

# 大豆植株挥发物成份定性分析

刘 健,马凤鸣,赵奎军

(东北农业大学农学院,黑龙江 哈尔滨 150030)

**摘 要:**植物在遭受害虫危害后,可通过改变挥发物浓度或组份以调节第三营养阶层,达到间接防御植食性昆虫目的。借助固相微萃取和气质联用技术,对健康大豆 *Glycine max*、大豆蚜 *Aphis glycines* 及蚜害大豆植株复合物、机械损伤大豆挥发物成分进行了提取和组分分析。共检测出 31 种挥发性化学物质。健康大豆、大豆蚜及蚜害大豆植株复合物、机械损伤大豆挥发物中,均含有十四烷、3,7,11-三甲基-1-月桂醇、2-己基-1-癸醇、十六烷、十五烷、7-环己基-十三烷和 10-甲基十九烷 7 种组份。大豆蚜及蚜害大豆植株复合物、机械损伤大豆挥发物中,含有 1,1-二甲基-2-(3-甲基-1,3-环丙烷)、2,6,10-三甲基-月桂烷和邻苯二甲酸 3 种共有成份。在遭受机械损伤后,大豆植株又可释放 2-甲基-4-戊烯醛、3-己烯-1-醇、(E)-3-庚烯-2-醇、1-辛烯醇、3-辛醇、顺乙酸-3-己烯酯、1,7,7-三甲基-二环[2,2,1]庚二酮、1,1-bis(十二烷基)-十六烷和十八烷 9 种物质。遭受蚜虫危害后,大豆蚜及蚜害大豆植株复合物中可检测出 1,7,7-三甲基-(1R)-二环[2,2,1]庚二酮、3-苯氧基-1-正丙醇、十九醇、1-二十二烯、1-二十六烯、3,7,11-三甲基-癸醇和 2-甲基-二十烷 7 种物质。研究结果为进一步开展大豆挥发物对天敌昆虫的吸引作用研究奠定了基础。

**关键词:**大豆;大豆蚜;挥发物

**中图分类号:**S565.1      **文献标识码:**A      **文章编号:**1000-9841(2009)04-0719-04

## Component Analysis of Volatile Compounds Released from Soybean

LIU Jian, MA Feng-ming, ZHAO Kui-jun

(Agricultural College, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang, China)

**Abstract:** Specific volatile compounds emitted from plants infested by pests could provide a signal to foraging predatory insects about the location of their prey. Understanding the components of volatile compounds of soybean induced by *Aphis glycines* is vital for biological prevention of *Aphis glycines*. Volatile compounds of soybean plants infested by soybean aphid, *A. glycines*, were studied by solid-phase microextraction (SPME) and gas chromatography mass spectrometry (GC-MS), and the compounds were also compared with those of uninfected and artificially damaged plants. It showed that there were altogether thirty-one species of compounds. Tetradecane, 3,7,11-trimethyl-1-dodecanol, 2-hexyl-1-decanol, hexadecane, pentadecane, 7-cyclohexyl-tridecane and 10-methyl-nonadecane were detected in volatiles from health soybean, soybean infested with *A. glycines* and artificially damaged soybean. 1,1-dimethyl-2-(3-methyl-1,3-butadienyl)-cyclopropane, 2,6,10-trimethyl-dodecane and phthalic acid were detected in volatiles from soybean infested with *A. glycines* and artificially damaged soybean. 2-methyl-4-pentenal, 3-hexen-1-ol, (E)-3-hepten-2-ol, 1-octen-ol, 3-octanol, (Z)-3-hexen-1-ol, 1,7,7-trimethyl-bicyclo[2,2,1]heptan-2-one, 1,1-bis(dodecyloxy)-hexadecane and octadecane also could be released by soybean, when the plant were artificially damaged. 1,7,7-trimethyl-(1R)-bicyclo[2,2,1]heptan-2-one, 3-phenoxy-1-propanol, 1-nonadecano, 1-docosene, 1-hexacosene, 3,7,11-trimethyl-1-decanol and 2-methyl-eicosane could be induced, when soybean were infested by *A. glycines*.

