

烟草在 PVY<sup>N</sup> 病毒与烟蚜作用下对高 CO<sub>2</sub> 浓度的响应付雪<sup>1,2</sup>, 叶乐夫<sup>1</sup>, 戈峰<sup>1\*</sup>

(1. 中国科学院动物研究所, 农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室, 北京 100101; 2. 黑龙江大学, 农业资源与环境学院 150086)

**摘要:** 以 CO<sub>2</sub> 浓度为主处理因子, 研究了加倍 CO<sub>2</sub> 浓度和对照大气 CO<sub>2</sub> 浓度条件下, 烟蚜、马铃薯 Y 病毒 N 株 (PVY<sup>N</sup>) 以及二者共同作用下烟草各指标的响应。结果表明, 在当前 CO<sub>2</sub> 浓度条件下, PVY<sup>N</sup>、烟蚜及两者联合作用对烟草生物量影响不显著; 而在未来高 CO<sub>2</sub> 浓度条件下, PVY<sup>N</sup>、烟蚜及两者联合作用对烟草生物量影响很大。CO<sub>2</sub> 浓度升高后, PVY<sup>N</sup> 和蚜虫二者联合作用显著降低烟草产量, 危害加重, 高 CO<sub>2</sub> 的“肥料”作用被极大地削弱。在有烟蚜、PVY<sup>N</sup> 以及两者共同作用时烟草的化学物质及主要的次生代谢物烟碱的含量对 CO<sub>2</sub> 浓度升高的响应也发生一定的变化, 表现在: 高 CO<sub>2</sub> 浓度条件下, 蚜虫、蚜虫与 PVY<sup>N</sup> 共同作用显著增加了烟草的含氮量; 显著减少了烟叶含糖量; PVY<sup>N</sup> 及其与蚜虫共同作用显著升高叶片可溶性蛋白含量; 当高 CO<sub>2</sub> 浓度下, 各处理的烟草烟碱含量均显著下降, 而且 PVY<sup>N</sup> 感染的烟叶烟碱含量无论在哪一种 CO<sub>2</sub> 浓度条件下, 都比无毒无虫的对照烟叶烟碱含量升高。结果显示, 烟蚜和马铃薯 Y 病毒 N 株 (PVY<sup>N</sup>) 对烟草的产量、营养物质及防御物质都有影响; CO<sub>2</sub> 浓度升高对烟草的生长有促进作用, 增加了烟草的产量, 但蚜虫的危害和 PVY<sup>N</sup> 感染使烟草产量下降, 在高 CO<sub>2</sub> 浓度条件下, 烟蚜和 PVY<sup>N</sup> 共同作用相对于目前 CO<sub>2</sub> 浓度对烟草产量的危害加重。

**关键词:** CO<sub>2</sub>; 烟草; 烟蚜; 马铃薯 Y 病毒 N 株 (PVY<sup>N</sup>)

Responses of tobacco associated with PVY<sup>N</sup> and tobacco aphid to elevated CO<sub>2</sub> concentrationFU Xue<sup>1,2</sup>, YE Lefu<sup>1</sup>, GE Feng<sup>1\*</sup>

1 State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

2 College of Agricultural Resource and Environment, Heilongjiang University, Harbin 150086, China

**Abstract** Atmospheric CO<sub>2</sub> concentration has been proved to be increased in the future. In this study, responses of tobacco plants to stress from the tobacco aphid *Myzus persicae* (Sulzer) or PVY<sup>N</sup> (potato virus Y), or stresses from both aphid and PVY<sup>N</sup> combined were investigated in OTC (open-top chambers) under ambient and elevated CO<sub>2</sub> concentrations. We experimentally examined aboveground biomass and foliar chlorophyll, nitrogen, non-structural carbohydrates, soluble protein, total amino acid and nicotine content in tobacco plants under elevated CO<sub>2</sub>. The increase of tobacco biomass was alleviated after infected by PVY<sup>N</sup> and aphid under elevated CO<sub>2</sub>, while no significant difference of tobacco biomass was found under ambient CO<sub>2</sub>. Significant higher nitrogen content after infected with virus or by aphid + virus and soluble protein content of tobacco after infested by aphid or by aphid + virus occurred in elevated CO<sub>2</sub>. Moreover, significant higher nicotine content was observed in the tobacco with PVY<sup>N</sup>-infection in comparison with tobacco with aphids under two CO<sub>2</sub> treatments. Our results indicated that both PVY<sup>N</sup> and tobacco aphid are major factors influencing tobacco yield and constitution significantly. The significant lower biomass of tobacco after infested by PVY<sup>N</sup> + aphid under elevated CO<sub>2</sub> suggested that inhibition of PVY<sup>N</sup> and aphid together on tobacco growth would be stronger in future elevated CO<sub>2</sub>. Under elevated CO<sub>2</sub> condition, both PVY<sup>N</sup> and tobacco aphid would continue to play adverse role in tobacco production. Moreover, higher CO<sub>2</sub> concentration would strengthen the negative effects of the two integral agricultural factors.

基金项目: 国家 973 基金项目 (2006CB102002); 国家自然科学基金资助 (30770382, 30621003)

收稿日期: 2009-09-14; 修订日期: 2009-12-01

\* 通讯作者 Corresponding author E-mail: ge@iz.ac.cn

**Key Words** Carbon dioxide tobacco tobacco aphid potato virus Y (PVY<sup>N</sup>)

自从工业革命以来,大气 CO<sub>2</sub>浓度急剧升高,已经由 280 μmol/mol 升到了 2005 年的 379 μmol/mol, 增长幅度远远超过之前 650 000 年的变化总和<sup>[1-2]</sup>。据预测,在本世纪末大气 CO<sub>2</sub>浓度至少会达到现在的二倍<sup>[3]</sup>。大气 CO<sub>2</sub>浓度升高造成的全球气候变化严重影响了生态系统<sup>[4-5]</sup>,使人类面临前所未有的严峻挑战,因而受到各国政府和科学家的普遍关注。近年来,国内外学者对 CO<sub>2</sub>浓度升高及气候变暖条件下作物产量和品质的可能变化进行了大量研究<sup>[6-9]</sup>。

烟草 (*Nicotiana tabacum* L.) 既是一种被广泛研究的模式生物,又是全球范围重要的经济作物之一。烟草病毒是烟草生产的主要威胁因素,严重影响烟叶的产量和质量。其中,马铃薯 Y 病毒 (potato virus Y, PVY) 是一种分布广泛的病毒,该病毒主要侵染茄科作物如马铃薯、番茄、烟草等。而且,在自然状态下, PVY 主要以烟蚜 (桃蚜) (*Myzus persicae* Sulzer) 等蚜虫以非持久方式传播。近年来,由于气候变暖给蚜虫越冬创造了有利条件,蚜传病毒带来的危害逐年上升<sup>[10-11]</sup>, PVY 逐渐成为我国烟草病毒病的主要毒源之一<sup>[12]</sup>。

