

水稻挥发性次生物质对褐飞虱寄主 定向及生长的影响

杨 朗^{1,2,3}, 黄凤宽², 曾 玲¹, 黄立飞², 梁广文^{1,*}

(1. 华南农业大学 昆虫生态研究室, 广东广州 510642; 2. 广西农业科学院 植物保护研究所, 广西南宁 530007;
3. 广西大学 广西亚热带生物资源保护利用重点实验室, 广西南宁 530005)

摘要:从褐飞虱的抗虫与感虫水稻品种植株中提取挥发性次生物质, 分析其对褐飞虱的定向选择、生长发育及成虫触角电位反应影响。结果表明, 感虫品种 TN₁ 挥发性次生物质对褐飞虱生物型 II 若虫的取食及生长发育未表现不良作用, 对其定向选择有引诱作用; 而抗虫品种 IR₃₆ 的挥发性物质对褐飞虱为负作用, 表现为褐飞虱取食添加挥发性物质的人工饲料后, 其死亡率均增加, 生长发育受阻, 且随着浓度的增加, 不良影响加大。触角电位试验结果表明褐飞虱的电位反应总的趋势是对相同浓度的 TN₁ 挥发性物质的触角电位反应值比 IR₃₆ 大, 且触角电位值基本都随着挥发性物质浓度的升高而增大; 短翅型成虫电位值强于长翅型成虫, 雄性成虫的电位值强于雌性成虫。挥发性物质气质联用检测分析结果发现抗虫与感虫水稻中挥发性次生物质的化学组成及含量相差较大, 从抗感两个品种的挥发性物质中共检测到 44 种已知化合物, 部分化合物对褐飞虱有引诱作用。

关键词:褐飞虱; 挥发性次生物质; 抗性

文章编号: 1000-0933(2009)09-5106-09 中图分类号: Q143, Q946 文献标识码: A

The relationship between orientation and growth of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål) and rice secondary volatiles

YANG Lang^{1,2,3}, HUANG Feng-Kuan², ZENG Ling¹, HUANG Li-Fei², LIANG Guang-Wen^{1,*}

1 Lab. of Insect Ecology, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China

2 Plant Protection Institution of Guangxi Academic Agricultural of Science, Nanning 530007, China

3 Guangxi Key Laboratory of Subtropical Bio-resource Conversation and Utilization, Nanning 530005, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(9): 5106 ~ 5114.

Abstract: Rice secondary volatiles were extracted from a planthopper resistant variety, IR₃₆, and a susceptible variety, TN₁, and the effects of extracted volatiles on the orientation, growth and EAG response of *Nilaparvata lugens* (Stål), BPH adults were tested (Homoptera: Delphacidae). Volatiles extracted from TN₁ had a positive effect on feeding and growth of *Nilaparvata lugens*, and they have attraction function on the insects, too. In contrast, volatiles from resistant variety IR₃₆ had opposite effects on BPH mortality and growing. The EAG results showed that the response to TN₁ volatiles was stronger than to IR₃₆ volatiles, and that responses were positively related to volatile concentration. EAG responses of short-wing BPH were stronger than those of long-wing BPH, and male BPH was more responsive than female BPH adults. GC-MS analysis of rice secondary volatiles showed chemical large discrepancy in composition between resistant variety IR₃₆ and susceptible variety TN₁. There were a total of 44 volatile compounds identified from rice leaves, some of them attractants for *Nilaparvata lugens*.

基金项目:国家“973”资助项目(2006CB100206, 2006CB2007); 国家“973”计划前期研究专项资助项目(2007CB116305); 国家发展和改革委员会高技术产业化现代农业专项资助项目(040705011190316); 广西青年科学基金资助项目(桂科青 0991059); 广西亚热带生物资源保护利用重点实验室开放课题资助项目(SB0604); 广西农科院科技发展基金资助项目(2007006(Z))

收稿日期: 2007-11-23; 修订日期: 2009-05-14

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: gwliang@scau.edu.cn

Key Words: *Nilaparvata lugens* (Stål) (BPH); secondary volatiles; resistance

昆虫对寄主植物的识别是由于识别了植物气味的由一定组分、按照严格比例组成的化学指纹图^[1],植物气味亦即挥发性物质为昆虫寻找食物与交配场所、求偶提供更复杂或更全面的信息^[2,3]。植物挥发性次生物质是植物次生代谢物质的重要组成部分,是在代谢过程中产生的一些短链的碳氢化合物及其衍生物(包括烃、醇、醛、酮、有机酸、酯类以及含有氮、硫等修饰基团的有机化合物)^[4,5]。在长期协同进化过程中,植食性昆虫逐渐形成了用寄主植物的气味为线索寻找寄主植物的能力,植物挥发性次生物质影响昆虫的行为并作为植物防御的重要组成部分已日益引起人们的重视^[6],植物挥发物在植食性昆虫的寄主寻找行为中起着重要作用,挥发性信息化合物是联系植物-寄主-天敌三重营养关系的桥梁和纽带^[7,8]。褐飞虱 *Nilaparvata lugens* (Stål) (BPH) 是水稻的主要害虫之一,国内外的一些研究报道水稻植株的蒸馏提取物对褐飞虱的趋性和取食有影响^[9,10]。一般认为褐飞虱选择在感虫品种上栖息、取食与繁殖^[11,12],并选择在“喜欢”取食的品种上产卵,因而这些品种的着卵量也大;在抗虫品种上着卵量较少。而更进一步的研究尚未见到有相关报道。为了深入了解水稻挥发性次生物质对褐飞虱的行为影响及挥发性物质的物理化学属性及明确不同抗性品种的挥发性物质组成差异对褐飞虱的影响机理,本文从抗感水稻品种的植株中提取挥发性次生物质,分析其对褐飞虱的定向选择、生长发育等行为及成虫触角电位反应的影响,同时通过气质联用技术分析测试挥发性物质的组成与含量,为探讨水稻抗褐飞虱与水稻挥发性次生物质间的互作关系提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

