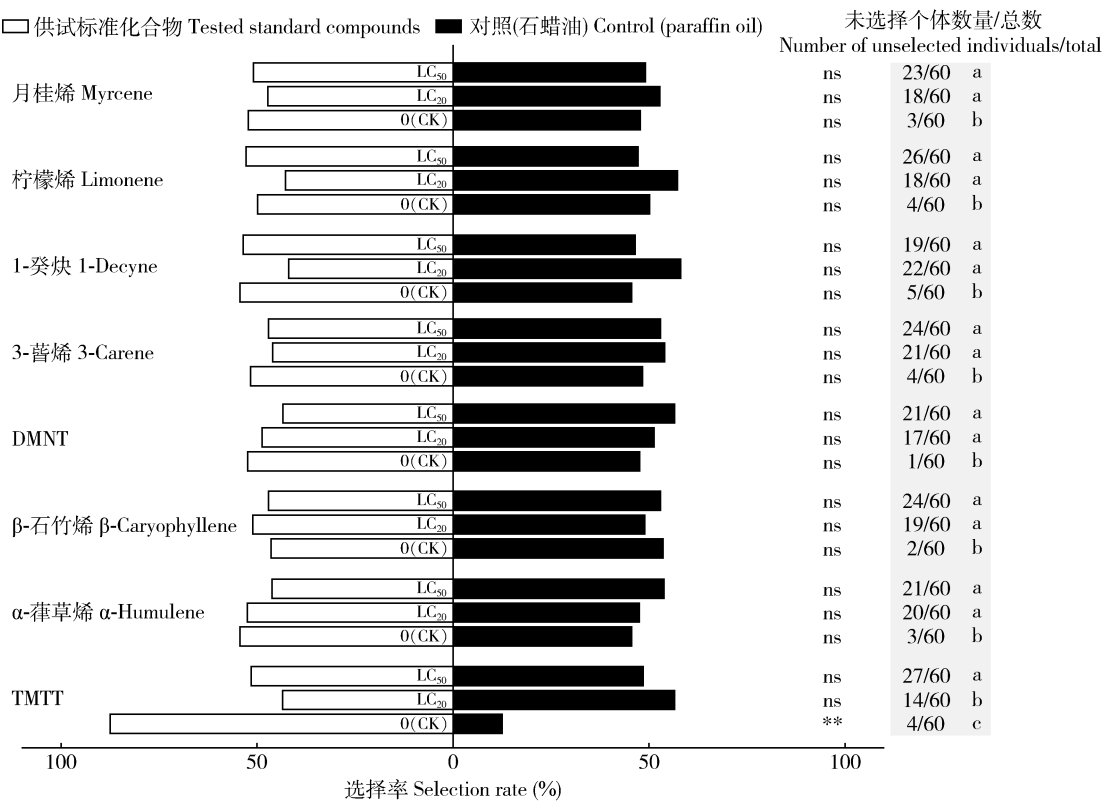


图2 低浓度吡虫啉对多异瓢虫成虫感知棉花植株挥发性化合物的嗅觉行为影响

Fig. 2 Effects of low concentrations of imidacloprid on the olfactory behavior of *Hippodamia variegata* adults perceiving cotton plant volatile compounds

星号和 ns 分别表示标准化化合物与对照(石蜡油)间差异显著($P < 0.05$)和不显著($P > 0.05$)(卡方检验);不同小写字母表示不同浓度吡虫啉处理组对相同标准化化合物未选择个体数量的差异显著($P < 0.05$,卡方检验)。The asterisk and ns indicate significant difference ($P < 0.05$) and no significant difference ($P > 0.05$), respectively, between standard compounds and the control (paraffin oil) (*Chi-square test*). Different lowercase letters indicate significant difference in the number of unselected individuals to the same standard compounds among treatment groups with different concentrations of imidacloprid ($P < 0.05$, *Chi-square test*).

