

兴安落叶松游离氨基酸的动态变化与损伤因子的关系

石 蕾,严善春*,金 虎,孟昭军

(东北林业大学林学院,林木遗传育种与生物技术教育部重点实验室,哈尔滨 150040)

摘要:为研究不同损伤因子及其不同损伤程度对落叶松游离氨基酸组分及其含量的影响,用剪叶和落叶松毛虫(*Dendrolimus superans*)取食损伤兴安落叶松(*Larix gmelinii*)幼苗,使用HPLC柱前 AccQ·Tag 衍生法测定针叶内游离氨基酸的组成及含量的变化。结果表明,松针中含有 17 种游离氨基酸,以苯丙氨酸含量最高,损伤 15d 后,剪叶 4 枝比对照增加 36.6%,虫害 4 枝增加的百分率达到 98.3%。剪叶 4 枝 15d 后及虫害 4 枝 5d 后,损伤 25% 与 50% 之间氨基酸总含量差异显著($P < 0.05$),且昆虫取食 4 枝 25%、50%、75% 后松针内游离氨基酸总含量的变化趋势与剪叶处理后总氨基酸含量的变化一致,均在处理 10d 后呈现较高的含量,虽虫害后的氨基酸总含量高于剪叶损伤后的总含量,但二者之间差异不显著。剪叶 4 枝、8 枝、12 枝 3 个损伤程度后针叶内的游离氨基酸含量无显著差异,说明剪叶 4 枝即能超过落叶松的耐受阈值,达到防御诱导效应。两种处理下多种游离氨基酸的含量均有下降,其中 8 种氨基酸含量存在显著差异($P < 0.05$),即丝氨酸、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、脯氨酸、半胱氨酸、赖氨酸和苯丙氨酸。表明人工模拟剪叶的损伤方式与虫害都可诱导松树氨基酸组分及含量的变化,而间接影响害虫的生长发育。

关键词:兴安落叶松;游离氨基酸;剪叶损伤;昆虫取食

Relation between dynamic changes of free amino acid contents in *Larix gmelinii* needles and injuring factors

SHI Lei, YAN Shanchun*, JIN Hu, MENG Zhaojun

Forestry Tree Genetic Improvement and Biotechnology of Ministry of Education, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

Abstract: *Larix gmelinii* seedlings under the stresses of cutting needles and caterpillar (*Dendrolimus superans*) feeding were selected as object for this research. The purpose is to discuss the components and contents of free amino acids with the time which through treatment of cutting needles in different degrees and insect feeding. The change of free amino acid contents in needles was detected by HPLC. The results showed that there were 17 free amino acids in needles. The content of Phenylalanine was at the most, while increased 36.6% in healthy needles on 4 branches after cutting needles compared with control, and increased 98.3% after the treatment of caterpillar feeding 15 days later. The content of total amino acids between induced 25% and 50% in healthy needles had different significance ($P < 0.05$) after needles were cut 4 branches 15days later and fed by caterpillar 5 days later, and the variation of total amino acids quantity presented the same trend within 5 days to 15 days by two treatments and at 10 days which is the maximum content induced,. while the total quantity of amino acids after the treatment of caterpillar feeding was higher than cutting needles induced 25%, 50% and 75% needles on 4 branches, but had no significant difference. Contents of free amino acids in healthy needles after needles on 4, 8 and 12 branches were cut had no significant difference, which showed that larch needles were cut 4 branches could exceed the tolerance threshold and reach defense-induced effects. The contents of many free amino acids decreased and 8 amino acids in undamaged needles changed significantly ($P < 0.05$), which were Serine, Glutamate, Glycine, Histidine, Proline, Cysteine, Lysine and Phenylalanine separately. It showed that artificial leaf-cutting ways and larva feeding could induce changes of free amino acids of larch, and affect the growth and development of insects indirectly.

基金项目:黑龙江省重点基金资助项目(ZJN0603-01);东北林业大学研究生论文资助项目(gram09);国家公益性行业科研专项(200904021)

收稿日期:2008-12-15; **修订日期:**2009-02-10

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

Key Words: *Larix gmelinii*; free amino acids; needle cutting; larva feeding

氨基酸是生物生长发育不可缺少的生物活性物质,其含量过低或各种氨基酸的相对比例不均衡,都会影响生物的正常生长发育和繁衍^[1]。植物游离氨基酸是蛋白质等含氮化合物合成与分解过程中的中介物质,其含量高低反映植株体内的氮素营养状况^[2-3],氮素营养是昆虫维持正常生长发育所必须的营养物质之一^[4-5]。产卵蜂王血淋巴中高浓度的游离氨基酸是合成高蛋白的基础^[6]。水稻分蘖期由于游离氨基酸含量高,短翅型褐飞虱(*Nilaparvata lugen*)数量大幅度上升,从而加重对水稻的为害^[7]。棉蚜(*Aphis gossypii*)取食转基因棉花后,蜜露的日平均分泌量减少,但蜜露中的游离氨基酸含量明显高于对照,说明转基因棉花植株体内游离氨基酸含量的变化直接影响棉蚜的生长发育^[8]。杨树木质部氨基酸种类及含量越均衡,越利于天牛幼虫的生长发育,致使杨树受害加重^[9-10]。可以看出植物游离氨基酸组分含量与其寄生性害虫发生状况密切相关。本文以5年生兴安落叶松(*Larix gmelinii*)为对象,探讨了不同程度剪叶及虫害之后,兴安落叶松针叶内游离氨基酸组分和含量的时间及空间变化趋势,为寻找适当调控措施,提高林木健康水平和有效控制落叶松毛虫种群密度提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

5年生兴安落叶松苗(株高1.2m左右,根茎粗2.5cm左右)培育于东北林业大学帽儿山实验林场老山实验站网棚内。于7月末选择健壮、长势一致的苗木进行不同程度损伤的处理。落叶松毛虫(*Dendrolimus superans*)蛹采自内蒙古克什克腾旗,成虫室内羽化,交配产卵,幼虫孵化后,饲养至3龄备用。

1.2 处理方法

局部剪叶损伤处理:试验分为剪叶4枝、8枝和12枝3种处理,在剪叶4枝时,分别在苗木的东、南、西、北4个方向各选1条当年生侧枝,对所选当年生侧枝的整个枝条上的针叶进行25%、50%和75%剪叶程度处理,3种剪叶程度均在不同样树上进行,每种程度设置3个重复;剪叶8枝和12枝时分别在苗木的东南西北4个方向各选择2条、3条当年生枝条,处理方法与4枝相同;对照样树不做任何处理。在处理后的第5天、10天和第15天分别取样树上剩余非损伤针叶,装入拉链塑料袋内,迅速放入冰盒,带回实验室冰箱-40℃冷冻保存备用。

