

端大蓟马取食对豆科植物防御酶活性及丙二醛含量的影响

沈登荣, 何超, 徐慧琼, 雷映红, 朱敏瑜, 田学军, 袁盛勇

(红河学院生命科学与技术学院, 蒙自 661199)

摘要: 以3种豆科植物(菜豆、豇豆和蚕豆)为植物材料, 研究端大蓟马成虫和若虫取食胁迫3种豆科植物后, 其叶片超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性和丙二醛(MDA)含量的变化。结果表明, 随着取食时间的延长, 3种酶活性和MDA含量逐渐升高。若虫和成虫取食胁迫可引起3种酶活性和MDA含量上升, 其中若虫取食胁迫下的3种酶活性和MDA含量最高。端大蓟马的取食胁迫可引起3种豆科植物POD、CAT活性和MDA含量的显著增加($P < 0.05$)。表明豆科植物SOD、POD、CAT和MDA变化与植物种类、端大蓟马虫态和取食时间有关, 豆科植物的抗性与体内的POD、CAT和MDA有密切联系。

关键词: 豆科植物; 端大蓟马; 取食胁迫

中图分类号: S433.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X(2017)04-0716-04

Effects of *Megalurothrips distalis* feeding stress on the activities of defense enzymes and MDA content in leguminous plants

SHEN Dengrong, HE Chao, XU Huiqiong, LEI Yinghong, ZHU Minyu, TIAN Xuejun, YUAN Shengyong
(College of Life Science and Technology, Honghe University, Mengzi 661199)

Abstract: The activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT) and malondialdehyde (MDA) content were evaluated in the leaves of three leguminous plants (*Phaseolus vulgaris*, *Vigna unguiculata* and *Vicia faba*) by feeding stress of *Megalurothrips distalis*. The results showed that with the extension of feeding time, the activities of SOD, POD, CAT and MDA content increased. The activities of the enzymes and MDA content increased by feeding stress of both nymph and adult and reached the highest by feeding stress of nymph. Feeding stress of *M. distalis* could lead to a significant increase of the activities of POD, CAT and MDA content in three leguminous plants ($P < 0.05$). The results indicated that the changes of SOD, POD, CAT and MDA in leguminous plants are associated with plant species, the stage and feeding time of *M. distalis*. The resistance of leguminous plants is related to the activities of POD, CAT and MDA.

Key words: leguminous plants; *Megalurothrips distalis*; feeding stress

植物在生长中经常会受到植食性昆虫的为害, 在与害虫长期的协同进化中, 植物也逐渐形成了一套自身的防卫体系。研究发现害虫取食胁迫和机械损伤植物后, 会诱导植物体内多种防御相关酶及抗氧化酶活性的变化^[1-2]。例如白背飞虱为害水稻后引起植物体内超氧化物歧化酶(SOD)活性增加^[3]。绿盲蝽取食棉花后, 抗性品系体内的苯丙氨酸解氨酶(PAL)、过氧化物酶(POD)和多酚氧化酶(PPO)的活性显著高于敏感品系^[4]。南美斑潜蝇为害黄瓜

后, 黄瓜体内的PAL、POD、PPO和SOD活性显著上升^[5]。西花蓟马取食菜豆后诱导菜豆叶片内POD、SOD和CAT活性上升^[6]。绿盲蝽取食棉花后引起棉花体内SOD、PAL活性和丙二醛(MDA)含量显著上升^[7]。研究已证实超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)是植物体内的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。丙二醛(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

收稿日期: 2017-02-17

基金项目: 云南省教育厅科学研究基金重点项目(2013Z148), 红河学院大学生科技创新基金(DCX1404), 红河学院博硕项目(14bs12)和红河学院植物保护硕士点建设项目共同资助。

作者简介: 沈登荣, 讲师。E-mail: ynshdr@126.com

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^[7]。

端大蓟马 (*Megalurothrips distalis*), 属于蓟马亚科, 大蓟马属, 该虫主要分布在亚洲的许多国家, 例如中国、日本和印度等, 目前在我国大部分地区均有分布^[8]。该虫主要为害豆科植物, 如蚕豆、扁豆、豇豆和大豆等, 近年来在石榴、柑橘和茄子等果树和蔬菜作物也发现该虫的为害^[9-11]。该虫以若虫、成虫取食植物的幼嫩组织(嫩叶、花器和幼果), 造成植物叶片、花瓣颜色变褐和果实出现褐色斑点或坏死。由于其个体小、繁殖力强, 给生产上的防治带来较大的困难。目前已有研究表明西花蓟马取食胁迫可引起菜豆 3 种抗氧化酶活性的升高^[6], 而关于端大蓟马取食胁迫寄主植物后对植物体内防御酶活性和丙二醛含量的研究还未见报道。本试验通过研究端大蓟马不同虫态取食胁迫对不同的豆科植物(豇豆、蚕豆和菜豆)体内防御酶活性和丙二醛含量的影响, 旨在进一步了解端大蓟马和不同豆科植物相互作用的机理, 以期从植物抗虫性探讨端大蓟马新的防治策略。

