

李 恒,张祥琴,田厚军,等. 黄胸蓟马化学感受蛋白基因 *ThawCSP1* 克隆与表达分析[J]. 江苏农业科学,2023,51(19):37-43.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.19.006

黄胸蓟马化学感受蛋白基因 *ThawCSP1* 克隆与表达分析

李 恒¹, 张祥琴^{1,2}, 田厚军¹, 陈艺欣¹, 林 硕¹, 魏 辉^{1,2}, 陈 勇^{1,2}

(1. 福建省农业科学院植物保护研究所/福建省作物有害生物监测与治理重点实验室/
农业农村部福州作物有害生物科学观测实验站, 福建福州 350013;
2. 福建农林大学闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室, 福建福州 350002)

摘要:化学感受蛋白(chemosensory proteins, 简称 CSPs)除了具有感知化学分子的功能,还与昆虫个体生长与发育、生殖、杀虫剂抗性等相关。黄胸蓟马(*Thrips hawaiiensis*)广泛分布于亚洲热带、亚热带和北美南部,是一种重要的农业和园艺作物害虫。本研究克隆鉴定了黄胸蓟马化学感受蛋白基因 *ThawCSP1* 开放阅读框(ORF),然后利用 MEGA 7.0 软件以邻接法构建 *ThawCSP1* 系统发育树,最后利用 RT-qPCR、免疫荧光、免疫电镜技术,从 mRNA 和蛋白水平分析黄胸蓟马 *ThawCSP1* 基因的表达情况。结果表明,黄胸蓟马 *ThawCSP1* 基因(GenBank 登录号:OQ730210) ORF 为 405 bp,编码 134 个氨基酸,预测蛋白分子量为 15.181 ku。分子进化树显示 *ThawCSP1* 与同属缨翅目的西花蓟马、花蓟马和牛角花齿蓟马 CSPs 序列同源性分别为 79.55%、80.30%、76.52%。*ThawCSP1* 基因在黄胸蓟马各个发育阶段均有表达,其中羽化 1、5、10 d 的成虫相对表达量最高,其次是 1 龄、2 龄若虫和羽化 15 d 的成虫,蛹期的表达量最低;在黄胸蓟马成虫不同组织中,*ThawCSP1* 表达量最高的是触角,其次是足和头部,分别是腹部表达量的 222.33、181.60、79.03 倍。免疫荧光和免疫电镜观察也表明,*ThawCSP1* 蛋白在黄胸蓟马触角高表达。研究结果将为解析 *ThawCSP1* 基因功能提供试验依据,也为基于昆虫 CSPs 研发高效引诱剂提供了理论依据。

关键词:黄胸蓟马;化学感受蛋白;表达谱;免疫荧光;免疫电镜

中图分类号:S433.89 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2023)19-0037-06

黄胸蓟马(*Thrips hawaiiensis* Morgan)别称香蕉花蓟马、夏威夷蓟马,隶属缨翅目(Thysanoptera)锯尾亚目(Terebrantia)蓟马科(Thripidae),是一种重要的栖花害虫^[1]。该蓟马起源于环太平洋地区,当前广泛分布于亚洲热带、亚热带和北美南部^[2],在我国的福建、海南、广西、台湾、云南、广东等多个省均有分布^[3]。黄胸蓟马环境适应性较强,寄主范围广泛,能危害香蕉、芒果等多种经济作物^[4-8]。该虫主要取食寄主嫩叶、嫩果并产卵于花蕾和幼果中^[9-10],危害后的果皮呈现黑色斑点,影响坐果率和品质^[11]。由于黄胸蓟马世代周期短、隐匿性强,

危害初期很难被察觉^[12-13],当前国内外防治黄胸蓟马最有效的方法是使用化学药剂。但伴随着农药的长期使用,该虫的抗药性也逐渐增强,很难达到理想的防治效果^[14-17]。

嗅觉系统在昆虫选择寄主、捕食、产卵、避敌等生命活动中发挥着重要作用,嗅觉识别过程中需要化学感受蛋白(chemosensory proteins,简称 CSPs)、气味结合蛋白(odorant binding proteins,简称 OBPs)、气味受体(olfactory receptors,简称 ORs)、气味降解酶(odorant degrading enzymes,简称 ODEs)等嗅觉蛋白的参与^[18-21]。CSPs 别称感受器官蛋白,是一类可溶性结合蛋白,主要存在于昆虫化学感受器官中,承担筛选、识别、运载气味化合物或信息素分子,并传递给嗅觉受体的角色,在嗅觉识别的第 1 步生理反应中发挥至关重要的作用^[22]。1994 年 CSPs 首次被发现鉴定于黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster* Meigen)的触角中,这些可溶性的蛋白分别被命名为 A-10 和 OS-D(olfactory specific-D)^[23]。随着分子生物学技术的迅速发展,许多昆虫 CSPs 相继被克隆鉴定,发现其都具有 4 个半胱氨

收稿日期:2023-04-11

基金项目:福建省属公益类科研院所基本科研专项(编号:2022R1024006、2022R1024004);福建省农业科学院科技项目(编号:CXTD2021004-3、XTCXGC2021011、XTCXGC2021017)。

