吕朝军,钟宝珠,袁伟钦,等.椰子芯叶两种挥发物对红棕象甲成虫行为影响[J].山西农业大学学报(自然科学版),2024,44(3):83-88.
Lü C J, Zhong B Z, Yuan W Q, et al.Effects of two volatiles compounds from coconut palm core leaves on the behavioral of *Rhynchophorus ferrugineus* adults[J].Journal of Shanxi Agricultural University(Natural Science Edition), 2024,44(3):83-88.
doi: 10.13842/j.cnki.issn1671-8151.202309026

椰子芯叶2种挥发物对红棕象甲成虫行为影响

吕朝军[1],钟宝珠[1*],袁伟钦[1,2],李文莲[1]

(1.中国热带农业科学院 椰子研究所,海南 文昌 571339;2.华中农业大学 植物科学技术学院,湖北 武汉 430070)

摘　要:[目的]阐明红棕象甲对椰子芯叶挥发物E,E-2,4-壬二烯醛和反式-2-壬醛的行为学反应。[方法]采用室内生物测定法,研究了红棕象甲室内饲养个体和田间野生个体对椰子芯叶2种挥发物的室内选择行为,并分析了椰子挥发物处理对红棕象甲雌虫刺探、产卵的影响。[结果](1)经E,E-2,4-壬二烯醛处理后,室内饲养的雄虫对其产生显著正偏好;在经反式-2-壬醛处理后,室内饲养的雌虫和雄虫均对挥发物处理组表现出显著正偏好。(2)采用E,E-2,4-壬二烯醛处理后,室内饲养的雌虫对处理组椰皮的刺探数量显著高于对照组。(3)经E,E-2,4-壬二烯醛处理后,所有试虫的单雌产卵量和刺探成功产卵率,与对照相比均未达到显著差异水平。而经反式-2-壬醛处理后,室内饲养的红棕象甲雌虫对椰皮的产卵选择偏好显著高于对照处理组,且刺探产卵成功率与对照相比达到了极显著水平。(4)在对反式-2-壬醛和E,E-2,4-壬二烯醛处理的竞争选择结果中,室内饲养和田间诱捕的红棕象甲在行为选择、刺探及产卵中均未表现出显著差异。[结论]不同红棕象甲种群对椰子芯叶挥发物E,E—2,4—壬二烯醛和反式-2-壬醛的趋向偏好存在差异,并影响后期的刺探和产卵成功率,同时红棕象甲对这2种挥发物的竞争选择无差异。

关键词:红棕象甲; E,E-2,4-壬二烯醛; 反式-2-壬醛; 行为反应
中图分类号:S433.5　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1671-8151(2024)03-0083-06

红棕象甲(*Rhynchophorus ferrugineus*)是危害油棕、椰子、椰枣等棕榈植物的世界性重要害虫[1],具有危害隐蔽、致死率高、环境适应性强等特点[2],被多个国家列为检疫对象[3]。该虫主要危害棕榈树冠和茎干[4],可在二疣犀甲、芽腐病等为害造成的伤口、成虫直接取食生长点造成的损伤部位进行产卵从而危害树冠,进而侵入树体内部产生危害[5-6]。

红棕象甲在椰子树冠部为害并造成植株死亡的现象、植物次生物质对红棕象甲诱集和驱避方面的研究已有报道,如柏树、沙漠艾草、榄香和柠檬桉等主要挥发物混合物可使信息素诱捕器诱捕量减少高达92%[7]。椰枣组织提取物中的氨基酸和吲哚,比酚类更能吸引红棕象甲成虫[8]。但在椰子被红棕象甲危害时,椰子芯叶特异挥发物是否是导致红棕象甲精准定位危害的原因还未可知。

本文通过研究E,E-2,4-壬二烯醛和反式-2-壬醛对室内饲养和田间诱集的红棕象甲个体的产卵、刺探等行为影响,以期为揭示该虫定向危害椰子顶端的机制及生物源诱集药剂的研发提供参考。

1　材料与方法

1.1　实验材料

1.1.1　试虫

(1)红棕象甲室内种群来自中国热带农业科学院椰子研究所生物防治实验室,连续饲养不少于10代。为保证试虫个体未交配,在羽化前将虫茧单个分离培养,待羽化后收集成虫供试。