植物病毒作为影响农业生态系统的重要因子之一,对植物的影响受到极大的关注,关于烟草病毒对烟草的影响的研究已有很多<sup>[13-15]</sup>,但对高 CO<sub>2</sub>浓度下感染了烟草病毒的烟草的研究很少。Matros<sup>[16]</sup> 等曾研究了 CO<sub>2</sub>浓度升高下感染了马铃薯 Y 病毒 (PVY) 的烟草的次生代谢物的变化。然而,将对烟草有重要影响的烟蚜和病毒作为实验因子,研究蚜虫和烟草病毒共同作用下烟草对 CO<sub>2</sub>浓度升高的响应还未见报道。

本实验在控制 CO<sub>2</sub>浓度的 OTC 中,以倍增的 CO<sub>2</sub>浓度和目前的 CO<sub>2</sub>浓度为处理因子,同时以马铃薯 Y 病毒 N 株 (PVY<sup>N</sup>) 和烟蚜为作用因子,研究了烟草在 PVY<sup>N</sup> 和烟蚜胁迫作用下对 CO<sub>2</sub>浓度升高的响应,以期回答以下两个科学问题: (1) 未来加倍 CO<sub>2</sub>浓度下,马铃薯 Y 病毒 N 株 (PVY<sup>N</sup>) 和烟蚜及其共同作用如何改变烟草的产量? (2) 未来加倍 CO<sub>2</sub>浓度下,烟草在植物病毒和蚜虫共同胁迫下其营养成分及防御物质如何变化? 本研究旨在探求未来高 CO<sub>2</sub>浓度环境中,烟草病毒和烟蚜对烟草的为害作用是否加重,为未来全球气候变化下烟草的生长提供科学依据以及烟草害虫及其病毒的控制提出预警。

## 1 材料与方法

### 1.1 开顶式气室

本试验在控制 CO<sub>2</sub>浓度的开顶式气室 (OTC) 中进行。气室位于北京市昌平区香屯中国科学院动物研究所全球变化试验基地。该装置由 CO<sub>2</sub>气源、CO<sub>2</sub>浓度控制系统和开顶式气室三大部分组成。其中,开顶式气室又由换气扇,框架、室壁和底座四部分组成。试验设置 2 个 CO<sub>2</sub>浓度水平,即目前的 CO<sub>2</sub>浓度 (CK, 375 μL/L, Ambient CO<sub>2</sub>) 和高出目前 1 倍的 CO<sub>2</sub>浓度 (750 μL/L, 2 × Ambient CO<sub>2</sub>)。每个 CO<sub>2</sub>浓度处理分别在 4 个 OTC 内进行,相当于 4 个重复。试验期间,白天 12h 通气,实际控制的日平均 CO<sub>2</sub>浓度分别为 (376 ± 22) μL/L 和 (754 ± 33) μL/L。

### 1.2 供试材料

#### 1.2.1 供试烟草

普通烟 *Nicotiana tabacum*, 永定 401 烟种购于中国农科院烟草研究所种质资源中心。2007 年 6 月 5 日在营养钵内播种,2007 年 7 月 7 日移栽至塑料盆 (直径:高 = 10 cm:12 cm)。7 月 15 日 (多数烟苗为 5—7 叶期) 移到通 CO<sub>2</sub>气体的 OTC 中。9 月 14 日以金刚砂摩擦法接种病毒 (1 周后和收样时通过花叶和脉坏死等病症确认接毒成功率为 100%); 9 月 15 日接虫。10 月 15 日试验结束 (多数烟草为 11—13 叶期)。试验用土壤为南方土:蛭石 = 8:1, 每个开顶式气室内随机放置 16 盆,每盆 1 株烟草。试验期间,每天浇水 1 次。

#### 1.2.2 供试烟蚜

烟蚜 *Myzus persicae*, 采自中国科学院遗传研究所烟草。将采回的无翅成蚜接种于室内烟草上繁殖 2 个月,扩大种群并保种以备试验用。

### 1.2.3 供试病毒

马铃薯 Y 病毒 N 株, 来自中国农业科学院植保所, 在普通烟上繁殖备用。

### 1.3 试验处理

试验处理有 3 个因子, 各 2 个水平 (在 OTC 内 2 个大气 CO<sub>2</sub> 浓度水平: 375 μL/L 和 750 μL/L, 是否接种 PVY<sup>N</sup>, 是否接种烟蚜), 形成 8 个处理。试验采用套设计, 每个处理重复 4 次 (4 个 OTC 重复), 每个重复 (OTC 内) 的每一处理 3—5 盆烟草, 每周同 CO<sub>2</sub> 水平的 4 个气室内烟草轮换放置, 以减少气室之间环境控制的差异。开顶式气室顶部用 80 目纱网罩住, 以防止外面昆虫侵入。每株烟草都用 80 目尼龙网罩笼罩住, 防止处理之间蚜虫逃逸。

### 1.4 指标测定

#### 1.4.1 烟草地上部分生物量测定

试验结束后, 取各处理烟草地上部分, 用 1/10 000g 天平称重, 获得地上部分生物量。

#### 1.4.2 烟草化学物质测定

收获各个处理的部分烟叶, 在 80℃ 下连续烘烤 72 h 将烘干的叶片研磨成粉末, 待测。烟草叶片氮含量采用凯氏定氮仪进行测定<sup>[17]</sup>, 烟叶总糖测定采用 DNS 法<sup>[18-19]</sup>。烟草叶片可溶性蛋白质测定用考马斯亮蓝法, 总氨基酸由南京建成生物制剂有限公司提供的试剂盒进行测定。烟碱测定采用 HPLC 法<sup>[20]</sup>。

### 1.5 统计分析

用 SAS 6.12 (SAS Institute Inc USA, 1996) 和 SPSS 13.0.1 (SPSS Inc Chicago IL, USA) 统计分析软件分析处理间试验数据的显著性差异。处理间平均值之间的差异显著性采用 LSD 检验。数据分析前, 先进行适当的数据转换, 以满足方差分析的要求 (即数据符合正态分布); 其中, 对百分数进行反正弦转换。

## 2 结果与分析

### 2.1 烟叶产量与化学物质的 ANOVA 分析

CO<sub>2</sub> 浓度、烟草病毒 (PVY<sup>N</sup>)、烟蚜及交互作用对烟草产量与叶片化学物质的影响的 ANOVA 分析结果 (表 1) 表明, CO<sub>2</sub> 浓度、烟蚜及两者的交互作用及 CO<sub>2</sub> 浓度和病毒的交互作用对烟草产量有显著影响; CO<sub>2</sub> 浓度对总氮有极显著的影响, 对可溶性蛋白质、氨基酸含量有显著影响; 病毒对总氮、总糖、蛋白含量、氨基酸含量均有显著影响, 对叶绿素含量有极显著影响; 蚜虫对总氮、总糖、游离氨基酸有显著影响; CO<sub>2</sub> 浓度与病毒的交互作用只对游离氨基酸有显著影响; CO<sub>2</sub> 浓度与蚜虫的交互作用对总氮及总糖有显著影响; 病毒和蚜虫的交互作用对总糖和游离氨基酸有显著影响; CO<sub>2</sub> 浓度、蚜虫及病毒的交互作用对总糖有显著影响; CO<sub>2</sub> 浓度和烟草病毒对烟碱都有极显著影响。

