环境昆虫学报 2022，44（3）：679－668
Journal of Environmental Entomology
http：//hjkcxb. alljournals. net
doi：10. 3969/j. issn. 1674－0858. 2022. 03. 19

刘杰，李明涛，陈顺安，姚俊，石雷，陈晓鸣. 美凤蝶成虫虫体挥发物的主要成分与变化动态研究［J］. 环境昆虫学报，2022，44（3）：679－688.

美凤蝶成虫虫体挥发物的主要成分与变化动态研究

刘　杰，李明涛，陈顺安，姚　俊，石　雷*，陈晓鸣
（中国林业科学研究院高原林业研究所，国家林业局资源昆虫培育与利用重点实验室，昆明 650224）

摘要： 挥发物在蝴蝶种内识别、交配繁衍等过程中作用关键。本文旨在研究美凤蝶 *Papilio memnon* 成虫虫体挥发物的变化规律，为下一步探索蝴蝶虫体挥发物作为嗅觉信号的组成成分在求偶过程中的作用提供基础资料。应用固相微萃取方法分别收集美凤蝶雌雄成虫的虫体挥发物，用 GC-MS（气相色谱－质谱）技术对挥发物进行分析和比较。结果显示，羽化后的雌雄蝶可检测到烷烃类、烯烃类、炔烃类、芳香类、醇类、醛类、酯类、酸类等 12 类挥发物，其中芳香类、酯类、酸类在羽化后均有出现。交配前，雌雄蝶挥发物分别有 14 种和 16 种，其中 14 种为共有，而以反-2-辛烯醛（雌：59. 88%，雄：77. 99%）和 2-甲基烯丙醇（雌：14. 47%，雄：8. 42%）相对含量较高。交配时，雌雄蝶挥发物分别增加到 24 种和 21 种，其中 20 种为共有，优势挥发物除反-2-辛烯醛（雌：53. 75%，雄：39. 62%）和 2-甲基烯丙醇（雌：9. 36%，雄：11. 04%）外，还包括 1-二十醇（雌：10. 46%，雄：21. 13%）。另外，雌蝶交配时有 4 种特有挥发物（1-茚酮、异辛酸、1-苯基-1-丙炔、紫苏醛），而雄蝶仅 1 种（β-石竹烯）。然而，一旦交配后，以上优势挥发物与交配时雌雄蝶特有挥发物均未检测到。推测 2-甲基烯丙醇、反-2-辛烯醛和 1-二十醇可能在美凤蝶种内识别过程中发挥作用，而 1-茚酮、异辛酸、1-苯基-1-丙炔、紫苏醛和 β-石竹烯则可能在求偶交配期间具有增强雌雄个体识别或相互吸引等作用。

关键词： 美凤蝶；成虫；交配；挥发物；变化动态
中图分类号： Q968. 1；S433　　**文献标识码：** A　　**文章编号：** 1674－0858（2022）03－0679－10

Study of the dynamic changes of main volatile components from the adults of *Papilio memnon*

LIU Jie，LI Ming-Tao，CHEN Shun-An，YAO Jun，SHI Lei*，CHEN Xiao-Ming（Key Laboratory of Cultivating and Utilization of Resources Insects of State Forestry Administration，Institute of Highland Forest Science，Chinese Academy of Forestry，Kunming 650224，China）

Abstract: Compounds acts as an information carrier in insects in interspecific recognition as well as reproduction of butterfly. We analyzed the volatile compounds and their variation characteristics from the eclosion adults of male and female of *P. memnon* at different times，and summarized the change rules. The aims of paper were to study of the change rule of main volatile components from the adults of *P. memnon*，our results could provide basis for further research of the role of volatiles in the courtship process as components of olfactory signals. Volatiles of male and female adults of *P. memnon* were collected by SPEM method respectively，and then identified and compared with GC-MS technology. The results showed that 12 kinds of volatile compounds including alkanes，alkenes，alkynes，aromatic，

基金项目： 中国林业科学研究院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目（CAFYBB2021SY010）
作者简介： 刘杰，女，博士研究生，研究方向为资源昆虫学，E－mail：lj014@163. com
* **通讯作者** Author for correspondence：石雷，博士，研究员，主要研究方向为蝴蝶行为生理生态学，E－mail：leishi@139. com
收稿日期 Received：2021－03－04；**接受日期** Accepted：2021－04－19

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

alcohols, aldehydes, esters and acids, were detected after the eclosion of the adults, among which 3 kinds chemicals (aromatic, esters, acids) were found after the eclosion. There were 14 kinds and 16 kinds volatiles were detected before mating in females and males butterflies, respectively, and 14 kinds of the same volatiles, the relative contents of (E)-2-octenal (females 59.88%, males 77.99%) with methacryl alcohol (females 14.47%, males 8.42%) were higher. There were 24 kinds and 21 kinds volatiles were detected before mating during the mating period in females and males butterflies, respectively, and 20 kinds of the same volatiles. There were 3 kinds of advanced volatile compounds during the mating period (E)-2-octenal (females 53.75%, males 39.62%), methacryl alcohol (females 9.36%, males 11.04%), 1-eicosanol (females 10.46%, males 21.13%). 4 kinds of unique volatile compounds (1-indanone, 2-ethylcaproic acid, phenylpropyne, perillaldehyde) of adult females, 1 kind of unique volatile compounds (β-caryophyllene) to adult males. However, neither the advanced volatile compounds nor the unique volatile compounds were detected after mating. We concluded that methacryl alcohol, (2e)-2-octenal, 1-eicosanol were used for conspecific identification of *P. memnon*, and the unique volatile compounds of 1-indanone, 2-ethylcaproic acid, phenylpropyne, perillaldehyde and β-caryophyllene might play an important role in enhance male and female individual recognition or mutual attraction during mating.

