

DOI: 10.5846/stxb201409171839

秦秋菊, 李莎, 毛达, 李娜, 李梦杰, 刘顺. 伤害和挥发物对棉花花外蜜的诱导效应. 生态学报, 2016, 36(7): - .

Qin Q J, Li S, Mao D, Li N, Li M J, Liu S. The effects of damage and volatiles on extrafloral nectar production in cotton plants. Acta Ecologica Sinica, 2016, 36(7): - .

伤害和挥发物对棉花花外蜜的诱导效应

秦秋菊, 李莎, 毛达, 李娜, 李梦杰, 刘顺*

河北农业大学植物保护学院, 保定 071000

摘要:植物花外蜜的分泌是一种植物间接防御反应。为了明确植食性昆虫、机械伤和机械伤诱导的挥发性气体在植物花外蜜诱导分泌中的作用,本文分析了咀嚼式口器昆虫棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner)、刺吸式口器昆虫棉蚜 *Aphis gossypii* Glover 取食、剪刀机械伤、剪刀机械伤+棉铃虫反吐物、针刺机械伤以及机械伤诱导挥发物、顺式-茉莉酮对棉花 *Gossypium herbaceum* (L.) 叶片花外蜜分泌量的影响。结果表明,棉铃虫取食、剪刀机械伤、剪刀机械伤+棉铃虫反吐物处理均显著增加了被处理叶片花外蜜的分泌量。棉花花外蜜的诱导效应在处理叶片上表现明显,并且在较幼嫩的第 3 片真叶上也有系统性增长。顺式-茉莉酮和机械伤挥发物处理 1 d 对棉花较幼嫩的第 4、5 片真叶花外蜜有诱导效应。棉花叶片花外蜜的诱导主要与植物组织损伤有关;不同口器类型的昆虫对棉花叶片花外蜜的诱导量不同,咀嚼式口器的棉铃虫对棉花花外蜜的诱导强度显著高于刺吸式口器的棉蚜;顺式-茉莉酮和机械伤诱导的挥发物能作为棉花植株间交流的信息物质诱导棉花幼嫩叶片花外蜜的分泌。

关键词:棉花花外蜜;棉铃虫;棉蚜;机械伤;顺式-茉莉酮;诱导

The effects of damage and volatiles on extrafloral nectar production in cotton plants

QIN Qiuju, LI Sha, MAO Da, LI Na, LI Mengjie, LIU Shun*

Department of Entomology, College of Plant Protection, Agricultural University of Hebei Province, Baoding 071000, China

Abstract: The production of extrafloral nectar is believed to be an indirect plant defense that allows plants to recruit predators and parasitoids. Although damage and herbivory by various leaf-chewing insects induces secretion of plant extrafloral nectar, the relative impact of different damage patterns and herbivory by different feeding guilds is not well understood. In this study, we investigated the differential production of foliar extrafloral nectar in cotton plants (*Gossypium herbaceum* L.) in response to herbivory by different feeding guilds and by mechanical damage and mechanical damage-induced volatiles. To compare the levels of cotton extrafloral nectar induced by these factors, we subjected cotton plants having three to four true leaves (first to third fully expanded leaves) to herbivory by the chewing herbivore *Helicoverpa armigera* (Hübner) and the sap-sucking aphid *Aphis gossypii* Glover, and mechanically damaged the second leaves by using scissors, by punching a needle through the leaves, and by exposure to the regurgitates of *H. armigera*. We also exposed whole cotton plants having five to six true leaves (first to fifth fully expanded leaves) to (Z)-jasmone and mechanically damage-induced volatiles. Extrafloral nectar levels were assessed every 24 h. Because extrafloral nectar in the single nectary of the leaf mid-vein was viscous and could not be collected by capillaries, extrafloral nectar droplets were absorbed on Whatman filter paper weighed on an electronic balance prior to and after extrafloral nectar collection. Pre- and post-leaf damage over seven consecutive days as well as extrafloral nectar induction was analyzed by repeated measures analysis of