**Key words:** *Glycine max*; *Aphis glycines*; Volatile compound

在与植食性昆虫的长期协同进化过程中,植物形成了一系列的防御策略。其可通过释放挥发物表明在自然界的独立存在<sup>[1]</sup>;同时,在遭受害虫危害或机械损伤后,植物更可改变挥发物的浓度或组

收稿日期:2009-05-03

基金项目:国家大豆产业技术体系专项资助项目(ncytx-004);农业部寒地作物生理生态重点开放实验室基金资助项目(2006 年度)。

作者简介:刘健(1977-),男,讲师,博士,现从事大豆害虫综合治理研究。E-mail: jianliu2001@163.com。

通讯作者:赵奎军,教授,博士。E-mail: kjzhao@163.com。

份<sup>[2]</sup>,从而调节第三营养阶层,达到间接防御植食性昆虫目的。研究已明确水稻 *Oryza Sativa*、玉米 *Zea mays* 和棉花 *Gossypium hirsutum* 等多种作物的挥发物成份,并已确定部分挥发物对天敌昆虫具吸引作用<sup>[3-5]</sup>。但关于大豆植株挥发物成份的研究,目前仍少见报道。

植物挥发物的提取有溶剂提取、水蒸气蒸馏、抽气吸附及固相微萃取等多种方法<sup>[6-9]</sup>。相对其它技术,固相微萃取(solid-phase microextraction, SPME)具有进样简便、灵敏度高及二次污染少等多项优点。应用 SPME 技术提取大豆植株挥发物,并借助气质联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)对健康大豆、蚜害大豆及大豆蚜复合物、机械损伤大豆挥发物成份进行了测定与分析,为开展大豆挥发物对天敌昆虫的吸引作用研究奠定了基础;同时,对于进一步明确“大豆-大豆蚜-天敌昆虫”三者间的互作关系也具有一定的参考价值。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 大豆品种 东农 46(东北农业大学大豆研究所提供)。

1.1.2 供试虫源 供试大豆蚜 *Aphis glycines*, 2006 年采自东北农业大学香坊实验实习基地大豆田,气候箱内(25±1℃,相对湿度 70±5%)利用大豆幼苗人工繁殖。

1.1.3 仪器 固相微萃取装置:包括萃取手柄和 DVB/CAR/PMDS(50/30 μm)涂层的萃取头(Supelco 公司,美国)。萃取头使用前,于气相色谱进样口(250℃)清洗 30 min。

气相色谱(GC):GC-2010 型号(Shimadzu 公司),用于清洗固相微萃取头。

气质联用仪(GC-MS):GCMS-QP2010 型号(Shimadzu 公司),用于挥发物成分鉴定。

1.2 方法

1.2.1 大豆挥发物提取 选取受大豆蚜危害、具 3~4 片复叶的大豆植株 40 株,于盆栽土壤中取出转移至 125 mL 已灭菌的玻璃广口瓶中清水培养。广口瓶口以 Parafilm 膜包裹,置于直径 15 cm、高 35 cm 已灭菌的味源玻璃容器内,加盖磨口玻璃盖(上具

直径 3 mm 圆孔),固相微萃取头于玻璃盖上圆孔插入。同时,设置健康大豆、机械损伤大豆(以刀片划割模拟,10 刀/单叶)处理。室温条件下,各气味源分别萃取 30 min 后,立即将萃取头放进气质联用仪热解析和分析。

