



蒲宇辰, 向海军, 黄斌, 侯有明. 水椰八角铁甲不同日龄和性别成虫表皮碳氢化化合物的种类及动态 [J]. 环境昆虫学报, 2020, 42 (4): 838–846.

水椰八角铁甲不同日龄和性别成虫表皮 碳氢化化合物的种类及动态

蒲宇辰^{1,2,3}, 向海军^{1,2,4}, 黄斌^{1,2}, 侯有明^{1,2*}

(1. 福建农林大学闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室, 福州 350002; 2. 福建农林大学植物保护学院福建省昆虫生态学重点实验室, 福州 350002; 3. 闽南师范大学生物科学与技术学院, 福建漳州 363000; 4. 菲鹏生物股份有限公司, 广东东莞 523808)

摘要: 水椰八角铁甲 *Octodonta nipae* (Maulik) 是一种严重为害棕榈科植物的外来入侵害虫。为了明确日龄和性别等个体因素对水椰八角铁甲成虫表皮碳氢化化合物的影响, 本研究采用化学萃取法和气相色谱-质谱联用技术, 分析了不同日龄的水椰八角铁甲雌、雄成虫表皮碳氢化化合物的组成和含量。结果表明, 水椰八角铁甲成虫的表皮碳氢化合物由 21 种 C₁₈-C₃₀ 的碳氢化合物构成, 包括 11 种正构烷烃、2 种单甲基烷烃、1 种多甲基烷烃、3 种正构烯烃、1 种单甲基烯烃和 3 种环烷烃。不同日龄和性别成虫的表皮碳氢化化合物的组成种类相同, 但是一些组分的含量有明显变化, 例如 1 d、5 d、10 d 和 15 d 雌、雄成虫之间正二十四烷、正二十六烷、2-甲基十九烷和 1-二十烯的含量存在显著差异。水椰八角铁甲成虫表皮碳氢化合物具有性二型, 如性成熟雄虫的表皮的正二十烷、正二十一烷、正二十四烷、正二十六烷、2-甲基十九烷、10-甲基二十烷、1-二十烯和 1-二十二烯的含量显著高于性成熟雌虫。本文的研究结果可为检验检疫过程中水椰八角铁甲近缘种, 以及日龄、性别和性成熟的快速鉴定提供支持。

关键词: 水椰八角铁甲; 表皮碳氢化合物; 化学信息素; 性别二态性

中图分类号: Q968.1; S433

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2020) 04-0838-09

Categories and dynamics of cuticular hydrocarbons in *Octodonta nipae* adults with different ages and sexes

PU Yu-Chen^{1,2,3}, XIANG Hai-Jun^{1,2,4}, HUANG Bin^{1,2}, HOU You-Ming^{1,2*} (1. State Key Laboratory of Ecological Pest Control for Fujian-Taiwan Crops, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2. Fujian Provincial Key Laboratory of Insect Ecology, College of Plant Protection, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 3. School of Biological Science and Biotechnology, Minnan Normal University, Zhangzhou 363000, Fujian Province, China; 4. Fapon Biotech Inc., Dongguan 523808, Guangdong Province, China)

Abstract: The nipa palm hispid *Octodonta nipae* (Maulik) is a species of invasive pests, which can cause serious damage to palms. To clarify the effects of age and sex on cuticular hydrocarbons (CHCs) in *O. nipae* adults, the components and contents of CHCs from *O. nipae* male and female adults at different ages were analyzed by chemical extraction and gas chromatography-mass spectrometry. The results indicated some differences in the content of some CHCs components from *O. nipae* adults of different age and sex,

基金项目: 国家重点研发计划课题 (2017YFC1200605); 福建省科技重大专项 (2017NZ0003-4-6)

作者简介: 蒲宇辰, 男, 1992 年生, 福建漳州人, 博士, 研究方向为昆虫生态与害虫综合治理、入侵昆虫学, E-mail: fafupuyuchen@163.com

* 通讯作者 Author for correspondence: 侯有明, 男, 博士, 教授, E-mail: ymhou@fafu.edu.cn

收稿日期 Received: 2020-06-08; 接受日期 Accepted: 2020-07-03

but the CHCs profiles showed similarities. Total of 21 hydrocarbons, ranging from C_{18} to C_{30} , were separated from the epidermis of *O. nipae* adults, including 11 n-alkanes, 2 monomethyl alkanes, 1 polymethyl alkane, 3 n-alkenes, 1 monomethyl alkene and 3 cycloalkanes. There were significant differences in the content of n- C_{24} , n- C_{26} , 2-me C_{19} ane, and 1- C_{20} ene, among *O. nipae* male or female adults at 1 d, 5 d, 10 d and 15 d after eclosion. CHCs of *O. nipae* adults presented sexual dimorphism. The content of some chemicals, containing n- C_{20} , n- C_{21} , n- C_{24} , n- C_{26} , 2-me C_{19} ane, 10-me C_{20} ane, 1- C_{20} ene, and 1- C_{22} ene, from the mature male adults were significantly higher than those of mature females. Our findings provided a support for the quick identification of closely related species, age, sex and sexual maturity of *O. nipae* during border inspection and quarantine.