1 材料与方法

1.1 供试植物和虫源

菜豆 (*Phaseolus vulgaris*)、豇豆 (*Vigna unguiculata*)、蚕豆 (*Vicia faba*) 在室外采用营养钵单株培育, 待植株长至 7~8 片真叶时, 去掉顶端防止其徒长。选择未受病虫害为害的长势一致的健康植株备用。端大蓟马采自蒙自市菜豆花上, 置于光照培养箱(温度: 25℃, 相对湿度: 60%~70%, L:D=16:8)中, 采用菜豆荚进行室内饲养, 取虫龄一致的 2 龄若虫和成虫用于试验。

1.2 试验方法

1.2.1 端大蓟马若虫取食胁迫处理 将单株植物放入养虫笼(60 cm×60 cm×60 cm)内, 接入约 30 头端大蓟马 2 龄若虫, 于 24、48、72 和 96 h 取样(受害程度基本一致的叶片), 分别测定叶片中的 SOD、CAT、POD 活性和 MDA 含量, 每个处理重复 3 次, 以未受端大蓟马取食的健康植株作为对照。

1.2.2 端大蓟马成虫取食胁迫处理 将单株植物放入养虫笼(60 cm×60 cm×60 cm)内, 接入约 30 头端大蓟马成虫(由于成虫较活泼, 取样中如有成虫死亡则需要补充成虫数量)。分别于 24、48、72 和 96 h 取样(受害程度基本一致叶片), 测定叶片中 SOD、CAT、POD 活性和 MDA 含量, 每个处理重复 3 次, 以未受端大蓟马取食的健康植株作为对照。

1.2.3 防御酶活性和 MDA 含量测定 采用 SOD、CAT、POD 和 MDA 试剂盒(南京建成生物工程研究所)进行测定。其中 SOD 活性定义为: 每 mg 组织蛋白在 1 mL 反应液中 SOD 抑制率达 50% 时所对应的 SOD 量为 1 个 SOD 活力单位 ($U \cdot mg^{-1}$)。POD 活性定义为: 在 37℃ 条件下, 每 mg 组织蛋白每分钟催化产生 1 μg 的底物的酶量定义为 1 个酶活力单位 ($U \cdot mg^{-1}$)。CAT 活性定义为: 每 mg 组织蛋白每秒钟分解 1 μmol 的 H_2O_2 的量为 1 个活力单位 ($U \cdot mg^{-1}$)。MDA 含量单位为每 mg 蛋白所含 MDA 纳摩尔量 ($nmol \cdot mg^{-1}$)。

1.3 数据分析

试验数据均采用 SPSS17.0 统计软件进行统计分析, 不同处理间差异显著性采用 LSD 法进行多重比较分析。

2 结果与分析

2.1 端大蓟马取食胁迫对豆科植物 SOD 活性影响

从表 1 中可以看出, 3 种豆科植物对照组的 SOD 活性基本保持不变。若虫和成虫取食胁迫后均引起 3 种豆科植物 SOD 活性的上升, 取食胁迫时间在 24~72 h 时, SOD 活性逐渐上升, 72~96 h 后 SOD 活性有下降趋势。其中若虫取食胁迫下的 SOD 活性相对较高, 但若虫取食胁迫和成虫取食胁迫下的 SOD 活性与对照组无显著差异 ($P=0.154$)。说明取食时间和端大蓟马虫态对豆科植物 SOD 活性有一定的影响。

2.2 端大蓟马取食胁迫对豆科植物 POD 活性影响

从表 2 中可以看出, 各处理的 POD 活性大小依次为: 若虫胁迫(NF) > 成虫胁迫(AF) > 对照(CK), 且各处理间均达到了显著差异 ($P=0.024$)。随着端大蓟马取食胁迫时间的延长, 3 种豆科植物的 POD 活性逐渐增加。取食胁迫时间在 24~72 h 时, POD 活性逐渐上升, 处理 72 h 后 POD 活性达到最高值, 72~96 h POD 活性逐渐降低。说明取食时间和端大蓟马虫态对豆科植物 POD 活性变化密切相关。

