



论文

中国知名大学及科研院所专栏 中国农业科学院植物保护研究所专辑

植物防御信号物质 JA/SA 对桃蚜解毒酶谷胱甘肽-S-转移酶及唾液腺基因 *C002* 表达诱导反应

张勇, 范佳, 赵兴延, 刘勇, 孙京瑞, Frederic Francis, 陈巨莲*

中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193;

山东农业大学植物保护学院, 泰安 271000;

Functional and Evolutionary Entomology, Gembloux Agro-Bio Tech, University of Liege, Gembloux B-5030, Belgium

* 联系人, E-mail: jlchen@ippcaas.cn

收稿日期: 2015-12-18; 接受日期: 2016-02-10; 网络版发表日期: 2016-05-25

国家自然科学基金(批准号: 30971920, 31371946)和中国农业科学院科技创新工程资助

摘要 茉莉酸(JA)与水杨酸(SA)为植物体内重要的防御反应信号物质, 在植株受到机械损伤或病虫害侵害时可作为信号物质, 激活下游相关防御反应. 为应对植株的防御反应, 昆虫通常通过提高自身相关解毒酶活性或分泌唾液蛋白调节寄主防御反应以增强对寄主植株适应性. 本研究以桃蚜(*Myzus persicae* (Sulzer))体内的重要解毒酶谷胱甘肽-S-转移酶(GST)的 sigma 型及唾液腺特异表达基因 *C002* 为研究对象, 分别以含有 5 mmol/L JA 或 10 mmol/L SA 的人工饲料直接饲喂桃蚜, 在不同的取食时间点收集蚜虫, 通过荧光定量 PCR 检测 JA 或 SA 对目的基因 sigma GST 及 *C002* 表达诱导反应. 结果发现, 当桃蚜直接取食含有 JA 或 SA 的人工饲料后, sigma GST 及 *C002* 表达量都显著升高. 表明, 桃蚜可直接利用寄主植株防御反应信号物质 JA 或 SA, 提高体内相关解毒酶或者唾液蛋白基因表达量, 以提高对寄主防御的适应性. 为进一步开展桃蚜对植物防御反应适应性研究提供新的思路.

关键词 桃蚜, 茉莉酸, 水杨酸, sigma 型谷胱甘肽-S-转移酶, 唾液蛋白 *C002*

植物在生长过程中存在多种环境胁迫因素, 如植食性昆虫取食和病原物传染. 昆虫-植物在长期的协同进化过程中形成了复杂的相互关系. 蚜虫是一类以刺吸植物韧皮部汁液为食的重要害虫之一. 当植物受到蚜虫为害时, 植物在蚜虫为害部位和在远离为害部位未受侵染的组织中均产生诱导防御反

应^[1]. 茉莉酸(jasmonic acid, JA)和水杨酸(salicylic acid, SA)为两类植物激素, 同时作为植物防御信号物质, 能通过激活不同防御信号途径, 最终诱导植株产生防御蛋白或有毒次生代谢物^[2], 从而抑制蚜虫的取食行为, 降低蚜虫种群数量.

蚜虫为了克服寄主植物防御而得以生存下来,

引用格式: 张勇, 范佳, 赵兴延, 等. 植物防御信号物质 JA/SA 对桃蚜解毒酶谷胱甘肽-S-转移酶及唾液腺基因 *C002* 表达诱导反应. 中国科学: 生命科学, 2016, 46: 665-672
Zhang Y, Fan J, Zhao X Y, et al. Effects of plant defense signal molecules jasmonic acid and salicylic acid on the expression of detoxification enzyme glutathione S-transferases and salivary protein *C002* in *Myzus persicae*. Sci Sin Vitae, 2016, 46: 665-672, doi: 10.1360/N052016-00036