(2)田间种群为采用聚集信息素于海南省文昌市椰园诱捕获得。野外诱集的雌虫个体经室内单独饲养均出现产卵且卵孵化现象,因此认定田间采集的雌成虫个体均已交配。

试虫分为室内饲养的未交配雌成虫(Un-

收稿日期:2023-09-22　　**修回日期**:2023-12-22
基金项目:海南省自然科学基金高层次人才项目(322RC789)
作者简介:吕朝军(ORCID:0000-0002-3328-5300),博士,副研究员,研究方向:棕榈有害生物综合防治研究, E-mail:lcj5783@126.com
*通信作者:钟宝珠(ORCID:0000-0001-6749-172X),副研究员,研究方向:害虫生物防治技术研究, E-mail:baozhuz@163.com

mated female adults bred indoors,UFABI)和雄成虫(Unmated male adults bred indoors,UMABI)、采用诱捕器诱集获得的田间雌成虫(Female adults trapped in the field,FATF)和雄成虫(Male adults trapped in the field,MATF)。为保证试验结果一致性,试验前均以去除内果皮和果肉、保留外表皮(外皮)和中果皮(椰衣)的椰皮单独饲养7 d后,饥饿24 h供试。

1.1.2 挥发物

E,E-2,4-壬二烯醛(又名:反,反-2,4-壬二烯醛;英文名:trans, trans-2, 4-Nonadienal; Cas#:5910-87-2)和反式-2-壬醛(又名:反式-2-壬烯醛;英文名:trans-2-Nonenal; Cas#:18829-56-6)均购自上海麦克林生化科技股份有限公司,试验前用矿物油为溶剂稀释备用。根据前期昆虫嗅觉仪实验结果,选择对红棕象甲最敏感浓度供试,其中E,E-2,4-壬二烯醛浓度为100 ng·μL^{-1}、反式-2-壬醛浓度为10 ng·μL^{-1}。

1.2 试验方法

1.2.1 椰子心叶特异性挥发物质筛选

本研究前期采用顶空固相微萃取加气相色谱-质谱法筛选出芯叶组织特有的挥发物质种类E,E-2,4-壬二烯醛和反式-2-壬醛。

1.2.2 红棕象甲对椰子2种挥发物的室内选择行为

采用椰衣厚度为4~4.5 cm的椰皮为供试材料(以下实验同)。取生长7个月的海南本地种椰果的椰皮,将椰皮切割成10 cm × 10 cm × 4 cm的椰皮块。试验时采用5点注射法对椰皮块内部进行处理,每点注射0.02 mL挥发物质,共注射0.1 mL。处理后将椰皮块置于44.0 cm × 29.5 cm × 14.5 cm的养虫盒中。

E,E-2,4-壬二烯醛对成虫诱集效果:试验组养虫盒内放入注射100 ng·μL^{-1} E,E-2,4-壬二烯醛溶液的椰皮块1块,对照组养虫盒内放入注射矿物油的椰皮块1块;

反式-2-壬醛对成虫诱集效果:试验组养虫盒内放入注射10 ng·μL^{-1}反式-2-壬醛溶液的椰皮块1块,对照组养虫盒内放入注射矿物油的椰皮块1块。

红棕象甲成虫对E,E-2,4-壬二烯醛和反式-2-壬醛的竞争选择效果:一组养虫盒中放入注射100 ng·μL^{-1} E,E-2,4-壬二烯醛的椰皮1块,另一组养虫盒中放入注射10 ng·μL^{-1}反式-2-壬醛的椰皮1块。

以上各处理养虫盒中均接入红棕象甲成虫20头。24 h后统计各处理椰皮块下红棕象甲个体数量。试验重复3次。

1.2.3 椰子挥发物处理对红棕象甲雌虫刺探、产卵的影响

UFABI和UMABI按照1:1配对,以新鲜椰皮作为补充营养,任其自由交配5 d后,确保其充分交配;FATF和MATF采集后,单独饲养供试。

椰皮块处理及试验方法同1.2.2。试验时选择大小均匀的雌虫5头接入养虫盒中,处理24 h后统计各处理组椰皮内表面的刺探数,计算单雌刺探数量,同时移除试虫。为避免早期解剖椰皮对初产卵造成挤压破坏,影响试验结果的统计,本试验选择处理5 d后对椰皮仔细解剖,以收集到的椰皮内的卵和初孵幼虫数量作为产卵数,并计算刺探产卵成功率。

