

非靶标害虫二化螟为害抗褐飞虱水稻诱导植物挥发物变化对靶标害虫抗性的影响*

王兴云^{1,2,3**} 张新强¹ 刘瑶瑶¹ 王璐颖¹ 周亚丽¹
薛爽^{1,3} 何玲敏^{1,3} 王景顺^{1,3}

(1. 安阳工学院生物与食品工程学院, 安阳 455000; 2. 安阳工学院博士后创新实践基地, 安阳 455000;
3. 河南省太行山林业有害生物野外科学观测研究站, 安阳 455000)

摘要 【目的】植食性昆虫之间存在复杂的种间作用, 而虫害诱导的植物挥发物在昆虫互作中起着关键作用。【方法】本研究通过顶空动态收集和气相色谱-质谱联用仪 (GC-MS) 分析了抗褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 水稻品种 Mudgo 和感虫品种 TN1 分别被非靶标害虫二化螟 *Chilo suppressalis* 为害后的挥发物组成, 共鉴定到 115 种挥发物, 并筛选出其中具有显著差异的挥发物。使用 Y 型嗅觉仪测定了靶标害虫褐飞虱对非靶标害虫二化螟为害诱导的 20 种水稻挥发物 (浓度分别为 2 和 200 $\mu\text{L/mL}$, 溶剂为正己烷) 的行为反应。【结果】Y 型嗅觉仪结果表明, 水稻 Mudgo 被二化螟为害后显著增加的挥发物中, 正乙醛、2-庚酮、 β -月桂烯、芳樟醇、十四烷、正十五烷、正十六烷、正十七烷、 α -蒎烯、D-柠檬烯和 β -石竹烯 11 种挥发物对褐飞虱有显著的吸引作用 ($P < 0.05$), 而苯乙醛、2-壬酮、萘、水杨酸甲酯和十三烷 5 种挥发物对褐飞虱有驱避作用。结果揭示了抗性和感虫水稻品种被二化螟为害后所释放的挥发物存在显著差异, 并且对靶标害虫褐飞虱有一定的吸引作用, 提示非靶标害虫为害可能会导致植物对靶标昆虫拒异性降低。【结论】研究结果丰富了寄主植物挥发物在植食性害虫种间作用关系理论, 为利用植物挥发物防治害虫提出新的防治策略具有重要实践意义。

关键词 抗性水稻品种; 非靶标害虫二化螟; 靶标害虫褐飞虱; 植食性害虫种间作用; 虫害诱导的植物挥发物

Effect of changes in volatiles from resistant rice varieties damaged by non-target insect pests on *Nilaparvata lugens*

WANG Xing-Yun^{1,2,3**} ZHANG Xin-Qiang¹ LIU Yao-Yao¹ WANG Lu-Ying¹
ZHOU Ya-Li¹ XUE Shuang^{1,3} HE Ling-Min^{1,3} WANG Jing-Shun^{1,3}

(1. College of Biological and Food Engineering, Anyang Institute of Technology, Anyang 455000, China;
2. Postdoctoral Innovation Practice Base, Anyang Institute of Technology, Anyang 455000, China; 3. Field Scientific Observation and Research Station of Forest Pests in Taihang Mountain of Henan Province, Anyang 455000, China)

Abstract [Aim] Herbivorous insects have complex interspecific interactions in which herbivore-induced plant volatiles (HIPVs) play an important role. [Methods] In this study, a dynamic headspace collection system, together with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), were used to compare the effect of volatiles collected from a resistant rice cultivar (Mudgo) and a susceptible rice cultivar (TN1), on the brown planthopper (BPH) *Nilaparvata lugens*. In addition, the effect of volatiles from each of the above rice varieties that had been damaged by a non-target pest, the rice striped stem borer

*资助项目 Supported projects: 国家青年自然科学基金 (31802007); 河南省科技攻关项目 (242102110263); 中国博士后面项目资助 (2020M672204); 河南省博士后科研项目启动经费 (201902042); 安阳工学院博士后科研启动基金 (BHJ2019002); 河南省新农科研究与实践改革项目 (2020JGLX144); 河南省高等学校青年骨干培养计划 (2020GGJS232); 安阳工学院“十百千品牌提升计划”和“百千万英才提升计划”

**第一作者和通信作者 First author and corresponding author, E-mail: wangxingyun402@163.com

收稿日期 Received: 2024-02-21; 接受日期 Accepted: 2024-07-05

(SSB) *Chilo suppressalis*, were also investigated. GC-MS identified a total of 115 volatiles. The behavioral responses of brown planthoppers to 20 of these at concentrations of 2 and 200 μL dissolved in 1 mL of normal hexane were investigated using a Y-tube olfactometer. **[Results]** This showed that 11 volatiles (i.e., Hexanal, 2-Heptanone, β -Myrcene, Linalool, Tetradecane, Pentadecane, Hexadecane, Heptadecane, α -Pinene, D-limonene and β -Caryophyllene) were significantly more attractive to the BPH than the control, and that the amount of these 11 volatiles significantly increased after damage by SSB ($P < 0.05$). In contrast, the other 5 volatiles (Benzeneacetaldehyde, 2-Nonanone, Naphthalene, Methyl salicylate and Tridecane) were repellent to the BPH. These results reveal that damage to rice plants by the SSB caused significant changes in the volatiles released from both resistant, and susceptible, rice cultivars. Furthermore, volatiles collected from rice plants that had been damaged by the SSB were significantly more attractive effect to the BPH, indicating that a non-target insect pest can potentially affect the occurrence of a targeted insect pest. These results also suggest that plants damaged by non-target insect pests may have lower resistance to target insects. **[Conclusion]** These findings provide new information on the interaction between plant volatiles and insect species, and have important practical implications for using natural plant volatiles to develop new pest control strategies.

Key words resistant cultivars of rice; non-target insect pest of *Chilo suppressalis*; target insect prst of *Nilaparvata lugens*; insects-interaction relationship; HIPVs

植食性昆虫种间存在着复杂的种间作用关系,可分为互利、偏利和竞争等种间效应。害虫对共同的寄主植物有许多共同资源需求,而寄主植物的营养供给能力是有限的,不能满足多种害虫的需求,从而害虫间产生竞争关系。越来越多的研究发现,昆虫取食植物后,会改变植物的表型和形态学特征等,引起植物初生代谢物和次生代谢物的改变,进而影响其他植食性昆虫对寄主的适合性 (Poelman and Dicke, 2014; Stam *et al.*, 2014),如植物介导的种群生态变化 (Kaplan and Denno, 2007; Hu *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2021),咀嚼式昆虫和刺吸式昆虫种间的关系 (Faeth, 1986; Denno *et al.*, 2000)。二化螟 *Chilo suppressalis* 和褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 均为我国水稻上的重要害虫,两者危害水稻的不同组织部位。二化螟在水稻茎内部取食,褐飞虱聚集在稻株的中下部茎秆表面刺吸危害水稻,它们通过取食诱导水稻化学或生理的变化而存在相互关系,主要表现在褐飞虱偏爱取食二化螟为害稻株 (Wang *et al.*, 2018)。褐飞虱这种取食选择可能是由于稻株营养物质 (可溶性糖、淀粉、蛋白质和氨基酸等) 的变化 (Khan and Saxena, 1984; Gunathilagaraj and Chelliah, 1985; 俞晓平等, 1989; 刘光杰等, 1995); 也可能是由二化螟诱导植物释放挥发物引诱褐飞虱所致 (娄永根和程家安, 2000)。