需要避开作物抗虫物质或者增强减毒能力。因此, 增强体内解毒酶系的作用来解除植物次生化合物的毒害作用是重要的减毒机制之一。谷胱甘肽-S-转移酶 (glutathione S-transferases, GST) 在真核生物中广泛存在, 在对异源物质的解毒代谢中起着重要作用^[3,4]。GST 是昆虫体内重要的解毒酶系, 研究发现 GST 与害虫的抗药性相关, 抗药性强的害虫种群体内 GST 酶活显著高于敏感种群^[5]; GST 也参与对寄主植株次生代谢物的解毒代谢, 寄主植物的次生物质对 GST 活性具有不同程度的诱导作用^[6,7]。桃蚜 (*Myzus persicae* (Sulzer)) 取食十字花科植物次生物质 (异硫氰酸酯类) 时, GST 酶活力显著增加^[8], 植物次生物质, 如槲皮素和 2-十三烷酮对棉蚜 GSTs 也具有较弱的诱导作用^[9]。但是, 一些植物次生物质, 如单宁酸、没食子酸和香豆素能明显抑制麦长管蚜 (*Sitobion avenae* (Fabricius)) 羧酸酯酶 (carboxylesterase, CarE) 和 GST 的活力, 降低蚜虫解毒能力, 这也许是次生物质对该蚜抗性的原因所在^[10]。昆虫体内的 GST 分为 6 种亚型, 分别为 delta, epsilon, omega, theta, sigma 及 zeta^[11-13]。Sigma 型为 GST 中最大亚家族之一, 在脊椎动物及无脊椎动物中均有分布^[14]。有研究发现, 作为植物防御反应的重要信号物质 H_2O_2 可诱导红光雄蜂 (*Bombus ignitus*) 体内 sigma 型 GST 基因的表达量升高, 表明 sigma GST 可能在抗氧化应激反应起重要作用^[1,15]。

其次, 蚜虫唾液在蚜虫-寄主互作关系中起着非常重要的作用。唾液蛋白中一些酶类可以协助蚜虫消化解毒、阻止筛管堵塞或调解寄主防御反应途径^[16-18]。*C002* 为蚜虫唾液腺中特异表达基因, 其编码的蛋白质在功能和序列上与蚜科 (Aphididae) 以外的物种无匹配性。通过同源克隆从豌豆蚜 (*Acyrtosiphon pisum*)^[19-20]、桃蚜^[21]、小麦蚜虫 (麦长管蚜^[22]与麦二叉蚜 (*Schizaphis graminum* (Rondani))^[23]) 中均克隆了 *C002* 基因。利用 RNAi 技术沉默 *C002* 基因后, 豌豆蚜及桃蚜的取食受阻, 存活率、繁殖率显著下降^[19-21]。通过饲喂 dsRNA 沉默麦二叉蚜 *C002* 后, 在人工饲料上蚜虫的死亡率无显著变化, 但是当把蚜虫转移到小麦植株后蚜虫在短时间内死亡率显著升高, 对寄主适应性下降^[23]。另有研究发现, 当桃蚜取食过表达 *C002* 的本氏烟 (*Nicotiana benthamiana*) 后, 蚜虫的繁殖率显著增加, 这说明 *C002* 可促进蚜虫在

其寄主植株上定殖^[24]。通过蛋白质组学技术, 在豌豆蚜水溶性唾液内及其寄主植株体内检测到了 *C002* 蛋白^[25-26]。由此可以看出 *C002* 蛋白高表达对蚜虫为害及存活有利, 或者说蚜虫可通过 *C002* 蛋白的表达来提高其适应性。

为了揭示广食性害虫桃蚜为害是否可以在寄主植株产生防御性次生代谢物之前, 利用 JA/SA 作为信号物质, 加强自身的解毒能力或改变植株防御反应, 以提高对寄主植株的适应性。本研究以桃蚜为目标害虫, 以 sigma 型 GST, *C002* 基因表达量为指标, 研究外源 JA/SA 处理对桃蚜影响。采用在人工饲料添加 JA/SA 饲喂桃蚜, 测定其可适应 JA/SA 的阈值浓度; 然后通过人工饲料添加阈值浓度的 JA 和 SA 饲养桃蚜, 分别于 6, 12, 24, 48 h 后收集蚜虫, 运用实时荧光定量 PCR 等分子生物学方法, 检测桃蚜直接取食植物防御信号物质后对 sigma 型 GST, *C002* 基因表达量的变化, 初步确定桃蚜对于防御信号物质的反应。为进一步开展桃蚜对植物防御反应的适应性或反防御作用研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

(1) 供试蚜虫及烟草植株。供试桃蚜为北京种群无性系, 即由最初的 1 头母蚜繁殖而来。该桃蚜种群在实验室内盆栽烟草上已饲养至少 10 代。饲养条件为 (20±1) °C, 光照条件为 L:D=16:8, 湿度为 50%~60%。

(2) 试剂。实验中所用茉莉酸 (JA)、水杨酸 (SA) 均购自 Sigma 公司 (美国); RNA 提取试剂 Trizol 购自 Invitrogen (美国); 反转录试剂盒 Transcript one-step gDNA removal and cDNA synthesis supermix 购自北京全式金公司; Taq 酶、DNA marker 购自北京博迈德生物公司; pEasy-T1 载体和大肠杆菌 Top10 菌株购自北京全式金公司; 胶回收试剂盒 TIANGel Midi purification kit 购自北京天根生物有限公司; 荧光定量 PCR 试剂盒 SYBR Premix Ex TaqTM 购自宝生物工程 (大连) 有限公司; 蔗糖购自 AMRESCO 公司 (美国)。

