

低温驯化马占相思对橡胶树白粉病的抗性机制初探

王 燕^{1,2}, 黄曦泽¹, 冯德宇¹, 王 萌^{1,2}, 梁晓宇^{1,2*}, 张 宇^{1,2*}

1. 海南大学植物保护学院, 海南海口 570228; 2. 海南大学三亚南繁研究院, 海南三亚 572025

摘要: 由白粉菌 (*Erysiphe quercicola*) 引起的白粉病是橡胶树的主要病害之一, 近年来在我国植胶区大面积暴发, 严重影响橡胶树的产胶量。作为常见的胶园防护林树种, 常绿乔木马占相思 (*Acacia mangium*) 是橡胶树白粉菌重要的寄主之一, 研究橡胶树白粉菌与马占相思的生物互作, 可进一步了解白粉菌在寄主上的行为反应, 为有效控制橡胶树白粉病的初侵染源提供技术指导。研究发现: 低温驯化可显著增强马占相思对橡胶树白粉病的抗性。23 °C 培养的马占相思嫩叶接种橡胶树白粉菌时发病严重, 19 °C 驯化 30 d 的马占相思嫩叶发病较轻, 15 °C 驯化 30 d 的嫩叶和 23 °C 培养的成熟叶均不发病。扫描电镜观察发现, 23 °C 培养的马占相思嫩叶表面不平整, 蜡质晶体结构凸起且排列不规则, 相互叠加缠绕; 19 °C 驯化的嫩叶表面趋于平整, 蜡质晶体结构凸起, 排列有序; 15 °C 驯化的嫩叶和 23 °C 培养的成熟叶的表面平整, 蜡质晶体结构表面平滑且有明显的晶体状蜡质。利用气相色谱质谱联用仪 (gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS/MS) 对马占相思叶片的蜡质组成进行定性定量分析, 与 23 °C 培养的马占相思嫩叶相比, 15 °C 和 19 °C 驯化的嫩叶和 23 °C 培养的成熟叶的蜡质组成更为复杂。15 °C 驯化的嫩叶主要蜡质成分及其含量与 23 °C 培养的成熟叶更为一致, C₃₆ 烷、C₃₀ 酮、C₃₂ 酯和 C₃₀ 醇的相对含量均显著降低。另外, 15 °C 驯化可提高马占相思嫩叶在接种白粉菌时的超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 和过氧化物酶 (POD) 氧化酶活性, 其中 SOD 表现最明显。综上所述, 推测低温驯化可能通过促进马占相思嫩叶蜡质晶体结构及组成的成熟化, 阻止橡胶树白粉菌的侵染, 从而提高植株抗病能力。本研究结果有利于了解橡胶树白粉病与寄主的互作关系, 为橡胶树白粉病的高效防治提供理论依据。

关键词: 马占相思; 橡胶树白粉病; 寄主; 低温驯化; 抗性

中图分类号: S763.7 文献标识码: A

Resistance Mechanism of Cold-acclimated *Acacia mangium* to Rubber Tree Powdery Mildew

WANG Yan^{1,2}, HUANG Xize¹, FENG Deyu¹, WANG Meng^{1,2}, LIANG Xiaoyu^{1,2*}, ZHANG Yu^{1,2*}

1. College of Plant Protection, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 2. Sanya Nanfan Research Institute, Hainan University, Sanya, Hainan 572025, China

Abstract: Powdery mildew caused by *Erysiphe quercicola* is one of the major diseases of rubber trees. There have been large outbreaks in rubber tree planting areas in China in recent years, seriously reducing the rubber yield. As a common protective forest species in rubber plantations, the evergreen tree *Acacia mangium* is one of the important host of rubber tree powdery mildew. The study of the biological interactions between *E. quercicola* and *A. mangium* could improve the understanding of the behavior of *E. quercicola* and provide technical guidance for effectively controlling of the primary source of the disease. In this study, cold acclimation significantly enhanced the resistance of *A. mangium* to rubber tree powdery mildew. The young leaves of *A. mangium* cultured at 23 °C had severe lesions when inoculated with *E. quercicola*, the young leaves of plants acclimated at 19 °C for 30 days had less lesions, and the young leaves of plants ac-

收稿日期 2022-09-08; 修回日期 2022-12-02

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 32160370); 国家天然橡胶产业技术体系病害岗位专家项目 (No. CARS-33-BC1); 热带作物病虫害防控项目 (No. 18220003)。

作者简介 王 燕 (1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 橡胶树病害综合防控。*通信作者 (Corresponding author): 梁晓宇 (LIANG Xiaoyu), E-mail: liang2017@hainanu.edu.cn; 张 宇 (ZHANG Yu), E-mail: yuzhang_rain@163.com。

climated at 15 °C for 30 days and the mature leaves cultured at 23 °C had no lesion. Electron microscopy scans revealed that the surface of young leaves of *A. mangium* cultured at 23 °C was uneven. The surface of the young leaves cultured at 19 °C tended to be flat, with a raised and well-arranged waxy crystal structure. The raised and irregularly waxy crystal structure superimposed and entangled with each other. The surface of young leaves of plants acclimated at 15 °C and mature leaves of plants cultivated at 23 °C was flat. The surface of the waxy crystal structure was smooth and had obvious crystal-like waxes. Gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS/MS) was used to analyze the wax content of *A. mangium* leaves on both the qualitative and quantitative level. Compared with the young leaves of *A. mangium* cultivated at 23 °C, the wax composition of the young leaves acclimated at 15 °C and 19 °C and the mature leaves of the plants cultured at 23 °C were more complex. The main wax components and contents of young leaves acclimated at 15 °C were more consistent with those of mature leaves cultured at 23 °C, and the relative contents of C₃₆ alkane, C₃₀ ketone, C₃₂ ester, and C₃₀ alcohol were significantly decreased. In addition, cold acclimation at 15 °C could increase the SOD, CAT and POD oxidase activities of young leaves of *A. mangium* infected by *E. quercicola*, with SOD enzyme showing the greatest increase. In summary, cold acclimation may improve plant disease resistance by promoting the maturation of the structure and composition of the waxes of young leaves of *Acacia mangium* and restraining the infection of *E. quercicola*. This study is useful for understanding the interactions between rubber tree powdery mildew and its hosts, and provides a theoretical basis for efficient control of this disease.