挥发物在植物与昆虫间的化学通讯中扮演

着关键角色,在寻找寄主、选择取食和进行产卵等一系列活动过程中均发挥了一定的导向作用 (Schuman and Baldwin, 2016; 陈萍等, 2022)。如昆虫能够利用寄主植物所释放的化学信号来指导其寄主定向行为 (杜家纬, 2001)。若缺乏植物挥发物的指引,多数植食性昆虫成功找到寄主植物的几率会大幅下降 (戴建青等, 2010)。前人已经对褐飞虱的寄主植物选择性及其机制开展了较多研究工作 (Lou *et al.*, 2015; 莫晓畅和娄永根, 2016)。对水稻挥发物进行鉴定分析发现, (E)- β -石竹烯、Z-法尼烯、橙花叔醇、雪松醇、2-庚醛、E-3-罗勒烯、柠檬烯、 α -蒎烯、异喇叭烯、苯甲醇和己烯醛等对褐飞虱具有引诱作用,而芳樟醇、橙花叔醇、桉烯、(-)- α -可巴烯、(-)- α -雪松烯、(+)- β -雪松烯、茉莉酸甲酯、水杨酸甲酯和 2-庚酮等对褐飞虱具驱避作用 (卢海燕, 2010; 汪鹏, 2011; Xiao *et al.*, 2012; 张献英等, 2014)。但是,对抗性水稻和敏感水稻均被为害后,比较挥发物的变化及稻飞虱的嗅觉反应分析研究较少。

因此,本研究将通过顶空动态收集和气相色谱-质谱联用仪 (GC-MS) 等方法,首先分析褐飞虱的抗性水稻品种 Mudgo 和敏感水稻品种 Taichung Native 1 (TN1),及其被二化螟为害后有显著性差异的挥发物质,并使用 Y 型嗅觉仪进行功能验证,用以揭示水稻挥发物在调节二化

螟和褐飞虱的种间关系中所起的作用。目的在于筛选对褐飞虱有引诱或者驱避效果的挥发物,为开发基于水稻挥发物的害虫绿色防控奠定科学基础。

1 材料与方法

1.1 供试水稻和昆虫

选用褐飞虱抗性品种 Mudgo (具有 *Bph1* 抗虫基因) 和敏感品种 TN1 作为供试材料。本研究中所用褐飞虱来源于实验室长期饲养的种群,这些种群在 TN1 稻株上连续饲养并繁殖超过 25 代。二化螟来自实验室饲养种群,种群已经在实验室利用纯人工饲料饲养超过 50 代 (Han *et al.*, 2012)。2 种昆虫的饲养条件为: 温度 (27 ± 2) °C, 相对湿度 $80\%\pm 2\%$, 光周期 16 L : 8 D, 均未接触过任何杀虫剂。

试验所用水稻 Mudgo 和 TN1 同时播种, 秧龄 15 d 时, 把水稻幼苗分别移栽至塑料钵 (直径 8 cm, 高 10 cm), 采用泥炭和蛭石 (3 : 1) 的混合物为栽培基质, 定期浇水施肥。选用移栽后 55-60 d 的稻株。所用水稻均在温室内种植, 温度 (28 ± 2) °C, 相对湿度 $65\%\pm 10\%$, 光周期 16 L : 8 D。

选取生长健壮的稻株, 去除枯叶并用纯净水仔细冲洗茎秆, 然后移入光照培养箱 (RXZ-380A, 宁波江南仪器厂) [温度 (27 ± 2) °C, 相对湿度 $80\%\pm 2\%$, 光周期 16 L : 8 D], 使其适应 2 d 后用于后续试验。每株稻株茎秆用塑料筒 (直径 8 cm, 高 9.5 cm) 套住后, 接入 1 头已饥饿 3 h 的 3 龄二化螟幼虫, 用海绵封住塑料桶上口, 以防止昆虫逃逸。3 d 后, 筛选出二化螟幼虫已经钻入茎部并造成可见损伤的稻株进行试验。对照组则选用未受到任何昆虫危害和机械损伤的健康稻株。

1.2 褐飞虱的寄主选择行为

褐飞虱寄主选择行为试验设置 2 个处理组合: (a) 健康的 Mudgo 水稻 vs. 二化螟为害的 Mudgo 水稻; (b) 健康的 TN1 水稻 vs. 二化螟为害的 TN1 水稻。对于每一个处理组合, 用圆柱

形塑料套筒 (直径 8 cm, 长度 19 cm) 将两株稻株连接起来, 确保褐飞虱能够在两者之间自由移动 (图 1)。将 20 头 3 龄褐飞虱若虫释放于套筒中间位置, 每天定时记录褐飞虱在每个稻株上的栖息数量, 连续记录 7 d。7 d 后褐飞虱已经发育成为成虫, 二化螟发育到 5 龄或已进入预蛹状态。

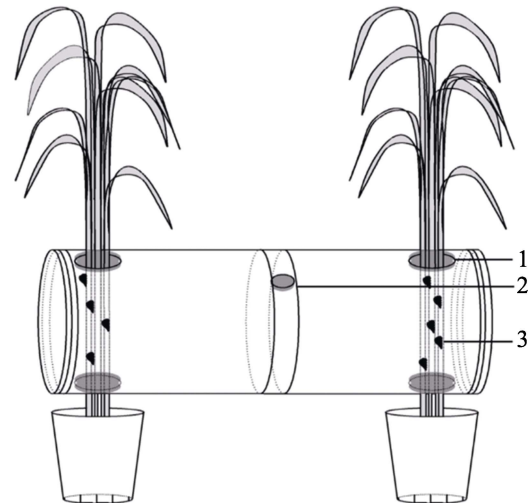


图 1 褐飞虱寄主选择装置

Fig. 1 Experimental apparatus for testing the feeding of preference of *Nilaparvata lugens*

褐飞虱被放置在套筒中, 套筒直径 8 cm, 长 19 cm。

- 1: 用海绵包围水稻茎秆; 2: 用于释放褐飞虱;
- 3: 褐飞虱栖息于水稻茎秆上。

The planthoppers were contained in a cylindrical plastic tube with a diameter of 8 cm and a length of 19 cm. 1: Hole with sponge rubber plug; 2: Hole for releasing the planthoppers; 3: Planthoppers sitting on rice tillers.