$$\text{刺探产卵成功率} = \frac{\text{产卵数}}{\text{刺探孔数}} \times 100\%$$

1.3 统计方法

数据均采用平均值±标准误(M±SE);差异显著性利用配对样本t检验进行分析,统计软件为Graphpad prism V8.0。

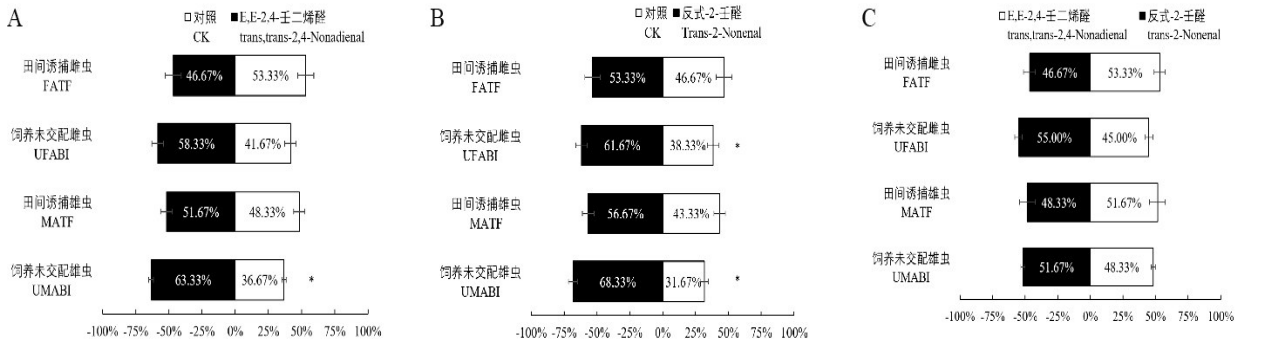
2 结果与分析

2.1 红棕象甲对椰子挥发物的室内选择行为

不同来源红棕象甲对椰子芯叶2种挥发物的选择趋性如图1。从结果可知,经E,E-2,4-壬二烯醛处理后(图1A),仅室内饲养的未交配雄虫对E,E-2,4-壬二烯醛处理的选择偏好性显著高于对照组,其它3组试虫均未表现出对E,E-2,4-壬二烯醛的显著偏好。在经反式-2-壬醛处理后(图1B),室内饲养的未交配的雌虫和雄虫均对挥发物处理组表现出显著的选择偏好。在对E,E-2,4-壬二烯醛和反式-2-壬醛的竞争选择行为中,无论是室内饲养还是田间诱捕的红棕象甲,均未对2种挥发物表现出选择差异(图1C)。

2.2 椰子挥发物处理对红棕象甲雌虫刺探行为的影响

不同种群的红棕象甲雌虫对椰子芯叶2种挥发物处理的椰皮块刺探结果如表1。经E,E-2,4-



A:红棕象甲对E,E－2,4－壬二烯醛选择行为;B:红棕象甲对反式－2－壬醛选择行为;C:红棕象甲对E,E－2,4－壬二烯醛和反式－2－壬醛的竞争选择行为。*表示同行数据在P＜0.05水平上差异显著。

A: Behavior preference to trans, trans-2,4,Nonadienal; B: Behavior preference to trans-2-Nonenal; C: Competitive behavior preference between trans, trans-2,4,Nonadienal and trans-2-Nonenal. *Indicates significantly difference between data in same parallel at the $P<0.05$ level

图1　红棕象甲不同种群对椰子芯叶挥发物的偏好性

Fig.1　Behavior preference between different *R. ferrugineus* populations responding to coconut core leaf volatiles

壬二烯醛处理后,室内饲养的雌虫对椰皮的刺探数量显著高于对照组($P=0.03$),而田间诱集的雌虫对处理组和对照组椰皮的刺探行为无显著差异。在反式-2-壬醛处理中,所有室内和田间种群红棕象甲雌虫对处理组和对照组的椰皮刺探孔数均未达到显著差异水平(P值分别为0.08和0.74)。在对反式-2-壬醛和E,E-2,4-壬二烯醛的竞争选择试验中,2种来源的红棕象甲雌虫对此2种物质处理的椰皮块刺探选择无差异。

表1　椰子芯叶挥发物处理对红棕象甲雌虫刺孔次数影响

Table 1　Effects of coconut core leaf volatiles treatments on the probing number of *R. ferrugineus* females

