

网络出版时间:2013-05-02 10:55

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20130502.1055.025.html>

茉莉酸诱导棉花幼苗抗虫性对 棉铃虫相对生长率的影响

杨世勇^a, 宋芬芳^a, 谢建春^b

(安徽师范大学 a 生命科学学院, b 环境科学与工程学院, 安徽 芜湖 241000)

[摘要] **【目的】**研究茉莉酸对棉花幼苗抗虫相关酶活性诱导的浓度依赖性和系统诱导抗性,探讨某一特定浓度茉莉酸诱导抗虫性的滞后期及其对棉铃虫相对生长率和体质量的影响,为农林害虫的综合防治提供理论依据。**【方法】**以皖棉 16 为材料,分别以 0.1、1.0 和 10 mmol/L 茉莉酸处理 6 叶期棉花幼苗叶片,研究不同浓度茉莉酸对棉花幼苗抗虫相关酶活性的影响;以 1.0 mmol/L 茉莉酸处理 6 叶期棉花幼苗,研究其对棉花幼苗抗虫性诱导的时效性及其对棉铃虫相对生长率和体质量的影响。**【结果】**0.1 mmol/L 茉莉酸对棉花幼苗多酚氧化酶(PPO)、过氧化物酶(POD)和苯丙氨酸解氨酶(PAL)的诱导作用不明显,但能诱导处理叶脂氧合酶(LOX)活性显著升高;1.0 mmol/L 茉莉酸能诱导棉花幼苗 PPO 和 PAL 活性局部升高和系统升高,但只能诱导 POD 系统升高和 LOX 活性局部升高;10 mmol/L 茉莉酸可诱导棉花幼苗 PPO 活性局部升高和系统升高,诱导 PAL 活性系统升高,诱导 LOX 活性系统下降,对 POD 活性的影响不明显。分析表明,1.0 mmol/L 茉莉酸是 6 叶期棉花幼苗抗虫相关酶诱导的最佳浓度,诱导效应可持续 4~8 d(依酶而异),但处理后第 6 天的棉叶对棉铃虫相对生长率和体质量增加的抑制作用最明显。**【结论】**茉莉酸对棉花幼苗抗虫相关酶的诱导存在浓度依赖性和滞后期,诱导抗性明显抑制棉铃虫的相对生长率和体质量增加。1.0 mmol/L 茉莉酸是诱导 6 叶期皖棉 16 幼苗抗虫性的最佳浓度,抗虫性的滞后期可达 4~8 d。

[关键词] 茉莉酸;诱导防御;棉花;棉铃虫;相对生长率;氧化酶;抗消化酶;害虫控制

[中图分类号] S435.622⁺.3

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2013)05-0066-09

Resistance of jasmonic acid-mediated cotton seedlings against the relative growth rate of *Helicoverpa Armigera*

YANG Shi-yong^a, SONG Fen-fang^a, XIE Jian-chun^b

(a School of Life Sciences, b School of Environmental Sciences and Engineering, Anhui Normal University, Wuhu, Anhui 241000, China)

Abstract: **【Objective】**The concentration dependency and systemic induction of Wanmian 16(*Gossypium hirsutum*, L.) induced by different concentrations of jasmonic acid(JA) were studied. The time effect of JA application on the relative growth rate and mass gain of *Helicoverpa armigera* were investigated as well. **【Method】**0.1, 1.0 and 10.0 mmol/L JA were used to investigate their effects on the induction of pest defense enzyme activities in six-leafage seedlings of cotton plant Wanmian 16. 1.0 mmol/L JA was used to study the time effect of JA-induced pest defense in cotton seedlings and its effect on the relative growth rate and mass gain of *H. armigera*. **【Result】**0.1 mmol/L JA had insignificant effect on the induction of polyphenoxidase(PPO), peroxidase(POD) and phenylalanine ammonia-lyase(PAL) activities, but it induced

[收稿日期] 2012-08-13

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30970456, 31070338);安徽省自然科学基金项目(090413078, 1108085J07);教育部高等学校博士学科点专项基金项目(新教师类, 20093424120002);生物环境与生态安全安徽省高校省级重点实验室项目

[作者简介] 杨世勇(1972—),男,河南罗山人,副教授,主要从事害虫综合治理和植物诱导防御研究。

E-mail: shiyan@mail.ahnu.edu.cn

systemic increase of lipoxygenase(LOX)activity in cotton seedlings. 1.0 mmol/L JA induced the local and systemic increase of PPO and PAL activities, but it only induced the systemic increase of POD activity and local increase of LOX activity. 10 mmol/L JA induced local and systemic increase of PPO activity, systemic increase of PAL activity and systemic decrease of LOX activity, but its induction effect on POD activity was insignificant. Analysis showed that 1.0 mmol/L JA was the optimal concentration to induce the defense-related enzyme activities. Depending on the enzymes induced, the induced effect could last at least 4—8 days, but the inhibition effect at day 6 was the best in terms of the relative growth rate and mass gain of *H. armigera*. 【Conclusion】 JA induced the defense-related enzymes activities in cotton seedlings in a concentration-dependency and time-effect manner. The induced defense by JA inhibited significantly the relative growth rate and mass gain of *H. armigera*. 1.0 mmol/L JA was the optimal JA concentration that induced defense-related enzymes in six-leaf cotton seedlings Wanmian 16, and the duration of induced defense was 4—8 d.

Key words: jasmonic acid (JA); induced defense; *Gossypium hirsutum* L.; cotton bollworm; relative growth rate; oxidase; antigestive enzymes; pest control

棉花(*Gossypium hirsutum* L.)是一种在世界范围内广泛栽培的重要经济作物,其害虫主要有叶螨(*Tetranychus urticae*)、蓟马(*Frankliniella occidentalis*)、烟粉虱(*Bemisia tabaci* Gennadius)、棉蚜(*Aphis gossypii*)和棉铃虫(*Helicoverpa armigera*)等,害虫发生期贯穿棉花整个生长期,严重影响了棉花的产量和质量。杀虫剂的反复使用虽然可以快速杀灭农田害虫,但却引起害虫耐药性显著进化和严重的环境安全与人类健康问题。虽然转 Bt 基因棉的大面积种植减少了农药的使用,有效地控制了棉铃虫的大发生,但原来的次要害虫却转而成为危害棉花的主要害虫^[1]。Bt 棉的大量广泛栽种还增加了害虫耐性进化的风险,有研究表明,棉铃虫对 Bt 毒素的耐性进化有其遗传多样性基础^[2];有学者在实验室种群内检测到棉铃虫对 Bt 毒素的耐性^[3],所有这些似乎都表明,田间棉铃虫种群进化出 Bt 毒素的耐性只是时间问题。因此,有必要研发既对环境友好,又对生物多样性无不利影响的新型杀虫剂。