1.3 水稻挥发物的顶空收集与分析

收集和分析了 4 种处理水稻释放的日间挥发物: (a) 健康稻株 TN1; (b) 健康稻株 Mudgo; (c) 1 头 3 龄二化螟为害 72 h 的稻株 TN1; (d) 1 头 3 龄二化螟为害 72 h 的稻株 Mudgo。采用顶空法收集水稻挥发物, 具体步骤如下: 首先, 将 5 株相同处理的水稻作为一个味源, 装入抽气瓶 (3 142 mL) 中。为了净化进入抽气瓶的空气, 先让空气经过活性炭、分子筛和红品硅胶过滤。然后, 空气由玻璃抽气瓶上方连接口进入, 并从底部的连接口通过装有 30 mg Super Q 吸附剂 (80/100 mesh, ANPEL Laboratory Technologies (Shanghai) Inc, China) 的玻璃管 (内径 5 cm, 长 8 cm) 排出, 空气流速为 400 mL/min, 在气体

收集开始前, 以该流速保持 30 min, 以排出瓶中的杂质气体 (Faeth, 1986), 在温度 (27 ± 3) °C, 湿度 $75\%\pm 10\%$ 的人工气候室持续收集 4 h (11:00-15:00), 气体收集过程中, 二化螟保持继续危害水稻。每个处理进行 7-9 个重复。最后, 气体收集完毕后, 用移液枪吸取 500 μL 的二氯甲烷洗脱 (1 ng/ μL 的乙酸壬酯作为内标) 吸附剂上的挥发物, 并将洗脱液收集到进样瓶中。收集好的样品储存在 -30 °C 冰箱中备用。

为了分析挥发物的成分和含量, 采用岛津顶空固相微萃取气质联用仪 (Shimadzu GCMS-QP 2010SE) 和 RTX-5 MS 毛细管柱, 分析方法同 Jiao 等 (2018)。色谱条件包括: 采用不分流进样, 进样量为 1 μL 。使用氦气作为载体, 采用恒流模式, 流速为 1 mL/min。进样口温度为 250 °C。柱温度程序: 起始温度 40 °C 保持 2 min; 然后以 6 °C/min 的速度持续升温至 250 °C 保持 6 min。质谱条件包括: EI 离子源, 源温度为 230 °C, 电离能 70 eV。结合 NIST (Scientific Instrument Services, Inc., Ringoes, NJ, USA) 数据库或标样的质谱离子图进行对比, 初步鉴定挥发物的成分。然后, 再结合参考文献找到该物质的碎片离子通道或标品, 确定源于该峰位值的化合物。最后, 根据内标物质的含量, 计算得到挥发物的相对释放量。

1.4 褐飞虱对挥发物行为选择的测定

根据 GC-MS 挥发物分析结果, 遴选了正乙醛、正己醇、2-庚酮、苯乙醛、 β -月桂烯、2-壬酮、芳樟醇、萘、水杨酸甲酯、十三烷、十四烷、正十五烷、正十六烷、正十七烷、邻苯二甲酸二丁酯、 α -蒎烯、D-柠檬烯、 γ -松油烯、姜烯和 β -石竹烯等 20 种挥发物, 挥发物均购置于上海阿拉丁生化科技股份有限公司 (Aladdin)。由于 GC-MS 分析中采用了 1 ng/ μL 的乙酸壬酯作为内标物质, 则通过比较乙酸壬酯的峰面积计算出所测得到的挥发物相对含量在 0.1-176.9 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 之间。为了进一步研究这些挥发物中单一化合物对褐飞虱雌虫寄主选择的影响, 所以将这些挥发物分别溶于正己烷, 配制成浓度为 2 和 200 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 的单组分信息化合物溶液 (Xiao *et al.*,

2012), 再通过 Y 型嗅觉仪进行选择试验。操作步骤为: 取 10 μL 配置好的化合物溶液均匀地滴在 1 cm $\times$ 2 cm 的滤纸条上; 正己烷为对照, 也滴在相同规格的滤纸条上。然后, 将加载了化合物或对照溶液的滤纸条分别放入对应的容量瓶 (内径 10.5 cm, 高 10 cm) 中。然后, 连接好试验仪器, 接通气泵, 确保气体能够顺畅地通过 Y 型嗅觉仪, 测定方法参照周强等 (2003)。Y 型嗅觉仪的臂长为 10 cm, 内径为 2 cm, 两臂夹角为 90°, 柄长为 10 cm, 气体流速为 150 mL/min, 每次测试 1 头褐飞虱, 每头虫观察 5-10 min 内的选择情况, 10 min 后仍没有做出选择, 则记为无反应。每种挥发物测试 60 头褐飞虱。

1.5 数据处理

所有数据在统计前均进行正态分布检验和方差同质性检验。褐飞虱的寄主选择行为试验采用 paired-sample *t*-test 进行分析比较。水稻挥发物的含量采用 independent-samples *t*-test 进行分析比较, 若数据不满足正态分布的要求时, 采用 $\log(x+1)$ 的转换方式对数据进行处理, 以确保其符合正态分布的条件后再进行统计分析。褐飞虱对挥发物的选择行为试验采用 χ^2 -test 进行分析比较。所有统计分析均采用 SPSS 22.0 (IBM SPSS, Somers, NY, USA) 分析完成。

2 结果与分析

2.1 褐飞虱寄主选择行为

与健康稻株相比, 当抗性水稻 Mudgo 被二化螟为害后, 褐飞虱对其选择偏好极显著 ($P < 0.001$; $t_1 = -7.566$, $t_2 = -11.048$, $t_3 = -10.976$, $t_4 = -7.609$, $t_5 = -7.159$, $t_6 = -8.277$, $t_7 = -7.790$; $df = 15$) (图 2: A)。敏感水稻 TN1 被二化螟为害后, 在第 1-4 天, 褐飞虱在健康稻株和受害稻株上的选择没有显著差异 ($t_1 = -0.492$, $P_1 = 0.628$; $t_2 = -0.760$, $P_2 = 0.456$; $t_3 = -1.755$, $P_3 = 0.094$; $t_4 = -2.028$, $P_4 = 0.055$; $df = 21$), 但是第 5-7 天, 褐飞虱显著偏好选择受害稻株 ($t_5 = -2.12$, $P_5 = 0.046$; $t_6 = -2.468$, $P_6 = 0.022$; $t_7 = -2.505$, $P_7 = 0.021$; $df = 21$) (图 2: B)。

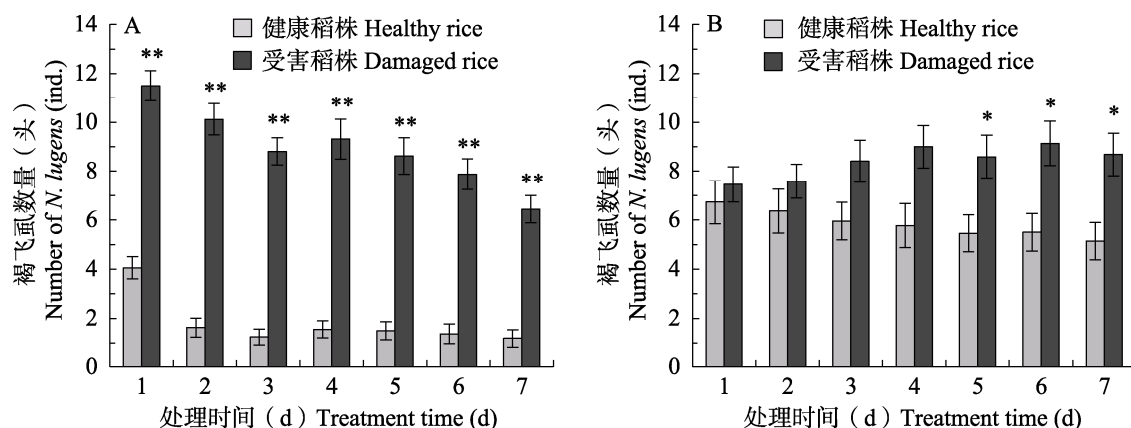


图 2 褐飞虱对不同处理稻株的选择行为

Fig. 2 Preference of *Nilaparvata lugens* for feeding on healthy or caterpillar-damaged rice plants

A. 抗性品种水稻 Mudgo; B. 敏感品种水稻 TN1; 星号代表不同处理间显著差异

(* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, paired-sample t 检验)。A. Resistant rice variety Mudgo; B. Sensitive rice variety TN1. Asterisk indicate significant difference within a pair choice test (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, paired-sample t -test).

