

荞麦叶片生化物质含量和防御酶活性与其对西伯利亚龟象抗性的关系*

陈磊** 王宇飞 李海平*** 孟焕文 周洪友

(内蒙古农业大学园艺与植物保护学院, 呼和浩特 010019)

摘要 【目的】明确西伯利亚龟象 *Rhinoncus sibiricus* 的为害与荞麦不同品种叶片生化物质含量及防御酶活性的关系, 为选育荞麦抗虫品种和该虫的综合治理提供科学依据。【方法】采用五点取样法对西伯利亚龟象在荞麦田中的为害情况进行调查; 在室内条件下, 观察西伯利亚龟象对 4 种(蒙 0208、蒙 0207、晋苦 6 和晋苦 2)不同抗虫品种的荞麦的取食选择性, 同时测定不同品种荞麦叶片主要营养物质和次生代谢物质的含量、防御酶及蛋白酶抑制剂的活性。【结果】西伯利亚龟象在蒙 0208 和晋苦 2 上的蛀茎率较高, 分别为 59.22% 和 65.23%, 而在蒙 0207 和晋苦 6 上的蛀茎率较低, 为 47.21% 和 49.61%。西伯利亚龟象对荞麦不同品种的取食选择顺序为: 晋苦 2 > 蒙 0208 > 晋苦 6 > 蒙 0207。荞麦抗虫品种的可溶性蛋白、可溶性糖、脯氨酸、类黄酮和总酚含量均显著低于感虫品种 ($P < 0.05$), 经 Pearson 相关性分析, 西伯利亚龟象对不同荞麦品种的为害选择与叶片中可溶性蛋白 ($R = 0.840$)、可溶性糖 ($R = 0.883$)、脯氨酸 ($R = 0.750$)、类黄酮 ($R = 0.809$) 和总酚 ($R = 0.729$) 含量显著正相关。荞麦抗虫品种的苯丙氨酸解氨酶、过氧化氢酶、胰蛋白酶抑制剂和胰凝乳蛋白酶抑制剂的活性均显著高于感虫品种 ($P < 0.05$), 经 Pearson 相关性分析, 西伯利亚龟象对不同荞麦品种的为害选择与荞麦叶片中苯丙氨酸解氨酶 ($R = -0.837$)、过氧化氢酶 ($R = -0.548$)、胰蛋白酶抑制剂 ($R = -0.579$) 和胰凝乳蛋白酶抑制剂 ($R = -0.797$) 的活性显著负相关。【结论】在供试的 4 个荞麦品种中, 蒙 0207 和晋苦 6 具有较高的抗虫性, 而西伯利亚龟象更偏好取食蒙 0208 和晋苦 2。西伯利亚龟象对不同荞麦品种表现出的抗性与荞麦叶片营养物质和次生代谢物质含量、防御酶以及蛋白酶抑制剂活性等密切相关。

关键词 取食选择; 营养物质; 次生代谢物质; 防御酶; 蛋白酶抑制剂; 抗虫性

Relationship between the biochemical content of buckwheat leaves, defensive enzyme activity and resistance to *Rhinoncus sibiricus*

CHEN Lei** WANG Yu-Fei LI Hai-Ping*** MENG Huan-Wen ZHOU Hong-You

(College of Horticulture and Plant Protection, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China)

Abstract 【Objectives】To investigate the relationship between the damage caused by *Rhinoncus sibiricus*, the amounts of certain biochemical substances in the leaves of different buckwheat varieties and defensive enzyme activity, in order to provide information for selecting pest-resistant varieties of buckwheat. 【Methods】The damage caused by *R. sibiricus* to buckwheat was investigated using the five-point sampling method in the field. The relative preference of *R. sibiricus* for four different buckwheat varieties (Meng 0208, Meng 0207, Jinku 6, Jinku 2) was determined in laboratory experiments. The amounts of major nutrients and secondary metabolites, and defense enzyme and protease inhibitor activity, in the leaves of different buckwheat varieties, were also determined. 【Results】Stem-damage rates on the Meng0208 and Jinku2 buckwheat varieties were 59.22% and 65.23%, respectively; higher than on Meng0207 and Jinku6, which were 47.21% and 49.61%, respectively.

*资助项目 Supported projects: 现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-08-C-3)

**第一作者 First author, E-mail: 956492064@qq.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: lihaiping5820@hotmail.com

收稿日期 Received: 2021-09-28; 接受日期 Accepted: 2022-01-18

The relative preference of *R. sibiricus* for different buckwheat varieties was: Jinku2>Meng0208>Jinku6>Meng0207. The amounts of soluble protein, soluble sugar, proline, flavonoids and total phenol in insect-resistant buckwheat varieties were significantly lower than in insect-sensitive varieties ($P<0.05$). There was a significant, positive correlation between the relative preference of *R. sibiricus* for different buckwheat varieties and the amount of soluble protein ($R=0.840$), soluble sugar ($R=0.883$), proline ($R=0.750$), flavonoids ($R=0.809$) and total phenol ($R=0.729$) in leaves. The activities of phenylalanine aminolase, catalase, trypsin inhibitor and chymotrypsin inhibitor were significantly higher in insect-resistant buckwheat varieties than in insect-sensitive varieties ($P<0.05$). There was a significant, negative correlation between the feeding preferences of *R. sibiricus* for different buckwheat varieties and the activities of phenylalanine aminolase ($R=-0.837$), catalase ($R=-0.548$), trypsin inhibitor ($R=-0.579$) and pancreatic protease inhibitor ($R=-0.797$) in buckwheat leaves. **[Conclusion]** *R. sibiricus* significantly preferred feeding on the leaves of Meng0208 and JinKu2, whereas Meng0207 and Jinku6 had the highest insect resistance respectively among the four buckwheat varieties tested. The palatability of different buckwheat varieties to *R. sibiricus* was closely related to their nutrient content, secondary metabolic substances, defense enzyme activity and protease inhibitor activity.

Key words feeding selection; nutrients; secondary metabolites; defensive enzymes; protease inhibitors; insect resistance

荞麦是一种珍贵的药食同源小宗粮食作物,素有“五谷之王”的美称(常庆涛等, 2021)。荞麦的营养价值高,不但富含多种优质蛋白质、B 族维生素、矿物质和膳食纤维,还含有大量其他农作物所缺乏的生物活性成分,是集营养、保健和医疗于一体的天然保健食品,对于预防和治疗糖尿病、高血压及肥胖等“现代文明病”,以及抗氧化、抗衰老及改善亚健康状态等方面具有良好效果(李双红等, 2015; 王鹏科等, 2016)。荞麦的生育期短,抗逆性强,病虫害相对较少(李安仁, 1998)。西伯利亚龟象 *Rhinoncus sibiricus* 是 2013 年在内蒙古自治区赤峰市突然暴发的一种荞麦上的重要害虫(卜一等, 2014),给荞麦生产带来巨大危害,而且近年来在荞麦产区不断扩散(Meng *et al.*, 2019)。目前,关于西伯利亚龟象的防治以化学防治为主,这与荞麦绿色保健功能相矛盾(王欣欣等, 2020)。因此,寻找西伯利亚龟象的绿色防治方法,对荞麦生产就显得尤为重要。

