

桉树不同无性系叶片内含物变化与枝瘿姬小蜂抗性的关系

王伟, 徐建民*, 李光友, 韩超, 吴世军, 陆钊华

(中国林业科学研究院热带林业研究所, 广州 510520)

摘要: 为探讨桉树(*Eucalyptus* spp.)受枝瘿姬小蜂(*Leptocybe invasa*)危害后的生理响应, 对 24 个桉树无性系在桉树枝瘿姬小蜂生长周期连续 5 个月的危害情况及其营养物质含量的变化进行研究。根据受危害等级, 将 24 个桉树无性系分为高感、中抗和高抗 3 种类型。结果表明, 3 种抗性类型桉树在未受危害前, 叶片的可溶性蛋白质含量和可溶性糖含量均无显著差异; 在受到危害后, 高感、中抗无性系叶片的可溶性蛋白质含量、可溶性糖含量均呈增长趋势。与对照相比, 高感无性系内含物含量随桉树枝瘿姬小蜂危害加剧显著增加。桉树无性系叶片内含物含量增长以高感类型 > 中抗类型 > 高抗类型。这说明桉树叶片内含物含量增加是桉树对枝瘿姬小蜂危害的重要防御措施。

关键词: 桉树; 枝瘿姬小蜂; 内含物; 危害等级; 可溶性蛋白质; 可溶性糖

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2012.06.001

Relationship between Inclusion Contents in Leaves of Different *Eucalyptus* Clones and Its Resistance to *Leptocybe invasa*

WANG Wei, XU Jian-min*, LI Guang-you, HAN Chao, WU Shi-jun, LU Zhao-hua

(Research Institute of Tropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Guangzhou 510520, China)

Abstract: *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle is a serious disease for *Eucalyptus*. In order to understand physiological response of *Eucalyptus* to *Leptocybe invasa* damage, the damage degree and some inclusion contents in leaves of 24 *Eucalyptus* clones hazard by *Leptocybe invasa* were studied for continuous five months. According to the damage degree, all clones were divided into 3 types, such as high sensitive, middle resistance and high resistance. The results showed that the soluble protein and soluble sugar contents in leaves had no significant difference among three resistance types before the 24 *Eucalyptus* clones were damaged by *Leptocybe invasa*, while those in high sensitive and middle resistance clones leaves significantly increased after damaged. Contrasted to control, soluble protein and soluble sugar contents in high sensitive clones leaves significant increased with damage aggravation. The increment of inclusion contents in *Eucalyptus* clones leaves was in order as high sensitive > middle resistant > high resistant. Therefore, it was suggested that the increment of inclusion contents in *Eucalyptus* clones leaves was an important physiological response to damage of *Leptocybe invasa*.

Key words: *Eucalyptus*; *Leptocybe invasa*; Inclusion; Damage degree; Soluble protein; Soluble sugar

桉树枝瘿姬小蜂(*Leptocybe invasa* Fisher & La Salle)属膜翅目(Hymenoptera)姬小蜂科(Eulophidae),

于 2000 年在中东和地中海地区被发现, 该蜂在桉树(*Eucalyptus* spp.)的嫩枝、叶柄和叶片主脉上产

收稿日期: 2012-02-28

接受日期: 2012-04-24

基金项目: 广东省林业科技创新专项基金项目(2008KJCX004-02); 国家科技支撑计划项目(2012BAD01B01); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(RITFYWZX200904)资助

作者简介: 王伟(1983~), 男, 博士研究生。E-mail: waynelove@126.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: jianmxu@163.com

卵,形成虫瘿,导致植株矮化,丛枝状,严重影响桉树的生长^[1]。在长期的进化过程中,植物对害虫的危害形成了多方面的防御机制,其中生理防御发挥着重要作用。生理防御主要是指被取食的植物影响植食者行为或降低其嗜好性的反应,主要包括植物形态、内含物含量、次生性化合物积累等对植食性昆虫的负面影响^[2]。本文对桉树幼苗在遭受小蜂危害前后的叶片内含物的含量变化进行研究,以期探讨桉树受枝瘿姬小蜂危害后的生理响应,对桉树抗枝瘿姬小蜂的抗性机制研究具有重要的理论意义,并为化学防治以及抗性品系的选育提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 参试桉树无性系

