

不同品系杨树酚酸类物质对青杨脊虎天牛的驱避作用

左彤彤 迟德富* 王牧原 宇 佳 李晓灿 王文帆

(东北林业大学, 哈尔滨 150040)

摘要: 运用高效液相色谱法(HPLC)测定7种不同品系杨树韧皮部中6种酚酸的含量,并观察外源施用酚酸对青杨脊虎天牛的驱避作用。结果表明,每种酚酸的含量在不同品系杨树中差异显著水平不同,被测定的6种酚酸含量之间均呈正相关关系,部分酚酸含量之间相关性达显著水平;6种酚酸对青杨脊虎天牛均有不同程度的驱避作用,其中以咖啡酸、肉桂酸、丁香酸效果更为明显,驱避率在78%以上。

关键词: 青杨脊虎天牛; 酚酸含量; 驱避性

Repellent effects of phenolic acids in different strain poplars to *Xylotrechus rusticus*

Zuo Tongtong Chi Defu* Wang Muyuan Yu Jia
Li Xiaocan Wang Wenfan

(Northeast Forestry University, Harbin 150040, Heilongjiang Province, China)

Abstract: The research has been done by using HPLC in order to measure the content of six kinds phenolic acids in seven strains of poplars' phloem, and observe the resistance to the *Xylotrechus rusticus* Linnaeus by applying to exogenous phenolic acids. There is significant different level of content of each phenolic acid in different strains of poplar. The content of the six phenolic acids measured had positive correlation with each other, some of which reached a significant level. The six exogenous phenolic acids have effect on the resistance of *Xylotrechus rusticus* to different extents, especially in caffeic acid, cinnamic acid and syringic acid, the rate of resistance in which is more than 78%.

Key words: *Xylotrechus rusticus*; content of phenolic acid; avoidance

青杨脊虎天牛 *Xylotrechus rusticus* Linnaeus 是杨树的重要蛀干害虫,在东北地区危害严重。近年来,其危害面积和危害程度呈逐年扩大、加重的趋势^[1],在哈尔滨、齐齐哈尔和绥化等地区造成大面积灾害。传统的化学、生物等防治手段效果均不理想,因此,急需探索对青杨脊虎天牛有效的防治方法和措施。

在昆虫与植物的相互作用关系中,次生代谢物质被看作是植物对昆虫的化学防御机制之一。在与抗虫性有关的植物次生代谢物中,多酚、黄酮类化合物可直接影响植食性昆虫的取食并表现出毒性或排趋性^[2],植物体内多酚类次生代谢物质含量与植物受病虫害侵染程度呈显著的正相关性^[3],在对杨树的酚类物质与其抗性研究中,认为酚酸的种类和含

基金项目:国家自然科学基金(30671694),黑龙江杰出青年科学基金

作者简介:左彤彤,女,1983年生,硕士研究生,研究方向为森林化学生态, email: tt1983_0@163.com

* 通讯作者(Author for correspondence), email: chidefu@126.com

收稿日期: 2007-12-30

量与抗性有密切关系^[4]。

本研究测定和比较了 7 个品系杨树韧皮部中苯甲酸、咖啡酸、肉桂酸、阿魏酸、水杨酸以及丁香酸的含量,并探讨外源施用不同种类酚酸类物质后青杨脊虎天牛成虫对酚酸类物质的驱避作用,为培育抗性杨树品种和防治青杨脊虎天牛提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

根据青杨脊虎天牛对不同的杨树品种危害程度的差异,选取小黑杨、小叶杨、小青杨、中东杨、银中杨、大青杨和小青黑杨 7 个品系,其中,该地区小黑杨和中东杨为抗性树种,其余为非抗性树种^[5],7 种杨树样品均采自黑龙江省大庆市红旗林场。根据青杨脊虎天牛成虫产卵习性,分别采集 2~3 m 高处的韧皮部,每个杨树品系分别采集 3 个平行样本,共采集 21 组样本。

