牛角花齿蓟马为害对紫花苜蓿 AsA、GSH 含量及相关代谢酶活性的影响*

寇江涛[1,2**] 师尚礼[1,2***] 胡桂馨[1,2]

(1. 甘肃农业大学草业学院 兰州 730070; 2. 草业生态系统教育部重点实验室
甘肃省草业工程实验室 中-美草地畜牧业可持续研究中心 兰州 730070)

摘 要 为了明确非酶抗氧化物质抗坏血酸(AsA)、还原型谷胱甘肽(GSH)及相关代谢酶抗坏血酸过氧化物酶(APX)、谷胱甘肽还原酶(GR)在紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)对牛角花齿蓟马 *Odontothrips loti* Haliday 为害的抗性中的作用,测定了不同牛角花齿蓟马虫口密度下抗、感蓟马苜蓿无性系 R-1、I-1 的 AsA、GSH 含量及 APX、GR 活性的变化。结果表明:受牛角花齿蓟马为害后,R-1 无性系在低虫口密度(1、3 头/枝条)下,AsA、GSH 含量和 GR 活性均上升,在高虫口密度(5、7 头/枝条)下,AsA 含量和 GR 活性先升高后下降,GSH 含量上升后保持稳定;I-1 无性系的 AsA、GSH 含量先升高后下降,GR 活性在为害后期呈上升趋势;R-1、I-1 无性系的 APX 活性均先上升后下降,但 R-1 无性系 APX 活性的上升速率及下降速率小于 I-1 无性系。说明 AsA、GSH 含量及 APX、GR 活性的升高可能是紫花苜蓿对牛角花齿蓟马诱导抗性的一种表现,但 I-1 无性系对蓟马为害的应激反应滞后于 R-1 无性系。在牛角花齿蓟马为害后期,R-1 无性系体内的 AsA、GSH 含量及 APX、GR 活性仍处于较高水平,也说明了 R-1 无性系对牛角花齿蓟马为害的抗性较 I-1 无性系强。

关键词 紫花苜蓿, 牛角花齿蓟马, AsA, GSH, APX, GR,抗虫性

The effect of *Odontothrips loti* damage on AsA, GSH content and metabolic enzyme activities in alfalfa plants

KOU Jiang-Tao[1,2**] SHI Shang-Li[1,2***] HU Gui-Xin[1,2]

(1. College of Grassland Science, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China;
2. Key Laboratory of Ecosystem Ministry of Education, Pratacultural Engineering Laboratory of Gansu Province, Sino-US Center for Grazingland Ecosystem Sustainability, Lanzhou 730070, China)

Abstract The function of non-enzymatic antioxidant ascorbic acid (AsA), reduced glutathione (GSH) and metabolic enzymes ascorbate peroxidase (APX) and glutathione reductase (GR) on the resistance of alfalfa to thrip damage were investigated. AsA and GSH contents, and the activities of APX and GR in resistant and susceptible alfalfa clones, R-1 and I-1, grown under different thrip densities, were measured. For R-1 treatments, AsA, GSH contents and GR activity increased under low thrip densities (1, 3 per branch), while under high densities (5,7 per branch), AsA content and GR activity first increased then decreased, while GSH content initially increased then remained stable. For I-1 treatments, AsA and GSH contents first increased then decreased, and GR activity displayed a tendency to increase during the late damage stage. APX activities for both clones increased at first and then decreased, but the amplitude of the fluctuation for R-1 was less than that for I-1, indicating that AsA and GSH content, and APX and GR activity, might be a form of resistance induced in alfalfa by thrip damage, with the response of I-1 to such damage lagging behind that of R-1. During the later damage stage, AsA and GSH content and APX and GR activity in the R-1 clones remained at a high level,

* 资助项目:国家现代牧草产业技术体系建设专项(CARA-35);国家自然科学基金(31260579);教育部高校博士学科点基金(20106202110003)。

** E-mail: koujiangtao@st.gsau.edu.cn

*** 通讯作者,E-mail:shishl@gsau.edu.cn

收稿日期:2013-01-28,接受日期:2013-05-13

indicating that R-1 plants had a greater capacity than I-1 to resist thrip damage.

Key words　alfalfa, *Odontothrips loti*, ascorbic acid, reduced glutathione, ascorbate peroxidase, glutathione reductase, insect resistance

紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)被誉为"牧草之王",具有高产、优质、抗逆性强、蛋白质含量高和适口性好等特点(洪绂曾,2009)。苜蓿作为多年生牧草,一般在田间连续生长利用都在 4 年以上,多年连续生长利用而形成的稳定生境是导致其虫害日渐加重的主要原因(吴永敷等,1990)。在我国西北、华北和东北等苜蓿主产区,为害苜蓿的优势种害虫以牛角花齿蓟马 *Odontothrips loti* Haliday 为主,绝大部分苜蓿品种虫害率均在 95% 以上,每年的发生面积达 100%,轻者造成 5% 的产量损失,重者毁产(严林和梅洁人,1996;张蓉等,2003),蓟马为害在造成苜蓿生长受阻、产量下降的同时,还严重影响苜蓿干草的品质(吴永敷等,1988)。蓟马类害虫已对苜蓿产业造成严重的威胁和障碍,对苜蓿蓟马的有效防治迫在眉睫。贺春贵等(2007)建立了以田间受害指数为标准的苜蓿抗蓟马评价鉴定标准。胡桂馨等(2007,2009)初步揭示了苜蓿的抗蓟马机制为耐害性。寇江涛等(2011a,2011b)研究表明,抗、感蓟马苜蓿无性系在大田蓟马持续为害的条件下其补偿生长均表现为不足补偿,抗蓟马无性系对蓟马的危害具有显著的补偿光合作用,而感蓟马无性系的补偿光合作用滞后于初花期发生,且需要较高的光强条件。

