

杨发忠,董智森,肖春. 中国月季感染白粉菌后矿质元素种类和含量的变化[J]. 江苏农业科学,2016,44(6):304-306.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.06.086

中国月季感染白粉菌后矿质元素种类和含量的变化

杨发忠^{1,2}, 董智森¹, 肖春¹

(1. 云南农业大学植物保护学院, 云南昆明 650201; 2. 西南林业大学理学院, 云南昆明 650224)

摘要:采用电感耦合等离子体原子发射光谱(ICP-OES)法测定了中国月季感染白粉菌前后矿质元素种类和含量的变化。测定的16种矿质元素,从健康中国月季中都能检出;而从感病后的中国月季中仅有14种检出,并且含量发生了明显变化。感病后K、Ca、Mg、Si、Na、Se等元素含量显著降低,其中Si含量降低程度最大,为62.62%;而Al、Cu含量增加程度最大,分别为810.71%、656.20%,且Al的含量高达528.12 μg/g。结果表明,白粉菌侵染诱导了中国月季生理生化发生变化。分析了白粉菌侵染中国月季后对中国月季上昆虫甜菜夜蛾产生抑制作用的原因。研究结果为病虫互作关系及其互作机制的研究奠定了基础。

关键词:月季白粉菌;中国月季;矿质元素;ICP-OES;病虫互作关系

中图分类号: S436.8⁺1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)06-0304-03

已有较多的研究表明,在植物病原菌—寄主植物—昆虫组成的三元系统中,存在着寄主植物介导间接的病虫相互作用^[1-4]。其中,植物病原菌侵染寄主植物会对共享寄主的昆虫造成不利影响。研究已经证明中国月季感染月季白粉菌后,对中国月季上的甜菜夜蛾产生不利影响^[5],但是对影响机制研究还未见相关文献报道。研究寄主植物介导间接的病虫互作关系的植物保护学家根据所得相关结果进行推测,病害对虫害的影响与植物病原菌诱导植物生理生化代谢变化有着直接的关系^[1]。显然,植物染病后体内矿质元素种类和含量变化正是植物代谢变化的一个重要方面。

各种矿质元素对昆虫维持正常生长发育的重要性已众所周知。进行昆虫人工饲养所用人工饲料中需要加入韦氏盐来提供所需的矿质元素^[6],起到“保生长”的重要作用。如果人工饲料中没有加入适量的各种矿质元素,即使其他各种营养成分合适,昆虫也无法正常生长发育和继代繁殖。

中国月季感染白粉菌后甜菜夜蛾幼虫取食量下降,蛹重减轻,幼虫历期延长,幼虫死亡率提高,表明白粉菌对甜菜夜蛾有明显的抑制作用^[5]。本研究采用电感耦合等离子体原子发射光谱(ICP-OES)法对中国月季感染白粉菌后各种矿质元素种类和含量的变化进行测定,以期明确白粉菌对甜菜夜蛾的不利影响以及感染白粉菌后矿质元素变化,从而为病虫互作关系^[1]的研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试植物中国月季幼苗以及所需月季白粉菌均采自云南

省昆明市呈贡区斗南花卉基地种植中国月季的大棚中。

1.2 仪器与试剂

电感耦合等离子体原子发射光谱(ICP-OES)仪,美国VARIAN公司生产,型号VISTA-MPX CCD Simultaneous ICP-OES;波长范围175~785 nm全覆盖,完全无断点;焦距0.4 m,中阶梯光栅刻线97.4线/mm;RF发生器频率40.68 MHz;等离子体输出功率700~1 700 W;等离子体冷却气0~22.5 L/min可调。

Ca、Na、K、Mg、Co、P、Si、B、Fe、Al、Mn、Cu、Zn、Cr、Pb、Se 16种标准贮备液购自国家钢铁材料测试中心钢铁研究总院,均为1 000 μg/mL,介质为5% HNO₃、HClO₄、HCl、氢氟酸、过氧化氢等,均为分析纯,超纯水配制。

