



# 褐飞虱成虫不同密度和取食时长胁迫下水稻植株的生理生化响应

赵文华, 杨光梅, 刘雨芳\*

(湖南科技大学生命科学与健康学院, 湘潭 411201)

**摘要:**【目的】探索褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 不同密度与取食时长胁迫下水稻植株生理生化响应。【方法】在褐飞虱成虫 3 个密度(2, 4 和 8 头/株)与 4 个取食时长(6, 24, 48 和 96 h)的组合处理后,应用生物化学分析方法检测水稻植株中叶绿素(chlorophyll, Chl)与总蛋白(total protein, TP)含量,脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)、总超氧化物歧化酶(total superoxide dismutase, T-SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)与多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)活性。【结果】与对照组(未接种褐飞虱成虫)相比,取食 6 h 时,低密度(2 头/株)褐飞虱成虫引起水稻植株中 Chl 含量显著降低,TP 含量和 PPO 活性显著升高;高密度(8 头/株)褐飞虱成虫引起水稻植株中 Chlb 和总 Chl 含量、TP 含量及 LOX 和 POD 活性显著升高。与对照组相比,取食 24 h 时,低密度褐飞虱成虫引起水稻植株中 Chl 含量和 PPO 活性显著降低,LOX, T-SOD 和 POD 活性显著升高,高密度褐飞虱成虫引起水稻植株中 Chl 含量和 PPO 活性显著升高,T-SOD 和 POD 活性显著降低。与对照组相比,褐飞虱成虫取食 48 h 时,低和中(4 头/株)密度组水稻植株中 Chl 含量及 T-SOD 和 POD 活性显著降低,TP 含量显著升高;取食 96 h 时,高密度组水稻植株中 Chl 含量和 T-SOD 活性显著降低,TP 含量和 POD 活性显著升高。【结论】褐飞虱成虫不同密度与不同时间的取食胁迫均引起水稻植株中 Chl 与 TP 含量,及 LOX, PPO, T-SOD 和 POD 活性的变化,变化强度与响应时间因褐飞虱成虫取食密度不同有明显差异。

**关键词:** 褐飞虱; 取食胁迫; 水稻; 诱导反应; 酶活性

中图分类号: Q968 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2023)02-0150-08

## Physiological and biochemical responses of rice plants to the stress imposed by different densities of the adult brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae) for different time

ZHAO Wen-Hua, YANG Guang-Mei, LIU Yu-Fang\* (College of Life Science and Health, Hunan University of Science and Technology, Xiangtan 411201, China)

**Abstract:** 【Aim】The purpose of this study is to explore the physiological and biochemical responses in rice plants to the stress imposed by different densities of the adult brown planthopper (BPH), *Nilaparvata lugens* for different time. 【Methods】The contents of chlorophyll (Chl) and total protein (TP), and the activities of lipoxygenase (LOX), total superoxide dismutase (T-SOD), peroxidase (POD) and polyphenol oxidase (PPO) in rice plants fed by *N. lugens* adults at the densities of 2, 4 and 8 individuals/plant for 6, 24, 48 and 96 h were tested by biochemical methods. 【Results】At 6 h after being fed by *N. lugens* adults at the low density (2 individuals/plant), the Chl content in rice plants decreased significantly and the TP content and PPO activity in rice plants increased significantly, while

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFD0200400)

作者简介: 赵文华, 女, 1992 年 5 月生, 河南焦作人, 硕士研究生, 研究方向为昆虫生态学与害虫综合防治, E-mail: 1458099491@qq.com

\* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: yfliu2011@126.com

收稿日期 Received: 2022-04-19; 接受日期 Accepted: 2022-06-06

the Chlb and total Chl contents, TP content and activities of LOX and POD in rice plants at 6 h after being fed by *N. lugens* adults at the high density (8 individuals/plant) increased significantly as compared to those in the control group non-inoculated with *N. lugens* adults. Compared to the control group, the stress imposed by low density of *N. lugens* adults resulted in significantly reduced Chl content and PPO activity, and significantly enhanced activities of LOX, T-SOD and POD in rice plants, and that imposed by high density of *N. lugens* adults caused significantly increased Chl content and PPO activity, and significantly decreased activities of T-SOD and POD in rice plants at 24 h. In rice plants fed by *N. lugens* adults at the low density and medium density (4 individuals/plant), the Chl content and activities of T-SOD and POD decreased significantly, and the TP content significantly enhanced at 48 h, while in rice plants fed by *N. lugens* adults at the high density, the Chl content and T-SOD activity significantly reduced and the TP content and POD activity increased significantly at 96 h, as compared to those in the control group. 【Conclusion】The stress imposed by different densities of *N. lugens* adults for different time induces changes in the contents of Chl and TP, and activities of LOX, PPO, T-SOD and POD. The change intensity and response time are obviously different due to the feeding density of *N. lugens* adults.

**Key words:** *Nilaparvata lugens*; feeding stress; *Oryza sativa*; induced reaction; enzyme activity

水稻 *Oryza sativa* 为世界上最重要的粮食作物, 是全球一半以上人口的主要食物来源。水稻生产常遭受多种害虫为害而导致严重减产 (Sujithra *et al.*, 2011; Cheah *et al.*, 2020; Liao *et al.*, 2021), 褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 是重要水稻害虫之一 (刘雨芳等, 2019, 2020, 2021)。褐飞虱为典型刺吸式口器昆虫, 主要通过直接刺吸取食伤害、雌成虫产卵刺伤水稻的茎叶组织、破坏水稻输导组织及传播水稻草状丛矮病病毒、齿叶矮缩病病毒诱发水稻病害等方式危害水稻 (Wang *et al.*, 2008; 刘裕强, 2009)。有时褐飞虱传播病害所造成的损失远大于直接取食 (Nakashima and Noda, 1995)。褐飞虱还是典型跨纬度远距离迁飞性重大害虫, 每年由虫源地迁到我国两广南部和南岭地区、再迁到南岭以北至长江中下游地区, 其暴发为害严重威胁到我国水稻安全生产 (翟保平和程家安, 2006; 刘瑞莹等, 2018)。2020 年褐飞虱被列入我国一类农作物虫害名录。