幼虫取食损伤处理:在所选苗木的东、南、西、北4个方向各选1当年生侧枝,分别将10头、20头、30头3龄幼虫放至所选枝条上,用纱笼罩住放虫枝条,当取食量相当于剪叶4枝处理的25%、50%和75%损伤程度时将幼虫取下,3种取食程度同样在不同样树上进行,每种取食程度设置3个重复;对照样树不做任何处理。在处理后的第5天、10天和第15天分别取样树上剩余非损伤针叶,装入夹链袋内,迅速带回实验室-40℃冷冻保存备用。

1.3 游离氨基酸的提取

(1)烘干称量 将采集的落叶松针叶样品放在50℃的烘箱中烘干,之后用万能粉碎机进行粉碎,过60目筛。称取1.5g粉末,放置于三角瓶中。

(2)超声萃取 向称量好的样品中分别加入25mL甲醇及5mL0.1mol/L盐酸,将瓶口封好,放在超声波震荡器中超声60min。

(3)离心 将超声完的混合液倒入离心管中,在4℃、10 000r/min条件下高速离心12min,之后将上清液用移液枪吸出,置圆底烧瓶中待旋转蒸发。

(4)蒸发定容 将旋转蒸发器温度调到40℃,将离心液旋转蒸发至约1.5mL,之后倒入2.5mL容量瓶中,加入1mL0.1mol/L盐酸定容。

(5)过滤 用0.45μm滤膜过滤^[11]。

1.4 游离氨基酸的测定

(1)衍生 取过滤完的样液20μL,加入到衍生化试管中,再加入60μL AccQ·Fluor 硼酸缓冲液,涡旋混

合,向混合好的衍生化试管中加入20μL AccQ·Fluor衍生试剂,立即涡旋混合数秒,放置1min。用封口膜将衍生化试管封好,放在55℃的烘箱中加热10min后将衍生样品加入到微量进样瓶中,上机检测。

(2) 测定 利用Waters2695高效液相色谱仪(美国Waters公司制造)测定样品中的游离氨基酸组成及其相对含量,所用检测器为Waters2996型二极管矩阵阵列检测器,色谱柱采用AccQ·Tag方法专用的高效NovaPak TMC₁₈,4μm 3.9×150mm柱,柱温37℃,检测波长248nm,流速为1mL/min,梯度洗脱,见表1;流动相A为AccQ·TagA溶液与水按体积配制成1:10的溶液,流动相B为纯乙腈,流动相C为超纯水。所有溶剂在使用前都进行抽滤除气,检测时以氦气在线脱气。样品运行时间为47min。以17种氨基酸标准品的保留时间确定所测样品中氨基酸的种类,依据外标曲线计算其含量。试验数据使用SPSS 12.0软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同剪叶程度对针叶内游离氨基酸含量的影响

在落叶松针叶内检测到17种游离氨基酸。与对照相比,损伤程度不同,游离氨基酸的含量变化趋势不同,同种处理的不同种类的氨基酸变化趋势相近,但也存在一定差异。

2.1.1 剪叶处理4枝后健康针叶内游离氨基酸含量的变化

剪叶4枝的25%、50%和75%在处理后的3个时段与对照相比,部分游离氨基酸的含量差异显著(谷氨酸 $P_{10d4枝75\%}=0.034$,甘氨酸 $P_{5d4枝25\%}=0.025$,脯氨酸 $P_{5d4枝50\%}=0.01$,异亮氨酸 $P_{15d4枝25\%}=0.04$)(表2)。从表1中可以看出损伤25%后,17种氨基酸都发生了变化。10d后精氨酸含量略有升高;5d、15d后谷氨酸和半胱氨酸的含量升高;5d、10d后丙氨酸和赖氨酸的含量随时间降低;组氨酸含量随时间一直降低;苯丙氨酸的含量随时间先升高后降低;丝氨酸和苏氨酸的含量呈波动变化,即降低-升高-降低;天冬氨酸等其它8种氨基酸的含量出现先降低后升高的趋势。

表2 剪叶4枝的健康针叶内17种游离氨基酸的平均含量及差异显著性分析

Table 2 Average contents and significant analysis of 17 kinds of free amino acids in healthy needles after needles on four branches were cut

氨基酸 Amino acids	5d 平均含量 Average content in 5 days /(mg/g)	含量增量 Incremental content /(mg/g)	10d 平均含量 Average content in 10 days /(mg/g)	含量增量 Incremental content /(mg/g)	15d 平均含量 Average content in 15 days /(mg/g)	含量增量 Incremental content /(mg/g)
天冬氨酸 ASP	25% 50% 75%	0.5666 1.2667 1.0333	-0.6667 +0.0334 -0.2	1.1333 1.4000 0.8333	-0.0334 +0.2333 -0.3334	1.4000 1.3000 1.2667
对照 CK		1.2333		1.1667		1.3337
丝氨酸 SER	25% 50% 75%	2.4000 2.1000 1.5000	-0.133 -0.433 -1.033	2.6333 2.4333 1.9000	+0.1666 -0.0334 -0.5667	2.6333 2.5000 2.4667
对照 CK		2.5330		2.4667		2.8000
谷氨酸 GLU	25% 50% 75%	0.5000A 0.4666A 0.1333B	+0.0667 +0.0333 -0.3	0.4000a 0.3000ab 0.1667b*	0 -0.1 -0.2333	0.4000 0.2000 0.3667
						+0.1333 -0.0667 +0.1

表1 梯度洗脱条件

Table 1 Conditions of gradient separation

时间 Time /min	流速 Flow rate /(mL·min ⁻¹)	流动相 A Mobile phase A/%	流动相 B Mobile phase B/%	流动相 C Mobile phase C/%
0.0	1.0	100	0	0
0.5	1.0	99	1	0
18.0	1.0	95	5	0
19.0	1.0	91	9	0
29.5	1.0	83	17	0
33.0	1.0	0	60	40
36.0	1.0	100	0	0
47.0	1.0	100	0	0

