针叶树树脂的抗害功能及抗害机制*

曹逸霞[1,2,3] 张 真[3] 刘随存[4] 李莲芝[4] 李典谟[1**]

(1. 中国科学院动物研究所 农业虫鼠害综合治理研究国家重点实验室 北京 100101;
2. 中国科学院研究生院 北京 100039; 3. 中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所 北京 100091;
4. 山西省林业科学研究院 太原 030012)

Advances in the research on the resistance of conifer resin to pests. CAO Yi-Xia[1,2,3], ZAHNG Zhen[3], LIU Sui-Cun[4], LI Lian-Zhi[4], LI Dian-Mo[1**] (1. *State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences*, Beijing 100101, China; 2. *Graduate School of the Chinese Academy of Sciences*, Beijing 100039, China; 3. *The Research Institute of Forest Ecology, Environment and Protection, Chinese Academy of Forestry*, Beijing 100091, China; 4. *Shanxi Academy of Forestry*, Taiyuan 030012, China)

Abstract Pest infestation and associated fungal infection are a serious disease problem in conifers, which have evolved elaborate, constitutive and inducible, terpene-based defense mechanisms to deter insect pests and their symbiotic fungal pathogens. This process involves the secretion of oleoresin, a complex mixture of monoterpenes, sesquiterpenes and diterpenoid acids. The article detailedly presents resin's composition and its defensive function, and analyses the variation of resin's resistance depending on environmental factor. Then route and common regulation of inducible terpene biosynthesis and relevant genes identification are provided., and the strategies and prospects for conifer protection with improving resin-based resistance are discussed.

Key words conifer resin, resin-based resistance, environment, biosynthesis

摘 要 害虫及其共生真菌是针叶树生长、繁衍的一个灾害性的问题,在漫长的进化过程中,很多针叶树种发展了高度发达的固有和诱导树脂防御系统来抵御侵害。树脂的抗害过程,也即树脂的分泌过程,树脂是由单萜、蓓半萜和二萜组成的复杂混合物。文章介绍树脂的组成及其抗害功能,分析外界环境条件对树脂防御功能的影响,阐述诱导树脂生物合成的途径、路线及其一般规律和树脂萜的基因鉴定,讨论开发、利用树脂优良特性保护针叶树的前景。

关键词 针叶树,树脂抗性,环境条件,生物合成

地球上约有 600 多种植物属于针叶树,种类丰富的针叶树占据了地球 80%的可利用面积,是地球上占地面积最多的生物之一[1]。针叶树上有许多极具破坏性的昆虫和病害,针叶树在地球上的成功生存和发展,在某种程度上与它们在进化过程中构建了一套高度发达的防御体系密切相关,这套防御体系包括基因调控,生化、生理和形态学的优化模式。这样的体系能使它们战胜种内、种间竞争,克服捕食者和病原菌的侵害而在地球上保留并存活下来[1,2]。

针叶树分泌大量以萜类化合物为主要成分的有特定气味的树脂,或叫松脂,粘胶。树脂由于既具有工业价值又具有防御病虫害的价值,长期以来为人们所研究并开发利用。针叶树对蠹虫等的抵御与树脂的分泌和树脂道的构成有关[3]。树脂通过流速流量、粘稠度和结晶度等给攻击者以物理防御,或通过萜烯的毒性等给攻击者以化学防御。径、纵向树脂道的排列方

* "973"国家重点基础发展规划项目(2002CB111400)、国家先进农业技术引进项目(2000—19(2))、"十五"国家科技攻关项目(2001BA509B0902)、"863"国家高新技术项目(2001AA249070)。

** 通讯作者, E-mial: lidm@ioz.ac.cn

重登收稿日期: 2006-09-15, 修回日期: 2007-02-05

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

式、数目及其比例与树木抗性密切相关。另外有气味的树脂还被攻击针叶树的害虫及害虫的捕食者和寄生者用作定位寄主的引诱剂或合成种间通讯的信息素。树脂在针叶树、害虫及其捕食者和寄生者之间形成了非常复杂的化学生态学关系[4,5]。