Keywords: *Acacia mangium*; rubber tree powdery mildew; host; cold acclimation; resistance

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.10.023

由白粉菌 (*Erysiphe quercicola*) 引起的白粉病是近年来影响橡胶树产胶量的主要因素之一, 在环境条件适宜情况下极易暴发成灾, 造成橡胶树反复落叶, 严重推迟割胶时间。橡胶树白粉病暴发大多起始于每年的冬春交替之际, 此时林段中橡胶树大多处于落叶期, 可为白粉菌提供寄生的叶片较少。因此寻找橡胶树白粉菌的其他寄主植物, 控制其初侵染的菌源, 可在一定程度上降低白粉病的危害规模。目前已报道的橡胶树白粉菌寄主主要有马占相思 (*Acacia mangium*)、飞扬草 (*Euphorbia hirta* L.)、麻风树 (*Jatropha curcas* L.) 和刺头婆 (*Urena lobata* sp.) 等^[1]。其中马占相思是豆科 (Leguminosae) 含羞草亚科 (Mimosoideae) 金合欢属 (*Vachellia*) 的一种热带常绿高大乔木。作为重要的胶园防护林树种, 马占相思有降低风速、贮水防旱、保护水土、降温防寒、改良土壤等生态效能, 可为橡胶树的生长和产胶提供良好的条件, 还可生产上等薪炭材料, 创造丰厚的经济效益^[2-4]。研究马占相思与橡胶树白粉菌的生物互作, 可进一步了解白粉菌在寄主上的行为反应, 为橡胶树白粉病的高效防治提供理论基础。

低温驯化是植物感受和传递低温信号引起低温适应性反应, 提高抗冻性的过程^[5]。低温驯化过程中植物体内发生许多生理与生化变化, 如渗透调节物质大量积累、抗氧化酶活性增强、细胞

膜脂质组成发生变化等^[6]。前期研究发现, 在低温环境中马占相思的新抽嫩叶不再感染橡胶树白粉菌, 获得了显著的抗病性, 推测是低温驯化提高了马占相思对橡胶树白粉病的抗性。为了探究其中的抗性诱导机制, 本研究以 23、19、15 °C 温度条件下培养的马占相思植株叶片为试验材料, 验证这一抗性现象, 利用扫描电镜和 GC-MS/MS 等仪器分析低温驯化对马占相思嫩叶蜡质的晶体结构和组成的影响, 并测定接种橡胶树白粉菌的植株氧化酶活性, 初步解析其抗病诱导机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 植物材料 供试品种为马占相思 1 年生幼苗, 该品种购自广州市瑞景园林景观设计有限公司, 在自然条件下继续培养待用; 橡胶树品种为热研 73397 橡胶树芽接苗, 购自中国热带农业科学院橡胶研究所, 在自然条件下培养抽古铜叶片待接种。

1.1.2 菌株 橡胶树白粉菌 OH-3 菌株由本实验室分离纯化, 接种至热研 73397 橡胶树芽接苗上扩繁培养。

1.2 方法

1.2.1 低温驯化 马占相思的原产地属于热带湿润气候, 年均温度不低于 23 °C^[7]。故本研究以 23 °C 作为马占相思的自然生长温度, 19 °C 和

15 °C 作为马占相思的低温驯化温度, 将长势一致且健康的马占相思幼苗分别转移至上述 3 个温度的人工气候箱 (光照时间 12 h/d, 光照强度 10 000 lx, 空气相对湿度 85%) 中培养 30 d。

1.2.2 橡胶树白粉菌接种 用软毛笔刷将橡胶树芽接苗叶片上白粉菌的孢子粉轻轻扫到烧杯中, 加入无菌水涡旋振荡摇匀, 用血球计数板计数, 制备浓度为 10^5 个/mL 的孢子悬浮液。用喷壶将孢子悬浮液均匀地喷雾至马占相思幼苗叶片表面, 后将幼苗置于培养条件为 19 °C、光照时间 12 h/d, 光照强度 10 000 lx, 湿度 85%~90% 的人工气候室中培养并观察病程。每个驯化温度下接种 6 株苗, 实验重复 3 次。

1.2.3 扫描电镜观察 将马占相思叶片剪成 1 cm^2 大小的片段, 用 2.5% 戊二醛浸泡后, 4 °C 下固定 12 h; 0.1 mol/L 磷酸缓冲液冲洗 3 次, 每次 20 min; 梯度酒精脱水 (30%、50%、70%、90%、100%) 各 20 min, 醋酸异戊酯置换酒精清洗 1 次; 冷冻干燥 12 h。将样品粘于导电胶并固定在托盘上, 抽真空后喷金, 利用扫描电镜 (Phenom G6 pure) 对叶片表面进行蜡质晶体形态的观察^[8-9]。每个驯化温度下处理 3 片叶, 实验重复 3 次。

