

南美斑潜蝇幼虫为害对黄瓜叶片中水杨酸和茉莉酸的诱导作用

孙兴华, 周晓榕, 庞保平*, 孟庆玖

(内蒙古农业大学农学院, 呼和浩特 010019)

摘要:【目的】为揭示南美斑潜蝇 *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) 与其寄主相互作用的机理, 为利用诱导抗性控制南美斑潜蝇的发生为害奠定必要的基础。【方法】本文采用高效液相色谱法 (HPLC) 和超高效液相色谱法-质谱联用法 (UPLC-MS), 分别测定了南美斑潜蝇幼虫为害对黄瓜叶片中茉莉酸 (jasmonic acid, JA) 和水杨酸 (salicylic acid, SA) 的诱导作用。【结果】南美斑潜蝇幼虫持续为害 1 d 后, 受害黄瓜叶片内 JA 含量即显著高于健康对照, 轻度受害处理和重度受害处理分别在第 3 天和第 5 天上升幅度最大, 分别比健康对照增加 2.01 倍和 1.62 倍; 而 SA 含量在 3 d 后才显著高于健康对照, 轻度受害处理和重度受害处理在第 9 天上升幅度最大, 分别比健康对照增加 4.66 倍和 1.67 倍; 轻度受害对 JA 和 SA 的系统诱导作用不明显, 而重度受害对 JA 和 SA 具有明显的系统诱导作用。【结论】南美斑潜蝇幼虫为害对黄瓜叶片内 JA 和 SA 具有诱导作用。

关键词: 南美斑潜蝇; 幼虫为害; 黄瓜; 诱导抗性; 水杨酸; 茉莉酸

中图分类号: Q968 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2014)01-0067-07

Induction of salicylic acid and jasmonic acid in cucumber leaves after infestation by *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) larvae

SUN Xing-Hua, ZHOU Xiao-Rong, PANG Bao-Ping*, MENG Qing-Jiu (College of Agriculture, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China)

Abstract: 【Aim】 In order to investigate the mechanism of interactions between *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) and its host plants and build an indispensable foundation for controlling the fly by use of inducible defenses. 【Methods】 High-performance liquid chromatography (HPLC) and ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry (UPLC-MS) were used to determine the effects of infestation of larval *L. huidobrensis* on induction of jasmonic acid (JA) and salicylic acid (SA), respectively, in cucumber leaves. 【Results】 The results showed that JA contents in the damaged leaves were significantly higher than those in intact controls only 1 d after the larval continuous infestation, and the increase magnitudes in the light-damage treatment and the severe-damage treatment reached the maximum at 3–5 d after larval infestation, increasing 2.01 and 1.62 times as compared with the intact control, respectively. SA contents were significantly higher at 3 d after larval infestation, and the increase magnitudes in the light-damage treatment and the severe-damage treatment reached the maximum at 9 d after larval infestation, rising 4.66 and 1.67 times as compared with the intact control, respectively. The induction of JA and SA was significantly systemic in the severe-damage treatment but not in the light-damage treatment. 【Conclusion】 The results suggest that the larval infestation of *L. huidobrensis* can induce the JA and SA increase in cucumber leaves.

Key words: *Liriomyza huidobrensis*; larval infestation; cucumber; inducible defense; jasmonic acid (JA); salicylic acid (SA)

植物在自然界经常遭受植食性动物的攻击, 并进化出各种防御策略, 包括组成防御 (constitutive defenses) 和诱导防御 (inducible defenses) (Karban

and Baldwin, 1997)。植物诱导防御的产生过程, 包括植物对植食性昆虫为害的识别、虫害信号在植物体内的传递以及植物防御基因的表达与防御化合

基金项目: 国家自然科学基金项目(30960219)

作者简介: 孙兴华, 男, 1987 年生, 内蒙古赤峰人, 硕士研究生, 研究方向为昆虫与植物的关系, E-mail: sunxinghua159@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: pangbp@imau.edu.cn