1.2 实验方法

(1) 饲喂蚜虫 JA/SA。采用双层 Parafilm 膜夹人

工饲料的方法模拟植物叶片. 选取 30% (W/V) 蔗糖溶液为人工饲料饲喂蚜虫, 蔗糖溶液经 0.2 μm 的微孔过滤器过滤, 分装到 1.5 mL 灭菌的离心管中, 于 -20°C 保存, 避免反复冻融; 饲蚜器及饲养方法参照陈巨莲等人^[27].

先用无水乙醇溶液将 JA, SA 分别溶解为 1 mol/L 的母液备用. 然后使用时用人工饲料进一步稀释. 为摸索桃蚜可正常生存的 JA, SA 最高浓度, 即阈值浓度, 本实验对 JA, SA 分别设置 4 个摩尔浓度梯度, 即 5, 10, 25, 50 mmol/L, 向每个饲蚜器中加入 200 μL 的人工饲料, 移入 30 头桃蚜无翅成蚜(提前饥饿处理 3 h), 于 20 $^\circ\text{C}$, L:D=16:8、湿度 50%~60% 养虫室饲养 2 天. 以不添加防御信号物质的人工饲料为对照组.

由上述实验得到桃蚜可适应的阈值浓度, 配置该浓度人工饲料供桃蚜取食, 对照组为纯人工饲料, 每个饲蚜器中接种 10 头无翅成蚜, 并于 6, 12, 24, 48 h 收集相应桃蚜, 立刻提取 RNA 并进行反转录, cDNA 保存于 -20°C 待用.

(2) RNA 提取与反转录. 使用 Trizol 试剂分别提取各处理桃蚜总 RNA, 运用微量核酸分析仪 NanoDrop ND-1000(Thermo Fisher Scientific, 美国) 进行 RNA 质量分析. cDNA 第一链合成: 使用 Trans-Script First-Strand cDNA Synthesis SuperMix 试剂盒(北京全式金生物技术有限公司), 以总 RNA 为模板, OligdT₂₀ 为引物反转录获得. 所得产物作为 PCR 模板.

(3) 荧光实时定量 PCR. 通过荧光定量 PCR 检测桃蚜体内解毒酶谷胱甘肽-S-转移酶基因(*sigma* 型 *GST*)及唾液腺特异表达基因 *C002* 在不同处理后的表达情况. 参考 NCBI (National Center for Biotechnology Information) 上提供的桃蚜 *GST* (GenBank 登录号: EC387215) 与 *C002* 序列(GenBank 登录号: EC389531) 设计合适的引物用于荧光定量 PCR, 合成引物 *MpGST-F1*, *MpGST-R1*, *MpC002-F1*, *MpC002-R1*(表 1) 扩增目的基因片段, 产物长度分别为 100, 190 bp. 以肌动蛋白 *Actin* 作为内参基因^[21], 合成引物 *Actin-F*, *Actin-R*(表 1), 扩增片段大小为 228 bp. 取 1 μg RNA 反转录为 cDNA, 检测目的基因的相对表达量时, 将模版稀释 10 倍使用. Real-time qPCR 反应体系为: cDNA 2 μL , 正向引物(10 $\mu\text{mol/L}$) 0.5 μL , 反向引物(10 $\mu\text{mol/L}$) 0.5 μL , 2 \times SYBR premix

表 1 荧光定量 PCR 所需引物

| 引物名称 | 引物序列 (5' 3') | 产物片段大小 (bp) |
|------------------|-----------------------|-------------|
| <i>MpGST-F1</i> | ATTGATTTGTTAGAGGGTC | 100 bp |
| <i>MpGST-R1</i> | CAACTGTTGGTCGTTTGG | |
| <i>MpC002-F1</i> | CACCTTCTCGCTAGGTATGT | 190 bp |
| <i>MpC002-R1</i> | GTGCTCTAATCTTGGGTT | |
| <i>Actin-F</i> | CGGTTCAAAAACCCAAACCAG | 228 bp |
| <i>Actin-R</i> | TGGTGATGATCCCGTGTTTC | |

Ex TaqTM (Tli RNaseH Plus) 10 μL , 50 \times ROX Reference Dye 0.4 μL , ddH₂O 6.6 μL 补至 20 μL . PCR 程序设定如下: 95 $^\circ\text{C}$ 5 min, 95 $^\circ\text{C}$ 30 s, 55 $^\circ\text{C}$ 30 s, 40 个循环, 每个处理设 3 个生物学重复, 每个样品设 3 个技术重复, 采用 2^{-Ct} 方法^[22]对 qPCR 结果进行计算.