Key words: *Papilio memnon*; adults; mating; volatile compounds; the dynamic changes

昆虫的嗅觉在种内通讯、探测捕食者、寻找寄主、躲避天敌及交配、取食、产卵等行为活动中发挥重要作用（Liu *et al.*，2012；Li *et al.*，2018a；Li *et al.*，2018b；Zeng *et al.*，2018；Duan *et al.*，2019；Muhammad *et al.*，2020）。与视觉、听觉等常用交流方式相比，嗅觉、味觉等化学通讯也被多数生物利用（Wyatt，2003；2009；Stéphanie *et al.*，2014）。通常，挥发物作为嗅觉信号能传达潜在配偶质量、身份等多种信息，包括生理状态（Rantala *et al.*，2003）、年龄（Thomas，2011）、交配状态（Nieberding *et al.*，2012）和性别差异（Michelle *et al.*，2018）等，多用于评估配偶吸引力和物种识别（Wyatt，2003；Johansson and Jones，2007；Andersson *et al.*，2007）。

鳞翅目昆虫常借助虫体挥发物提供的嗅觉信号进行配偶选择和雌雄个体识别，如雌成虫产生性信息素远距离吸引雄性（Millar，2000；Ando *et al.*，2004；Johansson and Jones，2007；Millar *et al.*，2010）。蝴蝶在求偶过程中通过虫体挥发物进行同性和异性的识别（Pliske，1975a；Silberglied and Taylor，1978；Costanzo and Monteiro，2007；李承哲，2017），促进雌蝶对雄蝶的接受（Pliske，1975a；Nishida *et al.*，1996；Mellström and Wiklund，2009），区别雌蝶的交配状态（Vane and Boppré，1993；Thomas，2011）及作为种间生殖隔离机制（Pliske，1975a；Silberglied and Taylor，1978；Grula *et al.*，1980）。但是，在蝴蝶研究中，关于虫体挥发物在蝶类物种识别中的作用及何种挥发物参与了物种识别报道相对较少。

美凤蝶 *Papilio memnon* 隶属于鳞翅目 Lepidoptera 凤蝶科 Papilionidae 凤蝶属 *Papilio* 美凤蝶亚属 *Menelaides*，羽化 3 d 即可交配（作者观察），人工饲养时可用蜂蜜水补充营养（陈晓鸣等，2008）。美凤蝶是著名的观赏昆虫，具有很高的观赏价值和经济价值，是目前人工养殖及市场供应的主要蝴蝶品种，特别是在活体蝴蝶观赏园中应用较多。美凤蝶在国内分布较广，主要分布于南方各地，在国外广布于日本、东南亚和印度等地。迄今为止，国内外还没有对美凤蝶虫体挥发物及其求偶时嗅觉信息利用的研究，关于化学信息在美凤蝶物种识别中的作用及何种化合物参与美凤蝶物种识别未见报道，探索美凤蝶雌雄蝶羽化成虫不同时期挥发性成分及变化规律，揭示嗅觉信息在美凤蝶求偶过程中所扮演的角色及探索美凤蝶求偶的嗅觉行为机制，为筛选出对美凤蝶具有生物活性的引诱剂提供基础，同时为开展蝴蝶繁育及景观营造提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验地点

试验地点位于云南省昆明市盘龙区白龙寺，

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

中国林业科学研究院高原林业研究所（102°45′E，25°03′N），当地海拔 1 930 m，年平均气温 15℃ ~ 16℃，年平均降雨量 900 ~ 1 000 mm，属于亚热带高原季风气候。蝴蝶交配时及交配后，行为学观察试验在一个长、宽和高度分别为（8 m × 4 m × 5 m）的网室内进行。网室内透光良好，光照均匀。

1.2　试验材料

试验用美凤蝶 *P. memnon* 蛹来自于中国林业科学研究院高原林业研究所元江试验站人工饲养的种群，美凤蝶幼虫用新鲜柑橘 *Citrus reticulata* 叶喂养，饲养条件为光周期 L∶D = 13 h∶11 h，温度 26℃ ±2℃，相对湿度 50% ~70%。蝴蝶成虫饲养在人工气候室，供试蝴蝶均为羽化后的健康成虫。

1.3　虫体挥发物检测时期

将羽化成虫按交配前、交配时、交配后 1 d 和交配后 3 d 分组，测试 4 个不同时期虫体挥发物。

1.3.1　交配前虫体挥发物的检测

雌雄无干扰组：雌雄蝶羽化后单放，用羽化后 2 h 个体作为检测对象进行挥发物的检测。

1.3.2　交配时虫体挥发物的检测

雌雄无干扰组：雌雄蝶羽化后单放，用羽化后 3 d 未交配个体作为检测对象进行挥发物的检测（观察中发现美凤蝶羽化后 3 d 开始交配）。

1.3.3　交配后 1 d 虫体挥发物的检测

雌雄干扰组：雌雄蝶来自于网室大棚自然交配后的种群，雌雄蝶交配后 1 d 进行虫体挥发物检测。

1.3.4　交配后 3 d 虫体挥发物的检测

雌雄干扰组：雌雄蝶来自于网室大棚自然交配后的种群，雌雄蝶交配后 3 d 进行虫体挥发物检测。

1.4　虫体挥发物采集与检测方法

利用固相微萃取（solid-phase micro extraction，SPME）方法吸附并采集虫体挥发物：先将待测试雌、雄活蝶（2 头）分别放入广口瓶（高10 cm，开口直径 3 cm，体积 80 mL），用“4 号”LDPE 材质塑料膜将广口瓶封口，将 PDMS/DVB 固相微萃取头（65 μm，Supelco，Bellefonte，PA，USA）扎穿塑料并固定，吸附时间为 1 h。空的广口瓶作为空白对照。上述挥发物检测重复 3 次。

使用气相色谱 - 质谱联用仪（GC-MS）分析虫体挥发物：参考李承哲（2017）的方法略有改动。每次进样前需将 SPME 萃取头在 GC 进样口老化（250℃，10 min），采用 TR-5MS 色谱柱（内径：0.25 mm，厚度：0.25 μm，长度：30 m），程序为 40℃ 保持 2 min，升温到 120℃ 保持 2 min（4℃/min），最后升到 230℃ 保持 5 min（5℃/min），进样口温度为 250℃，载气 He 的气压为 69 kPa。

