

落叶松(*Larix gmelinii*)苗挥发物两种收集方法的对比分析

徐伟^{1,2},严善春^{1,*},廖月枝¹,冯春富¹

(1. 东北林业大学林学院,哈尔滨 150040;2. 吉林农业大学农学院,长春 130118)

摘要:采用预浓缩和固相微萃取(SPME)2种方法对2年生兴安落叶松苗挥发物成分进行采集并做GC-MS分析。结果表明,落叶松苗挥发物主要成分为萜烯类化合物,其中 α -蒎烯、4(10)-侧柏烯、莰烯、 β -蒎烯、D-柠檬烯和 β -水芹烯所占比例较高;整株、针叶和树皮挥发物的组成和含量存在差异,针叶中饱和烷烃含量较高,树皮中倍半萜烯、醇、酮和酯类挥发物含量较高,并且这2种组织经SPME采集检测的挥发物中石竹烯和 α -蛇麻烯含量增加幅度较大,它们可能在昆虫近距离寄主定位中起作用。对2种气体收集方法的分析比较,认为预浓缩结果接近落叶松挥发物组分和含量的自然特征,SPME受萃取头纤维特性的影响,对倍半萜烯类化合物吸附作用强,对烷烃吸附差,并且不同化合物的同时存在可能影响其吸附效率,导致检测量准确度下降,因此预浓缩法更适合植物挥发物定性和定量分析。

关键词:兴安落叶松;挥发物;预浓缩;固相微萃取

文章编号:1000-0933(2009)06-2884-09 中图分类号:Q948,S718.5 文献标识码:A

Comparison of two collecting methods for analysis of volatiles of *Larix gmelinii* seedlings

XU Wei^{1,2}, YAN Shan-Chun^{1,*}, LIAO Yue-Zhi¹, FENG Chun-Fu¹

1 College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

2 College of agronomy, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(6): 2884 ~ 2892.

Abstract: Plant volatiles play an important role in host recognition and selection by insects. We used GC-MS analysis to determine the composition and concentration of volatiles from two year old *Larix gmelinii* seedlings using two collecting methods: cryogenic trapping pre-concentration and solid-phase microextraction (SPME). *Larix gmelinii* seedlings contained 70 compounds including terpenes, hydrocarbons, alcohols, ketones, and esters. The major compounds were terpenes including α -pinene, 4(10)-thujene, camphene, β -pinene, D-limonene and β -phellandrene, together comprising more than 75% of total volatiles. The compositions and concentrations of volatiles differed among stem, needle and bark tissues. Needles contained higher levels of saturated hydrocarbons, while more sesquiterpene, alcohol, ketone and ester were found in bark than in stem tissues. The presence of caryophyllene and α -humulene was readily detected in bark by using SPME. These compounds probably facilitate short-distance location of host plants by insects. Of two pre-treatment methods, we found the results from cryogenic trapping pre-concentration were most similar to the natural characteristics of *Larix gmelinii* volatiles. In the experiments with SPME, the characteristics of adsorbent fiber could affect the absorption of some compounds. More sesquiterpene and less hydrocarbon were detected with SPME than with cryogenic trapping pre-concentration. We hypothesize that the various co-existing volatiles differentially affected the effect of adsorbent fiber, further reducing the accuracy of detection by SPME. We found cryogenic trapping pre-concentration to be useful for

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30371163);黑龙江省重点基金资助项目(ZJN0603-01)

收稿日期:2008-03-04; 修订日期:2008-11-03

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: yanshanchun@126.com

qualitative and quantitative analyses of volatiles.

Key Words: *Larix gmelinii*; volatiles; cryogenic trapping pre-concentration; SPME

近年来研究发现昆虫寻找寄主,进行取食和产卵定位主要以植物挥发物为重要线索^[1~4]。基于植物挥发物对昆虫行为的这种调控作用,研究其组成与含量的变化及在寄主选择中的作用具有重要的生态意义。挥发物的分析一般通过气谱-质谱联机的方法,而选取不同的挥发物捕获方法会直接影响分析结果。目前,文献报道的挥发物捕获方法大多为 Tenax 吸附^[5]、溶剂提取、水蒸气蒸馏^[6]和固相微萃取(SPME)^[7]等,SPME 由于便于携带、方便操作,重现性好,近几年在国内被逐渐应用于植物挥发物的分析研究,而利用数码罐捕获植物挥发物经预浓缩仪进入气相色谱分析的方法鲜有报道^[8]。本文选用东北地区主要造林树种兴安落叶松(*Larix gmelinii*)为试验材料,通过预浓缩和 SPME 方法比较兴安落叶松不同部位组织挥发物组分与含量的差异,从化学生态的角度探讨昆虫对寄主选择定位的原因,并为不同研究目标的挥发物分析选择适合的捕获方法提供数据依据。

1 材料和方法

1.1 植物材料和挥发物采集

选用 2 年生兴安落叶松苗,5 月初移植于盆中,给予充分的灌溉,恢复生长 3 个月后,于 8 月末选择健康、长势相似的落叶松苗分别以预浓缩和 SPME 方法采集整株、针叶和树皮挥发物。针叶样品是将 1 株落叶松苗的所有针叶剪下,树皮是剥取落叶松根迹处到第 1 分支之间的树皮,为避免剪伤导致挥发物组分和含量的变化,迅速在针叶叶柄剪口处、以及剥下树皮的韧皮部内表面和剪口处用封口膜封闭处理,并立即采集样品,采样时间为 8:00 ~ 9:00,每个样品重复 3 次。

