

褐飞虱唾液中诱导水稻释放挥发物的活性组分研究

杜孟浩¹, 严兴成², 姜永根¹, 程家安¹

(1. 浙江大学 应用昆虫学研究所; 2. 浙江大学 校医院, 浙江 杭州 310029)

摘要: 行为生测表明在褐飞虱的头部磨碎液中存在诱导水稻释放引诱稻虱缨小蜂挥发物的活性组分, 这些活性组分主要属于蛋白质类. 在 $-15\sim-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下褐飞虱头部磨碎液的生物活性, 至少可保持 38 d, 但 72 d 后全部丧失. 褐飞虱唾液中存在的 α -葡萄糖苷酶、 β -葡萄糖苷酶、 α -淀粉酶和 β -淀粉酶等 4 种主要酶类中, 仅 β -葡萄糖苷酶所处理的稻株挥发物能明显地引诱稻虱缨小蜂. 褐飞虱头部磨碎液、磨碎液中的蛋白质以及 β -葡萄糖苷酶等处理稻株的挥发物与褐飞虱雌成虫为害株的挥发物对稻虱缨小蜂的引诱作用无明显差异. 挥发物提取、分离与鉴定的结果表明, 褐飞虱头部磨碎液、头部磨碎液中分离的蛋白质类以及 β -葡萄糖苷酶等处理所诱导释放的水稻挥发物与褐飞虱雌成虫为害株所释放的挥发物组成相似. 这些结果表明褐飞虱唾液中的蛋白质类, 尤其是 β -葡萄糖苷酶在褐飞虱诱导的水稻挥发物释放中起着重要作用. 文中还就褐飞虱唾液中可能存在的各类活性组分及其可能的作用机理进行了讨论.

关键词: 水稻; 稻虱缨小蜂; 褐飞虱; 唾液; 挥发物; β -葡萄糖苷酶

中图分类号: Q962 **文献标识码:** A

DU Meng-hao¹, YAN Xing-cheng², LOU Yong-gen¹, CHENG Jia-an¹ (1. Institute of Applied Entomology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; 2. Hospital of Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Studies on active chemicals in the saliva of the rice brown planthopper (*Nilaparvata lugens*) that elicit the production of rice volatiles. Journal of Zhejiang University (Agric. & Life Sci.), 2005, 31(3):237-244

Abstract: Active chemicals were found to be present in the rice brown planthopper *Nilaparvata lugens* head extract that induced rice plants to release volatiles attractive to *Anagrus nilaparvatae*, an egg parasitoid of *N. lugens* and were shown to belong mainly to proteins. The activity of the extract was lost when stored at $-15\sim-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 72 days, but it was retained for at least 5 weeks. Among volatiles emitted from rice plants that were wounded and treated with either α -glucosidase, β -glucosidase, α -amylase, or β -amylase, which are the four main enzymes present in the saliva of *N. lugens*, only were volatiles emitted from β -glucosidase-treated plants capable of attracting the parasitoid. The parasitoid showed no preferences for volatiles released from *N. lugens*-damaged plants compared to those from plants that were wounded and treated with either *N. lugens* head extract, proteins isolated from the extract or β -glucosidase. Volatiles released from rice plants that were elicited by *N. lugens* head extract, proteins isolated from the extract or β -glucosidase were similar to those from *N. lugens*-infested plants. These results suggest an important role of proteins, especially β -glucosidase in the saliva

收稿日期: 2004-04-02

基金项目:“973”国家重点基础研究资助项目(G2000016208); 国家自然科学基金资助项目(39870511); 浙江省 151 人才基金资助.

作者简介:杜孟浩(1978—),男,浙江嵊州人,博士,从事昆虫化学生态学的研究.

通讯作者:程家安,男,教授,博士生导师,从事昆虫生态学与害虫综合治理的研究. Tel: 0571-86971900; E-mail: jacheng@zju.edu.cn.

of *N. lugens* in the production of *N. lugens*-induced rice volatiles. The possible nature of the active chemicals in the saliva of *N. lugens* and the potential mechanism by which they induce volatiles production were discussed in the paper.

Key words: rice; *Nilaparvata lugens*; *Anagrus nilaparvatae*; saliva; volatiles; β -glucosidase

植食性昆虫为害诱导的植物挥发物在植食性昆虫天敌的寄主/猎物定位中起着非常重要的作用^[1~3]。如 Dicke *et al.* 发现, 受二点叶螨 *Tetranychus urticae* 为害后的菜豆比未受害菜豆对捕食螨 *Phytoseiulus persimilis* 具更强的引诱作用^[1]。玉米在受甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 攻击后, 亦能增强对寄生蜂 *Cotesia marginiventris* 的引诱作用^[4]。近来, Kesser and Baldwin 以及 Bernasconi *et al.* 则更在自然环境中证实了虫害诱导的植物挥发物对植食性昆虫天敌的引诱作用^[5,6]。

植食性昆虫的唾液(口腔分泌物)是诱导植物释放挥发性互益素的关键物质^[2, 7~9]。至今, 已分离和鉴定了2种能诱导机械损伤植物释放类似于虫害诱导挥发物的化学诱导物(elicitor)。一种是 β -葡萄糖苷酶, 从大菜粉蝶 *Pieris brassicae* 幼虫中分离获得^[10]; 另一种是挥发物诱导素(volicitin), N-(17-羟基-亚麻酰基)-L-谷氨酰胺, 及其类似物(酰胺类化合物), 从甜菜夜蛾幼虫及其它鳞翅目幼虫中分离获得^[11~13]。此外, 最近在一种烟草 *Nicotiana attenuata* 上的研究结果表明, *Manduca sexta* 幼虫口腔分泌物中化学诱导物的2种主要成分(2种酰胺类化合物)能分别上调和下调由总的口腔分泌物所上调和下调的植物基因的64%和49%^[14]。说明在植食性昆虫的口腔分泌物中存在有多种化学诱导物, 并且在不同的植食性昆虫之间存在差异。然而, 在这方面的研究还非常有限, 至今还只对咀嚼式口器的鳞翅目幼虫有过这方面的报道, 而对包括刺吸式口器昆虫在内的其它昆虫尚无研究报道。

