

宁夏回族自治区和浙江省光肩星天牛对柳属植物的寄主适应性

郭 帅¹ 谷 奇¹ 陆鹏飞^{1*} 乔海莉^{2*} 李玉春³

(1. 北京林业大学林学院, 林木资源高效生产全国重点实验室, 北京 100083; 2. 中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193; 3. 内蒙古自治区阿拉善盟额济纳旗林业和草原局胡杨研究所, 额济纳 735400)

摘要: 为解析光肩星天牛 *Anoplophora glabripennis* 在宁夏回族自治区和浙江省对金丝垂柳 *Salix babylonica* × *S. alba-vitellina* 和旱柳 *S. matsudana* 的为害差异, 通过代谢组学分析 2 种柳树木质部次生代谢产物的差异, 利用 16S rDNA 测序技术检测来自 2 个地区的光肩星天牛幼虫在取食原生地寄主后肠道细菌群落的组成, 测定其肠道消化酶、解毒酶和保护酶的活性, 并将 2 种柳树的次生代谢产物分别与光肩星天牛肠道细菌及肠道酶进行 Spearman 相关性分析。结果表明, 在金丝垂柳和旱柳木质部中共筛选出 26 种抗虫性差异代谢产物, 其中苯甲酸及其衍生物、肉桂醛、吲哚及其衍生物和有机氯化合物在旱柳样本中含量更高; 而黄酮类化合物、芪类化合物、咪唑并嘧啶和二嗪则在金丝垂柳样本中含量更高。以旱柳为食的幼虫肠道优势菌属为肠球菌属 *Enterococcus*、拉乌尔菌属 *Raoultella*、肠杆菌科未确定属、假单胞菌属 *Pseudomonas*、肠杆菌属 *Enterobacter* 和纤维单胞菌属 *Cellulomonas*; 以金丝垂柳为食的幼虫肠道优势菌属则为拉乌尔菌属和 *Gibbsiella*。取食旱柳的幼虫肠道中外切 β -1,4-葡聚糖酶、羧酸酯酶、谷胱甘肽 S 转移酶和细胞色素 P450 酶的活性均显著高于取食金丝垂柳幼虫。金丝垂柳中黄酮类化合物含量高且变量投影重要性分析值较大, 推测能被肠道内优势菌属拉乌尔菌属和 *Gibbsiella* 有效代谢, 因此解毒酶活性处于较低水平, 且拉乌尔菌属和 *Gibbsiella* 大量增殖; 在取食旱柳的幼虫肠道中没有能有效代谢苯甲酸及其衍生物和肉桂醛等化学物质的细菌群落存在, 从而引起解毒酶活性显著提升以减少受到的毒害作用。表明在光肩星天牛适应寄主植物的过程中, 其肠道细菌在对寄主次生代谢产物的代谢过程中发挥着重要作用。

关键词: 光肩星天牛; 代谢组学; 肠道微生物; 肠道酶活; 柳属

Host adaptation of Asian longhorn beetle *Anoplophora glabripennis* to *Salix* species in Ningxia and Zhejiang, China

Guo Shuai¹ Gu Qi¹ Lu Pengfei^{1*} Qiao Haili^{2*} Li Yuchun³

(1. State Key Laboratory of Efficient Production of Forest Resources, College of Forestry, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 2. The Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China; 3. Diversiform-leaved Poplar Institute, Ejina Banner Forestry and Grassland Bureau, Alxa League, Ejina 735400, Inner Mongolia Autonomous Region, China)

Abstract: To investigate the difference in the damages of *Salix babylonica* × *S. alba-vitellina* and *S. matsudana* caused by Asian longhorn beetle *Anoplophora glabripennis* in Ningxia Hui Autonomous Region and Zhejiang Province, the differences in the secondary metabolites of the xylem of the two willow trees were analyzed by metabolomics. 16S rDNA sequencing technology was used to detect the intesti-

基金项目: 国家自然科学基金(32371889), 国家重点研发计划(2023YFC2604802), 内蒙古自治区阿拉善盟科技计划项目(AMYY2022-14)

* 通信作者 (Authors for correspondence), E-mail: lpengfei224@126.com, qhl193314@sina.com

收稿日期: 2022-11-03

nal bacterial community composition of *A. glabripennis* larvae from two regions after feeding on *S. babylonica* × *S. alba-vitellina* or *S. matsudana*. The activities of intestinal digestive enzymes, detoxification enzymes and protective enzymes were also measured. Spearman correlation analysis was carried out between the secondary substances of two *Salix* species and intestinal bacteria and enzyme activity of *A. glabripennis*. The results showed that a total of 26 insect-resistant differential metabolites were screened from the xylem of *S. babylonica* × *S. alba-vitellina* and *S. matsudana*. Among them, the contents of benzoic acid and its derivatives, cinnamyl aldehyde, indole and its derivatives, and cinnamyl aldehyde were higher in *S. matsudana*. In contrast, the expressions of flavonoids, stilbene, ethyleneurea, and diazine were higher in *S. babylonica* × *S. alba-vitellina*. The dominant larval intestinal bacterial genera on *S. matsudana* were *Enterococcus*, *Raoultella*, unidentified Enterobacteriaceae, *Pseudomonas*, *Enterobacter* and *Cellulomonas*. *Raoultella* and *Gibbsiella* were the dominant larval intestinal bacteria of *A. glabripennis* feeding on *S. babylonica* × *S. alba-vitellina*. The activities of exo- β -1,4-glucanase, lipase, carboxylesterase, glutathione-S-transferase and cytochrome P450 activities in the intestinal samples of larvae feeding on *S. matsudana* were significantly higher than those on *S. babylonica* × *S. alba-vitellina*. The content of flavonoid in *S. babylonica* × *S. alba-vitellina* was high with a substantial variable importance in the projection value. It was speculated that the dominant bacterial species from the genus of *Raoultella* and *Gibberella* in the gut of *A. glabripennis* could easily metabolize flavonoids, leading to predominantly inactivated detoxification enzymes, which was accompanied by significant quantities of the bacterial community of *Raoultella* and *Gibberella*, although the levels of detoxification enzyme activity in the larval intestine were higher likely due to the absence of bacterial populations that can efficiently metabolize substances such as benzoic acid and its derivatives and cinnamyl aldehyde in the gut of *A. glabripennis*. The results indicated that, during the adaptation process of *A. glabripennis* to its host plant, the bacteria in its gut play a crucial role in the metabolism of the host's secondary metabolites.

Key words: *Anoplophora glabripennis*; metabonomics; intestinal microbes; intestinal enzyme activity; *Salix*

植物与植食性昆虫在持续互作进化过程中形成了各自的适应性策略。植物在应对病虫害侵染时一般处于被动防御状态,但在受到昆虫为害时可产生有毒的次生代谢物质,以化学防御方式阻止植食性昆虫取食,这些次生代谢物质包括萜类化合物、苯及其衍生物、生物碱、黄酮类化合物和肉桂醛等(汤德良,1999)。黄酮类化合物作为一类重要的植物次生代谢产物一直被认为具有抵御昆虫侵害的作用,如大豆 *Glycine max*、垂枝桦 *Betula pendula* 和茄属 *Solanum* 植物等会利用黄酮类化合物抵御昆虫侵害(Martemyanov et al., 2012; Bentivenha et al., 2018; Vosman et al., 2018)。用于香料和日用化工行业的肉桂醛也具有抗虫作用,如 Jeon et al.(2017)发现肉桂醛在防控新纪录的广翅蜡蝉属 *Ricania* sp. 害虫种群时具有显著的毒杀活性; Zaio et al.(2018)评测了12种肉桂醛相关化合物对玉米象 *Sitophilus zeamais* 成虫的毒杀和驱避效果,其中杀虫效果显著的有肉桂醛和 α -甲基肉桂醛,驱避效果最好的是 α -溴代肉桂醛。

昆虫为消减植物次生代谢产物的伤害,在同植物长期的协同进化过程中演化出了针对性的解毒能力,即借助于体内解毒酶代谢摄入的外源性有毒物质。昆虫的解毒酶通常包括羧酸酯酶、细胞色素P450酶和谷胱甘肽S转移酶3个主要的超家族酶系。斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 体内的细胞色素P450酶和谷胱甘肽S转移酶在代谢摄入的植物次生物质黄酮、香豆素和花椒毒素过程中发挥了关键作用(Huang et al., 2011; Wang et al., 2015);西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* 摄入经取食诱导处理后次生代谢产物含量升高的番茄 *Lycopersicon esculentum* 叶片后,体内羧酸酯酶活性显著升高,以提高其适应性(蒲恒浒等,2018)。除了自身产生的解毒酶外,昆虫还可以依靠肠道内微生物降解植物次生代谢产物,如黄酮类物质槲皮素在肠道环境内可被链球菌 *Streptococcus* S-2、乳酸菌 *Lactobacillus* L-2、双歧杆菌 *Bifidobacterium* B-9和拟杆菌 *Bacteroides* JY-6等菌群转化为小分子化合物(Santangelo et al., 2019);

同样具有抗虫作用的单宁类物质儿茶素经链球菌属 *Streptococcus*、乳杆菌属 *Lactobacillus* 和真杆菌属 *Eubacterium* 等菌群分解为 5-(3',4'-二羟基苯基)-戊酸内酯(Wiese et al., 2015);沙雷氏菌 *Serratia* sp.、假单胞菌 *Pseudomonas* sp. 和水生拉恩氏菌 *Rahnella aquatilis* 能有效分解红脂大小蠹 *Dendroctonus valens* 取食摄入的 α -蒎烯, 在该虫适应寄主油松 *Pinus tabuliformis* 过程中起到了重要作用(徐乐天, 2016)。

光肩星天牛 *Anoplophora glabripennis* 属鞘翅目天牛科, 该虫主要以幼虫为害植物木质部, 导致树木千疮百孔, 甚至整株枯死(骆有庆和李建光, 1999), 是我国危险性有害生物。目前, 光肩星天牛在中国辽宁、河北和山西等 29 个省(自治区、直辖市)均有分布(李娟等, 2013), 并且在美国、加拿大、奥地利、德国乃至法国亦有光肩星天牛为害的报道(Takács et al., 2008)。光肩星天牛寄主十分广泛, 主要包括杨属 *Populus*、柳属 *Salix*、槭属 *Acer* 和桦属 *Fraxinus* 等植物, 桦属植物对光肩星天牛的抗性相较于柳属植物更强(黄竞芳等, 1992; 王志刚等, 2009)。本课题组在近几年的野外调查中发现, 在宁夏回族自治区(简称宁夏)固原市具旱柳 *Salix matsudana* 和洋白蜡 *F. pennsylvanica* 的生境中, 光肩星天牛不为害传统感虫树种旱柳, 而专一为害传统抗虫树种白蜡; 相反, 在浙江省慈溪市具金丝垂柳 *S. babylonica* \times *S. alba-vitellina* 和洋白蜡 *F. pennsylvanica* 的生境中, 光肩星天牛选择在金丝垂柳上取食产卵, 而不为害洋白蜡。根据国内外相关研究结果, 柳属植物被划分为光肩星天牛喜食树种(乔海莉等, 2007; Straw et al., 2015; Turgeon et al., 2022)。那么, 该虫对其喜食柳属植物的选择为何在不同地区存在差异? 为解析该疑问, 本研究对宁夏固原市和浙江省慈溪市的旱柳及金丝垂柳的非靶向次生代谢产物进行分析, 明确 2 种柳属植物在应对光肩星天牛为害时抗虫性物质的含量差异, 通过 16S rDNA 测序技术检测用原生寄主植物枝干饲养的光肩星天牛幼虫肠道细菌群落物种组成, 同时测定中肠消化酶、解毒酶和保护酶的活性, 系统分析 2 种柳属植物的次生代谢产物差异及其与光肩星天牛肠道细菌物种组成和酶活性之间的相关性, 以期解析 2 种柳属植物和光肩星天牛之间的互作机制, 为该害虫的防治提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料