褐飞虱生物型 II, 由广西农业科学院植保所抗虫育种课题组提供,在养虫笼中隔离饲养一代以上作为供试昆虫。

1.2 挥发性次生物质的提取

拔节期的水稻品种 IR₃₆ 和 TN₁ 植株,整株齐根割下去掉老黄叶后把水稻植株剪碎,称取 2kg,用水蒸汽蒸馏法提取水稻挥发性物质,重复蒸馏提取 7 次合并提取液。将提取液用乙醚萃取,挥发性物质将溶于乙醚中,萃取后混合液用无水硫酸钠吸去剩余水分,用旋转蒸发器浓缩完全去除溶剂,得到纯挥发性次生物质备用。

1.3 挥发性次生物质对褐飞虱生长发育的影响

为消除水稻植株本身物质对褐飞虱的影响,生测时选择用人工饲料,所用人工饲料的营养配比参考傅强等^[13]的方法,稍作了改动(表 1)。在褐飞虱的人工饲料中加入 IR₃₆ 和 TN₁ 的挥发性物质,分别设 3 个浓度:10、5、2 μ l/ml,设不加任何物质的全纯人工饲料为对照,每个处理设 5 个重复。

饲养器为 $d \times h = 2.5\text{cm} \times 15\text{cm}$ 的双通玻璃管,其一端为饲料室,饲料室是用双层 Parafilm 膜中间包夹人工饲料而成,每个玻璃管接入褐飞虱的 3~4 龄若虫 30 头,接虫前应用电子天平测定虫子的平均体重。接入虫后,用橡皮筋将 100 目的细尼龙纱扎于玻璃管另一端。饲养时饲养器用黑布罩住,仅露出有饲料的端口且朝光照方向,并通过向黑布浇水以确保管内相对湿度达 80% 以上。饲养在温度为 $(26.5 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 的人工气候箱中进行,光暗比为 14:10h。每天换饲料并移出死虫和蜕,并擦净管壁上所残留的蜜露与水珠。记录死虫数和羽化数,至第 8 天把所有虫子移出,再次称其重量计算其平均数,减去处理前重量平均数即为虫子的体重增加量,并计算若虫的死亡率和羽化率。

1.4 褐飞虱生物型 II 对水稻挥发性物质的定向选择性

定向选择性实验采用根据 Khan 等^[14]的方法改进而来的“H”型嗅觉仪。H 型嗅觉仪由透明聚乙烯材料(PVC 膜)制成,两直臂高 30cm,直径 10cm;中间的横臂直径 10cm,长度 20cm。在直臂离基部 10cm 开有一直径为 10cm 的圆孔,以备连接横臂所用。在横臂的中间开有 1cm $\times$ 1cm 的小孔,以供接虫用。挥发性物质用正己烷稀释成 5 μ g/ μ l 与 0.5 μ g/ μ l 两个浓度,把 10 μ l 供试气味源滴加于滤纸条(1cm $\times$ 10cm)上作为气味源,静置 1min 后进行实验,对照滴加 10 μ l 的正己烷分析纯。

表 1 纯人工饲料的营养组成

Table 1 Composition of pure artificial diets for *Nilaparvata lugens*

组分 Contents	浓度 (mg/ml) Concentration	组分 Contents	浓度 (mg/ml) Concentration	组分 Contents	浓度 (mg/ml) Concentration
I. 氨基酸类 Amino acids		L-脯氨酸 L-Proline	1.000	盐酸吡哆辛 Pyridoxine hydrochloride	0.025
甘氨酸 Glycine	0.300	L-赖氨酸 L-Lysine	2.000	核黄素 Riboflavin	0.020
L-丙氨酸 L-Alanine	1.300	L-苯丙氨酸 L-Phenylalanine	2.000	硫胺素 Thiamine hydrochloride	0.025
L-精氨酸 L-Arginine hydrochloride	1.750	L-丝氨酸 L-Serine	4.000	抗坏血酸 Ascorbic acid	1.000
L-天冬酰胺 L-Asparagine	2.300	L-苏氨酸 L-Threonine	1.300	III. 无机盐 Inorganic salts	
L-天冬氨酸 L-Aspartic acid	1.000	L-色氨酸 L-Tryptophane	1.050	CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.03115
L-半胱氨酸 L-Cysteine	0.800	L-酪氨酸 L-Tyrosine	0.100	CuCl ₂ · 2H ₂ O	0.00268
L-胱氨酸 L-Cytine hydrochloride	0.200	L-缬氨酸 L-Valine	3.000	FeCl ₃ · 6H ₂ O	0.02228
γ-氨基丁酸 γ-Amino butyric acid	0.100	II. 维生素类 Vitamins		MnCl ₂ · 4H ₂ O	0.00793
L-谷氨酸 L-Glutamic acid	2.500	生物素 Biotin	0.0005	ZnCl ₂	0.00396
L-谷酰胺 L-Glutamine	2.400	泛酸钙 Calcium pantothenate	0.050	MgCl ₂ · 6H ₂ O	2.000
L-组氨酸 L-Histidine	0.800	氯化胆碱 Choline chloride	0.600	KH ₂ PO ₄	5.000
L-蛋氨酸 L-Methionine	0.700	叶酸 Folic acid	0.025	IV. 其它 Others	
L-异亮氨酸 L-Isoleucine	1.000	肌酸 Inositol	0.500	蔗糖 Sucrose	0.090
L-亮氨酸 L-Leucine	2.400	烟酸 Nicotinic acid	0.150	pH	6.8