本文以水稻、水稻重要害虫褐飞虱 *Nilaparvatae lugens* (Stål) 及其卵期重要寄生蜂稻虱缨小蜂 *Anagrus nilaparvatae* Pang et Wang 为研究系统。以往的结果表明, 褐飞虱若虫或雌成虫-稻株复合体挥发物对褐飞虱天

敌稻虱缨小蜂具有明显的引诱作用; 并且褐飞虱若虫-稻株复合体挥发物与褐飞虱雌成虫-稻株复合体挥发物对该蜂的引诱作用无明显差异; 通过分解测定褐飞虱-稻株复合体中各组分挥发物对稻虱缨小蜂的引诱作用表明, 去除褐飞虱后的受害稻株挥发物比健康稻株或机械损伤稻株挥发物对寄生蜂具更强的引诱作用, 而褐飞虱各发育阶段虫体(若虫, 雌成虫, 雄成虫, 卵)及其产物(蜜露, 脱皮壳)的挥发物对该蜂无引诱作用^[15~17]。这些结果表明褐飞虱诱导的水稻挥发物在稻虱缨小蜂的寄主寻找行为中起着重要作用, 并且褐飞虱诱导的水稻挥发物的释放与褐飞虱的唾液可能有着密切的关系。本文在这些研究工作的基础上, 着重就褐飞虱唾液中诱导水稻挥发物的活性组分进行了研究。现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 供试水稻

水稻品种为 TN1, 种子由中国水稻研究所提供。种子于室内催芽后, 分期分批播于室外无虫网室的水泥槽内, 至秧龄 20~30 d 时, 移栽至(\varnothing 15 cm \times 15 cm)塑料盆钵中, 每盆 10 根苗, 定期浇水施肥, 移栽后 40~50 d 供试。

1.2 供试昆虫

褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 虫源由中国水稻研究所提供。在室外的网室内, 利用 TN1 稻苗进行群体繁殖, 繁殖 1~2 代后的飞虱供试验用。稻虱缨小蜂 *Anagrus nilaparvatae* 虫源从浙江大学华家池校区实验农场中诱得, 然后在(27 \pm 1) $^{\circ}$ C、12 L:12 D 的光照培养箱中, 以 TN1 上的褐飞虱卵繁殖。

1.3 化学药品

β -葡萄糖苷酶(1.4 U/mg protein), α -葡萄糖苷酶(75 U/mg protein), α -淀粉酶(1178 U/

mg protein)和 β -淀粉酶(986 U/mg protein)均购自 SIGMA 公司.使用时按照 Mattiacci *et al.* 的方法^[10],以 0.1 mol/L 的 NaOH/柠檬酸配成的缓冲液(pH=6)分别将 4 种酶配成实验所需浓度: β -葡萄糖苷酶,0.5 U/mL; α -葡萄糖苷酶,0.5 U/mL; α -淀粉酶,1.25 U/mL 和 β -淀粉酶,1.25 U/mL.其他试剂为国产分析纯.

1.4 褐飞虱头部磨碎液的收集和保存

取褐飞虱头部 1000 个(包括唾液腺),置于 1 mL 磷酸氢二钠缓冲液(0.05 mol/L, pH=8)中,充分磨碎后于-80 °C 保存.

1.5 生物测定

稻虱缨小蜂的行为生测采用“Y”型嗅觉仪.嗅觉仪的构造及具体的生测方法同类永根等^[18].对每个处理至少测定稻虱缨小蜂 32 头.实验所得的数据采用 χ^2 检验.

1.6 稻虱缨小蜂对褐飞虱头部磨碎液各分离组分处理稻株挥发物的行为反应

分别利用下列的褐飞虱头部磨碎液及其各分离组分处理稻株:①褐飞虱头部磨碎液;②煮沸 5 min 后的褐飞虱头部磨碎液;③取褐飞虱头部磨碎液经 3000 r/min 离心 5 min 后的沉淀物及上清液,对沉淀物用 0.05 mol/L 磷酸氢二钠缓冲液重新溶解到原溶液相同体积后再使用,上清液用孔径为 0.22 μ m 的膜过滤后使用;④取处理③中有活性的上清液用柠檬酸将 pH 值调节至 3.3,然后以 16000 r/min 离心 30 min,取上清液(非蛋白质类)和沉淀物(含蛋白质类)^[19].沉淀物用 0.05 mol/L 磷酸氢二钠缓冲液重新溶解到原溶液相同体积后再使用;⑤取处理④中的蛋白质类溶液煮沸 5 min 后使用.水稻苗的处理方法如下:按需要取上述所栽水稻,去除小的分蘖和黄叶,用自来水清洗干净,留 10 根苗.然后用解剖针在每根稻株茎的上部和基部,各刺 200 次,并在每个部位涂抹上述材料的溶液各 20 μ L.均以 0.05 mol/L 的磷酸氢二钠缓冲液处理稻株为对照.处理 12 h 后,利用 1.5 所述的生测方法分别测定稻虱缨小蜂对上述材料所处理稻株挥发物的行为反应,同时也测定了稻虱缨小蜂对褐飞虱头部磨碎液本身的行为反应(以 0.05 mol/L 的磷酸氢二钠缓冲液为对照).

