

· 研究报告 ·

茶树花挥发物对叶蝉三棒缨小蜂的引诱增强效应

穆丹^{1†}, 岂泽华^{1†}, 李沁^{1,2}, 梁可欣¹, 华绍贵¹, 朱星雨¹, 焦梦婕¹, 饶玉春^{2*}, 孙廷哲^{1*}

¹安庆师范大学生命科学学院, 皖西南生物多样性研究与利用安徽省重点实验室, 安庆 246133

²浙江师范大学化学与生命科学学院, 金华 321004

摘要 茶树(*Camellia sinensis*)是我国重要的经济作物。小贯小绿叶蝉(*Empoasca onukii*)是为害茶树的主要害虫之一。叶蝉三棒缨小蜂(*Stethynium empoascae*)是小贯小绿叶蝉的主要卵寄生蜂, 但茶树花对叶蝉三棒缨小蜂的引诱机制尚不明确。基于析因设计的方差分析结果显示, 茶树花可引诱天敌叶蝉三棒缨小蜂, 显著缩短其寄生行为的搜寻时间。茶树花可显著增强叶蝉为害茶梢对缨小蜂的吸引作用, 而对健康茶梢的增强效应不显著。基于气相色谱-质谱(GC-MS)的结果显示, 健康茶梢中的挥发物种类和相对含量较少, 而叶蝉为害茶梢和茶树花中挥发物种类和相对含量显著增多。偏最小二乘法判别分析(PLS-DA)结果显示, 茶树花挥发物具有明显的聚类特征。变量重要性投影结果表明, 17种茶树花挥发物在判别分析中可能起重要作用。行为测定结果显示, α -水芹烯、顺式氧化芳樟醇、反式氧化芳樟醇、苯甲醛和苯乙酮对叶蝉三棒缨小蜂具有显著的引诱效果。研究初步阐明了茶树花通过释放挥发物引诱叶蝉三棒缨小蜂的机制, 为制定叶蝉的生物防治策略提供了理论依据。

关键词 小贯小绿叶蝉, 叶蝉三棒缨小蜂, 茶树, 花挥发物, 偏最小二乘法判别分析(PLS-DA), 气相色谱-质谱(GC-MS), 生物防治

穆丹, 岂泽华, 李沁, 梁可欣, 华绍贵, 朱星雨, 焦梦婕, 饶玉春, 孙廷哲 (2021). 茶树花挥发物对叶蝉三棒缨小蜂的引诱增强效应. 植物学报 56, 559–572.

茶树(*Camellia sinensis*)是我国主要经济作物, 在中国广泛分布, 其种植历史已超过5 000年(Cao, 2013; 林郑和等, 2015; Chen et al., 2016)。茶叶是一种健康饮品并具有丰富的生物学功能(Tang et al., 2019; 董燕梅等, 2020)。茶树害虫小贯小绿叶蝉(*Empoasca onukii*)遍布全国各茶区, 虫害大爆发时可致茶叶减产30%–50%, 每年需进行多次防治, 是为害最严重的茶园害虫(孟召娜等, 2018; 刘丰静等, 2020)。长期以来我国茶园中小绿叶蝉的优势种一直被认为是假眼小绿叶蝉(*E. vitis*) (赵冬香等, 2000)。利用COI和16sRNA作为分子标记进行鉴定, 发现我国茶园中叶蝉的优势种应与东亚地区一致(Fu et al., 2014)。通过与模式标本进行形态学比对, 最终认定我国茶区小绿叶蝉的种名为小贯小绿叶蝉(Qin et al., 2015)。叶蝉三棒缨小蜂(*Stethynium empoascae*)是

小绿叶蝉的卵寄生蜂, 在叶蝉中具有高寄生率(20.0%–77.8%), 且相较于微小裂骨缨小蜂(*Schizophragma parvula*)是优势种(韩宝瑜等, 2009; 韩善捷等, 2016; 潘钺等, 2016; 李飞等, 2020)。尽管具有高寄生率, 但自然条件下叶蝉三棒缨小蜂尚不能实现对小绿叶蝉的生物防治(潘钺等, 2016)。在虫害状态下, 植物可释放虫害诱导的植物挥发物(herbivore-induced plant volatiles, HIPVs), 这些挥发性化合物被称为互利素, 可诱导天敌捕食或寄生害虫, 从而实现间接防御(D'Alessandro et al., 2009; Turlings and Erb, 2018; Aartsma et al., 2019; Sanou et al., 2019)。HIPVs也可作为信息素, 促进植物间信息传递; 周围健康植物可通过感知信息素触发自身的防御反应(左照江等, 2009; Xiu et al., 2019; Zhao et al., 2020; Ye et al., 2021)。因此, 对茶树防御机制的研究将有助于开拓

收稿日期: 2021-05-08; 接受日期: 2021-08-09

基金项目: 国家自然科学基金(No.31971185, No.31800316)、安徽省高校优秀青年人才支持计划重点项目(No.gxyqZD2020031)和一般项目(No.gxyq2018034)及安徽省教育厅自然基金重点项目(No.KJ2017A359)

† 共同第一作者

* 通讯作者。E-mail: ryc@zjnu.cn; confucian007@126.com

新的茶树害虫生物防治途径。

植物可通过有机挥发物(volatile organic compounds, VOCs)与环境中的有机体实现通讯(Bouwmeester et al., 2019)。花挥发物的重要功能之一就是促进昆虫的传粉行为,诱导昆虫在传粉过程中定向飞行(Poveda et al., 2003; Gorden and Adler, 2018; Bouwmeester et al., 2019)。与花的颜色相比,由花的多种香气组分形成的挥发物表达图式(pattern)是一种更为重要的编码方式,可表征刺激信号的特异性(Bouwmeester et al., 2019)。昆虫通过嗅觉神经元感知不同的花挥发物组分,进而以复杂的相互作用模式特异性地识别味源(Schiestl, 2015)。例如,花香对蜜蜂具有一定的引诱作用(陈璇和胡福良, 2009),中华蜜蜂(*Apis cerana*)对低酚类的植物花粉具有一定偏好(Liu et al., 2006)。最新研究显示,茶树花中苯乙酮和芳樟醇等挥发物组分可引诱中华蜜蜂采集茶树花蜜,提高蜜蜂访花数量和到访率(吴国火等, 2020)。除影响传粉行为外,花挥发物也可调控植物的防御反应。例如,拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)花柱头释放的挥发物(E)- β -caryophyllene可抑制细菌*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000增殖(Huang et al., 2012);拟南芥花挥发物中芳樟醇代谢产物可排斥蛾类害虫*Spodoptera littoralis*和*Plutella xylostella*(Boachon et al., 2015);玉米(*Zea mays*)花香气中的萜烯类物质 β -farnesene和(E)- α -bergamotene对蛾类寄生蜂*Cotesia marginiventris*具有强烈的引诱效果(Schnee et al., 2006);白菜型油菜(*Brassica rapa*)花的香气可排斥拟寄生生物粉蝶盘绒茧蜂(*Cotesia glomerata*) (Desurmont et al., 2020)。综上,前人研究仅涉及茶梢挥发物对茶树害虫天敌的引诱或直接防御作用,而茶树花在茶树防御机制中的作用则未见报道。

通过对寄生行为的观察,我们分析了茶树花对叶蝉三棒缨小蜂的引诱效应,发现茶树花可以在叶蝉为害状态下,显著缩短缨小蜂寄生行为的搜寻时间。基于气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)联用的挥发物鉴别和Y形嗅觉仪的行为测定结果表明, α -水芹烯、顺式氧化芳樟醇、反式氧化芳樟醇、苯甲醛和苯乙酮具有显著的引诱效应,对寄生行为产生增效。本研究探讨了茶树花在茶树-小贯小绿叶蝉-叶蝉三棒缨小蜂三级营养关系中

的作用,旨在为小贯小绿叶蝉的生物防治提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料及处理

选取2年生无性系扦插健康茶苗,茶树品种为乌牛早(*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze cv. 'Wuniuzao')。将盆栽茶苗置于防虫网纱笼内培养。采集花溪茶谷茶园(安徽安庆)中有茶树花的茶梢(茶树品种为乌牛早),带回实验室并插入湿润的花泥中,置于防虫网纱笼内培养。采集上述茶园的小贯小绿叶蝉(以下简称叶蝉)种群,在养虫笼内的盆栽茶苗上逐代饲养;采集上述茶园的叶蝉产卵为害茶梢,带回实验室。在体视显微镜下鉴别出叶蝉三棒缨小蜂(以下简称缨小蜂)寄生的叶蝉卵(叶蝉一般产卵于茶梢芽头基部至第5叶叶柄之间的嫩茎皮层内),将基部用保湿脱脂棉包裹,置于直径为18 cm的玻璃培养皿中,培养出羽化的缨小蜂成虫。在体视显微镜下鉴别出雌、雄成蜂,并将未交配的雌、雄成蜂置于直径为9 cm的玻璃培养皿中配对。用滤纸条蘸取10%的蜂蜜水供其补充营养。实验前使其饥饿2小时,用于行为反应。茶苗、茶梢、茶树花、叶蝉和缨小蜂均在温室内培养,光照条件为14小时光照/10小时黑暗,温度为(24 \pm 2) $^{\circ}$ C,相对湿度为(70 \pm 5)%。