诱导抗性是植物界广泛存在的一种自然现象,对食草动物的种群和群落有较大影响^[4-6]。田间试验表明,诱导防御是一种有潜力的农业害虫治理手段^[7]。茉莉酸(Jasmonic acid, JA)及其功能类似物是一类具有多种功能的植物生长调节剂,除能调节植物的基础发育外,还在植物的受伤反应、臭氧和紫外线暴露、病原菌感染、昆虫取食和水分胁迫反应中起信号传递的作用^[8-9]。JA 诱导植物防御反应的模式与昆虫取食的诱导模式类似,除能诱导植物防御性次生代谢物发生质变和/或量变,干扰昆虫对植物营养的获取,影响昆虫发育和繁殖外^[4,10],还能诱导

植物产生大量挥发性有机化合物,吸引寄生性或捕食性天敌对为害寄主植物的害虫进行攻击^[7,11-12]。昆虫取食能诱导 JA 合成关键酶脂氧合酶(LOX)基因的表达和活性升高^[13-14]。抗虫玉米植株的组成性 JA 含量比敏感玉米植株高约 3 倍^[15]。目前,有关 JA 及其功能类似物诱导植物防御反应的研究多集中在少数几种模式植物上,而对多倍体植物棉花的研究相对较少^[16-18],且局限于单一浓度和固定时间。实际上,外源化学物质对植物防御反应的诱导存在滞后性和浓度依赖性^[19-21]。植物对外源 JA 响应的的时间和浓度决定了 JA 类物质作为植物抗性诱导子的有效性,这一点在棉花中是否属实有待验证。

本研究以皖棉 16 幼苗为材料,通过 2 个独立但又相互联系的试验对棉花幼苗诱导抗虫性进行探讨,研究 JA 诱导植物抗虫性的滞后期和浓度依赖性,以及 JA 诱导棉花幼苗抗虫性对棉铃虫相对生长率和体质量的影响,旨在揭示 JA 诱导棉花抗虫性的生化基础,为棉田害虫的综合防治提供理论和试验依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试棉花 皖棉 16 种子购自芜湖市城南某种子分公司,由安徽省农业科学研究院培育。

1.1.2 主要试剂与仪器 主要试剂:茉莉酸(含量 $\geq 95\%$)购自 Sigma-Aldrich;无水乙醇、邻苯二酚、亚油酸、愈创木酚、L-苯丙氨酸、肉桂酸等均为常规分析纯试剂。

主要仪器:高速冷冻离心机(Hettich Zentrifu-

gen GmbH & Co. KG)、TU-1810PC 紫外-可见光分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)、微量加样器(Gilson)、1/10 000 电子天平(上海精密科学仪器有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 棉花幼苗处理 4 月上旬挑选颗粒饱满的皖棉 16 种子于室内催芽,待种子露白后播于盛满黄壤土、草木灰和砂子的塑料花盆(底面半径 9 cm;高 15 cm)中育苗,每盆播 6 粒种子,待幼苗长出 2 片真叶后,间苗至每盆 4 株。5 月下旬,待幼苗长至 6 片真叶时(出苗后 45 d 左右)于室外大棚内进行试验。供试大棚四面通风,顶部为透明有机塑料,室内光照约为自然光照的 85%。试验期间,根据情况适时浇水,不施肥。

1.2.2 虫源 棉铃虫捕捉于安徽宣城地区棉田,并于室内饲养驯化数代。初孵 1 龄棉铃虫幼虫用含有韦氏盐、范氏维生素和小麦胚芽等的人工饲料饲养到 4 龄用于试验,饲养条件为:光周期 16 L/8 D,温度(29±1)℃,相对湿度 75%~80%。

1.2.3 试验设计 (1)不同浓度 JA 对棉花幼苗抗虫相关酶活性的诱导。用无水乙醇和去离子水将 JA 配制成浓度分别为 0.1、1.0 和 10.0 mmol/L 的溶液,以无水乙醇+去离子水为对照(CK)。按叶发生顺序对叶进行编号,将第 2 和第 4 片叶分别定义为下位和上位叶(统称系统叶),第 3 片叶为处理叶。用手持式喷雾器向 6 叶期棉花幼苗的第 3 片叶均匀喷洒不同浓度的 JA 溶液,直到叶面有液滴落下为止。喷洒 JA 溶液时,将其他叶片遮挡,避免 JA 对相邻叶片的影响。喷洒 JA 溶液后,立即用透明塑料袋将该叶套住,8 h 后移除塑料袋,24 h 后采集叶片进行酶活性测定。每处理设 4 个重复。

(2) JA 对棉花幼苗抗虫性的诱导作用及其对棉铃虫相对生长率的影响。根据前期研究结果,确定 0.01~10.0 mmol/L 是 JA 诱导棉花幼苗抗虫性的有效浓度。此次试验采用 1.0 mmol/L JA 对 6 叶期棉花幼苗进行处理,测定诱导强度和诱导抗性对棉铃虫相对生长率的影响。培养 5 组棉花幼苗,每组重复 4 盆,每盆 4 株,每次只从其中一组取样,以减少机械损伤对幼苗抗虫性的诱导以及对棉铃虫生长速率的影响。1.0 mmol/L JA 处理 6 叶期棉花幼苗的方法同(1),于处理后 2、4、6 和 8 d 后取 JA 处理叶(第 3 片叶)和对照植株的相应叶片,测定抗虫相关酶活性的时序变化。

取对照植株的第 3 片叶、1.0 mmol/L JA 处理

的叶片和系统下位叶饲养棉铃虫,将叶片放在盛放湿润滤纸的培养皿中,再将 1 头已饥饿 2 h 的 4 龄棉铃虫幼虫称质量后放入,任其自由取食 48 h,重新饥饿 2 h 后再称试虫质量,重复 4 次。棉铃虫的相对生长率=(取食后幼虫质量-取食前幼虫质量)/取食前幼虫质量×100%。

