落叶松针叶内缩合单宁含量与树龄及家系的关系*

佟丽丽 严善春** 王 琪 徐 波

(东北林业大学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 为了研究树龄、家系和生长时期对落叶松组成抗性的影响,在7和8月采集落叶松针叶,对比分析了长白73-26(*Larix olgensis* 73-26)和73-28(*L. olgensis* 73-28),杂种日5×兴9(*L. kaempferi* 5×*L. gmelinii* 9)和日3×兴2(*L. kaempferi* 3×*L. gmelinii* 2)4个家系的不同年龄落叶松针叶内缩合单宁含量。结果表明:落叶松针叶内缩合单宁含量,受树龄×家系,树龄×家系×生长时期的交互效应影响差异显著。在幼龄林、中龄林和近熟林3个年龄等级中,幼龄林显著高于其他林龄,在4个家系中,杂种家系显著高于长白家系;同时,在落叶松生长旺盛的7月显著高于生长缓慢的8月,说明落叶松在7月组成抗性相对较强,幼龄林和杂种家系的组成抗性相对较强。因此,建议多种植抗性较强的杂种落叶松,同时在8月以后加强对中龄和近熟林木的防虫监护。

关键词 落叶松;缩合单宁;树龄;家系;生长时期

中图分类号 S718.5 **文献标识码** A **文章编号** 1000-4890(2010)2-0221-05

Relationships of condensed tannin content in larch needles with larch stand age and its family. TONG Li-li, YAN Shan-chun, WANG Qi, XU Bo (*Key Laboratory of Forestry Tree Genetic Improvement and Biotechnology of Ministry of Education, Northeast Forestry University, Harbin* 150040, *China*). *Chinese Journal of Ecology*, 2010, **29**(2): 221-225.

Abstract: In order to study the effects of larch stand age, its family, and growth period on the constitutive resistance of larch needles, the needles of *Larix olgensis* 73-26, *L. olgensis* 73-28, *L. kaempferi* 5×*L. gmelinii* 9, and *L. kaempferi* 3×*L. gmelinii* 2 in different stand age groups were collected in July and August, with their condensed tannin content analyzed. The condensed tannin content in larch needles differed significantly under the interactive effects of stand age × family and of stand age × family × growth period, being significantly higher in young than in middle-aged and near-matured stands, in *L. kaempferi* 5×*L. gmelinii* 9 and *L. kaempferi* 3×*L. gmelinii* 2 than in *L. olgensis* 73-26 and 73-28, and in July (fast growth period) than in August (slow growth period). It was suggested that more hybrid larch with stronger constitutive resistance should be planted, and the pest control for middle-aged and near-matured larch stands should be strengthened after August.

Key words: *Larix* spp.; condensed tannin; stand age; family; growth period.

在植物界,单宁是十分丰富的植物次生代谢产物,植物合成单宁以此来保护自身不受植食性昆虫的侵害(Muetzel & Becker,2006)。植物单宁是植物体内有效的防御物质,对害虫的取食和生长均起抑制作用,其含量会因植株受害而升高(Schofield *et al.*,2001;Haslam,2007;袁红娥等,2009)。单宁通过干扰昆虫肠道消化,来影响昆虫对食物的利用,如单宁分子上带羟基的芳香环可借羟基与蛋白质分子羧基结合形成稳定交叉链,从而使蛋白质鞣化不能利用,抑制酶活性;还可以与淀粉形成络合物而影响昆虫对淀粉的消化。近年来,有学者提出其含量可作为松树抗虫性强弱的检测因子(李镇宇等,1998;薛皎亮等,2000;刘兴平等,2003)。单宁在木本植物中的质量分数常超过10%(Heyworth *et al.*,1998),在不同的植物种类和不同组织器官中其含量不同,有些质量分数可达20%(Maie *et al.*,2003)。在落叶松(*Larix* spp.)体内单宁含量很高,与其他组织相

* 国家公益性行业科研专项资助项目(00904021)。
** 通讯作者 E-mail:yanshanchun@126.com
收稿日期:2009-07-06 接受日期:2009-09-03