1　树脂的组成及其抗害功能

许多针叶树以在受伤部位分泌树脂的形式抵御小蠹等害虫的攻击，树脂是含有三类萜合物的复杂混合物。树脂也是一些树木抵御有害生物入侵的基本因素，可以从固有抗性和诱导抗性2个层次，物理抗性和化学抗性2个角度来探讨树脂对有害生物的抵御[6~8]。

1.1　树脂的组成

针叶树树脂是由约30 000个已知的萜类化合物组成的复杂混合物，这些化合物分别归属于单萜、蓓半萜和二萜，其中单萜(10碳原子)和二萜(20碳原子)是树脂中的主要成分，它们在树脂中几乎等量，其余为少量的蓓半萜(15碳原子)。针叶树树脂中常见的单萜有α—蒎烯，萜烯，柠檬烯等，常见的蓓半萜有长叶烯、石竹烯等，常见的二萜有松香酸、菲羧酸等。另树脂按其组分的物理状态可分为松节油和松香两部分，松节油由挥发性的单萜和蓓半萜组成，松香由液态的二萜树脂酸组成，松香是树脂的固定相。树脂中的松节油是运输大分子二萜树脂酸到受伤部位的溶剂[2,5](表1)。

表1　针叶树常见树脂组成成分及功能

萜类	碳原子数目	通式$(C_5H_8)_n$	代表成分
单萜	10	$n=2$	柠檬烯、萜烯、蒎烯
蓓半萜	15	$n=3$	长叶烯、石竹烯
二萜	20	$n=4$	松香酸、菲羧酸

萜类化合物分子中具有异戊二烯5个碳的基本单元，因此，凡是由异戊二烯衍生的化合物，其分子式符合通式$(C_5H_8)_n$，其中单萜的通式为$(C_5H_8)_2$，蓓半萜的通式为$(C_5H_8)_3$，二萜的通式为$(C_5H_8)_4$[2]。

1.2　树脂的抗害功能

高度发达的树脂防御系统可以从不同角度和层次抵御有害生物入侵。

1.2.1　物理抗性和化学抗性

(1)物理抗性：针叶树有特定的树脂贮存组织，如树脂导管等。树脂的物理特性在针叶树抵御害虫攻击时发挥重要作用。

树脂的流量、流速、持续流动时间，树脂的粘滞性，结晶速率、渗出压和树脂导管的形态解剖结构等，都会对针叶树的抵御能力产生影响[6,7]。一般来说，树脂导管管径越大，流速越快，树脂的流量越大。树脂流量越大，粘滞性越强，结晶速度越快，持续流动时间越长，害虫在树脂中活动所受的阻碍越大，先驱入侵就越不易成功。另外，树脂暴露在空气中，当挥发性萜挥发后，剩下半结晶状态的大分子二萜树脂酸聚集在伤口形成一个坚硬壁垒封住伤口，一方面能阻止害虫的侵入，另一方面能捕获入侵的害虫和病原菌，结晶树脂里经常能见到死虫[9,10]。

有研究表明对额瘤大小蠹抗性强的长叶松与易受害的火炬松和萌芽松相比，抗性强的长叶松树脂结晶慢、流速快。易受害的短叶松，萌芽松的树脂流速比抗性树的慢。然而也有报道流动树脂或结晶的比率与抗性无关。西部落叶松树脂渗透压极低，但其树脂内含有大量的3—蒎烯，很少被黄杉大小蠹 *Dendroctonus pseudotsugae* 侵害[3,11,12]。

树脂的这些物理特性一部分看起来受基因调控而不受环境影响；另一部分却对环境变化异常敏感[8]。总树脂量，粘滞性，颜色和结晶率具有稳定遗传性，而渗出压主要受树木水势和组织木质化程度所控制[13]。

