

不同环境条件下油松毛虫蛋白酶变化规律研究

周国娜¹, 张雄帅¹, 王艳青², 于青军², 高宝嘉¹

(1. 河北农业大学 林学院, 河北 保定 071000; 2. 承德市平原县黄土梁子国有林场, 河北 承德 067506)

摘 要:为探讨混交林中松树对害虫的生态调控作用机制, 研究了不同林分类型下油松对油松毛虫蛋白酶的影响。结果表明: 林分类型的差异造成油松毛虫体内蛋白酶活性存在极显著差异, 而在混交林中不同混交树种和人为采脂的影响对蛋白酶活性无显著影响, 旨在从营养生态学的角度说明混交林对油松毛虫的生态防御作用, 为进一步研究和分析油松毛虫的发生机理及对油松毛虫的生态调控提供依据。

关键词:环境条件; 油松毛虫; 蛋白酶

中图分类号:S 791.254 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)09-0061-03

油松毛虫(*Dendrolimus tabulaeformis* Tsai et Liu)是危害油松林的主要害虫, 具有发生突然、蔓延迅速、破坏严重等特点, 直接影响松树的生存生长^[1-2]。昆虫在长期的演化过程中, 对植物产生了良好适应性, 表现在形态、行为和生理生化方面, 这些适应性使昆虫和植物之间能建立很好的协同关系^[3]。已有的研究中发现, 环境因素是影响油松毛虫种群数量的重要因素^[4]。混交林中油松毛虫种群数量明显低于纯林中油松毛虫种群数量^[5], 这说明不同的林分类型对油松毛虫的防御效果不同。然而在以往的研究中只是在宏观的层面上对松树体内营养条件的变化^[6]以及对松毛虫种群数量、个体的生长发育情况以及虫害发生情况进行研究^[7-11], 但少见从机理方面深入的研究。油松毛虫面对环境及取食的压力, 会有针对性的做出反应。该试验在前人研究的基础上, 对不同环境条件下的油松毛虫体内蛋白酶活性进行了研究, 分析不同林分类型、不同干扰(有无采集松脂)条件下油松毛虫体内蛋白酶活性的变化规律, 从营养生态学的角度说明不同环境条件下的油松对油松毛虫的生态防御作用, 以期为进一步研究和分析油松毛虫的发生机理及对油松毛虫的生态调控及综合治理提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

平泉县地处河北省东北部, 燕山山脉末端, 位于东

经 118°21'03"~119°15'34", 北纬 40°24'0"~40°40'17", 为辽宁、内蒙、河北三省交界地。四季分明, 气候宜人, 年平均气温 7.3℃, 年平均无霜期 135 d, 降雨量为 542 mm, 属温带大陆性季风型气候。由于地貌复杂, 高山丘陵交错起伏, 川谷纵横, 形成许多小气候区。其气候特点是: 寒冷期长, 山谷风大, 雨量集中, 日照充足, 昼夜温差大, 四季分明。春季风大干旱, 回暖较快。夏季雨量充沛, 高温高湿。秋季西北季风增强, 雨量骤减, 气温速降。冬季西北风呼啸, 干冷逼人。

1.2 试验材料

试验所用的油松毛虫采自河北省承德平泉县, 于 2010 年 5 月初, 分别在油松纯林、油松山杨混交林、油松落叶松混交林、人为干扰油松纯林(割脂)、人为未干扰油松纯林中采集, 在每种林分类型上, 设置大小为 30 m×30 m 样地 3 块, 利用对角线法, 采集虫体生长状态良好、大小整齐一致的 5 龄幼虫, 采集后先将油松毛虫饥饿 24 h, 然后分组放置于冰箱-80℃冷冻以备用。

表 1 油松毛虫样品采集信息

Table 1 Origin of the *Dendrolimus tabulaeformis* Tsai et Liu materials

林分类型 Stand type	种群代号 Code	海拔 Elevation/m	林龄 Age/a
油松纯林 <i>Pinus tabulaeformis</i> forest	C1	740	15~20
油松-山杨混交林 <i>Populus davidiana</i> - <i>P. tabulaeformis</i> forest	H2	747	15~20
油松-华北落叶松混交林 <i>Populus davidiana</i> - <i>P. tabulaeformis</i> forest	H3	758	15~20
人为干扰油松纯林(割脂) Artificial interference of <i>pinus tabulaeformis</i> forest (Cut the fat)	G1	741	40~45
人为未干扰油松纯林 No artificial interference of <i>pinus tabulaeformis</i> forest	W2	741	40~45

第一作者简介:周国娜(1976-), 女, 河北冀州人, 在读博士, 讲师, 现主要从事森林生态学方面的研究工作。E-mail: zhoun@hebau.edu.cn.