植物与害虫的相互关系是在长期协同进化的过程中逐渐形成的(陈建明等,2005)。植物为了避免自身器官不被害虫取食或减小被害虫取食的程度,在受到害虫为害损伤后会对害虫产生抗性,并产生生理、生化上的一系列变化(刘裕强等,2005;黄伟等,2007;武德功等,2011),从而提高自身的抗虫性,其中非酶抗氧化物质 AsA、GSH 发挥着极其重要作用。AsA 作为活性氧消除剂,是植物体内一种主要的初级抗氧化物质,能够直接清除单线态氧、H_2O_2、$OH^{\cdot}$ 和 $O_2^{\cdot -}$(王晓峰和张宪政,1998),可作为植物在逆境条件下表示氧化胁迫的指标。GSH 含量的高低不仅与植物对逆境胁迫的忍耐程度有关,而且 GSH 合成的增强可能是植物对逆境胁迫的一种内在响应(Alscher,1989)。植物的进化过程中,在充分利用 O_2 的同时,也形成了一系列清除活性氧危害的机制,这些机制中则有部分是由非酶抗氧化物质如 AsA、GSH 等来实现的(高必达和陈捷,2006),APX 是叶绿体中解毒 H_2O_2 的关键酶(Asada,1999),它可通过催化 AsA-GSH 循环来发挥这一关键作用(孙卫红等,2005;张维静等,2008)。GR 是一种黄素蛋白氧化还原酶,GR 可在植物体内通过使细胞内谷胱甘肽库保持还原状态而在氧化胁迫响应中具有重要作用(陈坤明等,2004a)。因此,本研究以抗蓟马苜蓿无性系 R-1 和感蓟马苜蓿无性系 I-1 为材料,探索不同牛角花齿蓟马虫口密度压力下紫花苜蓿 AsA、GSH 含量及相关代谢酶 APX、GR 活性的变化,以探讨和明确 AsA、GSH 在紫花苜蓿对牛角花齿蓟马为害的抗性中的作用,旨在为我国苜蓿抗蓟马育种奠定基础,为苜蓿抗虫育种提供科学的理论依据。

1　材料与方法

1.1　试验地概况

试验在甘肃农业大学兰州牧草试验站进行,试验站位于兰州市西北部,地处黄土高原西端,地理坐标为东经 105°41′,北纬 34°05′。该区海拔 1 525 m,属温带半干旱大陆性气候,年降水量 200 ~320 mm,年蒸发量 1 664 mm,年蒸发量是降水量的 5.2 ~8.3 倍。年均日照 2 770 h,全年无霜期 90 ~ 210 d。年均气温 9.7℃,最热月平均气温 29.1℃,最冷月平均气温 -14.9℃,>0℃ 的年积温 3 800℃,>10℃ 的年积温 3 200℃。区内地势平坦,肥力均匀,土壤类型为黄绵土,黄土层较薄,土壤有机质含量 0.84%,pH 7.5,土壤含盐量 0.25%,有效氮 95.05 mg/kg,有效磷 7.32 mg/kg,有效钾 182.8 mg/kg。

1.2　试验材料与设计

供试苜蓿材料:抗蓟马苜蓿无性系 R-1、感蓟马无性系 I-1。R-1、I-1 无性系均选自抗蚜苜蓿品系"HA-3",于 2007—2008 年通过室内和大田评价筛选、扦插扩繁得到。大田自然条件下,7、8 月份,现蕾期 R-1 无性系的受害指数分别为 53% 和

61%,现蕾期 I-1 无性系的受害指数分别为 75% 和 79%。供试昆虫:田间自然发生的牛角花齿蓟马成虫。

2010 年 4 月底整地,将供试苜蓿材料 R-1、I-1 无性系植株移栽于试验地内,R-1 株行与 I-1 株行按 1∶1 相间排列,行距 20 cm,每小区 10 行,株距 20 cm,每行 15 株,小区面积 6 m^2,重复 3 次。2011 年 4 月在小区所在地搭建网室,在第 1 茬苜蓿生长期间每 5 d 喷洒一次农药(10% 吡虫啉可湿性粉剂 2 000 倍液)进行害虫防治,第 1 茬苜蓿于初花期刈割,第 2 茬苜蓿生长至 40 cm(分枝期)时,按 0(对照:CK)、1、3、5、7 头/枝条接入牛角花齿蓟马成虫,网室内各小区间用防虫网隔离,以防接入的蓟马在个小区间逃窜。