Key words: Nipa palm hispid; cuticular hydrocarbons; chemical pheromone; sexual dimorphism

水椰八角铁甲 *Octodonta nipae* (Maulik) 隶属于鞘翅目 Coleoptera、叶甲科 Chrysomelidae、潜甲亚科 Anisoderinae、隐爪族 Cryptonichini, 最早起源于马来西亚 (Maulik, 1921), 我国于 2001 年在海南省东方市江南苗圃内的华盛顿棕榈 *Washingtonia filifera* 上首次发现该虫的踪迹 (孙江华等, 2003), 并已于 2013 年将其列入全国林业危险性有害生物名录 (国家林业局, 2013)。目前, 该虫已入侵扩散至我国福建、海南、广东、广西、云南等南方的多个省份, 并成功定殖 (孙江华等, 2003; Hou and Weng, 2010)。其幼虫和成虫主要取食为害加拿利海枣 *Phoenix canariensis*、银海枣 *P. sylvestris*、刺葵 *P. hancea*、椰子 *Cocos nucifera*、蒲葵 *Livistona chinensis*、槟榔 *Areca catechu*、假槟榔 *Archontophoenix alexandrae* 等多种棕榈科植物未完全展开的心叶, 使叶片呈现褐色的条斑、皱缩或卷曲, 严重影响了入侵地的棕榈产业和园林景观, 造成显著经济和观赏价值损失 (Hou and Weng, 2010; 张秩勇, 2010; 张翔, 2015)。

昆虫表皮碳氢化合物 (cuticular hydrocarbons, CHCs) 是稳定存在于昆虫上表皮蜡质层中的含碳数一般为 20~50 不等的长链烃类混合物, 包括直链饱和烃、直链不饱和烃、支链饱和烃和支链不饱和烃 (Blomquist and Dillwith, 1985; Lockey, 1988)。现有研究表明, 昆虫表皮碳氢化合物的组分和含量具有物种特异性, 因此它们已被广泛应用于蜜蜂、蚂蚁、白蚁、棉铃虫 *Helicoverpa armigera*、烟青虫 *Heliothis assulla* 等多种昆虫的分类研究中 (高明媛等, 1999; 张红兵等, 2005; 梁小松等, 2009)。然而表皮碳氢化合物在近缘种、乃至同一物种不同个体之间也可能存在差异 (Blomquist *et al.*, 1979)。据杨锦锦等 (2015) 报道, 黑翅土白蚁 *Odontotermes formosanus* 的表皮碳

氢化合物具有品级特征, 工蚁、兵蚁、幼蚁和生殖蚁的表皮碳氢化化合物的种类相同, 但含量存在差异。Xue 等 (2016) 还发现, 叶甲科跳甲属 *Altica* 个体表皮碳氢化化合物的种类和含量依性别、虫龄、交配与否、性成熟与否等自身因素而异。此外, 昆虫表皮碳氢化化合物的组分和含量也会受外界环境因子的影响, 例如已有报道表明食物因素可以引起桔小实蝇 *Bactrocera dorsalis* 的种内表皮碳氢化合物组分的改变 (雷妍圆等, 2017)。

在许多昆虫中, 表皮碳氢化合物还是一类重要的信息化合物, 可以充当化学信号线索, 参与生物个体之间的亲系识别和配偶选择 (Martin and Drijfhout, 2009; Steiger *et al.*, 2015; Lane *et al.*, 2016)。Kirchner 和 Minkley (2003) 研究表明, 草白蚁 *Hodotermes mossambicus* 可以通过交哺表皮碳氢化合物来区分同巢幼蚁和异巢幼蚁。这进一步说明表皮碳氢化合物是巢间识别中可以相互传递的一类重要信息物质。而在蟋蟀雄雄竞争和雌性配偶选择中的研究表明, 昆虫在配偶选择过程中, 相同环境下不同个体之间表皮碳氢化合物通常具有不同的表观遗传, 配偶之间可以利用这种差异评估遗传相似性 (Kortet and Hedrick, 2005; Thomas and Simmons, 2008; Steiger *et al.*, 2015)。因此, 雌性可以依赖于自身表皮碳氢化合物作为化学模板去感知潜在配偶的化学模板, 然后评估配偶质量来决定是否交配, 一旦交配则会引起配偶双方表皮碳氢化合物的变化, 这样就可以避免近亲交配或多次交配 (Capodeanu-Nägler *et al.*, 2014)。在蟋蟀 *Teleogryllus oceanicus* 中, 雌性个体更倾向于与那些拥有相异表皮碳氢化合物谱的个体进行交配, 而且配偶之间的表皮碳氢化合物谱相似性与遗传相似性呈正相关 (Thomas and Simmons, 2011), 这说明个体的表皮碳氢化合物谱

能够反映它们的遗传质量,从而作为配偶选择的信号来影响交配双方的吸引力 (Steiger and Stokl, 2014)。

水椰八角铁甲作为一种入侵害虫,具有聚集为害和世代重叠等生物学特性 (Hou and Weng, 2010),而昆虫表皮碳氢化合物能够提供与日龄、性别和物种分化相关的重要信息 (张红兵等, 2005; Xue *et al.*, 2016)。然而国内外对该虫表皮碳氢化合物的研究尚未见报道。为此,本研究基于化学生态学,应用气相色谱-质谱联用 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 技术,利用整体化学浸提 (萃取) 法和液体进样法,对不同日龄和不同性别的水椰八角铁甲成虫个体的表皮碳氢化合物进行检测,在确定表皮碳氢化合物组分的基础上,分析不同日龄和不同性别间个体表皮碳氢化合物的差异,旨在明确个体因素对该虫表皮碳氢化合物组分与含量的影响,以期为近缘种的种类识别及该虫的日龄、性别和性成熟与否的快速鉴定及其检验检疫监测提供新的技术手段和详实可靠的数据支持。同时,本文也为进一步研究昆虫的配偶选择机制奠定理论基础,从而可为开发以昆虫表皮碳氢化合物为靶标的新型害虫抑制剂或行为干扰剂提供新的思路和途径。

1 材料与方 法

1.1 供试昆虫的采集及饲养

供试水椰八角铁甲虫源采自福建省漳州市漳浦县台湾农民创业园 (24.18°N, 117.40°E),寄主为加拿利海枣。在实验室内,将采集到的野外种群饲养于瓶底垫有滤纸的组织培养瓶 (直径 6 cm, 高 9 cm) 中。从福建省福州市城市绿化带采集加拿利海枣叶片用于饲养水椰八角铁甲,每 3 d 更换一次新鲜的叶片。幼虫化蛹后,挑取单头蛹置于单个指形管 (直径 1.5 cm, 高 7 cm) 内,直至羽化为成虫,并用于后续试验。该虫的饲养条件为温度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, RH $50\% \pm 10\%$, 光暗周期 L:D = 12:12。所有试验均在可精确控温控湿的人工气候箱中进行。

