

普通烟对烟粉虱取食及其与 TYLCCNV 共侵染的生理生化反应

汪伦记 任利娜 李晶晶 张敏 纠敏*

(河南科技大学食品与生物工程学院, 洛阳 471023)

摘要: 为明确普通烟遭受烟粉虱 *Bemisia tabaci* 取食及与中国番茄黄化曲叶病毒 (*Tomato yellow leaf curl China virus*, TYLCCNV) 共侵染时的响应机制, 采用常规生理生化指标测定法分析比较 MED 隐种烟粉虱取食及其与 TYLCCNV 共侵染处理对普通烟植株中营养成分、防御物质积累及主要氧化酶活性的影响。结果显示, 与对照植株相比, 烟粉虱取食及其与 TYLCCNV 共侵染均可导致普通烟植株中可溶性糖和可溶性蛋白含量明显降低, 多酚含量显著升高, 过氧化氢酶 (CAT) 活性显著升高, 超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化物酶 (POD) 活性呈现先升后降的变化趋势。与烟粉虱取食植株相比, 烟粉虱与 TYLCCNV 共侵染后 1 d 时普通烟植株中可溶糖含量显著降低了 21.05%, 3、7 和 9 d 时可溶性蛋白含量分别显著降低了 27.40%、26.84% 和 20.90%; 共侵染后的 1、3、5 和 9 d 时多酚含量分别显著降低了 34.60%、14.30%、3.07% 和 15.19%; 共侵染后的 1、3、5 和 7 d 时 CAT 活性分别提高了 3.04 倍、1.42 倍、1.68 倍和 1.96 倍; 共侵染后 7 d 时 POD 活性显著降低, 共侵染后 9 d 时 SOD 活性显著升高。表明普通烟可通过改变其营养成分及积累防御物质或提高氧化酶活性来防御烟粉虱取食及其与 TYLCCNV 的共侵染, 而烟粉虱与 TYLCCNV 共侵染可诱导植株内产生较单独取食时更少的多酚类防御物质, 以提高其在宿主植物上的适应性。

关键词: 烟粉虱; 中国番茄黄化曲叶病毒; 普通烟; 营养物质; 保护酶

Differential physiological and biochemical responses of tobacco plants to the feeding by tobacco whitefly *Bemisia tabaci* and the co-infection with *Tomato yellow leaf curl China virus*

Wang Lunji Ren Lina Li Jingjing Zhang Min Jiu Min*

(College of Food and Bioengineering, Henan University of Science and Technology,
Luoyang 471023, Henan Province, China)

Abstract: To clarify the response mechanisms of tobacco plants to the co-infection of tobacco whitefly *Bemisia tabaci* and *Tomato yellow leaf curl China virus* (TYLCCNV), the nutritional contents, the accumulation of defense substance and the activities of main oxidase in tobacco plants were analyzed and compared after co-infection with Mediterranean biotype (MED) *B. tabaci* and TYLCCNV by using routine physiological and biochemical index determination methods. The results showed that the soluble sugar and protein contents in tobacco plants decreased obviously, and the polyphenol content increased significantly; the activity of catalase (CAT) increased significantly, and the activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) increased firstly and then decreased after co-infection with *B. tabaci* and TYLCCNV. Compared with feeding by *B. tabaci* alone, the soluble sugar content decreased significantly by 21.05% at the 1st day after co-infection with *B. tabaci* and TYLCCNV; the soluble pro-

tein content decreased significantly by 27.40%, 26.84% and 20.90%, respectively, at the 3rd, 7th and 9th days after treatment; the polyphenol content decreased significantly by 34.60%, 14.30%, 3.07% and 15.19%, respectively, at the 1st, 3rd, 5th and 9th days after treatment; the activity of CAT increased 3.04, 1.42, 1.68 and 1.96 times at the 1st, 3rd, 5th and 7th days after treatment, respectively; the activity of SOD increased significantly at the 9th day after treatment, and the activity of POD decreased significantly at the 7th day after treatment. The results indicated that tobacco plants could prevent whitefly from feeding and co-infection with TYLCCNV by changing their nutrient components and accumulating defensive substances or increasing oxidase activity. However, *B. tabaci* infected with TYLCCNV could improve its adaptability to the host plants by inducing fewer polyphenol defensive substances in them.

Key words: *Bemisia tabaci*; Tomato yellow leaf curl China virus; tobacco; nutrient; protective enzyme

宿主植物在受到植食性昆虫为害时可导致其生理生化状态发生一系列改变,包括引起植物营养物质(如可溶性糖、可溶性蛋白质)的改变、诱导植物防御物质(如酚类、萜类等次生物质)及体内活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生和积累(Sharma et al., 2012; 张海静等, 2012)。高浓度的ROS对生物来说是极其有害的(Sharma et al., 2012),但植物体内的过氧化氢酶(catalase, CAT)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)及谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPX)等保护酶能有效清除这些自由基,进而抑制ROS自由基对植物机体的伤害,提高生物体的抗逆性(Kerchev et al., 2012; 杨金键等, 2017)。植物体内氧化防御系统中许多酶活性升高以应对不同环境压力所致的活性氧的产生(Zaefyzadeh et al., 2009; Chen et al., 2011)。病原物的侵染也会导致植物内抗氧化酶活性发生显著变化,进而调控植物体内ROS水平,但各种抗氧化酶在应对病毒侵染过程中的表现有所差异(Clarke et al., 2002; de Gara et al., 2003; Radwan et al., 2010)。由此可见,昆虫取食及病原物侵染可诱导宿主植物产生防御反应,即可通过改变其营养物质、累积防御物质及提高抗氧化酶活性等方式来抵御昆虫取食及病原物侵染。

