

假眼小绿叶蝉取食诱导茶梢挥发物组分分析

卢绍辉, 袁国军, 梅象信
(河南省林业科学研究院, 河南 郑州 450008)

摘要: 采用 SDE 法, 分离提取了假眼小绿叶蝉取食诱导和正常茶梢挥发物, 并应用气质联用仪 (GC-MS) 进行分析和比较, 探讨假眼小绿叶蝉取食诱导茶树间接抗性的机制。结果表明, 假眼小绿叶蝉的危害诱导反式- β -罗勒烯、正辛醇、芳樟醇、(E)- β -法尼烯、水杨酸甲酯、苯甲醛和吲哚等对天敌具有引诱活性的互利素含量上升。

关键词: 假眼小绿叶蝉; 茶树; 挥发物; 间接抗性

中图分类号: S571.1 S435.711 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2009)11-0087-03

Volatiles Components on Tea Shoot Induced by Tea Green Leafhoppers

LU Shao-hui, YUAN Guo-jun, MEI Xiang-xin
(Henan Academy of Forestry, Zhengzhou 450008 China)

Abstract: Tea shoots volatiles were collected using a simultaneous distillation and solvent extraction (SDE). The volatiles emitted from tea green leafhopper-infested plants (infested for 24h) and intact plants were collected; The volatiles were analyzed with a GC-MS. We examined the difference of tea shoots volatiles from intact and infested by tea green leafhoppers. The mechanism of indirect resistance of tea plant infested by tea green leafhoppers was discussed. Tea green leafhopper infestation significantly enhanced the release of volatile synomone, i. e. (E)-3, 7-Dimethyl-1, 3, 6-octatriene, Octanol, 1, 6-Octadien-3-ol, 3, 7-dimethyl, α Farnesene, Methyl salicylate, Benzaldehyde, Indole and so on.

Key words: Tea green leafhopper; Tea plant; Volatiles; Indirect resistance

植物挥发物在害虫及其天敌的生境定位中发挥着重要作用。害虫取食危害激发寄主植物的防御反应, 植物挥发物组分发生改变, 对天敌有吸引作用的互利素大量释放。如玉米被甜菜夜蛾危害后释放的萜类和吲哚等挥发物对小茧蜂 (*Cotesia marginiventris* Cresson) 有明显的诱集作用^[1]。经茶蚜危害后的茶梢挥发物中苯甲醛和反-2-己烯醛的含量明显增加, 而苯甲醇的含量减少。茶园中异色瓢虫对蚜害茶梢挥发物、苯甲醛和反-2-己烯醛的趋向率与对 CK 趋向率之间的差异达到显著或极显著水平, 对青叶醇、芳樟醇、2-戊烯-1-醇、1-戊烯-3-醇和

水杨酸甲酯也有较强的趋性^[2]。

假眼小绿叶蝉 (*Empoasca vitis*) 是我国茶园主要害虫之一, 成、若虫刺吸茶树嫩梢嫩叶危害, 严重影响茶叶的产量和品质。赵冬香等^[3]发现, 假眼小绿叶蝉取食后茶树挥发物对茶园中天敌白斑猎蛛 (*Evarcha albaria*) 具有明显的诱集作用。鉴此, 对假眼小绿叶蝉取食诱导茶树挥发物和正常茶树挥发物进行了提取和分析鉴定, 分析茶树挥发物组分的变化, 明确假眼小绿叶蝉诱导茶树间接抗性的机制, 为茶树抗虫育种和人工组配信息素防治害虫提供理论和实践依据。

收稿日期: 2009-08-20

作者简介: 卢绍辉 (1978-), 男, 河南禹州人, 助理研究员, 硕士, 主要从事林木病虫害研究工作。

1 材料和方法

1.1 样品处理

试验用假眼小绿叶蝉捕获于信阳市平桥区茶园中。供试的盆栽茶苗品种为福云 6, 高约 20 cm, 将 20 株茶苗放入 1 个大的养虫笼中, 将田间捕获的约 3 000 头假眼小绿叶蝉放入养虫笼内, 以未被叶蝉危害的正常茶梢作为对照, 24 h 后摘取叶蝉危害和对照茶梢 150 g 用于挥发物提取。

1.2 仪器设备

Soxhlet 提取器; 电热恒温水浴锅; 全玻璃重蒸设备; 气质联用仪(GC-MS); 微量进样器。

1.3 试剂

乙醚(AR 级), 使用前重蒸 3 次; 葵酸乙酯(色谱纯, Sigma 公司), 用作内标; 重铬酸钾洗液, 用于玻璃仪器的清洗。

1.4 挥发物提取

将受叶蝉危害的茶梢和对照茶梢各 150 g, 分别加入 2 000 mL 圆底烧瓶中, 加入煮沸的蒸馏水 1 000 mL, 再加入 1 mL 50 g/mL 葵酸乙酯作为内标, 装置中另一个 200 mL 的圆底烧瓶中加入 50 mL 重蒸乙醚萃取。电热套加热, 保持微沸, 提取 20 min, 乙醚萃取液中加入适量无水硫酸钠, 置于冰箱中冷冻过夜, 过滤后将滤液用纯 N₂ 吹缩至 20 μ L 左右。转入 1 mL 玻璃瓶中密封。