基金项目:国家自然科学基金项目(31201542);河北省高等学校科学技术研究优秀青年基金(Y2012011);河北农业大学博士科研启动基金项目

收稿日期:2014-09-17; **网络出版日期:**2015- -

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: Liushun156@163.com

variance. The analysis revealed that herbivory by *H. armigera*, mechanical damage caused by scissors, and mechanical damage with regurgitate of *H. armigera* significantly increased extrafloral nectar production in comparison to undamaged cotton plants. After 1 d of treatment, damage from *A. gossypii* and needle-punched leaves showed significantly higher levels of extrafloral nectar production. No difference in extrafloral nectar production was found between cotton plants damaged by *A. gossypii* and those damaged with a needle. While treated leaves were significantly affected, an additional systemic increase was also observed on young leaves (third leaves). The effect was stronger on treated leaves than on untreated leaves, and no significant changes in extrafloral nectar production occurred on old leaves (first leaves). After 1 d of treatment, (Z)-jasmone and mechanical damage-induced volatiles increased extrafloral nectar production by young leaves (fourth and fifth leaves), whereas no significant changes in extrafloral nectar production were recorded on old leaves (first to third leaves). We conclude that the induction of extrafloral nectar secretion in cotton is primarily a generalized response to tissue damage. Damage from different herbivores with different mouthpart types generated different levels of extrafloral nectar induction. Damage from the leaf-chewing caterpillar *H. armigera* resulted in stronger induction than that caused by the sap-sucking aphid *A. gossypii*. Treatment with (Z)-jasmone and mechanical damage-induced volatiles stimulated extrafloral nectar secretion in young leaves; these compounds serve as airborne cues to mediate communication between cotton plants.

Key Words: cotton extrafloral nectar; *Helicoverpa armigera*; *Aphis gossypii*; mechanical damage; (Z)-jasmone; induction

植物间接防御能为害虫天敌提供食物(如食物体 food body 或蜜)、释放挥发物吸引天敌或作为天敌搜寻行为的信息物质等^[1-3]。目前的研究普遍认为,与害虫及其天敌有关的植物信息物质(如害虫诱导的植物挥发物、植物利它素)对天敌的寄主寻找和定位行为起着非常重要的引诱和导向作用。植物信息物质可以提高害虫天敌的搜寻成功率,使天敌成功控制植食者的种群以降低害虫对植物的取食危害^[3]。植物花外蜜是植物的重要信息物质之一,在吸引害虫天敌方面作用明显^[3-4]。花外蜜是由着生于植物花外的蜜腺分泌的蜜液。花外蜜腺不参与植物的传粉,一般位于叶脉、苞叶及花苞外侧^[5]。植物花外蜜的主要成分是葡萄糖、果糖、蔗糖、各种氨基酸、少量脂肪酸、酶及磷脂等,所以常被一些天敌昆虫如蚂蚁、寄生蜂、捕食性螨类等用作食物,从而吸引它们保护植物免受害虫危害^[3,6-7]。在利马豆植物 *Phaseolus lunatus* 中,花外蜜与植物释放挥发性化合物的间接防御机制相比,花外蜜的诱导分泌在吸引害虫天敌方面发挥着更加重要的作用^[8]。

目前植物花外蜜与昆虫的关系的研究主要集中在适蚁植物、豆科植物和一些木本植物^[9](桃树 *Prunus persica* (L.)、血桐 *Macaranga tanarius* (L.) 等)中,已有研究表明花外蜜的移除、机械伤害、植食性昆虫的取食以及茉莉酸、植物挥发物可以诱导植物花外蜜分泌量的增加^[3,10]。棉花是世界上主要农作物之一,也是一种重要的花外蜜腺植物^[11],在生长过程中会受到多种害虫的危害。Wäckers 等研究表明,棉花叶片花外蜜能被棉花夜蛾 *Spodoptera littoralis* (Boisduval) 取食所诱导,而苞叶花外蜜不能被诱导^[11]。棉花夜蛾和机械伤对棉花叶片花外蜜有近乎同等的诱导效应^[12]。顺式-茉莉酮是一种伤害诱导的植物挥发性气体化合物,由茉莉酸或十八烷代谢途径合成,能诱导利马豆释放更多的单萜类化合物和防御基因的表达,同时对忽布疣额蚜 *Phorodon humuli* 有忌避作用,对七星瓢虫 *Coccinella septempunctata* 和蚜茧蜂 *Aphidius ervi* 有吸引作用,是植物防御反应中一种重要的植物和昆虫信息素^[13-14]。顺式-茉莉酮对于植物花外蜜分泌影响的研究国内外尚未见报道。为了明确植食性昆虫、机械伤及其机械伤诱导挥发物在棉花花外蜜诱导中的作用,本文研究咀嚼式口器昆虫棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner) 取食、刺吸式口器昆虫棉蚜 *Aphis gossypii* Glover 取食、不同机械伤及机械伤涂抹棉铃虫反吐物等处理以及顺式-茉莉酮、机械伤害诱导挥发性物对棉花叶片花外蜜分泌量的影响。该研究对于了解棉花间接防御机制、探索新的环境友好型的害虫治理途径具有重要的理论意义。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 供试虫源

棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 由河北农业大学昆虫生理毒理实验室饲养,棉蚜 *Aphis gossypii* 采自河北农业大学标本园棉田。

1.1.2 供试植物

棉花 *Gossypium herbaceum* (L.) 品种为冀棉 169,由河北农业大学农学院棉花育种研究室提供。

1.2 实验方法:

1.2.1 供试昆虫的饲养

棉铃虫饲养温度 26℃,相对湿度 70%,光照 L:D 为 14:10 h。2 龄前饲喂人工饲料,2 龄时开始饲喂棉花叶。选择发育一致的 3 龄幼虫供试。试验前饥饿处理 24 h。

1.2.2 供试棉花的种植

将棉花种子催芽后播种在沙子中,在温度 26℃,相对湿度 80%,光照 L:D 为 16:8 h 的人工气候箱内育苗,子叶完全展开后转移到装有蛭石的直径 8 cm 的塑料花盆内,每盆 1 株。移苗当天每株浇 100 mL 1/8 浓度日本园式通用配方营养液^[15],以后每隔 1 天每株棉花浇 100 mL 1/4 浓度营养液,在温度 18—30℃,相对湿度 60—80% 的日光温室内培养。3—4 叶期棉花真叶开始分泌主脉花外蜜,选择长势一致、无病虫害及机械损伤的棉花供试。

1.2.3 棉铃虫反吐物的收集

3 龄棉铃虫幼虫饲喂棉花叶片 3 d 后,用镊子轻压棉铃虫头部,用毛细管收集分泌物。放入 EP 管中 -80℃ 保存备用^[12]。

1.2.4 不同伤害处理对棉花叶片花外蜜分泌量的影响

试验前一天挑选长势一致的棉花(3—4 片真叶,1—3 片真叶主脉花外蜜明显)分成 6 组,每组 15 株,将已经分泌的花外蜜清除(滤纸吸除),每隔 1 天每株浇 100 mL 1/4 浓度日本园式通用配方营养液。试验当天处理前(0 d)上午 8:00—10:00 时收集每片叶片花外蜜进行测定,选择第 2 片真叶(以叶片长出的先后顺序排列)作为被处理叶片。每处理 5 株棉花,重复 3 次。处理后罩防虫网,每天 8:00—10:00 时收集测定每片叶片的花外蜜。由于每片叶片花外蜜量较少,不能用毛细管吸取定量,因此测定每片叶的花外蜜重量(滤纸吸取测量吸取前后重量差量)^[9,16],试验进行到第七天(6 d)。

棉铃虫伤害处理:处理叶片上释放 1 头棉铃虫,处理后夹上固定取食笼^[12],覆盖约 1/4 面积的叶片,露出叶片主脉花外蜜腺。待棉铃虫取食完笼内叶片后移走棉铃虫及取食笼(约 24 h)。

剪刀机械伤+棉铃虫反吐物处理:剪掉处理叶片的 1/4,伤害的位置和面积与棉铃虫伤害处理相当,移液器取 10 μL 棉铃虫反吐物(约等于一头棉铃虫反吐量)均匀涂布于伤口。

剪刀机械伤处理:剪掉处理叶片的 1/4,移液器取 10 μL 蒸馏水均匀涂布于伤口。

蚜虫伤害处理:处理叶片上接入 100 头棉蚜,处理叶夹固定取食笼,露出主脉花外蜜腺,24 h 后将蚜虫清除。

针刺机械伤处理:用昆虫解剖针刺穿处理叶片 50 次,使伤口(直径 1 mm)均匀遍布整片叶子。

无伤害处理:选用健康无外伤的棉花苗不做任何处理。

1.2.5 挥发性气体处理对棉花叶片花外蜜分泌量的影响

试验前一天挑选长势一致的棉花(5—6 片真叶,1—5 片真叶主脉花外蜜明显)分成 3 组,每组 10 株,将已经分泌的花外蜜清除。试验前(0 d)8:00—10:00 时收集测定花外蜜后进行处理,每处理 2 株棉花,重复 5 次。处理后放在 15.4 L 圆柱形密闭玻璃容器内。将玻璃容器放到温度 25℃,湿度 60%,光照 L:D 为 16:8 h

的人工气候箱内,每隔 1 天每株棉花浇 100 mL 1/4 浓度日本园式通用配方营养液。每天 8:00—10:00 时收集测定每片叶的花外蜜重量(滤纸吸取测量吸取前后重量差量),试验进行到第七天(6 d)。

顺式-茉莉酮($\geq 85\%$, Aldrich)处理:参考 Birkett 等^[13]在利马豆上的使用浓度,以 0.05 mg/L 的比例称量一定量的顺式-茉莉酮滴在滤纸上,放入 15.4 L 圆柱形密闭玻璃容器内,放入 2 株要处理的棉花暴露在顺式茉莉酮的挥发物中。

机械伤挥发物处理:摘取 2 株棉花的全部叶片剪碎,放入 15.4 L 圆柱形密闭玻璃容器内,放入 2 株要处理的棉花暴露在机械伤挥发物中。

对照处理:称取与顺式-茉莉酮等量的蒸馏水滴在滤纸上,放入 15.4 L 圆柱形密闭玻璃容器内,放入 2 株要处理的棉花。

1.3 数据处理与分析

以时间为组内因子,以处理或处理和叶片位置为组间因子,采用重复测量的方差分析对叶片花外蜜分泌量数据进行分析并进行组内和组间数据的两两比较(SPSS 15.0, $P=0.05$)。