1.2.4 蜡质提取 蜡质提取参照赵帅等^[10]的方法稍加改进。将马占相思叶片至于装有 20 mL 三氯甲烷的烧杯中, 轻轻摇晃烧杯加速蜡质溶解, 后将液体转移至旋蒸瓶中, 待三氯甲烷在 40 °C 下完全蒸干, 分别加入 30 μL 吡啶和 30 μL 双(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺, 密封后放入 70 °C 水浴锅中衍生反应 1 h, 反应完全后再次 40 °C 旋蒸干, 分次加入 1 mL 三氯甲烷溶解, 转移至进样瓶。每个驯化温度下处理 9 片叶, 实验重复 2 次。

1.2.5 GC-MS/MS 分析 使用 Trace1300-TSQ 9000 气相质谱联用仪 (美国赛默飞) 对上述蜡质提取液进行成分的定性定量分析。GC-MS/MS 条件: 载气为氦气, 进样量 1 μL , 进样口温度 280 °C, 检测器温度 320 °C; 检测程序: 50 °C 保持 2 min, 以 20 °C/min 升温至 240 °C 保持 2 min, 再以 1.5 °C/min 升温至 320 °C 保持 15 min。参考计算机质谱数据库, 依据蜡质成分中酸、醇、醛和烷烃均有其明显的 M-15 特殊离子峰判定各蜡质组分种类以及碳原子数, 检索后判定化合物名称^[11]。蜡质中各组分相对含量根据其离子峰面积占总离子峰面积的比值进行计算。

1.2.6 氧化酶活性测定 称取 0.2 g 马占相思叶

片, 在预冷研钵中研磨成粉后加入 4 mL 磷酸缓冲液 (0.05 mol/L, pH 7.8), 4 °C 条件下 10 000 r/min 离心 20 min, 转移上清液至新离心管中用于抗氧化酶活性测定。超氧化物歧化酶 (SOD) 活性采用氮蓝四唑法 NBT 法测定^[12]; 过氧化氢酶 (CAT) 活性采用过氧化氢法测定; 过氧化物酶 (POD) 活性采用愈创木酚法测定^[13]。每个驯化温度下处理 6 片叶子, 实验重复 3 次。酶活性单位均以单位蛋白含量的酶活性表示, U/g。

1.3 数据处理

采用 Excel 软件进行数据整理, 采用 DPS 和 Origin 软件进行差异显著性分析和制图。

2 结果与分析

2.1 低温驯化增强马占相思对橡胶树白粉病的抗性

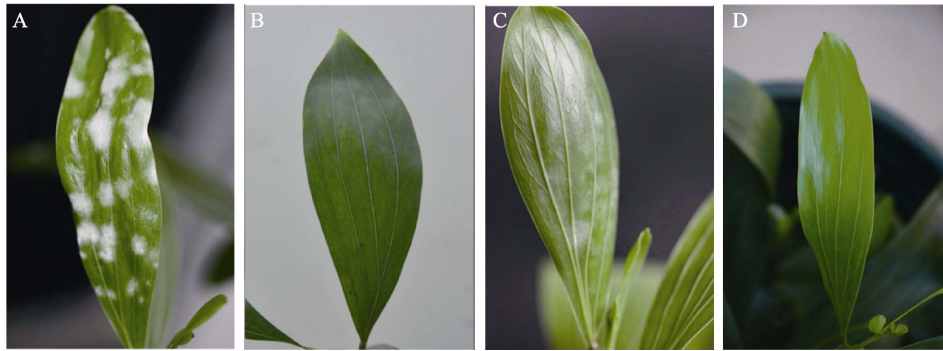
将马占相思幼苗分别置于 23、19、15 °C 温度条件下培养抽出嫩叶, 后转移至橡胶树白粉菌最适温度 19 °C 条件下接种 (图 1)。接种 12 d 后发现, 23 °C 培养的植株嫩叶发病严重, 上下表面布满含有大量菌丝的病斑; 23 °C 培养的植株成熟叶均不发病; 19 °C 培养的嫩叶发病较轻, 上下表面有少量且菌丝稀少的病斑, 19 °C 培养的成熟叶均不发病; 15 °C 培养的嫩叶和成熟叶均不发病, 将低温驯化后不发病植株重新置于 23 °C 下培养至抽出嫩叶, 新抽叶片接种白粉菌后发病严重。由此可见, 低温驯化显著增强了马占相思对橡胶树白粉病的抗性。

2.2 低温驯化对马占相思嫩叶蜡质晶体结构的影响

通过观察不同温度条件培养的马占相思叶片表面形态 (图 2), 发现 23 °C 培养的嫩叶表面不平整, 有明显的凹凸, 19 °C 和 15 °C 培养的嫩叶表面趋于平滑, 有轻微的凹凸, 叶片形态更趋近于 23 °C 培养的成熟叶。利用扫描电镜观察了马占相思叶片表面的蜡质层结构, 发现 23 °C 嫩叶蜡质层凸起、排列不规则, 晶体结构相互叠加缠绕; 19 °C 嫩叶蜡质层凸起, 结构排列有序; 23 °C 成熟叶和 15 °C 嫩叶蜡质层平滑, 有明显的晶体状蜡质。综上所述, 低温驯化可促进马占相思嫩叶蜡质晶体结构的成熟化。