分别于接虫后第 1、2、3、4、5 天,取不同虫口密度下 R-1、I-1 无性系每个植株上部三分之一以上完全展开的叶片,每株系取 7 ~ 8 片,充分混合,液氮保存,用来测定 AsA、GSH 含量及 APX、GR 活性。

1.3 测定方法

AsA 含量参照邹琦(2006)的方法测定:称取剪碎均匀的新鲜苜蓿叶片 1.0 g,用 5 mL 5% 的 TCA 研磨提取,4 000 $r \cdot min^{-1}$ 离心 10 min。吸取提取液 1.0 mL 置于试管中,加入 1.0 mL 5% TCA 和 1.0 mL 无水 CH_3CH_2OH,摇匀。再依次加入 0.5 mL 0.4% H_3PO_4-CH_3CH_2OH 溶液,1.0 mL 0.5% BP-CH_3CH_2OH 溶液,0.5 mL 0.03% $FeCl_3$-CH_3CH_2OH 溶液。将反应液置于 30℃ 水浴反应 90 min,于 534 nm 波长下测定 A 值。

GSH 含量参照孙群和胡景江(2006)的方法测定:称取剪碎的新鲜苜蓿叶片 1.0 g,加入少量 5 $mmol \cdot L^{-1}$ 的 EDTA-TCA 溶液,研磨至匀浆后转移到 25 mL 容量瓶中,用 EDTA-TCA 溶液定容、过滤,吸取 2 mL 滤液置于试管中,加入 0.4 mL 1.0 $mol \cdot L^{-1}$ 的 NaOH,调 pH 至 6.5 ~ 7.0,然后依次加入 0.1 mL 200 $mmol \cdot L^{-1}$ 的 PBS 和 0.1 mL TDNB 溶液,室温下显色 5 min 加蒸馏水至 5 mL,于 412 nm 波长下测定 A 值。

粗酶液的制备参考 de Azevedo Neto 等(2005)的方法:称取新鲜的苜蓿叶片 0.2 g,加入 4 mL 酶提取液,冰浴充分研磨至匀浆,16 000 × g 离心 15 min,温度为 4℃,上清液即为粗酶提取液,冷藏备用。APX 活性测定参考 Nakano 和 Asada(1981)的方法:1.5mL 反应混合液中加粗酶提取液 100 μL,反应在加入 H_2O_2 和 ASA 后立即测定 290 nm 波长下 0 s、60 s 的 A 值,酶活性以 $mmol \cdot H_2O_2 \cdot min^{-1} \cdot mg^{-1}$ protein 表示。GR 活性测定参考 Foyer 和 Halliwell(1976)的方法:2 mL 反应混合液中加粗酶提取液 100 μL,反应在加入 GSSG 和 NADPH 后立即测定 340 nm 波长下 0 s、60 s 的 A 值,酶活性以 $\mu mol \cdot NADPH \cdot min^{-1} \cdot mg^{-1}$ protein 表示。

1.4 数据处理与分析

采用 Excel 2003 进行数据处理和图表绘制,并采用 SPSS 16.0 软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA)和最小显著差数法(LSD 法)进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 牛角花齿蓟马为害对 R-1、I-1 无性系 AsA 含量的影响

由图 1 可知,R-1 无性系在牛角花齿蓟马为害第 1 天时,接 7 头/枝条处理的 AsA 含量显著高于 0 头/枝条(CK)($P < 0.05$);在为害第 2 天时,接 5、7 头/枝条处理的 AsA 含量显著高于 CK($P < 0.05$);在为害第 3、4、5 天时,各接虫处理的 AsA 含量均显著高于 CK($P < 0.05$)。I-1 无性系在牛角花齿蓟马为害第 1、2、3 天时,各接虫处理的 AsA 含量均显著高于 0 头/枝条(CK)($P < 0.05$);在为害第 4 天时,各接虫处理的 AsA 含量均与 CK 差异不显著;在为害第 5 天时,接 7 头/枝条处理的 AsA 含量显著低于 CK($P < 0.05$),其余各接虫处理的 AsA 含量与 CK 差异不显著。

受牛角花齿蓟马为害后,R-1 无性系接 1 头/枝条处理的 AsA 含量上升,接 3、5、7 头/枝条处理的 AsA 含量先上升后下降。I-1 无性系各接虫处理的 AsA 含量均先上升后下降。

2.2 牛角花齿蓟马为害对 R-1、I-1 无性系 GSH 含量的影响

由图 2 可知,R-1 无性系各接虫处理的 GSH 含量在牛角花齿蓟马为害第 1、2、3、4、5 天时,均显著高于 0 头/枝条(CK)($P < 0.05$)。I-1 无性系各接虫处理的 GSH 含量在牛角花齿蓟马为害第 1、2、3 天时,均与 0 头/枝条(CK)差异不显著,在为害第 4、5 天时,均显著高于 CK($P < 0.05$)。

