松墨天牛取食和人为损伤对马尾松针叶部分 化学物质含量的影响

李水清12,张钟宁1,*

(1. 中国科学院动物研究所 农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室 北京 100080;

2. 长江大学化学与环境工程学院,湖北荆州 434023)

摘要:为探索松墨天牛 Monochamus alternatus Hope 与其寄主马尾松相互作用的关系 测定了松墨天牛取食和人为损 伤 1 天、3 天、6 天、10 天和 15 天后马尾松针叶营养物质和次生代谢物质含量的变化。结果表明:松墨天牛取食和 人为损伤均能引起马尾松针叶可溶性糖和粗多糖含量的下降,但虫害处理使新叶和老叶中可溶性糖降低更多。两 种方式处理后 10 天马尾松新叶和老叶中蛋白质含量降到最低,然后逐渐回升;相比较而言,虫害处理蛋白质含量 降幅更大。松墨天牛取食和人为损伤均引起马尾松针叶单宁和黄酮类物质含量的增加,虫害处理的针叶中单宁和 黄酮类物质的含量更高。结果提示马尾松对松墨天牛的取食为害具有特殊的应激反应机制。

关键词:松墨天牛;马尾松;可溶性糖;粗多糖;粗蛋白;单宁;黄酮

中图分类号:0965 文献标识码:A 文章编号:0454-629(2007)02-0095-06

Effects of Monochamus alternatus Hope feeding and artificial damage on the contents of several chemicals in needles of *Pinus massoniana*

LI Shui-Qing^{1 2}, ZHANG Zhong-Ning^{1,*} (1. State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China; 2. College of Chemical and Environmental Engineering, Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434023, China)

Abstract: The concentrations of nutritional chemicals and secondary metabolites in new and old needles of Pinus massoniana following attack by Monochamus alternatus Hope and artificial damage were assayed. The results indicated that the levels of soluble sugars and rough polysaccharides in new and old needles fluctuated after treatments, but the concentrations in needles of P. massoniana fed by M. alternatus were less than those in needles injured by artificial damage. Treatments of both ways caused the decrease of protein and the increase of tannin and flavonoid in needles. The contents of protein decreaed at first after treatments of both ways, and began restoring to the control level 10 d after treatments. But the effects of feeding by M. alternatus were stronger than the treatment of artificial damage. Feeding by M. alternatus influenced strongly the content of tannin in new and old needles, whereas artificial damage had no influence on the content of tannin in old needles. After treatments by feeding and artificial damage, the contents of flavonoid in new and old needles were higher than that in the control, but the effect of feeding damage was stronger. These results suggested that the host P. massoniana had evolved special defense mechanism against the damage by M.

Key words: Monochamus alternatus; Pinus massoniana; soluble saccharides; rough polysaccharides; protein; tannin; flavonoid

植物在与昆虫长期的协同进化中对昆虫的胁迫 形成了多种防御机制,一般分为组成型防御机制 (constitutive defenses)和诱导型防御机制(induced defenses)。组成型防御机制是植物体本身就存在的

基金项目:中国科学院知识创新工程重大项目(KSCX1-SW-13)

作者简介: 李水清 ,男 ,1969 年生 湖北人 ,博士 ,主要从事昆虫化学生态学研究 ,E-mail: shuiqing2000@163.com

* 通讯作者 Author for correspondence , E-mail:zhangzn@ioz.ac.cn

阻碍昆虫取食的物理和化学因子;诱导型防御机制 则是由昆虫诱导产生的(Mauricio et al., 1997; Jerry et al., 2006),又称诱导抗性。根据作用世代的不 同 ,诱导抗性又分为迅速的诱导抗性(rapidly induced resistance)和滞后的诱导抗性(delayed induced resistance)。迅速的诱导抗性是受害植物对当前世 代的植食性昆虫的影响,而滞后的诱导抗性是对后 续的一至几个世代的植食性昆虫的影响(Peter et al., 1995;康乐, 1995;娄永根和程家安, 1997; Lambert *et al*., 1999)。诱导型防御机制在植物的自 我保护中发挥着重要作用(Maleck and Dietrid, 1999; María et al., 2006)。诱导型防御包括:增加 有毒物质含量(Baldwin et al., 1997);产生局部过 敏反应或系统获得抗性(Kranthi et al., 2003; Shinogi et al., 2005);产生有毒化合物和防御蛋白, 延缓昆虫发育速度(Fajardo et al., 1998; Anh-Thu et al., 2004);诱导植物产生挥发性化合物吸引捕食 性和寄生性天敌等(Alan and Silvia, 2001; Vuorinen et al., 2004; 秦秋菊和高希武 2005)。