(2)化学抗性：树脂中包含一系列具有杀虫和杀菌活性的物质，如柠檬烯、三蒎烯等，也含有一些以协同作用对昆虫起驱避作用的生物活性物质。单萜对小蠹虫有毒杀作用，同时也被昆虫用作寻找寄主的气味信号，但是很明显，作为有毒物质暴露在空气中对昆虫的不利方面超过了定位寄主的有利方面[14~16]。针叶树蓓半

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.n

萜只占树脂的 10%, 然而很多却对害虫等有明显的毒杀作用。二萜树脂酸中的一些成分被认为是有杀虫或杀菌活性的, 另外二萜松香酸有明显的愈合伤口的作用, 但人们对二萜树脂酸的研究仍然较少。松香酸及其异构体在空气中极易氧化聚合, 由此形成的脱氢松香酸的粘滞性、结晶性更强。流动的半固态的树脂被认为能更有效地抵御小蠹虫的入侵、阻止其捕获后逃脱[17]。

将几种大小蠹属的蠹虫暴露在寄主树和非寄主树的树脂蒸汽中, 发现蠹虫对寄主树树脂蒸汽的耐受力强于非寄主树。在测定树脂中哪种单萜对蠹虫有毒性实验中, 将蠹虫分别放在不同针叶树单萜的饱和蒸汽里用玻璃罩罩住, 测定结果表明毒性最大的是柠檬烯, 其次是 3—蒈烯、香叶烯、B—蒎烯, 然后是 a—蒎烯。在另一个研究中发现正庚烷是黑材松中较多的组分, 对不危害该树的黑山大小蠹 *D. ponderosae* 毒性很强, 但其饱和蒸汽对黑山大小蠹没有表现出致命性。单独的饱和单萜的气压要比虫道内自然状态下的混合气体气压高 40~80 倍, 上述结论说明长时间暴露在单萜中的蠹虫死亡率会增加。将弱瘤小蠹暴露于上述单萜蒸汽中也发现柠檬烯是最毒的。比较 88 株被西松大小蠹 *D. brevixomis* 危害致死树和 202 株存活树可知, 存活树树脂内的香叶烯和柠檬烯含量高, 这为柠檬烯在寄主抗性中是重要的这一理论提供了依据[14, 18]。

用水蒸气蒸馏法蒸馏北美黄松的树脂得到单萜、倍半萜和二萜树脂酸的残基溜出液, 溜出液中的单萜对几种革兰氏阳性菌的生长无抑制作用, 但抑制 2 种真菌。倍半萜长叶烯抑制革兰氏阳性菌, 但不抑制阴性菌。其他种类的真菌不受单萜影响, 但是二萜树脂酸和枞酸对 4 种阳性菌不利[17, 18]。

1.2.2 固有抗性和诱导抗性

一般按照树木抵御入侵体时体内能源资源的利用情况, 树木的抗性可分为固有抗性和诱导抗性。固有抗性是树木受攻击前抗性资源已经存在的抗性, 诱导抗性是抗性资源在受到攻击时才会激发产生的抗性[3, 16]。

(1)固有抗性: 固有抗性是攻击者首先遭遇的抗性, 固有抗性可分为 2 种, 一种是组织结构抗性, 一种是固有诱导抗性。组织结构抗性通过组织结构的物理性质、构成方式等发挥作用, 如前文所述径、纵向树脂道的排列方式、数目及其比例, 这些都明显影响着树木的抗害性[19~21]。如落叶松属和云杉属的径、纵向树脂道在树体内纵横交错排列, 构成网状管道系统, 该系统中的纵向树脂道远多于径向, 因而受害后释放的树脂量一般与纵向导管的密度密切相关, 树木的耐害性也与纵向树脂道的密度呈明显相关性。同样的原因, 害虫的蛀道方向也明显影响着树木的抗害性[21]。固有诱导抗性主要通过两类受损后释放有毒次生代谢物质的组织发挥作用, 一类是贮存萜类物质的管胞和树脂导管, 一类是贮存酚类物质的专化韧皮部多酚细胞。这些物质在受害前贮存于各类组织中, 当受害后释放。萜类物质通过毒杀、驱避、物理粘性等发挥作用, 酚类物质一般发挥毒杀作用[22]。

