

水稻麦黄酮对褐飞虱的抗性潜力

凌 冰¹,董红霞^{1,2},张茂新¹,徐 迪¹,王敬淑¹

(1. 华南农业大学昆虫生态研究室 广州 510642 2. 扬州大学广陵学院 扬州 225127)

摘要 使用石油醚、乙酸乙酯、无水乙醇和水依次对抗性水稻品种 IR36 乙醇提取物进行萃取,并测试了 4 种萃取物对褐飞虱的活性。结果发现乙酸乙酯萃取物处理后 3d 的活性最强,褐飞虱 1~2 龄若虫和 3~4 龄若虫的死亡率分别是 26.0% 和 48.0%。乙酸乙酯萃取物经柱层析分离得到麦黄酮。将麦黄酮定量加入人工饲料中饲养褐飞虱 3 龄若虫 15d。结果表明,褐飞虱 3、4 龄若虫的排蜜露量随着麦黄酮在饲料中浓度(50~500 μg/ml)的增加而减少,褐飞虱 3、4 龄若虫的死亡率却随着麦黄酮在饲料中浓度的增加而显著提高。当饲料中麦黄酮的浓度为 500 μg/ml 时,褐飞虱 3、4 龄若虫的死亡率分别为 58.21% 和 31.75%。麦黄酮 50~500 μg/ml 浓度处理,褐飞虱 3 龄和 4 龄若虫的发育历期和相对生长量与对照之间没有明显的差异,表明麦黄酮有拒食作用。用 500 μg/ml 的麦黄酮溶液涂抹到对褐飞虱敏感的水稻品种 TN1 植株上对褐飞虱雌成虫有明显的拒食作用和忌避产卵作用。本研究结果表明水稻源的麦黄酮在水稻对褐飞虱的抗性中有重要的作用。

关键词 水稻,麦黄酮,褐飞虱,植物抗性

文章编号:1000-0933(2007)04-1300-08 中图分类号:Q142 文献标识码:A

Potential resistance of tricin in rice against brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stål)

LING Bing¹, DONG Hong-Xia^{1,2}, ZHANG Mao-Xin¹, XU Di¹, WANG Jing-Shu¹

1 Laboratory of Insect Ecology, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

2 Guangling College, Yangzhou University, Yangzhou 225127, China

Acta Ecologica Sinica 2007 27 (4) 1300~1307.

Abstract: Various agronomic traits of crops, particularly in resistance to pathogen, pest and weed, should correlate significantly with crop secondary metabolism and metabolite. We sought, in this instance, to determine the biochemical basis of resistance of rice plants to *Nilaparvata lugens*. The aerial part of resistant rice plant (IR36) was immersed with 85% ethanol in the room temperature and ethanol-soluble extracts were prepared. Different solvents including petroleum ether, ethyl acetate, absolute ethanol and water were then used to extract the ethanol-soluble extracts and different solvent fractions were obtained. These fractions were tested for effects on mortality of the brown planthopper nymphs. EtOAc fractions had significantly impacts on mortality of brown planthopper nymphs 3 d after treatment, with corrected mortality of 26.0% and 48.0% being recorded for 1st and 2nd instar nymphs at 2000mg/L concentration, and 3rd and 4th instar nymphs at 3000mg/L concentration, respectively. EtOAc fractions of resistant rice plants (IR36) were separated by column

基金项目 国家“973”资助项目(G2000016209);广东省“十五”重大专项资助项目(2004A2042001)

收稿日期 2006-03-29;修订日期 2006-11-28

作者简介 凌冰(1961~),女,新疆奎屯人,副教授,主要从事化学生态学和害虫防治研究. E-mail: gzhbling@scau.edu.cn

致谢 水稻提取物的分离得到华南农业大学孔垂华教授的指导,广西农业科学院黄凤宽博士提供了水稻 IR36 和 TN1 种子、提取材料和试虫虫源,在此一并致谢。

Foundation item The project was financially supported by National “973” Foundation of China (No. G2000016209); Guangdong Key Project of Tenth-Five Plan (No. 2004A2042001)