供试桉树(*Eucalyptus* spp.)无性系共24个:尾叶桉A107、T121、D48;细叶桉Et12、Et16、Et09;巨桉KX3号、KX8号、KX12号;窿缘桉、邓恩桉、柠檬桉、粗皮桉、大花序桉;雷9、雷11、M1、LH1、DH42-6、DH32-26F2、DH32-28、DH32-29、DH196和DH201-2。

实验于中国林业科学研究院热带林业研究所苗圃进行,参试无性系各30株,罩纱网隔离炼苗3个月后,分别移栽于30 cm×20 cm的塑料盆内,其中10株作为对照,罩纱网隔离。其余20株,自然环境下生长。4月份开始取样,每个月上旬取生长健壮株第3或第4片展开叶(自上而下),每个无性系选择15株采样,其中5株为对照,10株为自然环境下生长的单株,每株3次重复(即每株每个重复取样约2 g左右)。在植株未发生死亡等情况下,保持同株取样。叶片用液氮速冻保存,待测。连续取样5个月。

1.2 抗性测定

根据桉树枝瘿姬小蜂危害状况分为4个等级:无任何虫害状为0级;嫩芽呈现丛枝状,但未形成虫瘿为1级;虫瘿数<5个,分散于树叶和嫩枝部位,新叶扭曲为2级;受到严重危害,虫瘿数大于5个,幼苗生长停滞,出现落叶、顶梢枯死等现象为3级。

1.3 内含物含量测定

可溶性蛋白质含量测定 称取样品0.5 g,用5 mL磷酸缓冲液(0.05 mol L⁻¹, pH 7.0)冰浴研磨成匀浆,并冲洗干净,转入离心管中,在4℃下4000×g

离心10 min,取上清液0.1 mL,加5 mL考马斯亮蓝(G-250)溶液,摇匀,静置2 min后用紫外可见分光光度计在595 nm下测定吸光度。可溶性蛋白质含量(mg g⁻¹)=(C×VT)/(VS×WF×1000),式中:C为标准曲线值(μg);VT为提取液总体积(mL);WF为样品鲜重(g);VS为测定时的加样量(mL)。

可溶性糖含量测定 随机称取样品约0.20 g,放入带刻度试管中,加10 mL蒸馏水,封口膜封口,于沸水中提取30 min,重复2次提取液过滤到25 mL容量瓶中,并用蒸馏水定容。吸取0.1 mL提取液至试管中,加1.5 mL蒸馏水,再依次加0.5 mL蒽酮乙酸乙酯和5 mL 98%的浓硫酸,用振荡器充分振荡每个试管,立即投入沸水浴中保温1 min,取出冷却在630 nm下测定OD值,每个处理重复3次,得到的OD值代入葡萄糖标准曲线查找相应的葡萄糖含量,并计算样品的可溶性糖含量(%)=(C×V×n×1000)/(106a×W),式中:C为标准曲线换算出的糖含量(μg);V为提取液总体积(mL);W为样品鲜重(g);n为稀释倍数;a为测定时吸取样品液的体积(mL)。

1.4 数据处理

采用Excel 2007统计分析软件对数据进行录入及核对,应用SAS 6.0软件对数据进行统计分析,采用邓肯新复极差法进行多重比较^[3-4]。

2 结果和分析

2.1 不同桉树无性系对桉树枝瘿姬小蜂的抗性

2011年4~8月逐月调查参试桉树无性系受枝瘿姬小蜂的危害情况(表1)。根据危害情况,将参试无性系分为高抗、中抗和高感3种抗性类型。24个参试无性系中,尾叶桉3个无性系A107、T121和D48,细叶桉无性系Et16,以及粗皮桉、邓恩桉、柠檬桉、大花序桉、M1、GL9在调查期间,未受到桉树枝瘿姬小蜂危害,评定为高抗无性系。细叶桉无性系Et12、Et09和巨桉3个无性系KX8、KX3、KX12,以及雷11、DH196、LH1、雷9、DH42-6、DH32-26F2和DH32-29,在枝瘿姬小蜂危害高峰期(5~8月)出现不同程度危害症状,对桉树的生长产生了一定的影响,但均未形成虫瘿,评定为中抗无性系。窿缘桉和DH201-2从5月开始进入枝瘿姬小蜂危害高峰期,植株产生大量的虫瘿,严重阻碍了桉树的生长发育,评定为高感无性系。