2.3 端大蓟马取食胁迫对豆科植物 CAT 活性影响

从表 1 中可以看出, 各处理的 CAT 活性大小依次为: 若虫胁迫(NF) > 成虫胁迫(AF) > 对照(CK)。在端大蓟马取食胁迫 48 h 后, 各处理间均达到了极显著差异 ($P=0.008$)。随着端大蓟马取食胁迫时间的增加, 3 种豆科植物的 CAT 活性逐渐增大。处理 72 h 后 CAT 活性达到最高值, 各处理间均达到了极显著差异 ($P=0.007$), 96 h CAT 活性逐渐降低。说明取食时间和端大蓟马虫态对豆科植物 CAT 活性变化密切相关。

表 1 端大蓟马取食胁迫对豆科植物 SOD 活性的影响

Table 1 Effects of *M. distalis* feeding stress on the activities of SOD in leguminous plantsU·mg⁻¹

豆科植物 Leguminous plant	处理 Treatment	处理时间/h Time			
		24	48	72	96
菜豆 <i>Phaseolus vulgaris</i>	NF	10.84±2.31 ^a	11.19±1.94 ^a	11.27±2.67 ^a	11.06±2.75 ^a
	AF	10.15±1.76 ^a	10.45±1.74 ^a	10.77±2.26 ^a	10.62±2.59 ^a
	CK	10.58±1.29 ^a	10.53±1.64 ^a	10.69±1.96 ^a	10.85±2.03 ^a
豇豆 <i>Vigna unguiculata</i>	NF	13.02±2.05 ^a	13.25±1.66 ^a	13.84±2.21 ^a	13.54±1.81 ^a
	AF	12.61±1.46 ^a	12.75±1.84 ^a	12.89±1.28 ^a	12.76±1.38 ^a
	CK	12.65±1.36 ^a	12.73±2.13 ^a	13.47±1.65 ^a	13.02±1.06 ^a
蚕豆 <i>Vicia faba</i>	NF	8.76±0.26 ^a	9.23±0.47 ^a	9.27±0.76 ^a	9.15±0.83 ^a
	AF	8.21±0.16 ^a	8.48±0.24 ^a	8.85±0.29 ^a	8.68±0.62 ^a
	CK	8.26±0.12 ^a	8.64±0.25 ^a	8.61±0.37 ^a	8.53±0.54 ^a

注: NF 为若虫取食处理, AF 为成虫取食处理, CK 为健康植株。不同字母表示同一植物同列数据在 0.05 水平上差异显著 ($P<0.05$)。下同。

Note: NF (nymph feeding treatment), AF (Adult feeding treatment) and CK (healthy plant). Different letters indicate significant difference at 0.05 level in the same column of the same plant. The same below.

表 2 端大蓟马取食胁迫对豆科植物 POD 活性的影响

Table 2 Effects of *M. distalis* feeding stress on the activities of POD in leguminous plantsU·mg⁻¹

豆科植物 Leguminous plant	处理 Treatment	处理时间/h Time			
		24	48	72	96
菜豆 <i>Phaseolus vulgaris</i>	NF	38.26±0.68 ^c	44.29±1.65 ^c	52.24±2.01 ^c	51.64±2.39 ^c
	AF	35.15±1.23 ^b	39.43±1.86 ^b	47.23±1.73 ^b	43.38±1.07 ^b
	CK	31.35±1.18 ^a	32.72±0.94 ^a	33.02±1.77 ^a	32.61±2.05 ^a
豇豆 <i>Vigna unguiculata</i>	NF	27.42±1.26 ^b	29.46±2.49 ^c	36.93±1.56 ^c	33.68±1.38 ^c
	AF	24.25±1.36 ^a	26.93±2.37 ^b	34.02±3.25 ^b	32.74±2.26 ^b
	CK	23.59±1.18 ^a	24.45±1.82 ^a	23.84±2.75 ^a	24.64±1.75 ^a
蚕豆 <i>Vicia faba</i>	NF	48.31±3.87 ^c	52.64±1.48 ^c	66.28±4.19 ^c	62.85±3.62 ^c
	AF	46.56±2.82 ^b	49.57±0.25 ^b	59.33±2.67 ^b	57.43±2.54 ^b
	CK	40.05±2.26 ^a	41.23±2.47 ^a	41.57±3.26 ^a	40.55±1.43 ^a

表 3 端大蓟马取食胁迫对豆科植物 CAT 活性的影响

Table 3 Effects of *M. distalis* feeding stress on the activities of CAT in leguminous plantsU·mg⁻¹