雌虫来源 Resource of female	单雌刺孔数 Number of puncture holes per female								
	E,E-2,4-壬二烯醛 trans, trans-2,4-Nonadienal	对照 CK	P值 P value	反式-2-壬醛 trans-2-Nonenal	对照 CK	P值 P value	E,E-2,4-壬二烯醛 trans, trans-2,4-Nonadienal	反式-2-壬醛 trans-2-Nonenal	P值 P value
室内饲养	21.87±1.65	15.13±1.27	0.03*	18.73±0.94	14.47±1.44	0.08	23.87±1.41	20.53±1.20	0.15
田间诱捕	15.20±0.76	16.00±1.29	0.62	16.60±0.81	16.00±1.50	0.74	17.73±1.73	16.87±1.54	0.73

注:*表示同行数据在$P<0.05$水平上差异显著

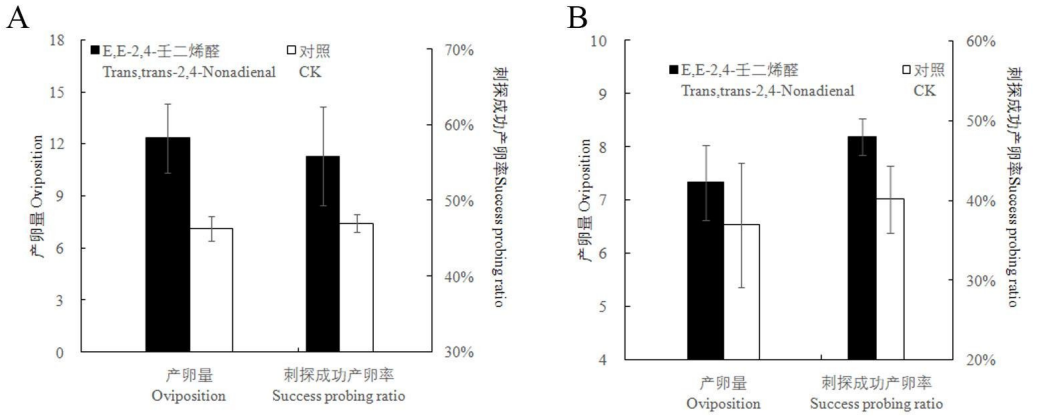
Note:* indicates significantly difference between data in same row at the $P<0.05$ level

2.3　椰子芯叶挥发物处理对红棕象甲雌虫产卵效果影响

经E,E-2,4-壬二烯醛处理后,室内饲养和田间诱捕的红棕象甲在椰皮块上的单雌产卵量和刺探成功产卵率,与对照相比均无显著差异(图2)。

经反式-2-壬醛处理后,室内饲养的红棕象甲雌虫对椰皮块的产卵选择偏好显著高于对照处理组($P=0.03$),且刺探成功产卵率与对照相比达到极显著水平($P=0.009$)(图3A);而田间雌虫对反式-2-壬醛处理的椰皮块未表现出显著的产卵选择偏好,在处理组和对照组椰皮块上的单雌产卵量分别为6.53粒和5.93粒,同时刺探成功产卵率亦无显著差异($P=0.73$)。

