

光肩星天牛刻槽和人工模拟刻槽对沙枣泌胶代谢物的影响*

齐若涵** 任利利*** 郝柯宇 裴佳禾 骆有庆

(北京林业大学林木有害生物防治北京市重点实验室, 北京 100083)

摘要 【目的】沙枣 *Elaeagnus angustifolia* 可以吸引光肩星天牛 *Anoplophora glabripennis* 雌成虫前来刻槽产卵, 并能够通过分泌树胶杀死刻槽内的卵或初孵幼虫, 这说明沙枣有作为诱杀树来控制光肩星天牛种群的潜力。然而, 光肩星天牛产卵刻槽行为对沙枣的泌胶及树胶化学成分的影响尚未明确。本研究旨在通过比较天牛刻槽和人工模拟刻槽条件下, 沙枣分泌树胶的能力及树胶代谢物的变化, 明确受到光肩星天牛危害后沙枣的代谢响应。【方法】收集光肩星天牛刻槽和人工模拟刻槽条件下 15 d 的沙枣胶, 称取重量并测定树胶中的可溶性蛋白、可溶性糖、还原性糖、黄酮、总酚和单宁的含量, 进一步使用高效液相色谱串联质谱 (LC-MS) 对沙枣胶的小分子代谢物进行测定与分析。【结果】光肩星天牛刻槽后的沙枣的泌胶量显著高于模拟刻槽 ($P<0.05$); 在两种刻槽条件下, 沙枣胶的可溶性蛋白、可溶性糖和还原性糖含量以及单宁、黄酮和总酚含量存在显著差异 ($P<0.01$), 其中天牛刻槽组测定的物质含量均显著高于人工模拟刻槽组 ($P<0.01$)。在天牛刻槽与模拟刻槽比较组中, 筛选得到 80 种差异代谢物, 65 种代谢物上调, 15 种代谢物下调, 其中两种黄酮类化合物异鼠李素和水飞蓟素显著上调。差异代谢物的 KEGG 通路富集分析表明, 光肩星天牛刻槽显著诱导了蛋白质消化和吸收、植物次生代谢产物的生物合成、氨酰-tRNA 的生物合成、苯丙烷类物质的生物合成以及酪氨酸代谢通路。【结论】沙枣受到光肩星天牛产卵刻槽危害后, 相较于人工模拟刻槽, 分泌树胶的重量较高, 树胶中次生代谢物含量升高, 植物防御反应增强。本研究为进一步探究沙枣泌胶杀死天牛卵或幼虫的机制提供了初步的理论基础。

关键词 光肩星天牛; 沙枣; 刻槽; 树胶; 差异代谢物

The effects of Asian longhorned beetle (*Anoplophora glabripennis*) oviposition scar and artificially simulated oviposition scar on gum metabolism in Russian olive (*Elaeagnus angustifolia*)

QI Ruo-Han** REN Li-Li*** HAO Ke-Yu PEI Jia-He LUO You-Qing

(Beijing Key Laboratory for Forest Pest Control, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract [Aim] Adult female Asian longhorned beetles (*Anoplophora glabripennis*) create ovipositional scars and lay eggs on Russian olive (*Elaeagnus angustifolia*) trees, which respond by secreting enough gum to kill virtually all eggs and larvae. This indicates that the Russian olive has the potential to be used as a trap-tree to control the Asian longhorned beetle. However, the impact of the ovipositional behavior of the Asian longhorned beetle on the gum secretion of Russian olive trees has yet to be clarified. This study aims to compare the quantity of gum secreted, and its chemical composition, in response to natural, *A. glabripennis* oviposition scars, and artificial scars. [Methods] The gum of Russian olive trees was collected for 15 d from both natural oviposition scars and artificially simulated scars. The weight of gum from individual scars was measured, and the amount of soluble protein, soluble sugar, reducing sugar, flavonoids, total phenols, and tannins in gum from each scar type was

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金 (32371886); 国家重点研发计划 (2022YFD1401000)

**第一作者 First author, E-mail: qqqrh1999@bjfu.edu.cn

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: lily_ren@bjfu.edu.cn

收稿日期 Received: 2024-11-11; 接受日期 Accepted: 2024-12-30

determined. Furthermore, small molecular metabolites in the gum were analyzed using liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS). **[Results]** There was significant difference in both the weight, and composition, of gum produced in response to natural, and artificial, oviposition scars ($P < 0.05$). The amounts of all measured substances in gum produced in response to actual oviposition scars was significantly higher than that produced in response to artificial scars ($P < 0.01$). A total of 80 differential metabolites were identified in gum induced by both treatments, 65 of which were up-regulated and 15 of which were down-regulated in natural scar gum relative to artificial scar gum. Two flavonoids, isorhamnetin and silibinin, were highly significantly up-regulated. KEGG pathway enrichment analysis of differential metabolites identified the top five pathways as, protein digestion and absorption, biosynthesis of plant secondary metabolites, aminoacyl-tRNA biosynthesis, biosynthesis of phenylpropanoids, and tyrosine metabolism, are of which are either directly, or indirectly, related to plant defense. **[Conclusion]** Oviposition scars produced by the Asian longhorned beetle induce the Russian olive to produce a greater quantity of gum containing more resistant substances, than that produced in response to artificial oviposition scars. These results lay a theoretical foundation for further investigation of the mechanism by which the gum of the Russian olive kills the eggs and larvae of the Asian longhorned beetle.

Key words *Anoplophora glabripennis*; *Elaeagnus angustifolia*; oviposition scars; gum; differential metabolites

植物在保护自身不受到病虫害侵袭的长期进化中形成了一系列的防御反应,可分为组成型防御和诱导型防御。组成型防御是指植物未受到伤害的原生状态下的防御手段,而诱导型防御是植物受到外界干扰条件下产生的一系列防御对策,是对入侵的防御应答(谢辉等, 2012)。分泌树胶或树脂是树木用以保护自身的诱导性防御策略之一。机械损伤、昆虫取食以及真菌感染均能够诱导一些树木产生树脂道或树胶道,并积累次生代谢物来抵御外界侵害(史宏勇等, 2011)。针叶树常形成创伤性树脂道,研究发现挪威云杉 *Picea abies* 在白松脂象甲 *Pissodes strobi* 产卵危害后,会产生创伤性树脂道,增加伤处的树脂总量(Miller *et al.*, 2005),并且提高树脂中的酚类浓度(Christiansen *et al.*, 1999)以应对危害,而黄松 *Pinus ponderosa* 树脂中的单萜能够影响西部松大小蠹 *Dendroctonus brevicornis* 的产卵行为(Davis *et al.*, 2011)。阔叶树中,楝科的印度苦楝 *Azadirachta indica* 在真菌感染后,次生木质部中会产生创伤性分泌道(Rajput *et al.*, 2009)。桉属 *Eucalyptus* spp. 植物的木质部在机械损伤或真菌感染情况下会形成奇诺纹(Kino veins),其主要成分是单宁,是一种典型的创伤性树脂道(Cabrita *et al.*, 2020)。

沙枣 *Elaeagnus angustifolia* 属胡颓子科 Elaeagnaceae 胡颓子属 *Elaeagnus* 的落叶乔木,

是中国西北地区的常见树种(冬克尔, 2023),长期作为经济树种提供沙枣果实和沙枣胶等产品(陈晓雨等, 2018; 阿依古力·司马义和托乎它西古丽·肉孜, 2020)。沙枣在受到机械损伤或昆虫取食时,会在创口分泌树胶,其分泌受到生物或非生物因素的影响,如水分、温度、土壤和自身生理状况等都可以影响沙枣的泌胶能力(阿迪力·吾彼尔等, 2005; 李银芳等, 2006)。

光肩星天牛 *Anoplophora glabripennis* (Asian longhorned beetle, ALB) 是一种主要危害多种阔叶树的钻蛀性害虫,严重危害我国三北防护林的生态安全(骆有庆和李建光, 1999)。在西北地区沙枣和杨树的混交林中,光肩星天牛被沙枣吸引,在其上补充营养后刻槽产卵,引起沙枣的防御反应并分泌树胶,将卵或初孵幼虫包裹致死。据此进行沙枣与其他树种的合理配置,可以起到生态自控光肩星天牛的作用,已经在多地林间应用(杨宗基等, 2024)。在对光肩星天牛寄主抗性等级划分的研究中(赵英铭等, 2017; 王志刚等, 2018),可以发现,如新疆杨 *Populus alba* var. *pyramidalis* (武永贞和王小虎, 2023)、洋白蜡 *Fraxinus pennsylvanica* (Gu *et al.*, 2023),沙枣(乔海莉等, 2007)具有相当程度的抗虫能力,被归为抗性树种。

光肩星天牛的产卵刻槽危害与人工模拟刻槽造成的机械损伤相比较,是否会诱导沙枣产生

不同的代谢反应,产生的沙枣胶化学组成是否相同,目前尚未明确。因此,本文以天牛刻槽和人工模拟刻槽后的沙枣胶为研究对象,收集不同损伤条件下分泌的树胶,分析不同处理下沙枣树胶中代谢物的变化,以研究沙枣对光肩星天牛刻槽产生的泌胶防御反应,探索沙枣泌胶的变化和潜在的生物学意义,为进一步探究沙枣诱杀光肩星天牛的机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