豆科植物 Leguminous plant	处理 Treatment	处理时间/h Time			
		24	48	72	96
菜豆 <i>Phaseolus vulgaris</i>	NF	29.86±2.34 ^a	31.69±3.76 ^c	37.64±4.21 ^c	35.96±2.39 ^c
	AF	29.05±2.63 ^a	29.93±2.53 ^b	34.38±3.83 ^b	33.53±2.54 ^b
	CK	28.74±3.21 ^a	28.78±2.64 ^a	29.05±3.76 ^a	29.61±3.25 ^a
豇豆 <i>Vigna unguiculata</i>	NF	19.42±1.26 ^a	22.24±2.49 ^b	28.83±2.87 ^c	24.44±3.48 ^c
	AF	18.57±2.63 ^a	21.93±2.37 ^a	25.32±3.14 ^b	23.64±4.16 ^b
	CK	18.75±1.37 ^a	20.34±2.32 ^a	19.96±2.29 ^a	21.06±2.58 ^a
蚕豆 <i>Vicia faba</i>	NF	38.03±3.64 ^a	42.33±4.08 ^c	48.75±4.46 ^c	46.28±3.92 ^c
	AF	37.56±3.75 ^a	39.79±3.85 ^b	43.43±3.82 ^b	42.33±2.49 ^b
	CK	36.65±2.57 ^a	37.08±3.67 ^a	37.54±3.35 ^a	37.43±3.23 ^a

表 4 端大蓟马取食胁迫对豆科植物 MDA 含量的影响

Table 4 Effects of *M. distalis* feeding stress on the MDA Content in leguminous plantsnmol·mg⁻¹

豆科植物 Leguminous plant	处理 Treatment	处理时间/h Time			
		24	48	72	96
菜豆 <i>Phaseolus vulgaris</i>	NF	7.47±1.69 ^a	8.68±2.26 ^b	9.46±4.21 ^c	9.15±1.52 ^c
	AF	7.01±1.54 ^a	7.78±2.04 ^b	8.95±3.83 ^b	8.55±1.83 ^b
	CK	6.36±1.08 ^a	6.58±1.25 ^a	6.45±1.86 ^a	6.43±0.86 ^a
豇豆 <i>Vigna unguiculata</i>	NF	10.76±2.63 ^c	11.74±3.21 ^c	13.23±3.54 ^c	12.85±2.83 ^c
	AF	9.96±2.06 ^b	10.33±2.43 ^b	11.46±3.06 ^b	11.04±3.34 ^b
	CK	8.75±1.22 ^a	8.64±0.96 ^a	8.85±1.54 ^a	8.58±1.32 ^a
蚕豆 <i>Vicia faba</i>	NF	8.68±2.04 ^a	9.73±4.08 ^b	10.24±3.66 ^b	10.03±3.23 ^c
	AF	8.45±1.65 ^a	9.15±3.85 ^b	9.79±2.42 ^b	9.33±2.07 ^b
	CK	7.78±1.24 ^a	7.65±1.54 ^a	7.59±1.49 ^a	7.84±1.75 ^a

2.4 端大蓟马取食胁迫对豆科植物 MDA 含量影响

从表 4 中可以看出, 各处理的 MDA 含量大小依次为: 若虫胁迫 (NF) > 成虫胁迫 (AF) > 对照 (CK)。其中端大蓟马取食胁迫豇豆 24 h 后, 各处理间 MDA 含量达到显著差异 ($P=0.032$)。而蚕豆和菜豆在端大蓟马取食胁迫 72 h 后, 各处理间达到了显著差异 ($P=0.019$)。随着端大蓟马取食胁迫时间的增加, 3 种豆科植物的 MDA 含量逐渐增大, 处理 72 h 后 MDA 含量达到最高值, 96 h MDA 含量逐渐下降 (见表 4)。说明取食时间和端大蓟马虫态对豆科植物 MDA 含量密切相关。

3 讨论与结论

植物受到病虫害为害时会产生大量的活性氧, 多余的活性氧会影响植物正常的生理活动。在植物正常代谢过程中, 植物体内的抗氧化酶系统和非酶抗氧化系统会及时清除某些活性氧类, 从而避免了由活性氧引起的膜脂过氧化作用所造成的细胞膜系统的损伤^[12]。目前, 研究证实害虫取食为害可诱导寄主植物体内 PAL、PPO、POD 和 SOD 等防御酶活性上升, 从而可能对害虫产生不利的影响^[3-6]。