(4) 数据统计与分析. 在检测桃蚜直接取食 JA 或 SA 不同时间点后目的基因相对表达量变化时, 以同一时间点对照组中蚜虫目的基因相对表达量为基准(calibrator). 所用数据都采用 SAS9.1 软件进行分析, 采用单方面方差分析(One-way ANOVA, $P < 0.05$ 或 0.01)进行显著性差异分析.

2 结果与分析

2.1 桃蚜对植物防御信号物质的适应性研究

如图 1 所示, 桃蚜在添加 SA 或 JA 的人工饲料取食 2 天后, 其存活率随 SA, JA 浓度的增加而逐渐下降. 2 天后 10 mmol/L SA 处理中, 桃蚜存活率为 (83.33 \pm 0)% , 与对照相比无显著差异, 当 SA 浓度超过 25 mmol/L 时, 蚜虫存活率显著下降. 2 天后 5 mmol/L JA 处理中, 桃蚜存活率为 (90.01 \pm 1.91)% , 与对照相比无显著差异, 当 JA 浓度超过 10 mmol/L 时, 蚜虫存活率显著下降, 极显著低于对照组. 据此, 分别选定 10 mmol/L SA 及 5 mmol/L JA 为桃蚜可正常生存的 SA, JA 最高浓度, 即阈值浓度, 并以此浓度对蚜虫进行后续相应研究.

2.2 桃蚜取食防御信号物质 SA 和 JA 对 *sigma* 型 *GST* 及 *C002* 基因表达量影响

通过荧光定量 PCR 检测桃蚜分别取食 10 mmol/L SA 或 5 mmol/L JA 后体内 *sigma* 型 *GST* 及唾液腺特异表达基因 *C002* 的表达量变化. 如图 2 所示, 桃蚜取食 10 mmol/L SA 6 h 后体内 *sigma* 型