Received date 2006-03-29; **Accepted date** 2006-11-28

Biography LING Bing, Associate professor, mainly engaged in chemical ecology and agricultural entomology. E-mail: gzhnling@scau.edu.cn

chromatography over silica gel and 5,7,4'-trihydroxy-3',5'-dimethoxyflavone (tricin) was isolated. Artificial diets containing tricin of different concentrations (50 ~ 500 μg/ml) were prepared to feed on nymphs of the brown planthopper in test-tubes. Twenty 3rd instar nymphs were then introduced into each test-tube for bioassay. After the brown planthopper nymphs fed 15 days on diets containing tricin, weight of honeydew of the nymphs reduced as tricin concentrations in the diets increased. The mortality rate of the nymphs increased with increasing tricin concentration. The corrected mortality was 58.21% for the 3rd instar nymphs and 31.75% for 4th instar nymphs respectively at 500 μg/ml concentration. However, even though at 500 μg/ml concentration the adding weight and development period of 3rd instar nymphs and 4th instar nymphs were no significantly different between treatments. Additionally, tricin (500 μg/ml) significantly inhibited oviposition and feeding of the brown planthopper females in choice tests when spread on susceptible rice plant (TN1). Our results suggested that tricin in resistant rice plant played an important role in resistance to brown planthoppers.

Key words : *Oryza sativa* ; tricin ; *Nilaparvata lugens* (Stål) ; resistance

褐飞虱 (*Nilaparvata lugens* (Stål)) 广布于东南亚、南亚次大陆、太平洋岛屿以及澳大利亚, 是水稻最严重的害虫之一^[1]。近 30a 来在我国的为害面积日益扩大, 爆发频率显著增加, 给水稻生产构成严重的威胁^[2,3]。开发和利用抗褐飞虱水稻品种, 充分发挥自然因素的控害作用已成为褐飞虱可持续治理的关键措施之一^[4,5]。

大量研究证明, 作物的各种农艺性状, 尤其是抗病虫草特性是和作物次生代谢及其产物显著相关的^[6~11]。黄酮类化合物是高等植物中重要的抗虫次生物质, 昆虫对黄酮类次生物质可以产生忌避、拒食反应或中毒^[12,13]。棉花植株中分离出来的很多黄酮类化合物能抑制棉铃虫和美洲烟芽夜蛾生长及化蛹^[14,15]。小麦中的黄酮类化合物对麦长管蚜的生长、发育和繁殖均有明显的抑制作用^[16]。水稻全株含有多种黄酮类化合物, 因为它们具有抗癌、抗氧化、和抗衰老和免疫调节等多种生物活性而倍受人们的关注^[17~19]。水稻含有的黄酮类化合物除了具有医疗保健作用外, 在水稻生长期抗病虫草害方面也起着重要作用。如从抗稻瘟病水稻中提取的柚皮素 (naringenin)、樱花素 (sakuranetin)、花青素 (cyanidin) 和芍药素 (peonidin) 等对稻瘟病菌 (*Pyricularia grisea*) 和水稻白叶枯病菌 (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) 的生长和孢子萌发有显著的抑制作用^[20~23]。抗草水稻品种 PI312777 叶片和根分泌物中含有的木犀草素 (luteolin) 对稗草的生长和根活力有明显的抑制作用^[24]。Grayer 等用抗虫水稻茎提取物处理褐飞虱后, 对褐飞虱的取食有抑制活性, 提取物经 HPLC 分析主要含有 Schaftosides、isoschaftoside 和 5,7,4'-三羟基黄酮苷 (apigenin-C-glycosides)。Schaftosides 对褐飞虱有拒食活性, 是水稻抗褐飞虱的重要因子, 研究还发现抗性水稻品种这 3 种黄酮苷类化合物的含量水平高于敏感品种^[25,26]。

麦黄酮 (5,7,4'-trihydroxy-3',5'-dimethoxyflavone, tricin) 及其衍生物是水稻中重要的黄酮类化合物。水稻茎、叶、米和稻壳中都含有麦黄酮^[17,27,28]。研究证实, 麦黄酮具有抗草、抗植物病害的作用^[28]。但是抗褐飞虱水稻品种 IR36 中麦黄酮的提取分离及其对褐飞虱的影响, 目前尚未见报道。深入研究水稻抗性品种黄酮类化合物的抗褐飞虱特性, 对进一步揭示水稻抗褐飞虱的生理生化机制, 对有目的地培育优质高抗新品种提供理论依据。为此作者从抗褐飞虱品种 IR36 的乙醇提取物中分离、鉴定了麦黄酮, 并测定了它对褐飞虱取食、生长发育和存活的影响, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试昆虫

