

胭脂虫寄生前后梨果仙人掌挥发性物质的变化^{*}

张雯雯 郑 华^{**} 张 弘 陈晓鸣 郭元亨

(中国林业科学研究院资源昆虫研究所 国家林业局资源昆虫培育与利用重点实验室 昆明 650224)

摘 要 为了研究胭脂虫 *Dactylopius coccus* Costa 寄生前后梨果仙人掌 (*Opuntia ficus-indica* Mill) 挥发性物质的变化, 以动态顶空密闭循环吸附捕集法捕集胭脂虫寄生前后梨果仙人掌的挥发物, 并运用全自动热脱附-气相色谱/质谱 (ATD-GC/MS) 联用技术进行分析检测, 用峰面积归一化法测定其相对含量。结果表明, 无虫梨果仙人掌的挥发物中共检测到 8 种化合物, 有虫的梨果仙人掌中共检测到 9 种化合物, 化合物的种类和含量都有一定的变化; 萜烯类是植食昆虫诱导的植物挥发性次生物质中的主要成分, 本试验中, 萜烯类在胭脂虫寄生前后的含量由 23.12% 降为 6.98%。在无虫仙人掌的挥发物中检测出苯甲醛, 含量约占 1.73%, 有虫的仙人掌中则未检测到; 同样在有虫仙人掌挥发物中检出的其他物质如酯类 (21.15%)、醇类 (1.79%) 和卤代芳烃类 (1.51%) 物质在无虫仙人掌植株中都未检测出。

关键词 胭脂虫, 仙人掌, 挥发物, 全自动热脱附-气相色谱/质谱 (ATD-GC/MS)

Volatile changes of *Opuntia ficus-indica* Mill before and after parasitizing by *Dactylopius coccus* Costa

ZHANG Wen-Wen ZHENG Hua^{**} ZHANG Hong CHEN Xiao-Ming GUO Yuan-Heng

(Key Laboratory of Cultivation and Utilization of Resource Insects, State Forestry Administration,

Research Institute of Resource Insects, Chinese Academy of Forestry, Kunming 650224, China)

Abstract Volatile components from *Opuntia ficus-indica* Mill parasitized by *Dactylopius coccus* Costa were closely and circularly head-space sampled within adsorptive tubes, then analyzed by auto thermal-desorption gas chromatography/mass spectrometry (ATD-GC/MS). Eight kinds of compounds were detected in the volatiles collected from unparasitized *O. ficus-indica*, and 9 kinds from those parasitized by *D. coccus*. The volatile components from parasitized and unparasitized plants differed in variety and content. Terpenes are the major components in herbivore-induced plant volatiles. In this experiment, terpenes reduced from 23.12% to 6.98% after parasitization by *D. coccus*. Benzaldehyde (1.73%) was only detected in healthy plants while esters (21.15%), alcohols (1.79%) and aromatic hydrocarbons (1.51%) were detected in parasitized plants.

Key words *Dactylopius coccus*, *Opuntia ficus-indica*, volatile, auto thermal-desorption gas chromatography/mass spectrometry (ATD-GC/MS)

胭脂虫 *Dactylopius coccus* Costa 是一种重要的工业原料昆虫, 以仙人掌为寄主, 能够以仙人掌的叶状茎为食 (张忠和等, 2002)。胭脂虫体内含有的胭脂虫红酸 ($C_{22}H_{20}O_{13}$) 是一种蒽醌类物质, 其理化性质稳定, 广泛地用于食品、化妆品、药品等多种行业中。对于胭脂虫与其寄主植物仙人掌的关系有一些研究报道, 李勇等 (2010) 发现 1 年生

和 2 年生仙人掌最适合胭脂虫雌成虫寄生生长并且所含胭脂红色素总量最多; 张忠和等 (2004) 研究得出仙人掌的表皮越厚, 胭脂虫的生长越差, 而胭脂虫的寄生能刺激仙人掌维管束的发育; 冷锋等 (2010) 发现胭脂虫寄生对寄主仙人掌株高、茎片数量和面积有明显的抑制作用。对于植食昆虫诱导的植物挥发物的变化已经做了很多研究。闫

^{*} 资助项目: 中国林业科学研究院资源昆虫研究所中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金 (Riricaf 200903 Z)。