松墨天牛 Monochamus alternatus Hope 是一种重要的林业害虫,目前在中国主要分布在江苏、安徽、浙江、广东、山东、台湾、香港等地。松墨天牛还是松材线虫的主要媒介昆虫(Mamiya and Enda, 1972; Togashi, 1989),而松材线虫病则是松树的毁灭性流行病害。松材线虫病使日本的赤松 Pinus densiflora和黑松 P. thunbergii 遭受巨大损失(Togashi et al., 1989)。20世纪80年代,日本260万公顷松林中,大约60万公顷感染了松材线虫(Mamiya and Enda, 1972)。在我国 松墨天牛和松材线虫的共同为害已导致大量松树枯死 对我国森林资源构成严重威胁。

关于松树的诱导抗性已有一些研究,如戈峰等(1997)研究了受松毛虫为害的马尾松针叶内化学物质含量的变化及对马尾松毛虫种群参数的影响;王燕等(2000)研究了马尾松受松毛虫为害诱导的化学物质滞后变化。本实验旨在研究马尾松受松墨天牛取食为害和人为损伤后新叶和老叶内营养物质及次生代谢物质含量的变化,为松墨天牛的综合治理提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料和处理

实验材料采自安徽省宣城市宣州区敬亭山山南茶场。选取5棵4~5年生马尾松健康木,用铁纱网

将马尾松整株罩住。引入处于补充营养期的松墨天牛成虫,使新梢及二年生枝条被取食约一半的面积,然后将松墨天牛移走。另选 5 棵健康的松树,根据松墨天牛取食情况,人工去除当年生及二年生枝条的表皮,使人为损伤的面积与松墨天牛取食的面积大致相等。于松墨天牛取食和人为损伤后 1 天、3 天、6 天、10 天、15 天分别在取食为害和人为损伤的马尾松树上采集当年生新针叶及老针叶。以不受害的马尾松针叶为对照。取样后将相同处理的针叶混合 晾干,放入电热恒温干燥箱以 80℃干燥 8 h,粉碎待用。

1.2 仪器和试剂

仪器: DU 800 Spectrophotometer 紫外可见分光光度计(美国 Beckman coulter 公司); Beckman GC-6KR冷冻离心机(美国 Beckman 公司); Kjeltec 2100 蒸馏系统(美国 Foss 公司); Digestor 2006 消化系统(美国 Foss 公司)。

试剂:葡萄糖,分析纯,北京化工厂。单宁酸,分析纯,天津市福晨化学试剂厂。芦丁,99%标样,成都欧康植化科技有限公司。氢氧化钠、硼酸、硫酸铵,分析纯,北京化工厂。亚硝酸钠、硝酸铝,分析纯,北京益利精细化学品有限公司。

1.3 马尾松针叶化学物质含量的测定

可溶性糖及粗多糖的测定采用蒽酮比色法(南京农学院,1980);蛋白质的测定采用凯氏定氮法(蔡武城和袁厚积,1982);单宁的测定采用比色法(舒常庆等,1999);黄酮的测定采用乙醇浸提法(项昭保等,2002)。各化合物含量测定均重复5次。

1.4 数据分析和处理

实验数据用 SPSS11.0 软件包进行处理。用独立样本 t 检验比较两种处理间化学物质含量的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 对马尾松新叶和老叶可溶性糖含量的影响

以葡萄糖为标准品配制的系列浓度溶液 ,其吸光度与浓度的线性方程是 y = 0.0340 + 0.0472x ,相 关系数为 0.9962。

松墨天牛取食和人为损伤对马尾松新叶和老叶可溶性糖含量的影响见图 1。由图 1 可看出:松墨天牛取食和人为损伤后第 1、3、6、10、15 天,新叶和老叶内可溶性糖含量随时间变化而上下波动。松墨天牛取食和人为损伤后 3 天新叶中可溶性糖的含量

急剧下降,然后逐步回升,10天后又下降。这与王燕等(2000)的研究结果是一致的。松墨天牛取食使老叶中可溶性糖的含量急剧下降,到第6天开始回升,而人为损伤后10天内老叶中可溶性糖的含量变

