绿盲蝽取食诱导后棉花叶片内防御酶活力与基因表达量的变化*

毛 红** 杨宇晖 郭晨茜 张青文 刘小侠***

(中国农业大学农学与生物技术学院 北京 100193)

摘 要 本研究以抗性棉皖棉小黄花为材料,室内条件下测定绿盲蝽 *Apolygus lucorum* (Mayer-Dür)取食、机械损伤、外源水杨酸和外源茉莉酸甲酯诱导处理后棉叶中苯丙氨酸解氨酶基因(*pal*)、过氧化物酶基因(*pod*)和过氧化氢酶基因(*cat*)的相对表达量,并以健康植株为对照。结果表明:绿盲蝽取食诱导与外源信号物质诱导相似,苯丙氨酸解氨酶(PAL)和过氧化物酶(POD)活性升高,过氧化氢酶(CAT)活性降低;PAL、POD 和 CAT 活力变化与本文中选取的 *pal*、*pod* 和 *cat* 基因表达量变化趋势存在差异。本研究说明,绿盲蝽取食既激活了水杨酸介导的防御信号转导途径,也激活了茉莉酸介导的信号转导途径;PAL、POD 和 CAT 3 种酶活力不完全由本文中选取的 *pal*、*pod* 和 *cat* 3 个基因所调控。

关键词 绿盲蝽取食,外源水杨酸,外源茉莉酸甲酯,防御酶活性,基因表达

Changes in defensive enzyme activity and defensive enzyme gene expression in cotton leaves after feeding by *Apolygus lucorum*

MAO Hong** YANG Yu-Hui GUO Chen-Xi ZHANG Qing-Wen LIU Xiao-Xia***

(College of Agriculture and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract Active changes in some defensive enzymes (phenylalanine aminolyase, peroxidase and catalase), and the relative expression of the corresponding defensive genes (the phenylalanine aminolyase gene, peroxidase gene and catalase gene), were evaluated in leaves of the resistant cotton variety Wanmian xiaohuanghua in response to feeding by *Apolygus lucorum* (Mayer-Dür) and the application of exogenous salicylic acid and methyl jasmonate, under laboratory conditions. The results indicate that PAL and POD activity increased and CAT activity were decreased by *A. lucorum* feeding activity and the two chemical treatments. There were differences between changes in PAL, POD and CAT activity and those in *pal*, *pod* and *cat* gene expression. These results suggest that *A. lucorum* feeding activates the salicylic and jasmonate acid signaling pathways, and that PAL, POD and CAT activity are not completely regulated by the *pal*, *pod* and *cat* genes.

Key words *Apolygus lucorum* feeding, exogenous salicylic acid, exogenous methyl jasmonate, defense enzyme activity, gene expression

绿盲蝽 *Apolygus lucorum* (Mayer-Dür)属于多食性害虫,寄主广泛,几乎可为害所有农作物及苗木(张秀梅和刘小京,2005)。绿盲蝽以前一直是我国农业生产的次要害虫,随着近年农业产业结构的调整,棉田外的绿盲蝽虫源基数进一步扩大(陆宴辉等,2010)。我国转 Bt 抗虫棉大规模商业化种植后棉田化学防治模式的改变,也给绿盲蝽的种群增长提供了空间,导致绿盲蝽区域性种群剧增,现在我国许多地区已成为为害棉花、果树、蔬菜生产的重要害虫(Wu *et al.*, 2002; Men *et al.*, 2005;张秀梅等,2005)。目前我国对绿盲蝽的防治工作多集中于化学防治,而在花期防治

