

斜纹夜蛾对番茄挥发物的诱导作用及其对萝卜幼苗生长的抑制作用

刘少群^{1,2} 谭志勇³ 徐 涛¹ 王建武^{1*}

(1. 华南农业大学热带亚热带生态研究所, 广州 510642; 2. 华南农业大学教学科研基地, 广州 510642; 3. 东莞市农业种子研究所, 东莞 523063)

摘要: 采用 Tenax-TA 吸附剂吸附法结合气相色谱和气质联用仪, 在不同处理的番茄中共分离鉴定了 15 种挥发性化合物。这些挥发物主要由绿叶性气味物质、萜烯类物质(包括单萜、倍半萜及其衍生物)和水杨酸甲酯等成分组成。并发现斜纹夜蛾危害与机械损伤对绿叶性气味物质具有相似的诱导作用, 而萜烯类物质和水杨酸甲酯等物质在斜纹夜蛾危害植株中的含量显著高于其在健康植株与机械损伤植株中的含量。斜纹夜蛾诱导植物释放的几种挥发物, 以及(*E*)-2-己烯-1-醇和茉莉酸甲酯对萝卜幼苗具有化感作用, 表现为对萝卜幼苗生长的抑制作用。其中绿叶性气味物质((*E*)-2-己烯醛, (*Z*)-3-己烯-1-醇, (*E*)-2-己烯-1-醇)和茉莉酸甲酯对萝卜幼苗生长的抑制作用较强, 其次为水杨酸甲酯, 而芳樟醇和子丁香烯两种萜类物质的抑制作用相对较小。同时证实这些挥发物的化感活性有明显的浓度效应。

关键词: 斜纹夜蛾; 番茄; 虫害诱导的挥发物; 化感作用

Allelopathic potential of tomato volatiles induced by *Spodoptera litura* feeding

LIU Shao-qun^{1,2} TAN Zhi-yong³ XU Tao¹ WANG Jian-wu^{1*}

(1. Institute of Tropical and Subtropical Ecology, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2. Teaching and Science Research Base, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 3. Institute of Agricultural Seeds, Dongguan 523063, Guangdong Province, China)

Abstract: Fifteen components of the headspace volatiles from tomato plants infested by herbivore *S. litura* were collected with Tenax-TA trap and identified with GC-MS. These volatiles are composed of green leaf volatiles, terpenoids (including monoterpenes, sesquiterpenes and their derivatives) and methyl salicylate (MeSA). Significant differences in volatile emissions were observed for plants with different treatments. Mechanically damaged plants and *S. litura* infested plants released the same amounts of green leaf volatiles, but plants infested by *S. litura* released much higher amounts of terpenoids and MeSA than those in undamaged plants and mechanically damaged plants. The allelopathic effects of five herbivore-induced plant volatiles, (*E*)-2-hexen-1-ol and methyl jasmonate on the seedling growth of radish were further investigated. The results showed that green leaf volatiles, (*E*)-2-hexenal, (*Z*)-3-hexen-1-ol, (*E*)-2-hexen-1-ol, MeSA and methyl jasmonic acid (MeJA) significantly inhibited the seedling growth of tested plants with a dose-dependent relationship. Linalool and β -caryophyllene had a slightly inhibitory effect on the seedling growth of radish in tested concentrations.

Key words: *Spodoptera litura*; tomato; herbivore-induced volatiles; allelopathy

基金项目: 国家自然科学基金(30270270, 30470335), 广东省自然科学基金团队项目(039254), 广东省自然科学基金(04020569)资助
作者简介: 刘少群, 男, 农艺师, 研究方向为蔬菜生理生态, email: scau@163.com