作者简介:李 恒(1993—),女,河南驻马店人,硕士,研究实习员,从事农业昆虫与害虫防治研究。E-mail:592995627@qq.com。

通信作者:陈 勇,博士,副研究员,从事媒介昆虫传播病害机制与昆虫生态学研究,E-mail:cheny0903@163.com;魏 辉,博士,研究员,从事化学生态学研究,E-mail:weihui@faas.cn。

酸残基的典型特征^[24]。CSPs 广泛存在于昆虫的各个组织部位,如 MbraCSPA6 在甘蓝夜蛾的触角、下颚须及喙中均有表达^[25]。昆虫的 CSPs 除了识别、运输化学感受器周围环境中具有亲脂性的配体,也参与调节昆虫生长发育^[26]、免疫作用^[27-28]、种群识别^[29]等。

本研究在分析黄胸蓟马触角转录组的基础上,对黄胸蓟马化学感受蛋白基因 *ThawCSP1* 进行克隆、鉴定,然后利用 MEGA 7.0 软件以邻接法构建 *ThawCSP1* 系统发育树,最后利用实时荧光定量 PCR 法明确该基因在黄胸蓟马不同组织和各个发育阶段 mRNA 水平的表达模式,并利用免疫荧光标记和免疫电镜技术观察 *ThawCSP1* 蛋白在黄胸蓟马触角的表达情况,研究结果为进一步探讨黄胸蓟马 *ThawCSP1* 的生理功能提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

黄胸蓟马来源于福建省农业科学院植物保护研究所蔬菜种植大棚,以四季豆饲养在人工气候箱(MGC-350HP-2,上海一恒科技仪器有限公司)中。饲养条件为光—暗周期 14 h—10 h,温度为(25±1)℃,相对湿度为(65±5)%。

1.2 *ThawCSP1* 开放阅读框的克隆与鉴定

在分析黄胸蓟马转录组数据的基础上,通过生物信息学分析,获得 *ThawCSP1* 开放阅读框(open reading frame,ORF)序列。采用 Trizol(Ambion)法提取黄胸蓟马总 RNA,然后利用反转录试剂盒(北京全式金生物科技有限公司)将 RNA 反转录成 cDNA。根据黄胸蓟马 *ThawCSP1* 基因开放阅读框序列,利用 Primer Premier 5.0 软件设计特异性引物(表 1),以反转录成的 cDNA 为模板扩增目的片段。PCR 反应体系:cDNA 模板 1 μL,2×PCR buffer 12.5 μL,dNTPs(2.0 mmol/L)5 μL,正反向引物各 1 μL,KOD FX 0.5 μL,ddH₂O 4 μL。反应条件:94℃ 预变性 2 min;98℃ 变性 10 s,55℃ 退火 30 s,68℃ 延伸 30 s,反应 30 个循环;最后 72℃ 延伸 10 min(Toyobo code:KFX-101)。用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测获得的 PCR 产物,利用凝胶回收试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]回收纯化检测正确的目的条带,再将纯化的 PCR 产物连接 pEASY-T1 载体并转化至感受态细胞 DH5α 中,挑选阳性克隆菌落送福州铂尚生物技术(上海)有限公司测序。

表 1 本试验所用引物

引物名称	引物序列(5'-3')
<i>ThawCSP1</i> -ORF-F	ATGCCCAAGATGCTCCT
<i>ThawCSP1</i> -ORF-R	CTAGGGCTTGACTCCCTTC
q <i>ThawCSP1</i> -F	CCAAGCCCAGACGAGAAGTTCACCA
q <i>ThawCSP1</i> -R	GGCTTATCCAGGATGCAGTTAAGGTAGTTGTT
q <i>ThawActin</i> -F	TACGAGCTTCCCAGCGGTACGGTT
q <i>ThawActin</i> -R	TGAGGGAGCAAGGGCGGTGATT

1.3 *ThawCSP1* 序列特性及系统进化分析

使用 DNAMAN 软件将黄胸蓟马 *ThawCSP1* 基因核苷酸序列翻译成氨基酸序列;采用 Expasy 在线工具(<http://web.Expasy.org/protparam>)预测该蛋白质的等电点、分子量等信息,使用 SignalP 5.0(<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>)预测 *ThawCSP1* 的信号肽,使用 Conserved domains 预测 *ThawCSP1* 序列的保守结构域。

利用 NCBI(national center for biotechnology information)的 Blastp 工具对 *ThawCSP1* 氨基酸序列进行同源相似性比对,选取除 *ThawCSP1* 外,来自缨翅目、蜚蠊目、直翅目、半翅目、鞘翅目 29 个昆虫的化学感受蛋白,利用 MEGA 7.0 软件对序列进行多重比对,选用邻接法(neighbor joining)构建 *ThawCSP1* 系统发育树。