收稿日期 Received: 2013-09-16; 接受日期 Accepted: 2013-12-18

物的合成 (Kessler and Baldwin, 2002; Howe and Jander, 2008)。目前研究表明, 在植物防御信号传导过程中, 茉莉酸 (jasmonic acid, JA)、水杨酸 (salicylic acid, SA) 和乙烯 (ethylene, ET) 等起着重要的作用 (Pieterse and Dicke, 2007; Kazan and Manners, 2008)。其中, JA 信号途径在植物诱导抗虫反应中作用的研究最为深入。Greelman 等 (1992) 首次报道 JA 具有信号分子功能, 他们发现大豆胚轴组织损伤后 JA 和茉莉酸甲酯 (MeJA) 水平增高, 在用茉莉酸甲酯处理的大豆悬浮细胞中, 与损伤反应相关的 3 种蛋白基因 mRNA 水平增加了。植物遭受植食性昆虫取食后, 体内 JA 含量迅速上升, 通过活化、调控下游的 JA 信号传导途径, 激活相关防御基因的表达, 从而抵御昆虫为害 (Kessler and Baldwin, 2002)。有关 JA 在植物诱导防御中的研究, 多集中于应用外源 JA 及其衍生物诱导植物体内防御蛋白 (Farmer and Ryan, 1990; Bolter and Jongsma, 1995; Constabel and Ryan, 1998; Jung, 2004) 和次生化合物 (Bodnaryk, 1994; van Dam *et al.*, 2000) 及其对植食性昆虫的影响, 以及释放的挥发性化合物对天敌昆虫的引诱作用 (Schmeyer *et al.*, 2001; Martin *et al.*, 2002)。有关植食性昆虫为害对寄主植物体内 JA 含量影响的研究也有部分报道。例如, 烟草天蛾 *Manduca sexta* (Schittko *et al.*, 2000) 和马尾松毛虫 *Dendrolimus punctatus* (邓文红等, 2009) 幼虫为害可诱导其寄主叶片内 JA 含量上升。

SA 及其衍生物是普遍存在于植物体内的一类重要的与防御反应相关的信号分子。SA 信号转导途径在植物的诱导抗病反应中起着重要作用, 其作用的生化和分子机理已有大量报道, 而对其在植物诱导抗虫反应中的研究较少, 且多集中于对刺吸式口器昆虫的研究中 (龙亚芹等, 2009)。褐飞虱为害能迅速导致水稻内源 SA 含量的上升, SA 含量在褐飞虱为害后 1 h 显著地高于相应的未处理稻株 (王霞等, 2007)。植物对蚜虫等刺吸式害虫的防御多采用 SA 途径, 蚜害后 SA 含量增加, 激活并增加与植物抗性有关的基因表达 (Reymond *et al.*, 2000)。另外, SA 能与过氧化氢酶 (CAT) 结合抑制该酶活性, 使植物体内 H_2O_2 的含量上升, 这样会对害虫中肠造成损害, 影响害虫的消化和吸收, 降低害虫的体重和生长速率。如麦二叉蚜取食高粱后, 高粱植株内 SA 和 H_2O_2 含量迅速上升, 有效抑制了蚜群的繁殖扩散 (Zhu-Salzman *et al.*, 2004)。然而, 有

关潜叶性害虫为害对寄主体内 JA 和 SA 等信号物质影响的研究未见报道。

南美斑潜蝇 *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) 是一种危害多种蔬菜和观赏植物的检疫性害虫 (Scheffer, 2000)。自 1993 年传入我国以来, 南美斑潜蝇在我国南北方各地区已经迅速取代了美洲斑潜蝇成为优势种, 给我国农业生产造成巨大的损失 (陈兵和康乐, 2002)。南美斑潜蝇喜食黄瓜等瓜类作物, 给保护地黄瓜生产造成了严重损失 (韩靖玲等, 2005)。我们的研究表明, 南美斑潜蝇幼虫为害可导致寄主植物叶片内叶绿素和可溶性糖及蛋白质含量下降, 而单宁和黄酮等次生化合物含量及防御酶活性上升 (孙兴华等, 2012, 2013)。因此, 我们进一步研究了南美斑潜蝇幼虫为害对寄主植物叶片内茉莉酸及水杨酸的诱导作用, 以期揭示南美斑潜蝇与其寄主植物相互作用的机理, 并为利用诱导抗性控制南美斑潜蝇的发生为害奠定必要的基础。

1 材料与方法

1.1 供试植物

试验选用我国北方地区温室内普遍种植的黄瓜品种津春 4 号。精选饱满的种子, 种子催芽后种于钵中, 每钵种 1 粒种子。待植株长到一片真叶时, 定植于花盆中, 置于温室中培养, 待长到 7~8 片真叶时, 去掉顶端以防其徒长, 备用。

1.2 供试虫源

南美斑潜蝇的成虫和蛹采自呼和浩特市东郊金河镇根堡村无公害蔬菜基地黄瓜和菜豆植株上, 将成虫饲养于有盆栽菜豆的养虫笼内, 将蛹群集饲养于装有含相对含水量 70% 的蛭石和细沙土混合的烧杯中, 分别置于人工智能光照培养箱中 (光周期 16L:8D, 温度 25℃, 相对湿度 70%~80%)。在盆栽菜豆上繁殖 1 代后, 将第 2 代蛹挑出, 单头饲养于试管中, 管口用湿棉球塞住, 以防成虫羽化后逃逸, 每天进行保湿。将试管放于底部铺有吸水纱布的不锈钢托盘中, 然后置于上述条件的人工智能光照培养箱中, 培养至羽化, 备用。

