

藏川杨对柳蓝叶甲的抗性测定

杜绍华¹, 刘 洋², 卜志国¹, 黄大庄¹, 邓 超¹

(1. 河北农业大学, 河北 保定 071000; 2. 河北旅游职业学院 园艺系, 河北 承德 067000)

摘 要:以藏川杨为对象,研究了室内藏川杨饲养柳蓝叶甲的产卵量,以及取食藏川杨后柳蓝叶甲体内超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性的变化。结果表明:室内藏川杨饲养柳蓝叶甲的产卵量较取食中林 46 产卵量低,幼虫阶段的存活率与在中林 46 叶片上进行的饲养有一定的差异。柳蓝叶甲取食藏川杨后,SOD 和 CAT 活性表现出前期降低,随后升高,最后又下降的趋势,而 POD 活性则表现出前期升高,随后维持在较低的水平;取食藏川杨后,POD 和 CAT 活性虽在变化趋势与取食中林 46 的相似,但除 3 龄幼虫 POD 高于取食中林 46 的以外,其它均低。

关键词:藏川杨;柳蓝叶甲;保护酶

中图分类号:S 792.119 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)18-0110-04

藏川杨(*Populus szechuanica* Schneid. var. *tibetica* Schneid)属杨柳科杨属植物,产于四川、西藏等地的海拔 2 000~4 000 m 山区。皮光滑或具纵沟,髓心五角状。具顶芽,芽有鳞片数枚。单叶互生,多为卵圆形、卵圆状披针形或三角状卵形。雌雄异株。花先叶开放,无花被,有杯状花盘,雄蕊常多数。蒴果,种子小,具白色绵毛。树干白,端直,树冠整齐,叶色柔和,生长迅速,绿荫如盖,是优良的行道树^[1]。植物在与植食性昆虫长期的协同进化过程中形成了一系列的抗虫性^[2],这与植物自身的形态结构,营养物质及次生代谢产物等有直接关系^[3]。柳蓝叶甲(*Plagioderma versicolora* Laicharting)属鞘翅目(Coleoptera)叶甲科(Chrysomelidae)。其成虫、幼虫均为害杨柳科植物。生物在生命活动过程中,正常情况下体内存在超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase,

SOD)、过氧化氢酶(Catalase, CAT)和过氧化物(Peroxydase, POD)保护酶等系统。大量的研究表明,它们与生物抵御外界侵害的自我保护具有密切关系。

该试验以藏川杨为对象,研究了柳蓝叶甲取食藏川杨后的产卵量,以及柳蓝叶甲体内保护酶和消化酶的变化,以期从酶的角度客观地分析和反映害虫对树木成分的分解情况、分解速度及其影响因素^[4]。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验地设在河北农业大学,地理坐标介于东经 113°40′~116°20′,北纬 38°10′~40°00′之间,海拔 18 m,属南温带亚湿润气候区,春季干旱多风,夏季炎热多雨,秋季气候凉爽,冬季寒冷少雪,四季分明。年平均气温 12.7℃,7 月平均最高气温 27℃,年均降雨量 575.4 mm,无霜期 165~210 d。

1.2 试验材料

供试杨树采集自河北农业大学校内,其中藏川杨的种源来自于西藏。光肩星天牛采自保定市区和南二环郊区,从补充营养寄主植物上捕捉羽化初期的成虫。柳

第一作者简介:杜绍华(1980-),女,博士研究生,实验师,现主要从事林木病虫害研究工作。E-mail:shaohuadu@163.com。

责任作者:黄大庄(1963-),男,博士,教授,博士生导师,现主要从事林木和园林绿化树种病虫害研究工作。

收稿日期:2013-04-11

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社,1999.
- [2] 朱留华. 数字里的花卉业 1998-2001 年全国花卉业统计资料分析[J]. 中国花卉园艺,2002(14):5-7.
- [3] 蔡东宏. 世界花卉产业概貌[J]. 云南热作科技,2000,23(3):15-19.
- [4] 颜清. 花卉消费增速明显加快[J]. 中国花卉园艺,2012(16):5
- [5] 韩学俭. 兰花炭疽病及其防治[J]. 植物医生,2001,14(6):29.
- [6] 陈宇勒. 兰花病虫害百问图解[M]. 北京:中国林业出版社,2011.

[7] 顾春波,王开运. 兰花炭疽病的发病特点和防治方法[J]. 中国植保导刊,2004,24(2):25.

[8] 陈洁敏. 兰花炭疽病综合防治技术[J]. 北方园艺,2005(6):94.

[9] 贾金城. 兰花叶尖枯焦病及常见病害的防治[J]. 河南林业科技,2010,30(1):41-43.