烟粉虱 *Bemisia tabaci* 属半翅目粉虱科,是一个包含40多个隐种的物种复合体(de Barro et al., 2011; Jiu et al., 2017),其不仅通过取食植物汁液和分泌蜜露对作物造成危害,还可传播以双生病毒 *Geminivirus* 为主的300余种植物病毒,给蔬菜、棉花及烟草等农作物的生产带来严重损失(Wan et al., 2009; 罗晨, 2016)。外来烟粉虱MEAM1隐种(即B生物型)从20世纪90年代中后期开始入侵我国并迅速蔓延(Liu et al., 2007),而烟粉虱MED隐种(即Q生物型)于2003年在我国被发现(Chu et al., 2006),随后在我国山东省(李洪冉等, 2015)、河南省(Jiu et

al., 2017)及其它多个省份(Hu et al., 2011; Pan et al., 2011; Rao et al., 2011)迅速扩散并逐渐取代MEAM1隐种成为优势种群。烟粉虱已成为我国农业生产上最严重的虫害之一,且其发生蔓延之势日益加剧(张灿等, 2015; 褚栋和张友军, 2018)。

作为刺吸式口器昆虫,烟粉虱可通过吸食植物汁液在600多种植物上生存(Naranjo et al., 2009),而是否可以成功在宿主植物上取食则是烟粉虱与宿主植物防御系统在多方面互作的结果(Walling, 2008)。双生病毒的侵染可改变植物的营养组分,进而改变其对媒介烟粉虱的适合度(Fang et al., 2013; Luan et al., 2014),而携带番茄黄化曲叶病毒(*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV)的MED隐种烟粉虱取食可强烈抑制宿主植物的防御(Shi et al., 2014)。有关烟粉虱-TYLCCNV-宿主植物三者之间的互作已有相关的研究报道(Jiu et al., 2007; Luan et al., 2014),然而目前还没有关于烟粉虱取食及其与TYLCCNV共侵染,即携带TYLCCNV烟粉虱的取食对寄主植物生理生化防御反应的差异比较研究。故本研究以普通烟 *Nicotiana tabacum* 为材料,通过比较MED隐种烟粉虱取食及其与TYLCCNV共侵染后植株中营养物质可溶性糖和可溶性蛋白含量、防御物质合成积累及主要氧化酶活性的变化,从生理生化角度深化对烟粉虱-双生病毒-寄主植物互作机理的认识,探讨携带双生病毒与否的烟粉虱对宿主植物普通烟抗性诱导的差异,以期为进一步阐明普通烟对烟粉虱及其与TYLCCNV共侵染的抗性机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试植物:健康普通烟品种为NC89,由河南科技大学林学院董钧锋博士提供。将种子播种于光照培养箱内的育种盘中,待长出2~3片真叶时移栽到

直径约10 cm的塑料盆中,每周定期浇1次植物营养液,待长出5~6片真叶时用于试验。

供试病毒:TYLCCNV的Y10分离物的DNA-A和DNA β 侵染性克隆由中国农业科学院植物保护研究所周雪平教授提供。经农杆菌 *Agrobacterium* 介导接种并维持在普通烟植株上。接种植株置于光照培养箱内,在26℃、16 L:8 D光照条件下培养,选择具有明显发病症状并经PCR检测证实携带TYLCCNV的植株作为病毒源。

供试昆虫:MED隐种烟粉虱来自于本实验室2015年9月建立的由健康普通烟维持的种群。饲养条件为温度26±1℃、相对湿度40%~60%、光照周期16 L:8 D,每2~3代用随机扩增多态性DNA标记(random amplified polymorphic DNA, RAPD)-PCR检测烟粉虱种群纯度。选取同一批次羽化48 h内的烟粉虱成虫用于试验。携带TYLCCNV的烟粉虱获得方法参考Jiu et al. (2006),即将新羽化的同批次烟粉虱成虫转接于TYLCCNV侵染的普通烟毒株上,取食获毒48 h后即携带TYLCCNV的烟粉虱。

试剂及仪器:牛血清白蛋白标准液,上海源叶生物科技有限公司;Folin酚,生工生物工程(上海)股份有限公司;考马斯亮蓝G-250、蒽酮、邻苯二酚,上海强顺化学试剂有限公司;氯化硝基氮蓝四唑(nitro-blue tetrazolium, NBT)、甲硫氨酸、愈创木酚、核黄素,上海蓝季科技发展有限公司;其余试剂均为国产分析纯。H1850R台式高速冷冻离心机,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;N4紫外可见分光光度计,上海仪电分析仪器有限公司;PGX-330A-12H光照培养箱,宁波莱福科技有限公司;ABI 9700 PCR仪,美国ABI公司;60 cm×60 cm的120目尼龙网塔形养虫笼,杭州赛福公司;微虫笼,由高2 cm、底径2 cm塑料杯改制。

1.2 方法

1.2.1 普通烟植株的处理方法

选取处于5~6片真叶期、长势一致的普通烟植株置于养虫笼内,用微虫笼分别将未携带和携带TYLCCNV的烟粉虱成虫转接于普通烟植株叶片上,每笼100头,每株挂2笼,同时以夹有微虫笼但未接虫植株作对照。在试验处理1、3、5、7、9 d后,除去取食的烟粉虱成虫个体,收集植株叶片用于测定可溶性糖、可溶性蛋白质及多酚含量,或-70℃保存用于氧化酶活性的测定。

