

萱草属植物蚜虫密度及其与类黄酮抗蚜性关系研究

冯 博^{1,2}, 李 晓 东², 杨 利¹, 张 金 政², 刘 淑 英¹, 孙 国 峰², 刘 洪 章¹

(1. 吉林农业大学 生命科学学院, 吉林 长春 130118; 2. 中国科学院 植物研究所, 北京 100093)

摘要:以萱草属3个野生种和84个栽培品种为试材, 研究了萱草属植物类黄酮化合物与抗蚜性的关系。结果表明:危害萱草属植物的蚜虫为金针瘤蚜(*Myzus hemerocallis*);蚜虫密度<0.5头/cm²的萱草品种达41个, 其中野生种萱草和栽培品种萱草“紫绒”蚜虫密度均为0。不同种类、品种萱草叶片中类黄酮化合物组成和含量存在较大差异, 其中异鼠李素-3-O-葡萄糖-7-O-鼠李糖苷与蚜虫分布密度显著负相关, 薯皮素-3-O-半乳糖苷与蚜虫分布密度显著正相关。

关键词:萱草; 金针瘤蚜; 类黄酮

中图分类号:S 682.1⁺⁹

文献标识码:A

文章编号:1001—0009(2013)19—0124—04

萱草属(*Hemerocallis L.*)植物原产于亚、欧各国, 为广布种^[1], 我国原产萱草属植物11种, 是该属植物现代分布多度中心和分化中心^[2-3]。萱草属植物作为食用、药用及观赏植物的重要资源^[4-6], 深受人们喜爱。蚜虫是危害萱草属植物的主要害虫。目前防治蚜虫仍主要采用大量使用化学农药^[7]的方法, 导致在消灭蚜虫的同时也杀死了大量蚜虫天敌, 而蚜虫的抗药性也明显增强、防治效果下降, 并造成严重的环境污染。要想从根本上扭转这种被动局面, 只有从生态学的角度出发, 建立现代生物防治应用模式及可持续控制技术体系, 才能有效控制病虫害的大面积发生同时减少环境污染。现代生物防治应用模式, 首先应当选栽抗蚜萱草品种, 通过利用现有耐病虫较强的品种杂交选育出一批抗性较强的品系; 此外采用低碳环保的植物源化学物质防虫也是未来发展的一个趋势。该试验立足于抗性育种的需要, 拟在对萱草属植物大量栽培品种蚜虫危害状况调查的基础上, 对与之相关的类黄酮化合物进行分析, 初步探讨萱草属植物类黄酮与抗蚜性的关系, 以期为未来抗蚜育种提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为萱草属3个野生种及84个栽培品种

第一作者简介:冯博(1986-), 男, 硕士研究生, 现主要从事萱草属植物化学成分与抗蚜筛选等研究工作。E-mail: fengbo7755@126.com。

责任作者:刘洪章(1957-), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 现主要从事果树生理及组织培养等教学与科研工作。E-mail: lhz@163.com。

基金项目:中国科学院知识创新工程重要方向资助项目(KSCX2-EW-B-2; KSCX2-EW-B-5)。

收稿日期:2013-05-14

(表1)的生长期叶片, 于2012年4~5月, 采集于中国科学院植物研究所植物园萱草种质资源圃(北纬39°47', 东经116°25', 海拔76m)。所有试验材料采用相同的栽培措施(包括施肥、灌溉及病害防治等), 并处在相同的生长环境(光照、温度、栽培密度等)。

试剂:乙腈及甲醇(色谱纯)购于北京科创顺达科技有限公司, HPLC级水由Milli-Q超纯水系统(Millipore, Billerica, MA, USA)制备。甲醇和甲酸(分析纯)购于北京化工厂。黄酮醇标准品:芦丁, 纯度91.7%, 购于中国药品生物制品检定所。

仪器:Dionex U3000 HPLC高效液相色谱系统(包含:DGP-3600四元分析泵、WPS-3000SL自动进样器、TCC-3X00自动控温柱箱、DAD-3000二极管阵列检测器)、电子天平、3-30k高速冷冻离心机、高速多功能粉碎机、HWS-26电热恒温水浴锅、KQ-100DE型数控超声波清洗器。