[10] 姚圣梅,姜晓明. 兰花炭疽病的初步研究[J]. 仲凯农业技术学院学报,1997,10(1):36-40.

[11] 卢思聪. 兰花栽培入门[M]. 北京:金盾出版社,1990.

[12] 殷华林. 兰花栽培实用技法[M]. 合肥:安徽科学技术出版社,2011.

蓝叶甲采自河北农业大学苗圃。

1.3 试验方法

试验在河北农业大学林学院昆虫研究室进行。

1.3.1 柳蓝叶甲的室内饲养 饲养容器为玻璃缸,每缸内放 20 头左右的成虫,让其在缸内自由活动、取食、交尾与产卵。把同一天产下的卵块连同叶片一起剪下,放到培养皿中并用保鲜膜将培养皿包好,标记产卵时间、产卵位置及产卵数量。

1.3.2 柳蓝叶甲幼虫的室内叶片饲养 饲养容器为 8 cm 的培养皿,以新鲜的杨树叶作食料。叶子采回后用流水清洗,晾干表面水分,把浸透水的纱布放在培养皿内,用以保持湿度。然后将幼虫用毛刷移到叶片上,用保鲜膜封盖培养皿的上口,再用细针在保鲜膜上扎一些小孔,以保证皿内气体新鲜。每隔 1~2 d 换 1 次叶片,换叶片时把幼虫的粪便清理干净,更换叶片的方法同上。幼虫期每天观察各龄幼虫的形态特征。

1.4 项目测定

柳蓝叶甲酶液的制备:取柳蓝叶甲加入 3 mL 提取液,在冰浴中研磨提取,匀浆在 6 000 r/min 下离心 15 min,上清液即为酶提取液^[5]。SOD 活性测定采用氮蓝四唑法,POD 活性测定采用愈创木酚法,CAT 活性测定采用紫外吸收法。

1.5 数据分析

利用 Microsoft Excel 软件、SPSS 15.0 统计分析软件和 DPS 统计软件进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 室内饲养柳蓝叶甲试验

在实验室条件下,柳蓝叶甲成虫一般羽化后 4 d 左右达到性成熟并开始交尾。以上午 7:00~10:00 为交尾盛期,可以多次交尾。交尾结束的当日开始产卵,以下午 13:00~14:00 和 17:30~18:30 为产卵盛期,约占全天产卵量的 80%,也有次日上午产卵的。每块卵块的卵量

表 2 柳蓝叶甲幼虫龄期变化

Table 2 Age changes of *Plagiodera versicolora* larvae

树种	龄期 /龄	幼虫数量/头								成虫数量/头
		产卵后第 4 天	产卵后第 5 天	产卵后第 6 天	产卵后第 7 天	产卵后第 8 天	产卵后第 9 天	产卵后第 10 天	产卵后第 11 天	产卵后第 13 天
藏川杨	1	14	11	8	4	1	0	0	0	
	2	0	3	6	8	9	8	0	0	6
	3	0	0	0	0	3	6	14	13	
中林 46	1	17	2	0	0	0	0	0	0	
	2	0	17	19	3	0	1	0	0	15
	3	0	0	0	16	19	18	18	16	

2.2 取食后柳蓝叶甲体内保护酶活性变化

由表 3 可以看出,取食藏川杨后,柳蓝叶甲体内 SOD 活性 2 代成虫、幼虫均达到差异极显著;POD 活性 2 代成虫、幼虫间差异均未达到极显著差异;CAT 活性 2 代成虫间达到差异极显著,幼虫间未达到差异极显著水

为 6~35 粒左右,平均 15 粒。

由图 1 可知,在寄主中林 46 上卵成块产于叶片背面的平均数为 67.5 个,少数产于叶片正面,平均为 22.5 个,相差较大。但取食藏川杨后,叶面和叶背平均产卵数量分别为 40 个和 37 个,说明对柳蓝叶甲于新的食物产生了新的选择与适应。