2006 年 12 月在呼兰地区采集受害杨树木段,置于室外沙网中越冬。翌年 6 月,木段中幼虫变为成虫,模拟其野外生存环境以供试验选用。

1.2 酚酸提取

提取方法参见文献[6]。先将采集样品置于 105℃ 干燥箱内 5 min,消除样本体内酶的活性,之后 65℃ 干燥至恒重,将烘干样品粉碎,过 60 目筛,置于阴凉处保存备用。准确称取样本 3.00 g 于 250 mL 圆底烧瓶中,加 100 mL 石油醚,加热回流 2 h,自然放置至室温,滤去石油醚,残渣晾干后放入圆底烧瓶中备用。将残渣于由甲醇(分析纯)与双蒸水配制而成的 50% 甲醇 100 mL,60℃ 水浴加热回流 2 h,抽滤去除残渣,滤液备用。滤液经无水硫酸钠脱水至无结晶析出,旋转蒸发得醇溶性酚类提取物。将酚酸提取物溶于纯色谱甲醇中,定容至 3 mL,充分溶解,经 0.45 μm 滤膜过滤待测。

1.3 酚酸测定

高效液相色谱法(HPLC)测定样本中酚酸物质含量,高效液相色谱仪为 Waters2695,梯度洗脱 0~53 min,流动相分别为 A(甲醇:水:冰乙酸=10:88:2)、B(甲醇:水:冰乙酸=90:8:2),0~15 min A:B=100:0;15~25 min A:B=85:15;25~45 min A:B=50:50;45~53 min A:B=85:15;53 min 为 100:0。检测波长为 254 nm,色谱柱为 Nova-Pak C 18.9 mm×150 mm Column Part No. WAT096344,流速为 0.9 mL/min,检测器为二极管阵列检测器 2696,定量方

法采用外标法定量,室温进行检测。

1.4 青杨脊虎天牛对外源施用酚酸反应的室内生测

根据测定及分析结果,分别选取所含不同酚酸的最高含量为标准,选用原液、10 倍稀释液、50 倍稀释液三个浓度,以备室内生测。分别称取苯甲酸 6.6 mg、咖啡酸 6.3 mg、肉桂酸 8.4 mg、阿魏酸 3.3 mg、水杨酸 11.6 mg、丁香酸 1.3 mg,溶于 2 mL 乙醇,制备成母液;取母液 100 μL,加入 900 μL 乙醇,混匀制备成 1 mL 10 倍稀释液;取母液 20 μL,加入 980 μL 乙醇,混匀为 50 倍稀释液。准确量取母液、10 倍稀释液、50 倍稀释液 1 mL,滴于受害较严重的杨树枝条上,待乙醇挥发完全后,置于直径为 46 cm 干燥器中的一侧,另一侧放置未滴加外源酚酸、吸取同等体积乙醇的枝条为对照。选取健康、活泼的青杨脊虎天牛成虫 20 只,不分性别,每次放入 1 只,逐只置于干燥器中,观察其行为。在涂有酚酸的枝条上停留 10 s 以内并且离去的试虫,记为有驱避反应;停留 10 s 以上不离去的记为无驱避反应;未爬上枝条的记为不反应。

1.5 数据处理

采用 Excel 和 SPSS 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同杨树品系韧皮部 6 种酚酸含量

由于试验所选的杨树品系不同,其所含酚酸物质的含量亦有所不同,介于 0~5.787 mg/g 之间。小黑杨、小叶杨、小青杨、中东杨、银中杨、大青杨以及小青黑杨 7 种杨树中,苯甲酸、阿魏酸、咖啡酸、水杨酸、肉桂酸和丁香酸含量最高的树种分别为大青杨、中东杨、小黑杨、小青杨、中东杨和大青杨,而水杨酸在中东杨韧皮部未检测到。经方差分析,7 种杨树间不同酚酸含量之间的差异均达显著水平($\alpha < 0.05$)(图 1)。

2.2 7 种杨树间韧皮部酚酸物质含量多重比较

根据测定结果,在 0.01 水平处对 7 种杨树的 6 种酚类物质进行多重比较,所测 7 种杨树的 6 种酚酸间含量呈现多样化变化,每种酚酸的含量在不同品系杨树中差异显著水平不同,但从整体水平观察,抗性树种小黑杨与中东杨,特别是大面积种植的小黑杨^[5],整体酚酸含量与其它树种相比,处在较高水平,而其余杨树品种的酚酸含量除少数种类较高外,其它含量均相对较低,说明酚酸类物质与杨树抗虫性之间存在一定的相关性(表 1)。