1.2 试验试剂和仪器

主要仪器和耗材: 7890A-5975B 气相色谱-质谱联用仪 (美国 Agilent 公司); N_2 低温吹填蒸发浓缩装置 (长沙自动化仪表厂); 石英毛细管色谱柱 HP-5MS (0.25 mm \times 30 m \times 0.25 μm) (美国

Agilent 公司); 2 mL 棕色色谱进样瓶 (美国 Agilent 公司); 5 mL 一次性塑料医用注射器 (康友牌); 0.22 μL 微孔滤膜 (PALL) 等。

主要试剂: 99.8% 色谱纯正己烷 (Aladdin); $\text{C}_7 - \text{C}_{40}$ 正构烷烃混合标样 (Sigma-Aldrich); C_{18} 正构烷烃标样 (Dr. Ehrenstorfer) 等。

1.3 水椰八角铁甲成虫表皮浸提物样品的制备

分别选取 5 头羽化 1 d、5 d、10 d 和 15 d 的水椰八角铁甲雌成虫或雄成虫,先用液氮迅速冷冻 2 min 致死,然后用超纯水清洗 3 遍,再用滤纸吸干水分。其中,15 日龄为该虫的性成熟阶段 (张翔, 2015)。将处理过的 5 头试虫作为一个样品放入 2 mL 色谱进样瓶内,加入 1 mL 色谱纯正己烷浸泡 10 min。将提取液转移至另一个 2 mL 进样瓶中,再用套上 0.22 μL 微孔滤膜的 5 mL 一次性塑料医用注射器过滤至第 3 个 2 mL 进样瓶中。最后将含有表皮浸提物的 2 mL 进样瓶置于通风橱内,用纯 N_2 低温蒸发 2 min,待正己烷蒸发完全后再加入 200 μL 含有正十八烷 (100 ppm) 内参的正己烷,定量后清洗瓶壁,置于 -20°C 中保存备用。而后进行气相色谱-质谱联用检测,以定性鉴定和定量分析水椰八角铁甲成虫表皮碳氢化合物的组成成分及其含量。每种处理进行 5 次生物学重复。

1.4 仪器分析条件

GC-MS 升温条件如下: 起始温度 50°C , 保持 2 min, 然后以 $23^\circ\text{C}/\text{min}$ 的速率升至 280°C , 再以 $2^\circ\text{C}/\text{min}$ 的速率升至 310°C , 保持 10 min, 整个程序共 37 min。以高纯氦气作为载气,流速为 1 mL/min,柱压为 7.652 psi。电子轰击离子源 (EI) 的电子能量 70 eV,离子源温度 230°C ,四级杆温度为 150°C 。进样口温度 290°C ,采取不分流模式。质谱扫描范围为 m/z 40 ~ 650。GC 与 MS 之间连接温度为 300°C ,溶剂延迟 2 min。

1.5 数据分析

1.5.1 表皮碳氢化合物的定性分析

首先通过气相色谱的分离,得到水椰八角铁甲成虫表皮碳氢化合物的总色谱图和各分离组分的出峰保留时间,然后按照 Kováts (1965) 的方法计算各组分的科瓦茨保留指数 (Kováts Index, KI)。将获得的质谱图离子碎片和各组分的保留时间与 $\text{C}_7 - \text{C}_{40}$ 标准品的保留时间进行比对,在 NIST11 数据库中检索,初步确认表皮碳氢化合物的结构。同时也将保留指数、特征离子峰和荷质

比等参数信息与已发表文献所提供的表皮碳氢化合物进行比对 (Goh *et al.*, 1993; 雷妍圆等, 2017), 从而确定水椰八角铁甲表皮碳氢化合物的种类。

1.5.2 表皮碳氢化合物的定量分析

根据水椰八角铁甲成虫表皮碳氢化合物的总色谱图, 分别对每一种表皮碳氢化合物的出峰面积进行积分, 获得相应的各组分峰的面积 (峰面积或峰高与组分的含量成正比), 再除以同条件下正十八烷内参的积分面积来得到相对面积比率。将所有相对面积比率乘以内参正十八烷的含量即得每种碳氢化合物的绝对含量, 以此作为试虫表皮碳氢化合物混合物中各组分的定量指标。其中, 正十八烷绝对含量减去内参含量等于水椰八角铁甲自身的含量。

1.5.3 不同日龄和不同性别的水椰八角铁甲成虫表皮碳氢化合物的组成比较

所有试验数据的统计分析利用 SPSS 21.0 软件 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 进行。其中, 相同性别不同日龄的水椰八角铁甲成虫表皮碳氢化合物绝对含量间的差异显著性检验采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 和 Tukey HSD 多重比

较的方法, 而对相同日龄的水椰八角铁甲雌成虫和雄成虫之间表皮碳氢化合物绝对含量的差异性比较则采用独立样本 *t* 检验 (independent-sample *t* test) 进行。显著性水平 α 均为 0.05。

2 结果与分析

2.1 水椰八角铁甲成虫表皮碳氢化合物的种类

不同日龄和不同性别的水椰八角铁甲成虫的表皮碳氢化合物在组分上不存在差异, 皆含有相同种类的正构烷烃、单甲基烷烃、多甲基烷烃、正构烯烃、单甲基烯烃和环烷烃等共 6 大类 21 种碳氢化合物, 它们的碳链长度从 18 到 30 不等 (表 1)。其中, 正构烷烃的种类在所有碳氢化合物中的占比最大, 为 52.38%。其次是正构烯烃和环烷烃, 皆占有所有碳氢化合物种类的 14.29%。种类最少的为单甲基烷烃 (9.52%)、多甲基烷烃 (4.76%) 和单甲基烯烃 (4.76%) 等支链碳氢化合物。这一结果表明, 水椰八角铁甲成虫的表皮碳氢化合物以正构烷烃等含碳数为 20~30 不等的直链饱和烃为主。