1.2 试验方法

1.2.1 蚜虫密度调查 于2012年4月28日至5月1日进行萱草叶片蚜虫密度调查。田间取样采用五点取样法。每个点随机选取5株植物, 每株采集3片成熟叶片。将叶片剪下, 用小刷子将蚜虫轻轻扫在一张纸上, 统计纸上的蚜虫数量, 随后将蚜虫转移到昆虫采集瓶, 加入乙醇, 待鉴定。蚜虫密度(头/cm²)=蚜虫数量/叶面积。

1.2.2 类黄酮化合物的提取和定量分析 称取0.5g叶片, 洗净晾干后加液氮研磨成粉末, 溶于5mL甲醇-甲酸(98:2,V/V)的提取溶剂中, 黑暗条件下4℃浸提12h, 期间每隔6h振荡混匀1次。后超声波辅助提取30min; 离心(10000r/min, 10min), 收集上清液。在滤渣中加入5mL提取液, 进行二次提取, 合并收集的上清液。过0.45μm尼龙微孔滤膜-20℃保存, 用于HPLC-DAD分析。采用Dionex U3000 HPLC高效液相色谱系统对类

黄酮化合物进行定量分析。色谱条件为:A相,1%甲酸-水溶液;B相,纯乙腈溶液。洗脱程序:0 min,5% B;25 min,21% B;30 min,22% B;35 min,30% B;40 min,5% B。流速为0.8 mL/min。温度35℃。进样量10 μL。利用标准品芦丁分别对类黄酮化合物不同组分进行半定量分析。标准曲线: $y=0.0031x+0.0013(r^2>0.9997)$ 。3次重复。

1.3 数据分析

利用SPSS 18.0对类黄酮化合物含量与蚜虫密度的相关性进行分析。

2 结果与分析

2.1 萱草属植物蚜虫危害状况

经鉴定采集的蚜虫标本为金针瘤蚜(*Myzus*

表 1

不同品种萱草蚜虫密度

Table 1

Aphid density of different varieties of *Hemerocallis* L.