昆虫取食刺激可引起植物体内许多化合物含量和酶活性改变, 如引起多酚氧化酶 (polyphenol oxidase, PPO)、脂氧合酶 (lipoxygenase, LOX) 与过氧化物酶 (peroxidase, POD) 等抗氧化酶活性增强 (Tscharntke *et al.*, 2001); 超高密度褐飞虱取食引起水稻总超氧化物歧化酶 (total superoxide dismutase, T-SOD) 活性增加、叶绿素 (chlorophyll, Chl) 含量降低 (陈建明等, 2003)。已有研究大多为植物对于植食性昆虫取食胁迫后的直接与间接的防御机制 (Madhava *et al.*, 2006; Zhou *et al.*, 2011)、不同品种植物受单一虫害后生理指标响应差异 (陈建明等,

2003)、单一昆虫取食不同品种后对水稻的耐性差异比较 (陈建明, 2004)、不同昆虫取食单一时长后植物的差异响应 (李静等, 2011)、抗性鉴定和抗性机理的研究 (陈建明等, 2003) 等。这些研究设置的密度很高, 取食时间相对较长而固定, 针对不同密度 (特别是较低密度下)、不同取食时长的褐飞虱为害后, 水稻的生理生化指标响应尚少有报道。

本研究通过测定不同密度褐飞虱取食不同时长后, 水稻叶绿素、总蛋白 (total protein, TP) 含量以及重要的生理生化酶活性的变化, 了解褐飞虱为害密度、取食时长与各生理生化指标变化间的关系, 为进一步探究褐飞虱低密度为害诱导的抗虫性适应与中后期灾变机理提供基础理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 水稻品种与培育:** 实验品种为籼型常规稻黄华占, 购自湖南省湘潭市种子分公司; 感虫品种 TN1, 由湖南农业科学院植物保护所提供。种子经催芽后, 在直径 6.5 cm、高 9.0 cm 培苗瓶中培养, 10 d 后移入直径 14.5 cm、高 20 cm 的玻璃杯中, 每杯移 1 株, 45 d 后接虫。培苗温度 ( $26 \pm 1$ ) °C、相对湿度  $85\% \pm 5\%$ 、光周期 14L: 10D (Shi *et al.*, 2019)。

**1.1.2 褐飞虱种群来源与繁殖:** 褐飞虱种群来源于华中农业大学植物科技学院实验室, 于室内用 TN1 扩繁后用于实验。繁殖温度 ( $26 \pm 1$ ) °C、相对湿度  $85\% \pm 5\%$ 、光周期 14L: 10D (Shi *et al.*, 2019)。

**1.1.3 褐飞虱密度与取食时长检测:** 用褐飞虱羽化

后 2–5 d 的成虫,接虫前饥饿处理 2 h(周国艳等, 2014);密度设 0, 2, 4 和 8 头/株,分别代表对照组、低密度组、中密度组与高密度组。取食时长设置 6, 24, 48 和 96 h(Cheah *et al.*, 2020)。各处理均设 3 次生物学重复。

## 1.2 供试试剂

检测受试水稻的叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素与总蛋白含量,及检测 T-SOD, POD 与 PPO 活性的试剂盒购自南京建成生物工程研究所,检测 LOX 活性的试剂盒购自苏州科铭生物技术有限公司。试剂 1、试剂 2、试剂 3 和试剂 4 均为相应试剂盒中提供的封装试剂及编号。

## 1.3 叶绿素含量的测定

每样称取 0.1 g 水稻苗茎叶混合材料,将其置于预冷的研钵中迅速研磨后置于 15 mL 离心管中,加入 1 mL 蒸馏水与 0.05 g 试剂 1,用提取液(丙酮:无水乙醇 = 2:1, v/v)冲洗研钵,并将冲洗液转入 15 mL 离心管,用提取液定容至 5 mL;混匀后避光反应 5 h。经 4 000 r/min 4 °C 离心 10 min 后取上清液检测。上清液用提取液稀释 5 倍,分别于 645 与 663 nm 处测 OD 值。叶绿素含量计算公式为:

$$\text{叶绿素 a 含量 (mg/g FW)} = \frac{(12.7 \times \text{OD}_{663} - 2.69 \times \text{OD}_{645}) \times V \times N}{1\,000 \times \text{样品重量 (g)}};$$

$$\text{叶绿素 b 含量 (mg/g FW)} = \frac{(22.9 \times \text{OD}_{645} - 4.68 \times \text{OD}_{663}) \times V \times N}{1\,000 \times \text{样品重量 (g)}};$$

$$\text{总叶绿素含量 (mg/g FW)} = \frac{(20.21 \times \text{OD}_{645} + 8.02 \times \text{OD}_{663}) \times V \times N}{1\,000 \times \text{样品重量 (g)}}。$$

上 3 式中  $V$  为提取液体积(5 mL),  $N$  为比色前稀释倍数(稀释 5 倍)。

## 1.4 TP 含量的测定

每样称取 0.1 g 水稻苗的茎叶混合材料,将其移入 1.5 mL EP 管中,加生理盐水 0.9 mL,加  $\Phi$  2 mm 钢珠于 30 Hz 下匀浆 190 s 后,2 500 r/min 4 °C 离心 10 min,取上清液并用生理盐水按 1:9 (v/v) 稀释制定样品待测液。取考马斯亮蓝显色液 3 mL,分别加双蒸水、蛋白标准样品与样品待测液 0.05 mL,配制空白管、标准管和样品管,混匀后室温放置 10 min,于 595 nm 处测 OD 值。TP 含量计算公式为:

$$\text{TP 含量 (g/L)} = \frac{(\text{样品 OD 值} - \text{空白 OD 值})}{(\text{标准品 OD 值} - \text{空白 OD 值})} \times$$