1.2.2 普通烟可溶性糖含量的测定

可溶性糖含量采用蒽酮比色法进行测定,具体操作步骤参考刘明杨等(2016)方法并稍作修改。取

新鲜普通烟叶片0.2 g,液氮条件下研磨成粉状并收集于刻度试管内,加10 mL蒸馏水混合后,塑料膜封口,沸水浴提取30 min,提取2次,将提取液过滤至25 mL容量瓶中,多次漂洗试管及残渣,定容。吸取提取液0.5 mL于20 mL刻度管中,加1.5 mL蒸馏水混合,另加0.5 mL蒽酮乙酸乙酯试剂及5 mL浓硫酸并充分振荡混匀,然后立即将试管置于沸水浴中保温1 min,取出冷却至室温,以空白作对照,在630 nm波长下测定其吸光度。每个处理3次重复。以蔗糖制作标准曲线,计算样品中的可溶性糖含量。

1.2.3 普通烟可溶性蛋白含量的测定

可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝G250染色法(李合生,2000)测定。称取新鲜普通烟叶片0.2 g,加液氮快速研磨后,将磨好的样品转移至10 mL离心管中,加入0.05 mol/L磷酸缓冲液(pH 7.0)5 mL,混匀后,4℃、3 000 r/min条件下离心10 min。吸取1 mL上清液于具塞试管内,另加入5 mL考马斯亮蓝G-250溶液,充分混合后静置2 min,于595 nm波长下测定吸光度。每个处理3次重复。以牛血清白蛋白制作标准曲线,计算样品中的可溶性蛋白含量。

1.2.4 普通烟多酚含量的测定

多酚含量测定参考吴晓敏等(2014)方法。称取新鲜普通烟叶片0.2 g,加液氮快速研磨,将磨好的样品转移至2 mL离心管中,加入80%甲醇1.5 mL,混匀后用锡箔纸将离心管包裹好,于25℃、150 r/min条件下振荡过夜。将提取物于4℃、12 000 r/min条件下离心10 min,取上清液转移至新离心管中,-20℃保存备用。在150 μ L提取液中加入1 mol/L Folin酚试剂150 μ L,摇匀后室温下静置5 min,再加1 mol/L Na₂CO₃溶液200 μ L于混合液中,摇匀,室温静置10 min,加双蒸水至终体积1.5 mL,混匀,室温避光保持1 h后,于725 nm波长下测定吸光度。每个处理3次重复。以邻苯二酚制作标准曲线,计算样品中的多酚含量。

1.2.5 普通烟氧化酶活性的测定

取1.0 g新鲜普通烟叶片于液氮条件下迅速研磨成粉状,收集样品于10 mL离心管中,加入4℃预冷的pH 7.0磷酸缓冲液5 mL,混匀,于4℃、8 000 r/min条件下离心20 min,上清液即为粗酶液,于4℃保存待测,进行酶活性测定时所有处理均设3次重复。

CAT活性测定参考刘明杨等(2016)方法。取试管3支,分别依次加入粗酶液0.2 mL、0.05 mol/L磷酸缓冲液(pH 7.0)1.5 mL、蒸馏水1.0 mL,其中对照管中的样品为煮沸灭活的粗酶液。于25℃条件下水浴5 min,后加入0.1 mol/L H₂O₂ 0.3 mL。用双

蒸水调零,于240 nm波长下测定4 min内吸光度的变化。CAT活性以每克新鲜叶片每分钟0.01个 $OD_{240\text{ nm}}$ 的变化为1个活性单位。

SOD活性测定参考刘明杨等(2016)方法。取5支试管,依次分别加入0.05 mol/L磷酸缓冲液(pH 7.0)1.5 mL、130 mmol/L甲硫氨酸0.3 mL、750 $\mu\text{mol/L}$ 氮蓝四唑溶液0.3 mL及100 $\mu\text{mol/L}$ EDTA- Na_2 溶液0.3 mL;测定管依次加入酶液0.1 mL和蒸馏水0.5 mL,对照管以蒸馏水代替粗酶液;混匀,暗对照管用锡箔纸包裹避光,将所有试管放入28℃光照培养箱反应9 min,反应结束后,以暗对照为空白于560 nm波长下测定吸光度。SOD活性以抑制NBT光化学还原50%时的酶液量作为1个活性单位。

POD活性测定参考陈奕磊等(2011)方法,并略作修改。取4支试管,分别加入0.1 mol/L磷酸缓冲液(pH 7.0)0.8 mL、0.1%愈创木酚1.0 mL、酶液0.2 mL及0.1% H_2O_2 1 mL催化激活反应,于470 nm波长下测定吸光度,每隔1 min读数1次,共4次。POD活性以每克新鲜叶片 $OD_{470\text{ nm}}$ 变化量为1个活性单位。

1.3 数据分析

采用SPSS 18.0软件进行试验数据的统计分析,应用One-way ANOVA法检验组间的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 不同处理对普通烟中可溶性糖含量的影响

与对照相比,烟粉虱取食及其与TYLCCNV共

侵染可导致普通烟植株中可溶性糖含量明显降低,处理后1 d,可溶性糖含量均较对照显著降低,分别降低了44.12%和55.88%;处理后3、5 d时,可溶性糖含量与对照差异不显著;处理后7 d,可溶性糖含量较对照分别显著降低了27.38%和22.81%;处理后9 d,烟粉虱取食导致普通烟植株中可溶性糖含量显著低于对照,但烟粉虱与TYLCCNV共侵染后的普通烟植株中可溶性糖含量与对照差异不显著(表1)。烟粉虱与TYLCCNV共侵染处理普通烟后1 d,植株中可溶糖含量显著低于烟粉虱取食处理,降低了21.05%;共侵染后的3、5、7和9 d,二者的可溶性糖含量差异均不显著(表1)。