* 通讯作者(Author for correspondence), email: wangjw@scau.edu.cn; 收稿日期: 2005-06-07

植物在遭受植食性昆虫的危害时,能够释放一些在质和(或)量上与健康植株不同的挥发性次生代谢物质,这些挥发性的化学物质在调节植物、植食性昆虫及其天敌的相互关系中有重要作用^[1]。迄今为止,有关虫害诱导的植物挥发物及其生态学功能已在多种植物中得到了证实^[1~4]。然而,当虫害诱导的植物挥发物释放到环境中时,环境中的其它生物,包括植物和微生物都是这些挥发物的潜在接受者,因此,可能会对这些生物的生长发育产生影响^[5]。虫害诱导的植物挥发物可以作为虫害植物与健康植物之间的化学通讯物质,近年来已有较多报道^[5,6]。然而,虫害诱导的植物挥发物化学通讯作用的研究主要集中在对受害植物邻近的同种或异种植物化学防御作用的诱导方面,却忽视了自然界另一种普遍的化学通讯作用——植物化感作用的研究。所谓化感作用是指一种植物释放到环境中的次生代谢物质对周围同种或异种植物生长发育的抑制或促进作用^[7]。对植物化感作用最经典的例子就是蒿属(*Artemisia* L.)释放的挥发物对临近植物的抑制作用^[7]。有学者认为其主要活性物质为樟脑(camphor)与桉叶油(cineole)两种挥发性物质^[8]。最近有研究者认为茉莉酸甲酯在这种植物的化感活性中起关键作用^[9]。有趣的是,机械损伤可以诱导这几种挥发性物质的大量释放^[10]。此外,有文献报道,2-己烯醛、水杨酸甲酯、子丁香烯等挥发性物质有明显的化感活性^[11,12],而这些物质是斜纹夜蛾或其它害虫诱导的植物挥发物的主要成分。因此,作者推测,虫害损伤可能会诱导植物化感物质释放量的增加,从而可能增强其化感作用。

茉莉酸甲酯在虫害诱导的植物化学防御中起信号传导作用,该物质能够诱导植物产生并释放大量的化学防御物质,且可以诱导其靶标植物防御基因在转录水平上表达^[13]。同时,茉莉酸甲酯在虫害植物与健康植物间的化学通讯中起着信息传递的媒介作用^[10]。而茉莉酸甲酯同时又具有很强的化感作用^[9]。由此可见,植物化感作用、虫害诱导的植物化学防御与植物间的化学通讯之间存在着某种关系。

作者以斜纹夜蛾及其寄主植物番茄为对象,对虫害诱导的番茄挥发物进行分离鉴定,以探讨斜纹夜蛾诱导的植物挥发物的化感活性,并结合相关文献对植物化感作用与虫害诱导的植物防御机制间的相互关系进行讨论。

1 材料与方法

1.1 材料

番茄 *Lycopersicon esculentum* 品种选用夏红一号,种子由华南农业大学蔬菜教学实验场提供;番茄种子于室内催芽后,分期播于无虫网室内的塑料盆内(直径 10 cm × 15 cm),每盆 3 棵苗,21 ~ 25 天后进行处理。斜纹夜蛾为室内全人工饲料饲养,中山大学生物防治国家重点实验室提供,试验用 3 龄幼虫。化感活性测定选用对化感物质较为敏感的萝卜 *Raphanus sativus*,种子由华南农业大学提供。种子萌发后供试。

将盆栽植物放入养虫笼内(35 cm × 35 cm × 35 cm)进行如下处理:(1)机械损伤:在化学成分分析 24 h 前,用打孔器在植物的每个叶片上打两个 1 cm² 孔,并在提取挥发物时再打一个孔;(2)斜纹夜蛾危害:在每棵植物的叶片上接斜纹夜蛾 3 龄幼虫 4 头,危害 24 h,并在提取挥发物前清除斜纹夜蛾幼虫及其排泄物;以完整健康植株为对照。

1.2 植物挥发物的分离鉴定

将不同处理的番茄连同培养盆放入真空干燥器内(体积约 7 L),每盆 3 棵苗,用 parafilm 膜覆盖土壤,在真空干燥器与真空泵的抽气口之间接挥发物捕集管,捕集管由 Tenax-TA 填充的玻璃管(吸附剂 50 mg,60 ~ 80 目;玻璃管外径 6 mm、长 85 mm,美国 Supleco 公司)制作,用真空泵(0.06 ~ 0.08 mPa)抽气 10 min,密封静置 1 h,连续抽气,富集挥发物 2 h。用 500 μ L 的 CH₂Cl₂ 淋洗捕集管。各处理 3 次重复。

挥发物的分离和相对定量采用气相色谱(Varian, CP3800), Tenax-TA 捕集挥发物的进样量 3 μ L。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 μ m)。程序升温,起始温度 40 $^{\circ}$ C,以 8 $^{\circ}$ C · min⁻¹ 的速度升至 200 $^{\circ}$ C,然后以 20 $^{\circ}$ C · min⁻¹ 的速度升至 250 $^{\circ}$ C。根据峰面积对各挥发物的组分进行相对定量。挥发物的鉴定利用气相色谱-质谱联用仪(GC-MS, Voyager),色谱柱 SE-54(30 m × 0.25 mm ID,膜厚 0.25 μ m)。进样条件、升温程序同上。质谱条件:EI 离子源,电离能 70 eV。各成分通过核对谱库(Wiley)与标准化合物的质谱图,并根据标准化合物以及已报道的植物挥发物的保留时间对挥发物的各组分进行定性^[14,15]。