* 资助项目:公益性行业(农业)科研专项(201103012-3)。

**E-mail: maohong2008@163.com

***通讯作者,E-mail: liuxiaoxia611@cau.edu.cn

收稿日期:2012-02-24,接受日期:2012-04-20

极易造成落花落果,同时也易杀伤传粉昆虫,影响棉花的产量和质量。因此,从棉花抗虫性的角度寻找新的防治方法是目前绿盲蝽防治工作中亟待解决的问题。

植物在与植食性昆虫长期的协同进化过程中形成了一系列的抗虫性,昆虫为害后,造成其机械损伤,与害虫特异性激发子一起,诱导产生对昆虫有趋避、毒杀作用或阻碍昆虫消化和利用的化学物质,抵抗害虫进一步为害(Arimura *et al.*, 2005)。植物对害虫的应激防卫反应中,苯丙氨酸解氨酶(PAL)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)等防御蛋白都起着重要作用。植物在受到连续机械损伤以及激发因子的作用后,也可激发抗虫信号的传递,信号分子诱导相关酶和化合物的产生并引发一系列级联反应(Karban and Baldwin, 1997)。茉莉酸和水杨酸都是主要的信号分子,茉莉酸介导的信号传导途径即类十八烷途径是虫害和创伤诱导的主要途径,可在茉莉酸羧基转甲基酶的作用下生成茉莉酸甲酯(MeJA),MeJA 也是一种重要的信号分子(Seo *et al.*, 2001);水杨酸可能有苯丙氨酸合成,其可在羧基转甲基酶(SAMT)的作用下生成水杨酸甲酯(MeSA),MeSA 也是植物防御反应的诱导因子之一(Deboer and Dicke, 2004)。绿盲蝽取食为害对棉花中防御性酶活性影响的研究已有报道(谭永安等,2010;毛红等,2011),但防御酶活性变化与防御酶基因表达变化相关性的研究还未曾报道。因此,本试验研究了绿盲蝽取食后棉叶中 PAL、POD 和 CAT 3 种酶活性以及 *pal*、*pod* 和 *cat* 3 种防御酶基因表达的动态变化,并与外源信号物质诱导(喷施外源水杨酸和外源茉莉酸甲酯)后的变化作比较,以期探明绿盲蝽取食诱导激活的防御信号转导途径以及防御酶基因表达变化对防御酶活性变化的影响,为进一步探明绿盲蝽取食诱导棉花防御反应的机理和绿盲蝽的综合治理提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　供试昆虫　绿盲蝽由中国农业科学院植物保护研究所提供,利用四季豆人工饲养的方法(陆宴辉等,2008)在实验室繁殖并扩大种群,饲养繁殖 10 代以上后用于试验。饲养温度(25 ± 1)℃,光周期 L∶D = 14∶10,湿度 65% ±1%。

1.1.2　供试棉花　皖棉小黄花(高抗品种)由中国农业大学 IPM 实验室筛选提供。供试棉花均同期播种于花盆中(Φ = 20 cm),并置于温室防虫网中培养,待棉苗生长至 4 叶期时用于试验。

1.1.3　主要试剂　酶活测定所用试剂购买于全新拓达科技有限公司。EASY spin 植物 RNA 快速提取试剂盒购于北京艾德莱生物科技有限公司,反转录试剂盒(Omni script RT 反转录酶)购于德国 Qiagen 公司,TransTaq-T DNA 聚合酶,pEASY-T1 克隆载体、感受态购于北京全式金生物技术有限公司,胶回收试剂盒(Gel Extraction Kit)购于美国 Omega 公司,实时定量酶(ABI Power SYBR Green PCR Master Mix)购于美国 ABI 公司,其余常规试剂均为国产分析纯或进口分装试剂。

1.2　方法

1.2.1　棉花叶片诱导处理　绿盲蝽取食(HW)诱导处理方法参照毛红等(2011)的方法。外源水杨酸诱导处理(SA)用 0.5 mmol/L 的水杨酸溶液喷施棉花叶片,外源茉莉酸甲酯诱导处理(MeJA)用 0.1 mmol/L 的茉莉酸甲酯溶液喷施棉花叶片,对照(CK)为同期健康未受危害的棉苗。处理后 24、48、72 和 96 h 时分别取样(第 3 片真叶),取样后置于 -80℃冰箱保存,用于测定 PAL、POD 和 CAT 3 种防御酶活力和 *pal*、*pod* 和 *cat* 3 种防御酶基因表达量。每种处理均重复 3 次。

1.2.2　防御酶活力测定　苯丙氨酸解氨酶(PAL)和过氧化物酶(POD)活力的测定参照毛红等(2011)的方法。过氧化氢酶(CAT)活力的测定参照李玲(2009)的方法。称取 0.3 g 样品放入预冷的研钵中,加入 0.03 g PVP 和 1.5 mL 提取缓冲液(pH 7.5 0.1 mol/L 的磷酸缓冲液,内含 5 mmol/L DTT 和 5% PVP),放入适量石英砂研磨成匀浆,4℃ 12 000 r/min 离心 20 min,上清液为酶粗提取液。酶活性测定的反应体系为 2.9 mL 20 mmol/L H_2O_2 溶液和 0.1 mL 酶粗提取液。在 240 nm 处每隔 30 s 记录一次吸光值,计算 5 min 内 OD 值的变化。酶活性以每克鲜重每分钟增加 0.01 OD240 值为 1 个酶活单位。

