

周东升,龙九妹. 棉铃虫和烟青虫幼虫对咖啡因的味觉行为及电生理反应[J]. 江苏农业科学,2015,43(6):119-121.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.06.038

# 棉铃虫和烟青虫幼虫对咖啡因的味觉行为及电生理反应

周东升, 龙九妹

(衡阳师范学院生命科学系,湖南衡阳 421008)

**摘要:**采用行为试验双选法研究棉铃虫和烟青虫幼虫对咖啡因的味觉行为反应,采用电生理顶端刺激法研究其电生理反应。行为试验表明,咖啡因对 2 种幼虫都是取食抑制素,但对寡食性的烟青虫表现出了更强的抑食性;电生理顶端刺激法研究表明,棉铃虫和烟青虫幼虫的中栓锥感受器均有 1 个对咖啡因敏感的抑食素神经元,烟青虫中栓锥感受器中的抑食素神经元对咖啡因的电生理脉冲反应显著强于棉铃虫的抑食素神经元。表明咖啡因对寡食性烟青虫的抑食效果要强于多食性的棉铃虫。行为上的抑食效果的不同与中栓锥感受器中抑食素神经元对咖啡因的敏感程度密切相关。

**关键词:**棉铃虫;烟青虫;咖啡因;取食抑制素;顶端刺激法

**中图分类号:** S186      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1002-1302(2015)06-0119-02

棉铃虫(*Helicoverpa armigera*)是世界性的农业害虫<sup>[1]</sup>,也是典型的多食性昆虫,寄主植物包括茄科,豆科,菊科等 30 余种 200 多种植物。而其近缘种烟青虫(*Helicoverpa assulta*)却是寡食性昆虫,仅仅取食辣椒,烟草等少数几种植物<sup>[2]</sup>。这 2 种昆虫对外界环境中的可溶性味觉化合物的感受主要是通过内唇和下颚须上的味觉感受器,以及外颚叶上的中栓锥和侧栓锥感受器<sup>[3]</sup>。外颚叶上的栓锥感受器内多个味觉神经元在取食行为中扮演着至关重要的角色<sup>[4]</sup>。取食抑制素神经元能感受外界环境的抑食素,它对抑食素的感受能抑制甚至停止昆虫的取食行为<sup>[4-5]</sup>。咖啡因对许多昆虫幼虫来说都是一种抑食素<sup>[6]</sup>,但其对棉铃虫和烟青虫的抑食效果所知甚少。本研究比较了多食性棉铃虫和寡食性烟青虫对咖啡因的行为和电生理反应,为深入理解不同食性昆虫味觉感受的机制提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 供试植物和昆虫 供试棉铃虫和烟青虫采自田间,在实验室内传代饲养,温度(25 ± 1)℃,相对湿度 60% ~ 70%,光暗周期 16 h/8 h。3 龄后将幼虫置于玻璃养虫管中饲养,每管 1 头,管内放置人工饲料,管口用棉塞堵住。成虫置于网笼中,用 10% 的蜂蜜水饲喂。用于行为试验和电生理试验的幼虫均以正常人工饲料饲养到 4 龄末。幼虫在 4 龄末蜕皮阶段从养虫管中取出后单独放于空管中,待其蜕皮到 5 龄后再饥饿 8 h 左右。

1.1.2 饲料的制备 棉铃虫和烟青虫人工饲料配方见表 1。

1.1.3 供试化合物和行为试验介质 咖啡因购自 Sigma-Aldrich 公司,纯度 > 99%。行为试验使用玻璃纤维滤纸

表 1 棉铃虫和烟青虫人工饲料配方

饲料成分	用量
麦胚粉	150 g
酵母粉	30 g
尼泊金	2 g
番茄酱	198 g
山梨酸	1 g
维生素 C	3 g
亚油酸	3 mL
琼脂粉	14 g
蒸馏水	700 mL

(Whatman® glass fiber filter paper) 作为取食介质,购自 Sigma-Aldrich 公司。

### 1.2 方法

1.2.1 行为试验 行为试验采用双选法(dual-choices tests),使用玻璃纤维滤纸作为取食介质。用打孔器将其打成直径 1 cm 的圆片,将 10 μL 的 10 mmol/L 咖啡因溶液用移液枪均匀加注于玻璃纤维滤圆片上,作为处理圆片;将 10 μL 蒸馏水均匀加注于玻璃纤维滤圆片上,作为对照圆片。将饥饿后的 5 龄幼虫置于培养皿中间,试验在 25℃ 温室进行。将 2 张处理滤纸圆片和 2 张对照滤纸圆片依次交叉放置于培养皿的内部边缘<sup>[7]</sup>,当有任意约 50% 的处理圆片或者对照圆片被取食后,剩下的圆片面积用惠普扫描仪扫描,用 Scion Image 软件计算表面积。并计算平均抑食指数(feeding deterrent index, FDI),FDI 表示取食抑制素抑制取食的强度,计算公式为:  $FDI = (C - T) / (C + T) \times 100$ ,式中: C 表示对照圆片被取食的面积, T 表示处理圆片被取食的面积。 FDI 的值在 1 ~ 100 之间, FDI 值越大则意味着抑食效果越强<sup>[8]</sup>。