化不大 ,只是在 10 天后才有所下降。 t 检验表明:两种处理间在 10 天时新叶可溶性糖含量有显著差异;而老叶中可溶性糖含量在处理后 5 个采样时间均存在显著差异(P < 0.05)。

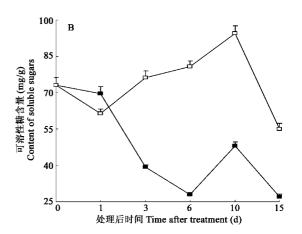


图 1 松墨天牛取食和人为损伤对马尾松新叶(A)和老叶(B)中可溶性糖含量的影响

10

6

处理后时间 Time after treatment (d)

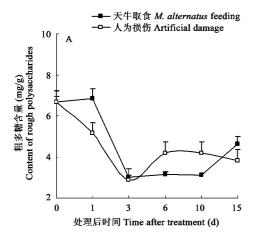
15

Fig. 1 Effect of *Monochamus alternatus* feeding and artificial damage on concentrations of soluble sugars in new(A) and old needles(B)

2.2 对马尾松新叶和老叶中粗多糖含量的影响

25

松墨天牛取食和人为损伤处理后马尾松新叶和 老叶中粗多糖的含量也是先下降,然后逐步回升,呈 波动性变化(图2)。对马尾松新叶而言,两种处理 间在 1 天、6 天和 10 天粗多糖含量存在显著差异;而对马尾松老叶,两种处理间在 1 天、10 天时的粗多糖含量差异显著。



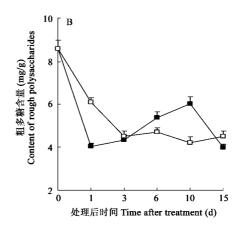


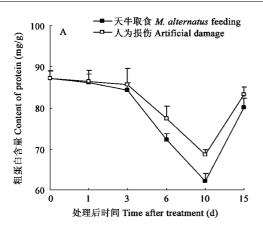
图 2 松墨天牛取食和人为损伤对马尾松新叶(A)和老叶(B)中粗多糖含量的影响

Fig. 2 Effect of *Monochamus alternatus* feeding and artificial damage on concentrations of rough polysaccharides in new(A) and old needles(B)

2.3 对马尾松新叶和老叶中粗蛋白含量的影响

由图 3 可知,松墨天牛取食和人为损伤都能引起马尾松新叶和老叶内粗蛋白含量的减少。但虫害处理使粗蛋白含量减少更多。虫害和人为损伤后10 天新叶中粗蛋白的含量达到最低,之后开始逐渐回升,15 天后达到处理前的粗蛋白含量水平;而老

叶中粗蛋白的含量也是在处理后 10 天降到最低 ,然后缓慢上升,但处理后 15 天粗蛋白含量仍低于处理前的水平。 t 检验表明,松墨天牛取食和人为损伤两种处理在 10 天新叶中粗蛋白含量差异显著 ,老叶中粗蛋白含量在处理 3 天后均存在显著差异(P < 0.05)。



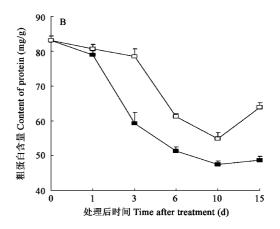


图 3 松墨天牛取食和人为损伤对马尾松新叶(A)和老叶(B)中粗蛋白含量的影响

Fig. 3 Effect of *Monochamus alternatus* feeding and artificial damage on concentrations of crude proteins in new(A) and old needles(B)

2.4 对马尾松新叶和老叶中单宁含量的影响

松墨天牛取食和人为损伤处理后,马尾松新叶中单宁的含量迅速上升,到第6天达到峰值,然后逐步回落;害虫取食使马尾松老叶中单宁含量在1天后略有上升,然后又下降;人为损伤后马尾松老叶

单宁含量没有上升 相反还略有下降(图 4)。 t 检验表明 ,两种处理间在 3 天、6 天、10 天、15 天新叶中单宁的含量存在显著差异 ,而老叶中单宁含量在处理后第 1 天、3 天、15 天有显著差异(P < 0.05)。

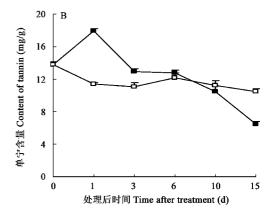


图 4 松墨天牛取食和人为损伤对马尾松新叶(A)和老叶(B)中单宁含量的影响

Fig. 4 Effect of *Monochamus alternatus* feeding and artificial damage on concentrations of tannin in new(A) and old needles(B)