^{**} 通讯作者, E-mail: hua-zheng@sohu.com

收稿日期: 2011-01-24, 接受日期: 2011-03-25

锋等(2010)发现二化螟和稻纵卷叶螟的为害均能导致水稻挥发物总量和大多挥发物组分释放量的上升,二化螟幼虫危害能诱导水稻释放 2-heptanone, 1(E)-linalool oxide 和 2 种未知挥发物组分,稻纵卷叶螟则可诱导水稻产生 4 种新化合物;杨广等(2004)也研究得出小菜蛾咬食后青菜释放的挥发性化学物质成分多为分子量较大的物质,主要为烷烃和芳烃,种类比未受伤害的高 3 倍;王琛柱(2007)发现寄生蜂能利用植物被寄生后释放的己醇来搜寻寄主。以上的研究都表明植食昆虫诱导能使寄主植物的挥发性物质发生一些变化,本试验就针对胭脂虫寄生前后寄主梨果仙人掌挥发物的变化进行研究,采用动态顶空密闭循环吸附捕集法捕集胭脂虫寄生前后梨果仙人掌的挥发物,再利用全自动热脱附-气相色谱/质谱(ATD-GC/MS)联用技术进行分析检测,此法已经在水果香气等方面得到应用(郑华等,2009;张雯雯等,2010),它能真正捕捉到嗅觉的气味而非溶剂萃取物,通过本试验,一方面可以阐明梨果仙人掌的挥发性物质的化学成分,为今后的深度开发利用提供依据,另一方面通过比较胭脂虫寄生前后梨果仙人掌挥发物组分的变化,希望为今后研究梨果仙人掌的防御机制和胭脂虫以及其寄主梨果仙人掌的关系提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

梨果仙人掌(*Opuntia ficus-indica* Mill)活体植株,生长于云南省禄丰县(25.28°N, 102.21°E)境内,由中国林业科学研究院资源昆虫研究所滇中高原试验站(海拔 1 844 m)提供;胭脂虫引自南美,由中国林业科学研究院资源昆虫研究所滇中高原实验站提供;吸附剂 Tenax-GR,进口分装,填充于美国 Varian 公司 ϕ 6 mm $\times$ 160 mm 玻璃管中;采集袋为 406 mm $\times$ 444 mm 微波专用袋,美国 Reynolds 公司。

1.2 仪器与设备

QC-1 型大气采样仪(配有便携式充电器和手提箱)(北京市劳动保护科学研究所);HT6890 型热解吸仪活化定标器(山东鲁南瑞虹化工有限公司);Clarus 600 气相色谱/Clarus 600T 质谱联用仪(配有 TurboMatrix 650 全自动热脱附(ATD)及

TurboMass 5.4.2 数据处理系统)(美国 Perkin Elmer 公司)。

1.3 测试方法

1.3.1 挥发物捕集 采用文献(郑华,2002;郑华等,2003)报道的动态顶空密闭循环式吸附捕集法,将采集袋分别套在自然生长状态下无虫和放有胭脂虫的仙人掌上,用大气采样仪排空袋内原有气体并泵入经活性炭过滤的洁净空气,再密闭循环捕集仙人掌的挥发物样品,保持时间、吸附剂和气流等条件一致,样品采集时间为 30 min。

1.3.2 热脱附进样 载气(恒流模式)流速:2.0 mL/min;样品管温度(一级热脱附温度):260℃,加热 10 min;一级热脱附过程中冷阱温度:-30℃;一级至二级热脱附过程中冷阱升温速率:40℃/s;二级热脱附温度:300℃,保持 5 min;热脱附方式:进口分流,一般干吹,时间 1 min;脱附流量:2 520 mL/min;入口分流流量:1 520 mL/min;出口分流流量:20 mL/min。

1.3.3 色谱分离条件 色谱柱:Elite-5 MS 毛细柱(30 m $\times$ 0.32 mm, 0.25 μ m);升温程序:40℃保持 2 min,以 6℃/min 升至 130℃,保持 5 min,再以 15℃/min 升至 280℃,保持 5 min。

1.3.4 质谱检测条件 离子源温度 220℃;接口温度 250℃;扫描速度:每次扫描时间 0.2 s,恢复时间 0.1 s;扫描质荷比范围(m/z):29~600。

1.3.5 谱图检索及成分鉴定 由 ATD-GC/MS 操作得到样品质谱相对丰度图及总离子流(TIC)图。将 TIC 图中各峰代表的化学信息利用专用软件 Turbomass Ver5.4.2 和标准谱库 NIST08,结合经典气相色谱保留时间数据和相关化学经验,进行仙人掌挥发物中各化学成分的鉴定,并用峰面积归一化法计算各化合物在总挥发物组分中的相对百分含量。