1.2.2 电生理试验 使用电生理顶端刺激法<sup>[9]</sup>来测试侧栓锥和中栓锥感受器咖啡因的神经脉冲反应。取棉铃虫和烟青虫 5 龄初幼虫,用解剖刀片快速切下头部,将对照电极的一端稍微上翘并放入头壳内,撑开下颚使侧栓锥和中栓锥感受器伸展向外。对照电极的另一端与前置放大器相连接,后者和

收稿日期:2014-07-10

基金项目:国家自然科学基金(编号:31201750)。

作者简介:周东升(1979—),男,湖南衡阳人,博士,副教授,主要从事昆虫生理生化研究。E-Mail: dozhouds@163.com。

信号处理仪器连接在一起。2 mmol/L 氯化钾溶液为电生理测试的对照溶液,将咖啡因溶于 2 mmol/L 氯化钾溶液中,分别制成 0.1、1.0、10.0 mmol/L 咖啡因溶液,将其注入尖端直径约 30  $\mu\text{m}$  的玻璃微管中,即为测试电极。测试时味觉神经元反应的神经脉冲信号经前置放大器放大后传入信号处理仪器,再通过 Autospike 软件(Autospike 3.7, Syntech, Hilversum, The Netherlands)转换成峰值信号。峰值信号的计数为反应后 1 min,神经元信号的识别及强弱根据其反应振幅,频率及取食抑制素味觉神经元的特殊反应模式来判定<sup>[8]</sup>。

1.2.3 统计方法 在行为试验中,棉铃虫和烟青虫幼虫要么取食处理圆片要么取食对照圆片,因此采用成对 *t* 检验方法对试验数据进行分析 and 统计。电生理试验数据棉铃虫和烟青虫中栓锥感受器味觉神经元对咖啡因的神经脉冲反应结果采用 two-sample test 进行分析和统计。所有数据的检验均使用 SPSS 17.0 统计软件。

2 结果与分析

2.1 行为试验

从表 2 可以看出,棉铃虫和烟青虫幼虫都对咖啡因敏感,棉铃虫幼虫取食对照圆片显著多于处理圆片;烟青虫幼虫取食对照圆片极显著多于处理圆片,可见咖啡因对 2 种幼虫都是取食抑制素。但二者的 FDI 值有较大差异,咖啡因对棉铃虫幼虫的 FDI 值为 46.3,而烟青虫为 77.9,表明咖啡因对寡食性的烟青虫表现出了更强的抑食性。

表 2 棉铃虫和烟青虫幼虫对咖啡因的味觉行为试验

处理圆片	圆片面积( $\text{mm}^2$ )	
	棉铃虫	烟青虫
对照	68.7 $\pm$ 9.3 *	76.4 $\pm$ 8.7 **
处理	25.2 $\pm$ 4.6	9.5 $\pm$ 1.2
FDI	46.3	77.9

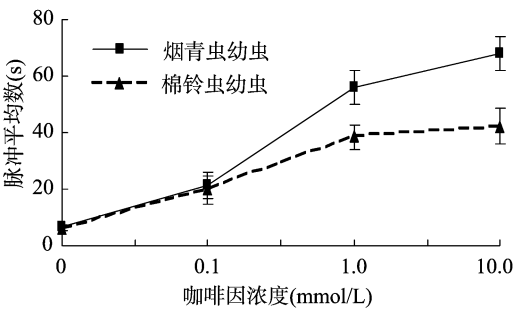
注:*n* = 20 头。每个样本 20 个重复,表中取食圆片面积均为“平均值  $\pm$  标准误”,“\*”“\*\*”表示对照与处理圆片差异显著、极显著。

2.2 电生理试验

电生理顶端刺激法研究结果表明,棉铃虫和烟青虫幼虫的中栓锥感受器均有 1 个对咖啡因敏感的抑食素神经元。从图 1 可以看出,烟青虫幼虫中栓锥感器对 1、10 mmol/L 咖啡因的电生理脉冲反应显著强于棉铃虫幼虫的反应,意味着其中栓锥感器中的取食抑制素味觉神经元对咖啡因的敏感程度高于棉铃虫,这也能解释了行为试验的结果。

