

桃蚜取食抗、感辣椒品种的茉莉酸途径基因表达差异分析

税 军^{1,2,3}, 刘小强^{2,3}, 陈 青^{2,3*}, 梁 晓^{2,3}, 伍春玲^{2,3}, 刘 迎^{2,3}, 姚晓文^{1,2,3},
乔 阳^{1,2,3}, 毛立杰^{1,2,3}, 陈银华¹

1. 海南大学热带作物学院, 海南海口 570228; 2. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所/农业农村部热带作物有害生物综合治理重点实验室/海南省热带农业有害生物监测与控制重点实验室/海南省热带作物病虫害生物防治工程技术研究中心, 海南海口 571101; 3. 中国热带农业科学院三亚研究院/海南省南繁生物安全与分子育种重点实验室, 海南三亚 572000

摘 要: 根据蚜口密度及取食时间效应, 明确桃蚜取食前后辣椒茉莉酸 (JA) 合成及信号途径基因表达差异, 初步阐明 JA 途径介导的辣椒抗蚜性分子机理。本研究以抗蚜辣椒品种猪大肠 (ZDC) 和感蚜辣椒品种大羊角椒 (DYJJ) 为材料, 采用实时定量 PCR 技术与植物防御相关的 JA 合成途径基因 (*LOX2*、*AOS*、*AOC* 和 *OPR3*) 与信号途径基因 (*COII* 和 *JARI*) 在桃蚜不同蚜口密度 (20、30、40、50、60 蚜/叶) 及取食不同时间 (6、12、24、48、72 h) 后的表达量变化情况。结果表明: 在不同蚜口密度和取食为害时间下, JA 合成途径的 4 个基因在 ZDC 中表达量总体上显著高于 DYJJ, 而信号途径 2 个基因表达量总体上显著低于 DYJJ。在桃蚜较低为害水平状态下, 抗、感辣椒品种之间表达量差异显著, 且在部分相同蚜口密度下部分基因表达量峰值和低谷出现时间基本一致。较高水平的为害情况下, 抗、感辣椒品种之间差异显著性下降。以上结果表明, JA 合成及信号途径 *AOS*、*AOC* 及 *JARI* 基因可能具有作为鉴定评价辣椒抗蚜性水平的分子指标的潜力, 可为将来辣椒抗蚜种质资源评价与创新利用提供理论依据。

关键词: 桃蚜; 抗、感辣椒品种; 密度; 取食时间; 茉莉酸; 合成途径; 信号途径; 基因表达

中图分类号: S436.418.2

文献标识码: A

Differential Expression Analysis of Jasmonic Acid Pathway Genes Between Resistant and Susceptible Pepper Cultivars Against *Myzus persicae* Infestation

SHUI Jun^{1,2,3}, LIU Xiaoqiang^{2,3}, CHEN Qing^{2,3*}, LIANG Xiao^{2,3}, WU Chunling^{2,3}, LIU Ying^{2,3},
YAO Xiaowen^{1,2,3}, QIAO Yang^{1,2,3}, MAO Lijie^{1,2,3}, CHEN Yinhu¹

1. College of Tropical Crops, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 2. Environment and Plant Protection Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Key Laboratory of Integrated Pest Management on Tropical Crops, Ministry of Agriculture and Rural Affairs / Hainan Key Laboratory for Monitoring and Control of Tropical Agricultural Pests / Hainan Engineering Research Center for Biological Control of Tropical Crops Diseases and Insect Pests, Haikou, Hainan 571101, China; 3. Sanya Research Academy, Chinese Academy of Tropical Agriculture Sciences / Hainan Key Laboratory for Biosafety Monitoring and Molecular Breeding in Off-Season Reproduction Regions, Sanya, Hainan 572000, China

Abstract: In order to clarify the difference of jasmonic acid (JA) synthesis and signal pathway genes expression in pepper before and after aphid feeding, the molecular mechanism of JA pathway-mediated resistance to aphid in pepper was preliminarily clarified based on the effects of aphid densities and infestation time. The aphid-resistant pepper variety ZDC and aphid-susceptible pepper variety DYJJ were used as the materials. The expression changes of JA synthesis pathway genes (*LOX2*, *AOS*, *AOC* and *OPR3*) and signal pathway genes (*COII* and *JARI*) related to plant defense were analyzed by real-time quantitative PCR after aphid density (20, 30, 40, 50 and 60 aphids / leaf) and feeding time (6, 12,

收稿日期 2022-06-21; 修回日期 2022-09-19

基金项目 海南省重点研发计划项目 (No. ZDYF2020064); 农业农村部农业资源调查与保护利用专项 (No. NFZX-2021)。

作者简介 税 军 (1997—), 男, 硕士, 研究方向: 抗虫种质资源挖掘与创新利用。*通信作者 (Corresponding author): 陈 青 (CHEN Qing), E-mail: chqingztq@163.com。

24, 48 and 72 h). The results showed that under different aphid population densities and infestation time, the expression levels of the four genes in JA synthesis pathway in ZDC were generally significantly higher than those in DYJJ, while the expression levels of the two genes in signal pathway were generally significantly lower than those in DYJJ. Under the condition of low aphid damage level, there were significant differences in the expression levels between resistant and susceptible pepper varieties, and the peak and trough time of some gene expression were basically the same under the same aphid population density. Under high level of damage, the difference between resistant and susceptible pepper varieties decreased significantly. The above results showed that JA synthesis and signaling pathways *AOS*, *AOC* and *JAR1* genes might have the potential to be used as molecular indicators for the identification and evaluation of aphid resistance in pepper, which could provide a theoretical basis for the evaluation and innovative utilization of aphid-resistant germplasm resources in pepper in the future.

Keywords: *Myzus persicae*; resistant and susceptible pepper varieties; density; feeding time; jasmonic acid; synthesis pathway; signal pathway; gene expression

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.04.014

辣椒 (*Capsicum annuum* L.) 近年来逐步成为我国产值最高的蔬菜作物, 年总产值超 700 亿元。我国是世界上种植辣椒面积最大的国家, 2020 年辣椒播种面积约占世界播种总面积的 40%^[1]。2020 年海南辣椒生产占其瓜菜播种总面积的 13.1%^[2], 辣椒产业是热带特色高效农业、乡村振兴及南繁种业发展中的重要组成部分。

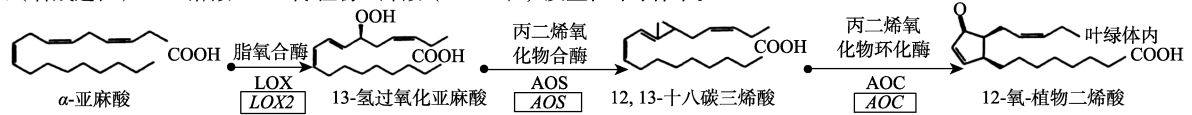
桃蚜 (*Myzus persicae* Sulzer) 是世界上分布最广的蚜虫之一, 以口针吸食寄主植物幼嫩组织汁液, 并排泄蜜露, 诱发煤污病, 而且可传播 115 种植物病毒^[3]。桃蚜在海南辣椒上, 一年可发生 20 代以上^[4], 世代重叠且快速繁殖, 严重威胁茄科辣椒属作物的生产安全。海南省作为南方冬季辣椒北运主产区之一, 伴随着该地区辣椒产业的快速发展, 桃蚜的为害愈发严重。当前登记防蚜药剂种类较少, 大剂量高频率不合理的药剂防治所导致的农产品安全、产地环境安全和抗药性等问题十分突出。因此, 亟需寻找新的桃蚜防控策略和途径。