挥发物定性方法：以美国国家标准技术研究所（National Institute of Standards and Technology，NIST，http://webbook.nist.gov/chemistry/）质谱库检索为主，同时结合人工解析质谱图；挥发物的定量计算：采用峰面积归一化法，即计算样品组分峰面积占总峰面积的百分比，得到相对含量。计算挥发性成分的保留指数，并与文献值进行比对。保留指数（linear retention index，*LRI* 或 *RI*）计算公式如下：

$$LRI = 100 \times n + \frac{100 \times (t_x - t_n)}{t_{n+1} - t_n}$$

式中：

LRI—保留指数；

t_x—待测组分的保留时间，min；

t_n—具有 n 个碳原子的正构烷烃的保留时间，min；

t_{n+1}—具有 n + 1 个碳原子的正构烷烃的保留时间，min。

2　结果与分析

2.1　交配前虫体挥发物的组成及相对含量

雌雄蝶羽化 1 d 分别检测到 14 种和 16 种挥发物，共有的挥发物有 14 种，其中反-2-辛烯醛含量最高，雌蝶含量为 59.88%，雄蝶含量为 77.99%，其次是 2-甲基烯丙醇，雌蝶含量为 14.47%，雄蝶含量为 8.42%。雄蝶特有的挥发物有 2 种，未检测到雌蝶特有的挥发物（表 1）。检测到的挥发物主要包括烷烃类、芳香烃、醇类、醛类、酮类、脂类、萜类、酸类物质和醌类 9 类，醛类和醇类含量最高，醛类物质雌蝶含量为 70.86%、醛类物质雄蝶的含量为 85.34%、醇类物质雌蝶含量为 14.62%、醇类物质雄蝶含量为 8.42%（表 2）。

2.2　交配时虫体挥发物的组成及相对含量

雌雄蝶羽化 3 d 分别检测到 24 种和 21 种挥发物，共有的挥发物有 20 种，其中反-2-辛烯醛含量最高，雌蝶含量为 53.75%，雄蝶的含量为 39.62%，其次是 2-甲基烯丙醇和 1-二十醇，雌蝶体内 2-甲基烯丙醇含量为 9.36%，雄蝶体内

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表 1 美凤蝶成虫虫体在羽化后不同时间挥发物种类相对含量

Table 1 Relative contents of volatile compounds at different times after eclosion in the adults of *Papilio memnon*

挥发物 Compounds	含量(%) Contents							
	交配前(羽化 1 d) Before mating (1 d after eclosion)		交配时(羽化 3 d) During mating (3 d after eclosion)		交配后 After mating			
					1 d		3 d	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
甲基烯丙醇 Methacryl alcohol	14.47	8.42	9.36	11.04	–	–	–	–
十三烷醇 1-Tridecanol	–	0.10	–	–	–	–	2.70	–
(+)-雪松醇 Cedrol	–	–	–	–	–	–	12.06	2.49
1-癸醇 1-(1,1,2,2-2H4) Decanol	–	–	–	–	–	–	–	2.27
5-甲基-2-(1-甲乙烯基)-4-己烯-1-醇 Lavandulol	–	–	–	–	–	–	2.70	–
环十五烷基醇 Hydroxycyclopentadecane	–	–	–	–	–	–	–	1.86
1-二十醇 1-Eicosanol	–	–	10.46	21.13	–	–	–	–
2-己基-1-癸醇 2-Hexyl-1-decanol	0.15	0.03	0.07	0.07	–	–	–	–
异丙醇 Isopropanol	–	–	1.33	0.26	–	–	–	–
反-2-辛烯醛(2E)-2-Octenal	59.88	77.99	53.75	39.62	–	–	–	–
苯乙醛 Phenylacetaldehyde	–	–	0.20	0.13	–	–	–	–
紫苏醛 Dl-Perillaldehyde	10.98	7.35	0.99	–	1.61	9.74	–	–
肉桂醛 Cinnamaldehyde	–	–	0.07	0.08	–	–	–	–
邻-异丙基苯 O-Cymene	0.30	0.17	0.31	0.06	–	–	–	–
1,2,3,4-甲基苯 Tetramethylbenzene	–	–	–	–	–	–	0.45	–
五甲基苯 Pentamethylbenzene	–	–	–	–	3.77	8.3	3.27	0.11
4-乙基甲苯 4-Ethyltoluene	0.12	0.04	0.08	0.07	–	–	–	–
2,2′-亚甲基联苯 Fluorene	–	–	0.10	0.13	–	–	–	–
巴伦西亚橘烯 Valencene	3.40	1.93	7.59	8.81	–	–	5.08	–
α-法呢烯 α-Farnesene	–	–	–	–	–	–	–	–
萜品油烯 Terpinolene	–	–	–	–	–	–	4.50	0.79
β-石竹烯 β-Caryophyllene	7.08	2.07	–	0.16	–	–	–	–
2,6-二叔丁基苯醌 2,6-Di-tert-butyl-p-benzoquinone	0.86	0.65	–	–	–	–	–	–
正十四烷 Tetradecane	1.02	0.18	3.41	6.27	1.51	–	17.48	–
正十九烷 Nonadecane	0.13	0.13	0.63	0.50	–	–	–	–
正十五烷 Pentadecane	–	–	0.15	0.15	–	–	–	–
二十烷 Icosane	–	–	–	–	–	–	–	0.13
正十六烷 Hexadecane	–	–	–	–	–	–	–	0.13