将筛选出的17种挥发性化合物作为Y形嗅觉仪行为反应所需味源,这些化合物均购自百灵威公司(纯度 \geq 98%)。以液体石蜡作溶剂,分别配制 10^{-2} 、 10^{-4} 、 10^{-6} g \cdot mL $^{-1}$ 3个浓度梯度的溶液。每次行为反应分别取1 mL溶液装于开口贮样瓶作味源,以等量液体石蜡装于开口贮样瓶作为对照。

1.2 缨小蜂寄生行为反应

将刚完成交尾的叶蝉雌成虫用软毛小画笔接种于盆栽茶苗上,在单个1芽5叶茶梢上接种10头叶蝉,用网纱罩住盆栽茶苗。待叶蝉产卵为害24小时后,用小画笔轻轻扫去叶蝉。取叶蝉产卵为害1芽5叶茶梢(每样本质量2.5 g),置于直径为18 cm的玻璃培养皿中,作为叶蝉为害茶梢(tea shoots infested by tea green leafhopper, TSITGL)。另取无虫害的1芽5叶健康茶梢(intact tea shoots, ITS)作为对照,每样本质量2.5 g。

取花朵初展开的茶树花(tea flower, TF)、未交配处女蜂和已交配雌蜂, 结合上述2种茶梢, 基于3因素2水平析因设计试验, 探讨茶树花对缨小蜂寄生行为的影响。第1因素为茶梢虫害为害状态, 2水平分别为健康茶梢和叶蝉为害茶梢; 第2因素考虑茶树花的有无, 含茶树花组中茶树花的质量为0.5 g; 第3因素为缨小蜂交配状态, 2水平为处女蜂和已交配雌蜂(表1)。缨小蜂的寄生行为可分为搜寻和刺探产卵2个过程。在析因设计中对搜寻时间、刺探产卵时间和总时间进行观察记录, 基于总时间进行方差分析。前期实验显示, 缨小蜂刺探和产卵的时间较短, 且整个过程连贯, 可将其视为一个整体; 未交配处女蜂对茶梢亦有搜寻和刺探行为, 故将其与已交配雌蜂进行比较。每种处理每次引入1头缨小蜂, 在体视显微镜下观察并记录其行为。从缨小蜂进入培养皿后在茶梢上搜寻开始计时, 当其在茶梢茎秆上来回爬行, 并不断用触角拍打茎秆表面, 定义这段时间为搜寻时间; 而后其产卵管刺入茎秆表皮并进行产卵(未交配处女蜂仅观察其刺探行为), 定义这段时间为刺探产卵时间。每处理观察20头缨小蜂。

表1 析因设计方案

Table 1 Details for factorial design

Factor	Level A	Level B
Infestation	Healthy tea shoots (-)	Infested tea shoots (+)
Tea flower	Absent (-)	Present (+)
Mating status	Virgin mymarid (-)	Mated mymarid (+)

1.3 挥发物提取

取花朵初展开的茶树花, 以叶蝉产卵为害茶梢和健康茶梢作为挥发物提取味源。采用动态顶空吸附法, 在玻璃圆柱体(2 000 mL, 直径为80 mm)的主体部分内分别装入健康茶梢、叶蝉产卵为害茶梢和茶树花各50 g, 圆柱体两部分以磨砂口密封; 圆柱体的一端(口径8 mm)连接进气口, 向进气口通入活性炭过滤后的洁净空气; 圆柱体另一端(口径8 mm)连接出气口, 出气口依次连接吸附柱(内含60 mg Super Q)、流量计(流量为240 mL·min⁻¹)和抽气泵(穆丹, 2011)。抽提12小时后, 用200 μ L二氯甲烷(色谱纯)洗脱吸附柱, 淋洗液滴入2 mL贮样瓶内, 加入2 μ L癸酸乙酯(浓度为10⁻⁴ g·mL⁻¹)作为内标, 混合均匀, 置于冰箱冷藏(5°C)备用。每种挥发物提取味源做5次重复。

1.4 挥发物鉴定

使用皖西南产品质量监督检验中心(安徽安庆)的气质联用仪Agilent GC (7890A)-MSD (5975C)分析鉴定挥发物。取1 μ L挥发物提取味源, 不分流进样; 色谱柱为HP-5MS石英毛细管柱(0.25 μ m×250 μ m×30.0 m); GC-MS接口温度、进样口温度分别为280°C和250°C; 柱温从50°C至190°C, 起始温度50°C, 保持5分钟, 再以每分钟3°C升至190°C, 在190°C保持5分钟; 溶剂延迟3分钟; EI离子源, 电离能70 eV; 全扫描频率为每秒2次; 载气为99.999%氦气; 恒定流量为1.0 mL·min⁻¹(穆丹, 2011)。鉴定挥发物组分的检索谱库为NIST08.L。根据每个物质色谱峰对应的质谱图, 参照茶树挥发物相关文献和Agilent化学工作站的标准谱库, 利用进样标准品作为对照, 对挥发物组分进行定性分析。根据每个挥发物组分的积分面积与内标积分面积比值, 计算出挥发物组分的相对定量(Mu et al., 2012)。

1.5 缨小蜂行为测定(Y形嗅觉仪)

筛选出17种挥发物进行Y形嗅觉仪行为测定(Mu et al., 2012; 吴国火等, 2020)。透明无色玻璃Y形管基部和两臂的长度均为10 cm, 两臂夹角90°, 管内径1.0 cm; Y形管两臂顺次连接味源瓶/对照瓶、加湿空气装置、过滤空气装置(内置干燥活性炭)和流量计; 将装有挥发物味源的开口贮样瓶置于味源瓶内, 装有液体石蜡的开口贮样瓶置于对照瓶内; 用抽气泵从Y形管的基部端口开始抽气, 调节流量控制在90 mL·min⁻¹; 行为测定时, 每次从Y形管基部端口引入1头缨小蜂, 缨小蜂顺着Y形管基部逆流前进, 在交叉口选择其中一臂并前行5 cm以上, 视为选择该味源, 超过5分钟无反应者忽略不计(穆丹, 2011)。每种味源的每个浓度梯度分别测定20头缨小蜂。考虑到实际有产卵行为的是已交配雌蜂, 因此该部分实验选择已交配雌蜂进行。行为反应在黑暗的实验室进行, 以Y形管正上方约2 m处白炽灯(15 J·s⁻¹)作为光源。行为反应时间在9:00–15:00, 此时缨小蜂行为能力较强。控制温度为(24±2)°C, 相对湿度为(70±5)%。

1.6 数据统计分析

利用MATLAB软件(版本2018b)进行析因设计方差分

析。运用SIMCA-P软件(版本14.1)进行偏最小二乘法判别分析(partial least squares discrimination analysis, PLS-DA)。对缨小蜂行为的测定,假设味源对缨小蜂无影响,则缨小蜂趋向味源和液体石蜡的机会相等,对缨小蜂趋向味源或液体石蜡进行拟合优度 χ^2 检验。使用MATLAB软件作图。

2 结果与讨论

2.1 茶树花与叶蝉的交互作用对缨小蜂的引诱具有增强效应

叶蝉为害茶梢可通过释放信息物引诱缨小蜂(潘铖等, 2016), 但茶树花对缨小蜂的吸引作用未见报道。基于3因素2水平析因设计试验, 探讨茶树花对缨小蜂寄生行为的影响。结果表明, 叶蝉为害状态($p=7.425\ 1 \times 10^{-7}$)和交配状态($p=0.000\ 3$)均可显著降低寄生行为总时长, 而茶树花对缨小蜂的引诱效应最为显著($p=9.661\ 4 \times 10^{-10}$) (表2)。方差分析结果显示, 茶树花和叶蝉为害具有显著的交互作用($p=0.014\ 2$) (图1)。在处女蜂中, 寄生行为时间随着叶蝉为害状态发生改变, 此变化趋势受茶树花影响形成2条不平行直线, 表明茶树花和叶蝉为害状态具有交互作用(图1A)。在已交配雌蜂中, 茶树花和叶蝉为害亦表现出明显的交互作用(图1B)。方差分析结果表明, 茶树花对缨小蜂的寄生行为具有极显著的增强效应, 同时与叶蝉为害状态具有显著的交互作用。