将供试的成对气味源分别罩于“H”型嗅觉仪的两直臂内,然后用纱布包扎两直臂的顶端口,横臂的两端口用纱布封好后,连接于两直臂间,通过接虫口,将 20 头羽化 2d 左右的褐飞虱成虫小心地接入横臂正中央。接虫后 0.5、1、2h 后分别记录横臂接虫口两侧 1cm 范围内,及横臂两侧(超过接虫口 1cm 范围的区域)的飞虱数量。在接虫口两侧 1cm 内的褐飞虱记为无反应飞虱,在横臂两侧的褐飞虱各记为对某一气味源作出反应的褐飞虱数量。每个处理设 5 次重复。实验所得数据用 DPS 软件进行 *t* 检验^[15]。

1.5 褐飞虱成虫对水稻挥发性物质的触角电位反应

取一头正常的褐飞虱成虫,将其一根触角自基部切下,端部剪去少许。在双目实体显微镜下,将触角的基部套在参考电极上,记录电极套在触角的端部。玻璃电极由毛细管控制器拉成,毛细管内为 0.2mm,在玻璃电极中插入直径为 2mm 的银-氯化银电极,注入适量昆虫生理液,银-氯化银电极装在微动操作仪(Syntech MP 15)上,后者连接直流/交流放大器(Syntech 06),刺激放大器(Syntech CS 05)和计算机,用 Syntech 软件记录数据^[16,17]。

两种水稻的挥发性物质用正己烷稀释成浓度为 0.01、0.05、0.1、0.3、0.5、0.7、0.9 μg/μl 的味源物,在 20mm × 5mm 滤纸上均匀滴加味源物 10 μl,静置 1 min,再把滤纸条放入一个玻璃刺激管,滴管末端连接气体刺激控制装置,出口对准触角,距离 2 cm 左右。试验开始前须经过对照刺激,把正己烷 10 μl 滴于滤纸上置于空气中 1min,然后进行刺激确认所得到记录中并没有任何活动电位后开始用味源物实验。由真空泵送气,流量 40ml/min,刺激时间为 0.5s,间隔 2min,通入新鲜空气以除去触角周围的味源气味再做下一个处理^[16],每组设 5 个重复,区分昆虫雌雄、长短翅型。

数据处理利用 Duncan's 多重比较法分析比较褐飞虱对两种挥发性物质各个浓度的触角电位反应的差异。利用 *t* 测验分析比较雌雄、不同翅型褐飞虱之间的电位反应差异。

1.6 水稻挥发性物质中各化学成分分析

采用 GC-MS 分析 IR₃₀ 和 TN₁ 的挥发性次生物质中各化学成分。

色谱条件:柱子 DB-5(30m × 0.32mm),采用不分流进样,进样体积 0.2 μl,进样口温度 180℃;炉温采用程序升温 60℃,保持 5min → 以 2℃/min 的速率升到 120℃,保持 5 min → 以 5℃/min 的速率升到 180℃,保

持 30min。

质谱条件:EI 源(电子轰击源):电压 350v,质量采集范围 35 ~ 350aum,气相色谱仪与质谱仪连接口温度:250℃。

数据处理系统:Willey 质谱库,Mainlib 质谱库。

2 结果与分析

2.1 水稻挥发性次生物质对褐飞虱若虫的影响

试验统计分析结果说明(表 2),在人工饲料中加入 TN_1 的挥发性次生物质若虫的死亡率与对照相比差异均不显著,说明 TN_1 对褐飞虱生物型 II 的若虫没有不良的作用,而 IR_{36} 的挥发性物质加入人工饲料饲育飞虱后,其死亡率均增加且与对照相比均达到差异显著水平,说明 IR_{36} 的挥发性物质对褐飞虱生物型 II 若虫的生长发育有不良的作用,能导致其死亡率的增加。 IR_{36} 的各处理与对照和 TN_1 各处理对褐飞虱的死亡率相比大多达到差异显著水平。

表 2 水稻挥发性次生物质对褐飞虱若虫的影响

Table 2 Influence of rice volatile on *N. lugens* larvae

处理 Treatment ($\mu\text{l/ml}$)	死亡率 Percentage of death (%)	平均增重 Average body-mass increase (毫克/头)
IR_{36} 10	77.33 ± 2.517 a	-0.053 ± 0.025 d
IR_{36} 5	53.52 ± 3.061 b	-0.027 ± 0.021 d
IR_{36} 2	21.37 ± 9.549 c	0.023 ± 0.006 c
TN_1 10	17.49 ± 1.106 cd	0.130 ± 0.017 b
TN_1 5	17.74 ± 1.012 cd	0.170 ± 0.036 ab
TN_1 2	12.33 ± 2.619 d	0.190 ± 0.026 a
对照 CK	11.28 ± 3.213 d	0.235 ± 0.030 a

表中同列数据后有相同字母者表示在 0.05 水平差异不显著 (DMRT 法) The same small letters in a column indicate no difference at $P=0.05$ (Duncan's SSR)

表 2 结果还表明, TN_1 挥发性次生物质高浓度 (10 $\mu\text{l/ml}$) 处理与对照相比若虫死亡率差异差异不明显,但对体重增加的影响却达到差异显著水平,说明高浓度的感性品种的挥发性物质对昆虫的取食消化行为具有一定的不良影响,而不直接导致其死亡。 IR_{36} 10 $\mu\text{l/ml}$ 、 IR_{36} 5 $\mu\text{l/ml}$ 两个处理的褐飞虱体重非但没有增加反而降低,说明抗性品种 IR_{36} 的挥发性物质对褐飞虱生物型 II 若虫的生长发育具有抑制作用。 TN_1 对褐飞虱生物型 II 若虫的体重增加未表现不良作用,而 IR_{36} 的挥发性物质能抑制褐飞虱若虫生长发育。