表 1 CO<sub>2</sub> 浓度、烟草病毒 (PVY<sup>N</sup>)、烟蚜以及交互作用对烟草生物量及化学物质的影响的 ANOVA 分析

Table 1 P values from ANOVAs for the effects of CO<sub>2</sub> level, tobacco virus (PVY<sup>N</sup>) and tobacco aphid infestation on the aboveground biomass and foliar chemical constituents of tobacco

	<sup>1</sup> CO <sub>2</sub> 浓度 <sup>1</sup> CO <sub>2</sub>	<sup>2</sup> 病毒 <sup>2</sup> Virus(V)	<sup>3</sup> 蚜虫 <sup>3</sup> Aphid(A)	CO <sub>2</sub> × V	CO <sub>2</sub> × A	V × A	CO <sub>2</sub> × V × A
地上部分生物量 Biomass	0.025 <sup>e</sup>	0.079	0.000 <sup>***</sup>	0.003 <sup>**</sup>	0.000 <sup>***</sup>	0.128	0.137
总氮 Nitrogen	0.000 <sup>***</sup>	0.027	0.000 <sup>***</sup>	0.121	0.001 <sup>**</sup>	0.320	0.218
非结构性糖 TNCs	0.920	0.009 <sup>*</sup>	0.000 <sup>***</sup>	0.602	0.000 <sup>***</sup>	0.041 <sup>*</sup>	0.000 <sup>***</sup>
可溶性蛋白质 Protein	0.034 <sup>f</sup>	0.007 <sup>*</sup>	0.232	0.882	0.121	0.435	0.852
游离氨基酸 Amino acid	0.037	0.018 <sup>g</sup>	0.003 <sup>*</sup>	0.029 <sup>g</sup>	0.183	0.003 <sup>*</sup>	0.835
叶绿素 Chlorophyll	0.624	0.000 <sup>***</sup>	0.768	0.291	0.376	0.891	0.389
烟碱 Nicotine	0.000 <sup>***</sup>	0.000 <sup>***</sup>	0.371	0.365	0.283	0.100	0.784

<sup>1</sup>CO<sub>2</sub> 浓度 (对照 CO<sub>2</sub> 和高 CO<sub>2</sub> 浓度); <sup>2</sup>病毒 (不接种病毒和接种病毒); <sup>3</sup>蚜虫 (不接种蚜虫和接种蚜虫); \*, \*\*, \*\*\* 分别表示因子的作用达到了  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$  和  $P < 0.001$  的显著水平

## 2.2 烟草产量

不同 CO<sub>2</sub>浓度下,无毒无虫健康植株、有蚜虫为害、病毒感染、蚜虫为害的染毒植株地上生物量如图 1 所示。图 1 表明,在目前 CO<sub>2</sub>浓度条件下,有蚜虫为害的烟草生物量与无毒无虫的处理相比较,变化不显著 (-1.2%) ( $F = 0.06$ ,  $P = 0.8124$ ); 感染马铃薯 Y 病毒 (+3.1%) ( $F = 0.34$ ,  $P = 0.5665$ ) 和有毒有虫 (+1.8%) ( $F = 0.34$ ,  $P = 0.5691$ ) 的烟草地上部分生物量相对于无毒无虫的处理差异也不显著。

在未来加倍 CO<sub>2</sub>浓度条件下,有蚜虫为害的烟草 (-12.1%) ( $F = 6.52$ ,  $P = 0.0206$ ) 和有毒有虫处理的烟草 (-29.8%) ( $F = 37.02$ ,  $P < 0.001$ ) 地上部分生物量相对于无毒无虫的处理 (对照) 都显著降低; 而感染马铃薯 Y 病毒的烟草生物量与无毒无虫的处理相比较,变化不显著 (-5.9%) ( $F = 0.86$ ,  $P = 0.3652$ )。

两种 CO<sub>2</sub>浓度处理比较时,发现 CO<sub>2</sub>加倍时,无毒无虫处理 ( $F = 2.91$ ,  $P = 0.1139$ )、染毒处理 ( $F = 0.00$ ,  $P = 0.9603$ ) 和蚜虫为害处理 ( $F = 0.63$ ,  $P = 0.4394$ ) 的烟草地上生物量相对于目前 CO<sub>2</sub>浓度的变化均未达显著水平; 但有虫有毒的烟草地上部分生物量显著降低 ( $F = 35.89$ ,  $P < 0.0001$ ) (图 2)。

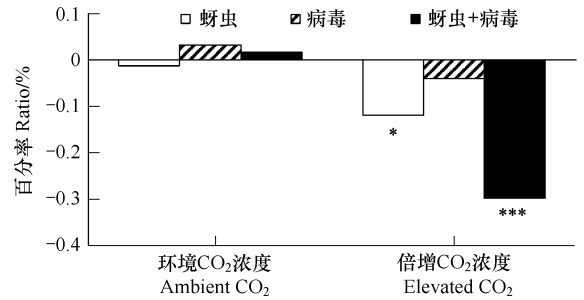


图 1 两种 CO<sub>2</sub>浓度下,有蚜虫为害、病毒感染、蚜虫为害的染毒植株地上部分生物量与无毒无虫健康植株地上部分生物量相比较的变化的百分比

Fig 1 Variation ratio of above-ground biomass of tobacco with aphids with PVY<sup>N</sup> and with aphids + PVY<sup>N</sup> compared with that of healthy tobacco under two different CO<sub>2</sub> conditions

\*, \*\*, \*\*\* 分别表示因子的作用达到了  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$  和  $P < 0.001$  的显著水平