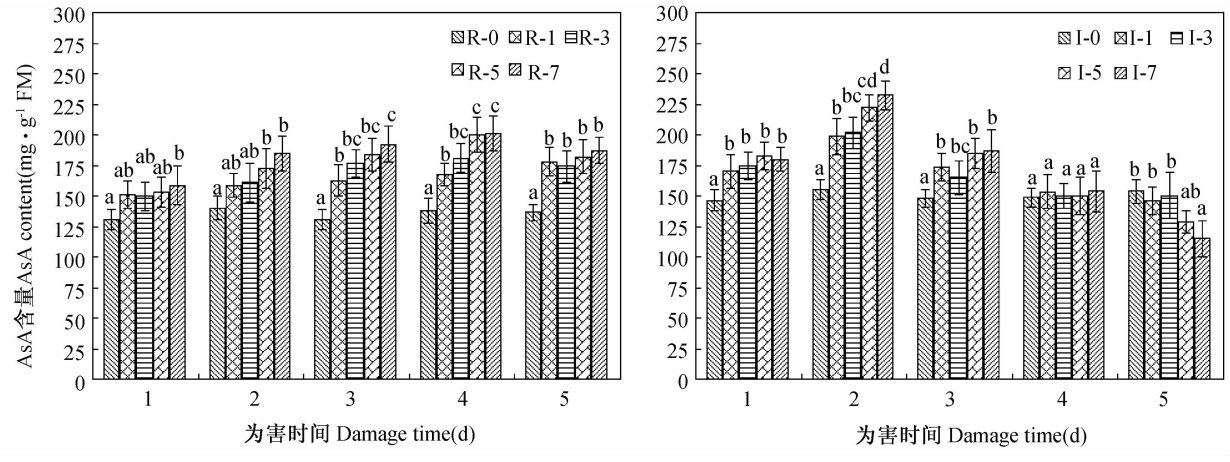

图 1　不同虫口密度牛角花齿蓟马为害对 R-1、I-1 无性系 AsA 含量的影响

Fig. 1　The effect of different thrip densities on AsA content of R-1 and I-1 alfalfa clones

注:R-0、R-1、R-3、R-5、R-7 分别表示 R-1 无性系的接虫密度为 0(CK)、1、3、5、7 头/枝条;I-0、I-1、I-3、I-5、I-7 分别表示 I-1 无性系的接虫密度为 0(CK)、1、3、5、7 头/枝条。柱上不同小写字母表示各处理之间达差异显著水平($P < 0.05$, LSD)。下图同。

R-0, R-1, R-3, R-5 and R-7 indicate insect inoculation density of the R-1 clone was 0 (CK), 1, 3, 5 and 7 per branch, respectively; I-0, I-1, I-3, I-5 and I-7 indicate insect inoculation density of the I-1 clone was 0 (CK), 1, 3, 5 and 7 per branch, respectively. Histograms with different lowercase letters indicate significant difference among treatments($P < 0.05$, LSD method). The same below.

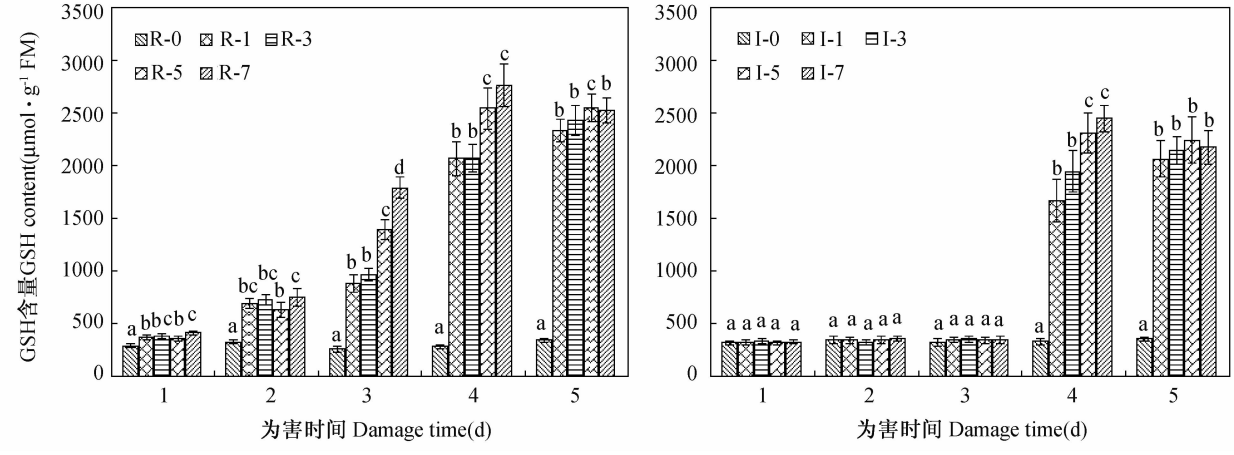

图 2　不同虫口密度牛角花齿蓟马为害对 R-1、I-1 无性系 GSH 含量的影响

Fig. 2　The effect of different thrip densities on GSH content of R-1 and I-1 alfalfa clones