在同时添加反式-2-壬醛和E,E-2,4-壬二烯醛处理的椰皮块处理中,室内饲养和田间诱捕的红棕象甲雌虫均未对2种挥发物表现出产卵选择差异(图4)。

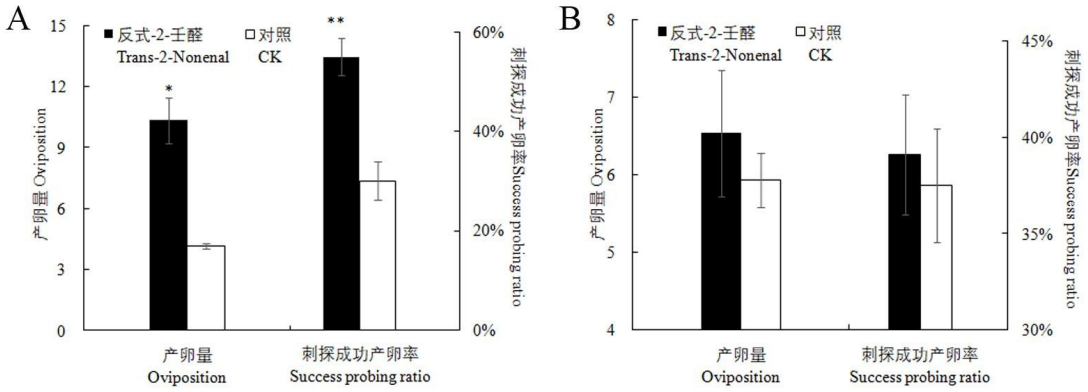


A 室内饲养的雌虫;B 田间诱捕的雌虫

A. Female adult reared in laboratory; B. Female adult trapped in field

图 2 E,E-2,4-壬二烯醛处理对红棕象甲雌虫产卵选择影响

Fig. 2 Effects of trans, trans -2,4-Nonadienal treatment on oviposition selection of *R. ferrugineus* female adults

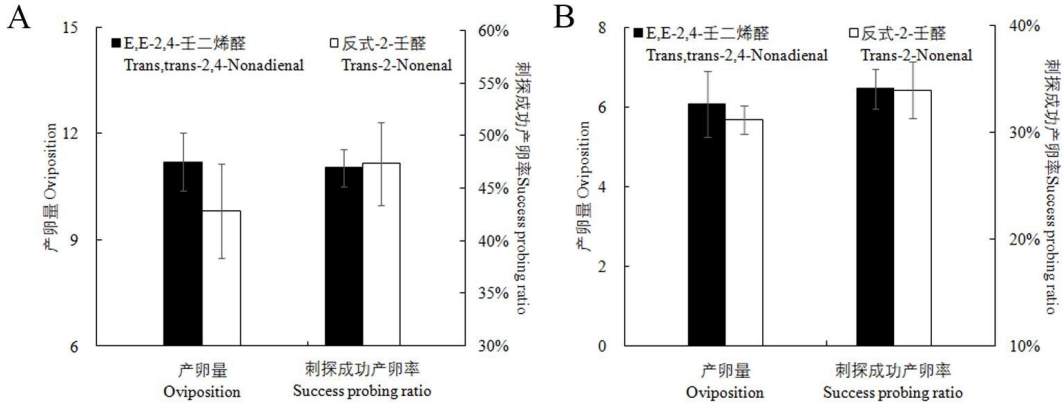


A. 室内饲养的雌虫;B. 田间诱捕的雌虫;*表明差异达到显著水平($P<0.05$),**表明差异达到极显著水平($P<0.01$)

A. Female adult reared in laboratory; B. Female adult trapped from field. * indicated significant difference ($P<0.05$), ** indicated extremely significant difference ($P<0.01$)

图 3 反式-2-壬醛处理对红棕象甲雌虫产卵选择影响

Fig. 3 Effects of trans-2-nonenal treatment on oviposition selection of *R. ferrugineus* female adult



A. 室内饲养的雌虫;B. 田间诱捕的雌虫;*表明差异达到显著水平($P<0.05$)

A. Female adult reared in laboratory; B. Female adult trapped in field. * indicated significant difference ($P<0.05$)

图 4 红棕象甲雌虫对椰子芯叶两种挥发物的产卵选择趋性

Fig. 4 Oviposition preference of *R. ferrugineus* females to two volatiles from coconut core leaves

3　讨论

植物挥发物是由植物体内代谢产生的小分子次生物质,在昆虫远程定位中起重要作用。不同种类的昆虫对其特定寄主的挥发物会表现出较强的趋性[9],如5种枣芽挥发物对枣飞象(*Scythropus yasumatsui*)成虫均有显著吸引作用[10]。红棕象甲是危害棕榈最严重的害虫之一[11],研究结果表明,添加其寄主椰枣果实可增加信息素对红棕象甲成虫的诱集效果[12]。

在本研究中,室内饲养的红棕象甲雄虫对E,E-2,4-壬二烯醛和反式-2-壬醛表现出行为选择偏好,同时室内饲养的未交配雌虫也对反式-2-壬醛表现出选择偏好,而田间诱集获得的红棕象甲均未对此2种挥发物表现出显著选择性,究其原因可能是田间诱捕个体在野外羽化后长时间接触椰子及其它棕榈的芯叶组织,对其挥发物的敏感性会减弱,而室内饲养种群长期采用人工饲料喂养会形成敏感性个体,导致其对寄主气味更加敏感,具体机理仍需进一步研究解析。