1.3 化合物及其来源

茉莉酸甲酯及斜纹夜蛾诱导的植物主要挥发物

(*E*)-2-己烯醛、(*E*)-2-己烯-1-醇、(*Z*)-3-己烯-1-醇、芳樟醇、 β -子丁香烯和水杨酸甲酯等购于美国 Sigma-Aldrich 公司。溶剂正己烷为市售分析纯,重蒸后备用。

1.4 化感活性的测定

在烧瓶(100 mL)底部垫两层湿润的滤纸作为培养床,将 10 粒萌发整齐的萝卜种子在滤纸上摆成一个等间距的圆圈,在其中心倒置一个离心管(1.5 mL)的盖子,将正己烷稀释的不同浓度挥发物(1,2,5 μ L 的挥发物溶解在 100 μ L 的正己烷中)加入离心管的盖子,避免挥发物与种子直接接触。对照只加 100 μ L 正己烷。用 parafilm 密封烧瓶,置于人工气候箱($25 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$,光照时间 14 h/天)培养 4~5 天后,测定其根长、苗高。每个处理 3 次重复。化感活性的测定结果按文献^[16]的方法处理,即: $RI = 1 - C / T$,其中 C 为对照值,T 为处理值,RI 为化感作用的响应指数。RI > 0 为促进,RI < 0 为抑制,RI 绝对值大小与化感作用的强度一致,统计假设与方差分析均以 RI 为原始数据进行。F 测验采用邓肯氏新复极差法。

2 结果与分析

2.1 不同处理番茄挥发物的化学成分

3 种不同处理番茄挥发物的化学成分种类相同,均为 15 种,但含量差异明显。总体上,健康植株

挥发物的含量最低,其次为机械损伤植株,斜纹夜蛾危害植株挥发物的含量最高,为健康植株的 2.6 倍、机械损伤植株的 1.7 倍(表 1)。比较健康植株与机械损伤植株各物质的含量发现,15 种挥发物中,除(*Z*)-3-己烯醛、(*E*)-2-己烯醛含量在机械损伤植株中显著升高外,其它 13 种挥发性物质的含量在健康植株与机械损伤植株之间均无显著差异。斜纹夜蛾对番茄挥发物有显著诱导作用,这种诱导作用主要表现在挥发物含量的差异上(表 1);与健康植株相比,除 β -蒎烯的含量无显著差别外,其它 14 种物质的含量在虫害植株中均显著上升(表 1);与机械损伤植株相比,除(*E*)-2-己烯醛的含量显著降低,而(*Z*)-3-己烯醛有降低趋势,(*Z*)-3-己烯-1-醇、 α -蒎烯、 β -蒎烯和芳樟醇 4 种挥发物的含量有增加趋势,但无显著差异外,其余 9 种挥发物(水杨酸甲酯、2-苴烯、柠檬烯、 β -水芹烯、 γ -异松油烯、 δ -榄香烯、 β -子丁香烯、 α -蛇麻烯、橙花叔醇)的含量显著增加(表 1)。表明不同处理的番茄挥发物在质(挥发物种类)上无明显变化,而在量(挥发物含量)上有明显差异。本研究只鉴定了 15 种番茄的挥发物,其它一些含量较低的化合物尚需进一步鉴定。

2.2 斜纹夜蛾诱导的植物挥发物及茉莉酸甲酯的化感作用

分别用茉莉酸甲酯、(*E*)-2-己烯-1-醇和斜纹夜蛾诱导植物释放的几种主要挥发物处理萝卜幼苗,

表 1 不同处理番茄挥发物的化学成分(峰面积(mean $\pm$ SE))

Table 1 The peak areas of constituents of volatiles from tomato plants with different treatments (mean $\pm$ SE)