1.2.4 酶活性的测定 酶液的制备:取 0.5 g 棉花叶片,用 3.0 mL 含有 70 mg/L PVPP 的磷酸缓冲液(0.1 mol/L, pH 7.4)于冰浴中匀浆,再向匀浆中加入 1.0 mL 体积分数为 10%的 Tween-20,混匀后于 4℃下 10 000 g 离心 10 min,取上清液直接用于 PPO、POD、PAL 和 LOX 活性测定。PAL 活性测定参照邹志燕等^[22]的方法,活性用 U/g 表示;PPO 和 POD 活性测定参照宫玉艳等^[23]的方法,活性均用 U/g 表示;LOX 活性以亚油酸为底物,参照 Hu 等^[13]的方法进行,活性用 U/g 表示。

1.3 数据处理

同一浓度 JA 对棉花幼苗 PPO、POD、PAL 和 LOX 活性的局部诱导和系统诱导用 SPSS 15.0 进行一维方差(ANOVA)分析,并进行 Tukey's HSD 多重比较;不同浓度 JA 的诱导效应和诱导时效性的差异用独立样本的 T-test 进行比较;诱导抗性对棉铃虫相对生长率的影响用 ANOVA 进行分析,并进行 Tukey's HSD 多重比较;局部诱导和系统诱导的差异用独立样本的 T-test 进行检验。试验数据均表示为“平均值±标准差”。任意系统叶(包括上位系统叶和下位系统叶)抗虫相关酶活性显著高于对照植物相应叶片,即认为系统诱导作用明显。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 JA 对棉花幼苗抗虫相关酶活性的诱导作用

2.1.1 PPO 活性 由图 1 可见,3 种不同浓度的 JA 均在一定程度上提高了棉花幼苗叶片的 PPO 活性。0.1 mmol/L JA 处理时,处理叶与系统叶的 PPO 活性无显著差异,其 PPO 活性与对照差异也不显著;1.0 mmol/L JA 处理时,处理叶的 PPO 活性显著高于系统叶,系统叶间 PPO 活性无显著差异;用 10.0 mmol/L JA 处理棉花叶片时,处理叶的 PPO 活性显著高于上位叶,但和下位系统叶的差异不明显。1.0 和 10.0 mmol/L JA 处理时,上位系统叶和处理叶 PPO 活性均显著高于对照植株相应叶片,但下位系统叶的 PPO 活性和对照植物相比差异不明显。

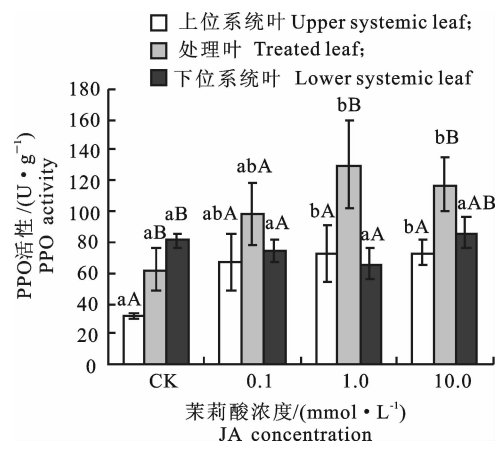


图 1 JA 对棉花幼苗 PPO 活性的局部诱导和系统诱导效应
柱上标不同小写字母表示不同 JA 浓度处理间相应叶片 PPO 活性差异显著 ($P<0.05$), 标不同大写字母表示同一 JA 浓度处理的不同叶片间 PPO 活性差异显著 ($P<0.05$). 下同。

Fig. 1 Local and systemic induction of PPO activity in cotton seedling by JA
Different lowercase letters above bars represent significance of PPO activities at $P<0.05$ among different JA concentrations, while different capital letters above bars represent significance of PPO activities at $P<0.05$ with the same JA concentration. The same below

对 JA 诱导棉花叶片 PPO 活性的浓度依赖性进行分析,结果表明,1.0 和 10.0 mmol/L JA 处理的诱导效果均显著优于 0.1 mmol/L 处理。1.0 和 10.0 mmol/L JA 的诱导效果虽然差异不明显,但棉花幼苗经 1.0 mmol/L JA 处理后,平均 PPO 活性高于 10 mmol/L 处理组,故认为 1.0 mmol/L JA 的诱导效果优于 10 mmol/L。

2.1.2 POD 活性 由图 2 可以看出,0.1 和 10.0 mmol/L JA 处理时,处理叶、系统叶 POD 活性与对照植株相应叶片差异均不显著。1.0 mmol/L JA

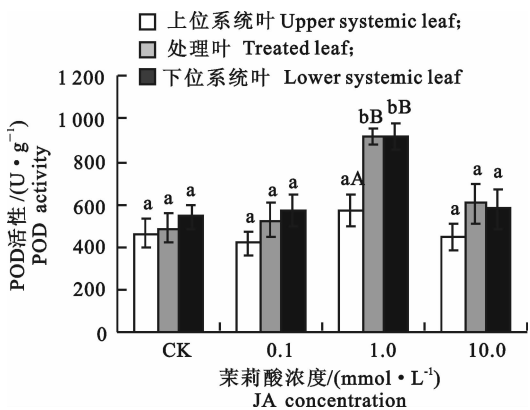


图 2 茉莉酸对棉花幼苗 POD 活性的局部诱导和系统诱导效应

Fig. 2 Local and systemic induction of POD activity in cotton seedling by JA

处理时,处理叶的 POD 活性显著高于上位系统叶,但和下位系统叶的差异不明显,上位系统叶与对照和其他处理组相应叶片的 POD 活性差异也不显著,但处理叶和下位系统叶的 POD 活性均显著高于对照及 0.1 和 10.0 mmol/L JA 处理组相应叶片的 POD 活性。

对 JA 诱导棉花叶片 POD 活性的浓度依赖性进行分析,结果表明,1.0 mmol/L JA 的诱导效果显著优于 0.1 和 10.0 mmol/L JA。

2.1.3 PAL 活性 由图 3 可以看出,3 种不同浓度的 JA 对棉花幼苗叶片的 PAL 活性均有一定的诱导作用。棉花幼苗经 0.1 mmol/L JA 处理后,处理叶和系统叶的 PAL 活性差异不明显,上位系统叶的 PAL 活性显著高于下位系统叶;处理叶和系统叶的 PAL 活性虽较对照组植株相应叶片的 PAL 活性高,但差异不明显。1.0 mmol/L JA 处理后,处理叶与系统叶 PAL 活性差异不明显,其 PAL 活性均显著高于对照植株相应叶片。10.0 mmol/L JA 处理时,上位系统叶的 PAL 活性显著高于处理叶和下位系统叶,且显著高于对照植株相应叶片的 PAL 活性。0.1,1.0 和 10.0 mmol/L 3 种浓度诱导效应之间的比较表明,各处理组上位系统叶之间的 PAL 活性差异不显著,但 1.0 mmol/L JA 处理的处理叶和下位系统叶的 PAL 活性均显著高于 0.1 和 10.0 mmol/L 处理组棉花幼苗相应叶片的 PAL 活性。