2.2 不同处理对普通烟中可溶性蛋白含量的影响

与对照相比,烟粉虱取食及其与TYLCCNV共侵染可导致普通烟植株中可溶性蛋白含量明显降低。烟粉虱取食后1、5、7和9 d时,普通烟植株中可溶性蛋白含量显著低于对照,分别显著降低了20.53%、24.16%、19.89%和18.37%。烟粉虱与TYLCCNV共侵染后1、3、5、7、9 d时普通烟植株中可溶性蛋白含量均显著低于对照,分别显著降低了19.87%、30.38%、30.91%、41.0%和35.43%。烟粉虱与TYLCCNV共侵染处理后的3、7和9 d时普通烟植株中可溶性蛋白含量均显著低于烟粉虱取食植株,分别降低了27.40%、26.84%和20.90%;而在处理后的1、5 d时二者可溶性蛋白含量差异均不显著(表1)。

表1 烟粉虱取食及其与TYLCCNV共侵染的普通烟中营养成分含量的变化

Table 1 Induced changes of the nutritional contents in tobacco after feeding by *Bemisia tabaci* and co-infection with TYLCCNV

指标 Index	处理 Treatment	侵染后天数 Days after infection (d)				
		1	3	5	7	9
可溶性糖 Soluble sugar (mg/g)	空白对照 CK	3.06±0.30 a	0.96±0.25 a	1.75±0.13 a	2.63±0.33 a	3.84±0.33 a
	烟粉虱取食 Feeding by whitefly	1.71±0.20 b	0.92±0.14 a	1.67±0.25 a	1.91±0.20 b	3.23±0.13 b
	烟粉虱与TYLCCNV共侵染	1.35±0.16 c	0.95±0.17 a	1.44±0.29 a	2.03±0.14 b	3.45±0.38 ab
	Co-infection by whitefly and TYLCCNV					
可溶性蛋白 Soluble protein (mg/g)	空白对照 CK	4.53±0.09 a	2.93±0.05 a	3.85±0.21 a	3.72±0.06 a	3.81±0.10 a
	烟粉虱取食 Feeding by whitefly	3.60±0.15 b	2.81±0.03 a	2.92±0.25 b	2.98±0.03 b	3.11±0.06 b
	烟粉虱与TYLCCNV共侵染	3.63±0.03 b	2.04±0.10 b	2.66±0.06 b	2.18±0.02 c	2.46±0.04 c
	Co-infection by whitefly and TYLCCNV					
多酚 Phenol ($\mu\text{g/g}$)	空白对照 CK	105.57±12.43 c	151.03±12.43 c	240.31±4.62 ab	224.62±8.94 b	194.86±4.47 c
	烟粉虱取食 Feeding by whitefly	269.81±13.80 a	278.19±2.48 a	247.08±1.62 a	249.51±7.08 a	251.14±6.34 a
	烟粉虱与TYLCCNV共侵染					
	Co-infection by whitefly and TYLCCNV	176.46±7.31 b	238.42±8.94 b	239.50±3.75 b	242.48±6.61 a	212.99±9.88 b

表中数据为平均数±标准差。同列不同小写字母表示经One-way ANOVA法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SD. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference at $P<0.05$ level by One-way ANOVA.

2.3 不同处理对普通烟中多酚含量的影响

与对照相比,烟粉虱取食及其与TYLCCNV共侵染可导致普通烟植株中多酚含量显著升高。除取食处理后第5天以外,无论是烟粉虱取食还是与TYLCCNV共侵染处理均可导致普通烟植株中多酚含量显著高于对照植株(表1)。在侵染处理后1、3、5和9 d时,烟粉虱与TYLCCNV共侵染所诱导普通烟植株中的多酚含量显著低于烟粉虱取食植株,分别降低了34.60%、14.30%、3.07%和15.19%;而在共侵染后7 d时二者多酚含量差异不显著(表1)。

2.4 不同处理对普通烟中氧化酶活性的影响

2.4.1 对普通烟CAT活性的影响

与对照相比,烟粉虱取食及其与TYLCCNV共侵染均可导致普通烟植株中CAT活性较对照显著升高(表2)。除处理后第9天外,烟粉虱与TYL-

CCNV共侵染均可导致普通烟植株中CAT活性显著高于烟粉虱取食植株,共侵染1、3、5和7 d时普通烟植株中CAT活性分别是烟粉虱取食植株中的3.04倍、1.42倍、1.68倍和1.96倍。

2.4.2 对普通烟SOD活性的影响

与对照相比,烟粉虱取食及其与TYLCCNV共侵染均导致普通烟植株中SOD活性呈现先升后降的变化趋势。烟粉虱取食后1、3和5 d普通烟植株中SOD活性显著高于对照,而在取食后9 d普通烟植株中SOD活性显著低于对照。烟粉虱与TYLCCNV共侵染后1、5 d时普通烟植株中SOD活性均显著高于对照,而在共侵染后9 d时SOD活性显著低于对照。烟粉虱与TYLCCNV共侵染后9 d时普通烟植株中SOD活性显著高于烟粉虱取食植株,其它时间二者的SOD活性均差异不显著(表2)。

表2 烟粉虱取食及其与TYLCCNV共侵染的普通烟中防御酶活性的变化
Table 2 Changes of the defense enzyme activities in tobacco after feeding by *Bemisia tabaci* and co-infection with TYLCCNV