(2)诱导抗性: 诱导抗性可从以下 3 个主要方面描述。首先诱导树脂流是最简单的诱导抗性, 被定义为新合成树脂的累积, 重复受伤后树体产生远多于固有树脂的树脂流, 然后通过总树脂流的大流量、粘滞性、毒性等对入侵生物发挥抵抗作用。另一方面是超敏反应区的形成, 超敏反应区在针叶树研究中第一次被提及, 并被指出在针叶树抗害过程中发挥重要作用, 超敏反应区内充满树脂、酚类物质并有坏死斑形成, 坏死斑通常沿攻击点纵向扩展扩大。反应区内的萜类、酚类物质, 通过其粘滞性、毒性等有效地抵御外来侵害。最后是滞后抗性, 树体在受伤几个月、1 年或几年后仍有诱导树脂流形成来抵御侵害[21, 23]。

2 外界环境对树脂抗害功能的影响

2.1 生育期和树龄的影响

不同生长发育阶段针叶树树体的生理特征不同, 树脂对有害生物入侵的抵抗力也不同。

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

初步观察显示:针叶树抽新枝时更易受小蠹虫侵害。大冷杉幼树抽新枝时茎干受害,体内单萜环化酶的活性变化为:抽新枝早期单萜环化酶的活性显著降低,中期酶活性有所回复,末期酶活性回复到正常水平。幼树休眠期的抗性比抽新枝早期强。抽新枝需要大量"碳"源物质的累积和供应,这种需求似乎超越了树体受伤部位光学合成的可供给量,导致树脂流动减弱,从而使树体更易受害[5,24]。

对北美扭叶松和巨冷杉的研究发现,其中龄树受害后产生的诱导树脂量最大,抗性也最强。对火炬松的研究发现,其径向树脂道密度与树龄呈负相关[5]。

2.2 水份和营养的影响

对树木水势的季节和日变化的研究表明:树脂流动的变化很大程度上是由于树木水供给发生变化。水胁迫使树脂流动下降,树脂的渗出压与土壤和大气湿度有关[25]。

大冷杉伤诱导萜烯环化酶活性在遭受重度水胁迫后显著下降。干旱会增加树体对小蠹虫攻击的敏感度,且在一定程度上会破坏树脂的生成。当受伤的和未受伤的大冷杉幼树遭受中度水胁迫时(-2.1 MPa,18%的土壤湿度),组织萜的环化反应不发生改变;当树体遭受重度水胁迫时(-3.0 MPa,8%的土壤湿度),组织环化酶和伤诱导环化酶的活性都会显著降低。受中度、重度水胁迫的树木经过2周恢复,生理指标完全回复正常[25,26]。

水匮乏针叶树的抗性降低,可能是由于缺水导致树脂道细胞的树脂渗透压降低。已报道,美国黄松对西松大小蠹和类加州十齿小蠹 *Ips paraconfusus* 的高抗性与高树脂渗透压有关[26]。

云杉和火炬松上增施氮肥固有树脂流动无影响或有很轻微减少。西岸云杉和火炬松上增施N,P,K后树木固有树脂流动减少[4]。

2.3 光匮乏的影响

光在植物生长发育过程中起着很重要的作用,是植物制造能源物质和进行正常生命活动不可缺少的外界条件。光对树木树脂的合成和累积有极大的影响。实验表明光匮乏会破坏大冷杉组织单萜和诱导单萜的生物合成,降低单萜环化酶活性,但当光匮乏转为正常光照时,大冷杉的单萜环化酶活性会回复到正常水平或接近正常水平[8,26]。