3 结论与讨论

不管是多食性昆虫还是寡食性昆虫,植物所产生的次生性化学物质在取食过程中都扮演了重要作用。有多种次生性化学物质在行为上对昆虫起到抑制或者停止其取食的作用,被称为取食抑制素。昆虫都有取食抑制素味觉神经元,能感受外界环境的抑食素,这种神经元的激活能抑制甚至停止昆虫的取食行为<sup>[4-5]</sup>。咖啡因对许多植食性昆虫幼虫来说都是一种抑食素<sup>[6]</sup>,有报道咖啡因能引起昆虫抑食素神经元的脉冲反应<sup>[10]</sup>。本研究比较了多食性棉铃虫和寡食性烟青虫对咖啡因的行为和电生理反应,结果表明,咖啡因对 2 种幼虫都



每处理幼虫均为 20 头;数据为“平均值  $\pm$  标准误”,其中 1.0、10.0 mmol/L 咖啡因反应差异显著。

图 1 棉铃虫和烟青虫 5 龄初幼虫中栓锥感受器内取食抑制素神经元对咖啡因的剂量反应曲线

是取食抑制素,但对寡食性的烟青虫表现出更强的抑食性。棉铃虫和烟青虫幼虫的中栓锥感受器均有 1 个对咖啡因敏感的抑食素神经元,且烟青虫中栓锥感受器中的抑食素神经元对咖啡因的电生理脉冲反应显著强于棉铃虫的抑食素神经元。说明寡食性昆虫对于抑食素的反应强于多食性昆虫,暗示了在进化过程中寡食性昆虫对环境中抑食素的感受与探测强于多食性昆虫,寡食性昆虫更有益于其寻找特定的寄主植物;而多食性昆虫对于抑食素感受的相对较低也许与其取食多种寄主植物有关,这种特性可能有益于其适应和生存。

棉铃虫除了中栓锥感受器有抑食素味觉神经元,其侧栓锥感受器也有对咖啡因敏感的味觉神经元<sup>[11]</sup>。国内相关学者研究结果表明,棉铃虫幼虫的侧栓锥感受器对印楝素反应强烈<sup>[12]</sup>。本研究中烟青虫侧栓锥感受器未发现对咖啡因敏感的味觉神经元,只比较了棉铃虫和烟青虫幼虫中栓锥感受器内抑食性神经元对咖啡因的脉冲反应,尽管结果能解释行为试验的反应,但是也不能排除侧栓锥感受器和其他味觉感受器的影响,例如烟草天蛾幼虫的下颚须就有感受取食抑制素的味觉神经元<sup>[13]</sup>。这些感受器接受的化学信息,在中枢神经系统中进行整合,从而体现在行为上进食或拒食,这个过程是十分复杂的。

参考文献:

[1] Wu K M, Guo Y Y. The evolution of cotton pest management practices in China[J]. Annual Review of Entomology, 2005, 50: 31 - 52.

[2] Wang C Z, Dong J F. Interspecific hybridization of *Helicoverpa armigera* and *H. assulta* (Lepidoptera: Noctuidae)[J]. Chinese Science Bulletin, 2001, 46(6): 489 - 491.

[3] Miles C I, del Campo M L, Renwick J A. Behavioral and chemosensory responses to a host recognition cue by larvae of *Pieris rapae*[J]. Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology, 2005, 191(2): 147 - 155.

[4] Schoonhoven L M, van Loon J. An inventory of taste in caterpillars: each species its own key[J]. Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae, 2002, 48: 215 - 263.

[5] Dethier V G. The role of taste in food intake: a comparative view [M]//Simon S A, Roper S D. Mechanisms of taste transaction. Boca Raton: CRC Press, 1993: 3 - 25.

[6] Bernays E A, Chapman R F. Taste cell responses in the polyphagous arctiid, *Grammia geneura*: towards a general pattern for caterpillars [J]. Journal of Insect Physiology, 2001, 47(9): 1029 - 1043.

周德明,艾 芹,周国英. 12 种植物对油茶炭疽病菌和软腐病菌的抑制活性[J]. 江苏农业科学,2015,43(6):121-123.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.06.039

# 12 种植物对油茶炭疽病菌和软腐病菌的抑制活性

周德明,艾 芹,周国英

(中南林业科技大学经济林培育与保护教育部重点实验室,湖南长沙 410004)

**摘要:**采用滤纸片法初步测定了 12 种植物的 3 种有机溶剂粗提取物对油茶炭疽病菌、油茶软腐病菌的生物抑制活性,筛选出抑菌效果好的植物,测定其对 2 种油茶病原菌的抑菌作用。结果表明,博落回的 3 种粗提取物对油茶炭疽病菌、油茶软腐病菌均有抑制作用,其中乙醇粗提取物的抑制效果最好,对油茶炭疽病菌、油茶软腐病菌的抑制中浓度分别为 16.58、41.39 mg/mL,其中在浓度为 62.5 mg/mL 时,对油茶炭疽病菌、油茶软腐病菌的室内离体抑制率分别达 80.87% 和 61.1%。离体叶片保护治疗作用与林间防治作用和对照药剂效果相当,可达 60% 以上。