供试昆虫: 2019 年 5—6 月, 在宁夏固原市(36°01'

N, 106°28' E) 和浙江省慈溪市(30°10' N, 121°14' E) 分别选取光肩星天牛受害树木, 砍伐后使用石蜡对木段切口处进行密封, 带回北京林业大学森林保护研究室进行处理, 从中取出光肩星天牛幼虫, 按照地区严格分开并用原生寄主旱柳或金丝垂柳木质部饲养。在实验室内通过测量头壳宽度鉴定幼虫龄期(贺萍和黄竞芳, 1992), 挑选大小以及健康状态一致的 3 龄幼虫(头壳宽度约为 2.40~3.16 mm) 供试。

供试植物: 分别在宁夏固原市和浙江省慈溪市收集旱柳和金丝垂柳的健康多年生枝条。所取枝条为主干分枝, 距离地面 2 m 左右, 直径约为 10~15 cm。将采集到的植物枝条带回实验室洗净, 低温条件下去除韧皮部, 保留木质部供试。

试剂: 色谱级甲醇、乙腈, 德国 Merck 公司; 98% 甲酸和 98% L-2-氯-苯丙氨酸, 美国 Sigma-Aldrich 公司; 细菌 DNA 提取试剂盒、50×TAE 缓冲液, 北京拜尔迪生物技术有限公司; FastPfu 聚合酶, 天根生化科技(北京)有限公司; AxyPrep DNA Gel Extraction Kit, 美国 Axy-Gen 公司; Nextflex[®] Rapid DNA-Seq Kit, 美国 Bioo Scientific 公司; β -葡萄糖苷酶测试盒、外切 β -1,4-葡聚糖酶测试盒、内切 β -1,4-葡聚糖酶测试盒、脂肪酶测试盒, 苏州科铭生物技术有限公司; 羧酸酯酶测试盒、谷胱甘肽 S 转移酶测试盒、细胞色素 P450 酶测试盒、过氧化物酶测试盒、超氧化物歧化酶测试盒、过氧化氢酶测试盒, 上海酶联生物技术有限公司; 其余试剂均为国产分析纯。

仪器: LHS-150SC 恒温恒湿培养箱, 上海一恒科技有限公司; Tissuelyser-24 多样品组织研磨机, 上海净信实业发展有限公司; 1290 Infinity 超高效液相色谱仪、6545 UHD and Accurate-Mass Q-TOF 质谱仪, 美国 Agilent 科技有限公司; Thermo Fresco 21 离心机、Nanodrop 8000 超微量紫外分光光度计、Nanodrop 2000 超微量分光光度计、QuantusTM Fluorometer 荧光计, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司; DYCP-31DN 电泳仪, 北京六一仪器厂; Gel Doc XR+ 凝胶成像系统、T100TM 热循环 PCR 仪, 美国 Bio-Rad 公司。

1.2 方法

1.2.1 旱柳和金丝垂柳木质部稳定性分析和成分检测

采用超高效液相色谱-质谱(liquid chromatograph-mass spectrometer, LC-MS) 联用仪检测旱柳和金丝垂柳的木质部成分。分别称取旱柳和金丝垂柳的木质部样品 20 mg 于 EP 管中, 加入 500 μ L 甲醇溶液(含 5 μ g/mL L-2-氯-苯丙氨酸作为内标), 50 Hz 条件下匀浆 4 min, 涡旋 2 min, 4 °C、12 000 r/min 条

件下离心 10 min, 分别取上清液待测。同时分别取 20 μL 旱柳和金丝垂柳木质部样本上清液混合后作为质控样本待测。液相色谱柱为 Waters X Select R HSS T3 柱(填充颗粒粒径 2.5 μm , 长 100 mm、内径 2.1 mm);流动相 A 为水溶液(含 0.1% 甲酸), 流动相 B 为乙腈(含 0.1% 甲酸);流速为 0.35 mL/min;柱温为 40 $^{\circ}\text{C}$;进样量为正离子模式 1 μL 、负离子模式 2 μL ;优化的色谱梯度为 0~2 min, 5% 流动相 B;2~10 min, 5%~95% 流动相 B;10~15 min, 95% 流动相 B;进样时间间隔为 5 min, 用于平衡系统。质谱仪检测时使用正离子模式结合负离子模式, 并优化检测参数:毛细管电压为 3.5 kV, 干燥气流为 10 L/min, 气体温度为 325 $^{\circ}\text{C}$, 喷雾器压力为 137.9 kPa, 裂解电压为 120 V, 锥孔电压为 45 V, 质谱采集质核比范围为 50~3 000 m/z。

使用仪器自带 Agilent Masshunter Qualitative Analysis B.08.00 软件将测得的原始数据转换成通用格式(mz.data);在 R 4.0.3 软件平台使用 XCMS 程序包进行质谱峰识别、保留时间校正以及自动积分等预处理;再将经 XCMS 程序处理后的质谱峰面积用内标进行归一化处理, 得到归一化的全部代谢产物离子峰面积, 即代谢产物的定量分析, 结合 HMDB 在线数据库对代谢产物进行匹配和定性, 得到包含代谢产物名称、质核比对、质谱峰面积的可视化矩阵;使用 R 语言函数包 MetaboAnalyst 对可视化矩阵数据进行预处理, 分别采用函数 ReplaceMin、FilterVariable 和 Normalization 进行缺失值处理、去噪声处理和二次归一化;然后利用 R 4.0.3 软件采用主成分分析(principal component analysis, PCA)法对质控样本和实际样本可视化矩阵数据的组间差异和组内聚类进行考察, 以此反映各组之间的真正差异, 并剔除离群值, 从而检验仪器提取到的样本数据的稳定性;同时采用正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares discrimination analysis, OPLS-DA)法来筛选 2 种柳属植物的差异代谢产物并构建 OPLS-DA 模型, 模型的解释率 R^2 及预测率 Q^2 是 2 个重要参数, 对模型进行 200 次的响应排序检验来衡量是否存在过拟合现象, 计算 P 值和 VIP(variable importance in the projection) 值, VIP 值表示该物质在组间差异的贡献率, VIP 值越大, 表示贡献率越大。在对比分析旱柳和金丝垂柳木质部样本差异代谢产物数据时, 利用函数 Ttests.Anal 进行 t 检验, 采用函数 fold_change.csv 生成 2 组数据的差异倍数(fold change, FC)值, 即金丝垂柳代谢产物含量

与旱柳代谢产物含量的比值, 并结合 VIP 值以及 P 值筛选抗虫性差异代谢产物。

1.2.2 光肩星天牛幼虫肠道微生物 DNA 测序

挑选直径 4~5 cm 左右的旱柳和金丝垂柳健康枝条, 截成 5 cm 长的小段, 去除韧皮部后置于 5 mL 离心管中。分别取来自宁夏和浙江省的光肩星天牛 3 龄幼虫并饥饿 24 h, 再分别将幼虫放入装有各自原生地寄主木段的离心管中, 每管 1 头, 在温度 27~30 $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 40%~60%、全黑暗条件的恒温恒湿培养箱中培养;植物枝条每 2 d 更换 1 次, 连续饲养 1 个月。饲喂试验结束后再次将所有供试幼虫饥饿 24 h, 排空肠道内食物残渣后放入 75% 乙醇中浸泡 1 min 进行体表消毒;取出虫体用无菌水清洗 3 次, 放入盛有 PBS 缓冲液的无菌培养皿中, 冰浴解剖;截取中肠放入装有 1 mL PBS 缓冲液的无菌离心管中, 研磨得到肠道匀浆液。

使用细菌 DNA 提取试剂盒提取取食 2 种柳属植物木质部的光肩星天牛 3 龄幼虫肠道细菌的总 DNA。将取食同一寄主的 10 头幼虫肠道匀浆液混合摇匀后参照说明书提取总 DNA, 并通过超微量分光光度计检测 DNA 纯度和浓度。10 头幼虫为 1 组, 试验重复 3 组。将检测合格后的 DNA 样本采用引物 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 806R (5'-GGACTTACHVGGGTWTCTAAT-3') 进行 16S rDNA 序列扩增, 引物委托上海美吉生物医药科技有限公司合成。20 μL PCR 反应体系: 5×FastPfu 缓冲液 4 μL 、2.5 mmol/L dNTPs 2 μL 、5 $\mu\text{mol/L}$ 上下游引物各 0.8 μL 、FastPfu 聚合酶 0.4 μL 、10 ng/ μL DNA 模板 1 μL , ddH₂O 补足 20 μL 。PCR 反应程序: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 75 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 45 s, 共循环 27 次; 72 $^{\circ}\text{C}$ 终延伸 10 min, 最后在 4 $^{\circ}\text{C}$ 时取出 PCR 产物并使用 2% 琼脂糖凝胶进行电泳检测, 回收目的产物, 利用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit 进行纯化, 经 Tris-HCl 缓冲液洗脱, 再经 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 通过 Gel Doc XR+ 凝胶成像系统对回收产物进行定量检测。最后使用 Nextflex® Rapid DNA-Seq Kit 构建幼虫中肠基因组 DNA 文库, 委托上海美吉生物医药科技有限公司进行测序。

测序所得原始序列利用 Fastp 0.19.6 软件(<https://github.com/OpenGene/fastp>) 进行质量控制; 使用 FLASH 在线程序(<https://ccb.jhu.edu/software/FLASH/index.shtml>) 进行 pair-end 双端序列拼接; 用 Uparse 7.0.1090 软件(<http://www.drive5.com/usearch/>) 按照

97%相似性对序列进行分类单元(operational taxonomic unit, OTU)聚类并去除嵌合体;使用RDP classifier 2.11软件(<https://sourceforge.net/projects/rdp-classifier/>)对每条序列进行物种分类学注释,并与16S rRNA Silva数据库(<http://www.arb-silva.de>)进行比对,在门、属分类水平上统计各处理光肩星天牛幼虫肠道样品中的细菌组成,设置比对阈值为70%。通过mothur 1.30.2指数分析软件(<https://mothur.org/wiki/calculators/>)对97%相似性的OUT进行Alpha多样性指数分析,包括反映群落丰富度的Chao指数和ACE指数,反映群落均匀度的Shannon指数和Simpson指数以及反映群落覆盖度的Coverage指数。基于获得的物种分类学信息,利用R 4.0.3软件plyr包计算光肩星天牛幼虫肠道细菌的相对丰度,绘制肠道细菌群落柱状图,并在属分类水平对相对丰度高于0.01%的肠道细菌进行卡方检验,以筛选差异菌属。

1.2.3 光肩星天牛幼虫肠道酶活性测定

在冰上将1.2.2中取食不同柳树植物的光肩星天牛3龄幼虫进行解剖,取出中肠,每组设置6次重复,共解剖12头。将中肠和预冷的pH 7.4 PBS冲液按照质量体积比1:9的比例进行冰浴匀浆,于4℃以8 000 r/min离心10 min,取上清液即为酶原液。利用相应试剂盒按照说明书测定光肩星天牛幼虫中肠内 β -葡萄糖苷酶、外切 β -1,4-葡聚糖酶、内切 β -1,4-葡聚糖酶、脂肪酶、羧酸酯酶、谷胱甘肽S转移酶、细胞色素P450酶、过氧化物酶、超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的活性,所有试验均设3次技术重复。