指标 Index	处理 Treatment	侵染后天数 Days after infection (d)					U/g
		1	3	5	7	9	
CAT活性 CAT activity	空白对照 CK	39.38±5.89 c	54.94±4.50 c	14.06±1.66 c	95.25±0.61 c	135.00±0.61 b	
	烟粉虱取食 Feeding by whitefly	75.56±3.15 b	132.00±1.37 b	92.81±6.83 b	161.25±1.23 b	297.19±4.99 a	
	烟粉虱与TYLCCNV共侵染 Co-infection by whitefly and TYLCCNV	229.69±2.48 a	187.13±1.13 a	155.63±0.75 a	316.31±2.76 a	295.50±2.53 a	
SOD活性 SOD activity	空白对照 CK	4.22±0.39 b	5.58±0.30 b	4.94±0.65 b	6.29±0.39 a	7.21±0.12 a	
	烟粉虱取食 Feeding by whitefly	6.41±0.11 a	6.47±0.08 a	6.55±0.10 a	5.82±0.13 a	5.85±0.20 c	
	烟粉虱与TYLCCNV共侵染 Co-infection by whitefly and TYLCCNV	6.54±0.22 a	6.37±0.68 ab	6.54±0.00 a	5.95±0.11 a	6.72±0.20 b	
POD活性 POD activity	空白对照 CK	251.50±95.28 b	386.00±13.61 b	539.00±57.01 a	559.00±110.48 a	546.00±77.51 a	
	烟粉虱取食 Feeding by whitefly	504.00±50.93 a	539.00±57.01 a	220.00±74.35 b	255.50±66.68 b	383.00±39.13 b	
	烟粉虱与TYLCCNV共侵染 Co-infection by whitefly and TYLCCNV	379.50±10.50 a	462.50±64.65 ab	171.50±33.80 b	85.00±24.25 c	307.00±54.01 b	

表中数据为平均数±标准差。同列不同小写字母表示经One-way ANOVA法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SD. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference at $P<0.05$ level by One-way ANOVA.

2.4.3 对普通烟POD活性的影响

与对照相比,烟粉虱取食及其与TYLCCNV共侵染均导致普通烟植株中POD活性呈现先升后降的变化趋势。烟粉虱取食后1、3 d普通烟植株中POD活性均显著高于对照,分别是对照的2.00倍和1.40倍;而在取食处理后5、7和9 d时普通烟植株内的POD活性则显著低于对照。烟粉虱与TYLCCNV共侵染后1 d,普通烟植株中的POD活性显著高于

对照,而在共侵染后5、7和9 d时POD活性均显著低于对照。除烟粉虱取食处理后7 d时普通烟植株中的POD活性较烟粉虱与TYLCCNV共侵染植株显著升高外,其它时间点二者的POD活性差异均不显著(表2)。

3 讨论

植物在与昆虫的协同进化过程中形成了一系列

精密调控的诱导防御机制,以维持自身种群的发展。植物可通过改变自身营养状况来防御昆虫的取食,寄主植物中营养物质在质和量上的变化都足以影响昆虫的生长发育,因此植株营养物质的改变是植物化学防御机制中的一种策略。可溶性糖和可溶性蛋白是昆虫生长发育的重要因素,植株中可溶性糖和可溶性蛋白质的含量变化是植物抵御植食性昆虫取食的一种手段,但这种变化会因昆虫和寄主植物的不同而异(张海静等,2012)。陈建明等(2003)研究发现褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 取食为害水稻后,水稻体内可溶性蛋白及可溶性糖等含量降低;而灰同缘小叶蝉 *Coloana cinerea* 为害秋枫叶后叶片内可溶性糖和蛋白质含量明显升高(覃金萍等,2009);刘明杨等(2016)研究发现MED隐种烟粉虱取食黄瓜植株后,植株内可溶性糖和蛋白质含量显著低于对照,而MEAM1隐种烟粉虱取食可诱导黄瓜植株可溶性糖和蛋白质含量显著升高;李传明等(2017)研究结果表明,高密度烟粉虱取食辣椒后叶片中可溶性蛋白含量明显上升。本研究结果显示,烟粉虱取食及其与TYLCCNV共侵染均能诱导普通烟植株中可溶性糖和可溶性蛋白含量较对照明显下降,且在侵染处理后第1天时,烟粉虱与TYLCCNV共侵染植株中可溶性糖含量显著低于烟粉虱取食植株;共侵染处理后3、7和9 d时可溶性蛋白含量显著低于烟粉虱取食植株,原因可能是携带TYLCCNV的烟粉虱较无毒烟粉虱引起普通烟植株更为强烈的防御反应,进而导致普通烟植株中可溶性糖和可溶性蛋白含量较烟粉虱单独取食植株更快速地减少,以防御烟粉虱与TYLCCNV的共侵染。

宿主植物还可通过产生有毒的次生物质来防御昆虫的取食或抑制其生长发育(Alagar et al., 2010; 张海静等, 2012)。刘明杨等(2016)研究发现,MEAM1和MED隐种烟粉虱为害后,黄瓜植株中多酚含量均高于对照,但MED隐种烟粉虱取食后则导致黄瓜植株中产生更高含量的多酚;李传明等(2017)研究结果显示,烟粉虱取食可引起辣椒叶片中酚类化合物含量明显上升,且感虫品种中酚类化合物的上升幅度大于抗虫品种。本研究结果表明,烟粉虱取食及其与TYLCCNV共侵染均能诱导普通烟中多酚含量较对照明显升高;并且除处理后第7天,烟粉虱取食所诱导的普通烟植株中多酚含量均显著高于其与TYLCCNV共侵染植株。由此可见,携带TYLCCNV的烟粉虱取食可通过产生较少的防御物质来抑制普通烟植株的防御。Shi et al.(2014)研究结果表明,携带TYLCV的MED隐种烟粉虱取

食可强烈抑制宿主植物的防御,这与本研究结果相似,表明普通烟植株可通过分泌有毒的次生物质来防御烟粉虱及其与双生病毒的共侵染,但防御水平因烟粉虱是否携带双生病毒而明显不同。