标准品浓度 (g/L)  $\times$  样品测试前稀释倍数。Downloaded from <https://cabidigitallibrary.org/> on 06/25/24. 离心

## 1.5 酶的提取和活性的测定

**1.5.1 LOX 活性检测:**每样称取 0.1 g 水稻苗茎叶混合材料,将其置于 1 mL 的试剂 1 中,加  $\Phi$  2 mm 钢珠于 30 Hz 下匀浆 190 s 后 16 000 r/min 4 °C 离心 20 min;取上清液配制对照管(样品上清液 100  $\mu$ L + 900  $\mu$ L 试剂 2)和样品管(样品上清液 100  $\mu$ L + 900  $\mu$ L 试剂 3),于 30 °C 水浴 30 min 后于 280 nm 处测 OD 值。LOX 活性计算公式为:

$$\text{LOX 活性 (U/g)} = \frac{(\text{样品 OD 值} - \text{对照 OD 值}) \times \text{反应总体积 (mL)}}{\text{样品质量 (g)} \times \text{样品体积 (mL)} \div \text{样品总体积 (mL)}} \div \text{反应时间 (min)} \times 100。$$

**1.5.2 PPO 活性检测:**每样称取 0.1 g 水稻苗茎叶混合材料,将其置于 1 mL 的试剂 1 中,加  $\Phi$  2 mm 钢珠于 30 Hz 下匀浆 190 s,8 000 r/min 4 °C 离心 10 min,取一半上清液沸水浴 5 min,以试剂盒提供的试剂 2 缓冲液 600  $\mu$ L + 150  $\mu$ L 试剂 3 基质液 + 150  $\mu$ L 煮沸上清液配制对照管;试剂 2 缓冲液 600  $\mu$ L + 150  $\mu$ L 试剂 3 基质液 + 150  $\mu$ L 上清液配制样品管,37 °C 水浴 10 min 后,立即转大于 90 °C 水浴 5 min,流水冷却,10 000 r/min 4 °C 离心 10 min 后于 420 nm 处测 OD 值。PPO 活性计算公式为:

$$\text{PPO 活性 (U/g)} = \frac{\text{样品 OD 值} - \text{对照 OD 值}}{0.01} \times \frac{\text{提取液体积 (mL)}}{\text{组织湿重 (g)}} \times \frac{\text{反应液总体积 (mL)}}{\text{取样量 (mL)}} \times \frac{1 \text{ mL}}{\text{反应液总体积 (mL)}} \div \text{反应时间 (min)}。$$

**1.5.3 T-SOD 活性检测:**每样称取 0.1 g 水稻苗茎叶混合材料,将其置于缓冲液 0.4 mL 中,加  $\Phi$  2 mm 钢珠于 30 Hz 下匀浆 190 s,3 500 r/min 离心 10 min 后取上清液后配制对照管和样品管(对照管:试剂 1 1 mL + 试剂 2 0.1 mL + 双蒸水 0.05 mL + 试剂 3 0.1 mL + 试剂 4 应用液 0.1 mL;样品管:试剂 1 1 mL + 试剂 2 0.1 mL + 上清液 0.05 mL + 试剂 3 0.1 mL + 试剂 4 应用液 0.1 mL),混匀后 37 °C 水浴 40 min,分别加入显色剂 2 mL 混匀后室温放置 10 min,于 550 nm 处测 OD 值。SOD 活性计算公式为:

$$\text{T-SOD 活性 (U/g)} = \frac{\text{对照 OD 值} - \text{样品 OD 值}}{\text{对照 OD}} \div 50\% \times \frac{\text{反应液总体 (mL)}}{\text{取样量 (mL)}} \div \frac{\text{组织湿重 (g)}}{\text{匀浆介质体积 (mL)}}。$$

**1.5.4 POD 活性检测:**每样称取 0.1 g 水稻苗茎叶混合材料,将其置于生理盐水 0.9 mL 中,加  $\Phi$  2 mm 钢珠于 30 Hz 下匀浆 190 s,2 500 r/min 离心

10 min 后取上清后配制对照管和样品管(对照管: 试剂 1 2.4 mL + 试剂 2 应用液 0.3 mL + 双蒸水 0.2 mL + 上清液 0.1 mL; 样品管: 试剂 1 2.4 mL + 试剂 2 应用液 0.3 mL + 试剂 3 应用液 0.2 mL + 上清液 0.1 mL), 37 °C 水浴 30 min 后分别加入试剂 4 1 mL, 混匀 3 500 r/min 4 °C 离心 10 min 后于 420 nm 处测 OD 值。POD 活性计算公式为:

$$\text{POD 活性 (U/g)} = \frac{\text{样品 OD 值} - \text{对照 OD 值}}{12 \times \text{比色光径 (cm)}} \times \frac{\text{反应液总体积 (mL)}}{\text{取样量 (mL)}} \div \text{反应时间 (min)} \div \frac{\text{组织湿重 (g)}}{\text{匀浆介质体积 (mL)}} \times 1000。$$