选用抗虫植物品种是害虫防治的一个有效措施,可以长期有效地解决虫害的问题(Silva *et al.*, 2020)。植物的抗虫性和植物体内营养物质及次生代谢物质含量等密切相关,这些物质可以影响昆虫的行为、生长和发育等(杨乃博等, 2014; 王景顺等, 2015)。植物营养成分的差异往往对害虫是否选择该植物作为寄主具有一定的影响(李国清和王荫长, 1997)。许多次生代

谢物质通过对昆虫有毒或具有威慑作用提高了植物对昆虫的抗性,为优化植物防御昆虫提供了新途径(Angela, 2018)。植物受到虫害后,自身正常的生长代谢平衡会受到影响,为应对虫害的胁迫,植物会启动相关酶系统进行防御,相关酶活性的变化在一定程度上反映了寄主植物的抗虫能力(杨金睿和肖美丽, 2021)。

内蒙古是全国荞麦的主产区之一,鉴于西伯利亚龟象对荞麦的危害,陈磊等(2022)研究了不同种类杀虫剂对西伯利亚龟象的毒力和作用机制,但有关西伯利亚龟象与寄主植物之间的相互作用机制国内外尚无报道。为此,本研究选取内蒙古各地广泛种植的 4 个荞麦栽培品种,通过田间调查和室内取食选择性实验,明确西伯利亚龟象对荞麦不同品种的选择偏好,分析不同抗性荞麦叶片的营养物质和次生代谢物质的含量、防御酶与蛋白酶抑制剂的活性及其与西伯利亚龟象抗性的关系,以期为深入研究荞麦对西伯利亚龟象的抗性机制及荞麦的抗虫育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试荞麦

试验选用荞麦品种为蒙 0208、蒙 0207、晋苦 6 和晋苦 2,其中蒙 0208 和蒙 0207 属于甜荞,晋苦 6 和晋苦 2 属于苦荞。

在实验室条件下,挑选饱满粒大的上述品种荞麦种子播种于花盆(直径 25 cm)中,待荞麦出苗后 20 d(或者当荞麦长到 4 叶片时)采集荞麦叶片,用于室内测定叶片营养物质、次生代谢物质含量及防御酶活性。

1.2 供试虫源

西伯利亚龟象成虫,采自内蒙古自治区赤峰市林西县四合村荞麦地(43°38'3"N, 118°12'35"E),带回室内直接接种到预先已经种好的通养 2 号荞麦(赤峰市当地种植品种)上饲养。饲养条件:温度(27±1)℃、相对湿度 60%±5%、光周期 14L:10D。试验前饥饿 6 h,挑选发育良好、形态大小一致的成虫作为供试昆虫。

1.3 试剂与仪器

考马斯亮蓝 G-250、Folin 试剂(Fluka 公司);氯化硝基四氮唑蓝(NBT)、L-苯丙氨酸、巯基乙醇(Sigma 公司);聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、EDTA-Na₂(Amresco 公司);5-磺基水杨酸二水合物、单宁酸、N-苯甲酰-L-酪氨酸乙酯、N α -苯甲酰-L-精氨酸乙酯盐酸盐、99%没食子酸、N-苯基硫脲、愈创木酚和 AR 蒽酮(Macklin 公司);其余均为国产分析纯。

KQ2200DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);超高速冷冻离心机(HETTICH, universal 32R, Japan);紫外可见分光光度计(日立 U-2910);电热鼓风干燥箱(GZX-9240MBE);电子天平(Sartorius 2004MP)。

1.4 实验方法

1.4.1 试验田概况 试验田设置在内蒙古自治区乌兰察布市凉城县西永乐村(40°58'80"N, 112°71'70"E)、赤峰市林西县大发村(43°62'20"N, 118°18'26"E)和包头市萨拉齐职业技术学院(40°35'19"N, 110°34'31"E),4 个品种荞麦均在 6 月中旬(荞麦适宜播期)种植,播种方式为人工穴播,每个荞麦品种为 1 个处理,每个处理设 3 个重复试验小区,小区面积为 100 m²,完全随机区组排列。7 月中旬(虫害高

峰期)开始调查各试验田试验材料的受害情况。试验期间按常规水肥管理,不使用任何杀虫剂。

1.4.2 西伯利亚龟象对不同荞麦品种的蛀茎率 2018 年和 2019 年,对荞麦试验田内西伯利亚龟象的蛀茎率进行调查。采用 5 点取样法,每一地块随机选择 5 点,每点选择 1 m² 作为调查样地,割掉样地内的全部荞麦,带回实验室,用镰刀从根部自下而上切割检查蛀茎幼虫,调查西伯利亚龟象幼虫的蛀茎率,记录并统计幼虫数量。每块试验田 3 次重复。

蛀茎率(%) = 危害荞麦株数/荞麦总株数 × 100。

1.4.3 西伯利亚龟象对不同品种荞麦的取食选择性 试验参考葛超美等(2018)的方法,略有修改。剪取 4 个荞麦品种长势基本一致的 4 叶期幼苗,用脱脂棉包住根部保湿,随机等距排放在白色塑料盆(直径 20 cm)中围成一圈,各品种叶片互不交叉接触,然后在塑料盆的中心位置接入 10 只饥饿 6 h 的西伯利亚龟象成虫,置于纱网养虫笼中任其自由选择取食。分别于接虫后 1、3、6、9、12 和 24 h 观察记录各品种荞麦叶片上虫口数量,计算不同荞麦叶片上取食的成虫数量占全部供试成虫数量的百分率得出取食选择率。重复 5 次。

1.4.4 不同荞麦品种抗虫性鉴定 参考李向东等(2012)的方法,结合实际情况略作修改。采用田间虫害自然鉴定与室内西伯利亚龟象对不同荞麦品种的选择性试验相结合,对 4 个荞麦品种进行抗西伯利亚龟象鉴定及抗虫性评价研究,用目测抗虫指数调查法,计算平均抗虫系数,最终得到综合抗虫系数进行评价。虫害分级及抗性评价标准见表 1。

1.4.5 荞麦叶片主要营养物质、次生代谢物质含量、防御酶及蛋白酶抑制剂活性的测定 选取生长情况相同的不同品种荞麦叶片,冲洗表面杂质晾干,剪碎混匀,按各个测定指标所需的量进行称取。

营养物质含量测定:分别采用考马斯亮蓝 G-250 法(Bradford, 1976)和蒽酮比色法(李合生, 2000)测定可溶性蛋白及可溶性糖的含量。

表 1 西伯利亚龟象对荞麦危害调查分级及荞麦抗虫性评价标准
Table 1 Investigation and classification of damage to buckwheat and evaluation
standard of resistance to *Rhinoncus sibiricus*

级别 Classes	虫害调查分级标准 Classification standard for pest survey	取食为害分级标准 Classification standards for feeding hazards	抗性类型 The type of resistance
0	子叶和真叶上无被害状 Cotyledons and true leaves are not damaged	取食选择率为 0-5% Feeding selection rate is 0-5%	高抗 (HR) High resistance
1	子叶和真叶上有零星被害 Sporadic damage of cotyledons and true leaves	取食选择率为 6%-10% Feeding selection rate is 6%-10%	中抗 (MR) Medium resistance
2	子叶和真叶上有 1/3 以下面积被害 Less than 1/3 of the cotyledons and true leaves are damaged	取食选择率为 11%-15% Feeding selection rate is 11%-15%	抗虫 (R) Resistance
3	子叶和真叶上有 1/3-1/2 面积被害 1/3-1/2 of the cotyledons and true leaves are damaged	取食选择率为 16%-20% Feeding selection rate is 16%-20%	感虫 (S) Susceptibility
4	子叶和真叶上有 1/3-2/3 面积被害 1/3-2/3 of the cotyledons and true leaves are damaged	取食选择率为 21%-25% Feeding selection rate is 21%-25%	中感 (MS) Medium susceptibility
5	子叶和真叶有 2/3 以上面积被害 More than 2/3 of the cotyledons and true leaves are damaged	取食选择率为 25%以上 Feeding selection rate of 25% or more	高感 (HS) High susceptibility