对 JA 诱导棉花叶片 PAL 活性的浓度依赖性进行分析,结果表明,1.0 mmol/L 茉莉酸的诱导效果显著优于 0.1 和 10.0 mmol/L JA。

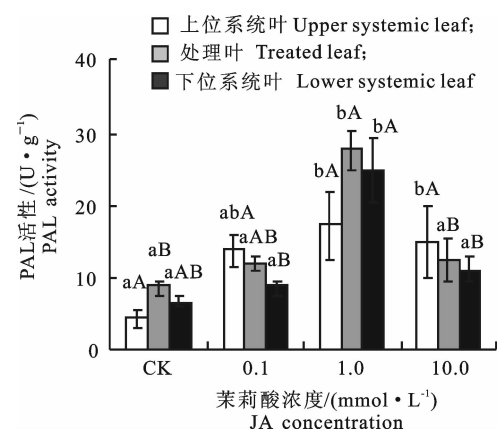


图 3 茉莉酸对棉花幼苗 PAL 活性的局部诱导和系统诱导效应

Fig. 3 Local and systemic induction of PAL activity in cotton seedling by JA

2.1.4 LOX 活性 由图 4 可以看出,各处理组上位系统叶 LOX 活性较对照组相应叶片无显著差异。0.1 和 1.0 mmol/L JA 处理组处理叶 LOX 活性显著高于对照组相应叶片,但 10.0 mmol/L JA 处理组 LOX 活性较对照组相应叶片差异不显著。0.1 mmol/L JA 处理叶 LOX 活性较 10.0 mmol/L 处理组无显著差异;1.0 mmol/L JA 处理组下位系统叶 LOX 活性显著高于 10.0 mmol/L JA 处理组。除对照组外,其余各组处理叶 LOX 活性与系统叶均无显著差异。

对 JA 诱导棉花幼苗 LOX 活性的浓度依赖性进行分析,结果表明,1.0 mmol/L JA 的诱导效果优于 10.0 mmol/L,但和 0.1 mmol/L 相比无明显

差异。

2.2 JA 对棉花幼苗抗虫性诱导的滞后性

由表 1 可知,各抗虫相关酶活性均呈现先升高后下降的趋势。JA 处理后第 2 天和第 4 天,棉花幼苗处理叶 PPO 活性显著高于对照组和处理后第 6 天与第 8 天。JA 对 POD 诱导的时效性与 PPO 略有不同:棉叶 POD 活性在处理后的第 4 天最高,约为对照组的 1.52 倍;处理后第 2 天和第 8 天 POD 活性虽较对照组分别高 19.2% 和 26.2%,但差异不显著。JA 处理后第 6 天和第 8 天,棉叶 LOX 活性显著高于对照和处理后第 2 天和第 4 天。棉叶 PAL 对 1.0 mmol/L JA 处理不敏感,处理后第 2,4,6 和 8 天,棉花叶片的 PAL 活性虽较对照有所升高,但差异均不显著。

2.3 JA 诱导对棉铃虫相对生长率的影响

由表 2 可知,用 JA 处理后第 6 天的处理叶饲养的棉铃虫相对生长率显著低于对照,相对生长率的抑制率达 70.4%;处理叶喂养的棉铃虫质量增加量均显著低于对照,但处理不同时间点的差异不明显。用 JA 处理后第 2,4 和 8 天的处理叶饲养的棉铃虫相对生长率较对照差异不明显,但相对生长率的抑制率分别达到 22.6%,38.7% 和 47.6%,差异均达显著水平。棉铃虫用 JA 处理后第 6 天和第 8 天的系统叶喂养时,其相对生长率受到显著抑制,较对照分别下降了 65.9% 和 65.5%,体质量增加量也显著低于其他各组。独立样本的 t-test 表明,处理叶和系统叶对棉铃虫相对生长率和体质量增加量的影响组内无显著差异。

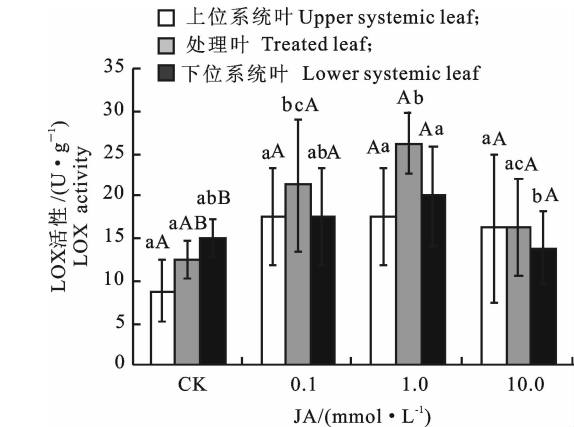


图 4 不同浓度 JA 对棉花幼苗 LOX 活性的局部诱导和系统诱导效应

Fig. 4 Local and systemic induction of LOX activity in cotton seedling by JA

表 1 1.0 mmol/L JA 诱导棉花幼苗抗虫相关酶活性的时效性

Table 1 Exposure time dependent induction of pest resistance enzymes by JA application in cotton seedling U/g

处理时间/d Time after treatment	PPO 活性 PPO activity	POD 活性 POD activity	LOX 活性 LOX activity	PAL 活性 PAL activity
CK	28.75±2.2 a	462.5±76.9 a	13.75±4.3 a	14.38±3.9 a
2	63.75±9.9 b	551.3±65.1 ab	22.50±3.8 ab	15.00±1.9 a
4	62.50±14.2 b	702.5±1.3 b	22.50±6.5 a	26.25±6.8 a
6	33.75±3.8 a	705.5±97.2 b	41.25±3.8 c	26.88±9.2 a
8	32.50±5.7 a	583.8±45.8 ab	31.25±2.2 c	25.63±5.4 a

注:同列数据后标不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。下表同。
Note:Lowercase letters after data in same column indicate significance at P<0.05. the same below.

