

蓟马取食诱导对紫花苜蓿次生代谢物含量及防御酶活性的影响

吴芳, 师尚礼*, 康文娟, 陈晓梅, 阿芸, 张辉辉, 李自立

(甘肃农业大学草业学院, 草业生态系统教育部重点实验室, 甘肃省草业工程实验室, 中-美草地畜牧业可持续发展研究中心, 甘肃 兰州 730070)

摘要:以抗蓟马苜蓿品种甘农9号(*Medicago sativa* cv. Gannong No. 9)、感蓟马苜蓿品种甘农3号(*Medicago sativa* cv. Gannong No. 3)和高感蓟马苜蓿品种WL363HQ(*Medicago sativa* cv. WL363HQ)为试验材料, 紫花苜蓿苗期接种不同头数(0、4、5、6头/枝条)的蓟马成虫, 取食5 d后比较不同抗性苜蓿品种叶片中次生代谢物质(黄酮、单宁、木质素)含量和防御酶(过氧化物酶(POD)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)、多酚氧化酶(PPO))活性的变化。结果表明:随着蓟马头数的增加, 供试苜蓿品种的黄酮、单宁和木质素含量均显著高于CK($P < 0.05$)。5、6头/枝条处理时, 甘农9号的单宁含量分别较甘农3号显著提高了53.49%, 47.70%; 较WL363HQ分别显著增加了71.52%, 58.60% ($P < 0.05$)。甘农9号的木质素含量在5、6头/枝条处理下均显著高于甘农3号和WL363HQ, 增幅分别为5.60%, 3.50%和6.13%, 3.96% ($P < 0.05$)。蓟马取食胁迫显著提高了供试苜蓿品种的POD和PAL活性, 显著降低了PPO活性($P < 0.05$)。甘农9号的POD和PAL活性在5头/枝条处理下较甘农3号分别显著增加了2.60%, 1.09%; 较WL363HQ分别显著提高了1.36%, 3.54%; 6头/枝条处理后甘农9号的POD和PAL活性均显著高于甘农3号(5.19%, 9.36%)和WL363HQ(2.58%, 11.18%) ($P < 0.05$)。

关键词:苜蓿; 蓟马; 次级代谢物; 防御酶

中图分类号:S541+.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2022)06-0021-07

DOI:10.13817/j.cnki.cycp.2022.06.003



随着我国从“粮—经”种植结构到“粮—经—饲”种植结构的转变, 草产业呈现出强劲的发展势头, 被称为“牧草之王”的紫花苜蓿(*Medicago sativa*)种植面积也逐年增加。甘肃省作为紫花苜蓿生产的第一大省, 紫花苜蓿种植面积占全国的1/3, 尤其在金昌、张掖和酒泉等河西地区形成了苜蓿主产区^[1]。然而, 蓟马类害虫是紫花苜蓿主产区最常见的害虫之一^[2-4]。调查发现为害紫花苜蓿的蓟马种类分别有牛角花齿

蓟马(*Odontothrips loti*)、苜蓿蓟马(*O. phateratus*)、普通蓟马(*Thrips vulgaticissimus*)、花蓟马(*Frankliniella intonsa*)、烟蓟马(*T. tabaci*)等, 其中牛角花齿蓟马为优势种^[5-8]。蓟马通过锉吸式口器主要将苜蓿的心叶、嫩叶等幼嫩组织的表皮挫破, 引起叶片畸形、褪色, 严重时卷曲发白, 导致草产量损失、营养价值降低。此外, 因蓟马个体微小、隐蔽性强、繁殖速度快、易产生抗药性, 单一的杀虫剂难以取得理想的防治效果^[9]。因此, 选育抗蓟马苜蓿品种是防治该虫的重要策略和有效方法, 而探索和挖掘紫花苜蓿自身形成的抗蓟马生理机制是抗虫育种的基础。

植物受到害虫为害后, 其植株体内防御途径中的信号分子会诱导产生其下游化学防御物质, 防御酶和某些次生代谢物会在极短的时间内迅速合成并大量积累, 从而激活诱导型防御机制, 增强自身抗性^[10-12]。

收稿日期:2021-06-21; **修回日期:**2021-07-23

基金项目:甘肃省科技重大专项(19ZD2NA002); 国家现代农业产业技术体系(CARS-34)