比,其针叶内单宁含量在各组织器官中名列前茅(王文杰等,2007)。

落叶松是中国东北地区主要三大针叶用材林树种之一,也是内蒙古林区以及华北、西南等高山针叶林的主要树种。但经常遭受落叶松毛虫(*Dendrolimus superans*)等害虫危害。林木年龄是影响林木抗虫性的因素之一(曹兵和徐锡增,2004)。落叶松毛虫多危害10年生以上落叶松林。因此,本文选取不同年龄纯种长白落叶松(*Larix olgensis*)和日×兴杂种落叶松(*L. kaempferi* × *L. gmelinii*)各2个家系,对其7、8月针叶内缩合单宁含量进行比较研究,以期弄清不同年龄及不同家系落叶松的抗性特点,为合理经营和保护落叶松资源提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料

样品采集地点选在黑龙江省牡丹江市林口林业局青山林场(129°17′E—130°45′E,44°40′N—45°58′N)。在《森林资源规划设计调查主要技术规定》中对北方落叶松龄级划分为:幼龄林1~20 a,中龄林21~30 a,近熟林31~40 a。依据落叶松林龄,选择8块标准样地(20 m×20 m),其中4块为长白落叶松,4块为日×兴杂种落叶松,每块标准样地立地条件相同。在4块长白落叶松样地内,选择分属73-26(*L. olgensis* 73-26)和73-28(*L. olgensis* 73-28)2个家系的16、19、22和37年生的健康植株;在4块杂种落叶松样地内,选择分属日5×兴9(*L. kaempferi* 5 × *L. gmelinii* 9)和日3×兴2(*L. kaempferi* 3 × *L. gmelinii* 2)2个家系的17、19、22和30年生的健康植株;每个家系每个年龄各选择5株样树采集针叶,分2次采集,采集时间为7月下旬和8月下旬,但37年生长白落叶松和30年生杂种落叶松仅在7月下旬采集1次。在每株样树的树冠上、中、下3个层次的东、南、西、北4个方向,即12个方位采摘针叶,将同株样树上所采摘的针叶充分混合,装入夹链袋内,迅速放入冰盒带回室内冷藏待测。

1.2 缩合单宁提取与测定

1.2.1 标准曲线的绘制 以儿茶素(SIGMA公司)为标准样品(武予清和郭予元,2000)绘制标准曲线(袁红娥等,2009),其中儿茶素浓度为横坐标,吸光值为纵坐标。测定的标准曲线方程为:$Y = 1.2959X + 0.0717$($R^2 = 0.9904$),式中,Y为吸光值,X为浓度(mg·ml^{-1})。线性范围为0~0.8 mg·ml^{-1}。

1.2.2 缩合单宁的提取 缩合单宁的提取参照袁红娥等(2009)方法,略改动,将样品(冻干粉)用量增加到200 mg,且在加入70%的甲醇封口摇匀后,将样品置于常温下改为置于-20 ℃下放置24 h。

1.2.3 缩合单宁的测定 缩合单宁测定参照袁红娥等(2009)方法。

1.3 数据处理

用SPSS 11.5软件进行统计分析,其中以General Linear Model中的Univariate模型对树龄、家系和生长时期进行交互效应分析($\alpha = 0.05$);以单因素方差分析one-way ANOVA分别对7和8月缩合单宁含量进行差异显著性分析,以最小差异显著法LSD对年龄和家系的影响进行多重比较分析。

2 结果与分析

2.1 树龄、家系和生长时期对落叶松针叶内缩合单宁含量影响的交互效应

由表1可知树龄、家系和生长时期对落叶松针叶内缩合单宁含量均产生极显著影响($P < 0.001$)。树龄+家系、树龄+家系+生长时期的交互效应对落叶松针叶内缩合单宁含量影响差异均极显著($P < 0.01$)。说明树龄和家系与落叶松化学防御能力有密切联系。

2.2 不同年龄长白落叶松和杂种落叶松针叶内缩合单宁含量

不同年龄长白落叶松与杂种落叶松针叶内缩合单宁含量存在差异(图1)。7月落叶松针叶内缩合单宁含量,长白73-26的16 a>22 a>19 a>37 a,其中16 a显著高于19 a和37 a($P_{16a/19a} = 0.049$,$P_{16a/37a} = 0.001$);长白73-28的16 a>19 a>22 a>37 a,其中16 a和19 a显著高于37 a($P_{16a/37a}$ =

表1 影响落叶松针叶内缩合单宁含量的3因素方差分析

Tab.1 Tests of between-subjects effects of age, family and growth period on condensed tannin content in larch needles