表 2 JA 处理棉花幼苗对棉铃虫相对生长率的影响

Table 2 Effects of JA-mediated defense against the relative growth rate(RGR)of *H. armigera*

处理时间/d Time after treatment	处理叶饲养的棉铃虫 Cotton bollworm fed with treated leaf		系统叶饲养的棉铃虫 Cotton bollworm fed with systemic leaf	
	相对生长率/% Relative growth rate	体质量增加/(mg·头 ⁻¹) Mass gain	相对生长率/% Relative growth rate	体质量增加/(mg·头 ⁻¹) Mass gain
CK	31.5±3.7 a	37.1±4.5 a	31.5±3.7 a	37.1±4.5 a
2	23.3±2.4 a	29.8±4.8 b	31.7±6.7 a	40.7±13.4 a
4	20.1±4.9 ab	20.5±4.6 b	22.5±4.8 ab	30.5±9.6 a
6	9.3±1.2 b	20.4±4.1 b	13.9±4.3 b	19.3±3.5 b
8	19.2±3.9 ab	20.9±1.6 b	13.9±4.8 b	18.1±8.3 b

3 讨论

JA 是一种具有多种功能的植物生长调节剂,能通过触发植物细胞的转录调控过程,实现对植物基础代谢和抗逆性的调节,在提高植物抗逆性方面具有重要作用^[24]。目前,JA 诱导抗虫性的研究主要集中在玉米^[21]、烟草^[25]、水稻^[22,26]、小麦^[27]、番茄^[28]、花生^[29]等经济作物上,在多倍体植物棉花上的研究尚不多见。本研究证实,同水稻^[22]和玉米^[30]类似,外源 JA 对棉花幼苗的抗性诱导也存在浓度依赖性和滞后期。棉花幼苗经 JA 处理后,对棉铃虫幼虫的生长抑制作用明显,诱导效果与对番茄^[4]、茶树^[31]和甘蓝^[32]等的诱导效果相似。

3.1 JA 对棉花幼苗抗虫相关酶活性诱导的浓度依赖性

PPOs 能利用分子态氧将对-二苯酚氧化成对应的醌,所生成的醌生物活性较强,能使植物蛋白质发生交联或烷基化,减少食草昆虫对植物营养的获取,抑制幼虫生长。有研究表明,甜菜夜蛾(*Spodoptera exigua*)和棉铃虫体质量的增加分别与番茄叶中 PPO 的过表达和活性呈负相关关系,其在相应植株上的取食量均减少,说明 PPO 在防御这 2 种昆虫中起重要作用^[33]。JA 类物质处理可以提高植株叶片的 PPO 活性,如 0.1~10 mmol/L 的茉莉酸甲酯能诱导番茄幼苗叶片 PPO 活性明显升高^[34-35]。用 5 种不同浓度的 JA (0.001~1.0 mmol/L) 处理枸杞苗后,枸杞叶 PPO 活性明显高于对照^[23]。本研究发现,1.0 和 10.0 mmol/L JA 均能诱导棉花叶片 PPO 活性显著升高,但 1.0 mmol/L JA 的诱导效果优于 0.1 和 10 mmol/L,这与宫玉艳等^[23]、Boughton 等^[34]和 Cipollini 等^[35]的研究结果类似。

POD 参与酚的氧化,生成对病菌毒性较高的醌类化合物,并参与木质素的合成,在植物的感病或抗病过程中起重要作用。前人研究发现,0.001~0.1 mmol/L 的 JA 是诱导水稻产生抗病性的有效浓度,0.1 mmol/L JA 可诱导水稻幼苗 POD 活性升高^[22],提高水稻对稻瘟病的抗性; 2.5×10^{-2} mmol/L 的茉莉酸甲酯可诱导野生型水稻幼苗 POD 活性升高,增强水稻幼苗抵御不良环境的能力^[36]。0.025, 0.1 和 0.25 mmol/L JA 处理可提高 7 日龄花生(*Arachis hypogaea* L.)幼苗根和叶片的 POD 活性^[29]。本研究发现,棉花幼苗经 1.0 mmol/L JA 处理后,叶片的 POD 活性显著高于对照组和系统叶,而 0.1 和 10.0 mmol/L JA 对 6 叶

期棉花幼苗的诱导作用不明显,说明 1.0 mmol/L JA 在提高 6 叶期棉花幼苗 POD 活性方面的作用效果优于 0.1 和 10.0 mmol/L JA。

PAL 是酚类物质合成的关键酶和限速酶,在植物中广泛存在,而动物却缺乏此酶,将 PAL 作为杀虫剂的作用靶点,已成功开发出多种杀虫剂^[37]。前人研究发现,0.1 mmol/L JA 可诱导水稻体内 PAL 活性升高,水稻的抗稻瘟性也随之增强^[22]; 相同浓度的茉莉酸甲酯能诱导石蒜(*Lycoris radiata*) PAL 基因的表达^[38]。本研究结果表明,0.1, 1.0 和 10.0 mmol/L JA 均能诱导棉叶 PAL 活性升高,但 1.0 mmol/L JA 对 PAL 的诱导效果明显优于 0.01 和 10.0 mmol/L JA 组,说明 JA 参与了棉花幼苗的苯丙烷途径,在调节棉花幼苗防御性次生代谢物的合成方面起重要作用。

LOX 是植物受伤反应中 JA 合成的关键酶之一。LOX 基因的表达或 LOX 活性的高低都与植物的防御状态密切相关,LOX 缺陷植株更易受害虫的进攻^[39]。菜粉蝶取食可启动拟南芥防御相关基因 LOX2 等的表达^[14]; 杨扁舟蛾(*Clostera anachoreta*)取食后,杨树叶片的 LOX 活性明显升高^[13],说明昆虫取食也能激活植物的 JA 信号通路。外源 JA 能诱导巴西橡胶单位树皮组织和乳胶中 LOX 活性的升高^[40]、诱导玉米(*Zea mays*. L)^[21]和水稻(*Oryza rufipogon*)^[41] LOX 等防御相关基因的表达。本试验条件下,0.1 和 1.0 mmol/L JA 均能诱导棉花幼苗 LOX 活性显著升高,处理叶 LOX 活性显著高于对照组相应叶片。