1.5 GC-MS 操作及分析条件

(1) 取 1 μ L 提取液加入 GC-MS 进样孔进行分析。

(2) GC-MS 型号为: HP 5890A 气谱联用 HP 5972MSAD 质谱仪。色谱柱: 50 m \times 0.2 mm id PEG-20M 毛细管柱; 进样口温度: 200 $^{\circ}$ C; GC-MS 接

口温度 250 $^{\circ}$ C; 程序升温: 柱温 50 ~ 190 $^{\circ}$ C, 前 30 min, 1 $^{\circ}$ C/min, 之后 3 $^{\circ}$ C/min, 190 $^{\circ}$ C 保持 5 min; EI 离子源, 电离能 70 eV。载气: 99.999% 氦气, 载气量: 0.625 mL/min。

由化学工作站联机检索对样品中化合物进行定性, 并参照同样条件下标准化合物在 GC-MS 上的保留时间。根据离子流色谱图中的组分离子流质谱峰面积与内标质谱峰面积的比值对组分进行定量。

2 结果与分析

茶梢挥发物主要由碳氢化合物、脂肪醇、萜烯类、醛类、脂类以及杂环类化合物组成。不同处理茶树新梢挥发物的组分和含量均存在差异(表 1)。正常茶梢挥发物共检测出 22 种组分, 叶蝉取食后茶梢挥发物检测出 26 种组分。顺-2-戊烯-1-醇、顺-3-己烯-1-醇、反-环氧芳樟醇、香叶醇和 3, 7, 11-三甲基-1, 6, 10-十二烷三烯-3-醇等帖烯醇类化合物在叶蝉诱导和正常茶梢挥发物中均有较高含量, 尤其是顺-环氧芳樟醇和香叶醇等单帖烯类化合物。可见, 这些帖烯醇类是茶树新梢气味的主要成分(表 1)。

与正常茶梢相比, 叶蝉取食后茶梢挥发物组分发生了明显的变化。庚醛、3, 5-二甲甲基-1, 6-辛二烯、正辛醇、橙花醇、苯甲醇、苯甲醛和吲哚等 7 种化合物产生, 乙酸乙酯、反式 β -罗勒烯、反-环氧芳樟醇、顺-丁酸-3-己烯酯、石竹烯、水杨酸甲酯、苯甲酸乙酯等 7 种化合物含量上升, 其中以水杨酸甲酯、苯甲醛和吲哚的变化幅度较大, 相对含量分别达到 8.006 \pm 2.16、4.043 \pm 0.83 和 3.523 \pm 0.62; 正己醛、反-2-己烯醛和 2-癸烯醛 3 种组分消失, 壬醛、顺-2-戊烯-1-醇、顺-环氧芳樟醇、石竹烯、香叶醇等 5 种化合物相对含量降低(表 1)。

表 1 假眼小绿叶蝉取食 24 h 后茶树挥发物组分和相对含量

序号	保留时间 (min)	化合物	相对含量	
			对照	叶蝉危害
1	6.412	乙酸乙酯	0.632 \pm 0.08b	1.317 \pm 0.14a
2	9.965	正己醛	0.214 \pm 0.03a	—
3	12.235	β -月桂烯-myrcene	—	—
4	12.839	庚醛	—	0.116 \pm 0.02a
5	13.972	反-2-己烯醛	1.565 \pm 0.31a	—
6	14.676	反式 β -罗勒烯	0.326 \pm 0.02b	1.735 \pm 0.38a
7	16.382	3, 5-二甲甲基-1, 6-辛二烯	—	1.13 \pm 0.26a
8	16.757	乙酸-4-己烯酯	0.108 \pm 0.04a	0.341 \pm 0.09a
9	17.646	顺-2-戊烯-1-醇	0.682 \pm 0.11a	0.362 \pm 0.06a
10	19.486	壬醛	1.011 \pm 0.19a	0.106 \pm 0.01b
11	20.024	顺-3-己烯-1-醇	1.212 \pm 0.13ab	1.824 \pm 0.42a
12	20.878	反-环氧芳樟醇	0.622 \pm 0.07a	0.958 \pm 0.10a
13	21.076	乙酸	0.584 \pm 0.05b	2.236 \pm 0.46a