宿主植物在受到昆虫、病原物或其它不良环境胁迫时可诱导ROS的产生和积累,对其自身造成毒害作用,但同时植物体内的CAT、SOD、POD及多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)等氧化酶能有效清除这些自由基,进而抑制ROS自由基对机体的伤害,提高生物体的抗逆性(蔡冲等,2016;许建鹏等,2016)。宿主植物在受到昆虫取食为害时,不同昆虫可在不同程度上诱导植物中这些氧化酶活性发生变化,且这种变化具有物种特异性(张海静等,2012)。本研究发现,在整个试验过程中,与对照相比,烟粉虱取食及其与TYLCCNV共侵染均能诱导普通烟植株中CAT活性显著升高,而且共侵染植株中CAT活性均显著高于烟粉虱取食植株,植株中SOD和POD活性则出现先升后降的变化趋势。表明普通烟植株可通过改变氧化酶活性应对烟粉虱取食及其与TYLCCNV共侵染过程中产生的ROS自由基对机体的伤害,以提高自身的抗逆性。另外,本课题组还发现,烟粉虱取食及其与TYLCCNV共侵染诱导植株中ROS的产生量均显著高于对照植株,且共侵染诱导植株中的ROS产生量显著高于烟粉虱取食植株(另文发表)。这可能是本研究中烟粉虱与TYLCCNV共侵染普通烟植株中氧化酶活性较烟粉虱取食植株及对照植株内明显升高以清除更多ROS的重要原因。

刺吸式昆虫在取食过程中能快速分泌胶状和水状唾液,其水状唾液中含有各种酶类以及诱导植物防御信号物质产生的成分(张海静等,2012)。有研究认为,刺吸式昆虫在取食时分泌的唾液,加强了病毒粒子的释放和向植物细胞的运输,从而使植物受到感染(Ng & Perry, 2004)。不同昆虫唾液成分的差异导致在压低植物防御反应上产生的效果不同(Miles, 1999; 严盈等, 2008; Yan et al., 2016)。MED隐种烟粉虱可以有效获取和存留TYLCCNV(Wei et al., 2014),TYLCCNV在烟粉虱体内的存留增殖必将导致烟粉虱调整自身的防御体系来应对病原物TYLCCNV的存在,进而改变烟粉虱唾液组分,这可能是本研究中携带TYLCCNV的烟粉虱取食普通烟后所引起植株内营养物质、多酚含量及氧化酶活性发生变化的重要原因。

烟粉虱-TYLCCNV-普通烟三者之间存在复杂的互作关系(Jiu et al., 2007; Li et al., 2011; Sun et

al., 2017)。本研究结果表明,普通烟可通过降低植株内的可溶性糖和可溶性蛋白含量及提高防御物质多酚含量来防御烟粉虱取食及其与TYLCCNV的共侵染,也可通过提高植株内氧化酶活性以降低烟粉虱及其与TYLCCNV共侵染过程中产生的ROS对其造成的伤害。虽然携带TYLCCNV的烟粉虱可导致普通烟植株营养组分较烟粉虱单独取食植株明显减少,但烟粉虱与TYLCCNV共侵染可诱导植株产生较单独取食时更少的多酚类防御物质,进而提高其在普通烟植株上的适应性,这可能是烟粉虱与TYLCCNV之间通过宿主植物介导形成互惠关系的一个重要机制。

参考文献 (References)