1.2.3　防御酶基因片段的克隆

1.2.3.1　总 RNA 提取　使用 EASY spin 植物 RNA 快速提取试剂盒提取棉花叶片总 RNA,具体

步骤见 EASY spin 试剂盒使用说明,提取的 RNA 直接用于下步实验或保存于 -80℃冰箱中备用。

1.2.3.2 cDNA 合成 参照反转录试剂盒(Omni script RT 反转录酶)使用说明,制备逆反转录体系,瞬时离心混匀后 37℃温育 1 h。

1.2.3.3 引物设计 苯丙氨酸解氨酶(*pal*)基因引物的设计参照 Gene bank 登录号 M11939.1,上游引物 F:5′-GCATCACTCAGCACCTTC-3 ′,下游引物 R:5′-CTTCCCCCACATAAACCAG-3′。过氧化物酶(*pod*)基因引物的设计参照 Gene bank 登录号 L08199.1,上游引物 F:5′-CCTCGC CAAAGACAAAG-3′,下游引物 R:5′-CTACGCCCATGACCAAC-3′。过氧化氢酶(*cat*)基因引物的设计参照 Gene bank 登录号 FJ415187.1,上游引物 F:5′-TTAAGCCCAACCCTAA GTC-3′,下游引物 R:5′-CACCCAAATCATCAAAGAG-3′。肌动蛋白(*actin*)(内参基因)引物的设计,参照 Gene bank 登录号 AY305724.1,上游引物 F:5′-GCATCACTCAGCACC TTC-3′,下游引物 R:5′-CTTCCCCCACATAAACCAG-3′。

1.2.3.4 PCR 条件 PCR 扩增使用全式金生物技术有限公司的高保真 ExTaq 酶,根据说明书配置反应体系。*pal* 基因和 *pod* 基因的 PCR 反应条件为:94℃ 预变性 5 min;94℃ 45 s,55℃ 40 s,72℃,1 min,35 个循环;72℃延伸 10 min。*cat* 基因和 *actin* 基因的 PCR 反应条件为:94℃ 预变性 5 min;94℃ 45 s,50℃ 40 s,72℃ 1 min,35 个循环;72℃延伸 10 min。PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳检测后,利用胶回收试剂盒(Gel Extraction Kit)回收 PCR 产物,与 pEASY-T1 连接、转化、筛选、鉴定。连接正确的重组子由华大生物技术有限公司进行测序。

1.2.4 防御酶基因实时荧光定量 PCR 条件优化

1.2.4.1 引物设计 按照实时荧光定量 PCR 对产物长度的要求(小于 200 bp)以及防御酶基因测序结果设计引物。*pal* 基因的上游引物 F:5′-AATGTCTGCCCAATTCTC-3′,下游引物 R:5′-CTAGTGACCGGATTAGCAAG-3′,片段长度为 117 bp。*pod* 基因的上游引物 F:5′-CCTCGCCAAAG ACAAAG-3′,下游引物 R:5′-CTACGCCCATGACCAAC-3′,片段长度为 189 bp。*cat* 基因的上游引物 F:5′-TTAAGCCCAACCCTAAGTC-3′,下游引物 R:5′-CACCCAAATCAT CAAAGAG-3′,片段长度为 111 bp。*actin* 基因的上游引物 F:5′-GCATCACTCAGCACCTT C-3′,下游引物 R:5′-CTTCCCCCACATAAACCAG-3′,片段长度为 152 bp。

1.2.4.2 荧光定量 PCR 条件 4 个基因的反应条件均为:52℃ 2 min;95℃ 10 min;94℃ 45 s,52℃ 40 s,72℃ 1 min,40 个循环;95℃ 15 s,60℃ 1 min,95℃ 15 s,60℃ 15 s。每个样品重复测定 3 次,每次 PCR 反应均设置阴性对照(以水代替 cDNA 模板)。实时定量 PCR 采用相对定量法检测不同处理条件下基因表达量的差异。

1.2.5 数据统计分析 防御酶活力和防御酶基因相对表达量数据统计用 EXCEL 2003 软件,数据分析利用 SPSS 16.0 软件。方差分析采用 LSD 多重比较法检验处理间的差异显著性($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 不同处理对皖棉小黄花叶片内防御酶活性的影响

2.1.1 不同处理对皖棉小黄花叶片内 PAL 活性的影响 从图 1 可知,2 种外源信号物质诱导后,皖棉小黄花叶片中 PAL 的活性增加,在 24、48、72 和 96 h 时均高于健康植株。其中,外源水杨酸诱导后 PAL 的活性一直上升,在 96 h 时变化最大,增加达 80%;外源茉莉酸甲酯诱导后 PAL 活性先升高后降低,24 h 时增加 97%,显著高于对照($P < 0.05$)。