人们早已观察到光照对树脂的合成和累积有影响,但光匮乏对萜类化合物生物合成过程中每个酶的影响情况尚不清晰。

2.4 毁坏性自然因素的影响(风、雷击、火和其他污染)

风会造成树木枝条折断和落叶,会导致树脂流动减少。雷击或其他非人为刺激后,火炬松对额瘤大小蠹和其他相关蠹虫比较敏感,雷击能迅速减弱树脂渗出压力和树脂流动。火的发生增加树木对蠹虫进攻的敏感性。据报道,在苏格兰松火烧树在火后的头2年最易感虫,但黄石湖1988年大火后,蠹虫对几种针叶树的破坏直到1992年一直都很严重。对树干进攻的敏感程度依赖于大火对树冠或树干的损坏程度。在火烧可能被影响的树木抗性机制中,只有树脂流动被调查。美国黄松固有和诱导树脂流与树冠枯萎程度呈负相关[3,27]。

环境污染对树木抵御蠹虫影响的研究还很贫乏。笼统的说,污染增加树木对蠹虫的敏感性,但其影响会因污染物的种类,树种或蠹虫种类而变化。受害的美国黄松树脂流动下降,萜烯组成没有变化。在芬兰,沿着重金属污染的递减梯度,在距污染源4 km内苏格兰松的树脂流动呈递增趋势[28]。

2.5 造林学影响

树势对抗性的影响也是非常明显的,生产率指数或生长效率低的美国黄松、白云杉和白杉比生长茁壮的树易受蠹虫的攻击[29~31]。在火炬松中,树脂道宽度与生长率呈明显正相关。生长最快的树木,在生长量最大的季节中伤诱导树脂流动的增加最大。在接种真菌分离后,生长受抑制的巨冷杉接菌点的单萜总量比优势树低[24,29]。

3 树脂抗害性的微观机理

3.1 树脂生物合成的途径及路线

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

现在人们已知针叶树树脂萜的合成有 2 种途径:一种是传统的乙酸甲羟戊酸途径(许多年来被人们认为是专一的异戊烯二磷酸生物合成途径),只存在于胞质—内质网里,合成蓓半萜和三萜;另一种是与前一种交替进行的现普遍认为是丙酮酸—甘油醛—3—磷酸途径,这条途径不涉及甲羟戊酸,存在于较高等植物的质体中,合成单萜、二萜和四萜的主要异戊烯二磷酸前体。这两类前体的转酮醇酶偶联体到脱氧木酮糖—5—磷酸必然经过丙酮酸—甘油醛—3—磷酸转换[2, 32]。

脱氧木酮糖—5—磷酸是启动糖代谢到萜类化合物合成转化的物质(图 1)。随着异戊烯二磷酸和二甲基丙稀二磷酸(前者的异构体)在各个亚细胞结构中产生,一系列由特定的异戊烯转移酶媒介的 C_5 缩合反应发生,这种反应涉及 1 个,2 个或 3 个异戊烯单元加入二甲基丙烯二磷酸,并产生各分支点相应的单萜(牻牛儿基磷酸,C_{10},质体)前体,蓓半萜(法呢基二磷酸,C_{15},胞液)和二萜(牻牛儿基牻牛儿基二磷酸,C_{20},质体)前体。伴随着这 3 种非环状前体的构建,无数个单萜,二萜,蓓半萜通过萜合酶产生(也称萜环化酶(因为反应产物是环状的)[2]。