预浓缩方法采集落叶松苗整株挥发物装置如图 1 所示,将聚四氟塑料袋套在待测的落叶松苗上,在根际处封口,塑料袋上连有两根聚四氟塑料管,其中 1 根与 1 个 3L 数码罐相连,采样前数码罐在美国 Entech 3100 自动清洗系统上用高纯氮清洗 3 遍并抽真空;另外 1 根塑料管连接 1 个填充 Tenax 的玻璃管、1 个填充活性炭的玻璃管,再与大气采样仪(QC-2 型,购自北京市劳保所科技发展有限公司)相连。采样时先将聚四氟塑料袋内的空气抽尽,再通过活性炭和 Tenax 吸附剂的过滤将新鲜空气充满,平衡 5min,打开数码罐的开关旋钮,吸取袋内气体,为了让气体充分吸入,5min 后关闭旋钮。将采集好样品的数码罐连接到低温预浓缩系统的进样通道上,进样量为 400ml,样品在 Entech 7100 预浓缩仪中采用 EPA VOC-TO-14 标准配置方法经过 3 级冷阱处理,除去水和 CO₂,后经冷聚焦进入气相色谱仪进行分离。针叶和树皮的采集方法与整株相同。

固相微萃取参照魏明等方法^[7,9,10],固相微萃取纤维(DVD/ Carboxen / PDMS 50/30 μm, 购自美国 SUPELCO 公司)使用前在气相色谱的进样口 250℃ 下老化 2 h。将待测样品装入聚四氟塑料袋,充满新鲜空气后,将固相微萃取的萃取头插入,在距样品 5cm 处推出纤维头,30℃ 吸附 30min,取出萃取头在 250℃ 解析 2 min,启动气相色谱采集数据。

1.2 色谱条件

采用日本岛津 GCMS-QP5050 质谱仪检测。色谱柱:岛津 CP2Sil 5CB(30m × 0.32 mm × 1.00 μm)色谱柱;载气压力:氦气,6kPa;进样口温度:250℃;接口温度:250℃;分流比 1:10;程序升温:40℃ → (5℃/min) → 90℃ → (8℃/min) → 250℃,在 250℃ 停留 10 min。MS 条件:EI 源:70eV;源温:200℃;扫描范围:mPz 为 10 ~ 400;扫速:0.14s/P 扫描。挥发性物质的各组分通过检索 Xcalibur 软件(Finnigan)所带的 NIST 库中的图谱,结合保留时间,进行比较鉴定,并根据质谱离子峰面积百分数计算每种挥发物的相对百分含量。

2 结果与分析

2.1 预浓缩的分析结果

经预浓缩采集进样,经气质联机分析检测到落叶松整株、针叶和树皮中环烃和萜烯类化合物分别是 15

种、18种和16种(表1)。其中整株中 α -蒎烯、4(10)-侧柏烯、莰烯、 β -蒎烯、 β -月桂烯、D-柠檬烯和 β -水芹烯相对百分含量超过1%。针叶与整株相比3-甲基-2-乙基-1-丁烯、 α -蒎烯、 β -蒎烯、甘菊环烃和石竹烯增加明显,超过1%;而4(10)-侧柏烯和莰烯降低幅度较大,分别降低了3.5%和10.8%。树皮与整株相比 α -蒎烯、4(10)-侧柏烯、 β -蒎烯、D-柠檬烯、 β -水芹烯、萜松油烯、石竹烯、大叶香烯和 δ -杜松烯增加明显,但莰烯含量降低幅度达13.09%。

在整株和针叶中检测到7种饱和烷烃(表2),其中针叶中有4种烷烃含量较高超过1%,树皮中烷烃含量较低,仅检测出2种。挥发性醇类化合物在整株中所占的相对百分含量较低为1.14%(表3),种类也较针叶和树皮中的少,酯、胺等功能团化合物的总量高于针叶和树皮。

2.2 固相微萃取的分析结果

经固相微萃取采集的落叶松整株挥发物中环烃和萜烯类化合物有15种,针叶18种、树皮为23种(表1)。整株中 α -蒎烯、4(10)-侧柏烯、 β -蒎烯、 β -月桂烯、D-柠檬烯、 β -水芹烯和石竹烯相对含量较高,超过1%。与整株相比针叶中石竹烯和 α -蛇麻烯含量增加幅度较大,分别增加了13.12%和7.56%;有5种化合物含量明显降低, α -蒎烯、4(10)-侧柏烯、 β -蒎烯含量降低超过3%。树皮中有3种化合物含量明显降低,其中 α -蒎烯和 β -蒎烯含量分别为14.17%和20.76%,远远低于整株和针叶;但与整株相比 β -月桂烯、D-柠檬烯、 β -水芹烯、萜松油烯、 β -榄香烯、石竹烯、 α -蛇麻烯、大香叶烯和 δ -杜松烯含量显著增加超过1%。