表 1 水椰八角铁甲成虫表皮碳氢化合物的组成成分

Table 1 Components of cuticular hydrocarbons in *Octodonta nipae* adults

类别 Category	碳氢化合物 Cuticular hydrocarbons	碳数 Carbon number	保留时间 (min) Retention time
正构烷烃 n-Alkanes	正二十烷 n-C ₂₀	20	11.123
	正二十一烷 n-C ₂₁	21	11.544
	正二十二烷 n-C ₂₂	22	11.938
	正二十三烷 n-C ₂₃	23	12.364
	正二十四烷 n-C ₂₄	24	12.799
	正二十五烷 n-C ₂₅	25	13.263
	正二十六烷 n-C ₂₆	26	13.828
	正二十七烷 n-C ₂₇	27	14.437
	正二十八烷 n-C ₂₈	28	15.130
	正二十九烷 n-C ₂₉	29	15.929
单甲基烷烃 Monomethyl alkanes	2-甲基十九烷 2-MeC ₁₉ ane	20	12.106
	10-甲基二十烷 10-MeC ₂₀ ane	21	7.183
多甲基烷烃 Polymethyl alkanes	2, 6, 10, 15-四甲基二十一烷	25	7.421
	2, 6, 10, 15-4MeC ₂₁ ane		

续表 1 Continued table 1

类别 Category	碳氢化合物 Cuticular hydrocarbons	碳数 Carbon number	保留时间 (min) Retention time
正构烯烃 n-Alkenes	1-二十烯 1-C ₂₀ ene	20	11.456
	反式-10-二十一烯 (10E) -C ₂₁ ene	21	10.472
	1-二十二烯 1-C ₂₂ ene	22	12.272
单甲基烯烃 Monomethyl alkenes	5-甲基-5-顺式-二十二烯 5-Me-(5Z) -C ₂₂ ene	23	11.334
环烷烃 Cycloalkanes	环二十四烷 Cyclotetracosane	24	13.168
	环十八烷 Cyclooctacosane	18	16.168
	环三十烷 Cyclotriacontane	30	17.402

2.2 不同日龄的水椰八角铁甲成虫表皮碳氢化合物含量的动态变化

在 21 种水椰八角铁甲成虫表皮碳氢化合物中, 不同日龄的雄虫只有 5 种化合物的含量发生了显著变化, 分别是正二十四烷 ($F_{3,16} = 5.573$, $P < 0.05$)、正二十六烷 ($F_{3,16} = 13.336$, $P < 0.01$)、2-甲基十九烷 ($F_{3,16} = 6.902$, $P < 0.05$)、10-甲基二十烷 ($F_{3,16} = 6.245$, $P < 0.05$) 和 1-二

十烯 ($F_{3,16} = 12.019$, $P < 0.01$) (图 1)。其中, 正二十四烷 (最高 156.89 ng/5 头)、正二十六烷 (最高 878.69 ng/5 头) 和 1-二十烯 (最高 832.19 ng/5 头) 的平均绝对含量于 10 日龄前皆不存在显著差异, 10 日龄后开始显著上升, 在 15 日龄性成熟时达到最大, 此时相对含量分别为 1.15%、6.42% 和 6.08%。而 2-甲基十九烷和 10-甲基二十烷在不同日龄间的动态变化规律一致,

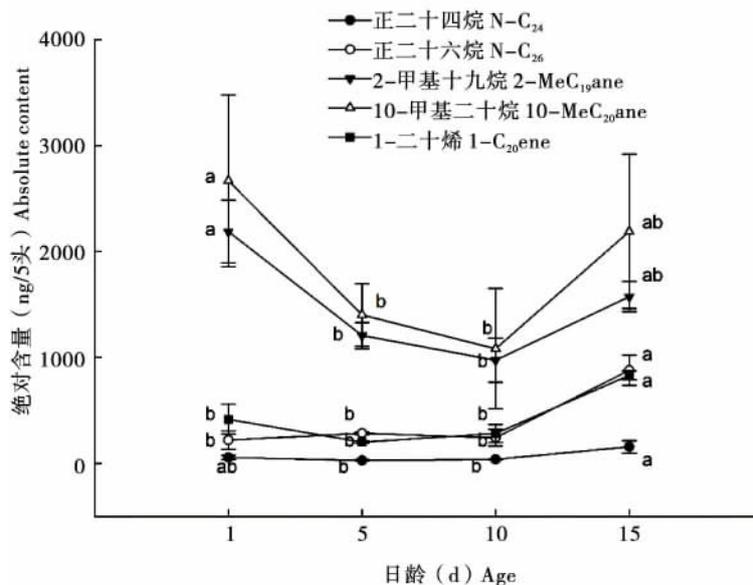


图 1 水椰八角铁甲雄性成虫存在差异的表皮碳氢化合物的绝对含量在不同日龄之间的变化

Fig. 1 Changes of the absolute content of cuticular hydrocarbons with significant difference in different ages of *Octodonta nipae* male adults

注: 图中数据为平均值 \pm 标准误。不同的小写字母表示相同的表皮碳氢化合物在不同日龄的成虫中的绝对含量存在显著差异 ($P < 0.05$)。下图同。Note: Data are shown as mean \pm standard error (SE). Different small letters indicate that there are significant differences to absolute contents among adults of different ages with the same cuticular hydrocarbons. The same below.