诱导抗性 (induced resistance, IR) 介导的防御反应在植物抵御植食性昆虫取食为害中发挥重要作用, 是害虫绿色防控治理体系中极为重要的一项举措^[5], 其介导的防御反应主要通过茉莉酸 (JA) 途径来完成^[6]。JA 作为脂质抗性激素在植物抵御害虫胁迫的过程中发挥关键作用^[6], 害虫取食会激活植物 JA 合成途径, 促进 JA 含量的积累, 进一步诱导植物防御反应相关信号途径基因, 从而导致植物其他抗虫性物质含量的积累, 进而提高植物对害虫的抗性^[7]。JA 的合成起源于 α -亚麻酸 (α -LeA), 脂氧合酶 (LOX) 催化 α -亚麻酸

并控制 JA 合成的第一步。当昆虫取食或为害植物时, 植物体内脂氧合酶基因 *LOX* 被激活, 诱导 JA 合成和积累, 而生成的 JA 又可进一步激活 *LOX* 基因^[8]。丙二烯氧化物合成酶 (*AOS*) 是 JA 合成的第 2 个关键酶, 受 JA 的反馈调节, 昆虫取食可激活 *AOS* 基因的启动子, 造成其在植物体内上调或下调表达^[9]。丙二烯氧化物环化酶 (*AOC*) 在番茄机械损伤诱导信号中起着关键作用, 番茄植株受伤后诱导 *AOC* 在植株体内表达迅速上升^[10], 表明 *AOC* 可能参与 JA 合成。*OPDA* 还原酶 (*OPR*) 相关基因 *OPR3* 的转录受 JA 诱导, JA 诱导条件下能促进 *OPR3* 基因表达^[11]。*JAR1* 催化 JA 形成共轭物 JA-Ile^[12], 参与 JA 信号级联传递。在拟南芥的酵母免疫沉淀实验中证明泛素蛋白 (*COI1*) 可能是 JA-Ile 的受体^[13]。在存在 JA-Ile 的情况下, *JAZ* 蛋白通过 *Jas* 结构域与 *COI1* 结合, *JAZ* 蛋白随后被降解, *NINJA-TPL* 复合物与 *MYC2* 转录因子分离, 从而启动 JA 响应基因的转录, 参与植物 JA 信号途径介导的防御反应 (图 1)。

迄今为止, 对于桃蚜与辣椒互作时, 是否影响 JA 合成及信号途径基因表达的蚜口密度和取食时间效应仍不明确。本研究以抗、感蚜辣椒品种为参试材料, 系统比较分析不同密度桃蚜取食不同时间后, JA 合成及信号途径基因的表达量在抗、感辣椒品种中的变化趋势及其在抗、感蚜辣椒品种间的差异, 以初步明确引起抗、感蚜辣椒品种 JA 合成及信号途径基因显著差异表达的蚜口密度和取食时间范围, 为阐明 JA 合成及信号途径在辣椒抗蚜性中的重要作用以及抗蚜辣椒种质资源鉴定评价提供理论依据与参考指标。

第一阶段（合成途径）： α -亚麻酸 \rightarrow 12-氧-植物二烯酸（OPDA），发生在叶绿体中。



第二阶段（合成途径）：OPDA \rightarrow 茉莉酸（JA），发生在过氧化物酶体中。

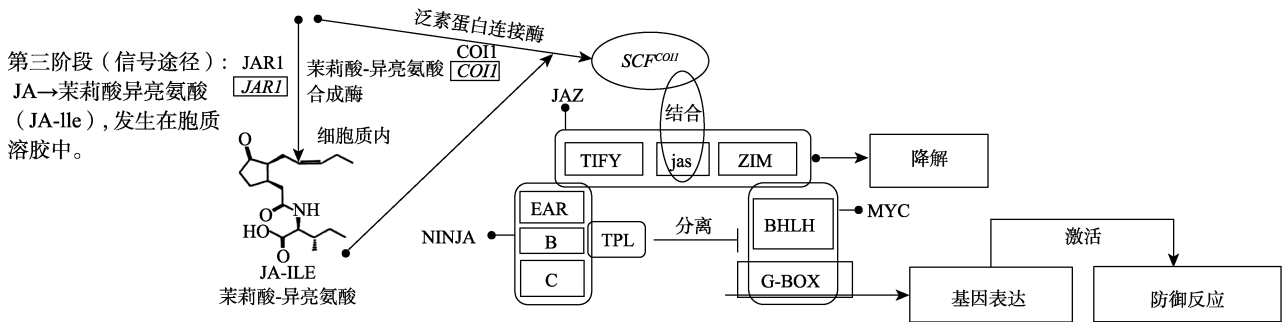
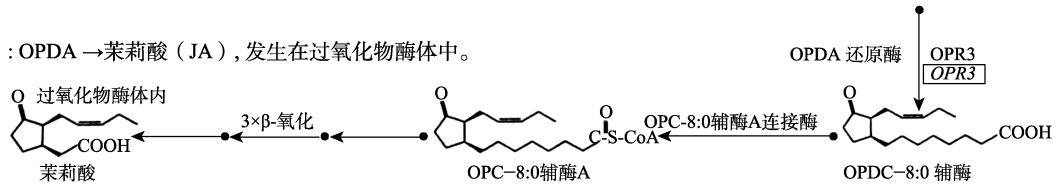


图 1 植物茉莉酸合成及信号途径示意图^[14-15]

Fig. 1 Schematic diagram of plant jasmonic acid synthesis and signal pathway^[14-15]

1 材料与方法

1 材料

1.1.1 供试桃蚜 以烟草 (*Nicotiana tabacum* L.) 长期室内继代饲养 (>54 代) 于中国热带农业科学院环境与植物保护研究所特色热带害虫实验室。饲养条件为：温度 (24±2)℃，相对湿度为 75%±5%，光照为 16 h/8 h (L/D)。选择发育历期相同、大小一致的无翅雌成蚜开展后续实验。

1.1.2 供试辣椒 抗蚜辣椒种质猪大肠 (ZDC)、感蚜辣椒种质大羊角椒 (DYJJ) 抗性遗传稳定由本实验室提供，抗、感蚜辣椒品种皆属于长辣椒变种 (*Capsicum annuum* L. var. *longum* Bailey)。供试猪大肠和大羊角椒辣椒以种子进行有性繁殖，统一育苗，条件设置为：温度 24℃，光照为 16 h/8 h (L/D)，相对湿度 70%±5%。育苗后 3~4 片真叶时移栽幼苗至含种植土（土壤：泥炭土：珍珠岩=1：1：1）的育苗盆中，每周浇水 2~3 次，8 周后选取生长发育状况基本一致的健康植株用于实验。

1.2 方法

1.2.1 JA 合成及信号途径基因选择 根据 KEGG 网站 (<https://www.kegg.jp/kegg/>) 中已经发布的 JA 合成及信号通路，并结合相关的文献报道，选取在植物 JA 合成及信号调控研究中最为广

泛的 6 个基因作为候选基因，用于辣椒 JA 合成及信号基因表达差异与辣椒抗蚜性的相关显著性分析，分别为 *LOX2*（脂氧合酶基因）、*AOS*（丙二烯氧化物合成酶基因）、*AOC*（丙二烯氧化物环化酶基因）、*OPR3*（OPDA 还原酶基因）、*COI1*（泛素蛋白连接酶基因）、*JAR1*（茉莉酸-异亮氨酸合成酶基因）。