1.7 褐飞虱头部磨碎液活性在低温下可保存时间的测定

将新鲜的褐飞虱头部磨碎液保存于-15~-20 °C 的冰柜中,然后分别取保存后 1、7、10、21、38 和 72 d 的头部磨碎液处理稻株,以 0.05 mol/L 的磷酸氢二钠缓冲液处理稻株为对照.处理方法同 1.6.分别测定稻虱缨小蜂对不同保存时间褐飞虱头部磨碎液处理稻株挥发物的行为反应.

1.8 稻虱缨小蜂对 4 种酶处理稻株挥发物的行为反应

褐飞虱唾液中存在 4 种主要的酶类,即 β -葡萄糖苷酶、 α -葡萄糖苷酶、 α -淀粉酶和 β -淀粉酶^[20].分别测定稻虱缨小蜂对 β -葡萄糖苷酶(0.5 U/mL), α -葡萄糖苷酶(0.5 U/mL), α -淀粉酶(1.25 U/mL)和 β -淀粉酶(1.25 U/mL)^[10]处理稻株挥发物的行为反应.均以 0.1 mol/L 的 NaOH/柠檬酸缓冲液处理稻株为对照.处理方法同 1.6.

1.9 褐飞虱头部磨碎液各活性组分处理稻株与褐飞虱为害稻株挥发物的活性比较

比较测定了褐飞虱头部磨碎液、蛋白质类及 β -葡萄糖苷酶(0.5 U/mL)各处理稻株与褐飞虱为害稻株(15 雌成虫/苗)挥发物对稻虱缨小蜂引诱作用的差异.处理方法同 1.6.

1.10 水稻挥发物的提取和分离及鉴定

挥发物的提取,利用固相微萃取法(SPME),其提取方法仿照娄永根等^[20].用剪刀对需捕集化合物的水稻齐泥割下,称取稻株 30 g,小心放入一提取筒(Φ 5 cm \times 45 cm 的圆柱形筒)内.为避免机械损伤伤口释放挥发物,在玻璃筒内滴加 5 mL 蒸馏水.整个玻璃筒置于一大的水浴锅中(Φ 20 cm \times 50 cm, 28 °C).固相微萃取的针头自玻璃筒盖中间的小孔(Φ 1 mm)插入,小心地将固相微萃取的萃取头推出,同时用铁架台固定固相微萃取.自萃取头推出后开始计时,对挥发物提取 2 h.整个提取过程在 28 °C 的空调室进行.

分别对磷酸氢二钠缓冲液、褐飞虱头部磨碎液、蛋白质类、非蛋白质类、 β -葡萄糖苷酶等处理稻株,褐飞虱雌成虫为害株及未处理稻株的挥发物进行提取,水稻苗的处理方法同行为

生测的水稻苗处理方法. 提取的挥发物利用气相色谱 HP-6890Plus 分离. 对固相微萃取捕集的挥发物, 直接在 250 °C 的 GC 进样口内进行热解析, 解析时间为 1 min, 无分流进样. 色谱柱利用 HP-5MS 毛细管柱 (30 m × 0.25 mm ID, 膜厚 0.25 μm). 柱温采取程序升温, 40 °C (2 min) 至 250 °C (2 min), 6 °C/min. 以 99.999% 高纯氮气作载气, 柱气流量 1.0 mL/min. 挥发物的检测通过 Agilent MSD 5973, 气谱/质谱接口温度 280 °C; EI 离子源, 离子源温度 230 °C, 电离能 70 eV. 通过核对谱库 (NIST98) 与标准化合物的质谱图, 对挥发物的各组分进行定性, 并以正辛烷为外标 (200 mg/L, 进样量 1 μL), 根据峰面积对各挥发物组分进行相对定量.

1.11 实验数据的统计分析

利用 DPS 计算机软件分别对实验结果进行 χ^2 检验和方差分析, 并根据挥发物各组分的含量, 挥发物的种类数以及挥发物总量对 7 种处理进行聚类分析, 以了解各处理间挥发物的差异程度. 进行系统聚类分析时, 先进行数据的标准化, 以 χ^2 计算样品间的距离, 最后以离差平方和法对样品聚类.