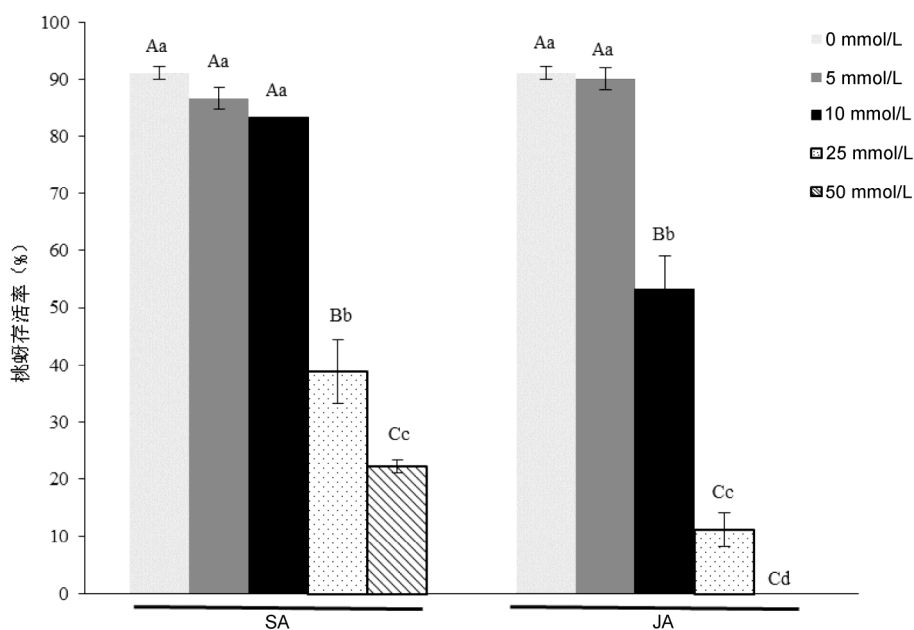


图 1 人工饲料添加不同浓度 SA 和 JA 对桃蚜存活率的影响

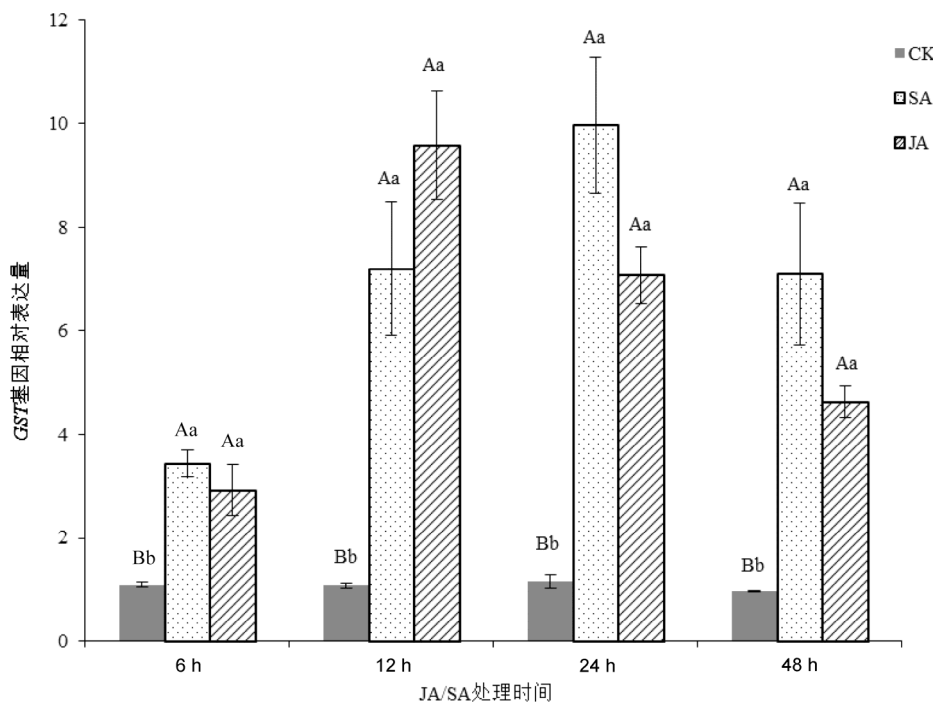


图 2 取食 SA 或 JA 对桃蚜 sigma 型 GST 基因表达量的影响

GST 的表达量显著增加, 在 24 h 表达量达到最高, 为 9.96 ± 1.32 , 48 h 后表达量回落, 仍极显著高于对照组 ($P < 0.01$); 当取食 5 mmol/L JA 后蚜虫体内 sigma 型 *GST* 的表达量也显著增加, 在 12 h 达到最高值, 为

9.58 ± 1.05 , 极显著高于对照组 ($P < 0.01$); 48 h 后回落至 4.63 ± 0.30 , 仍极显著高于对照组 ($P < 0.01$).