2.2 不同处理水稻植株挥发物的组成与相对含量

顶空收集的水稻挥发物经 GC-MS 分析, 共鉴定得到 115 种挥发物。将这些挥发物分类整理发现, 有 48 种挥发物在健康或受害的抗性和敏感水稻中均存在, 这些挥发物大多在抗性水稻 Mudgo 被二化螟为害后显著增加 ($P < 0.05$) (图 3: A)。在抗性水稻 Mudgo 中, 受害稻株与健康稻株相比显著增加的挥发物有 47 种 ($P < 0.01$) (图 3: D)。敏感水稻 TN1 被为害后, 与健康稻株相比显著增加的挥发物有 9 种 ($P < 0.05$), 2 种挥发物 (1,4-二氯苯和庚醛) 显著减少 ($P < 0.01$) (图 3: A, B, D)。仅在 TN1 水稻中存在的挥发物有 4 种 (十二烷、邻苯二甲酸二甲酯和 2 种未知物质), 且其在受害稻株和健康稻株间的含量没有显著差异 ($P > 0.05$) (图 3: C); 仅在 Mudgo 水稻中存在的挥发物有 10 种, 其中, 1 种挥发物 [3,6,6-三甲基-双环(3.1.1)庚-2-烯] 在稻株受害后显著减少 ($P < 0.01$), 6 种挥发物显著增加 ($P > 0.01$) (图 3: E)。

根据内标物质乙酸壬酯 (1 ng/ μ L) 的峰面积, 计算所测挥发物的相对含量在 0.1-176.9 μ L/mL 之间, 以此作为 Y 型嗅觉仪试验时配制单组分信息溶液浓度的依据。

2.3 褐飞虱对挥发物的行为反应

根据 GC-MS 分析结果, 筛选出 20 种在健康稻株和受害稻株间存在显著差异的挥发物 ($P < 0.05$) 进行 Y 型嗅觉仪试验。结果表明, 11 种挥发物对褐飞虱有显著的吸引作用, 分别为正乙醛 ($\chi^2 = 12.519$, $P < 0.001$)、2-庚酮 ($\chi^2 = 12.519$, $P < 0.001$)、 β -月桂烯 ($\chi^2 = 12.000$, $P = 0.001$)、芳樟醇 ($\chi^2 = 3.920$, $P = 0.048$)、十四烷 ($\chi^2 = 25.130$, $P < 0.001$)、正十五烷 ($\chi^2 = 7.714$, $P = 0.005$)、正十六烷 ($\chi^2 = 16.667$, $P < 0.001$)、正十七烷 ($\chi^2 = 16.667$, $P < 0.001$)、 α -蒎烯 ($\chi^2 = 12.902$, $P < 0.001$)、D-柠檬烯 ($\chi^2 = 9.680$, $P = 0.020$) 和 β -石竹烯 ($\chi^2 = 15.007$, $P < 0.001$); 姜烯对褐飞虱没有吸引或驱避作用 ($\chi^2 = 1.852$, $P = 0.174$); 苯乙醛 ($\chi^2 = 7.143$, $P = 0.008$)、2-壬酮 ($\chi^2 = 21.429$, $P < 0.001$)、萘 ($\chi^2 = 8.333$, $P = 0.004$)、水杨酸甲酯 ($\chi^2 = 22.224$, $P < 0.001$) 和十三烷 ($\chi^2 = 6.564$, $P = 0.010$) 5 种挥发物对褐飞虱具有驱避作用; 正己醇、邻苯二甲酸二丁酯和 γ -松油烯 3 种化合物对褐飞虱表现为低浓度吸引 ($\chi^2 = 16.667$, $P < 0.001$; $\chi^2 = 6.000$, $P = 0.014$; $\chi^2 = 9.091$, $P = 0.003$), 高浓度驱避 ($\chi^2 = 27.000$, $P < 0.001$; $\chi^2 = 21.429$, $P < 0.001$; $\chi^2 = 10.083$, $P = 0.001$) (图 4)。