落叶松针叶中检测到6种饱和烷烃(表2),整株和树皮中仅检测出2种。但是树皮中醇、酮和酯类挥发物的种类和总量较整株和针叶高(表3),包括8种醇、3种酮和4种酯。

2.3 2种收集方法的比较

采用预浓缩方法在整株、针叶和树皮中共检测出环烃和萜烯类化合物20种,SPME检出26种,其中有17种化合物是2种方法均能检出的(表1)。预浓缩法对1,2-二甲基环戊烷、6-甲基-3-十一碳烯、3-甲基-2-乙基-1-丁烯、三环烯、4(10)-侧柏烯、莰烯、罗勒烯、三环[6.2.0(2,7)]十二-6,9-二烯和甘菊环烃检出量大于SPME,而有15种单萜和倍半萜烯类化合物由SPME检出量高,其中 β -榄香烯、石竹烯和 α -蛇麻烯检出量超过预浓缩1%以上。对于 α -蒎烯、4(10)-侧柏烯和 β -蒎烯,2种方法在落叶松不同组织中的检出量的高低变化与其他萜烯相比明显缺乏一致性,例如,在针叶和树皮中预浓缩对 α -蒎烯和 β -蒎烯检出量高于整株,而SPME在整株中对这2种挥发物的检出量最高。

在同一种样品中除壬烷和癸烷外,预浓缩对烷烃化合物的检出量高于SPME(表2)。胺、(E)-2,3-二乙基环氧莰烷和3-甲基-1-丁烯酸-四氢吡喃-2-醚只有预浓缩检出,但预浓缩未检出酮类化合物,对不饱和醇类化合物的检出种类和量也较SPME少。

3 结论与讨论

3.1 2种方法对兴安落叶松苗挥发物组分和含量的检测存在差异

SPME对萜烯类化合物、不饱和醇、酮类化合物检出种类多于预浓缩,这与试验所用的DVD/Carboxen/PDMS(50/30μm)萃取头对挥发物中的萜烯等具有不饱和双键的化合物有较强的吸附作用有关。但采用SPME在树皮检测到的 α -蒎烯、4(10)-侧柏烯和 β -蒎烯的含量却明显低于预浓缩,这可能由于树皮中释放相

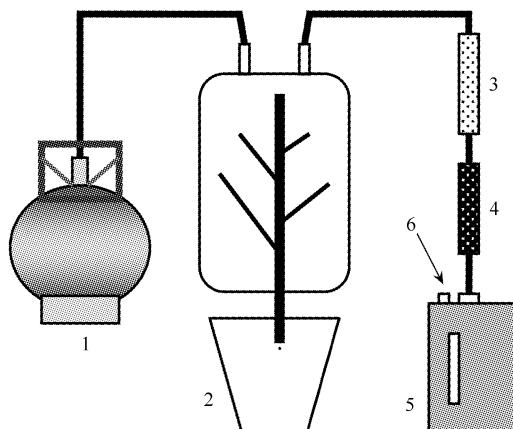


图1 预浓缩采集落叶松苗整株挥发物装置示意图

Fig. 1 Schematic illustration of the *Larix gmelinii* seedling VOCs collecting device using preconcentration

1 数码罐 Silica-lined canister; 2 落叶松苗 *Larix gmelinii* seedling; 3 吸附剂管 Tenax absorption tube; 4 活性炭管 Activated charcoal tube; 5 大气采样仪 Atmosphere sampling instrument; 6 空气 Air

表 1 落叶松苗环烃和萜烯类挥发物相对含量

Table 1 Relative percentage contents of alicyclic hydrocarbon and terpene volatiles from *Larix gmelinii* seedlings

