

绿盲蝽危害对棉花防御性酶活性及丙二醛含量的诱导

谭永安, 柏立新, 肖留斌, 魏书艳, 赵洪霞

(江苏省农业科学院植物保护研究所, 江苏 南京 210014)

摘要:以2种转基因棉品种国抗22、sGK321及其亲本泗棉3号、石远321为材料,研究受绿盲蝽危害胁迫后,其叶片防御性酶活性及丙二醛含量等生理指标的动态。结果表明:接种绿盲蝽前后,2种转基因棉花品种叶片防御性酶活性及丙二醛含量与其亲本棉花相比差异均不显著,说明外源基因的导入对棉花各项生理指标的变化无影响。同一棉花品种在绿盲蝽不同刺吸诱导的时间中,叶片防御性酶活性及丙二醛含量差异均达到极显著水平;在品种和接虫时间互作效应中,SOD、MDA、PAL活性或含量差异达显著或极显著水平,说明品种与接虫时间在这几个指标水平上存在真实的交互作用,而其余生理指标的差异不显著。

关键词:棉花;绿盲蝽;危害;防御性酶;丙二醛

中图分类号:S435.622 **文献标识码:**A

文章编号:1002-7807(2010)05-0479-07

Herbivore Stress by *Lygus lucorum* Inducing Protective Enzyme Activity and MDA Content on Different Cotton Varieties

TAN Yong-an, BAI Li-xin, XIAO Liu-bin, WEI Shu-yan, ZHAO Hong-xia

(Institute of Plant Protection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: The dynamics of the activities of protective enzymes and MDA content in two kinds of genetically modified (GM) cotton varieties and their non-GM parents after being piercing-sucked by *Lygus lucorum* were studied. The results showed that: before and after the vaccination of *Lygus lucorum*, there were no significant difference on the activities of protective enzymes and MDA content between two kinds of GM cotton varieties and their non-GM parents, so it has no effect on physiological indices when exogenous genes were introduced into cotton. Throughout the period of *Lygus lucorum*'s attacking, there was very significant difference in the activities of protective enzymes and MDA content to the same cotton variety; the three indicators, SOD, MDA and PAL activities or content, showed significant or very significant differences in the interaction effect between variety and bug accepting time, and the rest of the interaction was not significant.

Key words: cotton; *Lygus lucorum*; herbivore stress; protective enzymes; malondialdehyde

绿盲蝽 (*Lygus lucorum*) 是棉花的主要害虫之一,多聚集在棉花的嫩头、生长点或幼嫩果等部位上为害。当棉花蕾期受害时,被害蕾出现黑色小斑点,2~3天后全变为灰黑色,干枯、脱落,严重影响棉花生产。绿盲蝽不同于蚜虫、粉虱等汁液取食者 (vascular feeder),它主要取食植物细胞的细胞质和细胞核,属细胞取食者 (mesophyll feeder)。取食时,先将口针插入植物细胞内或细胞间,然后通过口针的剧烈活动撕碎植物细胞,

同时分泌唾液,将要取食的食物变成泥浆状,再进行吸食^[1]。

据报道,寄主植物在受害虫危害后,植物体内活性氧代谢系统的平衡受到影响,体内脂膜过氧化及膜脂脱脂作用启动,从而破坏膜结构^[2]。超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶 (peroxidase, POD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT) 是3种抗氧化酶,可协同作用以清除活性氧对作物细胞的危害。苯丙氨酸解氨酶 (pheny-

收稿日期:2010-03-19 作者简介:谭永安(1982-),男,硕士, kellytan001@163.com

基金项目:国家“十一”五重大科技支撑计划(2006BAD08A07);现代农业产业技术体系建设专项资金;国家农业行业专项(200803011-7)

lalanine ammonia-lyase, PAL) 是苯丙烷代谢途径中的反应酶,也是这一途径的关键酶和限速酶,在植物形成抗虫次生物质如多酚类、黄酮类、异黄酮和木质素等过程中起重要作用,而这些次生物质的含量与 PAL 的活性密切相关,因此被认为是植物的防御性酶^[3]。丙二醛(malondialdehyde, MDA)是植物细胞膜发生膜脂过氧化的重要指标物质之一,能与细胞内的各种成分发生反应,引起酶和膜结构的严重损伤,可用来表示细胞膜脂过氧化程度和植物抗逆境反应的强弱^[4]。脂氧合酶(Lipoxygenase, LOX)是一种含血红素铁或锰的加氧酶,能和茉莉酸(茉莉酸甲酯)等构成植物抗性系统的信号分子,诱导抗性蛋白合成及一系列抗胁迫反应,脂氧合酶途径在植物抗胁迫反应的抗性机制中非常重要。

