

文章编号: 0529-6579 (2000) 06-0242-04

三月红荔枝品种抗荔枝叶瘿蚊机制—叶片形态解剖特征与几丁质酶活性分析*

周 强, 王建武, 骆世明

(华南农业大学 热带亚热带生态研究所, 广东 广州 510642)

摘 要: 荔枝叶瘿蚊是广泛分布于我国及东南亚荔枝主产区的新害虫, 危害十分严重. 对荔枝叶瘿蚊在不同荔枝品种上的自然种群动态、叶片解剖结构特征、叶片中几丁质酶活性进行比较研究, 结果表明: 叶瘿蚊田间种群在三月红上的密度为 0, 该品种对叶瘿蚊有强的抗性; 单位面积表皮细胞的数目多少是其抗虫机制之一; 荔枝叶片中几丁质酶活性的变化及与叶瘿蚊密度变化呈正相关, 随着叶瘿蚊危害的加重, 几丁质酶的活性加强, 表现为应激反应.

关键词: 三月红荔枝品种; 叶瘿蚊; 抗虫机制; 叶片结构; 几丁质酶

中图分类号: Q 944.56; Q946.5 **文献标识码:** A

荔枝叶瘿蚊 *Dadineura* sp. 广泛分布于中国及东南亚各荔枝主产区. 叶瘿蚊成虫在刚展开的嫩叶中产卵, 孵化后幼虫钻入小叶内, 形成瘤状虫瘿, 严重时一叶有数十个虫瘿, 抑制叶片光合作用和营养积累, 影响花质和座果. 随着荔枝生产规模的扩大, 荔枝叶瘿蚊正逐渐从次要害虫转变成主要害虫, 其种群的扩散速度快, 自我保护能力强, 防治难度大^[1, 2]. 植物虫瘿不仅能够为昆虫提供改进的营养物质, 而且提供适应环境和躲避天敌的庇护场所^[3]. 由于叶瘿蚊幼虫有虫瘿的保护, 化学防治的效果不佳, 因此有必要研究其它的防治手段, 以加强对该虫的控制能力. 有初步报道表明, 荔枝三月红品种对叶瘿蚊有很强的抗性^[4], 但三月红抗虫性产生的原因方面的工作目前尚未有报道.

研究荔枝品种抗虫性机制一方面可在理论上探讨昆虫与植物协同进化的模式, 加深对植物与植食者间复杂关系的了解; 另一方面, 也可为培育更好的抗虫品种、研制和利用新的植物保护剂等生产实践提供理论指导, 进而能够补充和完善现行的叶瘿蚊害虫综合防治策略和方法. 本研究的主要内容包括: ①荔枝叶瘿蚊在不同荔枝品种上的自然种群动态; ②不同荔枝品种叶片结构特征及其与虫瘿形成的关系; ③不同品种荔枝叶片中与抗虫性相关的几丁质酶的活性比较. 通过对三月红、妃子笑、淮枝和糯米糍等荔枝品种在叶片形态解剖和相关代谢酶的活性生理等方面进行研究, 以期深入了解不同品种荔枝对叶瘿蚊的抗性的差异原因, 以及三月红抗荔枝叶瘿蚊的主要机制.

* 基金项目: 国家“九·五”攻关资助项目 (96-015-01-06); 生物防治国家重点实验室开放基金资助项目 (9904)

收稿日期: 2000-09-18; 作者简介: 周 强 (1968~), 男, 博士后; 研究方向: 昆虫学与化学生态学.

1 材料方法

1.1 野外调查

野外调查在华南农业大学园艺系实验荔枝园进行,在该园选取三月红、妃子笑、淮枝和糯米糍4个品种的10龄荔枝树各5棵,总计20棵,每树分东、南、西、北4个方向,每一方向选2条嫩枝,目测记数每一叶片上的虫瘿数.每隔10 d调查一次,总计5次.

1.2 室内实验

叶片解剖特征:在野外采回的新梢,取第3片叶,用清水洗净,制作成固定切片标本.叶片观察采用16×10生物显微镜,记录叶片上表皮厚度、栅栏组织厚度、海绵组织厚度、视野表皮细胞数目.每一荔枝品种设5个重复.