作者简介:吴芳(1991-), 女, 甘肃定西人, 博士研究生。

E-mail:1152269219@qq.com

*通信作者。E-mail:shishl@gsau.edu.cn

植物体内的黄酮、单宁和木质素等次生代谢产物能阻碍害虫取食,影响害虫生长、发育和繁殖,其含量与植物抗虫性密切相关^[13-14]。王小珊^[15]研究表明不同虫口压力牛角花齿蓟马为害后,抗蓟马苜蓿无性系R-1和感蓟马苜蓿无性系I-1叶片中的总酚、黄酮、缩合单宁和木质素含量均高于对照。骆桂芬等^[16]和蒋桂华等^[17]研究指出植物受到虫害或病害侵染时,可以诱导木质素含量升高。孙兴华等^[18]研究表明黄瓜(*Cucumis sativus*)受南美斑潜蝇(*Liriomyza huidobrensis*)为害后,其叶片的黄酮和单宁含量随着为害程度增强而显著增加。吴岩等^[19]研究发现木瓜秀粉蚧(*Paracoccus marginatus*)为害木薯(*Manihot esculenta*)前后,抗虫木薯品种的单宁含量均显著高于感虫木薯品种。以往的研究证实过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)和苯丙氨酸解氨酶(PAL)是植物次生代谢过程中的关键酶,它们在植物抵抗害虫方面起着重要的保护作用^[20-21]。寇江涛等^[22]研究指出蓟马为害后,抗、感蓟马苜蓿无性系R-I和I-1的POD、PAL和PPO活性升高可能是一种诱导抗性的表现。芦屹等^[23]研究指出棉蚜(*Aphis gossypii*)取食胁迫后,抗蚜棉花品种的POD、PAL和PPO活性显著高于感蚜棉花品种。武德功等^[24]研究指出随着玉米蚜(*Rhopalosiphum maidis*)密度的增加,玉米(*Zea mays*)抗蚜品种的PAL和PPO活性呈上升趋势。然而,蓟马取食诱导对不同抗蓟马紫花苜蓿品种次生代谢物质含量与防御酶活性的影响很少报道。

因此,本研究以3种不同抗蓟马紫花苜蓿品种为材料,研究不同蓟马头数为害对紫花苜蓿苗期的次生代谢物质(黄酮、单宁、木质素)含量和防御酶(POD、PAL、PPO)活性的影响,以期阐明蓟马为害紫花苜蓿的诱导型防御的生理机制,为筛选紫花苜蓿关键抗虫次生代谢物提供理论基础,为蓟马综合防治提供参考依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试虫源:甘肃农业大学校内牧草实训基地田间自然发生的蓟马成虫(牛角花齿蓟马为优势种)。

供试紫花苜蓿品种分别为抗蓟马紫花苜蓿品种甘农9号(*M. sativa* cv. Gannong No. 9)^[25]、感蓟马紫

花苜蓿品种甘农3号(*M. sativa* cv. Gannong No. 3)^[4]和高感蓟马紫花苜蓿品种WL363HQ(*M. sativa* cv. WL363HQ)^[26]。甘农9号和甘农3号种子由甘肃农业大学草业生态系统教育部重点实验室提供,WL363HQ由北京正道种子公司提供。

1.2 试验设计

1.2.1 紫花苜蓿幼苗生长试验 2020年6月至8月在甘肃农业大学牧草实训基地8 m×6 m×2 m的网室中进行。将营养土:草炭土:蛭石按比例2:1:1混合均匀,称取750 g装入花盆(高度为18 cm,直径为12 cm)中,将花盆的2/3埋入土中,置于田间环境条件下发芽和生长。将0.1% HgCl₂消毒后的饱满、大小均匀的种子,播种于花盆中,出苗后每盆保留生长一致的5株幼苗。根据需要每隔2~3 d浇水1次,隔7 d浇灌100 mL/盆 Hoagland 营养液,保证幼苗正常生长。为了排除蓟马及其他害虫,将紫花苜蓿幼苗保护在覆盖有60目防虫网的网室中。紫花苜蓿生长45 d后,开始接入蓟马成虫进行试验。

1.2.2 试验设计 试验采用随机区组试验设计,每个处理中3个品种随机摆放,每个品种4盆,相邻处理间的间距为50 cm,重复3次。紫花苜蓿每个枝条分别接种4头、5头、6头蓟马成虫,每个处理单独用60目防虫网罩住以防蓟马逃逸,对照组不接虫(CK),也罩上防虫网。由于蓟马体长1.5 mm或更小,接虫时尽量避免对蓟马的伤害。蓟马为害5 d后随机收集紫花苜蓿植株的叶片,迅速置于液氮中冷冻20 min,然后保存于超低温-80℃冰箱中,每个处理重复3次,用于测定次生代谢物含量、防御酶活性等。