采用酸性茚三酮法 (李合生, 2000) 测定脯氨酸含量。

次生代谢物质含量测定: 类黄酮、总酚含量的测定分别采用芦丁比色法和福林法 (Andrew and Michael, 1976), 单宁的测定采用福林酚-比色法 (蔡永萍, 2014)。

防御酶活性的测定: 采用 NBT 光还原法测定超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD) 活性 (李合生, 2000), 愈创木酚法测定过氧化物酶 (Peroxidase, POD) 活性 (高俊凤, 2006), 紫外吸收法测定过氧化氢酶 (Catalase, CAT) 活性 (李合生, 2000), 苯丙氨酸比色法测定苯丙氨酸解氨酶 (Phenylalanine ammonia-lyase, PAL) 活性 (薛应龙, 1985)。

蛋白酶抑制剂活性测定: 荞麦叶片胰蛋白酶抑制剂 (Trypsin inhibitor, TI) 和胰凝乳蛋白酶抑制剂 (Chymotrypsin inhibitors, CI) 的活性测定采用张健等 (2009) 的方法进行测定。

1.5 数据处理及分析

采用 Microsoft Excel 2010 软件对数据进行处理和绘图, 采用 SPSS 25.0 统计分析软件对数

据进行差异性显著检验和相关性 (Pearson) 分析, 采用 Duncan’s 多重比较检验各品种间测定指标的差异。

2 结果与分析

2.1 不同荞麦品种对西伯利亚龟象蛀茎率的影响

综合西伯利亚龟象对 3 地不同荞麦品种的蛀茎率, 西伯利亚龟象对蒙 0208 和晋苦 2 的蛀茎率显著高于蒙 0207 和晋苦 6 ($P<0.05$) (表 2)。其中, 甜荞品种蒙 0207 的蛀茎率比蒙 0208 低 20%, 苦荞品种晋苦 6 的蛀茎率比晋苦 2 低 24%。这一结果与田间调查一致, 说明蒙 0208 和晋苦 2 是相对感虫品种, 蒙 0207 和晋苦 6 是相对抗虫品种。

2.2 西伯利亚龟象对荞麦不同品种叶片的取食选择性

西伯利亚龟象对 4 个不同品种荞麦叶片的取食选择结果见图 1。随着取食选择时间的延长, 西伯利亚龟象成虫对荞麦 4 个品种的取食选择率均大致表现为上升趋势。西伯利亚龟象成虫对

表 2 西伯利亚龟象对不同抗性品种荞麦的蛀茎率

Table 2 Stem-damage rate of *Rhinoncus sibiricus* to different buckwheat varieties

年份 Year	地区 Regions	蛀茎率 (%) Stem-damage rate (%)			
		蒙 0208 Meng0208	蒙 0207 Meng0207	晋苦 6 Jinku6	晋苦 2 Jinku2
2018	乌兰察布市凉城县西永乐村 West yongle village, Liangcheng county, Wulanchabu city	68.38±3.01b	59.70±1.57b	60.62±3.24b	77.01±2.39a
2018	赤峰市林西县大发村 Dafa village, Linxi county, Chifeng city	86.66±2.62a	72.34±3.05b	77.58±3.80ab	87.92±4.66a
2019	包头市萨拉齐职业技术学院 Salaqi vocational and technical college, Baotou	22.62±2.83a	9.61±3.20b	10.65±2.43b	30.77±2.55a
平均综合蛀茎率 Average comprehensive stem-damage rate		59.22±1.05a	47.21±1.53b	49.61±1.17b	65.23±3.22a

表中数值为平均值±标准误。同行数据后标有不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。下表同。

Date in the table are mean±SE, and followed by the different lowercase letters in the same row indicate significant differences at 0.05 level. The same below.

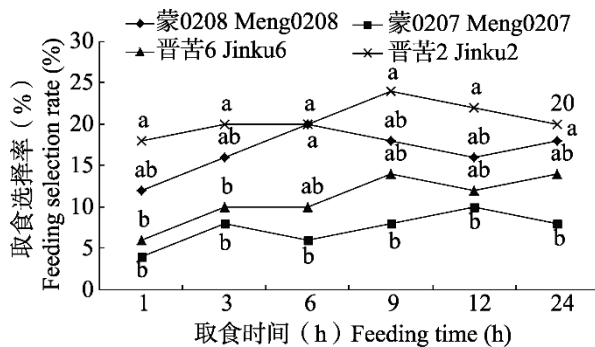


图 1 西伯利亚龟象对不同荞麦品种叶片的取食选择性

Fig. 1 Feeding selection of *Rhinoncus sibiricus* to leaves of different buckwheat

图中标有不同小写字母表示在同一时间不同荞麦品种间取食选择率差异显著 ($P<0.05$, Duncan's 检验)。

Different lowercase letters indicate significant differences in feeding selection rate between different buckwheat varieties at the same time ($P<0.05$, Duncan's test).

晋苦 2 和晋苦 6 叶片的取食选择率在接虫后 9 h 均达到最大值, 分别为 24% 和 14%。对蒙 0208 叶片的取食选择率在接虫后 6 h 达到最大值, 为 20%。对蒙 0207 叶片的取食选择率在接虫后 12 h 达到最大值, 为 10%。随后均呈逐渐下降趋势。在 24 h 内, 西伯利亚龟象成虫对 4 个荞麦品种叶片的取食选择率总体表现为: 晋苦 2 > 蒙 0208 > 晋苦 6 > 蒙 0207。

2.3 不同荞麦品种抗虫性评价

通过对不同荞麦品种进行田间自然鉴定和室内取食选择性试验调查, 综合评价 4 个供试荞麦品种的抗虫性表现见表 3。田间自然鉴定结果表明, 蒙 0207 和晋苦 6 为抗虫品种, 蒙 0208 为感虫品种, 晋苦 2 为中感品种。室内取食试验结果表明, 蒙 0207 为中抗品种, 晋苦 6 为抗虫品种, 蒙 0208 为感虫品种, 晋苦 2 为中感品种。综合试验评价不同荞麦品种抗虫性表现为, 蒙 0207 为中抗品种, 晋苦 6 为抗虫品种, 蒙 0208 为感虫品种, 晋苦 2 为中感品种。

2.4 不同荞麦品种苗期叶片营养物质含量

荞麦抗虫和感虫品种苗期叶片中的脯氨酸、可溶性蛋白和可溶性糖含量均存在显著差异 ($P<0.05$) (图 2)。其中甜荞感虫品种蒙 0208 的脯氨酸含量 (0.05 mg/g) 显著高于抗虫品种蒙 0207 (0.01 mg/g) ($P<0.05$), 苦荞感虫品种晋苦 2 的脯氨酸含量 (0.09 mg/g) 显著高于抗虫品种晋苦 6 (0.08 mg/g) ($P<0.05$)。不同抗性品种荞麦叶片中可溶性蛋白和可溶性糖的含量也表现出类似的规律, 甜荞感虫品种蒙 0208 叶片中可溶性蛋白含量是抗虫品种蒙 0207 的 2.2 倍, 苦荞感虫品种晋苦 2 叶片中可溶性蛋白含量是抗