2.1.2 不同处理对皖棉小黄花叶片内 POD 活性的影响 从图 2 可知,2 种外源信号物质诱导后,皖棉小黄花叶片中 POD 活性均呈升高 - 降低 - 升高的变化趋势,仅在 72 h 稍低于对照。其中,外源水杨酸诱导后 POD 活性在 96 h 时变化最大,增加达 66%;外源茉莉酸甲酯诱导后 POD 的活性迅速升高,在 24 h 时显著高于对照($P < 0.05$)。

2.1.3 不同处理对皖棉小黄花叶片内 CAT 活性的影响 从图 3 可知,绿盲蝽取食、外源水杨酸和外源茉莉酸甲酯诱导处理后,皖棉小黄花叶片中 CAT 活性均仅在 24 h 时稍高于对照,48、72 和 96 h 时则低于对照,但均未达到显著性差异水平($P > 0.05$)。

2.2 不同处理对皖棉小黄花叶片内防御酶基因表达量的影响

2.2.1 不同处理对皖棉小黄花叶片中 *pal* 基因表

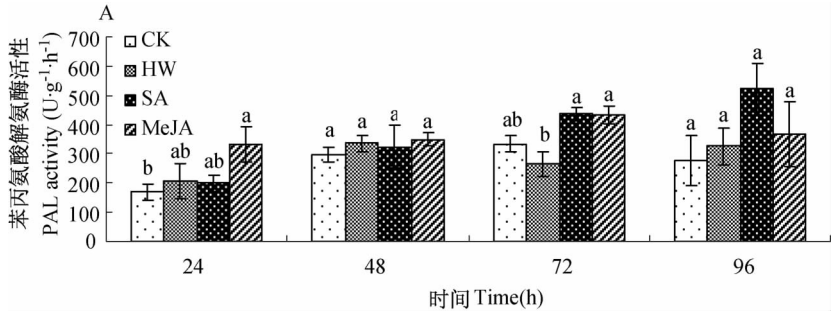

图 1　不同处理后皖棉小黄花叶片中 PAL 活性的变化

Fig. 1　Changes of PAL in Wanmian xiaohuanghua leaves after different treatments

CK 表示健康植株,HW 表示绿盲蝽取食处理, SA 表示外源水杨酸处理,MeJA 表示外源茉莉酸甲酯处理。不同小写字母表示不同处理在 0.05 水平上差异显著 ($P < 0.05$)。下图同。

CK (health cotton), HW (*A. lucorum* feeding treatment), SA (exogenous salicylic acid treatment) and MeJA (exogenous methyl jasmonate treatment).

Histograms with different letters indicate significantly different at 0.05 level. The same beolw.

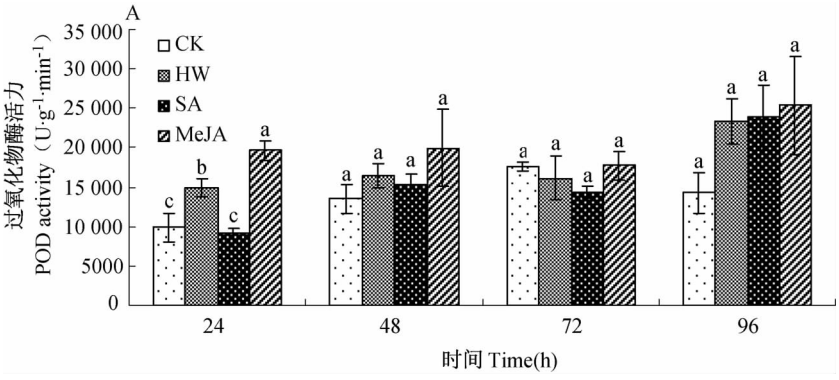

图 2　不同处理后皖棉小黄花叶片中 POD 活性的变化

Fig. 2　Changes of POD in Wanmian xiaohuanghua leaves after different treatments

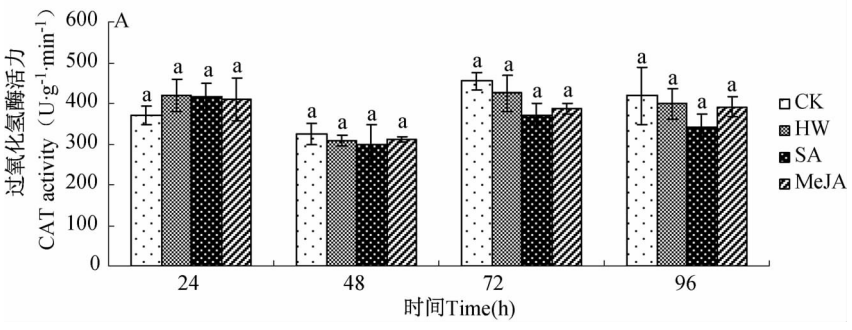

图 3　不同处理后皖棉小黄花叶片中 CAT 活性的变化

Fig. 3　Changes of CAT in Wanmian xiaohuanghua leaves after different treatments

达量的影响　从图 4 可知,绿盲蝽取食和 2 种外源信号物质诱导处理后,与健康植株相比,皖棉小黄花叶片中 *pal* 基因的表达量均有不同程度的变化。其中,绿盲蝽取食诱导后,*pal* 基因相对表达量的变化趋势:降低 – 升高 – 降低,24 和 96 h 时低于对照,48 和 72 h 时高于对照,但均未达到显著性差异水平($P > 0.05$);外源水杨酸诱导后,*pal* 基因表达量的变化趋势:升高 – 降低 – 升高,