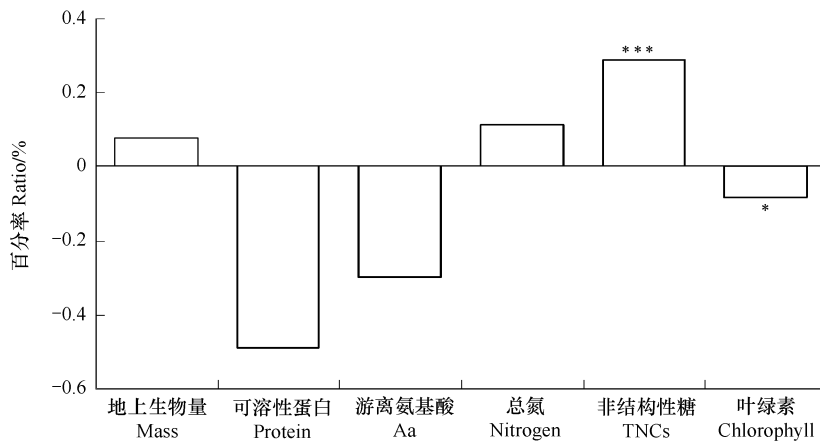


图 2 无毒无虫烟草地上部分生物量及化学物质对 CO<sub>2</sub>浓度的响应

Fig 2 Responses of above-ground biomass and foliar chemical constituents of tobacco to elevated CO<sub>2</sub> concentration

\*, \*\*, \*\*\* 分别表示因子的作用达到了  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$  和  $P < 0.001$  的显著水平

## 2.3 烟草化学物质

两种 CO<sub>2</sub>浓度下,烟草被蚜虫和病毒为害后化学物质含量的比较见图 3。

### (1) 总氮含量

在目前 CO<sub>2</sub>浓度条件下,有蚜虫为害的烟草含氮量相对于无毒无虫的处理 (对照) 变化不显著 ( $F = 3.95$ ,  $P = 0.0653$ ); 而感染马铃薯 Y 病毒 (PVY) 的烟草含氮量 ( $F = 6.72$ ,  $P = 0.0190$ )、有毒有虫处理的烟草含氮量 ( $F = 6.78$ ,  $P = 0.0192$ ) 与无毒无虫的处理相比较显著升高。

在高 CO<sub>2</sub>浓度条件下,感染病毒处理的烟草含氮量 ( $F = 0.04$ ,  $P = 0.8473$ ) 相对于无毒无虫的处理 (对照) 变化不显著; 但有蚜虫为害的烟草含氮量 ( $F = 28.43$ ,  $P = 0.0001$ ) 和有毒有虫的烟草含氮量 ( $F = 33.86$ ,

$P < 0.0001$ )相对于无毒无虫的处理(对照)显著升高。

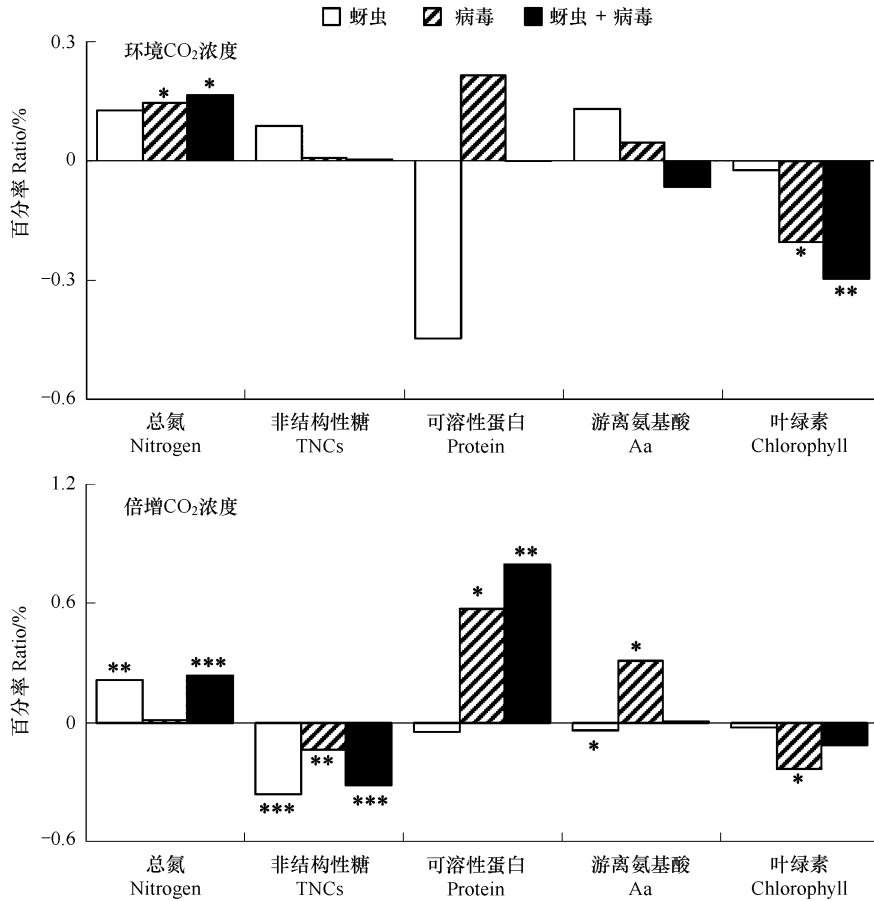


图 3 两种 CO<sub>2</sub>浓度下,有蚜虫为害、病毒感染、蚜虫为害的染毒植株化学物质含量与无毒无虫健康植株化学物质含量的变化的百分比

Fig 3 Variation ratio of foliar chemical constituents of tobacco with aphids with PVY<sup>N</sup> and with aphids + PVY<sup>N</sup> compared with that of healthy tobacco under two different CO<sub>2</sub> conditions

\*, \*\*, \*\*\* 分别表示因子的作用达到了  $P < 0.05$   $P < 0.01$  和  $P < 0.001$  的显著水平

两种 CO<sub>2</sub>浓度处理比较表明,发现当 CO<sub>2</sub>加倍时,无毒无虫处理的烟草含氮量 ( $F = 2.45, P = 0.1397$ ) (图 2)和染毒烟草含氮量 ( $F = 0.30, P = 0.5921$ )变化不显著;而蚜虫为害烟草含氮量 ( $F = 39.50, P < 0.0001$ )、有虫有毒的烟草含氮量 ( $F = 27.02, P < 0.0001$ )显著升高。

### (2)含糖量

在目前 CO<sub>2</sub>浓度条件下,有蚜虫为害的烟草 ( $F = 4.36, P = 0.0608$ )、感染马铃薯 Y 病毒 (PVY) 的烟草 ( $F = 0.02, P = 0.8996$ )和有虫有毒处理的烟草 ( $F = 0.01, P = 0.9191$ ) 叶片含糖量相对于无毒无虫的处理(对照)变化均不显著。

在高 CO<sub>2</sub>浓度条件下,有蚜虫为害的烟草 ( $F = 181.80, P < 0.0001$ )、感染马铃薯 Y 病毒 (PVY) 的烟草 ( $F = 33.14, P = 0.0001$ )和有虫有毒处理的烟草 ( $F = 188.78, P < 0.0001$ ) 叶片含糖量相对于无毒无虫的处理(对照)均显著减少。