2.2 叶蝉为害时茶树花对缨小蜂寄生行为的影响

通过进一步研究缨小蜂的寄生行为时间, 结果显示, 各组刺探产卵时间差异不显著($p=0.082\ 0$) (图2B; 表

表2 析因设计方差分析

Table 2 Analysis of variance table for factorial design

Group	Sum of squares	df	Mean square	F	p value
Tea flower	4785.1562	1	4785.1562	42.5105	$9.6614 \times 10^{-10**}$
Infestation	3001.5563	1	3001.5563	26.6653	$7.4251 \times 10^{-7**}$
Mating status	1531.4062	1	1531.4062	13.6047	0.0003**
Tea flower \times Infestation	693.0563	1	693.0563	6.1570	0.0142*
Tea flower \times Mating status	94.5562	1	94.5562	0.8400	0.3608
Infestation \times Mating status	45.1562	1	45.1562		0.5274
Sum of squares for error (SSE)	17222.3063	153	112.5641		
Total	27373.1938	159			

* $P<0.05$, ** $P<0.01$

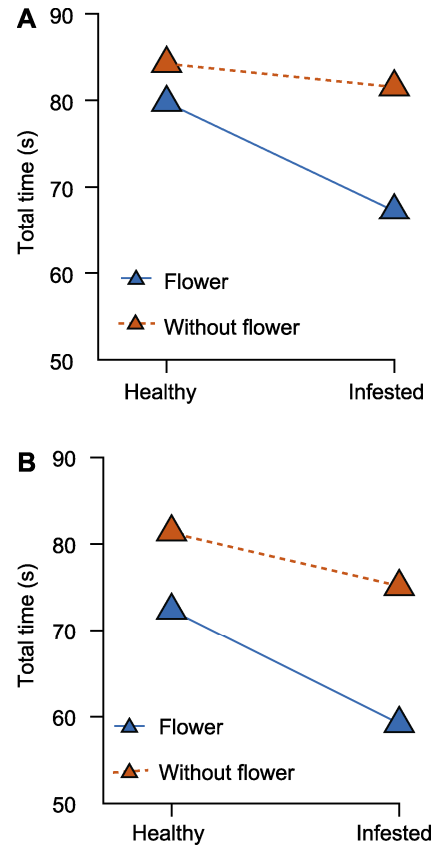


图1 茶树花和叶蝉为害交互效应
(A) 处女蜂; (B) 已交配雌蜂。叶蝉为害和茶树花交互作用对缨小蜂寄生行为的影响。总时间为搜寻、刺探和产卵时间总和(单位: 秒)

Figure 1 Interactions between tea flowers and leafhopper infestation
(A) Virgin mymarids; (B) Mated female mymarids. The effect of interaction between leafhopper infestation and tea flowers on the parasitic behaviour of mymarids. The total time represents the summation of searching, spying and spawning time (unit: second).

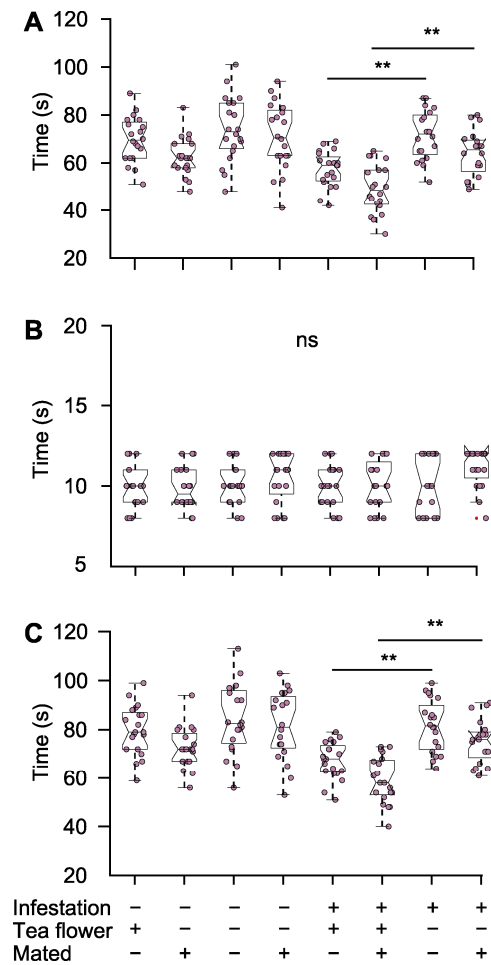


图2 雌性缨小蜂寄生行为时间分布
(A) 缨小蜂寄生行为的搜寻时间; (B) 刺探产卵时间分布; (C) 总时间分布。ns: 不显著。n=20, ** P<0.01

Figure 2 Time distribution for parasitic behavior of female mymarids
(A) Searching time for mymarids during parasitism; (B) Distribution for spying and spawning time; (C) Distribution for total time. ns: Not significant. n=20, ** P<0.01

表3 不同条件下雌性缨小蜂的寄生行为(平均值±标准误)

Group	Mating status	Search time (s)	Spying and spawning time (s)	Total time (s)
Intact tea shoot + tea flower	Virgin	69.75±2.12	10.00±0.30	79.75±2.26
	Mated	62.50±1.78	9.85±0.28	72.35±1.88
Intact tea shoot	Virgin	74.15±3.02	10.10±0.28	84.25±3.16
	Mated	70.90±3.12	10.50±0.34	81.40±3.10
Tea shoot infested by tea green leafhopper + tea flower	Virgin	57.35±1.67	9.90±0.31	67.25±1.70
	Mated	49.10±2.26	10.10±0.33	59.20±2.15
Tea shoot infested by tea green leafhopper	Virgin	71.50±2.26**	10.05±0.39	81.55±2.36**
	Mated	63.95±2.10**	11.15±0.26	75.10±1.99**

** P<0.01

3), 而搜寻时间($p=4.071 \times 10^{-13}$)以及总时长($p=6.589 \times 10^{-13}$)差异极显著(图2A, C; 表3)。在健康茶梢中加入茶树花可以适当降低处女蜂寄生行为的总时长均值(-4.500 0), 但效应不显著($p=0.884 \text{ 5}$, 95%置信区间为 $[-14.695 \text{ 7}, 5.695 \text{ 7}]$) (图2C); 在健康茶梢中加入茶树花对已交配雌蜂的寄生行为起促进作用(-9.050 0), 但效应也不显著($p=0.125 \text{ 4}$, 95%置信区间为 $[-19.245 \text{ 7}, 1.145 \text{ 7}]$) (图2C)。而在叶蝉为害茶梢中, 茶树花可以显著降低处女蜂寄生行为总时长(均值为 -14.300 0 , $p=5.626 \text{ 0} \times 10^{-4}$, 95%置信区间为 $[-24.495 \text{ 7}, -4.104 \text{ 3}]$) (图2C), 且茶树花对已交配雌蜂也具有显著的引诱作用(均值为 -15.900 0 , $p=6.226 \text{ 7} \times 10^{-5}$, 95%置信区间为 $[-26.095 \text{ 7}, -5.704 \text{ 3}]$) (图2C)。因此, 在叶蝉为害茶梢中, 茶树花对缨小蜂具有显著的引诱作用, 表现为缩短缨小蜂的寄生行为总时长。

2.3 叶蝉为害茶树花和茶梢挥发物组分的变化

茶树花具有丰富的挥发物组分(Chen et al., 2020), 而茶梢挥发物又对叶蝉天敌缨小蜂具有明显的引诱作用(韩善捷等, 2016; 潘铖等, 2016)。为探讨茶树花对缨小蜂寄生行为的增效作用机制, 基于GC-MS技术, 我们比较了健康茶梢(ITS)、叶蝉为害茶梢(TSITGL)和茶树花(TF)中的挥发物组分差异。结果鉴定出42种挥发物组分, 其中健康茶梢组检出16种, 叶蝉为害组有31种, 而茶树花组包含33种(表4; 图3)。4-戊烯-2-酮、3-己烯-1-醇、顺-乙酸-3-己烯酯、反-乙酸-3-己烯酯和顺-丁酸-3-己烯酯仅存在于叶蝉为害茶梢中, 而2-己酮、乙苯、2-庚酮、 α -水芹烯、茴香醚、2-戊基环戊酮、 α -甲基苯甲醇、顺(反)式氧化芳樟醇、

表4 健康茶梢、叶蝉为害茶梢和茶树花挥发物相对含量(平均值±标准误)

Table 4 The relative contents of volatiles in healthy tea shoots, leafhopper-infested tea shoots and tea flowers (means±SE)