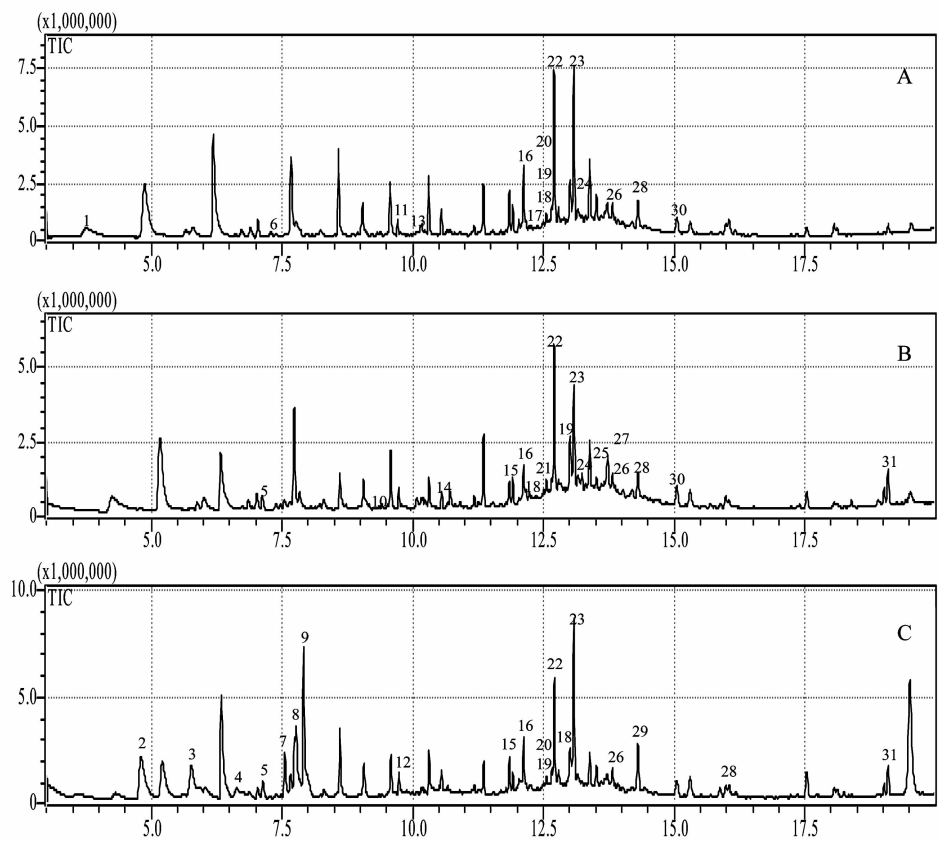
1.2.2 大豆挥发物组分分析 挥发物组分的鉴定借助气质联用仪进行。

气谱以 99.999% 氦气作为载气,流速 30 mL·min<sup>-1</sup>,进样口温度 250℃,无分流进样,SE-54 柱(30 m×0.32 mm×0.25 μm),升温程序为初始温度 50℃、保持 3 min,15℃·min<sup>-1</sup> 速率升温至 190℃、保持 3 min,直至 250℃。质谱采用 EI 电离方式,离子源温度 200℃、四级杆温度 150℃、接口温度 250℃,质谱扫描范围 30~500 amu,扫描频率 5 次·s<sup>-1</sup>,检索谱库为 NIST 和 NIST05。

2 结果与分析

结果表明:健康大豆植株挥发物共含有 15 种组份(图 1-A)。其中十四烷、3,7,11-三甲基-1-月桂醇、2-己基-1-癸醇、十六烷、十五烷、7-环己基-十三烷和 10-甲基十九烷含量较为稳定,各物质在大豆蚜及蚜害大豆植株复合物、机械损伤大豆植株中同样可被检出(图 1-B,C)。另外 8 种组成物质分别为二环庚二烯、环丙烷、二环[2,2,1]庚二酮、十一烷、2-正丁基-1-辛醇、1,1-bis(十二烷基)-十六烷、1-二十二烯和 2-甲基-二十烷。