两种 CO<sub>2</sub>浓度处理相比较,当 CO<sub>2</sub>加倍时,有蚜虫为害的烟草 ( $F = 84.42, P < 0.0001$ )和有虫有毒烟草 ( $F = 23.81, P = 0.0002$ )叶片含糖量水平显著降低;而无毒无虫的处理烟草 ( $F = 31.95, P = 0.0005$ ) (图 2)和染毒烟草 ( $F = 7.46, P = 0.0171$ )的烟草叶片含糖量水平显著升高。

### (3)烟叶蛋白质

在目前 CO<sub>2</sub>浓度条件下,有蚜虫为害的烟草 ( $F = 1.67, P = 0.2444$ )、有虫有毒处理的烟草 ( $F = 0.00, P =$

0.9957)、感染马铃薯 Y 病毒 (PVY) 的烟草 ( $F = 0.54$   $P = 0.4899$ ) 的蛋白含量与无毒无虫的处理相比变化也不显著。

在高  $\text{CO}_2$  浓度条件下, 有蚜虫为害的烟草蛋白含量相对于无毒无虫的处理 (对照) 变化不显著 ( $F = 0.19$ ,  $P = 0.6803$ ); 但感染 PVY 病毒的烟草的蛋白含量 ( $F = 4.89$ ,  $P = 0.0456$ ) 和有毒有虫处理的烟草的蛋白含量 ( $F = 44.89$ ,  $P = 0.0005$ ) 与无毒无虫的处理相比显著升高。

两种  $\text{CO}_2$  浓度处理比较表明, 当  $\text{CO}_2$  加倍时, 无毒无虫处理烟草蛋白量 ( $F = 2.33$ ,  $P = 0.1779$ ) (图 2)、蚜虫为害烟草蛋白量 ( $F = 0.25$ ,  $P = 0.6361$ )、染毒烟草蛋白量 ( $F = 2.32$ ,  $P = 0.1784$ )、有虫有毒的烟草蛋白量变化均不显著 ( $F = 0.28$ ,  $P = 0.6163$ )。

#### (4) 烟叶氨基酸

在目前  $\text{CO}_2$  浓度条件下, 有蚜虫为害的烟草氨基酸含量 ( $F = 0.52$ ,  $P = 0.5123$ ); 感染马铃薯 Y 病毒 (PVY) 的烟草氨基酸含量 ( $F = 1.36$ ,  $P = 0.3086$ ) 和有毒有虫处理的烟草的氨基酸含量 ( $F = 0.46$ ,  $P = 0.5271$ ) 与无毒无虫的处理相比变化不显著。

在高  $\text{CO}_2$  浓度条件下, 有蚜虫为害的烟草氨基酸含量显著低于无毒无虫的处理 (对照) ( $F = 23.19$ ,  $P = 0.0048$ ); 感染病毒的烟草氨基酸含量相对于无毒无虫的处理 (对照) 显著升高 ( $F = 30.28$ ,  $P = 0.0053$ ); 有毒有虫处理的烟草氨基酸含量无显著变化 ( $F = 0.02$ ,  $P = 0.9003$ )。

在两种  $\text{CO}_2$  浓度处理比较时, 当  $\text{CO}_2$  加倍, 无毒无虫的处理 ( $F = 0.19$ ,  $P = 0.6825$ ) (图 2)、有蚜虫为害 ( $F = 0.97$ ,  $P = 0.3622$ )、染毒烟草 ( $F = 7.38$ ,  $P = 0.0531$ ) 和有毒有虫的烟草氨基酸含量 ( $F = 1.98$ ,  $P = 0.2187$ ) 差异不显著。

#### (5) 烟叶叶绿素

在目前大气  $\text{CO}_2$  浓度条件下, 有蚜虫为害的烟草叶绿素含量 ( $F = 7.74$ ,  $P = 0.0497$ )、感染病毒的烟草叶绿素含量 ( $F = 10.94$ ,  $P = 0.0297$ ) 及有毒有虫处理的烟草叶绿素含量 ( $F = 196.60$ ,  $P = 0.0002$ ) 相对于无毒无虫的处理 (对照) 显著降低。

在高  $\text{CO}_2$  浓度条件下, 感染病毒的烟草相对于无毒无虫的处理 (对照) 显著降低 ( $F = 12.92$ ,  $P = 0.0229$ ); 有蚜虫为害的烟草叶绿素含量 ( $F = 3.43$ ,  $P = 0.1375$ ) 和有毒有虫处理的烟草 ( $F = 4.04$ ,  $P = 0.1147$ ) 叶绿素水平与无毒无虫的处理相比变化不显著。

在两种  $\text{CO}_2$  浓度处理下, 当  $\text{CO}_2$  加倍时, 染毒烟草叶绿素水平显著下降 ( $F = 8.06$ ,  $P = 0.0470$ ); 无毒无虫的处理烟草 ( $F = 0.13$ ,  $P = 0.7400$ ) (图 2) 和有蚜虫为害 ( $F = 2.81$ ,  $P = 0.1691$ ) 的烟草叶绿素水平下降, 但不显著; 有虫有毒 ( $F = 7.14$ ,  $P = 0.0557$ ) 的烟草叶绿素水平上升, 但不显著。

## 2.4 烟草烟碱

在目前  $\text{CO}_2$  浓度条件下, 有蚜虫为害的烟草烟碱水平相对于无毒无虫的处理 (对照) 变化不显著 ( $F = 0.77$ ,  $P = 0.3933$ ); 而感染马铃薯 Y 病毒 (PVY) 的烟草烟碱含量 ( $F = 8.35$ ,  $P = 0.0112$ )、有毒有虫处理的烟草烟碱含量 ( $F = 8.05$ ,  $P = 0.0119$ ) 与无毒无虫的处理相比显著增加。

在高  $\text{CO}_2$  浓度条件下, 有蚜虫为害的烟草烟碱含量 ( $F = 0.00$ ,  $P = 0.9772$ )、感染病毒的烟草 ( $F = 3.78$ ,  $P = 0.0721$ ) 和有毒有虫处理的烟草 ( $F = 0.48$ ,  $P = 0.4998$ ) 烟碱水平与无毒无虫的处理相比变化均不显著。

两种  $\text{CO}_2$  浓度处理相比较, 发现  $\text{CO}_2$  加倍时, 无毒无虫的处理烟草烟碱含量 ( $F = 8.80$ ,  $P = 0.0102$ )、有蚜虫为害烟草烟碱含量 ( $F = 18.13$ ,  $P = 0.0006$ )、染毒烟草烟碱含量 ( $F = 4.76$ ,  $P = 0.0454$ )、在有虫有毒的处理中, 烟草烟碱含量 ( $F = 27.34$ ,  $P < 0.001$ ) 均显著下降。

## 3 讨论

作物病虫害一直是农业生产中的重要限制因子, 关于单独的病害或虫害对农作物的影响已经有很多报道, 但关于多因子共同作用的影响研究还有待进行; 而全球变化下的多因子共同作用的影响研究更是为数不多。考虑到烟蚜是马铃薯 Y 病毒的重要携带者, 传播病毒感染健康植株, 二者是农业生态系统密不可分的成

