www.scichina.com

life.scichina.com

## 《中国科学》杂志社 SCIENCE IN CHINA PRESS

## 评述

# 松材线虫入侵种群形成与扩张机制

——国家重点基础研究发展计划"农林危险生物入侵机理 与控制基础研究"进展

谢丙炎<sup>®\*</sup>, 成新跃<sup>®</sup>, 石娟<sup>®</sup>, 张青文<sup>®</sup>, 戴素明<sup>®</sup>, 成飞雪<sup>®</sup>, 骆有庆<sup>®</sup>

- ① 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081;
- ② 北京师范大学生命科学学院, 北京 100875;
- ③ 北京林业大学林学院, 北京 100083;
- ④ 中国农业大学农学与生物技术学院, 北京 100094
- \* 联系人, E-mail: xiebingyan2003@yahoo.com.cn

收稿日期: 2008-02-25; 接受日期: 2008-04-21

国家重点基础研究发展计划(批准号: 2002CB111400)资助项目

摘要 从种群遗传学和生态学两个不同角度分析了松材线虫成功入侵的机制.种群遗传多样性研究表明,松材线虫入侵过程中,无明显的奠基者效应和由遗传漂变引起的种群遗传瓶颈.由于不同入侵来源的种群多次大量入侵,导致我国入侵种群具有丰富的遗传多样性.入侵过程中保持有高的种群遗传多样性,是松材线虫成功入侵的遗传学机制之一.种间竞争实验结果表明,松材线虫具有高的繁殖潜能和强的竞争能力,在入侵过程中能对本地近缘种产生种间竞争和生态替代.竞争性替代是松材线虫成功入侵的生态学机制之一.种间杂交和基因渗入,有利于松材线虫的入侵.同时,从功能基因组的角度,研究了与松材线虫适应性相关的一些重要基因的结构、功能及其进化,探讨松材线虫成功入侵的生态适应性分子机制.并从生态系统的抵御性和恢复性角度,探讨了生态系统对松材线虫入侵和扩散的影响.此外,对尚需继续深入研究的科学问题进行了讨论.研究结果为进一步揭示松材线虫成功入侵机理的研究奠定了基础,并为松材线虫病的有效管理和控制提供了科学依据.

#### 关键词

松材线虫 生物入侵 种群遗传多样性 生态适应 生态系统抵御和恢复

随着人类活动对自然界影响的日益加剧,外来生物入侵已成为全球关注的问题. 松材线虫(Bursaphelenchus xylophilus)是一种危险性的外来入侵生物,它是毁灭性森林病害松材线虫病(又称松树萎蔫病)的病原物,其主要危害针叶树木,尤其是松属树种(Pinus spp.). 松材线虫的原产地为北美,在原产地分布广泛,但并不造成严重危害. 20 世纪初传入日本,导致松树的严重死亡,尤其是 20 世纪 70 年代

后,松材线虫病在日本大量爆发流行,日本的松林由此遭到毁灭性的破坏.随后松材线虫病传入韩国、香港、台湾等亚洲国家和地区.1982年在江苏南京发现松材线虫病.其后,在短短的20几年中,此病在中国内地迅速扩展和蔓延,造成我国松林资源的严重破坏和不良的生态后果,经济损失巨大,松材线虫病已累计给我国造成直接和间接损失上千亿元.按2006年国家林业局公布的数据,目前我国的松材线虫病

**引用格式**:谢丙炎,成新跃,石娟,等. 松材线虫入侵种群形成与扩张机制. 中国科学 C 辑:生命科学,2009,39(4):333—341

疫区包括江苏、浙江、安徽、江西、山东、湖北、湖南、广东、重庆、云南、贵州等地的 95 个县、区、市,疫情的发展已直接威胁到我国的世界自然文化遗产黄山、张家界等地理景观的生态安全. 松材线虫病的传播与人类活动密切相关, 许多国家均将其列为重点植物检疫对象. 随着国际贸易的全球化进行和我国加入世贸组织, 松材线虫由境外疫区反复传入我国非疫区的风险不断加剧. 而且, 随着国内经济的活跃及一些国家基础性建设项目的实施, 松材线虫病由我国疫区传入非疫区的风险也日趋严重. 因此, 松材线虫病在我国还具有更加广泛的定殖和扩散的可能性山.