No.	Retention time (min)	Volatile compounds	Relative contents to internal standard (IS)		
			Healthy tea shoots	Tea shoots infested by tea green leafhopper	Tea flower
1	3.772	4-penten-2-one	—	4.6679±0.3469	—
2	4.659	2-hexanone	—	—	0.8337±0.1178
3	4.973	3-hexenal	0.6775±0.1432	0.6500±0.0644	—
4	6.791	3-hexen-1-ol	—	2.4906±0.2406	—
5	6.973	Ethylbenzene	—	—	0.4284±0.0374
6	7.045	Z-4-hexen-1-ol	—	3.1843±0.2420	—
7	7.386	m-xylene	0.1821±0.0261	0.9410±0.1252	1.0658±0.1013
8	8.216	p-xylene	0.1388±0.0163	0.1685±0.0114	—
9	8.571	2-heptanone	—	—	15.7670±0.2817
10	9.415	Anisole	—	—	0.4104±0.0497
11	10.061	α-pinene	—	0.0849±0.0098	0.0467±0.0056
12	11.542	Benzaldehyde	—	0.2588±0.0264	0.5192±0.0615
13	12.270	Phenol	—	0.0915±0.0094	—
14	13.383	Decane	—	0.0952±0.0098	0.0424±0.0048
15	13.595	Octanal	—	0.2073±0.0243	0.2724±0.0241
16	13.675	Z-3-hexenyl acetate	—	0.3178±0.0256	—
17	13.694	E-3-hexenyl acetate	—	0.6841±0.0819	—
18	14.841	2-ethyl-1-hexanol	0.1636±0.0303	1.5707±0.1608	1.0125±0.1174
19	15.720	α-phellandrene	—	—	0.1193±0.0104
20	16.061	2-pentylcyclopentanone	—	—	4.9586±0.3190
21	16.373	α-methyl benzyl alcohol	—	—	0.100 0±0.0116
22	16.612	Acetophenone	0.0443±0.0077	1.0436±0.1229	36.3044±3.7347
23	16.900	cis-linaloloxide	—	—	0.0395±0.0043
24	17.713	trans-linaloloxide	—	—	0.1566±0.0081
25	18.460	Undecane	0.0297±0.0048	0.2721±0.0370	0.2192±0.0237
26	18.693	Nonanal	0.0615±0.0105	1.0990±0.1109	0.7224±0.0835
27	20.668	Camphor	0.0989±0.0142	1.2977±0.1150	0.4835±0.0361
28	21.928	E-2-nonen-1-ol	0.0605±0.0074	0.2599±0.0135	0.1866±0.0158
29	22.381	Naphthalene	0.0305±0.0046	0.1241±0.0086	0.2344±0.0224
30	22.662	cis-3-hexenyl butyrate	—	0.0891±0.0081	—
31	23.362	Dodecane	0.0176±0.0029	0.2182±0.0153	0.1281±0.0155
32	23.654	Decanal	0.0995±0.0176	1.1579±0.1294	0.8621±0.0459
33	28.027	Tridecane	—	0.1029±0.0097	0.0625±0.0079
/	32.223	Decanoic acid, ethyl ester (IS)	1.0000	1.0000	1.0000
34	32.423	Tetradecane	0.0261±0.0055	0.3894±0.0406	0.1098±0.0113
35	32.625	Longifolene-(V4)	—	0.1815±0.0268	0.0307±0.0012
36	32.822	Tetradecanal	—	0.0467±0.0030	0.0275±0.0023
37	34.362	E-6,10-dimethyl-5,9-undecadien-2-one	0.0501±0.0065	0.5364±0.0388	0.2798±0.0269
38	36.594	Pentadecane	0.0704±0.0090	0.3610±0.0406	0.0922±0.0051
39	40.532	Hexadecane	0.0552±0.0097	0.3384±0.0304	0.1625±0.0221
40	44.276	Heptadecane	—	0.1006±0.0058	0.0437±0.0053
41	49.699	1,2-benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	—	—	0.0411±0.0023
42	50.477	Homomenthyl salicylate	—	—	0.0353±0.0041

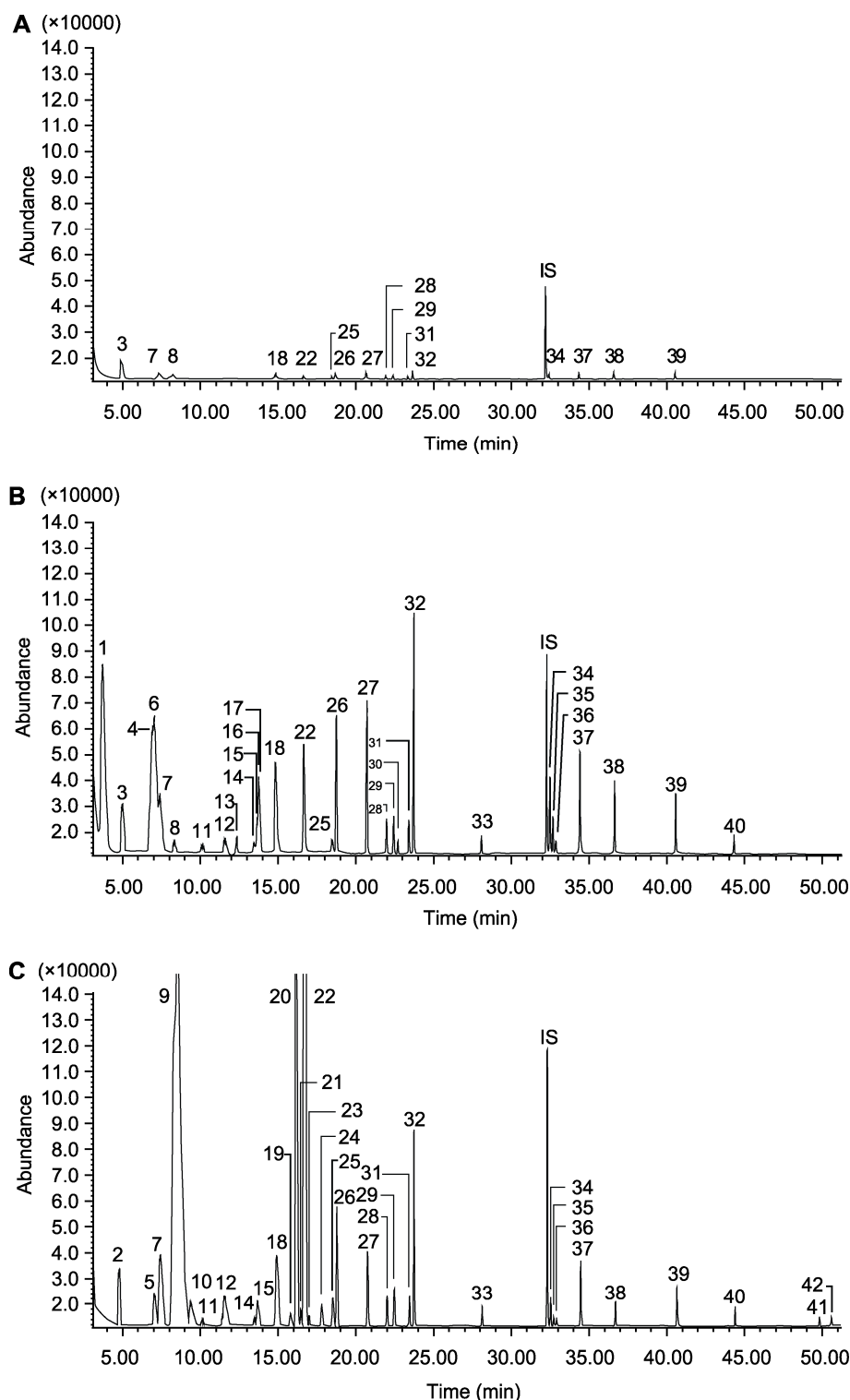


图3 健康茶梢(A)、叶蝉为害茶梢(B)和茶树花(C)挥发物的GC-MS总离子流
编号1–42同表4。IS: 内标

Figure 3 The GC-MS total ion chromatograms of the volatile components from healthy tea shoots (A), leafhopper-infested tea shoots (B) and tea flowers (C)

No.1–42 are the same as Table 4. IS: Internal standard

1,2-邻苯二甲酸双(2-甲基丙基)酯和水杨酸三甲环己酯为茶树花中特有挥发物组分(表4)。总体而言,健康茶梢中5类挥发物的累计相对含量最低(表5; 图4A); 虫害茶梢中的萜烯类、烷烃类和绿叶挥发物累计相对含量较高; 茶树花中芳香类和其它挥发物累计相对含量明显高于健康和虫害茶梢(图4A)。从相对含量占比来看,健康茶梢中绿叶挥发物(46.5%)最高,芳香类挥发物(21.9%)也具有较大比例(图4B; 表5)。虫害茶梢中,绿叶挥发物(38.6%)比例最高,烷烃类(7.5%)和其它挥发物(16.5%)比例与健康茶梢相当,但芳香类和萜烯类挥发物比例与健康茶梢相比差异较大(图4B)。茶树花中,芳香类(59.4%)和其它挥发物