2 结果与分析

2.1 仙人掌挥发物的基本成分

无虫仙人掌和有虫仙人掌的挥发物总离子流图(TIC)见图 1,2 所示,成分检测结果见表 1,其中,二者共有组分的保留时间不完全一致,但差值都在 0.02 min 以内,表 1 中的保留时间采用的是无虫仙人掌的谱图检测结果;表 1 中仅列出符合度(最大值为 1 000)大于 800 的化合物。

表 1 胭脂虫寄生前后仙人掌挥发物 GC-MS 分析结果
Table 1 The results of *Opuntia ficus-indica* before and after parasitizing by *Dactylopius coccus*

化合物名称 Compound	保留时间 Retention time (min)	无虫仙人掌 Unparasitized <i>O. ficus-indica</i>			有虫仙人掌 Parasitized <i>O. ficus-indica</i>		
		符合度 Conformity		相对百分 含量 Relative percentage (%)	符合度 Conformity		相对百分 含量 Relative percentage (%)
		反匹配度 Reverse matching	正匹配度 Matching		反匹配度 Reverse matching	正匹配度 Matching	
正戊烷 <i>n</i> -pentane	1.394	—	—	—	928	890	11.26
异丁烷 Isobutane	1.404	902	877	7.30	—	—	—
甲氧基乙酸戊酯 Methoxyacetic acid, pentyl ester	1.594	—	—	—	822	818	21.15
α -蒎烯 α -pinene	6.300	990	982	20.96	989	978	6.98
苯甲醛 Benzaldehyde	7.021	970	964	1.73	—	—	—
1,3-二氯苯 Benzene, 1,3-dichloro	8.296	—	—	—	987	975	1.51
2-甲基对苯醌 <i>p</i> -benzoquinone, 2-methyl	8.346	991	988	11.20	982	971	6.66
桉烯 Sabinene	8.711	958	860	2.16	—	—	—
2-乙基己醇 1-hexanol, 2-ethyl	8.736	—	—	—	972	860	1.79
2-乙基对苯醌 <i>p</i> -benzoquinone, 2-ethyl	10.597	967	944	25.43	970	953	21.55
二乙二醇丁醚 Ethanol, 2-(2-butoxyethoxy)	12.543	994	960	6.24	993	955	11.48
1-十三碳烯 1-tridecene	15.014	989	984	8.64	990	985	8.80

注：“—”表示未检测到该物质。The dash (—) indicates that the compound had not been detected in the volatiles.

在未被胭脂虫寄生的仙人掌挥发物中共检测到 8 种化合物,有虫的仙人掌挥发物中共检测到 9 种化合物,各挥发物名称及相对百分含量如表 1 所示。由表 1 可知,未被胭脂虫寄生的仙人掌挥发物中共检出 83.66% 的化合物,苯醌类物质含量最高,占检测到的物质含量的 36.63%,其中 2-甲基苯醌含量为 11.20%,2-乙基苯醌为 25.43%;其次是烯烃类物质,有萜烯类的 α -蒎烯 (20.96%)、

桉烯 (2.16%) 和非萜烯类的 1-十三碳烯 (8.64%) 3 种,占总量的 31.76%;其他 3 种则分别为异丁烷 (7.30%)、苯甲醛 (1.73%) 和一种羟基醚二乙二醇丁醚 (6.24%)。有虫的仙人掌挥发物中共检测出 91.18% 的化合物,含量最高的物质也是苯醌类,占挥发物总量的 28.21%,同样包含 2-甲基苯醌 (6.66%) 和 2-乙基苯醌 (21.55%) 2 种,但是这 2 种化合物的相对百分含量都有所下降,我们知道