关于松材线虫的研究已有较多的报道, 尤其是 日本在 20 世纪 80~90 年代做了大量的工作, 我国在 近些年来也有较多的研究报道[2]. 但以前的研究主要 集中在松材线虫的种类鉴定及早期诊断、生物学及致 病性、病害控制与防治等方面, 而较少涉及松材线虫 的入侵机制. 松材线虫从原产地北美传入亚洲, 面对 新的生态环境, 如何发挥自身的生物潜力, 突破环境 中的限制因素, 在新的栖地迅速定殖和种群扩散, 是 其成功入侵的关键. 国家重点基础研究发展计划项 目"农林危险生物入侵机理与控制基础研究"已将松 材线虫列为入侵生物 3 大主要研究对象. 研究围绕松 材线虫的入侵机制、成灾机理和控制基础这个主题, 针对松材线虫病在我国的迅速扩展和蔓延, 以种群 形成和扩张为核心,应用种群遗传学、种群生态学和 系统生态学的理论和方法, 研究松材线虫入侵我国 后种群遗传多样性及种群遗传结构的改变、松材线虫 与本地种的种间竞争及对本地种的生态替代作用、松 材线虫抗逆性的生态适应性机理、以及生态系统对松 材线虫病的抵御效应, 从而揭示松材线虫成功入侵 的遗传学和生态学机制. 研究结果不仅丰富了入侵 生物学理论, 而且, 对松材线虫病防控策略的制订提 供了可靠的理论依据.

# 1 主要研究进展

# 1.1 丰富的种群遗传多样性是松材线虫成功入侵的遗传学机制之一

不同的外来入侵物种具有不同的遗传基础. 在入侵过程中, 大多数入侵物种表现出明显的奠基者

效应和种群遗传瓶颈,即入侵种群的遗传多样性较原产地种群显著降低;而少数物种则表现出种群遗传多样性没有明显的变化;更有甚者,表现出入侵过程中遗传多样性不但没有减少,反而增加的现象<sup>[3]</sup>.那么,松材线虫在入侵过程中,其种群遗传多样性是如何变化的,却不清楚.

针对松材线虫在入侵过程中的种群遗传变异问 题, 通过采用 AFLP 方法, 对原产地美国种群和入侵 地中国种群的遗传多样性进行了分析和比较. 遗传 多样性指数显示, 中国种群的遗传多样性略高于美 国种群; 而且, 中国不同地理种群之间的遗传多样性 存在显著差异. 为了比较入侵过程中种群的遗传多 样性变化, 以松材线虫病的发生历史代替松材线虫 的入侵历史(相当于忽略了时滞阶段), 通过比较不同 历史阶段样品的遗传多样性, 探讨入侵过程中种群 的遗传变异. 结果显示, 不同入侵阶段种群的遗传多 样性指数无显著差异, 表明松材线虫在入侵过程中, 由奠基者效应和遗传漂变产生的种群遗传瓶颈并不 显著, 即无明显的遗传多样性丧失. 根据遗传距离构 建系统发育树, 结果显示我国的入侵种群具有多个 来源. 从现有的研究结果来看, 中国种群与日本种群 的亲缘关系比与美国种群的关系更为密切. 尽管受 原产地种群和中国周边国家种群数量的限制,目前 还无法完全确定我国入侵种群的全部来源, 但至少 可以说, 我国部分种群来源于日本. 根据此研究结果 推测、由于不同来源种群的多次大量入侵、导致入侵 种群中具有丰富的遗传变异, 入侵过程中维持高的 遗传多样性, 是松材线虫成功入侵的遗传学机制之

根据样品之间的遗传关系,提出松材线虫在中国的扩散至少有2条主要的路线(图1). 当然,我们并不排除其他次要的扩散路线,如由国外直接传入我国某地.在此基础上,提出两个推测:

(1) 广东是松材线虫种群入侵我国最初的定殖和扩散中心. 理由如下: (i) 松材线虫入侵香港的历史早于内地,在 20 世纪 70 年代,香港的马尾松就几乎全毁于松材线虫病. 深圳与香港相邻,松材线虫可通过松墨天牛的自然扩散,由香港进入广东深圳; (ii) 广东为我国最早对外开放的地区,拥有大型货物港口. 20世纪 70 年代末开始,中国大量进口日本家用电

器及实验设备,很可能在那时候松材线虫就随包装材料进入广东,再由广东传到其他地区;(iii)虽然南京紫金山是我国最初发现松材线虫病的地区,但并不代表它一定是松材线虫在我国的最初定殖和扩散中心.南京最先被报道,可能更主要的是由于紫金山的重要地位及南京具有较强的科研力量.当然,也不排除另一种情形,即南京确实是最初的入侵和定殖地,但由于每年对死树的清除,未形成扩散中心.而目前检测到的南京种群已不是最初入侵的种群,而是后来重复入侵的种群.

(2) 江苏已成为松材线虫在我国的新扩散中心.由于目前松材线虫在我国发生和扩散的特点是沿着交通路线(铁路、高速公路和水运)扩散,并且,与国家大型建设项目密切相关,如 "西电东送"工程、"农电改造"工程等. 江苏是全国经济最发达的省份,交通发达,贸易频繁,而且,许多电力设备、建设元件均来自江苏,松材线虫随着大量的松木包装材料及电缆和光缆的木托盘扩散到新的适生区. 因此,提出控制松材线虫病的扩散,加强检疫尤为重要,而且内检和外检同样重要<sup>[5]</sup>.