续表

Amino acids		5d 平均含量 Average content in 5 days /(mg/g)	含量增量 Incremental content /(mg/g)	10d 平均含量 Average content in 10 days /(mg/g)	含量增量 Incremental content /(mg/g)	15d 平均含量 Average content in 15 days /(mg/g)	含量增量 Incremental content /(mg/g)
	对照 CK	0.4333		0.4000		0.2667	
甘氨酸 GLY	25%	1.0333 *	-1.3667	1.7000ab	+0.4333	2.4000	-0.1
	50%	2.1333	-0.2667	0.4667a	-0.8	1.6667	-0.833
	75%	1.7000	-0.7	2.1000b	+0.8333	2.4500	-0.05
组氨酸 HIS	对照 CK	2.4000		1.2667		2.5000	
	25%	0.0333Aa	-0.1	0.1333	-0.0667	0.0333	-0.1
	50%	0.1000ABa	-0.0333	0.1000	-0.1	0.0666	-0.0667
精氨酸 ARG	75%	0.1666Bb	+0.0333	0.4000	+0.2	0.1333	0
	对照 CK	0.1333		0.2000		0.1333	
	25%	0.1333	0	0.1333ab	+0.0333	0.1567	-0.01
苏氨酸 THR	50%	0.2000	+0.0667	0.2667a	+0.1667	0.0667	-0.1
	75%	0.2000	+0.0667	0.0667b	-0.0333	0.0667	-0.1
	对照 CK	0.1333		0.1000		0.1667	
丙氨酸 ALA	25%	0.0000	-0.1667	0.3000	+0.1333	0.2000	-0.1333
	50%	0.8333	+0.6666	0.0667	-0.1	0.1333	-0.2
	75%	0.1667	0	0.2000	+0.0333	0.1667	-0.1666
脯氨酸 PRO	对照 CK	0.1667		0.1667		0.3333	
	25%	0.1667	-0.3333	0.3000a	-0.0333	0.2333	0
	50%	0.4667	-0.0333	0.1667ab	-0.16663	0.1667	-0.0666
半胱氨酸 CYS	75%	0.5333	+0.0333	0.0667b	-0.26663	0.2000	-0.0333
	对照 CK	0.5000		0.3333		0.2333	
	25%	0.0333	-0.1	0.1333	+0.1333	0.2333	+0.1
缬氨酸 VAL	50%	1.0333 *	+0.9	0.2000	+0.1	0.2333	+0.1
	75%	0.3000	+0.1667	0.6000	+0.5	0.2667	+0.1333
	对照 CK	0.1333		0.1000		0.1333	
蛋氨酸 MET	25%	0.1333	+0.0333	0.1333	0	0.1000	+0.0333
	50%	0.0667	-0.0333	0.0667	-0.0666	0.1333	+0.0666
	75%	0.1000	0	0.0333	-0.1	0.0667	0
酪氨酸 TYR	对照 CK	0.1000		0.1333		0.0667	
	25%	0.0667	-0.0667	0.1667	-0.0333	0.2667a	+0.2334
	50%	0.1667	+0.0333	0.0000	-0.2	0.0001ab	-0.0333
赖氨酸 LYS	75%	0.1000	-0.0333	0.1667	-0.0333	0.1000b	+0.6667
	对照 CK	0.1333		0.2000		0.0333	
	25%	0.1333	-0.2667	0.4000	+0.3667	0.4000	+0.1
胱氨酸 CYC	50%	0.4333	+0.0333	0.1000	+0.0667	0.1000	-0.2
	75%	0.4000	0	0.3333	+0.3	0.2333	-0.0667
	对照 CK	0.4000		0.0333		0.3	
胱氨酸 CYC	25%	0.0000	-0.0333	0.2000	+0.1	0.2000	+0.2
	50%	0.1667	+0.1334	0.0000	-0.1	0.3000	+0.3
	75%	0.0667	+0.0333	0.2000	+0.1	0.1667	+0.1667
胱氨酸 CYC	对照 CK	0.0333		0.1000		0.0000	
	25%	0.1000	-0.2	0.2000	-0.0333	0.2333a	0
	50%	0.3333	+0.0333	0.1000	-0.1333	0.0667b	-0.0666

续表

Amino acids	5d 平均含量 Average content in 5 days /(mg/g)	含量增量 Incremental content /(mg/g)	10d 平均含量 Average content in 10 days /(mg/g)	含量增量 Incremental content /(mg/g)	15d 平均含量 Average content in 15 days /(mg/g)	含量增量 Incremental content /(mg/g)
	75%	0.2667	-0.0333	0.1000	-0.1333	0.1667ab
	对照 CK	0.3000		0.2333		0.2333
异亮氨酸	25%	0.1000	-0.1333	0.1667	+0.0334	0.4333a*
ILE	50%	0.1333	-0.1	0.1433	+0.01	0.2000bc
	75%	0.1667	-0.0666	0.1667	+0.0334	0.2333c
	对照 CK	0.2333		0.1333		0.1333
亮氨酸 LEU	25%	0.5000	-0.2	0.9000	+0.2	0.6333
	50%	0.7667	+0.0667	0.5000	-0.2	0.5667
	75%	0.4667	-0.2333	0.8000	+0.1	0.5333
	对照 CK	0.7000		0.7000		0.6000
苯丙氨酸	25%	389.3000	+50.4	391.9700	-36.86	299.4300
PHE	50%	324.2300	-14.67	499.2300	+70.4	375.6300
	75%	261.4300	-77.47	364.0000	-64.83	342.9700
	对照 CK	338.9000		428.8300		274.9000

表中同列数据后不同字母表示同种氨基酸不同损伤程度之间差异达显著水平,小写字母表示 $P < 0.05$,大写字母表示 $P < 0.01$;“*”表示与对照相比差异显著, $P < 0.05$;“**”表示与对照相比差异极显著, $P < 0.01$;下同

损伤 50% 针叶后,脯氨酸的含量一直升高;半胱氨酸和异亮氨酸的含量随时间先降低后升高;蛋氨酸含量呈波动变化,即升高-降低-升高;苯丙氨酸含量变化与其相反,即降低-升高-降低;丝氨酸、甘氨酸、组氨酸和丙氨酸的含量一直降低;天冬氨酸等其它 8 种氨基酸含量随时间先升高后降低。

损伤 75% 针叶后,10d 后半胱氨酸含量下降,苏氨酸和缬氨酸的含量先升高后降低;天冬氨酸、丝氨酸和苯丙氨酸的含量随时间一直降低;组氨酸、脯氨酸和蛋氨酸的含量一直升高;亮氨酸呈波动变化,即降低-升高-降低;精氨酸和丙氨酸的含量随时间先升高后降低;谷氨酸等其它 5 种氨基酸的变化趋势相反,即先降低后升高。

此外,部分不同种类氨基酸的 25%、50%、75% 之间差异显著(谷氨酸 $P_{5d4枝25\%-75\%} = 0.000$, $P_{5d4枝50\%-75\%} = 0.000$, $P_{10d4枝25\%-75\%} = 0.034$; 甘氨酸 $P_{10d4枝50\%-75\%} = 0.043$; 组氨酸 $P_{5d4枝25\%-75\%} = 0.006$, $P_{5d4枝50\%-75\%} = 0.027$; 精氨酸 $P_{10d4枝50\%-75\%} = 0.031$; 丙氨酸 $P_{10d4枝25\%-75\%} = 0.047$; 酪氨酸 $P_{15d4枝25\%-75\%} = 0.035$; 赖氨酸 $P_{15d4枝25\%-50\%} = 0.028$; 异亮氨酸 $P_{15d4枝25\%-50\%} = 0.011$, $P_{15d4枝25\%-75\%} = 0.04$)。