1.2.2 辣椒接虫与取样 辣椒移栽 8 周后，选取长势基本一致的猪大肠和大羊角椒植株用于实验。每株辣椒选取上部发育成熟和叶片大小相对一致的 3 张叶片，用毛笔从烟草上小心挑取桃蚜雌成虫接于叶背。使用蚜虫生态盒轻轻地夹住叶片，使得叶片的正常生理活动不受影响，并且保证桃蚜不迁移（图 2）。以未接桃蚜前的辣椒植株相同部位叶片为对照，每张叶的桃蚜密度分别设置为 20、30、40、50、60 蚜/叶，每个桃蚜密度和蚜害时间均设置 3 个重复。分别在未接桃蚜前 (0 h)、接桃蚜后 6、12、24、48、72 h 的 6 个时间点采集叶片。

1.2.3 RNA 提取及 cDNA 第一条链的合成 参照植物总 RNA 提取试剂盒 (TIANGEN, 美国) 说明书提取辣椒叶片 RNA，利用 D2000 DNA 标准分子量 Ladder (Solarbio, 中国) 和琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的纯度和完整性。取 1.0 μg RNA

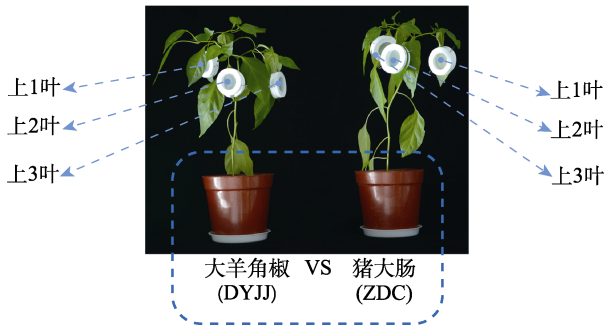


图 2 辣椒蚜虫生态盒接虫示意图
Fig. 2 Eco-box diagram of pepper aphid

经 ToloScript RT EasyMix for qPCR 试剂 (TOLOBIO, 中国) 消除 gDNA 并反转录合成 cDNA。

1.2.4 实时荧光定量 PCR 分析 根据 GenBank 中已经发布的辣椒 JA 信号途径基因 *LOX2*、*AOS*、

AOC、*OPR3*、*COII* 和 *JAR1* 序列设计 qPCR 引物 (表 1)。cDNA 样品经 RNase-free ddH₂O 稀释 5 倍后作为 qPCR 的模板, 以辣椒 *CaActin* 作为内参基因(表 1)。qPCR 反应体系的配制参照 2 × Q3 SYBR qPCR Master Mix 试剂盒 (TOLOBIO, 中国)。qPCR 反应条件为: 预变性 95 °C 30 s; 循环反应: 95 °C 10 s, 60 °C 30 s, 40 次循环; 溶解曲线: 95 °C 15 s, 60 °C 60 s, 95 °C 15 s。使用 LightCycler[®] 96 仪器 (Roche, 瑞士) 程序采集溶解曲线。分别以未受蚜害的辣椒 JA 合成及信号途径基因的表达量归一化设置为 1.0, 蚜害后的 JA 基因的表达量变化情况以为害前的相对倍数表示, 以 LIVAK 等^[16]的 2^{-ΔΔC_T} 方法计算分析, 每个处理均设置 3 个生物重复, 每个生物重复设置 3 个技术重复。

表 1 辣椒 JA 合成及信号途径基因 qPCR 分析的引物
Tab. 1 Primers for qPCR analysis of JA synthesis and signal pathway genes in pepper

引物名称 Primer name	基因登录号 Gene ID	序列 (5'-3') Sequence (5'-3')	退火温度 T _m /°C	产物大小 Product size/bp
<i>CaActin</i> -F	AY572427.1	GCTGTCTTCCTTGATGTC	51.3	156
<i>CaActin</i> -R		ATCAGTTAGGTCACGTCAG	53.8	
<i>CaLOX2</i> -F	FJ377708.1	ATGGCGTTCGCTTACTAATTCA	54.0	185
<i>CaLOX2</i> -R		CAGGCTTGGAGTTCATCATCTT	54.7	
<i>CaAOS</i> -F	DQ832720.1	CCCACGACGCATTATTTGA	52.8	168
<i>CaAOS</i> -R		GTCCGTTTGACCATAGCACAT	55.2	
<i>CaAOC</i> -F	LOC107854684	ATAACAGCAGGACTCTGCAT	53.3	147
<i>CaAOC</i> -R		CGAGGTAAGTGTCCTCGTAG	54.5	
<i>CaOPR3</i> -F	LOC10787738	GCGATACGCCTCTCCAATTA	51.4	169
<i>CaOPR3</i> -R		TAATCACTTGCCGCTTTAGG	53.3	
<i>CaCOII</i> -F	LOC107871102	TGGGGGACTTACTGATGTAG	53.1	136
<i>CaCOII</i> -R		CTAGTTTTTGCAGGCTAGGA	51.7	
<i>CaJAR1</i> -F	XM_016682705.1	TCGTTGTTGATGCAGGATAC	54.8	133
<i>CaJAR1</i> -R		GGCTAACAGCACCTCCTAATC	55.4	

1.3 数据处理

采用 Excel 软件进行数据汇总整理, 使用统计学软件 DPS (V15.10) 进行不同蚜口密度和不同为害时间的基因表达量差异分析, 采用 Duncan's 新复极差法方法进行数据间的多重比较 (显著性水平均为 $P=0.05$)。

2 结果与分析

2.1 *LOX2* 表达量差异分析

抗、感蚜辣椒品种在不同密度及不同时间下被桃蚜取食后 JA 合成途径基因 *LOX2* 表达量变化

差异显著 (图 3)。除 ZDC 在 40 蚜口密度外, 随蚜口密度的增加和为害时间的延长, 抗、感蚜辣椒品种 *LOX2* 表达量在总体上均呈先显著上升再显著后下降的趋势; 除 60 蚜口密度外, 抗、感蚜品种中 *LOX2* 表达量均在不同为害密度的同一为害时间下达到峰值; 其中抗、感蚜品种中 *LOX2* 表达量均在 30 蚜口密度下为害 48 h 达到峰值, 较对照分别增长 11.79 倍及 10.96 倍 (图 3A、图 3B)。进一步比较抗、感品种之间 *LOX2* 的表达量差异, 发现在 20、50 及 60 蚜口密度下, ZDC 表达量显著低于 DYJJ, 而在 30 及 40 蚜口密度下,

