

水杨酸与过氧化氢信号途径在褐飞虱诱导的水稻挥发物释放中的作用

王霞, 杜孟浩, 周国鑫, 程家安, 娄永根

(浙江大学 昆虫科学研究所, 浙江 杭州 310029)

摘要: 以水稻、褐飞虱及其卵期重要寄生蜂稻虱缨小蜂为模式系统, 研究了水杨酸与过氧化氢信号转导途径在褐飞虱为害诱导的水稻挥发物释放中的作用. 结果表明, 褐飞虱为害能迅速地导致水稻体内水杨酸(为害后 1 h)和 H_2O_2 (为害后 1.5 h)含量的上升, 早于褐飞虱为害诱导水稻释放引诱稻虱缨小蜂挥发物所需的时间. 外用水杨酸和 H_2O_2 处理的试验结果表明, 水稻生理浓度范围内的水杨酸处理能诱导水稻释放引诱稻虱缨小蜂的挥发物, 而 H_2O_2 则只有在远高于水稻生理浓度时才能诱导. 水杨酸或 H_2O_2 处理的稻株挥发物对寄生蜂的引诱作用要弱于褐飞虱为害的稻株, 并且在挥发物组成相方面亦与后者存在比较明显的差异, 尽管它们之间显示了一些相似的变化. 这些结果说明水杨酸信号转导途径参与了褐飞虱为害诱导的水稻挥发物的释放, 而 H_2O_2 信号转导途径在其中的作用则可能相对较小; 同时, 也表明了这些挥发物的释放除了水稻体内水杨酸信号转导途径的参与外, 还可能涉及到其它的信号转导途径.

关键词: 水稻; 褐飞虱; 稻虱缨小蜂; 虫害诱导的水稻挥发物; 水杨酸; 过氧化氢; 信号转导途径
中图分类号: Q962 **文献标识码:** A

WANG Xia, DU Meng-hao, ZHOU Guo-xin, CHENG Jia-an, LOU Yong-gen(*Institute of Insect Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China*)

Role of salicylic acid and H_2O_2 signaling pathways in the production of rice volatiles induced by the rice brown planthopper *Nilaparvata lugens*. Journal of Zhejiang University (Agric. & Life Sci.), 2007, 33(1): 15-23

Abstract: Using a model system consisting of rice plants, rice brown planthopper *Nilaparvata lugens* and its main egg parasitoid *Anagrus nilaparvatae*, the role of salicylic acid and H_2O_2 signaling pathways in the production of rice volatiles induced by *N. lugens* was studied. The result showed that *N. lugens* infestation quickly enhanced the levels of salicylic acid (SA) (1 h after infestation) and H_2O_2 (1.5 h after infestation) in rice plants, which was prior to the emission of *N. lugens*-induced rice volatiles attractive to the parasitoid. Exogenous application of SA, whose levels were within the physiological concentrations of rice plants, on rice plants resulted in the release of volatiles attractive to the parasitoid, whereas H_2O_2 did not until its levels applied on rice plants were far higher than the physiological concentration. The volatiles emitted from SA-treated plants or H_2O_2 -treated plants showed weaker attractiveness to the parasitoid compared to those from the

收稿日期: 2006-05-30

基金项目: “973”国家重点基础研究资助项目(2006CB102005); 国家自然科学基金资助项目(30270233; 30370960); 教育部新世纪优秀人才支持计划资助项目(NCET-04-0534); 教育部创新团队资助项目(IRT0535)。

作者简介: 王霞(1979—), 女, 山东聊城人, 硕士, 从事昆虫化学生态学研究。

通讯作者: 娄永根, 男, 教授, 博士生导师, 从事昆虫化学与分子生态学方面的研究. Tel: 0571-86971622; E-mail: yglou@zju.edu.cn.

herbivore-infested plants. Moreover, there were obvious differences in volatile profiles between the herbivore-infested plants and SA-treated plants or H_2O_2 -treated plants, although they showed some similar changes after elicitation. These suggest that SA signaling is involved in the production of rice volatiles induced by *N. lugens*, while H_2O_2 signaling might be not. Moreover, the results also demonstrate a possible involvement of other signaling pathways in the production of the volatiles except for the SA signaling.

Key words: rice; *N. lugens*; *A. nilaparvatae*; herbivore-induced rice volatiles; salicylic acid; hydrogen peroxide; signaling pathways

虫害诱导的植物挥发物在植食性昆虫天敌的寄主/猎物寻找行为中起着重要作用^[1]. 近几年来, 通过对其释放机理的研究表明, 植物体内的信号转导途径在植食性昆虫诱导的植物挥发物释放中发挥着中心作用. 其中, 有关茉莉酸信号转导途径的作用是目前在这方面研究得最多和最清楚的, 这些结果表明很多植食性昆虫诱导的植物挥发物的释放都涉及到茉莉酸信号转导途径的作用^[2-3].