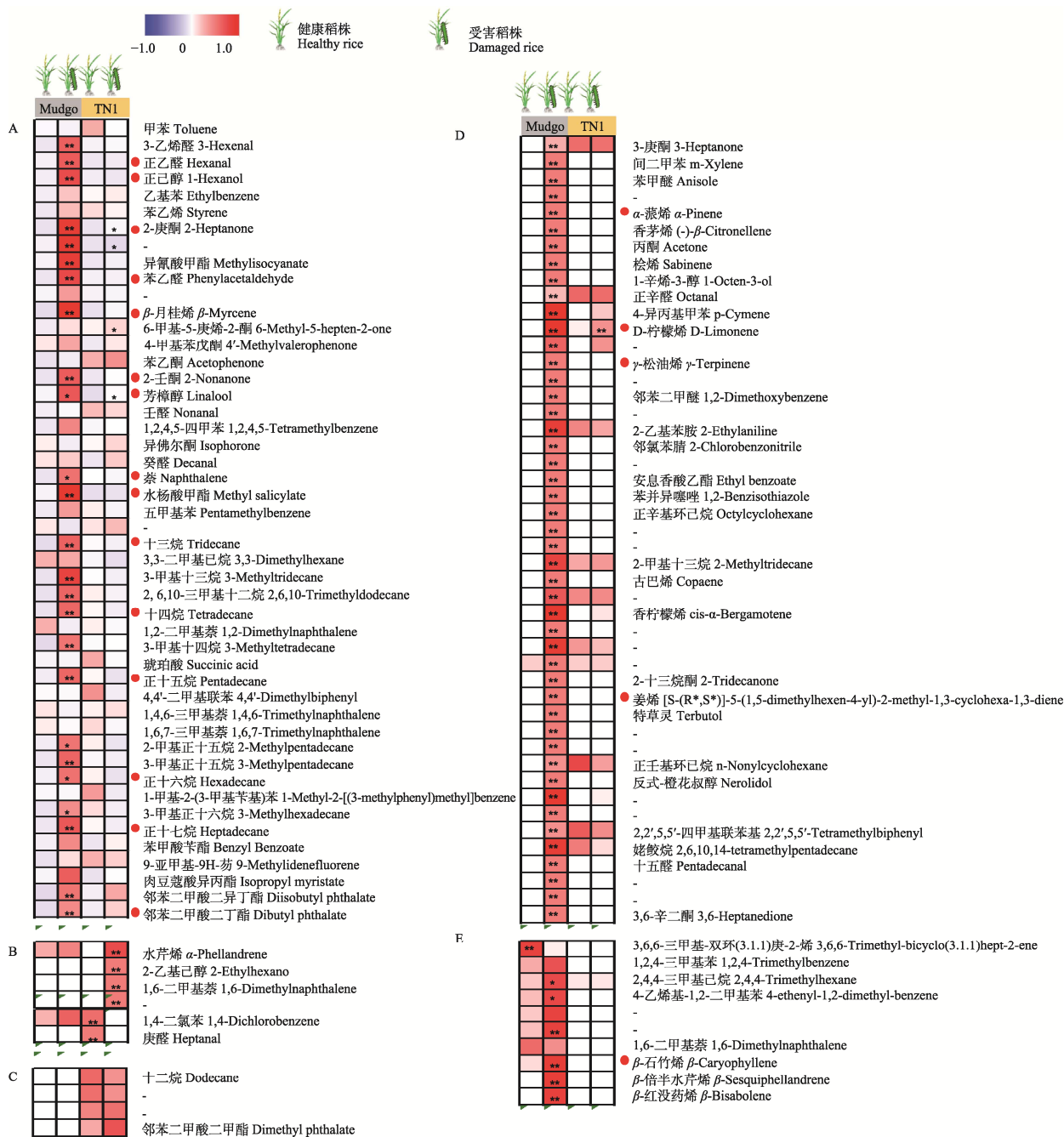


图 3 顶空收集不同处理稻株的挥发物

Fig. 3 Volatile compounds collected from the headspace of rice plants under different treatments

Mudgo: 抗性水稻品种; TN1: 敏感水稻品种。A. 健康或受害的抗性 Mudgo 和敏感 TN1 水稻均含有的挥发物;

B. TN1 受害后增加或减少的差异挥发物; C. 仅在 TN1 存在的挥发物; D. Mudgo 受害后增加或减少的挥发物;

E. 仅在 Mudgo 存在的挥发物; 红点标记挥发物为后续 Y 型管验证挥发物; -: 未知挥发物;

代表健康和受害稻株间挥发物的差异显著性 ($P < 0.05$, ** $P < 0.01$, independent-samples t 检验)。

Mudgo: Resistant rice variety; TN1: Sensitive rice variety. A. Volatiles contained in both healthy and damaged Mudgo and TN1; B. Increased or decreased differential volatiles contained in TN1 damaged or healthy; C. Volatiles contained only in TN1; D. Increased or decreased differential volatiles contained in Mudgo damaged or healthy; E. Volatiles contained only in Mudgo. The red dots are Y-tube verification volatiles. -: Unknown volatiles. Asterisk indicate significant difference between healthy and damaged rice (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, independent-samples t -test).

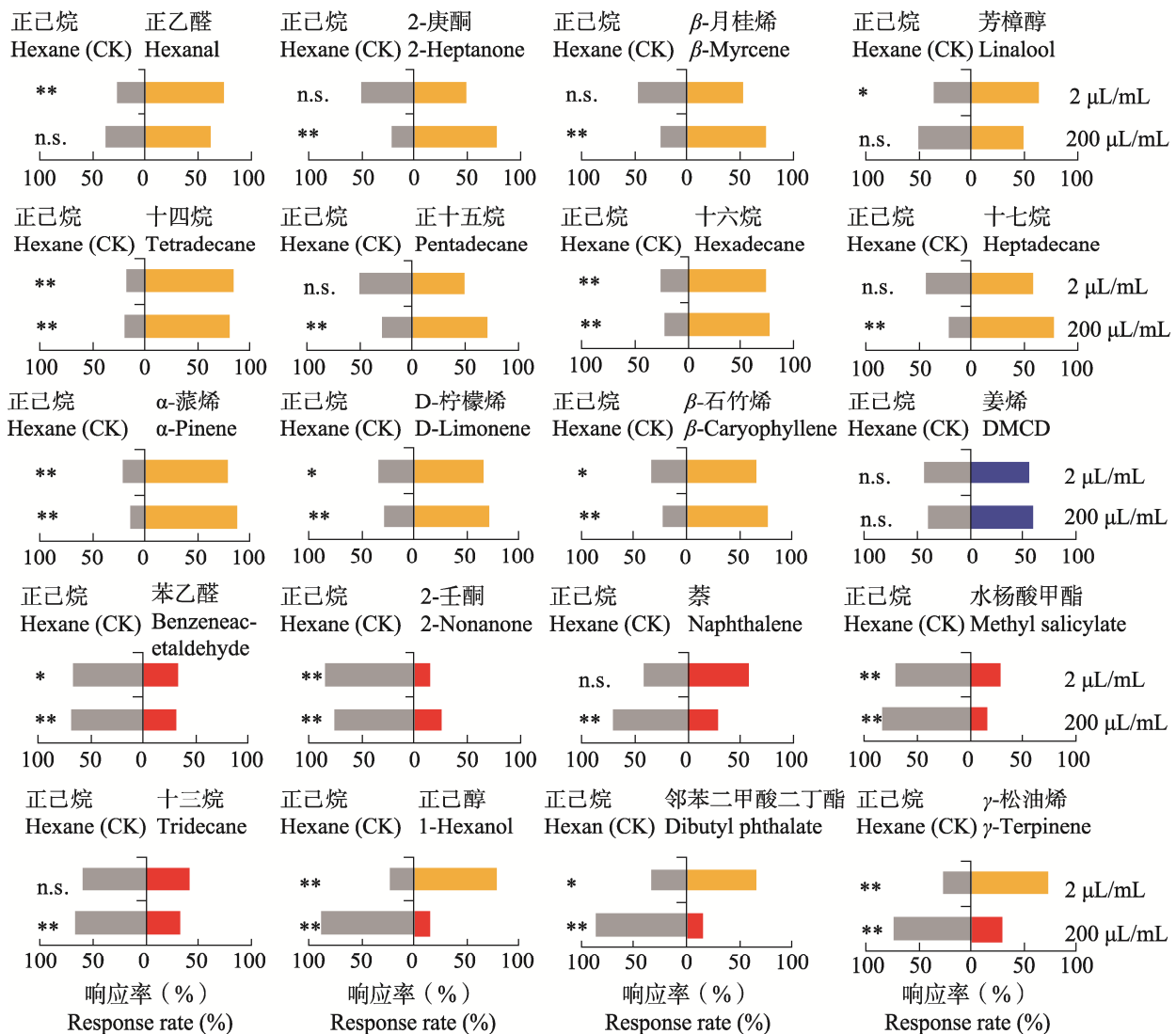


图 4 褐飞虱对挥发物的行为反应

Fig. 4 Olfactory responses of *Nilaparvata lugens* to volatiles

褐飞虱对 20 种不同浓度水稻挥发物的行为反应。*代表不同处理间显著差异，

n.s.代表无显著差异 (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 卡方检验)。

Behavioral responses of *N. lugens* to 20 kinds of rice volatiles at different concentrations. Asterisk indicate significant difference between different treatments (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, χ^2 -test), n.s. indicates no significance by χ^2 -test.