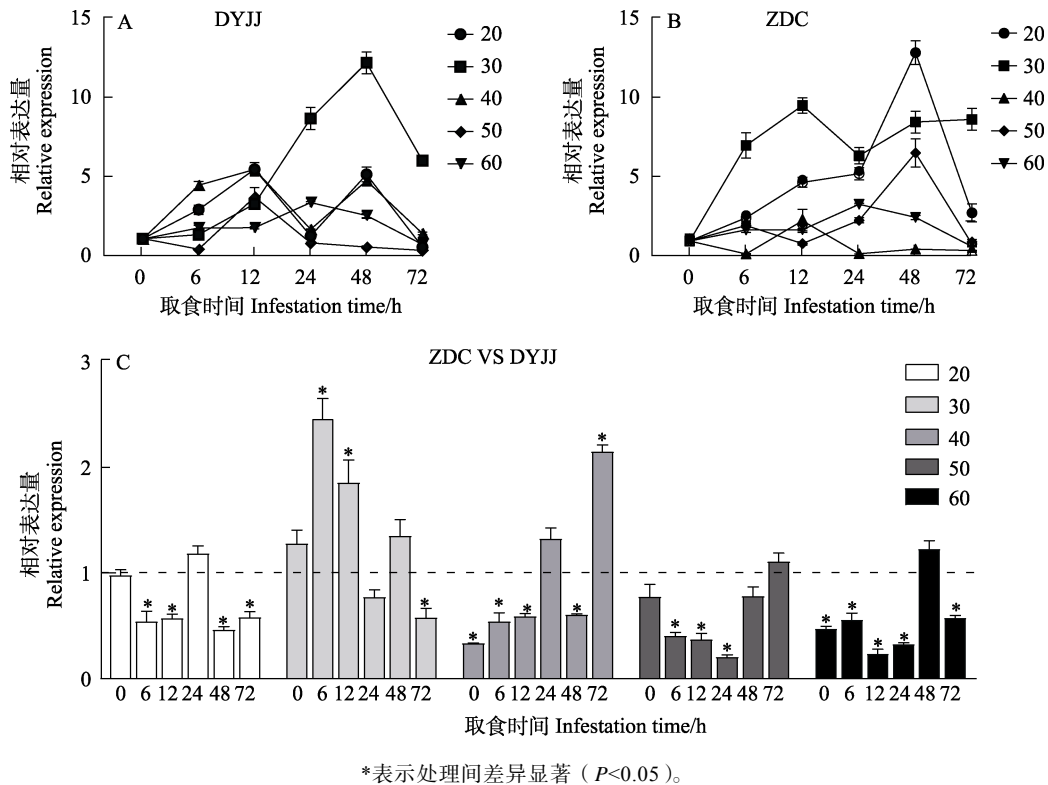


图 3 不同密度桃蚜危害抗、感辣椒品种不同时间下 *LOX2* 表达量

Fig. 3 Expression of *LOX2* in resistant and susceptible pepper variety with different densities of peach aphids at different time

ZDC 表达量显著高于 DYJJ (图 3C)。

2.2 AOS 表达量差异分析

抗、感蚜辣椒品种在不同密度及不同时间下被桃蚜取食后 JA 合成途径基因 *AOS* 表达量变化差异显著 (图 4)。除 40 蚜口密度外, 随蚜口密度的增加和为害时间的延长, 抗、感蚜辣椒品种 *AOS* 表达量在总体变化趋势上基本一致; 在 50 蚜口密度下, 抗、感品种表达量差异最显著, 均在为害 6 h 达到峰值, 较对照分别增长 6.91 倍及 14.27 倍 (图 4A、图 4B)。进一步比较抗、感品种之间 *AOS* 的表达量差异, 发现除 50 蚜口密度外, 其余蚜口密度下 ZDC 表达量均显著高于 DYJJ (图 4C)。

2.3 AOC 表达量差异分析

抗、感蚜辣椒品种在不同密度及不同时间下被桃蚜取食后 JA 合成途径基因 *AOC* 表达量变化差异显著。除 40 蚜口密度外, 随蚜口密度的增加和为害时间的延长, 抗、感蚜辣椒品种 *AOC* 表达量在总体变化趋势上基本一致, 呈显著上升再显著下降, 再略微回调最终下降的趋势; 其中抗、感蚜品种中 *AOC* 表达量均在 30 蚜口密度下为害

6 h 达到峰值, 较对照分别增长 1.34 倍及 1.41 倍; (图 5A、图 5B)。进一步比较抗、感、品种之间 *AOC* 的表达量差异, 发现在 20、30、40、50 和 60 蚜口密度下, ZDC 表达量均显著高于 DYJJ (图 5C)。

2.4 OPR3 表达量差异分析

抗、感蚜辣椒品种在不同密度及不同时间下被桃蚜取食后 JA 合成途径基因 *OPR3* 表达量变化差异显著 (图 6)。随蚜口密度的增加和为害时间的延长, 抗、感蚜辣椒品种 *OPR3* 表达量在总体上均呈先显著上升再显著下降的趋势; 除 50 及 60 蚜口密度外, 抗、感蚜品种中 *OPR3* 表达量均在不同为害时间下达到峰值; 其中抗、感蚜品种中 *OPR3* 表达量均在 50 蚜口密度下为害 6 h 达到峰值, 较对照分别增长 1.31 倍及 7.92 倍 (图 6A、图 6B)。进一步比较分析抗、感品种之间 *OPR3* 的表达量差异, 发现在 20、50 及 60 蚜口密度下, ZDC 表达量显著低于 DYJJ, 而在 30 及 40 蚜口密度下, ZDC 表达量显著高于 DYJJ (图 6C)。

2.5 COII 表达量差异分析

抗、感蚜辣椒品种在不同密度及不同时间下

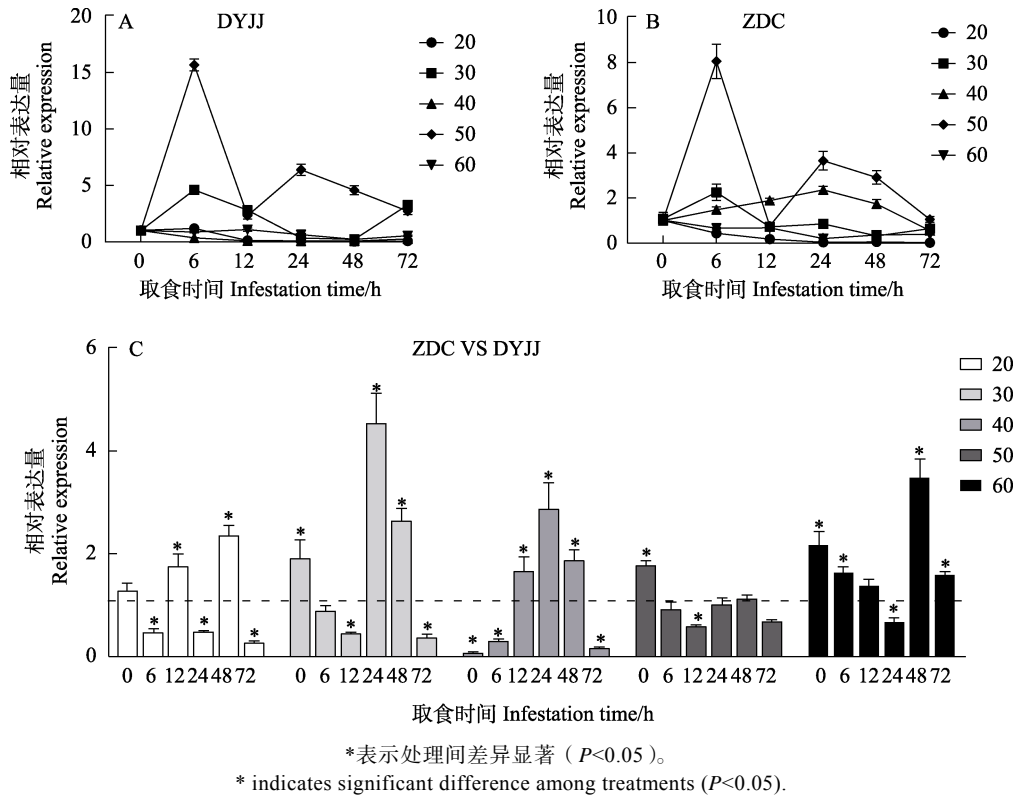


图 4 不同密度桃蚜危害抗、感辣椒品种不同时间下 AOS 表达量

Fig. 4 Expression of AOS in resistant and susceptible pepper variety with different densities of peach aphids at different time