实验地点位于甘肃省嘉峪关市长城第一墩景区东门外侧防护林带(39.74852403°N, 98.22124456°E),沙枣 *E. angustifolia*、二白杨 *Populus × xiaohei* var. *gansuensis* 混交。二白杨上光肩星天牛危害较为严重,可见新鲜虫粪与当年刻槽,虫口密度大。靠近虫源树二白杨的沙枣上天牛刻槽较多。

1.2 实验处理与样品收集

1.2.1 人工模拟刻槽 课题组前期踏查发现,光肩星天牛喜好在 5-7 年生的沙枣枝上刻槽产卵

(杨宗基等, 2024)。成虫在产卵时啃咬树皮表面(约 1 cm²),然后将卵产于咬碎的树皮下,这个部位称为刻槽(邓彩萍等, 2006)。基于上述研究基础,按照主干和 5-7 年生大枝上有积年的树胶和当年刻槽的标准选取实验树,共计 15 棵实验树。通过树胶质地、颜色及刻槽组织情况等特征辨别当年生刻槽与往年刻槽,新刻槽部位木屑新鲜,树胶颜色为浅琥珀色且较为透明,质地较软。待观察到新鲜天牛刻槽后,进行标记,并制作人工刻槽,尽可能使得天牛刻槽和人工模拟刻槽在相同时间下泌胶。具体操作如下:使用 75%乙醇消毒的刻刀和镊子,在光肩星天牛刻槽临近位置进行模拟刻槽处理,使用刻刀横割纵划,制造长度约为 1.00 cm 的伤口模拟天牛咬啃痕迹,尖头镊子插入形成层和木质部交界处约 0.50 cm 深,轻扫一圈模拟光肩星天牛的产卵行为。完成上述操作的即为一个模拟刻槽(图 1)。

当年的天牛刻槽作为实验组(Oviposition scar, OS),在其周围进行的人工模拟刻槽的作为对照组(Mechanical scar, MS),由于一棵实验树上的光肩星天牛刻槽数目有限,故而按照实际情况,分时段重复进行处理,直至人工刻槽与模拟



图 1 沙枣树上刻槽处理及其对沙枣胶产生的影响

Fig. 1 Scar treatments in *Elaeagnus angustifolia* and their impact on gum production

A. 两种刻槽处理的现场照片; B. 两种刻槽条件的沙枣胶情况。红色圆圈代表光肩星天牛刻槽(Oviposition scar, OS),蓝色圆圈代表人工模拟刻槽(Mechanical scar, MS)。

A. On site photos of two types of scars processing; B. The situation of *E. angustifolia* gum under two different scar conditions. The red circle represents *A. glabripennis* oviposition scar (Oviposition scar, OS), and the blue circle represents the artificially simulated oviposition scar (Mechanical scar, MS).

刻槽处理数各达到 50 个, 目的是增大样本重复数, 降低野外实验的背景差异, 提升研究结果的可靠性。

1.2.2 样品的收集与处理 根据采集时间的预实验结果, 最终选择 15 d 作为收集时间点。收集两种刻槽处理后 15 d 的沙枣树胶 (Li *et al.*, 2024)。在同一种处理条件下, 泌胶率 = (泌胶刻槽数目/总刻槽数目) × 100%。为方便统计和统一标准, 只选取溢出在刻槽外的树胶, 此时树胶已固化变硬且体积稳定, 用消毒的小刀和镊子采集, 置于 2 mL 离心管中, 使用精确度为千分之一的电子天平进行称重。40 °C 烘干至恒重, 粉碎, 过 60 目筛, 收集粉末样品。准确称取树胶样品 100 mg 于 50 mL 试管中, 加入 20 mL 70% 乙醇, 60 °C 下超声波处理 1 h, 离心取上清液, 用于测定营养物质和次生物质含量。

1.3 营养物质和次生代谢物质含量的测定

1.3.1 营养物质的测定 对 1.2.2 节处理后的树胶样品进行营养物质含量的测定, 可溶性蛋白采用 BCA 法 (Bicinchoninic acid method) 测定, 将样品制备后置于酶标仪 (Rayto, RT-6100) 中, 在波长 562 nm 的可见光区进行比色分析 (王丽等, 2020)。可溶性糖含量测定采用蒽酮比色法 (Abbas *et al.*, 2020), 将样品制备后置于波长 620 nm 的可见光区下进行比色。还原性糖采用 DNS 比色法 (3,5-Dinitrosalicylic acid colorimetry) 进行测定, 将样品制备后置于波长 540 nm 的可见光区下进行比色 (刘彩华等, 2022)。设置 6 个生物学重复, 测定技术重复 3 次。

1.3.2 次生代谢物含量的测定 对 1.2.2 节处理后的树胶样品进行次生物质含量的测定, 植物总酚含量使用 Folin-Ciocalteu 试剂测定 (Ainsworth *et al.*, 2007), 单宁采用磷钨钼酸比色法 (Chung *et al.*, 1998) 进行测定, 将样品制备后置于波长 760 nm 的可见光区下进行比色。黄酮含量采用铝离子比色法 (Miean and Mohamed, 2001) 测定, 用在 510 nm 处的吸光值, 可计算样品中黄酮含量。设置 6 个生物学重复, 测定技术重复 3 次。

1.4 代谢物的提取与检测

称量 50 mg 树胶样本于 2 mL 离心管中, 加入含有 2-氯-L-苯丙氨酸 ($4 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$) 的 600 μL 甲醇溶液中, 将混合物置于 -20 °C 条件下涡旋振荡 30 s; 在每个样品中加入 100 mg 玻璃珠, 放入组织研磨器中, 60 Hz 条件下研磨 90 s; 在室温条件下利用超声波清洗器 (舒美, KW-100TDV) 提取代谢物 15 min; 最后 12 000 r/min 4 °C 离心 10 min, 取上清液在 0.22 μm 膜上过滤, 将滤液加入到检测瓶中。

LC-MS 的代谢组学分析委托苏州帕诺米克生物医药科技有限公司进行。使用 Thermo Vanquish 系统 (Thermo Fisher Scientific, USA) 和 Thermo Q Exactive HF-X 质谱仪 (Thermo Fisher Scientific, USA) 进行 UPLC-MS/MS 分析。制备好的样品注入 ACQUITY UPLC® HSS T3 ($2.1 \times 150 \text{ mm}$, $1.8 \mu\text{m}$) (Waters, Milford, MA, USA) 色谱柱, 流速为 0.25 mL/min, 柱温 40 °C。正离子模式, 流动相为 0.1% 甲酸乙腈 (C) 和 0.1% 甲酸水 (D), 梯度洗脱程序为: 0-1 min, 2% C; 1-9 min, 2%-50% C; 9-12 min, 50%-98% C; 12-13.5 min, 98% C; 13.5-14 min, 98%-2% C; 14-20 min, 2% C。负离子模式, 流动相为乙腈 (A) 和 5 mmol·L⁻¹ 甲酸铵水 (B), 梯度洗脱程序为: 0-1 min, 2% A; 1-9 min, 2%-50% A; 9-12 min, 50%-98% A; 12-13.5 min, 98% A; 13.5-14 min, 98%-2% A; 14-17 min, 2% A (Vasilev *et al.*, 2016)。Thermo Q Exactive HF-X 质谱仪 (Thermo Fisher Scientific, USA) 电喷雾离子源 (ESI), 正负离子模式分别采集数据。正离子喷雾电压为 3.50 kV, 负离子喷雾电压为 -2.50 kV, 鞘气 30 arb, 辅助气 10 arb。毛细管温度 325 °C, 以分辨率 60 000 进行一级全扫描, 一级离子扫描范围 m/z 81-1 000, 并采用 HCD 进行二级裂解, 碰撞电压为 30%, 二级分辨率为 15 000, 采集信号前 8 离子进行碎裂, 同时采用动态排除去除无必要的 MS/MS 信息 (Zelena *et al.*, 2009)。

1.5 数据处理

LC-MS 的原始质谱下机文件通过 Proteowizard

(Want *et al.*, 2013) 中 MSConvert 工具转换为 mzXML 文件格式。采用 R XCMS 软件包 (Smith *et al.*, 2006; Navarro-Reig *et al.*, 2015) 进行峰检测、峰过滤、峰对齐处理, 得到物质定量列表, 参数设置有 $bw=2$, $ppm=15$, $peakwidth=c(5,30)$, $mzwid=0.015$, $mzdiff=0.01$, $method="centWave"$ 。采用公共数据库 HMDB (Wishart *et al.*, 2022)、massbank (Horai *et al.*, 2010)、LipidMaps (Sud *et al.*, 2007)、mzcloud (Abdelrazig *et al.*, 2020)、KEGG (Ogata *et al.*, 1999) 及 BioDeep 自建数据库 (融合了 MoNA、METLIN、HMDB 和 LipidSearch 等数据库) 进行物质的鉴定, 参数设置为 $ppm<30$ 。基于 QC 样本的 LOESS (Gagnebin *et al.*, 2017) 信号校正方法实现数据矫正, 消除系统误差。数据质控中过滤掉 QC 样本中 $RSD>30\%$ 的物质。