1.4 *ThawCSP1* 表达谱分析

选取 300 头初羽化 1 d 的黄胸蓟马成虫,用 CO₂ 将其麻醉并置于 PBS 缓冲液中,分别收集解剖镜下取出的头、胸、腹、足、触角组织,RT-qPCR 分析 *ThawCSP1* 在不同组织中的表达谱;同时挑选 1 龄若虫、2 龄若虫、蛹和羽化 1、5、10、15 d 的黄胸蓟马成虫各 100 头,分析 *ThawCSP1* 在各个发育阶段 mRNA 水平的相对表达量。样品总 RNA 的提取采用 Trizol 法,然后利用反转录试剂盒(北京全式金生物科技有限公司)将 RNA 反转录成 cDNA,保存于-80℃ 冰箱备用。

使用 Primer Premier 5.0 软件设计黄胸蓟马 *ThawCSP1* 基因和 *ThawActin* 基因(OQ715282)的 RT-qPCR 引物(表 1)。RT-qPCR 反应体系:cDNA 模板 1 μL,正反向引物各 0.5 μL,SYBR 预混液(TakaRa Code:RR820)10 μL,ddH₂O 8 μL。反应采用标准两步法:95℃ 预变性 30 s;95℃ 变性 5 s,62℃ 退火 15 s,40 个循环。

使用 2^{-ΔΔC_T} 法计算黄胸蓟马各个发育阶段和不

同组织中 *ThawCSP1* 的相对表达量。各个发育阶段 *ThawCSP1* 的相对表达量以羽化 10 d 黄胸蓟马的 *ThawCSP1* 表达量为标准参量,不同组织 *ThawCSP1* 的相对表达量以该基因在黄胸蓟马腹部中的表达量为标准参量。

1.5 免疫荧光观察 *ThawCSP1* 在黄胸蓟马触角中的表达

为从蛋白水平定性分析 *ThawCSP1* 在黄胸蓟马触角中的表达情况,首先在室温条件下,将黄胸蓟马成虫放入 4% 多聚甲醛中固定 2 h,然后用 0.01 mol/L PBS 漂洗 2 次,每次 5 min;2% Triton X-100 渗透 24 h,0.01 mol/L PBS 漂洗 2 次,每次 5 min;转入脱色液[100% 乙醇:30% H_2O_2 = 2:1 (体积比)]脱色 2 h,0.01 mol/L PBS 漂洗 2 次,每次 5 min;加入异硫氰酸荧光素 (fluorescein isothiocyanate, FITC) 偶联的 *ThawCSP1* 抗体(笔者所在实验室制备的多克隆抗体),37 °C 条件下避光放置 2 h;0.01 mol/L PBS 漂洗 3 次,每次 5 min;甘油封片后,共聚焦显微镜(Leica SP8)下观察结果。

1.6 免疫电镜观察 *ThawCSP1* 在黄胸蓟马触角的表达

取黄胸蓟马成虫触角组织放入 2% 多聚甲醛和 2% 戊二醛溶液中固定 2 h,用 0.1 mol/L PBS(pH 值 7.2)漂洗样品 4 次,每次 10 min;随后于 4 °C 进行乙醇梯度脱水,浓度分别为 30%、50%,每个梯度各处理 30 min,接着于 -20 °C 低温脱水,乙醇浓度分别为 50%、70%、90%,每个梯度脱水 1 h;在 -20 °C 下,分别用含有 30%、70%、100% LR GLOD 包埋剂的乙醇溶液进行渗透,每个浓度处理 2 h,最后用 0.1% BENZIL 催化的 LR GOLD 包埋剂继续渗透 6 h;随后于 -20 °C 条件下紫外聚合 96 h,超薄切片机切片并收集在镍网上;以实验室制备的黄胸蓟马

ThawCSP1 多克隆抗体为一抗,二抗为胶体金(12 nm)偶联羊抗鼠 IgG,标记后用透射电子显微镜(HitachiH-7700,日本)观察、拍照。从蛋白水平定性分析 *ThawCSP1* 在黄胸蓟马触角的表达情况。

2 结果与分析

2.1 黄胸蓟马 *ThawCSP1* 的克隆鉴定与分析

通过分析黄胸蓟马触角转录组数据,利用 Primer Premier 5.0 设计黄胸蓟马 *ThawCSP1* - ORF 引物,以黄胸蓟马总 RNA 反转录获得的 cDNA 为模板,扩增的 PCR 产物大小在 400 bp 与 500 bp 之间(图 1)。测序结果显示,扩增的序列为 405 bp (GenBank 登录号: OQ730210)(图 2)。利用 DNAMAN 软件分析可知,*ThawCSP1* - ORF 基因编码 134 个氨基酸,预测蛋白分子量为 15.181 ku,*N* 末端的 1~19 位氨基酸为信号肽区域,等电点为 8.50,含有 4 个保守的半胱氨酸,符合 CSP 蛋白的典型特征 C1-X6-8-C2-X16-21-C3-X2-C4(图 2)。

将黄胸蓟马 *ThawCSP1* 氨基酸序列与其他 12 种昆虫 29 个 CSPs 通过 MEGA 7.0 邻接法,以步长值 1 000 构建系统发育树。由图 3 可知,该系统发育