水杨酸和 H_2O_2 是植物体内普遍存在的两类重要的与防御反应相关的信号分子^[3]. 已有的研究表明, 水杨酸和 H_2O_2 信号转导途径除了在植物的诱导抗病反应中起着重要作用外, 在诱导的植物直接抗虫反应中亦发挥着重要作用^[3]. 如水杨酸处理能提高柳树 *Salix viminalis* 对 *Dasineura marginemtorquens* 的抗性, 降低该虫的成活率^[4]. 在玉米中过量表达大麦的 *glp* 基因会引起玉米中 H_2O_2 含量明显上升, 并最终导致对欧洲玉米螟的抗性增加^[5]. 在烟草 *Nicotiana attenuata* 的研究中也发现, *glp* 基因与烟草体内 H_2O_2 的产生有关; 当反义抑制 *glp* 基因在烟草中的转录水平时, 会导致烟草 H_2O_2 及次生化合物含量下降, 最后导致抗虫性降低^[6]. 而有关水杨酸以及 H_2O_2 等信号转导途径在诱导的植物间接抗虫反应中的作用, 即虫害诱导的植物挥发物释放中的作用, 则至今只有很少的研究报道. 一则比较有意思的报道是有关水杨酸信号转导途径在虫害诱导的利马豆挥发物释放中的作用. Ozawa 等^[7] 研究发现二点叶螨为害所诱导的利马豆挥发物主要由植物体内的茉莉酸与水杨酸信号转导途径所协同调控, 而粘虫 *Mythimna separata* 为害所诱导的

挥发物则主要涉及到茉莉酸信号转导途径.

本文的研究目的是为了阐明水杨酸和 H_2O_2 信号转导途径在褐飞虱 *Nilaparvata lugens* (Stål) 为害诱导的水稻挥发物释放中的作用. 先期的研究结果表明, 褐飞虱为害可以系统性地诱导水稻挥发物的释放, 并且这些挥发物对褐飞虱卵期的重要寄生蜂稻虱缨小蜂 *Anagrus nilaparvatae* Pang et Wang 具明显的引诱作用^[8]. 褐飞虱唾液中的蛋白质类在褐飞虱为害诱导的水稻挥发物释放中起着重要作用^[9], 并且水稻体内的乙烯信号转导途径参与了水稻挥发物的释放^[10], 而茉莉酸信号转导途径则作用不明显^[11]. 为了阐明水杨酸和 H_2O_2 信号转导途径在褐飞虱为害诱导的水稻挥发物释放中的可能作用, 我们首先测定了褐飞虱取食后水稻体内水杨酸和 H_2O_2 含量的变化, 以明确褐飞虱为害是否能激活水稻体内的水杨酸和 H_2O_2 信号转导途径. 然后, 分析了外用水杨酸或 H_2O_2 处理后水稻挥发物的变化及其对稻虱缨小蜂的引诱作用, 并同时与褐飞虱为害稻株进行了比较.

1 材料与方法

1.1 供试水稻

水稻品种为感性品种 TN1 和汕优 63, 在温控培养箱催芽后, 分期播种于温室大棚内. 到秧龄 10 ~ 20 d 时, 把 TN1 水稻移栽至红色塑料钵 (直径 15 cm, 高 15 cm) 中, 每盆 10 根. 定期浇水施肥, 待移栽后 25 ~ 35 d 供试. 汕优 63 稻株用于供试昆虫的种群繁殖.

1.2 褐飞虱

虫源来自于中国水稻研究所田间种群. 然

后在室外的网室内,利用汕优63 稻苗进行种群繁殖,繁殖1~2代后的褐飞虱供试验用。

1.3 稻虱缨小蜂

带褐飞虱卵的汕优63 水稻苗从浙江大学华家池校区实验农场中诱得,在 $(27 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、12L:12D的人工气候室中,以TN1上的褐飞虱卵进行繁殖。羽化的成蜂经群体交配后,选用触角齐全、大小基本一致、蜂龄在24 h内的雌蜂供试。

1.4 水稻的处理

取如上所述的盆栽水稻,用自来水小心冲洗干净,并用剪刀去除小的分蘖,每盆留10根稻苗。3 d后进行下列3种处理:① H_2O_2 处理。用解剖针在各稻株茎秆上下两个部位各刺200次,然后分别在各损伤部位涂抹5, 10, 15, 20或25 μL 的5% H_2O_2 水溶液(相当于在每稻株上处理 H_2O_2 0.25、0.5、0.75、1.00或1.25 mg)。以同样的损伤方式,并处理以相同体积的蒸馏水,作为各相应处理的对照。②水杨酸处理。各稻株的损伤处理同①,然后分别在各损伤部位涂抹5, 10, 15, 20, 25或30 μL 的10 mmol L^{-1} 水杨酸溶液(以50 mmol L^{-1} 的磷酸氢钠缓冲液配制,缓冲液的pH值由1 mol L^{-1} 的柠檬酸滴定至8)(相当于在每稻株上处理水杨酸6.91, 13.81, 20.72, 27.62, 34.53或41.44 μg)。以同样的损伤方式,并处理以相同体积的缓冲液,作为各相应处理的对照。③褐飞虱为害处理。用parafilm膜做成约6 cm \times 5 cm的小袋,并在各小袋上用解剖针刺60个小孔。各小袋内装7头或8头怀卵的褐飞虱雌成虫,分别固定在各稻株茎秆的上、下两个部位,使每棵稻株上的接虫量为15头雌成虫。在稻株茎秆上相同部位固定2个空的parafilm小袋,作为相应的对照植物。

水稻处理后,均放置在温度 $(28 \pm 2)^\circ\text{C}$ 、光照12 h、相对湿度80%的人工气候室内。一定时间后(具体见下面各实验的描述),处理稻株被用于相应实验。