# 1.2 种间竞争及生态替代是松材线虫种群入侵的 生态学机制之一

生物入侵导致当地的生物多样性减少,在许多研究实例中已有证实[6.7]. 其中,入侵种对与其生态

位相同的土著种的影响更为显著. 当前, 生态学中一个被接受的理论假设是, 生态系统中的生物群落是处于饱和状态, 当一个外来种入侵到生态系统中, 势必导致本地生物多样性的减少, 甚至灭绝. 那么, 松材线虫的入侵, 对生态系统中与其生态位相同的本地种将产生怎样的影响?

为了探讨松材线虫入侵对本地种的影响, 通过 将松材线虫与拟松材线虫在竞争和非竞争条件下进 行实验室培养和寄主体内接种繁殖, 比较它们的繁 殖参数. 结果表明, 无论在竞争还是非竞争条件下, 实验培养或寄主体内接种繁殖, 松材线虫的种群繁 殖力都明显大于拟松材线虫. 说明松材线虫具有高 的繁殖潜能, 易于在新的环境中定殖和种群快速增 长, 故松材线虫具有入侵物种典型的生物学特性, 即 具有很强的定殖能力. 虽然按照种间竞争的一般原 理, 定殖能力和竞争能力是一种权衡(trade-off), 但对 松材线虫来说,不仅具有很强的定殖能力,而且也具 有很强的竞争能力. 将松材线虫和拟松材线虫连续 共同培养一段较长的时间(6~7 代后), 松材线虫可通 过竞争性替代将拟松材线虫全部排除[8]. 以往的研究 也表明, 松材线虫的运动速度比拟松材线虫快, 进入 媒介天牛气门的登陆能力也比拟松材线虫强, 说明 松材线虫是一个较强的竞争者, 其竞争能力明显优 干拟松材线虫[9~11]

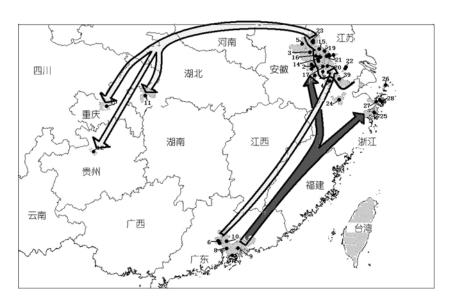


图 1 根据样品之间的相互关系推测松材线虫在中国的两条主要扩散路线示意图(引自文献[5])

通过对我国具有不同发生历史的松材线虫疫区自然松林中衰弱木的抽样检测,统计松材线虫和拟松材线虫在自然种群中的分布频率,结果显示:发病年代越早,入侵时间越长,松材线虫在样品中所占的比例越高,拟松材线虫所占的比例越低;松材线虫在自然种群中的分布频率随着入侵时间的增加呈现上升的趋势,而拟松材线虫的分布频率随着入侵时间的增加呈现下降的趋势 (图 2).结果表明,在自然生态系统中,松材线虫的入侵对拟松材线虫的种群数量产生了显著的影响,导致拟松材线虫种群数量下降<sup>[8]</sup>.因此提出,在自然生态系统中,松材线虫能通过种间竞争,替代和排除本地种拟松材线虫.竞争性替代是松材线虫成功入侵的生态学机制之一.

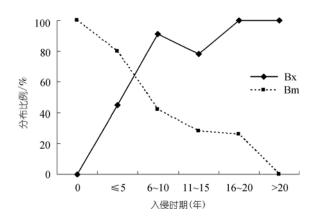


图 2 不同入侵时期的松林中松材线虫与拟松材线虫的分布比例示意图(引自文献[8])

研究还发现,不管是实验培养还是寄主接种,松 材线虫在竞争条件下的繁殖数量显著高于其在非竞 争条件下的繁殖数量,目前还不知道产生这种现象 的内在机制.有研究报道,具有强竞争力的外来入侵 植物,在混合栽培条件下其生物量明显大于纯栽培 条件下的生物量[12].推测这可能是入侵物种具有的 一种竞争诱导快速繁殖的现象.

### 1.3 不对称的种间杂交有利于松材线虫的入侵

杂交和基因渗入有利于外来种的入侵.基因渗入(introgression)是指通过种间杂交,形成部分可育的种间杂合子,杂合子再与亲本回交,从而导致一个种的部分遗传物质转入另一个种的遗传背景中的过程.近缘种间的基因渗入在自然界中是一个普遍的现象.