JA 诱导棉花幼苗的抗虫性不仅表现在处理叶上,在未处理的邻近叶片也能检测到抗虫相关酶活性的显著升高。席征等^[42]研究表明,烟草经茉莉酸甲酯处理后,处理叶和未处理叶 POD 和 PPO 活性均不同程度升高。另有研究表明,JA 处理玉米地上部分能系统影响到地下部分防御相关基因的表达和防御性次生代谢物的合成^[43]。本研究结果表明,各处理组均有系统抗虫相关酶活性高于或显著高于对照组相应叶片的情况,这与上述研究结果一致。

3.2 JA 诱导棉花幼苗抗虫性的持久期

本试验条件下,1.0 mmol/L JA 的诱导效果可持续 8 天:处理后第 8 天,各抗虫相关酶活性仍高于或显著高于对照。用 JA 处理后 2~8 d 的处理叶和系统叶喂养棉铃虫幼虫时,棉铃虫相对生长率和体质量增加量均有所下降。JA 处理的棉叶除 PPO 活性峰值出现在处理后第 2 天外,POD、LOX 和

PAL 活性的峰值均出在处理第 6 天。冯远娇等^[21]研究表明,JA 在 1.0~10.0 mmol/L 内,玉米防御相关基因和化感物质的表达与处理浓度呈正相关,有明显的时效性和浓度依赖性,JA 诱导可持续达 2 天。枸杞叶片 PPO 活性在 0.1 mmol/L JA 处理后第 3 天达最大值,而 POD 活性则在 0.01 mmol/L JA 处理后第 7 天达峰值;0.001 和 0.1 mmol/L 茉莉酸对枸杞 PAL 活性诱导的峰值出现在第 5 天,随后下降^[23]。10 μ mmol/L、0.1 和 1.0 mmol/L JA 对羽衣甘蓝(*Brassica oleracea*)抗虫性的诱导持久期为 5 d^[44]。0.1 mmol/L JA 处理可增强水稻对稻瘟病的抗性,持久期长达 15 d^[22];Abe 等^[45]的研究则表明,茉莉酸甲酯处理的小白菜对西花蓟马(*Frankliniella occidentalis*)的抗性可持续达 4 周。综上所述,JA 诱导抗性的持久期因植物种类、处理浓度和植物的年龄而异^[35],不同抗营养酶、抗消化酶对 JA 处理的响应浓度也各不相同。

3.3 JA 诱导抗虫性对棉铃虫的影响

植株经外源 JA 或其甲酯处理后,抗虫性增强,导致害虫的生长受阻、发育延迟、体质量减轻、繁殖力下降。Thaler 等^[4]为期 3 年的研究表明,番茄幼苗经外源茉莉酸甲酯(0.5 和 1.5 mmol/L)处理后,甜菜夜蛾的生长速率减慢。桂连友等^[31]研究发现,茶尺蠖取食茉莉酸甲酯处理的茶叶后生长受阻。斜纹夜蛾在茉莉酸甲酯处理过的油菜叶上取食 9 d 后,体质量的增加明显低于对照^[46]。2 mmol/L JA 处理普通棉后,取食处理叶的草地贪夜蛾(*S. frugiperda*)幼虫相对生长率比对照下降约 15.6%^[18]。本研究发现,JA 处理叶和系统叶均显著降低了 4 龄棉铃虫幼虫的相对生长率和 2 日内体质量增加量,与 JA 诱导植株降低甜菜夜蛾^[4]、茶尺蠖^[29]和草地贪夜蛾^[18]相对生长率和抑制幼虫体质量增加的结果一致。

综合以上结果可以看出,JA 诱导植株抗虫性有浓度依赖性和滞后期,这也正是诱导防御的不足之处,即防御的激活需要一段时间,在这期间,植物对虫害相对敏感。虫害与防御激活之间的时滞、虫害终止到防御消退之间的时长都是决定诱导防御效益与成本的关键参数。以往研究表明,诱导的滞后期似乎并无一致的规律可言。大豆被墨西哥豆瓢虫(Mexican bean beetle)取食 3 d 后,其对该虫取食的耐性增加^[5];15 d 后诱导耐性逐渐下降,20 d 后则较未诱导植物对虫害更敏感。诱导早期抗虫性越

强,后期对虫害的敏感性越强。但总体而言,诱导的持久期远比抗性诱导的时滞长,如白轩轴草(*Trigolium repens*)系统防御的诱导需要 38~51 h,而抗性的减弱到植物对虫害敏感至少需要 28 d^[47]。为进一步确定 JA 诱导普通棉的抗虫效果,有必要用更低龄棉铃虫进行试验,跟踪诱导抗性对棉铃虫整个生活史的影响,并从棉花—棉铃虫—天敌等多个营养级角度进行系统研究。

4 结 论

JA 能对 6 叶期棉花幼苗抗虫性进行局部诱导和系统诱导,但其诱导棉花幼苗抗虫性存在浓度依赖性和滞后期。1.0 mmol/L JA 是诱导 6 叶期棉花幼苗 PPO、POD、PAL 和 LOX 等抗虫相关酶活性的最佳浓度,诱导的滞后期至少为 8 d。用 1.0 mmol/L JA 处理的棉花幼苗叶片饲养 4 龄棉铃虫幼虫时,棉铃虫相对生长速率下降,2 d 内体质量增加受到抑制。

[参考文献]

- [1] Lu Y, Wu K, Jiang Y, et al. Mirid bug outbreaks in multiple crops correlated with wide-scale adoption of Bt cotton in China [J]. Science, 2010, 328(5982): 1151-1154.
- [2] Zhang H N, Tian W, Zhao J, et al. Diverse genetic basis of field-evolved resistance to Bt cotton in cotton bollworm from China [J]. PNAS, 2012, 109(26): 10275-10280.
- [3] Tabashnik B E, Gassmann A J, Crowder D W, et al. Insect resistance to Bt crops: Evidence versus theory [J]. Nature Biotechnology, 2008, 26(2): 199-202.
- [4] Thaler J S, Stout M J, Karban R, et al. Jasmonate-mediated induced plant resistance affects a community of herbivores [J]. Ecological Entomology, 2001, 26(3): 312-324.
- [5] Underwood N, Rausher M D. The effects of host-plant genotype on herbivore population dynamics in a model system [J]. Ecology, 2002, 81(6): 1565-1576.
- [6] Ohgushi T. Herbivore-induced indirect interaction webs on terrestrial plants; the importance of non-trophic, indirect, and facilitative interactions [J]. Entomologia Experimentalis et Applicata, 2008, 128(1): 217-229.
- [7] Thaler J S. Jasmonate-inducible plant defences cause increased parasitism of herbivores [J]. Nature, 1999, 399(6737): 686-688.
- [8] Devoto A, Dllis C, Magusin A, et al. Expression of profiling reveals COI1 to be a key regulator of genes involved in wound- and methyl jasmonate-induced secondary metabolism, defense, and hormone interactions [J]. Plant Molecular Biology, 2005, 58(4): 497-513.
- [9] Browse J, Howe G A. New weapons and a rapid response a-