## 1.6 数据分析

用 Excel 2010 完成计算和作图, 用 Origin Pro 2021 的 Fisher 氏 LSD 多重比较法进行差异显著性分析。

## 2 结果

### 2.1 叶绿素含量的变化

被不同密度褐飞虱成虫取食 6 h 时, 低密度组(2 头/株)和中密度组(4 头/株)水稻植株中叶绿素

含量较对照组(未接种褐飞虱)均极显著降低( $P < 0.01$ ), 高密度组(8 头/株)水稻植株叶绿素 a 含量较对照组极显著下降( $P < 0.01$ ), 叶绿素 b 与总叶绿素含量均升高且分别极显著高于对照组( $P < 0.01$ ); 被取食 24 h 时, 高密度组水稻植株叶绿素 a、叶绿素 b 与总叶绿素含量均升高且极显著高于对照组、中密度组(4 头/株)与低密度组(2 头/株)( $P < 0.01$ )的, 低密度组与中密度组水稻叶绿素 a、叶绿素 b 与总叶绿素含量降低, 且低密度组的叶绿素 a、叶绿素 b 含量显著低于对照组的( $P < 0.05$ ), 总叶绿素含量极显著低于对照组的( $P < 0.01$ ), 中密度组水稻叶绿素 a、叶绿素 b 与总叶绿素含量均极显著低于对照组的( $P < 0.01$ ); 被取食 48 h 时, 低、中褐飞虱密度组的叶绿素 a、叶绿素 b 与总叶绿素含量均极显著低于对照组的( $P < 0.01$ ), 高密度组叶绿素 a 与总叶绿素含量均极显著低于对照组的, 但叶绿素 b 含量极显著高于对照组的( $P < 0.01$ ); 被取食 96 h 时, 低密度组水稻植株中叶绿素 a、叶绿素 b 与叶绿素总含量均升高且极显著高于对照组与中、高密度组的( $P < 0.01$ ), 中、高密度组叶绿素 a、叶绿素 b 与总叶绿素含量均极显著低于对照组的( $P < 0.01$ )(表 1)。

表 1 褐飞虱成虫不同密度和取食时长胁迫下水稻植株中叶绿素含量(mg/g FW)  
Table 1 Chlorophyll contents(mg/g FW) in rice plants fed by different densities of *Nilaparvata lugens* adults for different time

参数 Parameters	褐飞虱密度(头/株) Density of <i>N. lugens</i> (individuals/plant)	取食时间 Feeding time(h)			
		6	24	48	96
叶绿素 a 含量 Chlorophyll a content	0 (CK)	1.83 ± 0.08 Aa	0.80 ± 0.00 Bb	2.25 ± 0.01 Aa	0.64 ± 0.00 Bb
	2	0.36 ± 0.01 Dd	0.60 ± 0.00 Bc	0.39 ± 0.00 Dd	1.22 ± 0.00 Aa
	4	0.64 ± 0.00 Cc	0.37 ± 0.00 Cd	1.66 ± 0.01 Bb	0.41 ± 0.00 Dd
	8	1.41 ± 0.00 Bb	2.06 ± 0.01 Aa	1.35 ± 0.00 Cc	0.52 ± 0.00 Cc
叶绿素 b 含量 Chlorophyll b content	0 (CK)	0.60 ± 0.01 Bb	0.23 ± 0.00 Bb	0.72 ± 0.01 Bb	0.17 ± 0.00 Bb
	2	0.11 ± 0.01 Dd	0.19 ± 0.00 Bc	0.12 ± 0.00 Dd	0.32 ± 0.00 Aa
	4	0.18 ± 0.00 Cc	0.15 ± 0.01 Cd	0.63 ± 0.02 Cc	0.10 ± 0.00 Cd
	8	1.55 ± 0.00 Aa	0.73 ± 0.02 Aa	0.78 ± 0.00 Aa	0.13 ± 0.00 Cc
总叶绿素含量 Total chlorophyll content	0(CK)	2.43 ± 0.16 Bb	1.03 ± 0.01 Bb	2.98 ± 0.03 Aa	0.81 ± 0.00 Bb
	2	0.47 ± 0.01 Dd	0.79 ± 0.01 Cc	0.51 ± 0.00 Dd	1.54 ± 0.00 Aa
	4	0.81 ± 0.00 Cc	0.52 ± 0.02 Dd	2.29 ± 0.05 Bb	0.50 ± 0.00 Dd
	8	2.96 ± 0.01 Aa	2.79 ± 0.04 Aa	2.12 ± 0.01 Cc	0.65 ± 0.00 Cc

CK: 未接种褐飞虱成虫 Non-inoculated with *N. lugens* adults. 表中数据为平均值 ± 标准误; 相同指标的同列后标有不同小写和大写字母分别表示不同密度间差异显著( $P < 0.05$ ) 和极显著( $P < 0.01$ ) (Fisher 氏 LSD 检验)。Data in the table are mean ± SE. Different small and capital letters following the same parameter in the same column indicate significant difference ( $P < 0.05$ ) and extremely significant difference ( $P < 0.01$ ), respectively, among different densities by Fisher's LSD test.

### 2.2 TP 含量的变化

被不同密度褐飞虱成虫取食 6 h 时, 3 个褐飞虱密度组水稻植株中 TP 含量均极显著高于对照组的( $P < 0.01$ ), 且高密度组(8 头/株)TP 含量极显著

高于低密度组(2头/株)与中密度组(4头/株)的( $P < 0.01$ ),低、中密度组间的无显著差异( $P > 0.05$ );被取食24h时,中密度组水稻植株中TP含量最高且极显著高于高密度组的( $P < 0.01$ ),略高于低密度组和对照组的,但无显著差异( $P > 0.05$ ),高密度组水稻植株中TP含量最低,显著低于低密度组与中密度组的( $P < 0.05$ ),略低于对照组的,但无显著差异( $P > 0.05$ );被取食48h时,低密度组与中密度组水稻植株TP含量均极显著高于对照组与高密度组TP含量( $P < 0.01$ ),高密度组的略低于对照组的,但无显著差异( $P > 0.05$ );被取食96h时,高密度组水稻植株TP含量极显著高于对照组与低密度组的( $P < 0.01$ ),显著高于中密度组的( $P < 0.05$ ),低密度组、中密度组TP含量略高于对照组的,但无显著差异( $P > 0.05$ )(图1)。