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

续表1 Continued table 1

挥发物 Compounds	含量(%) Contents							
	交配前(羽化 1 d) Before mating (1 d after eclosion)		交配时(羽化 3 d) During mating (3 d after eclosion)		交配后 After mating			
					1 d		3 d	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
二对甲苯基甲烷1-Methyl-4-[(4-methylphenyl) methyl] benzene	–	–	–	–	–	–	–	0.11
反式-2-庚酸乙酯 Ethyl (E)-hept-2-enoate	0.41	0.18	–	–	–	–	–	–
乙酸柠檬酸三丁酯 Tributyl citrate acetate	–	–	–	–	–	–	–	0.50
邻苯二甲酸二乙酯 Diethyl phthalate	–	–	–	–	2.32	1.37	2.62	4.25
香豆素-3-羧酸乙酯 Ethyl coumarin-3-carbaoxylate	–	–	–	–	50.00	16.78	–	–
辛酸十六烷酯 Hexadecyl octanoate	–	–	–	–	–	12.01	–	–
邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate	0.13	0.05	0.21	0.27	–	–	–	–
(+)-反式-菊酸 Trans-Chrysanthemic acid	1.06	0.53	7.62	11.54	–	–	13.25	1.46
异辛酸2-Ethylcaproic acid	–	–	2.44	–	–	–	–	–
二十三酸 Tricosanoic acid	–	–	–	–	–	–	–	0.02
十五烷酸 Pentadecanoic acid	–	–	–	–	–	–	–	6.61
反油酸 Elaidic acid	–	–	–	–	–	–	–	18.59
反式-2-壬烯酸2-Ethylcyclohexanol	–	–	–	–	33.88	51.80	29.21	4.17
2,5-二甲基肉桂酸 2,5-Dimethylcinnamic acid	–	–	–	–	–	–	–	0.50
棕榈酸异丙酸 Isopropyl palmitate	–	–	–	–	–	–	–	12.89
衣康酸 Itaconic acid	–	–	–	–	5.26	–	8.79	8.65
肉豆蔻油酸 Myristoleic acid	–	–	–	–	–	–	–	21.26
肉豆蔻酸 Myristic acid	–	–	0.11	0.06	–	–	–	10.05
二苯基乙二酮 Benzil		0.09	0.14	0.13	–	–	–	–
1-茚酮1H-Inden-1-one	–	–	0.66	–	1.65	–	–	–
3a-羟基-5b-雄甾烷-17-酮 Etiocholanolone	–	–	–	–	–	0.53	12.06	0.46
二苯甲酮 Benzophenone	–	–	0.08	0.09	–	–	–	–
26-二叔丁基对甲酚 Butylated hydroxytoluene	–	–	0.04	0.06	–	0.05	–	2.68
1-苯基-1-丙炔 Phenylpropyne	–	–	0.23	–	–	–	–	–
26-二甲基-2,4,6-辛三烯 26-Dimethyl-2,4,6-octatriene	–	–	–	–	–	–	0.58	–

注: – 表示未检测到。下表同。Note: – indicated that was not detected. The following table was the same.

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

2-甲基烯丙醇的含量为 11.04%，雌蝶体内 1-二十醇含量为 10.46%，雄蝶体内 1-二十醇含量为 21.13%。雌蝶特有的挥发物有 4 种，分别是 1-苯基-1-丙炔（0.23%）、异辛酸（2.44%）、紫苏醛（0.99%）、1-茚酮（0.66%），雄蝶特有的挥发物 β-石竹烯（0.16%）（表 1）。检测到的挥发物主要包括烷烃类、炔烃类、芳香烃、醇类、醛类、酮类、脂类、萜类、酸类和酚类 10 类，醛类和醇类含量最高，醛类物质雌蝶含量为 55.01%、醛类物质雄蝶的含量为 39.76%、醇类物质雌蝶含量为 21.53%、醇类物质雄蝶含量为 32.56%（表 2）。

2.3 交配后 1 d 虫体挥发物的组成及相对含量

雌雄蝶交配 1 d 均检测到 8 种挥发物，共有的挥发物有 5 种，其中反式-2-壬烯酸含量最高，雌蝶含量为 33.88%，雄蝶的含量为 51.80%，其次是香豆素-3-羧酸乙酯，雌蝶含量为 50.00%，雄蝶的含量为 16.78%。雌蝶特有的挥发物有3 种，分别是衣康酸（5.26%）、1-茚酮（1.65%）、正十四烷（1.51%），雄蝶特有的挥发物有 3 种，分别是辛酸十六烷酯（12.01%）、3a-羟基-5b-雄甾烷-17-酮（0.53%）、26-二叔丁基对甲酚（0.05%）（表 1）。检测到的挥发物主要包括烷烃类、芳香类、醛类、酮类、脂类、酸类 6 类挥发物，酯类和酸类含量最高，其中酯类物质雌蝶含量为 52.32%、酯类物质雄蝶含量为 30.16%、酸类物质雌蝶含量为 39.14%、酸类物质雄蝶含量为 51.80%（表 2）。

2.4 交配后 3 d 虫体挥发物的组成及相对含量

雌雄蝶交配 3 d 分别检测到 14 种和 22 种挥发物，共有的挥发物有 8 种，其中反式-2-壬烯酸含量最高，雌蝶含量为 29.21%，雄蝶含量为 4.17%，其次是衣康酸，雌蝶含量为 8.79%，雄蝶含量为 8.65%。雌蝶特有的挥发物有 6 种，分别是十三烷醇（2.70%）、5-甲基-2-（1-甲乙烯基）-4-己烯-1-醇（2.70%）、1，2，3，4-甲基苯（0.45%）、巴伦西亚橘烯（5.08%）、26-二甲基-2，4，6-辛三烯（0.58%）、二十四烷（17.48%），而雄蝶特有的挥发物高达 14 种（表 1）。检测到的挥发物主要包括烷烃类、烯烃类、芳香类、醇类、酮类、脂类、萜类、酸类和酚类 9 类挥发物，酸类和醇类含量最高，雌蝶虫体中酸类物质含量为 51.25%、雄蝶虫体中酸类物质含量为 84.20%、雌蝶虫体中醇类物质含量为 14.76%、雄蝶虫体中醇类物质含量为 6.62%（表 2）。

表 2 美凤蝶成虫虫体在羽化后不同时间挥发物归类

Table 2 Classification of volatile compounds at different times after eclosion in the adults of *Papilio memnon*