1.5 H_2O_2 含量的测定

将稻株随机分成两组处理:褐飞虱为害处理及其相应的对照。分别在褐飞虱开始取食后0、0.5、1、1.5、3、4、8、12、24 h,对为害部位或相

应的对照部位取样。各部位取相应的叶鞘组织0.2~0.35 g,在液氮中迅速冷冻后,于 -80°C 下保存备用。各处理各时间点重复5次。 H_2O_2 浓度的测定方法与Lou and Baldwin (2006)^[6]所描述的相同。简单而言,首先将样品在液氮中磨成粉末,然后在各样品中加入1 mL的去离子水,充分混合后,在 4°C 、13600 g条件下离心10 min。取上清液,然后按照试剂盒(Amplex[®] Red Hydrogen Peroxide/Peroxidase Assay kit)所描述的方法测定。

1.6 水杨酸含量的测定

将稻株随机分成以下几种处理:褐飞虱为害处理及其相应的对照; H_2O_2 处理及其相应的对照。对于褐飞虱为害处理及其相应的对照,其取样时间同1.5。对于 H_2O_2 处理及其相应的对照,其处理方法同1.4,所用的 H_2O_2 浓度为1.25 mg \cdot 株⁻¹,分别在处理后1.5和4 h取样。各处理在各时间点重复5次。水杨酸含量的分析方法参考Engelberth等^[12]。简单而言,将样品在液氮中充分磨碎后,在各样品中加入1 mL提取液[丙酮:50 mmol L^{-1} 柠檬酸=7:3 (V/V)]和345 ng $^2\text{H}_6$ -SA内标(购自英国Cambridge Isotope Laboratory),然后充分混匀。在 4°C 、13600 g条件下离心15 min,将上清液转到另一个新的2 mL离心管,在原来的离心管中重新加入1 mL提取液,再提取1次。合并2次提取液,浓缩。用乙醚对浓缩液萃取3次,每次用乙醚1 mL。将萃取液浓缩至干,再加入200 μL 乙醚;加入甲基化试剂(NTG)500 μL ,静置20 min;浓缩至干,再加入50 μL 正己烷充分混匀。置于 -80°C 冰箱中保存,用于定量研究。

水杨酸的定量利用气谱-质谱联用仪。直接在 280°C 的GC中进样,进样量为1 μL ,色谱柱利用HP-5MS毛细管柱(30 m \times 0.25 mm ID,膜厚0.25 μm)。柱温采用程序升温, 60°C (4 min)至 200°C , $20^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$,至 300°C ,10 min。气谱/质谱接口温度 280°C ;EI离子源,电离能70 eV。以99.999%高纯氦气作为载气,柱流量1 mL min^{-1} ,以内标定量。

1.7 稻虱缨小蜂对水杨酸或 H_2O_2 处理稻株挥发物的行为反应

稻虱缨小蜂对水稻挥发物的行为反应利用

“Y”型嗅觉仪测定,嗅觉仪的构造以及具体的生测方法同娄永根等^[8]。分别测定稻虱缨小蜂对下列成对挥发物源的行为反应: 6.91、13.81、20.72、27.62、34.53 或 41.44 μg 水杨酸 株⁻¹ 处理 12h 的稻株与其相应对照稻株的比较; 0.25、0.5、0.75、1.00 或 1.25 mg H_2O_2 株⁻¹ 处理 12 h 的稻株与其相应对照稻株的比较。同时,也测定稻虱缨小蜂对 41.44 μg 水杨酸(以相应的缓冲液为对照)和 1.25 mg H_2O_2 (以相应的蒸馏水为对照)的行为反应,以明确水杨酸或 H_2O_2 本身是否对该蜂有引诱作用。

在生测时,每一气味源所用的稻苗为 10 株。同时,每测定 8 头蜂换一批稻苗。对每一组处理的比较至少测定 32 头蜂。所得的结果用 χ^2 进行检验。

1.8 水稻挥发物的捕集

挥发物的提取,利用固相微萃取技术(SPME)。具体所用的提取装置与方法同 Lou 等(2005)^[8]。整个提取过程在 28℃ 的空调室内进行。分别对下面处理的 10 根水稻植株提取挥发物: 1.25 mg H_2O_2 株⁻¹ 处理 12 h 的稻株及其相应的对照稻株; 6.91、20.72 或 34.53 μg 水杨酸 株⁻¹ 处理 12 h 的稻株及其相应的对照稻株; 褐飞虱为害 12 h 的稻株及其相应的对照稻株。挥发物提取时间为 2 h。各处理重复 3 次。

挥发物的分离与鉴定利用气谱(Agilent 6890)-质谱(Agilent 5973)联用仪。对固相微萃取捕集的挥发物,直接在 250℃ 的 GC 进样口内进行热解吸,解吸时间 1 min,无分流进样。色谱柱利用 HP-5MS 毛细管柱(30 m \times 0.25 mm ID,膜厚 0.25 μm)。柱温采用程序升温,40℃ (2 min) 至 250℃ (2 min),6℃ \cdot min⁻¹。以 99.999% 高纯氦气作为载气,柱流量 1.0 mL \cdot min⁻¹。气谱/质谱接口温度 280℃; EI 离子源,电离能 70 eV。通过核对谱库(NIST98)及标准化合物的质谱图,对挥发物的各组分进行定性分析,并以正八烷(200 μg mL⁻¹,进样量 1 μL) 作为外标对各挥发物组分进行相对定量。