表4 不同桉树无性系叶片可溶性蛋白含量和可溶性糖含量方差分析

Table 4 Variance analysis of soluble protein and soluble sugar contents among different clones

月份 Month	变异来源 Source of variance	DF	F		Pr>F	
			可溶性蛋白含量 Soluble protein content	可溶性糖含量 Soluble sugar content	可溶性蛋白含量 Soluble protein content	可溶性糖含量 Soluble sugar content
4	无性系 Clones	23	0.98	1.24	0.8654	0.6543
	重复 Replication	9	1.76	0.29	0.1739	0.7473
5	无性系 Clones	23	25.27**	21.03**	<0.0001	<0.0001
	重复 Replication	9	0.24	0.74	0.8223	0.1778
6	无性系 Clones	23	12.1**	16.03**	<0.001	<0.00001
	重复 Replication	9	0.78	1.47	0.4539	0.7632
7	无性系 Clones	23	28.76**	78.64**	<0.001	<0.00001
	重复 Replication	9	1.55	1.67	0.5674	0.4892
8	无性系 Clones	23	58.12**	76.27**	<0.001	<0.00001
	重复 Replication	9	1.98	1.43	0.1028	0.4182

**: $P < 0.01$.

3 结论

参试桉树无性系在自然环境下受到枝瘿姬小蜂的侵害,根据其受害程度进行抗性鉴定,24个无性系中,高抗无性系有10个,包括尾叶桉无性系A107、T121和D48,细叶桉无性系Et16,粗皮桉、邓恩桉、柠檬桉、大花序桉、M1、GL9;中抗无性系有12个,包括细叶桉无性系Et12、Et09和巨桉无性系KX8、KX3、KX12,以及雷11、DH196、LH1、雷9、DH42-6、DH32-26F2和DH32-29;高感无性系有2个,窿缘桉和DH201-2。

随着桉树受枝瘿姬小蜂的危害加剧,桉树无性系的可溶性蛋白质含量都出现了一定程度的上升,无性系间在不同月份的差异达极显著水平(四月除外),其中增量排前3名和后3名的分别是窿缘桉、DH201-2、KX8和A103、T121、柠檬桉。以可溶性蛋白质含量变化为依据,3种抗性类型以高感类型>中抗类型>高抗类型。

不同桉树无性系的可溶性糖含量在受害前差异不显著,随着桉树受枝瘿姬小蜂的危害加剧,桉树不同无性系的可溶性糖含量都出现了一定程度的提高,无性系间在不同月份的差异均达极显著水平,其中增量排前3名和后3名的分别是窿缘桉、LH1、DH201-2和A107、T121、邓恩桉。以可溶性糖含量变化为依据,3种抗性类型以高感类型>中抗类型>高抗类型。

4 讨论

有研究认为植物中可溶性蛋白质含量影响植食性害虫的寄主选择行为,可溶性蛋白质含量高时,害虫的存活率、生长发育速度和生殖力相对提高^[5-6]。本研究对24个桉树无性系幼苗叶片连续5个月进行可溶性蛋白质含量测定,结果表明:高感桉树无性系在受枝瘿姬小蜂侵害后,叶片中的可溶性蛋白质含量有显著提升,这与水稻(*Oryza sativa*)不同品种遭受灰飞虱(*Laodelphax striatellus*)侵害和马尾松(*Pinus massoniana*)遭受松突圆蚧(*Hemiberlesia pityosiphila*)危害后营养物质变化规律一致^[2,7]。