表 3 不同荞麦品种抗西伯利亚龟象试验评价结果

Table 3 Assessment result about *Rhinoncus sibiricus*-resistance of different buckwheat varieties

品种 Varieties	田间自然鉴定实验 Field experiments		室内取食选择实验 Feeding selection experiments		综合试验评价结果 Multiple of insect resistance result
	抗虫系数 Insect resistance coefficient	抗性类型 Resistance type	抗虫系数 Insect resistance coefficient	抗性类型 Resistance type	
蒙 0208 Meng0208	3	感虫 (S) Susceptibility	3	感虫 (S) Susceptibility	感虫 (S) Susceptibility
蒙 0207 Meng0207	2	抗虫 (R) Resistance	1	中抗 (MR) Medium resistance	中抗 (MR) Medium resistance
晋苦 6 Jinku6	2	抗虫 (R) Resistance	2	抗虫 (R) Resistance	抗虫 (R) Resistance
晋苦 2 Jinku2	4	中感 (MS) Medium susceptibility	4	中感 (MS) Medium susceptibility	中感 (MS) Medium susceptibility

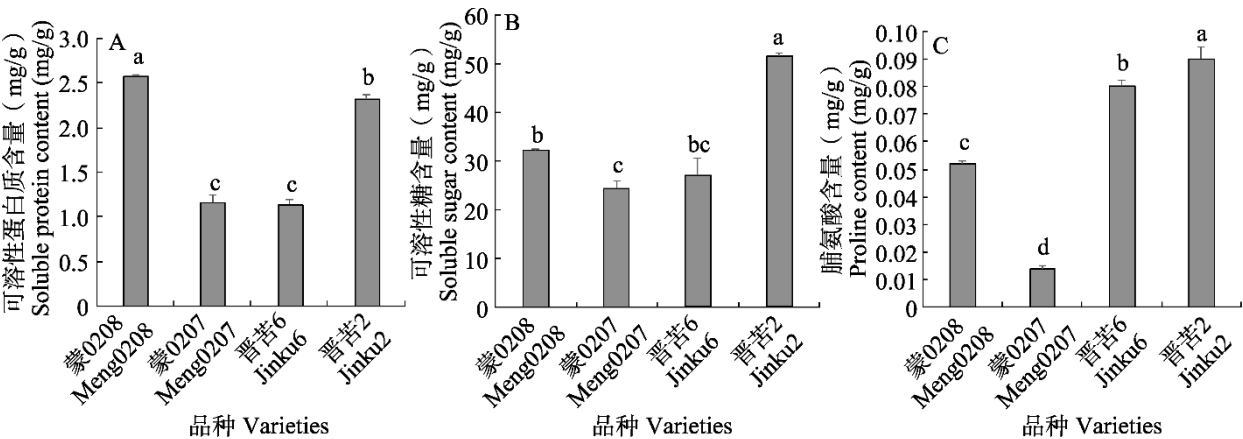


图 2 不同品种荞麦苗期叶片营养物质含量

Fig. 2 Nutrient content in leaves of different buckwheat varieties at seedling stage

A. 可溶性蛋白含量; B. 可溶性糖含量; C. 脯氨酸含量。
A. Soluble protein content; B. Soluble suger content; C. Proline content.
图中数据为平均值±标准误, 柱上标有不同小写字母表示经多重比较差异显著 ($P<0.05$, Duncan’s 多重比较检验)。下图同。
Data are mean±SE. Histograms with different lowercase letters indicate significant differences at the 0.05 level by Duncan’s multiple comparison. The same below.

虫品种晋苦 6 的 2.1 倍。甜荞感虫品种蒙 0208 叶片中可溶性糖含量是抗虫品种蒙 0207 的 1.3 倍, 苦荞感虫品种晋苦 2 叶片中可溶性糖含量是抗虫品种晋苦 6 的 1.9 倍。Pearson 相关性分析表明, 西伯利亚龟象对荞麦不同抗性品种的为害选择与叶片脯氨酸 ($R=0.750$)、可溶性蛋白 ($R=0.840$)、可溶性糖 ($R=0.883$) 含量存在显著正相关关系 ($P<0.05$)。

2.5 不同荞麦品种苗期叶片次生代谢物质含量

荞麦抗虫和感品种苗期叶片中的类黄酮和总酚含量差异显著 ($P<0.05$) (图 3)。甜荞抗虫品种蒙 0207 和苦荞抗虫品种晋苦 6 苗期叶片类黄酮含量及总酚含量都显著低于感虫品种蒙 0208 和晋苦 2 ($P<0.05$)。苦荞抗虫品种晋苦 6 叶片中单宁含量 (3.53 mg/g) 显著高于感虫品种

晋苦 2 (2.14 mg/g) ($P < 0.05$), 甜荞品种蒙 0208 和蒙 0207 叶片中单宁含量的差异未达到显著水平 ($P > 0.05$)。Pearson 相关性分析表明, 西伯利亚龟象对荞麦不同抗性品种的为害选择与叶片类黄酮 ($R = 0.809$) 和总酚 ($R = 0.729$) 含量存在

显著正相关关系 ($P < 0.05$)。

2.6 不同荞麦品种苗期叶片防御酶活性

供试荞麦抗、感品种苗期叶片中 PAL 和 CAT 活性差异显著 ($P < 0.05$) (图 4)。其中, 甜荞和

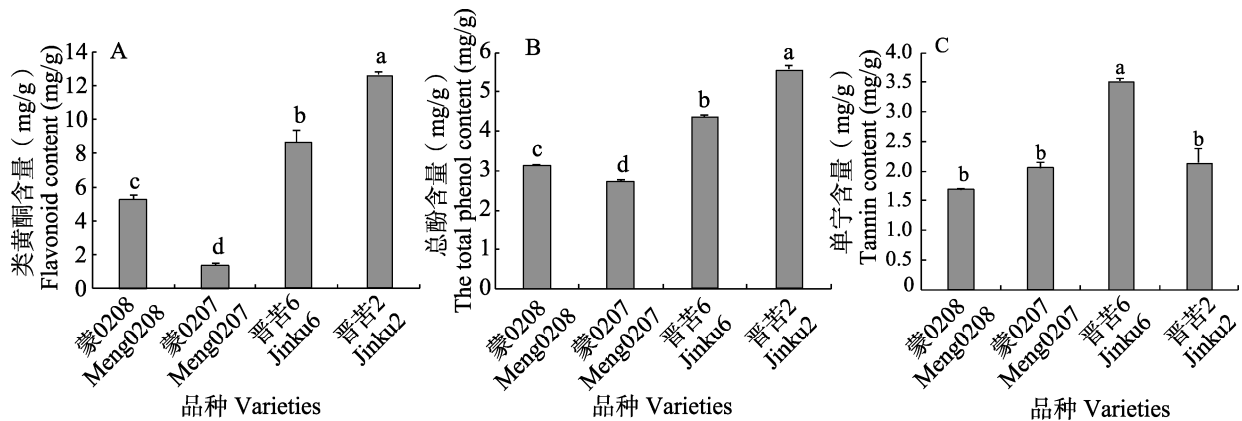


图 3 不同品种荞麦苗期叶片次生代谢物质含量

Fig. 3 Contents of secondary metabolites in leaves of different varieties at seedling stage