2.2 褐飞虱生物型 II 对水稻挥发性物的定向选择性

褐飞虱生物型 II 成虫对两种水稻挥发性物质的选择性结果见表 3。表 3 表明,在高浓度 (5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) 时,褐飞虱对两种水稻的挥发性物质的选择性在各个时段均表现为忌避作用,即昆虫的选择率与对照相比较低且均达到差异显著水平;相同浓度的两种挥发性物质的选择率,在处理初期 0.5h 时差异并不显著,在 1h 后褐飞虱趋向感性品种 TN_1 的挥发性物质。

表 3 褐飞虱对水稻挥发性物质的定向选择率

Table 3 Orientational responses of *N. lugens* adults to rice volatile

处理 Treatment ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	选择百分率 Percent of selection (%)			处理 Treatment ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	选择百分率 Percent of selection (%)		
	0.5h	1h	2h		0.5h	1h	2h
TN_1 (5)	26.0 ± 9.64	32.0 ± 8.74	25.0 ± 9.61	TN_1 (0.5)	49.0 ± 17.14 *	53.0 ± 17.04 *	49.0 ± 9.87 *
CK	43.0 ± 11.56 *	62.0 ± 14.58 *	43.0 ± 15.24 *	CK	29.0 ± 9.54	21.0 ± 8.69	22.0 ± 5.58
IR_{36} (5)	31.0 ± 10.23	15.0 ± 4.58	16.0 ± 7.36	IR_{36} (0.5)	22.0 ± 9.65	20.0 ± 5.26	30.0 ± 6.35
CK	51.0 ± 12.54 *	67.0 ± 17.35 *	50.0 ± 8.76 *	CK	44.0 ± 11.25 *	42.0 ± 14.75 *	49.0 ± 11.29 *
TN_1 (5)	35.0 ± 8.99	42.0 ± 12.54 *	44.0 ± 15.25 *	TN_1 (0.5)	50.0 ± 14.57 *	53.0 ± 16.35 *	59.0 ± 13.55 *
IR_{36} (5)	32.0 ± 9.04	23.0 ± 6.89	23.0 ± 14.57	IR_{36} (0.5)	30.0 ± 12.24	19.0 ± 4.91	27.0 ± 6.91

表中同列同组数据后有“*”表示同组数据在 0.05 水平差异显著 (t 检验法) The “*” in a pair date indicate difference at $t=0.05$ (t test)

在低浓度 $0.5\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 时,褐飞虱成虫喜欢趋向于感虫品种 TN_1 的挥发性物质而非空白对照,表明 TN_1 的挥发性物质对褐飞虱有引诱作用;褐飞虱对抗性品种 IR_{36} 的挥发性物质表现为忌避作用而趋向空白对照;褐飞虱对低浓度的两种挥发性物质的选择性与高浓度时表现基本一致的,即均趋向于感性品种 TN_1 的挥发性物质。试验中每个时间段每组处理间褐飞虱的选择率大都达到差异显著水平。

2.3 不同性别的褐飞虱短翅型成虫对水稻挥发性物质的触角电位反应

不同性别的褐飞虱生物型 II 短翅型成虫对不同味源物的触角电位反应见表 4,从表中看出,褐飞虱雌、雄成虫对相同浓度的 TN_1 挥发性物质的触角电位反应值比 IR_{36} 的要大,且达到差异显著水平。褐飞虱雌、雄成虫对同一品种的挥发性物质的触角电位值基本上都是随着挥发物的浓度的升高而增大。总的来说,雄性成虫的电位值强于雌性成虫。

2.4 不同翅型的雄性褐飞虱成虫对水稻挥发性物质的触角电位反应

不同翅型的雄性褐飞虱成虫对水稻挥发性物质的触角电位反应结果见表 4,结果反映了对于各相同浓度(除 $0.9\mu\text{g}/\mu\text{l}$)的 TN_1 和 IR_{36} 的挥发物,长翅型的褐飞虱成虫对 TN_1 挥发性物质的触角反应要强于 IR_{36} 的,且均达到差异显著水平。而短翅型的成虫对相同浓度的 IR_{36} 和 TN_1 挥发性物质的电位反应值有 4 个浓度(即 0.01 、 0.05 、 0.1 、 0.3 、 $0.9\mu\text{g}/\mu\text{l}$)是 TN_1 的触角电位值强于 IR_{36} , 3 个浓度处理组触角电位反应值差异不显著;总的趋势是对 TN_1 的挥发性次生物质的触角电位反应强于 IR_{36} 的,短翅型成虫电位值强于长翅型成虫。