它们的含量在刚羽化时(1日龄)最高,平均绝对含量分别为 2 189.64 ng/5 头和 2 668.15 ng/5 头,相对含量分别为 15.35% 和 18.70%,随后开始显著下降,5日龄、10日龄和15日龄之间没有显著差异。

然而,不同日龄的水椰八角铁甲雌性成虫之间含量发生显著变化的表皮碳氢化合物共有12种,分别是正二十烷($F_{3,16} = 19.149, P < 0.001$)、正二十一烷($F_{3,16} = 5.391, P < 0.05$)、正二十三烷($F_{3,16} = 6.222, P < 0.05$)、正二十四烷($F_{3,16} = 7.274, P < 0.05$)、正二十六烷($F_{3,16} = 7.274, P < 0.05$)、正二十八烷($F_{3,16} = 6.758, P < 0.05$)、正三十烷($F_{3,16} = 4.799, P < 0.05$)、2-甲基十九烷($F_{3,16} = 5.391, P < 0.05$)、2,6,10,15-四甲基二十一烷($F_{3,16} = 12.350, P < 0.01$)、1-二十烯($F_{3,16} = 90.392, P < 0.001$)、

反式-10-二十一烯($F_{3,16} = 8.388, P < 0.01$)和5-甲基-5-顺式-二十二烯($F_{3,16} = 4.769, P < 0.05$) (图2)。其中,在刚羽化(1d)至性成熟(15d)期间,正二十烷、正二十一烷、正二十三烷、正二十六烷、2-甲基十九烷、2,6,10,15-四甲基二十一烷、1-二十烯和反式-10-二十一烯的含量的动态变化趋势基本相似,虽然这些化合物的含量在羽化5d、10d和15d的雌成虫之间不存在显著差异,但是皆显著低于1日龄时的含量,即它们的平均绝对含量和相对含量在刚羽化时最高,分别是854.09 ng/5头(6.15%)、1 282.67 ng/5头(9.24%)、824.91 ng/5头(5.94%)、831.68 ng/5头(5.99%)、1 455.24 ng/5头(10.48%)、1 560.58 ng/5头(11.24%)、846.09 ng/5头(6.09%)和888.06 ng/5头(6.40%)。与1日龄(137.15 ng/5头)相比,5日龄(21.69 ng/5头)和15日龄(13.64 ng/5头)表皮正

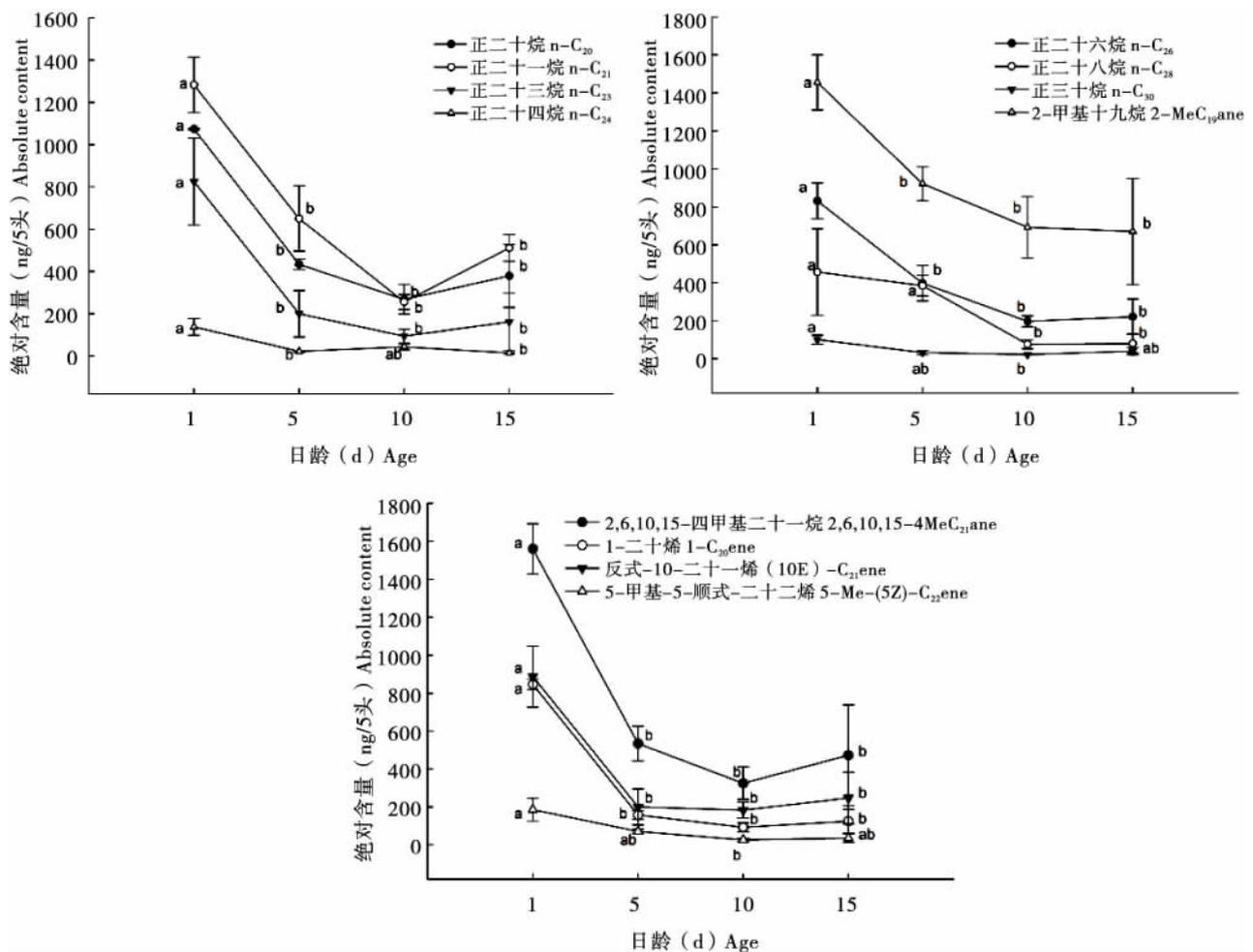


图2 水椰八角铁甲雌性成虫存在差异的表皮碳氢化合物的绝对含量在不同日龄之间的变化
Fig. 2 Changes of the absolute content of cuticular hydrocarbons with significant difference in different ages of *Octodonta nipae* female adults