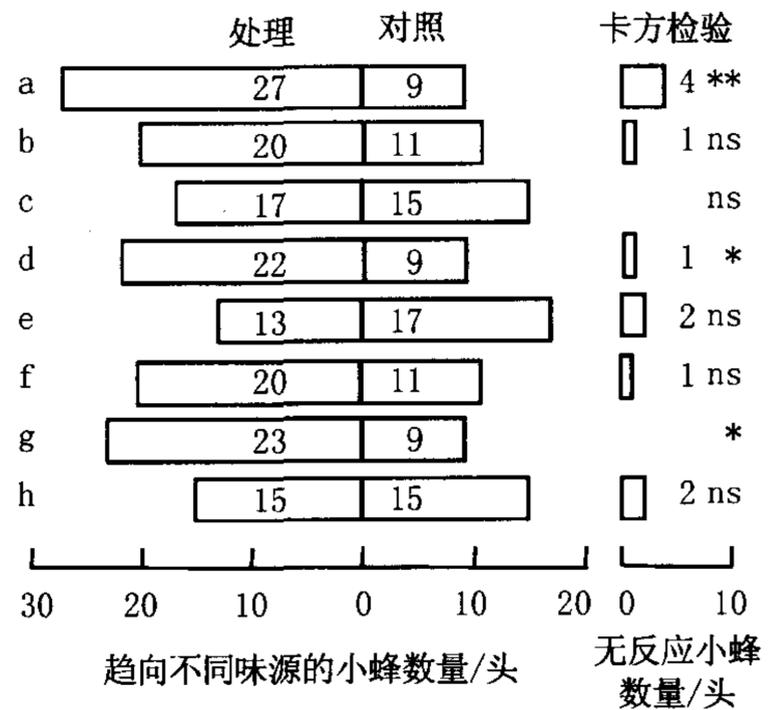
2 结果与分析

2.1 稻虱缨小蜂对褐飞虱头部磨碎液及其各分离组分处理稻株挥发物的行为反应

结果表明, 稻虱缨小蜂对褐飞虱头部磨碎液、3000 r/min 离心后的上清液及蛋白质类所处理的水稻挥发物具明显的趋性, 而对离心后的沉淀重溶、煮沸的蛋白质类及褐飞虱头部磨碎液本身等处理的水稻挥发物则不显示明显的行为反应 (图 1). 说明在褐飞虱头部磨碎液中存在诱导水稻释放挥发物的活性组分, 并且这些活性组分主要属于蛋白质类.

2.2 褐飞虱头部磨碎液活性在低温下的可保存时间

在 -15 ~ -20 °C 条件下, 褐飞虱头部磨碎液的生物活性在 72 d 后全部丧失, 但至少可保持 38 d (图 2). 此外, 从图中还可看出随着存放



a, b, d, e, f, g, h 分别表示头部磨碎液、煮沸头部磨碎液、上清液、沉淀重溶、非蛋白质类、蛋白质类及煮沸蛋白质类处理苗与对照缓冲液处理苗的比较; c 表示头部磨碎液 (无苗) 与缓冲液 (无苗) 的比较.

图 1 稻虱缨小蜂对褐飞虱头部磨碎液各分离组分处理稻株挥发物的行为反应

Fig. 1 Behavioral responses of *Anagrus nilaparvatae* females to volatiles from rice plants that were wounded and treated with various fractions isolated from *Nilaparvata lugens* heads extraction

