

抗松材线虫病落叶松优良家系选择

赵敏¹ 王峰^{1,2,3,4} 王佳楠² 于淇² 张含国¹ 张磊^{1*}

(1. 林木遗传育种全国重点实验室(东北林业大学), 哈尔滨 150040; 2. 黑龙江省外来林木病虫害监测与防控重点实验室(东北林业大学), 哈尔滨 150040; 3. 森林生态系统可持续经营教育部重点实验室(东北林业大学), 哈尔滨 150040; 4. 辽宁省危险性林业有害生物防控重点实验室(沈阳工学院), 沈阳 110001)

摘要 该研究以2年生18个落叶松(*Larix gmelinii*)实生苗家系为试验对象,采用剥皮套管法接种强致病性松材线虫株系FSBX。通过计算落叶松抗显症得分、抗虫得分和抗病得分,综合筛选抗松材线虫落叶松家系。通过测定接种后第0、5、10、15天针叶叶绿素、可溶性糖、可溶性蛋白含量及超氧化物歧化酶(SOD)、抗氧化酶(POD)活性等指标,探究落叶松在抵抗松材线虫过程中生理指标变化趋势。结果表明:抗病得分最高的落叶松是家系1311,其次是家系1305和1310。不同抗性的落叶松针叶叶绿素含量变化趋势均为先降低后升高再降低。POD活性则表现为先降低后升高再小幅降低的趋势,接种第15天时,高抗家系的POD活性显著高于其他家系;SOD活性呈现先升高后降低的趋势,接种第10天时达到峰值,高抗家系显著高于其他家系。可溶性蛋白含量表现出先降低后升高的趋势,在接种第15天时,高抗家系的蛋白含量高于其他2组,差异不显著。可溶性糖含量呈现先降低后升高再降低的趋势,接种第10天时各家系可溶性糖含量达到峰值,且感病家系可溶性糖含量高于中抗家系,而中抗家系可溶性糖含量高于高抗家系,三者差异不显著。综上,高抗家系落叶松在针叶叶绿素含量、POD和SOD活性方面表现出显著优势,而可溶性糖及可溶性蛋白含量普遍低于其他家系,但在病害后期,高抗家系的生理指标高于中抗及感病家系,说明高抗家系在逆境胁迫后期仍能维持较高的抗性。

关键词 松材线虫;落叶松;家系选择;生理生化;生长性状

中图分类号:S722.3 文献标志码:A doi:10.7525/j.issn.1673-5102.2025.05.016

Selection of Superior Families of Larch Resistant to Pine Wood Nematode Disease

ZHAO Min¹ WANG Feng^{1,2,3,4} WANG Jianan² YU Qi² ZHANG Hanguo¹ ZHANG Lei^{1*}

(1. State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding(Northeast Forestry University), Harbin 150040; 2. Key Laboratory of Alien Forest Pest Detection and Control-Heilongjiang Province(Northeast Forestry University), Harbin 150040; 3. Key Laboratory of Sustainable Forest Ecosystem Management-Ministry of Education(Northeast Forestry University), Harbin 150040; 4. Liaoning Provincial Key Laboratory of Dangerous Forest Pest Management and Control(Shenyang Institute of Technology), Shenyang 110001)

Abstract In this study, 18 2-year-old *Larix gmelinii* families were used as materials, and the seedlings were inoculated with the highly pathogenic pine wood nematode strain FSBX by peeling casing method. By calculating the anti-symptom score, insect resistance score and disease resistance score, the larch families with resistance to pine nematode disease were comprehensively screened. Physiological indicators including contents of chlorophyll, soluble sugar, soluble protein, and activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) were measured at 0th, 5th, 10th and 15th day post-inoculation, respectively. The change trend of physiological indexes of larch in the process of resistance to pine wood nematode was explored. The results indicated that larch family 1311 achieved the highest disease resistance score, followed by families 1305 and 1310. Chlorophyll content of the larch families with all resistance levels initially decreased, then increased, and then decreased again. POD activity showed a pattern of first decreasing, then increasing and then slightly

基金项目:农业生物育种重大项目(2022ZD040160203)。

第一作者简介:赵敏(2000—),女,硕士研究生,主要从事落叶松高抗新种质选育研究。

* 通信作者:E-mail:zhanglei@nefu.edu.cn。

收稿日期:2024年10月16日。

declined. On the 15th day, highly resistant families demonstrated significantly higher POD activity than that of the other families. SOD activity displayed an initial increase, followed by a decrease and peaking on the 10th day, and highly resistant families showed significantly higher levels than that of the other families. The soluble protein content showed a trend of decreasing first and then increasing. On the 15th day, the soluble protein content of the high-resistance family was higher than that of the other two groups, and the difference was not significant. Soluble sugar content showed a decrease-increase-decrease pattern, peaking on the 10th day for all families, and susceptible families showed higher levels than moderate-resistance families, and that moderate-resistance families showed higher levels than high-resistance families, but there was no significant difference among the three groups. In conclusion, the high-resistance families showed significant advantages in chlorophyll content, POD and SOD activity, while the contents of soluble sugar and soluble protein were generally lower than those of the other families. However, in the later stage of inoculation, the physiological indexes of high-resistance families were higher than those of medium-resistance and susceptible families, indicating that high-resistance families could maintain high resistance in the later stage of inoculation.