外来种与土著种之间杂交,产生的结果有几种可能: 一是产生新的、入侵性更强的杂合基因型; 二是产生 不育的杂合体,与土著种竞争资源,并浪费土著种的 配子资源,从而导致土著种种群数量下降及灭绝;三 是产生杂交带和广泛的基因渗入, 引起土著种适合 度下降, 通过遗传侵蚀作用, 导致土著种的蓑退及灭 绝[13,14]. 然而, 杂交也可能使土著种的基因渗入到入 侵种, 从而提高入侵种在新环境中的适合度[15]. 关于 松材线虫与拟松材线虫的种间杂交, 已有研究报道, 在实验培养条件下, 松材线虫和拟松材线虫可形成 杂合子, 但杂合子数量少, 成活率低, 出现畸形, 大 多不育[16~18]. 本研究结果显示, 松材线虫与拟松材线 虫的杂合子并非完全不育, 而且, 当杂合子与亲本回 交后,则可形成稳定可育的后代,通过正交和反交实 验, 发现正交(松材线虫的雌性与拟松材线虫的雄性 杂交)的成功率明显高于反交(松材线虫的雄性与拟 松材线虫的雌性杂交), 前者约为后者的两倍(成新跃, 未发表资料). 这种不对称的种间交配有利于增加松 材线虫的种间竞争能力. 一方面, 松材线虫通过与拟 松材线虫的种间杂交, 可获得更多的遗传资源, 增加 种群的遗传变异; 另一方面, 通过种间杂交, 松材线 虫浪费更多的拟松材线虫的雄性配子, 从而导致拟 松材线虫的种群数量下降. 当然, 在自然生态系统中, 松材线虫与拟松材线虫的杂交及基因渗入情况, 仍 需对自然种群进行种群遗传检测和基因渗入率计算. 此外, 松材线虫在与拟松材线虫共存时, 种群数量明 显高于单独存在时的种群数量,是否也与种间杂交 有关,尚有待深入研究证实.

#### 1.4 松材线虫的生态适应性分子机理

松材线虫由原产地传入亚洲,生态环境(寄主植物、气候条件、生物环境等)发生了明显的改变. 松材线虫在入侵和扩散过程中,如何抵御不良的环境胁迫,克服生态限制因子,适应新的生态环境,是松材线虫成功入侵的关键所在. 通过从功能基因组的角度,研究与松材线虫适应性相关的一些重要基因的结构、功能及其进化,来揭示松材线虫成功入侵的生态适应性的分子机理.

(1) 热激蛋白 Hsp70 的基因结构及其在松材线虫 抗温度逆境中的作用. 松材线虫是低等的无脊椎 动物,在其原产地北美分布相当广泛,从墨西哥至加拿大均有分布,对于分布在温带和寒温带的松材线虫,它们不可避免地要接受冬季寒冷的挑战.因此,它们需要具备一定的耐寒能力,才能有利于种群的存在与发展.而且,作为检疫对象,进出口的松木材料往往是需要经过一定的高温处理的,但即便如此,每年我国海关仍能从具有处理标志的松木材料中检测到一定存活量的松材线虫,说明松材线虫具有较强的耐高温和抗干旱能力.因此,松材线虫对温度逆境的适应性是很强的.

对松材线虫的耐寒性和耐热性实验表明, 松材 线虫具有较强的耐寒和耐热能力. 非结冰低温条件 下,经过两天的长时间胁迫,松材线虫均能存活下来, 说明松材线虫能够忍受零度以上的低温胁迫. 若将 之置于结冰的低温条件下,各地理种群的存活能力 均非常弱. 当温度降低到-15℃时, 短时间内松材线 虫就发生全部死亡. 不同的线虫类群具有不同的耐 寒机制[19], 按照线虫耐寒性的分类, 松材线虫的耐寒 对策表现为寒冷敏感型. 对高温的耐受性研究发现, 在45℃高温胁迫下, 随着胁迫时间的延长, 松材线虫 和拟松材线虫的存活率均降低. 在经过 210 min 高温 处理后, 松材线虫的存活率接近于零. 而拟松材线虫 在经过 90 min 高温处理后, 其存活率就已接近于零. 将不同处理时间的线虫存活率做图, 可获得导致 50%个体死亡的时间( $t_{L50}$ ). 比较各种群的  $t_{L50}$ , 发现 拟松材线虫的 t<sub>1.50</sub> 值最小, 即松材线虫的耐热力明显 比拟松材线虫的耐热力强; 我国的3个松材线虫地理 种群的 1.50 值存在差异, 耐热力强弱表现为广东种群 >江苏种群>浙江种群(戴素明, 未发表资料).

热激蛋白是生物体抵御逆境如高温、低温、组织损伤、细胞缺氧、重金属等的应激蛋白[20]. 采用RACE-PCR 技术,克隆了松材线虫抗逆性蛋白——热激蛋白 70(Hsp70)基因.构建了原核表达载体Bx70pEASY-E1,诱导融合蛋白表达.并从原核生物角度分析了Bx-hsp-1的特性,发现表达Bx-hsp-1的原核细胞明显比对照细胞耐受高温的胁迫[21].结合冷激和热激反应,利用实时荧光 PCR 技术分析该基因在松材线虫受到不同温度预处理后的表达动态,发现 Bx-hsp-1 的表达随着冷激和热激时间的延长呈上