来源	*Df* 自由度	均方	*F*	*P*
树龄	3	48.300	10.050	<0.001
家系	3	52.697	10.965	<0.001
生长时期(月份)	1	410.943	85.508	<0.001
树龄+家系	9	12.991	2.703	0.007
树龄+生长时期	2	12.463	2.593	0.079
家系+生长时期	3	1.861	0.387	0.762
树龄+家系+生长时期	6	15.260	3.175	0.006

模型拟合效果比较理想,$R^2 = 0.619$。

0.004,$P_{19a/37a}$=0.027)。杂种日5×兴9的22 a>19 a>30 a>17 a,其中仅22 a显著高于17 a($P_{22a/17a}$=0.042);杂种日3×兴2的各年龄间均无显著差异。8月落叶松针叶内缩合单宁含量,长白73-26的22 a>16 a>19 a,3个年龄间均有极显著差异($P_{22a/16a}$=0.002,$P_{22a/19a}$<0.001,$P_{16a/19a}$=0.001);长白73-28的16 a>22 a>19 a,其中16 a显著高于其他两个年龄的($P_{16a/22a}$=0.005,$P_{16a/19a}$=0.002);杂种日5×兴9的17 a>22 a>19 a,其中仅17 a显著高于19 a($P_{17a/19a}$=0.019);杂种日3×兴2的17 a>19 a>22 a,其中仅17 a显著高于22 a($P_{17a/22a}$=0.016)。落叶松针叶内缩合单宁含量在幼龄林中多数较高,在中龄林中起伏变化,而近熟林中较低,说明年龄与其含量变化密切相关。

2.3 不同家系长白落叶松和杂种落叶松针叶内缩合单宁含量

不同家系长白落叶松与杂种落叶松针叶内缩合单宁含量存在差异(图2)。7月落叶松针叶内缩合单宁含量,16 a/17 a与22 a的4个家系间无显著差异;19 a杂种日5×兴9显著高于长白73-26($P_{杂5\times9/长73-26}$=0.024);30 a/37 a杂种显著高于长白家系($P_{杂5\times9/长73-26}$<0.001,$P_{杂5\times9/长73-28}$<0.001,$P_{杂3\times2/长73-26}$<0.001,$P_{杂3\times2/长73-28}$<0.001)。8月落叶松针叶内缩合单宁含量,16 a/17 a长白73-26显著低于长白73-28和杂种日3×兴2($P_{长73-28/长73-26}$=0.033,$P_{杂3\times2/长73-26}$=0.021);19 a杂种日3×兴2>杂种日5×兴9>长白73-28>长白73-26,且各家系间比较差异均显著($P_{长73-28/长73-26}$=0.020,$P_{杂5\times9/长73-26}$<0.001,$P_{杂3\times2/长73-26}$<0.001,$P_{杂3\times2/长73-28}$<0.001,$P_{杂3\times2/杂5\times9}$=0.004);22 a长白73-26显著高于长白73-28与杂种日3×兴2($P_{长73-26/长73-28}$=0.010,$P_{长73-26/杂3\times2}$=0.011)。落叶松针叶内缩合单宁含量在杂种家系中多数显著高于在长白家系中,说明家系与其含量变化密切相关。

2.4 不同生长时期长白落叶松和杂种落叶松针叶内缩合单宁含量

由表2可见,落叶松针叶内缩合单宁含量,除22 a长白73-26家系8月比7月高0.081 mg·g^{-1}外,

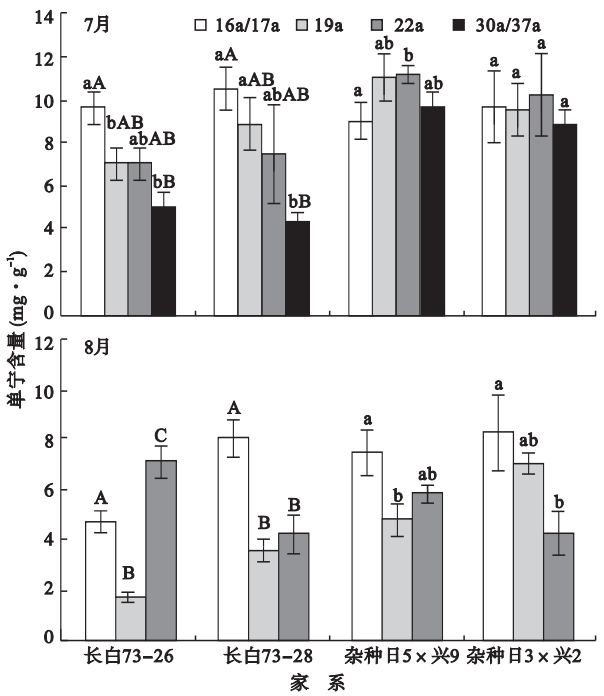


图1 不同年龄长白和杂种落叶松针叶内缩合单宁含量

Fig. 1 Condensed tannin content in needles of *Larix olgensis* and *L. kaempferi*×*L. gmelinii* at different age groups