采用 R 软件包 Ropls 分别对样本数据进行主成分分析 (PCA)、正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 进行降维分析, 展示各样本间代

谢物组成的差异。用置换检验方法对模型进行过拟合检验。根据统计检验计算 P 值、OPLS-DA 计算变量投影重要度 (VIP)、Fold change 计算组间差异倍数, 衡量各代谢物组分含量对样本分类判别的影响强度和解释能力。当 $P<0.05$ 和 $VIP>1.5$ 时, 认为代谢物分子具有统计学意义。对于某种待测物质在不同样品间的差异, 采用非参数检验方法 Mann-Whitney U 检验进行比较。统计软件采用 IBM SPSS Statistics 22.0。

2 结果与分析

2.1 两种刻槽条件下沙枣的泌胶率和泌胶量

两种刻槽条件下沙枣的泌胶指标如表 1 所示, 结果表明, 模拟刻槽组 (MS) 的泌胶率为 58%, 天牛刻槽组 (OS) 的泌胶率为 70%; 分泌出的树胶的质量具有显著差异 ($P<0.05$), 天牛刻槽组沙枣胶重量为 (0.36 ± 0.06) g, 显著高于人工刻槽的沙枣胶质量 (0.18 ± 0.04) g。

表 1 光肩星天牛刻槽和模拟刻槽沙枣泌胶量和泌胶率的对比

Table 1 Comparison of oviposition scar and simulated oviposition scar by the *Anoplophora glabripennis* on the amount and rate of gum production in *Elaeagnus angustifolia*

损伤处理 Damage treatment	15 d 泌胶率 (%) 15 d gum secrete rate (%)	15 d 泌胶量 (g) 15 d gum secretion (g)
天牛刻槽 OS	70.00	$0.36\pm0.06^*$
模拟刻槽 MS	58.00	0.18 ± 0.04

OS 代表天牛刻槽, MS 代表模拟刻槽。星号表示不同处理间差异显著 ($*P<0.05$, Mann-Whitney U 检验)。

OS represents oviposition scar, MS represents mechanical scar. Asterisk indicates significant difference between treatments ($*P<0.05$, Mann-Whitney U -test).

2.2 两种刻槽条件下沙枣树胶的营养物质和次生代谢物含量

两种刻槽下沙枣树胶的营养物质和次生代谢物含量存在显著差异 ($P<0.01$), 在营养物质含量方面 (图 2: A-C), 天牛刻槽组 (OS) 的沙枣胶的可溶性蛋白含量为 (4.84 ± 0.12) mg/g、可溶性糖含量为 (12.56 ± 0.28) mg/g 和还原性糖含量为 (0.95 ± 0.01) mg/g, 3 种营养物质的含量均显著 ($P<0.01$) 高于对照组 (MS) 的沙枣胶 (3.58 ± 0.24)、(8.11 ± 0.20) 和 (0.89 ± 0.01) mg/g。在次生代谢物含量方面 (图 2: D-F), 天牛刻槽组

(OS) 沙枣胶的次生物质含量分别为单宁 (5.21 ± 0.18) mg/g、黄酮 (3.42 ± 0.11) mg/g 和总酚 (35.59 ± 1.33) μ g/g, 显著 ($P<0.01$) 高于对照组 (MS) 沙枣胶的 (3.62 ± 0.17) mg/g、(2.39 ± 0.07) mg/g 和 (23.16 ± 1.02) μ g/g。结果表明 (图 2: A-F), 光肩星天牛产卵刻槽危害后, 沙枣树胶中的营养物质和次生代谢物的含量均显著升高, 营养物质中的可溶性糖含量变化率最高为 54.87%, 次生代谢物中的总酚含量变化率最高为 53.67%。

2.3 两种刻槽条件下沙枣树胶的差异代谢物

对样品的原始质谱峰进行数据完整性评估

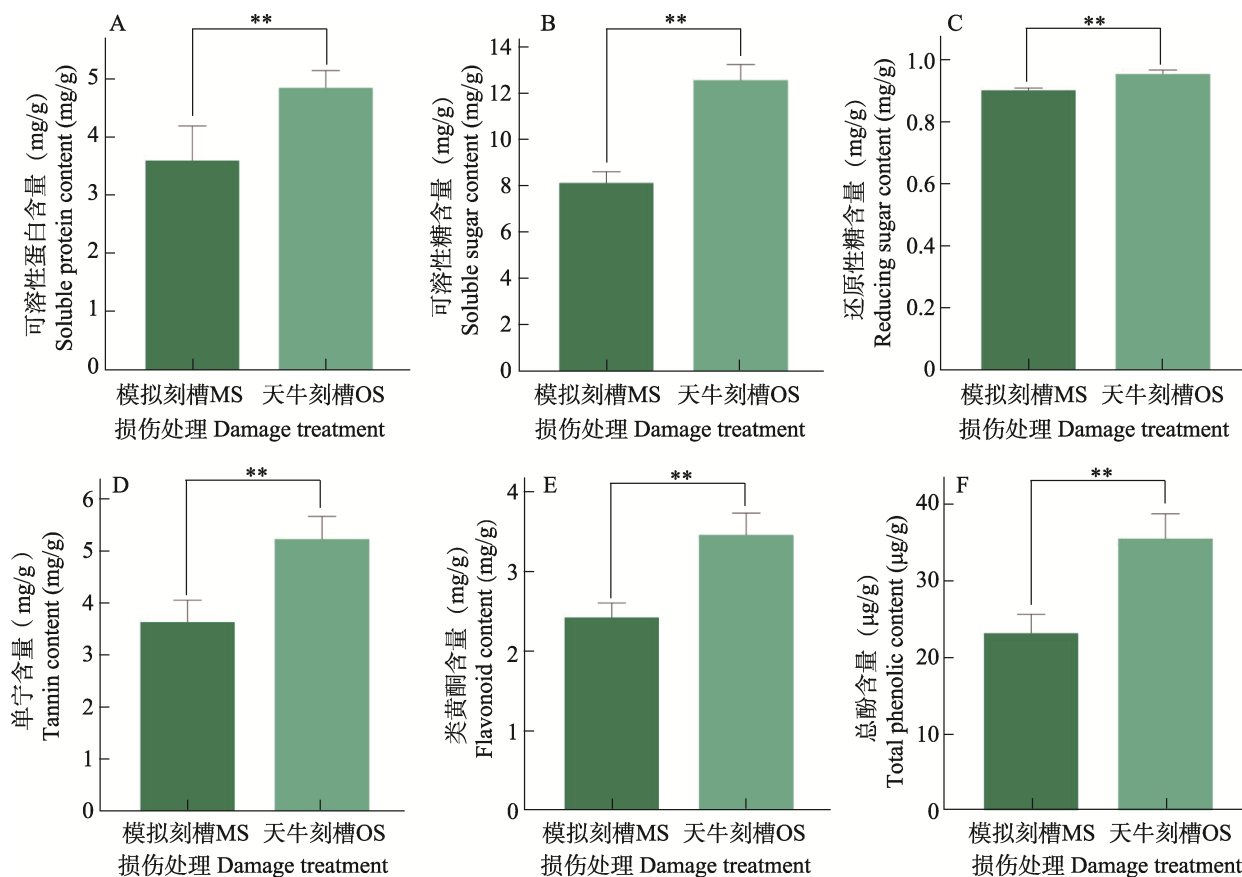


图 2 光肩星天牛刻槽和模拟刻槽 15 d 后的沙枣胶营养物质和次生物质含量的对比

Fig. 2 Comparison of nutrients and secondary biomass content of *Elaeagnus angustifolia* gum after 15 d of oviposition scar and simulated oviposition scar by *Anoplophora glabripennis*

A. 两种刻槽条件下沙枣胶中可溶性蛋白含量; B. 两种刻槽条件下沙枣胶中可溶性糖含量; C. 两种刻槽条件下沙枣胶中还原性糖含量; D. 两种刻槽条件下沙枣胶中单宁含量; E. 两种刻槽条件下沙枣胶中类黄酮含量; F. 两种刻槽条件下沙枣胶中总酚含量。OS 代表天牛刻槽, MS 代表模拟刻槽。下同。图中数据为平均值±标准误。星号表示不同处理间差异显著 (** $P < 0.01$, Mann-Whitney U 检验)。

A. Soluble protein content in the gum of *E. angustifolia* under two types of damage treatments; B. Soluble sugar content in the gum of *E. angustifolia* under two types of damage treatments; C. Reducing sugar content in the gum of *E. angustifolia* under two types of damage treatments; D. Tannin content in the gum of *E. angustifolia* under two types of damage treatments; E. Flavonoid content in the gum of *E. angustifolia* under two types of damage treatments; F. Total phenolic content in the the gum of *E. angustifolia* under two types of damage treatments. OS represents oviposition scar, MS represents mechanical scar. The same below. Data in the figure are mean±SE. Asterisk indicates significant difference (** $P < 0.01$, Mann-Whitney U -test).

