

蚕豆对蚕豆蚜刺吸胁迫的生理防御策略

王海波 周纪纶

(复旦大学生物系, 上海)

摘 要

本文以蚕豆-蚕豆蚜人工实验系统为对象, 研究了蚕豆因蚕豆蚜刺吸胁迫而引起的生理应激反应。发现蚕豆蚜的胁迫使蚕豆的能量代谢加强, 苯丙烷类代谢途径的关键酶PAL活性升高, 苯丙烷类的代谢产物抗性物质氯原酸含量增加, 与木质素合成有关的过氧化物酶活性增大, 主要代谢途径的产物水溶性蛋白成份相对地减少, 细胞膜透性明显地加大。当蚕豆蚜的胁迫解除后, 有不同程度的逆转。实验结果显示了蚕豆对蚕豆蚜刺吸胁迫的防御, 是全面综合的应激反应, 一种间断的、可逆转的自我调节过程。

一、前 言

植物和昆虫种间相互作用的研究, 无论在生态学理论上, 还是对实际生产都具有极为重要的意义。近年来, 已有许多研究工作 (如 Nelson 1982, Arnason and Towers 等 1982, Erickson and Feeny 1974, Rosenthal 1982), 证实了害虫的胁迫能引起植物的生理应激反应, 产生了如光敏剂、丹宁酸、蛋白酶抑制物等对昆虫有防御效应的抗性物质。但对于植物生理应激的全过程, 所涉及的各个方面及整体防御策略, 尚缺乏比较系统的研究。我们认为揭示植物与昆虫种间关系的关键, 恰是对它们之间的胁迫与应激的发生、发展与消失全过程的认识。

植物与昆虫种间相互作用的系统过程, 可按下面的模式框图 (图1) 来考虑。围绕植物生理防御这一环节, 应当特别注意的是与植物化学防御物质产生与消长有关的整体应激生理

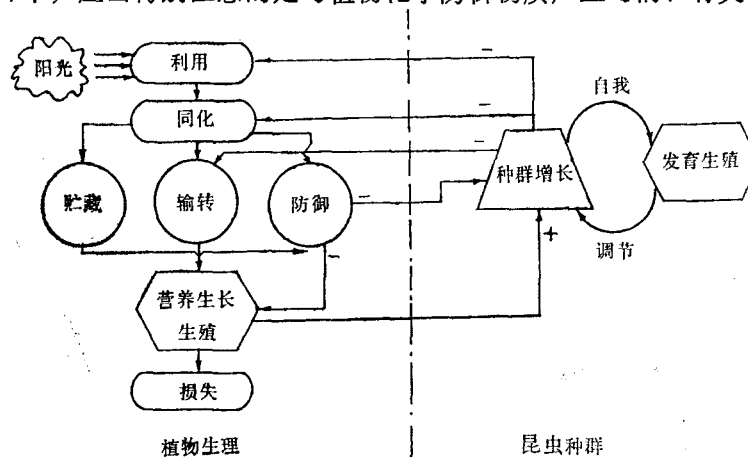


图1 种间关系模式框图
Fig.1 Interaction between plant and insect

* 本文工作得到孔令毅、乐毅全和王集等同志的帮助, 在此表示谢意。
本文于1986年10月27日收到。

过程,以及各种生理变化的相互联系。另一方面,则是由于植物防御所引起的昆虫种群动态变化。最后,应从植物生理防御和昆虫种群动态的联系中了解种间相互作用系统的运行过程。

本文即是按照上述观点,对植物生理防御过程的一些主要方面进行初步探索的结果。

二、材料与方法

选择了蚕豆 (*Vicia faba*) 和蚕豆蚜 (*Aphis craccivora*) 作为实验材料。

在盆栽蚕豆苗上接种蚕豆蚜,建立人工种间关系系统,即处理组。另设没有接种蚕豆蚜的蚕豆苗为对照组。

处理组与对照组,均在受控条件下持续培养,控制条件是模拟春天自然环境的光照和温度的昼夜时态变化,空气湿度维持在70~80% (RH) 之间。

表 1 控制的实验条件

Table 1 Ambient factors controlled in experiment

时间	6:00—8:30	8:30—11:30	11:30—14:00	14:00—16:30	16:30—20:00	2:00—6:00
温度	22℃	24℃	27℃	24℃	22℃	20℃
照度	3600lux	4000lux	5500lux	4000lux	3600lux	0 lux