长白73-26:*L. olgensis* 73-26 长白73-28:*L. olgensis* 73-28 杂种日5×兴9:*L. kaempferi* 5×*L. gmelinii* 9,杂种日3×兴2:*L. kaempferi* 3×*L. gmelinii* 2。同家系不同颜色柱形图上不同字母表示同一家系在不同年龄时缩合单宁含量差异显著性(小写字母表示在α=0.05水平下比较;大写字母表示在α=0.01水平下比较,下同)。字母相同则表示差异不显著。

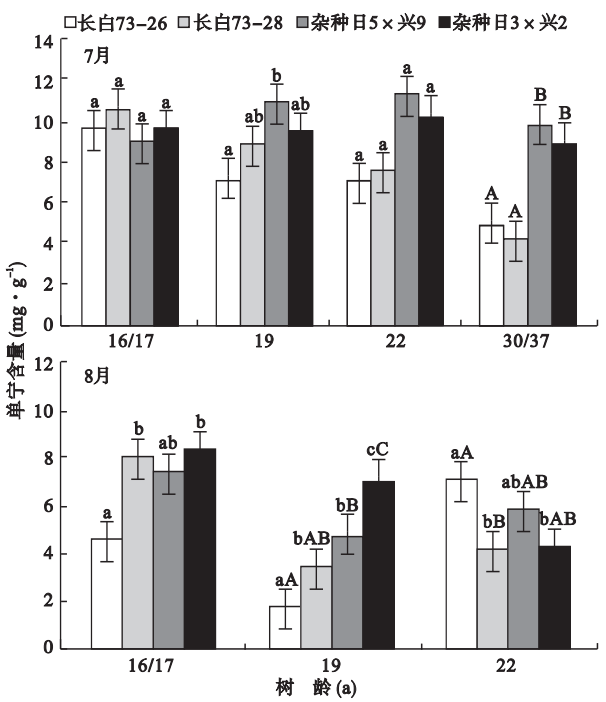


图2 不同家系长白和杂种落叶松针叶内缩合单宁含量

Fig. 2 Condensed tannin content in needles of *Larix olgensis* and *L. kaempferi*×*L. gmelinii* in different families

同年龄段不同颜色柱形图上不同字母表示4个家系在相同年龄时缩合单宁含量差异显著性(同上)。字母相同则表示差异不显著。

表2 长白落叶松和杂种落叶松针叶内缩合单宁含量（mg·g^{-1}）
Tab. 2 Condensed tannin content in needles of *Larix olgensis* and *L. kaempferi* × *L. gmelinii*

落叶松家系	16 a/17 a		19 a		22 a	
	7月	8月	7月	8月	7月	8月
长白73－26	9.617±0.835	4.636±0.525**	7.024±1.165	1.742±0.232**	7.074±0.648	7.155±0.507
长白73－28	10.539±1.140	7.985±0.855	8.849±1.141	3.486±0.426**	7.576±2.107	4.173±0.969
杂种日5×兴9	9.007±0.770	7.483±0.908	10.983±1.054	4.752±0.750**	11.264±0.378	5.897±0.359**
杂种日3×兴2	9.659±1.612	8.313±1.512	9.513±1.111	7.055±0.345	10.215±1.780	4.231±0.867*

*表示同龄同家系7、8月针叶内缩合单宁含量差异显著（$P<0.05$），**表示差异极显著（$P<0.01$）。

7月均高于8月。7月与8月比较，16 a与19 a长白73－26、19 a长白73－28，19 a与22 a杂种日5×兴9针叶内缩合单宁含量差异极显著（$P<0.01$），22 a杂种日3×兴2针叶内缩合单宁含量差异显著（$P<0.05$）。落叶松在7月与8月处于不同的生长发育期，说明落叶松针叶内缩合单宁含量受生长发育期的影响。