Key words *Bursaphelenchus xylophilus*; *Larix gmelinii*; family selection; physiology and biochemistry; growth characteristics

松材线虫(*Bursaphelenchus xylophilus*)引起的森林病虫害^[1],即松材线虫病,于1982年在我国南京首次被发现,随即引起林业部门的高度重视。但是,由于对该病害认识不足,导致松材线虫快速扩散到多个省份,累积致死松树达数十亿株,造成的直接和间接经济损失上千亿元,成为我国近几十年最为严重的森林病虫害之一^[2-3]。松材线虫病对松树巨大且迅速的破坏暂无有效防治手段,因此也被称为松树的癌症^[4]。

落叶松(*Larix gmelinii*)是寒温带森林的优势树种,也是我国东北主要针叶造林树种之一^[5],具有生长速度快、产量高、成材期早、适应性强、耐寒、耐旱等特点^[6-8]。落叶松人工林是我国森林资源中重要的组成成分,在促进经济发展和环境改善中起着重要作用。

目前,松材线虫主要危害的植物寄主大多属于松属(*Pinus*),如黑松(*P. thunbergii*)、赤松(*P. densiflora*)和马尾松(*P. massoniana*)等^[9-11],直到2018年,才首次出现长白落叶松(*Larix olgensis*)自然感染松材线虫病的报道^[12]。针对落叶松属的松材线虫致病性及抗性树种的研究相对较少。有研究^[13-14]发现,松材线虫已有向北不断扩张的趋势,并在东北局部区域引发毁灭性灾害^[15]。落叶松是我国东北地区主要的造林树种之一。通过筛选抗病性强的落叶松家系,可以有效减缓松材线虫病的扩散速度,从而保护森林生态系统健康。有研究^[16]指出,在林业生产中,松树在遭受大量松材线虫侵染后出现“越年枯死”症状,这些松树表现出一定程度的耐病性。耐病性是指植物对病害的高

度忍耐能力,例如,一些寄主植物虽受到病原体侵染,却并不表现出明显的病变,或者即使有明显的病变,仍能保持较高的产量^[17]。由于落叶松的轮伐周期较短,成熟年龄约为20 a,因此,维持其20 a的抗性是有可能的^[18]。

当植物体遭到生物和非生物胁迫时,体内会产生过量的活性氧(ROS),过量的ROS积累,能够破坏DNA、蛋白质等生物大分子,使细胞坏死。清除植物体内ROS的主要保护机制是利用抗氧化酶系统(超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD))^[19]。叶绿素是进行光合作用的重要物质,其含量能够直接影响光合作用效率,从而影响植物的生长和代谢。松材线虫侵染会影响松树维管系统的输水作用,使松树萎蔫死亡^[20]。松树中的可溶性糖和可溶性蛋白在渗透调节、抗逆性、信号传递和生长促进等方面发挥着重要作用,是植物生理活动和生态适应的重要组成部分。松树(*Pinus*)可以通过改变可溶性糖和可溶性蛋白含量调节渗透压来增强输水作用,以维持树体正常生长。叶绿素和可溶性蛋白等物质的变化既能表明植物的生长状态,也能反映植物的抗病能力^[21]。本研究综合分析落叶松对松材线虫病的抗病表现及其生理指标变化,以期筛选出抗松材线虫病的落叶松家系。

1 材料与方法

1.1 不同株系松材线虫对落叶松致病力鉴定

供试的落叶松样本取自黑龙江省外来林木病虫害监测与防控重点实验室(东北林业大学)。经

多年试验验证,落叶松抗性排名中等,可作为验证不同株系松材线虫对落叶松致病力的标准树。所用的松材线虫株系包括DLBX(分离自大连的病黑松)、LYBX(分离自辽阳的病红松(*P. koraiensis*))、FSBX(分离自抚顺的病红松)、Nxy61(分离自宁波的病马尾松)及ABX(分离自美国的黄松(*P. yunnanensis*)疫木),均由黑龙江省外来林木病虫害监测与防控重点实验室(东北林业大学)提供。每个松材线虫株系接种9个落叶松单株。培养松材线虫所需的菌种为灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea*),同样由该实验室提供。每个培养皿中加入8 mL PDA培养基,待其冷却后,使用移液枪取定量的灰葡萄孢菌丝置于平板中央,随后封盖并将培养基放置在25℃的恒温环境中培养。

选取生长状况一致的落叶松,采用剥皮套管法进行接种。在距落叶松基部约10 cm的茎部一侧,使用无菌刀片斜切出一个约1 cm的伤口,确保伤口深入木质部。将100 μL的松材线虫悬浮液(20 000条·mL⁻¹)接种至创口处,即接种数量为2 000条。用封口膜封住,完成接种。

通过计算接种第9天显症指数、繁殖力得分、致病力综合得分筛选抗松材线虫病落叶松家系。

显症指数计算公式为

$$S_i = \frac{a}{a_i} \times 100\% \quad (1)$$

式中: S_i 为第*i*株树木的显症指数; a 为该株显症针叶数量; a_i 为全部针叶数量。

繁殖力得分计算公式为

$$F_i = \frac{n}{n_{\max}} \times 100\% \quad (2)$$

式中: F_i 为第*i*株树木的繁殖力得分; n 为该株分离得到的线虫数量; n_{\max} 为分离得到的最多线虫数量。

致病力得分计算公式为

$$P_i = S_i \times F_i \quad (3)$$

式中: P_i 为第*i*株致病力。

1.2 落叶松感病症状观察

供试的落叶松样本取自东北林业大学育苗基地,选用2年生的落叶松幼苗,共计18个家系,包括16个全同胞家系和2个半同胞家系(表1~2)。每个家系接种6个单株。供试松材线虫株系为筛选得到的强致病力株系FSBX(由黑龙江省外来林木病虫害监测与防控重点实验室(东北林业大学)提供)。