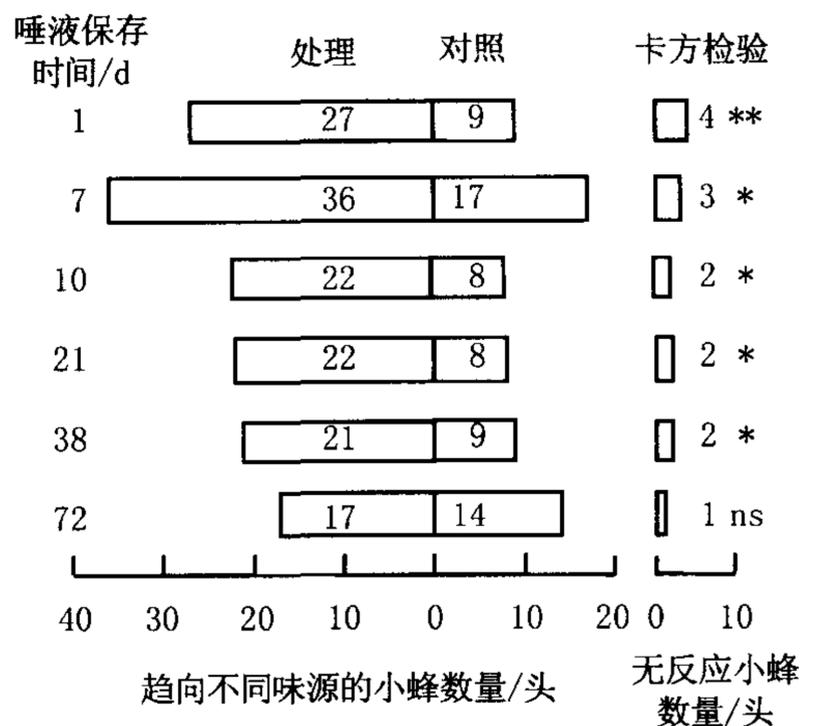


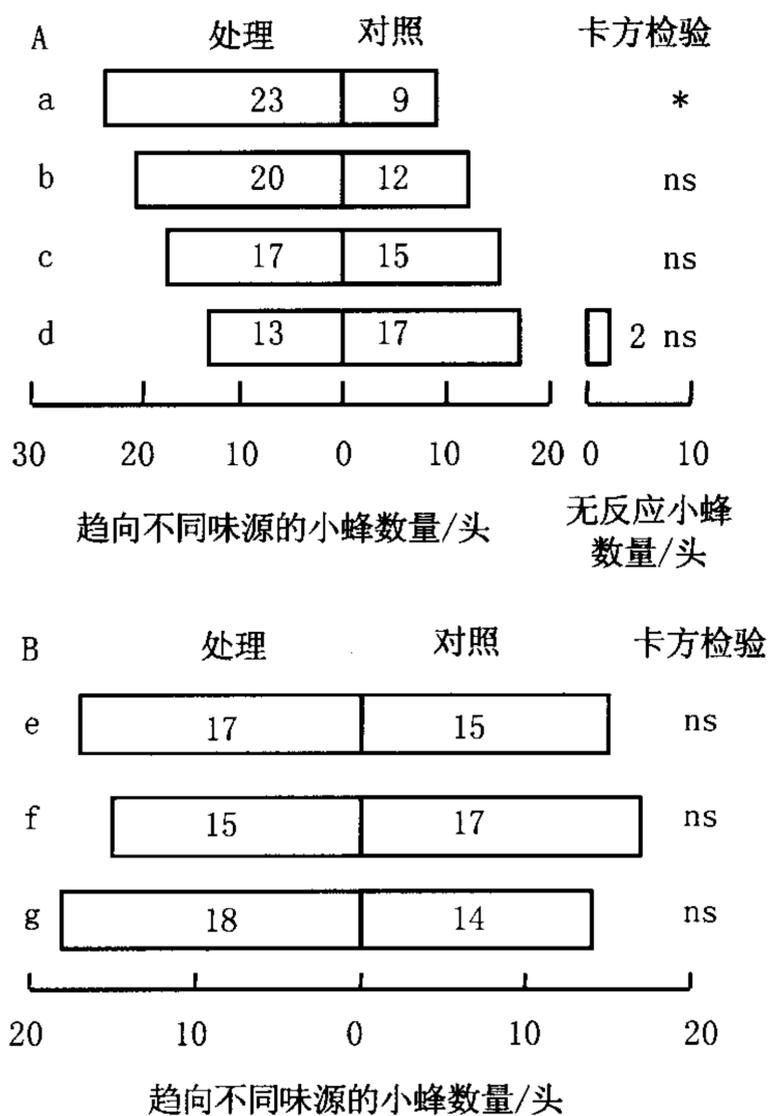
图 2 稻虱缨小蜂对不同保存时间的褐飞虱头部磨碎液处理稻株挥发物的行为反应

Fig. 2 Behavioral responses of *Anagrus nilaparvatae* females to volatiles from rice plants that were wounded and treated with *Nilaparvata lugens* heads extraction kept at -15 °C to -20 °C for different time

时间的延长, 褐飞虱唾液诱导水稻挥发物的活性有下降的趋势.

2.3 稻虱缨小蜂对 4 种酶处理稻株挥发物的行为反应

在测定的 4 种酶中, 只有 β -葡萄糖苷酶 (0.5 U/mL) 处理的水稻苗对稻虱缨小蜂有明显的引诱作用; 其他 3 种, 即 α -葡萄糖苷酶 (0.5 U/mL), α -淀粉酶 (1.25 U/mL) 和 β -淀粉酶 (1.25 U/mL) 则不显示明显的引诱作用 (图 3A).



a、b、c、d 分别表示 β -葡萄糖苷酶、 α -葡萄糖苷酶、 α -淀粉酶及 β -淀粉酶处理苗与对照缓冲液处理苗的比较; e、f、g 分别表示头部磨碎液、蛋白质类及 β -葡萄糖苷酶处理苗与褐飞虱为害苗的比较.

图 3 稻虱缨小蜂对 ① 4 种酶处理稻株挥发物的行为反应和 ② 各活性组分处理稻株与褐飞虱雌成虫为害稻株挥发物的选择趋性

Fig. 3 *Anagrus nilaparvatae* females' responses to ① volatiles from rice plants that were wounded and treated with one of the four enzymes and ② pairs of volatiles from rice plants in which one kind of plants were wounded and treated with one of active fractions isolated from the extraction of *Nilaparvata lugens* heads and the other was *Nilaparvata lugens* females damaged plants

2.4 各活性组分处理稻株与褐飞虱为害稻株挥发物的活性比较

褐飞虱头部磨碎液、蛋白质类及 β -葡萄糖苷酶 (0.5 U/mL) 处理稻株挥发物与褐飞虱为害稻株挥发物对稻虱缨小蜂的引诱作用无显著差异 (图 3B).

2.5 各处理稻株的挥发物比较

共捕集到水稻挥发物 25 种, 其中鉴定了 21 种 (表 1). 在鉴定的 21 种挥发物中有 3 种醛类, 3 种萜烯类, 5 种酮类, 最多的是直链的烷烃和烯炔, 共 10 种. 这与姜永根等报道的水稻挥发物组分大多一致^[18]. 从水稻挥发物总量上看, 褐飞虱为害、褐飞虱头部磨碎液、蛋白质类和 β -葡萄糖苷酶等 4 种处理, 与相对应的对照未处理稻株或磷酸氢二钠缓冲液处理稻株相比, 均显著或极显著地增加了水稻挥发物的释放量, 其总量分别为其相应对照的 7.26、5.51、4.52 和 8.45 倍; 非蛋白类处理稻株尽管在挥发物总量方面亦比对照有一定程度的增加, 但差异不显著 (表 1). 从单个组分看, 褐飞虱为害后 (与对照未处理稻苗相比) 能明显导致 12 种水稻挥发物组分, 包括芳樟醇、1-十三烯、正十三烷、E-4-(2, 6, 6-trimethyl-2-cyclohexen-1-yl)-3-Buten-2-one、4-(2, 6, 6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-2-Butanone、正十六烷、正十七烷、正十八烷、6, 10, 14-三甲基-2-十五酮、正十九烷和两种未知化合物 (未知物 1 和未知物 3) 释放量的上升, 并且使水稻释放一种新的挥发物正二十一烷 (表 1). 与对照磷酸氢二钠缓冲液处理稻株相比, 褐飞虱头部磨碎液、蛋白质类、非蛋白质类及 β -葡萄糖苷酶等处理稻株, 分别能明显增加 10 种、8 种、3 种和 10 种挥发物组分的释放量, 并同时导致新的正二十一烷的释放. 此外, 有一种组分 1-(1, 5-二甲基-4-己烯基)-4-甲基-苯明显下降; 在这些增加的挥发物组分中, 4 种处理中分别有 11 种、7 种、4 种和 9 种与褐飞虱为害株中所增加的组分相同 (总 13 种) (表 1). 说明褐飞虱为害株的挥发物组成与褐飞虱头部磨碎液、蛋白质类及 β -葡萄糖苷酶等处理稻株的比较接近, 而非蛋白质类处理稻株的则相差较大. 聚类分析的结果也正好说明了这一点: 褐飞虱为害株的挥发物组成相