分别在规定时间(天数),连续抽取处理组和对照组植株(叶和幼茎)样本,进行下列各项生理指标的测定。

1. 呼吸率,用Warburg呼吸仪测定

2. 苯丙氨酸氨基裂解酶(PAL)的活力,用0.05mol的硼酸盐缓冲液(pH=8.8)研磨提取酶液(在10000rpm下离心30分钟)。以0.02mol的L-苯丙氨酸为反应底物,在290nm处测光吸收变化值(以0.01 O·D/小时变化为一活力单位),同时测定蛋白含量,求出比活力。

3. 氯原酸含量,用脂肪提取器加乙醇抽提,在324nm处测光吸收值。

4. 过氧化物酶活力,方法据薛应龙等(1985)。

5. 膜透性,用双重蒸馏水浸泡材料,电导仪测定电导率作为膜透性指标。

6. 蛋白组份含量,方法据X.H.波钦诺克(1976)。

7. 有机酸含量,方法据X.H.波钦诺克(1976)。

此外,为检验植物反应的调节能力,另做了在处理组幼株上去除蚜虫并测定其生理变化过程的实验。

所有实验都进行了三次以上(有的达六次)的重复,并进行了t检验和F检验。

三、实验结果

对处理组和对照组蚕豆叶茎的历次抽样样品进行测定,结果分析如下。

1. 能量代谢的应激过程

从表2的数据,可看到蚕豆蚜的胁迫对蚕豆植株能量代谢强度的影响十分显著。呼吸率的变化是时间的函数,其特征时态变化说明蚕豆蚜胁迫的初始阶段,植株在呼吸率的激增或能量代谢强度增大上表现十分敏感;继后则可能由于采取其它方式的自主调节以适应外来干扰,使能量代谢水平恢复常态。

2. 苯丙烷类代谢途径的应激过程

植物苯丙烷类代谢途径,是一条支路,它的一系列产物中很多都具有生理抗性。植物病理生理学已经证实,苯丙烷类代谢的关键酶,苯丙氨酸氨基裂解酶(PAL)活性,可作为抗性反应的一项主要指标。该途径的产物之一氯原酸的含量,也可作为抗性反应的一个重要指标。

表3数据反映了蚜虫胁迫同样能引起PAL的活力升高。处理组在7天后,PAL

酶活性比对照组高180单位,以后慢慢减小至15天时仅差十几个单位,然后差距又再一次拉大至180单位。这种特征时态的酶活力变化,说明了(1)植物在逆境中,对病原和昆虫危害的抗性反应生理过程机制有其共同性;(2)植物能调节其次生代谢过程的强弱,以适应抗性和自身生存的需要。PAL酶活力变化与呼吸率的变化有一种时态上的延续性,即先有呼吸代谢的高峰出现,然后次生代谢增强,表明两者是密切相关的。

PAL增加,表明氯原酸的含量也将有所增加(表3),蚕豆幼株对蚜豆的胁迫确实产生了防御反应。

表3 蚕豆蚜对蚕豆PAL酶活力、氯原酸含量、过氧化物酶活性的影响

Table 3 Effects of *A. craccivora* on the PAL activity, the content of chlorogenic acid, isochlorogenic acid and the peroxidase activity of *Vicia faba*

项 目	时间 (d)	处 理 组	对 照 组
PAL酶活力 (u/mg.fw/hr) 显著相关 $p < 0.05$ T 检验	7	412.996	236.780
	10	188.477	144.119
	13	21.287	6.541
	15	24.283	10.980
	17	259.468	61.406
	19	89.215	22.555
氯原酸含量 (mg/g.dw) 显著相关 $p < 0.01$ T 检验	7	54.095	31.508
	10	47.319	43.931
	13	65.389	43.931
	15	68.777	47.319
	17	91.365	61.436
	19	97.012	49.578
过氧化物酶活性 (O.D) 显著相关 $p < 0.05$ (T-Test)	5	0.141	0.072
	8	0.113	0.083
	11	0.093	0.082
	14	0.185	0.099
	17	0.13	0.092

表2 蚕豆蚜对蚕豆呼吸率的影响
Table 2 Effect of *A. craccivora* on the respiratory rate of *Vicia faba*

处理时间 (day)	处 理 组 ($\mu\text{l/g}\cdot\text{fw/hr}$)	对 照 组 ($\mu\text{l/g}\cdot\text{fw/hr}$)
4	79.626	45.927
5	80.829	36.594
6	60.069	45.79
7	51.596	32.621
9	14.056	14.357

显著相关 (T检验 $P < 0.05$)