2.5 对马尾松新叶和老叶中黄酮含量的影响

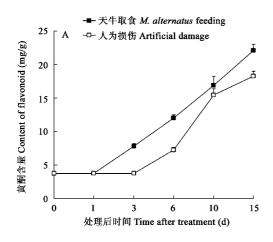
以芦丁为对照配制的标准溶液的吸光度与其浓度之间的线性方程为 y = 0.0590 + 0.1597x 相关系数为 0.9979。

松墨天牛取食和人为损伤均能引起马尾松新叶和老叶中黄酮含量的增加,而虫害处理使黄酮增加的幅度更大(图 5)。 t 检验表明,两种处理间在 3 天、6 天、15 天新叶中黄酮含量存在显著差异,而在处理后 10 天差异不显著。两种处理间在 3 天、6 天、10 天、15 天时老叶中黄酮含量均存在显著差异(P

 $< 0.05 \lambda$

3 结论与讨论

研究植物的诱导抗虫性,不但能在理论上加深对植食性昆虫种群动态机制、昆虫与植物的相互作用关系、昆虫种间种内相互作用及昆虫群落构建机制等的认识,还能在实践上补充和完善害虫的综合治理,如培育具有诱导抗虫性的作物品种、开发利用诱导剂等(娄永根和程家安,1997)。受害虫为害的



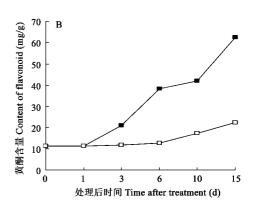


图 5 松墨天牛取食和人为损伤对马尾松新叶(A)和老叶(B)中黄酮含量的影响

Fig. 5 Effect of *Monochamus alternatus* feeding and artificial damage on concentrations of flavonoid in new(A) and old needles(B)

植物不但能影响植食性昆虫的生长、发育、存活及繁殖,还能影响昆虫的取食选择性、产卵选择性及其天敌的行为(戈峰等 ,1997 ; Couty et al., 2001)。

本研究结果表明,松墨天牛取食和人为损伤使 马尾松新叶和老叶中的可溶性糖和粗多糖含量呈波 动变化 先明显降低 然后又逐渐回升。两种处理方 式使新叶和老叶中的粗蛋白含量明显下降,为害10 天后降到最小值。说明寄主植物马尾松对松墨天牛 的取食和人为损伤具有应激机制。这种应激机制可 能是植物对外界胁迫的防御反应。而虫害处理使新 叶和老叶的可溶性糖含量及蛋白质含量降低得更 多 这也说明寄主植物对昆虫的为害具有不同于机 械损伤的特殊的应激反应。糖是昆虫发育的主要能 源物质 主要供给昆虫生长发育所必需的能量以及 转化成贮存的脂肪,也是刺激昆虫取食的一个重要 因素之一。一般认为,可溶性糖含量增高,有利于昆 虫的存活和生长发育(周章义 1986)。研究表明、糖 和蛋白质比例的失调也会增加昆虫代谢的压力(刘 兴平等 2003)。

松墨天牛取食能引起马尾松新叶和老叶中单宁和黄酮类物质含量的增加。单宁一般被认为是有效的化学防御物质,对昆虫的不利作用主要是干扰昆虫对食物的利用,尤其是干扰肠道的消化。单宁分子能与蛋白质分子结合形成稳定的交叉链,能抑制酶的活性,使昆虫不能利用鞣化的蛋白质,单宁还能与淀粉形成络合物而影响昆虫对淀粉的消化。刘兴平等(2003)认为单宁可能是对害虫起主要抑制作用的物质,可作为松树受害程度的一个检测因子。黄酮类化合物是植物次生代谢产物,对昆虫具有防御

作用,其防御机制或在于影响它们的行为和代谢,使 之发生忌避和拒食;或是破坏昆虫正常的代谢过程。引起中毒甚至死亡。

虫害诱导的直接防御反应中,植物次生代谢的消耗很大。如昆虫取食野生型欧洲防风草可诱导呋喃香豆素的合成,导致植物大部分能量用于增加呼吸代谢而使分配给其他活动的能量减少(Zangerl et al., 1997)。管致和(1996)认为受害植物在合成和积累单宁时在代谢上要花很大代价。因此,植物用于防御害虫的物质和能量是有限的,当超过一定的受害范围之后,其体内的抗性物质会减少,抗性因此而减弱。这可能是因为植物受害严重后,影响了光合作用的能力,为了自身的生长不可能再产生这些抗虫物质来抵御虫害。