1.2.4 Spearman相关性分析

利用SPSS 25.0软件对1.2.1所得抗虫差异代谢产物相对含量与1.2.2所得光肩星天牛幼虫肠道细菌相对丰度及1.2.3所得光肩星天牛幼虫中肠酶活性进行Spearman相关性分析,获得相关性数值矩阵。

1.3 数据分析

采用SPSS 25.0软件对植物次生代谢产物相对含量和光肩星天牛肠道酶活性进行统计分析,应用t检验法进行差异显著性检验;利用R 4.0.3软件stats包和Python 3.7软件scipy包对2组样本间的物种丰度差异显著性进行卡方检验。

2 结果与分析

2.1 旱柳和金丝垂柳木质部代谢产物检测结果

2.1.1 木质部代谢产物质谱图分析结果

旱柳和金丝垂柳木质部样本的代谢产物在正负

离子模式下响应的总离子流图显示,同种离子模式下旱柳和金丝垂柳木质部样本的总离子流出峰的时间点较一致,但相对丰度存在差异(图1),表明利用LC-MS方法检测到的各种代谢产物在不同寄主植物样本中存在差异。

2.1.2 系统稳定性以及整体主成分分析

在正离子模式(图2-A)和负离子模式(图2-B)下的PCA结果显示,旱柳和金丝垂柳木质部样本的分布区别明显,离散程度较小,表明各处理样本间的重复性较好。质控样本聚集在一起,组内差异很小,表明整个分析系统稳定性良好,试验结果可靠。

对旱柳和金丝垂柳木质部样本的PCA结果表明,在正离子模式(图2-C)和负离子模式(图2-D)下呈现出组间分离趋势,代表次生代谢产物存在组间差异。OPLS-DA结果表明,正离子模式下模型的解释率 R^2 为0.987,预测率 Q^2 为0.956(图2-E);负离子模式下模型的解释率 R^2 为0.968,预测率 Q^2 为0.946(图2-F);正负离子模式下模型的解释率 R^2 和预测率 Q^2 均大于0.4,表明模型能够可靠解释2组样本间的代谢差异。对OPLS-DA模型的响应排序检验结果表明,直线斜率较大,不存在过拟合现象,模型可靠,可用于本研究中差异代谢产物判定与筛选(图2-G~H)。

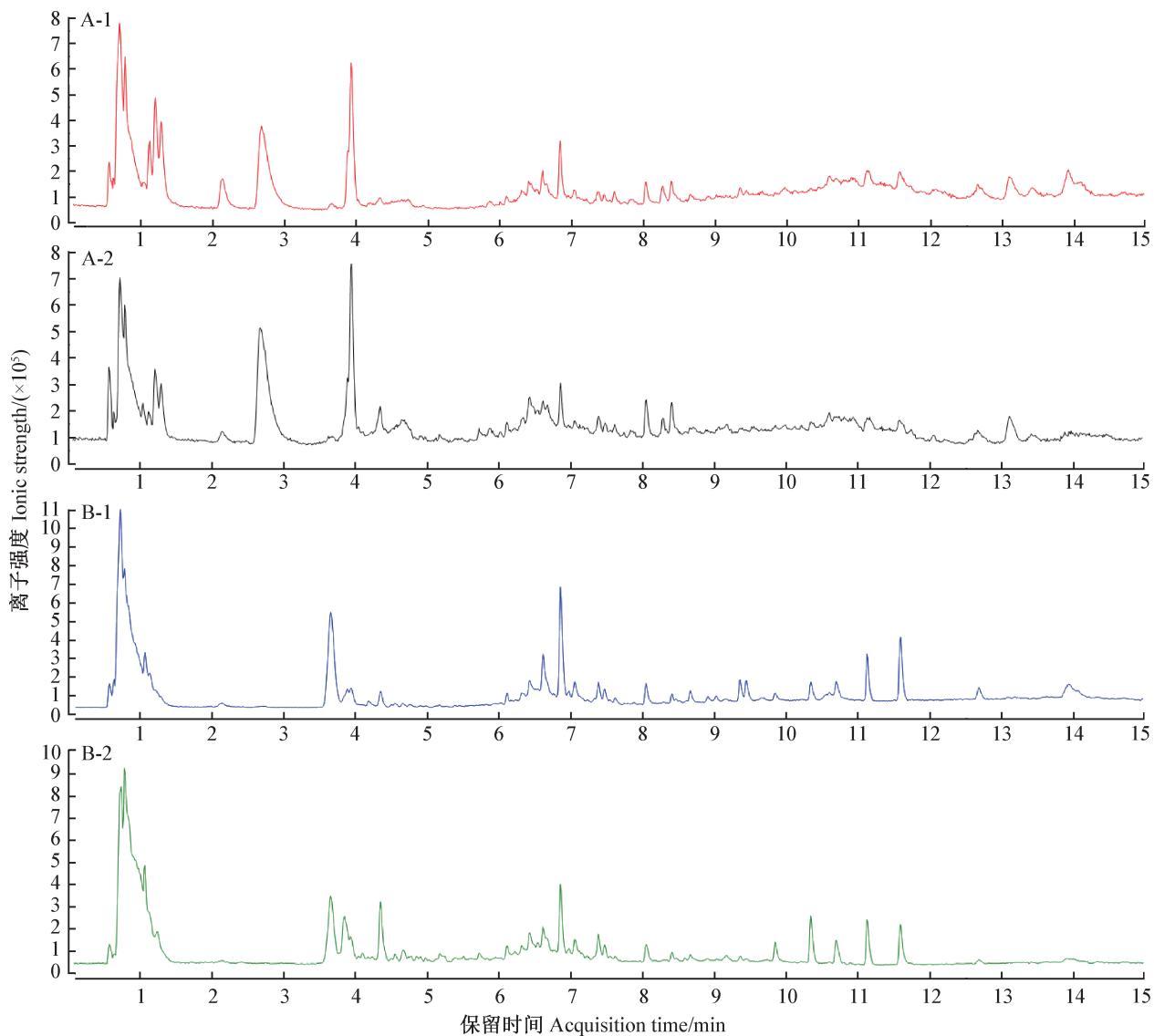
2.1.3 代谢产物鉴定及抗虫性差异代谢产物筛选和分析

在旱柳和金丝垂柳木质部样品中筛选鉴定出79种差异代谢产物,其中21种不能确定类型,其余58种代谢差异产物可分为17类,其中,有机氧化合物、羧酸及其衍生物、脂肪酰基、黄酮类化合物、苯及其取代衍生物、甘油磷脂、咪唑核糖核苷和核糖核苷酸这7类的累计VIP值大于等于5.008,表明这些代谢差异产物在旱柳和金丝垂柳间的差异贡献率较大(表1)。分析这2组样本中代谢产物的FC值,发现甘油磷脂、咪唑核糖核苷和核糖核苷酸、肉桂醛、吲哚及其衍生物、有机氮化合物、嘌呤核苷和鞘脂这7类代谢产物的FC值小于1,即在旱柳中的相对含量大于在金丝垂柳中的相对旱柳,其余代谢产物的FC值均大于1(表1)。

初步筛选后,发现羧酸及其衍生物、黄酮类化合物、苯及其取代衍生物、肉桂醛类化合物、吲哚及其衍生物、有机氮化合物、二嗪、咪唑并嘧啶和羟基酸及其衍生物这9类共26种抗虫性相关差异代谢产物占已鉴定出的差异代谢产物总数的44.83%。综合考量植物代谢产物与抗虫作用的相关性以及VIP值>1和FC值>2的标准,选取黄酮类化合物、苯及其取代衍生物、肉桂醛类化合物、吲哚及其衍生物、有

机氮化合物、二嗪和咪唑并嘧啶这7类与光肩星天牛幼虫肠道微生物组成及酶活性进行相关性分析。苯及其取代衍生物所包含的抗虫物质在不同样本中高表达,使得FC值<2,决定选取其中的苯甲酸及其衍生物和芪类化合物进一步展开分析。筛选到的抗

虫次生代谢产物在金丝垂柳和旱柳中的含量存在差异,吲哚及其衍生物、苯甲酸及其衍生物、肉桂醛和有机氮化合物在旱柳样本中的含量更高,芪类化合物、咪唑并嘧啶、黄酮类化合物和二嗪则在金丝垂柳样本中的含量更高(图3)。



A~B: 分别为正、负离子模式下旱柳和金丝垂柳木质部样本的总离子流图; 1: 旱柳样本; 2: 金丝垂柳样本。A~B: Total ion current diagrams of *S. matsudana* and *S. babylonica* × *S. alba-vitellina* xylem samples in positive and negative ion modes, respectively; 1: sample of *S. matsudana*; 2: sample of *S. babylonica* × *S. alba-vitellina*.

图1 旱柳和金丝垂柳木质部代谢产物的质谱图

Fig. 1 Mass spectrum of metabolites in the xylem of *Salix matsudana* and *Salix babylonica* × *S. alba-vitellina*

2.2 光肩星天牛幼虫肠道微生物检测结果

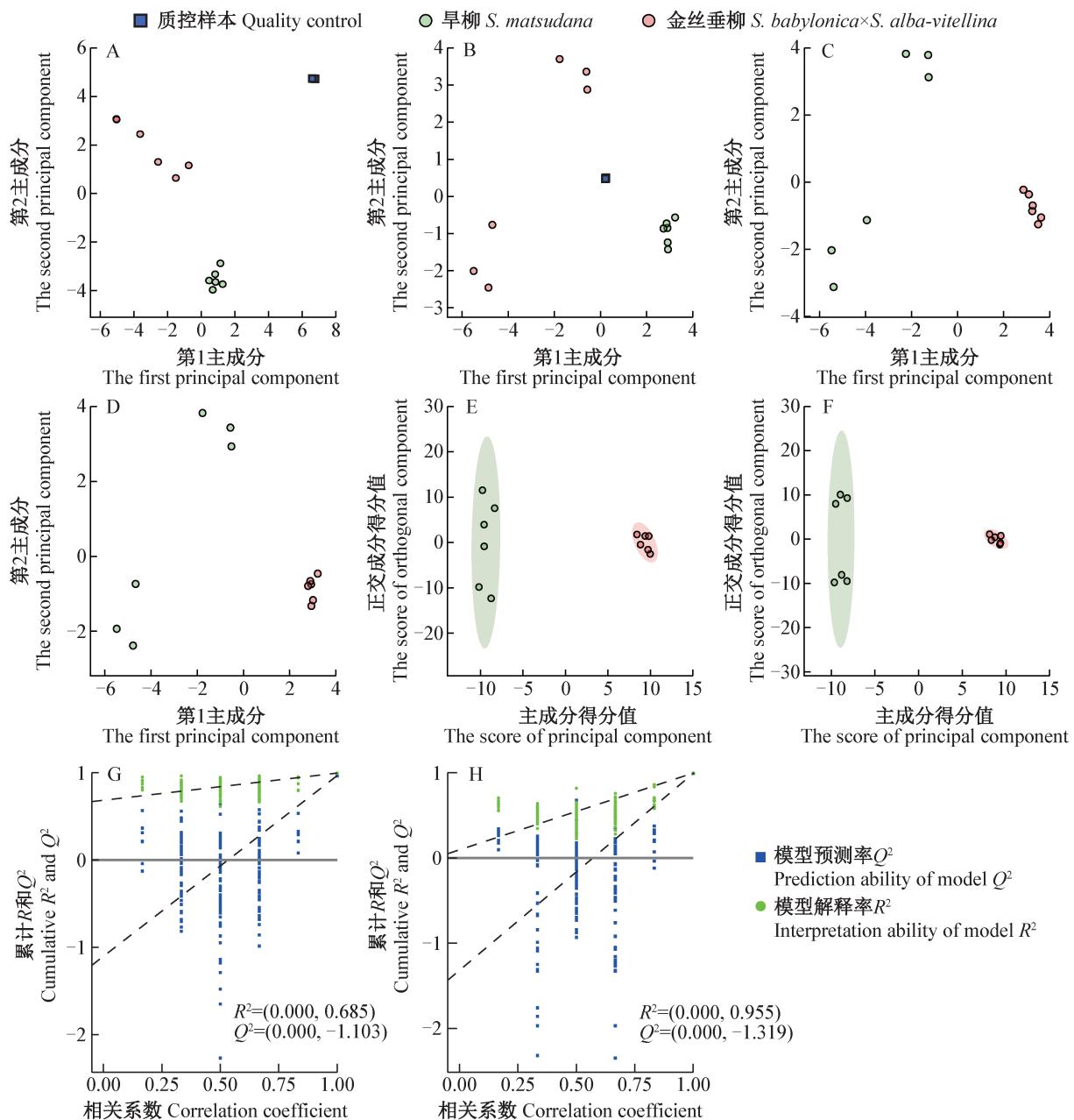
2.2.1 肠道细菌测序结果分析

对光肩星天牛幼虫肠道细菌测序结果进行质控后共获得98 952条有效序列,选择97%相似性阈值对非重复有效序列进行OTU聚类后,共获得38个OTU,分别注释到5门8纲14目24科32属38种细菌(表2)。