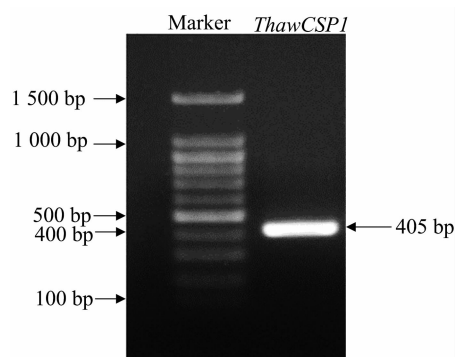


图1 黄胸蓟马 *ThawCSP1* 基因的 PCR 产物

```

1  ATGGCCAAGATGCTCCTGTGCGTCGCCGTCGTGGCGCTGGCCGGCCTCGTCGCCGCCGTG
1  M A K M L L C V A V V A L A G L V A A V
61  CCCC GCCCGAGGAGAAGTACACCACCAAGTACGACAACGTCAACATCGACGAGATCCTG
21  P R P E E K Y T T K Y D N V N I D E I L
121  GCCAACAAAGCGCTGCTCAACAACTACATGAACTGCATCCTGGAGAAGCCCAAGGCCCGC
41  A N K R L L N N Y M N [C] I L E K P K A R
181  TGCACGCGGACGCGCTGGAGTCAAGAAGTCCATCCCCGACGCGCTGACCAACGACTGC
61  [C] T A D A L E L K K S I P D A L T N D [C]
241  GCCAAGTGCTCCGAGAAGCAGAAGGAGATCTCCGAGAAGGTCGTCAAGCACCTGCTCGAC
81  A K [C] S E K Q K E I S E K V V K H L L D
301  AAGGAGAGGCCCGTCTGGGACGAGCTCAAGGCCAAGTACGACCCACCCGGCATCTACGAG
101  K E R P V W D E L K A K Y D P T G I Y E
361  AAGAAGTACGAGAAGCTCGCCGAGGAGAAGGGAGTCAAGCCCTAG
121  K K Y E K L A E E K G V K P *

```

下划线为预测的信号肽;方框内为保守的半胱氨酸;星号为终止密码子

图2 黄胸蓟马 *ThawCSP1* 基因的核苷酸序列及预测的氨基酸序列

树可分为两大支,第 1 支有 27 个 CSPs,分布在 10 个物种中,第 2 支有 3 个 CSPs,分布在 3 个物种中,其中 ThawCSP1 聚在第 1 支上,与缨翅目西花蓟马

CSP(AEP27186.1)、花蓟马 CSP1 和牛角花齿蓟马 CSP1 亲缘关系最近,氨基酸序列相似性分别为 79.55%、80.30% 和 76.52%。

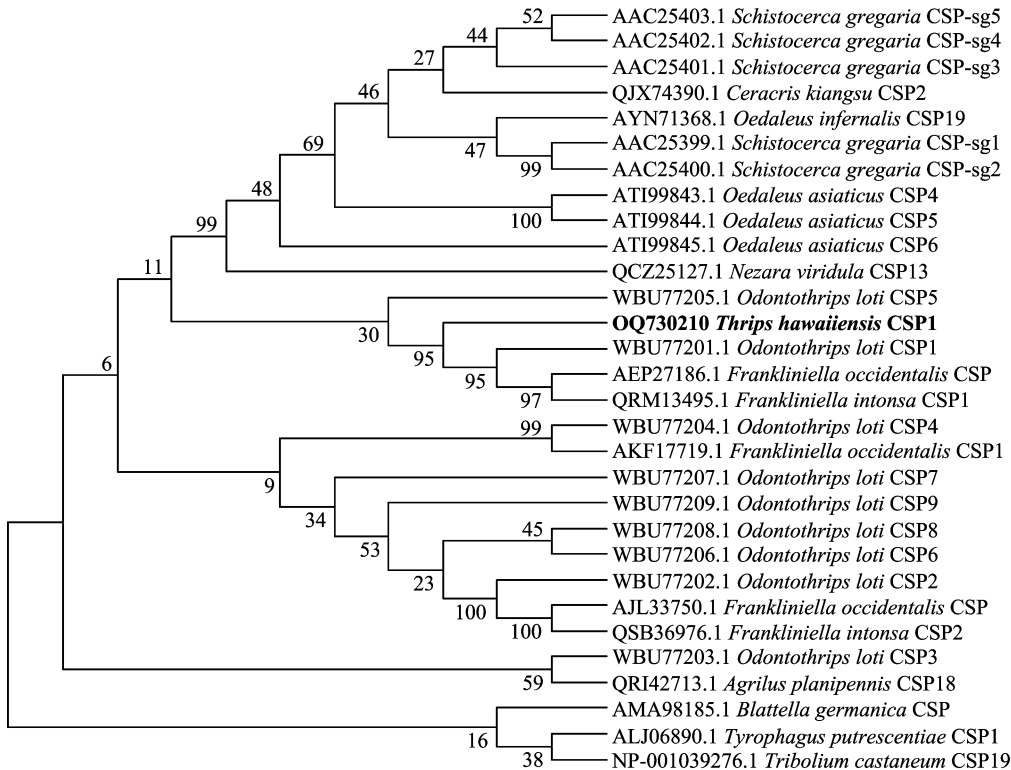


图3 黄胸蓟马 ThawCSP1 与其他昆虫 29 个 CSPs 蛋白的系统进化分析

2.2 黄胸蓟马 ThawCSP1 基因表达谱分析

以黄胸蓟马羽化 10 d 成虫的 ThawCSP1 表达量为标准参量,比较 ThawCSP1 基因在各个发育阶段的相对表达量,结果显示 ThawCSP1 在成虫 1、5、10 d 的相对表达量最高,其次是 1 龄若虫、2 龄若虫和成虫 15 d,其相对表达量为标准参量的 0.55 ~ 0.59 倍;蛹期 ThawCSP1 基因表达量最低,仅为标准