后, 保留正离子模式下的 5 264 个质谱峰和负离子模式下的 4 382 个质谱峰用于后续鉴定分析。使用 5 个数据库 (HMDB、massbank、LipidMaps、mzcloud 和 KEGG) 进行注释, 共鉴定到二级代谢物 757 个, 其中正离子模式下代谢物 517 个, 负离子模式下代谢物 240 个, 根据 $VIP > 1.5$ 和 $P < 0.05$ 进行差异代谢物的筛选, 采用火山图进行可视化展示 (图 3: B)。筛选到差异代谢物共计 80 个, 对筛选出的 80 个不同丰度的差异代谢

物进行聚类分析, 绘制成代谢物热图 (图 3: A), 结果表明, 与模拟刻槽组相比, 天牛刻槽组有 65 个差异代谢物上调, 15 个差异代谢物下调, 说明光肩星天牛刻槽行为显著影响了沙枣树胶的代谢物变化。

根据化合物的类型及功能, 将差异代谢物分成 12 类, 并结合上下调的数目, 可以明确各类型的差异代谢物的变化趋势。如图 4 所示, 氨基酸及其类似物 Amino acids and analogues,

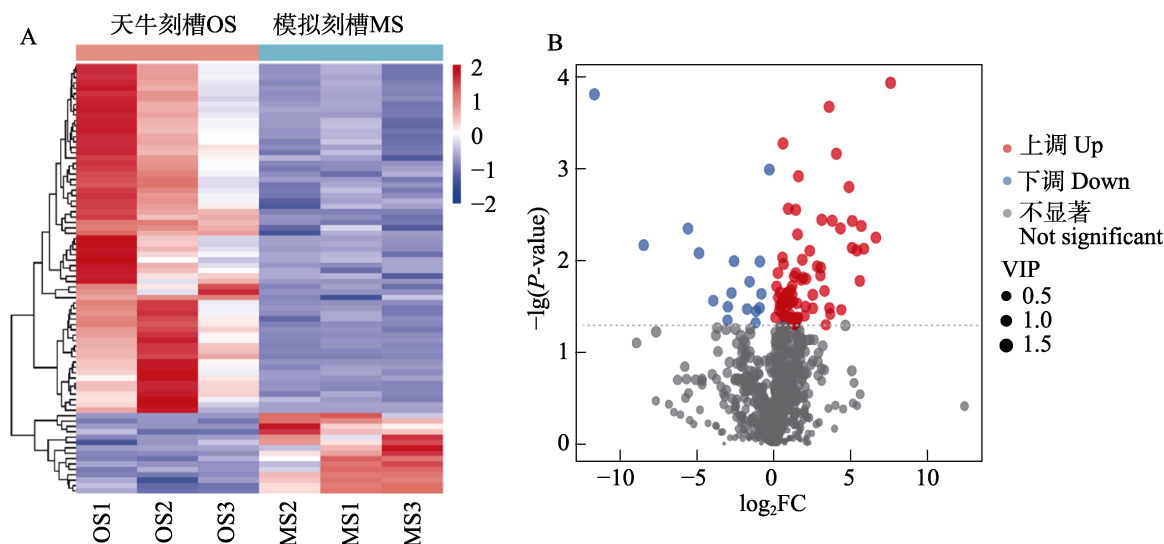


图3 光肩星天牛刻槽和模拟刻槽沙枣胶的差异代谢物聚类分析

Fig. 3 Cluster analysis of differential metabolites of gum in *Elaeagnus angustifolia* under oviposition scar and simulated oviposition scar by *Anoplophora glabripennis*

A. 差异代谢物聚类热图; B. 差异代谢物火山图。

OS1-OS3 和 MS1-MW3 表示不同处理下的样本; 蓝色和红色表示代谢物的相对含量, 红色表示代谢物的表达量较高, 蓝色表示代谢物的表达量较低; 图 B 中不同颜色的圆点代表代谢物差异表达状态, 红色表示上调的代谢物, 蓝色表示下调的代谢物, 灰色表示无显著差异的代谢物。

A. Heat map of differential metabolite clustering; B. Volcano map of differential metabolites.

OS1-OS3 and MS1-MS3 represent samples under different treatments. Blue and red colors indicate the relative levels of metabolites, with red indicating higher expression levels and blue indicating lower expression levels. In Fig. 3B, the different colored dots represent the differential expression status of metabolites, with red indicating upregulated metabolites, blue indicating downregulated metabolites, and grey indicating metabolites with no significant difference.

儿茶酚类 Catechols, 核苷、核苷酸及其衍生物 Nucleosides, nucleotides and derivatives, 类黄酮类 Flavonoids, 生物碱类 Alkaloids, 碳水化合物类 Carbohydrate, 维生素及辅因子 Vitamins and Cofactors, 香豆素类 Coumarins, 脂质和类脂分子 Lipids and lipid molecules, 酯类 Esters; 有机酸及其衍生物 Organic acids and derivatives, 以及其他代谢物质 Others。根据不同类别差异代谢物的上下调数目, 结果发现变化最为明显的两类代谢物是类黄酮和氨基酸类, 分别上调了 10 个和 16 个代谢物。次生代谢物中的类黄酮、生物碱类和儿茶酚类物质上调数目多于下调数目, 说明天牛刻槽后的树胶抗性物质种类增多。同时, 2.2 中结果表明, 光肩星天牛刻槽后的沙枣树胶中黄酮、总酚和单宁含量增加, 这表明光肩星天牛危害使得沙枣胶与抗性相关的次生代谢物种类及含量增多。

根据差异倍数 $|\text{Log}_2\text{FC}| > 3.32$ 和 $P < 0.01$, 筛选出极显著变化的代谢产物共计 14 种。结果如图 5 所示, 其中, 有 11 种差异代谢物在天牛刻槽后的沙枣胶中显著上调, 具体为 5 种氨基酸: L-精氨酸 (L-Arginine)、L-半胱氨酸 (L-Cysteine)、L-亮氨酸 (L-Leucine)、L-赖氨酸 (L-Lysine) 和焦谷氨酸 (L-Pyroglutamic acid); 1 种氨基酸氧化物 L-蛋氨酸 S-氧化物 (L-Methionine S-oxide); 2 种黄酮: 异鼠李素 (Isorhamnetin) 和水飞蓟宾 (Silibinin); 1 种维生素 (All-trans-Retinoic acid); 1 种有机酸马尿酸 (Hippuric acid) 和 1 种其他化合物 2,2',3-三羟基-3'-甲氧基-5,5'-二羧基联苯 (2,2',3-Trihydroxy-3'-methoxy-5,5'-dicarboxybiphenyl)。显著下调的差异代谢物仅有 3 种, 包括 1 种黄酮类槲皮素 3-O- β -D-葡萄糖苷 (Quercetin 3-O- β -D-glucoside) 和 2 种其他化合物蜀藜苷 (Dhurrin)。

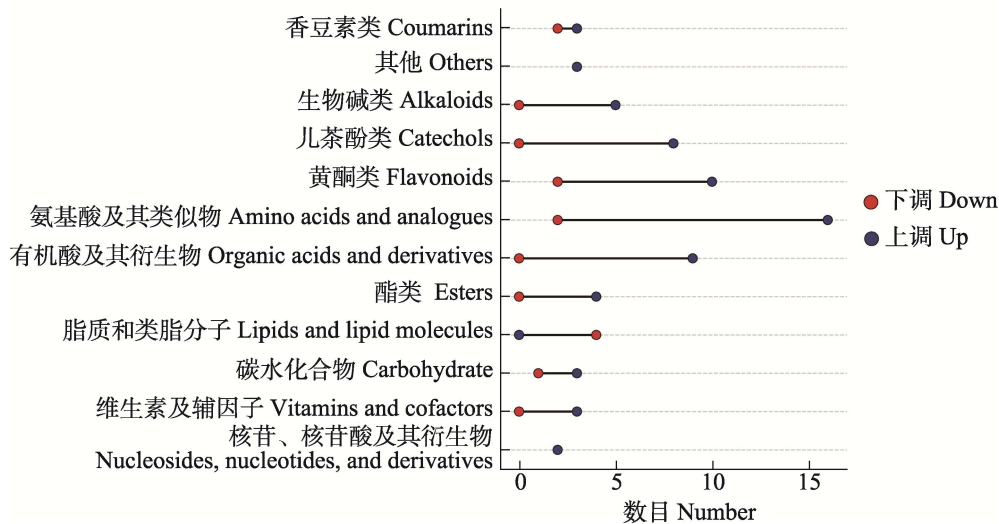


图 4 光肩星天牛刻槽和模拟刻槽沙枣胶的差异代谢物分类

Fig. 4 Differential metabolite classification of gum in *Elaeagnus angustifolia* under oviposition scar and simulated oviposition scar by *Anoplophora glabripennis*