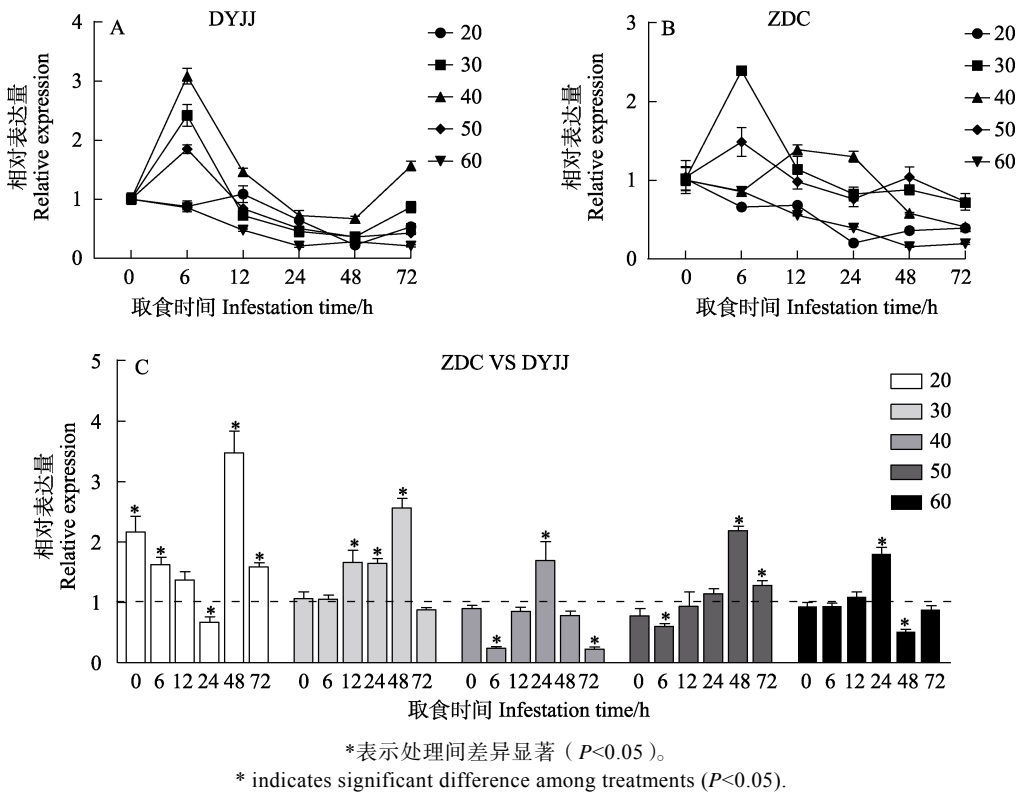


图 5 不同密度桃蚜危害抗、感辣椒品种不同时间下 AOC 表达量

Fig. 5 Expression of AOC in resistant and susceptible pepper variety with different densities of peach aphids at different time

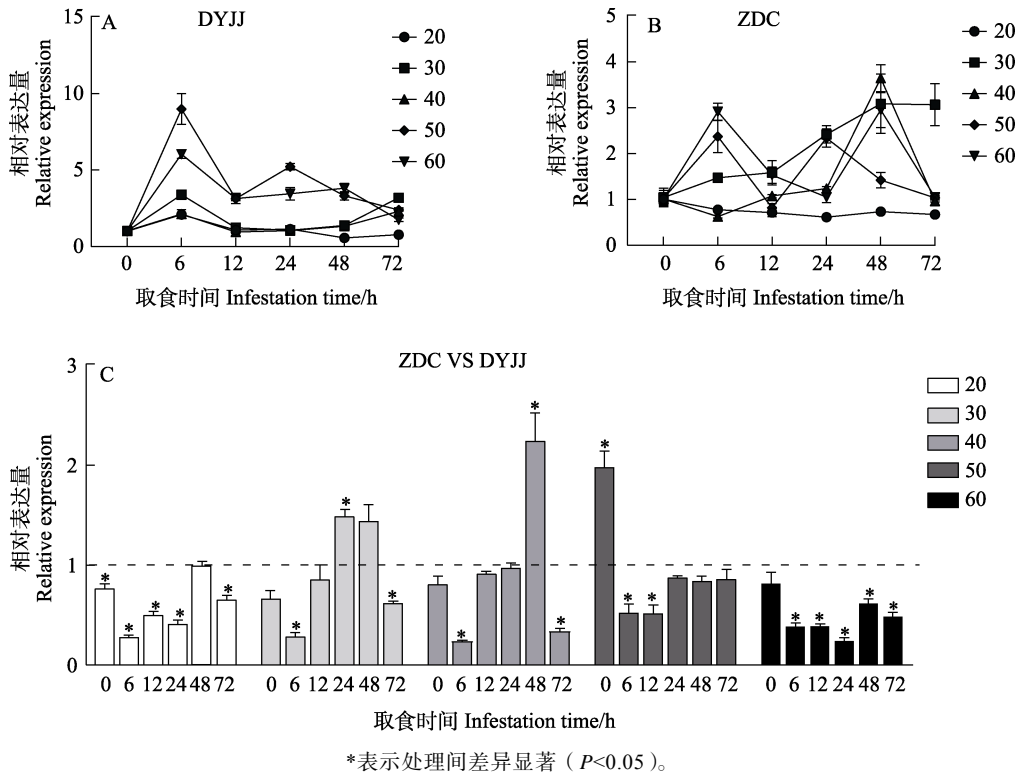


图 6 不同密度桃蚜危害抗、感辣椒品种不同时间下 *OPR3* 表达量

Fig. 6 Expression of *OPR3* in resistant and susceptible pepper variety with different densities of peach aphids at different time

被桃蚜取食后 JA 信号途径基因 *COI1* 表达量变化差异显著。随蚜口密度的增加和为害时间的延长, 抗、感蚜辣椒品种 *COI1* 表达量在总体变化趋势上基本一致, 呈现先下降后上升最终下降; 在 40 蚜口密度下, 抗感品种表达量差异最显著, 均在为害 24 h 达到谷值, 比对照分别降低 0.52 倍及 2.73 倍 (图 7A、图 7B)。进一步比较抗、感品种之间 *COI1* 的表达量差异, 发现在 50 蚜口密度下, ZDC 表达量均显著高于 DYJJ, 而在 20、30、40 及 60 蚜口密度下, ZDC 表达量均显著低于 DYJJ (图 7C)。