表 4 不同性别及翅型褐飞虱对水稻挥发性物质的电位反应

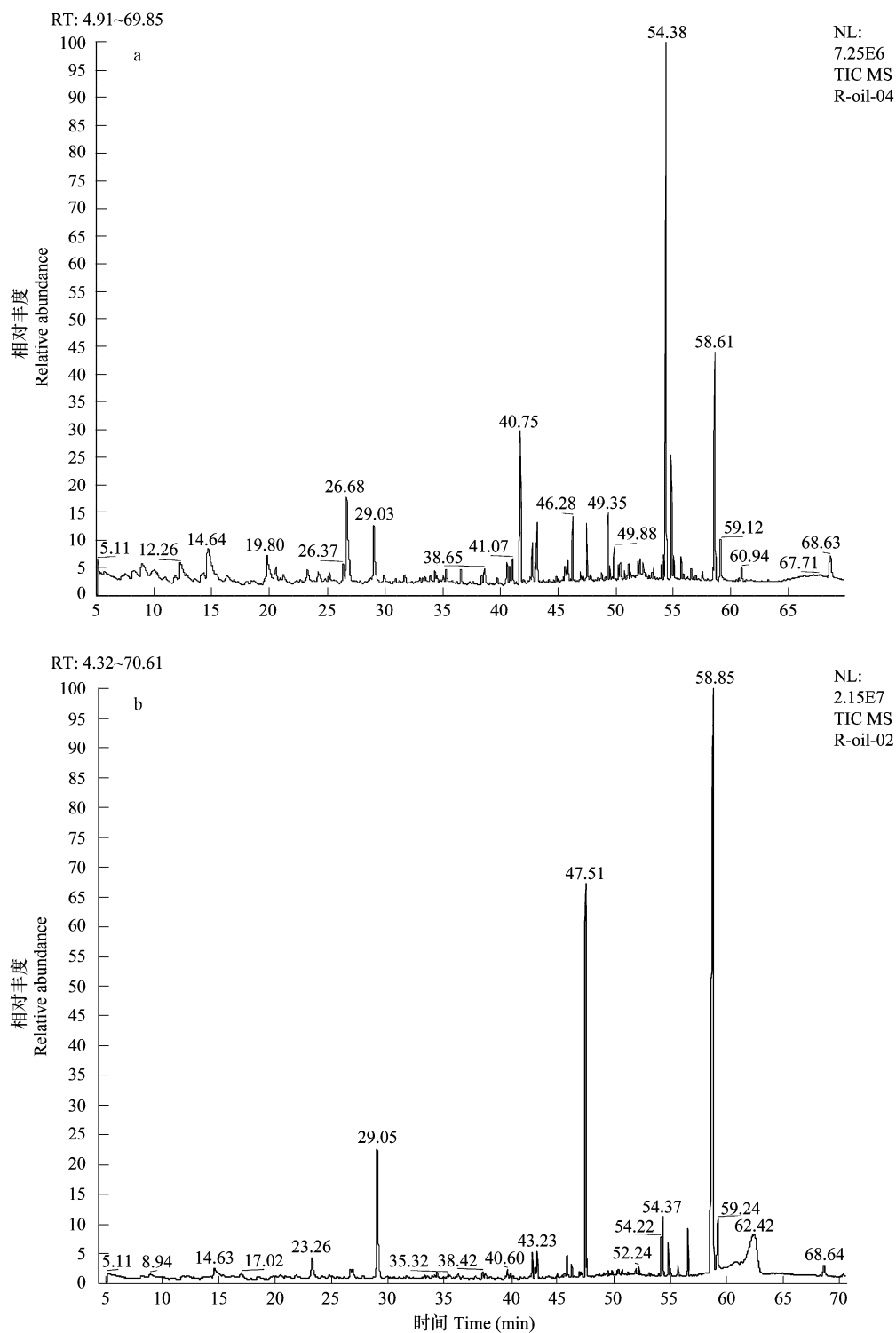
Table 4 EAG response of rice volatile on different sex and pennate *N. lugens*

处理 Treatments ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	电位值 Electroantennogram values (mv)			
	雌性 Female	雄性 Male	长翅型 Macroptery	短翅型 Brachyptery
IR_{36} (0.01)	0.232 ± 0.015	0.708 ± 0.008	0.338 ± 0.029	0.982 ± 0.031
TN_1 (0.01)	$0.441 \pm 0.014^*$	$0.827 \pm 0.013^*$	$0.411 \pm 0.015^*$	$1.278 \pm 0.033^*$
IR_{36} (0.05)	0.371 ± 0.025	0.767 ± 0.022	0.461 ± 0.043	0.929 ± 0.026
TN_1 (0.05)	$0.737 \pm 0.010^*$	$0.976 \pm 0.021^*$	$0.508 \pm 0.012^*$	$1.365 \pm 0.021^*$
IR_{36} (0.1)	0.762 ± 0.017	0.859 ± 0.018	0.435 ± 0.074	0.764 ± 0.059
TN_1 (0.1)	$0.848 \pm 0.023^*$	$1.043 \pm 0.014^*$	$0.628 \pm 0.032^*$	$1.454 \pm 0.081^*$
IR_{36} (0.3)	0.751 ± 0.019	0.891 ± 0.014	0.505 ± 0.061	1.369 ± 0.051
TN_1 (0.3)	$0.919 \pm 0.010^*$	$1.098 \pm 0.014^*$	$0.622 \pm 0.008^*$	$1.609 \pm 0.012^*$
IR_{36} (0.5)	0.834 ± 0.011	0.957 ± 0.022	0.619 ± 0.071	1.607 ± 0.082
TN_1 (0.5)	$0.896 \pm 0.013^*$	$1.212 \pm 0.044^*$	$0.690 \pm 0.024^*$	1.606 ± 0.007
IR_{36} (0.7)	0.985 ± 0.006	1.105 ± 0.078	0.646 ± 0.024	1.586 ± 0.132
TN_1 (0.7)	$1.078 \pm 0.054^*$	$1.241 \pm 0.066^*$	$0.714 \pm 0.025^*$	1.599 ± 0.066
IR_{36} (0.9)	0.924 ± 0.012	1.187 ± 0.032	0.777 ± 0.029	1.809 ± 0.075
TN_1 (0.9)	$1.211 \pm 0.011^*$	$1.223 \pm 0.029^*$	0.766 ± 0.030	$1.991 \pm 0.009^*$

表中同列同组数据后有“*”表示同组数据在 0.05 水平差异显著(t 检验法) The “*” in a pair date indicate difference at $t=0.05$ (t test)