2 结果与分析

2.1 不同伤害处理对棉花叶片花外蜜分泌量的影响

2.1.1 不同处理棉花被处理叶片花外蜜的分泌量

对重复测量数据在各个时间点的关系进行球形检验, $P=0.003$,表明 0—6 d 7 次重复测量的棉花被处理叶(第 2 片真叶)花外蜜分泌量数据存在相关性。组内因子检验结果表明,不同时间第 2 片真叶花外蜜分泌量存在显著差异($F=300.669$, $P<0.001$)。组间因子检验结果表明,不同处理间第 2 片真叶花外蜜分泌量存在显著差异($F=40.179$, $P<0.001$)。组内不同时间花外蜜分泌量两两比较结果表明,处理 1—3 d 与处理前(0 d)相比第 2 片真叶花外蜜分泌量显著提高。每处理在 7 个时间点上的两两比较表明,棉铃虫伤害、剪刀机械伤+棉铃虫反吐物、剪刀机械伤处理 1—3 d 第 2 片真叶花外蜜分泌量与处理前(0 d)相比均有显著提高(表 1)。蚜虫伤害 1—2 d 第 2 片真叶花外蜜分泌量与处理前相比显著提高,针刺机械伤处理 1 d 第 2 片真叶花外蜜分泌量与处理前相比显著提高。以后不同处理第 2 片真叶花外蜜分泌量均逐渐恢复到处理前的水平。

表 1 不同处理棉花第 2 片真叶花外蜜的分泌量

Table 1 Extrafloral nectar secretion of the second true leaves under different treatments

处理 Treatment	0 d	1 d *	2 d *	3 d *	4 d	5 d	6 d
棉铃虫伤害# Damage of cotton bollworms	1.47±0.14	11.78±0.40 *	10.67±0.33 *	5.28±0.49 *	2.56±0.44	1.53±0.24	1.22±0.11
剪刀机械伤+棉铃虫反吐物# Damage of siccator+ regurgitate of cotton bollworm	1.61±0.06	8.67±0.88 *	8.50±1.04 *	4.39±0.53 *	1.53±0.41	1.47±0.24	1.81±0.10
剪刀机械伤# Damage of siccator	1.50±0.10	11.64±1.05 *	12.19±0.56 *	5.36±0.69 *	1.36±0.22	1.36±0.22	1.58±0.30
蚜虫伤害 Damage of cotton aphids	0.83±0.25	4.06±0.49 *	2.53±0.24 *	1.56±0.29	0.64±0.22	0.89±0.11	0.72±0.31
针刺机械伤 Acupuncture damage	0.83±0.25	4.36±0.49 *	3.28±0.86	1.44±0.22	1.06±0.28	0.89±0.11	0.97±0.17
无伤害 No damage	1.72±0.15	1.81±0.29	1.78±0.11	1.61±0.20	1.83±0.42	2.03±0.17	1.58±0.13

表中数据为平均值±标准误,单位为 0.1 mg/d, # 表示与无伤害处理相比花外蜜分泌量差异显著(LSD, $P<0.05$),第一行时间后 * 表示与处理前(0 d)花外蜜分泌量差异显著(LSD, $P<0.05$),数值后 * 表示在同一处理内此时间点与处理前(0 d)花外蜜分泌量差异显著(LSD, $P<0.05$)

组间不同处理两两比较结果表明,棉铃虫伤害、剪刀机械伤+棉铃虫反吐物、剪刀机械伤处理第 2 片真叶花外蜜分泌量和无伤害处理相比显著提高。棉蚜伤害和针刺机械伤处理第片真叶花外蜜分泌量与无伤害处理之间差异不显著。

2.1.2 不同处理对棉花被处理叶片和非处理叶片花外蜜分泌量的影响

不同处理对棉花第 1 片和第 3 片真叶 0—6 d 花外蜜分泌量见表 2。由于不同处理对棉花第 1—3 片真叶

花外蜜分泌量的变化主要发生在 0—3 d, 因此仅对不同处理 1—3 片真叶 0—3 d 花外蜜分泌量进行了以时间为组内因子, 处理和叶片位置为组间因子的重复测量的方差分析。组内因子检验结果表明, 不同时间第 1—3 片真叶花外蜜分泌量存在显著差异 ($F=55.498, P<0.001$)。组间因子检验结果表明, 不同处理间第 1—3 片真叶花外蜜分泌量存在显著差异 ($F=3.641, P=0.007$), 不同叶片位置的花外蜜分泌量也存在显著差异 ($F=46.186, P<0.001$)。组内不同时间花外蜜分泌量两两比较结果表明, 处理 1—3 d 与处理前 (0 d) 相比第 1—3 片真叶花外蜜分泌量显著提高。组间不同处理两两比较结果表明, 棉铃虫伤害、剪刀机械伤+棉铃虫反吐物、剪刀机械伤处理第 1—3 片真叶花外蜜分泌量和无伤害处理相比显著提高。组间不同叶位两两比较结果表明, 不同处理对被处理叶 (第 2 片真叶) 花外蜜的诱导效应显著高于非处理叶 (第 1 片和 3 片真叶), 对第 3 片真叶花外蜜的诱导效应显著高于第 2 片真叶。