1.9 实验数据的统计分析

对于行为生测的实验结果利用 χ^2 检验,水杨酸和 H_2O_2 含量的比较以及 H_2O_2 处理稻株的挥发物比较利用 t 检验。对于其它挥发物数

据,则先进行方差分析,当差异显著时,再进行 Duncan's 新复极差法多重比较。

2 结果

2.1 褐飞虱为害对水稻水杨酸和 H_2O_2 含量的影响

褐飞虱为害能迅速导致水稻体内水杨酸和 H_2O_2 含量的上升(图 1)。水杨酸含量在褐飞虱为害后 1 h 即显著地高于相应的未处理稻株, H_2O_2 含量亦在为害后 1.5 h 明显地高于对照稻株。同时,在测定的 24 h 内,褐飞虱为害稻株中的水杨酸与 H_2O_2 浓度一直高于对照稻株。说明褐飞虱为害能激活水稻体内的水杨酸和 H_2O_2 信号转导途径。此外,与同病原菌感染一样^[13],褐飞虱为害诱导的 H_2O_2 含量的上升亦呈典型的双峰型。

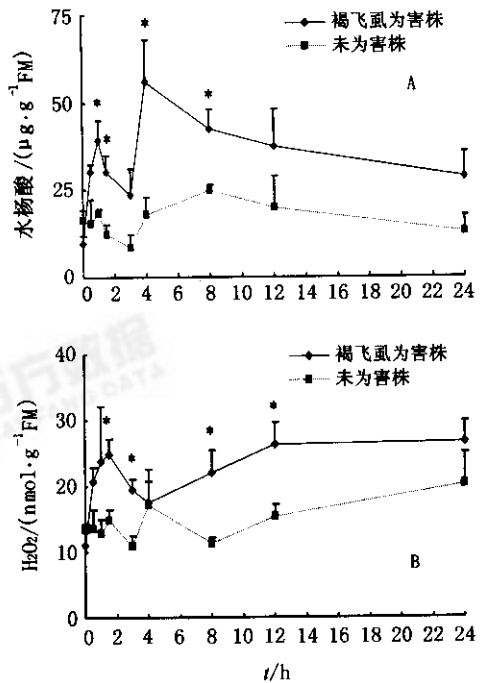


图 1 水稻在受褐飞虱为害后水杨酸和过氧化氢浓度的时间动态

Fig. 1 Timing of the levels of salicylic acid and hydrogen peroxide in rice plants after infestation by *Nilaparvata lugens*

2.2 H_2O_2 处理对水稻水杨酸含量的影响

水稻经 H_2O_2 (1.25 mg 株⁻¹) 处理后 4 h,

水杨酸含量比对照明显上升(图2)。

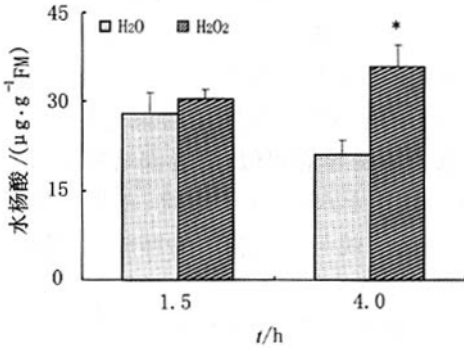


图2 过氧化氢处理后水稻体内水杨酸浓度的变化

Fig.2 Changes in the concentrations of salicylic acid in rice plants that were wounded and treated by hydrogen peroxide

2.3 水杨酸处理对水稻挥发物及其对稻虱缨小蜂引诱作用的影响

行为生测结果表明(图3),较高用量的水杨酸处理稻株所释放的挥发物能明显地引诱稻虱缨小蜂,而较低用量的水杨酸处理稻株及水杨酸本身(水杨酸引诱蜂数:缓冲液引诱蜂数=13:19)则对稻虱缨小蜂没有引诱作用.与褐飞虱为害稻株相比,水杨酸(34.53 μg 株⁻¹)处理稻株对稻虱缨小蜂的引诱作用要明显低于前者(褐飞虱为害稻株:水杨酸处理稻株=23:9)($\chi^2=5.28, df=1, P<0.025$).

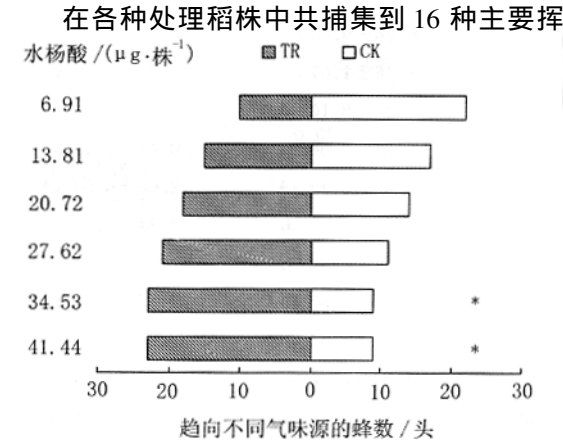


图3 稻虱缨小蜂对不同用量水杨酸处理稻株挥发物的行为反应

Fig.3 Behavioral response of *Anagrus nilaparvatae* to the volatiles released from rice plants treated with different amount of salicylic acid

发物组分,其中鉴定了14种,包括直链的烃类化合物9种,萜类化合物2种,醛类化合物2种,另外1种为水杨酸甲酯(表1~表3).水杨酸处理能导致水稻挥发物总量明显上升,并且释放总量的多少与水杨酸的使用量呈正相关(表1).当水杨酸的使用量为20.72、34.53 μg 株⁻¹时,处理水稻挥发物的释放总量要明显高于对照(表1).从单个组分看,水杨酸处理能导致水稻释放更多的十四醛、正十五烷、正十六烷、正十七烷、正十八烷、正十九烷与未知物1和2,并同时诱导释放水杨酸甲酯和正二十一烷.与挥发物总量的变化相似,这些释放量增加和新产生的化合物亦大多与水杨酸的使用量呈正相关.此外,水杨酸处理会导致正十四烷含量的下降.