参量的 0.11 倍(图 4 - A)。

以黄胸蓟马腹部 ThawCSP1 表达量为标准参量,比较 ThawCSP1 基因在黄胸蓟马不同组织部位的相对表达量,结果显示 ThawCSP1 基因在黄胸蓟马触角和足部的相对表达量最高,是腹部表达量的 222.33 倍和 181.60 倍;头部的相对表达量为腹部的 79.03 倍;腹部的相对表达量最低(图 4 - B)。

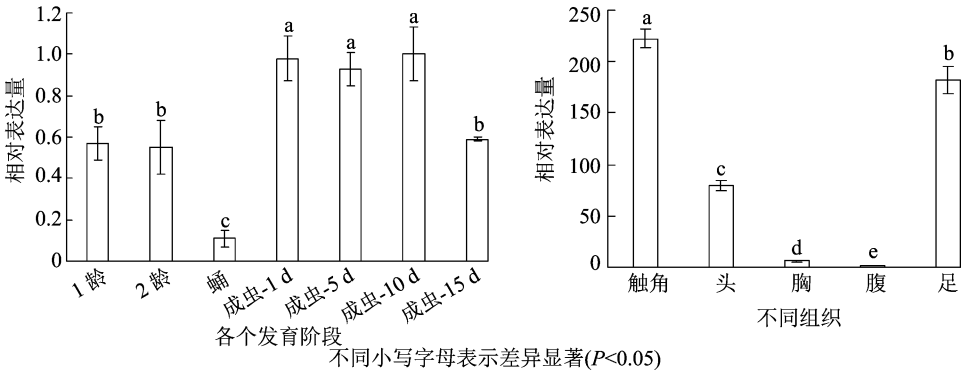


图4 黄胸蓟马 ThawCSP1 基因的表达分析

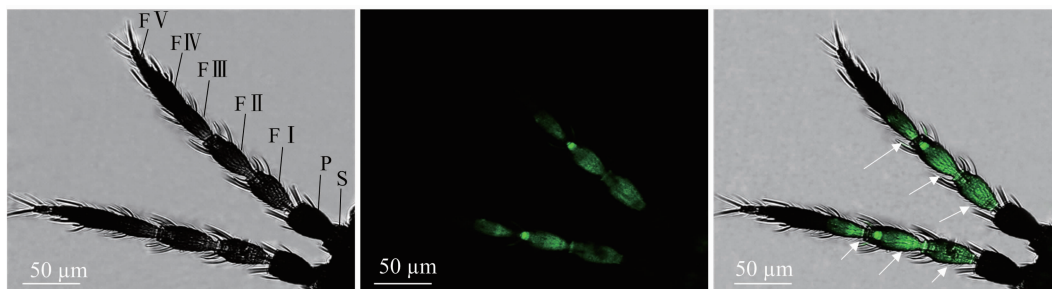
2.3 黄胸蓟马 ThawCSP1 蛋白在触角的表达

利用免疫荧光标记技术观察 ThawCSP1 在黄胸

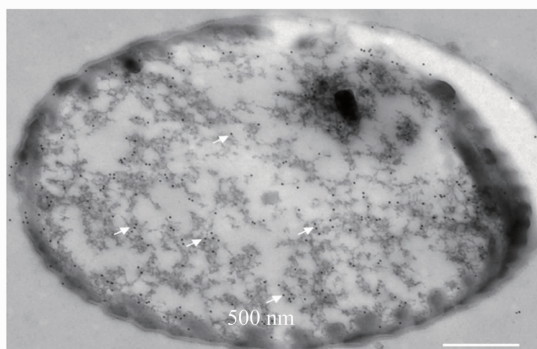
蓟马触角中的表达,由图 5 - A 可知,在触角鞭节 I ~ III 节均能观察到较强的荧光信号,表明

