

槐尺蠖气味结合蛋白 GOBP2 与国槐挥发物的结合特性及其配体活性

涂京静, 王泽华, 杜鹏飞, 王山宁*

(北京市农林科学院植物保护研究所 北京 100000)

摘要: 槐尺蠖 (*Semiothisa cinerearia*) 属鳞翅目 (Lepidoptera)、尺蛾科 (Geometridae), 是一种重要的林业害虫, 主要为害国槐及其变种, 严重发生时, 可在短时间内将叶片啃食殆尽, 影响树木生长、破坏景观效果。本研究分别利用顶空动态吸附与有机溶剂萃取的方法, 并通过气质联用 (GC-MS) 法对槐尺蠖寄主植物国槐的挥发性物质进行收集和鉴定; 通过体外重组表达对槐尺蠖 GOBP2 蛋白进行表达和纯化, 获得可用于试验的重组蛋白, 利用荧光竞争结合试验筛选出能够与槐尺蠖 GOBP2 重组蛋白结合的配体化合物; 利用触角电位反应 (EAG) 和成虫产卵选择试验筛选出具有引诱活性的化合物。研究结果发现: (1) 利用顶空动态吸附与溶剂洗脱相结合和有机溶剂萃取这两种收集方法收集到槐尺蠖寄主植物国槐的挥发物, 通过 GC-MS 进行分析鉴定, 共鉴定出 38 种挥发性化合物, 主要包括烯烃类、醇类、醛类、酮类、酯类、酸类和其他化合物。有 8 种物质是共同检测到的, 在根据前人已报道的国槐挥发物组分, 同时考虑是否具有市售标准品。因此选取了 27 种可获得标准品的国槐挥发物进行分析; (2) 先对槐尺蠖 GOBP2 蛋白进行体外重组表达, 利用 HisTrap 亲和层析重力柱对蛋白进行纯化, 得到可用于后续试验的重组蛋白。通过荧光竞争结合试验筛选出了国槐挥发物中能够与槐尺蠖 GOBP2 重组蛋白有效结合的 8 种挥发性物质, 分香叶基丙酮、癸醛、 α -蒎烯、柠檬烯、1-壬烯、 β -蒎烯、戊酸叶醇酯和丁酸顺式-3-己烯酯, 解离常数为 2.21-14.94 μ M。其中结合能力最强的是香叶基丙酮; (3) EAG 反应结果表明, 三个浓度 (1 mg/mL, 10 mg/mL, 100 mg/mL) 的香叶基丙酮、癸醛、 α -蒎烯、柠檬烯、1-壬烯、 β -蒎烯、戊酸叶醇酯和丁酸顺式-3-己烯酯等 8 种化合物均能引起槐尺蠖雌、雄成虫发生 EAG 反应。槐尺蠖成虫对于戊酸叶醇酯、香叶基丙酮、柠檬烯、1-壬烯的雌雄成虫浓度反应趋势是一致的, 其中对于戊酸叶醇酯的 EAG 反应活性随浓度的升高而加大, 对香叶基丙酮、柠檬烯、1-壬烯这 3 种物质的 EAG 反应活性随浓度的升高先降低后升高。在不同浓度下, 除 α -蒎烯外, 槐尺蠖雄虫对其余化合物的 EAG 反应相对值均大于雌虫; (4) 利用产卵选择试验对 8 种化合物的行为活性进行研究, 结果表明: 测试的 8 种化合物中有 4 种化合物对槐尺蠖的产卵选择呈现负趋性, 包括: β -蒎烯、柠檬烯、1-壬烯和香叶基丙酮; 而丁酸顺式-3-己烯酯、戊酸叶醇酯、癸醛和 α -蒎烯这 4 种化合物均表现出正趋性, 表明具有一定引诱活性。以上研究结果为开发槐尺蠖植物源引诱剂提供了理论依据及技术途径。

关键词: 槐尺蠖; 植物挥发物; 气味结合蛋白; 电生理; 行为反应