随着转 Bt 基因棉在我国大面积、高比例种植,棉铃虫等鳞翅目靶标害虫得到了有效控制,但生态位的空缺使绿盲蝽等害虫的发生和危害日趋严重。迄今为止,对绿盲蝽的研究还主要侧重于不同作物上绿盲蝽的种群动态及生物学等方面^[5-6],而关于绿盲蝽危害胁迫后棉花自身生理生化指标变化的报道几近空白。因此,本试验针对转基因棉不同品种及其亲本受绿盲蝽危害前后体内防御性酶活性及丙二醛含量的变化进行比较研究,以此探讨棉花植株在绿盲蝽危害胁迫下所产生的生理变化,为棉花抗虫育种以及绿盲蝽的综合治理提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 供试棉花品种。国抗 22 (转 *Cry1AC* 基因棉, GK22, 中国农科院生物技术研究所以培育), 其亲本泗棉 3 号(SM3, 江苏省泗阳棉花原种场培育); sGK321 (转 *Cry1AC*+*CpTI* 双价基因棉, 中国农业科学院生物技术研究所以培育), 其亲本石远 321(SY321, 中国科学院遗传所培育)。

1.1.2 供试虫源。试验用绿盲蝽采自江苏省大丰市及东台市蚕豆田, 在新苗 AHX-250BS-III 型人工气候箱中 (27±0.5)℃、相对湿度 (RH):(70±5)%、光暗比(L:D)=14:10 条件下, 用四季豆连续饲养多代, 得到虫龄基本一致的 3~4 龄若虫

供试。

1.1.3 试验仪器。Thermo Multiskan MK3 酶标仪(郑州博美生物技术有限公司), UnicUV2000 型分光光度计(北京赛百奥科技有限公司), 湘仪 TGL-16M 高速台式离心机(长沙湘仪离心机有限公司), 水浴锅。

1.2 方法

1.2.1 试验设计。将已催芽的 4 个棉花品种的种子放入塑料盆钵中, 每盆 8 粒, 罩笼培养, 以阻止蚜虫和其它害虫对其危害, 给予充足的水肥管理, 50 d 后(棉花为现蕾期, 每株棉花有 8~10 张叶片), 除去下部衰老叶片, 分别接入 20 头绿盲蝽若虫, 以不接虫为对照, 分别于接虫前及接虫后 6、12、24、48、72、96 h 取不同品种的上部嫩叶供测定所用。

1.2.2 测定方法。以上述供试嫩叶为材料, 其中超氧化物歧化酶活性测定采用氮蓝四唑比色法^[7], 酶活性单位为 U·mg⁻¹; 过氧化物酶活性测定采用愈创木酚法^[8], 酶活性单位为 U·g⁻¹·min⁻¹; 过氧化氢酶活性测定采用紫外吸收法^[8], 酶活性单位为 U·g⁻¹; 苯丙氨酸解氨酶活性测定参照王学奎的方法^[8], 酶活性单位为 U·g⁻¹·h⁻¹; 脂氧合酶活性测定参照宋凤鸣的方法^[9], 酶活性单位为 ΔOD₂₃₄·mg⁻¹·min⁻¹; 丙二醛含量测定采用硫代巴比妥酸法^[8], 含量单位为 μmol·g⁻¹。以上测定每品种重复 3 次。

1.2.3 数据统计分析。采用软件 Microsoft Excel 2003 和 DPS V8.01 数据处理软件, 对测定的棉花不同品种和不同接虫时间处理的棉叶防御性酶活性及丙二醛含量进行方差分析, 并采用 LSD 测验法进行多重比较, 同时以接虫前的测定指标为初始数据计算接虫后的增减率。