表1 16个控制授粉落叶松家系

Table 1 16 controlled pollination families of larch

控制授粉家系号 Controlled pollination family number	母本×父本 Female parent×male parent
1301	长73-2×长73-3
1302	长73-3×长73-1
1305	长73-3×长73-14
1306	长73-14×长73-1
1307	长73-14×长73-3
1308	长73-14×长73-14
1309	长73-14×长73-34
1310	长73-22×长73-2
1311	长73-22×长73-3
1312	长73-22×长73-14
1313	长73-22×长73-34
1314	长73-34×长73-1
1316	长73-11×日宽7
1317	长73-11×日草103
1318	长73-14×日宽7
1319	长73-14×日草103

表2 2个自由授粉落叶松家系

Table 2 Two open-pollination families of larch

自由授粉家系号 Open-pollination family number	家系名称 Family name
1321	兴9×日76-2
1326	日5×长78-3

选取生长一致的落叶松,采用剥皮套管法将200 μL的松材线虫悬浮液(50 000条·mL⁻¹)接种至创口处,即接种数量为10 000条。在接种后0、5、10、15、20 d分别对不同家系取距接种点相同位置的当年生针叶,液氮速冻后放入冰箱中-80℃保存,每次取样设置3次重复,每个重复取2株苗。在单株死亡后,从接种点上方和下方各取5~10 cm的茎段,剪碎后采用贝尔曼漏斗法分离松材线虫,并统计数量。

通过计算抗显症得分、抗虫得分及抗病得分筛选优良家系。

抗显症得分表示症状的轻重及树木存活期长短,此分值高则表明症状轻(感病指数低),存活时间长。抗显症得分计算公式为

$$Y_i = \frac{t}{t_{\max}} \times 100\% \quad (4)$$

式中: Y_i 为第*i*株树木的抗显症得分; t 为该株树木存活时间; t_{\max} 为该批试验最大存活时间。

抗虫得分反映了接种松材线虫种群数量的变化,高分表示松材线虫大量死亡且无法在树体内繁殖,而低分则表明松材线虫能够在树体内大量繁殖。抗虫得分计算公式为

$$N_i = \left(1 - \frac{n}{n_{\max}}\right) \times 100\% \quad (5)$$

式中: N_i 为第*i*株树木的抗虫得分; n 为该株树木死亡时树体内松材线虫数量; n_{\max} 为该批试验最大松材线虫数量。

根据抗显症得分和抗虫得分,先直接剔除速死品种(少量线虫引起迅速死亡)、危险品种(不显症,但携带大量线虫容易扩散传播)和感病品种(促进线虫繁殖且死得快),而后综合计算抗病得分,此分值高表示松树为抗病品种(状轻且抑制或杀死松材线虫)。抗病得分计算公式为

$$S_{D,i} = \frac{Y_i}{1 - N_i} \quad (6)$$

式中: $S_{D,i}$ 为第*i*株树木的抗病得分。

1.3 生理指标测定

使用苏州格瑞思生物科技有限公司提供的试剂盒测定可溶性糖、可溶性蛋白含量及SOD和POD活性,具体测定方法参照试剂盒说明书。采用丙酮-乙醇研磨法提取叶绿素。

1.4 数据处理

采用SPSS 17.0统计软件处理数据。采用单因素方差分析分析数据,使用*F*检验和相应的*P*判断组间均值的差异显著性。使用Origin Pro 2021软件绘图。

2 结果与分析

2.1 松材线虫株系致病力鉴定结果

不同株系松材线虫接种处理第9天时,落叶松显症指数由高到低依次为接种FSBX、LYBX、Nxy61、DLBX、ABX的落叶松家系,其中,接种FSBX的落叶松显症指数最高(图1,表3)。

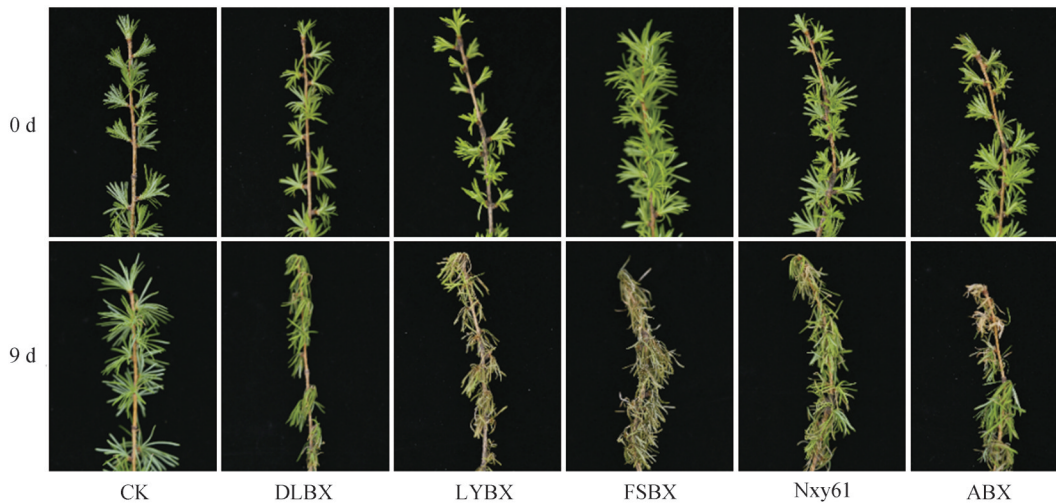


图1 5个接种松材线虫的落叶松家系症状

Fig.1 Symptoms of five larch families after inoculation with pine wood nematode

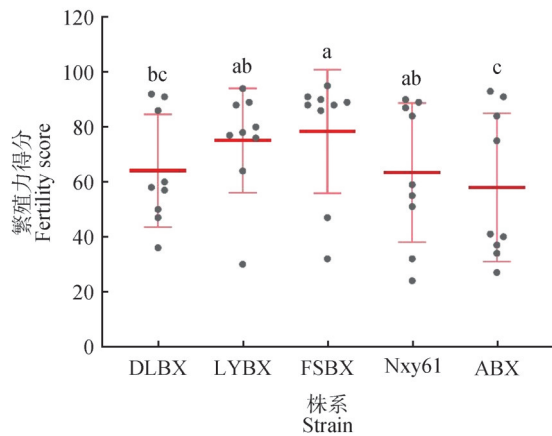
表3 不同株系松材线虫接种9 d的落叶松显症指数

Table 3 Symptom index of larch families inoculated with different strains of pine wood nematode for nine days