根据OTU聚类结果,2组样本共有的OTU为15个。取食旱柳的光肩星天牛3龄幼虫肠道含9个特有OTU,从属分类水平进行分析,分别为戴沃斯菌属*Devosia*、短状杆菌属*Brachybacterium*、棒状杆菌属*Corynebacterium*、纤维单胞菌属*Cellulomonas*、劳尔氏菌属*Ralstonia*、苍白杆菌属*Ochrobactrum*和亮杆菌属*Leucobacter*;取食金丝垂柳的光肩星天牛

3龄幼虫肠道细菌含14个特有OTU,从属分类水平进行分析,分别为梭状芽孢杆菌属 *Clostridium*、链球菌属、微球菌目未确定属、乳球菌属 *Lactococcus*、

葡萄球菌属 *Staphylococcus*、*Dysgonomonas*、片球菌属 *Pediococcus*、变形菌门未确定属、魏斯氏菌属 *Weissella*和放线菌门未确定属。



A~B: 旱柳和金丝垂柳木质部样本与质控样本在正、负离子模式下的PCA得分图; C~D: 旱柳和金丝垂柳木质部样本在正、负离子模式下的OPLS-DA得分图; G~H: 旱柳和金丝垂柳木质部样本OPLS-DA模型的正、负离子模式排列测试图。A~B: PCA positive ion mode scores and negative ion mode scores for the samples from *S. matsudana*, *S. babylonica* × *S. alba-vitellina* and quality control; C~D: PCA positive ion mode scores and negative ion mode scores for xylem samples from *S. matsudana* and *S. babylonica* × *S. alba-vitellina*; E~F: OPLS-DA positive ion mode scores and negative ion mode scores for xylem samples from *S. matsudana* and *S. babylonica* × *S. alba-vitellina*; G~H: positive ion pattern arrangement test diagram and negative ion pattern arrangement test diagram of OPLS-DA model for xylem samples from *S. matsudana* and *S. babylonica* × *S. alba-vitellina*.

图2 仪器系统稳定性分析以及旱柳和金丝垂柳木质部样本的主成分分析和正交偏最小二乘判别分析

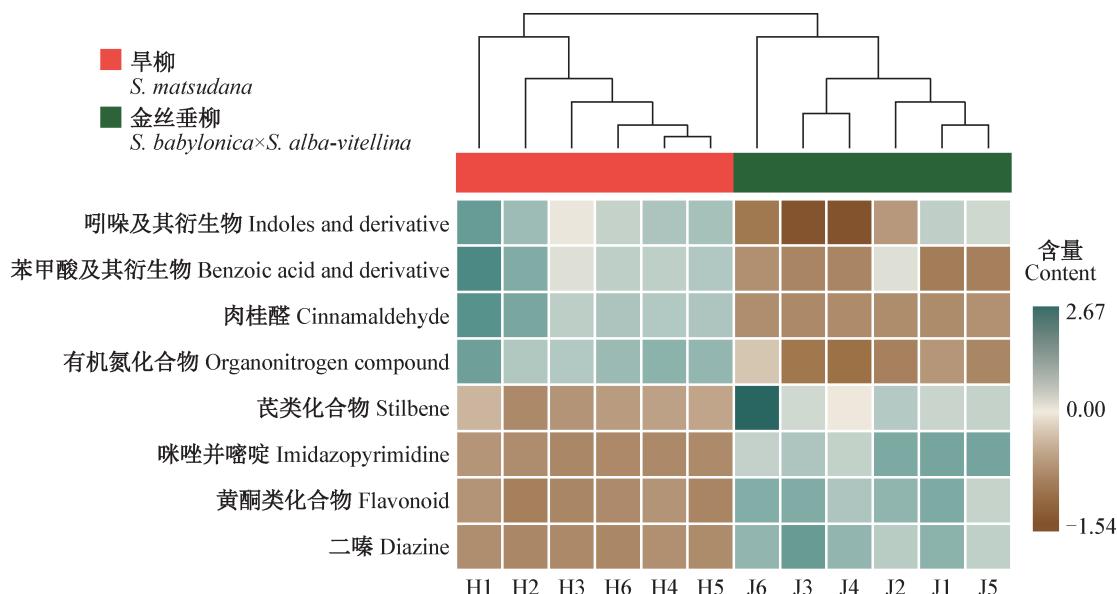
Fig. 2 Investigation of instrument stability during the experiment, principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares discrimination analysis (OPLS-DA) of xylem between *Salix matsudana* and *Salix babylonica* × *S. alba-vitellina*

表1 旱柳和金丝垂柳木质部中抗虫性相关代谢产物分类统计表

Table 1 Classification of metabolites related to insect resistance in xylem of *Salix matsudana* and *Salix babylonica* × *S. alba-vitellina*

物质类别 Category	种类数 No. of species	累积VIP Accumulated VIP	FC
有机氧化合物 Organooxygen compound	12	22.388	1.198
羧酸及其衍生物 Carboxylic acid and derivative	9	16.515	1.056
脂肪酰基 Fatty acyl	10	15.582	1.636
黄酮类化合物 Flavonoid	5	11.606	2.773
苯及其取代衍生物 Benzene and substituted derivative	4	9.618	1.400
甘油磷脂 Glycerophospholipid	5	9.131	0.302
咪唑核糖核苷和核糖核苷酸 Imidazole ribonucleoside and ribonucleotide	1	5.008	0.410
肉桂醛 Cinnamaldehyde	1	3.688	0.062
吲哚及其衍生物 Indole and derivative	2	3.652	0.487
苯并吡喃类 Benzopyran	1	3.068	2.802
有机氮化合物 Organonitrogen compound	2	2.751	0.465
嘌呤核苷 Purine nucleoside	1	1.767	0.688
鞘脂 Sphingolipid	1	1.702	0.388
线性1,3-二芳基丙烷 Linear 1,3-diarylpropanoid	1	1.321	6.935
二嗪 Diazine	1	1.319	3.486
咪唑并嘧啶 Imidazopyrimidine	1	1.227	7.672
羟基酸及其衍生物 Hydroxy acid and derivative	1	1.112	2.763

VIP 表示该物质在组间差异的贡献率, VIP 值越大, 表示贡献率越大。FC 为金丝垂柳代谢产物相对含量与旱柳代谢产物相对含量的比值。VIP indicates the contribution rate of the substance to the difference between groups. The higher the VIP value, the higher the contribution rate. FC value is the content of *Salix babylonica* × *S. alba-vitellina* metabolite compared to the content of *Salix matsudana* metabolite.



H1~H6: 旱柳的6个样本; J1~J6: 金丝垂柳的6个样本。H1~H6: Six samples of *Salix babylonica*; J1~J6: six samples of *Salix babylonica* × *S. alba-vitellina*.

图3 抗虫次生代谢产物在旱柳和金丝垂柳中的含量热图

Fig. 3 Heat map of the contents of insect-resistant secondary metabolites in *Salix matsudana* and *Salix babylonica* × *S. alba-vitellina*

2.2.2 肠道细菌多样性分析

统计取食金丝垂柳和旱柳后光肩星天牛幼虫肠道菌群的Alpha多样性指数,结果显示,取食旱柳的幼虫肠道细菌的Shannon指数、Chao指数和ACE指

数分别为1.524、39.000和34.540,均高于取食金丝垂柳的幼虫肠道细菌相关指数(0.420、31.500和31.890);取食旱柳的幼虫肠道细菌的Simpson指数为0.277,低于取食金丝垂柳的幼虫肠道细菌的

Simpson 指数 0.841, 表明取食旱柳的光肩星天牛幼虫肠道内细菌的丰度更高。取食旱柳和金丝垂柳的

幼虫肠道细菌样本的 Coverage 指数均大于 0.999, 说明测序结果能够准确反映样本中细菌的真实情况。

表 2 光肩星天牛 3 龄幼虫肠道细菌分类统计

Table 2 Species taxonomic statistics of OTUs of intestinal bacteria in the 3rd instar larvae of *Anoplophora glabripennis*

样本名称 Sample name	门 Phylum	纲 Class	目 Order	科 Family	属 Genus	种 Species	序列数量 No. of sequences
旱柳 <i>Salix babylonica</i>	5	5	12	16	22	24	53 127
金丝垂柳 <i>S. babylonica</i> × <i>S. alba-vitellina</i>	5	8	15	19	25	29	45 852

2.2.3 肠道细菌组成分析

在门水平上, 变形菌门和厚壁菌门为取食旱柳样本光肩星天牛 3 龄幼虫肠道中的优势菌门, 相对丰度分别为 58.65% 和 38.99%; 在取食金丝垂柳样本的光肩星天牛 3 龄幼虫肠道中变形菌门占据绝对优势, 相对丰度达 98.40%, 其他种类的细菌只占极少比例(表3)。

在属水平上, 以旱柳为食的光肩星天牛 3 龄幼虫

肠道优势菌属为肠球菌属 *Enterococcus*、拉乌尔菌属 *Raoultella*、肠杆菌科未确定属、假单胞菌属 *Pseudomonas*、肠杆菌属 *Enterobacter* 以及纤维单胞菌属 *Cellulomonas*, 相对丰度分别为 38.99%、31.28%、13.83%、8.34%、3.08% 和 2.21%。以金丝垂柳为食的光肩星天牛 3 龄幼虫肠道优势菌属为拉乌尔菌属和 *Gibbsiella*, 相对丰度分别为 91.59% 和 6.01% (表4)。

表 3 取食 2 种柳属寄主植物后光肩星天牛 3 龄幼虫肠道细菌在门水平上的相对丰度

Table 3 Relative abundances of intestinal bacteria in the 3rd instar larvae of *Anoplophora glabripennis* at phylum level

门 Phylum	after feeding on two host plants of <i>Salix</i>		%
	取食旱柳的幼虫肠道细菌的相对丰度 Relative abundance of intestinal bacteria in the larva feeding on <i>Salix matsudana</i>	取食金丝垂柳的幼虫肠道细菌的相对丰度 Relative abundance of intestinal bacteria in the larva feeding on <i>Salix babylonica</i> × <i>S. alba-vitellina</i>	
变形菌门 <i>Proteobacteria</i>	58.65	98.40	
厚壁菌门 <i>Firmicutes</i>	38.99	1.43	
放线菌门 <i>Actinobacteria</i>	2.34	0.04	
蓝藻门 <i>Cyanobacteria</i>	0.02	0.03	
拟杆菌门 <i>Bacteroidetes</i>	0.00	0.01	
未确定细菌 <i>Unclassified bacteria</i>	0.00	0.01	