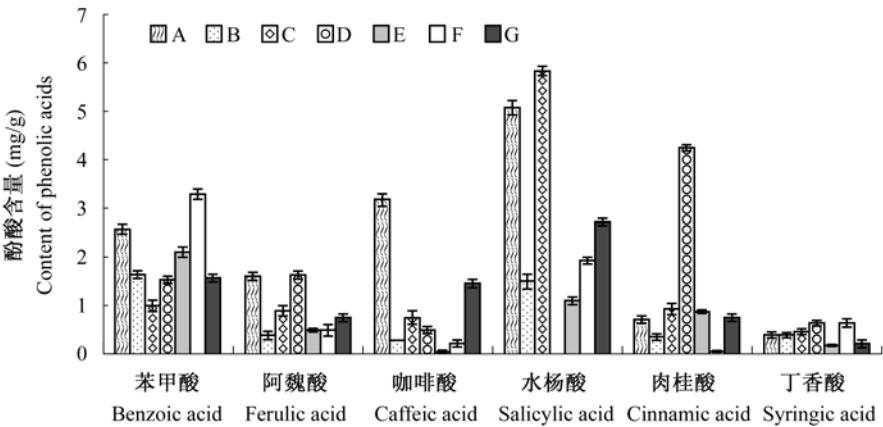


图 1 7 种杨树品系中 6 种酚酸含量

Fig. 1 The contents of phenolic acids in seven strains of poplars

注: A. 小黑杨; B. 小叶杨; C. 小青杨; D. 中东杨; E. 银中杨; F. 大青杨; G. 小青黑杨。Note: A. *Populus simonii* × *P. nigra*; B. *Populus simonii*; C. *Populus pseudo-simonii*; D. *Populus berolinensis*; E. *Populus alba* × *berolinensis*; F. *Populus ussuriensis*; G. *Populus pseudo-simonii* × *P. nigra*.

表 1 7 种杨树酚酸物质含量多重比较结果

Table 1 Multicomparison of contents of phenolic acids in seven strains of poplars

品系 Strain	苯甲酸 Benzoic acid	阿魏酸 Ferulic acid	咖啡酸 Caffeic acid	水杨酸 Salicylic acid	肉桂酸 Cinnamic acid	丁香酸 Syringic acid
小黑杨 <i>Populus simonii</i> × <i>P. nigra</i>	AB	AB	A	A	C	BC
小叶杨 <i>Populus simonii</i>	BC	C	CD	C	D	C
小青杨 <i>Populus pseudo-simonii</i>	D	B	C	A	B	B
中东杨 <i>Populus berolinensis</i>	C	A	C	E	A	A
银中杨 <i>Populus alba</i> × <i>berolinensis</i>	B	BC	E	C	B	D
大青杨 <i>Populus ussuriensis</i>	A	BC	CD	C	E	A
小青黑杨 <i>Populus pseudo-simonii</i> × <i>P. nigra</i>	C	B	B	B	C	D

注: 根据图 1 相对应数据, 同列字母相同表示无显著差异, 字母不同表示差异达 $P < 0.01$ 水平。Note: On the basis of data in Fig. 1, different letters on the same line indicated significant different at $P < 0.01$ level.

2.3 不同杨树品系 6 种酚酸相关性分析

6 种酚酸含量间均呈正相关关系, 说明被测试的 6 种酚酸含量均随着其它酚酸含量的增加而增加, 其中除部分酚酸 (肉桂酸与阿魏酸、肉桂酸与丁香酸) 含量相关性达显著 ($\alpha < 0.05$) 水平或极显著 ($\alpha < 0.01$) 水平 (咖啡酸与水杨酸、苯甲酸与丁香酸) 外, 其余酚酸含量虽呈正相关关系, 但不显著 (表 2)。