种或品种 Species and cultivars	密度 Density /头·cm ⁻²	种或品种 Species and cultivars	密度 Density /头·cm ⁻²	种或品种 Species and cultivars	密度 Density /头·cm ⁻²
蚜虫密度≤0.50头/cm² 的品种					
萱草 <i>H. fulva</i>	0.00	萱草“朱瑾” <i>H. ‘Zhujin’</i>	0.15	萱草“彩虹” <i>H. ‘Caihong’</i>	0.27
萱草“紫绒” <i>H. ‘Zirong’</i>	0.00	萱草“锦皱” <i>H. ‘Jinzhou’</i>	0.16	萱草“银光芙蓉” <i>H. ‘Yingguangfutong’</i>	0.29
萱草“君子兰” <i>H. ‘Dajunzilan’</i>	0.03	重瓣萱草 <i>H. fulva</i> var. <i>tautan</i>	0.16	萱草“黎明星光” <i>H. ‘Limingxingguang’</i>	0.32
萱草“玉荷” <i>H. ‘Yuhe’</i>	0.05	萱草“丹炉焰” <i>H. ‘Danluyan’</i>	0.16	萱草“逢春” <i>H. ‘Fengchun’</i>	0.33
萱草“红凌” <i>H. ‘Hongling’</i>	0.07	萱草“黄和平” <i>H. ‘Huangheping’</i>	0.17	萱草“映山红” <i>H. ‘Yingshanred’</i>	0.36
萱草“黄玉簪” <i>H. ‘Huangyuzan’</i>	0.08	萱草“初月” <i>H. ‘Chuyue’</i>	0.20	萱草“暗中明” <i>H. ‘Anzhongming’</i>	0.36
萱草“黄卷帘” <i>H. ‘Huanguanlian’</i>	0.09	萱草“绿紫绒” <i>H. ‘Lvzirong’</i>	0.21	萱草“圆漪” <i>H. ‘Yuanyi’</i>	0.37
萱草“锦沙罗” <i>H. ‘Jinshaluo’</i>	0.09	萱草“茜紫环” <i>H. ‘Qianzihuan’</i>	0.22	萱草“大金杯” <i>H. ‘Dajinbei’</i>	0.37
萱草“紫艳” <i>H. ‘Ziyan’</i>	0.10	萱草“沉焰” <i>H. ‘Chenyan’</i>	0.22	北黄花菜 <i>H. lilio-asphodelu</i>	0.40
萱草“黄蝴蝶” <i>H. ‘Huanghudie’</i>	0.10	萱草“红晕杯” <i>H. ‘Hongyunbei’</i>	0.22	萱草“卷茜云” <i>H. ‘Qianjianyun’</i>	0.43
萱草“耀辉” <i>H. ‘Yaohui’</i>	0.10	萱草“玉红秀” <i>H. ‘Yuhongxiu’</i>	0.22	萱草“瑾红” <i>H. ‘Jinhong’</i>	0.47
萱草“贵妃醉酒” <i>H. ‘Guifeizijiu’</i>	0.11	萱草“朝阳” <i>H. ‘Chaoyang’</i>	0.23	萱草“晚霞长虹” <i>H. ‘Wanxiachanghong’</i>	0.47
萱草“月影” <i>H. ‘Yueying’</i>	0.12	萱草“金荷” <i>H. ‘Jinhe’</i>	0.26	萱草“落霞” <i>H. ‘Luoxia’</i>	0.49
萱草“素心黄” <i>H. ‘Suxinhuang’</i>	0.14	萱草“茜云托月” <i>H. ‘Qianyuntuoyue’</i>	0.26		
0.5头/cm²<蚜虫密度≤1.5头/cm² 的品种					
萱草“玉蝶” <i>H. ‘Yudie’</i>	0.51	萱草“杏醉” <i>H. ‘Xingzui’</i>	0.80	萱草“紫凤龙” <i>H. ‘Zifenglong’</i>	1.05
萱草“金幻” <i>H. ‘Jinhuan’</i>	0.53	“迎春黄” <i>H. ‘Yingchunhuang’</i>	0.89	萱草“月夜” <i>H. ‘Yueye’</i>	1.05
萱草“君子兰” <i>H. ‘Junzilan’</i>	0.58	萱草“朱顶红” <i>H. ‘Zhudinghong’</i>	0.90	萱草“黄浮霞” <i>H. ‘Huangfuxia’</i>	1.06
萱草“黄昏颂” <i>H. ‘Huanguhunsong’</i>	0.58	萱草“大金盘” <i>H. ‘Dajinpan’</i>	0.91	萱草“赭石藏金” <i>H. ‘Zheshicangjin’</i>	1.08
萱草“晕辉” <i>H. ‘Yunhui’</i>	0.64	萱草“紫金斗” <i>H. ‘Zijindou’</i>	0.92	萱草“红浮霞” <i>H. ‘Hongfuxia’</i>	1.11
萱草“红金龙” <i>H. ‘Hongjinlong’</i>	0.69	萱草“黄帅” <i>H. ‘Huangsuisui’</i>	0.92	萱草“紫霞光” <i>H. ‘Zixiaoguang’</i>	1.13
萱草“紫晕光” <i>H. ‘Ziyunguang’</i>	0.76	萱草“牛星” <i>H. ‘Niuxing’</i>	0.93	萱草“红霞” <i>H. ‘Hongxia’</i>	1.15
萱草“紫晕霞” <i>H. ‘Ziyunxia’</i>	0.76	萱草“娃娃面” <i>H. ‘Wawamian’</i>	0.93	萱草“杏黄杯” <i>H. ‘Xinghuangbei’</i>	1.16
萱草“兰露露” <i>H. ‘Lanlulu’</i>	0.76	萱草“金脉” <i>H. ‘Jinmai’</i>	0.95	萱草“小珍珠” <i>H. ‘Mini Pearl’</i>	1.26
萱草“荷瓣” <i>H. ‘Qianheban’</i>	0.76	萱草“谎言” <i>H. ‘Daring Deception’</i>	1.00	萱草“芙蓉杏” <i>H. ‘Furongxing’</i>	1.40
萱草“柠檬黄” <i>H. ‘Ningmenghuang’</i>	0.77	萱草“橙焰” <i>H. ‘Chengyan’</i>	1.04		
蚜虫密度>1.50头/cm² 的品种					
萱草“小晕辉” <i>H. ‘Xiaoyunhui’</i>	1.54	萱草“天使” <i>H. ‘You Angel You’</i>	2.42	萱草“情人节礼物” <i>H. ‘Cherry Valentine’</i>	2.95
萱草“金驼” <i>H. ‘Jintuo’</i>	1.57	萱草“满足” <i>H. ‘Happy Return’</i>	2.45	萱草“小生意” <i>H. ‘Little Business’</i>	3.04
萱草“紫荷” <i>H. ‘Zihe’</i>	1.65	萱草“紫奥瑞奥” <i>H. ‘Purple D’oro’</i>	2.72	萱草“奋进” <i>H. ‘On And On’</i>	3.07
萱草“矮金背红” <i>H. ‘Aijinbeihong’</i>	1.93	萱草“吉普赛海龟” <i>H. ‘Gipsy Turtle’</i>	2.73	萱草“夏芙蓉” <i>H. ‘Xiafurong’</i>	3.41
萱草“小麻烦” <i>H. ‘Little Show Stopper’</i>	2.20	萱草“摩盒” <i>H. ‘Panora’s Box’</i>	2.91		