A. 类黄酮含量; B. 总酚含量; C. 单宁含量。

A. Flavonoid content; B. The total phenol content; C. Tannin content.

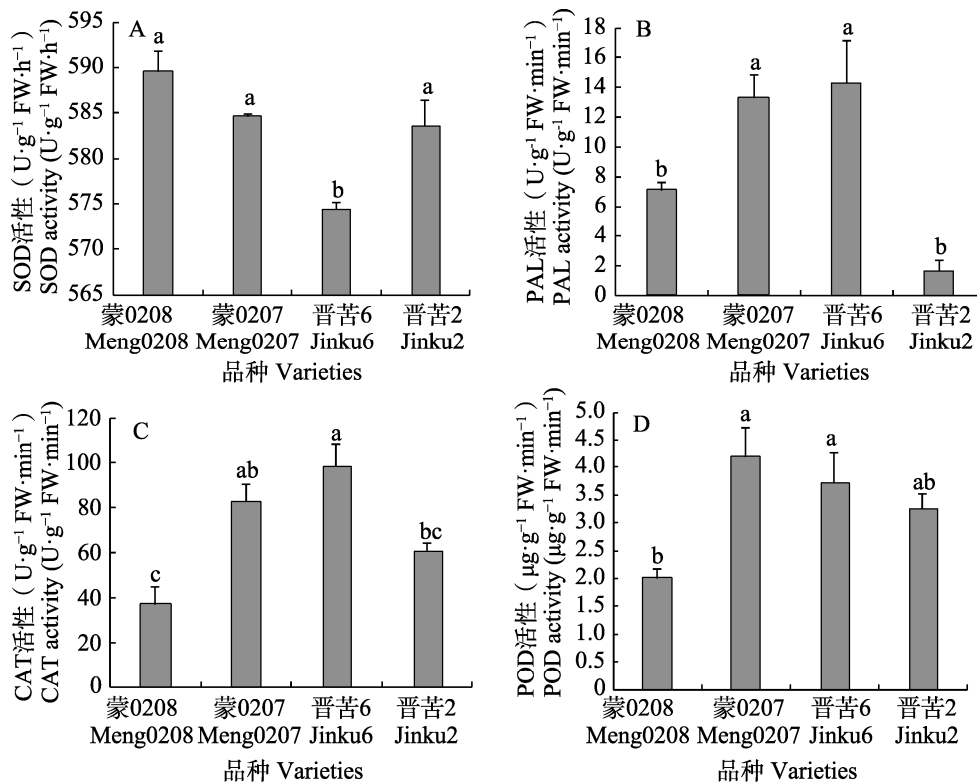


图 4 不同品种荞麦苗期叶片防御酶活性

Fig. 4 Defensive enzyme activity in leaves of different buckwheat varieties at seedling stage

A. SOD 活性; B. PAL 活性; C. CAT 活性; D. POD 活性。

A. SOD activity; B. PAL activity; C. CAT activity; D. POD activity.

苦荞抗虫品种蒙 0207 和晋苦 6 的 PAL 和 CAT 活性均显著高于其感虫品种蒙 0208 和晋苦 2。其中甜荞抗虫品种蒙 0207 的 PAL 和 CAT 活性比感虫品种蒙 0208 分别高 47%和 55%，苦荞抗虫品种晋苦 6 的 PAL 和 CAT 活性比感虫品种晋苦 2 高 88%和 38%，Pearson 相关性分析表明，西伯利亚龟象对荞麦不同抗性品种的为害选择与叶片 PAL ($R = -0.837$) 和 CAT ($R = -0.548$) 活性存在显著负相关关系 ($P < 0.05$)。不同抗虫和感虫品种叶片 POD 活性也存在类似的规律，但苦荞抗虫和感虫品种间 POD 活性差异未达到显著水平 ($P > 0.05$)。另外发现，荞麦不同抗虫和感虫品种间 SOD 活性无明显规律。

2.7 不同荞麦品种苗期叶片蛋白酶抑制剂活性

荞麦抗虫和感虫品种苗期叶片中的胰蛋白酶抑制剂 (TI) 活性和胰凝乳蛋白酶抑制剂 (CI) 活性差异显著 ($P < 0.05$) (图 5)。甜荞抗虫品种蒙 0207 和苦荞抗虫品种晋苦 6 的 TI 活性显著高于感虫品种蒙 0208 和晋苦 2 ($P < 0.05$)，是其活性的 5.99 倍和 2.63 倍。抗虫品种蒙 0207 和晋苦 6 CI 活性显著高于感虫品种蒙 0208 和晋苦 2 ($P < 0.05$)，分别是其活性的 3.0 倍和 4.6 倍 (图 5)。Pearson 相关性分析表明，西伯利亚龟象对荞麦不同抗性品种的为害选择与叶片 TI ($R = -0.579$) 和 CI ($R = -0.797$) 活性存在显著负相关关系 ($P < 0.05$)。

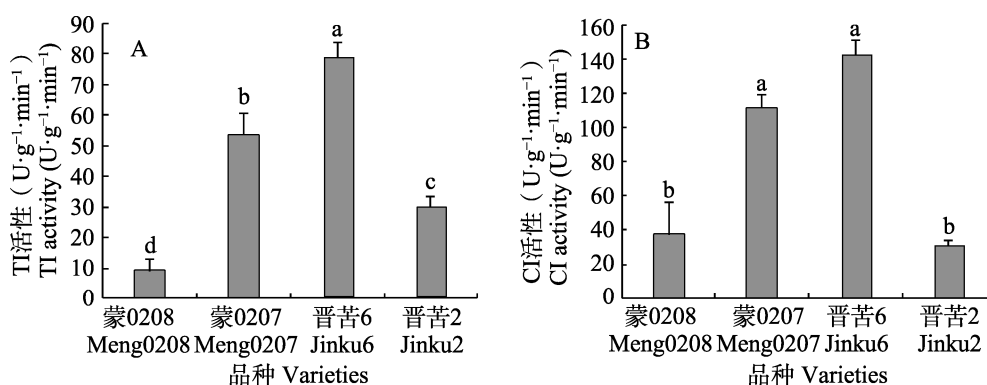


图 5 不同品种荞麦苗期叶片蛋白酶抑制剂活性

Fig. 5 Activity of protease inhibitor in leaves of different buckwheat varieties at seedling stage

A. TI 活性; B. CI 活性。

A. TI activity; B. CI activity.

3 讨论

植物在与昆虫的长期协同进化过程中，已进化出有效的防御机制来应对多样化的害虫攻击，以寻求最合适的生存对策 (Ausubel, 2005)。植物在受到昆虫的取食后，会产生一系列的生理生化反应，从而对昆虫产生负面作用，如一些营养成分的变化、防御蛋白的产生进而影响害虫的生长发育，次生代谢产物的产生以忌避或抑制昆虫的取食等 (许冬等, 2009)。本研究通过西伯利亚龟象对荞麦的田间蛀茎率调查和室内取食选择试验发现，西伯利亚龟象对供试 4 个荞麦品种均表现出明显的一致性，即西伯利亚龟象成虫对