受牛角花齿蓟马为害后,R-1 无性系接 1、3、5 头/枝条处理的 GSH 含量均上升,接 7 头/枝条处理的 GSH 含量先上升后下降。I-1 无性系各接虫处理的 GSH 含量在为害第 1、2、3 天时均无明显的升高或降低,在为害第 4、5 天时,接 1、3 头/枝条处理的 GSH 含量上升,接 5、7 头/枝条处理的 GSH 含量先上升后下降。

2.3　牛角花齿蓟马为害对 R-1、I-1 无性系 APX 活性的影响

由图 3 可知,R-1 无性系在牛角花齿蓟马为害第 1 天时,接 7 头/枝条处理的 APX 活性显著高于 0 头/枝条(CK)($P < 0.05$),其余各接虫处理的 APX 活性与 CK 差异不显著;在为害第 2、3 天时,接 1 头/枝条处理的 APX 活性与 CK 差异不显著,

其余各接虫处理的 APX 活性均显著高于 CK($P<0.05$);在为害第 4、5 天时,各接虫处理的 APX 活性均显著高于 CK($P<0.05$)。I-1 无性系在牛角花齿蓟马为害第 1 天时,接 1、3 头/枝条处理的 APX 活性与 0 头/枝条(CK)差异不显著,接 5、7 头/枝条处理的 APX 活性显著高于 CK($P<0.05$);在为害第 2、3、4、5 天时,各接虫处理的 APX 活性均显著高于 CK($P<0.05$)。

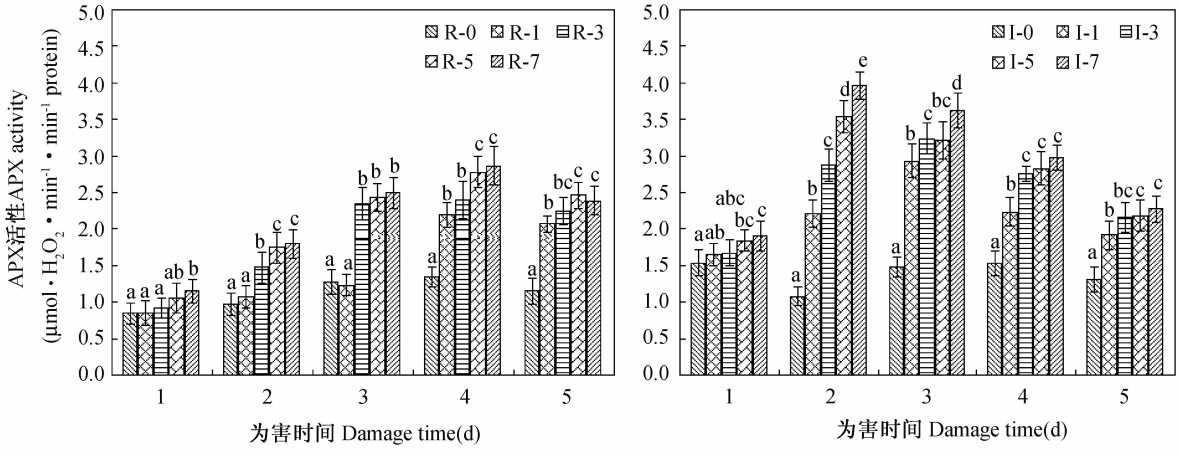

图 3　不同虫口密度牛角花齿蓟马为害对 R-1、I-1 无性系 APX 活性的影响

Fig. 3　The effect of different thrip densities on APX activity of R-1 and I-1 alfalfa clones

受牛角花齿蓟马为害后,R-1、I-1 无性系各接虫处理的 APX 活性均先上升后下降,R-1 无性系各接虫处理 APX 活性的上升速率、下降速率小于 I-1 无性系。

2.4　牛角花齿蓟马为害对 R-1、I-1 无性系 GR 活性的影响

由图 4 可知,R-1 无性系在牛角花齿蓟马为害第 1 天时,接 1、3 头/枝条处理的 GR 活性与 0 头/枝条(CK)差异不显著,接 5、7 头/枝条处理的 GR 活性显著高于 CK($P<0.05$);在为害第 2、3、4、5 天时,各接虫处理的 GR 活性均显著高于 CK($P<0.05$)。I-1 无性系在牛角花齿蓟马为害第 1、2 天时,各接虫处理的 GR 活性均与 0 头/枝条(CK)差异不显著;在为害第 3、4 天时,接 1、3 头/枝条处理的 GR 活性与 CK 差异不显著,接 5、7 头/枝条处理的 GR 活性显著高于 CK($P<0.05$);在为害第 5 天时,各接虫处理的 GR 活性均显著高于 CK($P<0.05$)。