可溶性糖是植物体内的一种重要渗透调节物质,可溶性糖含量增加,植物对逆境的渗透调节能力增强。李诺等对桉树枝瘿姬小蜂虫瘿的研究表明,虫瘿组织内的可溶性糖含量为对照的7.76倍^[8]。本研究结果表明,24个桉树无性系在受枝瘿姬小蜂危害后的可溶性糖含量变化均提高,且对枝瘿姬小蜂危害较为敏感的无性系,如DH201-2、窿缘桉等,其可溶性糖含量在受危害后的增量更加显著,这与李诺等的研究结论一致。但也有研究的结论不同,陈顺立等的研究表明,马尾松遭受松突圆蚧危害后,针叶中的糖类物质含量降低,这个诱导反应在对松突圆蚧不同抗性的马尾松家系中普遍发生,其反应强度及受害植株中糖类物质含量多少与家系抗性的高低无关^[2];谈家金等的研究表明,松树

接种线虫(*Bursaphelenchus xylophilus*)后,松苗的可溶性糖含量降低^[9]。这可能与寄主危害针阔叶树的生理生化反应途径有关,从而造成针叶树与阔叶树对病虫害的防御反应存在差异。因此,探索桉树受枝瘿姬小蜂危害后的防御酶变化将有助于解释桉树对病虫害的防御机理,这还有待于深入研究。

参考文献

- [1] Mendel Z, Protasov A, Fisher N, et al. Taxonomy and biology of *Leptocybe invasa* gen. & sp. n. (Hymenoptera: Eulophidae): An invasive gall inducer on *Eucalyptus* [J]. Aust J Entomol, 2004, 43(2): 101–113.
- [2] Chen S L, Wu H, Deng Z D, et al. Relationship between nutrients content of different families of *Pinus massoniana* and its resistance against *Hemiberlesia pityosiphila* [J]. Sci Silv Sin, 2010, 46(2): 87–94.
陈顺立, 吴晖, 邓招娣, 等. 马尾松不同家系营养物质含量与松突圆蚧抗性的关系 [J]. 林业科学, 2010, 46(2): 87–94.
- [3] SAS Institute Inc. SAS/STAT User's Guide Version 6 Vol. 2 [M]. 4th ed. Cary, NC: SAS Institute Inc, 1990: 891–996, 1661–1673.
- [4] Huang S W, Xie W H. Practical SAS Programming and Forestry Research Data Analysis [M]. Guangzhou: South China University of Technology Press, 2001: 47–50.
黄少伟, 谢维辉. 实用SAS编程与林业试验数据分析 [M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2001: 47–50.
- [5] Wu Q J, Gong Y H, Xu B Y. Soluble carbohydrate and protein levels in host plants of *Frankliniella occidentalis* [J]. China Veget, 2007(10): 20–22.
吴青君, 龚佑辉, 徐宝云. 西花蓟马主要寄主植物可溶性糖和蛋白质含量测定 [J]. 中国蔬菜, 2007(10): 20–22.
- [6] Lu Y H, Yang Y Z, Yin Y, et al. Advances in the resistance and relevant genetic mechanism of cotton to *Aphis gossypii* [J]. Entomol Knowl, 2004, 41(4): 291–294.
陆宴辉, 杨益众, 印毅, 等. 棉花抗蚜性及抗性遗传机制研究进展 [J]. 昆虫知识, 2004, 41(4): 291–294.
- [7] Liu F, Song Y, Bao S W, et al. Resistance to small brown planthopper and its mechanism in rice varieties [J]. Acta Phytophyl Sin, 2007, 34(5): 449–454.
刘芳, 宋英, 包善微, 等. 水稻品种对灰飞虱的抗性及其机制 [J]. 植物保护学报, 2007, 34(5): 449–454.
- [8] Li N, Wang M Y, Luo J T, et al. Preliminary study on physiology and biochemistry characteristics of *Eucalyptus* galls caused by *Leptocybe invasa* [J]. J Anhui Agri Sci, 2010, 38(8): 4126–4127.
李诺, 王美英, 罗基同, 等. 桉树枝瘿姬小蜂虫瘿生理生化初步研究 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38(8): 4126–4127.
- [9] Tan J J, Ye J R, Hao D J, et al. Effects of pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, on some physio-biochemical indexes of Japanese black pine, *Pinus thunbergii* [J]. Acta Phytapa Thol Sin, 2011, 41(1): 44–48.
谈家金, 叶建仁, 郝德君, 等. 松材线虫对黑松一些生理生化指标的影响 [J]. 植物病理学报, 2011, 41(1): 44–48.