大豆蚜及蚜害大豆植株复合物可释放 17 种挥发物(图 1-B),机械损伤大豆可释放 19 种挥发物(图 1-C)。大豆蚜及蚜害大豆植株复合物、机械损伤大豆挥发物中,均含有 1,1-二甲基-2-(3-甲基-1,3-环丙烷)、2,6,10-三甲基-月桂烷和邻苯二甲酸 3 种组份(图 1-B,C)。大豆植株受到机械损伤后,又可释放 2-甲基-4-戊烯醛、3-己烯-1-醇、(E)-3-庚烯-2-醇、1-辛烯醇、3-辛醇、顺乙酸-3-己烯酯、1,7,7-三甲基-二环[2,2,1]庚二酮、1,1-bis(十二烷基)-十六烷和十八烷 9 种物质(图 1-C)。大豆蚜及蚜害大豆植株复合物可释放 1,7,7-三甲基-(1R)-二环[2,2,1]庚二酮、3-苯氧基-1-正丙醇、十九醇、1-二十二烯、1-二十六烯、3,7,11-三甲基-癸醇和 2-甲基-二十烷 7 种物质(图 1-B)。



(A) 健康大豆植株;(B) 大豆蚜及蚜害大豆植株复合物;(C) 机械损伤大豆

(1) 二环庚二烯( $C_7H_8$ ) ;(2) 2- 甲基-4- 戊烯醛( $C_6H_{10}O$ ) ;(3) 3- 己烯-1- 醇( $C_6H_{12}O$ ) ;(4) (E)-3- 庚烯-2- 醇( $C_7H_{14}O$ ) ;(5) 1,1- 二甲基-2- (3- 甲基-1,3- 环丙烷) ( $C_{10}H_{16}$ ) ;(6) 环丙烷( $C_{10}H_{16}$ ) ;(7) 1- 辛烯醇( $C_8H_{16}O$ ) ;(8) 3- 辛醇( $C_8H_{16}O$ ) ;(9) 顺乙酸-3- 己烯酯( $C_8H_{14}O_2$ ) ;(10) 1,7,7- 三甲基- (1R)- 二环[2,2,1] 庚二酮( $C_{10}H_{16}O$ ) ;(11) 二环[2,2,1] 庚二酮( $C_{10}H_{16}O$ ) ;(12) 1,7,7- 三甲基- 二环[2,2,1] 庚二酮( $C_{10}H_{16}O$ ) ;(13) 十一烷( $C_{11}H_{24}$ ) ;(14) 3- 苯氧基-1- 正丙醇( $C_9H_{12}O_2$ ) ;(15) 2,6,10- 三甲基- 月桂烷( $C_{15}H_{32}$ ) ;(16) 十四烷( $C_{14}H_{30}$ ) ;(17) 2- 正丁基-1- 辛醇( $C_{12}H_{26}O$ ) ;(18) 3,7,11- 三甲基-1- 月桂醇( $C_{15}H_{32}O$ ) ;(19) 2- 己基-1- 癸醇( $C_{16}H_{34}O$ ) ;(20) 1,1-bis( 十二烷基) - 十六烷( $C_{40}H_{82}O_2$ ) ;(21) 十九醇( $C_{19}H_{40}O$ ) ;(22) 十六烷( $C_{16}H_{34}$ ) ;(23) 十五烷( $C_{15}H_{32}$ ) ;(24) 1- 二十二烯( $C_{22}H_{44}$ ) ;(25) 1- 二十六烯( $C_{26}H_{52}$ ) ;(26) 7- 环己基- 十三烷( $C_{19}H_{38}$ ) ;(27) 3,7,11- 三甲基- 癸醇( $C_{15}H_{32}O$ ) ;(28) 10- 甲基十九烷( $C_{20}H_{42}$ ) ;(29) 十八烷( $C_{18}H_{38}$ ) ;(30) 2- 甲基- 二十烷( $C_{21}H_{44}$ ) ;(31) 邻苯二甲酸( $C_{24}H_{38}O_4$ )

(A) Health soybean;(B) Soybean infested with *A. glycines*;(C) Mechanical injury soybean