蒙 0208 和晋苦 2 的取食偏好和蛀茎选择均高于蒙 0207 和晋苦 6，抗虫性评价结果显示蒙 0207 和晋苦 6 是抗虫品种，蒙 0208 和晋苦 2 是感虫品种。这种昆虫对不同寄主植物所表现出的不同适应性可能与寄主植物中的营养物质、次生代谢物质以及防御蛋白等理化性质密切相关，这些理化性质的差异往往决定着植物的抗虫水平 (王琛柱和钦俊德, 2007; Chen *et al.*, 2014)。

植物体内所含有的营养成分是植食性昆虫生长发育所必须的能量来源，昆虫从寄主植物中汲取的能量取决于寄主植物所含营养物质的成分和含量 (杨乃博等, 2014)。陈青等 (2016) 研究发现，抗蚜西瓜品种叶组织中的脯氨酸含量

显著低于感蚜品种。韦婉玲等 (2017) 对不同木薯品种对朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinu* 的抗性研究中发现, 木薯叶片中可溶性糖、可溶性蛋白和脯氨酸含量越低, 越不利于朱砂叶螨的生长和发育。本研究结果表明, 甜荞和苦荞抗虫品种中的可溶性蛋白、可溶性糖、脯氨酸含量均显著低于感虫品种, 这与杨宇晖等 (2013) 报导的蕾期棉蕾中蛋白质和可溶性糖含量与其对绿盲蝽 *Apolygus lucorum* Meyer-Dür 抗性存在显著负相关的结果类似。营养物质对植物的生长很重要, 同样对取食植物的植食性昆虫也很重要, 相同情况下西伯利亚龟象更趋向于营养物质含量高的品种, 从而为自身生命活动提供足够的能量。因此植物主要营养物质含量可以作为抗虫育种选择的因素之一。

植物的逆境反应包括一系列分子和信号反应, 这些反应是在感受到特定组合的生物或非生物逆境后启动的, 这些逆境可能导致次生代谢物质的诱导 (Saharkhiz *et al.*, 2010)。这种诱导反应在植物与昆虫的相互作用中起着非常重要的作用 (Lorena *et al.*, 2020)。马荣金等 (2015) 研究发现, 黄瓜抗蚜品种的黄酮、单宁和总酚含量均显著高于感蚜品种。雒珺瑜等 (2012) 报道了棉花叶片中棉酚和单宁含量与绿盲蝽抗性存在显著正相关。本试验结果表明, 荞麦抗虫品种蒙 0207 和晋苦 6 叶片中类黄酮和总酚含量显著低于感虫品种蒙 0208 和晋苦 2。单宁含量则表现出相反的趋势, 但与抗虫性的差异不显著。这可能是西伯利亚龟象对类黄酮和总酚耐受性较强, 这 2 种次生代谢物质无法对西伯利亚龟象的取食偏好和蛀茎选择产生明显的影响。陈锐等 (2020) 研究发现小麦对麦红吸浆虫 *Sitodiplosis mosellana* Gehin 的抗性与小麦灌浆期籽粒单宁、总酚和总黄酮含量相关性不显著, 仅与阿魏酸含量显著相关。本研究显示, 不同抗性品种荞麦中总酚和类黄酮含量不同, 荞麦的抗虫性与这 2 种物质含量负相关。因此, 在以后荞麦抗虫育种研究中, 应充分考虑总酚和类黄酮含量在抗虫性中的作用。植物中含有的次生代谢物质很多, 不同植物其抗虫性可能与某一种或多种次生代谢物

质含量相关 (陈锐等, 2020)。本文仅研究了 3 种次生代谢物质含量与荞麦抗虫性的关系, 并未对其他次生代谢物质进行研究。而植物次生代谢物质与植物抗虫性的关系比较复杂, 在未来的研究中还应该继续深入评估其他物质的作用。

植物在受到病虫害的侵害时, 会诱导植物自身启动相关的防御反应, 从而引发相关防御酶活性的增加, 包括 SOD、POD、CAT、PAL 和 PPO 等一系列防御酶活性的高低与品种抗性有一定的关系 (Ma *et al.*, 2018)。冯建雄等 (2019) 的研究发现, 油菜抗虫品系中的 POD 和 PAL 活性显著高于感虫品系, 而 SOD 则关系不明显。林玲等 (2014) 报道发现, SOD 和 CAT 活性与葡萄品种抗霜霉病的相关性不明显, 而 POD 活性与葡萄抗霜霉病之间存在一定相关性。本试验研究结果表明, 抗虫品种荞麦叶片中 PAL 和 CAT 活性显著高于感虫品种, 而抗虫和感虫品种间 SOD 和 POD 活性则关系不明显, 这与上述等 (林玲等, 2014; 冯建雄等, 2019) 的研究结果不完全相同。PAL 在清除次生代谢物的苯丙烷循环中起着关键作用, CAT 是植物体内参与活性氧清除的重要酶系 (张斌等, 2016; Guo *et al.*, 2018), 本试验中西伯利亚龟象对不同品种荞麦的为害选择与 PAL 和 CAT 的活性存在显著负相关关系, 推测在荞麦抗虫品种中, 累积的次生代谢物质和活性氧较多, 影响了西伯利亚龟象的取食选择。此外, 植物抗逆反应是多种防御酶综合作用的结果, 相同防御酶在不同植物抗虫性中可能起的作用不同。从本试验的研究结果看, PAL 和 CAT 在荞麦对西伯利亚龟象的抗性中发挥着一定的作用, 在荞麦抗性品种的培育中应加以考虑。

植物常利用其种子或组织包含的蛋白酶抑制剂或其他可以降低昆虫伤害的蛋白酶来抑制植食性昆虫取食 (彭露等, 2010)。胰蛋白酶抑制剂 (TI) 和胰凝乳蛋白酶抑制剂 (CI) 能与昆虫肠道蛋白水解酶结合, 抑制昆虫消化酶活性 (于飞等, 2004)。它们还可以刺激昆虫消化酶的过度合成和分泌, 扰乱昆虫的正常代谢, 影响昆虫体内水分的平衡、蜕皮的调节和酶的活性, 最终导致昆虫的异常发育, 甚至死亡 (Tanja

et al., 1998)。樊艳平等(2017)在绿豆抗豆象, 冯建雄等(2019)在油菜抗黄宽条跳甲 *Phyllotreta humilis* 的研究中, 均发现抗虫品种蛋白酶抑制剂活性高于感虫品种, 这与本试验的研究结果一致。这表明蛋白酶抑制剂活性在植物抗虫性中起着重要作用, 蛋白酶抑制剂活性越高, 植物抗虫性越强。

荞麦作为一种药食同源类特色作物, 具有很高的营养价值、保健价值和经济价值。随着荞麦产业的发展和荞麦食品的开发, 荞麦的需求量逐年上升。但由于我国荞麦种植机械化程度低, 生产力成本上升等一系列问题, 导致荞麦产业发展存在一定阻碍, 西伯利亚龟象的发生也给内蒙古地区荞麦的生产带来很大的负面影响。因此, 深入探究荞麦不同品种与抗虫性的关系, 充分挖掘生化物质在植物抗虫中的作用, 对选育荞麦抗虫品种, 从而减少化学农药的使用具有非常重要的意义。

参考文献 (References)