3. 过氧化物酶活力与蚜虫胁迫的关系

过氧化物酶是能量代谢过程中的一个酶,同时又与细胞壁木质素形成有关,实验结果表

明, 过氧化物酶活力升高与蚜虫胁迫密切相关。酶活力升高一方面表示了将有能量代谢的变化, 另一方面也指出了木质素合成可能加强, 增厚细胞壁来不利于蚜虫的取食。

4. 植物细胞膜透性与蚜虫胁迫

表 4 数据说明, 细胞膜透性在植物受到虫害后显著增大。这与蚜虫刺吸造成的机械损伤有关。膜透性增加的重要意义在于植物能加强其物质运输, 以补偿由于蚜虫所造成的损失。植物的这种被动调节也是植物整体防御的一部分。

5. 主要代谢的应激过程

为整体考察植物在受到蚜虫胁迫后的应激反应, 对植物主要代谢产物如蛋白、糖和脂类的含量变化进行了分析。实验结果表明, 只有水溶性蛋白组份含量和脂类的含量的变化与蚜虫胁迫显著相关, 其余则难以判断。

表 4 蚕豆蚜对蚕豆细胞膜透性、蚕豆水溶性蛋白含量, 蚕豆脂类含量的影响

Table 4 Effects of *A. craccivora* on the cell membrane permeability, the water soluble protein and the organic acid of *Vicia faba*

项 目	时间 (d)	处 理 组	对 照 组
细胞膜透性 (uv/cm) 显著相关 $P < 0.01$	7	66.64	25.24
	10	69.7	26.1
	13	88	43.6
	16	49.8	13.9
水溶性蛋白含量 (mg/fw.g) 显著相关 $P < 0.05$	7	4.534	8.646
	10	4.632	11.123
	13	6.77	10.667
	15	6.615	9.884
	17	16.127	16.53
	19	13.65	12.659
蚕豆脂类含量 (ml) 显著相关 $P < 0.01$	5	0.78	0.65
	8	0.75	0.64
	11	0.75	0.66
	14	0.81	0.72
	16	0.75	0.61
	18	0.74	0.65

表 4 数据表明, 受到胁迫的植物的水溶性蛋白含量随处理时间的延长而有所变化, 先减少后逐渐恢复正常。反映了植物的代谢调节能力和运输效率的增加。

表 4 显示, 脂类含量在受胁迫植物中有所升高, 与氯原酸含量升高相等。

6. 去除蚜虫胁迫后植物的生理变化

在去除蚜虫胁迫的植株上, 测定了过氧化物酶, 氯原酸含量和膜透性等生理指标, 由表 5 可见, 蚕豆在去除蚜虫后, 其过氧化物酶活力, 氯原酸含量和膜透性都介于对照和处理之间, 表明植物对胁迫的敏感性和反应灵敏性。

四、讨 论

蚕豆蚜胁迫所引起的蚕豆生理应激反应, 表现在整体代谢途径包括能量代谢, 主要代谢和次生代谢的改变和结构与功能的调节过程中, 具有全面性。实验结果表明, 不仅植物的次生代谢过程发生了变化; 苯丙烷类代谢途径的增强, PAL酶活力升高, 抗性表征物质氯原酸含量增加, 而且在植物的其它方面如能量代谢过程, 主要代谢过程以及膜透性等结构指标都有了改变, 从而形成了全面的生理应激过程。

根据 Hedin (1982) 提出的“在受到昆虫胁迫时, 植物用于防御的能量和物质是有限的”的观点, 蚕豆生理应激反应不是持续无控的, 而是快速、间断和被调节的(主动和被动), 反映在应激过程中是一种时态的变化。实验结果证实了这一点。从图 2 可以清楚地看到, 各种代谢过程的时态变化是相

表 5 蚕豆蚜对蚕豆过氧化物酶活力、氯原酸含量、细胞膜透性的影响

Table 5 Effect of *A.craccivora* on the peroxidase activity, the chlorogenic acid and isochlorogenic acid, the cell membrane permeability of *Vicia faba*

项 目	时间(天)	处理组1	外理组2	对照组
过氧化物酶 活力 (O.D)	4	0.170	0.138	0.132
	8	0.173	0.155	0.162
	10	0.260	0.182	0.170
氯原酸含量 (O.D)	4	0.096	0.084	0.0845
	6	0.034	0.026	0.022
	8	0.018	0.0103	0.012
细胞膜透性 (uv/cm)	4	88	50.8	43.6
	8	70	44	33.9