褐飞虱生物型 II 由广西农业科学院黄凤宽博士提供, 在华南农业大学昆虫生态研究室网室盆栽 TN1 水稻植株上饲养一代以上。

1.1.2 植物材料

水稻品种 IR36 孕穗期地上部分植株和水稻品种 TN1 种子均由广西农业科学院黄凤宽博士提供。

1.1.3 试剂

乙醇、石油醚、乙酸乙酯和无水乙醇均为天津化学试剂一厂生产的化学纯试剂,经过重蒸后使用,100 ~ 200 和 200 ~ 300 目硅胶均为分析纯试剂,由青岛海洋化工有限公司生产。

1.2 试验方法

1.2.1 提取物制备

将田间采集的抗性水稻 IR36 孕穗期地上部分,洗净,晾干,切碎约 1cm,用 85% 的乙醇在室温下浸提 3 次,合并提取液,过滤。滤液经旋转蒸发仪减压浓缩,得乙醇浸膏。乙醇浸膏用少量甲醇溶解,然后均匀分散、吸附在硅藻土(质量比为 1:3)上,依次用石油醚、乙酸乙酯、无水乙醇和水萃取,得到石油醚相、乙酸乙酯相、乙醇相和水相等 4 个萃取液并分别用旋转蒸发仪减压浓缩,得到石油醚相、乙酸乙酯相、乙醇相和水相等 4 个萃取膏状物。按 1.2.2 的方法测定了 4 个萃取膏状物对褐飞虱 1 ~ 2、3 ~ 4 龄若虫存活的影响。结果表明,经乙酸乙酯萃取膏状物水溶液处理的褐飞虱若虫的死亡率最高。

将乙酸乙酯萃取膏状物(65g)用甲醇溶解后拌 120g 硅胶(100 - 200 目),不断搅拌至均匀,晾干后研磨成粉末。然后采用快速减压液相柱层析法,分别用石油醚、石油醚:乙酸乙酯(99:1、4:1、1:1、1:4)、乙酸乙酯、三氯甲烷:甲醇(7:3、4:6)和甲醇 9 个溶剂梯度进行洗脱,得到相应 9 个组分。这 9 个组分再分别旋转蒸发减压浓缩,第 6 组分有黄色晶体析出,经过重结晶得到纯的黄色针状晶体化合物。该化合物的¹HNMR (CD₃COCD₃) δ_{H} : 6.253 (1H, d, J = 2.0Hz), 6.551 (1d, dJ = 2.0Hz), 7.382 (2H, s), 6.729 (1H, s), 3.972 (6H, s), 13.006 (1H, s)。分子式为: C₁₇H₁₄O₇; ESI - MS/Z: 330 (M⁻ + 1)。IR (KBr): 3324, 1654, 1613, 1579, 1506, 1465, 1360, 1334, 1307, 1260, 1169, 1119, 1050, 1029, 912, 837cm⁻¹。结合文献^[29]确定此化合物为 5, 4', 7'-三羟基-3', 5'-二甲氧基黄酮(5, 7, 4'-trihydroxy-3', 5'-dimethoxyflavone), 其分子结构见图 1。

1.2.2 水稻茎叶萃取物对褐飞虱若虫的生物活性

用少量丙酮将制备所得 4 种萃取物溶解,然后用清水分别配置成 2000mg/L 和 3000mg/L 的溶液。选取 6 叶期 TN1 水稻幼苗,洗去根部泥土,用吸水纸吸去稻苗上的水珠,将整株水稻在配置好的溶液中浸 20s,取出水稻后,在水稻近根部 1.5cm 处用棉花包住水稻的茎杆放入装有 30ml Sach 营养液^[30]的大试管(d × h = 2.5cm × 25cm)中,每个试管放一株。待水稻茎叶的药液自然晾干后,每个试管中接入 10 头用 TN1 稻苗饲养