挥发物 Compounds	含量（%）Contents							
	交配前（羽化 1 d）Before mating (1 d after eclosion)		交配时（羽化 3 d）During mating (3 d after eclosion)		交配后 After mating			
					1 d		3 d	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
烷烃类 Alkanes	1.15	0.31	4.19	6.91	1.51	–	17.48	0.24
烯烃类 Olefins	–	–	–	–	–	–	0.58	–
炔烃类 Alkynes	–	–	0.23	–	–	–	–	–
芳香类 Aromatics	0.42	0.21	0.18	0.20	3.77	8.30	3.72	0.11
醇类 Alcohols	14.62	8.42	21.53	32.56	–	–	14.76	6.62
醛类 Aldehydes	70.86	85.34	55.01	39.76	1.61	9.74	–	–
酮类 Ketones	–	0.09	0.88	0.22	1.65	–	–	0.46
脂类 Lipids	0.54	0.23	0.21	0.27	52.32	30.16	2.62	4.90
萜类 Terpenoids	10.48	4.10	7.59	8.32	–	–	9.58	0.79
酸类 Acids	1.06	0.53	10.17	11.60	39.14	51.8	51.25	84.20
醌类 Quinones	0.86	0.65	–	–	–	–	–	–
酚类 Phenols	–	–	0.04	0.06	–	–	–	2.68

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

比较发现雌雄蝶羽化后共检测出 12 类挥发物，其中芳香类、酯类、酸类 3 类在雌雄蝶羽化后均有出现（表 2）。芳香类虽然一直存在但是相对含量一直较低，酯类在雌雄蝶交配后 1 d 达到最大值，酸类在雌雄蝶虫体交配后 3 d 达到最大值。炔烃类仅在交配时雌蝶虫体中检测到，醌类仅在交配前雌雄中检测到。雌蝶交配前后含量最多，挥发物有 5 类，分别是醇类、醛类、酯类、酸类及烷烃类，雄蝶交配前后含量最多，挥发物有 4 类，分别是醇类、醛类、酯类、酸类（表 2）。

交配前雌雄蝶优势挥发物为醇类、醛类（图 1-A，B）。雌雄蝶虫体挥发物中醇类含量在交配前及交配时随羽化时间的增加而上升，交配后 1 d 消失，交配后 3 d 又呈现上升趋势（图 1-A）。雌雄蝶虫体挥发物中醛类含量随羽化时间的增加而逐渐减少，雌蝶醛类挥发物交配后 1 d 消失，雄蝶醛类挥发物交配后 3 d 消失（图 1-B）。雌雄蝶共有且含量最高的挥发物均在交配后消失，雌蝶虫体内 2-甲基烯丙醇含量在在交配前及交配时随羽化时间的增加而减少，雄蝶虫体内 2-甲基烯丙醇含量在交配前及交配时随羽化时间的增加而增加（图 1-C）。雌雄蝶虫体内反-2-辛烯醛、1-二十醇在交配前及交配时含量的变化规律与醇类、醛类的变化规律类似（图 1-D，E）。

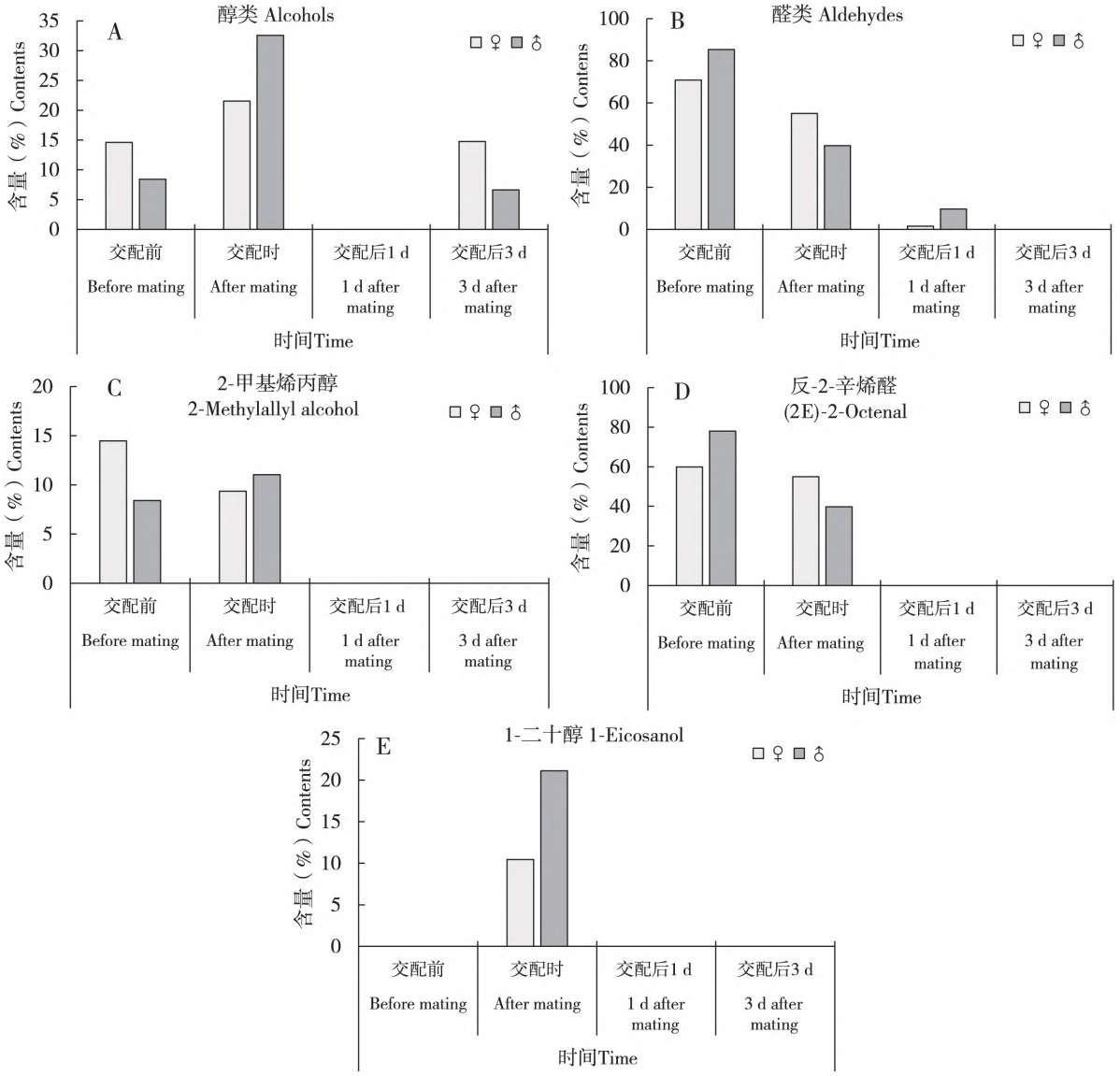


图 1　美凤蝶成虫不同时期主要挥发物（醇类；醛类；2-甲基烯丙醇；反-2-辛烯醛；1-二十醇）的含量变化

Fig. 1　Variations in the main volatile compounds (Alcohols; Aldehydes; 2-Methylallyl alcohol; (2E)-2-Octenal; 1-Eicosanol) of the adults of *Papilio memnon* in different periods

