

# 超声波对松褐天牛体内保幼激素的影响

查玉平<sup>1</sup>, 吴小玲<sup>2</sup>, 陈其才<sup>2</sup>, 陈京元<sup>1\*</sup>

(1. 湖北省林业科学研究院, 武汉 430075; 2. 华中师范大学生命科学学院, 武汉 430079)

**摘要:** 为了研究超声波对松褐天牛的影响, 采用高效液相色谱法测定不同时间长度的超声波辐照下的松褐天牛体内保幼激素的滴度变化。结果表明: 超声波辐照致使松褐天牛体内保幼激素滴度降低, 而且随着超声波辐照时间增加, 保幼激素滴度降低。这表明超声波对松褐天牛体内保幼激素的滴度具有抑制性作用, 可能意味着超声波辐照对松褐天牛具有胁迫作用, 能够影响虫体的生理状态。

**关键词:** 超声波; 松褐天牛; 保幼激素

## Effect of Ultrasound on Juvenile Hormone titres of *Monochamus alternatus* Hope

Zha Yu-ping<sup>1</sup>, Wu Xiao-ling<sup>2</sup>, Chen Qi-cai<sup>2</sup>, Chen Jing-Yuan<sup>1\*</sup>

(1. Hubei Academy of Forestry, Wuhan 430075; 2. College of Life Science, Huazhong Normal University, Wuhan 430079)

**Abstract:** To study the effect of ultrasound on adults of *Monochamus alternatus* Hope, we investigated changes in the titres of haemolymph juvenile hormone (JHIII) of *M. alternatus* Hope exposed to ultrasound. Our results indicated that the titres of JHIII decreased in adult of *M. alternatus* Hope after ultrasound exposed. With the increase in ultrasonic irradiation time, the juvenile hormone titer is reduced. It indicates that ultrasound can inhibit the titres of JHIII in *M. alternatus* Hope. This may mean that ultrasonic irradiation stress on *M. alternatus* Hope, and can influence the physiological state of the insect.

**Key Words:** Ultrasound; *Monochamus alternatus* Hope; Juvenile Hormone

保幼激素 (Juvenile hormone, JH) 是在昆虫咽侧体内合成的一类倍半萜类化合物, 是调节昆虫生殖的重要激素之一。目前, 已发现的天然保幼激素有 7 种, 分别为 JH0、JHI、JHII、JHIII、4-methyl-JHI、JHIII-bisepoxide 和 Methyl farnesoate, 昆虫种类不同保幼激素也不同。其中, JHIII 是鞘翅目昆虫主要的保幼激素 (王萌长, 2001)。钱明惠等人 (2004) 通过高效液相色谱法检测到松褐天牛 (*Monochamus alternatus* Hope) 体内的保幼激素为 JHII 和 JHIII,

基金项目: 国家青年科学基金项目 (30901154); 湖北省自然科学基金重点项目 (2009CDA123)

\* 陈京元为通讯作者

并且保幼激素滴度变化随虫龄的增大而呈下降趋势。在黄粉虫 (*Tenebrio molitor* L.) 保幼激素早期研究中, 人们已发现保幼激素类似物可促进卵黄未成熟期的 3 日龄黄粉虫雌虫的性激素合成 (Menon and Nair, 1976)。近年来, 有研究表明桑天牛 (*Apriona germari*) 的生殖调控为保幼激素主导型。田玲 (2008) 通过卵巢离体检测发现保幼激素能促进卵巢对卵黄原蛋白的摄取, 还对雌虫的产卵量具有促进作用。

声波在昆虫生活中占有重要地位, 声通讯在很多昆虫的种内个体间的召唤、寻求配偶、同性竞争、寄生昆虫搜寻寄主、躲避天敌等方面都起到重要的作用 (Yager, 1999; Zha et al. 2009)。声波不仅为昆虫用于通讯, 同时还对昆虫自身具有一定的影响。例如, Huang 等人 (2003, 2004) 的实验表明超声波不仅能够干扰印度肉蛾 *Plodia interpunctella* Hüber 的交配行为, 并且对其精囊输送、幼虫数量和幼虫重量也有抑制作用。此外, 超声波辐照对棉铃虫体内乙酰胆碱酯酶 (acetylcholinesterase, AChE) 活性具有显著影响 (Zha et al, 2008)。目前, 有报道称有些甲虫具有膜听器可以侦测超声波 (查玉平和陈京元, 2011), 但是还没有关于声波对甲虫生理方面影响的报道。