升趋势(1~3 h, 2~3 倍的增加). 表明 Bx-hsp-1 参与了 松材线虫对温度逆境的适应. 利用交叉干扰技术解 析 Bx-hsp-1 在线虫体内的生理功能, 发现 Hsp70 对线 虫的胚胎发育和迁移活动也起着一定的作用. RNA 干扰效应分析, 当松材线虫浸渍在 dsRNA 中(1.5 mg/mL)24 或 48 h 后, 线虫表现出高的死亡率、低的 繁殖量和低的耐热性(谢丙炎, 未发表资料). 进一步 研究该基因的结构发现, 松材线虫 Bx-hsp-1 具有 3 个 内含子区. 而且该基因非常保守, 在核苷酸水平上, 松材线虫种内差异很小, 仅发现一个碱基的变异. 而 且此位点的变异, 在我国的松材线虫种群中与已报 道的日本致病株的碱基是相同的[22], 而美国种群则 与拟松材线虫种群相同. 此碱基的变异是否与致病 性的强弱有关联,尚需研究证实.此结果支持我们以 前根据遗传多样性研究所得的结论, 即证明我国的 松材线虫来源于日本. 热激蛋白 70 基因在松材线虫 和拟松材线虫中的种间差异明显, 序列相似性为 90%, 非编码区变异位点的差异远远大于编码区. 而 且, 在第一个内含子区域, 松材线虫比拟松材线虫多 25 bp. 根据该基因片段长度的差异可以明确地区分 松材线虫和拟松材线虫. 在氨基酸水平上, 在松材线 虫和拟松材线虫之间仅有一个氨基酸的差异, 即第 59 位点 V (缬氨酸)变成了 I (异亮氨酸), 这个突变是 由第一位密码子 GTC→ATC 引起的. 以上研究结果 为研究两种线虫的抗逆适应性奠定了基础 (成新跃, 未发表资料).

此外,还克隆了松材线虫的另一种小分子热激蛋白基因 hsp-12. 研究发现,该基因含有一个长度为63 bp的内含子. Hsp-12 是目前发现的最小的热激蛋白. 小分子热激蛋白作为分子伴侣,保护生物细胞免受胁迫伤害,在生物逆境耐受中起着重要的作用. Hsp-12 在松材线虫的生态适应性中的作用,尚在研究之中(成新跃,未发表资料).

(2) 纤维素酶基因在松材线虫寄生性适应中的作用. 松材线虫为迁移性内寄生物,这种类型的寄生线虫直接潜入寄主组织,取食寄主的细胞物质,常引起细胞死亡,然后再转移到别的细胞取食,因此,细胞壁是影响其进入寄主细胞的一道屏障. 纤维素酶(β-1,4-葡聚糖苷酶)是寄主植物细胞壁的主要组成

成分.一些致病的病原微生物能分泌纤维素酶,降解 寄主植物的细胞壁, 从而有利于其从寄主中获取营 养和加速其在寄主细胞间的转移. 植物寄生性线虫 在长期的进化过程中, 已通过水平基因转移从病原 微生物中获得纤维素酶基因, 编码降解纤维素的蛋 白,从而提高其寄生性.因此,纤维素酶基因被认为 是一类与寄生性相关的基因. Kikuchi 等人[23] 克隆和 测定了松材线虫的纤维素酶基因 cDNA 全长, 并证明 它属于 GHF45 基因家族, 来源于真菌. 这不同于胞 囊线虫和根结线虫的纤维素酶基因,它们属于 GHF5 基因家族、来源于细菌[24,25]. 推测松材线虫纤维素酶 与松萎蔫病的早期症状密切相关[26]. 应用 RNAi 技术, 分析了松材线虫纤维素酶基因 Bx-eng-1 的 dsRNA 干 扰效应及其对松材线虫生存及繁殖的影响. 研究发 现,经过 24 h dsRNA 溶液浸泡后, dsRNA 能有效地进 入线虫体内, 使 Bx-eng-1 基因发生转录后沉默. 其结 果不仅导致松材线虫体内纤维素酶活性明显减弱, 而且明显影响松材线虫的繁殖能力, F1 代种群数量 显著减少, 并且对热胁迫的耐受性也明显降低. 研究 证明了纤维素酶的活性与松材线虫的发育和增长速 率以及耐热性之间存在有一定的相关性(戴素明等, 未发表资料),研究结果在某种程度上为已有的研究 报道提供了佐证, 即松材线虫种群增长速度与致病 力有关. 致病性强的松材线虫, 种群增长量大, 成虫 的繁殖力及孵化率高; 致病性弱的松材线虫, 种群增 长量次之; 而拟松材线虫的种群增长量最低. 根据以 上研究结果, 推测松材线虫的致病性与耐热力之间 可能存在有交叉共性机制. RNAi 技术的应用, 为松 材线虫病的防治提供了新的思路, 开辟了新的途径.