从表 1 可以看出,取食不同的树种后产卵量有所区别,取食藏川杨的柳蓝叶甲的产卵量明显低于取食中林 46 的产卵量,仅为 13 头/个。

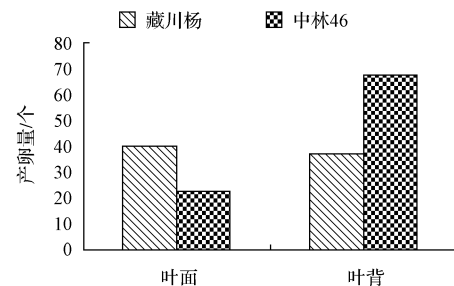


图 1 柳蓝叶甲在叶片上产卵位置的选择

Fig. 1 Egg-laying preferences of *Plagiodera versicolora* on leaves

表 1 柳蓝叶甲产卵量

Table 1 Fecundity of *Plagiodera versicolora*

树种	测定成虫数/对	产卵量/头	平均产卵量/头·个 ⁻¹
藏川杨	10	129	13
中林 46	10	182	18

由表 2 可知,取食藏川杨和中林 46 的幼虫从产卵后第 4 天开始孵化为 1 龄幼虫,1 龄幼虫期无明显区别,但取食中林 46 的幼虫在取食第 5 天后大量变为 2 龄幼虫,而取食藏川杨的幼虫直至第 8 天才基本变为 2 龄。从表 2 还可以看出,取食藏川杨的幼虫由开始的平均数为 14 头,到最后产卵后第 13 天成虫为 6 头,成活率仅为 42.86%,不足一半,而取食寄主中林 46 的幼虫到 2 代成虫的成活率为 88.24%,成活率明显高于前者。

柳蓝叶甲幼虫龄期变化

平。柳蓝叶甲取食藏川杨后与取食中林 46 相比,SOD 活性除 2 龄幼虫差异未达到极显著外,其它 3 龄差异均极显著;POD 活性 3 龄幼虫期差异表现为极显著,成虫期未达到极显著;CAT 活性仅在 2 龄幼虫期达到极显著。

表 3

2 种杨树对柳蓝叶甲体内保护酶活性的影响

Table 3

Effects of two poplars on the activities of protective enzyme in *Salix babylonica*

保护酶活性	寄主	龄期			
		F ₁ 代成虫	2 龄幼虫	3 龄幼虫	F ₂ 代成虫
SOD 活性	藏川杨	946.984a	620.836b	1 087.982a	463.472b
/U·mg ⁻¹ pro	中林 46	216.315c	451.643b	183.325c	158.575c
POD 活性	藏川杨	12.784c	70.769a	83.077a	0.856c
/U·mg ⁻¹ pro	中林 46	15.116c	74.000a	35.200b	9.231c
CAT 活性	藏川杨	1.175a	0.504cd	0.758bc	0.205d
/U·mg ⁻¹ pro	中林 46	1.268a	0.963ab	1.088ab	0.516cd

注:数据后标有相同字母者是经 Duncan 新复极差检验差异极不显著($P < 0.01$)。

2.2.1 取食藏川杨后柳蓝叶甲体内 SOD 活性的变化

由图 2 可以看出,分别取食藏川杨与中林 46 叶片以后,柳蓝叶甲不同龄期幼虫体内 SOD 活性差异显著。且同一时期取食藏川杨的柳蓝叶甲体内 SOD 活性均明显高于取食中林 46 的柳蓝叶甲。表明取食藏川杨后,体内 O₂ 消耗量增加,导致虫体内 HO· 大量增加,从而诱导 SOD 活性明显上升,以清除虫体内的过量自由基。取食藏川杨以后,柳蓝叶甲体内 SOD 活性呈现先下降再上升再下降的状态,与易感虫树种中林 46 先上升后下降的趋势相比波动较大。而在取食后期,SOD 活性都有所下降,表明后期随着时间的变化,柳蓝叶甲取食量下降,不能够合成更多的 SOD 来清除过量的自由基。取食藏川杨的不同龄期柳蓝叶甲随着取食时间的延长,体内 SOD 活性均表现出短期取食(2 龄)的刺激作用、中期取食(3 龄)的抑制作用和长期取食(成虫)的刺激作用。所以取食藏川杨的柳蓝叶甲整个世代中,柳蓝叶甲体内 SOD 活性表现出相同的高→低→高的“V”型动态变化趋势。

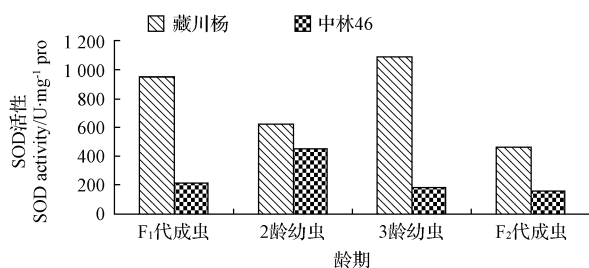


图 2 取食 2 种杨树叶片后柳蓝叶甲体内 SOD 活性的变化

Fig. 2 The changes of SOD activity in

Plagioderma versicolora after eating two poplars

2.2.2 取食藏川杨后柳蓝叶甲体内 POD 活性的变化

由图 3 可知,取食藏川杨和中林 46 的柳蓝叶甲体内 POD 活性均呈现相似的规律,即为先上升后下降的趋势。取食藏川杨的柳蓝叶甲除 3 龄的幼虫体内 POD 活性高于取食中林 46 的柳蓝叶甲外,其余各处理均偏低,尤其是在 F₂ 代成虫时,POD 活性最低。说明取食藏川杨后,柳蓝叶甲 POD 活力受到了抑制。取食藏川杨与中林 46 后,柳蓝叶甲各生长发育龄期 POD 活性的变化