编号 No.	化合物 Compounds	保留时间 (min)	相对百分含量 Relative percentage content(%)				固相微萃取 SPME
			整株 Plant	针叶 Needles	树皮 Barks	整株 Plant	
1	Cyclopentane, 1,2-dimethyl-1,2-二甲基环戊烷	3.908	0.16 ± 0.12a	0.02 ± 0.02a	0.1 ± 0.09a	NDA	NDA
2	3-Undecene, 6-methyl-, (E)-6-甲基-3-十一碳烯	4.292	NDA	0.23 ± 0.17a	NDA	NDA	0.14 ± 0.12a
3	1-Butene, 2-ethyl-3-methyl-3-甲基-2-乙基-1-丁烯	6.219	ND b	3.21 ± 1.03a	ND b	ND b	ND b
4	Tricyclene 三环烯	9.792	ND b	0.79 ± 0.22a	ND b	ND b	0.04 ± 0.03a
5	1R- α -Pinene 1R- α -蒎烯	10.205	27.85 ± 3.09b	32.23 ± 2.01a	35.3 ± 6.21a	34.15 ± 6.03a	23.54 ± 4.73b
6	4(10)-Thujene 4(10)-侧柏油烯	11.560	6.7 ± 1.42b	3.2 ± 0.89c	11. 5 ± 2.47a	5.65 ± 1.41a	2.19 ± 0.81b
7	Camphene 玫瑰烯	11.691	16.6 ± 2.31a	4.8 ± 1.12b	3.51 ± 1.84b	0.45 ± 0.38a	0.82 ± 0.49a
8	β -Pinene β -蒎烯	11.816	20.1 ± 4.03b	25.04 ± 3.35a	28.09 ± 4.59a	33.89 ± 5.92a	25.29 ± 6.09b
9	β -Myrcene β -月桂烯	12.248	1.17 ± 0.45a	0.86 ± 0.78ab	0.35 ± 0.21b	1.07 ± 0.77b	0.74 ± 0.08b
10	3-Carene 3-蒈烯	12.572	0.2 ± 0.11a	ND a	0.12 ± 0.09a	0.59 ± 0.04ab	1.03 ± 0.51a
11	Ocimene 罗勒烯	12.873	0.42 ± 0.14a	0.39 ± 0.15a	0.98 ± 0.42a	ND a	0.03 ± 0.02a
12	(+)-4-Carene (+)-4-蒈烯	12.938	ND a	ND a	ND a	ND a	0.42 ± 0.19a
13	p-Cymene 对-伞花烃	13.242	0.3 ± 0.07a	0.21 ± 0.05a	0.33 ± 0.17a	0.48 ± 0.19a	0.25 ± 0.17a
14	D-Limonene D-柠檬烯	12.389	1.25 ± 0.23b	1.14 ± 0.08b	4.98 ± 1.25a	1.05 ± 0.19b	1.21 ± 0.61b
15	β -Phellandrene β -水芹烯	13.658	2.59 ± 0.89b	2.06 ± 0.34b	6.12 ± 1.04a	3.02 ± 1.56b	1.52 ± 0.89b
16	γ -Terpinene γ -萜品烯	14.540	ND a	ND a	ND a	ND a	0.68 ± 0.24a
17	Terpinolene 麻油烯	15.746	0.2 ± 0.05b	0.4 ± 0.06b	1.36 ± 0.27a	0.54 ± 0.08b	0.6 ± 0.05b
18	2,6-Dimethyl-2-octene 2,6-二甲基-2-辛烯	16.062	ND a	ND a	ND a	ND a	0.39 ± 0.33a
19	Tricyclo[6.2.2.0(2,7)]dodeca-6,9-diene 三环[6.2.2.0(2,7)]十二-6,9-二烯	19.223	0.16 ± 0.10a	0.24 ± 0.19a	ND a	ND a	ND a
20	Azulene 甘菊环烃	20.042	0.53 ± 0.17b	2.01 ± 0.87a	ND c	0.36 ± 0.18b	1.02 ± 0.21a
21	α -Copaene α -古巴烯	24.697	ND a	ND a	ND a	ND a	0.59 ± 0.45a
22	β -Elemene β -榄香烯	24.954	ND a	ND a	ND a	ND a	1.11 ± 0.37a
23	Caryophyllene 石竹烯	25.558	ND a	5.04 ± 1.98a	3.21 ± 1.51a	2.11 ± 0.75c	15.23 ± 3.27a
24	(-) -Alloaromadendrene (-)-别香橙烯	25.709	ND a	ND a	ND a	ND a	0.35 ± 0.31a
25	α -Humulene 蛇麻烯	26.203	ND a	ND a	ND a	ND a	7.56 ± 1.99a
26	Germacrene 大香叶烯	26.549	0.46 ± 0.39b	0.89 ± 0.17ab	1.21 ± 0.18a	0.57 ± 0.09b	1.26 ± 0.74ab
27	Erenophilene 艾里莫酚烯	26.795	ND a	ND a	ND a	ND a	0.49 ± 0.42a
28	α -Guaiene α -愈创木烯	26.913	ND a	ND a	ND a	ND a	0.95 ± 0.23a
29	8-Cadinene delta-杜松烯	27.387	ND b	0.35 ± 0.23b	2.12 ± 0.91a	ND b	0.89 ± 0.51b
总计 Total		78.69	82.32	88.57	85.03	83.71	85.67

表中挥发物相对百分含量为3次重复的平均值(±标准差),“ND”指未检测到;表中不同组织间挥发物含量采用LSD多重比较分析,具有相同字母的均值间差异不显著($P < 0.05$);以下同 Relatively percentage contents of volatiles were mean value (\pm sd) from three replications; “ND” no detected; the difference between volatile amount from different tissues were analyzed using LSD test; same letter mean no significant different $P < 0.05$; the same below

落叶松苗饱和烃类挥发物相对含量

Table 2 Relative percentage contents of saturated hydrocarbon volatiles from *Larix gmelinii* seedlings

编号 No. Compounds	化合物 No. Compounds	保留时间 Retention time (min)		预浓缩 Preconcentrating		相对百分含量 Relative percentage content(%)		固相微萃取 SPME Needles	树皮 Barks
		整株 Plant	针叶 Needles	树皮 Barks	整株 Plant	针叶 Needles	树皮 Barks		
1	Pentane, 2,2,3,4-tetramethyl-2,2,3,4-四甲基戊烷	3.073	0.18 ± 0.09a	0.14 ± 0.08a	0.17 ± 0.15a	NDa	NDa	NDa	NDa
2	Pentane, 3-ethyl-2,4-dimethyl-3-己基-2,4-二甲基-戊烷	3.639	1.04 ± 0.78a	0.26 ± 0.19ab	NDb	NDa	NDa	NDa	NDa
3	Heptane 戊烷	4.087	0.35 ± 0.07a	0.41 ± 0.06a	0.31 ± 0.08a	NDa	NDa	0.37 ± 0.28a	NDa
4	Heptane, 3-methyl-3-甲基-庚烷	5.458	0.12 ± 0.09b	2.46 ± 0.89a	NDb	NDa	NDb	2.02 ± 1.01a	NDb
5	Nonane 壬烷	8.991	NDa	NDa	NDa	NDa	0.21 ± 0.15b	1.03 ± 0.26a	0.03 ± 0.02b
6	Decane癸烷	12.422	0.35 ± 0.28ab	1.45 ± 0.61a	NDb	0.3 ± 0.17b	1.37 ± 0.48a	0.09 ± 0.07b	NDb
7	Undecane十一烷	16.714	0.54 ± 0.07b	1.78 ± 0.49a	NDc	NDb	1.18 ± 0.59a	NDb	NDa
8	Dodecane十二烷	20.542	0.07 ± 0.05b	1.04 ± 0.66a	NDb	NDa	0.41 ± 0.36a	NDa	NDa
总计 Total		2.65	7.54	0.48	0.51	6.38	0.12		