责任作者:高宝嘉(1958-), 男, 博士, 教授, 现主要从事生态学与森林有害生物管理研究工作。E-mail: baojiagao@163.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30771739)。

收稿日期:2012-12-14

试剂:福林-酚试剂、酪氨酸、碳酸钠、乙醇、三氯醋酸、氢氧化钠、酪蛋白。器材:可见分光光度计、光径1.0 cm 比色杯、离心管、电子天平、高速冷冻离心机、匀浆器、剪子、镊子、冰块、试管若干、移液管若干。

1.3 试验方法

1.3.1 酶液的制备 取出油松毛虫称其重量,然后用75%乙醇进行表面消毒,无菌水冲洗数次,然后将油松毛虫加入10倍的生理盐水冰浴匀浆,匀浆液以10 000 r/min的速度冰冻离心30 min,取上清液置于4℃下保存备用,24 h内测定完毕。

1.3.2 酶活力的测定 采用福林-酚法^[13]取酶液1.0 mL,预热至40℃,加入预热的1%酪蛋白溶液1.0 mL,于40℃反应10 min后立即加入10%三氯醋酸2.0 mL,静置10 min后,于11 200 r/min,4℃下离心15 min,取上清液1.0 mL,加入0.4 mol/L Na₂CO₃溶液5.0 mL和福林-酚试剂1.0 mL,40℃下保温15 min后,立即用752型可见光分光光度计测定其OD₆₈₀,空白对照测定时,先加三氯醋酸,再加底物和酶液,用酪氨酸做标准曲线。每个样本5次重复。标准曲线的制作:精确称取烘干的酪氨酸50 mg,加入1.0 mL 1.0 mol/L HCl溶解,用蒸馏水定容至50 mL,即1.0 mg/mL标准溶液。取7支试管,分别加入1.0 mg/mL酪氨酸0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 mL,用蒸馏水补充至2.0 mL,再分别加入1%酪蛋白溶液1.0 mL,于40℃水浴保温15 min,取出后加入0.4 mol/L三氯醋酸3.0 mL,充分摇匀,各管分别用滤纸过滤;分别各取1.0 mL滤液放入另外7支试管中,加0.4 mol/L Na₂CO₃溶液5.0 mL,福林试剂1.0 mL,充分摇匀,于40℃放置15 min,然后于各管加3.0 mL蒸馏水,充分摇匀;然后在680 nm下比色,以光密度值为纵坐标,酪氨酸含量(微克数)为横坐标做标准曲线。蛋白酶活力单位为每分钟每毫克蛋白质转化酪氨酸的毫克数。

2 结果与分析

2.1 不同林分类型中油松毛虫蛋白酶活力分析

由图1可以看出,通过对油松纯林(C1)、油松-山杨混交林(H2)和油松-华北落叶松混交林(H3)中油松毛虫体内蛋白酶活力的比较分析,在油松纯林中取食的油松毛虫体内蛋白酶活力明显大于油松-山杨混交林和油松-华北落叶松混交林中油松毛虫体内蛋白酶活力,并且经LSD方差分析表明,油松纯林与2种混交林之间差异均达到极显著水平。说明林分类型是影响油松毛虫体内蛋白酶活力的主要因素之一。原因可能有二方面:一是油松纯林中油松数量大,生长状态好,且食料充足,有利于油松毛虫的取食,因此纯林中油松毛虫的生命力较混交林中旺盛,故体内蛋白酶较多。二是混交林与纯林相比,由于生物种类组成上的变化,使得林内的生物与生

物之间、生物与环境之间的关系更为复杂,从而使环境条件变化很大,这种变化继而影响了油松的生长和体内物质的变化,进而影响以之为食的油松毛虫的生长发育,造成昆虫体内蛋白酶的变化。