2 结果与分析

2.1 绿盲蝽危害胁迫对棉叶 SOD、POD、CAT 活性的影响

植株体内抗氧化酶活性的高低反映其抗逆能力的强弱。从表 1 可以看出, 接种绿盲蝽后, 供试的 4 个品种棉叶的 SOD 活性均表现升高、降低、升高而后再下降的趋势。国抗 22 和泗棉 3 号叶片的 SOD 值在绿盲蝽刺吸 48 h 后达到峰值,

sGK321和石远 321 叶片的 SOD 值在绿盲蝽危害 12 h 后达到峰值,48 h 后 SOD 活性均有所下降,但 96 h 时活性值仍然高于接虫前。这表明,对于参试棉花品种,接虫胁迫时间均可影响棉株体内 SOD 活性的高低。方差分析结果表明,品种因素对 SOD 活性无明显影响,转基因棉花国抗 22 和

sGK321 与其对应亲本品种 SOD 活性差异不显著 ($P = 0.4159$),而接虫胁迫时间因素对 SOD 活性影响的差异可达极显著水平 ($P = 0.001$)(表 2)。这说明,棉株受绿盲蝽危害后,SOD 活性提高,而胁迫时间的长短影响着 SOD 活性的高低。

表 1 绿盲蝽危害胁迫后不同品种叶片 SOD 活性的变化

Table 1 Change of SOD activity of cotton leaves of different varieties sucked by *Lygus lucorum*

胁迫时间/h	SM3		GK22		SY321		sGK321	
	酶活/(U·mg ⁻¹)	增减率/%	酶活/(U·mg ⁻¹)	增减率/%	酶活/(U·mg ⁻¹)	增减率/%	酶活/(U·mg ⁻¹)	增减率/%
0	491.01±25.37 eD	—	523.02±4.26 dC	—	514.43±12.81 dD	—	525.48±1.23 eC	—
6	544.39±6.47 dC	10.87	565.66±7.44 bcAB	8.15	584.80±6.47 abAB	13.68	551.83±3.68 cdBC	5.01
12	586.92±1.84 abAB	19.53	582.67±1.06 abAB	11.40	598.62±1.06 aA	16.37	594.367±6.47 aA	13.11
24	566.72±4.63 bcdABC	15.42	572.04±4.47 bcAB	9.37	566.72±5.92 bcABC	10.16	568.85±2.13 bcAB	8.25
48	594.36±2.81 aA	21.05	597.55±2.13 aAB	14.25	586.92±1.84 abAB	14.09	579.48±6.47 abAB	10.28
72	568.85±4.87 bcABC	15.85	566.72±1.06 bcAB	8.36	556.09±6.47 cBC	8.10	548.64±1.84 cdeBC	4.41
96	558.21±6.38 cdBC	13.69	557.15±5.92 cB	6.53	545.45±5.52 cCD	6.03	535.89±8.03 deC	1.98

注:数据为平均值±标准误;标注不同大写或小写字母的同列数字间差异极显著或显著(LSD);下同。

表 2 5 种酶活性和 MDA 含量二因素方差分析表(固定模型)

Table 2 Two-way ANOVA table of 5 kinds enzyme activities and MDA content (fixed model)

测定指标	SOD	POD	CAT	LOX	PAL	MDA
变异来源	F	F	F	F	F	F
品种	0.965	2.173	4.517	5.046	22.678	20.184
接虫时间	45.521*	24.956**	70.219	1769.400**	747.485**	96.737**
品种×接虫时间	1.985*	1.058	0.687	0.719	2.806*	3.193*

注:* 或 ** 表示差异达到显著或极显著水平。

POD 活性测定结果(表 3)表明:绿盲蝽刺吸危害后,供试的 4 个品种叶片 POD 活性变化趋势一致,均是先升高而后降低,在 12 h 达到最高值。以石远 321 和 sGK321 为例,接虫 12 h 后,SOD 活性较绿盲蝽刺吸危害前分别上升了 164.33%、129.46%。方差分析表明,棉花品种对

POD 活性无明显影响,转基因棉花品种国抗 22 和 sGK321 与其对应亲本在接种绿盲蝽前后 POD 差异不显著 ($P = 0.1013$),而接虫胁迫时间因素对 POD 活性影响的差异可达极显著水平 ($P = 0.001$)(表 2)。

表 3 绿盲蝽危害胁迫后不同品种棉叶 POD 活性的变化

Table 3 Change of POD activity of cotton leaves of different varieties sucked by *Lygus lucorum*