水杨酸诱导的这些挥发物组分的变化有一些与褐飞虱为害诱导的变化相似:两者都导致了正十六烷、正十七烷、正十八烷、正十九烷与未知物1和2含量的上升,并同时诱导释放了正二十一烷(表3).但也有一些存在差异:褐飞虱为害能导致芳樟醇、1-十四烯、正十四烷和正二十烷释放量上升,而水杨酸处理不引起这些挥发物的增加,对于十四烷则反而下降;水杨酸处理能增加十四醛、正十五烷的量,并新释放水杨酸甲酯,而褐飞虱为害不引起这些变化(表1,表3).就褐飞虱为害稻株与水杨酸处理(34.53 μg 株⁻¹)稻株之间,挥发物也存在一定差异.与水杨酸处理稻株相比,褐飞虱为害稻株中少了水杨酸甲酯.此外,柠檬烯、正十五烷、十四醛和正二十烷的含量在褐飞虱为害稻株中也低于水杨酸处理稻株,而未知物2和正十四烷在前者中的浓度高于后者(表3).

2.4 H₂O₂ 处理对水稻挥发物及其对稻虱缨小蜂引诱作用的影响

与水杨酸处理稻株相似,高用量的H₂O₂处理稻株所释放的挥发物能对稻虱缨小蜂产生明显的引诱作用,而低用量的H₂O₂及H₂O₂本身(H₂O₂:蒸馏水=17:15)则对稻虱缨小蜂无明显引诱作用(图4).与水杨酸处理稻株相似,H₂O₂处理(1.25 mg 株⁻¹)稻株挥发物对稻虱缨小蜂的引诱作用亦明显弱于褐飞虱为害稻株(褐飞虱为害稻株:H₂O₂处理稻株=24:8)(χ^2

$=7.03, df=1, P<0.01$).

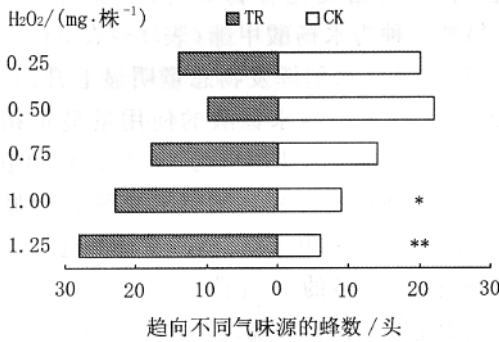


图4 稻虱缨小蜂对不同用量过氧化氢处理稻株挥发物的行为反应

Fig. 4 Behavioral response of *Anagrus nilaparvatae* to the volatiles released from rice plants treated with different amount of hydrogen peroxide

在 H₂O₂ 处理(1.25 mg 株⁻¹) 稻株中亦捕集到了与水杨酸处理稻株中相同的 14 种主要挥发物组分, 并且 H₂O₂ 处理亦能导致挥发物总量

的上升. H₂O₂ 处理能导致水稻释放更多的芳樟醇、1-十四烯、正十五烷、正十六烷、正十七烷、正十八烷、正十九烷、正二十烷与未知物 2, 并同时诱导释放水杨酸甲酯和正二十一烷(表 2).

H₂O₂ 诱导的一些挥发物组分的变化也与褐飞虱为害诱导的相似: 两者都增加了芳樟醇、1-十四烯、正十六烷、正十七烷、正十八烷、正十九烷、正二十烷与未知物 2 的释放量, 并同时诱导释放正二十一烷(表 3). 但也存在一些差异: 褐飞虱为害能导致正十四烷与未知物 1 释放量上升, 但 H₂O₂ 处理不引起这些挥发物释放量增加; H₂O₂ 处理能增加正十五烷的量, 并新释放水杨酸甲酯, 而褐飞虱为害不引起这些变化(表 2, 表 3). 就褐飞虱为害稻株与 H₂O₂ 处理(1.25 mg 株⁻¹) 稻株之间, 挥发物也存在一定差异. 与 H₂O₂ 处理稻株相比, 褐飞虱为害稻株中少了水杨酸甲酯. 此外, 柠檬烯、正十五烷、十四醛、正十七烷、正二十烷和二十一烷的含量在褐飞虱为害稻株中也低于 H₂O₂ 处理稻株, 而未知物 2 在前者中的浓度要高于后者(表 3).