SA 及 JA 对 *C002* 基因诱导表达结果, 如图 3 所示. 桃蚜取食 SA 12 h 后, *C002* 基因表达量达到最高

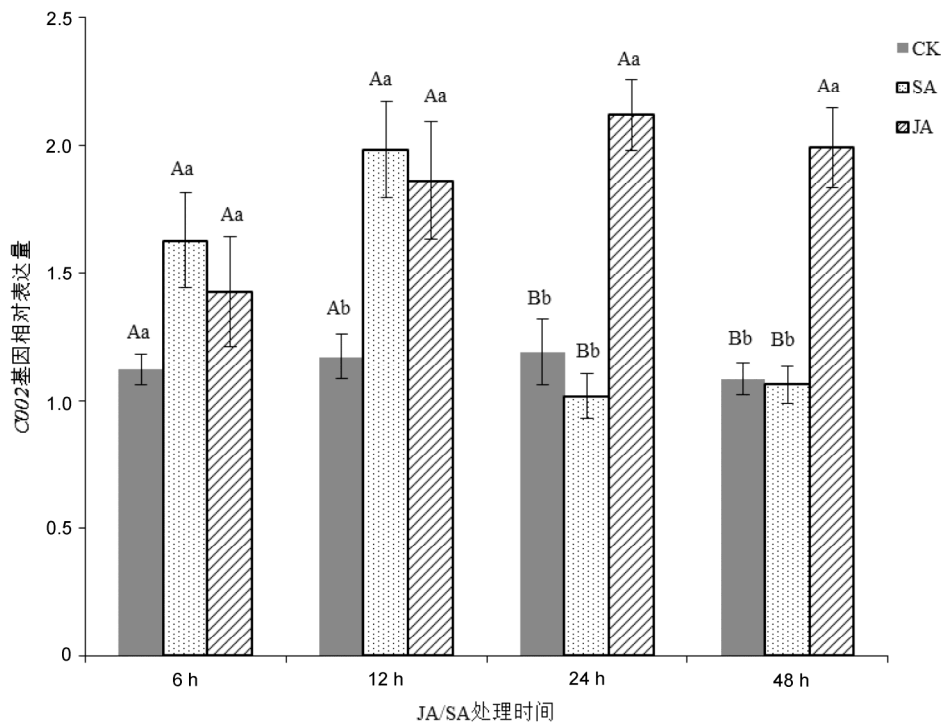


图3 取食 SA 或 JA 对桃蚜 C002 基因表达量的影响

为 1.98 ± 0.19 , 显著高于对照组 ($P < 0.05$), 其后表达量下降至正常水平; 桃蚜取食 JA 后 C002 表达量也显著增加, 12 h 显著高于对照组 ($P < 0.05$), 在 24 h 达到最高值 2.12 ± 0.14 , 24~48 h 其 C002 基因表达量都极显著高于对照组与 SA 处理组 ($P < 0.01$).

3 结论与讨论

虫害诱发的信号传导途径中主要存在茉莉酸 (JA) 及水杨酸 (SA) 介导的信号传导途径. JA 介导的信号传导途径即类十八烷途径是虫害和创伤诱导的主要途径. 植物受昆虫取食危害后, 诱导合成 JA 及其衍生物 (如 MeJA), JA 合成之后与膜上的受体相结合而启动防御基因的转录转译以及其他由 JA 介导的反应, 并由此产生防御蛋白或防御酶, 如蛋白酶抑制剂 (PI)、多酚氧化酶 (PPO)、病程相关蛋白 (PR). JA 介导的类十八烷途径对植物抵御咀嚼式昆虫危害非常重要. 刺吸式昆虫只造成局部的组织损伤. 通常认为, 刺吸式昆虫诱导与病原物侵染相似的 SA 途径, 即类苯丙烷信号途径, 首先在限速酶-苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 催化作用下, 将苯丙氨酸生成肉桂酸, 然后以

肉桂酸为原料通过相应的生化过程合成 SA. 已有证据支持植物将某些昆虫取食看成是病原物侵染这一观点, 如蚜虫和白粉虱 (*Trialeurodes vaporariorum* (Westwood)). PR 蛋白是病原菌侵染的标志, 而蚜虫正是潜在的 PR 蛋白而非 PI 的诱导者. 本实验室研究发现, 小麦蚜虫取食诱导了茉莉酸、水杨酸信号传导途径防御关键酶活力显著增加, 并且两条信号传导途径关键酶基因表达量与对照相比明显升高, 表明蚜虫取食既激活了茉莉酸介导的信号传导途径, 也激活了水杨酸介导的信号传导途径, 且蚜虫取食与机械损伤并不完全相同^[28]. 当植株虫害侵染时, 体内 JA 或 SA 含量升高, 进一步引发植株体内防御蛋白酶、次生代谢物含量增加. 外源茉莉酸喷施诱导小麦幼苗降低麦蚜取食适合度, 增强小麦对蚜虫、黏虫 (*Mythimna separate* (Walker)) 和小麦白粉病的抗性^[29~31], 可能与寄主植物抗虫次生物质 (如丁布) 及驱避性信号物质 (如 MeSA) 增加有关^[32].

昆虫在受到次生代谢物胁迫时, 体内解毒酶酶活增加, 以提高自身适应性. Li 等人^[33] 研究发现, 当玉米穗虫 (*Helicoverpa zea*) 取食含有 JA 或 SA 的人工饲料或取食损伤处理前期的芹菜 (*Apium graveolens*

(celery))叶片后会诱导淋巴液中的细胞色素 *P450* 基因表达量升高, 这说明玉米穗虫可以直接利用 SA 或 JA 为信号物质, 提高自身解毒能力。

本研究选取广食性刺吸害虫桃蚜为研究对象, 通过荧光定量 PCR 检测蚜虫直接取食植物防御反应信号物质 JA, SA 后, 对蚜虫 sigma 型 *GST* 及唾液腺特异表达基因 *C002* 基因的表达诱导反应。结果表明, 桃蚜在直接取食含有 10 mmol/L SA 或 5 mmol/L JA 的人工饲料后, sigma 型 *GST* 及 *C002* 基因表达量会显著升高。表明桃蚜与玉米穗虫一样可以在寄主植株产生次级代谢物之前, 直接将防御反应信号物质 JA 或 SA 作为信号分子, 通过上调体内相关解毒基因及唾液腺相关基因的表达量, 加强自身解毒能力或者