酶活性测定^[5]:用0.10 mol·L⁻¹ (pH 5.0)的柠檬酸缓冲液研磨叶片($w/V=1:3$),在10 000 r/min离心10 min,上清液为酶液,吸取0.5 mL酶液,加入0.1 mL (0.3 μm)的NaN₃,再加入0.5 mL的几丁质悬浮液,37℃保温3 h后,加热至100℃5 min终止反应.在544 nm下测定光密度 A_{544} ,在10 000 r/min下离心10 min,去除多余的几丁质,取上清液再测 A_{544} 值,得二次测定之差 ΔA_{595} 值,在 A_{544} 下测得蛋白质含量,根据下式算出酶得比活性:

$$\text{酶活性} = 67.28 \times (\Delta A_{544} / \Delta A_{595}) (\text{nkatal} \cdot \text{g}^{-1}).$$

实验数据全部经过平行实验重复.数据统计分析和方差分析由Statistics4完成.

2 结果分析

2.1 叶瘿蚊在不同荔枝品种上的密度比较

不同荔枝品种上叶瘿蚊种群发生密度的情况见表1.在调查的4个荔枝品种中,淮枝上的叶瘿蚊密度最高,其次为糯米糍,最小为三月红.经统计检验表明淮枝、糯米糍和妃子笑3个品种上的叶瘿蚊田间密度有差异,但差异不显著.在对三月红的5次调查中发现,叶瘿蚊完全不生活在该品种上,而邻近的其它品种上都有该虫的虫瘿寄生,结果表明三月红对叶瘿蚊有极强的抗性.可见,通过对荔枝品种的选择能够控制叶瘿蚊的种群密度.

表1 不同荔枝品种叶瘿蚊种群密度比较¹⁾ (五山,2000年7月)

t/d	荔枝品种			
	三月红	糯米糍	妃子笑	淮枝
10	0 ²⁾	7.32	6.33	8.55
20	0	6.21	5.24	9.62
30	0	6.39	5.70	9.10
40	0	7.05	6.89	7.63
50	0	5.14	5.37	7.58
总计	0	32.11	29.53	42.48

1) 单位为虫瘿数/叶; 2 差异显著

2.2 不同荔枝品种叶片解剖特征

植物的大小、形状及组织结构都在植物对害虫的防御机制中起重要作用.不同荔枝品种叶片解剖结构特征见表2.荔枝叶表皮细胞和组织厚度可保护其免受昆虫的侵害,是荔枝抵御叶瘿蚊的第一道防线,通过对不同品种荔枝上表皮厚度的比较发现,各品种叶片的上表皮厚度的差异不明显,栅栏组织和海绵厚度的差异也不明显,各品种叶片的表皮细胞间距无明显差异.但是,表皮细胞数目与叶瘿蚊的密度之间有一定的关系,三月红表皮细胞数目最少,不受叶瘿蚊危害;淮枝表皮细胞数目最多,受害最严重.

表 2 不同荔枝品种叶片解剖结构特征

叶片组织	荔 枝 品 种			
	三月红	糯米糍	妃子笑	淮枝
上表皮厚度/mm	0.110	0.110	0.104	0.107
表皮细胞间距/mm	1.76	1.41	1.57	1.25
表皮细胞数目（单位）	7.65	8.65	10.89	11.05
栅栏组织厚度/mm	0.28	0.28	0.27	0.26
海绵组织厚度/mm	0.43	0.45	0.45	0.42

2.3 不同品种荔枝叶片中几丁质酶的活性比较

植物体内的几丁质酶是一类数量较少，但分布广泛的专一性水解酶类，并被普遍认为是一种抗性蛋白。通过对不同荔枝品种叶片中几丁质酶活性的比较发现，三月红几丁质酶活性明显高于妃子笑和淮枝，且差异极显著（ $\alpha=0.05$ ）；三月红几丁质酶活性也高于糯米磁品种。这一研究结果表明荔枝叶片中的几丁质酶活性与荔枝抗叶瘿蚊的能力成正比，抗虫能力强的品种中该酶的活性高。通过对不同荔枝品种叶片中几丁质酶活性的变化与叶瘿蚊密度变化的相关性研究表明：妃子笑和淮枝品种荔枝叶片中几丁质酶活性的变化与叶瘿蚊密度变化呈正相关，随着叶瘿蚊危害的加重，几丁质酶的活性由弱变强，表现为应激反应。

表 3 不同荔枝品种叶片中几丁质酶活性的变化及与叶瘿蚊密度变化的相关性

t/d	荔 枝 品 种			
	三月红	糯米糍	妃子笑	淮枝
10	333.76	328.49	138.40	199.20
20	371.22	241.34	110.54	200.22
30	310.25	265.89	113.49	195.36
40	323.47	254.17	128.96	172.10
50	348.63	258.27	115.66	155.40
平均活性	337.27 ^{* *}	269.63 [*]	121.41	184.46
相关系数 ¹⁾	-	0.551	0.811	0.875