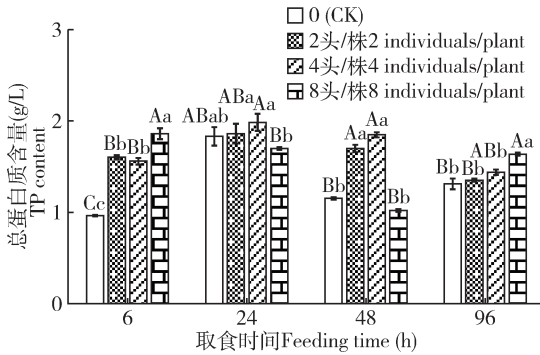


图1 褐飞虱成虫不同密度和取食时长胁迫下水稻植株中总蛋白质含量

Fig. 1 Total protein (TP) contents in rice plants fed by different densities of *Nilaparvata lugens* adults for different time

CK: 未接种褐飞虱成虫 Non-inoculated with *N. lugens* adults. 图中数据为平均值 ± 标准误差; 相同取食时间柱上标有不同小写和大写字母者分别表示差异显著 ( $P < 0.05$ ) 和极显著 ( $P < 0.01$ ) Fisher氏 LSD 检验)。Data in the table are mean ± SE. Different small and capital letters above bars at the same time indicate significant difference ( $P < 0.05$ ) and extremely significant difference ( $P < 0.01$ ), respectively, by Fisher's LSD test. 下图同。The same for the following figures.

### 2.3 LOX 活性的变化

被不同密度褐飞虱成虫取食6h时,水稻植株中LOX活性表现为低密度组(2头/株)的略高于对照组的,中密度组(4头/株)的略低于对照组的,但均无显著差异( $P > 0.05$ ),但低密度组的显著高于中密度组的( $P < 0.05$ ),高密度组的极显著升高,且均极显著高于低、中密度组及对照组的( $P < 0.01$ );被取食24h时,水稻植株中LOX活性表现为低密度组的分别极显著高于中、高密度组与对照组的

( $P < 0.01$ ),中密度组的略低于对照组的,高密度组的略高于中密度组与对照组的,均无显著差异( $P > 0.05$ );被取食48h时,各密度组水稻LOX活性均略高于对照组的,但各组间LOX活性均无显著性差异( $P > 0.05$ );被取食96h时,水稻植株中LOX活性表现为低密度组的均极显著高于中、高密度组和对照组的( $P < 0.01$ ),中、高密度组的略低于对照组的,均无显著差异( $P > 0.05$ )(图2)。

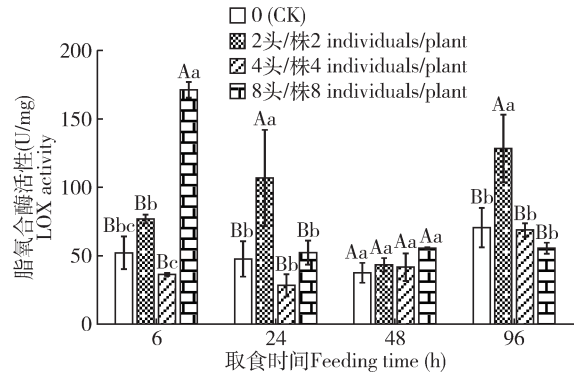


图2 褐飞虱成虫不同密度和取食时间胁迫下水稻植株中的脂氧合酶活性

Fig. 2 Lipoxigenase (LOX) activities in rice plants fed by different densities of *Nilaparvata lugens* adults for different time

### 2.4 PPO 活性的变化

被不同密度褐飞虱成虫取食6h时,低密度组(2头/株)水稻植株中PPO活性极显著高于对照组、中密度组(4头/株)和高密度组(8头/株)的( $P < 0.01$ ),中密度组的显著低于对照组的( $P < 0.05$ ),高密度组的略低于对照组的,且略高于中密度组的,但均无显著差异( $P > 0.05$ );被取食24h时,3个褐飞虱密度组水稻植株中的PPO活性均低于对照组的,且低、中密度组与对照组比较PPO活性差异极显著( $P < 0.01$ ),高密度组与对照组比较PPO活性差异显著( $P < 0.05$ );被取食48h时,低密度组水稻植株中PPO活性略低于对照组的,差异不显著( $P > 0.05$ ),中密度组PPO活性极显著低于对照组的( $P < 0.01$ ),高密度组PPO活性显著低于对照组的( $P < 0.05$ );被取食96h时,3个密度组水稻植株中PPO活性略低于或略高于对照组的,但组间均无显著差异( $P > 0.05$ )(图3)。

### 2.5 T-SOD 活性的变化

被不同密度褐飞虱成虫取食6h时,3个密度组水稻植株中T-SOD活性略高于或略低于对照组的,但均无显著差异( $P > 0.05$ ),但低密度组(2头/株)

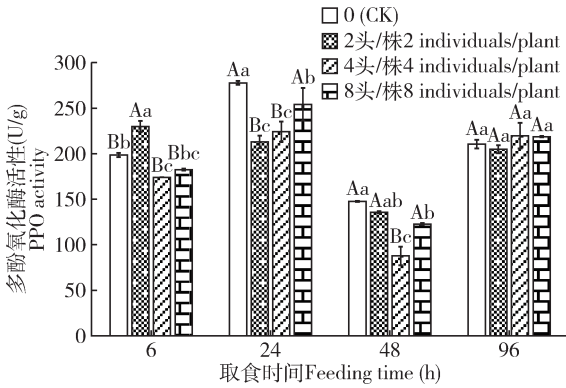


图3 褐飞虱不同密度和取食时间胁迫下水稻植株中的多酚氧化酶活性

Fig. 3 Polyphenol oxidase (PPO) activities in rice plants fed by different densities of *Nilaparvata lugens* adults for different time