1.3 测定指标

次生代谢物含量测定:黄酮含量采用亚硝酸钠—硝酸铝比色法测定^[27];单宁和木质素含量采用苏州格锐思试剂盒测定。

防御酶活性测定:过氧化物酶活性参照邹琦^[28]的方法,采用愈创木酚法测定;苯丙氨酸解氨酶参照刘佳^[29]方法测定;多酚氧化酶采用苏州格锐思试剂盒测定。

1.4 数据分析

利用Excel 2016整理数据并作图,采用SPSS 20.0软件对数据进行单因素方差分析(one-way ANOVA), $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 蓟马取食诱导对不同抗蓟马性紫花苜蓿品种次生代谢物的影响

随着蓟马头数的增加,甘农9号的黄酮含量呈上升趋势,而甘农3号和WL363HQ的黄酮含量呈先增后减的变化趋势(图1)。蓟马取食诱导显著增加了供试紫花苜蓿品种的黄酮含量($P<0.05$),甘农9号的黄酮含量较CK分别提高了1.03%,2.86%,6.89%;甘农3号的黄酮含量较CK分别提高了4.16%,6.47%,5.71%;WL363HQ的黄酮含量较CK分别增加了3.09%,5.15%,4.17%。在6头/枝条处理下甘农9号的黄酮含量显著高于甘农3号和WL363HQ($P<0.05$),增幅分别为1.79%,2.13%。在4、5头/枝条处理下,供试紫花苜蓿品种的黄酮含量差异不显著。

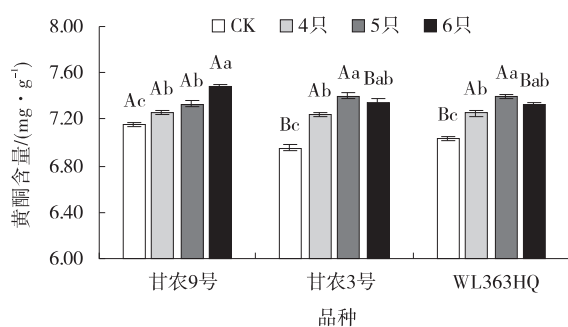


图1 蓟马取食诱导后紫花苜蓿品种的黄酮含量

Fig. 1 The flavonoids contents of alfalfa cultivars after infecting by thrips

注:不同大写字母表示相同蓟马头数为害不同苜蓿品种的差异显著($P<0.05$);不同小写字母表示相同苜蓿品种在不同蓟马头数为害下的差异显著($P<0.05$)。下同

蓟马取食诱导显著增加了供试苜蓿品种的单宁含量($P<0.05$)(图2)。与CK相比,4头/枝条处理下甘农9号、甘农3号和WL363HQ的单宁含量增幅分别为74.18%,28.22%,35.18%,表明蓟马取食胁迫后甘农9号的单宁含量变化较甘农3号和WL363HQ敏感。甘农9号的单宁含量在5头/枝条处理下达最高(2.23 mg/g),较CK显著提高了83.75%;而甘农3号和WL363HQ的单宁含量均在4头/枝条处理下增至最高。相同蓟马头数取食诱导处理下甘农9号的单宁含量均显著高于甘农3号和WL363HQ($P<0.05$),较甘农3号提高了31.28%,53.49%,47.70%;较WL363HQ增加了34.06%,71.52%,58.60%。

蓟马取食诱导后供试苜蓿品种的木质素含量变

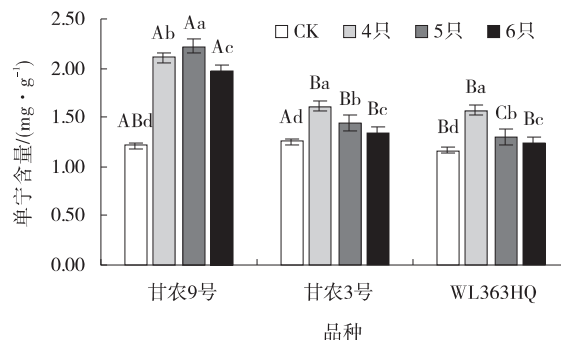


图2 蓟马取食诱导后紫花苜蓿品种的单宁含量

Fig. 2 The tannin contents of alfalfa cultivars after infecting by thrips

化与单宁相似,均呈先增后减的变化趋势,且显著高于CK($P<0.05$)(图3)。与CK相比,甘农9号的木质素含量显著增加了16.14%,21.72%,18.16%;甘农3号的木质素含量显著提高了18.01%,15.90%,11.94%;WL363HQ的木质素含量增幅分别为16.45%,19.83%,15.82%($P<0.05$)。5、6头/枝条处理下,甘农9号的木质素含量显著高于甘农3号和WL363HQ($P<0.05$),较甘农3号和WL363HQ分别增加了5.60%,3.50%;6.13%,3.96%,但甘农3号和WL363HQ的木质素含量未达显著差异。