表 1 不同用量水杨酸处理稻株的挥发物组成相比较

Table 1 Comparison of the volatiles released from rice plants that were treated with different amount of salicylic acid

化合物	缓冲液	水杨酸/(μg 株 ⁻¹)		
		6.91	20.72	34.53
1. E-2-己烯醛	0.70 ± 0.22 a	1.19 ± 0.70 a	1.29 ± 0.77 a	0.31 ± 0.21 a
2. 柠檬烯	0.08 ± 0.01 a	0.02 ± 0.01 a	0.18 ± 0.07 a	0.28 ± 0.16 a
3. 芳樟醇	0.23 ± 0.01 a	0.04 ± 0.01 b	0.26 ± 0.08 a	0.20 ± 0.02 a
4. 水杨酸甲酯	-	0.04 ± 0.02 a	1.46 ± 1.01 a	0.44 ± 0.30 a
5. 1-十四烯	0.29 ± 0.05 aA	0.25 ± 0.07 aA	0.22 ± 0.10 aA	0.24 ± 0.13 aA
6. 正十四烷	2.44 ± 0.74 a	0.26 ± 0.15b	0.28 ± 0.06 b	0.41 ± 0.12 b
7. 未知物 1	0.09 ± 0.05 bB	1.39 ± 0.39 aA	1.65 ± 0.39 aA	2.00 ± 0.97 aA
8. 正十五烷	0.41 ± 0.13 b	4.32 ± 2.14 ab	4.73 ± 3.07 ab	7.34 ± 0.34 a
9. 正十六烷	0.88 ± 0.25 b	2.39 ± 0.87 ab	1.51 ± 0.40 ab	3.18 ± 0.17 a
10. 十四醛	0.37 ± 0.04 b	1.69 ± 0.90 ab	1.73 ± 0.85 ab	2.77 ± 0.98 a
11. 正十七烷	0.42 ± 0.07 b	16.81 ± 3.95 a	4.24 ± 2.41 ab	23.79 ± 7.52 a
12. 正十八烷	0.10 ± 0.03 b	0.88 ± 0.45 b	4.84 ± 0.60 a	6.12 ± 1.65 a
13. 未知物 2	0.24 ± 0.13 b	0.85 ± 0.20 ab	0.73 ± 0.31 ab	1.29 ± 0.35 a
14. 正十九烷	0.03 ± 0.01 b	0.82 ± 0.18 a	0.85 ± 0.58 a	1.67 ± 0.91 a
15. 正二十烷	0.01 ± 0.00 a	0.14 ± 0.09 a	0.36 ± 0.18 a	0.34 ± 0.11 a
16. 正二十一烷	-	0.07 ± 0.04 b	0.10 ± 0.07 b	0.43 ± 0.12 a
挥发物总量	10.49 ± 1.25 b	30.39 ± 5.70 ab	32.59 ± 10.57 a	53.45 ± 9.34 a

注: 表中数据为某一化合物的峰面积占外标峰面积的百分比(平均数 ± 标准误); 同一行内不同字母者表示差异显著($P < 0.05$) (Duncan's 新复极差法). "-" 表示没有检测到.

表2 过氧化氢或蒸馏水处理稻株的挥发物组成相比较

Table 2 Comparison of the volatiles emitted from rice plants that were treated by hydrogen peroxide or distilled water

化合物	蒸馏水处理	H ₂ O ₂ (1.25 mg 株 ⁻¹)处理	t 检验
1. E-2-己烯醛	1.10 ± 0.85	0.98 ± 0.28	n. s
2. 柠檬烯	0.25 ± 0.13	0.29 ± 0.18	n. s
3. 芳樟醇	0.09 ± 0.05	0.31 ± 0.13	*
4. 水杨酸甲酯	-	1.47 ± 0.21	*
5. 1-十四烯	0.22 ± 0.07 bA	0.68 ± 0.19 aA	*
6. 正十四烷	0.29 ± 0.12	5.43 ± 5.08	n. s
7. 未知物1	1.42 ± 0.78 aA	1.79 ± 0.33 aA	n. s
8. 正十五烷	1.82 ± 1.05	14.61 ± 5.64	*
9. 正十六烷	0.96 ± 0.57	12.51 ± 7.64	*
10. 十四醛	0.87 ± 0.60	2.47 ± 0.56	n. s
11. 正十七烷	2.70 ± 1.31	43.77 ± 6.70	*
12. 正十八烷	0.22 ± 0.12	6.03 ± 3.77	*
13. 未知物2	0.13 ± 0.09	1.08 ± 0.26	*
14. 正十九烷	0.15 ± 0.07	5.54 ± 2.50	*
15. 正二十烷	0.03 ± 0.02	1.47 ± 0.92	*
16. 正二十一烷	-	0.66 ± 0.28	*
挥发物总量	12.67 ± 3.40	107.35 ± 32.72	*

注:表中数据为某一化合物的峰面积占外标峰面积的百分比(平均数 ± 标准误);同一行内不同字母者表示差异显著($P < 0.05$) (Duncan's 新复极差法)。“-”表示没有检测到。n. s 表示处理与对照差异不显著。* 表示处理与对照有显著差异(t 检验, $P < 0.05$)。

表3 褐飞虱为害稻株与水杨酸或过氧化氢处理稻株挥发物的比较

Table 3 Comparison of the volatiles released from rice plants that were infested by *Nilaparvata lugens*, treated by salicylic acid or hydrogen peroxide