由图1还可知,针叶混交中的油松-华北落叶松混交林(H3)中油松毛虫体内蛋白酶活性值为1.9908,而针阔混交中的油松-山杨混交林(H2)中油松毛虫体内蛋白酶活性值2.2209。但经LSD方差分析结果表明,不同混交类型的林分中油松毛虫体内蛋白酶差异不显著,说明混交林中混交树种的变化对油松毛虫体内蛋白酶的影响很小。其原因可能是二方面造成的,一方面是由于不同混交类型的林地,在空间上主要起到一种隔离的作用,给油松毛虫的生长繁殖带来不便;另一方面可能是由于不同的树种在混交林中对环境的改变和油松的影响效应是相似的,进而造成油松毛虫体内蛋白酶活性没有太大差异。

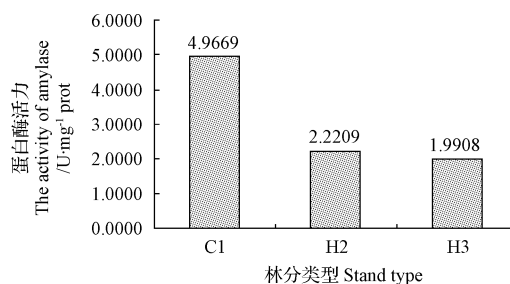


图1 不同林分类型中油松毛虫蛋白酶活力的比较

Fig. 1 Comparison of protease activity of *Dendrolimus tabulaeformis* Tsai et Liu protease under the condition of different interference on pinus

2.2 不同干扰条件下油松毛虫蛋白酶活力变化规律分析

由图2可知,通过对人为采集松脂干扰和人为未采集松脂干扰条件下油松毛虫体内蛋白酶活力变化规律的分析,不同的干扰条件下,油松毛虫体内蛋白酶活力存在差异,人为干扰林分中油松毛虫体内蛋白酶活力小于人为未干扰林,但经LSD方差分析表明,人为干扰(采松脂)的

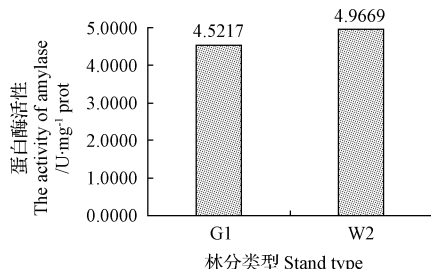


图2 不同干扰条件下油松毛虫蛋白酶活力的比较

Fig. 2 Comparison of protease activity of *Dendrolimus tabulaeformis* Tsai et Liu under the condition of different interference

油松林中与未受人为干扰的油松林中油松毛虫体内蛋白酶的活性之间的差异不显著。说明对油松采集树脂的干扰对油松毛虫体内蛋白酶不会产生显著的影响。

3 讨论与结论

松毛虫往往由于种群数量的急剧增长而猖獗成灾,除本身所具备的强大繁殖力的内部机制外,松林生态环境的各个因子如食物、天敌、气象、地理环境以及人为因素等的综合影响,往往对松毛虫种群数量的增长或消退起着巨大的作用^[13]。其中食物的组成与质量是重要的因素^[13]。该试验研究了油松毛虫在不同环境条件下体内蛋白酶活性的变化规律。该研究结果表明,在油松纯林和混交林中,纯林中油松毛虫体内蛋白酶活性明显大于混交林油松毛虫体内蛋白酶活性。说明林分类型是影响油松毛虫体内蛋白酶活性的主要因素之一,同时也说明不同环境条件下油松体内的生理生化物质存在差异。此结论与周章义^[6]测定的纯林和混交林松树中粗脂肪和总糖含量的变化,认为混交林中粗脂肪和总糖含量的降低,C/N比率降低,影响了松毛虫的新陈代谢的结果相一致,从内部生理生化的角度揭示了不同林分类型内的油松对油松毛虫的作用机理。同时说明了同一种松树起源不同或所处的林分结构不同,对取食的松毛虫的影响有一定的差别。不同混交类型的林分中(油松-华北落叶松混交林与油松-山杨混交林),油松毛虫体内蛋白酶差异不明显,说明混交林中混交树种的变化对油松毛虫体内蛋白酶的影响很小。人为干扰的油松林中与未受人为干扰的油松林中油松毛虫体内蛋白酶活性不存在明显差异性,说明油松采集树脂的干扰对油松毛虫体内蛋白酶不会产生显著的影响。