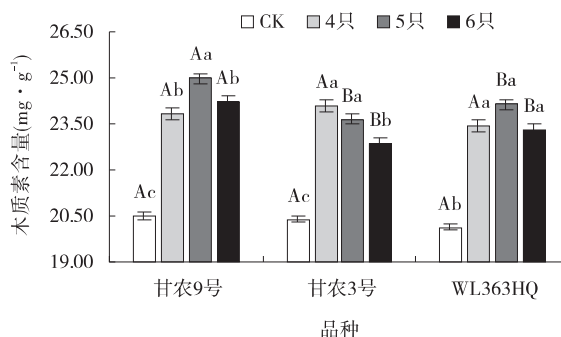


图3 蓟马取食诱导后紫花苜蓿品种的木质素含量

Fig. 3 The lignin contents of alfalfa cultivars after infecting by thrips

2.2 蓟马取食诱导对不同抗蓟马苜蓿品种防御酶活性的影响

甘农9号、甘农3号和WL363HQ的POD活性随着蓟马头数的增加呈上升趋势,且显著高于CK($P<0.05$)(图4)。与CK相比,蓟马取食诱导后甘农9号的POD活性增幅分别为3.44%,14.42%,28.76%;甘农3号的POD活性增幅分别为10.91%,15.09%,26.32%;WL363HQ的POD活性增幅分别为12.24%,13.99%,26.74%($P<0.05$)。相同蓟马头数处理下供试苜蓿品种的POD活性存在显著差异

($P < 0.05$)。WL363HQ的POD活性在4头/枝条处理下较甘农9号和甘农3号分别显著提高7.47%, 3.44%;而5和6头/枝条处理下甘农9号的POD活性较甘农3号和WL363HQ分别显著增加2.60%, 1.36%; 5.19%, 2.58% ($P < 0.05$)。

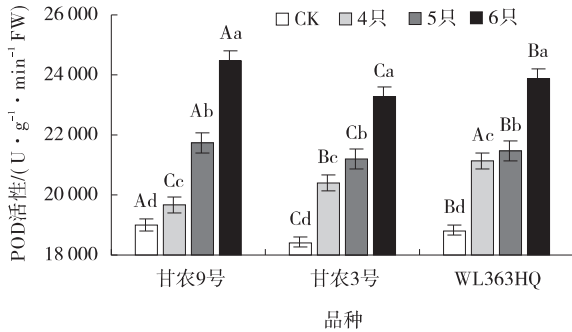


图4 蓟马取食诱导后紫花苜蓿品种的POD活性
Fig. 4 POD activities of alfalfa cultivars after infecting by thrips

随着蓟马头数的增加,甘农9号的PAL活性呈持续上升趋势,甘农3号和WL363HQ的PAL活性呈先升后降的变化趋势(图5)。与CK相比,蓟马取食诱导显著提高了供试苜蓿品种的PAL活性($P < 0.05$),甘农9号PAL活性的增幅分别为16.40%, 22.12%, 26.37%;甘农3号PAL活性的增幅分别为8.99%, 31.60%, 25.88%;WL363HQ的PAL活性增幅分别为6.98%, 14.94%, 10.77%。4、5和6头/枝条处理下甘农9号的PAL活性均显著高于甘农3号和WL363HQ ($P < 0.05$),较甘农3号分别提高了16.35%, 1.09%, 9.36%;较WL363HQ分别增加了6.04%, 3.54%, 11.18% ($P < 0.05$)。

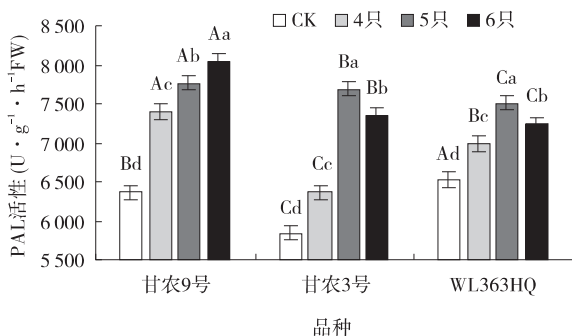


图5 蓟马取食诱导后紫花苜蓿品种的PAL活性
Fig. 5 PAL activities of alfalfa cultivars after infecting by thrips