化合物	处 理			
	未处理	褐飞虱为害	水杨酸处理/ (34.53 μg 株 ⁻¹)	H ₂ O ₂ 处理/ (1.25 mg 株 ⁻¹)
1. E-2-己烯醛	0.15 ± 0.05 b	0.70 ± 0.22 ab	0.31 ± 0.21 ab	0.98 ± 0.28 a
2. 柠檬烯	0.11 ± 0.03 b	0.08 ± 0.01 b	0.28 ± 0.16 a	0.29 ± 0.18 a
3. 芳樟醇	0.05 ± 0.01 b	0.23 ± 0.01 a	0.20 ± 0.02 a	0.31 ± 0.13 a
4. 水杨酸甲酯	-	-	0.44 ± 0.30 a	1.47 ± 0.21 a
5. 1-十四烯	0.09 ± 0.05 b	0.57 ± 0.09 a	0.24 ± 0.13 ab	0.68 ± 0.19 a
6. 正十四烷	0.51 ± 0.20 b	6.30 ± 0.68 a	0.41 ± 0.12 b	5.43 ± 5.08 ab
7. 未知物1	0.20 ± 0.05 b	2.47 ± 0.19 a	2.00 ± 0.97 a	1.79 ± 0.33 a
8. 正十五烷	1.62 ± 0.22 b	0.89 ± 0.03 b	7.34 ± 0.34 a	14.61 ± 5.64 a
9. 正十六烷	0.42 ± 0.09 b	8.93 ± 0.75 a	3.18 ± 0.17 a	12.51 ± 7.64 a
10. 十四醛	0.04 ± 0.01 b	0.31 ± 0.14 b	2.77 ± 0.98 a	2.47 ± 0.56 a
11. 正十七烷	2.21 ± 0.29 c	13.83 ± 1.95 b	23.79 ± 7.52 ab	43.77 ± 6.70 a
12. 正十八烷	0.13 ± 0.02 b	3.33 ± 0.11 a	6.12 ± 1.65 a	6.03 ± 3.77 a
13. 未知物2	0.43 ± 0.06 c	8.11 ± 0.21 a	1.29 ± 0.35 b	1.08 ± 0.26 b
14. 正十九烷	0.10 ± 0.02 b	3.55 ± 0.39 a	1.67 ± 0.91 a	5.54 ± 2.50 a
15. 正二十烷	0.01 ± 0.00 c	0.12 ± 0.03 b	0.34 ± 0.11 ab	1.47 ± 0.92 a
16. 正二十一烷	-	0.05 ± 0.01 b	0.43 ± 0.12 a	0.66 ± 0.28 a
挥发物总量	8.78 ± 0.31 b	63.78 ± 6.42 a	53.45 ± 9.34 a	107.35 ± 32.72 a

注:表中数据为某一化合物的峰面积占外标峰面积的百分比(平均数 ± 标准误);同一行内不同字母者表示差异显著($P < 0.05$) (Duncan's 新复极差法)。“-”表示没有检测到。

3 讨论

本文的研究结果表明褐飞虱为害能迅速地导致水稻体内水杨酸(为害后 1 h)和 H_2O_2 (为害后 1.5 h)含量的上升(图 1);这一时间明显地早于褐飞虱为害诱导水稻释放引诱稻虱缨小蜂挥发物所需的时间(在 10 头雌成虫 株⁻¹为害情况下,水稻在约 6 h 时能释放引诱稻虱缨小蜂的挥发物)^[14]. 外用水杨酸和 H_2O_2 处理的试验结果表明,水稻生理浓度范围(试验用水稻的单株鲜重约为 1.5 g,因此在褐飞虱为害株中最高水杨酸浓度可超过 80 μg 株⁻¹)内的水杨酸处理能诱导水稻释放引诱稻虱缨小蜂的挥发物,而 H_2O_2 则只有在远高于水稻生理浓度(在褐飞虱为害株中最高 H_2O_2 浓度约在 1.5 μg 株⁻¹)时才能诱导水稻释放引诱稻虱缨小蜂的挥发物(图 3,图 4). 这些结果说明水稻体内的水杨酸信号转导途径参与了褐飞虱为害诱导的水稻挥发物的释放,而 H_2O_2 信号转导途径在其中的作用则可能相对较小. 有关水杨酸信号转导途径在虫害诱导的植物挥发物释放中的作用已在利马豆的研究中有报道^[7].

在一些植物中已报道了 H_2O_2 处理能导致水杨酸浓度的上升^[15]. 本实验在水稻上也发现了类似情况: H_2O_2 处理(1.25 mg 株⁻¹)能在 4 h 时明显地导致水稻体内水杨酸含量的上升(图 2). 这说明 H_2O_2 处理能激活水稻体内的水杨酸信号转导途径. 这也许也是 H_2O_2 与水杨酸处理能导致水稻释放类似挥发物(表 1~表 3)的原因.

与褐飞虱为害稻株相比,水杨酸处理稻株与 H_2O_2 处理稻株挥发物对寄生蜂的引诱作用都比较弱. 挥发物的分析结果亦表明,尽管水杨酸或 H_2O_2 处理稻株与褐飞虱为害稻株在挥发物总量及一些挥发物组分的变化方面存在较大的相似性,但仍存在明显的差别(表 1~表 3). 这说明褐飞虱为害诱导的水稻挥发物的释放,除了水稻体内水杨酸信号转导途径参与其中外,还可能涉及到其它的信号转导途径. 事实上,我们在另一个实验中确实发现了水稻体内的乙烯信号转导途径在这一挥发物的释放中起

着重要作用^[10]. 至于这些信号转导途径在褐飞虱为害诱导的水稻挥发物的释放中是如何相互协同作用的,则有待进一步的深入研究.