ThawCSP1 蛋白在黄胸蓟马触角中高表达。进一步通过免疫电镜技术观察 ThawCSP1 在触角感器的表达,由图 5-B 可知,在黄胸蓟马触角锥形感器上分

布大量的胶体金颗粒(白色箭头),表明 ThawCSP1 蛋白在黄胸蓟马触角锥形感器上大量表达。



A 共聚焦显微镜观察 ThawCSP1 在黄胸蓟马触角分布



B. 免疫电镜观察 ThawCSP1 在黄胸蓟马触角锥形感器的分布

F I~V—鞭节(F I~V); P—梗节; S—柄节

图5 ThawCSP1 蛋白在黄胸蓟马触角的表达

3 讨论与结论

昆虫嗅觉相关蛋白基因广泛分布于昆虫的不同组织和各个发育阶段中,分析基因在昆虫不同发育阶段和各个组织的表达模式是预测基因功能的一个重要手段^[20]。CSPs 目前仅在节肢类动物(arthropods)和多足类动物(myriapods)中有报道,一般 100~120 个氨基酸,蛋白可溶且未被报道有翻译后修饰,在 4 个保守的半胱氨酸之间形成 2 个二硫键(C1-X6-8-C2-X16-21-C3-X2-C4)^[30]。目前节肢动物 CSPs 的研究较多,广泛分布于昆虫体内各个组织,除了嗅觉器官外,在头、胸、腹部、足、睾丸、卵巢等非嗅觉组织中也有表达^[18,30]。RT-qPCR 结果表明,ThawCSP1 在黄胸蓟马触角和足部表达量最高,在头部也有较多表达(图 4-B)。由于触角和足是昆虫最为重要的化学感受器官,在昆虫寻找寄主、产卵场所、配偶等多种生命活动过程中发挥作用^[30],据此笔者所在课题组推测 ThawCSP1 可能参与了黄胸蓟马对寄主植物的识别、定位以及感受化学机械刺激等生命活动。此外,ThawCSP1 在黄胸蓟马的若虫期和成虫期相对

表达量较高,在蛹期表达量最低(图 4-A)。由于黄胸蓟马在蛹期无取食等生命活动,因此 ThawCSP1 基因在蛹期低表达进一步证明 ThawCSP1 参与了黄胸蓟马多种生命活动,具体功能还需要进一步验证。

比较分析近缘物种间的 CSPs 有助于了解昆虫对不同生态位的适应及其进化关系^[30]。据报道,花蓟马、西花蓟马和牛角花齿蓟马分别有 6、8、9 个 CSP 基因^[31-32],由于花蓟马和西花蓟马部分 CSP 基因序列数据暂未释放,因此本研究选择 3 个西花蓟马 CSP、2 个花蓟马 CSP、9 个牛角花齿蓟马 CSP 以及其他 15 个昆虫 CSP 蛋白序列开展系统发育分析。ThawCSP1 与西花蓟马 CSP(AEP27186.1)、花蓟马 CSP1 和牛角花齿蓟马 CSP1 蛋白序列同源性在 76% 以上(图 3),推测这 4 个 CSP 基因可能具有类似的构象与功能。此外,ThawCSP1 与其他 11 个蓟马 CSPs 的亲缘关系相对较远,暗示蓟马 CSPs 蛋白功能的多样性。

触角作为昆虫主要的嗅觉器官,分布有大量的感受器,在昆虫识别过程中起着重要的作用^[33]。免疫荧光技术是根据抗原抗体反应的原理,先将已知

的抗原或抗体标记上荧光基团,再用这种荧光抗体(或抗原)作为探针检测细胞或组织内相应的抗原(或抗体),能直观地了解相应的蛋白在细胞或组织中的表达情况^[34]。本研究利用实验室制备的黄胸蓟马 ThawCSP1 蛋白多克隆抗体,成功观察到 ThawCSP1 蛋白在黄胸蓟马成虫触角的表达情况(图 5-A)。此外,胶体金免疫电镜技术是将胶体金标记在抗原和抗体结合的各部位,在电镜下根据黑色圆点状金颗粒的分布情况,从而精确定位抗原(目的蛋白)^[35]。免疫电镜结果显示 ThawCSP1 在黄胸蓟马成虫期的触角锥形感器中大量表达(图 5-B),这为进一步研究 ThawCSP1 蛋白的功能提供了试验依据。

综上所述,本研究首次克隆鉴定了黄胸蓟马的 *ThawCSP1* 基因,并研究了该基因在黄胸蓟马生长发育过程中的时空表达,为进一步研究黄胸蓟马的 CSPs 功能提供数据参考,并为制定蓟马类害虫防治策略提供理论依据。

参考文献:

- [1] Palmer J M, Wetton M N. A morphometric analysis of the *Thrips hawaiiensis* (Morgan) species - group (Thysanoptera: Thripidae) [J]. Bulletin of Entomological Research, 1987, 77(3): 397 - 406.
- [2] 张帆, 付步礼, 刘奎, 等. 温度对香蕉花蓟马发育和存活的影响[J]. 生态学报, 2014, 34(14): 3895 - 3899.
- [3] 曾鑫年, 林进添. 黄胸蓟马对香蕉的危害及其防治[J]. 植物保护, 1998, 24(6): 15 - 17.
- [4] 李强, 刘奎, 付步礼, 等. 不同食料对黄胸蓟马生物学特性的影响[J]. 环境昆虫学报, 2018, 40(1): 136 - 143.
- [5] Wu Y, Liu K, Qiu H Y, et al. Polymorphic microsatellite markers in *Thrips hawaiiensis* (Thysanoptera: Thripidae) [J]. Applied Entomology and Zoology, 2014, 49(4): 619 - 622.
- [6] 卢辉, 徐雪莲, 卢芙蓉, 等. 温度对黄胸蓟马生长发育的影响[J]. 中国农学通报, 2011, 27(21): 296 - 300.
- [7] Fu B L, Qiu H Y, Li Q A, et al. Flower injection of imidacloprid and spirotetramat: a novel tool for the management of banana thrips *Thrips hawaiiensis* [J]. Journal of Pest Science, 2020, 93(3): 1073 - 1084.
- [8] Atakan E, Pehlivan S, Achiri T D. Pest status of the Hawaiian flower thrips, *Thrips hawaiiensis* (Morgan) (Thysanoptera: Thripidae) in lemons in the Mediterranean region of Turkey [J]. Phytoparasitica, 2021, 49(4): 513 - 525.
- [9] Fu B L, Li Q, Qiu H Y, et al. Oviposition, feeding preference, and biological performance of *Thrips hawaiiensis* on four host plants with and without supplemental foods [J]. Arthropod - Plant Interactions, 2019, 13(3): 441 - 452.
- [10] Cao Y, Reitz S R, Germinara G S, et al. Host preference of *Thrips hawaiiensis* for different ornamental plants [J]. Journal of Pest Science, 2022, 95(2): 761 - 770.
- [11] Murai T. Development and reproductive capacity of *Thrips hawaiiensis* (Thysanoptera: Thripidae) and its potential as a major pest [J]. Bulletin of Entomological Research, 2001, 91(3): 193 - 198.
- [12] Lin T, You Y, Zeng Z H, et al. Temperature - dependent demography of *Thrips hawaiiensis* (Thysanoptera: Thripidae): implications for prevention and control [J]. Environmental Entomology, 2021, 50(6): 1455 - 1465.
- [13] Morse J G, Hoddle M S. Invasion biology of thrips [J]. Annual Review of Entomology, 2006, 51: 67 - 89.
- [14] Lin T, Zeng Z H, Chen Y X, et al. Compatibility of six reduced - risk insecticides with *Orius strigicollis* (Heteroptera: Anthracoridae) predators for controlling *Thrips hawaiiensis* (Thysanoptera: Thripidae) pests [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021, 226: 112812.
- [15] 付步礼, 曾东强, 刘奎, 等. 蓟马类害虫抗药性研究进展 [J]. 农学报, 2014, 4(3): 28 - 34.
- [16] 林涛, 林硕, 陈艺欣, 等. 六种新烟碱类杀虫剂和三氟苯嘧啶对黄胸蓟马及南方小花蝽的选择毒性 [J]. 昆虫学报, 2022, 65(10): 1295 - 1305.
- [17] Fu B L, Qiu H Y, Li Q, et al. Analysis of seasonal and annual field - evolved insecticide resistance in populations of *Thrips hawaiiensis* in banana orchards [J]. Journal of Pest Science, 2019, 92(3): 1293 - 1307.
- [18] Leal W S. Odorant reception in insects: roles of receptors, binding proteins, and degrading enzymes [J]. Annual Review of Entomology, 2013, 58(1): 373 - 391.
- [19] Suh E, Bohbot J D, Zwiebel L J. Peripheral olfactory signaling in insects [J]. Current Opinion in Insect Science, 2014, 6: 86 - 92.
- [20] 吴帆, 张莉, 邱一蕾, 等. 昆虫嗅觉结合蛋白研究进展 [J]. 昆虫学报, 2021, 64(4): 523 - 535.
- [21] 万新龙, 杜永均. 昆虫嗅觉系统结构与功能研究进展 [J]. 昆虫学报, 2015, 58(6): 688 - 698.
- [22] Brito N F, Moreira M F, Melo A C A. A look inside odorant - binding proteins in insect chemoreception [J]. Journal of Insect Physiology, 2016, 95: 51 - 65.
- [23] Pikielny C W, Hasan G, Rouyer F, et al. Members of a family of drosophila putative odorant - binding proteins are expressed in different subsets of olfactory hairs [J]. Neuron, 1994, 12(1): 35 - 49.
- [24] Wanner K W, Willis L G, Theilmann D A, et al. Analysis of the insect OS - D - like gene family [J]. Journal of Chemical Ecology, 2004, 30(5): 889 - 911.
- [25] Lartigue A, Campanacci V, Roussel A, et al. X - ray structure and ligand binding study of a moth chemosensory protein [J]. Journal of Biological Chemistry, 2002, 277(35): 32094 - 32098.
- [26] McDonald M J, Rosbash M. Microarray analysis and organization of circadian gene expression in drosophila [J]. Cell, 2001, 107(5): 567 - 578.
- [27] Sabatier L, Jouanguy E, Dostert C, et al. Pherokine - 2 and - 3: two *Drosophila* molecules related to pheromone/odor - binding proteins induced by viral and bacterial infections [J]. European Journal of

姜 浩,裴晓东,李洋洋,等. 喷施吲哚乙酸与油菜素内酯对烤烟烟叶耐熟性的影响[J]. 江苏农业科学,2023,51(19):43-49.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.19.007