胁迫时间/h	SM3		GK22		SY321		sGK321	
	酶活/(U·g ⁻¹ ·min ⁻¹)	增减率/%	酶活/(U·g ⁻¹ ·min ⁻¹)	增减率/%	酶活/(U·g ⁻¹ ·min ⁻¹)	增减率/%	酶活/(U·g ⁻¹ ·min ⁻¹)	增减率/%
0	1266.67±106.40 cB	—	1291.67±91.67 dC	—	1191.67±116.67 dC	—	1158.33±41.67 dC	—
6	1700.00±137.69 abcAB	34.21	1650.00±359.11 bcdBC	27.74	1200.00±94.69 dC	0.70	1966.67±468.67 bcAB	69.77
12	2225.00±114.56 aA	75.66	2833.33±331.14 aA	119.35	3150.00±522.02 aA	164.33	2658.33±274.75 aA	129.46
24	1866.67±122.76 abAB	47.37	2183.33±93.91 bAB	69.03	2250.00±25.00 bB	88.81	2158.33±183.90 abAB	86.31
48	1691.67±93.91 abcAB	33.55	1891.67±108.33 bcBC	46.45	1983.33±33.33 bcB	66.43	1866.67±158.33 bcBC	61.14
72	1408.33±155.68 bcB	11.18	1608.33±120.19 cdBC	24.52	1775.00±14.43 bcBC	48.95	1700.00±87.80 bcdBC	46.75
96	1266.67±121.05 cB	0.00	1366.67±122.76 cdC	5.81	1558.33±210.32 cdBC	30.77	1441.67±50.69 cdBC	24.45

CAT 活性测定结果(表 4)表明:绿盲蝽刺吸危害后,供试的 4 个品种棉叶 CAT 活性波动趋势一致。接虫 6 h 时达到峰值,其中以泗棉 3 号最高,达 $9.51 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$,sGK321 最低,为 $7.51 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$,随后下降。接虫 24 h 后 CAT 活性值低于接虫前。随着接虫时间的推移,CAT 活性虽有所上升,但一直低于接虫前。另外,受绿盲蝽危害胁迫后 6~12

h,与其亲本相比,2 种转基因棉花品种叶片 CAT 活性增幅较高。方差分析表明,棉花品种对 CAT 活性无明显影响,在接种绿盲蝽前后,国抗 22 和 sGK321 叶片 CAT 活性均小于对应的亲本,但差异未达显著水平($P=0.1066$);接虫胁迫时间因素对 CAT 活性影响的差异可达极显著水平($P=0.001$)(表 2)。

表 4 绿盲蝽危害胁迫后不同品种棉叶 CAT 活性的变化

Table 4 Change of CAT activity on cotton leaves of different varieties sucked by *Lygus lucorum*

胁迫时 间/h	SM3		GK22		SY321		sGK321	
	酶活/($\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$)	增减率/%	酶活/($\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$)	增减率/%	酶活/($\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$)	增减率/%	酶活/($\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$)	增减率/%
0	4.03 ± 2.28 cBC	—	2.36 ± 0.92 cBC	—	3.92 ± 1.32 cBC	—	2.55 ± 0.69 bcBC	—
6	9.51 ± 0.21 aA	135.98	8.18 ± 0.48 aA	246.61	8.88 ± 0.07 aA	126.53	7.51 ± 0.32 aA	194.51
12	5.84 ± 0.19 bB	44.91	4.19 ± 0.06 bB	77.54	5.99 ± 0.53 bB	52.81	4.08 ± 0.03 bB	60.00
24	1.11 ± 0.07 dD	-72.46	1.08 ± 0.03 cC	-54.24	1.94 ± 0.35 dC	-50.51	1.87 ± 0.42 cBC	-26.67
48	2.78 ± 0.26 cdCD	-31.02	2.28 ± 0.39 cBC	-3.39	2.51 ± 0.19 cdC	-35.97	2.04 ± 0.22 cBC	-20.00
72	2.28 ± 0.14 dCD	-43.42	1.94 ± 0.21 cC	-17.80	1.94 ± 0.22 dC	-50.51	1.71 ± 0.11 cC	-32.94
96	2.51 ± 0.20 cdCD	-37.72	2.17 ± 0.18 cBC	-8.05	2.11 ± 0.12 dC	-46.17	1.94 ± 0.12 cBC	-23.92