分泌更多的唾液蛋白调节寄主植株的防御反应, 以提高自身对寄主植株的适应性。下一步正通过测定解毒酶活力或 Western blot 技术从蛋白水平进一步证明 JA 或 SA 对 *GST*, *CarE*, 细胞色素 *P450* 等相关解毒酶及唾液蛋白 *C002* 的诱导作用。

与寡食性害虫不同, 桃蚜与玉米穗虫做为广食性害虫^[34,35], 在不同寄主植株取食时会诱导产生不同的次生代谢物, 从而需要面对更为复杂的防御反应模式。防御反应信号物质(如 JA, SA)广泛存在于植物体内, 广食性害虫可能在与寄主植株长期的协同进化中, 形成了可通过感知寄主内防御信号物质浓度的变化, 提前增加相关反防御基因的表达, 提高对寄主植株的适应性。

参考文献

- 1 Morkunas I, Mai V C, Gabrys B. Phytohormonal signaling in plant responses to aphid feeding. *Acta Physiol Plant*, 2011, 33: 2057–2073
- 2 Creelman R A, Mullet J E. Biosynthesis and action of jasmonates in plants. *Ann Rev Plant Physiol Mol Bio*, 1997, 48: 355–381
- 3 Ku C C, Chiang F M, Hsin C Y, et al. Glutathione transferases isozymes involved in insecticide resistance of diamondback moth larvae. *Pestic Biochem Physiol*, 1994, 50: 191–197
- 4 Prapanthadara L, Promter N, Koottathep S, et al. Isoenzymes of glutathione S-transferases from the mosquito *Anopheles dirus* species B: the purification, partial characterization and interaction with various insecticides. *Insect Biochem Mol Biol*, 2000, 30: 39–403
- 5 Feng Q L, Davey K G, Pang A S D, et al. Developmental expression and stress induction of glutathione S-transferases in the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. *J Insect Physiol*, 2001, 47: 1–10
- 6 Hedin P A, Parrott W L, Jenkins J N, et al. Elucidating mechanisms of tobacco budworm resistance to allelochemicals by dietary tests with insecticide synergist. *Pestic Biochem Physiol*, 1988, 32: 55–61
- 7 Yu S J. Insect glutathione S-transferases. *Zool Stud*, 1996, 35: 9–19
- 8 Francis F, Vanhaelen N, Haubruge E. Glutathione S-transferases in the adaptation to plant secondary metabolites in the *Myzus persicae* aphid. *Arch Insect Biochem*, 2005, 58: 166–174
- 9 吕敏, 孙姗姗, 王丽红, 等. 植物次生物质对棉蚜谷胱甘肽 S-转移酶和羧酸酯酶活性的诱导作用. *中国农学通报*, 2012, 28: 253–256
- 10 陈巨莲, 倪汉祥, 孙京瑞, 等. 小麦几种主要次生物质对麦长管蚜几种酶活力的影响. *昆虫学报*, 2003, 46: 144–149
- 11 Claudianos C, Ranson H, Johnson R M, et al. A deficit of detoxification enzymes: pesticide sensitivity and environmental response in the honeybee. *Insect Mol Biol*, 2006, 15: 615–636
- 12 Chelvanayagam G, Parker M W, Board P G. Fly fishing for GSTs: a unified nomenclature for mammalian and insect glutathione transferases. *Chem Biol Interact*, 2001, 133: 256–260
- 13 Ranson H, Claudianos C, Ortelli F, et al. Evolution of supergene families associated with insecticide resistance. *Science*, 2002, 298: 179–181
- 14 Qin G H, Jia M, Liu T, et al. Heterologous expression and characterization of a sigma glutathione S-transferase involved in carbaryl detoxification from oriental migratory locust, *Locusta migratoria manilensis* (Meyen). *J Insect Physiol*, 2012, 58: 220–227
- 15 Kim B Y, Hui W L, Lee K S, et al. Molecular cloning and oxidative stress response of a sigma-class glutathione S-transferase of the bumblebee *Bombus ignites*. *Comp Biochem Phys B*, 2011, 158: 83–89
- 16 Urbanska A, Tjallingii W F, Dixon A F G, et al. Phenol oxidising enzymes in the grain aphid saliva. *Entomol Exp Appl*, 1998, 86: 197–203
- 17 Will T, Tjallingii W F, Thonnessen A, et al. Molecular sabotage of plant defense by aphid saliva. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 10536–10541