挥发物组分 Constituents of volatiles	健康植株 Healthy plants	机械损伤植株 Mechanical damaged plants	虫害植株 <i>S. litura</i> infested plants
(<i>Z</i>)-3-己烯醛(<i>Z</i>)-3-hexenal	5518.33 $\pm$ 1667.19 b	23892.67 $\pm$ 5288.16 a	15301.67 $\pm$ 5439.85 a
(<i>E</i>)-2-己烯醛(<i>E</i>)-2-hexenal	7716.33 $\pm$ 1372.65 c	48474.67 $\pm$ 3339.83 a	21808.00 $\pm$ 4448.85 b
(<i>Z</i>)-3-己烯-1-醇(<i>Z</i>)-3-hexen-1-ol	4650.67 $\pm$ 1515.49 b	10867.00 $\pm$ 3073.21 ab	14676.67 $\pm$ 4862.67 a
α -蒎烯 α -pinene	9607.00 $\pm$ 2459.51 b	14397.33 $\pm$ 4148.37 ab	22154.00 $\pm$ 4772.42 a
β -蒎烯 β -pinene	12806.33 $\pm$ 2886.96 a	19561.00 $\pm$ 4027.79 a	23003.33 $\pm$ 8464.05 a
2-苴烯 2-carene	59567.33 $\pm$ 8705.81 b	66972.33 $\pm$ 6175.27 b	110549.33 $\pm$ 22695.47 a
柠檬烯 Limonene	6568.33 $\pm$ 1514.03 b	7024.67 $\pm$ 1768.11 b	28245.33 $\pm$ 7774.91 a
β -水芹烯 β -phellandrene	78205.00 $\pm$ 8914.37 b	90590.67 $\pm$ 8518.57 b	171973.67 $\pm$ 13591.78 a
γ -异松油烯 γ -terpinolene	6968.67 $\pm$ 1502.22 b	8716.33 $\pm$ 1183.23 b	27029.33 $\pm$ 5751.15 a
芳樟醇 Linalool	6617.67 $\pm$ 1456.91 b	13449.67 $\pm$ 4254.22 ab	24603.00 $\pm$ 8662.09 a
水杨酸甲酯 Methyl salicylate	1411.67 $\pm$ 2445.08 b	3167.33 $\pm$ 3123.47 b	10920.67 $\pm$ 2527.68 a
δ -榄香烯 δ -elemene	6184.67 $\pm$ 2419.83 b	5889.67 $\pm$ 1209.45 b	46157.00 $\pm$ 5842.27 a
β -子丁香烯 β -caryophyllene	24029.33 $\pm$ 7109.08 b	42465.33 $\pm$ 8549.19 b	67641.67 $\pm$ 12481.09 a
α -蛇麻烯 α -humulene	5325.67 $\pm$ 658.49 b	5741.00 $\pm$ 1151.44 b	23888.00 $\pm$ 6473.46 a
橙花叔醇(<i>E</i>)-nerolidol	4476.00 $\pm$ 1591.56 b	6694.00 $\pm$ 1367.67 b	13106.67 $\pm$ 4044.34 a

注:同行数据后具有相同字母者表示差异不显著($P > 0.05$)。Note: The data in the same row following by the same letters are not significantly different($P > 0.05$).

结果表明,各种挥发物对萝卜幼苗的生长均有一定的抑制作用,对根和苗高的抑制表现出相同的趋势(图1)。其中绿叶性气味物质((*E*)-2-己烯醛,(*Z*)-3-己烯-1-醇,(*E*)-2-己烯-1-醇)和茉莉酸甲酯对萝卜幼苗生长的抑制作用较强,其次为水杨酸甲酯,而芳樟醇和子丁香烯两种萜类物质的抑制作用

相对较小。各种挥发物的化感作用强度有明显的浓度效应,挥发物的浓度越高,对萝卜幼苗生长抑制作用越强。在各种浓度条件下,绿叶性气味物质和茉莉酸甲酯对受试植物均有较强的化感作用,而芳樟醇与子丁香烯只有在高浓度下对受试植物幼苗生长有一定的抑制作用。