本文为了研究超声波对松褐天牛生理方面的影响, 应用高效液相色谱法测定不同时间长度的超声波辐照下的松褐天牛体内保幼激素的滴度变化, 以期探索声波对松褐天牛的生理影响机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试虫源

松褐天牛采自宜昌市夷陵区。

### 1.2 超声波处理

超声波驱虫器 LHC20(武汉丽辉公司生产)产生 4 个峰频, 分别为 35、70、105 和 140kHz。距离声源 50 cm 处的声强为 97 dB。将 1 日和 3 日龄成虫分别分 4 组, 每组 3 头。其中 1 组的试虫不暴露于超声波辐射下, 作为对照组。其余 3 组为处理组均置于超声波驱虫器 LHC20 前 50cm 处。从超声波驱虫器 LHC20 开关打开时计时, 于 1 h、12 h 和 24 h 分别取样。实验设 3 次重复。

### 1.3 保幼激素的提取

保幼激素的提取参照王满困 (2002) 和钱明惠 (2004) 的方法, 并进行优化。分别取超声波处理 1、12、24 小时的试虫及对照组试虫, 用蒸馏水洗净, 滤纸吸干水分, 电子天平称重后, 置于研钵中, 加入 4 ml 提取液 (甲醇: 乙醚= 1: 1) 匀浆, 然后用超声波破碎仪振荡 5min, 加入 2ml 己烷, 再超声振荡 5min 后, 以 4 000 rmp/ min 离心 10 min 取上清液。用己烷反复提取 5 次, 汇总上清液, 上机前用高纯 N<sub>2</sub> 吹干, 用甲醇定容至 500ul。

## 1.4 保幼激素滴度测定

保幼激素的滴度采用高效液相色谱分析法,使用日本岛津产的 DGU-20A5 型高效液相色谱仪。色谱条件为:日本 250.0 mm × 4.6 mm Luna 5u C18 柱,柱温为 30℃,流动相为甲醇:水(80:20),流速 1 ml/min,紫外检测 K = 220 nm,进样量 30ul,以峰面积定量。

## 1.5 数据分析

实验数据应用统计软件 DPS2000 进行 Duncan's 新复极差测验的多重比较分析。

# 2 结果与分析

## 2.1 超声波对 1 日龄松褐天牛成虫体内保幼激素滴度的影响

表 1 超声波对 1 日龄松褐天牛成虫体内保幼激素滴度的影响

组号	辐照时间 (h)	保幼激素滴度 (ng/mg)	差异显著性
1	0	1.3550±0.0813	aA
2	1	0.9873±0.1587	bB
3	12	0.5785±0.0360	cC
4	24	0.5192±0.1053	cC

由表 1 可以看出,无论处理 1h、12h 还是 24h,处理组试虫的体内保幼激素滴度显著低于对照组试虫。超声波处理 1h 的试虫保幼激素滴度为对照组试虫的 72.86%;处理 12h 的试虫保幼激素滴度为对照组试虫的 42.69%;处理 24h 的试虫保幼激素滴度为对照组试虫的 38.32%。处理组之间也存在显著性差异,超声波处理 12h 和 24h 的试虫保幼激素滴度明显低于处理 1h 的试虫保幼激素滴度。此外,实验数据还表明处理组的 1 日龄松褐天牛成虫体内保幼激素滴度随着超声波辐照时间延长,保幼激素滴度显著下降。

## 2.2 超声波对 3 日龄松褐天牛成虫体内保幼激素滴度的影响

表 2 超声波对 3 日龄松褐天牛成虫体内保幼激素滴度的影响

组号	辐照时间 (h)	保幼激素滴度 (ng/mg)	差异显著性
1	0	1.1552±0.0187	aA
2	1	0.8234±0.0773	bB
3	12	0.3648±0.0777	cC
4	24	0.2487±0.0224	dC

由表 2 可以看出,其结果同上,无论处理 1h、12h 还是 24h,处理组试虫的体内保幼激素滴度显著低于对照组试虫。超声波处理 1h 的试虫保幼激素滴度为对照组试虫的 71.28%;处理 12h 的试虫保幼激素滴度为对照组试虫的 31.58%;处理 24h 的试虫保幼激素滴度为对照组试虫的 21.53%。处理组之间也存在显著性差异,超声波处理 12h 的试虫保幼激素滴度明显低于处理 1h 的试虫保幼激素滴度;处理 24h 的试虫保幼激素滴度则显著低于处理