1.3 南美斑潜蝇幼虫为害不同受害程度黄瓜叶片的获得

以 3 盆健康苗为 1 组放入养虫笼 (40 cm × 40 cm × 50 cm) 内, 将养虫笼放于与 1.2 节条件一致的人工智能光照培养箱中。在轻度受害和重度受害处理的植株中选取从下第 3 和第 5 片成熟叶作为系统

受害对照, 然后用防虫网套住叶片, 以防止斑潜蝇产卵为害。在轻度受害和重度受害处理的养虫笼中分别接入 20 对和 30 对同一天羽化的南美斑潜蝇成虫, 从出现潜道的第 1 天开始算起, 于第 1, 3, 5, 7 和 9 天分别获取 5 种受害程度不同的黄瓜受害苗, 进行生化指标的测定。以不接虫和邻近受害叶片的未受害叶片分别作为健康对照和系统受害对照。每个养虫笼内的 3 盆黄瓜植株作为 3 个重复, 共用黄瓜植株 15 盆。

南美斑潜蝇为害程度按以下标准划分:

南美斑潜蝇为害程度(%) = 虫道面积(cm^2)/叶片总面积(cm^2) $\times 100$ 。

黄瓜受害程度分级标准如下:

健康对照(intact control, CK): 未接虫健康苗;

系统对照(systemic control): 邻近轻度和重度受害叶片的未受害叶片;

轻度受害(light damage, L): 潜食叶面积小于叶面积的 10%;

重度受害(severe damage, S): 潜食叶面积大于叶面积的 40%。

1.4 水杨酸(SA)含量的测定

采用 Rasmussen 等(1991)的方法提取 SA。

每个处理选取相同受害程度的黄瓜叶片 1~2 片, 冲洗表面杂质晾干, 准确称取 0.5 g 黄瓜叶片组织, 加入 3 mL 80% 的冰乙醇迅速研磨成匀浆, 在 4℃ 下 10 000 g 离心 5 min, 收集上清液后立即处理或者迅速冷冻于 -80℃ 中用于进一步的分析。将所得上清液经旋转真空干燥仪浓缩至原体积的 1/10。加入 4 mL 重蒸馏水, 然后加入偏磷酸至终浓度为 2% (w/v)。用 2 mL 乙酸乙酯萃取 3 次, 分离合并有机相, 放入 10 mL 的离心管中。有机相用高纯氮气吹干, 此即为水杨酸游离态的粗样。在水相中加入 6 mmol/L HCl 至终浓度为 1 mmol/L, 密封后于 80℃ 中水解 1 h。冷却后, 同样用乙酸乙酯萃取 3 次, 有机相合并放入盛有游离态粗样的试管中, 用高纯氮气吹干。至此得到全部水杨酸的粗样。

采用岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪进行测定, 荧光检测器型号为 RF-100AXL, 检测波长 λ_{ex} 为 300 nm, 激发波长 λ_{em} 为 410 nm, 进样量为 10 μL , 柱温为常温, 流速为 1.0 mL/min, 色谱柱为 C_{18} 。SA 含量计算公式为 $X = (C_{\text{测}} - C_{\text{空白}}) \times V_2 \times 1\,000 \times V / (m \times 1\,000 \times V_1)$, 其中: X 为叶片中 SA 含量 ($\mu\text{g/g}$); $C_{\text{测}}$ = 样液中所含 SA 的含量 (ng/mL);

$C_{\text{空白}} = 0$; V_1 = 从定容样液中取出用氮气吹干的体积 (mL); V = 黄瓜叶片处理时用冰乙醇定容的体积 (mL); V_2 = 在吹干样品中用进样液稀释的体积 (mL); m = 样品鲜量 (g)。

1.5 茉莉酸(JA)含量的测定

采用陈华君等(2005)的方法对内源茉莉酸进行提取和纯化, 参考胡欣等(2011)的 UPLC-MS 法进行定量分析。

1.5.1 内源茉莉酸的提取与纯化: 每个处理选取相同受害程度的黄瓜叶片 1~2 片, 冲洗表面杂质晾干, 准确称取 0.5 g 黄瓜叶片组织, 加入 10 mL 80% 的冰乙醇, 冰浴中迅速研磨成匀浆, 在 4℃ 下 10 000 g 离心 5 min, 收集上清液后立即处理或者迅速冷冻于 -80℃ 中用于进一步的分析。将上清液减压浓缩至水相, 加入 4 mL 重蒸馏水, 然后加入偏磷酸至终浓度为 2% (W/V)。用 2 mL 乙酸乙酯萃取 3 次, 分离合并有机相, 35℃ ~ 45℃ 浓缩至干。等待进一步的纯化处理。每个处理设 3 个重复。