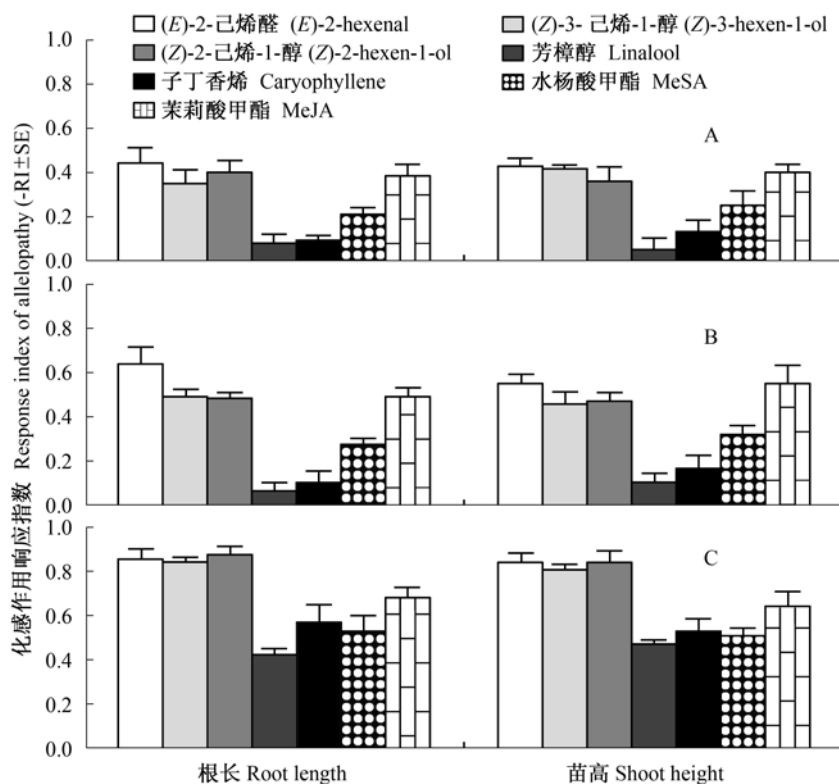


图1 斜纹夜蛾诱导的植物挥发物及茉莉酸甲酯对萝卜幼苗的化感作用强度(RI)

Fig. 1 Allelopathic effects of methyl jasmonate and herbivore-induced plant volatiles on the seedling growth of radish

注: A, B, C 分别为 1, 2, 5 μL 的挥发物溶解在 100 μL 的正己烷中。Note: A, B, C stands for 1, 2, 5 μL volatile compounds dissolved in 100 μL n-hexane, respectively.

3 讨论

本研究证实,虫害诱导的植物挥发物具有一定化感作用,特别是绿叶性气味物质和水杨酸甲酯等挥发物有较强的化感活性。已有报道,绿叶性气味物质与水杨酸甲酯是斜纹夜蛾诱导的水稻挥发物中对褐飞虱起拒避作用的主要成分^[14]。表明这几种物质在调节植物与植食性昆虫、植物与病原微生物以及植物与植物间的相互作用中起重要作用。同时说明虫害诱导的植物挥发物具有一物多用的生态学功能。植物的任何代谢系统都需要物质和能量^[17],一物多用的生态学功能无疑是一种节约资源、降低产生这些防御物质成本的策略。然而,虫害诱导的植物挥发物对自身的生长也有明显的抑制作用(自

毒作用),这同时也增加了产生这些物质的成本。因此,在分析虫害诱导植物产生防御物质的“成本与收益”时^[18],必须考虑这些物质对周围其它植物的化感作用以及自毒作用。在研究虫害诱导的植物化学防御的同时,一些学者对植物为什么会产生诱导防御策略而不是组成性防御提出了各种观点^[18~21],其中植物产生并释放这些防御物质的生理成本(代谢过程的物质和能量投入)^[19]和生态成本(引诱害虫、毒害天敌和传粉昆虫等)^[20,21]是植物产生诱导防御机制的重要原因,而这些防御物质对植物自身的化感作用也可能是植物在进化过程中形成虫害诱导防御机制的一个原因。

茉莉酸甲酯作为信号传导物质,在植物虫害诱导防御中起着重要作用,该物质可以诱导众多植物

产生并释放大量的化学防御物质^[1],同时,茉莉酸甲酯可以诱导植物防御基因在转录水平上大量表达^[1,13],而茉莉酸甲酯又具有很强的化感作用^[9],此外,茉莉酸甲酯在虫害植物与健康植物间的化学通讯中的媒介作用已被证实^[10]。本研究表明,绿叶性气味物质有很强的化感作用,而该类物质同时可以诱导植物叶片防御基因和茉莉酸信号传导途径的调控基因的表达^[22]。水杨酸甲酯对植物也有一定的化感作用,且该物质可以诱导植物叶片病害防御基因(PAL,PR-1a)的表达^[13]。因此可以推测,植物化感作用的形成可能与这些化感物质可以诱导植物合成虫害或病害防御物质或产生其它诱导防御机制有关。如上所述,植物的任何代谢过程都需要物质和能量,由于化感物质诱导植物启动了虫害或病害防御系统,使得部分物质和能量投入到防御物质的合成方面,这势必会减少其在生长发育方面所投入的资源,从而会抑制植物的生长。