喷施吲哚乙酸与油菜素内酯对烤烟烟叶耐熟性的影响

姜 浩¹,裴晓东²,李洋洋³,肖汉乾³,张一扬¹

(1. 湖南农业大学农学院,湖南长沙 410128; 2. 湖南省烟草公司长沙市公司,湖南长沙 410000;
3. 湖南省烟草科学研究所,湖南长沙 410004)

摘要:为探究通过喷施外源性激素吲哚乙酸(IAA)、油菜素内酯(BR)对烤烟中部叶生理酶活性及颜色参数等耐熟性指标的影响,以云烟 87 为试验材料,于打顶当天叶面喷施 IAA 和 BR(T1:10 mg/kg BR;T2:20 mg/kg IAA;T3:10 mg/kg BR + 20 mg/kg IAA),以喷施清水为对照(CK),分析不同处理对烤烟中部叶叶绿素含量(以 SPAD 值计)、烟叶抗氧化酶(SOD、POD)活性、可溶性蛋白含量、丙二醛(MDA)含量及颜色参数的影响。结果表明,打顶后 30 d,相较于 CK,T3 处理可显著提升 SPAD 值(32.9%)和可溶性蛋白含量(26.9%),增强 POD(23.0%)和 SOD(31.1%)活性,降低烟叶 MDA(10.7%)含量。T3 处理烟叶颜色参数 L^* (4.3%)、 a^* (25.5%)、 b^* (5.7%)和 C^* (6.2%)显著低于 CK, H^* (2.8%)显著高于 CK。与单独喷施 IAA 和 BR 的处理相比,处理为 10 mg/kg BR + 20 mg/kg IAA 的综合喷施对提升烟叶耐熟性的效果更好。

关键词:烤烟;耐熟性;油菜素内酯;吲哚乙酸;颜色参数;生理指标

中图分类号:S572.04 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2023)19-0043-07

适宜的成熟度是保障烤后烟叶品质的重要条件之一。近年来,湖南地区(长沙)烤烟成熟期普遍存在高温高湿现象,烟叶田间耐熟性差,高温逼熟

致使烟叶成熟度下降,假熟烟烘烤后叶片品质降低,表现为糖/碱失调、结构厚重、油分偏少、颜色暗淡、淀粉偏高、浓香型风格特征不稳定等相关质量问题^[1]。

油菜素内酯(brassinosteroids, BR)是一类具有高生理活性的植物生长调节剂^[2],在植物生长发育的各时期均能起到调控作用,可作为抗氧化剂,提高植物体内抗氧化酶活性,促使细胞壁变得柔软松弛^[3],从而加快细胞生长,促进细胞分裂。闫慧萍等的研究表明,玉米种子通过 24-表油菜素内酯

收稿日期:2023-01-11

基金项目:中国烟草总公司湖南省公司重点项目(编号:HN2022KJ06);湖南省烟草公司长沙市烟草公司项目(编号:2018430100270154)。

作者简介:姜 浩(1997—),男,内蒙古赤峰人,硕士研究生,主要从事烟草栽培与生理研究。E-mail:748502901@qq.com。

通信作者:张一扬,副研究员,主要从事烟草栽培与品质化学研究。E-mail:cnhnscs@163.com。

Biochemistry,2003,270(16):3398-3407.

[28] Stathopoulos A, van Drenth M, Erives A, et al. Whole-genome analysis of dorsal-ventral patterning in the *Drosophila* embryo[J]. Cell,2002,111(5):687-701.

[29] Forêt S, Wanner K W, Maleszka R. Chemosensory proteins in the honey bee:insights from the annotated genome,comparative analyses and expressional profiling[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology,2007,37(1):19-28.

[30] Zhu J, Iovinella I, Dani F R, et al. Chemosensory proteins: a versatile binding family[M]//Picimbon J F. Olfactory concepts of insect control-alternative to insecticides. Cham: Springer, 2019: 147-169.

[31] Liu Y Q, Luo Y N, Du L X, et al. Antennal transcriptome analysis of olfactory genes and characterization of odorant binding proteins in *Odontothrips loti* (Thysanoptera: Thripidae) [J]. International

Journal of Molecular Sciences,2023,24(6):5284.

[32] Li X W, Cheng J H, Chen L M, et al. Comparison and functional analysis of odorant-binding proteins and chemosensory proteins in two closely related thrips species, *Frankliniella occidentalis* and *Frankliniella intonsa* (Thysanoptera: Thripidae) based on antennal transcriptome analysis [J]. International Journal of Molecular Sciences,2022,23(22):13900.

[33] 刘宇艳,王 谅,张祥琴,等. 黄胸蓟马触角感器的形态和分布[J]. 昆虫学报,2021,64(4):498-509.

[34] Chen Y, Liu Y Y, Wang L A, et al. The infection route of tomato zoonate spot virus in the digestive system of its insect vector *Frankliniella occidentalis* [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13:911751.

[35] 郑宽瑜,董家红,方 琦,等. 胶体金免疫电镜技术检测番茄环纹斑点病毒[J]. 电子显微学报,2015,34(1):67-70.