3 讨 论

树木生长过程有其阶段性，在不同阶段其抗虫性也各有其特点。落叶松幼龄林时期，幼树正在扎根生长，对营养和水分的吸收较快，其组织较嫩，极易受到不良条件的影响。本研究中，落叶松针叶内缩合单宁含量，7月长白2个家系均表现为16 a显著高于37 a；8月16 a长白73－28和17 a 2个杂种家系均显著高于所测定的其他年龄。说明落叶松在较易遭受侵害的幼龄林时期，通过增强单宁等次生代谢物质的表达量来提高自身防御能力。相比之下，落叶松中龄林时期，其缩合单宁含量有不同程度的下降，其中仅7月杂种日5×兴9 22 a显著高于17 a和8月长白73－26 22 a显著高于16 a和19 a。可能的原因是，一方面中龄林时期，整个林分处于最旺盛的生长期，对营养和空间的需求很大，所以大部分资源分配给生长，初级代谢速度较快，用于合成次生物质的底物较少，致使缩合单宁含量不同程度的下降；另一方面，落叶松木质化程度不断提高，对害虫的物理抵抗能力增强，此时不再仅仅依赖化学防御。近熟林时期，林分间个体生长缓慢（黄文彬，2007），树木生长势下降的同时化学防御能力也随之下降，所以37 a长白落叶松和30 a杂种落叶松针叶内缩合单宁含量也相对较低。针对不同年龄落叶松针叶内缩合单宁含量的变化，结合各年龄阶段的生长特点，对化学防御能力相对较强的幼龄林主要是加强管理促进其生长，对中龄林既要促进其生长又要注意虫害预防，对化学防御能力相对较弱的近熟林应加强防虫管理。

受植物抗虫基因遗传方式的控制，不同家系之间的化学防御能力存在差异。Jones等（2002）研究发现，在蓝桉F2家系对秋脂尺蛾（*Mnesempala privata* Guenée）表现出抗性的个体中，有2/3的个体检测到显著的遗传变异，既蓝桉F2家系不同个体之间的抗虫能力存在差异。孙萍等（2008）研究发现，青杨天牛对不同杨树品系的危害率与杨树各品系间缩合单宁含量有关系。本研究中，2个杂种家系均表现出较强的抗性。因为落叶松针叶内缩合单宁含量，杂种日5×兴9在19 a（7、8月）和30 a/37 a（7月）均显著高于长白73－26家系，杂种日3×兴2的30 a/37 a（7月）和16 a/17 a、19 a（8月）均显著高于长白家系。这可能是杂种优势在抗虫性上的体现（Hochholdinger & Hoecker，2007）。但长白与杂种日×兴之间没有直接的亲本与杂交后代的关系，杂种优势在抗虫性上的体现尚待进一步研究。

林木的组成抗性随环境因子、植物营养甚至植物的生长发育时期而变化（阎凤鸣，2003）。落叶松不同部位中的单宁质量分数的季节性动态积累与气温和树体自身的生长发育状况相关，其质量分数的变化是初级代谢和次级代谢相互协调的结果。无论是由于季节变化还是地理上的差异，单宁的积累均与抗性有关（严善春等，2008；李雪莹等，2007）。本研究中，落叶松针叶内缩合单宁含量，除22 a长白73－26家系外，7月均高于8月，且16 a长白73－26、19 a 2个长白家系和杂种日5×兴9、22 a 2个杂种家系的差异均极显著。说明落叶松的化学防御能力7月强于8月。这可能是由于进入7月后，太阳辐射增强且日照时间延长，紫外辐射刺激了缩合单宁的积累（Mole *et al.*，1988；Jason & Hester，1993），使针叶等器官内缩合单宁含量增加（李雪莹等，2007），王文杰等（2007）研究表明，光照与针叶内单宁含量呈显著相关；另一方面，7月落叶松处于全年生长发育的旺盛期，初生代谢相对较强，但次生代谢

与之协调均衡,导致单宁含量相对较高。而 8 月下旬树木停止生长,落叶松木质化程度增强,木质化细胞中代谢产物积累较少,虽然此时用于合成次生物质的底物增加(李雪莹等,2007),但此时初生与次生代谢产物的互为消长关系并不明显。然而,李雪莹等(2007)研究认为,兴安落叶松针叶内单宁含量 8 月较 7 月继续增加,与本研究结果相反,原因可能是其研究对象为尚志市帽儿山实验林场 35 a 近熟兴安落叶松林,其生长势和化学防御能力都处于下降阶段,针叶内缩合单宁含量本身较低,变化情况与幼龄和中龄落叶松有差异,另一方面种类和生境差异也可能导致单宁含量的不同变化。当然,缩合单宁等代谢物质的变化机理非常复杂,落叶松的化学防御次生物质不仅仅只有缩合单宁一种,因此,缩合单宁含量的降低是否与其他化学防御物质之间存在动态平衡有关,还有待进一步研究。