表 2 不同处理棉花第 1、3 片真叶花外蜜的分泌量

Table 2 Extrafloral nectar secretion of the first and third true leaves under different treatments

处理 Treatment	0 d	1 d [*]	2 d [*]	3 d [*]	4 d	5 d	6 d	
棉铃虫伤害#	1	0.11±0.11	0.22±0.11	0.27±0.15	0.31±0.03	0.11±0.11	0.19±0.11	0.33±0.19
Damage of cotton bollworms	3	0.83±0.17	2.17±0.42	2.08±0.39	0.97±0.32	0.75±0.25	0.61±0.06	0.72±0.15
刀机械伤+棉铃虫反吐物#	1	0.11±0.11	0.39±0.20	0.00±0.00	0.28±0.15	0.08±0.08	0.39±0.06	0.08±0.08
Damage of siccator + regurgitate of cotton bollworm	3	1.11±0.29	2.14±0.43	1.92±0.08	0.97±0.17	0.89±0.11	0.78±0.22	0.64±0.35
剪刀机械伤#	1	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Damage of siccator	3	0.94±0.24	1.72±0.49	1.31±0.19	1.11±0.11	0.81±0.10	0.97±0.17	0.89±0.11
蚜虫伤害	1	0.56±0.29	0.97±0.36	0.56±0.29	0.44±0.29	0.22±0.11	0.33±0.19	0.22±0.11
Damage of cotton aphids	3	1.00±0.19	1.91±0.21	0.92±0.21	0.53±0.24	0.22±0.11	0.28±0.15	0.11±0.11
针刺机械伤	1	0.56±0.29	0.42±0.13	0.11±0.11	0.44±0.29	0.33±0.19	0.22±0.11	0.22±0.22
Acupuncture damage	3	1.03±0.17	1.33±0.19	0.89±0.29	0.81±0.10	0.67±0.33	0.72±0.15	0.72±0.15
无伤害	1	0.19±0.10	0.31±0.19	0.00±0.00	0.42±0.13	0.39±0.20	0.31±0.03	0.19±0.10
No damage	3	1.31±0.03	0.94±0.24	0.69±0.03	1.06±0.34 a	1.14±0.19	0.72±0.15	0.83±0.42

表中数据为平均值±标准误, 单位为 0.1 mg/d, # 表示与无伤害处理相比花外蜜分泌量差异显著 ($LSD, P<0.05$), 第一行时间后 * 表示与处理前 (0 d) 花外蜜分泌量差异显著 ($LSD, P<0.05$)

2.2 顺式-茉莉酮和机械伤挥发物处理对棉花不同叶片花外蜜分泌量的影响

顺式-茉莉酮和机械伤挥发性气体处理棉花 0—6 d 第 1—5 片真叶的花外蜜分泌量见表 3。顺式-茉莉酮处理棉花 3 d 后植株萎蔫, 因此, 仅比较了不同处理 0—2 d 第 1—5 片真叶的花外蜜分泌情况。组内因子检验结果表明, 不同时间第 1—5 片真叶花外蜜分泌量存在显著差异 ($F=22.881, P<0.001$)。每处理在 0—2 d 3 个时间点上的两两比较表明, 顺式-茉莉酮和机械伤挥发物处理 1 d 第 4—5 片真叶花外蜜分泌量与处理 0 d 相比有明显增长。组间因子检验结果表明, 不同处理间第 1—5 片真叶花外蜜分泌量存在显著差异 ($F=5.389, P=0.007$), 不同叶片位置的花外蜜分泌量也存在显著差异 ($F=6.913, P<0.001$)。组间不同处理两两比较结果表明, 顺式-茉莉酮处理 0—2 d 第 1—5 片真叶花外蜜分泌量和对对照相比显著提高。组间不同叶位两两比较结果表明, 不同处理棉花第 1—3 片真叶均没有明显的花外蜜分泌, 而第 4—5 片真叶花外蜜分泌量均呈现先上升再下降的趋势, 并且叶位越高, 花外蜜分泌诱导效应越明显。