3 讨论

培育抗性品种防治靶标昆虫是当前最有效的防治措施之一，害虫的选择行为反应是作物抗性的重要表现。本研究选用的水稻 Mudgo 是高抗褐飞虱品种 (Sogawa and Pathak, 1970; Lu *et al.*, 2018)，被非靶标昆虫二化螟为害后，褐飞虱对受害稻株表现出显著的趋性；在敏感水稻 TN1 中，褐飞虱对受害稻株和健康稻株的趋性差异不

显著 (第 1-4 天)，表明抗性品种对靶标昆虫的抗性更易受非靶标昆虫的影响。水稻新品种对靶标昆虫的抗性降低乃至抗性完全消失 (袁龙宇等, 2022)，究其原因，一方面可能是昆虫不断产生新的致害性害虫种群，另一方面可能是水稻品种自身抗性降低 (Kobayashi, 2016)。抗性降低被认为是植物拒异性和抗生性降低的主要原因 (胡国文等, 1994)，拒异性的下降可能与昆虫种间的相互作用有关。本研究发现，二化螟为害水稻

Mudgo 后, 对褐飞虱的拒异性显著降低, 表现为褐飞虱在寄主选择时数量显著增加。

昆虫为害会诱导水稻挥发物质的释放, 且不同昆虫为害对水稻挥发物的影响存在差异。汪晓龙等 (2023) 最新发现, 水稻受二化螟为害后, 会释放出对褐飞虱具有引诱作用的化合物。这一发现与姜永根和程家安 (2000) 的早期研究相呼应, 在植食性昆虫为害后, 水稻的挥发物种类和释放量显著增加, 其中绿叶性气味的相对含量可能上升或下降, 但种类呈增加趋势。本研究也进一步证实了这一点, 特别是抗性水稻 Mudgo 被二化螟为害后, 其挥发物的种类和相对含量都明显升高。闫峰 (2009) 研究发现, 水稻被二化螟或稻纵卷叶螟 *Cnaphalocrocis medinalis* 为害后, 其挥发物组分的释放量增加, 并诱导产生一些新的化合物, 虽然两者诱导的挥发物总量没有显著差异, 但在特定挥发物的种类与释放量与上差异显著。此外, 斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 为害也能显著增加水稻挥发物的释放 (徐涛等, 2002)。值得注意的是, 褐飞虱为害水稻后, 挥发物的产生和释放存在时间上的滞后性, 受褐飞虱为害 1-2 d 的水稻植株与机械损伤或健康稻株的挥发物含量没有明显差异, 而在受害 3-5 d 后, 挥发物含量上升, 这可能与褐飞虱的危害方式和口器类型有关 (徐涛等, 2002)。

挥发物在昆虫的寄主选择行为中发挥着重要作用 (Khan and Saxena, 1985; 胡国文等, 1994; 戴建青等, 2010; Chen *et al.*, 2022)。本研究验证的 20 种挥发物中, 11 种对褐飞虱有显著吸引作用, 5 种具有排斥作用, 3 种物质对褐飞虱低浓度吸引, 高浓度排斥。已有研究表明, 芳樟醇、2-庚酮、D-柠檬烯和 β -石竹烯等物质对褐飞虱有引诱作用 (卢海燕, 2010; 卢海燕等, 2010; Xiao *et al.*, 2012; 张献英等, 2014)。这些挥发物不仅对褐飞虱有吸引作用, 对其他昆虫也有影响, 如芳樟醇对草地贪夜蛾 *S. frugiperda* (徐丽萍等, 2018) 和烟粉虱隐种 *Bemisia tabaci* (陈振达等, 2018) 具有显著吸引作用, 且能显著诱导捕食性天敌雄性拟环纹豹蛛 *Pardosa pseudoannulata* (肖榕等, 2018) 和稻虱缨小蜂 *Anagrus nilaparvatae* (Hu *et al.*, 2020); D-柠檬烯对捕食

性天敌黑肩绿盲蝽 *Cyrtodinus lividipennis* 有驱避作用, 可引起小菜蛾盘绒茧蜂 *Cotesia plutellae* 触角电位差异, 对其有趋性选择行为 (肖榕等, 2018), 并对桔小实蝇 *Bactrocera dorsalis* 寄生蜂切割潜蝇茧蜂 *Psytalia incisi*、布氏潜蝇茧蜂 *Fopius vandenboschi* 和长尾潜蝇茧蜂 *Diachasmimorpha longaudata* 产生触角电位反应 (涂蓉, 2012); β -石竹烯对稻飞虱卵期寄生蜂稻虱缨小蜂具有明显的引诱作用 (Cheng *et al.*, 2007; 戈林泉, 2008), 也对二化螟盘绒茧蜂 *C. chilonis* 有显著的引诱作用 (张宇皓, 2016)。本研究发现, 水杨酸甲酯对褐飞虱有驱避作用, 与卢海燕 (2010) 和 Xiao 等 (2012) 研究结果一致。水杨酸甲酯在吸引取食昆虫金黄眼螟蛉 *Chrysopa oculata* 的天敌上发挥着重要作用 (James, 2005), 能够吸引捕食性天敌七星瓢虫 *Coccinella septempunctata*、草蛉 *Chrysopa carnea*、食蚜蝇 *Episyrphus balteatus* 和捕食螨 *Phytoseiulus persimilis* (De Boer and Dicke, 2004; James and Price, 2004; Zhu and Park, 2005)。由此可见, 这些化合物不仅在害虫的寄主选择行为中发挥着重要的作用, 在调控天敌方面也起着非常重要的作用。

筛选并调控对靶标昆虫及其天敌具有显著作用的挥发物, 是绿色防控研究中至关重要的一环。本研究聚焦于昆虫为害后的抗虫与敏感水稻, 成功筛选出能够影响褐飞虱选择行为的特定挥发物, 这一发现为深入挖掘褐飞虱的引诱剂与驱避剂奠定了基础, 有望为农业害虫的绿色防控提供新的策略与手段。

参考文献 (References)

- Chen P, Dai CG, Liu H, Hou ML, 2022. Identification of key headspace volatile compounds signaling preference for rice over corn in adult females of the rice leaf folder *Cnaphalocrocis medinalis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(32): 9826–9833.
- Chen P, Liu DD, Xiu XJ, Yu J, Hou ML, 2022. Corn and rice volatile components eliciting olfactory responses in *Spodoptera frugiperda*. *Plant Protection*, 48(3): 90–97, 110. [陈萍, 刘丹丹, 修小鉴, 于晶, 侯茂林, 2022. 对草地贪夜蛾有嗅觉生理活性的玉米和水稻挥发物组分. *植物保护*, 48(3): 90–97, 110.]
- Chen ZD, Wang Z, Wang L, Song XM, Zhou GX, Lou YG, 2018.