松材线虫株系 Strain of pine wood nematode	落叶松显症指数 Symptom index of larch families
DLBX	45.4
LYBX	62.8
FSBX	69.2
Nxy61	47.9
ABX	44.5

对接种9 d的落叶松进行松材线虫的分离和数量统计,计算不同松材线虫株系的繁殖力,结果如图2所示。结果显示,不同株系松材线虫的繁殖力由高到低依次为FSBX、LYBX、Nxy61、DLBX、ABX,其中,FSBX株系的繁殖力最高。

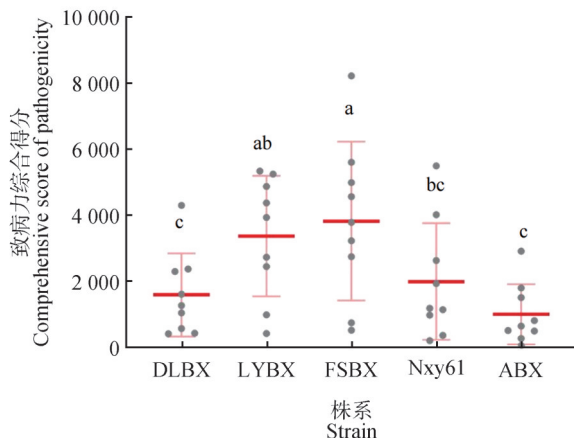
结合落叶松显症指数和松材线虫繁殖力得分对不同株系松材线虫的致病力进行综合评价,计算致病力得分,结果如图3所示。结果发现,FSBX为最强致病力株系,因此,选择其作为后续接种株系。



不同小写字母表示不同株系松材线虫繁殖力差异显著($P < 0.05$)。Different lowercase letters indicated significant differences in fertility score of pine wood nematode between different strains ($P < 0.05$)。

图2 不同株系松材线虫繁殖力

Fig.2 The fertility score of different pine wood nematode strains



不同小写字母表示不同株系松材线虫致病力差异显著($P < 0.05$)。Different lowercase letters indicated significant differences in pathogenicity of different pine wood nematode strains ($P < 0.05$)。

图3 5个株系松材线虫对落叶松致病力

Fig.3 Pathogenicity of five pine wood nematode strains to larch

2.2 落叶松接种松材线虫感病情况

接种松材线虫株系 FSBX 后,落叶松显症指数表明:接种 5 d 后,有 41% 的落叶松显症指数达到 25%, 针叶出现褪绿或变黄, 其余落叶松的显症指数仍在 25% 以下; 接种 10 d 后, 62% 的落叶松显症指数达到 75%, 大部分针叶开始脱落, 表现为枯死状态; 然而, 在接种 15 d 后, 有 12 株落叶松的显症指数仍低于 25%; 接种 20 d 后, 有 6 株落叶松的显症指数低于 25% (图 4)。图 5 为不同抗性落叶松接种松材线虫前后对比。

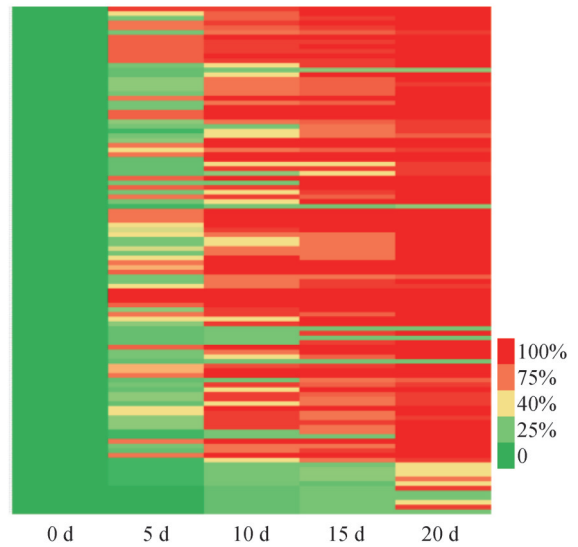


图4 接种松材线虫后不同落叶松家系的显症指数

Fig.4 Symptom index of different larch families after inoculation with pine wood nematodes

统计 18 个落叶松家系存活时间及松材线虫数量, 计算抗显症得分和抗虫得分。结合抗显症得分和抗虫得分计算抗病得分 (表 4)。其中, 抗显症得分最高的为家系 1305, 其次是家系 1310 和 1321; 抗虫得分最高的为家系 1307, 其次是家系 1308 和 1311; 抗病得分最高的是家系 1307, 其次是家系 1311 和 1305。由于家系 1307 抗显症得分过低, 即存活时间过短, 属于速死树种, 直接剔除, 无分值。因此, 结合抗显症得分、抗虫得分和抗病得分综合筛选出最抗松材线虫病落叶松家系 1311, 其次是家系 1305 和 1310。

2.3 接种松材线虫对落叶松生理指标的影响

结合抗显症得分、抗虫得分和抗病得分, 综合选取 9 个家系, 其中, 高抗家系 (1311、1305、1310)、中抗家系 (1309、1319、1313) 和感病家系 (1301、1321、1326) 各 3 个。测量其生理指标, 探究落叶松在抵抗松材线虫过程中生理指标的变化趋势。