昆虫与植物的相互作用关系的研究,无论是在昆虫生态学理论上,还是在害虫管理实践中,均有非常重要的意义。本实验通过对松墨天牛取食和人为损伤对马尾松针叶营养物质和次生代谢物质含量变化的研究,为松墨天牛的综合防治提供了依据。

致谢 安徽省宣城市森防站马圣安先生和吴献春先生给予了大力支持,特致谢意!

参考文献(References)

Alan H , Silvia D , 2001. Induced emissions of apple fruit volatiles by the codling moth: changing patterns with different time periods after infestation and different larval instars. Phytochemistry , 57:409 – 416.

Anh-Thu D , Gary E , Gary F , 2004. Temporal effects on jasmonate induction of anti-herbivore defense in *Physalis angulata*: seasonal and ontogenetic gradients. *Biochemical Systematics and Ecology* , 32:117 – 126.

Baldwin IT, Zhang ZP, Diab N, Ohnmeiss TE, McCloud ES, Lynds GY,

- Schmelz EA, 1997. Quantification correlations and manipulations of wound-induced changes in jasmonic acid and nicotine in *Nicotiana sylvestris*. *Planta*, 201:397 404.
- Cai WC, Yuan HJ, 1982. Chemical Analysis of Biological Substantial.

 Beijing: Science Press. 89 92. [蔡武城,袁厚积,1982. 生物物质常用化学分析法,北京:科学出版社,89 92]
- Couty A, Viña GDL, Clark SJ, Kaiser L, PhamDelègue MH, Poppy GM, 2001. Direct and indirect sublethal effects of *Galanthus nivalis* agglutinin (GNA) on the development of a potato aphid parasitoid, *Aphelinus abdominalis* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Journal of Insect Physiology*, 47:553 561.
- Fajardo JE, McCollum TG, McDonald RE, Mayer RT, 1998. Differential induction of proteins in orange flavedo by biologically based elicitors and challenged by *Penicillium digitatum Sacc. Biological Control*, 13:143 – 151.
- Ge F, Li DM, Qiu YX, Wang GH, 1997. Studies on the changes of some chemicals in damaged pine needles and their effects on population parameters of pine caterpillar. *Acta Entomologica Sinica*, 40(4):337-342. [戈峰,李典谟,邱业先,王国红,1997. 松树受害后一些化学物质含量的变化及其对马尾松毛虫种群参数的影响. 昆虫学报,40(4):337-342]
- Guan ZH, 1996. Introduction of Plant Medicine. Beijing: China Agricultural University Press. [管致和, 1996. 植物医学导论. 北京:中国农业大学出版社]
- Jerry M , Laura EH , Ronald DC , Wayne BH , Michael GB , 2006. Profiling transcriptional changes in *Citrus sinensis* (L.) Osbeck challenged by herbivory from the xylem-feeding leafhopper *Homalodisca coagulata* (Say) by cDNA macroarray analysis. *Plant Science* , 170:1068 1080.
- Kang L, 1995. The chemical defenses of plants to phytophagous insects.

 **Chinese Bulletin of Botany*, 12(4):22 27. [康乐, 1995. 植物对昆虫的化学防御. 植物学通报, 12(4):22 27]
- Kranthi S , Kranthi KR , Wanjari RR , 2003. Influence of semilooper damage on cotton host-plant resistance to *Helicoverpa armigera* (Hub.). *Plant Science* , 164:157 – 163.
- Lambert KN , Ferrie BJ , Nombela G , Brenner ED , Williamson VM , 1999.

 Identification of genes whose transcripts accumulate rapidly in tomato after root-knot nematode infection. *Physiological and Molecular Plant Pathology* , 55:341 348.
- Liu XP, Ge F, Chen CP, Wang GH, Li ZY, 2003. Progress in induced resistance of pines. *Scientia Silvae Sinicae*, 39(5):119-128. [刘兴平, 戈峰, 陈春平,王国红李镇宇, 2003. 我国松树诱导抗虫性研究进展. 林业科学, 39(5):119-128]
- Lou YG, Cheng JA, 1997. Induced plant resistance to phytophagous insects.