二十四烷的平均绝对含量皆显著降低。而正二十八烷的含量在 10 日龄时才开始显著低于 1 日龄时的含量, 平均绝对含量分别是 75.75 ng/5 头和 456.17 ng/5 头, 相对含量分别为 2.11% 和 3.29%。此外, 正三十烷和 5-甲基-5-顺式-二十二烯的绝对含量只有在羽化 1 d (分别是 100.83 ng/5 头和 185.60 ng/5 头) 和羽化 10 d (分别是 21.91 ng/5 头和 26.58 ng/5 头) 之间存在差异。

2.3 不同性别的水椰八角铁甲成虫表皮碳氢化合物含量的差异

虽然性成熟的水椰八角铁甲雌雄成虫之间表皮正二十二烷 ($t_8 = -2.259, P > 0.05$)、正二十三烷 ($t_8 = -2.649, P > 0.05$)、正二十五烷 ($t_8 = -1.041, P > 0.05$)、正二十七烷 ($t_8 = -0.411, P > 0.05$)、正二十八烷 ($t_8 = -0.758, P > 0.05$)、正二十九烷 ($t_8 = -1.218, P > 0.05$)、正三十烷 ($t_8 = -2.007, P > 0.05$)、2, 6, 10, 15-四甲基二十一烷 ($t_8 = -1.596, P > 0.05$)、反式-10-二十一烯 ($t_8 = -0.847, P > 0.05$)、5-甲基

-5-顺式-二十二烯 ($t_8 = -1.911, P > 0.05$)、环二十四烷 ($t_8 = -1.105, P > 0.05$)、环十八烷 ($t_8 = -1.034, P > 0.05$) 和环三十烷 ($t_8 = -1.920, P > 0.05$) 的含量不存在显著差异, 但是正二十烷 ($t_8 = -3.608, P < 0.05$)、正二十一烷 ($t_8 = -4.996, P < 0.05$)、正二十四烷 ($t_8 = -6.418, P < 0.01$)、正二十六烷 ($t_8 = -4.113, P < 0.05$)、2-甲基十九烷 ($t_8 = -3.130, P < 0.05$)、10-甲基二十烷 ($t_8 = -2.660, P < 0.05$)、1-二十烯 ($t_8 = -8.152, P < 0.01$) 和 1-二十二烯 ($t_8 = -4.745, P < 0.05$) 等 8 种化合物的含量皆差异显著 (图 3)。与性成熟的雌虫相比, 性成熟的雄虫表皮正二十烷、正二十一烷、正二十四烷、正二十六烷、2-甲基十九烷、10-甲基二十烷、1-二十烯和 1-二十二烯的平均绝对含量分别显著升高 1.31、2.62、10.50、2.97、1.35、1.35、5.66 和 4.32 倍。这些结果表明, 水椰八角铁甲成虫表皮碳氢化合物的含量具有性别二态性。

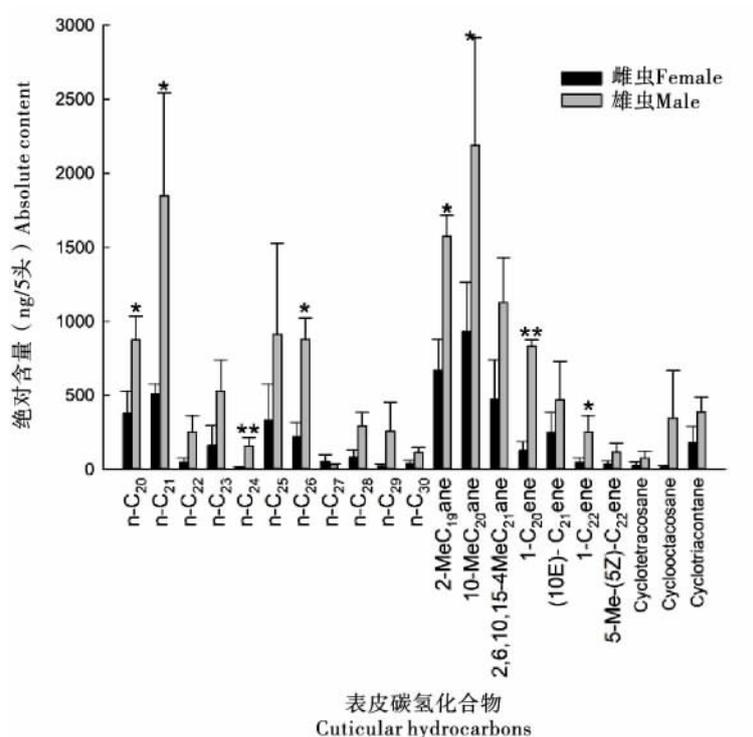


图 3 性成熟的水椰八角铁甲雌雄成虫的表皮碳氢化合物的绝对含量

Fig. 3 Absolute content of cuticular hydrocarbons in mature male and female of *Octodonta nipae* adults

注: 图中数据为平均值 \pm 标准误。星号表示雌雄成虫之间差异显著 (*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$)。Note: Data are shown as mean \pm standard error (SE). Asterisks indicate significant difference between male and female (*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$).