**关键词:**植物提取物;油茶;病原真菌;抑菌活性

**中图分类号:** S482.2<sup>+</sup>92 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)06-0121-03

油茶(*Camellia oleifera*)是我国特有的木本油料植物,主要分布于南方地区,是世界四大木本油料树种之一<sup>[1]</sup>。油茶籽及其副产品富含多种活性成分<sup>[2]</sup>,综合利用价值极高,具有较大的经济竞争潜力。近年来,油茶病害的频繁发生,尤其是油茶炭疽病、油茶软腐病等发病率高,危害普遍严重,是阻碍油茶林健康发展及发挥经济效益的重要原因之一<sup>[3]</sup>。

目前,化学防治仍然是油茶病害防治的主要途径,为了降低环境污染和减少茶油农药残留,实现油茶病害的综合治理,研究者们积极寻找环境友好型广谱杀菌剂<sup>[4]</sup>和其他的防治方法<sup>[5]</sup>。生物防治法以其安全、高效及环境友好等特点显示出了光明的前景,逐渐成为研究热点,其中利用抑菌植物提取物研制植物源杀菌剂就是一个重要方面<sup>[6]</sup>。本研究以油茶产区常见且有抑菌报道的植物为研究对象,筛选出了抑菌效果好的抑菌植物。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 供试菌株 油茶炭疽病菌 *Colletotrichum gloeosporioides*、油茶软腐病菌 *Agaricodochium camellia* 由中南林业科技大学经济林培育与保护教育部重点实验室菌种保藏中心提供,经鉴定具有较强致病性。

1.1.2 供试植物 试验共用 9 个科 12 种植物样品(表 1),于 2014 年 3—6 月采集于江西宜春油茶基地和中南林业科技大学周边。洗净后在室温下自然阴干,粉碎,过 40 目筛,置于 4℃ 冰箱中保存备用<sup>[7]</sup>。

1.1.3 供试药剂 95% 乙醇、丙酮、甲醇、二甲基亚砜,均为分析纯。

1.1.4 培养基 马铃薯液体培养基(PD),马铃薯琼脂培养基(PDA)。

### 1.2 方法

1.2.1 植物提取物的制备 每一种植物称取 3 份,每份 20 g,分别用 90% 乙醇、甲醇和丙酮按料液比 1 g:10 mL 在室温下浸渍提取 72 h<sup>[8]</sup>。抽滤后旋转蒸发至少量,待剩余溶剂自然挥发成浸膏状,于 4℃ 下保存备用<sup>[9]</sup>。

1.2.2 病原菌菌液的制备 将供试油茶炭疽病菌和油茶软腐病菌进行活化,转接到马铃薯液体培养基中,置于摇床中振

收稿日期:2015-01-26

基金项目:林业公益性行业科研专项(编号:2013044403)。

作者简介:周德明(1964—),男,湖南祁东人,博士,副教授,主要从事微生物教学与科研工作。

通信作者:周国英,博士,教授,主要从事森林保护、微生物教学及研究。E-mail:gyzhou2118@163.com。

[7] Tang Q B, Jiang J W, Yan Y H, et al. Genetic analysis of larval host-plant preference in two sibling species of *Helicoverpa* [J]. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 2006, 118(3): 221-228.

[8] Zhou D S, Wang C Z, van Loon J J. Chemosensory basis of behavioural plasticity in response to deterrent plant chemicals in the larva of the small cabbage white butterfly *Pieris rapae* [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2009, 55(9): 788-792.

[9] Hodgson E S, Lettvin J Y, Roeder K D. Physiology of a primary receptor unit [J]. *Science*, 1955, 122: 417-418.

[10] Glendinning J I, Ensslen S, Eisenberg M E, et al. Diet-induced plasticity in the taste system of an insect: localization to a single transduction pathway in an identified taste cell [J]. *Journal of*

*Experimental Biology*, 1999, 202: 2091-2102.

[11] Zhang H J, Faucher C P, Anderson A, et al. Comparisons of contact chemoreception and food acceptance by larvae of polyphagous *Helicoverpa armigera* and oligophagous *Bombyx mori* [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2013, 39(8): 1070-1080.

[12] 汤德良,王琛柱,罗林儿,等. 棉铃虫和烟青虫幼虫下颚栓锥感器对某些化合物反应特性的比较 [J]. *中国科学: C 辑*, 2000, 30(5): 511-516.

[13] Glendinning J I, Valcic S, Timmermann B N. Maxillary palps can mediate taste rejection of plant allelochemicals by caterpillars [J]. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology Sensory Neural and Behavioral Physiology*, 1998, 183(1): 35-43.