参 考 文 献(References)

- 1 Kessler A, Baldwin I T. Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. *Annual Review of Plant Biology*, 2002, 53: 299 – 328
- 2 Alborn H T, Turlings T C J, Jone T H, *et al.* An elicitor of plant volatiles from beet armyworm oral secretion. *Science*, 1997, 276 (5314): 945 – 947
- 3 Arimura G, Ozawa R, Shimoda T, *et al.* Herbivory-induced volatiles elicit defence genes in lima bean leaves. *Nature*, 2000, 406 (6795): 512 – 515
- 4 Kessler A, Baldwin I T. Defensive function of herbivore-induced plant volatile emissions in nature. *Science*, 2001, 292: 2141 – 2144
- 5 Dicke M, Bruin J. Chemical information transfer between damaged and undamaged plants. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2001, 29: 979 – 980
- 6 Engelberth J, Alborn H T, Schmelz E A, *et al.* Airborne signals prime plants against insect herbivore attack. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*, 2004, 101(6): 1781 – 1785
- 7 Rice E L. Allelopathy (second edition). Orlando, Florida: Academic Press, 1984
- 8 Singh H P, Batish D R, Kohli R K. Allelopathic effects of two volatile monoterpenes against bill goat weed (*Ageratum conyzoides* L.). *Crop Protection*, 2002, 21(4): 347 – 350
- 9 Preston C A, Betts H, Baldwin I T. Methyl jasmonate as an allelopathic agent: sagebrush inhibits germination of a neighboring tobacco, *Nicotiana attenuata*. *Journal of Chemical Ecology*, 2002, 28 (11): 2343 – 2369
- 10 Preston C A, Laue G, Baldwin J T. Methyl jasmonate is blowing in the wind, but can it act as a plant-plant airborne signal? *Biochemical Systematics and Ecology*, 2001, 29(10): 1007 – 1023
- 11 Gardner H W, Dornbos D L, Desjardins A E. Hexanal, trans-2-hexenal, and trans-2-nonenal inhibit soybean, *Glycine max*, seed germination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1990, 38 (6): 1316 – 1320
- 12 Kong C H, Hu F, Xu T, *et al.* Allelopathic potential and chemical constituents of volatile oil from *Ageratum conyzoides*. *Journal of Chemical Ecology*, 1999, 25(10): 2347 – 2356
- 13 Xu T, Zhou Q, Chen W, *et al.* Involvement of jasmonate-signaling pathway in the herbivore-induced rice plant defense. *Chinese Science Bulletin*, 2003, 48: 1982 – 1987
- 14 Xu T, Zhou Q, Xia Q, *et al.* Effects of herbivore-induced rice volatiles on the host selection behavior of brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Chinese Science Bulletin*, 2002, 47: 1355
- 15 Farag M A, Pare P W. C6-green leaf volatiles trigger local and systemic VOC emissions in tomato. *Phytochemistry*, 2002, 61 (5): 545 – 554
- 16 Williamson G B, Richardson D. Bioassays for allelopathy: measuring treatment response with independent controls. *Journal of Chemical Ecology*, 1988, 14(7): 181 – 187
- 17 Baldwin I T. Jasmonate-induced responses are costly but benefit plants under attacks in native populations. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*, 1998, 95(14): 8113 – 8118
- 18 Karban R, Agrawal A A, Mangel M. The benefits of induced defenses against herbivores. *Ecology*, 1997, 78(5): 1351 – 1355
- 19 Zangerl A R, Arntz A M, Berenbaum M R. Physiological price of an induced chemical defense: photosynthesis, respiration, biosynthesis and growth. *Oecologia*, 1997, 109(3): 433 – 441
- 20 Agrawal A A. Induced responses to herbivory and increased plant performance. *Science*, 1998, 279(5354): 1201 – 1202
- 21 Heil M. Ecological costs of induced resistance. *Current Opinion in Plant Biology*, 2002, 5: 1 – 6
- 22 Xu T, Wang J, Luo S. Cloning of the key genes in maize oxylipins pathways and their roles in herbivore induced defense. *Chinese Science Bulletin*, 2005, 50: 2457 – 2466