3 讨论

Price 等(1980)曾提出了植物-植食性昆虫-天

敌昆虫三级营养级互作理论,揭示了植物对植食性昆虫与天敌昆虫之间具有直接或间接的影响。化学信息是三者之间重要的影响因素,也是昆虫之间、植物之间以及昆虫与植物之间的特殊“语言”(Guo

and Wang, 2019)。本研究结果也表明,棉蚜成蚜为害诱导的棉株对多异瓢虫成虫具有引诱作用(图1)。韩宝瑜等(2001)研究异色瓢虫成虫对茶蚜气味的行为反应,李艳艳等(2013)研究多异瓢虫对瓜蚜为害后植物气味的行为反应,均有类似结果。但多异瓢虫成虫在摄入低浓度吡虫啉后丧失了这种趋向性(图1),这可能是吡虫啉对多异瓢虫的嗅觉产生了一定影响所致。

收集、鉴定棉蚜为害的棉株挥发物,结果发现棉株在棉蚜成蚜为害后月桂烯、柠檬烯、1-癸炔、3-萜烯、DMNT、 β -石竹烯、 α -葎草烯等挥发性化合物的释放量均有显著增加,同时也出现了1种新的挥发化合物——TMTT(表3)。挥发性化合物的嗅觉行为反应试验中发现,对照组的多异瓢虫成虫仅对TMTT具有较强的正趋向性(图2)。Liu等(2018)发现棉花在受到咀嚼性昆虫棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 或刺吸性昆虫绿盲蝽 *Apolygus lucorum* 为害后,均会释放TMTT并分别吸引各自的寄生蜂中红侧沟茧蜂和红颈常室茧蜂 *Peristenus spretus*; 番茄和黄瓜在被二斑叶螨 *Teranychus urticae* 侵害时会释放TMTT来吸引捕食螨(Kant *et al.*, 2004; Kappers *et al.*, 2011); 百利根在被红叶螨 *Tetranychus cinnabarinus* 取食后会释放挥发物来吸引天敌智利小植绥螨 *Phytoseiulus persimilis*, 其产生的挥发物中也包含TMTT(Shimoda *et al.*, 2005); 这些研究表明,TMTT在虫害诱导植物挥发物中广泛存在,对多种害虫天敌具有明显吸引作用。但Brillada等(2013)研究发现只释放TMTT的转基因百利根对智利小植绥螨的吸引力较弱,因此虫害诱导挥发物对天敌的吸引不仅是单一物质的作用,更可能是多种挥发性物质联合作用的结果。而经低浓度吡虫啉饲喂的多异瓢虫成虫均未对TMTT表现出任何趋性,同时低浓度吡虫啉导致多异瓢虫成虫在Y型嗅觉仪试验中未选择个体数量的显著提升(图1, 2),说明低浓度吡虫啉明显削弱了多异瓢虫嗅觉识别能力。Tan等(2015)研究表明吡虫啉会显著降低中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* 的嗅觉学习行为; 蔚添添等(2017)研究发现吡虫啉会显著降低意大利蜜蜂的嗅觉学习能力; Li等(2019)发现连续饲喂含低浓度吡虫啉的意大利蜜蜂的嗅觉联想性学习行为会下降。吡虫啉同样明显影响了蜜蜂的嗅觉学习能力(蔚添添等, 2017; 侯梦赏等, 2021)。

瓢虫在捕食过程中可能会直接暴露在杀虫剂中或是接触到杀虫剂的残留,甚至可能会通过取食受

到杀虫剂污染的猎物或植物组织而受到杀虫剂的影响。吡虫啉作为防治棉蚜的常用杀虫剂,多异瓢虫不可避免地会接触到其残留。研究发现,低浓度吡虫啉对多异瓢虫的生长发育和繁殖产生一定负面影响,如延长卵、幼虫和蛹的历期以及成虫产卵前期,降低净繁殖率和产卵量,并减弱其飞行能力(Zeinadini *et al.*, 2019; 王泽群, 2021)。此外,低浓度吡虫啉也会降低多异瓢虫的捕食量(帕提玛·乌木尔汗等, 2021)。本研究从昆虫嗅觉角度解析了低浓度吡虫啉引起多异瓢虫搜寻猎物能力降低的原因。Li等(2019)通过脑部转录组研究发现低剂量吡虫啉会影响意大利蜜蜂气味结合蛋白受体、神经信号传导过程和氧化还原过程。我们初步开展了多异瓢虫触角及脑组织转录组分析,发现低浓度吡虫啉明显影响了多异瓢虫触角及脑组织中多个嗅觉相关基因的表达,并影响神经信号的传导(未发表数据)。因此,吡虫啉削弱多异瓢虫对棉花挥发物的嗅觉识别能力,可能主要是吡虫啉影响多异瓢虫化学感知和神经传导过程造成的。

综上,低浓度吡虫啉削弱了多异瓢虫成虫对棉花挥发物嗅觉识别能力,将降低多异瓢虫生物控害服务功能,对农田中的其他有益昆虫也存在一定负面影响;同时由于吡虫啉长期不科学的使用,新疆棉蚜种群已对吡虫啉产生了中等至高等水平的抗药性(帕提玛·乌木尔汗等, 2019)。因吡虫啉对有益昆虫的诸多安全性问题,欧盟于2013年限制其在农田施用(Kathage *et al.*, 2018)。基于已有研究和实践,同样不建议在以多异瓢虫为优势天敌的新疆棉花种植区,将吡虫啉继续列为农作物害虫喷雾防治的当家化学药剂。