(3) 松材线虫抗氧化蛋白(peroxiredoxin)基因的克隆及其功能初步分析. 抗氧化蛋白是新近发现的抗氧化酶系,为一类抗逆蛋白,广泛存在于各种生物体内. 抗氧化蛋白除了具有共同的抗氧化损伤功能外,它还具有其他的功能,如细胞增殖与分化、细胞凋亡和信号传导及保护其他蛋白的氧化等. 研究证明,寄生性线虫体内的抗氧化蛋白相当丰富[27]. 通过RACE 扩增,克隆了松材线虫的一种抗氧化蛋白基因prx,其开放阅读框全序列为 588 bp. 通过大肠杆菌的原核表达,诱导出了其编码的蛋白,经体外抑菌实

验和体内 DNA 保护实验,验证了纯化蛋白的活性. 并通过兔子的兔疫获得了 Prx 基因的抗体,Western Blot 验证了获得抗体的特异性. 经 RT-PCR、蛋白图 谱和纤维素图谱的分析表明,证明松材线虫抗氧化蛋白的表达与松树体内受外界生物侵染时活性氧的产生密切相关,推测这种抗氧化蛋白基因 prx 可能与松材线虫克服寄主抗性及致病性相关(张青文,未发表资料).

# 1.5 不同的松林生态系统对松材线虫的入侵和扩散的抵御能力

生态系统是一个有机的整体,系统内各成员通过物质、能量和信息流动,相互作用、相互制约,因此,生态系统具有一定的稳定性.在生态系统的稳定性分析中,通常用抵抗性和恢复性来表示生态系统对外界干扰的响应.不同的松林生态系统对松材线虫入侵的抵抗性和恢复性是不相同的.

生态系统对外来物种入侵的抵抗性常常与群落 结构、营养水平及生态系统内生物之间的相互作用等 因素相关. 本研究从种群、群落、景观及生态系统不 同层次研究了松林生态系统对松材线虫入侵的抵御 作用. 在种群水平上, 通过对不同径级、不同松树结 构特性的马尾松林(Pinus massoniana)的抵御能力进 行比较,结果表明,林分中径级较小的林木通常受害 较重, 而平均冠幅、树冠占树干的百分比以及五年近 期生长量等指标越强, 流脂等级越高, 松树的抵抗力 也越强. 在群落水平上, 通过对不同寄主树种及不同 树种混交方式松林的抵御能力的比较, 发现寄主树 种的抗性等级越高, 松树所占的比例越小(松阔混交 林), 群落的抵抗力越大. 在景观格局水平上研究发 现, 在松林与非松林景观比例不变的情况下, 整体景 观的聚集度水平下降到 0.6 以下时, 松材线虫病的发 病程度可得到控制(石娟, 未发表资料). 提取遥感影 像的各种光谱信息以及地理信息, 利用多期遥感影 像,实现基于遥感信息的森林生物量反演[28~30]. 在生 态系统水平, 研究发现灌草多样性丰富的松林系统 抵御能力大[31].

松材线虫危害后,松林生态系统具有一定的生 态恢复功能.由于松材线虫入侵后,马尾松林遭到严

重破坏, 使林内松材线虫的食物资源供应不足, 在这 样的情况下, 群落向两个方向演替: 一是更新形成的 群落类型向针阔叶混交林(马尾松与生态位宽的树种, 如白栎(Quercus fabric)、冬青(Ilex purpurea)等阔叶树 形成)或阔叶林的方向发展, 马尾松将不再独占主导 地位, 在恢复林内物种的多样性升高; 二是更新形成 第二代马尾松林, 林内的物种多样性下降[32,33], 通过 从生长量、生物量和木材产出率的角度分析松材线虫 入侵对植物群落功能的影响, 结果表明, 在伐除受害 木和利用引诱剂诱集主要传播媒介松褐天牛等措施 的干预下, 使特定林分的平均生长水平出现了高峰, 但要想保持受害区林分未受害马尾松树的平均生长 量,必须采取一系列保护措施.同时,一系列灰色系 统模型和灰色-马尔可夫组合预测模型得以建立, 通 过验证, 这两个模型精度高, 可用于对松材线虫入侵 区的马尾松林分因子的生长进行预测[34].

对衰弱木上钻蛀性害虫的生态位宽度、生态位相似性、生态位重叠值进行的系统分析表明,马尾松在衰弱木阶段,群落丰富度及钻蛀性昆虫的丰富度最大;腐朽伐桩群落的多样性最高;生态位宽度最大的是松褐天牛,几乎遍布松树全株,造成与其他钻蛀性昆虫存在不同程度的生态位重叠[35-37].

# 2 有待深入研究的工作

本项目近 5 年的研究, 从松材线虫的遗传变异、 对本地种的竞争和生态替代作用、抗逆性生态适应机 理和生态系统的抵御效应等方面, 初步揭示了其成 功入侵的内在机制, 为更加深入研究和探索松材线 虫病的可持续控制技术奠定了基础. 但仍有一些科 学问题, 值得进一步开展深入的研究, 这些科学问题 的解析, 将有助于进一步揭示松材线虫成功入侵的 内在机制.