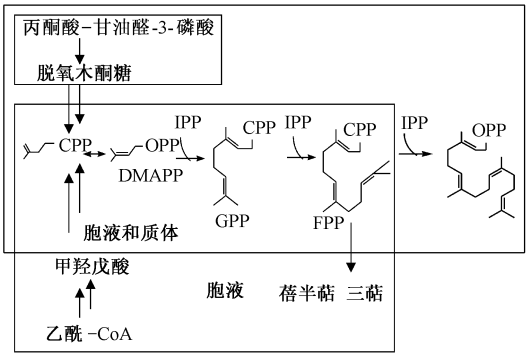

图 1 萜类化合物生物合成

3.2 诱导萜合物产生的一般规律

树脂累积的时间变化和大冷杉茎杆相关酶解物的活性测定表明:单萜,蓓半萜和二萜树脂酸都会在受伤时诱导合成。单萜首先合成并持续累积,这与单萜合成后会立即发挥其抗生作用和后来作为树脂酸的溶剂相匹配,且单萜在树体受伤 10 d 内已几乎达到最大合成量(是未受伤对照树木的 200 多倍)。比单萜合成较慢的是蓓半萜。二萜树脂酸合成明显滞后,这在一定程度上显示了防御反应的协调性,滞后与蠹虫攻击的时间模式相匹配[4, 32, 33]。

探针杂交试验表明单萜合酶最先开始诱导转录(转录本在伤诱导 4 h 后检测到),3 d 后蓓半萜和二萜合酶转录开始。基因探针杂交试验掩盖了单个合酶随时间变化在诱导反应中的协调变化过程。实际上,创伤性柠烯合酶是前 24 h 内主要的单萜合成酶,但是在第 7 天蒎烯合酶取而代之成为主要的酶类[34~36]。

微观检测明显显示出树木抗性的层次性、靶标性和针对性。

3.3 树脂萜的分子遗传基础

针叶树中编码萜类合酶的几个 cDNAs 现已分离出来,这些 cDNAs 中的一些除可用传统的逆向基因克隆法获得,目前基于同源的方法也已被成功应用。大冷杉是目前用于针叶树萜合酶研究的主要资源。大肠肝菌功能表达是提供获得大量纯酶的一种手段,实验证实萜合酶普遍具有可以产生大量萜类产物的能力。大冷杉中控制树脂单萜生物合成的大多数基因现已获得,包括控制合成非环状、单环和二环类产物合酶的 cDNAs[32~34]。

树脂的蓓半萜似乎是由两类根本不同的合酶产生。在冷杉中,组织蓓半萜是由可以合成许多萜类化合物的的萜合酶产生,如由前体法呢基二磷酸转化而来的 δ—芹子烯合酶和 γ—牻草烯合酶。相比之下大冷杉明显不同的是,诱导蓓半萜看起来是由极端高度保守的、只提供单一产物的合酶产生[33]。

二萜松香酸的普遍合成途径是直接通过 C_{18} 甲脂的系列氧化,氧化成 1 个羧基功能团,然后形成松香烯转化而来。二萜合成酶也会转变为进入质体的带有 1 个 N—端靶标序列的蛋白质,在质体中牻牛儿基牻牛儿基二磷酸底物也会出现[4, 17]。

序列比较和系统发育构建揭示了裸子植物

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

的单萜、蓓半萜、二萜合酶起源的关联性比被子植物的更为密切。裸子植物控制树脂合成的基因作为植物萜类合成酶系统发育树的一个独立分支存在,裸子植物和被子植物萜合酶发育的分叉暗示,被子植物和裸子植物谱系分离后,类群内和类群间形成各自独立的功能转化体系[32]。

4 树脂抗性研究的应用与展望

目前通过微观调控保护森林的应用措施还极少。微观调控保护森林面临的最重要的问题是(1)迅速找到控制优良性征的基因;(2)一个好的基因组合不会立即有好的收益。许多萜合成酶 cDNAs 的成功克隆为借助转基因技术改进针叶树固有抗性和诱导抗性奠定了基础。

单萜和二萜树脂酸是严格受基因调控的,这极大便利了优良抗性基因的鉴定、筛选,以及具有特定基因树木的育种工作。已有研究表明,控制合成某些对昆虫有吸引和毒杀作用物质的基因可以为人们开发利用[31]。

树脂的组成、合成规律、分子遗传等很多方面还有待继续深入,我们希望能通过控制树脂的合成种类、性质和合成量等来提高树木抵抗病虫害的能力。目前在以下方面可开发树脂的保护功能:

(1)培育符合人们意愿的具有强抵御系统的转基因苗木。如可以通过转基因改变树脂的化学性质,破坏信息素前体的产生或改变信息素的化学结构;或者掩盖这些信号作用,隐藏寄主,干扰昆虫对寄主的选择、聚集、交配选择的方法也是可行的。

(2)鉴定合成树脂中对入侵害虫的捕食者有强吸引作用的物质,招引、诱捕天敌昆虫,或通过提高树体信号作用招引更多的蠹虫捕食者或寄生物等的方法来改善三级营养水平间的相互作用,杀灭昆虫抑制侵害。

(3)提高害虫侵害初期诱导树脂的产生速度和量,特别是提高对入侵生物有毒杀作用物质的浓度。

(4)培育抗性工程树也是一项极有应用价值的措施。

(5)培植多种多样的抗性生物型苗木,将是一项特别有效的生物控制措施,适用于大规模地更新种植。

(6)另外可以通过鉴定、合成、放置树脂中对蠹虫有强驱避作用的物质控制害虫侵害。

应用这些方法引入新的防御基因,我们需要警惕小蠹虫有很强的协同进化能力,它们可能会迅速形成相应的调解、适应机制。无论如何抗性的发展会滞后产生,如果有毒基因只在害虫严重危害时表达,抗性会产生的更慢。我们期待着树脂防御在森林保护中发挥更大的作用。

参 考 文 献

1 Scagel R. F. An Evolutionary Survey of the Plant Kingdom. Wadsworh Publishers, CA. USA, 1965.

2 Michael A., Phillps Rodney B., Croteau. *Trends Plant Sci.*, 1999, **4**(5): 184~189.

3 Lieutier F., Day K. R., Battisti A., Gr goire J. C., Evans F. H (eds.), Bark and Wood Boring Insects in Living Trees in Europe. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2004. 135~180.

4 Diane M., Dorothea T., Jonathan G., Jorg B. *Plant Physiol.*, 2002, **129**: 1 003~1 018.

5 Christopher L. S., Efraim L., Rodney C. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1995, **92**: 4 164~4 168.

6 Wermelinger B. *Forest Ecol. Manag.*, 2004, **202**(1~3): 67~82.

7 Klepzig K. D., Robison D. J., Fowler G., Minchin P. R., Hain F. P., *et al*. *Tree Physiol.*, 2005, **25**(6): 681~688.

6 Erkki H. *Annu. Rev. Entomol.*, 1990, **36**: 25~42.

7 Donald A. L. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 1976, **7**: 121~159

8 Hanover J. W. *Annu. Rev. Entomol.*, 1975, **20**: 75~95.

9 朱麟,杨振德,赵博光,方杰. 林业科学, 2005, **41**(1): 165~173.

10 Lieutier F., Garcia J., Yart A., Romary P. *J. Appl. Ent.*, 1995, **119**: 591~600.

11 王琛柱,张青文,杨奇华,周明牂. 植物保护, 1993, **6**: 39~41.