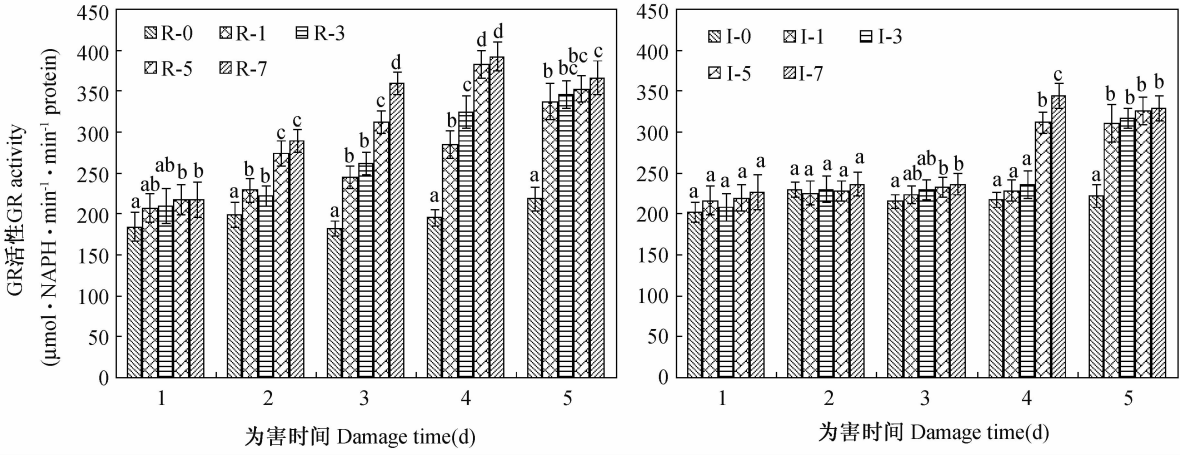

图 4　不同虫口密度牛角花齿蓟马为害对 R-1、I-1 无性系 GR 活性的影响

Fig. 4　The effect of different thrip densities on GR activity of R-1 and I-1 alfalfa clones

受牛角花齿蓟马为害后,R-1 无性系接 1、3 头/枝条处理的 GR 活性上升,接 5、7 头/枝条处理的 GR 活性先上升后下降。I-1 无性系接 1 头/枝条处理的 GR 活性在牛角花齿蓟马为害过程中无明显的上升或下降,接 3 头/枝条处理的 GR 活性在为害第 5 天时迅速上升,接 5、7 头/枝条处理的 GR 活性在为害第 3 天时上升,在为害第 5 天时下降。

3　讨论与结论

3.1　非酶抗氧化物质含量变化与苜蓿抗蓟马的关系

AsA 与活性氧经过一系列的反应后最终形成 AsA-GSH 循环,可在植物体内循环消除活性氧(耶兴元等,2009)。AsA 对 PPO 活性有很好的抑制作用,其机理可能是将醌还原成酚,或者自身被氧化,消除活性氧,抑制酶促褐变的发生(程建军等,2002)。AsA 对膜质过氧化也具有抑制作用,可降低 MDA 含量,稳定细胞膜的结构,对细胞起到保护作用(李珍珍和韩阳,2000)。AsA 的另一个重要功能是保护叶绿体免于氧化损伤,植物在光合作用和光呼吸过程中可产生活性氧(Foyer *et al.*, 1991),而 AsA-GSH 循环中的酶类则高活性地存在于叶绿体中,在其他细胞区间如胞质、过氧化物体和线粒体中也具有较高的活性,以驱动 H_2O_2 的清除过程(Noctor and Foyer, 1998;陈坤明等,2004b)。

GSH 参与细胞氧化还原调节的能力,很大程度上依赖于其在胞内的浓度及 GSH/GSSG 的比率(陈坤明等,2004a),还跟与其生物合成及代谢相关的酶类活性的提高或诱导密切相关,研究表明,GSH 合成及代谢相关酶类活性的提高,可提高植物对逆境胁迫的抗性(Noctor *et al.*,1998)。GSH、AsA 在植物逆境胁迫抵抗中的主要作用是通过 AsA-GSH 循环而实现的(Noctor and Foyer,1998)。因此,GSH、AsA 库的大小以及它们在植物逆境胁迫中的功能性、调节性的作用,及其相互的关系,已经成为植物抗逆性研究中的一个热点。

本试验中,受牛角花齿蓟马为害后,R-1 无性系的 AsA 含量在低虫口密度(1、3 头/枝条)下呈上升的趋势,在高虫口密度(5、7 头/枝条)下先升高后下降,I-1 无性系各接虫处理的 AsA 含量均先升高后下降,在为害的过程中,R-1 无性系各接虫处理的 AsA 含量始终高于 CK,当为害第 5 天时,I-1 无性系在高虫口密度下的 AsA 含量显著低于 CK。说明 R-1 无性系对牛角花齿蓟马的抗性较强,对活性氧的清除能力也较强,并且能够耐受低虫口密度牛角花齿蓟马的为害,所以其 AsA 含量在为害过程中持续升高,而在高虫口密度牛角花齿蓟马的为害下,其 APX 活性受到了抑制,进而影响到了 AsA-GSH 循环,所以在为害后期 AsA 含量下降,对活性氧的清除能力也下降。I-1 无性系对牛角花齿蓟马为害的耐受性低于 R-1 无性系,其抗性较低,对活性氧的清除能力也低于 R-1 无性系,所以在受到牛角花齿蓟马为害后,其 AsA 含量迅速升高,在为害后期又迅速下降。