参考文献 (References)

- Ahmad M, Obiewatsch HR, Basedow T, 2003. Effects of neem-treated aphids as food/hosts on their predators and parasitoids. *J. Appl. Entomol.*, 127(8): 458–464.
- Barrett BA, Keesey IW, Akbulut S, Terrell Stamps W, 2013. Antennal responses of *Cydia pomonella* (L.) exposed to surfaces treated with methoxyfenozide. *J. Appl. Entomol.*, 137(7): 499–508.
- Brillada C, Nishihara M, Shimoda T, Garms S, Boland W, Maffei ME, Arimura G, 2013. Metabolic engineering of the C_{16} homoterpene TMTT in *Lotus japonicus* through overexpression of (*E*, *E*)-geranyllinalool synthase attracts generalist and specialist predators in different manners. *New Phytol.*, 200(4): 1200–1211.
- Dai CC, Ricupero M, Puglisi R, Lu YH, Desneux N, Biondi A, Zappalà L, 2020. Can contamination by major systemic insecticides affect the voracity of the harlequin ladybird? *Chemosphere*, 256:

126986.

Feng HZ, Wang L, Xiong RC, Wang B, Ji CS, 2000. A study on the population dynamics and predacious function of *Hippodamia variegata* (Goeze). *Entomol. Knowl.*, 37(4): 223–226. [冯宏祖, 王兰, 熊仁慈, 王兵, 纪昌盛, 2000. 多异瓢虫种群动态及捕食功能的研究. *昆虫知识*, 37(4): 223–226]

Gu DJ, Yu MN, Hou RH, Li ZH, 1991. The effects of sublethal doses of insecticides on the foraging behaviour of parasitoid, *Diaeretiella rapae* (Hym., Braconidae). *Acta Ecol. Sin.*, 11(4): 324–330. [古德就, 余明恩, 侯任环, 李哲怀, 1991. 农药亚致死剂量对菜蚜茧蜂搜索行为影响的研究. *生态学报*, 11(4): 324–330]

Guo H, Wang C, 2019. The ethological significance and olfactory detection of herbivore-induced plant volatiles in interactions of plants, herbivorous insects, and parasitoids. *Arthropod-Plant Inte.*, 13(2): 161–179.

Han BY, Chen ZM, Zhang ZN, 2001. Electroantennogram and behavioural responses of two varieties of *Leis axyridis* from three types of habitats to aphid-damaged tea shoot volatiles and aphid kairomones. *Acta Ecol. Sin.*, 21(12): 2131–2135. [韩宝瑜, 陈宗懋, 张钟宁, 2001. 不同生境异色瓢虫对茶梢互利素和蚜虫利它素 EAG 和行为反应. *生态学报*, 21(12): 2131–2135]

He Y, Zhao J, Zheng Y, Desneux N, Wu K, 2012. Lethal effect of imidacloprid on the coccinellid predator *Serangium japonicum* and sublethal effects on predator voracity and on functional response to the whitefly *Bemisia tabaci*. *Ecotoxicology*, 21(5): 1291–1300.

Hou MS, Qiu YM, Zhao BA, Yu TT, Liang LQ, Su SK, Li ZG, 2021. Effects of a sublethal dose of imidacloprid on the olfactory learning behavior of *Apis mellifera ligustica* workers and an analysis of their brain transcriptomes. *Acta Entomol. Sin.*, 64(7): 817–827. [侯梦赏, 邱园妹, 赵必安, 蔚添添, 梁立强, 苏松坤, 李志国, 2021. 亚致死剂量吡虫啉胁迫对意大利蜜蜂工蜂嗅觉学习行为的影响及其脑部转录组分析. *昆虫学报*, 64(7): 817–827]

Jiang Y, Xiu CL, Wang DM, Liu J, Pan HS, Liu XN, 2022. Research progress on biological ecology, conservation and utilization of *Hippodamia variegata* (Goeze). *Chin. J. Biol. Control*, 38(1): 50–62. [姜岩, 修春丽, 王冬梅, 刘建, 潘洪生, 刘小宁, 2022. 多异瓢虫生物生态学特性及保育利用研究进展. *中国生物防治学报*, 38(1): 50–62]

Kant MR, Ament K, Sabelis MW, Haring MA, Schuurink RC, 2004. Differential timing of spider mite-induced direct and indirect defenses in tomato plants. *Plant Physiol.*, 135(1): 483–495.