1) 叶瘿蚊虫瘿数目与酶活性间的相关系数

3 讨 论

荔枝叶瘿蚊以形成虫瘿的形式危害荔枝叶片，因其数量巨大，严重影响叶片的光合作用和营养物质在果实中的积累，导致荔枝产量和质量的下降^[6, 7]。荔枝三月红品种在田间表现出极强的抗虫性，此结果已在前人及本研究中得到证实。相对其它的感虫品种，三月红表皮细胞数目最少，不受叶瘿蚊危害，表明单位面积表皮细胞的数目多少可能是其抗虫机制之一。荔枝叶片的其它组织结构特征与其抗虫性的相互关系不明显。

荔枝植物体内不含有几丁质，但却具有较弱的几丁质酶活性，而几丁质是构成昆虫表皮的重要物质，可见几丁质酶在植物与昆虫相互关系中起着重要作用^[8]。通过对不同荔枝品种叶片中几丁质酶活性的比较发现，荔枝叶片中的几丁质酶活性大小与荔枝抗叶瘿蚊的能力成正比，这一结果也证实了上述观点。但目前的研究并不能说明几丁质酶是一种特异

的抗性蛋白, 应该在深入研究几丁质酶生物化学特征的基础上结合生物活性测定对该酶进行更进一步的研究. 几丁质酶在妃子笑和淮枝品种荔枝叶片受虫害影响后表现为应激反应, 这一特点与烟草、玉米和蚕豆中该酶的表现一致^[9]. 尽管目前没有直接的证据表明几丁质酶是一种在荔枝叶瘿蚊抗性机制起重要作用的特异抗性蛋白, 但它的产生和积累与植物的抗逆应激生理防御反应机制有关. 对三月红荔枝品种抗荔枝叶瘿蚊机制的研究应该加强对抗坏血酸过氧化物酶(AsA-POD)、多酚氧化酶(SOD)和苯丙氨酸解氨酶(PAL)等与植物抗性有关的酶的研究. 此外, 植物次生物质也可能在三月红对叶瘿蚊寻找寄主植物的定向和识别、寄主可食性的判别过程中产生影响. 对不同品种荔枝叶片抗荔枝叶瘿蚊的化学次生物质的分析也是揭示三月红抗虫机制的一条主要途径.

参考文献:

- [1] 罗启浩. 荔枝叶瘿蚊的化学防治研究[J]. 广东农业科学, 1991(5): 25 ~ 27.
- [2] 何等平. 中国荔枝新害虫荔枝叶瘿蚊研究初报[J]. 昆虫天敌, 1992, 14(1): 42 ~ 46.
- [3] PRICE P W, FERNANDES G W, WARING G L. Adaptive nature of insect galls[J]. Environ Entomol, 1987, 16: 15 ~ 24.
- [4] 刘志城, 刘建峰. 荔枝、龙眼病虫害防治图谱[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997. 26 ~ 28.
- [5] 王海波, 陶芸, 金沙. 蚕豆叶片几丁质酶活性的蚜虫诱导——植物生理应激反应的趋同性[J]. 应用生态学报, 1994, 5(1): 68 ~ 71.
- [6] 刘德广, 张润杰. 荔枝主要害虫及其防治[J]. 昆虫天敌, 1998, 20(2): 7580.
- [7] 林兰稳. 荔枝叶瘿蚊的发生及综合防治措施[J]. 广东农业科学, 1997, (3): 36.
- [8] HOWARD J B. Studies of the physicochemical and enzymatic properties of *Papaya lysozyme*[J]. J Biol Chem, 1967, 242: 239 ~ 287.
- [9] ABELES F B, BOSSHART R P, FORRENCE L E. Preparation and purification of glucanase and chitinase from bean leaves[J]. Plant Physiol, 1971, 47: 129 ~ 134.

The Leaf Structure Characteristics and Chitinase Activity of Shan Yuehong Resistance to Litchi Gall Midge

ZHOU Qiang^{*}, WANG Jiang-wu, LUO Shi-ming

Abstract: Litchi gall midge, *Dadineura* sp., has been an important pest in China as well as in South-east Asia. The population density, anatomical characteristics of leaf structure and the chitinase activity were studied. It was shown that Shan Yuehong, one of the Litchi cultivars, had high resistance to gall midge. The number of epicuticula cell was one of the resistance mechanisms of Shan Yuehong. It was found that insect stress could induce plant's chitinase activity, plant stress reaction level was related to the gall midge density, and the stress reaction fluctuated with the population density.

Keywords: Shan Yuehong Litchi cultivars; gall midge; resistance mechanisms; leaf structure; chitinase

^{*} Institute of Tropical and Subtropical Ecology, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China