2.3.1 接种松材线虫对落叶松针叶叶绿素含量的影响

不同抗性的落叶松在接种松材线虫后, 叶绿素含量在第 5 天时显著下降 (表 5); 而后持续上升, 第 10 天时高抗家系叶绿素含量回升至接近初始水平且显著高于其他家系 ($F = 22.264, d_f = 2, P = 0.002$); 第 15 天时, 各组叶绿素含量有所下降, 高抗家系显著高于其他家系 ($F = 38.288, d_f = 2, P = 0.001$)。

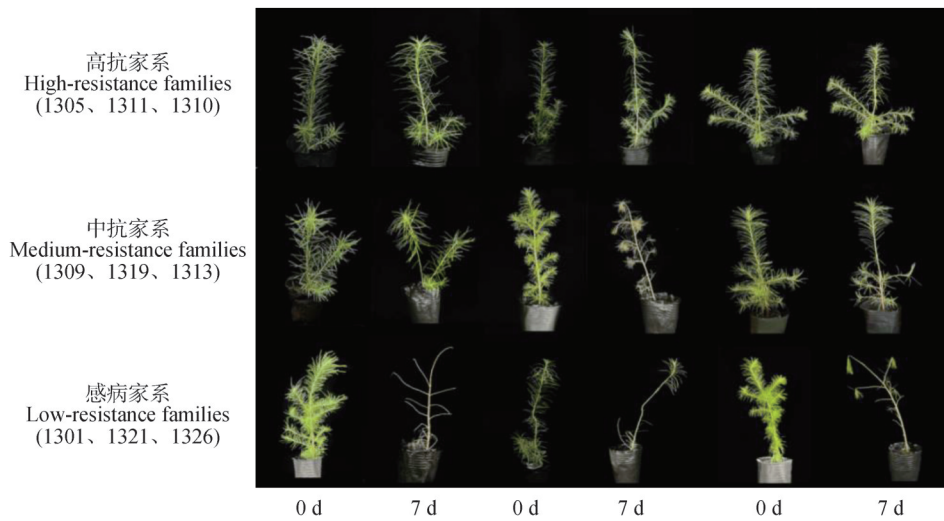


图5 落叶松家系接种松材线虫前后对比

Fig.5 Comparison performance of larch families before and after inoculation with pine wood nematodes

表4 18个家系落叶松抗松材线虫病综合排名

Table 4 Comprehensive ranking of 18 families of larch resistance to pine wood nematode disease

家系 Family	抗显症得分 Anti-symptom score	排名 Rank	抗虫得分 Anti-insect score	排名 Rank	抗病得分 Disease resistance score	综合排名 Comprehensive rank
1307	22.00	18	99.28	1	30.60	1
1311	55.00	11	95.82	3	13.18	2
1305	95.22	1	91.46	6	11.12	3
1310	75.56	2	92.42	5	9.96	4
1314	52.78	12	93.81	4	8.52	5
1308	28.21	17	96.46	2	7.92	6
1316	62.22	5	88.99	8	5.65	7
1313	59.44	8	85.98	9	4.24	8
1312	33.33	16	89.53	7	3.18	9
1306	61.12	7	73.72	11	2.33	10
1317	67.22	4	66.88	13	2.03	11
1319	52.79	13	70.81	12	1.81	12
1302	44.44	14	75.19	10	1.79	13
1309	58.33	9	63.28	14	1.59	14
1301	61.11	6	53.62	15	1.32	15
1321	72.22	3	31.59	17	1.06	16
1318	55.56	10	35.08	16	0.86	17
1326	44.44	15	29.57	18	0.63	18

2.3.2 接种松材线虫对落叶松针叶 POD、SOD 活性的影响

接种松材线虫后,落叶松针叶 POD、SOD 活性随着时间发生不同程度的变化(图6)。针叶 POD 活性变化趋势为先降低后升高再下降。接种第5天时达到最低值,高抗家系高于其他家系,差异不显著($F=4.445, d_f=2, P=0.065$);接种第10天时达到峰值,各组之间无显著性差异($F=2.715, d_f=2, P=$

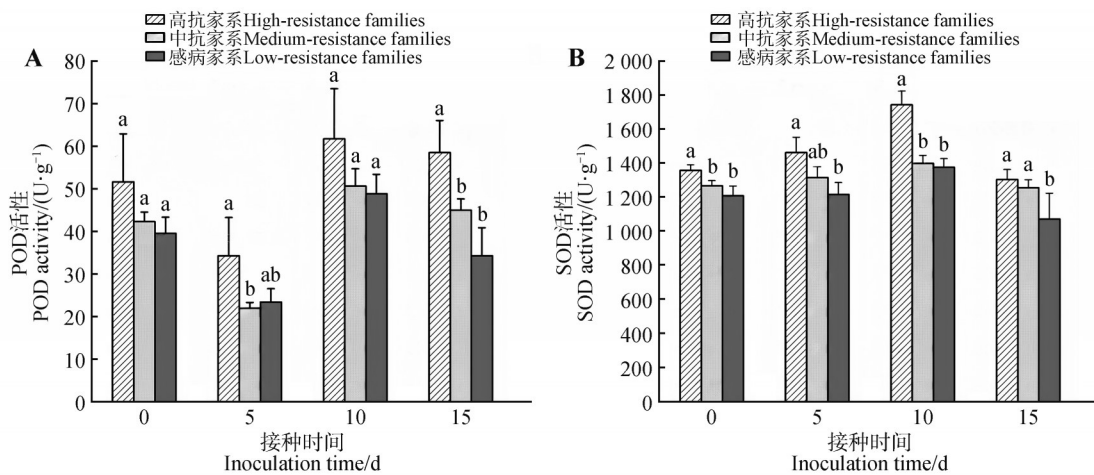
0.145);接种第15天时高抗家系 POD 活性显著高于其他2组($F=11.979, d_f=2, P=0.008$)。各组 SOD 活性逐渐升高,接种第10天达到峰值,高抗家系 SOD 活性显著高于其他2组($F=38.923, d_f=2, P=0.001$),而后持续下降,接种第15天时高抗家系 SOD 活性显著高于感病家系($F=7.461, d_f=2, P=0.024$),与中抗家系无显著性差异。