(1) 2,5- norbornadiene;(2) 2- methyl-4- pentenal;(3) 3- hexen-1- ol;(4) (E)-3- hepten-2- ol;(5) 1,1- dimethyl-2- (3- methyl-1,3- butadienyl)- cyclopropane;(6) cyclopropane;(7) 1- octen- ol;(8) 3- octanol;(9) (z)-3- hexen-1- ol;(10) 1,7,7- trimethyl-, -(1R)- bicyclo[2,2,1] heptan-2- one;(11) bicyclo[2,2,1] heptan-2- one;(12) 1,7,7- trimethyl- bicyclo[2,2,1] heptan-2- one;(13) undecane;(14) 3- phenoxy-1- propanol;(15) 2,6,10- trimethyl- dodecane;(16) tetradecane;(17) 2- butyl-1- octanol;(18) 3,7,11- trimethyl-1- dodecanol;(19) 2- hexyl-1- decanol;(20) 1,1- bis( dodecyloxy )- hexadecane;(21) 1- nonadecanol;(22) hexadecane;(23) pentadecane;(24) 1- docosene;(25) 1- hexacosene;(26) 7- cyclohexyl- tridecane;(27) 3,7,11- trimethyl-1- decanol;(28) 10- methyl- nonadecane;(29) octadecane;(30) 2- methyl- eicosane;(31) phthalic acid

图 1 大豆植株挥发物 TIC 图谱

Fig. 1 TIC of volatiles from soybean seedings

3 讨论

结果显示,共检出 31 种挥发性物质,健康大豆植株可释放 15 种挥发性物质(图 1-A),大豆蚜及蚜害大豆植株复合物可释放 17 种挥发物(图 1-B),机械损伤大豆可释放 19 种挥发物(图 1-C)。其中,十四烷、3,7,11- 三甲基-1- 月桂醇、2- 己基-1- 癸醇、十六烷、十五烷、7- 环己基- 十三烷和 10- 甲基十九烷 7

种物质含量较为稳定,在各处理中均有发现(图 1)。

大豆蚜及蚜害大豆植株复合物、机械损伤大豆挥发物中,均含有 1,1-二甲基-2-(3-甲基-1,3-环丙烷)、2,6,10-三甲基-月桂烷和邻苯二甲酸 3 种组份(见图 1-B,C),而在健康大豆植株中并未检出(图 1-A),推断其为大豆植株受到机械损伤后释放出的诱导性物质。试验也发现,健康大豆植株挥发物中的二环[2,2,1]庚二酮并非大豆蚜及蚜害大豆植株复合物、机械损伤大豆挥发物的组分。但在质谱检测中,相应保留时间位置分别检出 1,7,7-三甲基-(1R)-二环[2,2,1]庚二酮及 1,7,7-三甲基-二环[2,2,1]庚二酮两种二环[2,2,1]庚二酮的衍生物(见图 1)。关于相应化合物是否为大豆植株遭受昆虫危害或机械损伤后的诱导物以及其是否为二环[2,2,1]庚二酮衍生后产生尚待进一步试验。此外,大豆蚜及蚜害大豆植株复合物挥发物可释放 1,7,7-三甲基-(1R)-二环[2,2,1]庚二酮等 7 种物质(见图 1-B),推断其可能为大豆蚜自身携带(或释放物质)或为大豆蚜危害诱导大豆产生的特异性产物。虽有试验证明茶蚜 *Toxoptera aurantii* 体表确有挥发物质存在<sup>[10]</sup>,但关于大豆蚜虫体是否可携带或释放挥发性物质仍未见报道。上述假设尚需深入试验证明。