24、48、72 和 96 h 时均高于对照,但均未达到显著性差异水平($P > 0.05$);外源茉莉酸甲酯诱导处理后,*pal* 基因表达量呈现先增高后降低的变化趋势,24 和 48 h 时高于对照,且 48 h 时达到显著性差异水平($P < 0.05$),增加 86%,而在 72 和 96 h 时低于对照,但均未达到显著性差异水平($P > 0.05$)。

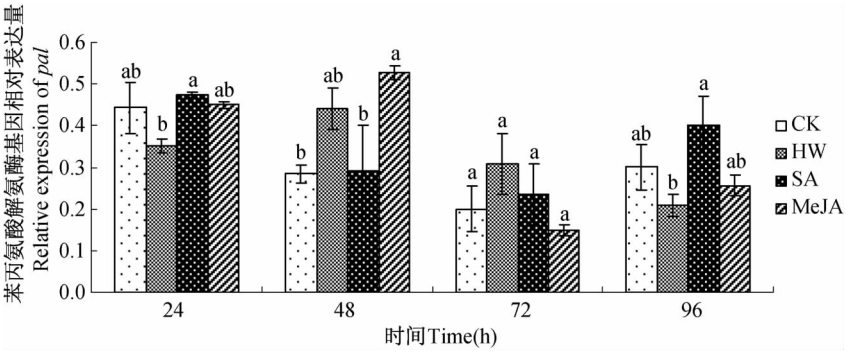

图 4 不同处理后皖棉小黄花叶片中 *pal* 基因相对表达量的变化

Fig. 4 Changes of relative expression of *pal* in Wanmian xiaohuanghua leaves after different treatments

2.2.2 不同处理对皖棉小黄花叶片中 *pod* 基因表达量的影响 从图 5 可知,绿盲蝽取食和 2 种外源信号物质诱导处理后,皖棉小黄花叶片中 *pod* 基因表达量在 24 h 时显著降低($P < 0.05$),随后逐渐升高,但均仅在 72 h 时高于对照。其中,外源茉莉酸甲酯和绿盲蝽取食诱导在 72 h 时显著高于对照($P < 0.05$)。

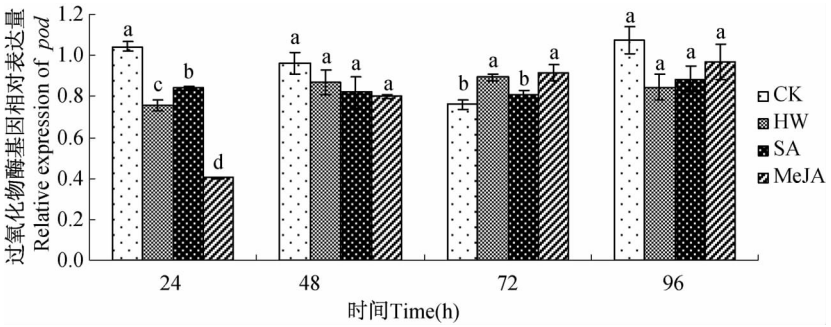

图 5 不同处理后皖棉小黄花叶片中 *pod* 基因相对表达量的变化

Fig. 5 Changes of relative expression of *pod* in Wanmian xiaohuanghua leaves after different treatments

2.2.3 不同处理对皖棉小黄花叶片中 *cat* 基因表达量的影响 从图 6 可知,与健康植株相比,不同处理后皖棉小黄花叶片中 *cat* 基因表达量的变化较为明显。绿盲蝽取食诱导后,*cat* 基因表达量迅速升高,24 h 时增加 174%,达到显著性差异水平($P < 0.05$),并仅在 48 h 时低于对照;外源水杨酸诱导后,*cat* 基因表达量先显著降低($P < 0.05$),然后再逐渐升高,仅 96 h 时高于对照;外源茉莉酸甲酯诱导后,*cat* 基因表达量的变化趋势与绿盲蝽取食基本相似,在 24 h 时显著高于对照,48 h 时显著低于对照($P < 0.05$)。