Kappers IF, Hoogerbrugge H, Bouwmeester HJ, Dicke M, 2011. Variation in herbivory-induced volatiles among cucumber (*Cucumis sativus* L.) varieties has consequences for the attraction of carnivorous natural enemies. *J. Chem. Ecol.*, 37(2): 150–160.

Kathage J, Castañera P, Alonso-Prados JL, Gómez-Barbero M, Rodríguez-Cerezo E, 2018. The impact of restrictions on neonicotinoid and fipronil insecticides on pest management in maize, oilseed rape and sunflower in eight European Union regions. *Pest Manag. Sci.*, 74(1): 88–99.

Komeza N, Fouillet P, Boulétreau M, Delpuech JM, 2001. Modification, by the insecticide chlorpyrifos, of the behavioral response to kairomones of a parasitoid wasp, *Leptopilina boulardi*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 41(4): 436–442.

Li YY, Zhou XR, Pang BP, Han HB, Yan F, 2013. Behavioral responses of *Hippodamia variegata* (Coleoptera: Coccinellidae) to volatiles from plants infested by *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphidae) and analysis of volatile components. *Acta Entomol. Sin.*, 56(2): 153–160. [李艳艳, 周晓榕, 庞保平, 韩海斌, 闫锋, 2013. 多异瓢虫对瓜蚜为害后植物挥发物的行为反应及挥发物成分分析. *昆虫学报*, 56(2): 153–160]

Li Z, Yu T, Chen Y, Heerman M, He J, Huang J, Nie H, Su S, 2019. Brain transcriptome of honey bees (*Apis mellifera*) exhibiting impaired olfactory learning induced by a sublethal dose of imidacloprid. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 156: 36–43.

Liu D, Huang X, Jing W, An X, Zhang Q, Zhang H, Zhou J, Zhang Y, Guo Y, 2018. Identification and functional analysis of two P450 enzymes of *Gossypium hirsutum* involved in DMNT and TMTT biosynthesis. *Plant Biotechnol. J.*, 16(2): 581–590.

Liu F, Bao SW, Song Y, Lu HY, Shi XM, 2009. Lethal and sublethal effects of imidacloprid on *Anagrus nilaparvatae* (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasitoid of the rice planthopper, *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae). *J. Yangzhou Univ. (Agric. Life Sci. Ed.)*, 30(4): 80–84. [刘芳, 包善微, 宋英, 卢海燕, 石细敏, 2009. 吡虫啉对稻虱蓊小蜂的致死和亚致死效应研究. *扬州大学学报(农业与生命科学版)*, 30(4): 80–84]

Pan HS, Jiang YY, Wang PL, Liu J, Lu YH, 2018. Research progress in the status evolution and integrated control of cotton pests in Xinjiang. *Plant Prot.*, 44(5): 42–50. [潘洪生, 姜玉英, 王佩玲, 刘建, 陆宴辉, 2018. 新疆棉花害虫发生演替与综合防治研究进展. *植物保护*, 44(5): 42–50]

Pan HS, Li HB, Ding RF, Li HQ, Wang DM, Akedan WWS, Liu J, 2020. Predation capacity of *Adonia variegata* to *Aphis atrata*. *Chin. J. Biol. Control*, 36(4): 628–631. [潘洪生, 李号宾, 丁瑞丰, 李海强, 王冬梅, 阿克旦·吾外士, 刘建, 2020. 多异瓢虫对棉黑蚜的捕食能力. *中国生物防治学报*, 36(4): 628–631]

Patima W, Abolizi T, Ma DY, 2021. Effects of neonicotinoids insecticides on adult of *Hippodamia variegata* (Goeze). *Agrochemicals*, 60(11): 816–820. [帕提玛·乌木尔汗, 阿卜力孜·塔伊尔, 马德英, 2021. 新烟碱类杀虫剂对多异瓢虫成虫的影响. *农药*, 60(11): 816–820]

Patima W, Guo PP, Ma SJ, Gao XW, Zhang LJ, Zhang S, Ma DY, 2019. Resistance of different field populations of *Aphis gossypii* to ten insecticides in Xinjiang. *Plant Prot.*, 45(6): 273–278. [帕提玛·乌木尔汗, 郭佩佩, 马少军, 高希武, 张连俊, 张帅, 马德英, 2019. 新疆地区棉蚜田间种群对 10 种杀虫剂的抗性. *植物保护*, 45(6): 273–278]

Price PW, Bouton CE, Gross P, McPherson BA, Thompson JN, Weis AE, 1980. Interactions among three trophic levels: Influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 11: 41–65.