12 Vincent R. F., Paal K., Trygve K., Erik C. *Am. J. Bot.*, 2000, **87**(3): 314~326.

13 Nagy N. E., Krokene P., Solheim H. *Tree Physiol.*, 2006, **26**(2): 159~167.

14 钦俊德. 昆虫与植物的关系——昆虫与植物的相互作用

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

及其演化. 北京: 科学出版社, 1987. 133~147.
15 康乐. 植物学通报, 1995, **12**(4): 22~27.
16 娄永根, 程家安. 应用生态学报, 1997, **8**(3): 325~331.
17 Kopper B. J., Illman B. L., Kersten P. J., Klepzig K. D., Raffa K. F. *Environ. Entomol.*, 2005, **34**(2): 486~493.
18 Thoss V., Byers J. A. *Chemoecology*, 2006, **16**(1): 51~58.
19 Birks J. S., Kanowski P. J. *Silvae Genet.*, 1988 **37**(1): 29~39.
20 Kimberly F. W., Kenneth F. R. *J. Chem. Ecol.*, 1999, **25**(4): 861~880.
21 Rosner S., Hannrup B. *Forest Ecol. Manag.*, 2004, **200**(1-3): 77~87.
22 Tisdale R. A., Nebeker T. E., Hodges J. D. *J. Entomol. Sci.*, 2003, **38**(4): 576~582.
23 Tisdale R. A., Nebeker T. E., Hodges J. D. *Can. J. Forest Res.*, 2003, **81**(4): 368~374.
24 Rolland C., Lemperiere G. *Forest Ecol. Manag.*, 2004, **201**(1): 89~104.
25 康乐. 生态学杂志, 1995, **14**(5): 51~57.
26 Heli V., Erkki A., Veikko K. *Trees*, 2001, **15**: 112~122.
27 Perrakis D. D. B., Agee J. K. *Can. J. Forest Res.*, 2006, **36**(1): 238~254.
28 Manninen A. M., Utriainen J., Holopainen T., Kainulainen P. *Can. J. For. Res.*, 2002, **32**: 2 140~2 145.
29 Wallin K. F., Kolb T. E., Skov K. R., Wagner M. R. *Environ. Entomol.*, 2003, **32**(3): 652~661.
30 Maarit K., Pekka N., Erkki A. *Forest. Ecol. Manag.*, 1996, **84**: 149~157.
31 Kuroda K., Shimaji K. *Forest Sci.*, 1983, **29**(3): 353~659.
32 Michael A. P., Joerg B., Jonathan G. *Photochem. Rev.*, 2006, **5**(1): 179~189.
33 Zeneli G., Krokene P., Christiansen E., Krekling T., Gershenzon J. *Tree Physiol.*, 2006, **26**(8): 977~988.
34 Etraim L., Mark G., Thomas J. S., Rodney C. *Plant Physiol.*, 1991, **96**: 38~43.
35 Efraim L., Thomas J. S., Mark G., Rodney C. *Phytochem. Anal.*, 1993, **4**: 220~225.
36 Leandro P., Armand S. *Trends Biotechnol.*, 2001, **19**(12): 500~506.

昆虫谷胱甘肽 S—转移酶蛋白纯化技术研究*

汤 方[1,2] 高希武[2**]
(1. 南京林业大学森林资源与环境学院 南京 210037; 2. 中国农业大学昆虫学系 北京 100094)

A mini-review on the technique of insect glutathione S-transferases purification. TANG Fang[1, 2], GAO Xi-Wu[2**]
(1. *College of Forestry Resources and Environment, Nanjing Forestry University*, Nanjing 210037, China; 2. *Department of Entomology, China Agricultural University*, Beijing 100094, China)

Abstract The main purification methods of insect glutathione S-transferases include fractionation, chromatography and electrophoresis. Fractionation usually is used before chromatography and its purification factor is lower, while purification factor of chromatography is higher. Electrophoresis is used as an assistance purification method. Using these methods, the highest purification factor of insect glutathione S-transferase is 1 138 fold (Ma *et al.* purified glutathione S-transferases of Asian core borer *Ostrinia furnacalis* by using chromatography and electrophoresis). At last, the applications of purification of insect glutathione S-transferases are discussed.

Key words insect glutathione S-transferases, isozyme, purification

摘 要 昆虫谷胱甘肽 S—转移酶蛋白纯化的主要方法是沉淀法、层析法和电泳法。沉淀法是在进行柱层析前常使用的一种方法, 但是其纯化倍数较低。层析法纯化倍数较高, 但其费用也较高。电泳通常

* 国家重大基础研究"973"发展规划(批准号: G2000016207)和国家自然科学基金(批准号: 30471153, 30170621, 30600476)资助项目。
**通讯作者, E-mail: gaoxiwu@263.net.cn
收稿日期: 2007-06-18, 修回日期: 2007-08-24

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n