表 1 不同处理稻株的挥发物组成相比较

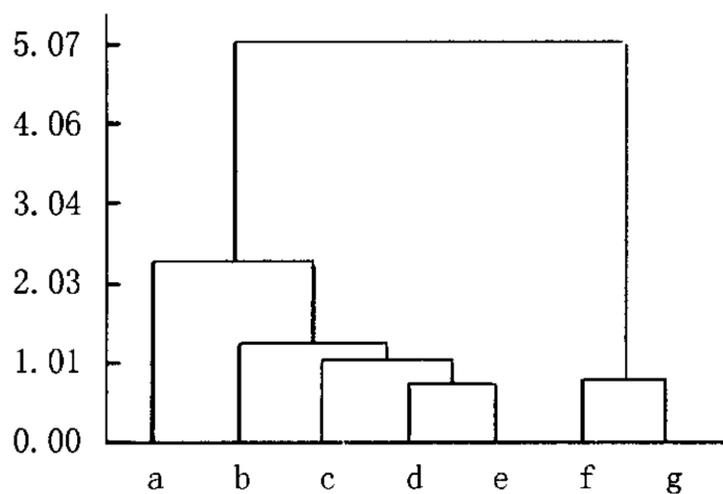
Table 1 Comparisons of volatiles profiling emitted from headspaces of rice plants with different treatments

占外标峰面积/%

挥发物组分	未处理	褐飞虱为害	缓冲液处理	头部磨碎液处理	非蛋白质处理	蛋白质处理	β -葡萄糖苷酶处理
E-2-己烯醛	0.15±0.05aA	0.70±0.22aA	0.21±0.03aA	0.55±0.06aA	1.01±0.29aA	0.77±0.18aA	0.52±0.29aA
柠檬烯	0.11±0.03bcA	0.08±0.01bcA	0.17±0.02abcA	0.91±0.31aA	0.06±0.02cA	0.50±0.03abcA	0.67±0.23abA
芳樟醇	0.05±0.01cB	0.23±0.01abAB	0.12±0.01bcB	0.33±0.07aA	0.19±0.03bcAB	0.23±0.01abAB	0.16±0.02bcAB
2,6,6-trimethyl-1-cyclohexene-1-carboxaldehyde	0.12±0.04aA	0.43±0.14aA	0.14±0.05aA	0.53±0.18aA	0.52±0.17aA	0.37±0.12aA	0.55±0.18aA
1-十三烯	0.23±0.07cB	2.15±0.11abB	0.20±0.06cB	1.64±0.70bAB	0.08±0.01cB	1.46±0.18bAB	4.35±0.30aA
未知 1	0.06±0.00bA	2.48±0.11aA	0.30±0.17bA	3.60±1.70aA	2.31±0.05abA	0.76±0.12bA	1.74±0.21abA
1-十四烯	0.09±0.05bA	0.57±0.09abA	0.59±0.05abA	0.64±0.28aA	0.34±0.08abA	0.28±0.08bA	0.91±0.12aA
正十三烷	0.51±0.20eD	6.30±0.68cdBC	2.44±0.74deCD	10.79±1.70bcAB	0.17±0.04eD	15.47±2.24abA	22.43±2.38aA
E-4-(2,6,6-trimethyl-2-cyclohexen-1-yl)-3-Buten-2-one	0.20±0.05bcB	2.47±0.19aA	0.09±0.05cB	1.12±0.31abAB	0.45±0.02bcAB	0.84±0.22bAB	0.88±0.29bAB
未知 2	0.05±0.01bB	0.16±0.05bAB	0.12±0.01bB	0.18±0.01bAB	0.23±0.05abAB	0.41±0.04aA	0.15±0.04bAB
1-(1,5-二甲基-4-己烯)-4-甲基-苯	0.03±0.01bB	0.03±0.02bB	0.25±0.03aA	0.01±0.00bB	0.07±0.01bB	0.03±0.00bB	0.04±0.01bB
4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-2-Butanone	1.27±0.13bA	7.53±1.92aA	0.99±0.54bA	6.38±2.89aA	9.60±1.92aA	2.81±0.55abA	6.42±0.81aA
2-十三酮	0.14±0.05aA	0.12±0.06aA	0.01±0.00aA	2.03±1.15aA	1.21±0.64aA	1.55±0.89aA	0.01±0.00aA
正十五烷	1.62±0.22abA	0.89±0.03abA	0.41±0.13bA	1.69±0.16abA	0.91±0.29abA	3.00±0.06aA	3.59±1.66aA
未知 3	0.04±0.01cC	0.32±0.05abABC	0.30±0.03bABC	0.43±0.07abA	0.37±0.06abAB	0.52±0.02aA	0.09±0.03cBC
未知 4	0.02±0.00bA	0.13±0.03abA	0.14±0.02abA	0.13±0.00abA	0.07±0.01bA	0.12±0.01abA	0.19±0.04aA
正十六烷	0.42±0.09cA	8.93±0.75abA	0.88±0.25cA	6.39±2.56bA	0.38±0.13cA	6.93±1.22bA	16.47±4.43aA
十四醛	0.04±0.01aA	0.31±0.14aA	0.37±0.04aA	0.22±0.00aA	0.43±0.12aA	0.24±0.01aA	0.47±0.14aA
正十七烷	2.21±0.29bA	13.83±1.95aA	0.42±0.07bA	8.22±0.63aA	7.07±3.46aA	7.30±0.59aA	15.08±4.44aA
十六醛	0.34±0.04aA	1.13±0.46aA	0.05±0.02aA	0.75±0.30aA	1.20±0.39aA	0.41±0.02aA	0.36±0.17aA
正十八烷	0.13±0.02bB	3.33±0.11aAB	0.10±0.03bB	5.25±0.26aA	0.14±0.04bB	1.38±0.19abAB	5.93±1.67aA
6,10,14-三甲基-2-十五酮	0.43±0.06cA	8.11±0.21aA	0.24±0.13cA	6.23±2.81abA	6.32±2.42abA	2.26±0.44bcA	2.63±0.53bcA
正十九烷	0.10±0.02cA	3.55±0.39aA	0.03±0.01cA	1.44±0.38abcA	0.52±0.21cA	0.99±0.08bcA	3.24±1.08abA
正二十烷	0.01±0.00bA	0.12±0.03abA	0.01±0.00bA	0.26±0.06abA	0.06±0.01abA	0.25±0.02abA	1.06±0.46aA
正二十一烷	—	0.05±0.01aA	—	0.04±0.00aA	0.05±0.01aA	0.07±0.01aA	0.39±0.18aA
总量	8.78±0.31cC	63.78±6.42abA	10.49±0.72cBC	57.82±1.49abAB	32.65±8.82bcABC	47.42±3.36abABC	88.61±14.27aA