2.3 低温驯化对马占相思嫩叶蜡质组分的影响

提取不同温度条件下培养的马占相思叶片蜡

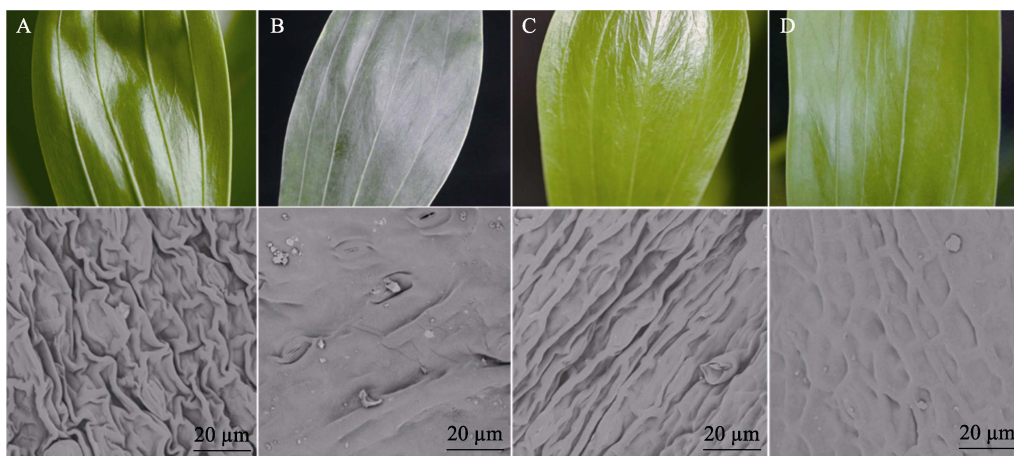


A: 23 °C嫩叶; B: 23 °C成熟叶; C: 19 °C嫩叶; D: 15 °C嫩叶。

A: Young leaf at 23 °C; B: Mature leaf at 23 °C; C: Young leaf at 19 °C; D: Young leaf at 15 °C.

图 1 不同培养温度下马占相思叶片接种橡胶树白粉菌的病症

Fig. 1 Lesion of *A. mangium* leaves inoculated with *E. quercicola* under different culture temperature conditions



A: 23 °C嫩叶; B: 23 °C成熟叶; C: 19 °C嫩叶; D: 15 °C嫩叶。上图为叶片直观图，下图为相应扫描电镜图。

A: Young leaf at 23 °C; B: Mature leaf at 23 °C; C: Young leaf at 19 °C; D: Young leaf at 15 °C. The above image is a visual representation of the leaves, and the below image is a corresponding scanning electron microscope image.

图 2 不同培养温度条件下马占相思叶片的上表面形态

Fig. 2 Morphology of the upper surface of *A. mangium* leaves under different culture temperature conditions

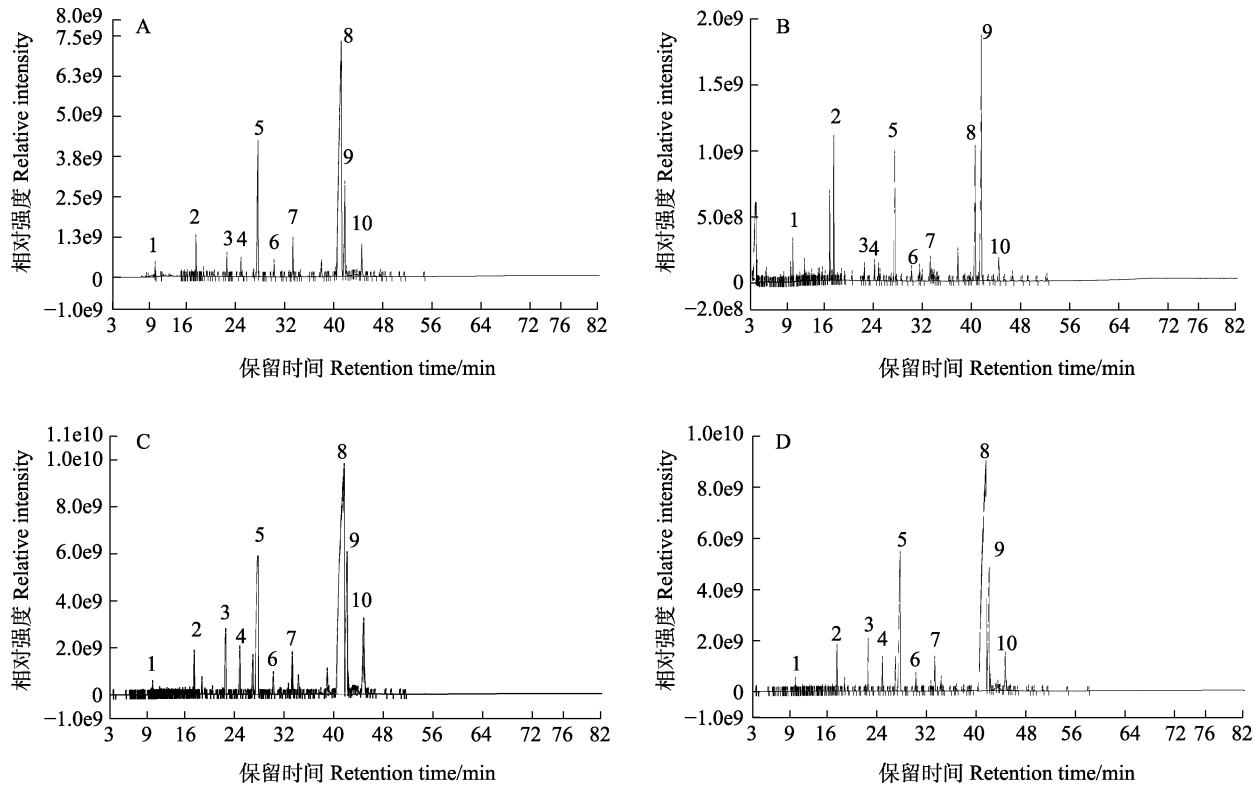
质，利用 GC-MS/MS 检测体系对蜡质组分进行定性定量分析，不同叶片的蜡质检测总离子峰图如图 3 所示。与 23 °C 嫩叶的蜡质检测离子峰相比，15 °C 嫩叶、19 °C 嫩叶和 23 °C 成熟叶的检测离子峰更多，峰图更趋近一致，说明 15 °C 嫩叶、19 °C 嫩叶和 23 °C 成熟叶的蜡质组成更复杂。进一步筛选到 10 个响应强度高的离子峰，经检索质谱数据库，推测出这些化合物的种类。10 个蜡质成分主要归为 5 类，其中烷烃类化合物有 5 种，分别为 C₂₅ 烷、C₂₇ 烷、C₃₁ 烷、C₃₆ 烷、C₄₄ 烷；酚类化合物有 2 种，分别为 C₁₄ 酚和 C₂₃ 酚；酮类、醇类和酯类化合物各 1 种，分别为 C₃₀ 酮、C₃₀ 醇和 C₃₂ 酯。