2.2.4 差异菌属的筛选

在属分类水平对相对丰度高于 0.01% 的肠道细菌进行卡方检验, 共筛选到 17 个差异菌属(图 4)。其中, 取食旱柳的光肩星天牛 3 龄幼虫肠道细菌中的特异菌属为纤维单胞杆菌属、贝氏谷氨酸杆菌属 *Glutamicibacter*、微杆菌属 *Microbacterium* 和棒状杆菌属 *Corynebacterium*; 较取食金丝垂柳的幼虫肠道细菌的相对丰度显著增加的菌属包括肠球菌属、肠杆菌科未确定属、假单胞菌属、不动杆菌属、肠杆菌属和变形菌纲未确定属。而取食金丝垂柳的光肩星天牛 3 龄幼虫肠道细菌中的特异菌属为乳球菌属、片球菌属、*Dysgonomonas*、乳酸杆菌属 *Lactobacillus* 和魏斯氏菌属; 较取食旱柳的幼虫肠道细菌的相对丰度显著增加的菌属则为拉乌尔菌属和 *Gibbsiella*。

2.3 光肩星天牛幼虫肠道酶活性的变化

2.3.1 取食不同寄主植物后消化酶活性差异

取食旱柳后光肩星天牛 3 龄幼虫肠道中的外切

β -1,4-葡聚糖酶活性($F=13.244, P=0.005$)显著高于取食金丝垂柳后, 而 β -葡萄糖苷酶($F=0.403, P=0.540$)、内切 β -1,4-葡聚糖酶($F=1.174, P=0.304$)和脂肪酶($F=0.590, P=0.460$)的活性在这 2 个处理间差异不显著(图 5-A)。

2.3.2 取食不同寄主植物后解毒酶活性差异

取食旱柳后光肩星天牛 3 龄幼虫肠道内的羧酸酯酶($F=21.902, P=0.001$)、细胞色素 P450 酶($F=20.488, P=0.001$)和谷胱甘肽 S 转移酶($F=77.440, P<0.001$)的活性均显著高于取食金丝垂柳的 3 龄幼虫肠道相应酶活性(图 5-B)。

2.3.3 取食不同寄主植物后保护酶活性差异

光肩星天牛 3 龄幼虫取食旱柳和金丝垂柳后肠道内的过氧化物酶($F=3.186, P=0.105$)、过氧化氢酶($F=2.315, P=0.159$)和超氧化物歧化酶($F=0.263, P=0.619$)的活性均无显著差异(图 5-C)。

表4 取食2种柳属寄主植物后光肩星天牛3龄幼虫肠道细菌在属水平上的相对丰度

Table 4 Relative abundances of intestinal bacteria in the 3rd instar larvae of *Anoplophora glabripennis* at genus level after feeding on two host plants of *Salix*

属 Genus	取食旱柳幼虫肠 道细菌的相对丰度 Relative abundance of intestinal bacteria in the larva feeding on <i>Salix matsudana</i>	取食金丝垂柳幼虫 肠道细菌的相对丰度 Relative abundance of intestinal bacteria in the larva feeding on <i>Salix babylonica</i> × <i>S. alba-vitellina</i>	属 Genus	取食旱柳幼虫肠 道细菌的相对丰度 Relative abundance of intestinal bacteria in the larva feeding on <i>Salix matsudana</i>	取食金丝垂柳幼虫 肠道细菌的相对丰度 Relative abundance of intestinal bacteria in the larva feeding on <i>Salix babylonica</i> × <i>S. alba-vitellina</i>
拉乌尔菌属 <i>Raoultella</i>	31.28	91.59	<i>Dysgonomonas</i>	0.00	0.10
肠球菌属 <i>Enterococcus</i>	38.99	0.24	谷氨酸杆菌 <i>Glutamicibacter</i>	0.04	0.00
肠杆菌科未确定属 Unclassified Enterobacteriaceae	13.83	0.63	变形菌纲未确定属 Unclassified Gammaproteobacteria	1.39	0.02
假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	8.34	0.01	魏斯氏菌属 <i>Weissella</i>	0.00	0.05
不动杆菌属 <i>Acinetobacter</i>	0.23	0.01	戈登氏菌属 <i>Gordonia</i>	0.02	0.03
肠杆菌属 <i>Enterobacter</i>	3.08	0.03	微杆菌属 <i>Microbacterium</i>	0.02	0.00
纤维单胞杆菌属 <i>Cellulomonas</i>	2.21	0.00	根瘤菌属 <i>Rhizobium</i>	0.01	0.00
乳杆菌属 <i>Lactobacillus</i>	0.00	0.06	棒状杆菌属 <i>Corynebacterium</i>	0.01	0.00
乳球菌属 <i>Lactococcus</i>	0.00	0.90	葡萄球菌属 <i>Staphylococcus</i>	0.00	0.01
<i>Gibbsiella</i>	0.48	6.01	其他 Other	0.02	0.03
片球菌属 <i>Pediococcus</i>	0.00	0.16			

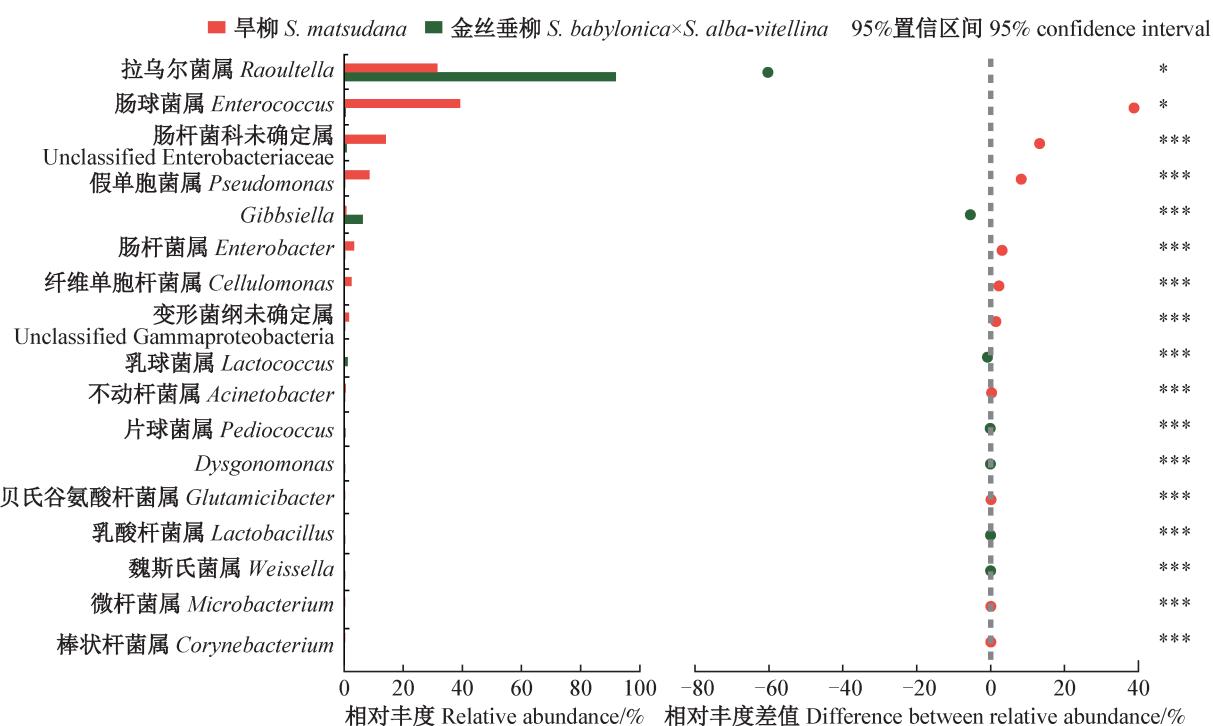


图4 取食旱柳和金丝垂柳后光肩星天牛肠道的差异菌属

Fig. 4 Differential bacteria in *Anoplophora glabripennis* gut after feeding on *Salix matsudana* and *Salix babylonica* × *S. alba-vitellina** 和 *** 分别表示经卡方检验法检验在 $P<0.05$ 和 $P<0.001$ 水平差异显著。* or *** indicates significant difference at $P<0.05$ or $P<0.001$ level by Chi-square test, respectively.

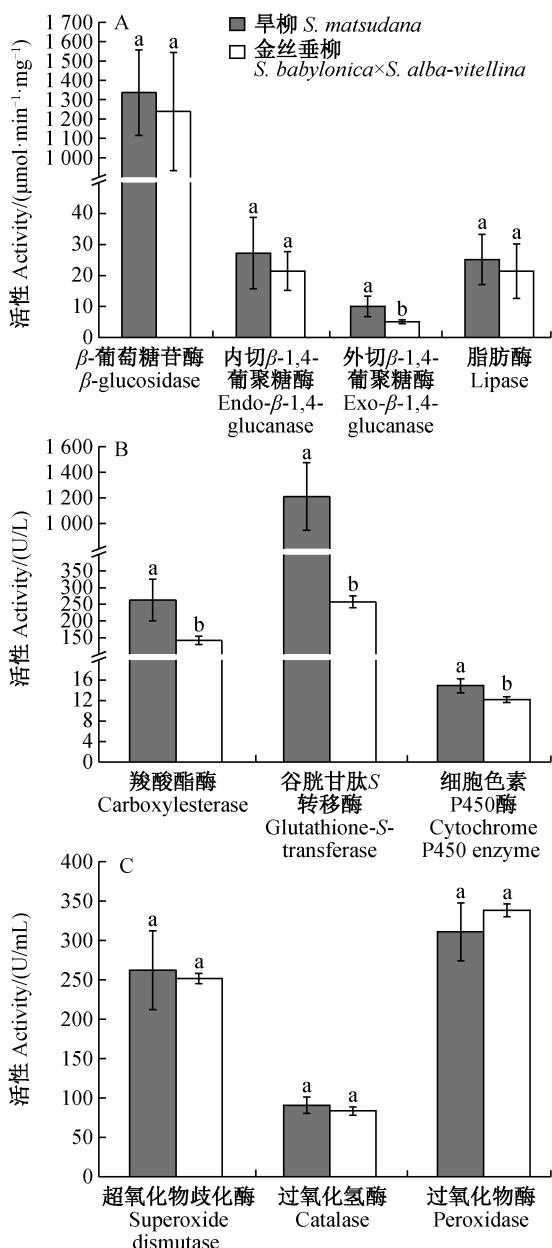


图5 取食旱柳和金丝垂柳后光肩星天牛3龄幼虫肠道中消化酶(A)、解毒酶(B)和保护酶(C)的活性

Fig. 5 Activities of intestinal digestive enzymes (A), detoxification enzymes (B) and protective enzymes (C) in the gut of the 3rd instar larvae of *Anoplophora glabripennis* after feeding on *Salix matsudana* and *Salix babylonica* × *S. alba-vitellina*

图中数据为平均数±标准误。不同小写字母表示同一酶在不同处理间经t检验法检验差异显著($P<0.05$)。Data are mean±SE. Different lowercase letters indicate significant difference among different treatments with the same enzyme by t test ($P<0.05$)。

2.4 Spearman相关性分析

2.4.1 次生代谢产物和肠道细菌的相关性分析

将从2种柳属植物中筛选出的次生代谢产物与光肩星天牛取食不同寄主后的优势肠道菌属进行相

关性分析,发现在金丝垂柳中高表达的代谢产物黄酮类化合物和二嗪均与拉乌尔菌属及 *Gibbsiella* 呈显著正相关($P<0.05$);而在旱柳中高表达的代谢产物肉桂醛与光肩星天牛肠道乳杆菌属呈显著负相关($P<0.05$;表5)。