纯化时首先用 5 mL 0.1 mol/L 的 HAc 溶解植物样品, 上柱前分别用 5 mL 甲醇、5 mL 0.1 mol/L 的 HAc 活化平衡 C_{18} 小柱, 然后将样品分批上 Sep-Pak C_{18} 小柱。纯化过程进行的操作步骤如下: ①用 5 mL 17% 甲醇(甲醇和 0.1 mol/L HAc 的体积比为 17:83)淋洗; ②用 5 mL 40% 甲醇(甲醇和 0.1 mol/L HAc 的体积比为 40:60)淋洗; ③用 5 mL 50% 甲醇(甲醇和 0.1 mol/L HAc 的体积比为 50:50)洗脱, 收集洗脱液; ④用 5 mL 60% 甲醇(甲醇和 0.1 mol/L HAc 的体积比为 60:40)洗脱, 收集洗脱液。最后收集③和④中的洗脱液, 40℃ 浓缩至干。对已经浓缩的样品用甲醇溶解, 待上 UPLC-MS 进行分析测定。

1.5.2 内源茉莉酸的测定: ① 色谱条件 Waters Acquity 超高效液相色谱仪(UPLC)。色谱柱: BEH, C_{18} (1.7 μm , 2.1 mm $\times$ 100 mm)。流动相为: A. 1% 甲酸溶液和超纯水, B. 乙腈和 0.1% 甲酸溶液。流速为 0.3 mL/min, 液相梯度: 初始为 A: B = 10% 保持 2 min, 之后匀速变化, 8 min 时达到 A: B = 50%, 然后瞬时改变流动相到 A: B = 95% 保持 2 min, 10 min 时又回到初始 A: B = 10% 保持 2 min, 整个洗脱运行时间为 12 min。柱温: 30℃, 样品室温度: 4℃, 进样量: 10 μL 。② 质谱条件 Waters Quattro Premier XE 质谱仪(MS)。电离模式: ESI^- , 扫描模式: resolution mode, 扫描范围: m/z (100 ~ 600), 碰撞能(collision energy): 4 eV, 锥孔电压

(cone energy): 10 – 30 kV, 锥孔气流速 (cone gas flow rate): 50 L/h, 脱溶剂气流速 (desolution gas flow rate): 600 L/h, 离子源温度 (source temperature): 100℃。

1.6 数据分析

不同处理之间差异显著性检验采用 ANOVA 法, 多重比较采用 Duncan 法, 所有统计分析均在 DPS (Version 10.15) 软件上进行。

2 结果与分析

2.1 南美斑潜蝇为害对黄瓜叶片内水杨酸 (SA) 含量的影响

由表 1 可知, 在同一受害期内, 除第 1 和 5 天外, 不同程度受害处理间 SA 含量差异显著 ($P < 0.05$), 轻度受害处理和重度受害处理在第 9 天上升幅度最大, 分别比健康对照增加 4.66 倍和 1.67 倍; 而除了轻度受害和轻度受害系统对照外, 同一

受害程度处理在不同受害期内 SA 含量在整体上差异显著 ($P < 0.05$)。随着受害时间的持续, 在受害第 1 天时, 轻度受害、重度受害和重度受害系统对照中 SA 含量均低于健康对照, 但差异不显著 ($F_{4,14} = 1.5440, P = 0.2626 > 0.05$); 第 3 天, 4 种受害处理中 SA 含量迅速上升, 轻度受害系统和重度受害系统对照中 SA 含量上升明显, 且重度受害系统对照中 SA 含量较健康对照显著增加 ($P < 0.05$); 第 5 天, 所有处理中 SA 含量迅速下降; 第 7 天, 所有处理中 SA 含量又开始回升, 4 种受害处理中 SA 含量显著高于健康对照 ($F_{4,14} = 4.3190, P = 0.0276 < 0.05$); 第 9 天, 所有受害处理中 SA 含量迅速下降到了初始水平。在第 3 和 9 天时, 南美斑潜蝇幼虫重度受害系统对照中 SA 含量显著高于健康对照 ($P < 0.05$), 这表明在这两个受害期内, 南美斑潜蝇幼虫重度为害对邻近叶片中 SA 含量具有系统诱导作用。