的水稻 T-SOD 活性极显著高于中密度组的(4 头/株) ( $P < 0.01$ ); 被取食 24 h 时, 低密度组水稻植株中 T-SOD 活性极显著高于对照组、中密度组与高密度组的(8 头/株), 中、高密度组 T-SOD 活性均极显著低于对照组的 ( $P < 0.01$ ), 中密度组又显著低于高密度组的 ( $P < 0.05$ ); 被取食 48 与 96 h 时, 3 个密度组水稻植株 T-SOD 活性均低于对照组的, 其中低密度组的显著低于对照组的 ( $P < 0.05$ ), 中、高密度组的极显著低于对照组的 ( $P < 0.01$ ), 但 3 个密度组间 T-SOD 活性均无显著差异 ( $P > 0.05$ ) (图 4)。

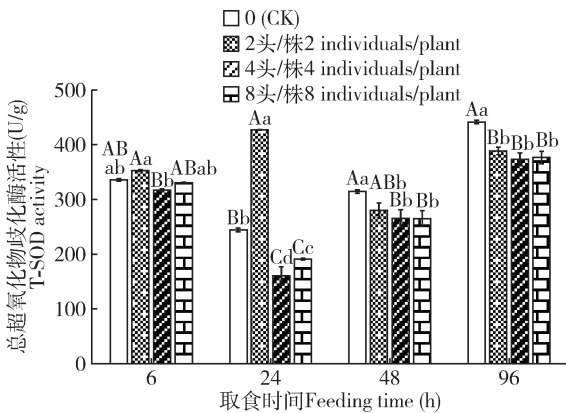


图4 褐飞虱成虫不同密度和取食时间胁迫下水稻植株中的总超氧化物歧化酶活性

Fig. 4 Total superoxide dismutase (T-SOD) activities in rice plants fed by different densities of *Nilaparvata lugens* adults for different time

## 2.6 POD 活性的变化

被不同密度褐飞虱成虫取食 6 h 时, 水稻植株中 POD 活性表现为中密度组(4 头/株)的最高, 且

极显著高于低密度组(2 头/株)和对照组的 ( $P < 0.01$ ), 显著高于高密度组(8 头/株)的 ( $P < 0.05$ ); 高密度组的显著高于低密度组和对照组的 ( $P < 0.05$ ); 低密度组的略高于对照组的, 但无显著差异 ( $P > 0.05$ )。被取食 24 h 时, 水稻植株中 POD 活性在低密度组最高, 显著高于中密度组的 ( $P < 0.05$ ), 极显著高于高密度组和与对照组的 ( $P < 0.01$ ), 中密度组的极显著高于对照组与高密度组的 ( $P < 0.05$ ), 高密度组 POD 活性最低, 且极显著低于对照组的 ( $P < 0.01$ )。被取食 48 h 时, 3 个褐飞虱密度组的水稻植株中 POD 活性均低于对照组的, 其中低、中密度组的极显著低于对照组的 ( $P < 0.01$ ), 高密度组的与对照组的无显著差异 ( $P > 0.05$ )。被取食 96 h 时, 高密度组 POD 活性最高, 且低密度组 POD 活性显著高于对照组的 ( $P < 0.05$ ), 中密度组 POD 活性略高于对照组的, 但无显著差异 ( $P > 0.05$ ) (图 5)。

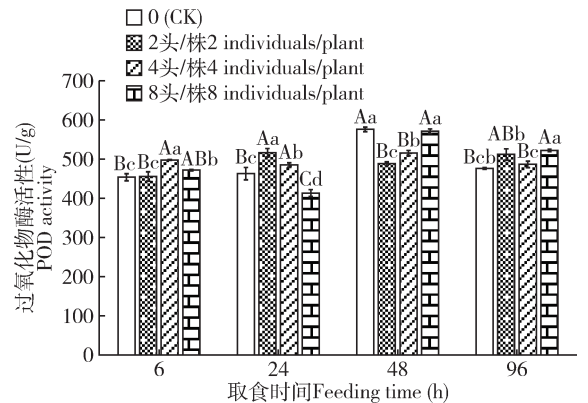


图5 褐飞虱成虫不同密度和取食时间胁迫下水稻植株中的过氧化物酶活性

Fig. 5 Peroxidase (POD) activities in rice plants fed by different densities of *Nilaparvata lugens* adults for different time

## 3 结论与讨论

褐飞虱成虫不同密度与不同时间的取食胁迫均引起水稻植株中叶绿素与 TP 含量, 及 LOX, PPO, T-SOD 和 POD 活性的变化, 且变化强度与响应时间因褐飞虱成虫取食密度不同有明显差异 (表 1; 图 1-5)。低密度褐飞虱成虫短时间取食就可引起叶绿素含量显著降低 (表 1), 这与陈建明等 (2003) 的研究结果相一致。褐飞虱取食危害导致叶片叶绿素崩解 (Watanabe and Kitagawa, 2000)。高密度褐飞虱成虫取食, 在短时间内也引起水稻叶绿素含量显著

升高,但随取食时间延长叶绿素含量显著降低(表1),这与受褐飞虱危害后稻株叶绿含量显著下降的结论(陈建明等,2003)有一定差异,可能与所用褐飞虱密度与取食时长不同、及水稻品种间存在差异有关,而高密度褐飞虱成虫取食在短时间内可能引起水稻发生应激反应及其他健康叶片产生补偿作用,从而比低密度胁迫先出现代谢补偿性升高现象。

褐飞虱成虫取食在短时间内可引起水稻植株中TP含量显著升高,随着取食时间延长或取食密度的增加,水稻植株中TP含量降低(图1),与陈建明等(2003)对褐飞虱研究的结果一致,但这种变化出现时间与强度,与褐飞虱成虫危害密度与取食时间有关。褐飞虱短时间取食刺激可能会刺激水稻产生应激反应,诱导某些蛋白质的高表达,加强其蛋白质合成以供生理代谢需要,而随着取食密度的增加与取食时间延长,蛋白质合成受阻(周国艳,2014)。