2.4 青杨脊虎天牛对外源施用酚酸的行为反应

本试验采用室内人工模拟林分方法, 将 6 种酚酸涂在 7 种杨树枝条表面。结果表明 6 种酚酸对青杨脊虎天牛均有不同程度的驱避作用。接触过涂有

酚酸枝条的青杨脊虎天牛立刻对该枝条产生回避, 且随酚酸浓度增大, 驱避效果有增强的趋势。不同酚酸对青杨脊虎天牛的驱避效果不同, 其中, 50 倍稀释液中驱避效果最好的为肉桂酸, 然而当酚酸浓度增加到原始浓度时丁香酸的驱避率最高, 为 88.94%, 说明丁香酸随酚酸浓度的增加, 驱避效果较其它几种酚酸提升幅度明显; 而水杨酸在 50 倍稀释液、10 倍稀释液及原始浓度三个浓度水平下驱避效果均最低, 驱避率分别为 38.3%、43.3% 和 50%。6 种酚酸驱避作用大小的顺序为丁香酸 > 咖啡酸 > 肉桂酸 > 苯甲酸 > 阿魏酸 > 水杨酸。

表 2 不同杨树品系 6 种酚酸相关性分析
Table 2 Correlation analysis of six phenolic acids in different strains of poplars

酚酸 Phenolic acid	苯甲酸 Benzoic acid	咖啡酸 Caffeic acid	肉桂酸 Cinnamic acid	阿魏酸 Ferulic acid	水杨酸 Salicylic acid
咖啡酸 Caffeic acid	0.509				
肉桂酸 Cinnamic acid	0.270	0.143			
阿魏酸 Ferulic acid	0.192	0.498	0.584 *		
水杨酸 Salicylic acid	0.521	0.752 **	0.033	0.235	
丁香酸 Syringic acid	0.797 **	0.349	0.597 *	0.362	0.513

Note: ** $\alpha < 0.01$, * $\alpha < 0.05$.

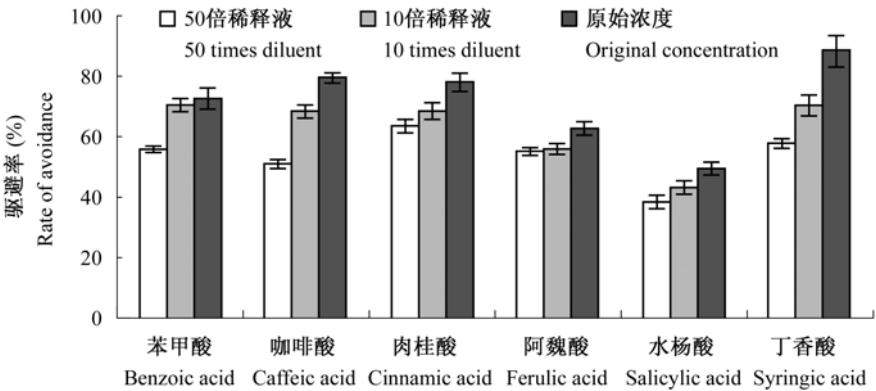


图 2 青杨脊虎天牛对外源施用酚酸的驱避结果

Fig. 2 The result of avoidance reaction of *Xylotrechus rusticus* treated with phenolic acids

3 讨论

酚类是带羟基芳香环的衍生物,它的组成和含量与抗虫性有密切关系^[7-8],包括忌避或抑制昆虫取食、阻碍食物消化、引起中毒或延迟生长、降低繁殖率、吸引天敌等作用^[2]。王蕤等^[9]在就毛白杨内含物对光肩星天牛的抗性研究中,认为一些酚酸的存在及含量差异与其抗虫性的强弱相关联。李会平等^[7]研究表明,肉桂酸和香豆酸只在抗性最强的毛白杨中可检测出,苯酚、阿魏酸、邻苯二酚、丁香酸、绿原酸和水杨酸的含量越高,对天牛的抗性越强。本研究测定结果也证实,抗性树种中东杨的肉桂酸含量明显高于其余杨树品系,中东杨和小黑杨的阿魏酸含量与其它非抗性树种差异显著,且肉桂酸与阿魏酸和丁香酸的正相关性达显著水平。此外,本研究发现,非抗性树种中一些酚酸的含量很高如大青杨中丁香酸和苯甲酸的含量、小青杨中水杨酸的含量,这可能是杨树在青杨脊虎天牛入侵后,作为一种防御机制,在体内迅速积累了这些酚酸类物质,来提高自身抗性^[10],而抗性树种小黑杨的咖啡酸含量