致谢 在野外样本采集过程中,林口林业局青山林场的袁桂华工程师给予大力支持和指导,在此表示衷心感谢。

参考文献

曹 兵,徐锡增. 2004. 林木抗虫性与抗虫化学机制. 农业科学研究,**25**(4):53-57.

黄文彬. 2007. 黑龙江省青山林场落叶松云杉人工复层林生长过程与林分密度研究(硕士学位论文). 北京 北京林业大学. 23-25.

李雪莹,武永刚,王文杰,等. 2007. 不同生长季节和地域对兴安落叶松单宁质量分数的影响. 东北林业大学学报,**35**(3):18-20.

李镇宇,陈桦盛,袁小环,等. 1998. 油松对赤松毛虫的诱导化学防御. 林业科学,**34**(2):43-49.

刘兴平,陈春平,王国红,等. 2003. 我国松树诱导抗虫性研究进展. 林业科学,**39**(5):119-128.

孙 萍,郭树平,李海霞. 2008. 杨树单宁含量与青杨天牛危害的关系. 东北林业大学学报,**36**(5):51-52.

王文杰,祖元刚,李雪莹. 2007. 兴安落叶松单宁含量的器官差异与季节变化. 林产化学与工业,**27**(2):81-84.

武予清,郭予元. 2000. 棉花植株中的单宁测定方法研究. 应用生态学报,**11**(2):243-245.

薛皎亮,谢映平,刘计权,等. 2000. 鞘蛾危害后诱导华北落叶松体内化学物质变化的研究. 林业科学,**36**(4):46-50.

严善春,张 健,袁红娥. 2008. 资源分配对落叶松抗虫性的影响. 森林工程,**24**(2):18-21.

阎凤鸣. 2003. 化学生态学. 北京:科学出版社.

袁红娥,严善春,佟丽丽,等. 2009. 剪叶损伤与昆虫取食对兴安落叶松(*Larix gmelinii*)针叶中缩合单宁诱导作用的差异. 生态学报,**29**(3):1415-1420.

Haslam E. 2007. Vegetable tannins-Lessons of a phytochemical lifetime. *Phytochemistry*. **68**:2713-2721.

Heyworth CJ, Iason GR, Temperton V, *et al*. 1998. The effect of elevated CO_2 concentration and nutrient supply on carbon-based plant secondary metabolites in *Pinus sylvestris* L. *Oecologia*, **115**:344-350.

Hochholdinger F, Hoecker N. 2007. Towards the molecular basis of heterosis. *Trends in Plant Science*, **12**:427-432.

Iason GR, Hester AJ. 1993. The response of heather (*Calluna vulgaris*) to shade and nutrients: Predictions of carbon-nutrient balance hypothesis. *Journal of Ecology*, **81**:75-80.

Jones TH, Potts BM, Vaillancourt RE, *et al*. 2002. Genetic resistance of *Eucalyptus globulus* to autumn gum moth defoliation and the role of cuticular waxes. *Canadian Journal of Forest Research*, **32**:1961-1969.

Maie N, Behrens A, Knicker H. 2003. Changes in the structure and protein binding ability of condensed tannins during decomposition of fresh needles and leaves. *Soil Biology and Biochemistry*, **35**:577-589.

Mole S, Ross JAM, Waterman PG. 1988. Light-induced variation in phenolic levels in foliage of rain-forest plants. *Journal of Chemical Ecology*, **14**:23-34.

Muetzel S, Becker K. 2006. Extractability and biological activity of tannins from various tree leaves determined by chemical and biological assays as affected by drying procedure. *Animal Feed Science and Technology*, **125**:139-149.

Schofield P, Mbugua DM, Pell AN. 2001. Analysis of condensed tannins: A review. *Animal Feed Science and Technology*, **91**:21-40.

作者简介 佟丽丽,女,1983 年 1 月生,硕士研究生。主要从事森林保护中昆虫化学生态研究。E-mail:tllwt@yahoo.com.cn

责任编辑 王 伟