通过定性分析,获得了大豆植株挥发物的基本组份,结果对于相关领域研究工作的顺利开展具有一定的参考价值。但关于相应挥发性物质对大豆蚜的天敌昆虫是否存在吸引作用,仍需开展进一步试验。试验中,供试材料仅为单一大豆品种(东农 46),尚需选用更广泛的材料开展进一步试验以明确不同品种间挥发物的差异性。同时,仅以具 3~4 片三出复叶的大豆植株为材料进行测定,未能对大豆的全生育期挥发物释放情况进行细致分析。处于不同生育期的大豆植株挥发物组份间是否存在差异,仍需开展进一步研究。研究也表明,对于同一植物挥发物,如采用的提取方法不同,结果间往往存在一定的差异性<sup>[9]</sup>。试验中,虽借助 SPME 和 GC-MS,明确了大豆植株挥发物的 31 种组份;但关于挥发物组份是否存在遗漏,尚需应用各相关物质提取方法开展进一步系统研究。

参考文献

[1] Snoeren T A L, De Jong P W, Dicke M. Ecogenomic approach to the role of herbivore-induced plant volatiles in community ecology [J]. *Journal of Ecology*, 2007, 95: 17-26.

[2] D'Alessandro M, Turlings T C J. Advances and challenges in the identification of volatiles that mediate interactions among plants and arthropods [J]. *Analyst*, 2006, 131: 24-32.

[3] 周强, 徐涛, 张古忍, 等. 虫害诱导的水稻挥发物对褐飞虱的驱避作用 [J]. *昆虫学报*, 2003, 46 (6): 739-744. (Zhou Q, Xu T, Zhang G R, et al. Repellent effects of herbivore-induced rice volatiles on the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2003, 46 (6): 739-744. )

[4] Turlings T C J, Tumlinson J H., Heath R R, et al. Isolation and identification of allelochemicals that attract the larval parasitoid, *Cotesia marginiventris* (Cresson), to the microhabitat of one of its hosts [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1991, 17 (11): 2235-2251.

[5] 于惠林, 张永军, 孙国军, 等. 棉铃虫天敌中红侧沟茧蜂 *Microplitis mediator* 对不同处理棉花的趋性行为反应 [J]. *应用与环境生物学报*, 2006, 12 (6): 809-813. (Yu H L, Zhang Y J, Sun G J, et al. Taxis responses of parasitoid *Microplitis mediator* to volatiles of cotton after different treatments [J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2006, 12 (6): 809-813. )

[6] 崔艳红, 巨天珍, 曹军, 等. 加速溶剂提取法测定蔬菜中的多环芳烃和有机氯化物 [J]. *农业环境科学学报*, 2003, 22 (3): 364-367. (Cui Y H, Ju T Z, Cao J, et al. Measurement of semi-volatile organic compounds in vegetables using accelerated solvent extraction [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2003, 22 (3): 364-367. )

[7] 王焱, 叶建仁. 固相微萃取法和水蒸气蒸馏法提取马尾松枝条挥发物的比较 [J]. *南京农业大学学报(自然科学版)*, 2007, 31 (1): 78-80. (Wang Y, Ye J R. A comparison of the volatiles compounds from *Pinus massoniana* twigs extracted by solid phase microextraction and steam distillation [J]. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 2007, 31 (1): 78-80. )

[8] 曹凤勤, 刘万学, 范中南, 等. B 型烟粉虱对三种寄主植物及其挥发物的行为反应 [J]. *昆虫学报*, 2008, 51 (8): 830-838. (Cao F Q, Liu W X, Fan Z N, et al. Behavioural responses of *Bemisia tabaci* B-biotype to three host plants and their volatiles [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2008, 51 (8): 830-838. )

[9] 孙凡, 鲁继红, 李全, 等. 采用固相微萃取-气谱质谱联用技术分析家榆挥发物组成成分 [J]. *东北林业大学学报*, 2008, 36 (5): 55-57. (Sun F, Lu J H, Li L, Zhao K J. Analysis of volatile component of *Ulmus pumila* by solid phase microextraction coupled with GC-MS [J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2008, 36 (5): 55-57. )

[10] 韩宝瑜. 茶蚜体表漂洗物对天敌的引诱活性及组分分析 [J]. *昆虫学报*, 2001, 44 (4): 541-547. (Han B Y. Attractive activity to natural enemies and component analysis of the rinses from tea aphid body surface [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2001, 44 (4): 541-547. )