3 结论与讨论

据前人报道, 不仅黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 表皮 7-二十三烯等直链烯烃 (Scott, 1986)、刺舌蝇 *Glossina morsitans* 表皮 19, 23-二甲基-4-三十三烯等甲基烯烃 (Carlson and Schlein, 1991)、隐翅虫 *Aleochara curtula* 表皮 15, 19-二甲基三十七烷等甲基烷烃及顺式-9-二十一烯等直链烯烃 (Peschke and Metzler, 1987) 和意大利蜜蜂 *Apis mellifera* 表皮正十六烷等直链烷烃 (Breed and Stiller, 1992) 等多种碳氢化物的含量均在雌性和雄性之间存在显著差异, 而且昆虫也可以通过调控这些特异性表皮碳氢化物的合成影响个体的交配行为, 从而有利于个体的种群识别和配偶选择 (Peschke, 1987)。而本文研究结果表明, 虽然日龄、性别和性成熟与否等昆虫个体因素对水椰八角铁甲成虫表皮碳氢化物的种类没有影响, 但是会影响正二十烷、正二十一烷、正二十三烷、正二十四烷、正二十六烷、正二十八烷、正三十烷、2-甲基十九烷、10-甲基二十烷、2, 6, 10, 15-四甲基二十一烷、1-二十烯、反式-10-二十一烯、1-二十二烯和 5-甲基-5-顺式-二十二烯等多种化合物的含量。因此, 不同日龄的水椰八角铁甲成虫表皮碳氢化物的动态变化及性别差异可以为该虫个体的种内识别和配偶选择提供化学信号和线索。然而这些绝对含量和相对含量发生显著改变的表皮碳氢化物的种类是否是诱导水椰八角铁甲性成熟个体产生性选择行为的关键因子目前还不清楚, 有待进一步证实。由于日龄和性别等个体因素引起该虫的表皮碳氢化物的差异主要体现在物质的含量上, 而种类稳定, 说明个体因素不影响利用表皮碳氢化合物进行近缘种的识别, 可以提取种内共有物质作为种的特征峰, 同时它们可以作为标记性化合物, 通过建立不同个体条件下水椰八角铁甲的指纹图谱, 为在检验检疫监测与防控工作中快速鉴定该虫的日龄、性别及其性成熟状态提供数据支持, 从而明确该虫的发生情况。

昆虫刚羽化时为成虫表皮碳氢化物的合成初期, 此时这些化合物的碳链长度偏短且以结构简单的烷烃为主, 而羽化后 24 h 才进入主要合成期 (Lockey, 1988)。随着昆虫的生长发育, 表皮碳氢化合物会经过一系列脱羧反应从而延长碳链,

并且在去饱和酶的作用下迅速增加不饱和烃类的含量 (Flaven-Pouchon *et al.*, 2016)。由本研究可知, 水椰八角铁甲雄性成虫各类表皮碳氢化物的含量基本与这一合成规律相吻合, 但是雌性成虫表皮碳氢化合物在不同日龄间的动态变化似乎比雄性更为复杂, 据此猜测雌性成虫对于表皮碳氢化合物具有更加精细的合成调控机制, 这可能在雌性的配偶选择或生殖过程中发挥重要作用。同时, Weddle 等 (2012) 发现, 短翅灶蟋 *Gryllobates sigillatus* 表皮碳氢化物的种类和含量存在明显的性别二态性, 这与本文在水椰八角铁甲上的研究结果相一致。此外, 环境因素和遗传因素都可能影响到雌雄成虫表皮碳氢化物的种类和含量 (Weddle *et al.*, 2012)。所以, 水椰八角铁甲雌雄成虫表皮碳氢化合物含量及其差异是否是环境因素和遗传因素共同作用的结果有待进一步确定, 它们对表皮碳氢化合物合成的影响权重也有待进一步研究。然而, 雌雄两性表皮碳氢化物的表观遗传差异所引起的行为偏好可以作为未来研究的热点, 这可以为水椰八角铁甲的交配策略提供科学依据。

参考文献 (References)

- Blomquist GJ, Howard RW, McDaniel CA. Structure of the cuticular hydrocarbons of the termite (*Zootermopsis angusticollis*) [J]. *Insect Biochem.*, 1979, 9 (5): 371-374.
- Blomquist GJ, Dillwith JW. Cuticular lipids. In: Kerkut GA, Gilbert L, eds. *Comprehensive Insect Physiology Biochemistry and Pharmacology* [C]. Oxford: Pergamon Press, 1985: 595-645.
- Breed MD, Stiller TM. Honey bee, *Apis mellifera*, nestmate discrimination: Hydrocarbon effects and the evolutionary implications of comb choice [J]. *Anim. Behav.*, 1992, 43 (6): 875-883.
- Carlson DA, Schlein Y. Unusual polymethyl alkenes in tsetse flies acting as abstinon in *Glossina morsitans* [J]. *J. Chem. Ecol.*, 1991, 17 (2): 267-284.
- Capodeanu - Năgler A, Rapkin J, Sakaluk SK, *et al.* Self-recognition in crickets via on-line processing [J]. *Curr. Biol.*, 2014, 24 (23): R1117-R1118.
- Flaven-Pouchon J, Farine JP, Ewer J, *et al.* Regulation of cuticular hydrocarbon profile maturation by *Drosophila* tanning hormone, bursicon, and its interaction with desaturase activity [J]. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 2016, 79: 87-96.
- Gao MY, Wang XL, Li CJ. Identification of *Helicoverpa armigera* and *H. assulla* larvae (Lepidoptera: Noctuidae) by cuticular hydrocarbon analysis [J]. *Entomological Knowledge*, 1999, 36 (5): 266-269. [高明媛, 王心丽, 李重九. 表皮碳氢化合物分析用于棉铃虫与烟青虫幼虫分类鉴别 [J]. 昆虫知识, 1999, 36 (5):