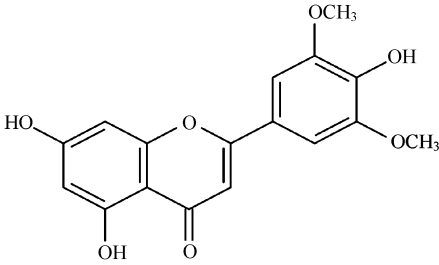


图 1 麦黄酮的结构

Fig. 1 The chemical structure of triclin

的褐飞虱若虫(饥饿 3h,其间仅饲水),在 2000mg/L 处理稻苗上接入 1 ~ 2 龄褐飞虱若虫,在 3000mg/L 处理稻苗上接入 3 ~ 4 龄褐飞虱若虫,然后用两层 100 目的纱布包住管口。设少量丙酮加清水为对照,每个处理重复 5 次。放置在温度为 (28 ± 2)℃ 的室内,于 1d、2d、3d 调查褐飞虱死亡和蜕皮情况。

1.2.3 麦黄酮对褐飞虱若虫的生物活性测定

参照傅强等方法^[31]配制褐飞虱人工饲料,保存在冰箱中备用。取双通玻璃管(d × h = 2.5cm × 15cm),在管的 B 端先覆盖一层封口薄膜(Parafilm M 膜,美国产),在膜上滴加配制好的人工饲料 0.2 ml 后,再覆盖一层封口薄膜。从网室 TN1 稻苗上采回褐飞虱初孵若虫或 1 龄若虫,从管的 A 端接入褐飞虱 20 ~ 30 头,用纱布、橡皮筋封口。在温度为 28℃,相对湿度为 90%,光照为 12:12 的人工气候室内饲养。每天更换人工饲料并用滤纸吸去玻璃管壁上的蜜露。

准确称取麦黄酮 50mg,用少量甲醇溶解后倒入 100ml 的容量瓶内,加入配制好的人工饲料至刻度,即为 500μg/ml 的麦黄酮母液。用人工饲料再配制麦黄酮 50μg/ml 和 100μg/ml 的供试溶液。以人工饲料加少量

甲醇和人工饲料不加任何溶剂为对照。按上述方法加入不同处理的人工饲料,每管接入用人工饲料饲养的、刚蜕皮的 3 龄若虫 20 头。每处理设 5 个重复。每天更换褐飞虱取食室的饲料液,连续饲养 15d。

(1)若虫排蜜露量测定 用电子天平精确称取一小片滤纸的重量,然后用这片滤纸擦净人工饲养装置管壁上的蜜露,再称取吸有蜜露的滤纸总重,并求出褐飞虱每头、每天平均分泌的蜜露量,按公式(1)计算麦黄酮对褐飞虱若虫的拒食率。

(2)褐飞虱若虫相对生长量测定 试虫测试前每重复称总重,计算平均虫体重量。处理 15 d 后将每重复剩余活虫称总重,根据存活褐飞虱数量计算平均虫体重量,两次之差即为褐飞虱相对生长量。

(3)褐飞虱若虫发育历期、羽化率及死亡率测定 根据褐飞虱的蜕皮情况来计算褐飞虱 3 龄、4 龄若虫的平均发育历期及不同龄期的死亡率。记录 15d 的成虫数量,按公式(3)计算羽化率。

1.2.4 麦黄酮对褐飞虱成虫取食和产卵行为的影响测试

准确称取麦黄酮 50mg,先用少量丙酮溶解,再用 50% 的丙酮溶液稀释至 100ml,即为 500 μ g/ml 的麦黄酮溶液。

用一个有盖的平底塑料杯,在塑料杯盖中央开一小孔,种植一株稻苗,使稻苗穿过杯盖小孔固定在小塑料杯的泥土上,杯盖上垫一张经 0.5% 茚三酮丙酮溶液浸渍过的、晾干的滤纸,滤纸中央亦开一小口,与杯盖中央小孔相对,滤纸与稻株接触处用 Parafilm M 包裹,以免滤纸受潮,用透明的、顶部用纱布封口的塑料罩罩住稻苗。

非选择性试验 在稻苗 5~6 叶期,用毛笔将麦黄酮丙酮液均匀涂抹在叶片和茎秆上,对照涂抹 50% 的丙酮液。待水稻茎叶的药液自然晾干后,每个塑料虫罩内接入 2 对长翅型褐飞虱成虫。每处理 6 个重复。接虫后 24h 取出滤纸,然后用透明的标准计算纸测量蜜露色斑的面积。按公式(1)计算拒食率。5d 后调查褐飞虱成虫的产卵量。