供试苜蓿品种的PPO活性随蓟马头数的增加均呈下降趋势,且显著低于CK ($P < 0.05$) (图6)。与CK相比,甘农9号的PPO活性分别显著降低了13.59%,

22.63%, 25.66%;甘农3号的PPO活性分别显著减少了12.63%, 23.43%, 24.58%;WL363HQ的PPO活性分别显著下降了12.04%, 16.87%, 41.25% ($P < 0.05$)。4、5头/枝条处理下WL363HQ的PPO活性较甘农9号分别显著增加了3.18%, 8.91%,较甘农3号分别显著提高了5.49%, 13.76% ($P < 0.05$);而6头/枝条处理下甘农9号的PPO活性较甘农3号和WL363HQ分别显著提高了1.89%, 24.84% ($P < 0.05$)。

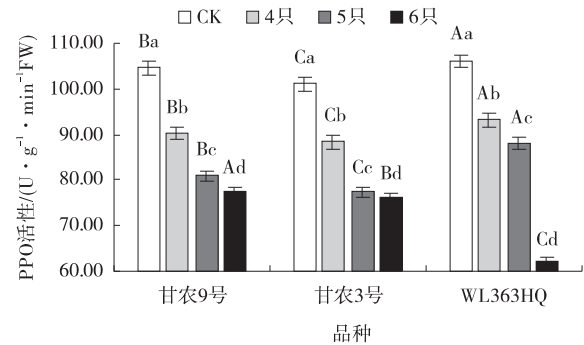


图6 蓟马取食诱导后紫花苜蓿品种的PPO活性
Fig. 6 PPO activities of alfalfa cultivars after infecting by thrips

3 讨论

昆虫取食诱导是植物防御系统启动的重要诱因。昆虫口腔分泌物中的诱导子使植物对危害信号进行识别,进而启动防御系统产生诱导抗性,如通过POD、PAL、PPO及LOX等多种防御酶的催化,诱导植物体内酚类、生物碱、萜类等多种有毒次生代谢物质的积累,从而直接或间接提高抗虫能力^[30-32]。酚类物质是高等植物中普遍存在的次生代谢产物,其中黄酮是一类对昆虫有毒的酚类物质,可以影响昆虫的取食,延缓昆虫的生长发育,严重时导致昆虫中毒甚至死亡^[33]。张华峰^[34]研究表明随着松墨天牛(*Monochamus alternatus*)为害程度的加剧,马尾松(*Pinus massoniana*)针叶的黄酮含量呈先上升后下降的变化特点。马荣金等^[35]研究指出不同抗性黄瓜(*Cucumis sativus*)材料被蚜虫侵染后,黄酮含量呈先增后减的变化趋势。本研究发现抗蓟马苜蓿品种甘农9号的黄酮含量呈上升趋势且显著高于CK,而感蓟马苜蓿品种甘农3号和高感蓟马苜蓿品种WL363HQ的黄酮含量呈先升后降趋势,说明甘农9号合成的黄酮较甘农3号和

WL363HQ多,从而对蓟马的取食产生不利影响,抵御了蓟马为害,因此甘农9号表现出良好的抗性。

单宁被认为是一类有效的防御化合物,它主要干扰昆虫的肠道消化、抑制多种消化酶的活性,破坏昆虫的正常代谢,从而影响昆虫对食物的利用^[36-37]。贾彦霞等^[38]研究指出5个辣椒品种叶片的单宁含量随西花蓟马(*F. occidentalis*)取食诱导表现为先升后降的变化特点,抗性品种74-82和娇龙的单宁含量显著高于其他品种。本研究结果表明,蓟马取食诱导显著提高了供试苜蓿品种的单宁含量,这与贾彦霞等^[38]的研究结果一致,即抗蓟马品种甘农9号的单宁含量显著高于甘农3号和WL363HQ。王小珊等^[39]研究表明牛角花齿蓟马(*O. loti*)为害后,抗蓟马苜蓿R-1和感蓟马苜蓿I-1叶片的木质素含量均升高,且R-1的木质素含量增加率均高于I-1。蔡冲等^[40]研究指出烟粉虱(*Bemisia tabaci*)胁迫9h后番茄抗虫品种(Hongshengnv, HSN)的叶片木质素含量显著高于感虫品种(Huangshengguo, HSG)。在本研究中,蓟马取食诱导后,供试苜蓿品种的木质素含量显著增加,表明受害叶片细胞壁木质化增加、机械组织增强。当每枝条超过4头蓟马时甘农9号的木质素含量显著高于甘农3号和WL363HQ,这与王小珊等^[39]和蔡冲等^[40]的研究结果一致。本研究说明蓟马取食诱导可诱导苜蓿叶片中黄酮、单宁和木质素含量增加,该结果为进一步揭示寄主植物苜蓿与蓟马之间的防御机制提供了基础。