2.5 挥发性物质的化学组成及含量

水稻中挥发性次生物质的化学组成及含量相差较大,从两个品种的挥发性物质中共检到的物质有 44 种已知化合物,离子流程图见图 1,部分化学组成及含量见表 5。从表中看出,不同抗性级别品种的化学组成是不完全相同的,如 α -亚乙基-苯乙醛在 IR_{36} 中检出,而在 TN_1 中未检出;化合物 1,2-苯二羧酸二丁基酯、双-(2-乙己基)肽酸酯在 TN_1 中检出,而在 IR_{36} 中未检出。不同品种的各种化合物的含量百分比有很大的差异,如 3-(1',3'-丁二烯基)-吡啶在 IR_{36} 中含量仅有 1.66%,而在 TN_1 中高达 13.45%;6,10,14-三甲基-2-十五烷酮在 IR_{36} 中含量高达 17.57%,而在 TN_1 中仅有 2.05%。

图1 水稻品种 IR₃₆ (a) 和 TN₁ (b) 的离子流程图Fig.1 Ion flow chart of varieties IR₃₆ (a) and TN₁ (b)

3 讨论

3.1 本研究结果表明水稻抗虫、感虫品种的挥发性次生物质加入人工饲料中饲养褐飞虱生物型Ⅱ若虫,对若虫的死亡率和虫体的平均体重增加影响有差异。抗性品种 IR₃₆ 的挥发性物质加入人工饲料饲养褐飞虱,对若虫的存活与虫体的增重有不良影响,且随着浓度的增加,不良影响加大;而感性品种 TN₁ 的挥发性物质对褐飞

虱若虫存活和生长发育未表现不良影响,该结果与前人的研究结果相似。

表 5 两个水稻品种挥发性次生物质部分成分的化学组成及含量

Table 5 Component and contents of two rice volatile

保留时间 Remain time (min)	中文名称 Chinese name	匹配度 Matched degree	分子式 Molecular formula	百分含量 Percent(%)	
				IR ₃₆	TN ₁
14.64	2-甲氧基苯酚, Phenol, 2-methoxy-(CAS)	91.4	C ₇ H ₈ O ₂	4.72	1.21
19.78	4-乙基苯酚, Phenol, 4-ethyl-(CAS)	92.6	C ₈ H ₁₀ O	3.46	0.08
26.37	à-亚乙基-苯乙醛, Benzeneacetaldehyde, à-ethylidene-(CAS)	83.1	C ₁₀ H ₁₀ O	1.44	—
26.68	4-异丙烯基-5-甲基-4-己烯-1-醛, 4-isopropenyl-5-methyl-4-hexen-1-al	96.6	C ₈ H ₁₄ O ₂	8.58	0.62
29.03	4-乙烯基-2-甲氧苯酚, 4-vinyl-2-methoxy-phenol	90.2	C ₉ H ₁₀ O ₂	4.76	7.68
41.75	4-甲氧基-6-(2-丙烯基)-1,3-苯并间二氧杂环戊烯, 1,3-benzodioxole, 4-methoxy-6-(2-propenyl)-(CAS)	83.4	C ₁₁ H ₁₂ O ₃	7.59	0.06
43.22	5,6,7,7a-四氢-4,4,7a-三甲基-2(4H)-苯并呋喃, 2(4H)-benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-(CAS)	90.6	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	2.99	1.30
46.28	戊二酸二丁基酯, Pentanedioic acid, dibutyl ester (CAS)	75.9	C ₁₃ H ₂₄ O ₄	1.86	0.42
47.48	3-(1',3'-丁二烯基)-吲哚, 3-(1',3'-buta-dienyl)-indole	93.5	C ₁₂ H ₁₁ N	1.66	13.45
49.35	1,4-二羟基苯[C]-1 十六烷酸, 5-萘啉-2(3H)-酮, 1,4-dihydrobenzo[C]-1,5-naphthyridin-2(3H)-one	89.2	C ₁₂ H ₁₀ N ₂ O	2.00	0.14
54.38	6,10,14-三甲基-2-十五烷酮, 2-pentadecanone, 6,10,14-trimethyl	90.9	C ₁₈ H ₃₆ O	17.57	2.05
54.84	1,2-苯二羧酸, 双(2-甲丙基)酯, 1,2-benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester-(CAS)	92.5	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	4.09	1.16
58.61	酞酸二丁酯, Dibutyl phthalate	94.5	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	10.55	0.05
58.85	1,2-苯二羧酸二丁基酯, 1,2-Benzenedicarboxylic acid, dibutyl ester(CAS)	91.4	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	—	53.42
59.12	十六烷酸(棕榈酸), Hexadecanoic acid(CAS)	89.9	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	2.34	2.86
62.42	双-(2-乙己基)酞酸酯, Di-(2-ethylhexyl) phthalate	93.6	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	—	4.85
68.63	3,7,11,15-四甲基-[R-[R*, R*-(E)]]-2-十六碳烯-1-醇, 2-hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*, R*-(E)]]-(CAS)	87.9	C ₂₀ H ₄₀ O	2.00	0.84

“—”表示未检出 “—” indicate no discover

3.2 植物挥发物在植食性昆虫的寄主寻找行为中起着重要作用,已有研究报道水稻植株的蒸馏提取物对褐飞虱的趋性和取食有影响^[10,14,18,20,21]。本研究结果中褐飞虱生物型Ⅱ成虫对水稻抗、感品种挥发性物质的定向选择性,在适合浓度范围内趋向感性品种的挥发性物质,而对抗性品种的挥发性物质有忌避作用,与上述研究结果相似。不管是抗虫或感虫品种,高浓度的挥发性物质对褐飞虱表现为驱避作用,这说明不管是抗感品种植株内均含有对褐飞虱有驱避作用的物质,差异在于不同抗性级别的品种中抗性物质含量不同,当挥发性物质的含量达到一定的浓度时将会对褐飞虱产生驱避作用;同时也说明挥发性次生物质对昆虫的行为反应并不是简单的某种物质的作用,而是不同种物质间量组合的综合作用,浓度过高过低对昆虫都可能产生相反的影响。