续表 1 假眼小绿叶蝉取食 24h 后茶树挥发物组分和相对含量

序号	保留时间 (min)	化合物	相对含量	
			对照	叶蝉危害
14	21.814	顺-环氧芳樟醇	2.25±0.53b	1.902±0.38b
15	23.957	芳樟醇	0.408±0.06c	1.896±0.41b
16	25.507	正辛醇	—	1.218±0.15a
17	25.857	石竹烯	0.247±0.03b	0.835±0.11a
18	26.707	癸酸乙酯	1(内标)	1(内标)
19	27.194	2-十三(碳)烯醛	0.433±0.02b	1.311±0.18a
20	27.278	2-癸烯醛	0.67±0.04a	—
21	27.304	顺-丁酸-3-己烯酯	0.858±0.09b	2.229±0.24a
22	28.33	橙花醇	—	0.712±0.10a
23	29.08	反-2,5-二甲基-1,6-辛二烯醛	1.185±0.28a	1.867±0.33a
24	30.088	(E)-β-法尼烯	0.521±0.05b	1.948±0.17a
25	31.069	水杨酸甲酯	0.892±0.04c	8.006±2.16a
26	31.941	苯甲酸乙酯	0.623±0.03b	1.028±0.06ab
27	33.473	香叶醇	4.289±0.68a	3.115±0.94a
28	34.307	苯甲醇	—	1.362±0.21a
29	35.503	苯甲醛	—	4.043±0.83a
30	37.481	3,7,11-三甲基-1,6,10-十二烷三烯-3-醇	2.316±0.14a	2.803±0.37a
31	40.171	吲哚	—	3.523±0.62a

注: 相对含量为某一化合物的峰面积占内标峰面积的百分比(平均数±标准误差); 同行不同字母表示差异显著(P< 0.05)(Duncan's 新复极差法)

3 讨论

植物—植食性昆虫—昆虫天敌间存在着密切的化学联系。植物挥发物的组分和含量可以根据植食性昆虫的种类以及危害程度的不同而发生变化,昆虫天敌则可以根据植物挥发物的变化对植食性昆虫进行定位^[4]。

假眼小绿叶蝉取食后,茶梢挥发物中新产生有 7 种化合物,5 种化合物含量上升。研究表明,反式-β-罗勒烯、正辛醇、芳樟醇、(E)-β-法尼烯、水杨酸甲酯、苯甲醛和吲哚等都对天敌都具有引诱活性^[5~9]。说明假眼小绿叶蝉的危害诱导茶树产生大量的互利素,使茶树间接抗性水平上升。植物在受到咀嚼式口器害虫取食或机械损伤后,绿叶挥发物会大量释放,但假眼小绿叶蝉取食后新产生或含量上升的 12 中化合物中,只有一种绿叶挥发物成分(顺-丁酸-3-己烯酯),表明叶蝉的刺吸式取食行为对寄主组织的破坏较小,与咀嚼式口器害虫相比在一定程度上减小了寄主植物的防御反应。与之类似,棉蚜和红蜘蛛危害棉株后,棉花释放的挥发物中只含有少量绿叶挥发物^[10]。

参考文献:

[1] Turlings T C J, Tumlinson J H, Lewis W J. Exploitation

of herbivore induced plant orders by host seeking parasitic wasps[J]. Science, 1990, 250: 1251—1253

[2] 韩宝瑜, 陈宗懋. 异色瓢虫 4 种成虫对茶和茶蚜气味行为反应[J]. 应用生态学报, 2000, 11(3): 413—416.

[3] 赵冬香, 陈宗懋, 程家安. 茶树—假眼小绿叶蝉—白斑猎蛛间化学通讯物的分离与活性鉴定[J]. 茶叶科学, 2002, 22(2): 109—114

[4] De Moraes C M, Lewis W J, Pare P W, *et al.* Herbivore-infested plants selectively attracts parasitoids[J]. Nature, 1998, 393: 570—573

[5] 韩宝瑜, 周成松. 茶梢和茶花信息物引诱有翅茶蚜效应的研究[J]. 茶叶科学, 2004, 24(4): 249—254

[6] De Greent P, Poland T M. Attraction of *Hylastes opacus* (Coleoptera: Scolytidae) to nonanal[J]. The Canadian Entomologist, 2003, 135: 309—311

[7] 薛巧英. 屏南县茶假眼小绿叶蝉的发生与防治[J]. 现代农业科技, 2008(18): 147

[8] 段连喜. 泾县茶园假眼小绿叶蝉发生特点及无公害治理技术[J]. 现代农业科技, 2007(18): 79, 81

[9] 万素香, 高九思, 仇宏昌, 等. 豫西地区苹果花果害虫发生种类与为害情况[J]. 河南农业科学, 2003(6): 31—34

[10] Qin Qiuju, Shi Xueyan, Liang Pei, *et al.* Induction of phenylalanine ammonialyase and lipoxygenase by artificial damage and aphid infestation in cotton seedling[J]. Progress in Natural Science, 2005, 15(4): 34—38