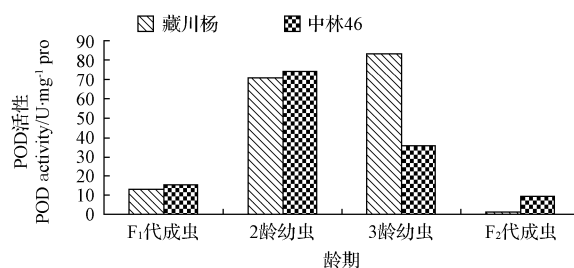


图 3 取食 2 种杨树叶片后柳蓝叶甲体内 POD 活性的变化

Fig. 3 The changes of POD activity in

Plagioderma versicolora after eating two poplars

趋势为“低-高-高-低”,即在幼虫时期体内 POD 活性均高于成虫期,尤其是取食藏川杨的柳蓝叶甲差异达到显著水平($P < 0.05$)。

2.2.3 取食藏川杨后柳蓝叶甲体内 CAT 活性的变化

由图 4 可知,用藏川杨和中林 46 饲喂柳蓝叶甲后,CAT 活性最高值均出现在 F₁ 成虫时期,随后开始下降,虽然在 2 龄幼虫时期有所提高但仍低于 F₁ 代成虫。其体内 CAT 活性变化表现为相似的规律:前者 CAT 活性均低于后者,表明取食藏川杨对柳蓝叶甲体内的 CAT 活性有抑制作用,且随着时间的延长,抑制作用有增强的趋势。说明此时细胞中大量积累的活性氧使过氧化氢酶系统的功能处于紊乱状态,不足以清除过量的过氧化氢,维持细胞内过氧化氢的平衡。从柳蓝叶甲取食藏川杨生长发育的各个龄期来看,3 龄幼虫体内的 CAT 活性高于 2 龄幼虫,但差异不显著。但 2 代成虫体内 CAT 活性呈

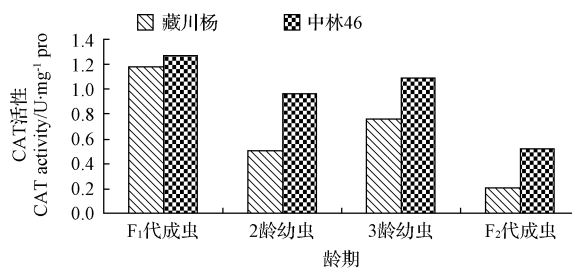


图 4 取食 2 种杨树叶片后柳蓝叶甲体内 CAT 活性变化

Fig. 4 The changes of CAT activity in

Plagioderma versicolora after eating two poplars

现极显著差异。说明取食藏川杨的柳蓝叶甲体内CAT活性具有成虫期的抑制作用。

3 结论与讨论

室内饲养柳蓝叶甲产卵量较取食中林 46 产卵量低,柳蓝叶甲在藏川杨上饲养,幼虫阶段到成虫阶段的存活率与幼虫在中林 46 叶片上进行的饲养有明显的差异。对比于在中林 46 叶片上饲养的柳蓝叶甲,在藏川杨上饲养的幼虫发育所需要的时间要长,成虫也要小点。在中林 46 叶片和藏川杨上饲养的成虫寿命也有差异。柳蓝叶甲取食藏川杨后,SOD 及CAT活性表现出前期降低,随后升高,最后又下降的趋势,而POD活性则表现出前期升高,随后维持在较低的水平;取食藏川杨后,POD和CAT活性虽在变化趋势与取食中林 46 的相似,但除 3 龄幼虫 POD 高于取食中林 46 的以外,其它均低于取食中林 46 的柳蓝叶甲。无论是哪一种情况,均破坏了保护酶系统原有的平衡状态,导致自由基清除系统出现障碍,体内自由基水平升高,对虫体产生伤害作用。