1.3 试验方法

1.3.1 中国月季栽培 将采回的健康无病虫害的中国月季幼苗用基质在温室中栽培,进行适时浇水、施肥、防治病虫害等正常管理。培育条件为温度27℃,湿度70%,光周期12 h。未接种白粉菌的植株在试验前、试验中、试验后均未出现白粉病症状。

1.3.2 白粉菌接种 从采回的带有白粉菌的中国月季叶片上用软毛刷轻轻将孢子刷下,并用无菌水配制成混悬液,再用软毛刷蘸取混悬液均匀刷在温室中的中国月季叶片上,置于光线充足、相对湿度为90%、温度27℃、光周期12 h条件下培养,17 d后大量萌发,用于试验。用作对照的健康中国月季植株在另一温室中相同条件下培育,且从未表现出任何感病症状。

1.3.3 样品处理 从温室中采集健康无病虫害的中国月季叶片样品和感染白粉菌且无其他病虫害的中国月季叶片样品。参考王小平等的方法^[7-8]稍有改动,分别用去离子水洗净,风干,研细后过120目筛,精确称取样品0.500 0 g,置于高压消化罐中,加5 mL浓HNO₃,放置10 h,再加1 mL浓HNO₃、1 mL H₂O₂、0.5 mL HF,调节消化温度至180℃消化5 h。去除密封装置,将溶液缓慢加热至干。再向残渣中加入2 mL浓HClO₄,缓慢加热至冒白烟,以驱除多余的F⁻。稍冷

收稿日期:2015-05-02

基金项目:国家自然科学基金(编号:31160354)。

作者简介:杨发忠(1974—),男,云南楚雄人,博士,副教授,主要从事化学生态学的研究。E-mail: yangfazhong105@163.com。

通信作者:肖春,博士,教授,主要从事昆虫行为与化学生态学研究。E-mail: xiaochune@yeah.net。

却后加入 2 mL 浓 HNO₃,缓慢加热至残渣全部溶解,溶液变为无色。冷却后定容至 50 mL 待测。相同方法进行全程空白试验。

1.3.4 矿质元素含量测定 电感耦合等离子体发射光谱法(ICP-OES)测定矿质元素种类和含量。工作条件:射频功率 1.0 KW;等离子气流量 15.0 L/min;辅助气流量1.50 L/min;雾化器压力 200.00 kPa;蠕动泵转速 15 r/min;读数时间 10.0 s;进样延时 15.0 s;清洗时间 10.0 s。根据谱线的灵敏度和受干扰情况来确定矿质元素分析谱线,选择谱线间干扰小、精密度好的元素分析线,每种元素选取 2~3 条特征谱线进行测定,最终选择了适合中国月季植物样品微量元素测定的分析谱线(表 1)。并按选定波长同时测定叶片组织中的 16 种矿质元素。健康、感病中国月季叶片分别测定,重复 4 次,取平均值。

表 1 各元素的分析线波长

元素种类	分析线波长 (nm)	元素种类	分析线波长 (nm)
Al	396.152	Mg	275.553
B	249.772	Mn	257.610
Ca	393.366	Na	589.592
Co	238.892	P	213.618
Cr	267.716	Pb	220.353
Cu	324.754	Se	196.026
Fe	238.204	Si	251.611
K	766.491	Zn	213.857

1.3.5 测量精度 用标准系列浓度的溶液进样 4 次,以平均吸收强度对各元素浓度做标准工作曲线的回归方程,并获得相应的相关系数。利用所得回归方程,根据植物样品测定的各元素吸收值计算出样品中各元素的含量。