本研究表明端大蓟马取食胁迫不同豆科植物后, 可对植物体内 SOD、POD、CAT 活性和 MDA 含量造成不同程度提升作用, 随着端大蓟马取食胁迫时间增加, 3 种豆科植物的 4 种防御酶活性逐渐增大, 处理 72 h 后 MDA 含量达到最高值。这与从春蕾等^[6]研究西花蓟马取食对菜豆叶片抗氧化系统影响结果基本一致。此外, 不同虫态取食胁迫后对植物防御酶活性有影响, 若虫取食胁迫大于成虫胁迫, 推测可能是由于若虫取食量大于成虫量所引起。

生物体内氧被视为电子传递的受体, 正常状态下生物细胞代谢产生的活性氧不对其造成危害, 但在逆境下可对生物体造成危害。而活性氧清除系统的 3 个关键酶 (SOD、POD 和 CAT) 能有效抑制活性氧自由基对机体的伤害, 提高生物抗逆能力^[13]。研究发现不同植物受不同害虫危害后体内保护酶活性变化存在一定差异^[14-15]。本研究发现不同豆科植物 POD 活性升高程度存在显著差异 ($P=0.024$), CAT 活性上升程度也存在显著差异 ($P=0.008$), 依次均为蚕豆 > 四季豆 > 豇豆。而 3 种豆科植物叶片在受到端大蓟马取食胁迫后, 从外部受损程度依次为豇豆 > 四季豆 > 蚕豆, 这说明豆科植物的抗虫性与体内的部分抗氧化酶活性上升有密切的联系。但

豆科植物抗性是否与防御酶的活性成正相关及哪些关键防御酶能够作为豆科植物对端大蓟马抗性的鉴定指标, 还需要深入了解端大蓟马与寄主适合度差异的生化机制以及深入研究端大蓟马防御酶活性变化与豆科植物防御反应的相互关系。

参考文献:

- [1] TSCHARNTKE T, THIESSEN S, DOLCH R, et al. Herbivory, induced resistance, and interplant signal transfer in *Alnus glutinosa*[J]. *Biochem Syst Ecol*, 2001, 29(10): 1025-1047.
- [2] KESSLER A, BALDWIN I T. Plant responses to insect herbivory: The emerging molecular analysis[J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2002, 53: 299-328.
- [3] 张金锋, 薛庆中. 稻飞虱为害胁迫对水稻植株内主要保护酶活性的影响[J]. *中国农业科学*, 2004, 37(10): 1487-1491.
- [4] 毛红, 陈瀚, 刘小侠, 等. 绿盲蝽取食与机械损伤对棉花叶片内防御性酶活性的影响[J]. *应用昆虫学报*, 2011, 48(5): 1431-1436.
- [5] 孙兴华, 周晓榕, 庞保平, 等. 南美斑潜蝇为害对黄瓜体内 4 种防御酶活性的影响[J]. *生态学报*, 2013, 33(23): 7348-7354.
- [6] 从春蕾, 郑军锐, 廖启荣, 等. 西花蓟马取食与机械损伤对菜豆叶片抗氧化系统的影响[J]. *应用昆虫学报*, 2013, 50(6): 1586-1593.
- [7] 谭永安, 柏立新, 肖留斌, 等. 绿盲蝽危害对棉花防御性酶活性及丙二醛含量的诱导[J]. *棉花学报*, 2010, 22(5): 479-485.
- [8] 韩运发. 中国经济昆虫志: 第五十五册·缨翅目[M]. 北京: 科学出版社, 1997: 232-234.
- [9] 刘凌, 陈斌, 张宏瑞, 等. 云南石榴蓟马种类组成及其种群动态[J]. *植物保护*, 2010, 36(4): 130-133.
- [10] 徐淑娟, 张宏瑞, 谢永辉, 等. 柑橘蓟马种类和种群季节动态[J]. *云南农业大学学报(自然科学版)*, 2012, 27(2): 170-175.
- [11] 蒋兴川, 李志华, 曹志勇, 等. 蔬菜花期蓟马的种群动态与空间分布研究[J]. *应用昆虫学报*, 2013, 50(6): 1628-1636.
- [12] ARIAS M C, LUNA C, RODRÍGUEZ M, et al. Sunflower chlorotic mottle virus in compatible interactions with sunflower: ROS generation and antioxidant response[J]. *Eur J Plant Pathol*, 2005, 113(3): 223-232.
- [13] 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.
- [14] 陈建明, 俞晓平, 程家安, 等. 不同水稻品种受褐飞虱危害后体内生理指标的变化[J]. *植物保护学报*, 2003, 30(3): 225-231.
- [15] 魏书艳, 肖留斌, 谭永安, 等. 不同寄主受绿盲蝽危害后生理代谢指标的变化[J]. *植物保护学报*, 2010, 37(4): 359-364.