选择性试验 将去掉塑料罩的稻苗分别用毛笔涂抹麦黄酮溶液和对照液各 6 株,然后呈对角线排列在白瓷盘上,放入铝合金纱笼(45 cm \times 45 cm \times 45 cm)中,接入 2 对长翅型褐飞虱成虫,24h 后取出滤纸,然后用透明的标准计算纸测量蜜露色斑的面积。按公式(2)计算拒食率。5d 后调查褐飞虱成虫的产卵量。

1.3 数据分析方法

非选择性试验拒食率 (%) =
$$\frac{\text{对照组蜜露分泌量 (mm}^2 \text{ 或 mg)} - \text{处理组蜜露分泌量 (mm}^2 \text{ 或 mg)}}{\text{对照组蜜露分泌量 (mm}^2 \text{ 或 mg)}} \times 100 \quad (1)$$

选择性试验拒食率 (%) =
$$\frac{\text{对照组蜜露分泌量 (mm}^2) - \text{处理组蜜露分泌量 (mm}^2)}{\text{对照组蜜露分泌量 (mm}^2) + \text{处理组蜜露分泌量 (mm}^2)} \times 100 \quad (2)$$

羽化率 (%) =
$$\frac{\text{处理后成虫数 (头)}}{\text{初始虫数 (头)}} \times 100 \quad (3)$$

所有数据分析采用 SAS system v8.1 版软件进行处理。

2 结果与分析

2.1 水稻茎叶萃取物对褐飞虱若虫的生物活性

由表 1 可以看出,抗性 IR36 水稻不同溶剂萃取物对褐飞虱不同龄期若虫的影响有明显的差异。乙酸乙酯萃取膏状物的致死作用最强,处理后 3d,褐飞虱 1~2 龄若虫和 3~4 龄若虫的死亡率分别是 26% 和 48%,与对照相比差异极显著。

2.2 麦黄酮对褐飞虱若虫的拒食作用

根据褐飞虱的排蜜露量,可以反映出褐飞虱若虫取食量的大小。从表 2 可以看出,麦黄酮加入人工饲料后,褐飞虱 3 龄、4 龄若虫的排蜜露量都比对照明显减少。在麦黄酮 50 μ g/ml、100 μ g/ml 和 500 μ g/ml 3 个浓度处理中,以 500 μ g/ml 处理的拒食作用最强,对褐飞虱 3 龄、4 龄若虫的拒食率分别是 77.17% 和 58.69%。用麦黄酮(50~500 μ g/ml)处理的人工饲料饲养褐飞虱若虫 15d 后,其相对生长量与对照相比差异不显著(见图 2)。

表1 水稻茎叶萃取物对褐飞虱若虫的死亡率

Table 1 Mortality rate of extracts of rice leaves against <i>Nilaparvata lugens</i> nympha						
处理 Treatment	死亡率 Mortality rate (%)					
	1~2 龄若虫 ^① 1~2 instar nympha			3~4 龄若虫 ^② 3~4 instar nympha		
	1d	2d	3d	1d	2d	3d
石油醚萃取膏状物 Petroleum ether extract	2.0 ± 1.2 A	5.0 ± 2.2 AB	14.0 ± 3.3 B	1.0 ± 1.0 A	2.0 ± 1.2 A	24.0 ± 5.1 B
乙酸乙酯萃取膏状物 Ethyl acetate extract	3.0 ± 2.0 A	9.0 ± 3.7 A	26.0 ± 6.0 A	0 A	4.0 ± 1.9 A	48.0 ± 3.7 A
乙醇萃取膏状物 Ethanol extract	0 A	2.0 ± 1.2 B	9.0 ± 1.9 BC	0 A	1.0 ± 1.0 A	42.0 ± 2.5 A
水萃取膏状物 Water extract	0 A	0 B	5.0 ± 2.7 BC	1.0 ± 1.0 A	1.0 ± 1.0 A	38.0 ± 2.5 A
对照 CK	0 A	0 B	1.0 ± 1.0 C	0 A	1.0 ± 1.0 A	20.0 ± 4.4 B