和刚果草澄茄脂素(Aschantin)。槲皮素-3-O- β -D-葡萄糖苷属于黄酮醇苷类,属于下游产物,推测可能是被利用分解了,因此表现为下调。在显著上调的代谢物中,类黄酮中的异鼠李素和水飞蓟宾变化极大,天牛刻槽产生的树胶中异鼠李素和水飞蓟宾的含量分别是模拟刻槽树胶的 55 和 207 倍。同时,氨基酸中的精氨酸和焦谷氨酸变

化极显著,说明光肩星天牛刻槽危害后,沙枣可能通过合成类黄酮物质和调节氨基酸代谢,来抵御昆虫的危害。

对筛选到的 80 种差异代谢物进行 KEGG 通路富集,获得共计 128 条代谢通路。进一步对代谢通路进行筛选,根据 P 值大小顺序选择显著性最高的前 20 条代谢通路(图 6)。影响因子最高

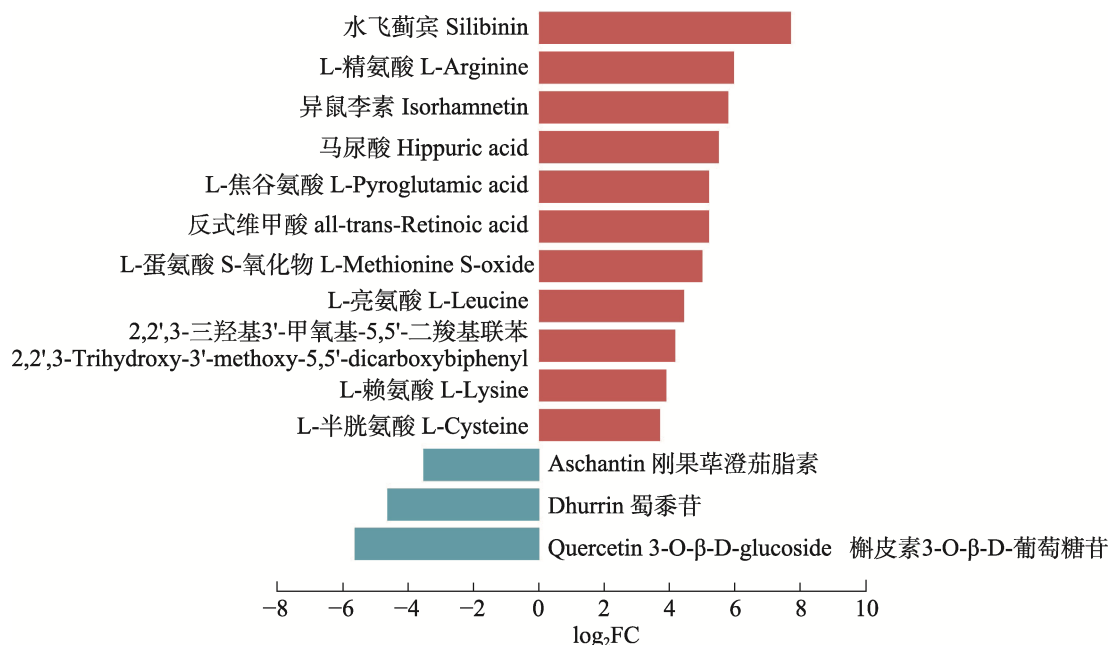


图 5 光肩星天牛刻槽和模拟刻槽沙枣胶中显著差异的前 14 个代谢物

Fig. 5 The top 14 metabolites with significant difference of gum in *Elaeagnus angustifolia* under oviposition scar and simulated oviposition scar by *Anoplophora glabripennis*

的 5 条代谢通路分别是蛋白质消化和吸收、植物次生代谢产物的生物合成、氨酰-tRNA 的生物合成、苯丙烷类物质的生物合成以及酪氨酸代谢,与其他通路相比,这些代谢通路在沙枣中参与关键代谢过程,具有重要作用。其中,植物次生代谢产物的生物合成和苯丙烷类物质的生物合成,

这 2 条代谢通路与植物抗性直接相关,差异代谢物中的黄酮类与苯丙烷类物质的生物合成对应。蛋白质消化和吸收、氨酰-tRNA 的生物合成和酪氨酸代谢通路则为植物抗性防御提供原料及能量,帮助植物分配足够的能量应对虫害,差异代谢物中的氨基酸被显著富集到这些通路中。

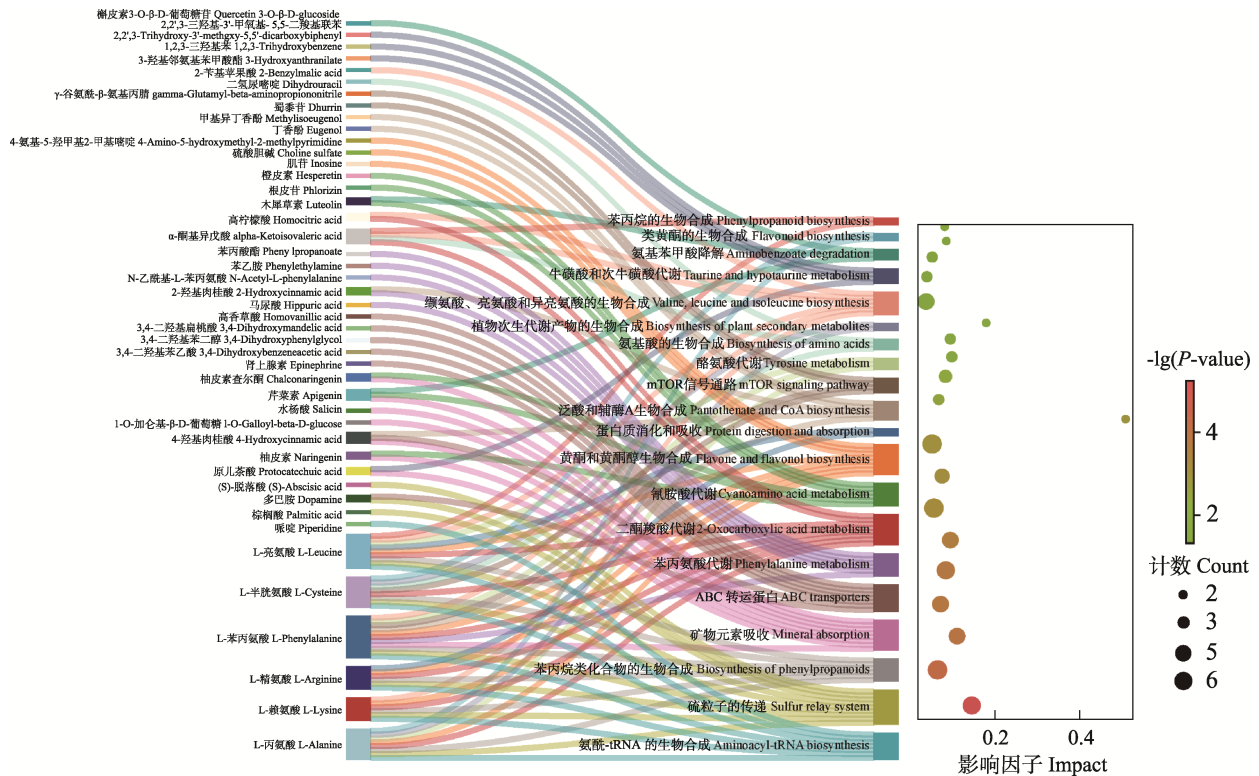


图 6 光肩星天牛刻槽与模拟刻槽条件下沙枣胶中差异代谢物与代谢通路分析

Fig. 6 Differential metabolites and metabolic pathway analysis of gum in *Elaeagnus angustifolia* under oviposition scar and simulated oviposition scar by *Anoplophora glabripennis*

3 讨论与结论

昆虫的危害会干扰宿主植物的代谢,诱导植物代谢模式的变化,用以应对外界干扰并维持正常的生命活动(Hu *et al.*, 2009; Dhandapani *et al.*, 2020)。本研究以树胶为研究对象,采用非靶向代谢组学结合树胶的生理生化指标,研究了在光肩星天牛刻槽产卵危害后沙枣树胶的代谢响应。对差异代谢产物的分析表明,由于光肩星天牛刻槽产卵对沙枣枝条的危害,受害部位的树胶中的特定代谢物含量发生了显著变化,代谢特征初步揭示了光肩星天牛对沙枣作用的结果。

本研究发现在天牛刻槽和模拟刻槽 15 d 后,沙枣在受害部位的泌胶率无显著差异,但是所分泌的树胶重量存在显著差异,光肩星天牛刻槽组高于模拟刻槽组,这说明光肩星天牛危害增加了沙枣树的泌胶量。此现象与松墨天牛 *Monochamus alternatus* 取食诱导马尾松 *Pinus massoniana* 产生创伤性树脂导管,用来分泌树脂的结果相似(Chen *et al.*, 2019)。因此,可以推测沙枣受光肩星天牛危害后木质部产生创伤性树胶道从而影响泌胶量(Subrahmanyam and Shah, 1988)。野外调查发现,光肩星天牛刻槽常集中在几棵沙枣树上,呈聚集分布,这可能与