表3 落叶松苗其他挥发物相对含量

Table 3 Relative percentage contents of other volatiles from *Larix gmelinii* seedlings

编号 No. Compounds	化合物 No. Compounds	保留时间 Retention time (min)		预浓缩 Preconcentrating		相对百分含量 Relative percentage content(%)		固相微萃取 SPME Needles	树皮 Barks
		整株 Plant	针叶 Needles	树皮 Barks	整株 Plant	针叶 Needles	树皮 Barks		
1	1,7-Heptadiol 1,7-庚二醇	4.915	NDa	0.31 ± 0.26a	0.19 ± 0.09a	NDa	NDa	NDa	NDa
2	1-Octanol, 2,7-dimethyl-2,7-二甲基-1-辛醇	6.073	NDa	NDa	0.45 ± 0.39a	NDa	NDa	NDa	NDa
3	O-Menth-an-8-ol o-萜品醇	8.542	NDb	NDb	0.34 ± 0.13a	NDa	NDa	NDa	NDa
4	Isothujol 异星柏醇	9.775	0.40 ± 0.05b	1.54 ± 0.46a	NDc	0.86 ± 0.11b	1.19 ± 0.35a	0.05 ± 0.04c	
5	Eucalyptol 桉树脑	13.869	NDa	NDa	NDa	NDb	NDb	3.03 ± 0.67a	
6	Linalool 里哪醇	14.842	NDa	NDa	0.03 ± 0.02a	NDa	NDa	0.04 ± 0.03a	
7	Z-β-Terpineol Z-β-蒎油醇	15.478	NDa	NDa	NDa	0.87 ± 0.13a	1.03 ± 0.21a	0.91 ± 0.05a	
8	4-Caranol 4-蒈烷醇	15.924	0.58 ± 0.23a	0.87 ± 0.32a	NDb	NDb	0.52 ± 0.27a	0.26 ± 0.19a	
9	Myrtenol 桃金娘烯醇	17.405	0.16 ± 0.11a	0.21 ± 0.14a	0.57 ± 0.38a	NDa	NDa	0.3 ± 0.25a	
10	Pinocarveol 松香芹醇	18.584	NDa	NDa	NDa	NDb	NDb	0.57 ± 0.13a	
11	L-isopulegol 异薄荷醇	18.738	NDa	NDa	NDa	NDb	0.35 ± 0.14a	0.20 ± 0.04a	
合计 Sum		1.14	2.93	1.58	1.73	3.09	5.36		
12	Pinocamphone 松莰酮	19.75	NDa	NDa	NDb	NDb	NDb	0.32 ± 0.02a	

续表3

No.	化合物 Compounds	保留时间 (min)	相对百分含量 Relative percentage content(%)			
			整株 Plant	预浓缩 Preconcentrating 针叶 Needles	树皮 Barks	固相微萃取 SPME 针叶 Needles
13	D-Verbenone 马鞭烯酮	21.006	NDa	NDa	NDa	NDb 0.25 ± 0.12a
14	p-Menth-1-en-3-one 薄荷酮	22.108	NDa	NDa	NDa	NDa 0.23 ± 0.18a
合计 Sum		0	0	0	0	0.80
15	Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester 2-甲基丁酸乙酯	7.554	NDa	NDa	0.36 ± 0.27a	NDa
16	Valeric acid, 4-pentenyl ester 戊酸-4-戊酯	17.098	NDa	NDa	NDa	NDa 0.69 ± 0.55a
17	Butanoic acid, 3-methyl-, 3-methyl-3-butene ester 3-甲基-丁酸-3-甲基-3-丁酯	17.339	NDa	0.08 ± 0.04a	NDa	NDb 1.51 ± 0.64a
18	Bornyl acetate 乙癸龙脑醋	22.769	NDa	NDa	NDa	NDb 0.51 ± 0.07a
19	α-Terpinyl acetate α-乙酸松油醋	24.121	NDa	NDa	NDa	NDb 0.45 ± 0.03a
20	Propanoic acid, 2-methyl-, 3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl ester 3-甲基-丁酸-3-羟基-2,2,3-三甲基-戊酸	24.241	0.32 ± 0.29a	0.38 ± 0.31a	NDa	NDa 0.63 ± 0.25a
21	Diethyl Phthalate 邻苯二甲酸二甲酯	28.096	2.00 ± 0.67a	0.58 ± 0.23b	NDb	NDa
合计 Sum		2.32	1.04	0.36	0	0.69 3.28
22	Butanamine, 2-methyl-2-甲基-丁胺	2.658	1.11 ± 0.41a	0.56 ± 0.22b	NDc	NDa
23	Cyclohexane, methyl 甲基环己胺	4.473	0.03 ± 0.01a	0.07 ± 0.03a	0.11 ± 0.09a	NDa NDa
25	Cyclohexane, 1,2-dimethyl-, trans-1,2-二甲基-环己胺	5.597	0.16 ± 0.12a	0.07 ± 0.04a	0.15 ± 0.08a	NDa NDa
24	1,1,3-Trimethylcyclohexane,1,1,3- 三甲基-环己胺	7.125	0.06 ± 0.05a	0.04 ± 0.03a	0.08 ± 0.02a	NDa NDa
合计 Sum		1.36	0.74	0.34	0	0 0
26	(E)-2,3-Epoxykarane (E)-2,3-二乙基环氧莰烷	13.44	0.41 ± 0.12a	0.23 ± 0.08a	0.22 ± 0.03a	NDa NDa
27	3-Methylbut-2-enoic acid, tetrahydropyran-2-yl ester 3-甲基1-丁烯酸-四氢呋喃-2-醚	3.276	0.96 ± 0.31a	0.49 ± 0.11b	0.31 ± 0.12b	NDa NDa
总计 Total		6.19	5.43	2.81	1.73	3.78 9.44