注:表内同一行数据(平均数±标准误差)字母相同者表示差异不显著(小写字母, $P < 0.05$; 大写字母, $P < 0.01$. LSD 法); —, 表示没有监测到。

与褐飞虱头部磨碎液、蛋白质类及 β -葡萄糖苷酶等处理稻株的比较接近,与非蛋白质类处理稻株的相差较大,而与未处理稻株和缓冲液处理稻株的差别最明显(图4)。



a、b、c、d、e、f、g 分别表示非蛋白类、 β -葡萄糖苷酶、蛋白质类、头部磨碎液处理稻株和褐飞虱为害、缓冲液处理及未处理稻株。

图4 不同处理稻株挥发物组成相的聚类分析

Fig. 4 Cluster analysis of volatiles profiling emitted from headspaces of rice plants with different treatments

3 讨论

本文经过一系列行为生测试验,证实了在褐飞虱的头部磨碎液中存在诱导水稻释放挥发物的活性物质,并且其主要组分为蛋白质类(图1)。结合褐飞虱唾液中存在的 β -葡萄糖苷酶能诱导水稻释放引诱稻虱缨小蜂的挥发物(图3),可以明确在褐飞虱唾液中至少存在一种酶,即 β -葡萄糖苷酶能诱导水稻挥发物的释放。尽管在实验中不能保证在褐飞虱头部磨碎液、蛋白质类、 β -葡萄糖苷酶以及褐飞虱为害这4种处理中所存在的活性组分即褐飞虱唾液中化学诱导物的含量完全一致,但根据前面3种处理稻株挥发物与褐飞虱为害稻株挥发物对稻虱缨小蜂的引诱作用(图3B)以及相互间组成相(图4,表1)的相似性,至少从一个侧面说明了在褐飞虱唾液中的蛋白质类尤其是 β -葡萄糖苷酶在褐飞虱诱导的水稻挥发物释放中起着重要作用。至于是否存在其它的活性蛋白质类,则尚需作进一步的深入研究。

值得一提的是,虽然煮沸的褐飞虱头部磨

碎液处理稻株和褐飞虱头部磨碎液中非蛋白质类处理稻株挥发物对稻虱缨小蜂的引诱作用在统计学意义上不明显,但稻虱缨小蜂对其都有一定的趋性(64.5%, N=32, 图1)。当生测的寄生蜂数达到64头时,两种处理对稻虱缨小蜂都显示了明显的引诱作用(煮沸的头部磨碎液:40:22, $\chi^2 = 4.660^*$; 非蛋白质类:40:21, $\chi^2 = 5.310^*$)。挥发物的捕集结果也表明,褐飞虱头部磨碎液中的非蛋白质类处理稻株能导致3种水稻挥发物组分释放量的上升以及1种新组分的释放,并且这些组分的变化趋势与褐飞虱为害株中的一致(表1)。这似乎喻示在褐飞虱的头部磨碎液中有可能还存在着非蛋白质类的活性组分,并且也说明由非蛋白质类物质所诱导的4种挥发物组分有可能在稻虱缨小蜂的寄主选择行为中起着一定的作用。

在褐飞虱唾液中存在的 β -葡萄糖苷酶,可作用于酚糖苷,如熊果苷和水杨苷;作用于水杨苷的产物之一是水杨酸^[20]。水杨酸作为植物体内的重要信号物在植物的抗病性中起着重要作用^[21, 22]; Ozawa等发现水杨酸甲酯亦能诱导菜豆释放挥发物^[23]。因此, β -葡萄糖苷酶对水稻挥发物的诱导有可能是通过水杨酸信号传导途径起作用。至于为什么在褐飞虱唾液中存在 β -葡萄糖苷酶这种在某种意义上可能对己不利的物质?这可能与 β -葡萄糖苷酶能帮助褐飞虱对食物的摄取和消化有关。

References:

- [1] Dicke M, Sabelis M W. Plant strategies of manipulating predator-prey interactions through allelochemicals: Prospects for application in pest control [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1990, 16, 11: 3091-3118.
- [2] Turlings T C J, Tumlinson J H, Lewis W J. Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps [J]. *Science*, 1990, 250: 1251-1253.
- [3] Turlings T C J, McCall P J, Alborn H T, et al. An elicitor in caterpillar oral secretions that induces corn seedlings to emit chemical signals attractive to parasitic wasps [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1993, 19: 411-425.
- [4] Turlings T C J, Tumlinson J H, Eller F J, et al.