成虫释放的化学信息素 (Ray and Millar, 2018) 有关。此外, 课题组在进行实验地踏查时发现, 在同样的实验条件下, 沙枣树个体之间的差异对泌胶能力也有一定的影响, 有待于进一步研究。

植物在逆境时可以通过增加营养物质的含量来提高对环境的适应性, 研究表明, 富含可溶性糖和蛋白质的植物能够更好地抵御外界生物侵扰 (沈嘉程等, 2021; Xue *et al.*, 2022)。本研究中光肩星天牛产卵刻槽危害后的沙枣树胶中的 3 种营养物质含量升高, 其中包括可溶性蛋白, 该结果与柠条绿虎天牛 *Chlorophorus caragana* 危害柠条锦鸡儿 *Caragana korshinskii* 后, 植物木质部的蛋白质含量增加 (Zong *et al.*, 2014) 一致。天牛刻槽后树胶的可溶性糖含量升高, 可以说明, 在受到昆虫危害后, 沙枣通过调节自身可溶性糖含量来提高对昆虫的抗性。

植物中的次生代谢物如生物碱、类黄酮、酚酸类和萜类, 是主要的防御物质, 参与植物防御应对生物学胁迫 (刘艳丽等, 2023)。研究发现, 与健康树相比, 受到中欧山松大小蠹 *Dendroctonus ponderosae* 危害后的扭叶松 *Pinus contorta* 所分泌的树脂会含有更多萜类物质 (Zhao *et al.*, 2019)。紫花苜蓿 *Medicago sativa* 在受到西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* 取食危害后, 叶片中黄酮和单宁的含量均升高 (曹宇等, 2015)。本研究结果表明, 受到光肩星天牛刻槽危害的沙枣胶中单宁、类黄酮和总酚的含量升高, 与上述研究结果相似, 说明沙枣受到光肩星天牛危害后会产生更多的次生代谢物来抵御攻击。此外, 研究发现随着桃胶颜色的加深, 多数酚类物质含量变高, 并且颜色越深的胶抗氧化性越强 (刘启月等, 2021)。本研究中的沙枣胶呈现深黄褐色, 与桃胶中酚类含量最高的一致, 结果与之相符, 沙枣胶中代谢物质与其表观颜色的关系, 有待进一步研究。

对沙枣胶进行非靶向代谢组学分析, 发现差异代谢物中属于黄酮类的代谢物共有 12 种, 黄酮类化合物是植物体内应对胁迫环境的关键次生代谢物 (Petrussa *et al.*, 2013)。其中, 异鼠李素和水飞蓟素在光肩星天牛刻槽危害后显著上

调。异鼠李素可以通过抑制 NF- κ B 信号通路抑制活性氧而降低细胞中的脂质过氧化水平 (Bustos *et al.*, 2018; 王伟等, 2020), 能够激活植物防御相关的苯丙烷代谢途径 (Liu *et al.*, 2021), 从而提高植物的抗氧化能力。水飞蓟素是所有差异代谢物中变化最显著的, 它是黄酮木质素异构体之一 (Surai, 2015), 具有较强的抗氧化活性, 可以增加谷胱甘肽的生成, 有助于增强植物的抗氧化能力 (Kwon *et al.*, 2013)。蜀黍苷可以水解成毒性的氢化物, 是一种复合的代谢中间体 (Laursen *et al.*, 2016)。本研究中, 受到光肩星天牛刻槽危害的沙枣产生的树胶中蜀黍苷相对含量减少, 可能是由于受到昆虫危害, 蜀黍苷消耗增多, 以用于植物的防卫。刚果萜澄苜脂素是分离自木兰中的双环氧木脂素, 能够抑制 mTOR 激酶、细胞色素 p450 和 UGT 酶的活性 (Labruzzo *et al.*, 2018; Xiao *et al.*, 2021), 受光肩星天牛危害的沙枣树胶中该物质表现为显著下调, 推测是其合成前体受限, 苯丙素合成用于生产合成其他次生代谢物。

对差异代谢物的 KEGG 通路分析显示, 光肩星天牛刻槽激活了植物保守的防御途径 (Xu *et al.*, 2019; Dong and Lin, 2021), 主要包括酪氨酸代谢和苯丙烷类生物合成。苯丙烷生物合成途径的富集表明了植物的一种防御策略, 通过产生有毒的次生代谢物以应对昆虫侵扰, 如木质素和类黄酮, 这些代谢物具有重要的抗虫作用 (Fraser and Chapple, 2011)。对植物与环境之间的互作起到了重要调控作用。同时, 光肩星天牛刻槽危害诱导了赖氨酸、精氨酸、苯丙氨酸、半胱氨酸和亮氨酸的上调, 这些氨基酸与转运核糖核酸结合, 变成氨酰 tRNA, 与细胞内正在延伸的多肽链合并, 用于蛋白质的合成 (Ibba *et al.*, 1997), 为植物抗逆的代谢通路提供相应的原材料。

在本研究中, 沙枣树在受到光肩星天牛成虫产卵刻槽危害后, 与人工模拟刻槽相比, 其受害部位分泌的树胶量较高并且次生代谢物含量升高, 说明光肩星天牛危害诱导了沙枣的相关防御反应, 再次表明了沙枣具有作为诱杀树种对光肩

星天牛进行生态自控的潜力。此外,光肩星天牛的产卵刻槽行为实际上是一个复合的行为,包括刻槽和产卵两个过程,后续将对这两个过程进行深入剖析与实验,有助于对沙枣泌胶杀死天牛卵或幼虫机制的进一步探索。

参考文献 (References)