对较多的石竹烯和 α -蛇麻烯等化合物影响了萃取纤维对 α -蒎烯等3种萜烯的吸附效率,导致它们的检出量降低。Isidorov等^[11]采用3种萃取头对欧洲赤松(*Pinus sylvestris*)和挪威云杉(*Picea excelsa*)凋落的针叶挥发物的研究也发现类似情况,萃取头PDMS(100 μm)与CAR/PDMS(75 μm)相比,对乙醇和丙酮等化合物吸附作用弱,但在此类化合物存在条件下对 α -蒎烯的吸附作用增强,而对 β -竹烯, γ -杜松烯的吸附作用与CAR/PDMS(75 μm)相近。这表明萃取头纤维结构的差异决定了吸附效率的高低,同时存在的不同种类化合物对吸附也会产生影响^[12]。因此,采用SPME须选择适合型号的萃取头,但现有的萃取头纤维仅对某一类或几类化合物吸附作用强,对于包含较多复杂种类化合物的植物挥发物采用SPME方法具有一定的局限性。另外,吸附时的温度、萃取时间的长短等条件也会影响到挥发物的富集^[13,14],因此,还应优化采样条件,注意采集条件的一致性,才能得到较好的分析结果。预浓缩方法虽然检测到的组分种类少于SPME,但是通过数码罐采集的植物挥发物,经3级冷阱直接进入质谱分析,化合物的组分和含量没有改变,反映了植物挥发物的自然组成特征,能够为研究微量挥发物的生理生态功能提供较真实的数据信息^[15]。另外由于数码罐内壁硅烷化不与气体发生作用和良好的密闭性,气体采集后可较长时间放置而不影响分析结果,并且不同规格的数码罐可以满足不同的检测需求,能够进行重复进样或与触角电位仪相连对昆虫进行挥发物敏感性检测。

3.2 兴安落叶松苗挥发物组分和含量在组织间存在差异

落叶松苗挥发物中主要是萜烯类化合物,挥发物在不同部位和组织中的组成和相对含量存在差异,表现为:一是挥发物组分种类表现为整株<针叶<树皮;二是树皮中倍半萜烯和不饱和醇、酮类化合物含量较高;三是针叶中直链烯烃和饱和烷烃含量较高;四是4(10)-侧柏烯、莰烯、 β -水芹烯在不同组织中含量变化明显。对马尾松(*Pinus massoniana*)、欧洲赤松和油松(*P. tabulaeformis*)等的针叶、木材、树皮、花和球果挥发物的分析也发现植物挥发物在组织间的差异^[16~19],例如,油松针叶中 α -蒎烯和 β -蒎烯含量是球果的2倍,但 β -香叶烯和D-柠檬烯含量明显低于球果,挪威云杉(*Picea abies*)树皮萜烯类挥发物含量超过木材的10倍。这些差异与植物组织间不同的细胞种类和超微结构、挥发物合成酶基因不同的表达水平,以及底物的不同浓度相关^[19,20],并且能够被昆虫和天敌感受,作为寄主选择与否的依据,Galanihe等^[4]发现已交配的苹果瘿蚊(*Dasineura mali*)不仅能够区分苹果和梨植株的气味,还能在风洞试验中飞向其嗜食的苹果植株的嫩叶和芽。这表明苹果嫩叶和芽不同于老叶的气味,引发了瘿蚊定位反应。