分, 本研究选取了烟蚜与马铃薯 Y 病毒作为研究中的处理因素, 如此能很好地模拟田间实际, 并且为未来大田的实际病虫害管理提供更好的指导。

CO<sub>2</sub>浓度升高是未来全球变化的必然趋势<sup>[1]</sup>, 研究农作物产量对 CO<sub>2</sub>升高的响应已经成为全球变化生物学的热点之一<sup>[9]</sup>。CO<sub>2</sub>是植物进行光合作用的原料, 研究表明, 在高浓度 CO<sub>2</sub>条件下, 植物光合速率增加, 光合产量提高<sup>[21-22]</sup>。Malmstrom 和 Field<sup>[23]</sup>的研究发现在正常 CO<sub>2</sub>浓度和高 CO<sub>2</sub>浓度下感染了 BYDV 的大麦生物量相对于健康植株分别减少了 50%—60% 和 39%—40%。本研究表明, 在当前 CO<sub>2</sub>浓度条件下, 烟草地上生物量在染毒、接虫及有毒有虫 3 个处理中, 相对于无毒无虫的对照分别变化 3.1%, -1.2%, 1.8%, 即 PVY, 烟蚜及两者联合作用对烟草生物量影响微弱。在未来高 CO<sub>2</sub>浓度条件下, 首先健康烟草中含糖量显著

上升和以氮为基础的次生代谢物烟碱显著下降, 然后是染毒、接虫、接毒接虫处理的烟草地上生物量相对于无毒无虫的处理分别变化 -5.9%, -12.1%, -29.8%, 即 PVY, 烟蚜及两者联合作用在高 CO<sub>2</sub>浓度下对烟草生物量影响更大。试验中, 监测(每 3d 一次查虫)了烟草植株上的蚜虫种群动态, 并且测定每个处理中蚜虫个体的蜜露排放量作为取食量的间接指标, 估算了植株上蚜虫种群取食总量, 无论健康植株上的蚜虫种群还是染毒植株上的蚜虫种群, 高浓度下种群取食总量/对照浓度下种群取食总量都大致为 2 倍, 这就意味着高浓度下蚜虫对植物寄主的危害加重, 部分地解释了高浓度下接虫和接虫带毒处理对烟草生物量影响更大这一现象。结果表明, CO<sub>2</sub>浓度升高后, 蚜虫以及及与病毒联合作用会显著降低烟草地上生物量, 高 CO<sub>2</sub>的“肥料”作用被极大的削弱。由此可见, 不仅非生物因素限制了 CO<sub>2</sub>的作用<sup>[24-28]</sup>, 生物因素也影响了其对作物产量的提高。

大气 CO<sub>2</sub>浓度增加可导致植物组织含碳量的增加, 而氮、磷及其它微量元素含量降低<sup>[29-31]</sup>。结果表明, 两种 CO<sub>2</sub>浓度下, 烟蚜、病毒及共同作用都增加烟草叶片含氮量, 高 CO<sub>2</sub>浓度条件下, PVY<sup>N</sup>对烟草含氮量作用不明显, 而蚜虫、蚜虫与 PVY<sup>N</sup>二者共同作用对烟草含氮量增加作用更明显。在目前 CO<sub>2</sub>浓度条件下, 蚜虫和感染马铃薯 Y 病毒对烟草叶片含糖量没有显著影响; 高 CO<sub>2</sub>浓度条件下, 接虫、染毒及有毒有虫处理相对于无毒无虫的处理烟叶含糖量分别减少 38.42%、13.69% 和 31.54%, 这与目前 CO<sub>2</sub>浓度下的趋势相反。受到病毒及蚜虫和病毒共同作用的烟草在 CO<sub>2</sub>浓度升高时叶片可溶性蛋白含量显著升高, 尤其是共同作用下的升高较为显著。Lin 等<sup>[32]</sup>及 Taub 等<sup>[33]</sup>研究发现粮食作物的蛋白含量在 CO<sub>2</sub>浓度升高的条件下也发生了变化。Lin 和 Wang<sup>[34]</sup>研究表明高大气 CO<sub>2</sub>浓度减少了两种春小麦 (*Triticum aestivum* L., cv Longchun 292 & 8139) 叶子中蛋白和叶绿素的含量。倍增的 CO<sub>2</sub>浓度降低了组织氮和蛋白的含量的机制还不是完全清楚, 主要认为 CO<sub>2</sub>浓度升高影响了氮元素的吸收和代谢<sup>[35-38]</sup>。其中一个可能的机制是氮和蛋白浓度减少是被浓度升高的非结构型碳水化合物所稀释<sup>[30]</sup>。

碳氮平衡假说 (CNB)<sup>[39]</sup>提出, 植物用于防御物质的能量分配取决于植物对碳和营养物质的利用<sup>[17, 40]</sup>。CO<sub>2</sub>浓度升高促进植物的光合作用和植物组织内碳氮的重新分配, 对叶片中以碳和氮为基础的次生性化学物质产生一定的影响, 尤其是 C<sub>3</sub>植物<sup>[41-43]</sup>。植物叶片氮含量降低, 含碳量增加, 碳源的次生代谢物增加而氮源的次生代谢物下降, 尤其当氮肥缺乏时<sup>[15, 16, 29]</sup>。Veteli<sup>[44]</sup>等的研究表明, CO<sub>2</sub>浓度和温度升高对北温带的树木酚类化合物的表达有影响。Matros<sup>[16]</sup>等研究发现, 高 CO<sub>2</sub>浓度下烟草叶片类苯丙醇的含量显著增加, 而氮源的次生代谢物烟碱含量降低。本试验中, 两种 CO<sub>2</sub>浓度处理比较时, 发现 CO<sub>2</sub>加倍时, 各个处理的烟草烟

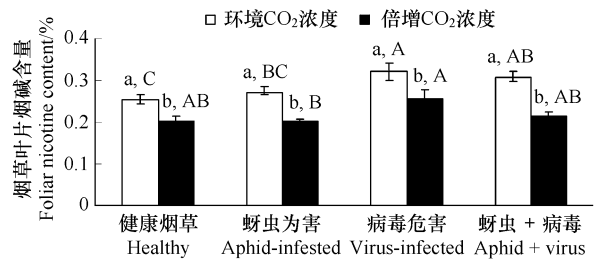


图 4 不同 CO<sub>2</sub>浓度下, 无疫无虫健康植株、有蚜虫为害、病毒感染、蚜虫为害的染毒植株叶片烟碱含量的比较 (平均值 + 标准误)

Fig 4 Mean  $\pm$  SE of nicotine content in healthy tobacco, tobacco with aphids with PVY<sup>N</sup> and with aphids + PVY<sup>N</sup> under two different CO<sub>2</sub> conditions