3.3 昆虫在寄主上的定位靠触角感应植物挥发性次生物质的气味,触角电位(electro-antennogram 简称 EAG)技术是鉴别植物挥发性次生物质对昆虫有无活性作用的常用技术之一,它是昆虫触角上的全部化感器对气味刺激物的电生理反应的总和^[22]。通过反应值的大小可以判断刺激物对昆虫是否有活性,或者昆虫是否对刺激物产生反应。褐飞虱对挥发性次生物质的触角电位反应目前还没见有报道。本研究结果表明褐飞虱成虫

对水稻挥发性次生物质的触角电位反应与水稻抗感品种有关之外,还与其性别和翅型有关。总的来说,雄性成虫对挥发性物质的触角电位反应(嗅觉灵敏度)强于雌性,而短翅型成虫对挥发性物质的触角电位反应则比长翅型成虫强。对于同一浓度的抗、感品种的挥发性次生物质,褐飞虱成虫对感虫品种 TN_1 的触角电位反应要比抗性品种 IR_{36} 强,这可能与品种中含有的对褐飞虱有活性作用的挥发性物质有关。然而触角电位技术是一种测定昆虫对挥发性物质反应的方法,它只能排除那些对昆虫没有生理活性的物质,却不能肯定这些物质对昆虫行为产生什么样的影响,昆虫对植物气味物质的 EAG 反应是否与昆虫的行为反应有关,由于研究对象不同,不同研究者得到的结论也有分歧。昆虫对某些刺激物 EAG 反应大小与反应相一致,而对另外一些刺激物,两种反应则表现不相关甚至负相关,因而有些人认为 EAG 不能作为筛选引诱剂的有效工具。因此,要研究植物挥发物对昆虫行为的具体影响,需进一步利用嗅觉仪或风洞技术做行为反应测定,并最终到田间昆虫的自然生境中进行鉴定^[23]。

水稻释放挥发性信息物质是由多种不同结构和不同浓度物质组成的复杂混合物,某些水稻组织提取物中含有 60 多种化学物质^[19]。不同水稻品种挥发性信息化合物的成分和比例有较大差异,已被证实具有引诱飞虱定位作用的活性化合物共计有 27 种^[9]。本研究中检测到的挥发性信息化合物 44 种为已知化合物,还有 10 多种为未知化合物,检测到的已知化合物中部分为被证实具有引诱飞虱定位作用的活性化合物,如 6,10,14-三甲基-2-十五烷酮、酞酸二丁酯、十六烷酸(棕榈酸)等^[9]。分析发现不同抗性水稻材料间的挥发性物质存在明显差异,这种差异不仅表现在挥发性物质的含量、组成种类,而且还体现在挥发性物质各种类的组成比例方面,如上述三种化合物,前两种化合物在感虫品种中含量远高于抗虫品种,后一种化合物在抗性品种中含量相当。在抗感虫品种中含量差异较大的化合物推测可能与水稻品种对褐飞虱的抗性有关。直到目前,水稻挥发物中对褐飞虱有活性作用的组分与它们的作用机制研究甚少,对这个问题还有待昆虫学家、植物生理学家和化学家等从多角度、多方面的通力合作来解决。

References:

- [1] Yang Z D, Zhu L, Zhao B G. Chemical Ecology of Insect in Plant Protection. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition), 2003,27(5):93—98.
- [2] Zhang X H, Shen H M, Huang G B. Study situation and prospects of the plant and insect Chemical ecology. Journal of Gansu Agricultural University, 2006,41(1):116—121.
- [3] Visser J H. Host odor perception in phytophagous insects. Ann Rev Entomol,1998,(31):121—144.
- [4] Pichersky E, Jonathan G. The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. Curr Opin Plant Biol, 2002(5): 237—243.
- [5] Wu X P, Wei Sh M, Li R Zh. Genetic modification of volatile metabolism in plants. Letters in Biotechnology, 2007,8(2):348—352
- [6] Lu W, Hou M L, Wen J H, *et al.* Effects of plant volatiles on herbivorous insects. Plant Protection, 2007,33(3): 7—11.
- [7] Lian Y G, Wang S Q, Wang Zh Y, *et al.* Effects of Volatile In fochemicals on Trichogramma Parasitism Behavioral and Its Application in Biological Control. Chinese Journal of Biological Control, 2007,23(1):89—92.
- [8] Wang Y, He Z, Ge F, *et al.* Chemical Information Interactions among Hostplants, Herbivorous Insects and Natural Enemies. Acta Agriculturae Jiangxi, 2008,20(1):26—28.
- [9] Obata T. Constituents of planthopper attractant in rice plant. Appl. Ent. Zool, 1983, 18(2):161—169.
- [10] Saxena R C, Barrion A A. Biotype of the brown planthopper *Nilaparvata lugens*(Stål) and strategies in deployment of host plant resistance. Insect Sci. Applic. , 1985, 6(3):271—289.
- [11] Sogawa K, Pathak M D. Mechanisms of brown planthopper resistance in Mudgo variety of rice (Homoptera:Delphacidae). Appl. Ent. Zool, 1970, 5(3):145—158.
- [12] Liu F, Lou Y G, Cheng J A. Mediations of Rice Volatiles on Intra- and Inter-specific Relationships of Brown Planthopper (*Nilaparvata lugens*) and Whitebacked Planthopper (*Sogatella furcifera*). Chinese Journal of Rice Science, 2002, 16(2):162—166.
- [13] Fu Q, Zhang Z T, Hu C, *et al.* The effects of high temperature on both yeast-like symbionts and amino acid requirements of *Nilaparvata lugens*. Acta Entomol. Sin. , 2001,44(3):534—540.
- [14] Khan Z R, Saxena R C. Effect of steam distillate extracts of resistant and susceptible rice cultivars on behavior of *Sogatella furcifera*(Homoptera:

- Delphacidae). *Ecol Entomol*, 1986, 79:928—935.
- [15] Tang Q Y, Feng M G. DPS data processing system for practical statistics. Beijing: Science Press, 2002. 294—308
- [16] Fu X W, Guo X R, Luo M H, *et al.* Electrophysiological and behavioral responses of *Helicoverpa assulta* (Guenée) and *H. armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) to tobacco Volatile compounds of high concentration. *Acta Entomologica Sinica*, 2008, 51(9): 902—909.
- [17] Xu Y X, Sun X G, He Z, *et al.* Electro-antennogram responses of *Carcelia matsukarehae* to the volatiles of *Pinus massoniana* damaged by *Dendrolimus punctatus*. *Chinese Bulletin of Entomology*, 2006, 43(3): 319—322.
- [18] Khan Z R, Saxena R C. Behavioral and physiological responses of *Sogatella furcifera* to selected resistant and susceptible rice cultivars. *Econ. Entomol.*, 1985, 78: 1280—1286.
- [19] Hu G W, Liang TX, Liu G J, *et al.* The extraction, chemical analysis and bioassays of secondary volatiles from rice varieties susceptible and resistant to the whitebacked planthopper, *Sogatella furcifera* (Horvath) (Homoptera: ephlacidar). *Chinese Journal of Rice Science*, 1994, 8(4): 223—230.
- [20] Zhang GR, Lian B, Gu LQ, Zhou Q, Zhang W Q, Effects of ethanol extracts from susceptible and resistant rice varieties on brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål) (Homoptera: Delphicidae). *Acta Entomologica Sinica*, 1998, 41(2): 215—217.
- [21] Saxena R C, Okech S H. Role of plant volatiles in resistance of selected rice varieties to the brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stål) (Homoptera: Delphacidae). *Chem. Ecol.*, 1985, (11): 1601—1616.
- [22] Hartlieb E, Rembold H. Behavioral responses of female *Helicoverpa armigera* (Heliethis) HB. (Lepidoptera: Noctuidae) moths to synthetic pigeonpea (*Cajanus cajan* L.) Kairomone. *Chem. Ecol.*, 1996, 22(4): 821—837.
- [23] Wang T, Zhou Ch G, Li B, *et al.* Electroantennogram response of *Semanotus bifasciatus* (Matsch.) to volatiles for different ways of extraction from *Biota orientalis* (L.) Endl. *Shandong Agricultural Science*, 2005, (1): 44—46, 61.

参考文献:

- [1] 杨振德, 朱麟, 赵博光. 昆虫化学生态学与植物保护. 南京林业大学学报(自然科学版), 2003, 27(5): 93~98.
- [2] 张新虎, 沈慧敏, 黄高宝. 植物与昆虫化学生态学研究现状与展望. 甘肃农业大学学报. 2006, 41(1): 116~121.
- [5] 武小平, 卫士美, 李润植. 植物挥发性物质代谢的遗传修饰. 生物技术通讯, 2007, 8(2): 348~352.
- [6] 卢伟, 侯茂林, 文吉辉, 等. 植物挥发性次生物质对植食性昆虫的影响. 植物保护, 2007, 33(3): 7~11.
- [7] 练永国, 王素琴, 王振营, 等. 挥发性信息化合物对赤眼蜂寄生行为的影响及其利用. 中国生物防治, 2007, 23(1): 89~92.
- [8] 王勇, 何忠, 戈峰, 等. 植物-植食性昆虫-天敌之间的化学信息联系. 江西农业学报, 2008, 20(1): 26~28.
- [12] 刘芳, 姜永根, 程家安. 稻株挥发油在调节褐飞虱、白背飞虱种内种间关系中的作用. 中国水稻科学, 2002, 16(2): 162~166.
- [13] 傅强, 张志涛, 胡萃, 等. 高温处理后褐飞虱体内共生酵母菌和氨基酸需求的变化. 昆虫学报, 2001, 44(3): 534~540.
- [15] 唐启义, 冯明光. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统. 北京: 科学出版社, 2002. 294~308.
- [16] 付晓伟, 郭线茹, 罗梅浩, 等. 烟夜蛾和棉铃虫对高浓度烟草挥发物的电生理和行为反应. 昆虫学报, 2008, 51(9): 902~909.
- [17] 徐延熙, 孙绪良, 何忠, 等. 松毛虫狭翅寄蝇对被害马尾松针叶挥发物的触角电位反应. 昆虫知识, 2006, 43(3): 319~322.
- [19] 胡国文, 梁天锡, 刘光杰, 等. 抗白背飞虱水稻品种挥发性次生物质的提取、组分鉴定与生测. 中国水稻科学, 1994, 8(4): 223~230.
- [20] 张古忍, 廉斌, 古练权, 等. 不同品种的水稻乙醇提取物对褐稻虱的影响. 昆虫学报, 1998, 41(2): 215~217.
- [23] 王婷, 周成刚, 李波, 等. 双条杉天牛对不同提取法所得侧柏挥发油的触角电位反应. 山东农业科学, 2005, (1): 44~46, 61.