References:

- [1] Turlings T C J, Wäckers F L. Recruitment of Predators and Parasitoids by Herbivore-Damaged Plants [M]//Cardé R T, Millar J. **Advances in Insect Chemical Ecology**. Cambridge University Press, 2004: 21-75.
- [2] Halitschke R, Baldwin I T. Antisense LOX expression increases herbivore performance by decreasing defense responses and inhibiting growth-related transcriptional reorganization in *Nicotiana attenuate* [J]. **Plant Journal**, 2003, 36: 794-807.
- [3] Richard M, Bostock R M. Signal crosstalk and induced resistance: Straddling the line between cost and benefit [J]. **Annual Review of Phytopathology**, 2005, 43: 545-580.
- [4] Ollerstam O, Larsson S. Salicylic acid mediates resistance in the willow *Salix viminalis* against the gall midge *Dasineura marginemtorquens* [J]. **Journal of Chemical Ecology**, 2003, 29: 163-174.
- [5] Ramputh A I, Arnason J T, Cass L, et al. Reduced herbivory of the European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) on corn transformed with germin, a wheat oxalate oxidase gene [J]. **Plant Science**, 2002, 162: 431-440.
- [6] Lou Y, Baldwin I T. Silencing of a germin-like gene in *Nicotiana attenuate* improves performance of native herbivores [J]. **Plant Physiology**, 2006, 140: 1126-1136.
- [7] Ozawa R, Arimura G, Takabayashi J. 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.
- [8] Lou Y, Ma B, Cheng J. Attraction of the parasitoid *Anagrus nilaparvatae* Pang et Wang to rice volatiles induced by the rice brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stål) [J]. **Journal of Chemical Ecology**, 2005, 31(9): 1985-2002.
- [9] DU Meng-hao, YAN Xing-cheng, LOU Yong-gen, et al. (杜孟浩, 严兴成, 娄永根, 等). Studies on active chemicals in the saliva of the rice brown planthopper (*Nilaparvata lugens*) that elicit the production of rice volatiles [J]. **Journal of Zhejiang University: Agri. & Life Sci.** (浙江大学学报: 农业与生命科学版), 2005, 31(3): 237-244. (in Chinese)
- [10] LU Yu-jie, WANG Xia, LOU Yong-gen, et al. Role of ethylene signaling in the production of rice volatile induced by *Nilaparvata lugens* [J]. **Chinese Science Bulletin**, 2006, 51(20): 2457-2465.

- [11] WANG Xia (汪霞). Study on the role of JA signaling pathway in *Nilaparvata lugens*-induced rice defense responses(茉莉酸信号传导途径在褐飞虱诱导的水稻防御反应中的作用研究) [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2004. (in Chinese)
- [12] Engelberth J, Schmelz E A, Alborn H T, *et al.* Simultaneous quantification of jasmonic acid and salicylic acid in plants by vapor-phase extraction and gas chromatography-chemical ionization-mass spectrometry [J]. **Analytical Biochemistry**, 2003, 312(2): 242-250.
- [13] Wojtaszek P. Oxidative burst: an early plant response to pathogen infection [J]. **Biochemical Journal**, 1997, 322: 681-692.
- [14] DU Meng-hao (杜孟浩). Study on the mechanism of the production of *Nilaparvata lugens*-induced volatile rice synomones(褐飞虱危害诱导的水稻挥发性互益素释放机制研究) [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2004. (in Chinese)
- [15] León J, Lawton M A, Raskin I. Hydrogen peroxide stimulates salicylic acid biosynthesis in tobacco [J]. **Plant Physiology**, 1995, 108: 1673-1678.

欢迎订阅《浙江大学学报(农业与生命科学版)》

《浙江大学学报(农业与生命科学版)》是浙江大学主办的全国性、综合性、学术性期刊。主要刊登农业基础科学和应用科学研究论文。内容涵盖农业和生命科学各个领域,包括作物遗传育种 种质资源;植物保护;生理生态;作物栽培;土壤肥料;园艺;农产品的贮藏 保鲜 加工;畜牧 兽医;以及生命科学方面的专论;研究论文,快讯等。读者对象主要是国内外农业科学研究人员,农业院校的教师和研究生,以及综合性大学等有关农业科学的研究与管理人员。本刊近年的影响因子、总被引频次两项重要指标均名列全国农业高校学术期刊的前列;2001年入选中国期刊方阵;2004年在教育部全国高校科技期刊评比中荣获壹等奖,全国优秀农业期刊评比壹等奖,2005年又获第三届国家期刊奖百种重点期刊奖,2006年再次荣获全国农业期刊评比壹等奖,首届中国高校优秀科技期刊奖,现为全国综合性农业科学类核心期刊。目前被美国《工程索引》(EI Village 2),美国《化学文摘》(CA),美国《剑桥科学文摘》(CSA),俄罗斯《文摘杂志》(AJ),英国《国际农业和生物科学中心文摘》(CABI),英国《动物学记录》(ZR),联合国粮农组织 FAO《农业索引》(Agrindex),波兰《哥白尼索引》(IC)及中国科学引文数据库,中国科技论文统计分析数据库,中国学术期刊综合评价数据库,万方数据资源系统数字化期刊群数据库,《中国学术期刊文摘》,《中国生物学文摘》等国际国内重要检索系统收录。

《浙江大学学报(农业与生命科学版)》为双月刊,A4开本,120页,国内外公开发行。国内统一刊号:CN33-1247/S,国际标准刊号:ISSN 1008-9209,邮发代号:32-48,国外代号:BM4108。定价每期8.00元/人民币,全年定价48.00元/人民币。