表 1 南美斑潜蝇幼虫持续取食后黄瓜叶片中 SA 含量 (μg/g) 的变化

Table 1 Changes of SA content (μg/g) in cucumber leaves after continuous feeding by *Liriomyza huidobrensis* larvae

处理 Treatment	受害时间 Infestation duration (d)				
	1	3	5	7	9
CK	0.11 ± 0.01 (aA) aA	0.11 ± 0.01 (bA) aA	0.04 ± 0.002 (aA) bAB	0.10 ± 0.03 (bB) aA	0.03 ± 0.002 (cB) bB
L	0.09 ± 0.02 (aA) aA	0.24 ± 0.10 (abA) aA	0.09 ± 0.04 (aA) aA	0.18 ± 0.03 (abAB) aA	0.17 ± 0.04 (aA) aA
SL	0.18 ± 0.10 (aA) aA	0.30 ± 0.11 (abA) aA	0.11 ± 0.03 (aA) aA	0.14 ± 0.01 (bAB) aA	0.10 ± 0.03 (abcAB) aA
S	0.04 ± 0.01 (aA) bA	0.24 ± 0.08 (abA) aAB	0.13 ± 0.03 (aA) abAB	0.26 ± 0.03 (aA) aA	0.08 ± 0.01 (bcAB) bAB
SS	0.04 ± 0.01 (aA) bB	0.49 ± 0.08 (aA) aA	0.11 ± 0.03 (aA) bB	0.15 ± 0.02 (bAB) bB	0.13 ± 0.03 (abAB) bB

CK: 健康对照 Intact control; L: 轻度受害 Light damage; S: 重度受害 Severe damage; SL: 轻度受害的系统对照 Systematic control of light damage; SS: 重度受害的系统对照 Systematic control of severe damage. 表中数据均为平均值 ± 标准误; 数据后括号内字母表示相同受害期内不同受害处理间的差异显著性, 数据后括号外字母表示相同受害处理在不同受害期的差异显著性; 不同小写和大写字母分别表示差异显著 ($P < 0.05$) 和极显著 ($P < 0.01$) (邓肯氏新复极差检验法)。Data in the table are mean ± SE. Letters inside brackets indicate significant difference among different treatments at the same time while those outside brackets indicate significant difference among different time in the same treatment. Different lowercase and capital letters indicate significant difference by Duncan's multiple range test at $P = 0.05$ and $P = 0.01$, respectively. 下同 The same below.

2.2 南美斑潜蝇为害对黄瓜叶片内茉莉酸 (JA) 含量的影响

由表 2 可知, 在同一受害期内, 4 种不同程度的受害处理中 JA 含量绝大多数显著高于健康对照 ($P < 0.05$), 而除健康对照外, 同一受害程度处理在不同受害期内 JA 含量在整体上差异显著 ($P < 0.05$); 轻度受害处理和重度受害处理分别在第 3 和第 5 天上升幅度最大, 分别比健康对照增加 2.01 倍和 1.62 倍。随着受害时间的持续, 在受害第 1

天时, 轻度受害和重度受害处理中 JA 含量显著高于健康对照 ($P < 0.01$); 第 3 天, 轻度受害、轻度受害系统对照和重度受害系统对照处理中 JA 含量明显上升, 而重度受害系统对照中 JA 含量有所下降, 但 4 种受害处理中 JA 含量较健康对照仍增加明显 ($F_{4,14} = 44.58, P < 0.001$), 轻度受害处理中 JA 含量在此时达到最大值, 比健康对照增加了 2.00 倍; 第 5 天, 重度受害处理中 JA 含量迅速上升, 达到最大值, 较对照增加了 1.62 倍, 而其他 3

种受害处理中 JA 含量则有所下降,但除轻度受害和重度受害的系统对照处理以外,其他 2 种受害处理中 JA 含量仍显著高于健康对照($P < 0.001$);第 7 天,重度受害处理中 JA 含量有所下降,而其他 3 种受害处理中 JA 含量则有所上升,此时除轻度受害系统对照外,其他 3 种受害处理中 JA 含量显著高于健康对照($P < 0.001$);第 9 天,除轻度受害系

统对照 JA 含量下降明显外,其他受害处理中 JA 含量变化不明显,但除轻度受害和重度受害的系统对照外,其他 2 种受害处理中 JA 含量仍明显高于健康对照($P < 0.01$)。在受害的第 3 和 7 天时,系统受害处理中 JA 含量显著高于健康对照($P < 0.05$),表明南美斑潜蝇幼虫为害在这两个时期内对黄瓜叶片中 JA 含量具有系统诱导作用。