- Alagar M, Suresh S, Saravanakumar D, Samiyappan R. 2010. Feeding-induced changes in defence enzymes and PR proteins and their implications in host resistance to *Nilaparvata lugens*. *Journal of Applied Entomology*, 134(2): 123–131
- Cai C, Xu YY, Cui XH. 2016. Analysis of physiological characteristics with response to *Bemisia tabaci* B biotype in different resistant varieties of tomato. *Scientia Agricultura Sinica*, 49(13): 2524–2533 (in Chinese) [蔡冲, 徐盈盈, 崔旭红. 2016. 番茄不同抗性品种响应B型烟粉虱胁迫的生理特性. *中国农业科学*, 49(13): 2524–2533]
- Chen JM, Yu XP, Cheng JA, Lü ZX, Xu HX. 2003. The change of physiological indexes in different varieties of rice damaged by *Nilaparvata lugens* (Stål). *Journal of Plant Protection*, 30(3): 225–231 (in Chinese) [陈建明, 俞晓平, 程家安, 吕仲贤, 徐红星. 2003. 不同水稻品种受褐飞虱危害后体内生理指标的变化. *植物保护学报*, 30(3): 225–231]
- Chen Q, Zhang MD, Shen SH. 2011. Effect of salt on malondialdehyde and antioxidant enzymes in seedling roots of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). *Acta Physiologiae Plantarum*, 33(2): 273–278
- Chen YL, Cui XH, Cai C, Cao FQ. 2011. Effect of *Bemisia tabaci* (Gennadius) B-biotype on photosynthetic characteristics and activity of defense enzyme in different varieties of tomato. *Scientia Agricultura Sinica*, 44(17): 3547–3556 (in Chinese) [陈奕磊, 崔旭红, 蔡冲, 曹凤琴. 2011. B型烟粉虱对番茄不同品种光合特征和防御酶活性的影响. *中国农业科学*, 44(17): 3547–3556]
- Chu D, Zhang YJ. 2018. Research progress on the damages and management of *Bemisia tabaci* (Gennadius) in China over the past 10 years. *Plant Protection*, 44(5): 51–55 (in Chinese) [褚栋, 张友军. 2018. 近10年我国烟粉虱发生为害及防治研究进展. *植物保护*, 44(5): 51–55]
- Chu D, Zhang YJ, Brown JK, Cong B, Xu BY, Wu QJ, Zhu GR. 2006. The introduction of the exotic Q biotype of *Bemisia tabaci* from the Mediterranean region into China on ornamental crops. *Florida Entomologist*, 89(2): 168–174
- Clarke SF, Guy PL, Burritt DJ, Jameson PE. 2002. Changes in the activities of antioxidant enzymes in response to virus infection and hormone treatment. *Physiologia Plantarum*, 114(2): 157–164
- de Barro PJ, Liu SS, Boykin LM, Dinsdale AB. 2011. *Bemisia tabaci*: a statement of species status. *Annual Review of Entomology*, 56: 1–19
- de Gara L, de Pinto MC, Tommasi F. 2003. The antioxidant systems vis-à-vis reactive oxygen species during plant-pathogen interaction. *Plant Physiology & Biochemistry*, 41(10): 863–870
- Fang Y, Jiao XG, Xie W, Wang SL, Wu QJ, Shi XB, Chen G, Su Q, Yang X, Pan HP, et al. 2013. *Tomato yellow leaf curl virus* alters the host preferences of its vector *Bemisia tabaci*. *Scientific Reports*, 3: 2876
- Hu J, de Barro PJ, Zhao H, Wang J, Nardi F, Liu SS. 2011. An extensive field survey combined with a phylogenetic analysis reveals rapid and widespread invasion of two alien whiteflies in China. *PLoS ONE*, 6(1): e16061
- Jiu M, Hu J, Wang LJ, Dong JF, Song YQ, Sun HZ. 2017. Cryptic species identification and composition of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) complex in Henan Province, China. *Journal of Insect Science*, 17(3): 1–7
- Jiu M, Zhou XP, Liu SS. 2006. Acquisition and transmission of two begomoviruses by the B and a non-B biotype of *Bemisia tabaci* from Zhejiang, China. *Journal of Phytopathology*, 154(10): 587–591
- Jiu M, Zhou XP, Tong L, Xu J, Yang X, Wan FH, Liu SS. 2007. Vector-virus mutualism accelerates population increase of an invasive whitefly. *PLoS ONE*, 2(1): e182
- Kerchev PI, Fenton B, Foyer CH, Hancock RD. 2012. Plant responses to insect herbivory: interactions between photosynthesis, reactive oxygen species and hormonal signaling pathways. *Plant Cell & Environment*, 35(2): 441–453
- Li CM, He J, Gu AX, Su HH, Wu XX, Zhang HB, Xie YM, Wu YH, Zhou FC. 2017. Effects of *Bemisia tabaci* feeding on nutrients and resistance-related compounds of pepper varieties with different insect resistances. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 25(10): 1456–1462 (in Chinese) [李传明, 何菁, 顾爱祥, 苏宏华, 吴晓霞, 张海波, 解雅梅, 郭亚红, 周福才. 2017. 烟粉虱取食对不同抗性辣椒品种营养物质和抗性物质的影响. *中国生态农业学报*, 25(10): 1456–1462]
- Li HR, Liu X, Liu XL, Li CY, Shen CP, Tao YL, Chu D. 2015. Widespread displacement of the exotic whitefly species *Bemisia tabaci* B by *Bemisia tabaci* Q in fields in Shandong, China. *Acta Entomologica Sinica*, 58(7): 811–816 (in Chinese) [李洪冉, 刘馨, 刘小龙, 李长友, 沈长朋, 陶云荔, 褚栋. 2015. 田间系统调查表明山东省农区烟粉虱优势种为Q隐种. *昆虫学报*, 58(7): 811–816]
- Li HS. 2000. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment. Beijing: Higher Education Press, pp. 184–185, 194–195 (in Chinese) [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, pp. 184–185, 194–195]
- Li JM, Ruan YM, Li FF, Liu SS, Wang XW. 2011. Gene expression profiling of the whitefly (*Bemisia tabaci*) Middle East-Asia Minor 1 feeding on healthy and *Tomato yellow leaf curl China virus*-infected tobacco. *Insect Science*, 18: 11–22
- Liu MY, Lei CY, Li JJ, Lu SH, Bai RE, Tang QB, Yan FM. 2016. Dif-