不同的小写字母表示两种 CO<sub>2</sub>浓度处理之间的差异达到显著水平; 不同的大写字母表示同一 CO<sub>2</sub>浓度下不同处理之间的差异达到显著水平; LSD 检验,  $P < 0.05$

碱含量均显著下降。有蚜虫为害的烟草烟碱含量在两种 CO<sub>2</sub>浓度下相对于对照烟草烟碱含量并无明显变化。PVY<sup>N</sup>感染的烟叶烟碱含量无论在哪一种 CO<sub>2</sub>浓度条件下,都比无毒无虫的对照烟叶烟碱含量升高,并且在目前 CO<sub>2</sub>浓度下达到显著水平,病毒和蚜虫共同作用的情况与病毒单独作用时相似。由此可见,感染 PVY<sup>N</sup>的烟草次生代谢物含量增多,与含氮量的变化相似,但高 CO<sub>2</sub>浓度弱化了这种变化。方差分析结果中的交互效应(蚜虫会影响 CO<sub>2</sub>对生物量,总氮,总糖的作用,病毒会影响 CO<sub>2</sub>对生物量和游离氨基酸的作用,而病毒和蚜虫会相互影响对总糖,游离氨基酸的作用,CO<sub>2</sub>,病毒及蚜虫会相互影响对总糖的作用)部分地解释了在高低 CO<sub>2</sub>浓度下蚜虫和病毒对烟草各个指标作用的差异。

本实验将 CO<sub>2</sub>浓度、植物病毒(PVY<sup>N</sup>)、烟蚜 3个重要因子结合起来,研究了高大气 CO<sub>2</sub>浓度和对照大气 CO<sub>2</sub>浓度条件下,分别用烟草病毒和烟蚜对烟草进行处理,分析 CO<sub>2</sub>浓度的变化、感染病毒、感染蚜虫对烟草产量、营养物质和防御物质的影响,发现烟蚜和马铃薯 Y 病毒 N 株(PVY<sup>N</sup>)对烟草的产量、营养物质及防御物质都有影响;在高 CO<sub>2</sub>浓度条件下,烟蚜和 PVY<sup>N</sup>共同作用相对于目前 CO<sub>2</sub>浓度对烟草产量的危害加重;这为未来全球气候变化下烟草的生长提供科学依据,为烟草害虫及其携带病毒的控制提出预警。

## References

- [ 1 ] IPCC ( Intergovernmental Panel on Climate Change). Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Cambridge and New York: Cambridge University Press, United Kingdom, NY, USA, <http://www.ipcc.ch/pub/spm18-02.pdf>, 2007.
- [ 2 ] Anderson L J. Atmospheric CO<sub>2</sub> Changes: Past and Future. Ecology, 2006, 87( 1): 262-263.
- [ 3 ] IPCC ( Intergovernmental Panel on Climate Change). Climate Change 2001: The Physical Science Basis. Cambridge and New York: Cambridge University Press, United Kingdom, NY, USA, 2001: 996.
- [ 4 ] Luo Y Q, Reynolds J, Wang Y P, Wolfe D. A search for predictive understanding of plant responses to elevated CO<sub>2</sub>. Global Change Biology, 1999, 5(2): 143-156.
- [ 5 ] Pedrelas J, Castells E, Joffe R, Tognetti R. Carbon-based secondary and structural compounds in Mediterranean shrubs growing near a natural CO<sub>2</sub> spring. Global Change Biology, 2002, 8(3): 281-288.
- [ 6 ] Fuhrer J. Agroecosystem responses to combinations of elevated CO<sub>2</sub>, ozone and global climate change. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2003, 97( 1/3): 1-20.
- [ 7 ] Nobby R J, Wullschlegel S D, Gunderson C A, Johnson D W, Ceulemans R. Tree responses to rising CO<sub>2</sub> in field experiments: implications for the future forest. Plant Cell and Environment, 1999, 22(6): 683-714.
- [ 8 ] Chen F J, Wu G, Ge F, Panjulee M N, Shreshtha R B. Effects of elevated CO<sub>2</sub> and transgenic Bt cotton on plant chemistry, performance, and feeding of an insect herbivore: the cotton bollworm. Entomologia Experimentalis et Applicata, 2005, 115(2): 341-350.
- [ 9 ] Ziska L H, Bunce J A. Predicting the impact of changing CO<sub>2</sub> on crop yields: some thoughts on food. New Phytologist, 2007, 175(4): 607-618.
- [ 10 ] Guo X Q, Zhu H C, Lv S E, Wang Z F, Chen R T. Studies on deteminating *Potato Virus Y* with indirect method of Enzyme-linked IgG-FITC. Acta Tabacaria Sinica, 1998, 4(2): 38-42.
- [ 11 ] Zhou B G, Gao Z L, Liu X P. Tendency of occurrence and control of *Potato virus Y* in tobacco in Anhui Province. Anhui Agricultural Science Bulletin, 1998, 4(1): 34-35.
- [ 12 ] Qin Y H, Meng H G, Cao L H. Study on the vitro Characteristics of PVY in Henan province and the interaction between PVY and CMV, TMV. Journal of Henan Agricultural University, 2005, 39(1): 20-21, 45.
- [ 13 ] Milosevic D, Djalic I. The Intensity of *Potato virus Y* (PVY) infection in different localities of west Serbia and its importance to seed potato production. Acta Agriculture Serbica, 2002, 14: 61-70.
- [ 14 ] Sindelarova M, Sindelar L, Wilhelmova N, Prochazkova D. Changes in key enzymes of viral RNA biosynthesis in chloroplasts from PVY and TMV infected tobacco plants. Biologia Plantarum, 2005, 49(3): 471-474.
- [ 15 ] Xia P. Changes in physiological index and its relation to resistance of potato plants infected with *Potato virus Y*. Chinese Potato Journal, 2007, 21(3): 129-133.
- [ 16 ] Matros A, Amme S, Kettig B, Buck-Sorlin G H, Sonnwald U, Mock H P. Growth at elevated CO<sub>2</sub> concentrations leads to modified profiles of secondary metabolites in tobacco cv. SamsunNN and to increased resistance against infection with *Potato virus Y*. Plant Cell and Environment, 2006, 29: 126-137.
- [ 17 ] Coviella C E, Stipanovic R D, Tumble J T. Plant allocation to defensive compounds: interactions between elevated CO<sub>2</sub> and nitrogen in transgenic cotton plants. Journal of Experimental Botany, 2002, 53(367): 323-331.
- [ 18 ] Suh H J, Noh D O, Choi Y M. Solubilization of onion with polysaccharide-degrading enzymes. International Journal of Food Science & Technology, 2002, 37(1): 65-71.
- [ 19 ] Xuan J C, Zhou G, Yuan A Q. Microwave deteminating technology of sugar content in plant tissues. Experimental Technology and Management, 2005, 6(22): 26-28.
- [ 20 ] Saunders J A, Blum E D E. Quantitation of major tobacco alkaloids by high-performance liquid chromatography. Journal of Chromatography, 1981,



205(1): 147-154.