- Larval-damaged plants: source of volatile synomones that guide the parasitoid *Cotesia marginiventris* to the micro-habitat of its hosts [J]. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, 1991, 58: 75-82.
- [5] Kessler A, Baldwin I T. Defense function of herbivore-induced plant volatile emissions in nature [J]. **Science**, 2001, 291(16): 2141-2144.
- [6] Bernasconi O M L, Turlings T C J, Edwards P J, *et al.* Response of natural populations of predators and parasitoids to artificially induced volatile emissions in maize plants (*Zea mays* L.) [J]. **Agricultural and Forest Entomology**, 2001, 3: 201-209
- [7] Dicke M, Baarlen P V, Wessels R, *et al.* Herbivory induces systemic production of plant volatiles that attract predators of the herbivore: Extraction of endogenous elicitor [J]. **Journal of Chemical Ecology**, 1993, 19(3): 581-599.
- [8] Aerts R, Gisi D, Decarolis E, *et al.* Methyl jasmonate vapor increases the developmentally controlled synthesis of alkaloids in *Catharathus* and *Cinchona* seedlings [J]. **Plant Journal**, 1994, 5: 635-643.
- [9] Loughrin J H, Potter D A, *et al.* Diurnal emission of volatile compounds by Japanese beetles-damaged grape leaves [J]. **Phytochemistry**, 1997, 919-923.
- [10] Mattiacci L, Dicke M, Posthumus M A. β -glucosidase: an elicitor of herbivore-induced plant odor that attracts host-searching parasitic wasps [J]. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 1995, 2036-2040.
- [11] Alborn H T, Turlings T C J, Jones J H, *et al.* An elicitor of plant volatiles from beet armyworm oral secretion [J]. **Science**, 1997, 276: 873-949.
- [12] Pohnert G, Jung V, Haukioja E, *et al.* New fatty acid amides from regurgitant of Lepidopteran (Noctuidae, Geometridae) Caterpillars [J]. **Tetrahedron**, 1999, 55: 11275-11280.
- [13] Halitschke R, Schittko U, Pohnert G, *et al.* Molecular interactions between the specialist herbivore *Manduca sexta* (Lepidoptera, Sphngidae) and its natural host *Nicotiana attenuata*. Fatty acid-amino acid conjugates in herbivore oral secretions are necessary and sufficient for herbivore-specific plant responses [J]. **Plant Physiology**, 2001, 125: 711-717.
- [14] Halitschke R, Gase K, Hui D, *et al.* Molecular interactions between the specialist herbivore *Manduca sexta* (Lepidoptera, Sphngidae) and its natural host *Nicotiana attenuata*. VI. microarray analysis reveals that most herbivore-specific transcriptional changes are mediated by fatty acid-Amino acid conjugates [J]. **Plant Physiology**, 2003, 131: 1894-1902.
- [15] LOU Yong-gen, CHENG Jia-an (娄永根, 程家安). Behavioral responses of *Anagrus nilaparatae* Pang et Wang to the volatile of rice varieties [J]. **Entomological Journal of East China (华东昆虫学报)**, 1996, 5(1): 60-64. (in Chinese)
- [16] LOU Yong-gen (娄永根). Role of infochemicals the host selection behaviour of parasitoid, *Anagrus nilaparvatae* Pang et Wang [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 1999. (in Chinese)
- [17] Lou Y G, Cheng J A, Du M H, *et al.* Role of rice volatiles in resistance to the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* [A]. **International Workshop "Varietal Resistance-based Sustainable Insect Pest Management in Rice"** [C], Hangzhou, China, 2001, 40-41.
- [18] LOU Yong-gen, CHENG Jia-an, PING Xiao-fei, *et al.* (娄永根, 程家安, 平宵飞, 等). Discrimination by the parasitoid *Anagrus nilaparvatae* between tow hosts, *Nilaparvatae lugens* and *Sogatella furcifera* [J]. **Acta Entomologica Sinica (昆虫学报)**, 2002, 45 (6): 770-776. (in Chinese)
- [19] Turlings T C J, Alborn H T, Loughrin J H, *et al.* Volicitin, An Elicitor of maize volatiles in oral secretion of *Spodoptera exigua*: its isolation and bioactivity [J]. **Journal of Chemical Ecology**, 2000, 26 (1): 189-202.
- [20] Sogawa K. Studies on the salivary glands of rice plant hoppers, III. Salivary phenolase [J]. **Applied Entomology and Zoology**, 1968, 3: 13-25.
- [21] Raskin I. Role of salicylic acid in plants [J]. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, 1992, 43: 439-463.
- [22] Ryals J A, Neuenschwander U H, Willits M G, *et al.* Systemic acquired resistance [J]. **Plant Cell**, 1996, 8: 1809-1819.
- [23] Ozawa R, Arimura G, Takabayashi J, *et al.* Involvement of jasmonate- and salicylate-related signaling pathways for the production of specific herbivore-induced volatiles in plants [J]. **Plant Cell Physiology**, 2000, 41: 391-398.