受牛角花齿蓟马为害后,R-1、I-1 无性系在低虫口密度下 GSH 含量均上升,在高虫口密度下 GSH 含量均先上升后保持稳定或缓慢下降。说明牛角花齿蓟马的为害能够诱导紫花苜蓿体内 GSH 含量的升高,产生了诱导抗性,受牛角花齿蓟马为害后,GR 活性迅速升高,将 GSSG 还原为 GSH,以抵抗牛角花齿蓟马的为害,但高虫口密度的持续为害致使 GR 活性在为害后期下降,所以 GSH 含量保持稳定或缓慢下降。R-1 无性系对牛角花齿蓟马为害的抗性较 I-1 无性系强,所以 R-1 无性系各接虫处理的 GSH 含量在牛角花齿蓟马为害第 1 天就开始升高,而 I-1 无性系对牛角花齿蓟马为害的应激反应滞后于 R-1 无性系,其各接虫处理的 GSH 含量在牛角花齿蓟马为害第 3 天才开始升高。

由此可见,受牛角花齿蓟马为害后,R-1、I-1 无性系的 GSH、AsA 含量因为害时间不同、虫口密度不同而表现出不同的变化规律,但在为害后 GSH、AsA 含量均上升,说明 GSH、AsA 在紫花苜蓿对牛角花齿蓟马的抗性中具有一定的作用,其作用机理还有待于进一步从 AsA-GSH 循环方面作深入系统的研究。

3.2　抗氧化酶活性变化与苜蓿抗蓟马的关系

在氧化胁迫条件下,活性氧可使 GSH 氧化成 GSSG,GR 又可将 GSSG 还原为 GSH,GR 的同功酶已在多种植物中被发现,这些同功酶可能由不同的基因编码,且均参与植物对环境胁迫的忍耐(Stevens *et al.*,1997)。正是有 GR 参与的抗氧化酶类及 APX 在酶促反应系统中彼此协调、相互作

用,有效地清除活性氧自由基,使细胞内的自由基保持正常水平,减轻自由基对植物体造成的毒害,从而能够起到保护细胞、提高植物体抗逆境能力的作用(Bruce and West,1989)。

本试验中,受牛角花齿蓟马为害后,R-1、I-1无性系各接虫处理的 APX 活性均先上升后下降,但因虫口密度的不同而存在显著的差异,但 R-1 无性系各接虫处理 APX 活性的上升速率、下降速率小于 I-1 无性系。说明 APX 活性的迅速升高可能是对蓟马为害的一种应激反应,为害初期 APX 活性升高能够及时清除活性氧,但在后期活性氧代谢平衡被打破,活性氧积累量超过了 APX 的清除能力,致使 APX 活性迅速下降,从而表现为感蓟马。R-1 无性系对牛角花齿蓟马为害的抗性较强,所以在低虫口密度下,其 APX 活性的持续上升能够维持体内活性氧代谢平衡,使其体内的活性氧处于较低水平,而在高虫口密度下,其活性氧代谢失调,致使抗氧化酶促反应系统对活性氧的清除能力下降,所以在为害后期 APX 活性下降。而 I-1 无性系对牛角花齿蓟马为害的抗性较弱,其各接虫处理 APX 活性均在为害后期大幅下降。因此,APX 活性与苜蓿对蓟马的抗性密切相关。

受牛角花齿蓟马为害后,R-1 无性系的 GR 活性在低虫口密度下上升,在高虫口密度下到为害后期下降,而 I-1 无性系各接虫处理的 GR 活性只在为害后期才开始上升。说明在蓟马为害后,R-1 无性系的 GR 清除系统迅速启动,有效地清除活性氧,将 GSSG 还原为 GSH,增强其对蓟马为害的抗性,但在高虫口密度下到为害后期时,活性氧大量积累,将 GSH 氧化成 GSSG,致使 GR 活性有所下降。而 I-1 无性系只有在为害后期,GR 清除系统才发挥作用,其对蓟马为害的应激反应滞后于 R-1 无性系。

参考文献(References)

Alscher RG, 1989. Biosynthesis ang antioxidant function of glutathione in plants. *Physiol. Plant*, 77(3):457 – 464.

Asada K, 1999. Thewaterwater cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 50: 601 – 639.

Bruce RJ, West CA, 1989. Elicitation of lignin biosynthesis and isoperoxidase activity by pectic fragnents in suspension cultures caster bean. *Plant Physiol.*, 91(3):889 – 897.

de Azevedo Neto AD, Prisco JT, Enéas-Filho J, Medeiros JV, Gomes-Filho E, 2005. Hydrogen peroxide pre-treatment induces salt-stress acclimation in maize plants. *J. Plant Physiol.*, 162(10):1114 – 1122.

Foyer CH, Lelandais M, Edwards EA, Mullineaux PM,1991. The role of ascorbate in plants, interactions with photosynthesis, and regulatory significance//Pell EJ, Steffen KL (eds.). Active Oxygen, Oxidative Stress and Plant Metabolism. American Society of Plant Physiologists, USA. 131 – 144.