2.2 绿盲蝽危害胁迫对 PAL 活性的影响

PAL 是植物次生代谢过程的关键酶之一,活性高低与植物的抗虫性有很大关系。PAL 活性测定结果见表 5;接种绿盲蝽后,供试的 4 个品种棉叶 PAL 活性变化趋势基本一致,均表现为先上升后下降的动态规律,在接虫 48 h 后出现峰值;96 h 时泗棉 3 号、国抗 22、石远 321 和 sGK321 棉叶

PAL 活性仍高于接虫前,增幅分别达 58.69%、56.80%、67.54% 和 59.38%。在绿盲蝽危害胁迫的 96 h 内,国抗 22 和 sGK321 的 PAL 活性均低于其对应的亲本受体。方差分析表明,棉花品种对 PAL 活性无明显影响($P=0.059$);接虫胁迫时间因素对 PAL 活性的影响可达极显著水平($P=0.001$)(表 2)。

表 5 绿盲蝽危害胁迫后不同品种棉叶 PAL 活性的变化

Table 5 Change of PAL activity on cotton leaves of different varieties sucked by *Lygus lucorum*

胁迫时 间/h	SM3		GK22		SY321		sGK321	
	酶活/($\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	增减率/%	酶活/($\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	增减率/%	酶活/($\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	增减率/%	酶活/($\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	增减率/%
0	13.29 ± 0.22 fF	—	13.24 ± 0.20 fF	—	12.66 ± 0.07 fE	—	12.68 ± 0.19 fE	—
6	16.79 ± 0.04 eE	26.34	15.61 ± 0.32 eE	17.90	17.44 ± 0.06 eD	38.41	16.45 ± 0.14 eD	29.73
12	19.69 ± 0.08 dD	48.16	17.71 ± 0.35 dD	33.76	20.10 ± 0.23 dC	59.52	18.48 ± 0.65 dCD	45.74
24	22.01 ± 0.60 cCD	65.61	19.14 ± 0.20 dCD	44.56	24.49 ± 0.32 cB	94.37	20.25 ± 0.72 cC	59.70
48	37.75 ± 0.58 aA	184.05	34.95 ± 0.90 aA	163.97	37.65 ± 0.68 aA	198.81	34.36 ± 1.00 aA	170.98
72	26.34 ± 0.63 bB	98.19	25.10 ± 0.29 bB	89.58	26.11 ± 0.93 bB	107.22	24.07 ± 1.16 bB	89.83
96	21.09 ± 0.69 cdCD	58.69	20.76 ± 0.48 cC	56.80	21.11 ± 0.40 dC	67.54	20.21 ± 0.00 cC	59.38

2.3 绿盲蝽危害胁迫对 LOX 活性的影响

在植物抗胁迫的响应中,脂氧合酶途径在抗性机制中非常重要。LOX 活性测定结果(表 6)表明:接种绿盲蝽后,供试的 4 个品种棉叶 LOX 活性均明显升高,并且变化趋势一致。接虫 96 h 后测定 LOX 活性仍呈上升趋势,泗棉 3 号、国抗 22、石远 321 和 sGK321 棉叶 LOX 活性较接虫前

增幅分别达 254.17%、247.83%、262.50% 和 256.52%。方差分析结果表明,品种对棉花 LOX 活性无明显影响,2 种转基因棉花 LOX 活性均低于其对应的亲本受体,但差异未达显著水平($P=0.064$);接虫胁迫时间因素对 LOX 活性影响的差异可达极显著水平($P=0.001$)(表 2)。

表 6 绿盲蝽危害胁迫后不同品种棉叶 LOX 活性的变化

Table 6 Change of LOX activity on cotton leaves of different varieties of cotton sucked by *Lygus lucorum*

胁迫时间/h	SM3		GK22		SY321		sGK321	
	酶活 / (ΔOD_{234} · mg^{-1} · min^{-1})	增减率 / %	酶活 / (ΔOD_{234} · mg^{-1} · min^{-1})	增减率 / %	酶活 / (ΔOD_{234} · mg^{-1} · min^{-1})	增减率 / %	酶活 / (ΔOD_{234} · mg^{-1} · min^{-1})	增减率 / %
0	0.24±0.007 gG	—	0.23±0.006 gF	—	0.24±0.003 gF	—	0.23±0.003 gF	—
6	0.29±0.003 fF	20.83	0.28±0.003 fE	21.74	0.28±0.003 fF	16.67	0.26±0.003 fF	13.04
12	0.38±0.003 eE	58.33	0.36±0.018 eD	56.52	0.37±0.019 eE	54.17	0.36±0.006 eE	56.52
24	0.48±0.003 dD	100.00	0.46±0.017 dC	100.00	0.47±0.019 dD	95.83	0.46±0.006 dD	100.00
48	0.67±0.003 cC	179.17	0.66±0.009 cB	186.96	0.67±0.003 cC	179.17	0.66±0.007 cC	186.96
72	0.77±0.003 bB	220.83	0.77±0.003 bA	234.78	0.77±0.009 bB	220.83	0.76±0.003 bB	230.43
96	0.85±0.015 aA	254.17	0.80±0.035 aA	247.83	0.87±0.009 aA	262.50	0.82±0.018 aA	256.52