2.1.2 剪叶处理 8 枝后健康针叶内游离氨基酸含量的变化

剪叶 8 枝的 25%、50% 和 75% 在处理后的 3 个时段,部分游离氨基酸的含量与对照相比差异显著。5d 损伤 25% 后,谷氨酸、甘氨酸含量显著升高,损伤 50% 后甘氨酸含量显著升高;10d 损伤 25% 后,缬氨酸含量显著升高,损伤 50% 后酪氨酸含量显著升高,损伤 75% 后丝氨酸、半胱氨酸和酪氨酸含量显著降低;15d 损伤 25% 后,异亮氨酸含量显著降低,损伤 50% 后苏氨酸含量显著降低,损伤 75% 后组氨酸含量显著升高(表 3)。

在处理 5d 后,剪叶 50% 的健康针叶中大部分氨基酸的平均含量低于 25% 和 75%,10d 后有所升高,15d 后又低于 25% 和 75%。有 6 种氨基酸的含量在 3 个损伤程度之间存在显著差异(天冬氨酸 $P_{10d8枝25\%-50\%} = 0.023$, $P_{10d8枝50\%-75\%} = 0.002$; 丝氨酸 $P_{10d8枝25\%-75\%} = 0.028$, $P_{10d8枝50\%-75\%} = 0.046$; 谷氨酸 $P_{5d8枝25\%-50\%} = 0.027$; 组氨酸 $P_{15d8枝25\%-75\%} = 0.01$, $P_{15d8枝50\%-75\%} = 0.022$; 异亮氨酸 $P_{15d8枝25\%-75\%} = 0.048$; 亮氨酸 $P_{15d8枝25\%-50\%} = 0.005$, $P_{15d8枝25\%-75\%} = 0.013$)。

2.1.3 剪叶处理 12 枝后健康针叶内游离氨基酸的变化

剪叶 12 枝的 25%、50% 和 75% 在处理的 3 个时段与对照相比,部分游离氨基酸含量差异显著。5d 损伤

表3 剪叶8枝和12枝后健康针叶内差异显著的游离氨基酸的含量变化

Table 3 Significant analysis and contents changes of some kinds of free amino acids in healthy needles after needles on eight and twelve branches were cut

氨基酸 Amino acids	剪叶8枝 needles were cut on 8 branches			剪叶12枝 needles were cut on 12 branches				
	5d 含量增量 Incremental content in 5 days /(mg/g)	10d 含量增量 Incremental content in 10 days /(mg/g)	15d 含量增量 Incremental content in 15 days /(mg/g)	5d 含量增量 Incremental content in 5 days /(mg/g)	10d 含量增量 Incremental content in 10 days /(mg/g)	15d 含量增量 Incremental content in 15 days /(mg/g)		
	天冬氨酸	25%	+0.0667	0 aAB	+0.1333	+0.1334	+0.4 *	0
	ASP	50%	-0.2333	+0.23 bA	+0.0667	+0.1334	+0.3333	+0.0667
	75%	-0.1	+0.4 aB	+0.1333	+0.1	+0.4333 *	+0.0667	
丝氨酸 SER	25%	+0.433	-0.14 a	0	-0.0333	-1.1667 a *	-0.3666	
	50%	+0.3	-0.34 a	-0.133	-0.0333	+0.1333b	+0.0334	
	75%	+0.567	-1.737 b **	+0.067	-0.4666	0 bc	-0.4666	
谷氨酸 GLU	25%	+0.1333 a *	+0.2267	+0.1	0 ab	-0.2333 a	+0.0333	
	50%	+0.0666 b	+0.2933	+0.1	-0.0333 a	+0.0333 b	+0.0667	
	75%	+0.1 ab	+0.1267	+0.1	+0.0667 b	0 ab	+0.1	
甘氨酸 GLY	25%	+2.1667 *	-0.1667	+0.0033	+0.1667	+1.1333 *	-0.1667	
	50%	+2.0667 *	+0.3666	0	-0.1333	+1.1333 *	0	
	75%	+1.3667	+1.1666	-0.0033	+0.1	+1.1666 *	-0.1667	
组氨酸 HIS	25%	+0.1	+0.6667 a	-0.0333	-0.0333	-0.1	0 aA	
	50%	+0.1333	-0.1333 a	0	-0.1	-0.0667	+0.1 bAB *	
	75%	+0.4	-0.0333 b	+0.1667 *	0	-0.0667	+0.1667 bB	
苏氨酸 THR	25%	+0.2667	+0.2	0	-0.1	-0.1334 *	+0.2333	
	50%	-0.1333	-0.0667	-0.2 *	-0.1	-0.1334 *	-0.1667	
	75%	-0.1	-0.1	-0.067	+0.1	-0.1334 *	+0.2333	
半胱氨酸	25%	0	-0.0666	-0.0334	+0.0333	-0.0666	-0.0333	
CYS	50%	0	-0.1	-0.0334	-0.0667	-0.1333 *	+0.0333	
	75%	-0.0333	-0.1333 *	0	-0.0333	-0.1	+0.0333	
酪氨酸 TYR	25%	+0.1	+0.08	+0.1	+0.1667	-0.1333 aAB	-0.0667	
	50%	-0.1667	+0.013 *	0	+0.1667	+0.1 bA	-0.2	
	75%	-0.1667	-0.02 *	-0.0667	+0.2667	-0.1667 c B	-0.1667	
缬氨酸 VAL	25%	+0.0667	+0.3666 *	-0.2333	-0.2667 *	+0.3	0	
	50%	0	+0.1334	0	-0.2	+0.0667	0	
	75%	0	0	+0.0333	-0.2667 *	+0.2334	+0.0333	
赖氨酸 LYS	25%	-0.0666	-0.0666	-0.1667	-0.1	+0.0667	+0.4 A **	
	50%	+0.1667	-0.1333	-0.0333	0	-0.0666	-0.0333 B	
	75%	+0.1667	-0.1	+0.2333	-0.1667	+0.1	-0.0666 BC	
异亮氨酸	25%	0	0	-0.1667 a **	+0.0334	+0.1	-0.0666	
ILE	50%	+0.1	+0.0667	0 ab	-0.0333	-0.0333	-0.0666	
	75%	+0.1	0	-0.033 b	-0.0666	-0.0333	-0.0666	
亮氨酸 LEU	25%	+0.2	-0.1333	+0.1 aA	-0.1	-0.3333	+0.0334 ab	
	50%	+0.0333	-0.1667	0 bB	+0.1667	-0.0667	-0.2 a	
	75%	+0.1333	-0.1333	-0.0667 bAB	0	-0.0667	+0.2334 b	
苯丙氨酸	25%	+0.116	-1.8083	+0.6213	-0.5733	-2.1703	+1.506 A	
PHE	50%	-1.076	-1.2783	-1.06	+0.3237	-1.1756	-1.9003 B	
	75%	+1.1707	-1.7466	-0.849	+1.731	+0.267	+1.7627 A	