(36.4%)占比明显升高,而其余3类挥发物占比很低(图4B)。因此,健康茶梢、虫害茶梢和茶树花挥发物释放均具有明显特征。

2.4 挥发物组分特征的偏最小二乘法判别分析

对于变量较多且样本量较少的多元数据,适合进行偏最小二乘法分析(Lee et al., 2018)。偏最小二乘法分析综合了线性回归和主成分分析等多元统计方法,可提供更准确的信息。结果显示,前2个隐变量(latent variable, LV)可累计解释91.8%自变量变异(R^2X)和99.6%因变量变异(R^2Y)。健康茶梢、虫害茶梢和茶树花挥发物具有明显的空间分布特征(图5A)。得分和载

表5 茶树挥发物种类

Table 5 Classification of volatiles from tea plants

Classification	Volatile compounds
Green leaf volatiles	3-hexenal, 3-hexen-1-ol, Z-4-hexen-1-ol, Z-3-hexenyl acetate, E-3-hexenyl acetate, 2-ethyl-1-hexanol
Aromatics	Ethylbenzene, m-xylene, p-xylene, anisole, benzaldehyde, phenol, α -methylbenzyl alcohol, acetophenone, naphthalene, 1,2-benzenedicarboxylic acid, bis (2-methylpropyl) ester
Terpenes	4-penten-2-one, α -pinene, α -phellandrene, <i>cis</i> -linaloloxide, <i>trans</i> -linaloloxide, E-2-nonen-1-ol, <i>cis</i> -3-hexenyl butyrate, longifolene-(V4), E-6,10-dimethyl-5,9-undecadien-2-one
Alkanes	Decane, undecane, dodecane, tridecane, tetradecane, pentadecane, hexadecane, heptadecane
Other	2-hexanone, 2-heptanone, octanal, 2-pentylcyclopentanone, nonanal, camphor, decanal, tetradecanal, homomenthyl salicylate

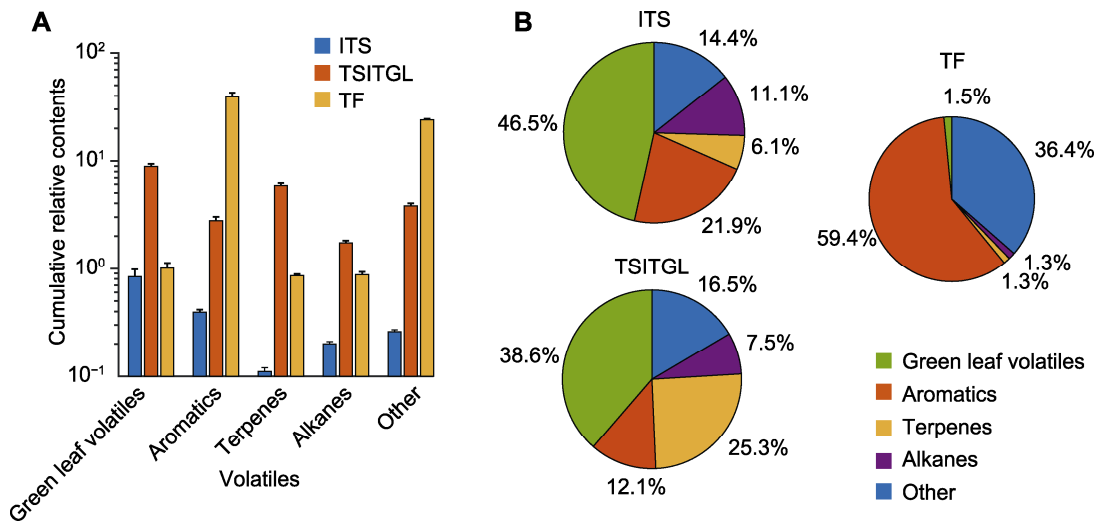


图4 健康茶梢(ITS)、叶蝉为害茶梢(TSITGL)和茶树花(TF)挥发物种类及比例

(A) 健康茶梢、叶蝉为害茶梢和茶树花挥发物种类的变化; (B) 健康茶梢、叶蝉为害茶梢和茶树花中5类挥发物占比

Figure 4 Categories and proportions of volatiles in intact tea shoots (ITS), leafhopper-infested tea shoots (TSITGL) and tea flowers (TF)

(A) Variations in volatile categories in intact tea shoots, leafhopper-infested tea shoots and tea flowers; (B) The proportion of five classes of volatile compounds in intact tea shoots, leafhopper-infested tea shoots and tea flowers

荷的双标图(biplot)显示, LV1可较好地地区分3个组别的挥发物特征, 且LV1与绝大多数变量(即挥发物)呈正相关(图5A, B)。按照LV1-LV2两隐变量模型计算变量重要性投影(variable importance for the projection, VIP), $VIP > 1$ 表明此变量具有重要判别特征。结果显示, 萘(编号29)、苯甲醛(编号12)、辛醛(编号15)和2-庚酮(编号9)等19种挥发物在判别过程中可能具有重要作用(图5C; 表4)。

2.5 挥发物引诱缨小蜂的行为测定

在19种挥发物中, 3-己烯醛和对二甲苯不属于茶树花

挥发物, 因此将其余17种挥发物作为味源, 检验其对已交配雌蜂的引诱能力。在供试挥发物中, α -水芹烯(编号19)、顺式氧化芳樟醇(编号23)、反式氧化芳樟醇(编号24)、苯甲醛(编号12)、苯乙酮(编号22)与对照组(液体石蜡)诱导效应差异显著(图6), 其它12种挥发物对缨小蜂的引诱作用不显著。其中, α -水芹烯、顺式氧化芳樟醇和反式氧化芳樟醇仅在高浓度($10^{-2} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$)时诱导效应显著(图6)。苯甲醛在中、高浓度($10^{-4} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $10^{-2} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$)下均具有显著的引诱作用, 而诱导效应最好的苯乙酮在各浓度水平均有显著的引诱效果(图6)。综上, 茶树花挥发物中的 α -水芹

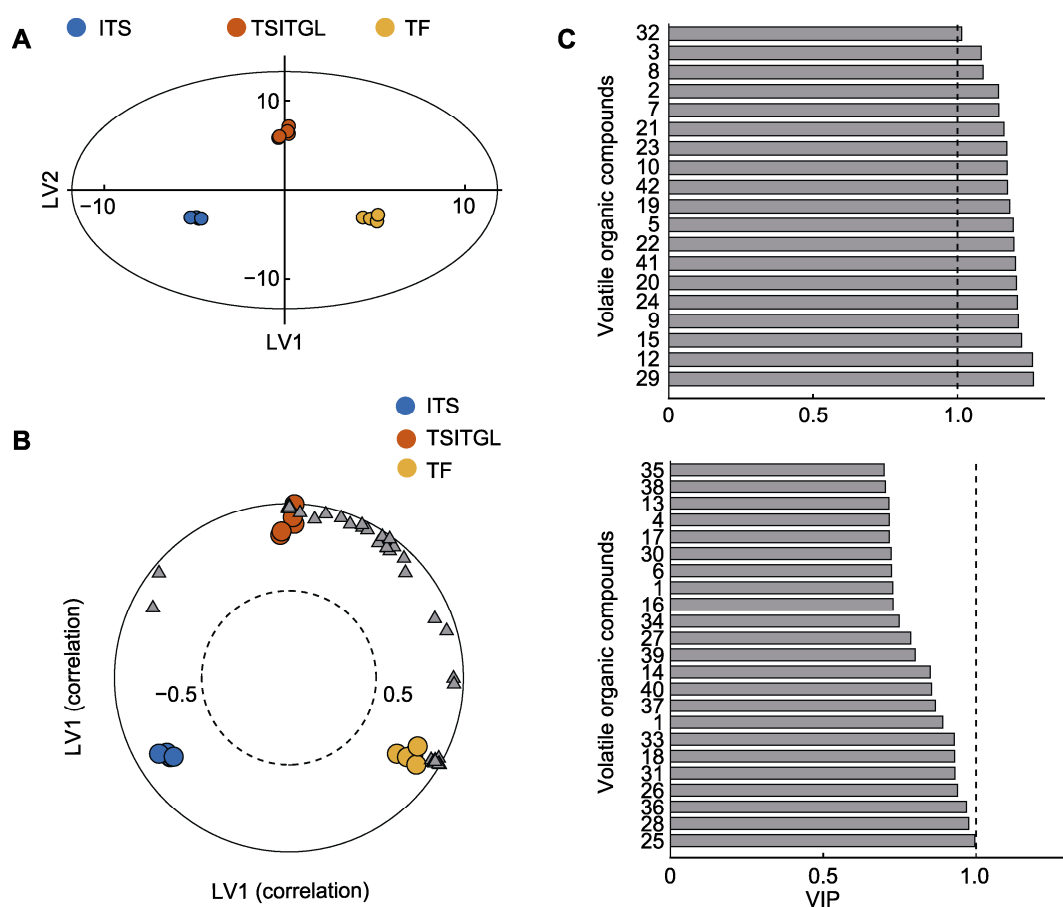


图5 挥发物组分的偏最小二乘法判别分析(PLS-DA)