2.2 萱草属植物类黄酮化合物分析

在萱草属植物中共检测到11种类黄酮化合物^[8],分别为:槲皮素-3-O-芸香糖-7-O-鼠李糖苷(Quercetin-3-O-rutinose-7-O-rhamnoside)、槲皮素-3-O-芸香糖苷(Quercetin-3-O-rutinoside)、槲皮素-3-O-半乳糖苷

(Quercetin-3-O-galactoside)、槲皮素-3-O-葡萄糖苷(Quercetin-3-O-glucoside)、异鼠李素-3-O-葡萄糖-7-O-鼠李糖苷(Isorhamnetin-3-O-glucose-7-O-rhamnoside)、槲皮素-7-O-戊糖苷-6-O-苹果酸(Quercetin-7-O-pentosidine-6-O-malic acid)、槲皮素-3-O-鼠李糖苷(Quercetin-3-

O-rhamnoside)、槲皮素-7-*O*-葡萄糖苷-6-*O*-丙二酸(Quercetin-7-*O*-glucoside-6-*O*-malonic acid)、山柰酚-3-*O*-己糖苷(Kaempferol-3-*O*-hexoside)、异鼠李素-3-*O*-己糖苷(Iisorhamnetin-3-*O*-hexoside)、异鼠李素-3-*O*-鼠李糖苷(Iisorhamnetin-3-*O*-rhamnoside)色谱峰分别标记为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11(图1、表2)。不同萱草种/品种叶片中的类黄酮的组成和含量存在较大的差异。尤其是槲皮素-3-*O*-芸香糖-7-*O*-鼠李糖苷(1)、槲皮素-3-*O*-芸香糖苷(2)、槲皮素-3-*O*-半乳糖苷(3)在87个测试品种中差异较大,很多品种中含量极少甚至未检测到。

表 2

萱草属植物类黄酮含量与抗蚜性的关系

Table 2

The relationship of flavonoid of *Hemerocallis* and anti-aphid

蚜虫分布密度(X)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	TF
X<0.50	11.7 (n=12)	3.8 (n=13)	6.8 ab (n=19)	13.5 (n=31)	12.4 (n=41)	7.0 (n=40)	4.2 (n=38)	14.4 (n=39)	6.9 (n=39)	5.2 (n=29)	2.3 (n=22)	71.7 (n=41)
0.50<X<1.50	7.0 (n=10)	2.9 (n=7)	5.0 b (n=12)	9.6 (n=23)	8.1 (n=32)	3.7 (n=32)	4.1 (n=32)	10.9 (n=32)	8.7 (n=31)	5.8 (n=24)	4.1 (n=17)	59.1 (n=32)
X>1.50	5.0 (n=6)	3.3 (n=3)	11.0 a (n=10)	10.8 (n=13)	7.9 (n=14)	6.4 (n=14)	7.7 (n=13)	17.1 (n=14)	5.7 (n=14)	4.5 (n=14)	3.8 (n=11)	73.6 (n=14)