和肉桂酸含量远高于其它树种,由此推断,肉桂酸、丁香酸和咖啡酸在表现杨树抗性差异中可能发挥重要作用。今后可以借助酚酸含量差异性作多树种的合理配置,改变防护林树种结构单一、多为感天牛树种的状况,增加物种的多样性,提高林分对青杨脊虎天牛的整体抗性。

具有驱避活性的物质主要影响昆虫取食时对寄主的识别定位,同时还可干扰昆虫在寄主上的栖息和产卵^[11]。由于青杨脊虎天牛成虫具有在树干栖息、交配并在韧皮部产卵等生物学特性^[12],杨树韧皮部酚酸含量对青杨脊虎天牛成虫有直接影响。本研究所测定的 6 种酚酸对青杨脊虎天牛在一定程度上均产生驱避作用,被测酚酸驱避作用大小顺序为丁香酸 > 咖啡酸 > 肉桂酸 > 苯甲酸 > 阿魏酸 > 水杨酸,这一结果与分析韧皮部含量时推断的结果,即肉桂酸、丁香酸和咖啡酸在对杨树抗性差异中可能发挥重要作用一致。故初步判定:肉桂酸、丁香酸和咖啡酸在表现杨树抗性差异中具有重要作用。外源施用这三种酚酸,50 倍稀释液即对青杨脊虎天牛具有较高的驱避率,随着浓度的升高,驱避作用逐渐增

强,这与程红等^[13]研究单宁对青杨脊虎天牛的驱避作用时得出的结论一致。

在构成植物抗虫性的众多因素中,次生物质已成为抗虫性研究的一项重要内容^[14]。利用天然生物物质防治的方法替代传统的化学防治方法,有利于害虫防治的可持续发展。树木的抗虫性是多种理化特性的综合体现,这些酚酸类物质对青杨脊虎天牛成虫的行为和生理机制的影响,还需进一步研究。

参 考 文 献(References)

- [1] 蔡建文,谷镭,孙玉峰,等. 青杨虎天牛的生态学特性. 林业科技, 2000, 25(3): 29
- [2] 高微微,佟健明,郭顺星. 植物次生代谢产物的生态学功能研究进展. 中国药学杂志, 2006, 41(13): 961-963
- [3] Myster R W. Foliar pathogen and insect herbivore effects on two landslide tree species in Puerto Rico. Forest Ecology and Management, 2002, 169(3): 231-242
- [4] 魏振. 杨树抗虫性研究进展. 中国森林病虫, 2007, 26(1): 25-28
- [5] 黄咏槐. 青杨脊虎天牛(*Xylotrechus rusticus* Linnaeus)生物学特性及防治技术研究. 东北林业大学, 2004:24-25
- [6] 王志刚,张广彦,黄大庄. 不同杨树树种枝条木质部酚类次生代谢物质的分析. 河北农业大学学报, 1999, 22(4): 75-78
- [7] 李会平,王志刚,杨敏生,等. 杨树单宁与酚类物质种类及含量与光肩星天牛危害之间关系的研究. 河北农业大学学报, 2003, 26(1): 36-39
- [8] 王瑞勤,李凤兰,黄一平,等. 1—69 杨和大官杨对光肩星天牛抗性的研究. 北京林业大学学报, 1993, 15(1): 85-90
- [9] 王蕤,巨关升,秦锡祥. 毛白杨树皮内含物对光肩星天牛抗性的探讨. 林业科学, 1995, 31(2): 185-187
- [10] 李明,曾任森,骆世明. 次生代谢产物在植物抵抗病虫害中的作用. 中国生物防治, 2007, 23(3): 269-273
- [11] 李水清,方宇凌,张钟宁. 植物源昆虫拒食活性物质的研究和应用. 昆虫知识, 2005, 42(5): 491-496
- [12] 金格斯,吾尔兰汗. 青杨脊虎天牛生物学特性及其综合防治. 林业实用技术, 2006(7): 28-29
- [13] 程红,严善春,迟德富,等. 黑龙江省主栽杨树品系干部单宁含量与青杨脊虎天牛危害的关系. 东北林业大学学报, 2006, 34(2): 32-34
- [14] Thomas D, Erich S. Oviposition of carrot fly (*P. silarosae*) in response to foliage and leaf surface extracts of host plants. Chemoecology, 1998, 8: 39-49