(A) 健康茶梢(ITS)、叶蝉为害茶梢(TSITGL)和茶树花(TF)挥发物在前2个隐变量(LV1与LV2)的得分图(椭圆为基于Hotelling T^2 计算出的95%置信区间); (B) 偏最小二乘法判别分析双标图(实线圆半径为1.0); (C) 各挥发物(编号同表4)的变量重要性投影图(VIP), 上图为挥发物 $VIP \geq 1$, 下图为挥发物 $VIP < 1$ 。

Figure 5 The partial least square discriminant analysis (PLS-DA) for volatiles

(A) Scores with respect to the LV1 and LV2 (the ellipse denotes the 95% confidence interval based on Hotelling T^2) for volatiles from intact tea shoots (ITS), leafhopper-infested tea shoots (TSITGL) and tea flowers (TF); (B) The biplot in PLS-DA (the dashed line is a guideline for 1.0); (C) The variable importance for the projection (VIP) for volatiles (the number is the same as Table 4). Volatiles with $VIP \geq 1$ are shown on top, and volatiles with $VIP < 1$ are displayed at bottom panel.

烯、顺式氧化芳樟醇、反式氧化芳樟醇、苯甲醛和苯乙酮5种特征组分可不同程度地引诱缨小蜂。

2.6 讨论

本研究发现茶树花挥发物可吸引叶蝉三棒缨小蜂，显著降低缨小蜂寄生行为的搜寻时间。茶树花和叶蝉为害状态茶梢具有显著的协同作用，表现为茶树花挥发物可增强叶蝉为害状态茶梢挥发物对缨小蜂的引诱效应。

由于茶树的特殊性，喷施化学药物防治小绿叶蝉会引发农药残留超标等问题，而生物防治(biocontrol)是一种相对安全的害虫防治策略，是害虫综合治理(integrated pest management)的一个重要方面(Wang et al., 2019)。利用寄生性天敌实现粮食作物生物防治已得到一定程度的应用。例如，在田埂配置大豆(*Glycine max*)的有机稻田可引诱更多种类的水稻害虫天敌寄生蜂，提高水稻(*Oryza sativa*)二化螟(*Chilo suppressalis*)、三化螟(*Tryporyza incertulas*)、稻纵卷叶螟(*Cnaphalocrocis medinalis*)和褐飞虱

(*Nilaparvata lugens*)的卵寄生率，进而通过设计合理的水稻邻作模式进行生物防治(戈林泉等, 2013); 组合释放寄生蜂丽蚜小蜂(*Encarsia formosa*)和浅黄恩蚜小蜂(*E. sophia*)可有效控制烟粉虱(*Bemisia tabaci*) (Tan et al., 2016)。对于茶园小绿叶蝉的生物防治，可利用叶蝉三棒缨小蜂和微小裂骨缨小蜂(*Schizophragma parvula*)，通过创造有利于缨小蜂在茶园中的生存环境或辅助人工繁殖，实现茶树害虫的生物防治(Wang et al., 2019)。虽然生物防治可为茶叶品质提供一定程度的保障，但也存在一定的缺陷。例如，天敌数量和寄生行为易受环境因素的影响(李飞等, 2020)。综上，茶树花挥发物对缨小蜂寄生行为的增强效应可为探索茶树害虫的生物防治策略提供新思路。

茶树花对缨小蜂的引诱作用机制尚待进一步研究。我们推测，一方面，茶树花的增效作用可能与生物色有关。生物色具有潜在的通讯功能，是生物适应环境的重要方式，来自植物的视觉信息(如形状和色泽)可能影响昆虫对生境的选择(林金丽, 2010)。例如，

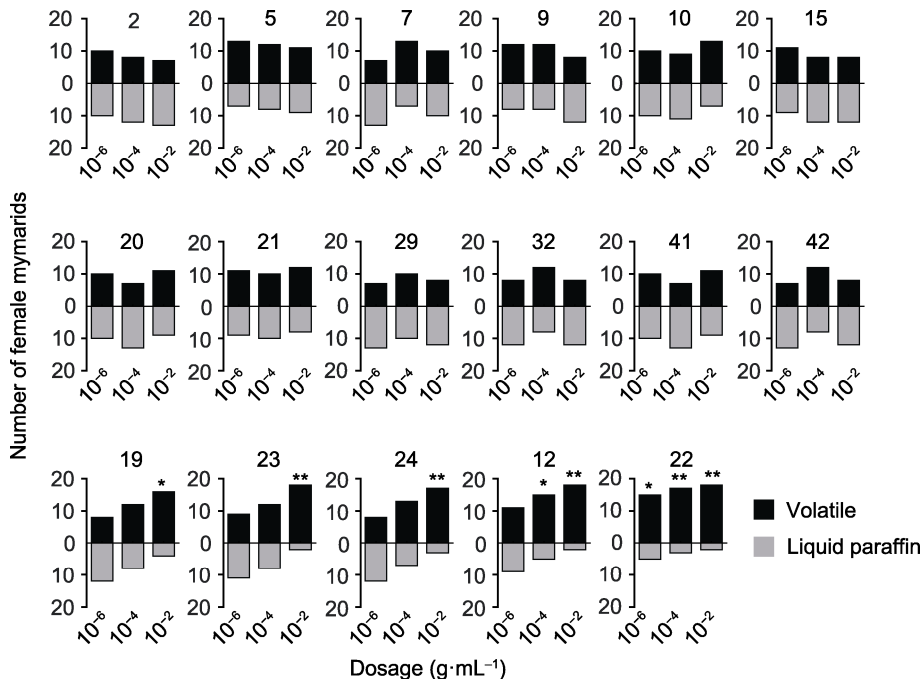


图6 Y形管嗅觉仪检测17种茶树花挥发物与液体石蜡引诱缨小蜂的差异
图上方为挥发物编号(编号同表4)。* $P<0.05$; ** $P<0.01$

Figure 6 Y-tube olfactometer bioassay to determine the differences between 17 major volatiles from tea flowers and liquid paraffin in attracting mymarids
The volatile numbers are shown on top panel (the number is the same as Table 4). * $P<0.05$; ** $P<0.01$

北美叶蝉(*Scaphytopius magdalensis*)对黄色具有明显趋向性而*Limotettix vaccinii*则易被绿色吸引(Rodriguez-Saona et al., 2012)。小贯小绿叶蝉对非单波“黄色”具有明显的趋向性, 360–460 nm (蓝光-紫外光)区域的单色光对小贯小绿叶蝉具有明显的引诱作用, 其中紫外光对叶蝉的引诱作用最强(边磊, 2014)。因此, 茶树花可能通过吸引更多的叶蝉间接实现对缨小蜂寄生行为的增效作用。另一方面, 植食性昆虫为害可刺激茶梢释放HIPVs, 如反-2-己烯醛、苯甲醛、 α -法尼烯和水杨酸甲酯, 进而引诱缨小蜂(韩善捷等, 2016; 潘铖等, 2016)。茶树花也可释放丰富的挥发物组分, 如3-己烯醇、芳樟醇、苯乙酮和信息素germacrene D (Joshi et al., 2011)。3-己烯醇在三级营养关系中发挥重要作用, 可吸引害虫天敌、直接驱避害虫以及促进植物间的信息传递(Wei and Kang, 2011)。研究表明, 植物花香对蜜蜂具有吸引作用(戈林泉等, 2013)。有报道显示, 小贯小绿叶蝉等害虫为害时可诱导茶梢释放正香叶醇, 在茶树抵御植食性昆虫为害过程中发挥重要作用(Han and Chen, 2002a, 2002b; Ishiwari et al., 2007; Sharma et al., 2020)。我们的研究表明, 茶树花挥发物中具有特征组分 α -水芹烯、顺式氧化芳樟醇、反式氧化芳樟醇、苯甲醛和苯乙酮, 行为测定显示这些挥发物对缨小蜂产生不同程度的引诱作用。 α -水芹烯在合适的浓度下对寄生蜂*Aphidius ervi*具有显著的引诱效果(Takemoto and Takabayashi, 2015); 苯甲醛可作为互利素引诱茶树害虫天敌(Han and Chen, 2002a, 2002b; Simpson et al., 2011)。也有报道显示, 苯乙酮可引诱一种果蝇寄生蜂(*Diachasmimorpha longicaudata*, Hymenoptera: Braconidae) (Rohrig et al., 2008)。研究表明, 芳樟醇及其氧化物参与稻纵卷叶螟姬小蜂(*Stenomesius maculatus*)对寄主的定位反应(张云宣, 2018)。扶桑绵粉蚧天敌班氏跳小蜂(*Aenasius bambawalei*)的气味结合蛋白AbamOBP1和AbamOBP50分别与芳樟醇和 α -水芹烯有较高的结合能力, 表明芳樟醇和 α -水芹烯促进寄生蜂的寄主定位(聂晓培, 2017; 李秋玲, 2018)。此外, 芳樟醇也对稻虱缨小蜂(*Anagrus nilaparvatae*)具有强烈的引诱作用(Wang and Lou, 2013)。综上, 茶树花可通过释放挥发物增强对天敌的吸引作用。但植物挥发物是次生代谢产物的混合物, 多种挥发物组分可通过协同作用