Rahmani S, Bandani AR, 2016. Pirimicarb, an aphid selective insecticide, adversely affects demographic parameters of the aphid predator *Hippodamia variegata* (Goeze) (Coleoptera:

Coccinellidae). *J. Plant Prot. Res.*, 56(4): 353 – 363.

Shimoda T, Ozawa R, Sano K, Yano E, Takabayashi J, 2005. The involvement of volatile infochemicals from spider mites and from food-plants in prey location of the generalist predatory mite *Neoseiulus californicus*. *J. Chem. Ecol.*, 31(9): 2019 – 2032.

Skouras PJ, Brokaki M, Stathas GJ, Demopoulos V, Louloudakis G, Margaritopoulos JT, 2019. Lethal and sub-lethal effects of imidacloprid on the aphidophagous coccinellid *Hippodamia variegata*. *Chemosphere*, 229: 392 – 400.

Stapel JO, Cortesero AM, Lewis WJ, 2000. Disruptive sublethal effects of insecticides on biological control: Altered foraging ability and life span of a parasitoid after feeding on extrafloral nectar of cotton treated with systemic insecticides. *Biol. Control*, 17(3): 243 – 249.

Sun XL, Chen W, Yang QY, Liu CZ, 2016. Virulence and sublethal effects of three insecticides to *Hippodamia variegata*. *Acta Agrest. Sin.*, 24(5): 1094 – 1099. [孙小玲, 陈威, 杨巧燕, 刘长仲, 2016. 三种杀虫剂对多异瓢虫的毒力及亚致死效应. 草地学报, 24(5): 1094 – 1099]

Tan K, Chen WW, Dong SH, Liu XW, Wang YC, Nieh JC, 2015. A neonicotinoid impairs olfactory learning in Asian honey bees (*Aphis cerana*) exposed as larvae or as adults. *Sci. Rep.*, 5: 10989.

Tang C, Peng ZQ, Wu KH, Liang YJ, Jin QA, Fu YG, Wan FH, 2006. The effect of sublethal doses of insecticides on the functional response of *Asecodes hispinarum*. *Chin. Bull. Entomol.*, 43(5): 644 – 647. [唐超, 彭正强, 吴坤宏, 梁玉洁, 金启安, 符悦冠, 万方浩, 2006. 三种农药亚致死剂量对椰甲截脉姬小蜂功能反

应的影响. 昆虫知识, 43(5): 644 – 647]

Torres JB, Ruberson JR, 2004. Toxicity of thiamethoxam and imidacloprid to *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) nymphs associated to aphid and whitefly control in cotton. *Neotrop. Entomol.*, 33(1): 99 – 106.

Turlings TCJ, Erb M, 2018. Tritrophic interactions mediated by herbivore-induced plant volatiles: Mechanisms, ecological relevance, and application potential. *Annu. Rev. Entomol.*, 63: 433 – 452.

Wang ZQ, 2021. Effects of Low Concentrations of Sulfoxaflor and Imidacloprid on Longevity, Fecundity, Predation Function and Flight Potential of *Hippodamia variegata*. MSc Thesis, Northeast Agricultural University, Harbin. [王泽群, 2021. 低浓度氟啶虫胺脒与吡虫啉对多异瓢虫成虫寿命繁殖、捕食功能、飞行潜力的影响. 哈尔滨: 东北农业大学硕士学位论文]

Yu H, Zhang Y, Wyckhuys KAG, Wu K, Gao X, Guo Y, 2010. Electrophysiological and behavioral responses of *Microplitis mediator* (Hymenoptera: Braconidae) to caterpillar-induced volatiles from cotton. *Environ. Entomol.*, 39(2): 600 – 609.

Yu TT, He JF, Luo TT, Dong YB, Li ZG, Su SK, 2017. Effects of field realistic doses of imidacloprid on learning and memory of *Apis mellifera ligustica* (Hymenoptera: Apidae) workers. *Acta Entomol. Sin.*, 60(11): 1300 – 1306. [蔚添添, 和静芳, 罗婷婷, 董应波, 李志国, 苏松坤, 2017. 吡虫啉大田使用剂量对意大利蜜蜂工蜂学习和记忆的影响. 昆虫学报, 60(11): 1300 – 1306]

(责任编辑: 赵利辉)