2.4.2 次生代谢产物和肠道酶活性的相关性分析

将从2种柳属植物中筛选出的次生代谢产物与光肩星天牛取食不同寄主后肠道酶活性进行相关性分析,发现在金丝垂柳中高表达的黄酮类化合物和二嗪均与光肩星天牛肠道羧酸酯酶及谷胱甘肽S转移酶呈显著负相关($P<0.05$);而在旱柳中高表达的苯甲酸及其衍生物与光肩星天牛肠道细胞色素P450酶呈显著正相关($P<0.05$),肉桂醛与光肩星天牛肠道谷胱甘肽S转移酶和外切β-1,4-葡聚糖酶均呈显著正相关($P<0.01$),有机氮化合物也与光肩星天牛肠道外切β-1,4-葡聚糖酶呈显著正相关($P<0.05$;表6)。

3 讨论

植物在长期进化过程中形成了以次生代谢产物防御植食性昆虫为害的策略,能引起植食性昆虫忌避、拒食、中毒,或干扰其消化和对营养成分的吸收(War et al., 2012)。昆虫为克服次生代谢产物的毒害作用,利用解毒酶系进行解毒和排毒,此外肠道内共生菌也发挥了一定的作用(董钧锋等,2002)。凭借这种机制,光肩星天牛能够适应上百种不同的寄主植物,并且因为摄食广度和地理分布之间的正相关关系使其地理分布也更广泛(Slatyer et al., 2013)。然而同属寄主植物的感虫性并不一致,如光肩星天牛对分别位于宁夏和浙江省的旱柳和金丝垂柳的为害情况截然不同。本研究结果表明,旱柳和金丝垂柳木质部的次生代谢产物存在显著差异,表明各自采用不同的防御策略应对昆虫为害。相较于旱柳,在金丝垂柳木质部含量更高的次生代谢产物中,黄酮类化合物被普遍认为具有抗虫性;二嗪和咪唑并嘧啶均属于杂环类化合物,相关衍生物被开发为杀虫剂(徐英等,2011;陈培华等,2012);芪类化合物与黄酮类物质都通过苯丙烷代谢途径合成,通常在高等植物木质部共存,受到外界刺激时两者含量会同时显著提升(Austin & Noel, 2003;孟旭辉等,2010)。芪类化合物在植物体内发挥着化感、抵抗病原真菌和线虫以及威慑植食动物(昆虫)等作用,如芪类化合物能干扰草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 的表皮硬化和蜕皮过程,导致其死亡(Torres et al., 2003;

Chong et al., 2009)。相较于金丝垂柳,在旱柳木质部含量更高的次生代谢产物中,苯甲酸及其衍生物被报道对植食昆虫有趋避作用,其中虫酰肼已经被开发成针对鳞翅目害虫的杀虫剂(司树鼎等,2008; Liu et al., 2010; Alves et al., 2014);肉桂醛除了作为

主要成分对害虫进行驱避和毒杀外,还可以用作拟除虫菊酯的天然增效剂,能使野外防治致倦库蚊 *Culex quinquefasciatus* 的效果显著提升(Yuan et al., 2019);有机氮化合物和吲哚及其衍生物也对昆虫有拒食效果(蔡青年等,2002; Hortsy et al., 2019)。

表5 旱柳和金丝垂柳的差异代谢产物含量与光肩星天牛3龄幼虫肠道细菌相对丰度的相关系数

Table 5 Correlation coefficients between the contents of different metabolites of *Salix matsudana* and *Salix babylonica* × *S. alba-vitellina* and the relative abundances of intestinal bacteria in the 3rd-instar larvae of *Anoplophora glabripennis*

	黄酮类化合物 Flavonoid	苯甲酸及其衍生物 Benzoic acid and derivative	芪类化合物 Stilbene	肉桂醛 Cinnamaldehyde	吲哚及其衍生物 Indole and derivative	有机氮化合物 Organonitrogen compound	咪唑并嘧啶 Imidazopyrimidine	二嗪 Diazine
拉乌尔菌属 <i>Raoultella</i>	0.886*	-0.086	-0.143	-0.657	0.029	-0.029	-0.086	0.829*
肠球菌属 <i>Enterococcus</i>	-0.314	0.086	0.029	0.200	-0.486	0.143	-0.600	-0.029
肠杆菌科未确定属	-0.371	0.143	0.257	0.486	-0.143	0.371	-0.429	-0.314
Unclassified								
Enterobacteriaceae								
假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	-0.314	0.086	0.029	0.200	-0.486	0.143	-0.600	-0.029
<i>Gibbsiella</i>	0.886*	-0.086	-0.143	-0.657	0.029	-0.029	-0.086	0.829*
肠杆菌属 <i>Enterobacter</i>	-0.314	0.086	0.029	0.200	-0.486	0.143	-0.600	-0.029
纤维单胞杆菌 <i>Cellulomonas</i>	-0.455	0.273	0.213	0.395	-0.395	0.213	-0.577	-0.273
变形菌纲未确定属	-0.314	0.086	0.029	0.200	-0.486	0.143	-0.600	-0.029
Unclassified								
Gammaproteobacteria								
乳球菌属 <i>Lactococcus</i>	0.759	-0.273	-0.273	-0.638	0.152	-0.152	0.213	0.698
不动杆菌属 <i>Acinetobacter</i>	0.759	-0.273	-0.273	-0.638	0.152	-0.152	0.213	0.698
片球菌属 <i>Pediococcus</i>	0.759	-0.273	-0.273	-0.638	0.152	-0.152	0.213	0.698
<i>Dysgonomonas</i>	0.759	-0.273	-0.273	-0.638	0.152	-0.152	0.213	0.698
谷氨酸杆菌 <i>Glutamicibacter</i>	-0.319	0.058	0.174	0.406	-0.203	0.348	-0.464	-0.203
乳杆菌属 <i>Lactobacillus</i>	0.696	-0.232	-0.493	-0.812*	-0.029	-0.377	0.116	0.696
魏斯氏菌属 <i>Weissella</i>	0.759	-0.273	-0.273	-0.638	0.152	-0.152	0.213	0.698
戈登氏菌属 <i>Gordonia</i>	-0.319	0.058	0.174	0.406	-0.203	0.348	-0.464	-0.203
微杆菌属 <i>Microbacterium</i>	-0.455	0.273	0.213	0.395	-0.395	0.213	-0.577	-0.273

表示经 Spearman 相关性分析法检验在 $P<0.05$ 水平(双侧)显著相关。^{} indicates significant correlation at $P<0.05$ level (bilateral) by Spearman correlation analysis.

光肩星天牛肠道细菌的相对丰度在取食不同寄主植物后出现明显不同,可能是受到了次生代谢产物的抑制或刺激。如广泛存在于自然界各种生物肠道内的粪肠球菌 *Enterococcus faecalis* 的生长会受到芪类化合物,如 Cajanin stilbene acid 和 Tapinarof 的抑制(Tan et al., 2020; Park et al., 2020)。取食旱柳和金丝垂柳的光肩星天牛3龄幼虫肠道中共有的优势菌属为拉乌尔菌属,推测该菌属在光肩星天牛幼虫取食寄主植物过程中发挥着重要作用。同样,取食2种不同寄主植物的幼虫肠道酶活性也有着显著差异,尤其是解毒酶,在取食旱柳后光肩星天牛3龄幼虫肠道中的解毒酶活性均显著高于取食金丝垂柳后。初步推测旱柳中含量高的次生代谢产物对光肩星天牛有着较强的毒害作用,导致解毒酶活性

显著提升。

在分析金丝垂柳中高表达的抗虫性次生代谢产物与光肩星天牛幼虫肠道细菌组成、肠道酶活性的相关关系时发现,二嗪与肠道细菌、酶活性的相关性和黄酮类化合物相似,咪唑并嘧啶与肠道细菌、酶活性无显著相关性,以上两者的VIP值均较低,不再进行详细分析。光肩星天牛幼虫肠道细菌以及酶活性与芪类化合物之间无显著相关性,无法断定不同菌属相对丰度和肠道酶活性是否受到了芪类化合物的影响。可能由于芪类化合物存在构效关系,不同异构体之间的抗虫作用存在显著差异,有些甚至没有观察到杀虫活性(McComic et al., 2021)。由此推测本研究所筛选的芪类化合物的杀虫活性不足以对光肩星天牛的取食等生长发育过程造成显著影响。取

食金丝垂柳的光肩星天牛幼虫肠道细菌中属于肠杆菌科的拉乌尔菌属、*Gibbsiella*、未确定属和肠杆菌属的相对丰度总计为98.26%，显著高于取食旱柳的光肩星天牛幼虫肠道样本。且本研究中黄酮类化合物与肠杆菌科优势菌属拉乌尔菌属和*Gibbsiella*呈显著正相关。此外，有研究表明肠杆菌科的部分菌属如埃希氏菌属 *Escherichia*、肠杆菌属参与多种黄酮类化合物的O-脱糖基化和脱羟基化(Hur et al., 2000; Braune & Blaut, 2016; Riva et al., 2020)。且黄酮类化合物在肠道中无法被生命体直接代谢，通常由肠道菌群转化分解为简单酚酸进行吸收或排泄(Serra et al., 2012)。由此推测属于同一科的拉乌尔菌属和*Gibbsiella*可能也具有代谢黄酮类化合物的能力，即黄酮类化合物被摄入后，主要被肠道菌属代

谢，这就可以解释取食金丝垂柳的光肩星天牛幼虫肠道的解毒酶活性显著低于取食旱柳的光肩星天牛幼虫肠道样品。该现象与其他昆虫有所不同，如亚洲小车蝗 *Oedaleus asiaticus* 和甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 在摄入黄酮类物质后，解毒相关基因显著上调(Hafeez et al., 2020; Huang et al., 2020)。肠道酶活性和抗虫代谢产物相关系数显示，黄酮化合物和光肩星天牛幼虫肠道羧酸酯酶及谷胱甘肽S转移酶活性呈显著负相关，即由黄酮类化合物施加的解毒压力被肠道细菌分担了，不需要提升解毒酶活性来应对。同样，拉乌尔菌属和*Gibbsiella*可能具有代谢黄酮类化合物的能力从而被大量繁殖并成为优势菌属，在协助光肩星天牛适应金丝垂柳的过程中有着不可替代的作用。

表6 旱柳和金丝垂柳的差异代谢产物含量与光肩星天牛3龄幼虫肠道酶活性的相关系数

Table 6 Correlation coefficients between the contents of different metabolites of *Salix matsudana* and *Salix babylonica* ×
S. alba-vitellina and intestinal enzyme activities in the 3rd-instar larvae of *Anoplophora glabripennis*

	黄酮类 化合物 Flavonoid	苯甲酸及其 衍生物 Benzoic acid and derivative	芪类 化合物 Stilbene	肉桂醛 Cinnamal- dehydye	吲哚及其 衍生物 Indole and derivative	有机氮化合物 Organonitrogen compound	咪唑并嘧啶 Imidazopyri- midine	二嗪 Diazine
β-葡萄糖苷酶β-glucosidase	-0.420	0.126	-0.293	0.196	-0.161	-0.182	-0.098	-0.378
内切β-1,4-葡聚糖酶 Endo-β-1,4-glucanase	-0.273	0.238	-0.385	0.350	0.217	0.364	-0.413	-0.238
外切β-1,4-葡聚糖酶 Exo-β-1,4-glucanase	-0.706	0.727	-0.622	0.895**	0.727	0.846*	-0.671	-0.741
脂肪酶Lipase	-0.042	0.245	-0.042	0.343	0.587	0.371	0.042	-0.105
羧酸酯酶Carboxylesterase	-0.867*	0.713	-0.748	0.811	0.531	0.748	-0.818	-0.867*
谷胱甘肽S转移酶 Glutathione-S-transferase	-0.860*	0.776	-0.706	0.874*	0.601	0.790	-0.755	-0.860*
细胞色素P450酶 Cytochrome P450 enzyme	-0.692	0.839*	-0.671	0.755	0.734	0.811	-0.685	-0.706
超氧化物歧化酶 Superoxide dismutase	0.224	-0.210	0.315	-0.301	-0.427	-0.280	0.168	0.182
过氧化氢酶Catalase	-0.520	0.245	-0.301	0.490	0.350	0.364	-0.245	-0.497
过氧化物酶Peroxidase	0.343	-0.098	0.413	-0.140	0.021	-0.308	0.594	0.315

*和**分别表示经 Spearman 相关性分析法检验在 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 水平(双侧)显著相关。* or ** indicates significant correlation at $P<0.05$ or $P<0.01$ level (bilateral) by Spearman correlation analysis.