3.3 植物挥发物的浓度和特异性组分是昆虫定向和定位的重要信息线索

昆虫在搜索寄主的过程中,Turgeon等人^[21]认为寄主整株挥发物信号在远距离定向起作用,而局部组织信号能够确定取食与产卵的适合度,在松属植物中挥发性较强的高浓度单萜类化合物在昆虫远距离定位中可能起重要作用。油松挥发物中含量最高的是3-蒈烯、 α -蒎烯和 β -蒎烯,触角电位反应结合野外诱捕试验的结果表明,这3种挥发物对红脂大小蠹(*Dendroctonus valens*)具有强烈的吸引作用^[22,5]。Leather^[23]的研究发现小眼夜蛾(*Panolis flammens*)雌蛾对扭叶松(*Pinus contorta*)的产卵选择与针叶中 α -蒎烯和 β -蒎烯含量的比例有关。而在松属植物中含量极低的3-己烯-1醇等绿叶挥发物不仅不能吸引挪威云杉的主要害虫纵坑切梢小蠹(*Tomicus piniperda*),反而使 α -蒎烯对纵坑切梢小蠹的诱集量降低了36%~54%^[24]。这进一步证实了植物高浓度挥发物特异性组成比例的寄主指示作用。在落叶松苗挥发物中发现 α -蒎烯和 β -蒎烯的含量在整株中接近50%(预浓缩检测),因此推测这种高浓度组分可能是落叶松害虫和天敌长距离定位的信号物质,严善春等^[25]研究落叶松毛虫对落叶松挥发物的触角电位的结果证实了落叶松毛虫对 α -蒎烯等6种单萜类化合物嗅觉反应敏感。倍半萜烯类化合物在植物中痕量存在,挥发性差,但在特定组织中含量稍高,能引发昆虫较弱的触角电位反应^[26,27],落叶松针叶和树皮中倍半萜烯组分较多,特别是石竹烯和 α -蛇麻烯含量较高,这些特异性倍半萜烯化合物与醇、酮等功能团化合物,加之4(10)-侧柏烯等3种单萜烯含量的明显变化,可能构成了昆虫识别针叶和树皮进行近距离组织定位的化学指纹图谱^[28,29]。鉴于昆虫与植物信息交流的复杂性^[30,31],下一步有待于进行生物测定和野外试验确定挥发物组分的生理生态功能和活性浓度范围,筛选适宜的植物信息素诱引或驱避昆虫,实现害虫绿色无污染生态控制。

References:

- [1] Galanihe L D, Harris M O. Plant volatiles mediate host-finding behavior of the apple leafcurling midge. *J. Chem Ecol.*, 1997, 23(12):2639—2655.
- [2] Fang Y L, Zhang Z N. Influence of host-plant volatile components on oviposition behavior and sex pheromone attractiveness to *Helicoverpa armigera*. *Acta Entomologica Sinica*, 2002, 45(1):63—67.
- [3] Dong W X, Hu B W, Zhang Z N, et al. Electrophysiological and behavioural responses of *Microplitis mediator* to tobacco plant volatiles. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 25(1):63—67.
- [4] Yin J, Cao Y Z, Luo L Z, et al. Oviposition preference of the meadow moth, *Loxostege sticticalis* L., on different host plants and its chemical mechanism. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(8):1844—1852.
- [5] Wang H B, Wang Y G, Zhang Z, et al. The volatile components of the Chinese pine and the EAG responses of the *Dendroctonus valens* (Coleoptera: Scolytidae). *Scientia Silvae Sinicae*, 2006, 42(5):84—88.
- [6] Li X G, Ma Y M, Liu L P, et al. Volatile terpene composition in cones of *Pinus armandi*. *Acta Botanica Boreali-Occidentalis Sinica*, 2005, 25(10):2072—2076.
- [7] Wei M, Deng X J, Hu W L, et al. Analysis of volatile chemicals emitted from living tomato and geranium samples with SPME technique. *Chinese Journal of Ecology*, 2004, 23(4):184—187.
- [8] Peter P J II, Nathan W B, Marc A S, et al. An application of air-sampling canisters: Selective herbivory associated with monoterpenes emission from ponderosa pine. *American Laboratory*, 2001, 33:50—52.
- [9] Jeleń H H. Use of solid phase microextraction (SPME) for profiling fungal volatile metabolites. *Letters in Applied Microbiology*, 2003, 36:63—267.
- [10] Lušić D, Koprivnjak O, Ćuric D, et al. Volatile Profile of Croatian Lime Tree (*Tilia* sp.), Fir Honeydew (*Abies alba*) and Sage (*Salvia officinalis*) Honey. *Food Technol. Biotechnol.*, 2007, 45(2):156—165.
- [11] Isidorov V A, Vinogradova V T, Rafalowski K. HS-SPME analysis of volatile organic compounds of coniferous needle litter. *Atmos Environ*, 2003, 37:4645—4650.
- [12] Lee J H, Kang J H, Min D B. Optimization of solid-phase microextraction for the analysis of the headspace volatile compounds in kimchi, a traditional Korean fermented vegetable product. *Journal of Food Science*, 2003, 68(3):844—848.
- [13] Steenson D F, Lee J H, Min D B. Solid phase microextraction of volatile soybean oil and corn oil compounds. *Journal of Food Science*, 2002, 67(1):71—76.
- [14] Dorothea T, Wilhelm B, Armin H, et al. Practical approaches to plant volatile analysis. *The Plant Journal*, 2006, 45(4):540—560.
- [15] Sha Y F, Huang T M, Shen S, et al. Determination of volatile compounds in magnolia bark by microwave-assisted extraction coupled to headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Sci*, 2004, 5:857—859.
- [16] Sjödin K, Persson M, Fälldt J, et al. Occurrence and correlations of monoterpane hydrocarbon enantiomers in *Pinus sylvestris* and *Picea abies*. *J Chem Ecol*, 2000, 26(7):1701—1720.
- [17] Wu C C, Wu W Z, Luo J B. Study on plant volatiles. Beijing: Forestry Publishing House, 2006. 36—37; 65—69.
- [18] Li X G, Liu H X, Liu L P, et al. Study on host-plant volatiles affecting the host selection of *Dioryctria pterygiata*. *Scientia Silvae Sinicae*, 2006, 42(6):71—78.
- [19] Martin D, Dorothea T, Jonathan G, et al. Methyl jasmonate induces traumatic resin ducts, terpenoid resin biosynthesis, and terpenoid accumulation in developing xylem of Norway Spruce stems. *Plant Physiol.*, 2002, 129(7):1003—1018.
- [20] Tholl D, Chen F, Petri J, Gershenzon J, et al. Two sesquiterpene synthases are responsible for the complex mixture of sesquiterpenes emitted from *Arabidopsis* flowers. *Plant J*, 2005, 42:757—771.
- [21] Turgeon J J, Roques A, de Groot P. Insect fauna of coniferous seed cones: diversity, host plant interactions, and management. *Annual Rev Entomol*, 1994, 39:179—212.
- [22] Sun J H, Miao Z W, Zhang Z, et al. Red turpentine beetle, *Dendroctonus valens* LeConte (Coleoptera: Scolytidae), response to host semiochemicals in China. *Environ Entomol*, 2004, 33(2):206—212.
- [23] Leather S R. Pine monoterpenes stimulate oviposition in the pine beauty moth, *Panolis Flammea*. *Entomol Exp Appl*, 1987, 43(1):295—297.
- [24] Poland T M, Haack R A. Pine shoot beetle, *Tomicus piniperda* (Coleoptera: Scolytidae), response to common green leaf volatiles. *Appl Ent*, 2000, 3(1):458—501.
- [25] Yan S C, Liu Y S, Wang Q, et al. Electroantennogram responses of *Dendrolimus superans* to six volatiles of *Larix gmelinii*. *Scientia Silvae Sinicae*,