- Andrew P, Michael GM, 1976. Changes in anthocyanin and phenolic content of grapevine leaf and fruit tissue treated with sucrose, nitrate and abscisic acid. *Plant Physiology*, 58(4): 486–472.
- Angela ED, 2018. Strategies for enhanced crop resistance to insect pests. *Annual Review of Plant Biology*, 69: 637–660.
- Ausubel FM, 2005. Are innate immune signaling pathways in plants and animals conserved? *Nature Immunology*, 6(10): 973–979.
- Bo Y, Li JC, Wang XX, Tang C, Lu GX, Li BH, 2014. A preliminary study on biological behavior of *Rhinoncus sibiricus* Faust. *China Plant Protection*, 34(8): 56–57. [卜一, 李尽朝, 王欣欣, 唐超, 路耿新, 李炳海, 2014. 西伯利亚龟象生物学特性研究初报. 中国植保导刊, 34(8): 56–57.]
- Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Annals Biochemistry*, 72: 248–254.
- Cai YP, 2014. *Plant Physiology Experiment Guidance*. Beijing: China Agricultural University Press. 179–181. [蔡永萍, 2014. 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业大学出版社. 179–181.]
- Chang QT, Jiang Y, Wang QY, Wang A, Wu W, Chang L, Jiang JJ, Huang RH, 2021. General situation, research status and prospect of buckwheat production in Jiangsu province. *Journal of Zhejiang Agricultural Sciences*, 62(7): 1274–1277. [常庆涛, 蒋莹, 王全友, 王安, 吴薇, 常蕾, 蒋建军, 黄荣华, 2021. 江苏省荞麦生产概况、研究现状与展望. 浙江农业科学, 62(7): 1274–1277.]
- Chen H, Li GL, K(o)llner TG, Jia QD, Gershenzon J, Chen F, 2014. Positive darwinian selection is a driving force for the diversification of terpenoid biosynthesis in the genus *Oryza*. *BMC Plant Biol.*, 14(1): 239.
- Chen L, Wang YF, Meng HW, Li HP, Zhou HY, 2022. Toxicity and mechanism of insecticides to *Rhinoncus sibiricus* Faust in buckwheat. *Journal of Environmental Entomology*, 44(1): 237–244. [陈磊, 王宇飞, 孟焕文, 李海平, 周洪友, 2022. 不同杀虫剂对荞麦害虫西伯利亚龟象的毒力及作用机制研究. 环境昆虫学报, 44(1): 237–244.]
- Chen Q, Lu FP, Lu H, Li Q, Xu XL, 2016. The correlation between several chemical substances and watermelon resistance to *Aphis gossypii*. *Acta Phytopylacica Sinica*, 43(5): 858–863. [陈青, 卢芙蓉, 卢辉, 李迁, 徐雪莲, 2016. 几种生化物质与西瓜抗蚜性的相关性. 植物保护学报, 43(5): 858–863.]
- Chen R, Gao H, Zhang GJ, Zhu KY, Cheng WN, 2020. Effects of secondary metabolites in wheat kernels on activities of three detoxifying enzymes and related gene expression in *Sitodiplosis mosellana*. *Scientia Agricultura Sinica*, 53(20): 4204–4214. [陈锐, 高贺, 张国军, 朱克岩, 成卫宁, 2020. 小麦籽粒次生物质对麦红吸浆虫幼虫解毒酶活性及基因表达的影响. 中国农业科学, 53(20): 4204–4214.]
- Fan YP, Zhang YW, Zhao XY, Zhang XH, 2017. Activity and physico chemical properties of trypsin inhibitor in bruchid-resistant mung bean. *Acta Agronomica Sinica*, 43(11): 1696–1704. [樊艳平, 张耀文, 赵雪英, 张仙红, 2017. 抗豆象绿豆胰蛋白酶抑制剂活性及理化性质. 作物学报, 43(11): 1696–1704.]
- Feng JX, Dong XL, Yang BH, Chang J, Li HP, 2019. Relationships between the nutrient contents and activities of defense enzymes in rape leaves and its resistance to *Phyllotreta humilis*. *Plant Protection*, 45(3): 49–54. [冯建雄, 董晓亮, 杨博慧, 常静, 李海平, 2019. 油菜叶片营养物质含量和防御酶活性与其对黄宽条跳甲抗性的关系. 植物保护, 45(3): 49–54.]
- Gao JF, 2006. *The Guidance of Plant Physiology Experiments*. Beijing: Higher Education Press. 217–218. [高俊凤, 2006. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社. 217–218.]
- Ge CM, Zhang JX, Sun QY, Ye T, Xia XJ, Zhang R, Ding Y, 2018. Feeding preference and adaptation of *Ectopis griseascens* (Lepidoptera: Geometridae) to different tea cultivars and their relationship with nutritional components in leaves of tea plants. *Acta Entomologica Sinica*, 61(11): 1300–1309. [葛超美, 张家侠, 孙钦玉, 叶涛, 夏先江, 张冉, 丁勇, 2018. 灰茶尺蠖对不同茶树品种取食选择与适应性及与茶树叶片营养成分的关系.