以检测总离子峰为 100% 分析比较以上化合物在不同温度条件下培养的马占相思叶片蜡质中的相对含量（表 1）。结果表明，马占相思叶片蜡

质中 C₃₀ 酮的相对含量最高，不同培养温度的叶片 C₃₀ 酮相对含量差异显著，由低到高排列依次为：15 °C 嫩叶 < 23 °C 成熟叶 < 19 °C 嫩叶 < 23 °C 嫩叶。另外，在 23 °C 嫩叶中相对含量较高的有 C₃₆ 烷、C₃₂ 酯和 C₃₀ 醇，而 15 °C 嫩叶和 23 °C 成熟叶中的相对含量均显著降低。由此可见，不同温度对马占相思叶片蜡质成分的影响较大，低温驯化使叶片蜡质组成更复杂，一定程度上使嫩叶的主要蜡质成分趋近于成熟叶。

2.4 低温驯化对马占相思嫩叶氧化酶活性的影响

通过比较 23 °C 和 15 °C 培养的马占相思嫩叶接种橡胶树白粉菌后 SOD、CAT 和 POD 氧化酶活性发现。随着侵染时间延长，2 种温度培养的嫩叶的 3 种氧化酶活性均呈先升高后降低的趋势，且在 24 h 时达到最高值。与 23 °C 嫩叶相比，



A: 23 °C嫩叶; B: 23 °C成熟叶; C: 19 °C嫩叶; D: 15 °C嫩叶。1: C₁₄酚; 2: C₂₃酚; 3: C₃₁烷; 4: C₄₄烷;
5: C₂₇烷; 6: C₂₅烷; 7: C₃₆烷; 8: C₃₀酮; 9: C₃₀醇; 10: C₃₂酯。

A: Young leaf at 23 °C; B: Mature leaf at 23 °C; C: Young leaf at 19 °C; D: Young leaf at 15 °C。1: C₁₄-phenol; 2: C₂₃-phenol;
3: C₃₁-alkyl; 4: C₄₄-alkyl; 5: C₂₇-alkyl; 6: C₂₅-alkyl; 7: C₃₆-alkyl; 8: C₃₀-ketone; 9: C₃₀-alcohol; 10: C₃₂-ester。

图 3 不同培养温度条件下马占相思叶片的蜡质成分检测总离子峰

Fig. 3 The total ion peak of *A. mangium* leaf wax under different culture temperature conditions

表 1 不同培养温度条件下马占相思叶片蜡质主要成分的相对含量

Tab. 1 Relative contents of the main components of wax in *A. mangium* leaves under different culture temperature conditions