CJT (Cis-jasmone treatment) 表示顺式-茉莉酮处理, MIV (Mechanical damage induced volatile treatment) 表示机械伤诱导挥发物处理, CK (Control) 表示对照。顺式-茉莉酮处理的棉花 3 d 后死亡。表中叶片位置后 # 表示与其它叶片花外蜜分泌量差异显著 ($LSD, P<0.05$), 数值后 * 表示在同一处理内此时间点与处理前 (0 d) 花外蜜分泌量差异显著 ($LSD, P<0.05$)

表 3 不同挥发物处理棉花第 1—5 片真叶花外蜜的分泌量

Table 3 Extrafloral nectar secretion of the first to fifth true leaf under different volatiles treatments								
叶片位置 Leaf number	处理 Treatment	0 d	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d
1	CJT	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	—	—	—	—
	MIV	0.00±0.00	0.00±0.00	0.20±0.20	0.20±0.20	0.10±0.10	0.30±0.20	0.00±0.00
	CK	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
2	CJT	0.00±0.00	0.60±0.40	0.00±0.00	—	—	—	—
	MIV	0.10±0.10	0.70±0.44	0.40±0.29	0.00±0.00	0.20±0.20	0.20±0.12	0.10±0.10
	CK	0.00±0.00	0.00±0.00	0.10±0.10	0.10±0.10	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
3	CJT	0.20±0.20	0.40±0.40	0.10±0.10	—	—	—	—
	MIV	0.40±0.24	1.20±0.85	0.20±0.20	0.00±0.00	0.00±0.00	0.10±0.10	0.20±0.12
	CK	0.20±0.20	0.60±0.48	0.30±0.30	0.30±0.20	0.00±0.00	0.30±0.20	0.00±0.00
4#	CJT	0.30±0.20	2.40±1.02 *	0.70±0.12	—	—	—	—
	MIV	0.40±0.29	1.30±0.66 *	0.10±0.10	0.00±0.00	0.20±0.12	0.00±0.00	0.10±0.10
	CK	0.30±0.30	0.40±0.40	0.10±0.10	0.20±0.20	0.00±0.00	0.10±0.10	0.00±0.00
5#	CJT	0.70±0.34	7.60±1.10 *	0.60±0.10	—	—	—	—
	MIV	0.20±0.12	1.20±0.51 *	0.10±0.10	0.10±0.10	0.40±0.19	0.20±0.12	0.20±0.12
	CK	0.50±0.27	0.60±0.60	0.40±0.10	0.50±0.22	0.10±0.10	0.30±0.30	0.00±0.00

3 讨论

3.1 不同伤害处理对棉花叶片花外蜜分泌量的诱导差异

棉铃虫伤害、剪刀机械伤+棉铃虫反吐物、剪刀机械伤、蚜虫伤害和针刺机械伤处理棉花 1 d, 均能增加被处理叶(第 2 片真叶)花外蜜的分泌量, 其中以棉铃虫伤害、剪刀机械伤+棉铃虫反吐物和剪刀机械伤处理的诱导效应较为明显。说明棉花叶片花外蜜的诱导与植物受伤害的类型和程度有关, 不同口器类型的昆虫对棉花花外蜜的诱导量不同, 咀嚼式口器昆虫棉铃虫的伤害对花外蜜的诱导大于刺吸式口器昆虫棉蚜。在乌桕树 *Triadica sebifera* 中咀嚼式口器昆虫取食强烈诱导了花外蜜的分泌, 而刺吸式口器昆虫介壳虫没能诱导花外蜜分泌增加^[17]。在十字花科植物芥菜 *Brassica juncea* 中, 咀嚼式口器昆虫和刺吸式口器昆虫的持续取食都能显著诱导花外蜜分泌的增加, 但诱导强度和诱导增量不同, 咀嚼式口器昆虫诱导增量高峰出现在被害后 1 d, 桃蚜取食诱导增量高峰出现在持续被害后 2 d^[16]。本试验不同处理对棉花叶片花外蜜的诱导效应在处理 1-2 d 后表现最强, 随处理后时间间隔的延长, 诱导效应逐渐丧失, 推测与伤害诱导因子的去除有关。机械伤+棉铃虫反吐物处理与剪刀机械伤处理花外蜜分泌量无明显差异, 说明冀棉 169 棉花叶片花外蜜的诱导是棉花对组织损伤的一般反应。