- gainst insect attack [J]. *Plant Physiology*, 2008, 146(3): 832-838.
- [10] 徐伟,严善春. 茉莉酸在植物诱导防御中的作用 [J]. *生态学报*, 2005, 25(8): 2074-2082.
Xu W, Yan S C. The function of jasmonic acid in induced plant defence [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(8): 2074-2082. (in Chinese)
- [11] Lou Y G, Hu M H, Turlings T C J, et al. Exogenous application of jasmonic acid induces volatile emission in rice and enhance parasitism of *Nilaparvata lugen* eggs by the parasitoid *anagrus nilapar* [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2005, 31(9): 1985-2002.
- [12] Kappers I F, Verstappen F W A, Luckerhoff L L P, et al. Genetic variation in jasmonic acid and spider mite-induced plant volatile emission of cucumber accessions and attraction of the predator *Phytoseiulus persimilis* [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2010, 36(5): 500-512.
- [13] Hu Z H, Zhang W, Shen Y B, et al. Activities of lipoxygenase and phenylalanine ammonia lyase in poplar leaves induced by insect herbivory volatiles [J]. *Journal of Forestry Research*, 2009, 20(4): 372-376.
- [14] Snoeren T A L, Brroekgaarden C, Dicke M. Jasmonates differentially affect interconnected signal-transduction pathways of *Pieris rapae*-induced defenses in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Insect Scienc*, 2011, 18(3): 249-258.
- [15] Shivaja R, Camas A, Ankala A, et al. Plants on constant alert: elevated levels of jasmonic acid and jasmonate-induced transcripts in caterpillar-resistant maize [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2010, 36(2): 179-191.
- [16] Omer A D, Granett J, Karban R, et al. Chemically induced resistance against multiple pests in cotton [J]. *International Journal of Pest Management*, 2001, 47(1): 49-54.
- [17] Opitz S, Kunert G, Gershenzon J. Increased terpenoid accumulation in cotton (*Gossypium hirsutum*) foliage is a general wound response [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2008, 34(4): 508-522.
- [18] Mészáros A, Beuzelin J M, Stout M J, et al. Jasmonic acid-induced resistance to the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, in conventional and transgenic cottons expressing *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins [J]. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 2011, 140(3): 226-237.
- [19] Schenk P M, Kazan K, Rusu A G, et al. The SEN1 gene of *Arabidopsis* is regulated by signals that link plant defence responses and senescence [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2005, 43(10/11): 997-1005.
- [20] Wang J W, Xu T, Zhang L W, et al. Effects of methyl jasmonate on hydroxamic acid and phenolic acid content in maize and its allelopathic activity to *Echinochloa crusgalli* (L.) [J]. *Allelopathy Journal*, 2007, 19(1): 161-170.
- [21] 冯远娇, 王建武, 骆世明. 外源茉莉酸处理对 Bt 玉米直接防御物质含量及其相关基因表达的影响 [J]. *中国农业科学*, 2007, 40(11): 2481-2487.
- Feng Y J, Wang J W, Luo S M. Effects of exogenous jasmonic acid on concentration of direct defense chemicals and expression of related genes in Bt (*Bacillus thuringiensis*) corn (*Zea mays*) [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2007, 40(11): 2481-2487. (in Chinese)
- [22] 邹志燕, 王振中. 茉莉酸诱导水稻幼苗对稻瘟病抗性作用的研究 [J]. *植物病理学报*, 2006, 36(5): 432-438.
Zou Z Y, Wang Z Z. Effects of jasmonic acid on induced resistance of rice seedlings to *Magnapor thegrisea* [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2006, 36(5): 432-438. (in Chinese)
- [23] 宫玉艳, 段立清, 王爱清. 茉莉酸诱导对枸杞叶生化物质及酶活性的影响 [J]. *植物保护*, 2010, 36(2): 61-65.
Gong Y Y, Duan L Q, Wang A Q. Induced effects of jasmonic acid on the contents of biochemical substances and enzyme activity in wolfberry leaves [J]. *Plant Protection*, 2010, 36(2): 61-65. (in Chinese)
- [24] 蒋科技, 皮妍, 侯嵘, 等. 植物内源茉莉酸类物质的生物合成途径及其生物学意义 [J]. *植物学报*, 2010, 45(2): 137-148.
Jiang K J, Pi Y, Hou R, et al. Jasmonate biosynthetic pathway: its physiological role and potential application in plant secondary metabolic engineering [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2010, 45(2): 137-148. (in Chinese)
- [25] 杨丽文, 程新胜, 薛泽春, 等. 机械损伤和茉莉酸甲酯对烟株蛋白酶抑制剂的诱导作用研究 [J]. *昆虫学报*, 2008, 12(6): 33-37.
Yang L W, Cheng X S, Xue Z C, et al. Research on the mechanical wounding and methyl jasmonate induced augment of proteinase inhibitors in tobacco [J]. *Acta Tabacaria Sinica*, 2008, 12(6): 33-37. (in Chinese)
- [26] 张智慧, 聂燕芳, 何磊, 等. 外源茉莉酸甲酯诱导的水稻叶片蛋白质差异表达分析 [J]. *植物病理学报*, 2012, 42(2): 154-163.
Zhang Z H, Nie Y F, He L, et al. Proteomic analysis of differentially expressed proteins induced by methyl jasmonate in rice leaves [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2012, 42(2): 154-163. (in Chinese)
- [27] 牛吉山, 刘靖, 倪永静, 等. 茉莉酸对 PR-1、PR-2、PR-5 和 Ta-JA 2 基因表达以及小麦白粉病抗性的诱导 [J]. *植物病理学报*, 2011, 41(3): 270-277.
Niu J S, Liu J, Ni Y J, et al. Induction of PR-1, PR-2, PR-5 and Ta-JA 2 and wheat powdery mildew resistance in response to MeJA treatment [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2011, 41(3): 270-277. (in Chinese)
- [28] Kawazu K, Mochizuki A, Sato Y, et al. Different expression profiles of jasmonic acid and salicylic acid inducible genes in the tomato plant against herbivores with various feeding modes [J]. *Arthropod-Plant Interactions*, 2012, 6: 221-230.
- [29] Kumari G J, Reddy A M, Naik S T, et al. Jasmonic acid induced changes in protein pattern, antioxidative enzyme activities and peroxidase isozymes in peanut seedlings [J]. *Biologia Plantarum*, 2006, 50(2): 219-226.