- [ 21] Cure J D, A cock B. Crop responses to carbon dioxide doubling: A literature survey. *Agricultural and Forest Meteorology*, 1986, 38(1/3): 127-145
- [ 22] A insworth E A, Long S P. What have we learned from 15 years of free air CO<sub>2</sub> enrichment (FACE)? a meta-analytic review of the responses of photosynthesis, canopy properties and plant production to rising CO<sub>2</sub>. *New Phytologist*, 2005, 165(2): 351-372.
- [ 23] Mahstrom C M, Field C B. Virus-induced differences in the response of oat plants to elevated carbon dioxide. *Plant Cell and Environment*, 1997, 20(2): 178-188.
- [ 24] Long S P, A insworth E A, Rogers A, Ort D R. Rising atmospheric carbon dioxide: plants FACE the future. *Annual Review of Plant Biology*, 2004, 55: 591-628.
- [ 25] Long S P, A insworth E A, Leakey A D B, Morgan P B. Global food insecurity: Treatment of major food crops with elevated carbon dioxide or ozone under large-scale fully open-air conditions suggests recent models may have overestimated future yields. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B*, 2005, 360(1463): 2011-2020.
- [ 26] Long S P, A insworth E A, Leakey A D B, N senger J, Ort D R. Food for thought: lower than expected crop yield stimulation with rising CO<sub>2</sub> concentrations. *Science*, 2006, 312(5782): 1918-1921.
- [ 27] Reid C D, Fiscus E L. Ozone and density affect the response of biomass and seed yield to elevated CO<sub>2</sub> in rice. *Global Change Biology*, 2008, 14(1): 60-76.
- [ 28] Shinono H, Okada M, Yamakawa Y, Nakamura H, Kobayashi K, Hasegawa T. Rice yield enhancement by elevated CO<sub>2</sub> is reduced in cool weather. *Global Change Biology*, 2008, 14(2): 276-284.
- [ 29] Cotrufo M F, Ineson P, Scott A. Elevated CO<sub>2</sub> reduces the nitrogen concentration of plant tissues. *Global Change Biology*, 1998, 4(1): 43-54.
- [ 30] Gifford R M, Barrett D J, Lutz J L. The effects of elevated CO<sub>2</sub> on the C/N and C/P mass ratios of plant tissues. *Plant and Soil*, 2000, 224(1): 1-14.
- [ 31] Loladze I. Rising atmospheric CO<sub>2</sub> and human nutrition: toward globally imbalanced plant stoichiometry?. *Trends in Ecology and Evolution*, 2002, 17(10): 457-461.
- [ 32] Lin E, Xiong W, Ju H. Climate change impacts on crop yield and quality with CO<sub>2</sub> fertilization in China. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B*, 2005, 360: 2149-2154.
- [ 33] Taub D R, Miller B, Allen H. Effects of elevated CO<sub>2</sub> on the protein concentration of food crops: a meta-analysis. *Global Change Biology*, 2008, 14(3): 565-575.
- [ 34] Lin J S, Wang G X. Doubled CO<sub>2</sub> could improve the drought tolerance better in sensitive cultivars than in tolerant cultivars in spring wheat. *Plant Science*, 2002, 163(3): 627-637.
- [ 35] BassiriRad H, Gutschick V P, Lussenhop J. Root system adjustments: regulation of plant nutrient uptake and growth responses to elevated CO<sub>2</sub>. *Oecologia*, 2001, 126(3): 305-320.
- [ 36] Bloom A J, Smart D R, Nguyen D T, Searles P S. Nitrogen assimilation and growth of wheat under elevated carbon dioxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2002, 99(3): 1730-1735.
- [ 37] McDonald E P, Erickson J E, Knieger E L. Can decreased transpiration limit plant nitrogen acquisition in elevated CO<sub>2</sub>?. *Functional Plant Biology*, 2002, 29(9): 1115-1120.
- [ 38] Reich P B, Hungate B A, Luo Y Q. Carbon-nitrogen interactions in terrestrial ecosystems in response to rising atmospheric carbon dioxide. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 2006, 37: 611-636.
- [ 39] Bryant J P, Chapin F S III, Klein D R. Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. *Oikos*, 1983, 40(3): 357-368.
- [ 40] Matt P, Krapp A, Haake V, Mock H P, Stitt M. Decreased Rubisco activity leads to dramatic changes of nitrate metabolism, amino acid metabolism and the levels of phenylpropanoids and nicotine in tobacco antisense PBCS transformants. *Plant Journal*, 2002, 30(6): 663-677.
- [ 41] Sudderth E A, Stinson K A, Bazzaz F A. Host-specific aphid population responses to elevated CO<sub>2</sub> and increased N availability. *Global Change Biology*, 2005, 11(11): 1997-2008.
- [ 42] Zvereva E I, Kozlov M V. Consequences of simultaneous elevation of carbon dioxide and temperature for plant herbivore- interactions: a meta-analysis. *Global Change Biology*, 2006, 12(1): 27-41.
- [ 43] Schuder M, Roeder M, Brandl R, Mathies D. Interacting effects of elevated CO<sub>2</sub>, nutrient availability and plant species on a generalist invertebrate herbivore. *Global Change Biology*, 2007, 13(5): 1005-1015.
- [ 44] Veteli T O, Mattson W J, Niemel P, Jukunen-Tiitto R, Kellomaki S, Kuokkanen K, Lavola A. Do elevated temperature and CO<sub>2</sub> generally have counteracting effects on phenolic phytochemistry of boreal trees?. *Journal of Chemical Ecology*, 2007, 33(2): 287-296.

#### 参考文献:

- [ 10] 郭兴启, 朱汉城, 吕士恩, 王智发, 陈瑞泰. 酶标记羊抗兔间接法检测烟草马铃薯 Y 病毒的研究. *中国烟草学报*, 1998, 4(2): 38-42
- [ 11] 周本国, 高正良, 刘小平. 安徽省烟草脉斑病 (PVY) 的发生趋势及防治措施. *安徽农学通报*, 1998, 4(1): 34-35
- [ 12] 秦艳红, 孟颀光, 曹丽华. 河南烟草马铃薯 Y 病毒体外特性及其与 CMV, TMV 的相互作用研究. *河南农业大学学报*, 2005, 39(1): 20-21, 45
- [ 15] 夏平. 马铃薯植株感染 Y 病毒后生理指标变化与抗病性的关系. *中国马铃薯*, 2007, 21(3): 129-133
- [ 19] 裯金彩, 周桂, 袁爱群. 植物组织中糖类含量的微波测定技术. *实验技术与管理*, 2005, 6(22): 26-28