25%后,缬氨酸含量显著下降,损伤75%后含量仍在下降;10d损伤25%后,天冬氨酸和甘氨酸含量显著升高,丝氨酸和苏氨酸含量显著下降,损伤50%后甘氨酸含量显著升高、苏氨酸和半胱氨酸含量显著降低,损伤75%后天冬氨酸和甘氨酸含量显著升高、苏氨酸含量显著降低;15d损伤25%后赖氨酸含量显著升高,损伤50%后组氨酸含量显著升高(表3)。

部分氨基酸的含量在3个损伤程度之间同样存在显著差异(丝氨酸 $P_{10d12枝25\%-50\%} = 0.019$, $P_{10d12枝25\%-75\%} = 0.03$; 谷氨酸 $P_{5d12枝50\%-75\%} = 0.017$, $P_{10d12枝25\%-50\%} = 0.035$; 组氨酸 $P_{15d12枝25\%-50\%} = 0.04$, $P_{15d12枝25\%-75\%} = 0.004$; 酪氨酸 $P_{10d12枝25\%-50\%} = 0.017$, $P_{10d12枝50\%-75\%} = 0.009$, $P_{10d12枝25\%-75\%} = 0.046$; 赖氨酸 $P_{15d12枝25\%-50\%} = 0.003$, $P_{15d12枝25\%-75\%} = 0.002$; 亮氨酸 $P_{15d12枝50\%-75\%} = 0.023$; 苯丙氨酸 $P_{15d12枝25\%-50\%} = 0.009$, $P_{15d12枝50\%-75\%} = 0.006$)。

在相同时间内,对剪叶4枝、8枝和12枝针叶内游离氨基酸的含量进行差异显著性分析,结果显示3个剪叶处理之间差异不显著($P > 0.05$)。

2.2 落叶松毛虫取食4枝对落叶松针叶内游离氨基酸含量的影响

落叶松毛虫取食4枝25%、50%、75%后与对照相比针叶内部分游离氨基酸含量差异显著。5d取食50%后,丙氨酸、缬氨酸含量显著下降,取食75%后组氨酸含量升高,缬氨酸含量降低;10d取食25%后,丙氨酸含量显著降低,取食75%后丝氨酸含量显著降低、苯丙氨酸含量显著升高;15d取食50%后,组氨酸和苯丙氨酸含量显著升高,精氨酸含量显著降低,取食75%后甘氨酸、精氨酸含量显著降低,半胱氨酸含量显著升高(表4)。

表4 落叶松毛虫取食4枝后针叶内差异显著的游离氨基酸的含量及变化

Table 4 Significant analysis and contents of some free amino acids in healthy needles on four branches after feeded by larvae of *Dendrolimus superans*

氨基酸 Amino acids	5d 平均含量 Average content in 5 days /(mg/g)	含量增量 Incremental content /(mg/g)	10d 平均含量 Average content in 10 days /(mg/g)	含量增量 Incremental content /(mg/g)	15d 平均含量 Average content in 15 days /(mg/g)	含量增量 Incremental content /(mg/g)
天冬氨酸 ASP	25% 50% 75%	1.4667 1.4667 1.1000	+0.2334 +0.2334 -0.1333	0.8333 1.4333 1.2333	-0.3334 +0.2666 +0.0666	1.3307ab 1.1667a 1.5667b
丝氨酸 SER	对照 CK	1.2333		1.1667		1.3337
谷氨酸 GLU	25% 50% 75%	2.2667 2.2000 1.3000	-0.2666 -0.333 -1.233	2.6000a 2.7667a 1.2000b*	+0.1333 +0.3 -1.2667	1.9000 2.4000 2.7333
甘氨酸 GLY	对照 CK	2.5330		2.4667		2.8000
组氨酸 HIS	25% 50% 75%	0.3667 0.3333 1.3000	-0.0666 -0.1 +0.8667	0.4333 0.3667 0.4667	+0.0333 -0.0333 +0.0667	0.2000a 0.4333b 0.4333b
精氨酸 ARG	对照 CK	0.4333		0.4000		0.2667
	25% 50% 75%	2.1000 2.0333 1.2000	-0.3 -0.3667 -1.2	1.9667 2.2667 1.1667	+0.7 +1.0 -0.1	1.1667 2.5000 0.8333*
	对照 CK	2.4000		1.2667		2.5000
	25% 50% 75%	0.2000 0.1667 0.2667*	+0.0667 +0.0334 +0.1334	0.2667 0.2333 0.4333	+0.0667 +0.0333 +0.2333	0.1000 0.2000* 0.1000
	对照 CK	0.1333		0.2000		0.1333
	25% 50%	0.1667 0.2333	+0.0334 +0.1	0.1333 0.1000	+0.0333 0	0.1000 0.0000**
						-0.0667 -0.1667

续表

Amino acids		5d 平均含量 Average content in 5 days /(mg/g)	含量增量 Incremental content /(mg/g)	10d 平均含量 Average content in 10 days /(mg/g)	含量增量 Incremental content	15d 平均含量 Average content in 15 days /(mg/g)	含量增量 Incremental content /(mg/g)
苏氨酸 THR	75%	0.2333	+0.1	0.0333	-0.0667	0.0000 **	-0.1667
	对照 CK	0.1333		0.1000		0.1667	
	25%	0.3333a	+0.1666	0.1000	-0.0667	0.2000	-0.1333
	50%	0.0000b	-0.1667	0.1333	-0.0334	0.0333	-0.3
丙氨酸 ALA	75%	0.3000a	+0.1333	0.2667	+0.1	0.1333	-0.2
	对照 CK	0.1667		0.1667		0.3333	
	25%	0.1667	-0.3333	0.1000a *	-0.2333	0.0667	-0.1666
	50%	0.0667 *	-0.4333	0.4000b	+0.0667	0.2000	-0.0333
半胱氨酸 CYS	75%	0.2333	-0.2667	0.2000b	-0.1333	0.5000	+0.2667
	对照 CK	0.5000		0.3333		0.2333	
	25%	0.1000	0	0.1000	-0.0333	0.1000a	+0.0334
	50%	0.2000	+0.1	0.2000	+0.0667	0.2333b	+0.1666
缬氨酸 VAL	75%	0.1333	+0.0333	0.2667	+0.1334	0.3000ab *	+0.2333
	对照 CK	0.1000		0.1333		0.0667	
	25%	0.3000A	-0.1	0.1333	+0.1	0.2000	-0.1
	50%	0.0667B **	-0.3333	0.3000	+0.2667	0.2000	-0.1
赖氨酸 LYS	75%	0.1667AB *	-0.2333	0.3667	+0.3334	0.3333	+0.0333
	对照 CK	0.4000		0.0333		0.3000	
	25%	0.2667	-0.0333	0.1000a	-0.1333	0.4000	+0.1667
	50%	0.0667	-0.2333	0.3000ab	+0.0667	0.2667	+0.0334
苯丙氨酸 PHE	75%	0.1333	-0.1667	0.4000a	+0.1667	0.4000	+0.1667
	对照 CK	0.3000		0.2333		0.2333	
	25%	483.9000a	+145	494.0000	+65.17	398.0700	+123.17
	50%	271.9700b	-66.93	591.6700	+162.84	545.2000 *	+270.3
对照 CK	75%	321.8000ab	-17.1	633.2300 *	+204.4	496.2300	+221.33
	对照 CK	338.9000		428.8300		274.9000	