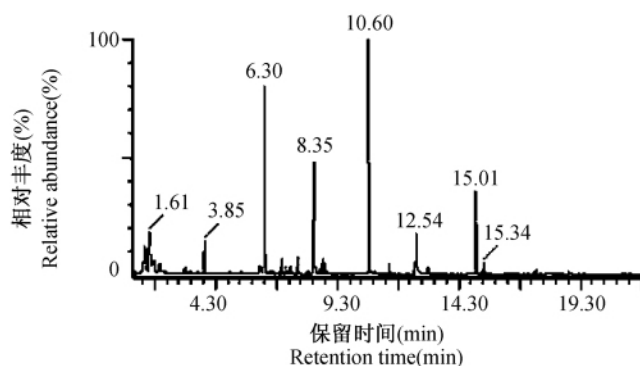


图 1 无虫仙人掌挥发物总离子流图

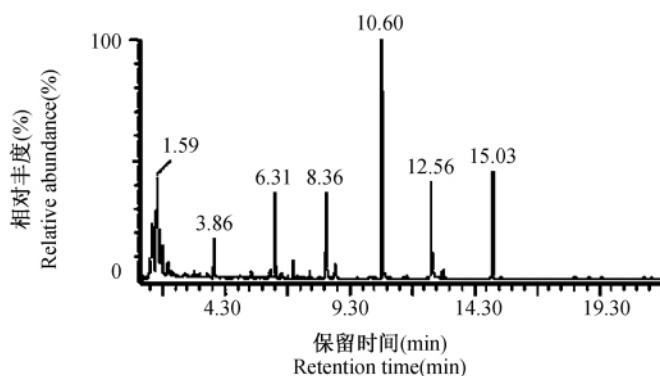
Fig. 1 TIC of volatile components of *Opuntia ficus-indica*

图 2 有虫仙人掌挥发物总离子流图

Fig. 2 TIC of volatile components of *Opuntia ficus-indica* parasitized by *Dactylopius coccus*

胭脂虫体内含有大量的萜醌类物质,而胭脂虫又以仙人掌的叶状茎为食,仙人掌挥发物中所检测到的苯醌类物质是否为胭脂虫体内萜醌类物质合成的前体、生物合成的路径以及胭脂虫体内胭脂虫红酸的含量与其寄主仙人掌挥发物中苯醌类含量的关系还需要进行更深入的研究。有虫的仙人掌挥发物的成分变化比较大,在无虫仙人掌植株挥发物中检测到的异丁烷、苯甲醛和桉烯都没有检测到,取而代之的是正戊烷(11.26%)、甲氧基乙酸异戊酯(21.15%)、1,3-二氯苯(1.51%)和2-乙基己醇(1.79%),尤其是甲氧基乙酸异戊酯,相对百分含量达到了21.15%,其余3种物质 α -蒎烯(6.98%)、二乙二醇丁醚(11.48%)和1-十三碳烯(8.80%)是二者共有的,但只有1-十三碳烯的含量相近,其余2种的相对含量也不同,如 α -蒎烯在无虫仙人掌挥发物中的相对含量高达20.96%,而

在后者中仅含6.98%。

2.2 胭脂虫寄生前后仙人掌挥发物变化

表2中比较了胭脂虫寄生前后仙人掌挥发物的相对百分含量,从总体上看,胭脂虫寄生前后的仙人掌挥发物谱图中检测到的组分含量有所提高,由83.66%增至91.18%,而且挥发物的组成也发生了变化。无虫仙人掌的挥发物中主要是醌类和烯烃类物质,相对百分含量都在30%以上,而被胭脂虫寄生的仙人掌挥发物中同样含有醌类和烯烃类,但是与无虫植株相比含量有所降低,尤其是后者中烯烃类的相对含量仅为无虫仙人掌植株的1/2,这也验证了已有的观点,萜类化合物是植食昆虫诱导的挥发物中的重要组分;有虫仙人掌挥发物中醚类和烷烃类的相对含量都有所增加,而且其中检出的酯类、醇类和卤代芳烃类物质都是在无虫仙人掌植株中未检测出的。

表 2 胭脂虫寄生前后仙人掌挥发物的含量

Table 2 Volatile component of *Opuntia ficus-indica* before and after parasitizing by *Dactylopius coccus*

仙人掌类型 Types of <i>Opuntia</i> <i>ficus-indica</i>	挥发物 总量 (%) The total content of volatiles	醚类 (%) Ethers	烷烃 (%) Alkane	烯烃 (%) Alkene	醌类 (%) Quinones	醛类 (%) Aldehydes	酯类 (%) Esters	醇类 (%) Alcohols	卤代芳 烃 (%) Halogenated hydrocarbon
无虫仙人掌 Unparasitized <i>O. ficus-indica</i>	83.66	6.24	7.30	31.76	36.63	1.73	0	0	0
有虫仙人掌 Parasitized <i>O. ficus-indica</i>	91.18	11.48	11.26	15.78	28.21	0	21.15	1.79	1.51