(1) 松材线虫繁殖型与扩散型转换调控的分子

神经行为及化学生态机理. 松材线虫与松褐天牛及松树寄主之间的化学通讯的功能分子已初步明确<sup>[38,39]</sup>. 但线虫接受媒介昆虫或寄主的化学分子信号后,如何调控繁殖型向扩散型转换的过程仍不清楚. 本课题组最近克隆了 16 个松材线虫神经多肽 *flp*基因及其 G 蛋白受体基因,正在进行其分子神经行为和化学生态功能分析.

- (2) 松材线虫对拟松材线虫的遗传侵蚀及在其成功入侵中作用. 已有的研究结果证明,在实验条件下松材线虫与拟松材线可进行种间交配,获得自交和回交后代群体,尽管种间杂交成功率不是很高.但在自然条件下,松材线虫与拟松材线虫的种间杂交情况如何,基因渗入率是多少,基因渗入及遗传侵蚀在松材线虫成功入侵中的作用等,仍需进一步深入研究和验证.
- (3) 松材线虫的致病机理. 有关松材线虫致病机理仍存在严重争论,如国内提出的松材线虫伴生细菌致病学说<sup>[40,41]</sup>,迄今为止,仍没有在成年松树中得到实验证明. 大多数研究结果显示,松材线虫的寄生与取食危害是引起松树发病的主要原因. 有关松材线虫致病性的分子机制,本课题组正在采用全基因组 RNAi 文库技术,分析与寄生和取食相关基因的功能,以其从分子生物学角度进一步解析其致病机理.
- (4) 松林生态系统的抵御机制. 已创建的松林生态系统对松材线虫入侵的抵御和恢复能力的评价指标体系还需进一步量化,以便更好地应用于实践. 另一方面,进一步寻找不同健康程度树木的抵抗性指标,如采用光合仪 6400 等仪器对树木的蒸腾速率、光合速率和呼吸速率等指标进行测定,从植物生理代谢的指标中选取一些可用于指示植物抵抗力的预警指标,从而解析松林系统对松材线虫病入侵的生理生态抵御机制.

### 参考文献\_

- 1 万方浩, 郑小波, 郭建英. 农林重要入侵物种的生物学与控制. 北京: 科学出版社, 2005. 573—616
- 2 杨宝君,潘宏阳,汤坚,等. 松材线虫病. 北京: 中国林业出版社,2003
- 3 徐汝梅, 叶万辉. 生物入侵: 理论与实践. 北京: 科学出版社, 2003. 102-118
- 4 成飞雪,成新跃,谢丙炎,等. 松材线虫种群遗传多态性的 AFLP 标记的建立及其应用. 植物病理学报,2005,35(5):410—419
- 5 Cheng X Y, Cheng F X, Xu R M, et al. Genetic variation in invasive process of *Bursaphelenchus xylophilus* (Aphelenchida: Aphelenchidae) and its possible spread routes in China. Heredity, 2008, 100(4): 356—365[DOI]