部分氨基酸的含量在3个取食程度之间差异显著(天冬氨酸 $P_{15d4枝50\%-75\%} = 0.03$;丝氨酸 $P_{10d4枝25\%-75\%} = 0.048$, $P_{10d4枝50\%-75\%} = 0.032$;谷氨酸 $P_{15d4枝25\%-50\%} = 0.041$, $P_{15d4枝25\%-75\%} = 0.041$;苏氨酸 $P_{5d4枝25\%-50\%} = 0.015$, $P_{5d4枝50\%-75\%} = 0.022$;丙氨酸 $P_{10d4枝25\%-50\%} = 0.029$, $P_{15d4枝25\%-75\%} = 0.04$;半胱氨酸 $P_{15d4枝25\%-75\%} = 0.032$;缬氨酸 $P_{5d4枝25\%-50\%} = 0.009$;赖氨酸 $P_{10d4枝25\%-75\%} = 0.029$;苯丙氨酸 $P_{5d4枝25\%-50\%} = 0.028$)。

2.3 剪叶或落叶松毛虫取食4枝后兴安落叶松健康针叶内游离氨基酸含量的比较

剪叶4枝15d后及虫害4枝5d后,损伤25%与50%之间氨基酸总含量差异显著($P < 0.05$),且健康针叶内游离氨基酸总含量变化趋势相同,即10d后总含量相对较高,两种处理损伤50%后,针叶内总氨基酸含量随时间波动幅度最大,虽幼虫取食后氨基酸总含量高于剪叶处理,但二者之间差异不显著(图1)。两种处理之间有8种游离氨基酸存在显著差异(丝氨酸 $P_{5d4枝25\%} = 0.017$;谷氨酸 $P_{10d4枝75\%} = 0.006$;甘氨酸 $P_{5d4枝25\%} = 0.009$, $P_{5d4枝50\%} = 0.009$, $P_{5d4枝75\%} = 0.000$, $P_{10d4枝50\%} = 0.027$, $P_{15d4枝75\%} = 0.048$;组氨酸 $P_{5d4枝25\%} = 0.018$;脯氨酸 $P_{5d4枝50\%} = 0.005$;半胱氨酸 $P_{10d4枝75\%} = 0.024$, $P_{15d4枝50\%} = 0.033$, $P_{15d4枝75\%} = 0.006$;赖氨酸 $P_{10d4枝75\%} = 0.015$;苯丙氨酸 $P_{10d4枝75\%} = 0.027$)(图2)。

3 讨论

植食性昆虫依靠植物获得营养成分,寄主植物对植食性昆虫的营养效应主要决定于取食部位所含成分的性质和分量^[7]。植物游离氨基酸是昆虫生长发育所必需的营养物质之一,其对昆虫的营养价值亦取决于所

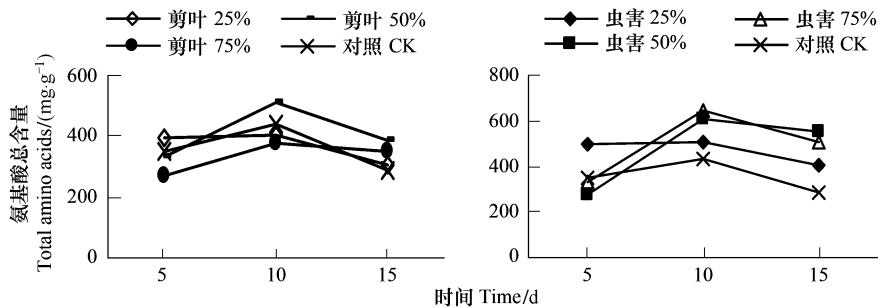


图1 剪叶4枝或昆虫取食4枝后针叶内总游离氨基酸含量的变化

Fig.1 Total contents changes of free amino acids in healthy needles after needles on four branches were cut or larva feeding

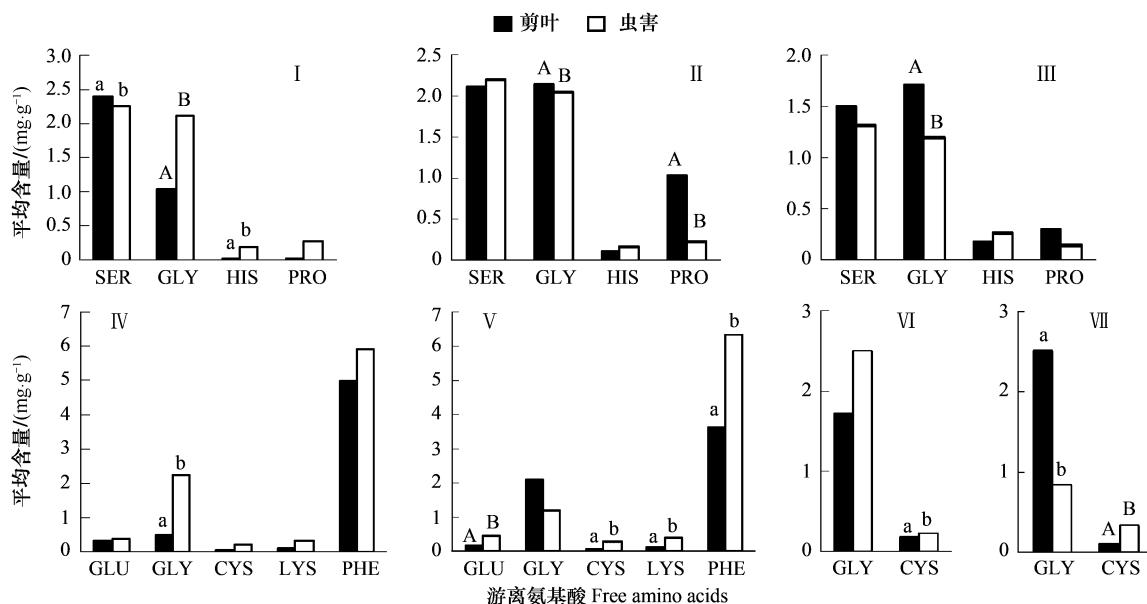


图2 剪叶4枝与昆虫取食4枝后针叶内游离氨基酸平均含量的比较

Fig.2 Contents comparisons of free amino acids in healthy needles after needles on four branches were cut and larva feeding