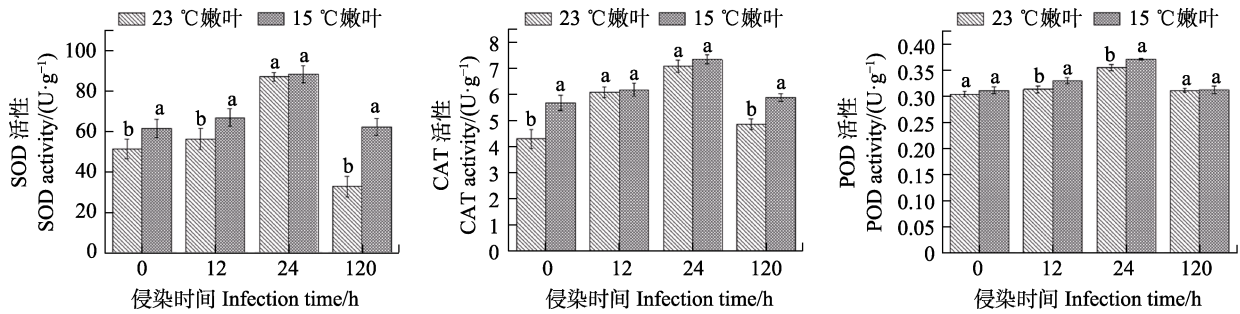
组分 Component	碳链 Carbon chain	相对含量 Relative content/%			
		23 °C嫩叶 Young leaves at 23 °C	23 °C成熟叶 mature leaves at 23 °C	19 °C嫩叶 young leaves at 19 °C	15 °C嫩叶 young leaves at 15 °C
烷烃类	C ₂₅	0.69±0.01 ^{Bb}	0.87±0.00 ^{Aa}	0.15±0.00 ^{Dd}	0.53±0.02 ^{Cc}
	C ₂₇	6.49±0.02 ^{Bb}	5.04±0.00 ^{Cc}	3.51±0.00 ^{Dd}	7.73±0.02 ^{Aa}
	C ₃₁	0.74±0.00 ^{Bb}	0.73±0.01 ^{Bb}	0.32±0.01 ^{Cc}	0.93±0.02 ^{Aa}
	C ₃₆	2.08±0.04 ^{Aa}	0.76±0.02 ^{Dd}	1.54±0.00 ^{Bb}	1.39±0.00 ^{Cc}
	C ₄₄	0.50±0.01 ^{Cd}	0.90±0.00 ^{Ab}	0.69±0.01 ^{Bc}	0.92±0.01 ^{Aa}
酚类	C ₁₄	0.04±0.02 ^{Bb}	0.55±0.00 ^{Aa}	0.05±0.00 ^{Bb}	0.06±0.00 ^{Bb}
	C ₂₃	0.83±0.07 ^{Bb}	1.60±0.01 ^{Aa}	0.53±0.01 ^{Dd}	0.67±0.02 ^{Cc}
酮类	C ₃₀	28.77±0.53 ^{Aa}	22.71±0.09 ^{Cc}	24.87±0.04 ^{Bb}	21.39±0.00 ^{Dd}
酯类	C ₃₂	1.61±0.00 ^{Bb}	0.43±0.02 ^{Cc}	2.93±0.01 ^{Aa}	0.44±0.00 ^{Cc}
醇类	C ₃₀	6.29±0.09 ^{Aa}	1.19±0.03 ^{Cc}	3.34±0.01 ^{Bb}	1.25±0.00 ^{Cc}

注: 同行不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$); 同行不同大写字母表示差异极显著 ($P<0.01$)。

Note: Different lowercase letters in the same line indicate significant difference ($P<0.05$); Different capital letters in the same line indicate extremely significant difference ($P<0.01$).

15 °C嫩叶的 SOD、CAT 和 POD 酶活性在部分侵染时间内显著增强,其中 SOD 酶表现最为明显(图

4)。综上所述,低温驯化可以在一定程度上提高马占相思嫩叶在接种白粉菌时的氧化酶活性。



不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 4 23 °C 和 15 °C 培养的马占相思嫩叶的氧化酶活性

Fig. 4 Oxidase activity of young leaves of *A. mangium* incubated at 23 °C and 15 °C

3 讨论

温度是影响植物生理过程的重要非生物因素^[14]。本研究利用不同温度驯化的马占相思幼苗嫩叶接种橡胶树白粉菌后发现, 15 °C 温度条件下抽出的嫩叶不发病, 说明低温驯化可显著增强马占相思嫩叶对橡胶树白粉病的抗性。已有研究表明, 植物可以通过改变根、茎、叶的形态, 解剖结构和超微结构来适应低温环境^[15]。植物还可以通过积累细胞内渗透调节物质^[16], 增加代谢相关蛋白、分子伴侣、抗冻蛋白的合成来耐受或抵抗低温胁迫^[17]。推测驯化过程中的低温胁迫引起马占相思的嫩叶形态结构或组成物质的变化, 从而产生了对橡胶树白粉病的抗性。

本研究观察了不同驯化温度条件下马占相思叶片的表面形态, 发现 19 °C 和 15 °C 培养的嫩叶表面相对平滑, 形态更接近 23 °C 培养的成熟叶。扫描电镜结果表明 15 °C 嫩叶和 23 °C 成熟叶蜡质层结构趋近一致, 表面平滑且有明显的晶体状蜡质, 这进一步说明低温驯化可促进马占相思嫩叶蜡质晶体结构的成熟化。植物表皮蜡质是植物抵御外界生物胁迫的第一屏障, 通过提高表皮的机械强度和疏水性, 能有效防止真菌等病原体的侵害^[18-19]。蜡质晶体结构容易受温度诱导产生重组现象, 当植物处于低温环境时, 蜡质晶体结构容易形成棒状、管状等结构, 而处于高温环境时容易形成板状、片状结构^[20]。本研究中, 马占相思的嫩叶易受橡胶树白粉菌侵染, 而成熟叶片对橡胶树白粉病具有天然抗性, 因此, 推测低温驯化可能是通过促进马占相思嫩叶蜡质晶体结构的成熟化, 形成了更具防御性的物理屏障, 通过阻碍白粉菌的侵染发挥抗病作用。

环境温度不仅能够影响植物蜡质的晶体结

构, 还会影响烷烃、烯烃、醇、酮、酯和酚等蜡质组分的分布和比例^[21]。本研究利用 GC-MS/MS 检测技术对不同温度驯化的马占相思叶片蜡质组分进行了定性定量分析, 发现其主要含有烷烃、醇、酮、酯、酚等 5 类有机化合物, C₃₀ 酮相对含量最高。总离子峰图和相对含量结果进一步表明, 低温培养使叶片蜡质组成更复杂, 15 °C 嫩叶和 23 °C 成熟叶的蜡质组成较一致, 说明低温驯化在一定程度上促进嫩叶的主要蜡质成分比例趋近于成熟叶。已有研究表明, 一些植物蜡质组分可以抑制或者刺激真菌孢子的萌发。水稻叶片蜡质组分十六烷二醇可以诱导稻瘟菌附着胞的分化形成, 并促进灰霉菌孢子萌发和角质酶的表达^[22]。因此, 推测低温驯化也可能促进或抑制了马占相思嫩叶的某种蜡质成分, 从而调控病原菌的侵染和增殖分化来实现蜡质的化学防御功能。