- 18 Elzinga D A, Jander G. The role of protein effectors in plant-aphid interactions. *Curr Opin Plant Biol*, 2013, 16: 451–458
- 19 Mutti N S, Park Y, Reese J, et al. RNAi knockdown of a salivary transcript leading to lethality in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *J Insect Sci*, 2006, 6: 1–7
- 20 Mutti N S, Louis J, Pappan K, et al. A protein from the salivary glands of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*, is essential in feeding on a host plant. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 9965–9969
- 21 Pitino M, Coleman A D, Maffei M E, et al. Silencing of aphid genes by dsRNA feeding from plants. *PLoS One*, 2011, 6: e25709
- 22 李雪峰, 范佳, 孙永伟, 等. 麦长管蚜唾液蛋白 C002 的基因克隆与 RNA 干扰研究. *应用昆虫学报*, 2014, 51: 1479–1487
- 23 Zhang Y, Fan J, Sun J, et al. Cloning and RNA interference analysis of the salivary protein C002 gene in *Schizaphis graminum*. *J Integr Agr*, 2015, 14: 698–705
- 24 Bos J I, Prince D, Pitino M, et al. A functional genomics approach identifies candidate effectors from the aphid species *Myzus persicae* (green peach aphid). *PLoS Genet*, 2010, 6: e1001216
- 25 Harmel N, Llocart E, Cherqui A, et al. Identification of aphid salivary proteins: a proteomic investigation of *Myzus persicae*. *Insect Mol Biol*, 2008, 17: 165–174
- 26 Carolan J C, Fitzroy C I, Ashton P D, et al. The secreted salivary proteome of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*, characterised by mass spectrometry. *Proteomics*, 2009: 2457–2467
- 27 陈巨莲, 倪汉祥, 丁红建, 等. 麦长管蚜全纯人工饲料的研究. *中国农业科学*, 2000, 33: 54–59
- 28 Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods*, 2001, 25: 402–408
- 29 赵丽艳. 麦长管蚜取食诱导小麦防御反应的生化及分子机制. 硕士学位论文. 北京: 中国农业科学院, 2006
- 30 刘勇, 陈巨莲, 倪汉祥, 等. 茉莉酸诱导小麦幼苗对麦蚜取食行为的影响. *植物保护学报*, 2001, 18: 325–330
- 31 尹姣, 陈巨莲, 曹雅忠. 茉莉酸诱导小麦抗病虫性初步研究. *植物保护*, 2005, 31: 35–37
- 32 尹姣, 陈巨莲, 曹雅忠, 等. 外源化合物诱导后小麦对麦长管蚜和黏虫的抗性研究. *昆虫学报*, 2005, 48: 718–724
- 33 Li X, Schuler M A, Berenbaum M R. Jasmonate and salicylate induce expression of herbivore cytochrome P450 genes. *Nature*, 2002, 419: 712–715
- 34 Blackman R L, Eastop V F. *Aphids on the World's crops: an identification and information guide*. London: Wiley & Sons, 2000
- 35 Fitt G P. The ecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. *Ann Rev Entomol*, 1989, 34: 17–52

Effects of Plant Defense Signal Molecules Jasmonic Acid and Salicylic Acid on the Expression of Detoxification Enzyme Glutathione S-transferases and Salivary Protein *C002* in *Myzus persicae*

ZHANG Yong¹, FAN Jia¹, ZHAO XingYan^{1,2}, LIU Yong², SUN JingRui¹, Frederic Francis³ & CHEN JuLian¹

¹ State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China;

² College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Taian 271000, China;

³ Functional and Evolutionary Entomology, Gembloux Agro-Bio Tech, University of Liege, Gembloux B-5030, Belgium

Jasmonic acid (JA) and salicylic acid (SA) are important phytohormones for activating plant defense responses when plants suffer from mechanical damage or pest infestation. In response to plant defense responses, insects usually increase the detoxification enzyme activity or secrete some saliva proteins into plants to modulate host cell processes to promote their adaptation. In this study, we used real-time qPCR to detect the relative gene expression of detoxification enzyme named glutathione S-transferases (sigma GST) and salivary gland-specific protein *C002* in *Myzus persicae* after feeding with 5mM JA or 10mM SA through artificial diet. The results showed that the relative expression of sigma *GST* and *C002* in *M. persicae* increased significantly after JA and SA treatments. The results revealed that *M. persicae* can use JA and SA as cues to up-regulate gene expression of related detoxification enzyme and saliva protein. Our results provided new insights into the research on the mechanism of *M. persicae* adaptation to host plant resistance.

***Myzus persicae*, jasmonic acid, salicylic acid, sigma glutathione S-transferases, salivary protein C002**

doi: 10.1360/N052015-0054