表中数据为 5 次重复平均值 ,同列数据后字母相同表示 1% 水平差异不显著 (DMRT 法) ,下同 ; Means of five replicates ;Within each column , means followed by the same letter are not significantly different at $P = 0. 01$ using DMRT ; the same below. ①供试浓度均为 2000μg/ml Test concentration : 2000μg/ml ;②供试浓度 Test concentration : 3000μg/ml

表2 麦黄酮对褐飞虱若虫的拒食作用

Table 2 Antifeeding effect of tricrin on <i>Nilaparvata lugens</i> nympha				
浓度 (μg/ml) Concentration	3 龄若虫 3 instar nympha		4 龄若虫 4 instar nympha	
	排蜜露量	拒食率	排蜜露量	拒食率
	Weight of honeydew (mg/d·nymph)	Antifeeding rate (%)	Weight of honeydew (mg/d·nymph)	Antifeeding rate (%)
50	0.039 ± 0.016 AB	27.97	0.083 ± 0.011 B	45.92
100	0.041 ± 0.010 AB	24.55	0.088 ± 0.022 B	42.83
500	0.013 ± 0.000 B	77.17	0.064 ± 0.013 B	58.69
甲醇 + 对照 Methanol + CK	0.055 ± 0.018 A		0.154 ± 0.014 A	
对照 CK	0.057 ± 0.014 A		0.168 ± 0.023 A	

表3 麦黄酮对褐飞虱若虫发育历期和存活的影响

Table 3 Effect of tricrin on development period and mortality rate of <i>Nilaparvata lugens</i> nympha				
浓度 (μg/ml) Concentration	发育历期 Development period of nympha (d)		死亡率 Mortality rate (%)	
	3 龄若虫	4 龄若虫	3 龄若虫	4 龄若虫
	3 instar nympha	4 instar nympha	3 instar nympha	4 instar nympha
50	5.50 ± 0.48 A	5.25 ± 0.30 A	31.67 ± 9.86 A	12.00 ± 5.02 A
100	5.67 ± 0.00 A	5.60 ± 0.60 A	35.09 ± 3.56 A	7.20 ± 1.56 A
500	5.67 ± 0.00 A	6.00 ± 0.70 A	58.21 ± 4.15 B	31.75 ± 7.39 B
甲醇 + 对照 Methanol + CK	5.25 ± 0.67 A	5.30 ± 0.30 A	21.81 ± 3.55 A	11.86 ± 1.39 A
对照 CK	4.60 ± 0.48 A	5.23 ± 0.40 A	28.87 ± 2.63 A	9.67 ± 2.84 A

在麦黄酮 50、100μg/ml 和 500μg/ml 等 3 个浓度处理中 ,高浓度的麦黄酮处理 (500μg/ml)对褐飞虱 3 龄、4 龄若虫的存活有明显影响 ,死亡率是加了少量甲醇对照处理的 2.67 倍 3 龄若虫的死亡率高于 4 龄若虫 (见表 3)。麦黄酮 50μg/ml 和 100μg/ml 浓度处理对褐飞虱 3、4 龄若虫的存活与对照相比差异不显著。麦黄酮 50~500μg/ml 浓度处理 ,褐飞虱 3、4 龄若虫的发育历期与对照之间没有明显的差异。

麦黄酮 100μg/ml 浓度连续饲养褐飞虱 3 龄若虫 ,虽然死亡率与对照差异不显著 ,但褐飞虱的羽化率却显著降低 ,随着麦黄酮浓度的增加 ,褐飞虱的羽化率也显著降低 (图 3)。麦黄酮 100μg/ml 和 500μg/ml 浓度处理的平均羽化率分别为 15.27% 和 7.67% ,比加甲醇的对照处理的羽化率降低了 32.01% 和 65.88%。

2.3 麦黄酮对褐飞虱成虫取食和产卵行为的影响

从表 4 可以看出 ,麦黄酮 (500 μg/ml)无论在选择性试验 ,还是非选择性中 ,都对褐飞虱成虫的取食有明显的抑制作用 ,其拒食率分别为 50.71% 和 40.47%。