- 6 Gurevitch J, Padilla D K. Are invasive species a major cause of extinctions? Trends Ecol Evol, 2004, 19: 470—474[DOI]
- 7 Bøhn T, Amundsen P A, Sparrow A. Competitive exclusion after invasion? Biol Invasions, 2007, 10: 359—368[DOI]
- 8 Cheng X Y, Xie P Z, Cheng F X, et al. Competitive displacement of the native species *Bursaphelenchus mucronatus* by an alien species *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchida: Aphelenchoididae)-a case of successful invasion. Biological Invasions, 2008, 11: 205—213[DOI]
- 9 Rutherford T A, Riga E, Webster J M. Temperature-mediated behavioral relationships in *Bursaphelenchus xylophilus*, *B. mucronatus* and their hybrids. J Nematol, 1992, 24: 40—44
- Jikumaru S, Togashi K. Boarding abilities of *Bursaphelenchus mucromus* and *B. xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) on *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae). Nematology, 2003, 5: 843—849[DOI]
- 11 Vincent B, Altemayer V, Roux-Morabito G, et al. Competitive interaction between *Bursaphelenchus xylophilus* and the closely related species *Bursaphelenchus mucronatus*. Nematology, 2008, 10: 219—230[DOI]
- Garcia-Serrano H, Sans F X, Escarre J. Interspecific competition between alien and native congeneric species. Acta Oecologica, 2007, 31: 69—78[DOI]
- 13 Rhymer J M, Simberloff D. Extinction by hybridization and introgression. Ann Rev Ecol Syst, 1996, 27: 83—103[DOI]
- 14 Mooney H A, Cleland E E. The evolutionary impact of invasive species. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98(10): 5446—5451[DOI]
- Ellstrand N C, Schierenbeck K A. Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(13): 7043—7050[DOI]
- Mamiya Y. Interspecific hybridization between Bursaphelenchus xylophilus and B. mucronatus (Aphelenchida: Aphelenchoididae).
  Applied Ent Zool, 1986, 21: 159—163
- Riga E, Webster J M. Viability and behaviour of inter- and intraspecific crosses of pinewood nematode isolates. J Nematol, 1989, 21: 582
- 18 刘伟,杨宝君. 松材线虫和拟松材线虫的杂交遗传差异研究. 林业科学研究, 1994, 7(5): 469—474
- 19 戴素明,成新跃,肖启明,等.线虫耐寒性研究进展.生态学报,2006,26(11):3885—3890
- 20 Sorensen J G, Kristensen T N, Loechche V. The evolutionary and ecological role of heat shock proteins. Ecol Let, 2003, 6: 1025—1037[DOI]
- 21 戴素明,成新跃,肖启明,等. 松材线虫热激蛋白 70 基因的克隆及其原核表达. 植物病理学报, 2007, 37(5): 512—519
- Takemoto S, Futai K. Polymorphism of Japanese isolates of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (Aphelenchida: Aphelenchoididae), at heat-shock protein 70A locus and the field detection of polymorphic populations. Appl Entomol Zool, 2007, 42(2): 247—253[DOI]
- Kikuchi T, Jones J T, Aikawa T, et al. A family of glycosyl hydrolase family 45 cellulases from the pine wood nematode Bursaphelenchus xylophilus. FEBS Letters, 2004, 572 : 201—205[DOI]
- Smant G, Stokkermans J P, Yan Y, et al. Endogenous cellulases in animals: Isolation of β-1,4-endoglucanase genes from two species of plant-parasitic cyst nematodes. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95: 4906—4911[DOI]
- 25 Rosso M N, Piotte C, Favery Y B, et al. Isolation of a cDNA encoding a β-1,4-endoglucanase in the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* during plant parasitism. Mol Plant Microbe Interact, 1999, 12: 585—591[DOI]
- Zhang Q, Bai G, Yang W, et al. Pathogenic cellulose assay of pine wilt disease and immunological localization. Biosci Biotechnol Biochem, 2006, 70: 2727—2732[DOI]
- 27 Henkle-Dührsen K, Kampkötter A. Antioxidant enzyme families in parasitic nematodes. Mol Biochem Parasit, 2001, 114(2): 129—142[DOI]
- 28 安树杰, 张晓丽, 王震. 生物量估测中的遥感技术. 林业调查规划, 2006, 31(3): 1—5
- 29 王震, 张晓丽. 浙江舟山地区马尾松地上生物量模型研究. 林业调查规划, 2006, 31(5): 103—105
- Wang L, Zhang X, Luo Y, et al. A study on the changes of *Pinus Massoniana* spatial pattern by pinewood nematode invasion based on remote sensing and GIS. IGARSS, 27th ed. Colorado: Denver, 2006. 2697—2700
- 31 石娟, 骆有庆, 宋冀莹, 等. 松材线虫入侵后实施不同伐倒干扰强度对马尾松林植物多样性的影响. 应用生态学报, 2006,

17(7): 1157—1163

- 32 石娟, 骆有庆, 武海卫, 等. 松材线虫入侵对马尾松林植物群落功能的影响. 北京林业大学学报, 2007, 29(5): 118—124
- 33 石娟, 骆有庆, 曾凡勇, 等. 松材线虫入侵对马尾松群落主要种群生态位的影响. 北京林业大学学报, 2005, 27(6): 76—82
- 34 石娟, 骆有庆, 严晓素, 等. 应用解释结构模型分析松林系统对松材线虫干扰的响应. 林业科学, 2007, 43(8): 85—90
- 35 宋冀营, 骆有庆, 石娟, 等. 松材线虫染病松树上钻蛀性昆虫生态位的研究. 北京林业大学学报, 2005, 27(6): 108—111
- 36 宋冀营, 骆有庆, 严晓素, 等. 捕食性天敌菜氏猛叩甲与松褐天牛的空间关系及其控制力. 昆虫知识, 2007, 44 (5): 707—710
- Song J Y, Luo Y Q, Shi J, et al. Niche of insect borers within *Pinus massoniana* infected by pine wood nematode. Front Forest China, 2006(4): 460—463
- 38 成新跃, 徐汝梅, 谢丙炎. 化学通讯在松材线虫侵染和扩散中的作用. 生态学报, 2005, 25: 339—345
- Zhao L L, Wei W, Kang L, et al. Chemotaxis of the pinewood nematode, Bursaphelenchus xylophilus, to volatiles associated with host pine, Pinus massoniana, and its vector Monochamus alternatus. J Chem Ecol, 2007, 33(6): 1573—1561
- 40 杨宝君. 松材线虫病致病机理的研究进展. 中国森林病虫, 2002, 21(1): 27—31
- 41 谈家金, 叶建仁. 松材线出病致病机理的研究进展. 华中农业大学学报, 2003, 22(6): 613—617