表 2 南美斑潜蝇幼虫持续取食后黄瓜叶片中 JA 含量 (ng/g) 的变化
Table 2 Changes of JA content (ng/g) in cucumber leaves after continuous feeding by *Liriomyza huidobrensis* larvae

处理 Treatment	受害时间 Infestation duration (d)				
	1	3	5	7	9
CK	6.00 ± 1.07 (bB) aA	6.32 ± 1.27 (cC) aA	7.66 ± 0.39 (cB) aA	7.24 ± 0.17 (cC) aA	7.12 ± 2.01 (cB) aA
L	11.81 ± 1.33 (aA) bB	18.97 ± 0.59 (aA) aA	11.59 ± 0.85 (bB) bB	14.65 ± 0.58 (aA) bAB	12.47 ± 1.36 (abAB) bB
SL	6.46 ± 0.41 (bB) cB	9.35 ± 0.28 (bBC) aA	7.73 ± 0.44 (cB) bcAB	8.78 ± 0.22 (bcBC) abA	6.49 ± 0.51 (cB) cB
S	12.03 ± 1.79 (aA) bcB	9.32 ± 0.52 (bBC) cB	20.09 ± 2.33 (aA) aA	14.27 ± 1.02 (aA) bAB	14.57 ± 0.40 (aA) bAB
SS	8.43 ± 0.43 (abAB) abA	10.18 ± 0.50 (bB) aA	7.09 ± 0.68 (cB) bA	10.36 ± 0.48 (bB) aA	9.91 ± 1.33 (bcAB) aA

3 讨论

一般认为植物对蚜虫等刺吸式害虫的防御多采用 SA 途径,蚜害后 SA 含量增加,激活了与植物抗性相关基因的表达 (Reymond *et al.*, 2000)。在对蚜虫、根结线虫和白粉虱的防御中,番茄中的抗性基因 *Mi-1.2* 发挥了重要作用 (Rossi *et al.*, 1995; Nombela *et al.*, 2003)。麦双尾蚜 *Diuraphis nodulus* 为害诱导小麦体内 SA 含量上升和过氧化物酶 (POD) 活性增强 (Mohase and van der Westhuizen, 2002)。本研究结果表明,黄瓜在受到南美斑潜蝇幼虫初始为害后,便迅速诱导了其叶片中 SA 含量的上升。这与南美斑潜蝇幼虫取食为害可诱导黄瓜叶片内苯丙氨酸解氨酶 (PAL)、多酚氧化酶 (PPO)、POD 及超氧化物歧化酶 (SOD) 等防御酶活性上升 (孙兴华等, 2013) 的结果相一致。目前认为 SA 在植株体内的生物合成一般经莽草酸途径, PAL 是 SA 合成过程中的关键酶。病原菌侵染后, PAL 活性升高后, SA 含量上升 (李国靖和周燮, 2002)。上述结果表明,植物对咀嚼式口器害虫的防御也可采用 SA 途径。

JA 是植物防御反应中一类重要的信号物质,不仅可以通过自身含量的增加来抵御害虫的进一步取食,还能诱导植物组织的未受伤部位产生防御反应。本研究结果表明,南美斑潜蝇幼虫取食不仅诱

导受害叶片内 JA 含量上升,而且邻近的未受害叶片内 JA 含量增加。其他研究者也获得了类似的结果 (Schittko *et al.*, 2000; 邓文红等, 2009)。目前认为植食性昆虫取食或产卵时口腔分泌物或产卵器分泌物中的化学诱导物刺激了植物体内的信号传导途径 (Halitschke *et al.*, 2003)。例如,草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 口腔分泌物能刺激寄主植物 ET, JA 和 SA 含量上升,并导致寄主植物释放挥发物吸引天敌 (Schmelz *et al.*, 2006)。然而,植物是如何识别虫害信号以及哪些转录因子参与了植物的诱导抗虫反应,目前还了解得很少。我们的研究表明,南美斑潜蝇幼虫取食为害能诱导寄主植物体内 SA 和 JA 等信号物质含量上升,进而诱导防御酶活性 (孙兴华等, 2013)、次生化合物含量 (孙兴华等, 2012) 及蛋白酶抑制剂活性 (另文发表) 上升,为利用诱导抗性控制南美斑潜蝇的为害提供了必要的基础。但是,其诱导机理以及是否会影响南美斑潜蝇或其他植食性昆虫的生长发育、存活和繁殖还有待于进一步研究。

参考文献 (References)

Bodnaryk RP, 1994. Potent effect of jasmonates on indole glucosinolates in oilseed rape and mustard. *Phytochemistry*, 35: 301–305.
Bolter CJ, Jongsma MA, 1995. Colorado potato beetles (*Leptinotarsa decemlineata*) adapt to proteinase inhibitors induced in potato leaves by methyl jasmonates. *Journal of Insect Physiology*, 41: 1071–1078.