对昆虫行为产生影响(Maffei et al., 2011; McCormick et al., 2012)。本研究鉴定的各种茶树花挥发物也可与其它挥发物产生协同作用, 引诱害虫天敌。因此, 我们建议可将多种挥发物组分按适当配比制成引诱剂, 再结合生物色诱导手段(如色板), 筛选出高效引诱物, 进而调控缨小蜂的寄生行为。

参考文献

- 边磊 (2014). 基于远程寄主定位机理的假眼小绿叶蝉化学生态和物理调控. 博士论文. 北京: 中国农业科学院. pp. 28–46.
- 陈璇, 胡福良 (2009). 蜜蜂花粉采集行为的调控机制. 昆虫知识 46, 490–494.
- 董燕梅, 张文颖, 凌正一, 李靖锐, 白红彤, 李慧, 石雷 (2020). 转录因子调控植物萜类化合物生物合成研究进展. 植物学报 55, 340–350.
- 戈林泉, 胡中卫, 吴进才 (2013). 大豆、玉米与水稻配置对稻田寄生蜂的影响. 应用昆虫学报 50, 921–927.
- 韩宝瑜, 林金丽, 周孝贵, 章金明 (2009). 假眼小绿叶蝉卵及卵寄生蜂缨小蜂形态观察和寄生率考评. 安徽农业大学学报 36, 13–17.
- 韩善捷, 潘铖, 韩宝瑜 (2016). 假眼小绿叶蝉为害致茶梢挥发物变化及其引诱微小裂骨缨小蜂效应. 中国生物防治学报 32, 142–148.
- 李飞, 杨丹, 郑姣莉, 姚经武, 朱志刚, 黄大野, 曹春霞 (2020). 中国茶园主要害虫生物防治研究进展. 湖北农业科学 59(10), 5–9, 22.
- 李秋玲 (2018). 班氏跳小蜂气味结合蛋白OBPs的结合特性分析. 硕士论文. 武汉: 华中农业大学. pp. 25–28.
- 林金丽 (2010). 茶树-假眼小绿叶蝉-缨小蜂间化学和色彩通讯机理研究. 硕士论文. 扬州: 扬州大学. pp. 7–12.
- 林郑和, 钟秋生, 陈常颂, 陈志辉, 游小妹 (2015). 不同香型茶树鲜叶挥发性组分与 β -葡萄糖苷酶的相关性分析. 植物学报 50, 713–720.
- 刘丰静, 冉伟, 李喜旺, 汪素琴, 孙晓玲 (2020). 小贯小绿叶蝉在5个茶树品种(系)上的蜜露排泄量与茶树叶片结构比较. 茶叶科学 40, 625–631.
- 孟召娜, 边磊, 罗宗秀, 李兆群, 辛肇军, 蔡晓明 (2018). 全国主产茶区茶树小绿叶蝉种类鉴定及分析. 应用昆虫学报 55, 514–526.
- 穆丹 (2011). 茶树挥发性信息素调控假眼小绿叶蝉及叶蝉三棒缨小蜂行为的功效. 博士论文. 北京: 中国农业科学院.

- pp. 12–62.
- 聂晓培 (2017). 班氏跳小蜂寄主定位的嗅觉机制. 硕士论文. 武汉: 华中农业大学. pp. 41–47.
- 潘铖, 林金丽, 韩宝瑜 (2016). 茶梢信息物引诱叶蝉三棒缨小蜂效应的检测. 生态学报 **36**, 3785–3795.
- 吴国火, 崔林, 王梦馨, 李红亮, 韩宝瑜 (2020). 茶树花香气及茶叶气味对中华蜜蜂的引诱效应. 生态学报 **40**, 4024–4031.
- 张云宣 (2018). 挥发性物质介导的稻纵卷叶螟姬小蜂搜寻与定位寄主行为机制初步研究. 硕士论文. 南宁: 广西大学. pp. 38–42.
- 赵冬香, 陈宗懋, 程家安 (2000). 茶小绿叶蝉优势种的归属. 茶叶科学 **20**, 101–104.
- 左照江, 张汝民, 高岩 (2009). 植物间挥发物信号的研究进展. 植物学报 **44**, 245–252.
- Aartsma Y, Leroy B, Van Der Werf W, Dicke M, Poelman EH, Bianchi FJJA (2019). Intraspecific variation in herbivore-induced plant volatiles influences the spatial range of plant-parasitoid interactions. *Oikos* **128**, 77–86.
- Boachon B, Junker RR, Miesch L, Bassard JE, Hofer R, Caillieaudeaux R, Seidel DE, Lesot A, Heinrich C, Ginglinger JF, Allouche L, Vincent B, Wahyuni DSC, Paetz C, Beran F, Miesch M, Schneider B, Leiss K, Werck-Reichhart D (2015). CYP76C1 (Cytochrome P450)-mediated linalool metabolism and the formation of volatile and soluble linalool oxides in *Arabidopsis* flowers. *Plant Cell* **27**, 2972–2990.
- Bouwmeester H, Schuurink RC, Bleeker PM, Schiestl F (2019). The role of volatiles in plant communication. *Plant J* **100**, 892–907.
- Cao H (2013). Polysaccharides from Chinese tea: recent advance on bioactivity and function. *Int J Biol Macromol* **62**, 76–79.
- Chen D, Chen GJ, Sun Y, Zeng XX, Ye H (2020). Physiological genetics, chemical composition, health benefits and toxicology of tea (*Camellia sinensis* L.) flower: a review. *Food Res Int* **137**, 109584.
- Chen GJ, Yuan QX, Saeeduddin M, Ou SY, Zeng XX, Ye H (2016). Recent advances in tea polysaccharides: extraction, purification, physicochemical characterization and bioactivities. *Carbohydr Polym* **153**, 663–678.
- D'Alessandro M, Brunner V, Von Mérey G, Turlings TCJ (2009). Strong attraction of the parasitoid *Cotesia marginiventris* towards minor volatile compounds of maize. *J Chem Ecol* **35**, 999–1008.
- Desurmont GA, Von Arx M, Turlings TCJ, Schiestl FP (2020). Floral odors can interfere with the foraging behavior of parasitoids searching for hosts. *Front Ecol Evol* **8**, 148.
- Fu JY, Han BY, Xiao Q (2014). Mitochondrial *COI* and 16sRNA evidence for a single species hypothesis of *E. vitis*, *J. formosana* and *E. onukii* in East Asia. *PLoS One* **9**, e115259.
- Gorden NLS, Adler LS (2018). Consequences of multiple flower-insect interactions for subsequent plant-insect interactions and plant reproduction. *Am J Bot* **105**, 1835–1846.
- Han BY, Chen ZM (2002a). Composition of the volatiles from intact and mechanically pierced tea aphid-tea shoot complexes and their attraction to natural enemies of the tea aphid. *J Agric Food Chem* **50**, 2571–2575.
- Han BY, Chen ZM (2002b). Composition of the volatiles from intact and tea aphid-damaged tea shoots and their allurements to several natural enemies of the tea aphid. *J Appl Entomol* **126**, 497–500.
- Huang MS, Sanchez-Moreiras AM, Abel C, Sohrabi R, Lee S, Gershenzon J, Tholl D (2012). The major volatile organic compound emitted from *Arabidopsis thaliana* flowers, the sesquiterpene (E)- β -caryophyllene, is a defense against a bacterial pathogen. *New Phytol* **193**, 997–1008.
- Ishiwari H, Suzuki T, Maeda T (2007). Essential compounds in herbivore-induced plant volatiles that attract the predatory mite *Neoseiulus womersleyi*. *J Chem Ecol* **33**, 1670–1681.
- Joshi R, Poonam, Saini R, Guleria S, Babu GDK, Kumari M, Gulati A (2011). Characterization of volatile components of tea flowers (*Camellia sinensis*) growing in Kangra by GC/MS. *Nat Prod Commun* **6**, 1155–1158.
- Lee LC, Liong CY, Jemain AA (2018). Partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) for classification of high-dimensional (HD) data: a review of contemporary practice strategies and knowledge gaps. *Analyst* **143**, 3526–3539.
- Liu FL, Zhang XW, Chai JP, Yang DR (2006). Pollen phenolics and regulation of pollen foraging in honeybee colony. *Behav Ecol Sociobiol* **59**, 582–588.
- Maffei ME, Gertsch J, Appendino G (2011). Plant volatiles: production, function and pharmacology. *Nat Prod Rep* **28**, 1359–1380.
- McCormick AC, Unsicker SB, Gershenzon J (2012). The specificity of herbivore-induced plant volatiles in attracting herbivore enemies. *Trends Plant Sci* **17**, 303–310.
- Mu D, Cui L, Ge J, Wang MX, Liu LF, Yu XP, Zhang QH, Han BY (2012). Behavioral responses for evaluating the