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

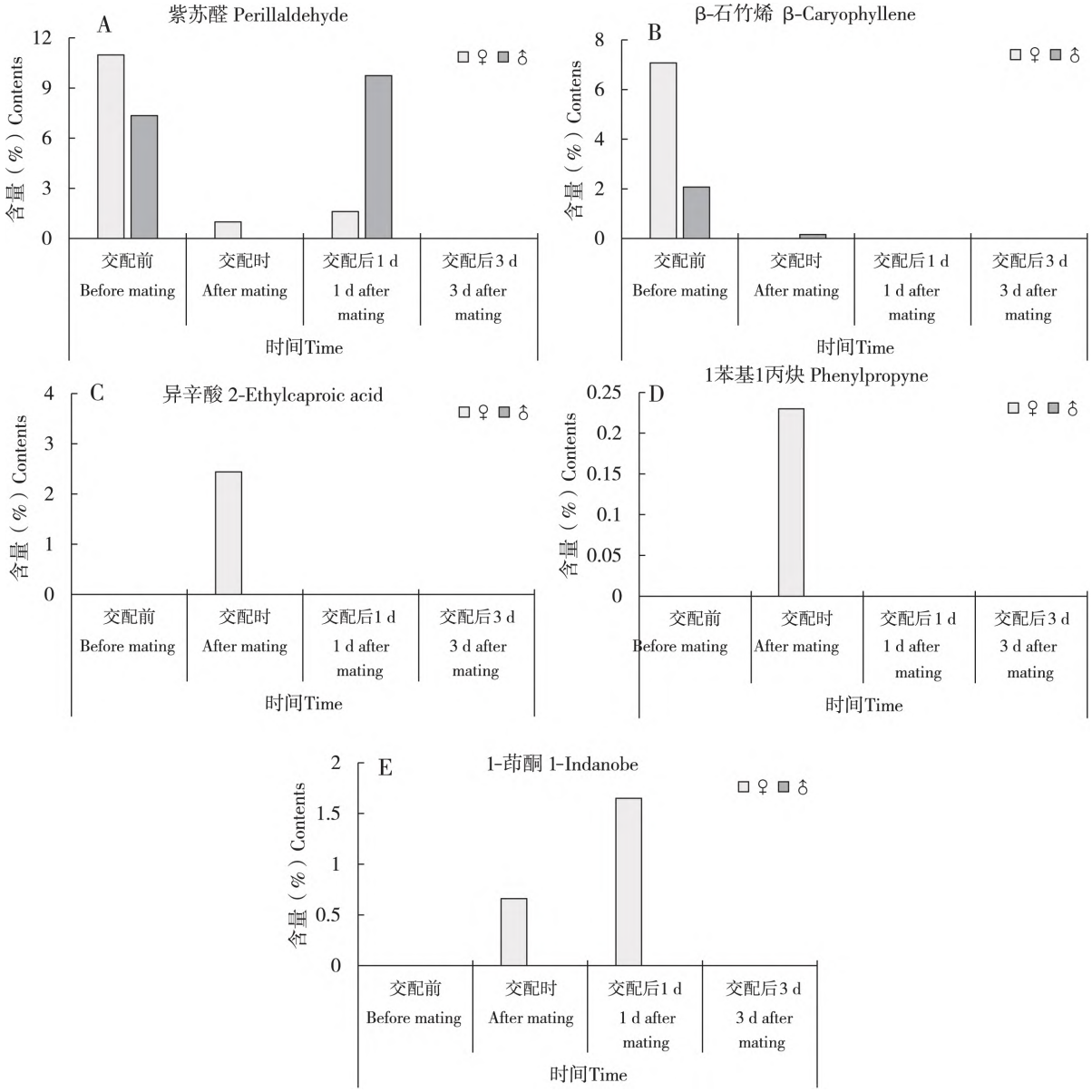


图2 美凤蝶成虫不同时期特有挥发物（紫苏醛；β-石竹烯；异辛酸；1-苯基-1-丙炔；1-茚酮）的含量变化

Fig. 2 Changes in contents of unique volatile compounds (Perillaldehyde; β-Caryophyllene; 2-Ethylcaproic acid; Phenylpropyne; 1-Indanone) of the adults of *Papilio memnon* in different periods

交配时雌蝶虫体特有的4种挥发物（1-茚酮、异辛酸、1-苯基-1-丙炔、紫苏醛）及雄蝶特有的1种挥发物（β-石竹烯）在交配后3 d均消失（图2-A，E）。交配前及交配后1 d，紫苏醛在雌雄蝶体内均存在，而交配时仅在雌蝶虫体检测到（图2-A）。交配前，β-石竹烯在雌雄蝶体内均存在，交配时仅在雄蝶虫体检测到，交配后则完全消失（图2-B）。雌蝶虫体特有异辛酸、1-苯基-1-丙炔交配后1 d在雌蝶体内消失（图2-C，D），而1-茚酮在交配后1 d在雌蝶体内仍然存在（图2-E）。

3 结论与讨论

日龄是影响昆虫交配及繁殖的重要因素（Tanner *et al.*，2019）。昆虫的最佳交配日龄因其种类不同而存在差别。日龄增加使昆虫交配能力减弱，其原因可能与昆虫体内精原细胞耗尽导致交配能力降低有关（闫喜中等，2014）。本研究通过对美凤蝶交配前、交配时及交配后虫体挥发物检测，分析了美凤蝶成虫虫体挥发物的动态变化规律。结果显示羽化后雌雄蝶挥发物成分和相对