- Chen B, Kang L, 2002. Analysis of trends of occurrence and geographic variation of pea leafminer *Liriomyza huidobrensis*. *Plant Quarantine*, 16(3): 138–140. [陈兵, 康乐, 2002. 南美斑潜蝇在我国发生趋势和地理差异分析. 植物检疫, 16(3): 138–140]
- Chen HJ, Zhang FJ, Ren Q, Jin YJ, 2005. Study on the extraction, purification and quantity analysis of jasmonic acid in the plant. *Journal of Instrumental Analysis*, 24(Suppl.): 138–140. [陈华君, 张凤娟, 任琴, 金幼菊, 2005. 植物材料中茉莉酸的提取、纯化及其定量方法的研究. 分析测试学报, 24(增刊): 138–140]
- Constabel CP, Ryan CA, 1998. A survey of wound- and methyl jasmonate-induced leaf polyphenol oxidase in crop plants. *Phytochemistry*, 47: 507–511.
- Deng WH, Shen YB, Chen HJ, Li ZY, Jiang XN, 2009. Effects of *Dendrolimus punctatus* feeding and methyl jasmonate (MeJA) or terpenes fumigation on abscisic acid and jasmonic acid contents in *Pinus massoniana* seedling needles. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 20(5): 1166–1170. [邓文红, 沈应柏, 陈华君, 李镇宇, 蒋湘宁, 2009. 昆虫取食和药剂熏蒸对马尾松针叶脱落酸和茉莉酸含量的影响. 应用生态学报, 20(5): 1166–1170]
- Farmer EE, Ryan CA, 1990. Interplant communication: airborne methyl-jasmonate induces synthesis of proteinase inhibitors in plant leaves. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87: 7713–7716.
- Greelman RA, Tierney ML, Mullet JE, 1992. Jasmonic and methyl jasmonate accumulate in wounded soybean and modulate wound gene expression in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89: 4938–4941.
- Halitschke R, Gase K, Hui DQ, Schmidt DD, Baldwin IT, 2003. Molecular interactions between the specialist herbivore *Manduca sexta* (Lepidoptera, Sphingidae) and its natural host *Nicotiana attenuate*. VI. Microarray analysis reveals that most herbivore-specific transcriptional changes are mediated by fatty acid-amino acid conjugates. *Plant Physiology*, 131: 1894–1902.
- Han JL, Pang BP, Gao SJ, Gao JP, Wu W, 2005. Host plant selectivity of *Liriomyza huidobrensis* on different varieties of cucumbers. *Chinese Bulletin of Entomology*, 42(6): 660–663. [韩靖玲, 庞保平, 高书晶, 高俊平, 武威, 2005. 南美斑潜蝇对不同黄瓜品种的寄主选择性. 昆虫知识, 42(6): 660–663]
- Howe GA, Jander G, 2008. Plant immunity to insect herbivores. *Annual Review of Plant Biology*, 59: 41–66.
- Hu X, Wang DG, Zeng XC, Luo LG, Chen ZL, 2011. Quantification of endogenous jasmonic acid in rice with UPLC-MS/MS. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 33(3): 418–424. [胡欣, 王冬根, 曾晓春, 罗林广, 陈子林, 2011. UPLC-MS/MS测定水稻内源茉莉酸含量的研究. 江西农业大学学报, 33(3): 418–424]
- Jung S, 2004. Effect of chlorophyll reduction in *Arabidopsis thaliana* by methyl jasmonate or norflurazon on antioxidant systems. *Plant Physiology and Biochemistry*, 42: 225–231.
- Karban R, Baldwin IT, 1997. Induced Responses to Herbivory. University of Chicago Press, Chicago.
- Kazan K, Manners JM, 2008. Jasmonate signaling: toward an integrated view. *Plant Physiology*, 146: 1459–1468.
- Kessler A, Baldwin IT, 2002. Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. *Annual Review of Plant Biology*, 53: 299–328.
- Li GJ, Zhou X, 2002. Mechanisms on “dialogue” between salicylic acid and jasmonic acid in plant defensive responses. *Chinese Journal of Cell Biology*, 24(2): 101–105. [李国靖, 周燮, 2002. 植物防御反应中水杨酸与茉莉酸的“对话”机制. 细胞生物学杂志, 24(2): 101–105]
- Long YQ, Wang WD, Wang MC, Chen YF, Xie DH, Chen HR, Yu YC, Ni ZG, 2009. Salicylic acid induced resistance of plants against insects and diseases and its interaction mechanism. *Chinese Journal of Tropical Agriculture*, 29(12): 47–50. [龙亚芹, 王万东, 王美存, 陈于福, 解德宏, 陈华蕊, 俞艳春, 尼章光, 2009. 水杨酸(SA)诱导植物对病虫害产生抗性及其作用机制研究. 热带农业科学, 29(12): 47–50]
- Martin D, Tholl D, Gershenzon J, Jörg B, 2002. Methyl jasmonate induces traumatic resin ducts, terpenoid resin biosynthesis, and terpenoid accumulation in developing xylem of Norway spruce stems. *Plant Physiology*, 129: 1003–1018.
- Mohase L, van der Westhuizen AJ, 2002. Salicylic acid is involved in resistance responses in the Russian wheat aphid-wheat interaction. *Journal of Plant Physiology*, 159: 585–590.
- Nombela G, Williamson VM, Muñoz M, 2003. The root-knot nematode resistance gene *Mi-1.2* of tomato is responsible for resistance against the whitefly *Bemisia tabaci*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 16: 645–649.
- Pieterse CMJ, Dicke M, 2007. Plant interactions with microbes and insects: from molecular mechanisms to ecology. *Trends in Plant Science*, 12: 564–569.
- Rasmussen JB, Hammerschmidt R, Zook MN, 1991. Systemic induction of salicylic acid accumulation in cucumber after inoculation with *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Plant Physiology*, 97: 1342–1347.
- Reymond P, Weber H, Damond M, Farmer EE, 2000. Differential gene expression in response to mechanical wounding and insect feeding in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 12: 707–720.
- Rossi M, Goggin FL, Milligan SB, Kaloshian I, Ullman DE, Williamson VM, 1995. The nematode resistance gene *Mi* of tomato confers resistance against the potato aphid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95: 9750–9754.
- Scheffer SJ, 2000. Molecular evidence of cryptic species within the *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae). *Journal of Economic Entomology*, 93: 1146–1147.
- Schittko U, Preston CA, Baldwin IT, 2000. Eating the evidence? *Manduca sexta* larvae cannot disrupt specific jasmonate induction in *Nicotiana attenuate* by rapid consumption. *Planta*, 210: 343–346.
- Schmelz EA, Alborn HT, Tumlinson JH, 2001. The influence of intact-plant and excised-leaf bioassay designs on volicitin- and jasmonic acid-induced sesquiterpene volatile release in *Zea mays*. *Planta*, 214: 171–179.
- Schmelz EA, Carroll MJ, LeClere S, Phipps SM, Meredith J, Chourey PS, Alborn HT, Teal PEA, 2006. Fragments of ATP synthase