- Establishment of a screening system for active chemicals based on activity detection of rice lipoxygenase OsRCI-1. *Journal of Plant Protection*, 45(51): 1061–1068. [陈振达, 王喆, 王璐, 宋旭明, 周国鑫, 姜永根, 2018. 靶向水稻脂氧合酶 OsRCI-1 的活性小分子化合物筛选体系的建立. 植物保护学报, 45(51): 1061–1068.]
- Cheng AX, Xiang CY, Li JX, Yang CQ, Hu WL, Wang LJ, Lou YG, Chen XY, 2007. The rice (*E*)- β -caryophyllene synthase (OsTPS3) accounts for the major inducible volatile sesquiterpenes. *Phytochemistry*, 68(12): 1632–1641.
- Dai JQ, Han SC, Du JW, 2010. Progress in studies on behavioural effect of semiochemicals of host plant to insects. *Journal of Environmental Entomology*, 32(3): 407–414. [戴建青, 韩诗畴, 杜家纬, 2010. 植物挥发性信息化学物质在昆虫寄主选择行为中的作用. 环境昆虫学报, 32(3): 407–414.]
- De Boer JG, Dicke M, 2004. The role of methyl salicylate in prey searching behavior of the predatory mite *Phytoseiulus persimilis*. *Journal of Chemical Ecology*, 30(2): 255–271.
- Denno RF, Peterson MA, Gratton C, Cheng JA, Langellotto GA, Huberty AF, Finke DL, 2000. Feeding-induced changes in plant quality mediate interspecific competition between sap-feeding herbivores. *Ecology*, 81(7): 1814–1827.
- Du JW, 2001. Plant-insect chemical communication and its behavior control. *Acta Phytophysiologica Sinica*, 27(3): 193–200. [杜家纬, 2001. 植物-昆虫间的化学通讯及其行为控制. 植物生理学报, 27(3): 193–200.]
- Faeth SH, 1986. Indirect interactions between temporally separated herbivores mediated by the host plant. *Ecology*, 67(2): 479–494.
- Ge LQ, 2008. Cloning and prokaryotic expression of genes encoding OsCAS or OsLIMS and their genetic transformation. Master dissertation. Yangzhou: Yangzhou University. [戈林泉, 2008. 水稻 β -石竹烯和柠檬烯基因的克隆鉴定、原核表达及其遗传转化. 硕士学位论文. 扬州: 扬州大学.]
- Gunathilagaraj K, Chelliah S, 1985. Components of resistance to the whitebacked planthopper, *Sogatella furcifera* (Horvath), in some rice varieties. *Tropical Pest Management*, 31(1): 38–46.
- Han LZ, Li SB, Liu PL, Peng YF, Hou ML, 2012. New artificial diet for continuous rearing of *Chilo suppressalis* (Lepidoptera: Crambidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 105(2): 253–258.
- Hu GW, Liang TC, Liu GJ, Lou XH, Ma JF, Wu GS, Tang J, 1994. The extraction, chemical analysis and bioassays of secondary volatiles from rice varieties susceptible and resistant to the whitebacked plant-hopper, *Sogatella furcifera* (Horvath) (Homoptera: Delphacidae). *Chinese Journal of Rice Science*, 8(4): 223–230. [胡国文, 梁天锡, 刘光杰, 楼小华, 马巨法, 吴国生, 唐健, 1994. 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, 8(4): 223–230.]
- Hu XY, Su SL, Liu QS, Jiao YY, Peng YF, Li YH, Turlings TCJ, 2020. Caterpillar-induced rice volatiles provide enemy-free space for the offspring of the brown planthopper. *eLife*, 9: e55421.
- James DG, 2005. Further field evaluation of synthetic herbivore-induced plant volatiles as attractants for beneficial insects. *Journal of Chemical Ecology*, 31(3): 481–495.
- James DG, Price TS, 2004. Field-testing of methyl salicylate for recruitment and retention of beneficial insects in grapes and hops. *Journal of Chemical Ecology*, 30(8): 1613–1628.
- Jiao YY, Hu XY, Wu KM, Romeis J, Li YH, 2018. Bt rice plants may protect neighbouring non-Bt rice plants against the striped stem borer, *Chilo suppressalis*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 285(1883): 20181283.
- Kaplan I, Denno RF, 2007. Interspecific interactions in phytophagous insects revisited: A quantitative assessment of competition theory. *Ecology Letters*, 10(10): 977–994.
- Khan ZR, Saxena RC, 1984. Technique for demonstrating phloem or xylem feeding by leafhoppers (Homoptera: Cicadellidae) and planthoppers (Homoptera: Delphacidae) in rice plant. *Journal of Economic Entomology*, 77(2): 550–552.
- Khan ZR, Saxena RC, 1985. Effect of steam distillate extract of a resistant rice variety on feeding behavior of *Nephotettix virescens* (Homoptera: Cicadellidae). *Journal of Economic Entomology*, 78(3): 562–566.
- Kobayashi T, 2016. Evolving ideas about genetics underlying insect virulence to plant resistance in rice-brown planthopper interactions. *Journal of Insect Physiology*, 84: 32–39.
- Liu GJ, Wilkins R, Saxena R, 1995. Utilization of sugars from susceptible and resistant rice varieties by the whitebacked planthopper, *Sogatella furcifera* (Horvath) (Homoptera: Delphacidae). *Acta Entomologica Sinica*, 38(4): 421–427. [刘光杰, Wilkins R, Saxena R, 1995. 白背飞虱对不同抗性水稻糖类物质的利用. 昆虫学报, 38(4): 421–427.]
- Liu QS, Hu XY, Su SL, Ning YS, Peng YF, Ye GY, Lou YG, Turlings TCJ, Li YH, 2021. Cooperative herbivory between two important pests of rice. *Nature Communications*, 12: 6772.
- Lou YG, Cheng JA, 2000. Herbivore-induced plant volatiles: Primary characteristics, ecological functions and its release mechanism. *Acta Ecologica Sinica*, 20(6): 1097–1106. [姜永根, 程家安, 2000. 虫害诱导的植物挥发物: 基本特性, 生态学功能及释放机制. 生态学报, 20(6): 1097–1106.]
- Lou YG, Hu LF, Li JC, 2015. Herbivore-induced defenses in rice and their potential application in rice planthopper management// Heong KL, Cheng J, Escalada MM (eds.). *Rice Planthoppers: Ecology, Management, Socio Economics and Policy*. Dordrecht: Springer Netherlands. 91–115.
- Lu HP, Luo T, Fu HW, Wang L, Tan YY, Huang JZ, Wang Q, Ye GY, Gatehouse AMR, Lou YG, Shu QY, 2018. Resistance of rice to insect pests mediated by suppression of serotonin biosynthesis. *Nature Plants*, 4(6): 338–344.
- Lu HY, 2010. The influence of pesticides on rice plant volatiles and its ecological effects. Doctor dissertation. Yangzhou: Yangzhou University. [卢海燕, 2010. 稻田常用农药对水稻挥发物释放的影响及其生态效应. 博士学位论文. 扬州: 扬州大学.]