2.6 *JAR1* 表达量差异分析

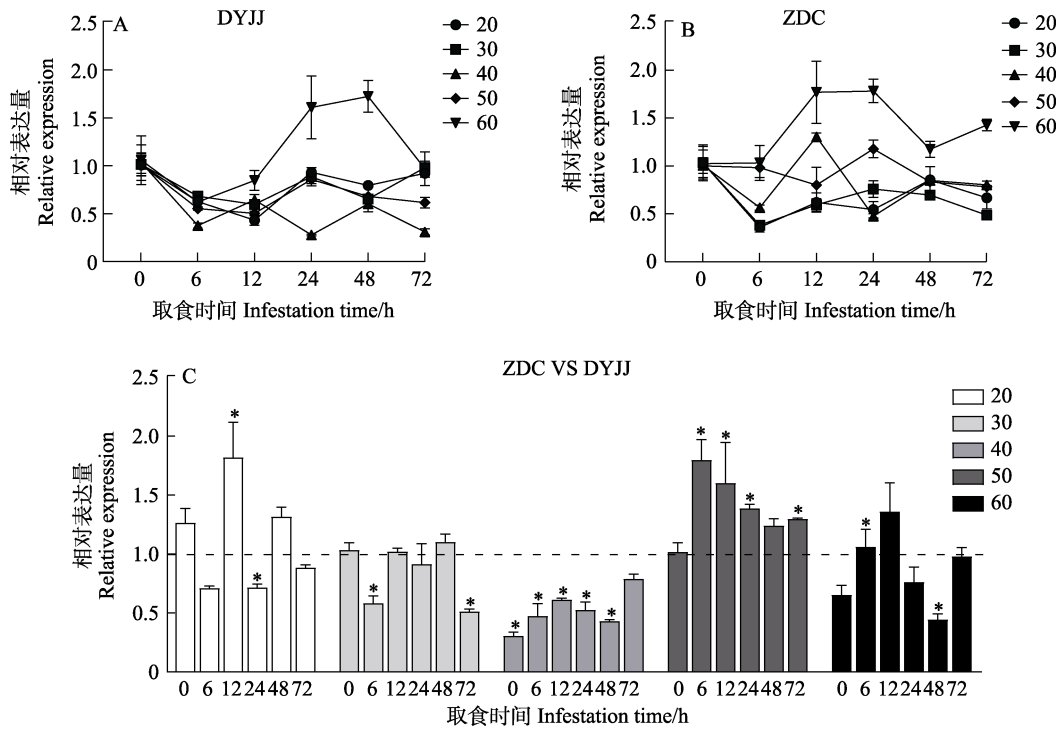
抗、感蚜辣椒品种在不同密度及不同时间下被桃蚜取食后 JA 信号途径基因 *JAR1* 表达量变化差异显著 (图 8)。随蚜口密度的增加和为害时间的延长, 抗、感蚜辣椒品种 *JAR1* 表达量在总体变化趋势上基本一致, 呈现先上升再下降的趋势; 在 60 蚜口密度下, 抗、感品种表达量差异最显著, 均在为害 72 h 达到谷值, 较对照分别降低 1.83 倍及 1.75 倍 (图 8A、图 8B)。进一步比较抗、感品种之间 *JAR1* 的表达量差异, 发现在各个蚜

口密度下, ZDC 表达量均显著低于 DYJJ (图 8C)。

3 讨论

JA 介导的应对植食性昆虫的防御途径在植物免疫防御反应中发挥重要作用^[17], JA 是诱导作物体内系统抗性产生抗虫反应的关键信号分子, JA 信号通路又在植物防御的激活中起着主导作用, 且 JA 合成及信号防御途径由多基因控制^[18-19]。植物主要通过 JA 途径介导的防御反应抵御刺吸式害虫, 刺吸式害虫的虫口密度和为害时间能显著影响作物 JA 合成途径基因的表达^[20]。

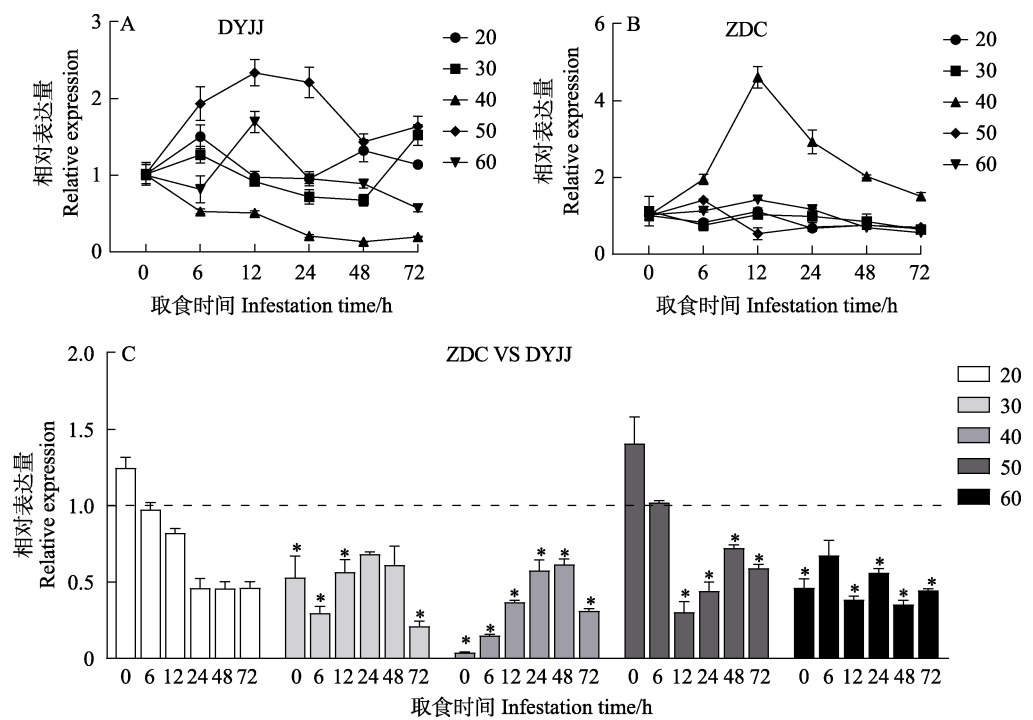
本研究发现, 抗、感蚜辣椒品种在不同蚜口密度为害下, *LOX2* 表达量均呈现先显著升高后随为害时间的延长逐渐恢复至为害前水平。LOX 基因表达量呈现相似的变化。同样在马铃薯蚜虫取食番茄叶片和桃蚜取食拟南芥叶片^[21], 桃蚜取食抗、感辣椒叶片^[22]以及二斑叶螨取食抗、感木薯品种^[23]中得以报道。这些研究表明 *LOX2* 基因作为 JA 合成中途径的上游调控基因在植物应答昆虫取食为害中发挥重要作用。在抗、感大豆材料抗虫差异中研究发现, 大豆的抗性差异可能与 AOS



*表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。
 * indicates significant difference among treatments ($P < 0.05$).

图 7 不同密度桃蚜危害抗、感辣椒品种不同时间下 *COII* 表达量

Fig. 7 Expression of *COII* in resistant and susceptible pepper variety with different densities of peach aphids at different time



*表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。
 * indicates significant difference among treatments ($P < 0.05$).

图 8 不同密度桃蚜危害抗、感辣椒品种不同时间下 *JARI* 表达量

Fig. 8 Expression of *JARI* in resistant and susceptible pepper variety with different densities of peach aphids at different time