12h 的试虫保幼激素滴度。同样，实验数据还表明处理组的 3 日龄松褐天牛成虫体内保幼激素滴度随着超声波辐照时间延长，保幼激素滴度显著下降。

### 3 结论与讨论

保幼激素是昆虫体内一种重要的激素，昆虫几乎所有的生理活动、生长发育过程和生殖过程都有它的参与 (Khalil et al,2006)。国内外研究表明，不少昆虫体内保幼激素的滴度变化对生殖起到重要的调节作用 (Goodman and Granger, 2005; 田玲, 2008)。因此，研究超声波辐照对松褐天牛成虫体内保幼激素滴度的影响，有助于进一步探索超声波对松褐天牛生殖生理活动的影响。

本文实验数据显示，随着超声波辐照时间延长，松褐天牛成虫体内的 JHIII 滴度逐渐降低，并且同对照组相比，超声波处理组的 JHIII 滴度显著下降。本文实验结果说明超声波辐照能够影响松褐天牛成虫体内 JHIII 代谢水平，尤其是长时间的超声波辐照能够显著降低松褐天牛成虫体内的 JHIII 滴度。这意味着超声波辐照对松褐天牛造成了环境胁迫。该结果同 Zha 等人 (2008) 关于超声波对棉铃虫具有胁迫作用的研究报道相符合，进一步证实了一定范围内的超声波能对昆虫造成环境压力，影响昆虫体内的生理状态。但是超声波影响松褐天牛生殖生理活动的机制还有待进一步研究。

致谢：感谢宜昌市夷陵区森防站彭军、宋德文和王德大等同志在收集试虫过程中提供的帮助。同时也感谢湖北省农业科学院农产品加工与核农技术研究所廖涛博士在保幼激素滴度测定过程中的帮助。

### 参考文献

- 钱明惠, 范军祥, 秦长生. 2004. 用 HPLC 测定松墨天牛体内的保幼激素. 广东林业科技, 20 (2) : 51- 53.
- 田玲. 2008. 桑天牛保幼激素生物合成机制及其对生殖的调控. 南京林业大学博士学位论文.
- 王萌长主编. 2001. 昆虫生物化学. 第二版. 北京: 中国农业出版社, 422-447.
- 王满困, 李周直. 2002. 鞭角华扁叶蜂保幼激素滴度的动态. 林业科学, 38 (5): 83- 86.
- 查玉平, 陈京元. 2011. 甲虫声通讯的研究进展. 植物保护, 37(6): 144-147.
- Goodman W G, Granger N A. 2005. The juvenile hormones. In: Gilbert L I ed., Comprehensive Molecular Insect Science. Elsevier Ltd., Oxford, 319-408.
- Huang F, Subramanyam B, Taylor R. 2003. Ultrasound affects spermatophore transfer, laval numbers, and larval weight of *Plodia interpunctella* (Hübner). Journal of Stored Products Research, 39: 413-422.
- Huang F, Subramanyam B. 2004. Behavioral and reproductive effects of ultrasound on the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*. Entomologia Experimentalis et Applicata, 113: 157-164.
- Khalil S M S, Anspaugh D D, Roe R M. 2006. Role of juvenile hormone esterase and epoxide hydrolase in reproduction of the cotton bollworm, *Helicoverpa zea*. Journal of Insect Physiology, 52: 669-678.
- Menon M D, Nair K K. 1976. Age-dependent effects of synthetic JH on pheromone synthesis in adult females of

*Tenebrio molitor*. Annals of the Entomological Society of America, (2): 457-458.

Yager D D. 1999. Structure, development, and evolution of insect auditory systems. Microscopy Research and Technique, 47: 380 - 400.

Zha Y P, Fen X, Chen Q C, Lei C L. 2008. Effect of ultrasound on acetylcholinesterase activity of *Helicoverpa armigera*. Canadian Entomologist. 140: 563-568.

Zha Y P, Chen Q C, Lei C L. 2009. Ultrasonic hearing in moths. Annales de la Société Entomologique de France, 45: 145 - 156.