- ferential physiological and biochemical responses of cucumber to the feeding by *Bemisia tabaci* B and Q biotypes. *Scientia Agricultura Sinica*, 49(13): 2514–2523 (in Chinese) [刘明杨, 雷彩燕, 李静静, 卢少华, 白润娥, 汤清波, 闫凤鸣. 2016. 黄瓜对B型和Q型烟粉虱取食的不同生理生化反应. *中国农业科学*, 49(13): 2514–2523]
- Liu SS, de Barro PJ, Xu J, Luan JB, Zang LS, Ruan YM, Wan FH. 2007. Asymmetric mating interactions drive widespread invasion and displacement in a whitefly. *Science*, 318(5857): 1769–1772
- Luan JB, Wang XW, Colvin J, Liu SS. 2014. Plant-mediated whitefly-begomovirus interactions: research progress and future prospects. *Bulletin of Entomological Research*, 104(3): 267–276
- Luo C. 2016. *Bemisia tabaci* species complex: small insect pests cause great damage. *Journal of Plant Protection*, 43(1): 1–4 (in Chinese) [罗晨. 2016. 烟粉虱复合种——小昆虫, 大危害. *植物保护学报*, 43(1): 1–4]
- Miles PW. 1999. Aphid saliva. *Biological Reviews*, 74(1): 41–85
- Naranjo SE, Castle SJ, de Barro PJ, Liu SS. 2009. Population dynamics, demography, dispersal and spread of *Bemisia tabaci*.// Stansly P, Naranjo S. *Bemisia: bionomics and management of a global pest*. Dordrecht: Springer, pp. 185–226
- Ng JCK, Perry KL. 2004. Transmission of plant viruses by aphid vectors. *Molecular Plant Pathology*, 5(5): 505–511
- Pan H, Chu D, Ge D, Wang SL, Wu QJ, Xie W, Jiao XJ, Liu BM, Yang X, Yang NN, et al. 2011. Further spread of and domination by *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) biotype Q on field crops in China. *Journal of Economic Entomology*, 104(3): 978–985
- Qin JP, Sun YJ, Yang ZD, Zhang ZQ, Li N, Ju WY. 2009. Effect of feeding by *Coloana cinerea* Dworakowska on physiological and biochemical indexes of host plant *Bischofia javanica* leaves. *China Plant Protection*, 29(12): 10–12 (in Chinese) [覃金萍, 孙艳娟, 杨振德, 张增强, 李诺, 巨伟云. 2009. 灰同缘小叶蝉取食对寄主植物秋枫叶片生理生化的影响. *植物保护导刊*, 29(12): 10–12]
- Radwan DEM, Fayed KA, Mahmoud SY, Lu GQ. 2010. Modifications of antioxidant activity and protein composition of bean leaf due to *Bean yellow mosaic virus* infection and salicylic acid treatments. *Acta Physiologiae Plantarum*, 32(5): 891–904
- Rao Q, Luo C, Zhang H, Guo X, Devine GJ. 2011. Distribution and dynamics of *Bemisia tabaci* invasive biotypes in central China. *Bulletin of Entomological Research*, 101(1): 81–88
- Sharma P, Jha AB, Dubey RS, Pessarakli M. 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*, 2012: 217037
- Shi XB, Pan HP, Zhang HY, Jiao XG, Xie W, Wu QJ, Wang SL, Fang Y, Chen G, Zhou XG, et al. 2014. *Bemisia tabaci* Q carrying *Tomato yellow leaf curl virus* strongly suppresses host plant defenses. *Scientific Reports*, 4: 5230
- Sun YC, Pan LL, Ying FZ, Li P, Wang XW, Liu SS. 2017. Jasmonic acid-related resistance in tomato mediates interactions between whitefly and whitefly-transmitted virus. *Scientific Reports*, 7(1): 566
- Walling LL. 2008. Avoiding effective defenses: strategies employed by phloem-feeding insects. *Plant Physiology*, 146(3): 859–866
- Wan FH, Zhang GF, Liu SS, Luo C, Chu D, Zhang YJ, Zang LS, Jiu M, Lü ZC, Cui XH, et al. 2009. Invasive mechanism and management strategy of *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotype B: progress report of 973 Program on invasive alien species in China. *Science in China C: Life Science*, 52(1): 88–95
- Wei J, Zhao JJ, Zhang T, Li FF, Ghanim M, Zhou XP, Ye GY, Liu SS, Wang XW. 2014. Specific cells in the primary salivary glands of the whitefly *Bemisia tabaci* control retention and transmission of begomoviruses. *Journal of Virology*, 88(22): 13460–13468
- Wu XM, Han LW, Wang XM, Chen WY, Yang GE, Liu KC. 2014. Quantitative determination of anthocyanin and total phenols in fresh purple potato from different habitats. *Food and Nutrition in China*, 20(5): 24–26 (in Chinese) [吴晓敏, 韩利文, 王希敏, 陈维云, 杨官娥, 刘可春. 2014. 不同产地新鲜紫色马铃薯中花色苷及总酚的含量测定. *中国食物与营养*, 20(5): 24–26]
- Xu JP, Gu TT, Liu YY, Li TT, Jiang WZ, Liu GJ, Cao CX. 2016. Study on resistance of different cucumber materials to *Bemisia tabaci* and related enzyme activities. *Shandong Agricultural Sciences*, 48(9): 65–68 (in Chinese) [许建鹏, 谷婷婷, 刘永月, 李田田, 姜文芝, 刘桂军, 曹辰兴. 2016. 不同黄瓜材料对烟粉虱的抗性及相关酶活性的研究. *山东农业科学*, 48(9): 65–68]
- Yan Y, Liu WX, Wan FH. 2008. Roles of piercing-sucking insect salivary components in piercing-sucking insect-plant interactions. *Acta Entomologica Sinica*, 51(5): 537–544 (in Chinese) [严盈, 刘万学, 万方浩. 2008. 唾液成分在刺吸式昆虫与植物关系中的作用. *昆虫学报*, 51(5): 537–544]
- Yan Y, Zhang HJ, Yang YT, Zhang Y, Guo JY, Liu WX, Wan FH. 2016. Plant defense responses induced by *Bemisia tabaci* Middle East: Asia Minor 1 salivary components. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 159(3): 287–297
- Yang JJ, Wang C, Jiao XG. 2017. Effects of pepper varieties on detoxification enzymes of B and Q biotypes of *Bemisia tabaci*. *Journal of Plant Protection*, 44(4): 695–696 (in Chinese) [杨金键, 王超, 焦晓国. 2017. 不同辣椒品种对B型和Q型烟粉虱主要解毒酶的影响. *植物保护学报*, 44(4): 695–696]
- Zaefyzadeh M, Quliyev RA, Babayeva SM, Abbasov MA. 2009. The effect of the interaction between genotypes and drought stress on the superoxide dismutase and chlorophyll content in durum wheat landraces. *Turkish Journal of Biology*, 33(1): 1–7
- Zhang C, Wang XM, Qiu BL, Ge F, Ren SX. 2015. Review of current research on *Bemisia tabaci* (Gennadius). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 52(1): 32–46 (in Chinese) [张灿, 王兴民, 邱宝利, 戈峰, 任顺祥. 2015. 烟粉虱热点问题研究进展. *应用昆虫学报*, 52(1): 32–46]
- Zhang HJ, Yan Y, Peng L, Guo JY, Wan FH. 2012. Plant defense responses induced by phloem-feeding insects. *Acta Entomologica Sinica*, 55(6): 736–748 (in Chinese) [张海静, 严盈, 彭露, 郭建洋, 万方浩. 2012. 韧皮部取食昆虫诱导的植物防御反应. *昆虫学报*, 55(6): 736–748]

(责任编辑:李美娟)