I :5d 后剪叶 25% 与幼虫取食; II :5d 后剪叶 50% 与幼虫取食; III :5d 后剪叶 75% 与幼虫取食; IV :10d 后剪叶 50% 与幼虫取食; V :10d 后剪叶 75% 与幼虫取食; VI :15d 后剪叶 50% 与幼虫取食; VII :15d 后剪叶 75% 与幼虫取食

含氨基酸的种类和比例^[12-13]。

植物在自然界遭受机械损伤或植食性动物的攻击后会产生直接和间接的防御作用^[14]。油松和马尾松受害后,针叶内次生物质含量会显著增加,而对昆虫有益的营养物质的含量会显著下降,从而达到防御松毛虫的目的^[15-16]。马尾松被马尾松毛虫(*Dendrolimus punctatus*)取食后,游离氨基酸总量明显降低,说明虫害对游离氨基酸含量的变化有显著影响^[17-18]。邹运鼎等^[19]通过对针叶内氨基酸与马尾松毛虫生长发育关系的研究,认为高含量的异亮氨酸和低含量的精氨酸是抑制马尾松毛虫生长发育的第1、第2限制因子。剪叶或昆虫取食损伤处理4枝15d后,兴安落叶松针叶内天冬氨酸、丝氨酸、甘氨酸、组氨酸、精氨酸、苏氨酸、丙氨酸、缬氨酸和亮氨酸的含量表现出不同程度的下降趋势,异亮氨酸、苯丙氨酸的含量升高。由此可以推测,由于兴安落叶松针叶内各种氨基酸相对含量的变化造成其比例的失衡,改变了昆虫所需营养成分的比例,对落叶松毛虫的生长会起到一定的抑制作用。剪叶4枝损伤50%处理15d后,兴安落叶松健康针叶内苯丙氨酸的含量与对照相比增加了36.6%,昆虫取食4枝50%15d后苗木针叶内的苯丙氨酸增加量达98.3%。据Behmer^[20]报道,苯丙氨酸代谢途径可产生多种酚,而酚是公认的植物次生抗虫物质。大多数植物酚类的生物合成是从苯

丙氨酸开始的,经过苯丙氨酸解氨酶的作用,形成各种简单苯丙酸类化合物、木质素、类黄酮等次生物质,这些酚类化合物在植物防御食草昆虫方面起重要作用^[21]。说明兴安落叶松在受到剪叶和昆虫取食损伤后,亦启动了化学防御系统。

4枝、8枝、12枝3个剪叶程度损伤后的游离氨基酸含量无显著差异,说明剪叶4枝即能超过落叶松的耐受阈值,达到防御诱导效应。剪叶4枝处理15d后,损伤25%与50%之间总游离氨基酸的含量差异达显著水平($P < 0.05$),且损伤50%后,针叶内总氨基酸含量随时间波动幅度较大,损伤25%和75%相对较小,这是因为植物损伤后,植物内部的资源分配发生了巨大变化,产生了抗性物质^[22],随着损伤程度的增加,资源分配的程度也进一步加深,所以损伤50%针叶内氨基酸变化幅度较25%明显。然而一旦某种刺激超过一定的阈值,则植物可能就没有足够的能量对外部的刺激做出更为有效的调节,如损伤75%,含量又有所降低。昆虫取食4枝5d后,取食25%与50%之间总游离氨基酸的含量同样达到显著差异($P < 0.05$)。说明在讨论剪叶损伤与昆虫取食诱导的植物抗性过程时,必须选择有效且适当的损伤程度。

不同程度剪叶处理4枝后氨基酸总含量的变化趋势与昆虫取食4枝后氨基酸总含量的变化一致,均在处理10d后呈现较高的含量,虽昆虫取食后氨基酸总含量高于剪叶处理,但总含量差异不显著。相似的试验结果在许多研究中都存在^[23-24]。二者间有8种游离氨基酸丝氨酸、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、脯氨酸、半胱氨酸、赖氨酸和苯丙氨酸含量差异显著,说明两种损伤方式都可诱导落叶松从营养物质方面间接抵御植食昆虫的危害,但其诱导的生化过程却不尽相同。

Reference:

- [1] Wang Y C. Biochemistry of insect. Beijing: Chinese Agriculture Press, 2001: 60, 92-96.
- [2] Liu H R, Song H X, Liu D P, Guan C Y, Liu Q, Chen S Y. Dynamics changes of soluble sugar and free amino acid contents in stem and leaf of different oilseed rape varieties. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2007, 16(1): 123-126.
- [3] Lu X K, Mo J M, Peng S L, Fang Y T, Li D J, Lin Q F. Effects of simulated N deposition on free amino acids and soluble protein of three dominant understory species in a monsoon evergreen broad-leaved forest of subtropical China. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(3): 743-753.
- [4] Bi J L, Toscano N C, Madore M A. Effect of urea fertilizer application on soluble protein and free amino acid content of cotton petioles in relation to silkworm whitefly (*Bemisia argentifolii*) populations. *Journal of Chemical Ecology*, 2003, 29(3): 747-761.
- [5] Throop H L, Lerdau M T. Effect of nitrogen deposition on insect herbivory: Implications for community and ecosystem processes. *Ecosystems*, 2004, 7: 109-133.
- [6] Harssnigg N, Leonhard B, Crailsheim K. Free amino acids in the haemolymph of honey bee queens (*Apis mellifera* L.). *Amino Acids*, 2003, 24: 205-212.
- [7] Yu Y S, Wu J C, Wang F, Xue S. Effects of imidacloprid press on the soluble sugar, mineral element and free amino acid in rice plants. *Journal of Yangzhou University: Agricultural and Life Science Edition*, 2008, 29(1): 85-89.
- [8] Yang Y Z, Lu Y H, Xue W J, Yu Y S, Li X H, Wang F, Yang H Y, Liu Y. Effects of change in the content of sugars and free amino acids in transgenic cotton cultivars on the secretion amount and major nutritive components of honeydew of *Aphis gossypii* Glover. *Acta Entomologica Sinica*, 2005, 48(4): 491-497.
- [9] Guo S P, Sun P, Li H X. Relationship between composition and content of free amino acids in poplar and damage of *Saperda populnea*. *Journal of Northeast Forestry University*, 2008, 36(7): 69-71.
- [10] Yan S C, Li J G, Wen A T, Cheng H, Xu W, Zhang Y B. Association between the damage of *Xylotrechus rusticus* (Coleoptera: Cerambycidae) and the compositions and contents of amino acids in different poplar strains. *Acta Entomologica Sinica*, 2006, 49(1): 93-99.
- [11] Xi R Y, Li C H, Sun X D, Qi W. Determination of free amino acid contents in *Ficus carica* by RP-HPLC. *Journal of Xinxiang Medical College*, 2002, 19(5): 382-383.
- [12] Zhang F J, Chen F X, Xu D S, Huo Z M. The relationship between the structure and the insect resistance (summary). *Journal of Hebei Normal University of Science & Technology*, 2006, 20(2): 71-76.
- [13] Liu X P, Chen C P, Wang G H, Li Z Y, Ge F. Progress in induced resistance of pines. *Scientia Silvae Sinicae*, 2003, 39(5): 119-128.
- [14] Xu W, Yan S C. The function of Jasmonic acid in induced plant defence. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(8): 2074-2082.
- [15] Li Z Y, Wang Y, Chen H S, Xu Z C, Lu Y B. Induced chemical defenses and delayed induced resistance of *Pinus tabulaeformis* to *Dendrolimus*