- attractiveness of specific tea shoot volatiles to the tea green leafhopper, *Empoasca vitis*. *Insect Sci* **19**, 229–238.
- Poveda K, Steffan-Dewenter I, Scheu S, Tschardt T** (2003). Effects of below- and above-ground herbivores on plant growth, flower visitation and seed set. *Oecologia* **135**, 601–605.
- Qin DZ, Zhang L, Xiao Q, Dietrich C, Matsumura M** (2015). Clarification of the identity of the tea green leafhopper based on morphological comparison between Chinese and Japanese Specimens. *PLoS One* **10**, e0139202.
- Rodriguez-Saona CR, Byers JA, Schiffhauer D** (2012). Effect of trap color and height on captures of blunt-nosed and sharp-nosed leafhoppers (Hemiptera: Cicadellidae) and non-target arthropods in cranberry bogs. *Crop Prot* **40**, 132–144.
- Rohrig E, Sivinski J, Teal P, Stuhl C, Aluja M** (2008). A floral-derived compound attractive to the tephritid fruit fly parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). *J Chem Ecol* **34**, 549–557.
- Sanou A, Traoré F, Ba MN, Dabiré-Binso CL, Pittendrigh BR, Sanon A** (2019). Effects of volatiles from *Clavigralla tomentosicollis* Stål. (Hemiptera: Coreidae) adults on the host location behavior of the egg parasitoid *Gryon fulviventre* (Crawford) (Hymenoptera: Scelionidae). *Int J Insect Sci* **11**, 1–7.
- Schiestl FP** (2015). Ecology and evolution of floral volatile-mediated information transfer in plants. *New Phytol* **206**, 571–577.
- Schnee C, Kollner TG, Held M, Turlings TCJ, Gershenzon J, Degenhardt J** (2006). The products of a single maize sesquiterpene synthase form a volatile defense signal that attracts natural enemies of maize herbivores. *Proc Natl Acad Sci USA* **103**, 1129–1134.
- Sharma R, Rana A, Kumar S** (2020). Phytochemical investigation and bioactivity studies of flowers obtained from different cultivars of *Camellia sinensis* plant. *Nat Prod Res* doi: 10.1080/14786419.2020.1844696.
- Simpson M, Gurr GM, Simmons AT, Wratten SD, James DG, Leeson G, Nicol HI** (2011). Insect attraction to synthetic herbivore-induced plant volatile-treated field crops. *Agr Forest Entomol* **13**, 45–57.
- Takemoto H, Takabayashi JJ** (2015). Parasitic wasps *Aphidius ervi* are more attracted to a blend of host-induced plant volatiles than to the independent compounds. *J Chem Ecol* **41**, 801–807.
- Tan XL, Hu NN, Zhang F, Ramirez-Romero R, Desneux N, Wang S, Ge F** (2016). Mixed release of two parasitoids and a polyphagous ladybird as a potential strategy to control the tobacco whitefly *Bemisia tabaci*. *Sci Rep* **6**, 28245.
- Tang GY, Meng X, Gan RY, Zhao CN, Liu Q, Feng YB, Li S, Wei XL, Atanasov AG, Corke H, Li HB** (2019). Health functions and related molecular mechanisms of tea components: an update review. *Int J Mol Sci* **20**, 6196.
- Turlings TCJ, Erb M** (2018). Tritrophic interactions mediated by herbivore-induced plant volatiles: mechanisms, ecological relevance, and application potential. *Annu Rev Entomol* **63**, 433–452.
- Wang P, Lou YG** (2013). Screening and field evaluation of synthetic plant volatiles as attractants for *Anagrus nilaparvatae* Pang et Wang, an egg parasitoid of rice planthoppers. *Chin J Appl Entomol* **50**, 431–440.
- Wang ZZ, Liu YQ, Shi M, Huang JH, Chen XX** (2019). Parasitoid wasps as effective biological control agents. *J Integ Agric* **18**, 705–715.
- Wei JN, Kang L** (2011). Roles of (Z)-3-hexenol in plant-insect interactions. *Plant Signal Behav* **6**, 369–371.
- Xiu CL, Zhang W, Xu B, Wyckhuys KAG, Cai XM, Su HS, Lu YH** (2019). Volatiles from aphid-infested plants attract adults of the multicolored Asian lady beetle *Harmonia axyridis*. *Biol Control* **129**, 1–11.
- Ye J, Zhang LL, Zhang X, Wu XJ, Fang RX** (2021). Plant defense networks against insect-borne pathogens. *Trends Plant Sci* **26**, 272–287.
- Zhao MY, Wang L, Wang JM, Jin JY, Zhang N, Lei L, Gao T, Jing TT, Zhang SR, Wu Y, Wu B, Hu YQ, Wan XC, Schwab W, Song CK** (2020). Induction of priming by cold stress via inducible volatile cues in neighboring tea plants. *J Integr Plant Biol* **62**, 1461–1468.

Enhanced Attraction of Mymarids (*Stethynium empoascae*) by Volatiles from Tea Flowers

Dan Mu^{1†}, Zehua Qi^{1†}, Qin Li^{1,2}, Kexin Liang¹, Shaogui Hua¹, Xingyu Zhu¹, Mengjie Jiao¹
Yuchun Rao^{2*}, Tingzhe Sun^{1*}

¹The Province Key Laboratory of the Biodiversity Study and Ecology Conservation in Southwest Anhui, School of Life Sciences, Anqing Normal University, Anqing 246133, China; ²School of Chemistry and Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China

Abstract The tea plant (*Camellia sinensis*) is an important economic crop in China. Tea green leafhopper (*Empoasca onukii*) is the most damaging pest of tea plants and mymarid (*Stethynium empoascae*) has been classified as its egg parasitoid. However, the mechanism underlying the olfactory attraction of mymarids by tea flowers is still elusive. By factorial design, we showed that tea flowers could attract mymarids which are natural enemies of leafhopper and accelerated the parasitic behavior of mymarid. Tea flower specifically decreased the search time of parasitic behavior of mymarid with tea shoots infested by leafhoppers. However, the boosting effect of tea flower was lost in healthy tea shoots. Compared with healthy tea shoots, the types and relative contents of volatiles were dramatically increased in infested tea shoots using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). We classified the volatile expression patterns of healthy tea shoots, infested tea shoots and tea flowers using partial least squares discrimination analysis (PLS-DA). Based on variable importance for the projection (VIP), and identified 17 tea flower volatiles which could potentially discriminate the patterns of volatiles in the three tissues. Olfactometer bioassay showed that α -phellandrene, *cis*-linaloloxide, *trans*-linaloloxide, benzaldehyde and acetophenone significantly attract mymarids. Our work has preliminarily demonstrated the defense mechanism mediated by tea flowers and provides novel clues for biological control of tea green leafhopper management.

Key words tea green leafhopper, mymarid, tea plant, flower volatile, partial least squares discrimination analysis (PLS-DA), gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), biological control

Mu D, Qi ZH, Li Q, Liang KX, Hua SG, Zhu XY, Jiao MJ, Rao YC, Sun TZ (2021). Enhanced attraction of mymarids (*Stethynium empoascae*) by volatiles from tea flowers. *Chin Bull Bot* **56**, 559–572.

† These authors contributed equally to this paper

* Authors for correspondence. E-mail: ryc@zjnu.cn; confucian007@126.com

(责任编辑: 白羽红)