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

含量都有较大的变化。羽化后的雌雄蝶可检测到醇类、醛类、酯类、酸类等 12 类挥发物，其中芳香类、酯类和酸类在羽化后均有出现，挥发物的动态变化反映了美凤蝶生理状态、年龄、交配状态、性别差异及生活环境因素等。

交配前，蝴蝶刚羽化还处于补充营养和促进生殖器官发育阶段（王翻艳，2015），对蜜源植物的访问才是主要任务，对成虫气味的追逐并不是主要的。本研究发现此阶段美凤蝶共有挥发物数量多而特有挥发物少或无，交配前雌雄蝶醛类、醇类含量最高。雌雄蝶共有的含量相对较高的挥发物为 2-甲基烯丙醇和反-2-辛烯醛，雄蝶挥发物种类多于雌蝶。

交配时，蝴蝶羽化 3 d 已经达到性成熟阶段，求偶交配是蝴蝶的主要任务，对蝴蝶成虫气味的追逐是主要的。交配中雌雄蝶虫体醛类、醇类含量最高，共有挥发物（2-甲基烯丙醇、反-2-辛烯醛、1-二十醇）的相对含量较高，目前关于 2-甲基烯丙醇、反-2-辛烯醛、1-二十醇这 3 种挥发物在前人研究中尚未见报道。交配时雌蝶特有的挥发物有 4 种，雄蝶特有的挥发物有 1 种。结合前人的研究结果，Grula 等（1980）研究发现菲罗豆粉蝶 *Colias philodice* 雄蝶翅膀分泌的酯类（肉豆蔻酸正己酯 n-hexyl myristate）作为物种识别信号区分同种或异种雄蝶。黑纹粉蝶 *Pieris melete* 雌蝶依靠挥发物（雄蝶翅膀释放的物种特异性气味）来识别配偶（Kan and Hidaka，1997）。透翅蝶 Ithomiine 雄蝶利用从味刷释放的内酯来识别同类雄蝶（Pliske，1975b）。偏瞳蔽眼蝶 *Bicyclus anynana* 雄蝶翅膀上的香鳞释放的挥发物会干扰雄雄蝶的识别，说明挥发物可能参与雄雄识别过程（Costanzo and Monteiro，2007）。初步推测 2-甲基烯丙醇、反-2-辛烯醛、1-二十醇可能用于美凤蝶求偶时同性的识别，雌雄蝶特有挥发物（1-苯基-1-丙炔、异辛酸、紫苏醛、1-茚酮、β-石竹烯）为求偶时异性的识别提供了某种暗示。

交配后，雌蝶进入大量耗能的产卵阶段，需要大量取食补充、积累营养，并寻找合适的寄主植物进行产卵，繁衍后代的使命使蝴蝶对植物挥发物更为敏感。交配后雌雄蝶虫体挥发物的种类和相对含量发生了极大的变化，挥发物种类锐减到 8 种，挥发物种类也由醛、醇类为主转变为脂、酸类为主。这种变化进一步证明了醛类、醇类肩负着蝴蝶配偶识别的作用。交配后蝴蝶进入孕卵生殖阶段，也预示着它们使命的完成，醇类、醛类物质彻底消失。交配后 3 d 雌雄蝶特有的挥发物均消失，说明雌蝶进行产卵，雄蝶完成自己的使命，雌雄蝶不需要再利用特有的挥发物吸引异性。

蝴蝶求偶时利用共有挥发物识别同类及同性，通过雌雄蝶特异性挥发物来辨别同种异性（王翻艳，2015；李承哲，2017；王华，2017），通过对美凤蝶交配前后挥发物变化规律的分析，推测美凤蝶雌雄蝶成虫共有挥发物（2-甲基烯丙醇、1-二十醇和反-2-辛烯醛）可能用于识别同种及同性。雌蝶特有挥发物紫苏醛及雄蝶特有挥发物 β-石竹烯，在交配前雌雄蝶虫体均存在，雄雌蝶对此气味很熟悉，雄蝶很容易通过紫苏醛识别雌蝶，雌蝶很容易通过 β-石竹烯识别雄蝶。交配时雌蝶特有的挥发物 1-茚酮、异辛酸、1-苯基-1-丙炔交配前不存在，交配后消失，推测这 3 种物质可能是性信息素物质，而雄蝶充分利用雌蝶特有的这几种挥发物进行同种异性的识别。

由于昆虫生境及个体之间存在差异，所以测得的成分也有很大不同。美凤蝶虫体醌类仅在羽化 1 d 雌雄蝶虫体存在，推测其可能是美凤蝶雌雄蝶未达到性成熟的标志性挥发物，炔类物质仅在交配时雌蝶虫体存在，推测其可能是雌蝶性信息素物质。然而这些化合物仍然需要做进一步的分离、鉴定，如电生理试验和行为学试验才能确定它们的具体作用，这也是我们下一步需要进行的工作。

参考文献（References）

Andersson J，Borg，AK，Vongvanich N，*et al*. Male sex pheromone release and female mate choice in a butterfly [J]. *Journal of Experimental Biology*，2007，210（6）：964－970.

Ando T，Inomata SI，Yamamoto M. Lepidopteran sex pheromones [J]. *Topics in Current Chemistry*，2004，239：51－96.

Chen XM，Zhou CL，Shi JY，*et al*. Omamental Butterflies in China [M]. Beijing：Chinese Forestry Press，2008：67－68. [陈晓鸣，周成理，史军义，等. 中国观赏蝴蝶 [M]. 北京：中国林业出版社，2008：67－68]

Costanzo K，Monteiro A. The use of chemical and visual cues in female choice in the butterfly *Bicyclus anynana* [J]. *Proceedings of the Royal Society of London B：Biological Sciences*，2007，274（1611）：845－851.

Duan SG，Li DZ，Wang MQ. Chemosensory protein used as target for screening behaviourally active compounds in rice pest *Cnaphalocrocis medinalis*（Lepidoptera：Pyralidae）[J]. *Insect Molecular Biology*，2019，28（1）：123－135.