- spectabilis. *Scientia Silvae Sinicae*, 2000, 36(1): 66-70.
- [16] Wang Y, Li Z Y, Ge F. Lag-change of chemical components in needles of injured pine *Pinus massoniana*. *Acta Entomologica Sinica*, 2000, 43(3): 291-296.
- [17] Deng W H, Shen Y B, Li Z Y, Zhang S J, Liu X P. Determination of gamma-aminobutyric acid and seventeen free amino acids in *Pinus massoniana* needles by reversed-phase high performance liquid chromatography with pre-column derivation. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(8): 4023-4029.
- [18] Li X G, Liu H X, Huang J. Molecular mechanisms of insect pest-induced plant defense. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19(4): 893-900.
- [19] Zou Y D, Cheng F J, Zha G J. Effect of the chemical components of pine needle on the existence and growth of pine caterpillars *Dendrolimus punctatus*. *Scientia Silvae Sinicae*, 1990, 26(2): 143-147.
- [20] Bechmer S T. Dietary selection by the generalist grasshopper. *Phoetaliotes nebrascensis* (Orthoptera: Acrididae) based on the need for phenylalanine. *Functional Ecology*, 1993, 7: 522-527.
- [21] Teng T, Cao F X, Wang M, Long J X. Effects of pine wood nematode (PWN) infection on the activity of PAL and the content of phenols in the host pine. *Journal of Central South University of Forestry & Technology*, 2007, 27(3): 124-127.
- [22] Mihaliak C A, Lincoln D E. Plant biomass partition and chemical defences: Response to defoliation and nitrate limitation. *Oecologia*, 1989, 80: 122-126.
- [23] Wang Q, Yan S C, Wang Y J, Zhang J, Yuan H E. Activities of proteinase inhibitors in *Larix gmelinii* seedlings under the stresses of cutting needles and herbivore feeding. *Acta Entomologica Sinica*, 2008, 51(8): 798-803.
- [24] Haruta M, Major IT, Christopher M E, Patton J J, Constabel C P. A kunitz trypsin inhibitor gene family from trembling aspen (*Populus tremuloides* Michx.): Cloning, functional expression, and induction by wounding and herbivory. *Plant Molecular Biology*, 2001, 46: 347-359.

参考文献:

- [1] 王荫长. 昆虫生物化学. 北京: 中国农业出版社, 2001: 60, 92-96.
- [2] 刘浩荣, 宋海星, 刘代平, 官春云, 刘强, 陈社员. 油菜茎叶可溶性糖与游离氨基酸含量的动态变化. 西北农业学报, 2007, 16(1): 123-126.
- [3] 鲁显楷, 莫江明, 彭少麟, 方运霆, 李德军, 林琼芳. 鼎湖山季风常绿阔叶林下层3种优势树种游离氨基酸和蛋白质对模拟氮沉降的响应. 生态学报, 2006, 26(3): 743-753.
- [7] 余月书, 吴进才, 王芳, 薛珊. 啮虫胁迫对水稻可溶性糖、游离氨基酸及钾等矿物元素含量的影响. 扬州大学学报: 农业与生命科学版, 2008, 29(1): 85-89.
- [8] 杨益众, 陆宴辉, 薛文杰, 余月书, 李晓慧, 王峰, 杨海燕, 刘洋. 转基因棉花中糖类和游离氨基酸含量的变化对棉蚜泌蜜量及蜜露主要成分的影响. 昆虫学报, 2005, 48(4): 491-497.
- [9] 郭树平, 孙萍, 李海霞. 杨树游离氨基酸组成和含量与青杨天牛危害的相关分析. 东北林业大学学报, 2008, 36(7): 69-71.
- [10] 严善春, 李金国, 温爱亭, 程红, 徐伟, 张玉宝. 青杨脊虎天牛的危害与杨树氨基酸组成和含量的相关性. 昆虫学报, 2006, 49(1): 93-99.
- [11] 席荣英, 李聪辉, 孙祥德, 齐伟. 反相高效液相色谱法测定无花果中游离氨基酸的含量. 新乡医学院学报, 2002, 19(5): 382-383.
- [12] 张凤娟, 陈凤新, 徐东生, 霍志梅. 植物组织结构与抗虫性的关系(综述). 河北科技师范学院学报, 2006, 20(2): 71-76.
- [13] 刘兴平, 陈春平, 王国红, 李镇宇, 戈峰. 我国松树诱导抗虫性研究进展. 林业科学, 2003, 39(5): 119-128.
- [14] 徐伟, 严善春. 茉莉酸在植物诱导防御中的作用. 生态学报, 2005, 25(8): 2074-2082.
- [15] 李镇宇, 王燕, 陈华盛, 许志春, 路永波. 油松对赤松毛虫的诱导化学防御及滞后诱导抗性. 林业科学, 2000, 36(1): 66-70.
- [16] 王燕, 李镇宇, 戈峰. 马尾松受害诱导的化学物质滞后变化. 昆虫学报, 2000, 43(3): 291-296.
- [17] 邓文红, 沈应柏, 李镇宇, 张淑静, 刘雪萍. 柱前衍生反相高效液相色谱法测定马尾松(*Pinus massoniana*)针叶中 γ -氨基丁酸和17种游离氨基酸. 生态学报, 2008, 28(8): 4023-4029.
- [18] 李新岗, 刘慧霞, 黄建. 虫害诱导植物防御的分子机理研究进展. 应用生态学报, 2008, 19(4): 893-900.
- [19] 邹运鼎, 程扶玖, 查光济. 松针内含物与马尾松毛虫生长发育关系的研究. 林业科学, 1990, 26(2): 143-147.
- [21] 滕涛, 曹福祥, 王猛, 龙锋雪. 松材线虫侵染对松树苯丙氨酸解氨酶及酚类物质的影响. 中南林业科技大学学报, 2007, 27(3): 124-127.
- [23] 王琪, 严善春, 王艳军, 张健, 袁红娥. 剪叶及昆虫取食对兴安落叶松蛋白酶抑制剂的影响. 昆虫学报, 2008, 51(3): 798-803.