2.4 绿盲蝽危害胁迫对 MDA 含量的影响

测定结果表明:接种绿盲蝽后,供试的 4 个品种棉叶 MDA 含量变化趋势一致,随着绿盲蝽危害胁迫时间的延长,MDA 含量一直表现升高趋势(表 7)。96 h 时,国抗 22、泗棉 3 号、sGK321、石远 321 棉叶 MDA 含量分别较接虫前上升了 59.44%、50.89%、73.20% 和 70.94。在绿盲蝽刺吸

胁迫的 96 h 内,国抗 22 和 sGK321 的 MDA 含量始终高于它们对应的亲本受体。方差分析表明,品种因素对 MDA 含量无影响,接虫前后转基因抗虫棉 2 个品种与其受体品种叶片中 MDA 含量差异不显著 ($P = 0.0896$),而接虫胁迫时间因素对 MDA 含量的影响可达极显著水平 ($P = 0.001$) (表 2)。

表 7 绿盲蝽危害胁迫后不同品种棉叶 MDA 含量的变化

Table 7 Change of MDA content on cotton leaves of different varieties sucked by *Lygus lucorum*

胁迫时间/h	SM3		GK22		SY321		sGK321	
	酶活 / ($\mu mol \cdot g^{-1}$)	增减率 / %	酶活 / ($\mu mol \cdot g^{-1}$)	增减率 / %	酶活 / ($\mu mol \cdot g^{-1}$)	增减率 / %	酶活 / ($\mu mol \cdot g^{-1}$)	增减率 / %
0	3.36±0.12 eD	—	3.55±0.06 dE	—	3.20±0.05 cB	—	3.47±0.17 cB	—
6	4.19±0.05 dC	24.70	4.29±0.20 cD	20.85	3.57±0.05 cB	11.56	3.56±0.13 cB	2.59
12	4.38±0.25 cdBC	30.36	4.42±0.03 cCD	24.51	4.88±0.11 bA	52.50	5.45±0.02 bA	57.06
24	4.52±0.09 bcdABC	34.52	4.92±0.32 bBC	38.59	5.08±0.42 abA	58.75	5.59±0.11 abA	61.10
48	4.73±0.27 abcABC	40.77	5.35±0.22 abAB	50.70	5.14±0.03 abA	60.63	5.68±0.07 abA	63.69
72	4.90±0.14 abAB	45.83	5.45±0.17 aAB	53.52	5.34±0.09 aA	66.88	5.78±0.09 abA	66.57
96	5.07±0.12 aA	50.89	5.66±0.16 aA	59.44	5.47±0.16 aA	70.94	6.01±0.14 aA	73.20

2.5 品种、接虫时间二因素对所测指标影响程度的总体趋势分析

综上所述,叶片 5 种酶的活性及丙二醛的含量与品种、接虫时间这 2 个因素密切相关,同时二者互作也存在差异。因此,对上述各指标的测定数据采取二因素方差分析,明确各因素对测定结果的贡献大小及二者互作的程度。由表 2 可见,5 种酶活性及丙二醛含量的品种效应均不显著,说明品种不是棉花生理指标变化的主要影响因素;不同接虫时间处理导致 5 种酶活性及丙二醛含量的差异均达到极显著水平,说明接虫时间是棉花生理指标变化的主要影响因素;品种和接

虫时间互作效应中,只有 SOD、MDA、PAL 这 3 种指标差异达显著或极显著水平,说明品种与接虫时间对这 3 个指标存在交互作用,而其余的交互作用不显著。因此,SOD、MDA、PAL 活性(含量)可作为棉花受绿盲蝽危害程度的主要生理指标。