注:TF为类黄酮总量(mg/g FW);—,未检测到。

2.3 萱草属植物类黄酮与蚜虫密度相关性

为了进一步探讨萱草属植物中类黄酮化合物的组成与含量对蚜虫生长的影响,以蚜虫密度对11种类黄酮化合物的含量和类黄酮总量(TF)做非参数相关分析。其中异鼠李素-3-*O*-葡萄糖-7-*O*-鼠李糖苷(5)与蚜虫分布密度的相关系数R=-0.222(P=0.038<0.05),差异显著,说明蚜虫密度与其含量多少有关。其含量越多,蚜虫密度越小,植株对蚜虫的抵抗能力越强。而其它种类的类黄酮化合物与蚜虫密度无显著相关性。

此外,由于萱草属植物类黄酮种类和含量差异较大,导致很多类黄酮组分尽管在蚜虫分布密度不同的品种上存在差异,但不具有统计学意义。仅槲皮素-3-*O*-半乳糖苷(3)与蚜虫分布密度显著正相关(表2),表明具有该成分的萱草属植物,对蚜虫具有很大的吸引力,易受其危害,即不抗蚜。

3 讨论与结论

类黄酮化合物是广泛存在于植物中的重要次生物质,在昆虫与其寄主植物的相互关系中起着重要的作用^[9]。前人的研究结果表明,类黄酮化合物是一种广谱的抗虫性次生物质,针对多种昆虫的生长发育都会产生负面影响。如Todd等^[10]研究结果表明,槲皮素和柚苷等类黄酮化合物对麦二叉蚜(*Schizaphis graminum* L.)有明显的抗性作用。陈巨莲等^[11]利用人工饲料研究表明,槲皮素类化合物对麦长管蚜(*Sitobion avenae*)具有明显的抗性作用。武予清^[12]通过将类黄酮化合物加入人工饲料饲喂,证明其含量对蚜虫有明显显著的抗性作用。

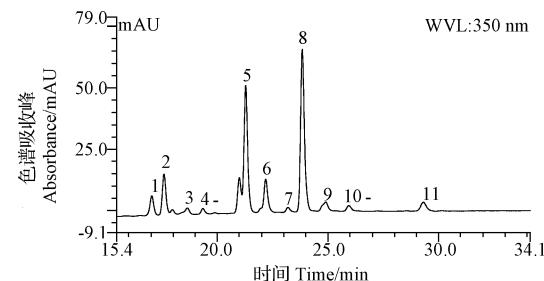


图1 北黄花菜类黄酮组成的 HPLC 图谱(检测波长 350 nm)

Fig. 1 DAD-chromatogram of flavonoids recorded at 350 nm of *H. lilio-asphodelus*

Dreyer等^[13]研究表明,大部分的类黄酮化合物都对麦二叉蚜和桃蚜(*Myzus persicae*)具有明显的拒食作用。该试验结果表明,不同品种萱草叶片中的类黄酮化合物组成和含量存在较大的差异,且所检测的大部分类黄酮化合物与金针瘤蚜分布密度无显著线性相关关系。仅异鼠李素-3-*O*-葡萄糖-7-*O*-鼠李糖苷(5)与蚜虫分布密度显著负相关,槲皮素-3-*O*-半乳糖苷(3)与蚜虫分布密度显著正相关,表明叶片中(5)含量越高,蚜虫密度越小,植株对蚜虫的抵抗能力越强;而(3)正好相反,具有该成分的萱草属植物,对蚜虫具有很大的吸引力,易受其危害,即不抗蚜。而这2种类黄酮化合物在蚜虫-植物相互作用过程中所扮演的角色尚需进一步研究。

(该文作者还有林秦文、王英伟,单位同第二作者。)