1.3.6 数据统计 矿质元素含量测定结果统计分析使用 SPSS 21.0 (IBM-SPSS,Chicago,IL,USA)中的 *t* 检验进行。

2 结果与分析

2.1 标准工作曲线回归方程

不同矿质元素工作曲线回归方程测定结果见表 2。16 种元素标准工作曲线线性关系良好,线性相关系数在 0.999~1.000 之间,所得回归方程稳定可靠,可获得较高的准确度,且能多元素同时测定。此方法适合于中国月季植物样品中各相关元素的测定,亦可用于其他植物样品中相关矿质元素的测定。

2.2 感染白粉菌前后中国月季叶片矿质元素种类和含量变化

采用 ICP-OES 法测定了感染白粉菌前后中国月季叶片材料中矿质元素种类、含量及其变化(表 3)。健康中国月季中共检测出 16 种元素,按含量从大到小依次顺序为:K、Ca、Mg、P、Si、Fe、Na、Al、Mn、Zn、B、Cr、Pb、Se、Cu、Co;而在感染白粉菌后的中国月季中则总共检测出 14 种元素,含量从大到小依次顺序为:K、Ca、Mg、P、Al、Fe、Mn、Si、Na、Zn、B、Cu、Pb、Se。结果表明,中国月季感病后多种矿质元素含量发生变化,但从种类上看,感病后只有 Cr、Co 2 种微量元素未检测出。

表 2 不同矿质元素标准工作曲线回归方程和相关系数

元素种类	回归方程	相关系数(<i>r</i>)
Al	$y = 17\,133.7x + 2\,086.5$	0.999 9
B	$y = 4\,127.2x + 5\,352.7$	0.999 9
Ca	$y = 3\,138.3x + 2\,734.7$	0.999 9
Co	$y = 6\,987.7x + 285.6$	0.999 9
Cr	$y = 15\,144.7x + 4\,066.7$	0.999 9
Cu	$y = 14\,238.6x + 619.8$	0.999 9
Fe	$y = 19\,138.7x + 1\,524.6$	0.999 9
K	$y = 198\,046.6x + 9\,214.5$	0.999 2
Mg	$y = 1\,372.8x + 319.2$	0.999 9
Mn	$y = 88\,978.3x + 1\,251.3$	0.999 9
Na	$y = 20\,3126.4x + 77\,430.3$	0.999 6
P	$y = 826.3x + 102.7$	0.999 9
Pb	$y = 1\,532.7x + 102.4$	0.999 9
Se	$y = 283.6x + 10.8$	1.000 0
Si	$y = 796.4x + 12.7$	0.999 9
Zn	$y = 19\,226.7x + 1\,634.6$	0.999 9

由表 3 可见,中国月季感染白粉菌后,在测定的 16 种元素中 K、Ca、Mg、Si、Na、Pb、Se、Cr、Co 共 9 种元素含量降低,只有 Fe、Al、Mn、B、Zn、Cu 含量升高,并且升高幅度相对较小,绝对含量不高。含量降低的元素主要是对植物生命代谢重要的元素,其中 K、Ca、Mg、Na、Si 为大量元素,含量降低的程度均很大。其中,含量最大的 K 元素从 11 055.54 μg/g 下降至 7 062.80 μg/g,下降了 36.12%;Si 也下降了 62.62%,下降程度最大,表明中国月季感染白粉菌后生长发育、新陈代谢受到较大影响。