在旱柳木质部含量高的抗虫物质中，苯甲酸及其衍生物、肉桂醛、吲哚及其衍生物都被报道对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌有一定的抗性(张丽娟等, 2006; 张赟彬等, 2015; Qin et al., 2020)。在旱柳木质部含量高的次生代谢产物中，只有肉桂醛与光肩星天牛幼虫肠道细菌乳杆菌属呈显著负相关，其他几种次生代谢产物对光肩星天牛肠道细菌没有显著影响。推测有以下3种原因，一是代谢产物的抑菌效果视菌属种类而定。有研究表明肉桂醛对所有测试菌种都有抗性，但对不同菌的抑制程度不同，其中

对金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* 的抑制效果最显著(Sanla-Ead et al., 2012)。在旱柳木质部中含量高的次生代谢产物可能对光肩星天牛幼虫肠道内的细菌有一定影响，但不足以显著抑制其生长。二是代谢产物的抑菌效果受到肠道环境限制。光肩星天牛中肠的pH在不同肠段有明显差异，中肠前部pH保持在5.4~6.2，中肠中部pH为7.5~8.7，中肠后部pH通常在9.0以上(Mason et al., 2017)。苯甲酸处于pH 2.5~4.0之间时抑菌效果最好，在光肩星天牛肠道中无法达到最佳抑菌效果，进而对肠道菌群

的影响减弱(Mason et al., 2017)。三是代谢产物的抑菌效果受到肠道细菌群落的影响。单独培养仙人掌肠球菌 *Enterococcus cassae* 时, 芹菜素可有效抑制其生长, 而将该菌连同其他菌一起培养时, 施加芹菜素后该菌通过上调DNA修复、细胞壁合成等基因来应对胁迫, 进而促进自身生长(Wang et al., 2017)。除以上含量高的次生代谢产物外, 有研究表明从青钱柳 *Cyclocarya paliurus* 中提取的黄酮类化合物在低浓度条件下反而会增强肠球菌属细菌对低pH、高渗透性等不利环境的抗性, 推测旱柳中较低浓度的黄酮类化合物促进了肠球菌属相对丰度的提升, 在多种因素共同影响下, 取食旱柳的光肩星天牛幼虫肠道中优势菌属的种类更丰富(Zhang et al., 2021; Yan & Zhang, 2022)。总之, 旱柳木质部中含量高的次生代谢产物与光肩星天牛幼虫肠道内优势菌属的相关关系不显著, 两者之间不存在明显的相互作用, 即次生代谢产物抑制肠道细菌定殖生长或被肠道细菌代谢。

本研究结果表明, 在旱柳木质部中含量高的次生代谢产物与光肩星天牛幼虫肠道酶活性的相关分析中, 外切 β -1,4-葡聚糖酶活性与肉桂醛、有机氮化合物含量显著正相关。该现象与玉米象 *Sitophilus zeamais* 在取食含有植物代谢产物凝集素后的表现有共同之处, 即体内淀粉酶活性提升, 蛋白酶活性受到抑制(Camaroti et al., 2018)。这是因为凝集素能够与消化酶相互作用, 调节其活性, 导致代谢失衡。结合旱柳受到光肩星天牛的为害程度显著低于金丝垂柳这一现象, 肉桂醛和有机氮化合物可能也具有干扰光肩星天牛对营养物质吸收的功能。此外, 肉桂醛、苯甲酸及其衍生物与光肩星天牛幼虫肠道解毒酶活性也存在正相关关系, 虽然目前还没有苯甲酸及其衍生物和肉桂醛对昆虫消化酶、解毒酶、保护酶活性的影响研究, 但其他物种如长角血蜱 *Haemaphysalis longicornis* 经过肉桂醛处理后体内解毒酶活性显著提升(Nwanade et al., 2021)。推测取食旱柳的光肩星天牛幼虫肠道解毒酶活性升高, 极有可能是受到了肉桂醛或苯甲酸及其衍生物等代谢产物的诱导, 从而加快代谢外源有毒物质, 以减轻其引起的毒害作用。从苯甲酸及其衍生物、肉桂醛、吲哚及其衍生物和有机氮化合物对光肩星天牛幼虫肠道酶活性的影响来看, 尽管光肩星天牛会通过提升其体内解毒酶活性来应对这几种抗虫次生物质, 但该方式不能有效处理这些次生代谢产物带来的负面影响, 因此旱柳能迫使光肩星天牛放弃取食, 转而为害

周遭的洋白蜡。

综上所述, 本研究的重点主要是探究光肩星天牛应对植物次生代谢产物时自身做出的适应性调节以及对寄主的选择。肠道承担了昆虫摄取生长发育所需营养的重要功能, 同时也容易受到外源性有毒物质的攻击。在面对不同的植物次生物质时, 光肩星天牛肠道细菌群落组成和酶活性产生了不同的变化, 能够代谢次生物质的细菌种类获得了大量繁殖的机会, 同时也协助宿主昆虫抵御外源物质侵害; 部分次生物质在没有能够有效代谢该物质的肠道细菌存在时会通过提高肠道解毒酶活性来进行代谢, 如苯甲酸及其衍生物和肉桂醛等。这些具有特定功能的细菌在光肩星天牛肠道内定殖, 有助于宿主更好地适应寄主植物。肠道微生物作为昆虫生长发育必不可少的共生生物, 与代谢产物之间的相互作用还需深入了解。本研究筛选到的苯甲酸及其衍生物以及肉桂醛等在驱避光肩星天牛中发挥了重要作用, 具备开发为防治光肩星天牛等林业害虫药剂的潜力, 也可以辅助提升杀虫剂的杀虫效果, 以减少化学药剂的使用, 保护生态环境。

参 考 文 献 (References)

- Alves APC, Corrêa AD, Alves DS, Saczk AA, Lino JBR, Carvalho GA. 2014. Toxicity of the phenolic extract from jabuticabeira (*Myrcaria cauliflora* (Mart.) O. Berg) fruit skins on *Spodoptera frugiperda*. Chilean Journal of Agricultural Research, 74(2): 200–204
- Austin MB, Noel JP. 2003. The chalcone synthase superfamily of type III polyketide synthases. Natural Product Reports, 20(1): 79–110
- Bentivenha JPF, Canassa VF, Baldin ELL, Borguini MG, Lima GPP, Lourenço AL. 2018. Role of the rutin and genistein flavonoids in soybean resistance to *Piezodorus guildinii* (Hemiptera: Pentatomidae). Arthropod-Plant Interactions, 12(2): 311–320
- Braune A, Blaut M. 2016. Bacterial species involved in the conversion of dietary flavonoids in the human gut. Gut Microbes, 7(3): 216–234
- Cai QN, Zhang QW, Zhou MZ. 2002. Correlation between indole alkaloid content in flag leaves and ears of wheat and its resistance to *Sitobion avenae* (F.). Plant Protection, 28(2): 11–13 (in Chinese)
[蔡青年, 张青文, 周明祥. 2002. 小麦旗叶和穗部吲哚生物碱含量与抗麦长管蚜关系研究. 植物保护, 28(2): 11–13]
- Camaroti JRS, de Almeida WA, do Rego Belmonte B, de Oliveira APS, de Albuquerque Lima T, Ferreira MRA, Paiva PMG, Soares LAL, Pontual EV, Napoleão TH. 2018. *Sitophilus zeamais* adults have survival and nutrition affected by *Schinus terebinthifolius* leaf extract and its lectin (StELL). Industrial Crops and Products, 116: 81–89
- Chen PH, Xu S, Chen BX, Zhang XW. 2012. Control effect of 5.5% diazinon and bisultap granule against sugarcane Scarabaeoidea. Guangdong Agricultural Science, 39(11): 101–101 (in Chinese)