 **Acta Entomologica Sinica*, 40(3):320 330. [娄永根,程家安, 1997. 植物的诱导抗虫性. 昆虫学报,40(3):320 330]
- Maleck K, Dietrid RA, 1999. Defence on multiple fronts: how do plants cope with diverse enemies? *Trends Plant Science*, 4:215-219.
- Mamiya Y , Enda N , 1972. Transmission of *Bursaphelenchus lignicolus*(Nematoda: Aphelenchoididae) by *Monochamus alternatus*(Coleoptera: Cerambycidae). *Nematologica* , 18:159 162.
- María JL, Matthew PA, Bruce DA, 2006. Effects of fire and mechanical

- wounding on *Pinus resinosa* resin defenses, beetle attacks, and pathogens. *Forest Ecology and Management*, 225:349-358.
- Mauricio R , Rausher MD , Burdick DS , 1997. Variation in the defence strategies of plant: are resistance or tolerance mutually exclusive? *Ecology* , 78:1301-1311.
- Nanjing Agricultural College, 1980. Agricultural Chemical Analysis of Soil.

 Beijing: China Agriculture Press. 247 249. [南京农学院, 1980. 土壤农化分析. 北京:农业出版社. 247 – 249]
- Peter LLJ, Frederick MS, Timothy DP, 1995. Environment and ontogeny modify loblolly pine response to induced acute water deficits and bark beetle attack. Forest Ecology and Management, 73:97 110.
- Qin QJ, Gao XW, 2005. Plant defense responses induced by insect herbivory. *Acta Entomologica Sinica*, 48(1):125-134. [秦秋菊, 高希武, 2005. 昆虫取食诱导的植物防御反应. 昆虫学报, 48(1):125-134]
- Shinogi T , Hamanishi Y , Otsu Y , Wang YQ , Nonomura T , Matsuda Y , Toyoda H , Narusaka Y , Tosa Y , Mayama S , 2005. Role of induced resistance in interactions of *Epilachna vigintioctopunctata* with host and non-host plant species. *Plant Science* , 168:1477-1485.
- Shu CQ, Dong XM, Yang GD, Wu HY, 1999. Analysis of tannin content of gallnuts on Chinese pistache (*Pistacia chinensis* Bunge). *Journal of Huazhong Agricultural University*, 18(2):184 187. [舒常庆,董晓明,杨广东,伍华银,1999. 黄连木五倍子单宁含量的分析研究. 华中农业大学学报,18(2):184 187]
- Togashi K , 1989. Factors affecting the number of Bursaphelenchus xylophilus (Nematoda: Aphelenchoididae) carried by newly emerged adults of Monochamus alternatus (Coleoptera: Cerambycidae). Applied Entomology and Zoology , 24(4):379 – 386.
- Vuorinen T , Reddy GVP , Nerg AM , Holopainen JK , 2004. Monoterpene and herbivore-induced emissions from cabbage plants grown at elevated atmospheric CO_2 concentration. Atmospheric Environment , 38:675 –
- Wang Y, Li ZY, Ge F, 2000. Lag-change of chemical components in needles of injured pine, *Pinus massoniana*. *Acta Entomologica Sinica*, 43(3):291-296. [王燕,李镇宇,戈峰,2000. 马尾松受害诱导的化学物质滞后变化. 昆虫学报,43(3):291-296]
- Xiang ZB, Ren SG, Shi YS, Tang CH, 2002. Absorptiophotometric determination of total flavones in stems and leaves of buckwheat.
 Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis), 38(9):436-437.[项昭保,任绍光,石轶松,唐春红,2002.吸光光度法测定荞麦中总黄酮.理化检验:化学分册,38(9):436-437]
- Zangerl AR , Amtz AM , Berenbaum MR , 1997. Physiological price of an induced chemical defense – photosynthesis , respiration , biosynthesis and growth. *Oecologia* , 109:433 – 441.
- Zhou ZY, Su XL, Zhang ZS, 1986. Relationship between tree nutrition and insect pests: the effect on resistance to insects after nitrogen fertilizer application to *Pinus tabulaeformis*. *Acta Entomologica Sinica*, 29(3): 283-290. [周章义,苏西林,张佐双,1986. 林木营养与虫害——油松施氮肥的抗虫效应. 昆虫学报,29(3):283-290]

(责任编辑:黄玲巧)