过氧化物酶(POD)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)和多酚氧化酶(PPO)是植物在生物胁迫和非生物胁迫的防御酶,POD参与木质素的合成,PAL参与黄酮、单宁和木质素等的合成和积累,PPO可促进多酚的合成^[41-43]。He等^[44]研究发现在接种蚜虫的早期,菊花(*Dendranthema morifolium*)3个品种通过提高PAL和PPO活性来对蚜害做出快速响应。沈登荣等^[45]研究表明端大蓟马(*Megalurothrips distalis*)取食胁迫显著提高了菜豆(*Phaseolus vulgaris*)、豇豆(*Vigna unguiculata*)和蚕豆(*Vicia faba*)的POD活性。本研究发现蓟马取食诱导后不同抗蓟马苜蓿品种的POD和PAL活性显著上升,而PPO活性显著下降。此外,当蓟马头数超过4头/枝条时,抗蓟马苜蓿品种甘农9号的POD和PAL活性显著高于感蓟马苜蓿品种甘农3

号和高感蓟马苜蓿品种WL363HQ,说明随着蓟马为害程度的加剧,POD和PAL活性增强可诱导木质素、黄酮的大量合成,有助于提高甘农9号的抗性。然而,植物诱导型防御是一个复杂的过程,从植物诱导防御的整体性和系统性方面考虑,蓟马对诱导次生代谢物质的代谢通路有待于进一步研究。

4 结论

随蓟马头数的增加,甘农9号的黄酮含量、POD和PAL活性呈持续增加趋势,单宁和木质素含量呈先升后减的趋势,PPO活性呈下降趋势;而甘农3号和WL363HQ的POD和PAL活性呈上升趋势,黄酮、单宁和木质素含量均呈先增后减的变化特点,PPO活性不断下降。此外,5和6头/枝条处理下甘农9号的单宁、木质素含量和POD、PAL活性均显著高于甘农3号和WL363HQ,因而甘农9号表现出较强的抗性。

参考文献:

- [1] 南丽丽,师尚礼,郭全恩,等. 甘肃荒漠灌区播量和行距对紫花苜蓿营养价值的影响[J]. 草业学报,2019,28(1): 108-119.
- [2] 吴永敷,赵秀华,特木尔布和. 蓟马是我国苜蓿生产的主要害虫[J]. 中国草地,1990(3):65-66.
- [3] 彭然,曾文芳,李亚妹,等. 施磷对紫花苜蓿光合作用及抗蓟马的影响[J]. 植物保护,2019,45(6):201-207.
- [4] 胡桂馨,彭然,崔晓宁,等. 施磷对苜蓿光合产物在根茎叶的分配及抗蓟马的影响[J]. 中国生态农业学报,2020,28(7):969-978.
- [5] 马建华,陈华,王颖,等. 宁夏地区苜蓿蓟马的种类调查及鉴定方法[J]. 江苏农业科学,2017,45(24):88-91.
- [6] 张晓燕. 施钾对苜蓿营养、次生代谢物质及抗蓟马的影响[D]. 兰州:甘肃农业大学,2017.
- [7] 寇江涛,师尚礼,胡桂馨,等. 紫花苜蓿对牛角花齿蓟马为害的光合生理响应[J]. 生态学报,2014,34(20):5782-5792.
- [8] 魏淑花,朱小芳,曹春婧,等. 宁夏地区26个主栽苜蓿品种的抗蓟马能力评价[J]. 草原与草坪,2019,39(2): 47-53.
- [9] 马建华. 宁夏苜蓿主要害虫发生规律及防治指标研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2004.
- [10] Steenberg M, Abd-El-Haliem A, Bleeker P, et al. Thrips advisor: exploiting thrips-induced defences to combat pests on crops [J]. Journal of Experimental