Grula JW，Mcchesney JD，Taylor OR. Aphrodisiac pheromones of the

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

sulfur butterflies *Colias eurytheme* and *C. philodice* (Lepidoptera, Pieridae) [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1980, 6(1): 241 – 256.

Johansson BG, Jones TM. The role of chemical communication in mate choice [J]. *Biological Reviews*, 2007, 82(2): 265 – 289.

Kan E, Hidaka T. Role of male scent in the mating behavior of *Pieris melete* Ménétriès (Lepidoptera: Pieridae) [J]. *Journal of Ethology*, 1997, 15(2): 87 – 93.

Li CZ. Species and Sex Recognition Mechanism during Courtship and Butterfly Flying Landscape Construction Based on Adult Behavior of Butterflies [D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry Doctoral Dissertation, 2017. [李承哲. 基于蝴蝶成虫行为学的两性求偶识别机制及蝴蝶飞舞景观构建 [D]. 北京: 中国林业科学研究院博士论文, 2017]

Li QL, Yi SC, Li DZ, *et al*. Optimization of reverse chemical ecology method: False positive binding of *Aenasius bambawalei* odorant binding protein 1 caused by uncertain binding mechanism [J]. *Insect Molecular Biology*, 2018a, 27(3): 305 – 318.

Li ZQ, Zhang S, Luo JY, *et al*. Two minus – codorant binding proteins from *Helicoverpa armigera* display higher ligand binding affinity at acidic pH than neutral pH [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2018, 59(3): 263 – 272.

Liu R, He X, Lehane S, *et al*. Expression of chemosensory proteins in the tsetse fly *Glossinamorsitans morsitans* is related to female host – seeking behaviour [J]. *Insect Molecular Biology*, 2012, 21(1): 41 – 48.

Mellström HL, Wiklund C. Males use sex pheromone assessment to tailor ejaculates to risk of sperm competition in a butterfly [J]. *Behavioral Ecology*, 2009, 20(5): 1147 – 1151.

Michelle B, Tomer JC, Cristina T. Does silk mediate chemical communication between the sexes in a nuptial feeding spider [J]. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 2018, 72(3): 2 – 8.

Millar J, Mcelfresh J, Romero C, *et al*. Identification of the sex pheromone of a protected species, the spanish moon moth *Graellsia isabellae* [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2010, 36(9): 923 – 932.

Millar JG. Polyene hydrocarbons and epoxides: A second major class of Lepidopteran sex attractant pheromones [J]. *Annual Review of Entomology*, 2000, 45(1): 575 – 604.

Muhammad IW, Aneela Y, Asif A, *et al*. Expression profiles and biochemical analysis of chemosensory protein 3 from *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae) [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2020, 46(4): 363 – 377.

Nieberding CM, Fischer K, Saastamoinen M, *et al*. Cracking the olfactory code of a butterfly: The scent of ageing [J]. *Ecollogy Letters*, 2012, 15(5): 415 – 424.

Nishida R, Schulz S, Kim CS, *et al*. Male sex pheromone of a giant danaine butterfly, *Idea leuconoe* [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1996, 22(5): 949 – 972.

Pliske TE. Courtship behavior of the monarch butterfly, *Danaus plexippus* L. [J]. *Annals of the Entomological Society of America*, 1975a, 68(1): 143 – 151.

Pliske TE. Courtship behavior and use of chemical communication by males of certain species of Ithomiine butterflies (Nymphalidae: Lepidoptera) [J]. *Annals of the Entomological Society of America*, 1975b, 68(6): 935 – 942.

Rantala MJ, Kortet R, Kotiaho JS, *et al*. Condition dependence of pheromones and immune function in the grain beetle *Tenebrio molitor* [J]. *Functional Ecology*, 2003, 17(4): 534 – 540.

Silberglied RE, Taylor OR. Ultraviolet reflection and its behavioral role in the courtship of the sulfur butterflies *Colias eurytheme* and *C. philodice* (Lepidoptera, Pieridae) [J]. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 1978, 3(3): 203 – 243.

Stéphanie H, Maryse V, Paul B, *et al*. The composition of cuticular compounds indicates body parts, sex and age in the model butterfly *Bicyclus anynana* (Lepidoptera) [J]. *Ecology and Evolution*, 2014, 2(37): 1 – 16.

Thomas ML. Detection of female mating status using chemical signals and cues [J]. *Biological Reviews*, 2011, 86(1): 1 – 13.

Tanner JC, Garbe LM, Zuk M. When virginity matters: Age and mating status affect female responsiveness in crickets [J]. *Animal Behavior*, 2019, 147: 83 – 90.

Vane – Wright RI, Boppré M. Visual and chemical signalling in butterflies: Functional and phylogenetic perspectives [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 1993, 340(1292): 197 – 205.

Wang FY. Behavior Observation and Courtship Mechanism Study of *Ideal leuconoe* Adults [D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry Master Dissertation, 2015. [王翻艳. 大帛斑蝶成虫行为学观察及其求偶机制研究 [D]. 北京: 中国林业科学研究院硕士学位论文, 2015]

Wang H. Visual and Olfactory Utilization in Butterfly Foraging and Courtship: A Case Study of Two Butterfly Species [D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry Master Dissertation, 2017. [王华. 蝴蝶觅食和求偶中视觉和嗅觉利用 – 两种蝴蝶为例 [D]. 北京: 中国林业科学研究院硕士学位论文, 2017]

Wyatt TD. Pheromones and animal behaviour: Communication by smell and taste [J]. *Journal of Experimental Biology*, 2003, 206(24): 4382 – 4383.

Yan XZ, Sun XJ, Deng CP, *et al*. Effects of age and temperature on the mating behaviors of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) [J]. *Shanxi Agricultural Science*, 2014, 42(8): 829 – 831. [闫喜中, 孙学俊, 邓彩萍, 等. 日龄和温度对小菜蛾交配行为的影响 [J]. 山西农业科学, 2014, 42(8): 829 – 831]

Zeng FF, Liu H, Zhang A, *et al*. Three chemosensory proteins from the rice leaf folder *Cnaphalocrocis medinalis* involved in host volatile and sex pheromone reception [J]. *Insect Molecular Biology*, 2018, 27(6): 710 – 723.

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net