- mediate plant perception of insect attack. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103: 8894 – 8899.
- Sun XH, Zhou XR, Pang BP, Meng QJ, 2012. Effects of infestation of *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) on the contents of main nutrients, secondary metabolites and chlorophyll in cucumber leaves. *Acta Entomologica Sinica*, 55(10): 1178 – 1184. [孙兴华, 周晓榕, 庞保平, 孟庆玖, 2012. 南美斑潜蝇为害对黄瓜体内主要营养物质、次生代谢物质及叶绿素含量的影响. 昆虫学报, 55(10): 1178 – 1184]
- Sun XH, Zhou XR, Pang BP, Meng QJ, 2013. Effects of *Liriomyza huidobrensis* infestation on the activity of four defensive enzymes in cucumber. *Acta Ecologia Sinica*, 33(23): 7348 – 7354. [孙兴华, 周晓榕, 庞保平, 孟庆玖, 2013. 南美斑潜蝇为害对黄瓜体内 4 种防御酶活性的影响. 生态学报, 33(23): 7348 – 7354]
- van Dam NM, Hadwich K, Baldwin IT, 2000. Induced responses in *Nicotiana attenuata* affect behaviour and growth of the specialist herbivore *Manduca sexta*. *Oecologia*, 122: 371 – 379.
- Wang X, Du MH, Zhou GX, Cheng JA, Lou YG, 2007. Role of salicylic acid and H_2O_2 signaling pathways in the production of rice volatiles induced by the rice brown planthopper *Nilaparvata lugens*. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences)*, 33(1): 15 – 23. [王霞, 杜孟浩, 周国鑫, 程家安, 娄永根, 2007. 水杨酸与过氧化氢信号途径在褐飞虱诱导的水稻挥发物释放中的作用. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 33(1): 15 – 23]
- Zhu-Salzman K, Salzman RA, Ahn JE, Koiwa H, 2004. Transcriptional regulation of sorghum defense determinants against a phloem-feeding aphid. *Plant Physiology*, 134: 420 – 431.

(责任编辑: 袁德成)