在害虫与植物长期协同进化的过程中,昆虫有选择地取食对其生长发育较好的植物,同时取食来自不同环境下的食物也影响昆虫体内酶的变化。从该试验对不

同林分中油松毛虫体内蛋白酶的活性分析结果来看,混交林地对油松毛虫表现出明显的自然控制能力^[2]。因此可以通过营造混交林,增加植被种类,改变害虫生存的环境,来提高油松对油松毛虫的抗性,从而达到生态防御害虫的目的。

参考文献

- [1] 林舜标,许丽玲,赵瑞,等.潮安县松毛虫发生规律及防治对策探讨[J].中国森林病虫,2002,21(6):19-21.
- [2] 陈昌洁.松毛虫综合管理[M].北京:中国林业出版社,1990.
- [3] DR Strong J H.植物上的昆虫一群落格局和机制[M].刘绍友,译.西安:天则出版社,1990.
- [4] 赵勇强,周国娜,李明,等.松毛虫发生程度影响因素分析[J].河北林果研究,2005,20(3):273-279.
- [5] 孙向文,刘汉奎,孙玉梅,等.油松毛虫种群数量与林地类型相关性的研究[J].防护林科技,2007(增刊):19-22.
- [6] 周章义.针阔混交林抑制松毛虫种群增长的营养效应[J].应用生态学报,1994,6(1):51-55.
- [7] 刘兴平,王国红,刘向辉,等.不同林相的松针对马尾松毛虫生长发育的影响[J].昆虫学报,2003,46(6):720-726.
- [8] 戈峰,李典谟,邱业先,等.松树受害后一些化学物质含量的变化及其对马尾松毛虫种群参数的影响[J].昆虫学报,1997,40(4):337-342.
- [9] Leather S R, Fellowes M D F, Hayman G R F, et al. The influence of lodgepole pine (*Pinus contorta*) provenance on the development and survival of larvae of the pine beauty moth *Panolis flammea* (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. Bulletin of Entomological Research, 1997, 87: 75-80.
- [10] 温小遂,文志忠,郭正福.马尾松被害针叶和新叶对马尾松毛虫生长发育和繁殖的影响[J].江西农业大学学报,1993,15(4):461-465.
- [11] 戈峰,李典谟,吴淑秀,等.受害松树对马尾松毛虫种群的调控作用[M]//杨星科,吴鸿.昆虫学研究进展.北京:中国林业出版社,1997:186-189.
- [12] 李镇宇,陈华盛,袁小环,等.油松对赤松毛虫的诱导化学防御[J].林业科学,1998,34(2):43-48.
- [13] 刘兴平,王国红,刘向辉,等.不同林相的松针对马尾松毛虫生长发育的影响[J].昆虫学报,2003,46(6):720-726.
- [14] 郭勇,郑德平.酶在食品工业中的应用[M].北京:中国轻工业出版社,1996:64-45.

Study on Changes of *Dendrolimus tabulaeformis* Protease Under Different Environmental Conditions

ZHOU Guo-na¹, ZHANG Xiong-shuai¹, WANG Yan-qing², YU Qing-jun², GAO Bao-jia¹

(1. College of Forestry, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071000; 2. Hangtuliangzi Pingyuan Forestry Administration of Hebei Province, Chengde, Hebei 067506)

Abstract: In order to study the mechanism of ecological regulation of pine mixed forest of pests, the effects of different forest types of *Pinus tabulaeformis* Carr of *Dendrolimus tabulaeformis* protease were studied. The results showed that due to different forest types *in vivo* protease activity of pine there were significant differences, while in the mixed forest of mixed tree species and different human impact of mining on the protease activity of lipid had no significant effect. Seeks to explain from the perspective of nutritional ecology of pine mixed forest on the ecological role of defense and for the further occurrence of the mechanism of pine were analyzed and to provide evidence of pine eco-regulation of the oil were studied.

Key words: environmental factors; *Dendrolimus tabulaeformis*; protease