3 讨论

植物在进化过程中对昆虫为害形成了多种防御机制,其中诱导防御机制在植物自我保护中发挥着重要作用(Maleck and Dietrid, 1999)。本试验通过绿盲蝽取食和 2 种外源信号物质诱导处理皖棉小黄花叶片,并对 PAL、POD 和 CAT 3 种酶活性变化和 *pal*、*pod* 和 *cat* 3 种酶基因表达变化进行研究,结果表明:绿盲蝽取食诱导与外源信号物质

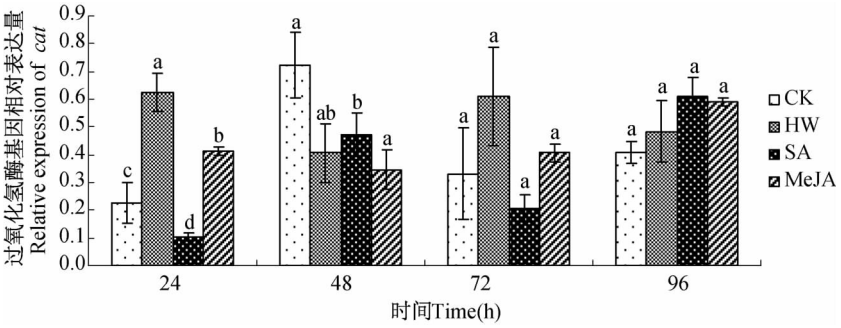

图 6　不同处理后皖棉小黄花叶片中 *cat* 基因相对表达量的变化

Fig. 6　Changes of relative expression of *cat* in Wanmian xiaohuanghua leaves after different treatments

诱导对 3 种防御酶的活性变化影响相似,说明绿盲蝽取食诱导不仅激活了水杨酸介导的防御信号转导途径,同时也激活了茉莉酸介导的信号转导途径,很多研究也认为,昆虫取食能同时触发 JA 和 SA 的合成来调控防御反应(Thaler *et al.*, 1996);*pal*、*pod* 和 *cat* 3 种酶基因表达量变化趋势与 PAL、POD 和 CAT 3 种酶活性变化趋势存在较大差异,可能与这 3 种酶都是多基因家族有关。

PAL 是连接植物初级代谢和苯丙烷类代谢、催化苯丙烷类代谢第一步反应的酶,苯丙烷类代谢可生成类黄酮、木质素等多种可在植物的生长发育、抗病、抗逆反应中起重要作用的次生代谢产物(董艳珍,2006)。有研究表明,植物受害虫为害、外源水杨酸、外源茉莉酸甲酯诱导后,PAL 活性迅速上升,以增加其抗性水平(宾金华等,2000;高峰等,2004;李进步等,2008)。图 1 中各种处理测定同期完成,健康植株和绿盲蝽取食处理数据在毛红文章中已发表,绿盲蝽取食诱导后,皖棉小黄花叶片中 PAL 活性增加(毛红等,2011)。外源信号物质诱导与绿盲蝽取食诱导相似,也可增加棉叶中 PAL 活性,且效果更为明显,可见,绿盲蝽取食诱导可能诱导了水杨酸和茉莉酸 2 种信号物质的表达。*pal* 是一个多基因家族,不同的组织有多种 PAL 同工酶(Bolwell *et al.*, 1985),不同成员的表达特异性也不相同(欧阳光察和薛应龙,1988)。*pal* 基因表达量与 PAL 活力变化趋势相比较可知,除外源水杨酸诱导处理的变化趋势基本一致,在 24、48、72 和 96 h 时均高于对照;绿盲蝽取食和外源茉莉酸甲酯诱导处理后 *pal* 基因表达水平与酶活力测定结果的变化趋势存在差异。这可能因为所测的 *pal* 基因的表达量只是 *pal* 基因家族中的一种,而 PAL 的活性变化则是由其他 *pal* 基因或者多个 *pal* 基因共同调控的结果。