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编写委员会.中国植物志[M].14卷.北京:科学出版社,1980:52-62.
- [2] 朱云华.萱草属种内亲缘关系及种内杂交新种质选择[D].南京:南京林业大学,2010.
- [3] 陈丽飞,董然.萱草属植物研究进展[J].北方园艺,2007(6):66-69.
- [4] 潘红.萱草花化学成分与质量控制研究[D].北京:北京中医药大学,2012.
- [5] 张秀娟,李德明,翟克仁,等.几种地被植物光能及水分利用特性研究[J].北方园艺,2010(12):75-76.
- [6] Micek J,Rop O. Fresh edible flowers of ornamental plants a new source of nutraceutical foods[J]. Trends in Food Science and Technology, 2011(22): 561-569.
- [7] 李建军.出口黄花菜高效栽培技术[J].中国蔬菜,2005(4):45-46.
- [8] 阿布拉江·克依木.黄酮苷类天然产物的质谱分析方法研究[D].北京:中国协和医科大学,2006.

- [9] 马纲,张敏.植物抗虫性物质及作用的多样性[J].生物学通报,2002,37(12):8-9.
- [10] Todd W,Getahun A,Cress D C,et al. Resistance in barley to the greenbug,*Schizaphis graminum* L. toxicity of phenolic and flavonoid compounds and related substances[J]. Annals of the Entomological Society of America,1971,64:718-722.
- [11] 陈巨莲,倪汉祥,程登发,等.植物次生物质抗蚜的生化及分子机制
- [12] 武予清.棉花单宁-黄酮类化合物的定性定量分析及其对棉铃虫的抗性[D].北京:中国农业科学院研究生院,1998.
- [13] Dreyer L D, Jones K C. Feeding deterrence of flavonoids and related phenolics towards *Schizaphis graminum* and *Myzus persicae*: Aphid feeding deterrents in wheat[J]. Phytochemistry,1981(20):2489-2493.

Study on Aphid Density and the Relationship Between Flavonoids and Aphid Resistance of *Hemerocallis* L.

FENG Bo^{1,2}, LI Xiao-dong¹, YANG Li¹, ZHANG Jin-zheng², LIU Shu-ying¹, SUN Guo-feng²,
LIU Hong-zhang¹, LIN Qin-wen², WANG Ying-wei²

(1. College of Life Science, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118; 2. Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093)

Abstract: With 3 wild species and 84 cultivars of *Hemerocallis* L. as materials, the relationship between flavonoids and aphid resistance were discussed in this study. The results showed that the aphids harm to *Hemerocallis* were *Myzus hemerocallis*. Cultivars with less than 0.5 aphids/cm² were up to 41, among of which *H. fulva* and *H. 'Zirong'* were no found aphids. There were significant differences in flavonoids' composition and contents among different species and cultivars of *Hemerocallis*. Most of detected flavonoids had no significant correlation with the density of *M. hemerocallis*. Only Isorhamnetin-3-O-glucose-7-O-rhamnoside had negatively correlation with aphid density, while Quercetin-3-O-galactoside had significantly positive correlation with aphid density.

Key words: *Hemerocallis* L.; *Myzus hemerocallis*; flavonoid

全国中文核心期刊、全国优秀农业期刊

《中国种业》

《中国种业》是由农业部主管,中国农业科学院作物科学研究所和中国种子协会共同主办的全国性、专业性、技术性种业科技期刊。

刊物目标定位:以行业导刊的面目出现,并做到权威性、真实性和及时性。

覆盖行业范围:大田作物、蔬菜、花卉、林木、果树、草坪、牧草、特种种植、种子机械等,信息量大,技术实用。



欢迎投稿、刊登广告

读者对象:各级种子管理、经营企业的领导和技术人员,各级农业科研、推广部门人员,大中专农业院校师生,农村专业户和广大农业生产经营者。

月刊,大16开,每期8元,全年96元。国内统一刊号:CN 11-4413/S,国际标准刊号:ISSN 1671-895X,全国各地邮局均可订阅,亦可直接汇款至编辑部订阅,挂号需每期另加3元。

邮发代号:82-132

地址:(100081)北京市中关村南大街12号 中国种业编辑部

电话:010-82105796(编辑部) 010-82105795(广告发行部) 传真:010-82105796

网址:www.chinaseedqks.cn E-mail:chinaseedqks@sina.com