表 3 中国月季感染白粉菌前后叶片矿质元素种类和含量变化

元素种类	健康中国月季		感病中国月季		变化值 (%)	<i>P</i> 值
	含量 (μg/g)	<i>RSD</i> (%)	含量 (μg/g)	<i>RSD</i> (%)		
K	11 055.54	0.07	7 062.80	0.01	-36.12	<0.001
Ca	7 727.60	0.01	6 292.66	0.01	-18.57	<0.001
Mg	5 102.57	0.01	4 488.20	0.90	-12.04	<0.001
P	355.35	0.01	572.92	0.07	61.23	<0.001
Si	255.47	0.90	95.50	0.01	-62.62	<0.001
Fe	140.61	0.07	354.10	0.01	151.83	<0.001
Na	87.68	0.01	84.36	0.07	-3.79	0.002
Al	57.99	0.06	528.12	0.06	810.71	<0.001
Mn	17.12	0.02	98.86	0.02	477.48	<0.001
Zn	10.27	0.02	60.12	0.02	485.41	<0.001
B	8.08	0.50	20.07	0.50	148.42	<0.001
Cr	4.04	0.60	0.00	0.60	-100.00	<0.001
Pb	3.58	0.03	2.59	0.03	-27.61	<0.001
Se	2.39	0.03	0.03	0.03	-98.86	<0.001
Cu	1.63	0.01	12.33	0.01	656.20	<0.001
Co	0.01	0.02	0.00	0.01	-100.00	<0.001

注:变化值表示与健康叶片中的含量相比升高或降低的百分数,测定样品为叶片干质量。

3 讨论

相关研究业已证明,中国月季感染白粉菌后对中国月季植株上的昆虫甜菜夜蛾造成了不利影响,使甜菜夜蛾幼虫取食量下降,同时还使蛹重减轻,幼虫历期延长,幼虫死亡率提

高等^[5]。其他植物病原菌感染寄主植物也会对共享寄主的昆虫造成不利影响^[1-2]。但是,专门针对病害对虫害的影响机制的研究还未见报道。植物病原菌通过寄主植物介导作用对昆虫造成不利影响的原因是多方面的,其中寄主植物受到植物病原菌侵染后诱导植物体内生理生化代谢变化是主要原因^[9],包括植物体内矿质元素种类和含量的变化,是对昆虫造成不利影响的重要原因之一。

本研究结果表明,矿质元素含量在中国月季感染白粉菌后发生了明显的变化。K、Ca、Mg、Na 等元素为昆虫生长发育所必需,在感病后含量显著降低。在饲养昆虫所用的人工饲料中,这些元素是通过加入韦氏盐的方式来提供,若人工饲料中缺乏这些元素,则昆虫难以继续繁殖,表明矿质元素种类和含量对昆虫维持正常生长发育起到关键作用^[6]。表明中国月季感染白粉菌后矿质元素种类和含量发生变化,是导致甜菜夜蛾幼虫取食量下降的重要原因之一。

感病后 Mg 元素含量减少明显。采样过程中发现,感染白粉菌后中国月季叶片失绿的现象普遍,与 Mg 元素含量减少结果相吻合。可能是白粉菌侵染导致 Mg 代谢失衡,对该元素的吸收减少;同时也可能是在感病后,植物启动了细胞程序性死亡程序,将 Mg 有计划地转移至其他未感病部位加以利用。感病后 Si 元素减少的程度在所有元素中是最大的,与感病前相比减少了 62.62%。植物缺乏 Si 元素,则抗病性下降,易倒伏^[10]。Mg、Si 含量下降是否与昆虫取食量下降有关仍然未知,还没有相关的文献报道。

感染白粉菌后中国月季叶片内 Al 元素含量增加了 810.71%,在所有元素中增幅最大,且绝对量也非常大,达到 528.12 $\mu\text{g/g}$ 。该元素增加以及绝对量大,是否会对甜菜夜蛾的取食量产生影响,是值得深入研究的问题。颜斐等研究表明,Al 含量过高能引起涡虫 *Dugesia japonica* (涡虫纲,不属于节肢动物)死亡^[11]。在鳞翅目昆虫的人工饲料中添加韦氏盐^[6],其中含 Al,但其在人工饲料中含量仅为 0.16 $\mu\text{g/g}$,表明要维持昆虫正常生长发育所需 Al 量很少,即使是健康中国月季中的 Al 含量也高于此值。Al 不是植物生长和昆虫生长的必需元素。Cu 元素含量在感染白粉菌后也显著增加,Al、Cu 元素对昆虫有着很强的毒性,推测 2 种元素含量的增加可能与感染白粉菌后甜菜夜蛾幼虫的取食量减少有关,这 2 种元素含量增加不利于昆虫取食。这可能也是中国月季感病后对甜菜夜蛾具有明显抑制作用的原因之一。Mn 元素含量增加可能对甜菜夜蛾幼虫取食也有影响。