- [陈培华, 徐淑, 陈炳旭, 张晓薇. 2012. 5.5%二嗪磷·杀虫双颗粒剂对甘蔗蛴螬的防治效果. 广东农业科学, 39(11): 101–101]
- Chong JL, Poutaraud A, Hugueney P. 2009. Metabolism and roles of stilbenes in plants. *Plant Science*, 177(3): 143–155
- Dong JF, Zhang JH, Wang CZ. 2002. Effects of plant allelochemicals on nutritional utilization and detoxication enzyme activities in two *Helicoverpa* species. *Acta Entomologica Sinica*, 45(3): 296–300 (in Chinese) [董钧锋, 张继红, 王琛柱. 2002. 植物次生物质对烟青虫和棉铃虫食物利用及中肠解毒酶活性的影响. 昆虫学报, 45(3): 296–300]
- Hafeez M, Qasim M, Ali S, Yousaf HK, Waqas M, Ali E, Ahmad MA, Jan S, Bashir MA, Noman A, et al. 2020. Expression and functional analysis of P450 gene induced tolerance/resistance to lambda-cyhalothrin in quercetin fed larvae of beet armyworm *Spodoptera exigua* (Hübner). *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(1): 77–87
- He P, Huang JF. 1992. Laboratory rearing of *Anoplophora glabripennis*. *Journal of Beijing Forestry University*, 14(2): 61–67 (in Chinese) [贺萍, 黄竞芳. 1992. 光肩星天牛的人工饲养. 北京林业大学学报, 14(2): 61–67]
- Horty LG, Daeuble JF, Castetter S, Olson MB, Wessels FJ, Wang NX. 2019. Synthesis, stability and insecticidal activity of 2-arylstilbenes. *Pest Management Science*, 75(11): 3015–3023
- Huang JF, Luo YQ, Zhou ZY. 1992. New progress in *Anoplophora glabripennis* Motsch study in China. *Shaanxi Forest Science and Technology*, (2): 57–62 (in Chinese) [黄竞芳, 骆有庆, 周章义. 1992. 中国光肩星天牛研究的新进展. 陕西林业科技, (2): 57–62]
- Huang XB, Lv SJ, Zhang ZH, Chang BH. 2020. Phenotypic and transcriptomic response of the grasshopper *Oedaleus asiaticus* (Orthoptera: Acrididae) to toxic rutin. *Frontiers in Physiology*, 11: 52
- Huang YF, Xu ZB, Lin XY, Feng QL, Zheng SC. 2011. Structure and expression of glutathione S-transferase genes from the midgut of the common cutworm, *Spodoptera litura* (Noctuidae) and their response to xenobiotic compounds and bacteria. *Journal of Insect Physiology*, 57(7): 1033–1044
- Hur HG, Lay JO Jr, Beger RD, Freeman JP, Rafii F. 2000. Isolation of human intestinal bacteria metabolizing the natural isoflavone glycosides daidzin and genistin. *Archives of Microbiology*, 174(6): 422–428
- Jeon YJ, Lee SG, Yang YC, Lee HS. 2017. Insecticidal activities of their components derived from the essential oils of *Cinnamomum* sp. barks and against *Ricania* sp. (Homoptera: Ricaniidae), a newly recorded pest. *Pest Management Science*, 73(10): 2000–2004
- Li J, Cui YS, Song YS, Cheng XC. 2013. Characteristics of new list of forestry quarantine and dangerous pests in China. *Forest Pest and Disease*, 32(5): 42–47 (in Chinese) [李娟, 崔永三, 宋玉双, 程相称. 2013. 我国林业检疫性和危险性有害生物新名单的特点. 中国森林病虫, 32(5): 42–47]
- Liu PP, Yang YE, Pichersky E, Klessig DF. 2010. Altering expression of benzoic acid/salicylic acid carboxyl methyltransferase 1 compromises systemic acquired resistance and PAMP-triggered immunity in *Arabidopsis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 23(1): 82–90
- Luo YQ, Li JG. 1999. Effective measures to control the disaster of poplar longicorn beetles: rational allocation of multiple tree species. *Forest Pest and Disease*, (3): 46–48 (in Chinese) [骆有庆, 李建光. 1999. 控制杨树天牛灾害的有效措施: 多树种合理配置. 森林病虫通讯, (3): 46–48]
- Martemyanov VV, Dubovskiy IM, Belousova IA, Pavlushin SV, Domrachev DV, Rantala MJ, Salminen JP, Bakhvalov SA, Glupov VV. 2012. Rapid induced resistance of silver birch affects both innate immunity and performance of gypsy moths: the role of plant chemical defenses. *Arthropod-Plant Interactions*, 6(4): 507–518
- Mason CJ, Long DC, McCarthy EM, Nagachar N, Rosa C, Scully ED, Ming TE, Hoover K. 2017. Within gut physicochemical variation does not correspond to distinct resident fungal and bacterial communities in the tree-killing xylophage, *Anoplophora glabripennis*. *Journal of Insect Physiology*, 102: 27–35
- McComic SE, Rault LC, Anderson TD, Swale DR. 2021. Toxicological analysis of stilbenes against the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 179: 104965
- Meng XH, Zhang PH, Zhang CF. 2010. Advance on the stilbenes and its synthase. *Chinese Wild Plant Resources*, 29(3): 15–20 (in Chinese) [孟旭辉, 张评浒, 张朝凤. 2010. 茜类化合物及其合成酶的研究进展. 中国野生植物资源, 29(3): 15–20]
- Nwanade CF, Wang M, Wang TH, Zhang XY, Wang C, Yu ZJ, Liu JZ. 2021. Acaricidal activity of *Cinnamomum cassia* (Chinese cinnamon) against the tick *Haemaphysalis longicornis* is linked to its content of (E)-cinnamaldehyde. *Parasites & Vectors*, 14: 330
- Park HB, Goddard TN, Oh J, Patel J, Wei Z, Perez CE, Mercado BQ, Wang RR, Wyche TP, Pizzi G, et al. 2020. Bacterial autoimmune drug metabolism transforms an immunomodulator into structurally and functionally divergent antibiotics. *Angewandte Chemie International Edition*, 59(20): 7871–7880
- Pu HH, Zhi JR, Yue WB, Zeng G. 2018. Effects of thrips feeding, mechanical wounding and induction by exogenous substances on the secondary metabolites of tomato plants and the activities of detoxifying enzymes in *Frankliniella occidentalis*. *Journal of Plant Protection*, 45(5): 1035–1043 (in Chinese) [蒲恒浒, 郭军锐, 岳文波, 曾广. 2018. 西花蓟马取食、机械损伤和外源物质诱导对番茄植株次生物质及西花蓟马解毒酶的影响. 植物保护学报, 45(5): 1035–1043]
- 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 (in Chinese) [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]
- Qin HL, Liu J, Fang WY, Ravindar L, Rakesh KP. 2020. Indole-based derivatives as potential antibacterial activity against methicillin-resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA). *European Journal of Medicinal Chemistry*, 194: 112245
- Riva A, Kolimár D, Spittler A, Wisgrill L, Herbold CW, Abrankó L, Berry D. 2020. Conversion of rutin, a prevalent dietary flavonol, by the human gut microbiota. *Frontiers in Microbiology*, 11: 585428
- Sanla-Ead N, Jangchud A, Chonhencob V, Suppakul P. 2012. Antimicrobial activity of cinnamaldehyde and eugenol and their activity after incorporation into cellulose-based packaging films. *Packag-*

- ing Technology and Science, 25(1): 7–17
- Santangelo R, Silvestrini A, Mancuso C. 2019. Ginsenosides, catechins, quercetin and gut microbiota: current evidence of challenging interactions. *Food and Chemical Toxicology*, 123: 42–49
- Serra A, Macià A, Romero MP, Reguant J, Ortega N, Motilva MJ. 2012. Metabolic pathways of the colonic metabolism of flavonoids (flavonols, flavones and flavanones) and phenolic acids. *Food Chemistry*, 130(2): 383–393
- Si SD, Wang KY, Zhang WC, Wang M, Shi XG, Luan BH. 2008. Toxicity and action mechanism of tebufenozide and its derivative 0593 to silkworm (*Bombyx mori*). *Acta Entomologica Sinica*, 51(11): 1157–1163 (in Chinese) [司树鼎, 王开运, 张文成, 王冕, 石绪根, 栾炳辉. 2008. 虫酰肼及其衍生物0593对家蚕的毒性及作用机理. 昆虫学报, 51(11): 1157–1163]
- Slatyer RA, Hirst M, Sexton JP. 2013. Niche breadth predicts geographical range size: a general ecological pattern. *Ecology Letters*, 16(8): 1104–1114
- Straw NA, Fielding NJ, Tilbury C, Williams DT, Inward D. 2015. Host plant selection and resource utilisation by Asian longhorn beetle *Anoplophora glabripennis* (Coleoptera: Cerambycidae) in southern England. *Forestry*, 88(1): 84–95
- Takács S, Hardin K, Gries G, Strong W, Bennett R. 2008. Vibratory communication signal produced by male western conifer seed bugs (Hemiptera: Coreidae). *The Canadian Entomologist*, 140(2): 174–183
- Tan SN, Hua X, Xue ZY, Ma JZ. 2020. Cajanin stilbene acid inhibited vancomycin-resistant *Enterococcus* by inhibiting phosphotransferase system. *Frontiers in Pharmacology*, 11: 473
- Tang DL. 1999. Insect-resistant secondary metabolites in plants. *World Agriculture*, (3): 32–33 (in Chinese) [汤德良. 1999. 植物抗虫的次生代谢物质. 世界农业, (3): 32–33]
- Torres P, Guillermo Avila J, Romo de Vivar A, García AM, Marín JC, Aranda E, Céspedes CL. 2003. Antioxidant and insect growth regulatory activities of stilbenes and extracts from *Yucca periculosa*. *Phytochemistry*, 64(2): 463–473
- Turgeon JJ, Smith MT, Pedlar JH, Fournier RE, Orr M, Gasman B. 2022. Tree selection and use by the polyphagous xylophage *Anoplophora glabripennis* (Coleoptera: Cerambycidae) in Canada. *Canadian Journal of Forest Research*, 52(4): 622–643
- Vosman B, van't Westende WPC, Henken B, van Eekelen HDLM, de Vos RCH, Voorrips RE. 2018. Broad spectrum insect resistance and metabolites in close relatives of the cultivated tomato. *Euphytica*, 214(3): 46
- Wang MQ, Firman J, Zhang LQ, Arango-Argoty G, Tomasula P, Liu LS, Xiao WD, Yam K. 2017. Apigenin impacts the growth of the gut microbiota and alters the gene expression of *Enterococcus*. *Molecules*, 22(8): 1292
- Wang RL, Xia QQ, Baerson SR, Ren Y, Wang J, Su YJ, Zheng SC, Zeng RS. 2015. A novel cytochrome P450 *CYP6AB14* gene in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) and its potential role in plant allelochemical detoxification. *Journal of Insect Physiology*, 75: 54–62
- Wang ZG, Huang DZ, Yan JJ. 2009. The sequence choice of the main tree species to *Anoplophora glabripennis* in northern part of China. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 32(6): 62–68 (in Chinese) [王志刚, 黄大庄, 阎浚杰. 2009. 中国北方主要树种对光肩星天牛抗性序列研究. 河北农业大学学报, 32(6): 62–68]
- War AR, Paulraj MG, Ahmad T, Buhroo AA, Hussain B, Ignacimuthu S, Sharma HC. 2012. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. *Plant Signaling & Behavior*, 7(10): 1306–1320
- Wiese S, Esatbeyoglu T, Winterhalter P, Kruse HP, Winkler S, Bub A, Kulling SE. 2015. Comparative biokinetics and metabolism of pure monomeric, dimeric, and polymeric flavan-3-ols: a randomized cross-over study in humans. *Molecular Nutrition & Food Research*, 59(4): 610–621
- Xu LT. 2016. The role of gut microbiota in the beetle's overcoming the terpene defense of its host. PhD thesis. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences (in Chinese) [徐乐天. 2016. 肠道菌群在红脂大小蠹攻克寄主油松萜烯防御中的作用. 博士学位论文. 北京: 中国科学院大学]
- Xu Y, Yang JC, Ren LH, Hao SL, Liu CL. 2011. Research progress on pyrimidine compounds with insecticidal activities. *Agrochemicals*, 50(7): 474–478 (in Chinese) [徐英, 杨吉春, 任兰会, 郝树林, 刘长令. 2011. 具有杀虫活性的嘧啶类化合物的研究进展. 农药, 50(7): 474–478]
- Yan R, Zhang X. 2022. Analysis of *Cyclocarya paliurus* flavonoids modulation on the physiology and gene expression in *Enterococcus faecalis* under bile salt stress. *Letters in Applied Microbiology*, 74(4): 555–563
- Yuan L, Yang XD, Yu XH, Wu YH, Jiang DX. 2019. Resistance to insecticides and synergistic and antagonistic effects of essential oils on dimefluthrin toxicity in a field population of *Culex quinquefasciatus* Say. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 169: 928–936
- Zaio YP, Gatti G, Ponce AA, Saavedra Larralde NA, Martinez MJ, Zunino MP, Zygaldo JA. 2018. Cinnamaldehyde and related phenylpropanoids, natural repellents, and insecticides against *Sitophilus zeamais* (Motsch.): a chemical structure-bioactivity relationship. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(15): 5822–5831
- Zhang L, Song D, Wu ZF. 2021. Transcriptome analysis of *Cyclocarya paliurus* flavonoids regulation of differently expressed genes in *Enterococcus faecalis* under low pH stress. *Archives of Microbiology*, 203(5): 2147–2155
- Zhang LJ, Zhang CL, Song KK, Chen QX. 2006. Inhibition of 3-hydroxybenzoic acid on tyrosianse and its bacteriostatic activity. *Journal of Xiamen University (Natural Science)*, 45(5): 705–708 (in Chinese) [张丽娟, 张春乐, 宋康康, 陈清西. 2006. 3-羟基苯甲酸对酪氨酸酶的抑制作用和抑菌作用. 厦门大学学报(自然科学版), 45(5): 705–708]
- Zhang YB, Liu XY, Jiang PP, Li WD, Wang YF. 2015. Mechanism and antibacterial activity of cinnamaldehyde against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Modern Food Science and Technology*, 31(5): 31–35, 11 (in Chinese) [张贊彬, 刘笑宇, 姜萍萍, 李维迪, 王一非. 2015. 肉桂醛对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌作用及抑菌机理研究. 现代食品科技, 31(5): 31–35, 11]

(责任编辑:李美娟)