表 5 接种处理下落叶松针叶叶绿素质量浓度
Table 5 Chlorophyll mass concentration of larch leaves under inoculations

接种时间 Inoculation time/d	叶绿素 Chlorophyll/(mg·L ⁻¹)		
	高抗家系 High-resistance families	中抗家系 Medium-resistance families	感病家系 Low-resistance families
	0	55.78±10.62 ^a	40.14±4.89 ^b
5	33.16±6.16 ^a	26.45±1.61 ^a	27.55±3.68 ^a
10	55.39±4.87 ^a	36.80±7.31 ^b	28.25±0.83 ^b
15	46.27±6.08 ^a	34.96±2.83 ^b	18.47±1.01 ^c

注:同一行不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters in the same line indicated significant difference ($P<0.05$).



同一时间不同小写字母表示各抗性家系之间差异显著($P<0.05$)。

Different lowercase letters at the same time indicated significant differences ($P<0.05$).

图 6 落叶松针叶 POD(A)和 SOD(B)活性

Fig.6 The activity of POD(A) and SOD(B) in larch leaves

2.3.3 接种松材线虫对落叶松针叶可溶性蛋白、可溶性糖含量的影响

高抗家系可溶性蛋白含量表现为下降后持续升高,接种第 15 天时达到峰值(表 6)。中抗家系可溶性蛋白含量表现为先升高后下降的变化趋

势,在接种第 10 天达到峰值。感病家系可溶性蛋白含量随着时间变化呈现出下降升高再下降的趋势,接种第 10 天达到峰值。接种第 5 天时中抗家系可溶性蛋白含量显著高于高抗家系($F=5.265$, $d_1=2$, $P=0.048$),接种第 10 天时中抗家系与感病家

表 6 落叶松针叶渗透调节物质质量分数变化

Table 6 Changes of osmotic regulatory substance mass fraction in larch leaves

接种时间 Inoculation time/d	可溶性蛋白 Soluble protein/(mg·g ⁻¹)			可溶性糖 Soluble sugar/(mg·g ⁻¹)		
	高抗家系 High-resistance families	中抗家系 Medium-resistance families	感病家系 Low-resistance families	高抗家系 High-resistance families	中抗家系 Medium-resistance families	感病家系 Low-resistance families
	0	14.48±3.16 ^a	17.31±1.27 ^a	16.53±3.73 ^a	11.57±0.46 ^a	8.67±2.09 ^a
5	10.09±0.95 ^b	18.41±4.76 ^a	14.24±2.46 ^{ab}	15.43±3.91 ^a	16.05±3.43 ^a	11.06±2.29 ^a
10	16.46±5.59 ^a	21.20±1.09 ^a	18.79±3.77 ^a	16.72±0.28 ^a	17.94±2.48 ^a	21.60±10.90 ^a
15	19.40±6.07 ^a	15.66±2.30 ^a	16.39±0.00 ^a	12.12±5.60 ^a	9.93±1.96 ^a	9.82±2.20 ^a

注:同一行不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters in the same line indicated significant differences ($P<0.05$).

系可溶性蛋白含量达到峰值($F=1.083$, $d_f=2$, $P=0.397$),二者均高于高抗家系,三者无显著差异。随后高抗家系可溶性蛋白含量持续升高,接种第15天时高抗家系可溶性蛋白含量高于其他2组,差异不显著($F=0.838$, $d_f=2$, $P=0.478$)。可溶性糖各组均表现出上升后下降的趋势。接种第10天各组可溶性糖含量达到最大。感病家系可溶性糖含量高于其他家系,各组差异不显著,接种第15天高抗家系可溶性糖含量高于其他家系,差异不显著。

3 讨论与结论

本研究通过计算抗显症得分、抗虫得分和抗病得分,综合筛选出抗性最高的落叶松为家系1311,其次为家系1305和1310,这种方式不仅考虑了存活时间,还考虑了松材线虫繁殖速率,该方法可以为其他树种的抗逆性育种提供参考。树高与植物抗病性通常存在一定关系,往往树高较低其抗病虫害能力较高,这是因为矮小树木可能将更多的能量用于防御机制的建立,如合成次生代谢物(树脂、萜类化合物等),这些物质可以有效抵御害虫侵袭。2023年,对帽儿山子代林18个家系落叶松生长性状进行调查,其中,家系1305、1310、1311树高分别为8.45、8.42、8.12 m,这3个家系的15年生树高分别比总体平均值高出9.72%、9.43%和5.49%(数据来源于林木遗传育种全国重点实验室(东北林业大学)),说明这些家系在生长速率上保持优势。