- Adili · Wubier, Li YF, Wumanjiang · Aili, Dong X, Su WP, Maimaiti · Aimaiti, Tursun · Abby, 2005. Environmental factors affecting gum exudation of *Elaeagnus angustifolia*. *Arid Land Geography*, 28(4): 521–525. [阿迪力 · 吾彼尔, 李银芳, 吾满江 · 艾力, 董昕, 苏为平, 买买提 · 艾买提, 吐尔逊 · 艾比, 2005. 沙枣树的出胶与环境影响因素研究. 干旱区地理, 28(4): 521–525.]
- Abbas HMK, Huang HX, Wang AJ, Wu TQ, Xue SD, Ahmad A, Xie DS, Li JX, Zhong YJ, 2020. Metabolic and transcriptomic analysis of two *Cucurbita moschata* germplasms throughout fruit development. *BMC Genomics*, 21(1): 365.
- Abdelrazig S, Safo L, Rance GA, Fay MW, Theodosiou E, Topham PD, Kim DH, Fernández-Castané A, 2020. Metabolic characterisation of *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1 using LC-MS-based metabolite profiling. *RSC Advances*, 10(54): 32548–32560.
- Ainsworth EA, Gillespie KM, 2007. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. *Nature Protocols*, 2(4): 875–877.
- Ayiguli · Simayi, Tuohuaxiguli · Rouzi, 2020. Study on nutritional components and efficacy of *Elaeagnus angustifolia*. *Journal of Medicine & Pharmacy of Chinese Minorities*, 26(10): 58–60. [阿依古力 · 司马义, 托乎它西古丽 · 肉孜, 2020. 浅谈沙枣营养成分及药效研究. 中国民族医药杂志, 26(10): 58–60.]
- Bustos PS, Deza-Ponzio R, Páez PL, Cabrera JL, Virgolini MB, Ortega MG, 2018. Flavonoids as protective agents against oxidative stress induced by gentamicin in systemic circulation. Potent protective activity and microbial synergism of luteolin. *Food and Chemical Toxicology*, 118: 294–302.
- Cabrita P, 2020. Holocrine secretion and kino flow in angiosperms: Their role and physiological advantages in plant defence mechanisms. *Trees*, 34(5): 1183–1204.
- Cao Y, Liu Y, Liang WQ, Wang C, Li C, 2015. Development of *Frankliniella occidentalis* on flowers of different horticultural hosts and relationship with flower compounds. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 23(5): 634–641. [曹宇, 刘燕, 梁文琴, 王春, 李灿, 2015. 西花蓟马生长发育及其与寄主花化学物质的关系. 中国生态农业学报, 23(5): 634–641.]
- Chen RX, He XY, Chen J, Gu TZ, Liu PC, Xu T, Teale SA, Hao DJ, 2019. Traumatic resin duct development, terpenoid formation, and related synthase gene expression in *Pinus massoniana* under feeding pressure of *Monochamus alternatus*. *Journal of Plant Growth Regulation*, 38(3): 897–908.
- Chen XY, Han JX, Liu YS, Ajiekbaier · Aisa, Yuan T, 2018. Chemical constituents from traditional Uighur herbal medicine *Elaeagnus angustifolia* flowers. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 43(9): 1749–1753. [陈晓雨, 韩建欣, 刘玉霜, 阿吉艾克拜尔 · 艾萨, 袁涛, 2018. 维吾尔族医常用药材沙枣花的化学成分研究. 中国中药杂志, 43(9): 1749–1753.]
- Christiansen E, Krokene P, Berryman AA, Franceschi VR, Krekling T, Lieutier F, Lönnberg A, Solheim H, 1999. Mechanical injury and fungal infection induce acquired resistance in Norway spruce. *Tree Physiology*, 19(6): 399–403.
- Chung KT, Wong TY, Wei CI, Huang YW, Lin Y, 1998. Tannins and human health: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(6): 421–464.
- Davis TS, Hofstetter RW, 2011. Oleoresin chemistry mediates oviposition behavior and fecundity of a tree-killing bark beetle. *Journal of Chemical Ecology*, 37(11): 1177–1183.
- Deng CP, Luo YQ, Liu HX, Zhao HL, 2006. Analysis of water content and pH in ovipositing incision of the Asian long-horned beetle, *Anoplophora glabripennis*. *Chinese Bulletin of Entomology*, 43(6): 853–855. [邓彩萍, 骆有庆, 刘红霞, 赵洪林, 2006. 光肩星天牛产卵刻槽含水量与 pH 值的分析. 昆虫知识, 43(6): 853–855.]
- Dhandapani RK, Gurusamy D, Duan JJ, Palli SR, 2020. RNAi for management of Asian long-horned beetle, *Anoplophora glabripennis*: Identification of target genes. *Journal of Pest Science*, 93(2): 823–832.
- Dong KE, 2023. Seedling raising and cultivation management techniques of *Elaeagnus angustifolia* in Gansu Province. *Contemporary Horticulture*, 2023(20): 38–40. [冬克尔, 2023. 甘肃地区沙枣育苗及栽培管理技术. 现代园艺, 2023(20): 38–40.]
- Dong NQ, Lin HX, 2021. Contribution of phenylpropanoid metabolism to plant development and plant-environment interactions. *Journal of Integrative Plant Biology*, 63(1): 180–209.
- Fraser CM, Chapple C, 2011. The phenylpropanoid pathway in *Arabidopsis*. *Arabidopsis Book*, 9: e0152.
- Gagnebin Y, Tonoli D, Lescuyer P, Ponte B, de Seigneux S, Martin PY, Schappler J, Boccad J, Rudaz S, 2017. Metabolomic analysis of urine samples by UHPLC-QTOF-MS: Impact of normalization strategies. *Analytica Chimica Acta*, 955: 27–35.
- Gu Q, Jia RF, Guo S, Li H, Hao EH, Yang X, Lu PF, Qiao HL, 2023. Functional role of intestinal symbiotic microorganisms in improving the adaptability of *Anoplophora glabripennis* to resistant host plants. *Forests*, 14(8): 1573.
- Horai H, Arita M, Kanaya S, Nihei Y, Ikeda T, Suwa K, Ojima Y, Tanaka K, Tanaka S, Aoshima K, Oda Y, Kakazu Y, Kusano M, Tohge T, Matsuda F, Sawada Y, Hirai MY, Nakanishi H, Ikeda K, Akimoto N, Maoka T, Takahashi H, Ara T, Sakurai N, Suzuki H, Shibata D, Neumann S, Iida T, Tanaka K, Funatsu K, Matsuura F, Soga T, Taguchi R, Saito K, Nishioka T, 2010. MassBank: A

- public repository for sharing mass spectral data for life sciences. *Journal of Mass Spectrometry*, 45(7): 703–714.
- Hu JF, Angeli S, Schuetz S, Luo YQ, Hajek AE, 2009. Ecology and management of exotic and endemic Asian longhorned beetle *Anoplophora glabripennis*. *Agricultural and Forest Entomology*, 11(4): 359–375.
- Ibba M, Curnow AW, Söll D, 1997. Aminoacyl-tRNA synthesis: Divergent routes to a common goal. *Trends in Biochemical Sciences*, 22(2): 39–42.
- Kwon DY, Jung YS, Kim SJ, Kim YS, Choi DW, Kim YC, 2013. Alterations in sulfur amino acid metabolism in mice treated with silymarin: A novel mechanism of its action involved in enhancement of the antioxidant defense in liver. *Planta Medica*, 79(12): 997–1002.
- Labruzzo A, Cantrell CL, Carrubba A, Ali A, Wedge DE, Duke SO, 2018. Phytotoxic lignans from *Artemisia arborescens*. *Natural Product Communications*, 13(3): 1934578X1801300302.
- Laursen T, Borch J, Knudsen C, Bavishi K, Torta F, Martens HJ, Silvestro D, Hatzakis NS, Wenk MR, Dafforn TR, Olsen CE, Motawia MS, Hamberger B, Möller BL, Bassard JE, 2016. Characterization of a dynamic metabolon producing the defense compound dhurrin in *Sorghum*. *Science*, 354(6314): 890–893.
- Li CC, Pei JH, Wang LX, Tian Y, Ren LL, Luo YQ, 2024. Interactions at the oviposition scar: Molecular and metabolic insights into *Elaeagnus angustifolia*'s resistance response to *Anoplophora glabripennis*. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(17): 9504.
- Li YF, Adili · Wubier, Wumanjiang · Aili, Dong X, Su WP, Yakufu · Aihaiti, Tursun · Abby, Tan XJ, 2006. The effect of irrigation on extruder surging of *Elaeagnus angustifolia*. *Protection Forest Science and Technology*, 2006(3): 5–7. [李银芳, 阿迪力 · 吾彼尔, 吾满江 · 艾力, 董昕, 苏为平, 亚库甫 · 艾海提, 吐尔逊 · 艾比, 谭小菊, 2006. 灌溉对沙枣树出胶的作用. 防护林科技, 2006(3): 5–7.]
- Liu CH, Zeng JT, Bao ZJ, Li X, Zhu ZJ, Wang ZS, Huang XW, 2022. Determination of soluble sugar content in *Mangifera indica* Linn. by 3,5-dinitrosalicylic acid colorimetry. *Journal of Food Safety & Quality*, 13(9): 2892–2900. [刘彩华, 曾嘉童, 包竹君, 李霞, 朱正杰, 汪自松, 黄训文, 2022. 3,5-二硝基水杨酸比色法测定芒果的可溶性糖含量. 食品安全质量检测学报, 13(9): 2892–2900.]
- Liu QY, Li Y, Chen XL, Yu XY, 2021. Analysis on phenolics contents and antioxidant activity in peach gum based on metabolomics. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 37(3): 746–753. [刘启月, 李勇, 陈小龙, 余向阳, 2021. 基于代谢组学分析桃胶中酚类化合物含量及抗氧化活性. 江苏农业学报, 37(3): 746–753.]
- Liu XY, Cui XM, Ji DC, Zhang ZQ, Li BQ, Xu Y, Chen T, Tian SP, 2021. Luteolin-induced activation of the phenylpropanoid metabolic pathway contributes to quality maintenance and disease resistance of sweet cherry. *Food Chemistry*, 342: 128309.
- Liu YL, Tang HY, Wan Q, Yan YM, Ma LL, Cao D, Jin XF, 2023. Metabolite changes in new shoots of *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze infested by tea aphids. *Plant Science Journal*, 41(5): 657–667. [刘艳丽, 唐海燕, 万晴, 颜亚敏, 马林龙, 曹丹, 金孝芳, 2023. 茶树新梢响应茶蚜取食的代谢物变化研究. 植物科学学报, 41(5): 657–667.]
- Luo YQ, Li JG, 1999. Bionomics and occurrence of *Anoplophora glabripennis* (Motschulsky). *Plant Quarantine*, 13(1): 5–7. [骆有庆, 李建光, 1999. 光肩星天牛的生物学特性及发生现状. 植物检疫, 13(1): 5–7.]
- Miean KH, Mohamed S, 2001. Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(6): 3106–3112.
- Miller B, Madilao LL, Ralph S, Bohlmann J, 2005. Insect-induced conifer defense. White pine weevil and methyl jasmonate induce traumatic resinosis, *de novo* formed volatile emissions, and accumulation of terpenoid synthase and putative octadecanoid pathway transcripts in Sitka spruce. *Plant Physiology*, 137(1): 369–382.
- Navarro-Reig M, Jaumot J, García-Reiriz A, Tauler R, 2015. Evaluation of changes induced in rice metabolome by Cd and Cu exposure using LC-MS with XCMS and MCR-ALS data analysis strategies. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(29): 8835–8847.
- Ogata H, Goto S, Sato K, Fujibuchi W, Bono H, Kanehisa M, 1999. KEGG Kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Research*, 27(1): 29–34.
- Petrussa E, Braidot E, Zancani M, Peresson C, Bertolini A, Patui S, Vianello A, 2013. Plant flavonoids: Biosynthesis, transport and involvement in stress responses. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(7): 14950–14973.
- Qiao HL, Luo YQ, Feng XF, Sun JH, Han XW, 2007. The resistance of the main host-tree species to *Anoplophora glabripennis* in Xinjiang. *Chinese Bulletin of Entomology*, 44(5): 660–664. [乔海莉, 骆有庆, 冯晓峰, 孙建华, 韩新伟, 2007. 新疆主要造林树种对光肩星天牛的抗性. 昆虫知识, 44(5): 660–664.]
- Rajput KS, Sanghvi GV, Koyani RD, Rao KS, 2009. Anatomical changes in the stems of *Azadirachta indica* (Meliaceae) infected by pathogenic fungi. *IAWA Journal*, 30(1): 27–36.
- Ray AM, Millar JG, 2018. Chemical ecology of Cerambycidae. *Annual Review of Entomology*, 63: 419–438.
- Shen JC, Liao WC, Luo P, Wang GL, 2021. A correlation analysis of host selection of *Apriona germari* (Coleoptera: Cerambycidae) with content of plant nutrition component and secondary metabolites. *Acta Agricultural University Jiangxiensis*, 43(4): 783–791. [沈嘉程, 廖为财, 罗鹏, 王广利, 2021. 桑天牛寄主选择及其与植物营养和次生代谢物质含量的相关性分析. 江西农业大学学报, 43(4): 783–791.]
- Shi HY, Zhou YF, Guo JS, Liu WZ, 2011. Development and cytochemistry of secretory ducts in *Ailanthus altissima*. *Acta*

- Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 31(7): 1291–1296. [史宏勇, 周亚福, 郭建胜, 刘文哲, 2011. 臭椿茎中分泌道的发育及其组织化学研究. 西北植物学报, 31(7): 1291–1296.]
- Smith CA, Want EJ, O'Maille G, Abagyan R, Siuzdak G, 2006. XCMS: Processing mass spectrometry data for metabolite profiling using nonlinear peak alignment, matching, and identification. *Analytical Chemistry*, 78(3): 779–787.
- Subrahmanyam SV, Shah JJ, 1988. The metabolic status of traumatic gum ducts in *Moringa oleifera* lam. *Iawa Journal*, 9(2): 187–195.
- Sud M, Fahy E, Cotter D, Brown A, Dennis EA, Glass CK, Merrill AH Jr, Murphy RC, Raetz CRH, Russell DW, Subramaniam S, 2007. LMSD: LIPID MAPS structure database. *Nucleic Acids Research*, 35(Database issue): D527–D532.
- Surai PF, 2015. Silymarin as a natural antioxidant: An overview of the current evidence and perspectives. *Antioxidants*, 4(1): 204–247.
- Vasilev N, Boccard J, Lang G, Grömping U, Fischer R, Goepfert S, Rudaz S, Schillberg S, 2016. Structured plant metabolomics for the simultaneous exploration of multiple factors. *Scientific Reports*, 6: 37390.
- Wang L, Wang Y, Hu YQ, Tian C, Shi B, Cao J, Yang M, 2020. Feasibility of BCA method for determination of protein content in intermediate product of component pertussis vaccine. *Chinese Journal of Biologicals*, 33(9): 1048–1053. [王丽, 王吟, 胡业勤, 田聪, 施斌, 曹璟, 杨明, 2020. BCA 法检测组分百日咳疫苗中间品蛋白含量的可行性评价. 中国生物制品学杂志, 33(9): 1048–1053.]
- Wang W, He P, Jiang XM, 2020. Anti-inflammatory and antioxidant effects of luteolin and its flavone glycosides. *Food Science*, 41(17): 208–215. [王伟, 何平, 江小明, 2020. 木犀草素及其黄酮苷的抗炎、抗氧化作用. 食品科学, 41(17): 208–215.]
- Wang ZG, Su Z, Liu MH, Zhao YM, Zhang G, Cui ZR, Dan HL, Chen XM, 2018. Comparison of the resistant characteristics of *Populus alba* var. *pyramidalis* and *Populus deltoides* Cl. Beikang to damages against *Anoplophora glabripennis* (Coleoptera: Cerambycidae). *Scientia Silvae Sinicae*, 54(9): 89–96. [王志刚, 苏智, 刘明虎, 赵英铭, 张格, 崔振荣, 谈慧丽, 陈星明, 2018. 新疆杨与北抗杨抗光肩星天牛特性的比较. 林业科学, 54(9): 89–96.]
- Want EJ, Masson P, Michopoulos F, Wilson ID, Theodoridis G, Plumb RS, Shockcor J, Loftus N, Holmes E, Nicholson JK, 2013. Global metabolic profiling of animal and human tissues via UPLC-MS. *Nature Protocols*, 8(1): 17–32.
- Wishart DS, Guo AC, Oler E, Wang F, Anjum A, Peters H, Dizon R, Sayeeda Z, Tian SY, Lee BL, Berjanskii M, Mah R, Yamamoto M, Jovel J, Torres-Calzada C, Hiebert-Giesbrecht M, Lui VW, Varshavi D, Varshavi D, Allen D, Arndt D, Khetarpal N, Sivakumaran A, Harford K, Sanford S, Yee K, Cao X, Budinski Z, Liigand J, Zhang L, Zheng JM, Mandal R, Karu N, Dambrova M, Schiöth HB, Greiner R, Gautam V, 2022. HMDB 5.0: The human metabolome database for 2022. *Nucleic Acids Research*, 50(D1): D622–D631.
- Wu YZ, Wang XH, 2023. Resistance of main poplar species to *Anoplophora glabripennis* in Hetao Plain. *Inner Mongolia Forestry*, 2023(11): 43–44. [武永贞, 王小虎, 2023. 河套平原主要杨树树种对光肩星天牛的抗性. 内蒙古林业, 2023(11): 43–44.]
- Xiao Y, Shao K, Zhou JW, Wang L, Ma XQ, Wu D, Yang YB, Chen JF, Feng JX, Qiu S, Lü ZY, Zhang L, Zhang P, Chen WS, 2021. Structure-based engineering of substrate specificity for pinorensinol-lariciresinol reductases. *Nature Communications*, 12(1): 2828.
- Xie H, Wang Y, Liu YQ, Chen LP, 2012. The influence of plant constitutive defense system on phytophagous insects. *Plant Protection*, 38(1): 1–5. [谢辉, 王燕, 刘银泉, 陈利萍, 2012. 植物组成型防御对植食性昆虫的影响. 植物保护, 38(1): 1–5.]
- Xu JJ, Fang X, Li CY, Yang L, Chen XY, 2019. General and specialized tyrosine metabolism pathways in plants. *ABIOTECH*, 1(2): 97–105.
- Xue J, Li Z, Hao WS, Wang XW, Fan GK, Yu LH, Geng G, 2022. Effects of soil covering on growth and physio-biochemical indices of sugar beet seedlings under short-term low-temperature stress. *Sugar Tech*, 24(5): 1530–1539.
- Yang ZJ, Wang LX, Luo YQ, Ren LL, Wang XQ, Wang XB, Chen YL, 2024. Study on planting model of dead-end trap tree *Elaeagnus angustifolia* and resistant host tree *Populus alba* var. *pyramidalis* for ecological self-regulation of the *Anoplophora glabripennis* disaster. *Forest Pest and Disease*, 43(6): 44–53. [杨宗基, 王立祥, 骆有庆, 任利利, 王小强, 王小兵, 陈宇琳, 2024. 生态自控光肩星天牛灾害的诱杀树沙枣与抗性树种新疆杨配植模式研究. 中国森林病虫, 43(6): 44–53.]
- Zelena E, Dunn WB, Broadhurst D, Francis-McIntyre S, Carroll KM, Begley P, O'Hagan S, Knowles JD, Halsall A, Consortium H, Wilson ID, Kell DB, 2009. Development of a robust and repeatable UPLC-MS method for the long-term metabolomic study of human serum. *Analytical Chemistry*, 81(4): 1357–1364.
- Zhao SY, Klutsch JG, Cale JA, Erbilgin N, 2019. Mountain pine beetle outbreak enhanced resin duct-defenses of lodgepole pine trees. *Forest Ecology and Management*, 441: 271–279.
- Zhao YM, Gao JL, Yang WB, Huang YR, Ma YB, Bao CY, Zhang G, Li W, Lv YJ, Wang ZG, Liu F, Hao YG, Zhang YX, Chu WD, 2017. Comparison of 16 agronomic characters of different insect species in poplar stand replanting. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 19(3): 72–81. [赵英铭, 高君亮, 杨文斌, 黄雅茹, 马迎宾, 包春燕, 张格, 李炜, 吕永军, 王志刚, 刘芳, 郝玉光, 章尧想, 褚卫东, 2017. 16 个抗虫杨品种在林分补植中的性状差异比较. 中国农业科技导报, 19(3): 72–81.]
- Zong SX, Wang R, Cao CJ, Wang T, Luo YQ, 2014. Impact of *Chlorophorus caragana* damage on nutrient contents of *Caragana korshinskii*. *Journal of Plant Interactions*, 9(1): 488–493.