昆虫在确定产卵位点时会反复选择,如在强迫取食条件下,褐飞虱(*Nilaparvata lugens*)生物型1在感虫品种上的刺探频率显著减少,而生物型3在抗虫品种上的刺探频率显著增加[13]。试验观察发现,红棕象甲雌虫在确定产卵位点前,会用触角多次敲打供试的椰皮内表面,同时用产卵器反复尝试刺探,最终选择合适位置后会用喙部在椰皮上刺探打孔,然后调转身体将卵产入其中。本研究结果中,经E,E-2,4-壬二烯醛处理后,室内繁育雌虫对处理的椰皮的刺探频率显著高于对照组,而田间诱捕种群对处理组和对照组的刺探孔数无差异,可能是田间种群的野外产卵经历影响了其对椰皮的刺探效果,而室内种群由于之前长期未接触椰子挥发物,其对经E,E-2,4-壬二烯醛处理的椰皮更加敏感所致,然而后期的产卵量和刺探成功产卵率统计中,经E,E-2,4-壬二烯醛处理的椰皮中的红棕象甲产卵量和成功产卵率与对照相比均未达到显著差异水平。在反式-2-壬醛处理组中,室内和田间红棕象甲雌虫个体均未对其产生显著的刺探偏好,但室内个体的单雌产卵量和刺探成功产卵率与对照相比分别达到了显著($P<0.05$)和极显著($P<0.01$)水平,而田间个体则未表现出差异,说明反式-2-壬醛对未产卵过的红棕象甲表现出较好的引诱产卵效果。

昆虫在产卵前期的所有行为均为后期的产卵做铺垫。本研究中,2种挥发物质单独处理对红棕象甲雌虫的刺探行为、产卵行为影响有差异,如E,E-2,4-壬烯醛在诱导红棕象甲刺探方面效果显著,反式-2-壬醛在诱导产卵方面效果较好,这些结果均说明反式-2-壬醛和E,E-2,4-壬二烯醛可影响红棕象甲的产卵行为,相关研究结果可为红棕象甲信息素或信息素增效剂的研发提供新的思路。

4　结论

椰子心叶挥发物E,E-2,4-壬二烯醛和反式-2-壬醛会影响室内饲养的红棕象甲成虫的选择行为。其中,经E,E-2,4-壬二烯醛处理后,室内饲养的雄虫对其产生显著偏好;在经反式-2-壬醛处理后,室内饲养的雌虫和雄虫均对挥发物处理组表现出显著偏好。

对产卵行为影响结果显示,采用E,E-2,4-壬二烯醛处理后,室内饲养的雌虫对椰皮的刺探数量显著增加,而反式-2-壬醛处理后,室内饲养的红棕象甲雌虫对椰皮的刺探产卵成功率极显著提高。

因此,E,E-2,4-壬二烯醛和反式-2-壬醛对于为接触过椰子心叶的红棕象甲个体具有较强的吸引效果,此两种物质对于诱集新羽化且未取食和交配的红棕象甲个体具有一定的潜力,未来有望用于红棕象甲的综合治理。

参　考　文　献

[1]吕朝军,钟宝珠,刘丽,等. 槟榔园红棕象甲聚集信息素引诱剂使用技术规程[J]. 热带农业科学,2021,41(3):102-105.
Lü C J, Zhong B Z, Liu L, et al. Technical Regulation of *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) aggregation pheromone attractant in areca plantations[J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture,2021,41(3):102-105.

[2]Ahmad-Faris S-K, Faizatul A P, Amiratul N A. A, et al. A review on digestive system of *Rhynchophorus ferrugineus* as potential target to develop control strategies[J]. Insects,2023,14(6):506.

[3]王钦召,张康,肖斌,等. 入侵害虫红棕象甲适生性与风险分析研究进展[J]. 华中昆虫研究,2020,16(00):139-147.
Wang Q Z, Zhang K, Xiao B, et al. A review on adaptability and risk analysis in the invasive pest red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* [J]. Insect Research in Central China,2020,16(00):139-147.

[4]Soroker V, Blumberg D, Haberman A, et al. Current status of red palm weevil infestation in date palm plantations in Israel[J].