另外, 一些植物蜡质成分被真菌角质酶降解的产物, 也可作为植物损伤相关分子模式的诱导子被植物模式识别受体所识别, 通过诱导植物活性氧的积累, 继而启动下游包括超敏反应在内的一系列防御反应^[23-24]。如, 外施无抑菌活性的蜡质单体可增加大麦对白粉菌的抗性^[25]。本研究测定了 23 °C 和 15 °C 培养的马占相思嫩叶接种橡胶树白粉菌后的 SOD、CAT 和 POD 氧化酶活性, 发现低温驯化可以在一定程度上提高马占相思嫩叶在接种白粉菌时的氧化酶活性。因此, 推测低温驯化也可能促进马占相思嫩叶生成可作为诱导子的蜡质组分, 当被白粉菌侵染时激发了下游的免疫反应, 从而产生抗病性。当然本研究还有许多值得探讨的问题, 如, 马占相思叶片中哪种蜡质成分发挥了对橡胶树白粉病的抗病作用? 低温驯化是否还会通过影响蜡质之外的物质来提高马

占相思的抗病性? 抗病相关机制需要代谢组和转录组等高通量分析手段和分子生物学实验进行进一步验证。

4 结论

本研究对不同温度培养的马占相思接种橡胶树白粉菌, 发现低温驯化显著增强了马占相思对橡胶树白粉菌的抗性; 通过比较不同驯化温度的嫩叶蜡质晶体结构和组分差异, 发现低温驯化可促进马占相思嫩叶蜡质晶体结构和主要成分的成熟化; 进一步比较不同温度培养的叶片氧化酶活性发现, 低温驯化可以一定程度提高马占相思接种橡胶树白粉菌后的氧化酶活性。本研究初步探索了橡胶树白粉病寄主的抗病机制, 为橡胶树的抗病育种提供了理论依据。

参考文献

- [1] 李响, 戴懿, 梁鹏, 缪卫国, 郑服从. 橡胶树白粉菌诱导寄主及非寄主植物产生活性氧积累的研究[J]. 广东农业科学, 2013, 40(9): 68-70.
LI X, DAI Y, LIANG P, MIAO W G, ZHENG F C. Study on the accumulation of active oxygen in host and non-host plants during the infection of *Oidium heveae*[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2013, 40(9): 68-70. (in Chinese)
- [2] 林延生. 马占相思白粉病的发生及化学防治[J]. 林业工程学报, 2006, 20(5): 62-64.
LIN Y S. Occurrence and chemical control of *Acacia mangium* powdery mildew[J]. Journal of Forestry Engineering, 2006, 20(5): 62-64. (in Chinese)
- [3] 王勇, 贺伟, 黄烈健, 陈敏. 马占相思心腐病发生初期的病原鉴定[J]. 中国农学通报, 2011, 27(16): 11-16.
WANG Y, HE W, HUANG L J, CHEN M. Pathogen identification for heart-rot of *Acacia mangium* in the initial stage[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2011, 27(16): 11-16. (in Chinese)
- [4] 张卫华, 黄烈健, 陈祖旭, 徐大平, 张守攻, 张方秋, 龚峥. 相思基因组 DNA 提取及其 RAPD 初步分析[J]. 广东林业科技, 2007, 23(4): 1-5.
ZHANG W H, HUANG L J, CHEN Z X, XU D P, ZHANG S G, ZHANG F Q, GONG Z. Extraction of genomic DNA and RAPD analysis on *Acacia*[J]. Guangdong Forestry Science and Technology, 2007, 23(4): 1-5. (in Chinese)
- [5] 王涛, 陈旭荣, 钟秀丽, 李玉中, 曾正兵, 王海燕, 孙磊, 夏旭. 磷脂酶 D δ 参与植物的低温驯化过程[J]. 植物学报, 2010, 45(5): 541-547.
WANG T, CHEN X R, ZHONG X L, LI Y Z, ZENG Z B, WANG H Y, SUN L, XIA X. Phospholipase D δ mediates the process of cold acclimation in plant[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2010, 45(5): 541-547. (in Chinese)
- [6] WELTI R, LI W Q, LI M Y, SANG Y M, BIESIADA H, ZHOU H E, RAJASHEKAR C B, WILLIAMS T D, WANG X M. Profiling membrane lipids in plant stress responses[J]. Journal of Biological Chemistry, 2002, 277(35): 31994-32002.
- [7] 任海, 彭少麟, 余作岳. 马占相思的生态生物学特征[J]. 生态学杂志, 1996, 15(4): 1-5.
REN H, PENG S L, YU Z Y. The ecological and biological characteristics of *Acacia mangium*[J]. Chinese Journal of Ecology, 1996, 15(4): 1-5. (in Chinese)
- [8] MUCHERI T, PIETERSE P J, REINHARDT C F, KLEINERT A. Responses of *Lolium* spp. to glufosinate ammonium application at different temperatures[J]. Weed Research, 2020, 60(5): 374-384.
- [9] PATHAN A K, BOND J, GASKIN R E. Sample preparation for SEM of plant surfaces[J]. Materials Today, 2010, 12: 32-43.
- [10] 赵帅, 罗文巧, 王聪, 吴洪启, 汪勇, 王中华, 权力. 小麦不同器官表皮蜡质的组分及晶体结构分析[J]. 麦类作物学报, 2018, 38(8): 949-956.
ZHAO S, LUO W Q, WANG C, WU H Q, WANG Y, WANG Z H, QUAN L. Analysis of composition and crystal structure of cuticular waxes on different organs of wheat (*Triticum aestivum*)[J]. Journal of Triticeae Crops, 2018, 38(8): 949-956. (in Chinese)
- [11] 李婷婷, 张芸芸, 孙瑜琳, 王艳婷, 王美玲, 胡世玮, 汪勇, 史雪, 权力, 王中华. 二穗短柄草表皮蜡质组成分析及蜡质显微结构观察[J]. 麦类作物学报, 2014, 34(7): 969-975.
LI T T, ZHANG Y Y, SUN Y L, WANG Y T, WANG M L, HU S W, WANG Y, SHI X, QUAN L, WANG Z H. Cuticular wax composition and microscopic structure of different organs of *Brachypodium distachyon*[J]. Journal of Triticeae Crops, 2014, 34(7): 969-975. (in Chinese)
- [12] GAO H Y, NIU J S, ZHAO W Y, ZHANG D L, LI S P, LIU Y M. Effect of powdery mildew on antioxidant enzymes of wheat grain[J]. Plant Pathology, 2022, 71(4): 901-916.
- [13] MOERSCHBACHER B M, URSULA W, DAGMAR K, REISENER, HANS-JOACHIM R. Changes in the level of enzyme activities involved in lignin biosynthesis during the temperature sensitive resistant response of wheat (Sr6) to stem rust (P6)[J]. Plant Science, 1989, 65(2): 183-190.
- [14] 邓江明, 简令成. 植物抗冻机理研究新进展: 抗冻基因表达及其功能[J]. 植物学通报, 2001, 18(5): 521-530.
DENG J M, JIAN L C. Advances of studies on plant freezing-tolerance mechanism: freezing tolerance gene expression and its function[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2001, 18(5):