- [30] 冯远娇, 王建武, 骆世明. 叶片涂施茉莉酸对玉米幼苗防御反应的时间和浓度效应 [J]. 植物生态学报, 2009, 33(4): 812-823.
Feng Y J, Wang J W, Luo S M. Timing and concentration effects on the defense response of *Zea Mays* seedlings after application of jasmonic acid to leaves [J]. Chinese Journal of Plant Ecology, 2009, 33(4): 812-823. (in Chinese)
- [31] 桂连友, 陈宗懋, 刘树生. 外源茉莉酸甲酯处理茶树对茶尺蠖幼虫生长的影响 [J]. 中国农业科学, 2005, 38(2): 302-307.
Gui L Y, Chen Z M, Liu S S. Effects of exogenous MJA treatment of tea plants on the growth of Geometrid larvae [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2005, 38(2): 302-307. (in Chinese)
- [32] Bruinsma M, van Dam N M, van Loon J J A, et al. Jasmonic acid-induced changes in *Brassica oleracea* affect oviposition preference of two specialist herbivores [J]. Journal of Chemical Ecology, 2007, 33(4): 655-668.
- [33] Bhonwong A, Stout M J, Attajarusit J, et al. Defensive role of tomato polyphenol oxidases against cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*) and beet armyworm (*Spodoptera exigua*) [J]. Journal of Chemical Ecology, 2009, 51(1): 28-38.
- [34] Boughton A J, Hoover K, Felton G W. Impact of chemical elicitor application on greenhouse tomato plants and population growth of the green peach aphid, *Myzus persicae* [J]. Entomologia Experimentalis et Applicata, 2006, 120(3): 175-188.
- [35] Cipollini J D F, Redman A H. Age-dependent effects of jasmonic acid treatment and wind exposure on foliar oxidase activity and insect resistance in tomato [J]. Journal of Chemical Ecology, 1999, 25(2): 271-281.
- [36] 吴国昭, 曾任森. 外源水杨酸甲酯和茉莉酸甲酯处理对挺立型普通野生水稻保护酶活性的影响 [J]. 西北农业学报, 2007, 16(1): 82-84.
Wu G Z, Zeng R S. The influence of protective enzymes Perpendicular Gaozhou wild rice (*Oryza rufipogon*) treated with exterior signal compounds salicylates and jasmonates [J]. Acta Agricultural Boreali-occidentalis Sinica, 2007, 16(1): 82-84. (in Chinese)
- [37] Appert C, Zon J, Amrhein N. Kinetic analysis of the inhibition of phenylalanine ammonia-lyase by 2-aminooindan-2-phosphonic acid and other phenylalanine analogues [J]. Phytochemistry, 2003, 62(3): 415-422.
- [38] Jiang Y M, Xia N, Li X D, et al. Molecular cloning and characterization of a phenylalanine ammonia-lyase gene (*LrPAL*) from *Lycoris radiata* [J]. Molecular Biology Reports, 2011, 38(3): 1935-1940.
- [39] Kessler A, Halitschke R, Baldwin I T. Silencing the jasmonate cascade; induced plant defenses and insect populations [J]. Science, 2004, 305(5684): 665-668.
- [40] 曾日中, 白先权, 黎瑜, 等. 外源茉莉酸诱导巴西橡胶树乳管分化的酶学研究 (I) [J]. 热带作物学报, 2001, 3(1): 17-23.
Zeng R Z, Bai X Q, Li Y, et al. Enzymatic studies of exogenous jasmonic acid on latificer differentiation of rubber tree (I) [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2001, 3(1): 17-23. (in Chinese)
- [41] 徐涛, 周强, 陈威, 等. 茉莉酸信号传导途径参与了水稻虫害诱导的防御过程 [J]. 科学通报, 2003, 48(13): 1442-1448.
Xu T, Zhou Q, Chen W, et al. Jasmonic acid signaling pathway participated into pest-mediated defense process of rice [J]. Chinese Science Bulletin, 2003, 48(13): 1442-1448. (in Chinese)
- [42] 席征, 程新胜, 杨丽文, 等. 茉莉酸甲酯诱导烟草抗斜纹夜蛾的作用 [J]. 烟草学报, 2007, 236(3): 51-55.
Xi Z, Cheng X S, Yang L W, et al. Effects of methyl jasmonate induced tobacco resistance to *Spodoptera litura* (F.) [J]. Tobacco Science & Technology, 2007, 236(3): 51-55. (in Chinese)
- [43] 冯远娇, 王建武, 苏贻娟, 等. 茉莉酸在玉米地上部和地下部系统诱导防御反应中的作用 [J]. 中国农业科学, 2007, 42(8): 2726-2735.
Feng Y J, Wang J W, Su Y J, et al. The role of jasmonic acid in the systemic induced defense response of aboveground and underground in corn (*Zea mays*) [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2007, 42(8): 2726-2735. (in Chinese)
- [44] Bruinsma M, Posthumus M A, Mumm R, et al. Jasmonic-acid-induced volatiles of *Brassica oleracea* attract parasitoids: effects of time and dose and comparison with induction by herbivores [J]. Journal of Experimental Botany, 2009, 60(9): 2575-2587.
- [45] Abe H, Shimoda T, Ohnishi J, et al. Jasmonate-dependent plant defense restricts thrips performance and preference [J]. BMC Plant Biology, 2009, 9(1): 97.
- [46] 胡留成, 崔巍, 汪霞, 等. 斜纹夜蛾幼虫诱导的油菜抗性及其与茉莉酸信号途径的关系 [J]. 昆虫学报, 2010, 53(9): 1001-1008.
Hu L C, Cui W, Wang X, et al. Herbivore resistance induced by *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) and its relation to the JA signaling pathway in Chinese Cabbage (*Brassica campestris* L.) [J]. Acta Entomologia Sinica, 2010, 53(9): 1001-1008. (in Chinese)
- [47] Gómez S, van Dijk W, Stuefer J F. Timing of induced resistance in a clonal plant network [J]. Plant Biology, 2010, 12(3): 512-517.