松树受到松材线虫侵染后其光合色素、渗透调节物质含量及抗氧化酶活性等生理指标发生变化^[22-23]。光合色素是植物进行光合作用的关键物质,有研究^[24]表明,光合色素含量的减少能直接导致植物叶片衰老及光合速率不可逆降低。落叶松受松材线虫侵染后其针叶叶绿素含量显著下降,该现象与樟子松(*P. sylvestris* var. *mongolica*)幼苗接种松材线虫后30 d的变化趋势一致^[21],可能是由于松材线虫抑制了叶绿素的合成,从而导致针叶褪绿变黄。随后,叶绿素含量有所回升,这可能是由于POD活性迅速上升,增强了呼吸强度,从而促进了叶绿素代谢的恢复。可溶性蛋白与可溶性糖是植物体内主要的渗透调节物质,能够帮助植物抵抗逆境胁迫。本研究中,落叶松感染松材线虫后,针叶可溶性蛋白含量迅速升高,这种现象可能是由于松材线虫的入侵破坏了植物的渗透压,

降低了植物的输水能力。植物通过增加可溶性蛋白和可溶性糖含量来调节渗透压,从而增强保水能力。接种第10天感病家系可溶性糖含量高于其他家系,该现象与松材线虫侵染导致4~5年生马尾松可溶性糖含量变化一致^[10],原因可能是高浓度的可溶性糖对植物产生毒害作用。当植物受到病虫害危害时,SOD活性呈现先上升后下降的趋势,可能是由于受松材线虫影响,导致体内产生大量ROS,SOD活性的升高有助于清理ROS,以减轻ROS对细胞的损害,高抗家系SOD活性显著高于其他2组,说明高抗家系能够更好地清除有害物质,以减轻其对自身的伤害。POD除了参与抗氧化反应还参与形成木质素,木质素可以在一定程度上阻碍松材线虫迁移,增强植物抗病能力。POD活性出现下降升高再下降的趋势,与松材线虫侵染3年生日本落叶松(*L. kaempferi*)引起的POD变化趋势一致^[20],与松材线虫侵染黑松和湿地松(*P. elliotii*)后POD活性明显升高相反。在感病后期,该作用不足以抵抗松材线虫对树木产生的危害,树木枯萎死亡。也有研究^[25]表明,POD活性的迅速升高,会对植株自身产生伤害。POD活性的变化在植物对松材线虫的抗性中起着复杂的作用,其影响既有积极的一面,也可能带来负面后果,未来的研究可以进一步探讨其作用机制。

综上所述,家系1305、1310和1311不仅具备优良的抗病性与生长表现,同时,也在生理指标的变化上展现出一定的抗病优势。在今后的造林实践中,家系1305、1310和1311应被优先选择,特别是在病害风险较高的地区。这些家系的引入将有助于提升森林的抗逆性和整体健康水平,从而增强生态系统的稳定性和可持续性。此外,这种综合评估方法,不仅对落叶松的抗逆性育种具有指导意义,也为其他树种的抗逆性育种提供了重要参考,推动育种工作向更加科学和系统的方向发展。

参 考 文 献

- [1] 严正梅,谈家金.我国松树体内线虫种类及其分布[J].中国森林病虫,2019,38(5):38-42.
YAN Z M, TAN J J. Species and geographical distribution of parasitic nematode in pine in China[J]. Forest Pest and Disease, 2019, 38(5): 38-42.
- [2] 程瑞璐,林茂松,黎伟强,等.南京黑松上发生的萎蔫线虫病[J].森林病虫通讯,1983(4):1-5.