不同处理对棉花第 3 片真叶花外蜜的诱导效应与被处理叶相似, 但诱导增量没有被处理叶高。说明伤害对棉花花外蜜的诱导在整株植物中存在系统性。这种现象同样存在于利马豆植物中, 害虫的取食能诱导被害叶片和植株幼嫩叶片花外蜜分泌量增加, 同位素标记试验表明花外蜜在幼嫩叶片分泌速率最高^[18]。植物最适防御假说(Optimal defense hypothesis, ODH) 认为植物防御特征的空间分布更倾向于植物有价值 and 脆弱的部分。幼嫩的植物叶片通常缺乏对抗昆虫取食的物理和化学性状, 在植物中是营养比较丰富的部位, 往往比老叶片更容易受到植食性昆虫的危害, 伤害能诱导幼嫩叶片花外蜜分泌的增加从而吸引害虫天敌保护植物的幼嫩部分。因此, 植物花外蜜的间接防御符合植物最适防御假说^[18]。昆虫行为学分析表明, 天敌昆虫白跗节狡臭蚁 *Technomyrmex albipes* 对适蚁植物 *Humboldtia brunonis* 叶片花外蜜的取食选择性高于花芽花外蜜^[19], 对植物幼嫩叶片的保护程度高于对花芽的保护^[20]。

在蚕豆 *Vicia faba* 的一些品种中, 害虫取食虽然没能诱导单个蜜腺花外蜜分泌增加, 却能诱导花外蜜腺数

量的显著增加^[21]。在杨树中,一个品种叶片花外蜜能被机械伤、咀嚼式口器昆虫取食和茉莉酸所诱导,而另一个品种叶片花外蜜只能被刺吸式口器昆虫介壳虫和蚜虫特异性地诱导^[22]。在本实验中,冀棉 169 棉花叶片主脉花外蜜的诱导没有发现昆虫特异性的激发子,而其它棉花品种中是否还存在只能被咀嚼式或刺吸式口器昆虫特异性诱导的花外蜜尚有待于进一步研究。

3.2 顺式-茉莉酮和机械伤诱导挥发物对棉花幼嫩叶片花外蜜的诱导作用

顺式-茉莉酮对棉花幼嫩叶片花外蜜有诱导效应,但诱导增量低,诱导持续时间短。处理 3 d 棉花植株枯萎死亡,分析原因可能是顺式-茉莉酮浓度过高,对棉花的生长产生了伤害。机械伤诱导挥发物处理对棉花植株幼嫩叶片花外蜜也有一定的诱导效应。本实验表明,顺式茉莉酮和机械伤诱导挥发物能诱导棉花幼嫩叶片花外蜜的分泌。前人研究表明健康利马豆植株暴露在植食性螨为害的利马豆释放的挥发性气体中^[11]、植食性螨为害的白菜 *Brassica oleracea* 释放的挥发性气体中^[23]和绿叶挥发物(3Z)3-己酸乙酯中^[24]都能诱导叶片花外蜜分泌的增加。因此,植物之间能通过挥发性的气体分子进行交流,利用临近同种或异种植物释放的挥发性信号物质提前做好防御准备。

本试验中咀嚼式口器害虫棉铃虫、刺吸式口器害虫棉蚜和剪刀机械伤诱导棉花叶片花外蜜分泌量增加,因此,田间害虫取食和整枝、打蔓等农事操作均可能增加棉花花外蜜的分泌。棉花花外蜜可以作为害虫天敌的补充食物,具有吸引并维持寄生蜂^[25]、草蛉^[26]以及其它捕食性天敌昆虫^[27]种群的作用,因此棉花能够通过花外蜜调控天敌昆虫控制植食性害虫。本研究首次揭示顺式-茉莉酮增加了棉花花外蜜的分泌,有研究表明顺式-茉莉酮对一些害虫及其天敌^[13]具有生物活性,因此是一种值得深入研究的信息物质。了解植物花外蜜的诱导因素及分泌规律对于研究植物间接防御机制以及利用花外蜜源植物提高生物防治效率提供了依据。

参考文献 (References):