- 昆虫学报, 61(11): 1300–1309.]
- Guo ZG, Wang MX, Cui L, Han BY, 2018. Research progress on the underlying mechanisms of plant defense enzymes in response to pest stress. *The Journal of Applied Ecology*, 29(12): 4248–4258.
- Li AR, 1998. Flora of China. Beijing: Science Press. 108–112. [李安仁, 1998. 中国植物志. 北京: 科学出版社. 108–112.]
- Li GQ, Wang YC, 1997. Nutrition and secondary substances and insect resistance in plants. *Plant Physiology Communications*, 33(6): 513. [李国清, 王荫长, 1997. 营养和次生物质与植物抗虫性. 植物生理学通讯, 33(6): 513.]
- Li HS, 2000. Principles and Techniques of Plant Physiological Biochemical Experiment. Beijing: Higher Education Press. 165–195. [李合生, 2000. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社. 165–195.]
- Li SH, Zhang LX, Yang Y, Han YR, 2015. Research progress of buckwheat nutrition and its product development. *Shaanxi Journal of Agricultural Sciences*, 61(7): 57–60. [李双红, 张礼秀, 杨莹, 韩裕睿, 2015. 荞麦营养及其产品开发的研究进展. 陕西农业科学, 61(7): 57–60.]
- Li XD, Yang MY, Geng ZD, Cao JF, Zhao ZJ, Zhao YY, Pei WH, Wang TJ, 2012. Study on identification and evaluation methods of insect-resistant soybean varieties in Yunnan. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 25(5): 1674–1676. [李向东, 杨明英, 耿志德, 曹继芬, 赵志坚, 赵银月, 裴卫华, 王铁军, 2012. 云南大豆品种抗性鉴定及评价方法研究. 西南农业学报, 25(5): 1674–1676.]
- Lin L, Lu J, Huang Y, Zhou YM, Wei RF, Li JL, Jiang XP, 2014. Enzyme activities of different grape varieties infected by *Plasmopara viticola*. *Journal of Southern Agriculture*, 45(2): 222–225. [林玲, 卢江, 黄羽, 周咏梅, 韦荣福, 李俊林, 姜向萍, 2014. 不同葡萄品种感染霜霉病菌后叶片中几种酶活性的变化. 南方农业学报, 45(2): 222–225.]
- Lorena del RC, Julieta C, Tamara BP, Walter G, Erika B, 2020. Impact of soil rhizobacteria inoculation and leaf-chewing insect herbivory on *Mentha piperita* leaf secondary metabolites. *Journal of Chemical Ecology*, 46(7): 619–630.
- Luo JY, Cui JJ, Wang CY, Xin HJ, 2012. Relationship between contents of gossypol acetic acid (gaa) and tannin in cotton leaf and resistance to *Apolygus lucorum* Meyer-Dür. *Cotton Science*, 24(3): 279–283. [雒珺瑜, 崔金杰, 王春义, 辛惠江, 2012. 棉花叶片中棉酚和单宁含量与绿盲椿抗性的关系. 棉花学报, 24(3): 279–283.]
- Ma GM, Shi XY, Kang ZJ, Gao XW, 2018. The influence of *Tetranychus cinnabarinus*-induced plant defense responses on *Aphis gossypii* development. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(1): 164–172.
- Ma RJ, Li TT, Liu GJ, Cao CX, 2015. The relationship between aphid-resistance of different cucumber materials and part of secondary metabolites and their related enzyme activities. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 31(19): 80–86. [马荣金, 李田田, 刘桂军, 曹辰兴, 2015. 不同黄瓜材料抗蚜性与部分次生代谢物及其相关酶活力的关系. 中国农学通报, 31(19): 80–86.]
- Meng HW, Zhou HY, Wang LH, Zhang XY, Liu WY, Zhao YJ, Dong BZ, Yi WD, Zhao YZ, Wang D, 2019. Occurrence and distribution of *Rhinoncus sibiricus* (Coleoptera: Curculionoidea) and its preference for two buckwheat species in China. *Journal of Insect Science*, 19(5): 1–5.
- Peng L, Yan Y, Liu WX, Wan FH, Wang JJ, 2010. Counter-defense mechanisms of phytophagous insects towards plant defense. *Acta Entomologica Sinica*, 53(5): 572–580. [彭露, 严盈, 刘万学, 万方浩, 王进军, 2010. 植食性昆虫对植物的反防御机制. 昆虫学报, 53(5): 572–580.]
- Saharkhiz MJ, Smaeili S, Merikhi M, 2010. Essential oil analysis and phytotoxic activity of two ecotypes of *Zataria multiflora* Boiss. growing in Iran. *Natural Product Research*, 24(17): 1598–1609.
- Silva DM, Auad AM, Moraes JC, Sobrinho FS, 2020. Constitutive and induced resistance of *Brachiaria* spp. to *Collaria oleosa* (Hemiptera: Miridae). *International Journal of Pest Management*, 66(1): 65–74.
- Tanja HS, Guy MP, Brian RK, 1998. Insect-resistant transgenic plants. *Trends in Biotechnology*, 16(4): 168–174.
- Wang CZ, Qin JD, 2007. Insect-plant co-evolution: Multitrophic interactions concerning *Helicoverpa* species. *Chinese Bulletin of Entomology*, 44(3): 311–319. [王琛柱, 钦俊德, 2007. 昆虫与植物的协同进化: 寄主植物-铃夜蛾-寄生蜂相互作用. 昆虫知识, 44(3): 311–319.]
- Wang JS, Wu QF, Lu ZF, 2015. Advances in studies on plant secondary metabolites and insect resistance of trees. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 43(8): 4–7. [王景顺, 吴秋芳, 路志芳, 2015. 植物次生代谢物与林木抗虫性研究进展. 江苏农业科学, 43(8): 4–7.]
- Wang PK, Gao JF, Feng BL, 2016. Buckwheat Food. Xianyang: Northwest A&F University Press. 6–7. [王鹏科, 高金锋, 冯佰利, 2016. 荞麦食品. 咸阳: 西北农林科技大学出版社. 6–7.]
- Wang XX, Lu GX, Tang C, Li BH, Li GY, 2020. Screening and field application of pesticides for controlling *Rhinoncus sibiricus* Faust in buckwheat field. *Heilongjiang Agricultural Science*, 2020(7): 81–83, 93. [王欣欣, 路耿新, 唐超, 李炳海, 李冠义, 2020. 防治荞麦田西伯利亚龟象药剂筛选及田间应用. 黑龙江

- 江农业科学, 2020(7): 81–83, 93.]
- Wei WL, Luo XL, Wang TL, Zhou XL, Wu H, 2017. Resistance of different cassava varieties to *Tetranychus cinnabarinus*. *Journal of Southern Agriculture*, 48(12): 2182–2189. [韦婉玲, 罗兴录, 王天亮, 周信良, 吴昊, 2017. 不同木薯品种对朱砂叶螨抗性分析. 南方农业学报, 48(12): 2182–2189.]
- Xu D, Zhang YJ, Chen Y, Guo YY, 2009. Mechanisms of indirect defenses in plants induced by herbivores. *Plant Protection*, 35(1): 13–21. [许冬, 张永军, 陈洋, 郭予元, 2009. 虫害诱导植物间接防御机制. 植物保护, 35(1): 13–21.]
- Xue YL, 1985. Experimental Manual of Plant Physiology. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers. 191–192. [薛应龙, 1985. 植物生理学实验手册. 上海: 上海科学技术出版社. 191–192.]
- Yang JR, Xiao ML, 2021. The insect-resistance physiology of plants: A review. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 37(6): 130–136. [杨金睿, 肖美丽, 2021. 植物抗虫生理研究进展. 中国农学通报, 37(6): 130–136.]
- Yang NB, Wu SR, Shen LB, Zhang SZ, Yang BP, 2014. A review on plant resistance to insect pests. *Chinese Journal of Tropical Agriculture*, 34(9): 61–68. [杨乃博, 伍苏然, 沈林波, 张树珍, 杨本鹏, 2014. 植物抗虫性研究概况. 热带农业科学, 34(9): 61–68.]
- Yang YH, Zhang QW, Liu XX, 2013. The relationship between the contents of nutrients and tannins in different cotton varieties and their resistance to *Apolygus lucorum*. *Scientia Agricultura Sinica*, 46(22): 4688–4697. [杨宇辉, 张青文, 刘小侠, 2013. 棉花营养物质和单宁含量与其对绿盲蝽抗性的关系. 中国农业科学, 46(22): 4688–4697.]
- Yu F, Zeng XN, Xiong ZH, Du LX, 2004. Study and application of proteinase inhibitors on pest control. *Plant Protection*, 30(3): 13–17. [于飞, 曾鑫年, 熊忠华, 杜利香, 2004. 蛋白酶抑制剂在害虫防治中的研究与应用. 植物保护, 30(3): 13–17.]
- Zhang B, Liu Y, Zhang YH, Liu J, Gao BJ, 2016. Research progress in regulatory mechanism and proteomics of plant induced insect resistance. *Forestry and Ecological Sciences*, 31(3): 239–244. [张斌, 刘洋, 张玉贺, 刘洁, 高宝嘉, 2016. 植物诱导抗虫性的调控机制及蛋白组学研究进展. 河北林果研究, 31(3): 239–244.]
- Zhang J, Yan SC, Wang Q, 2009. Influence of the different cone grades on activities of protective enzymes and protease inhibitors in needles of *Larix* spp. *Scientia Silvae Sinicae*, 45(8): 96–100. [张健, 严善春, 王琪, 2009. 落叶松结实量对其防御酶和蛋白酶抑制剂活力的影响. 林业科学, 45(8): 96–100.]