Al 元素含量超标对各种动植物都有毒害作用^[12-14]。目前,还没有相关文献说明 Al 含量达到多大数值会对昆虫生长发育带来明显影响。为什么中国月季感染白粉菌后 Al 元素

含量会发生很大变化,以及该元素在植物抗病性方面的作用,或者说 Al 可能是白粉菌侵染寄主过程中的一种重要元素,白粉菌需要通过主动改变寄主中 Al 含量才能成功实现入侵,上述问题将开展进一步深入研究。

参考文献:

- [1] Karban R, Adamchak R, Schnatthorst W C. Induced resistance and interspecific competition between spider mites and a vascular wilt fungus[J]. Science, 1987, 235: 678 - 679.
- [2] Rostás M, Simon M, Hilker M. Ecological cross - effects of induced plant responses towards herbivores and phytopathogenic fungi[J]. Basic and Applied Ecology, 2003, 4(1): 43 - 62.
- [3] Al - Naemi F, Hatcher P E. Contrasting effects of necrotrophic and biotrophic plant pathogens on the aphid *Aphis fabae*[J]. Entomologia Experimentalis et Applicata, 2013, 148(3): 234 - 245.
- [4] Yang F Z, Yang B, Li B B, et al. *Alternaria* toxin - induced resistance in rose plants against rose aphid (*Macrosiphum rosivorum*): effect of tenuazonic acid[J]. Journal of Zhejiang University - Science B: Biomedicine & Biotechnology, 2015, 16(4): 264 - 274.
- [5] 李 艳, 杨发忠, 杨 斌. 感染白粉菌玫瑰对甜菜夜蛾幼虫取食与发育的影响[J]. 西南林学院学报, 2010, 30(2): 44 - 46.
- [6] 曹利军, 杨 帆, 唐思莹, 等. 适合三种鳞翅目昆虫的一种人工饲料配方[J]. 应用昆虫学报, 2014, 51(5): 1376 - 1386.
- [7] 王小平. 不同分解方法对 ICP - AES 测定植物样品中元素含量的影响[J]. 光谱学与光谱分析, 2005, 25(4): 563 - 566.
- [8] Sroor A, Walley N E, El - Shersaby A, et al. Major and trace elemental analysis in milk powder by inductively coupled plasma - optical emission spectrometry (ICP - OES) and instrumental neutron activation analysis (INAA)[J]. Journal of Environmental Sciences, 2003, 15(4): 570 - 576.
- [9] Simon M, Hilker M. Does rust infection of willow affect feeding and oviposition behaviour of willow leaf beetles[J]. Journal of Insect Behavior, 2005, 18(1): 115 - 129.
- [10] 潘瑞炽, 王小菁, 李娘辉. 植物生理学[M]. 5 版. 北京: 高等教育出版社, 2004: 28 - 42.
- [11] 颜 斐, 王晓安. Al^{3+} 、 Cr^{3+} 及 Cd^{2+} 对日本三角涡虫摄食和运动行为的影响[J]. 鲁东大学学报: 自然科学版, 2012, 28(1): 44 - 49.
- [12] 孟 丹, 刘 玲, 陈 露, 等. 外源硫化氢对铝胁迫下水稻幼苗生长及生理生化的影响[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(6): 63 - 66.
- [13] 赵 燕, 李莎莎, 柳履意, 等. 铝胁迫对刺槐幼苗光合色素和矿质元素含量的影响[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(4): 200 - 202.
- [14] 邵继锋, 车 景, 董晓英, 等. 不同基因型玉米耐铝特性比较[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(1): 61 - 64.