- [1] 刘芳, 姜永根, 程家安. 虫害诱导的植物挥发物: 植物与植食性昆虫及其天敌相互作用的进化产物. 昆虫知识, 2003, 40(6): 481-486.
- [2] 王国昌, 孙晓玲, 董文霞, 蔡晓明, 陈宗懋. 虫害诱导挥发物的生态调控功能. 生态学报, 2010, 30(24): 7016-7028.
- [3] Heil M, Koch T, Hilpert A, Fiala B, Boland W, Linsenmair K E. Extrafloral nectar production of the ant-associated plant, *Macaranga tanarius*, is an induced, indirect, defensive response elicited by jasmonic acid. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2001, 98(3): 1083-1088.
- [4] Kost C, Heil M. Increased availability of extrafloral nectar reduces herbivory in Lima bean plants (*Phaseolus lunatus*, Fabaceae). Basic and Applied Ecology, 2005, 6(3): 237-248.
- [5] Heil M. Indirect defence via tritrophic interactions. New Phytologist, 2008, 178(1): 41-61.
- [6] 徐芳芳, 陈进. 本地种西番莲与外引种西番莲的花外蜜腺—蚂蚁—植食昆虫相互作用系统的比较. 云南植物研究, 2009, 31(6): 543-550.
- [7] 张霜, 张育新, 马克明. 保护性的蚂蚁—植物相互作用及其调节机制研究综述. 植物生态学报, 2010, 34(11): 1344-1353.
- [8] Kost C, Heil M. The defensive role of volatile emission and extrafloral nectar secretion for lima bean in nature. Journal of Chemical Ecology, 2008, 34(1): 2-13.
- [9] Heil M, Greiner S, Meimberg H, Krüger R, Noyer J L, Heubl G, Linsenmair K E, Boland W. Evolutionary change from induced to constitutive expression of an indirect plant resistance. Nature, 2004, 430(6996): 205-208.
- [10] Choh Y, Kugimiya S, Takabayashi J. Induced production of extrafloral nectar in intact lima bean plants in response to volatiles from spider mite-infested conspecific plants as a possible indirect defense against spider mites. Oecologia, 2006, 147(3): 455-460.
- [11] Wäckers F L, Bonifay C. How to be sweet? Extrafloral nectar allocation by *Gossypium hirsutum* fits optimal defense theory predictions. Ecology, 2004, 85(6): 1512-1518.
- [12] Wäckers F L, Wunderlin R. Induction of cotton extrafloral nectar production in response to herbivory does not require a herbivore-specific elicitor. Entomologia Experimentalis et Applicata, 1999, 91(1): 149-154.
- [13] Birkett M A, Campbell A M, Chamberlain K. New roles for cis-jasmone as an insect semiochemical and inplant defense. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2000, 97(16): 9329-9334.
- [14] Bruce T, Pickett J, Smart L. Cis-jasmone switches on plant defence against insects. The Royal Society of Chemistry, 2003, 14(3): 96-98.
- [15] 郭世荣. 无土栽培学. 北京: 中国农业出版社, 2003: 422-423.

- [16] Mathur V, Wagenaar R, Caissard J, Reddy A S, Vet L E M, Cortesero A, Van Dam N M. A novel indirect defence in Brassicaceae: Structure and function of extrafloral nectaries in *Brassica juncea*. *Plant, Cell & Environment*, 2013, 36(3): 528-541.
- [17] Carrillo J, Wang Y, Ding J Q, Siemann E. Induction of extrafloral nectar depends on herbivore type in invasive and native Chinese tallow seedlings. *Basic and Applied Ecology*, 2012, 13(5): 449-457.
- [18] Radhika V, Kost C, Bartram S, Heil M, Boland W. Testing the optimal defence hypothesis for two indirect defences: extrafloral nectar and volatile organic compounds. *Planta*, 2008, 228(3): 449-457.
- [19] Shenoy M, Radhika V, Satish S, Borges R M. Composition of extrafloral nectar influences interactions between the myrmecophyte *Humboldtia brunonis* and its ant associates. *Journal of Chemical Ecology*, 2012, 38(1): 88-99.
- [20] Shenoy M, Borges R M. Geographical variation in an ant-plant interaction correlates with domatia occupancy, local ant diversity, and interlopers. *Biological Journal of the Linnean Society*, 2010, 100(3): 538-551.
- [21] Mondor E B, Keiser C N, Pendarvis D E, Vaughn M N. Broad bean cultivars increase extrafloral nectary numbers, but not extrafloral nectar, in response to leaf damage. *Open Journal of Ecology*, 2013, 3(1): 59-65.
- [22] Escalante-Pérez M, Jaborsky M, Lautner S, Fromm J, Müller T, Dittrich M, Kunert M, Boland W, Hedrich R, Ache P. Poplar extrafloral nectaries: two types, two strategies of indirect defenses against herbivores. *Plant Physiology*, 2012, 159(3): 1176-1191.
- [23] Choh Y, Ozawa R, Takabayashi J. Do plants use airborne cues to recognize herbivores on their neighbours?. *Experimental and Applied Acarology*, 2013, 59(3): 263-273.
- [24] Kost C, Heil M. Herbivore-induced plant volatiles induce an indirect defence in neighbouring plants. *Journal of Ecology*, 2006, 94(3): 619-628.
- [25] Röse U S R, Lewis J, Tumlinson J H. Extrafloral nectar from cotton (*Gossypium hirsutum*) as a food source for parasitic wasps. *Functional Ecology*, 2006, 20(1): 67-74.
- [26] Limburg D D, Rosenheim J A. Extrafloral nectar consumption and its influence on survival and development of an omnivorous predator, larval *Chrysoperla plorabunda* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environmental Entomology*, 2001, 30(3): 595-604.
- [27] Van Rijn P C J, Tanigoshi L K. The contribution of extrafloral nectar to survival and reproduction of the predatory mite *Iphiseius degenerans* on *Ricinus communis*. *Experimental and Applied Acarology*, 1999, 23(4): 281-296.