基因的表达密切相关^[24]。*AOS* 基因可能参与了水稻抗二化螟、稻纵卷叶螟、褐飞虱的防御反应，沉默获得的 *AOS* 水稻品系及其 T_1 代种子证明了 *AOS* 在水稻抗虫防御中起到了积极防御作用^[25]。本研究发现，*AOS* 基因表达量在抗、感蚜辣椒品种中随受害时间的延长呈现明显的先上升后降低的趋势；50 蚜口密度下为害 6 h 时感蚜辣椒品种相比对照增长 14 倍之多，随后剧烈下降，表明感蚜品种 *DYJJ* 体内 *AOS* 基因在应对桃蚜的取食为害时转录水平变化剧烈，这可能是感虫品种中 *JA* 初始含量较低，为了应对抑制蚜害的需要从而通过 *AOS* 基因的快速上调最终响应其体内 *JA* 快速合成，但这种高水平的转录并不持久。本研究中，在不同蚜口密度下，抗蚜辣椒品种的 *AOC* 表达量相对感蚜品种随受害时间的延长下降速度较为缓慢，且在抗蚜品种中表达量显著高于感蚜品种。与 *AOC* 在甘蔗抗粘虫的表达研究中基本一致^[26]。在本研究中 *OPR3* 均随受害时间的延长，在感蚜辣椒品种 *DYJJ* 中的表达量显著低于抗蚜品种 *ZDC*。在水稻抗虫性研究中也发现 *OPR3* 在中抗水稻品种中能够过量表达，增强对二化螟的抗性，*OPR3* 的转录受 *JA* 诱导，在创伤等能够诱导 *JA* 的胁迫反应，而且也能促进 *OPR3* 基因表达^[27]。水稻 *COII* 基因沉默的突变株实验表明了其 *COII* 基因在水稻防御反应中发挥关键作用^[28]。本研究发现 *COII* 和 *JAR1* 的表达量在抗虫品种中显著低于感虫品种，可能 *COII* 和 *JAR1* 在抗、感应答桃蚜取食为害中具有较高的协同作用，桃蚜取食为害对抗蚜辣椒品种的 *COII* 和 *JAR1* 基因表达抑制作用较强，推测该基因可能在辣椒对桃蚜的防御反应中也扮演重要角色。

通过分析上述 6 个 *JA* 途径基因表达量，发现桃蚜取食抗、感辣椒品种在不同蚜口密度和为害时间下，*JA* 合成途径相关基因 *LOX2*、*AOS*、*AOC*、*OPR3* 在抗蚜辣椒品种 *ZDC* 中的表达量总体上显著高于感蚜品种 *DYJJ*。推测 *JA* 合成途径基因调控介导的防御反应在抗虫品种 *ZDC* 中可能比感蚜品种 *DYJJ* 的应答桃蚜取食为害时作用更直接、强烈。与之相似的，有研究表明烟粉虱在不同虫口密度下取食抗、感辣椒品种植株时，抗性品种内 *LOX* 及 *AOC* 的表达量也显著高于感虫品种^[29]。此外，同一蚜口密度下各个基因表达量的峰值和谷值在抗、感辣椒品种中出现的时间基本一致，但随着蚜口密度的上升，抗、感辣椒品种各基因

表达量峰值的出现在时间上均有明显前移的趋势，推测可能随着桃蚜虫口数量的上升，对植物迅速产生了更强烈的胁迫压力，导致在较高蚜口密度下辣椒 *JA* 途径基因表达量的峰值出现在较早为害时间内。这一结果与 *WANG* 等^[30]的研究相似，即高水平的食草强度将持续增加植物初始诱导抗性。

本研究初步阐明了基于 *JA* 合成及信号途径的辣椒抗蚜性分子机理，同时表明 *AOS*、*AOC* 及 *JAR1* 基因可能具有作为鉴定评价辣椒抗蚜性水平的分子指标的潜力以及为辣椒抗蚜种质资源评价与创新利用提供理论依据。然而，本研究仅比较了单个抗蚜和感蚜辣椒品种之间的基因表达差异，上述评价指标在抗、感蚜辣椒品种群体中是否具有通用性和适应性仍需进一步证实。

参考文献

- [1] 胡晶晶. 辣椒: 年逾 700 亿产值, 稳坐中国最大蔬菜产业宝座[J]. 营销界, 2021(23): 72-79.
HU J J. Pepper: more than 70 billion output value per year, stable in China's largest vegetable industry throne![J]. Marketing Industry, 2021(23): 72-79. (in Chinese)
- [2] 海南省统计局, 国家统计局海南调查总队. 海南统计年鉴 2021[M]. 北京: 中国统计出版社, 2021: 253-300.
Hainan Provincial Bureau of Statistics, Survey Office of National Bureau Statistics in Hainan. Hainan Statistical Yearbook 2021[M]. Beijing: China Statistical Press, 2021: 253-300. (in Chinese)
- [3] 潘明真, 张毅, 曹贺贺, 王杏杏, 刘同先. 我国主要农作物蚜虫生物防治的研究进展、应用与展望[J]. 植物保护学报, 2022, 49(1): 146-172.
PAN M Z, ZHANG Y, CAO H H, WANG X X, LIU T X. Research progresses, application, and prospects in aphid biological control on main crops in China[J]. Journal of Plant Protection, 2022, 49(1): 146-172. (in Chinese)
- [4] 陈青, 梁晓, 伍春玲, 刘迎, 徐雪莲. 热带瓜菜抗蚜性研究进展[C]/2019 年全国热带作物学术年会论文集, 2019, DOI:10.26914/c.cnkihy.2019.042871.
CHEN Q, LIANG X, WU C L, LIU Y, XU X L. Research progress on aphid resistance of tropical melon and vegetable [C]/Proceedings of the 2019 National Tropical Crop Academic Annual Conference, 2019, DOI: 10.26914/c.cnkihy.2019.042871. (in Chinese)
- [5] 张杰, 董莎萌, 王伟, 赵建华, 陈学伟, 郭惠珊, 何光存, 何祖华, 康振生, 李毅, 彭友良, 王国梁, 周雪平, 王源超, 周俭民. 植物免疫研究与抗病虫绿色防控进展、机遇与挑战