3 讨论与结论

Fridovich 自由基学说^[10]认为,逆境条件下植物体同时存在膜保护系统,能够清除体内多余的自由基,其活性氧自由基代谢是一个动态的变化过程,这一保护酶系统实际上是一个抗氧化系

统,它由许多酶和还原型物质组成。其中 SOD、POD、CAT 是主要的抗氧化酶。试验证明,植物受害虫危害胁迫后 SOD、POD 和 CAT 活性上升^[1]。本研究表明,4 个棉花品种在绿盲蝽危害 12 h 时,叶片的 SOD、POD 和 CAT 活性迅速上升,这可能是由于植物体内对逆境的一种代谢性调节作用。但随着绿盲蝽危害胁迫的持续,活性氧的产生和抗氧化系统之间的平衡可能被打破,从而损伤膜结构并抑制酶的活性,CAT 酶活性甚至有一定幅度的降低。因此,在绿盲蝽危害期间,SOD、POD 和 CAT 酶活性处于一个动态变化的过程。

植物 PAL 活性的调控可受多种因素的影响,如各种类型的低温、机械损伤、光照、化学物质等。各种调控因子是在转录水平上对 PAL 进行调控,此酶活性的增加通常是调控因子刺激 PAL 基因的表达,使植物中出现大量 PAL 转录产物的积累^[2]。本试验研究结果表明:绿盲蝽危害胁迫后,4 个品种棉叶 PAL 活性迅速上升,并在 48 h 达到峰值。推测其起初活性增强,可能与产生大量木质素有关,产生的木质素沉积在细胞壁周围,细胞木质化加强,绿盲蝽的刺吸行为受到限制;而次生代谢物的产生消耗了一部分 PAL 酶,同时又激活和产生了一些 PAL 酶,但这时消耗的 PAL 酶多于激活和产生的 PAL 酶,所以一段时间后 PAL 酶活性下降。

脂氧合酶是十八烷酸途径中的关键酶,在伤信号的识别与转导中起重要作用。在 LOX 合成途径存在缺陷的植株中,昆虫的取食不能引起防御相关物质的积累,从而降低植物对害虫的抗性;此外,LOX 信号途径诱导的防御反应还影响寄主上害虫的群体组成^[3]。以往的研究表明,蚜虫的刺吸可以增强 LOX 的转录表达水平^[4]。在本研究中,接种绿盲蝽后,4 个品种 LOX 活性变化趋势一致,96 h 时仍呈上升趋势。这可能和绿盲蝽刺吸危害棉花造成植株膜脂过氧化,使 LOX 活性逐渐升高有关。

昆虫的入侵不可避免地引起植物的机械损伤,导致细胞膜的破坏,当 MDA 含量大量增加时,表明植物体内细胞受到较为严重的破坏。前人的研究表明,转基因抗虫棉 MDA 含量均

高于其相应的受体品种^[5]。本试验研究同样也发现,在整个绿盲蝽刺吸胁迫期间,转基因棉品种国抗 22 和 sGK321 叶片的 MDA 含量均高于对应的受体品种,这说明 2 个品种比其亲本受到更为严重的损害;同时绿盲蝽危害胁迫后,供试的 4 个棉花品种叶内的 MDA 含量都有所增加,说明细胞膜系统不同程度地受到损伤。

植物在与害虫长期的共同进化过程中形成了一整套复杂的防御系统^[2]。本研究发现,绿盲蝽的刺吸胁迫引起了 SOD、POD、CAT、PAL 和 LOX 等抗逆防御反应中的一些关键酶的活性及 MDA 含量一系列的变化,这为探明棉花抗绿盲蝽的分子机理提供了一定的理论基础。但是要彻底阐明其中的机制还有待于对其互作机制的深入研究和抗虫基因的发掘。

参考文献:

- [1] LABANDEIRA C C, Phillips T L. Insect fluid-feeding on upper Pennsylvanian tree fern (Palaeodictyoptera, Marattiales) and the early history of the piercing-and-sucking functional feeding group[J]. *Annals of the Entomological Society of America*, 1996, 89: 157-183.
- [2] 刘裕强,江玲,孙立宏,等. 褐飞虱刺吸诱导的水稻一些防御性酶活性的变化[J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2005, 31(6): 643-650.
LIU Yu-qing, Jiang Ling, Sun Li-hong, et al. Changes in some defensive enzyme activity induced by the piercing-sucking of brown planthopper in rice[J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2005, 31(6): 643-650.
- [3] 张宽朝,金青,蔡永萍,等. 苯丙氨酸解氨酶与其在重要次生代谢产物调控中的作用研究进展[J]. *中国农学通报*, 2008, 24(12): 59-62.
ZHANG Kuan-chao, Jin Qing, Cai Yong-ping, et al. Research progress of PAL and its control function of important secondary metabolites[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2008, 24(12): 59-62.
- [4] BAILLY C, Benamar A, Corbineau F, et al. Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seed as related to deterioration during accelerated aging[J]. *Plant Physiol*, 1996, 97: 104-110.
- [5] 门兴元,于毅,张安盛,等. 不同温度下绿盲蝽实验种群寿命表研究[J]. *昆虫学报*, 2008, 51(11): 1216-1219.
MEN Xing-yuan, Yu Yi, Zhang An-sheng, et al. Life table of the

- laboratory population of *Lygus lucorum* Meyer-Dür(Heteroptera: Miridae) at different temperatures[J]. Acta Entomologica Sinica, 2008, 51(11): 1216-1219.
- [6] 陆宴辉, 仝亚娟, 吴孔明. 绿盲蝽触角感器的扫描电镜观察[J]. 昆虫学报, 2007, 50(8): 863-867.
- LU Yan-hui, Tong Ya-juan, Wu Kong-ming. Antennal sensilla of the green plant bug, *Lygus lucorum* Meyer-Dür (Heteroptera: Miridae) observed with scanning electron microscopy[J]. Acta Entomologica Sinica, 2007, 50(8): 863-867.
- [7] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 163-165.
- ZOU Qi. Plant physiology test guide[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 163-165.
- [8] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- WANG Xue-kui. Principles of plant physiological and biochemical tests and techniques[M]. Beijing: Higher Education Press, 2006.
- [9] 宋凤鸣, 葛秀春, 郑重. 活性氧及膜脂过氧化与棉花对枯萎病抗性的关系[J]. 植物病理学报, 2001, 31(2): 110-116.
- SONG Feng-ming, Ge Xiu-chun, Zheng Zhong. The roles of active oxygen species and lipid peroxidation in the resistance of cotton seedlings to *Fusarium* wilt[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2001, 31(2): 110-116.
- [10] FRIDOVICH I. Free radical in biology Vol 1[M]. New York: Academic Press, 1976.
- [11] 黄伟, 贾志宽, 韩清芳. 蚜虫(*Aphis medicaginis* Koch)危害胁迫对不同苜蓿品种体内丙二醛含量及防御性酶活性的影响[J]. 生态学报, 2007, 27(6): 2177-2183.
- HUANG Wei, Jia Zhi-kuan, Han Qing-fang. Effect of herbivore stress by *Aphis medicaginis* Koch on the contents of MDA and activities of protective enzymes in different alfalfa varieties[J]. Acta Ecologica Sinica, 2007, 27(6): 2177-2183.
- [12] 程水源, 陈昆松, 刘卫红, 等. 植物苯丙氨酸解氨酶基因的表达调控与研究展望[J]. 果树学报, 2003, 20(5): 351-357.
- CHENG Shui-yuan, Chen Kun-song, Liu Wei-hong, et al. Regulation and expression of the PAL in plant and its outlook[J]. Journal of Fruit Science, 2003, 20(5): 351-357.
- [13] KESSLER A, Halitschke R, Baldwin L T. Silencing the jasmonate cascade induced plant defenses and insect populations[J]. Science, 2004, 305: 665-668.
- [14] FIDANTSEF A L, Stout M J, Thaler J S, et al. Signal interactions in pathogen and insect attack: expression of lipoxygenase, proteinase inhibitor II and pathogenesis-related protein P4 in the tomato, *Lycopersicon esculentura*[J]. Physiol Mol Plant Pathol, 1999, 54: 97-114.
- [15] 易永华, 邢宏宜, 赵俊兴. 抗虫基因导入对棉花形态、产量性状及生理特性的影响[J]. 棉花学报, 2009, 21(2): 159-161.
- YI Yong-hua, Xing Hong-yi, Zhao Jun-xing. Effect of insect-resistant gene on cotton economic characters and physiological characteristics[J]. Cotton Science, 2009, 21(2): 159-161. ●