- Lu HY, Liu F, Zhu SD, Zhang Q, 2010. Effects of azadirachtin on rice plant volatiles induced by *Nilaparvata lugens*. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 21(1): 197–202. [卢海燕, 刘芳, 祝树德, 张青, 2010. 印楝素对褐飞虱诱导的水稻植株挥发物释放的影响. 应用生态学报, 21(1): 197–202.]
- Mo XC, Lou YG, 2016. Review of the use of naturally occurring, ecologically active chemicals to regulate insect pests in rice crops. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 53(3): 435–445. [莫晓畅, 娄永根, 2016. 水稻害虫化学生态调控研究进展. 应用昆虫学报, 53(3): 435–445.]
- Poelman EH, Dicke M, 2014. Plant-mediated interactions among insects within a community ecological perspective// Voelckel C, Jander G (eds.). *Insect Plant Interactions*. Chichester UK: John Wiley & Sons. 309–338.
- Schuman MC, Baldwin IT, 2016. The layers of plant responses to insect herbivores. *Annual Review of Entomology*, 61: 373–394.
- Sogawa K, Pathak MD, 1970. Mechanisms of brown planthopper resistance in Mudgo variety of rice (Hemiptera: Delphacidae). *Applied Entomology and Zoology*, 5(3): 145–158.
- Stam JM, Kroes A, Li YH, Gols R, van Loon JJA, Poelman EH, Dicke M, 2014. Plant interactions with multiple insect herbivores: From community to genes. *Annual Review of Plant Biology*, 65: 689–713.
- Tu R, 2012. Study on behavior responses of *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ant its larval parasitoids to their host volatiles. Doctor dissertation. Fuzhou: Fujian Agricultural and Forestry University. [涂蓉, 2012. 桔小实蝇及其幼虫寄生蜂的嗅觉行为研究. 博士学位论文. 福州: 福建农林大学.]
- Wang P, 2011. Screening and primary field evaluation of infochemicals manipulating behavioral responses of rice brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stål) and its egg parasitoid *Anagrus nilaparvatae*. Master dissertation. Hangzhou: Zhejiang University. [汪鹏, 2011. 调控褐飞虱及其天敌稻虱缨小蜂行为的活性化合物筛选及其田间效果的初步测定. 硕士学位论文. 杭州: 浙江大学.]
- Wang XL, Su SL, Hu XY, Yin XM, Li YH, 2023. The behavioral response of *Nilaparvata lugens* to rice volatiles induced by *Chilo suppressalis*. *Chinese Journal of Biological Control*, 39(4): 970–977. [汪晓龙, 苏双丽, 胡晓云, 尹新明, 李云河, 2023. 褐飞虱对二化螟为害诱导水稻挥发物的行为反应. 中国生物防治学报, 39(4): 970–977.]
- Wang XY, Liu QS, Meissle M, Peng YF, Wu KM, Romeis J, Li YH, 2018. Bt rice could provide ecological resistance against nontarget planthoppers. *Plant Biotechnology Journal*, 16(10): 1748–1755.
- Xiao R, Cao YS, Wu H, Zhang GR, 2018. Identification of the attractive compounds for wolf spider *Pardosa pseudoannulata* from the herbivore-induced rice volatiles. *Journal of Plant Protection*, 45(5): 1021–1027. [肖榕, 曹营帅, 武韩, 张古忍, 2018. 从虫害诱导水稻挥发物中筛选对拟环纹豹蛛有引诱活性的化合物. 植物保护学报, 45(5): 1021–1027.]
- Xiao Y, Wang Q, Erb M, Turlings TCJ, Ge L, Hu L, Li J, Han X, Zhang T, Lu J, Zhang G, Lou Y, 2012. Specific herbivore-induced volatiles defend plants and determine insect community composition in the field. *Ecology Letters*, 15(10): 1130–1139.
- Xu LP, Li H, Lou YG, 2018. Research progress on early signaling events in plant-herbivore interactions. *Journal of Plant Protection*, 45(5): 928–936. [徐丽萍, 李恒, 娄永根, 2018. 植物-植食性昆虫互作关系中早期信号事件研究进展. 植物保护学报, 45(5): 928–936.]
- Xu T, Zhou Q, Xia Q, Zhang WQ, Zhang GR, Gu DX, 2002. Effect of rice volatiles induced by insect infestation on host selection behavior of brown planthopper. *Chinese Science Bulletin*, 47(15): 849–853. [徐涛, 周强, 夏婧, 张文庆, 张古忍, 古德祥, 2002. 虫害诱导的水稻挥发物对褐飞虱寄主选择行为的影响. 科学通报, 47(15): 849–853.]
- Yan F, 2009. Interactions of insect pests through rice and acquirement of the mutant of rice-related gene *OsPLK*. Doctor dissertation. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University. [闫锋, 2009. 水稻介导的害虫互作及相关水稻基因 *OsRLK* 突变体获得. 博士学位论文. 呼和浩特: 内蒙古农业大学.]
- Yu XP, Wu GR, Hu C, 1989. The rice varietal resistance to whitebacked planthopper (*Sogatella furcifera*) and the relationship between the nutrients in rice plants and the varietal resistance. *Chinese Journal of Rice Science*, 3(2): 56–61. [俞晓平, 巫国瑞, 胡萃, 1989. 水稻品种对白背飞虱的抗性及其与稻株营养成分的关系. 中国水稻科学, 3(2): 56–61.]
- Yuan LY, Li YF, Xiao HX, Qi GJ, Zhang ZF, 2022. Research progress on mechanism of virulence of the brown planthopper (Hemiptera: Delphacidae). *Journal of Environmental Entomology*, 44(2): 297–304. [袁龙宇, 李燕芳, 肖汉祥, 齐国君, 张振飞, 2022. 褐飞虱致害性变异机制研究进展. 环境昆虫学报, 44(2): 297–304.]
- Zhang XY, Huo ZG, You CY, Hu F, 2014. Effects of volatiles in twenty non-host plants on the repellent and attractive behaviors of brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Journal of South China Agricultural University*, 35(3): 63–68. [张献英, 霍治国, 犹昌艳, 胡飞, 2014. 20 种非寄主植物挥发物对褐飞虱拒避与引诱行为的影响. 华南农业大学学报, 35(3): 63–68.]
- Zhang YH, 2016. Study on attractant effect of rice volatiles on *Chilo suppressalis* and rice parasitoid wasps. Master dissertation. Hangzhou: Zhejiang University. [张宇皓, 2016. 水稻挥发物对二化螟及稻田寄生蜂的引诱效果研究. 硕士学位论文. 杭州: 浙江大学.]
- Zhou Q, Xu T, Zhang GR, Gu DX, Zhang WQ, 2003. Repellent effects of herbivore-induced rice volatiles on the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål. *Acta Entomologica Sinica*, 46(6): 739–744. [周强, 徐涛, 张古忍, 古德祥, 张文庆, 2003. 虫害诱导的水稻挥发物对褐飞虱的驱避作用. 昆虫学报, 46(6): 739–744.]
- Zhu JW, Park KC, 2005. Methyl salicylate, a soybean aphid-induced plant volatile attractive to the predator *Coccinella septempunctata*. *Journal of Chemical Ecology*, 31(8): 1733–1746.