Phytoparasitica,2005,33(1):97-106.
[5]Yongkah W, Aisyah A B, Wahizatul A A. Fecundity, fertility and survival of red palm weevil (*Rhynchophorus ferrugineus*) larvae reared on sago palm[J]. Sains Malaysiana, 2015, 44(10):1371-1375.
[6]Justin C G L, Leelamathi M, Thangaselvabai T, et al. Bioecology and management of the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* Oliv.(Coleoptera:Curculionidae)on coconut- a review [J]. Agricultural Reviews, 2008, 29(2): 117-124.
[7]Levi-Zada A, Steiner S, Ben-Aziz O, et al. Sequential isolation of essential oils repellent to the red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier (Coleoptera: Curculionidae)[J]. Journal of Chemical Ecology,2023:1-12.
[8]Eman E H El-Rehawy. Evaluation studies of some extracted substances from date palm tissues on its attracting potential of the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) (Coleoptera: Curculionidae)[J]. Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, 2017,10(7): 217 - 220
[9]钦俊德. 诠释植食性昆虫是怎样选择食料植物的[J]. 生物学通报,2003,38(6):1-3.
Qin J D. Explain how herbivorous insects choose herbivorous plants[J]. Bulletin of Biology,2003,38(6):1-3.
[10]张鹏,杨杰,阎雄飞,等. 枣飞象对不同枣树品种挥发物的嗅觉行为反应[J]. 农学学报,2023,13(8):63-68.
Zhang P, Yang J, Yan X F, et al. Olfactory behavioral responses of *Pachyrhinus yasumatsui* to volatiles of different varieties of jujube trees[J]. Journal of Agriculture, 2023, 13(8):63-68.
[11]Manee M M, Alqahtani F H, Al-Shomrani B M, et al. Omics in the red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) (Coleoptera:Curculionidae):a bridge to the pest[J]. Insects, 2023,14(3):255.
[12]Abbas M K A, EL-DEEB M A, EL-ZOHAIRY M M, et al. Empact of the aggregation pheromone traps baited with fermented food materials on the attraction of the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) in Egypt[J]. Egyptian Journal of Agricultural Research, 2019, 97 (1): 67-75
[13]吕仲贤,俞晓平,谢忠平,等. 不同生物型褐飞虱的取食和产卵行为[J]. 植物保护学报,1999,26(3):203-207.
Lü Z X, Yu X P, Xie Z P, et al. The different feeding and oviposition behavior among brown planthopper biotypes[J]. Journal of Plant Protection,1999,26(3):203-207.

Effects of two volatiles compounds from coconut palm core leaves on the behavioral of *Rhynchophorus ferrugineus* adults

Lü Chaojun[1], Zhong Baozhu[1*], Yuan Weiqin[1,2], Li Wenlian[1]

(*1.Coconut Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Wenchan 571339, China; 2.College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China*)

Abstract:[Objective]The objective of this study was to elucidate the behavioral responses of *Rhynchophorus ferrugineus* to the volatile compounds E,E-2, 4-nonadienal and trans-2-nonenal from coconut core leaves. [Methods]Using indoor bioassay methods, we investigated the selection behavior of *R. ferrugineus* individuals reared in the laboratory and wild individuals from the field in response to two volatiles from coconut core leaves, and analyzed the effects of coconut volatiles on probing and oviposition by female red palm weevils. [Results](1)After treatment with E,E-2,4-nonadienal, laboratory-reared males showed a significant positive preference; After treatment with trans-2-nonenal, both females and males exhibited significant positive preference towards the volatile-treated group. (2)After treatment with E,E-2,4-nonadienal, laboratory-reared females showed significantly higher probing numbers on the treated coconut peels compared to the control group. (3)After treatment with E,E-2,4-nonadienal, there were no significant differences in the single-female oviposition amount and successful oviposition rate among all tested insects compared to the control. In contrast, after treatment with trans-2-nonenal, laboratory-reared females showed significantly higher preference for oviposition on coconut peels than the control group, and the probing oviposition success rate reached a highly significant level compared to the control. (4)In the competitive selection results for trans-2-nonenal and E,E-2,4-nonadienal treatments, laboratory-reared and field-trapped red palm weevils did not show significant differences in behavioral selection, probing, and oviposition. [Conclusion]There were differences in the directional preference of different *R. ferrugineus* populations towards volatile compounds E,E-2,4-nonadienal and trans-2-nonenal from coconut palm core leaves, which also affected the later probing and oviposition success rates. Meanwhile, there was no difference in the competitive selection of red palm weevils for these two volatile compounds.

Keywords:*Rhynchophorus ferrugineus*, E,E-2,4-nonadiena, Trans-2-nonenal, Behavioral responses

(编辑:吕俊俐)