- CHENG H R, LIN M S, LI W Q, *et al.* Wilting nematode disease on *Pinus thunbergii* in Nanjing [J]. *Forest Pest and Disease*, 1983(4):1-5.
- [3] 叶建仁, 吴小芹. 松材线虫病研究进展[J]. *中国森林病虫*, 2022, 41(3):1-10.
- YE J R, WU X Q. Research progress of pine wilt disease[J]. *Forest Pest and Disease*, 2022, 41(3):1-10.
- [4] LI J J, FAN G, HE Y. Predicting the current and future distribution of three coptis herbs in China under climate change conditions, using the MaxEnt model and chemical analysis [J]. *Science of The Total Environment*, 2020, 698:134141.
- [5] PREGITZER K S, KUBISKE M E, YU C K, *et al.* Relationships among root branch order, carbon, and nitrogen in four temperate species [J]. *Oecologia*, 1997, 111(3):302-308.
- [6] 陈广胜, 郭明辉, 黄冶. 不同初植密度兴安落叶松人工林木材解剖特征的径向变异[J]. *东北林业大学学报*, 2001, 29(2):12-16.
- CHEN G S, GUO M H, HUANG Y. The radial variation patterns of anatomical characteristics of larch wood for different planting density [J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2001, 29(2):12-16.
- [7] 郑万钧, 傅立国. 中国植物志: 第七卷[M]. 北京: 科学出版社, 1978:187-190.
- ZHENG W J, FU L G. *Flora of China: Vol. 7* [M]. Beijing: Science Press, 1978:187-190.
- [8] 刘足根, 朱教君, 袁小兰, 等. 辽东山区长白落叶松天然更新调查[J]. *林业科学*, 2007, 43(1):42-49.
- LIU Z G, ZHU J J, YUAN X L, *et al.* Investigation and analysis of the natural regeneration of *Larix olgensis* in mountain regions of eastern Liaoning Province, China [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2007, 43(1):42-49.
- [9] 吴小芹, 张艺, 陈蔚诗, 等. 黑松 13 个抗病家系对松材线虫的抗性反应及组织病理学观察[J]. *植物病理学报*, 2008, 38(1):44-50.
- WU X Q, ZHANG Y, CHEN W S, *et al.* Resistance and histopathological observation of wilt-resistant *Pinus thunbergii* families from Japan to *Bursaphelenchus xylophilus* [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2008, 38(1):44-50.
- [10] 郝德君, 谈家金, 陈凤毛, 等. 黑松和马尾松苗受松材线虫侵染后部分化学物质的响应[J]. *林业科学研究*, 2012, 25(2):218-222.
- HAO D J, TAN J J, CHEN F M, *et al.* Physiological response of *Pinus thunbergii* and *Pinus massoniana* to *Bursaphelenchus xylophilus* infection [J]. *Forest Research*, 2012, 25(2):218-222.
- [11] 秦世杰, 祁金玉, 刘仁军, 等. 自然状态下油松感染松材线虫后的生理响应[J]. *沈阳农业大学学报*, 2021, 52(5):625-632.
- QIN S J, QI J Y, LIU R J, *et al.* Physiological response of *Pinus tabulaeformis* infected with *Bursaphelenchus xylophilus* in natural state [J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2021, 52(5):625-632.
- [12] 于海英, 吴昊, 张旭东, 等. 落叶松自然条件下感染松材线虫初报[J]. *中国森林病虫*, 2019, 38(4):7-10.
- YU H Y, WU H, ZHANG X D, *et al.* Preliminary study on *Larix* spp. infected by *Bursaphelenchus xylophilus* in natural environment [J]. *Forest Pest and Disease*, 2019, 38(4):7-10.
- [13] 盛若成, 李敏, 陈军, 等. 两株我国南北松材线虫虫株形态指标与致病力比较[J]. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2019, 43(6):18-24.
- SHENG R C, LI M, CHEN J, *et al.* Comparison of morphological index and pathogenicity of two isolates of *Bursaphelenchus xylophilus* in southern and northern in China [J]. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 2019, 43(6):18-24.
- [14] CHEN Q L, ZHANG R Z, LI D L, *et al.* Genetic characteristics of *Bursaphelenchus xylophilus* third-stage dispersal juveniles [J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1):3908.
- [15] 姜生伟, 吴昊, 李德斌, 等. 我国东北地区松材线虫灾害特征分析[J]. *中国森林病虫*, 2022, 41(4):9-15.
- JIANG S W, WU H, LI D B, *et al.* Analysis on disaster characteristics of pine wood nematode in northeast China [J]. *Forest Pest and Disease*, 2022, 41(4):9-15.
- [16] ZHANG R Z, WANG J N, XIA R, *et al.* Antioxidant processes involving epicatechin decreased symptoms of pine wilt disease [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13:1015970.
- [17] 许志刚. 普通植物病理学[M]. 4版. 北京: 高等教育出版社, 2009:372-375.
- XU Z G. *General plant pathology* [M]. 4th ed. Beijing: Higher Education Press, 2009:372-375.
- [18] 沈李元, 吴小芹, 陈婷婷, 等. 抗松材线虫病马尾松胚性愈伤组织超低温保存[J]. *东北林业大学学报*, 2019, 47(7):108-112.
- SHEN L Y, WU X Q, CHEN T T, *et al.* Cryopreservation of nematode-resistant *Pinus massoniana* embryogenic callus [J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2019, 47(7):108-112.
- [19] SHETTY N P, JØRGENSEN H J L, JENSEN J D, *et al.* Roles of reactive oxygen species in interactions between plants and pathogens [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2008, 121(3):267-280.
- [20] 王建国, 姜旭, 栾庆书, 等. 松材线虫侵染对日本落叶

- 松生理指标的影响[J].西南林业大学学报(自然科学),2023,43(6):135-140.
- WANG J G,JIANG X,LUAN Q S,*et al.*Effects of *Bursaphelenchus xylophilus* infestation on physiological indexes of *Larix kaempferi* [J]. Journal of Southwest Forestry University(Natural Sciences),2023,43(6):135-140.
- [21] 尹大川,邓玉侠,祁金玉,等.接种松材线虫对樟子松生理指标的影响[J].沈阳农业大学学报,2020,51(6):649-655.
- YIN D C,DENG Y X,QI J Y,*et al.*Effects of inoculation of pine wood nematode on physiological indexes of *Pinus sylvestris* var. *mongolica*[J].Journal of Shenyang Agricultural University,2020,51(6):649-655.
- [22] 陈玉惠,叶建仁,魏初奖.松材线虫侵染对马尾松苯丙烷类代谢的影响[J].林业科学,2006,42(2):73-77.
- CHEN Y H, YE J R, WEI C J.Effect of pine wood nematode (PWN) infection on phenylpropanes metabolism in Masson pine seedlings[J].Scientia Silvae Sinicae,2006,42(2):73-77.
- [23] 张璐,刘炳响,牟洪香,等.干旱胁迫下文冠果耐盐生理生化特性研究[J].西南林业大学学报(自然科学),2021,41(4):63-71.
- ZHANG L, LIU B X, MU H X, *et al.*Physiological and biochemical characteristics of salt tolerance in *Xanthoxeris sorbifolium* under drought stress [J]. Journal of Southwest Forestry University (Natural Sciences), 2021, 41(4):63-71.
- [24] 朱长甫,陈星,王英典.植物类胡萝卜素生物合成及其相关基因在基因工程中的应用[J].植物生理与分子生物学学报,2004,30(6):609-618.
- ZHU C F, CHEN X, WANG Y D.Carotenoid biosynthesis in plants and application of its relative genes in gene engineering [J]. Physiology and Molecular Biology of Plants,2004,30(6):609-618.
- [25] 陈玉惠,叶建仁,魏初奖,等.松材线虫对黑松、湿地松幼苗活性氧代谢的影响[J].南京林业大学学报(自然科学版),2002,26(4):19-22.
- CHEN Y H, YE J R, WEI C J, *et al.*Effects of pine wood nematode infection on metabolism of active oxygen in Japanese black pine and slash pine seedlings[J].Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition),2002,26(4):19-22.