LOX作为十八烷酸通路中的关键酶,在信号识别与转导中起着重要作用(Howe and Jander,2008)。本研究发现,高密度褐飞虱成虫取食6h和低密度褐飞虱取食24h引起水稻植株中LOX活性极显著升高,在取食48h时基本恢复正常(图2),这与刘裕强等(2005)对褐飞虱的研究和赵文华等(2022)对黑尾叶蝉 *Nephotettix cincticeps* 的研究结果一致。由于褐飞虱刺吸造成了水稻植株膜脂过氧化,而初期LOX活性的快速升高使得底物减少而导致LOX活性逐渐下降。

低密度褐飞虱成虫取食初期引起PPO活性显著升高,随着取食时间延长PPO活性显著降低并逐渐恢复到对照水平;中、高密度褐飞虱成虫取食48h内引起水稻植株中PPO活性显著降低,水稻被取食96h时恢复到对照水平(图3)。这表明低密度褐飞虱成虫取食能够诱导水稻PPO活性升高,这与郭祖国等(2018)结果一致,随时间延长PPO清除了多余的氧自由基,酶活性恢复到正常水平;而高密度取食在短时间内即引起水稻受损,并导致PPO活性调控系统失衡,随着时间延长PPO活性调控系统得以恢复,PPO活性恢复到正常水平。

低密度褐飞虱成虫取食24h引起水稻植株T-SOD活性显著升高,但96h时水稻植株中T-SOD活性表现为极显著降低;中高密度褐飞虱的取食刺激均导致水稻植株中T-SOD活性极显著降低(图4),这与王元翔等(2008)对稻纵卷叶螟 *Cnaphalocrocis medinalis* 取食的研究结果一致。SOD活性升高,可高效去除细胞内的自由基。但当自由基积累到一定

量后,膜脂严重受损,使得机体内蛋白合成受阻,也影响了SOD基因表达,从而导致SOD活性降低(陈建明等,2003)。

中密度褐飞虱成虫取食6h时以及低密度褐飞虱成虫取食24h时,水稻POD活性极显著升高;高密度褐飞虱成虫取食24h时,水稻植株中POD活性显著降低,但在被取食96h时极显著升高(图5)。短期取食刺激可激活水稻的防御系统,产生高活性的POD以清除多余的氧自由基以维持细胞内部平衡、缓解逆境对植物的迫害(Mittler,2002)。随着取食时长和密度的增加,水稻对虫害产生一定适应性,POD活性降低。但当取食密度或取食时长进一步增加后,受虫害取食的叶片通过某种机制将植株叶片受害的信号传递给健康叶片,并诱导健康叶片提高POD活性以抵御虫害导致的不利影响导致POD活性再次增强。

虽然水稻的生理代谢活动,随着褐飞虱成虫密度与取食时长的不同,呈现明显的动态性与差异性,但均表现了明显的变化,特别是检测到褐飞虱成虫在非常低密度下的取食胁迫,水稻发生了肉眼难以觉察与辨识的抗虫适应性生理响应,这对于进一步探究褐飞虱迁入入田初期低密度取食诱导水稻抗虫适应性特征、及时了解其低密度危害、预警中后期灾变可能性及机理等方面具有重要意义。

## 参考文献 (References)

- Cheah BH, Lin HH, Chien HJ, Liao CT, Liu LYD, Lai CC, Lin YF, Chuang WP, 2020. SWATH-MS-based quantitative proteomics reveals a uniquely intricate defense response in *Cnaphalocrocis medinalis*-resistant rice. *Sci. Rep.*,10(1): 6597.
- Chen JM, 2004. Tolerance of Rice Varieties to the Brown Planthopper. *Nilaparvata lugens* (Stal) and Its Physiological Mechanisms. PhD Dissertation, Zhejiang University, Hangzhou. [陈建明,2004.水稻品种对褐飞虱为害的耐性及其生理机制研究.杭州:浙江大学博士学位论文]
- Chen JM, Yu XP, Cheng JA, Lü ZX, Xu HX, 2003. The changes of physiological indexes of different rice varieties after infestation by brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stal). *J. Plant Prot.*, 30(3): 225-231. [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]
- Guo ZG, Wang MX, Cui L, Han BY, 2018. Research progress on the underlying mechanisms of plant defense enzymes in response to pest stress. *Chin. J. Appl. Ecol.*, 29(12): 4248-4258. [郭祖国,王梦馨,崔林,韩宝瑜,2018.6种防御酶调控植物体应答虫害胁迫机制的研究进展.应用生态学报,29(12): 4248-4258]