从不同龄期柳蓝叶甲体内的保护酶活性来看,柳蓝叶甲 2 龄和 3 龄幼虫体内 3 种酶活性均高于第 2 代成虫,SOD 被激活后可不断与超氧自由基(O_2^-)发生歧化反应而形成 H_2O_2 ,CAT 和 POD 协同作用,可以帮助虫体分解 H_2O_2 ,但 POD 的活力因被抑制而对 H_2O_2 的分解能力降低,大量的 H_2O_2 与 O_2^- 形成毒性更强的 $HO\cdot$,从而对生物膜造成严重损害,打破了 SOD、CAT 和 POD 3 种酶的协同作用,对虫体产生伤害作用^[8-10]。成虫体内 3 种保护酶的动态平衡被打破,表明柳蓝叶甲成虫比幼虫抵抗胁迫的能力强^[11]。

今后有必要进一步研究柳蓝叶甲和取食藏川杨后一定时间内保护酶活性的变化动态,并将酶活性的变化动态与昆虫的生长发育状态相结合,以期明确其对柳蓝

叶甲体内酶活性的影响。另外,柳蓝叶甲取食几代后能够适应,以及取食后体内的有关解毒酶如羧酸酯酶、乙酰胆碱酯酶活性的变化规律有待于进一步研究。藏川杨是优良的行道树,但适生于高海拔地区,而河北省海拔低,尤其是保定海拔只有 18 m,对于是否适合藏川杨的生长还需进行进一步的试验。另外在河北省坝上地区由于海拔较高,树种种类较少,藏川杨树属高海拔树种,应该可以在坝上地区生长,今后可将藏川杨引种到河北省坝上地区建立引种实验基地。

参考文献

- [1] 张绮纹,杨传平,施季森. 跨世纪林木高新技术-林木生物技术育种[J]. 世界林业研究,1998(1):8-9.
- [2] 贾贞,马银山,毛学文,等. 植物的虫害反应与抗虫机制研究进展[J]. 河西学院学报,2005,21(5):53-55.
- [3] 赵鑫,詹立平,刘桂丰. 杨树基因工程抗性育种研究进展[J]. 东北林业大学学报,2004,32(6):76-102.
- [4] 刘洋. 藏川杨抗虫性初步研究[D]. 保定:河北农业大学,2010.
- [5] 郝再彬,苍晶,徐仲. 植物生理实验[M]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学出版社,2004.
- [6] 杨振德,王利英,覃寿艺,等. Pb^{2+} 、 Cr^{6+} 、 Cd^{2+} 单一及其复合污染对白蝴蝶叶片 CAT、POD 活性的影响[J]. 四川环境,2006,25(5):21-24.
- [7] 王慧,吴国星,叶恭银,等. 铜和镉在棕尾别麻蝇体内的累积及其对三种抗氧化酶活性的影响[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版),2006,32(1):77-81.
- [8] Cervera A, Maym A C, Marthéz-Pardo R, et al. Antioxidant enzymes in *Oncopeltus fasciatus* (Heteroptera: Lygaeidae) exposed to cadmium[J]. Environ Entomol, 2003, 32:705-710.
- [9] Migula P, Glowacka E, Nuorteva S L, et al. Time-related effects of intoxication with cadmium and mercury in the red wood ant[J]. Ecotoxicology, 1997(6):307-320.
- [10] 郭同斌,嵇保中,蒋继宏,等. 转基因杨树对杨小舟蛾体内三种保护酶活力的影响[J]. 昆虫学报,2006,49(3):381-386.
- [11] 陈建明,俞晓平,吕仲贤,等. 白背飞虱取食抗虫品种过程中体内保护酶和自由基的变化[J]. 华东昆虫学报,2002,11(2):41-45.

Resistance Detection of *Populus szechuanica* to *Plagioder a versicolora*

DU Shao-hua¹, LIU Yang², BU Zhi-guo¹, HUANG Da-zhuang¹, DENG Chao¹

(1. Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071000; 2. Horticulture Department, Tourism Vocational College of Hebei, Chengde, Hebei 067000)

Abstract: Taking *Populus szechuanica* as object, the fecundity of *Populus szechuanica* indoor feeding *Plagioder a versicolora* was studied, and the changes of SOD, POD, CAT activities in *Plagioder a versicolora* after eating two poplars were studied. The results showed that fecundity of *Populus szechuanica* indoor feeding was lower than that on fast growing poplar Zhonglin-46, there were some differences on survival of *Plagioder a versicolora* that in feeding with *Populus szechuanica* and fast growing poplar Zhonglin-46. After eating *Populus szechuanica*, the activities of SOD and CAT decreased first, then increased, and decreased at last, but POD increased at first and then maintained at a lower level; except POD on third instar larvae was higher than feeding by Zhonglin-46, others were lower.

Key words: *Populus szechuanica*; *Plagioder a versicolora*; protective enzymes