Foyer CH, Halliwell B, 1976. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts:a proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta*, 133(1):21 – 25.

Nakano Y, Asada K, 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidases in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.*, 22(5):867 – 880.

Noctor G, Arisia CM, Jouanin L, Kunert KJ, Rennenberg H, Foyer CH, 1998. Glutathione: biosynthesis, metabolism and relationship to stress tolerance explored in transformed plants. *J. Exp. Bot.*, 49(321):623 – 647.

Noctor G, Foyer CH, 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 49:249 – 279.

Stevens RG, Creissen GP, Mullineaux PM, 1997. Cloning and characterization of a cytosolic glutathione reductase cDNA from pea (*Pisum sativum* L.) and its expression in response to stress. *Plant Mol. Biol.*, 35(5):641 – 654.

陈建明, 俞晓平, 程家安, 郑许松, 徐红星, 吕仲贤, 张珏锋, 陈列忠, 2005. 植物耐虫性研究进展. 昆虫学报, 48(2):262 – 272.

陈坤明, 宫海军, 王锁民, 2004a. 植物谷胱甘肽代谢与环境胁迫. 西北植物学报, 24(6):1119 – 1130.

陈坤明, 宫海军, 王锁民, 2004b. 植物抗坏血酸的生物合成、转运及其生物学功能. 西北植物学报, 24(2):329 – 336.

程建军, 马莺杨, 杨咏丽, 凌海波, 焦明晶, 庄严, 2002. 苹果梨中多酚氧化酶酶学特性的研究. 园艺学报, 29(3):261 – 262.

高必达, 陈捷, 2006. 生理植物病理学. 科学出版社. 1 – 276.

贺春贵, 王森山, 曹致中, 魏臻武, 冯会文, 2007. 40 个苜蓿品种(系)对蓟马田间抗性评. 草业学报, 16(5):79 – 83.

洪绂曾, 2009. 苜蓿科学. 北京:中国农业出版社. 1 – 556.

胡桂馨, 贺春贵, 王森山, 杜文华, 2007. 不同苜蓿品种对牛角花齿蓟马的抗性机制初步研究. 草业科学, 24

(9):86 – 89.

胡桂馨, 师尚礼, 王森山, 魏列新, 宋丽雯, 2009. 不同苜蓿品种对牛角花齿蓟马的耐害性研究. 草地学报, 17(4):505 – 509.

黄伟, 贾志宽, 韩清芳, 2007. 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. 生态学报, 27(6):2177 – 2183.

寇江涛, 胡桂馨, 张新颖, 师尚礼, 朱博, 2011a. 持续危害下抗、感蓟马苜蓿无性系大田生长特性的比较. 草原与草坪, 31(4):35 – 40.

寇江涛, 师尚礼, 胡桂馨, 景康康, 2011b. 抗、感蓟马苜蓿无性系对蓟马危害的补偿光合生理反应比较. 昆虫学报, 54(8):910 – 917.

李珍珍, 韩阳, 2000. 抗坏血酸对小麦种子老化及幼苗脂质过氧化的影响. 辽宁大学学报(自然科学版), 23(5):56 – 61.

刘裕强, 江玲, 孙立宏, 王春明, 翟虎渠, 万建民, 2005. 褐飞虱刺吸诱导的水稻一些防御性酶活性的变化. 植物生理与分子生物学学报, 31(6):643 – 650.

孙群, 胡景江, 2006. 植物生理学研究技术. 西北农林科技大学出版社. 1 – 200.

孙卫红, 王伟青, 孟庆伟, 2005. 植物抗坏血酸过氧化物酶的作用机制、酶学及分子特性. 植物生理学通讯, 41(2):143 – 147.

王晓峰, 张宪政, 1998. ASA 提高小麦抗旱性生理效应的研究. 植物学通报, 15(3):48 – 50.

吴永敷, 李秀娴, 赵秀华, 薇玲, 1988. 蓟马对苜蓿的危害. 中国草地, (2):25 – 27.

吴永敷, 赵秀华, 特木尔布和, 1990. 蓟马是我国苜蓿生产的主要害虫. 中国草地, (3):65 – 66.

武德功, 贺春贵, 刘长仲, 杜军利, 胡桂馨, 王森山, 2011. 不同苜蓿品种对豌豆蚜的生化抗性机制. 草地学报, 19(3):497 – 501.

严林, 梅洁人, 1996. 青海省紫花苜蓿病虫种类及害虫天敌的调查. 植物保护, 22(5):24 – 25.

耶兴元, 何晖, 仝胜利, 2009. 抗坏血酸与植物抗氧化性的关系. 信阳农业高等专科学校学报, 19(1):123 – 124.

张蓉, 马建华, 王进华, 任学山, 2003. 宁夏苜蓿病虫害发生现状及防治对策. 草业科学, 20(6):40 – 44.

张维静, 陆海, 杜希华, 2008. 抗坏血酸过氧化物酶在植物抵抗氧化胁迫中的作用. 山东师范大学学报(自然科学版), 23(4):113 – 115.

邹琦, 2006. 植物生理学实验指导. 北京:中国农业出版社. 1 – 191.