- 2007, 43(7):55–60.
- [26] Zhao C H, Wu D M, Yan Y H, Analysis of masson pine needle volatiles and their electroantennogram activity with masson pine caterpillar. *Scientia Silva Sinicae*, 1995, 31(2):125–131.
- [27] Li S Q and Zhang Z N. Volatiles from wattle of *Pinus massoniana* and EAG responses of the adult *Monochamus alternatus* to the identified chemicals. *Chinese Bulletin of Entomology*, 2007, 44(3):385–389.
- [28] Robert G L, Yan B L, Laura L, et al. Patterns of variation and correlation in the monoterpene composition of xylem oleoresin within populations of ponderosa pine. *J Chem Ecol*, 2000, 26(6):1341–1357.
- [29] Xu Y X, Sun X G, Qin X W, et al. The absorption and identification of volatiles from pine needles of *Pinus massoniana* Lamb. damaged by *Dendrolimus punctatus* (Walker) and the antennal responses of female *Blepharipa zebina* (Walker) to these volatile compounds. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(11):4403–4411.
- [30] Kong C H, Hu F. Advance in the research on chemical communication between plants. *Acta Phytocological Sinica*, 2003, 27(4):561–566.
- [31] Lou Y G, Cheng J A. Herbivore-induced plant volatiles: primary characteristic, ecological functions and its release mechanism. *Acta Entomologica Sinica*, 2000, 20(6):1097–1106.

参考文献:

- [2] 方宇凌, 张钟宁. 植物气味化合物对棉铃虫产卵及田间诱蛾的影响. *昆虫学报*, 2002, 45(1):63~67.
- [3] 董文霞, 胡保文, 张钟宁, 等. 中红侧沟茧蜂对烟草挥发物的触角电生理及行为反应. *生态学报*, 2004, 24(10):2252~2256.
- [4] 尹姣, 曹雅忠, 罗礼智, 等. 草地螟对寄主植物的选择性及其化学生态机制. *生态学报*, 2005, 25(8):1844~1852.
- [5] 王鸿斌, 王玉刚, 张真, 等. 油松挥发性化合物分析及红脂大小蠹的触角电位反应. *林业科学*, 2006, 42(5):84~88.
- [6] 李新岗, 马养民, 刘拉平, 等. 华山松球果挥发性萜类成分研究. *西北植物学报*, 2005, 25(10):2072~2076.
- [7] 魏明, 邓晓军, 胡文利, 等. 应用固相微萃取技术分析番茄与天竺葵活体植株的挥发物. *生态学杂志*, 2004, 23(4):184~187.
- [17] 吴楚材, 吴文章, 罗江滨. 植物精气研究. 北京:林业出版社, 2006. 36~37; 65~69.
- [18] 李新岗, 刘慧霞, 刘拉平, 等. 影响松果梢斑螟寄主的植物挥发物成分研究. *林业科学*, 2006, 42(6):71~78.
- [25] 严善春, 刘英胜, 王琪, 等. 落叶松毛虫对兴安落叶松6种挥发物的触角电位反应. *林业科学*, 2007, 43(7):55~60.
- [26] 赵成华, 伍德明, 阎云花, 等. 马尾松针叶中挥发性成分的鉴定及其对马尾松毛虫的触角电位反应. *林业科学*, 1995, 31(2):125~131.
- [27] 李水清, 张钟宁. 马尾松枝条挥发性组分的鉴定及松墨天牛对其触角电生理反应. *昆虫知识*, 2007, 44(3):385~389.
- [29] 徐延熙, 孙绪良, 秦小薇, 等. 被害马尾松(*Pinus massoniana*)针叶挥发性物质的提取、鉴定及蚕饰腹寄蝇(*Blepharipa zebina*)的电生理活性. *生态学报*, 2007, 27(11):4403~4411.
- [30] 孔垂华, 胡飞. 植物化学通讯研究进展. *植物生态学报*, 2003, 27(4):561~566.
- [31] 娄永根, 程家. 害虫诱导的植物挥发物:基本特性、生态学功能及释放机制. *生态学报*, 2000, 20(6):1097~1106.