注: 处理 1 同前面实验处理。

处理 2 为去除蚜虫

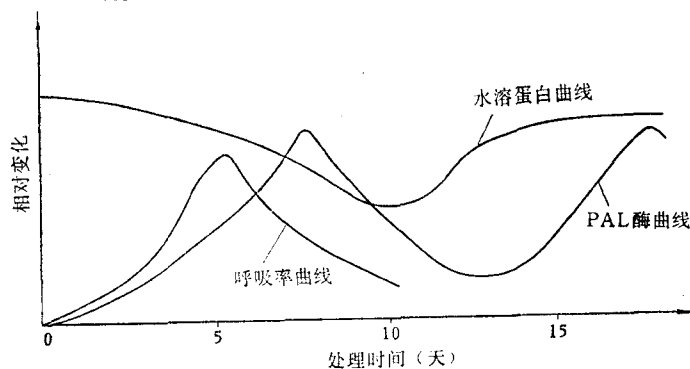


图 2 应激过程的时态变化
Fig.2 Dynamics of physiological stress process.

互关联的。如当主要代谢产物的含量处于下降状态时(处理植株低于对照), 次生代谢途径则正在加强; 又如在次生代谢途径加强之前, 先出现一个呼吸率增大的峰值, 表现了一种时态上的调节过程。在去除胁迫的实验中, 植株的调节能力再一次得到证实。

植物在应激过程中, 还将遵循从长期种间竞争的协同进化中形成的既抵抗外来干扰, 又无损于自身发展的整体性原则, 植物为补偿损失和生产防御物质, 将耗去大量能源和物资, 长此以往, 将有损于植株自身生长繁殖, 故长期进化结果使植物产生的应激反应是间断的, 并以全面改变其代谢过程和结构与功能, 来缓解和利用不利的处境。这点在本文和李典谟等人(1984)*的工作中已有体现。

* 参见李典谟等人(1981—1985)的“棉虫种群动态及综合防治研究”, 该文在“中国科学院攻关项目研究报告”中。

综上所述,可以建立一般植物防御策略的概念,即植物的应激反应是全面的,其过程是间断和调控的,并遵循有利有节,协同进化的原则来求得与干扰物(昆虫等)的共存。

参 考 文 献

- 薛应龙等 1985,《植物生理学实验手册》上海科技出版社。
 X.H.波钦诺克,《荆家海和丁钟荣译》1976,《植物生物化学分析方法》第91—95页,第265—267页,科学出版社。
 郑师章等 1978,若干金银花中氯原酸含量的比较研究 复旦学报,78年理科版。(只有一期) P111—115。
 Arnason, T., and G.H.N. Towers, etc. 1982. The role of natural photosensitizers in plant resistance to insects, in: *Plant resistance to insects*, ed. by Paul A. Hedin 139—152. American chemical society, Washington, D.C.
 Hedin, P. A. 1982. Preface, in: *Plant resistance to insects*. Washington, D.C.
 Nelson, C.E., etc. 1982. Regulation of synthesis and accumulation of proteinase inhibitors in leaves of wounded tomato plants, in: *Plant resistance to insects*, 103—122. Washington, D.C.
 Rosenthal, G.A. 1982. L-canavanine and L-canaline: Protective allelochemicals of certain leguminous plants, in: *Plant resistance to insects*, 279—290. Washington, D.C.
 Erickson, J.K., and P.Feeny. 1974. Sinigrin: A chemical barrier to the black swallowtail butterfly, *Papilio polyxenes*, *Ecology* 55:103—111.

THE PHYSIOLOGICAL RESISTANCE STRATEGY OF *Vicia faba* TO *Aphis craccivora*'s FEEDING PRESSURE

Wang Haibo Zhou jilun
 (Biology Dept. of Fudan Univ.)

Experiments were carried out to study the whole process of *Vicia faba*'s physiological stress due to *Aphis craccivora* feeding pressure on the basis of plant-insect experimental system. It is found that the aphid's pressure makes broadbean have stronger energy metabolism, higher activity of key enzyme in phenylalanine metabolism—PAL, more products of phenylalanine metabolism—chlorogenic acid. Meanwhile, peroxidase activity rises, water soluble protein relatively decreases, and membrane permeability increases. When aphid's pressure is terminated, some stress actions above-mentioned are reversed in various degrees. The results demonstrate that plant resistance to insect is an integrative stress process which is continuous and repeatedly self-regulated. The defence strategy conforms to the principle of positive interaction of coevolution.