- 战[J]. 中国科学: 生命科学, 2019, 49(11): 1479-1507.
- ZHANG J, DONG S M, WANG W, ZHAO J H, CHEN X W, GUO H S, HE G C, HE Z H, KANG Z S, LI Y, PEN Y L, WANG G L, ZHOU X P, WANG C Y, ZHOU J M. Plant immunity and sustainable control of pests in China: advances, opportunities and challenges[J]. Science China Press: Scientia Sinica Vitae, 2019, 49(11): 1479-1507. (in Chinese)
- [6] 黎家, 李传友. 新中国成立 70 年来植物激素研究进展[J]. 中国科学: 生命科学, 2019, 49(10): 1227-1281.
- LI J, LI C Y. Seventy-year major research progress in plant hormones by Chinese scholars[J]. Scientia Sinica Vitae, 2019, 49(10): 1227-1281. (in Chinese)
- [7] MUTTI N S, PARK Y, REESE J C, RECK G R. RNAi knockdown of a salivary transcript leading to lethality in the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*[J]. Journal of Insect Science, 2006, 6(1): 38.
- [8] 李志远, 宋青松, 刘江, 王德勋, 范志勇, 吴新儒, 李晓旭, 王奇, 孙晋浩, 郭存, 晁江涛, 李功博, 刘贯山. 普通烟草脂氧合酶基因家族鉴定及表达模式分析[J]. 中国烟草科学, 2021, 42(5): 86-94.
- LI Z Y, SONG Q S, LIU J, WANG D X, FAN Z Y, WU X R, LI X X, WANG Q, SUN J H, GUO C, CAO J T, LI G B, LIU G S. Identification and expression analysis of the lipoxygenase gene family in tobacco (*Nicotiana tabacum* L)[J]. Chinese Tobacco Science, 2021, 42(5): 86-94. (in Chinese)
- [9] 亢菊侠, 兰文学, 杨林. 携带大麦黄矮病毒蚜虫取食对小麦防御基因表达水平的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2021, 49(7): 76-82.
- KANG J X, LAN W X, YANG L. Effect of feeding by barley yellow dwarf virus infected aphids on defense gene expression in wheat[J]. Journal of Northwest A&F University (Nat. Sci. Ed.), 2021, 49(7): 76-82. (in Chinese)
- [10] HAUSE B, STENZEL I, MIERSCH O, MAUCHER H, KRAMELL R, ZIEGLER J, WASTERNAK C. Tissue-specific oxylipin signature of tomato flowers: allene oxide cyclase is highly expressed in distinct flower organs and vascular bundles[J]. The Plant Journal, 2000, 24(1): 113-126.
- [11] MUSSIG C, BIESGEN C, LISSO J, WEILER E W, ALTMANN T. A novel stress-inducible 12-oxophytodiene reductase from *Arabidopsis thaliana* provides a potential link between brassinosteroid-action and jasmonic acid synthesis[J]. Journal of Plant Physiology, 2000, 157: 143-152.
- [12] SUZA W P, STASWICK P E. The role of JAR1 in jasmonoyl-L-iso-leucine production during *Arabidopsis* wound response[J]. Planta, 2008, 227: 1221-1232.
- [13] THINES B, KATSIR L, MELOTTO M, NIU Y J, MANDAOKAR A, LIU G H, NOMURA K, HE H Y, HOWE G A, BROUSE J. JAZ repressor proteins are targets of the SCF^{COI1} complex during jasmonate signalling[J]. Nature, 2007, 448: 661-665.
- [14] GUAN L, DENKERT N, EISA A, LEHMANN M, SIJUTS I, WEIBERG A, SOLL J, MEINACKE M, SCHWENKERT S. JASSY, a chloroplast outer membrane protein required for jasmonate biosynthesis[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2019, 116(21): 10568-10575.
- [15] 刘庆霞, 李梦莎, 国静. 茉莉酸生物合成的调控及其信号通路[J]. 植物生理学, 2012, 48(9): 837-844.
- LIU Q X, LI M S, GUO J. Regulation of jasmonic acid biosynthesis and jasmonic acid signaling pathway[J]. Plant Physiology Journal, 2012, 48(9): 837-844. (in Chinese)
- [16] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔC_T} Method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.
- [17] 宋云, 李林宣, 卓凤萍, 张雪妍, 任茂智, 李付广. 茉莉酸信号传导在植物抗逆性方面研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2015, 17(2): 17-24.
- SONG Y, LI L X, ZHUO F P, ZHANG X Y, REN M Z, LI F G. Progress on jasmonic acid signaling in plant stress resistant[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2015, 17(2): 17-24. (in Chinese)
- [18] YATES-STEWART A D, PEKARCIK A, MICHEL A, BLAKESLEE J J. Jasmonic acid-isoleucine (JA-Ile) is involved in the host-plant resistance mechanism against the soybean aphid (Hemiptera: Aphididae)[J]. Journal of Economic Entomology, 2020, 113(6): 2972-2978.
- [19] 韦晓霞, 王小安, 陈瑾, 赖瑞联, 吴如健. 百香果低温胁迫转录组及茉莉酸代谢基因分析[J]. 核农学报, 2021, 35(4): 815-825.
- WEI X X, WANG X A, CHEN J, LAI R L, WU R J. Transcriptome and jasmin metabolism gene analysis of *Passiflora edulis* Sims under low temperature stress[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2021, 35(4): 815-825. (in Chinese)
- [20] 赵兴延. 植物防御信号物质对桃蚜唾液腺中基因表达的影响[D]. 泰安: 山东农业大学, 2012.
- ZHAO X Y. The effect of two defence signaling substances on the salivary gland gene expression of *Myzus persicae*[D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2012. (in Chinese)
- [21] MORAN P J, THOMPSON G A. Molecular responses to aphid feeding in *Arabidopsis* in relation to plant defense pathways[J]. Plant Physiology, 2001, 125(2): 1074-1085.
- [22] 范东哲, 陈青, 梁晓, 伍春玲, 刘迎, 窦宏双, 吴岩. 桃蚜取食对抗、感蚜辣椒品种水杨酸、茉莉酸信号途径的影响[J]. 热带作物学报, 2021, 42(10): 2972-2978.
- FAN D Z, CHEN Q, LIANG X, WU C L, LIU Y, DOU H S, WU Y. *Myzus persicae* feeding affects salicylic acid and

- jasmonic acid signaling pathways in aphid-resistant and aphid-susceptible pepper cultivars[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2021, 42(10): 2972-2978. (in Chinese)
- [23] 韩志玲, 陈青, 梁晓, 伍春玲, 刘迎, 伍牧锋, 徐雪莲. 二斑叶螨取食抗、感螨木薯品种对茉莉酸信号途径基因表达的影响[J]. 生物技术通报, 2022, 38(6): 211-220.
HAN Z L, CHEN Q, LIANG X, WU C L, LIU Y, WU M F, XU X L. Influence on expression of jasmonic acid signaling pathway gene while *Tetranychus urticae* fed on mite-resistant and mite-susceptible cassava cultivars[J]. Biotechnology Bulletin, 2022, 38(6): 211-220. (in Chinese)
- [24] 吴娟娟, 喻德跃. 大豆茉莉酸生成关键酶—丙二烯氧化物合酶(AOS)基因的克隆与功能研究[C]//中国遗传学会植物遗传和基因组学专业委员会 2007 年学术研讨会论文集摘要集, 2007: 23.
WU J J, YU D Y. Cloning and functional study of a key enzyme for jasmonic acid production in soybean - propylene oxide synthase (AOS) gene[C]//Abstracts of the 2007 Symposium of the Committee on Plant Genetics and Genomics of the Chinese Genetic Association, 2007: 23. (in Chinese)
- [25] 苏美娜. 水稻 *NPR1* 基因的表达特征及基因(*NPR1*, *AOS*)的遗传转化[D]. 杭州: 浙江大学, 2008.
SU M N. Expression profile of *NPR1* and gene (*NPR1*, *AOS*) transformation in rice[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2008. (in Chinese)
- [26] 薛耀威, 陈丽兰, 王亚如, 高三基, 王锦达. 甘蔗丙二烯氧化物环化酶基因(*ScAOC*)的克隆与表达分析[J]. 热带作物学报, 2021, 42(5): 1245-1251.
XUE Y W, CHEN L L, WANG Y R, GAO S J, WANG J D. Cloning and expression analysis of sugarcane allene oxide cyclase gene (*ScAOC*)[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2021, 42(5): 1245-1251. (in Chinese)
- [27] GUO H M, LI H C, ZHOU S R, XUE H W, MIAO X X. *Cis*-12-oxo-phytodienoic acid stimulates rice defense response to a piercing-sucking insect[J]. Molecular Plant, 2014, 7(11): 1683-1692.
- [28] YE M, LUO S M, XIE J F, LI Y F, XU T, LIU Y, LIU Y, SONG Y Y, ZHUSALZMAN K, ZENG R S. Silencing *COII* in nice increases susceptibility to chewing insects and impairs inducible defense[J]. PLoS One, 2012, 7: e36214.
- [29] 张海波. 烟粉虱 *Bemisia tabaci* (Gennadius)取食及外源 JA 处理对辣椒(*Capsicum annuum* L.)内源 JA、SA 的影响[D]. 扬州: 扬州大学, 2018.
ZHANG H B. Effects of *Bemisia tabaci* (Gennadius) feeding and exogenous ja treatment on endogenous JA and SA of *Capsicum annuum* L[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2018. (in Chinese)
- [30] WANG J L, YI J H, TAO Z B, REN Z K, OTIENO E O, TIAN B L, DING J Q, SIEMANN E, ERB M, HUANG W. Species-specific plant-mediated effects between herbivores converge at high damage intensity[J]. Ecology, 2022, 103(5): 1-14.