3 结论与讨论

娄永根和程家安(2000)将植食昆虫诱导后植物挥发物的组成变化大体分为4类:萜类化合物、绿叶气味(植物挥发物中6个碳的醛、醇及其酯类)、含氮化合物和其它化学物质。从仙人掌的挥发物组成来看,烷烃类物质仅有异丁烷1种,卤代芳烃类物质则没有检测出,萜类物质相对百分含量很高,但仅有 α -蒎烯和桉烯2种,其它物质如醌、醛和醚类都占有一定的比例,这些结果与以往报道的植物挥发性成分主要是萜烯类和绿叶气味物质(娄永根和程家安,2000)有一定的区别。

有虫仙人掌挥发物中组分种类和含量都有很大变化,烷烃类仍然只有1种,但是由异丁烷变为正戊烷,而且含量也由7.30%增加为11.26%;萜烯类含量的变化很大,总类仅有 α -蒎烯1种,含量不到无虫植株的1/3,萜类化合物是植食昆虫诱导的植物挥发物中的一个重要组分,含量变化的增减主要与不同的植物和昆虫组合有关(娄永根和程家安,2000),至于本文中蒎烯含量的变化是使植食性昆虫产生逃避还是趋向行为还有待进一步研究。检出的其他物质如酯类、醇类和卤代芳烃类物质都是在无虫植株(Arimura *et al.*, 2000)中未检测出的。有研究指出受害虫危害的植物挥发物可作为化学信号在同种植物的不同植株之间以及不同植物之间传递(Farmer, 2001),调控植物的防御基因和引诱天敌,从而起到防御害虫的作用,本研究中挥发性物质是否具有同样的作用还需要进一步验证。

无虫仙人掌挥发物中苯醌类的含量最高,而

有虫的仙人掌挥发物中含量最高的物质也是苯醌类,都包含2-甲基苯醌和2-乙基苯醌2种,但是这2种化合物的相对百分含量在有虫仙人掌中都有所下降,总量也由36.63%降至28.21%。由于胭脂虫以取食仙人掌的叶状茎为生,而胭脂虫体内又含有大量的醌类物质,推测胭脂虫体内醌类组分的含量与其寄主仙人掌挥发物中的醌类物质可能存在一定的关系,但对于具体的作用还需要进一步研究。

参考文献(References)

Arimura G, Ozawa R, Shimoda T, Nishioka T, Boland W, Takabayashi J, 2000. Herbivory-induced volatiles elicit defense genes in lima bean leaves. *Nature*, 406 (6795): 512—515.

Farmer EE, 2001. Insight progress: Surface-to-air signals. *Nature*, 411(6839): 854—856.

冷锋, 张忠和, 卢振龙, 叶寿德, 李红高, 王继承, 2010. 胭脂虫寄生对仙人掌生长的影响. *昆虫知识*, 47(3): 552—557.

李勇, 刁毅, 韩洪波, 郑毅, 黄小东, 陈佳, 2010. 仙人掌寄主对胭脂虫生长及胭脂红色素含量的影响. *安徽农业科学*, 38(22): 11701—11703.

娄永根, 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.

王琛柱, 2007. 寄生蜂利用植物受伤后释放的己醇来搜寻寄主. *昆虫知识*, 44(6): 783—783.

闫锋, 汪霞, 吕静, 庞保平, 娄永根, 2010. 二化螟与稻纵卷叶螟幼虫取食诱导的水稻挥发物比较. *昆虫知识*, 47(1): 96—101.

杨广, 尤民生, 魏辉, 2004. 小菜蛾咬食后青菜释放的挥

- 发性物质成分和含量的变化. 应用生态学报, 15(11): 2157—2160.
- 张雯雯, 郑华, 张弘, 李坤, 2010. 缅栀子花朵挥发性成分的全自动热脱附—气相色谱—质谱分析. 食品科学, 31(18): 236—238.
- 张忠和, 石雷, 徐珑峰, 王自力, 2002. 世界胭脂虫的研究和利用概况. 林业科学研究, 15(6): 719—726.
- 张忠和, 石雷, 徐涛, 徐珑峰, 万友铭, 陈晓鸣, 2004. 胭脂虫与寄主仙人掌的关系. 林业科学研究, 17(3): 321—326.
- 郑华, 2002. 北京市绿色嗅觉环境质量评价研究. 博士学位论文. 北京: 北京林业大学.
- 郑华, 金幼菊, 周金星, 李文彬, 2003. 活体珍珠梅挥发物释放的季节性及其对人体脑波影响的初探. 林业科学研究, 16(3): 328—334.
- 郑华, 于连松, 张汝国, 张弘, 甘瑾, 张重权, 2009. 番木瓜果实香气的热脱附—气相色谱/质谱分析. 湖北农业科学, 48(5): 1235—1237.