- 266–269]
- Goh SH, Ooi KE, Chuah CH, *et al.* Cuticular hydrocarbons from two species of Malaysian *Bactrocera* fruit flies [J]. *Biochem. Syst. Ecol.*, 1993, 21 (2): 215–226.
- Hou YM, Weng ZQ. Temperature – dependent development and life table parameters of *Octodonta nipae* (Coleoptera: Chrysomelidae) [J]. *Environ. Entomol.*, 2010, 39 (5): 1676–1684.
- Kirchner WH, Minkley N. Nestmate discrimination in the harvester termite *Hodotermes mossambicus* [J]. *Insect. Soc.*, 2003, 50 (3): 222–225.
- Kortet R, Hedrick A. The scent of dominance: Female field crickets use odour to predict the outcome of male competition [J]. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 2005, 59 (1): 77–83.
- Kováts ESZ. Gas chromatographic characterization of organic substances in the retention index system. In: Giddings JC, Keller RA, eds. *Advances in Chromatography* [C]. New York: Marcel Dekker, 1965: 229–247.
- Lane SM, Dickinson AW, Tregenza T, *et al.* Sexual selection on male cuticular hydrocarbons *via* male–male competition and female choice [J]. *J. Evolution. Biol.*, 2016, 29: 1346–1355.
- Lei YY, Lin T, He LY, *et al.* Influences of food factors on cuticular hydrocarbons of *Bactrocera dorsalis* adults [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2017, 39 (4): 805–912. [雷妍圆, 林涛, 何丽云, 等. 食物因素对桔小实蝇表皮碳氢化合物的影响 [J]. 环境昆虫学报, 2017, 39 (4): 805–912]
- Liang XS, Xu LP, Li H, *et al.* Solid – phase microextraction for the investigation of cuticular hydrocarbon of termites [J]. *Chinese Bulletin of Entomology*, 2009, 46 (4): 632–636. [梁小松, 徐刘平, 李浩, 等. 固相微萃取技术在白蚁表皮碳氢化合物分析中的应用 [J]. 昆虫知识, 2009, 46 (4): 632–636]
- Lockey KH. Lipids of the insect cuticle: Origin, composition and function [J]. *Comp. Biochem. Phys. B*, 1988, 89 (4): 595–645.
- Martin S, Drijfhout F. A review of ant cuticular hydrocarbons [J]. *J. Chem. Ecol.*, 2009, 35 (10): 1151–1161.
- Maulik S. A new hispid beetle injurious to nipa palm [J]. *Ann. Mag. Nat. Hist.*, 1921, 7 (41): 451–452.
- Peschke K. Cuticular hydrocarbons regulate mate recognition, male aggression, and female choice of the rove beetle, *Aleochara curtula* [J]. *J. Chem. Ecol.*, 1987, 13 (10): 1993–2008.
- Peschke K, Metzler M. Cuticular hydrocarbons and female sex pheromones of the rove beetle *Aleochara curtula* (Goeze) (Coleoptera: Staphylinidae) [J]. *Insect Biochem.*, 1987, 17 (1): 167–178.
- Scott D. Sexual mimicry regulates the attractiveness of mated *Drosophila melanogaster* females [J]. *P. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1986, 83 (21): 8429–8433.
- State Forestry Administration. National List of Dangerous Forest Pests [Z]. 2013. <http://www.forestry.gov.cn/portal/main/s/3600/content-581433.html>. [国家林业局. 全国林业检疫性有害生物名单 [Z]. 2013. <http://www.forestry.gov.cn/portal/main/s/3600/content-581433.html>]
- Steiger S, Stokl J. The role of sexual selection in the evolution of chemical signals in insects [J]. *Insects*, 2014, 5 (2): 423–438.
- Steiger S, Capodeanu – Nägler A, Gershman SN, *et al.* Female choice for male cuticular hydrocarbon profile in decorated crickets is not based on similarity to their own profile [J]. *J. Evolution. Biol.*, 2015, 28 (12): 2175–2186.
- Sun JH, Yu PY, Zhang YZ, *et al.* A new invasive coconut pest in Hainan Province [J]. *Entomological Knowledge*, 2003, 40 (3): 286–287. [孙江华, 虞佩玉, 张彦周, 等. 海南省新发现的林业外来入侵害虫——水椰八角铁甲 [J]. 昆虫知识, 2003, 40 (3): 286–287]
- Thomas ML, Simmons LW. Cuticular hydrocarbons are heritable in the cricket *Teleogryllus oceanicus* [J]. *J. Evolution. Biol.*, 2008, 21 (3): 801–806.
- Thomas ML, Simmons LW. Crickets detect the genetic similarity of mating partners *via* cuticular hydrocarbons [J]. *J. Evolution. Biol.*, 2011, 24 (8): 1793–1800.
- Weddle CB, Mitchell C, Bay SK, *et al.* Sex – specific genotype – by – environment interactions for cuticular hydrocarbon expression in decorated crickets, *Grylodes sigillatus*: Implications for the evolution of signal reliability [J]. *J. Evolution. Biol.*, 2012, 25 (10): 2112–2125.
- Xue HJ, Zhang B, Segraves KA, *et al.* Contact cuticular hydrocarbons act as a mating cue to discriminate intraspecific variation in *Altica* flea beetles [J]. *Anim. Behav.*, 2016, 111: 217–224.
- Yang JJ, Ji BZ, Liu SW, *et al.* Caste characteristics of cuticular hydrocarbon in *Odontotermes formosanus* (Shiraki) [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2015, 52 (4): 862–868. [杨锦锦, 嵇保中, 刘曙雯, 等. 黑翅土白蚁表皮碳氢化合物的品级特征 [J]. 应用昆虫学报, 2015, 52 (4): 862–868]
- Zhang HB, Li XY, Dai HG, *et al.* Analysis of cuticular hydrocarbons of termites and its application in taxonomy [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2005, 48 (4): 582–587. [张红兵, 李小鹰, 戴华国, 等. 白蚁表皮碳氢化合物组分鉴定及分类学意义 [J]. 昆虫学报, 2005, 48 (4): 582–587]
- Zhang X. Multiple – mating Behavior and Its Reproductive Benefit on *Octodonta nipae* [D]. Doctoral dissertation. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2015. [张翔. 水椰八角铁甲多次交配行为及其繁殖受益 [D]. 博士学位论文. 福州: 福建农林大学, 2015]
- Zhang ZY. Studies on the Adaptation of *Octodonta nipae* (Maulik) in Different Species Hosts [D]. Master dissertation. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2010. [张秩勇. 水椰八角铁甲寄主适应性研究 [D]. 硕士学位论文. 福州: 福建农林大学, 2010]