- 521-530. (in Chinese)
- [15] 崔国文, 马春平. 紫花苜蓿叶片形态结构及其与抗寒性的关系[J]. 草地学报, 2007, 15(1): 70-75.
CUI G W, MA C P. Research on leaf morphology and cold resistance of Alfalfa[J]. Acta Agrestia Sinica, 2007, 15(1): 70-75. (in Chinese)
- [16] LEE Y P, BABAKOV A, BOER B D, ZUTHER E, HINCHA D K. Comparison of freezing tolerance, compatible solutes and polyamines in geographically diverse collections of *Thellungiella* sp. and *Arabidopsis thaliana* accessions[J]. BMC Plant Biology, 2012, 12(1): 1-11.
- [17] HE F, LI H G, WANG J J, SU Y Y, WANG H L, FENG C H, YANG Y L, NIU M X, LIU C, YIN W L, XIA X L. PeSTZ1, a C₂H₂-type zinc finger transcription factor from *Populus euphratica*, enhances freezing tolerance through modulation of ROS scavenging by directly regulating *PeAPX2*[J]. Plant Biotechnology Journal, 2019, 17(11): 2169-2183.
- [18] KHANAL B P, KNOCHE M. Mechanical properties of cuticles and their primary determinants[J]. Journal of Experimental Botany, 2017, 68(19): 5351-5367.
- [19] ZIV C, ZHAO Z Z, GAO Y G, XIA Y. Multifunctional roles of plant cuticle during plant-pathogen interactions[J]. Frontiers in Plant Science, 2018, 9: 1088.
- [20] REINA-PINTO J J, YEPHREMOV A. Surface lipids and plant defenses[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2009, 47(6): 540-549.
- [21] KAWAMURA K, ISHIMURA Y, YAMAZAKI K. Four years' observations of terrestrial lipid class compounds in marine aerosols from the western North Pacific[J]. Global Biogeochemical Cycles, 2003, 17(1): 3-19.
- [22] LEROCH M, KLEBR A, SILVA E, COENEN T, KOPPENHÖFER D, SHMARYAHU A, VALENZUELA P D T, HAHN M. Transcriptome profiling of *Botrytis cinerea* conidial germination reveals upregulation of infection-related genes during the prepenetration stage[J]. Eukaryotic Cell, 2013, 12(4): 614-626.
- [23] ZIPFEL C. Plant pattern-recognition receptors[J]. Trends in Immunology, 2014, 35(7): 345-351.
- [24] 张启辉, 李晓曼, 龙希洋, 胡宝予, 肖新力, 张潇文, TAKPAH D, 杨才琼, 杨文钰, 刘江. 植物角质蜡质代谢及抗病机制研究[J]. 浙江农林大学学报, 2020, 37(6): 1207-1215.
ZHANG Q H, LI X M, LONG X Y, HU B Y, XIAO X L, ZHANG X W, TAKPAH D, YANG C Q, YANG W Y, LIU J. Metabolism of the cutin and wax of plants and their disease resistance mechanisms[J]. Journal of Zhejiang A & F University, 2020, 37(6): 1207-1215. (in Chinese)
- [25] SCHWEIZER P, JEANGUENAT A, WHITACRE D, METRAUX J P, MÖSINGER E. Induction of resistance in barley against *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei* by free cutin monomers[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 1996, 49(2): 103-120.