- Botany, 2018, 69(8):1837—1848.
- [11] Mazid M, Khan T, Mohammad F. Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants[J]. *Biology and Medicine*, 2011, 3(2):232—249.
- [12] Irmisch S, Jiang Y, Chen F, *et al.* Terpene synthases and their contribution to herbivore-induced volatile emission in western balsam poplar (*Populus trichocarpa*) [J]. *BMC Plant Biology*, 2014, 14:270.
- [13] Holopainen J K, Blande J D. Where do herbivore-induced plant volatiles go? [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2013, 4(1):185.
- [14] War A R, Paulraj M G, Ignacimuthu S, *et al.* Induced resistance to *Helicoverpa armigerat* through exogenous application of jasmonic acid and salicylic acid in groundnut, *Arachis hypogaea* [J]. *Pest Management Science*, 2015, 71, 72—82.
- [15] 王小珊. 牛角花齿蓟马(*Odontothrips loti*)为害对苜蓿叶片次生代谢物质含量的影响[D]. 兰州:甘肃农业大学, 2014.
- [16] 骆桂芬, 崔俊涛, 张莉, 等. 黄瓜叶片中糖和木质素含量与霜霉病诱导抗性的关系[J]. *植物病理学报*, 1997, 27(1):66—70.
- [17] 蒋桂华, 谢鸣, 吕仲贤, 等. 草莓品种对蚜虫的抗性机制[J]. *果树学报*, 2006, 23(5):728—731.
- [18] 孙兴华, 周晓榕, 庞保平, 等. 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[J]. *昆虫学报*, 2012, 55(10):1178—1184.
- [19] 吴岩, 陈青, 梁晓, 等. 木瓜秀粉蚧为害对不同木薯品种次生代谢物质含量的影响[J]. *热带作物学报*, 2021, 42(10):2966—2971.
- [20] 张丽, 常金华, 罗耀武. 不同高粱基因型感蚜虫前后POD、PPO、PAL酶活性变化分析[J]. *中国农学通报*, 2005, 21(7):40—42, 198.
- [21] Vela G, D León, H García, *et al.* Polyphenoloxidase activity during ripening and chilling stress in 'Manila' mangoes [J]. *Journal of Pomology & Horticultural Science*, 2003, 78(1):104—107.
- [22] 寇江涛, 师尚礼, 胡桂馨. 牛角花齿蓟马为害对紫花苜蓿MDA含量及防御酶活性的影响[J]. *植物保护*, 2013, 39(5):165—171.
- [23] 芦屹, 王惠卿, 陈刘生, 等. 新疆棉花品种次生代谢酶活性与诱导抗蚜性的关系[J]. *植物保护*, 2017, 43(4):51—55, 96.
- [24] 武德功, 方文浩, 杜军利, 等. 不同蚜虫密度胁迫对抗感玉米幼苗生理物质的影响[J]. *浙江农业学报*, 2018, 30(4):528—536.
- [25] 张晓燕, 王森山, 李小龙, 等. 施磷对苜蓿抗蓟马的影响[J]. *草业学报*, 2016, 25(5):102—108.
- [26] Tu X B, Fan Y L, Ji M S, *et al.* Improving a method for evaluating alfalfa cultivar resistance to thrips [J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2016, 15(3):600—607.
- [27] 荆常亮. 紫花苜蓿总黄酮的提取、纯化及其抗氧化活性研究[D]. 北京:中国农业科学, 2016.
- [28] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业出版社, 2007.
- [29] 刘佳. 美洲南瓜苯丙解氨酶(PAL)基因克隆、表达分析及品种抗灰霉病研究[D]. 兰州:甘肃农业大学, 2013.
- [30] 王银翠, 邵宝成, 周国娜, 等. 植物的诱导抗虫性表现机制与影响因素[J]. *河北林果研究*, 2013, 28(3):265—268.
- [31] 王杰, 宋圆圆, 胡林, 等. 植物抗虫“防御警备”:概念、机理与应用[J]. *应用生态学报*, 2018, 29(6):2068—2078.
- [32] 焦龙, 蔡晓明, 边磊, 等. 茉莉酸类化合物:从植物的诱导抗虫防御反应到生长—防御权衡[J]. *应用生态学报*, 2018, 29(11):3876—3890.
- [33] 王海波. 昆虫胁迫下的植物应激反应模式[J]. *生态学杂志*, 1993(6):46—48.
- [34] 张华峰. 松墨天牛为害对马尾松针叶化学成分的影响及其成虫扩散能力的研究[D]. 福州:福建农林大学, 2004.
- [35] 马荣金, 李田田, 刘桂军, 等. 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[J]. *中国农学通报*, 2015, 31(19):80—86.
- [36] 王海波, 周纪纶. 蚕豆对蚕豆蚜刺吸胁迫的生理防御策略[J]. *生态学报*, 1988, 8(3):195—200.
- [37] Karban R, Myers J H. Induced Plant Responses to Herbivory [J]. *Annual Review of Ecology & Systematics*, 1989, 20(1):331—348.
- [38] 贾彦霞, 庞洪翠, 姜灵, 等. 辣椒叶片中单宁和总酚含量与其对西花蓟马抗性的关系[J]. *植物保护学报*, 2018, 45(5):1183—1184.
- [39] 王小珊, 杨成霖, 王森山, 等. 牛角花齿蓟马为害后苜蓿叶酚类物质和木质素含量的变化[J]. *应用生态学报*, 2014, 25(6):1688—1692.
- [40] 蔡冲, 徐盈盈, 崔旭红. 番茄不同抗性品种响应B型烟草虱胁迫的生理特性[J]. *中国农业科学*, 2016, 49(13):2524—2533.
- [41] 李胜, 郑端靖, 王尹, 等. 颈盲蝽取食对薇甘菊叶片营养物质和防御酶的影响[J]. *生物安全学报*, 2018, 27(1):45—49.