- Rev. Plant Biol., 59: 41–66.
- Li J, Zhang S, Cui JJ, 2011. Changes of mRNA expression of five defense genes of cotton response to damages caused by different phytophagous insects. *Sci. Agric. Sin.*, 44(21): 4377–4384. [李静, 张帅, 崔金杰, 2011. 不同植食性昆虫危害棉花后棉株 5 种防御基因表达变化. *中国农业科学*, 44(21): 4377–4384]
- Liao X, Xu P, Gong P, Wan H, Li J, 2021. Current susceptibilities of brown planthopper *Nilaparvata lugens* to triflumezopyrim and other frequently used insecticides in China. *Insect Sci.*, 28(1): 115–126.
- Liu RY, Xiao ZJ, He JL, Wan GJ, Pan WD, Chen FJ, 2018. Population fitness of the migratory brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae) in response to the change of geomagnetic field intensity. *Acta Entomol. Sin.*, 61(8): 957–967. [刘瑞莹, 肖子衿, 贺静澜, 万贵钧, 潘卫东, 陈法军, 2018. 迁飞性害虫褐飞虱对地磁强度变化的种群适合度响应. *昆虫学报*, 61(8): 957–967]
- Liu YF, Yang GM, Zhao WH, Yang F, Xie MQ, Tian TT, 2021. High habitat heterogeneity and connectivity promote the diversity and survival of predatory natural enemies in paddy fields. *Chin. J. Appl. Entomol.*, 58(6): 1365–1375. [刘雨芳, 杨光梅, 赵文华, 阳菲, 谢美琦, 田滕滕, 2021. 生境高异质性与高连通性双驱动促进稻田捕食性天敌多样性保护. *应用昆虫学报*, 58(6): 1365–1375]
- Liu YF, Zhao WH, Yang F, Xie MQ, 2020. A study of an important pest *Nilaparvata lugens* on rice in China; An analysis based on web of science database. *Central China Insect Res.*, 16: 94–106. [刘雨芳, 赵文华, 阳菲, 谢美琦, 2020. 中国水稻重要害虫褐飞虱研究现状: 基于 WOS 数据库分析. *华中昆虫研究*, 16: 94–106]
- Liu YF, Yang H, Yang F, Xie MQ, 2019. Ecological regulation effectiveness of habitat heterogeneity on predatory natural enemies and rice pests in rice paddy fields. *Acta Entomol. Sin.*, 62(7): 857–867. [刘雨芳, 杨荷, 阳菲, 谢美琦, 2019. 生境异质度对稻田捕食性天敌及水稻害虫的生态调节有效性. *昆虫学报*, 62(7): 857–867]
- Liu YQ, 2009. The Molecular Mapping of Brown Planthopper Resistance Gene and the Preliminary Study on the Resistance Mechanism in Rice. PhD Dissertation, Nanjing Agricultural University, Nanjing. [刘裕强, 2009. 水稻抗褐飞虱基因的分子定位及其抗性机制的初探. 南京: 南京农业大学博士学位论文]
- Liu YQ, Jiang L, Sun LH, Wang CM, Zhai HQ, Wan JM, 2005. Changes in some defensive enzyme activity induced by the piercing-sucking of brown planthopper in rice. *J. Plant Physiol. Mol. Biol.*, 31(6): 643–650. [刘裕强, 江玲, 孙立宏, 王春明, 翟虎渠, 万建民, 2005. 褐飞虱刺吸诱导的水稻一些防御性酶活性的变化. *植物生理与分子生物学学报*, 31(6): 643–650]
- Madhava RK, Raghavendra KA, Janardhan R, 2006. Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants. Springer Science & Business Media, Dordrecht.
- Mittler R, 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.*, 7(9): 405–410.
- Nakashima N, Noda H, 1995. Nonpathogenic *Nilaparvata lugens* reovirus is transmitted to the brown planthopper through rice plant. *Virology*, 207(1): 303–307.
- Shi JH, Sun Z, Hu XJ, Jin HN, Foba CN, Liu H, Wang C, Liu L, Li FF, Wang MQ, 2019. Rice defense responses are induced upon leaf rolling by an insect herbivore. *BMC Plant Biol.*, 19(1): 514.
- Sujithra M, Chander S, Selvaraj K, 2011. Simulation of rice brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stal) damage for determining economic injury levels. *J. Sci. Ind. Res.*, 70(5): 338–345.
- Tscharntke T, Thiessen S, Dolch R, Boland W, 2001. Herbivory, induced resistance, and interplant signal transfer in *Alnus glutinosa*. *Biochem. Syst. Ecol.*, 29(10): 1025–1047.
- Wang QX, Xu L, Wu JC, 2008. Physical and biochemical mechanisms of resistance of different rice varieties to the rice leafhopper, *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Acta Entomol. Sin.*, 51(12): 1265–1270. [王元翔, 许路, 吴进才, 2008. 水稻品种对稻纵卷叶螟抗性的物理及生化机制. *昆虫学报*, 51(12): 1265–1270]
- Wang Y, Wang X, Yuan H, Chen R, Zhu L, He R, He G, 2008. Responses of two contrasting genotypes of rice to brown planthopper. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 21(1): 122–132.
- Watanabe T, Kitagawa H, 2000. Photosynthesis and translocation of assimilates in rice plants following phloem feeding by the planthopper *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae). *J. Econ. Entomol.*, 93(4): 1192–1198.
- Zhai BP, Cheng JA, 2006. Minutes of the symposium on rice migrating pests in 2006. *Chin. Bull. Entomol.*, 43(4): 585–588. [翟保平, 程家安, 2006. 2006 年水稻两迁害虫研讨会纪要. *昆虫知识*, 43(4): 585–588]
- Zhao WH, Yang GM, Liu YF, 2022. Biochemical and physiological response of rice plants induced by the feeding of *Nephotettix cincticeps*. *Chin. J. Appl. Entomol.*, 59(5): 1068–1076. [赵文华, 杨光梅, 刘雨芳, 2022. 不同密度黑尾叶蝉取食不同时长后水稻生理生化指标的响应. *应用昆虫学报*, 59(5): 1068–1076]
- Zhou GX, Wang X, Yan F, Wang X, Li R, Cheng JA, Lou YG, 2011. Genome-wide transcriptional changes and defence-related chemical profiling of rice in response to infestation by the rice striped stem borer *Chilo suppressalis*. *Physiol. Plant*, 143(1): 21–40.
- Zhou GY, 2014. Physiological Response of Rice to Brown Planthopper and the Study of Small microRNA. PhD Dissertation, Zhejiang University, Hangzhou. [周国艳, 2014. 水稻应对褐飞虱取食的生理响应及灰飞虱 microRNA 的研究. 杭州: 浙江大学博士学位论文]

(责任编辑: 赵利辉)