POD 是植物在逆境条件下酶促防御系统的关键酶之一,可参与木质素和木栓质的合成,也可参与酚类等化合物的氧化生成对害虫毒性更大的醌类化合物等,增加植物抗逆性(田国忠等,2001)。研究表明,植物受害虫为害、外源水杨酸和外源茉莉酸甲酯诱导处理后,POD 活性会上升(石武良,2001;高峰等,2004;周丹丹等,2009)。图 2 中各种处理测定同期完成,健康植株和绿盲蝽取食处理数据在毛红文章中已发表,绿盲蝽取食诱导后皖棉小黄花叶片中 POD 活性显著增加(毛红等,2011)。外源信号物质诱导也可增加 POD 活性,其中,外源茉莉酸甲酯诱导与绿盲蝽取食诱导一样明显,可见,绿盲蝽取食诱导可能激活了茉莉酸介导的信号转导途径。*pods* 可分为与细菌过氧化物酶相关的胞内过氧化物酶,真菌分泌的过氧化物酶和有信号肽并通过分泌途径起作用的植物过氧化物酶三大类(Delannoy *et al.*, 2003)。棉花中已经报道了 12 个编码第三类过氧化物酶的基因,本文中的基因为 *pod8*(Delannoy *et al.*, 2006)。*pod* 基因表达结果与 POD 活性结果相比较可知,变化趋势恰好相反,在酶活性测定中,绿盲蝽取食、外源水杨酸和外源茉莉酸甲酯诱导处理后 POD 的活性仅在 72 h 时出现稍低于对照情况,而 *pod* 基因表达仅在 72 h 时稍高于对照水平。这可能是因为所测的 *pod* 基因的表达只是 *pod* 基因家族中的一种,POD 的活性变化不是完全由该基因调控,而是由其他 *pod* 基因或者多个 *pod* 基因共同调控的结果。

CAT 是植物体内的抗氧化物质(黄铨和于倬

德,2006),能清除光呼吸和线粒体电子传递等过程中产生的 H_2O_2,在植物防御、胁迫应答、延缓衰老和控制细胞的氧还平衡等方面起着重要的作用(宋新华和赵凤云,2007)。研究表明,棉苗受害虫危害后,CAT 的活性有不同程度的升高(李润植等,1998),本试验中,皖棉小黄花叶片中 CAT 活性在 24 h 时迅速升高,48 h 后稍低于对照,可能用于清除 H_2O_2。外源水杨酸诱导后 CAT 活性有所降低(柏素花等,2006),而外源茉莉酸甲酯诱导后 CAT 活性早期升高后期下降(张智慧等,2010),均与本试验结果基本一致。可见,绿盲蝽取食诱导 CAT 活性的表达与这 2 种信号物质介导的转导途径有关。大量研究表明,*cats* 的表达不仅与植物的发育时期、组织和器官有关,还与环境有很大关系(宋新华和赵凤云,2007)。本实验中 *cat* 基因的片段通过 GenBank BLAST 发现,为棉花 *cat1* 基因,同时与其他物种的 *cat1*、*cat2* 和 *cat3* 基因的同源性都非常的高(达到 95% 以上)。*cat* 基因表达量变化趋势与 CAT 酶活性变化趋势存在差异,3 种处理后 CAT 酶活性在 48、72 和 96 h 时均高于对照,而 *cat* 基因表达量仅在 48 h 时均低于对照水平,且变化较酶活性变化明显。这可能与 CAT 酶活性也由多种 *cat* 基因调控有关。

本试验首次对绿盲蝽取食诱导棉花叶片中防御酶活性变化与外源信号物质诱导的结果进行比较,首次对绿盲蝽取食诱导后防御酶活性变化与基因表达变化进行比较,发现绿盲蝽取食可诱导水杨酸和茉莉酸介导的防御信号转导途径,PAL、POD 和 CAT 3 种酶活性不完全由本文中选取的 *pal*、*pod* 和 *cat* 3 个基因所调控。这些结果为探明棉花抗绿盲蝽的机理提供了一定理论基础,但要真正弄清楚棉花的防御反应机理,还需对防御酶基因与防御酶活性的相关性做进一步的探索和研究。

参考文献(References)

Arimura GI, Kost C, Boland W, 2005. Herbivore-induced, indirect plant defences. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1734 (2):91—111.

Bolwell GP, Bell JN, Cramer CR, Schuch W, Lamb CJ, Dixon RA, 1985. L-phenylalanine ammonia-lyase from *Phaseolus vulgaris*: characterization and induction of multiple forms form elicitor-treated cell suspension cultures. *Eur. J. Biochem.*, 149 (2):411—419.

Deboer JG, Dicke M, 2004. The role of methyl salicylate in prey searching behavior of the predatory mite *Phytoseiulus persimilis*. *Chem. Ecol.*, 30 (2):255—271.

Delannoy E, Jalloul A, Assigbets K, Marmey P, Geiger JP, Lherminier JF, Daniel JF, Martinez C, Nieole M, 2003. Activity of class Ⅲ peroxidases in the defense of cotton to bacterial blight. *Mol. Plant-Microbe Interact*, 16 (11): 1030—1038.

Delannoy E, Marmey P, Jalloul A, 2006. Molecular analysis of class Ⅲ peroxidases from cotton. *Cotton Sci.*, 10 (1): 53—60.

Karban R, Baldwin IT, 1997. Induced Responses to Herbivory. University of Chicago Press, Chicago. 1—330.