- [42] Yang Z W, Duan X N, Jin S, *et al.* Regurgitant derived from the tea geometrid *Ectropis obliqua* suppresses wound-induced polyphenol oxidases activity in tea plants [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2013, 39 (6) : 744—751.
- [43] 张斌,高宝嘉,刘洋. 剪叶和取食刺激对油松体内几种防御酶的活性及其动态的影响[J]. *生态科学*, 2017, 36 (1):118—122.
- [44] He J, Chen F, Chen S, *et al.* Chrysanthemum leaf epidermal surface morphology and antioxidant and defense enzyme activity in response to aphid infestation [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2011, 168(7):687—693.
- [45] 沈登荣,何超,徐慧琼,等. 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[J]. *安徽农业大学学报*, 2017, 44(4):716—719.

Effects of thrips feeding on secondary metabolites and defense enzymes of alfalfa cultivars

WU Fang, SHI Shang-li*, KANG Wen-juan, CHEN Xiao-mei, A Yun, ZHANG Hui-hui, LI Zi-li

(*College of Pratacultural Science, Gansu Agricultural University, Key Laboratory for Grassland Ecosystem of Ministry of Education, Pratacultural Engineering Laboratory of Gansu Province, Sino-U. S. Centers for Grazingland Ecosystem Sustainability, Lanzhou 730070, China*)

Abstract: In this study, the effects of thrip feeding stress on secondary metabolites and defense enzymes in the three different thrip-tolerant alfalfa (*Medicago sativa*) cultivars, such as the thrip-resistant Gannong No. 9, thrip-susceptible Gannong No. 3, and highly thrip-susceptible WL363HQ, were studied at the alfalfa seedling stage. The changes of flavonoids, tannins, lignin and the peroxidase (POD), phenylalanine aminolyase (PAL), polyphenol oxidase (PPO) were compared under the different thrip numbers (0, 4, 5 and 6-thrip per branch) at 5 days of treatments. The results indicated that compared with CK, with the increase of thrip quantities, the content of flavonoid, tannin and lignin in Gannong 9, Gannong 3 and WL363HQ remarkably increased ($P < 0.05$). In addition, under the 5 and 6-thrips per branch, compared with that in Gannong 3, the tannin contents of Gannong 9 were significantly enhanced by 53.49% and 47.70%, respectively, and were significantly higher than that in WL363HQ (71.52% and 58.60%) ($P < 0.05$). The lignin contents of Gannong 9 were significantly greater than Gannong 3 and WL363HQ under 5 and 6-thrips per branch, with an increase of 5.60%, 3.50% and 6.13%, 3.96%, respectively ($P < 0.05$). Thrip infestation significantly improved the POD and PAL activities, and reduced the PPO activities of the tested alfalfa varieties ($P < 0.05$). The activities of POD and PAL in Gannong 9 infested by 5-thrips per branch were significantly higher than Gannong 3 (2.60% and 1.09%, respectively) and WL363HQ (1.36% and 3.54%, respectively). Under 6-thrips per branch the POD and PAL activities of Gannong 9 were 5.19% and 9.36% higher than Gannong 3, and were significantly increased by 2.58% and 11.18% compared with WL363HQ ($P < 0.05$).

Key words: *Medicago sativa*; thrips; secondary metabolites; defense enzymes