Maleck K, Dietrid RA, 1999. Defense on multiple fronts: how do plants cope with diverse enemies? *Trends Plant Sci.*, 4: 215—219.

Men XY, Ge F, Edwards CA, Yardim EN, 2005. The influence of pesticide applications on *Helicoverpa armigera* Hübner and sucking pests in transgenic Bt cotton and non-transgenic cotton in China. *Crop Prot.*, 24 (4):319—324.

Seo HS, Song JT, Cheong JJ, Lee YH, Lee YW, Hwang I, Lee JS, Choi YD, 2001. Jasmomc acid carboxyl methyhransferase: A key enzyme for jasmonate-regulated plant responses. *PNAS*, 98 (8):4788—4793.

Thaler JS, Stout MJ, Karban R, 1996. Exogenous jasmonates simulate insect wounding in tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) in the laboratory and field. *Chem. Ecol.*, 22 (10):1767—1781.

Wu K, Li W, Feng H, Guo Y, 2002. Seasonal abundance of the mirids, *Lygus lucorum and Adelphocoris* spp. (Hemiptera: Miridae) on Bt cotton in northern China. *Crop Prot.*, 21 (10):997—1002.

柏素花,董超华,战淑敏,赵方贵,杨德翠,2006. 不同抗性甜椒品种对水杨酸诱导的生理反应. 莱阳农学院,23 (1):19—22.

宾金华,姜胜,黄胜琴,潘瑞炽,2000. 茉莉酸甲酯诱导烟草幼苗抗炭疽病与 PAL 活性及细胞壁物质的关系. 植物生理学报, 20(1):1—5.

董艳珍,2006. 植物苯丙氨酸解氨酶基因的研究进展. 生物技术通报,(z1):31—33.

高峰,李国英,王钦英,2004. 水杨酸诱导棉花耐黄萎病的效应. 新疆农业科学,41 (5):333—336.

黄铨,于倬德,2006. 沙棘研究. 北京:科学出版社. 560—572.

李进步,方丽平,张亚楠,杨卫娟,郭庆,李雷,毕彩丽,杨荣志,2008. 棉花抗蚜性与苯丙氨酸解氨酶活性的关系.

昆虫知识,45 (3):422—425.
李玲,2009. 植物生理学模块实验指导 . 北京:科学出版社. 1—173.
李润植,毛雪,李彩霞,1998. 棉花抗蚜性与次生代谢相关酶活性的关系 . 山西农业大学学报,18 (2):165—168.
陆宴辉,吴孔明,蔡晓明,刘仰青,2008. 利用四季豆饲养盲蝽的方法 . 植物保护学报,35 (3):215—219.
陆宴辉,吴孔明,姜玉英,夏冰,2010. 棉花盲蝽的发生趋势与防控对策 . 植物保护,36 (2):150—153.
毛红,陈瀚,刘小侠,张青文,2011. 绿盲蝽 *Apolygus lucorum* (Mayer-Dür) 取食与机械损伤对棉花叶片内防御性酶活性的影响 . 应用昆虫学报,48 (5):1431—1436.
欧阳光察,薛应龙,1988. 植物苯丙烷代谢的生理意义及调控 . 植物生理学通讯,24 (3):9—16.
石武良,2001. 茉莉酸甲酯对水分胁迫下棉花生理作用的影响. 硕士学位论文 . 山西:山西农业大学 .
宋新华,赵凤云,2007. 植物体内过氧化氢酶的研究进展 . 安徽农业科学,35 (31):9824—9827.
谭永安,柏丽新,肖留斌,魏书艳,赵洪霞,2010. 绿盲蝽危害对棉花防御性酶活性及丙二醛含量的诱导 . 棉花学报,22 (5):479—485.
田国忠,李怀方,裘维蕃,2001. 植物过氧化物酶研究进展 . 武汉植物学研究,19 (4):332—344.
张秀梅,刘小京,2005. 绿盲蝽在 Bt 转基因棉及枣树上的发生规律 . 华东昆虫学报,14 (1):28—32.
张秀梅,刘小京,杨艳敏,段德玉,2005. 绿盲蝽在 Bt 转基因棉及枣树上的发生规律 . 华东昆虫学报,14 (1):28—32.
张智慧,聂燕芳,何磊,李云锋,王振中,2010. 外源茉莉酸甲酯诱导水稻抗瘟性相关防御酶和内源水杨酸的变化 . 植物病理学报,40 (4):395—403.
周丹丹,刘长仲,姜生林,马峰,王海,2009. 烟粉虱刺吸胁迫对棉花叶片生理的影响 . 甘肃农业大学学报,44 (1):107—114.