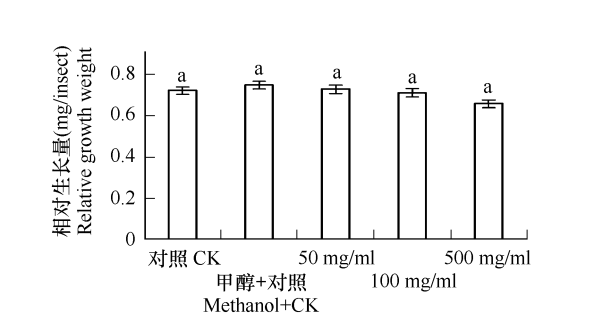


图2 麦黄酮处理后褐飞虱若虫的相对生长量

Fig.2 Relative growth weight of *N. lugens* nympha with tricin

图中数据为 5 次重复平均值 ;字母相同者表示经 DMRT 检验在 0.05 水平上差异不显著 Means of five replicates ; the same letter are not significantly different at $P=0.05$ using DMRT ;下同 the same bleow

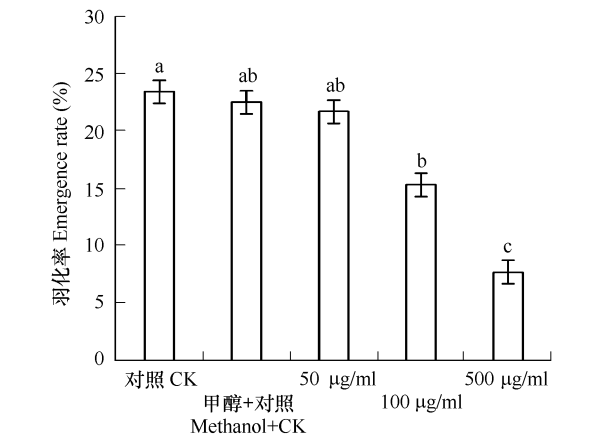


图3 不同浓度麦黄酮处理褐飞虱的羽化率

Fig. 3 Emergence rate of *N. lugens* at different concentration of tricin

在选择性试验中 ,麦黄酮 (500 μg/ml)处理的稻苗上的褐飞虱卵量明显少于对照 ,产卵忌避率达 64. 89%。在非选择性试验中 ,褐飞虱成虫在麦黄酮处理稻苗上的平均卵量与对照相比没有显著差异 ,但每条卵的平均卵量却比对照明显减少 ,显示麦黄酮对褐飞虱成虫产卵行为是有影响的 (见表 5)。

表 4 麦黄酮对褐飞虱成虫的拒食率

处理 Treatment	非选择性试验 No-choice test		选择性试验 Choice test	
	蜜露量	拒食率	蜜露量	拒食率
	Area of honeydew (mm ² /d)	Antifeeding rate (%)	Area of honeydew (mm ² /d)	Antifeeding rate (%)
500 μg/ml	126. 80 ± 24. 50 *	50. 71	89. 00 ± 19. 66 *	40. 47
对照 CK	257. 25 ± 25. 84	—	210. 00 ± 31. 60	—

* 表示处理与对照经 *t*-检验在 0.05 水平上差异显著 Means between treatment and control are significantly different at $P=0.05$ using *t*-test

表 5 麦黄酮对褐飞虱成虫的产卵忌避率

处理 Treatment		平均卵量 (粒) Mean number of egg (egg)	每卵条的卵粒数 (粒) Number of egg in each egg cluster (egg)	产卵忌避率 Oviposition deterrent rate (%)
选择性试验 Choice test	500 μg/ml	43. 80 ± 4. 34 *	4. 52 ± 0. 52	64. 89
	对照	205. 67 ± 42. 44	3. 87 ± 0. 62	—
非选择性试验 No-choice test	500 μg/ml	84. 00 ± 15. 18	4. 19 ± 0. 37 *	—
	对照	131. 33 ± 22. 43	6. 41 ± 0. 72	—

* 表示处理与对照经 *t*-检验在 0.05 水平上差异显著 Means between treatment and control are significantly different at $P=0.05$ using *t*-test

3 讨论

麦黄酮及其衍生物广泛存在于高等植物中^[32~34] ,该类化合物因具有多种多样的生物活性 ,且毒性较低 ,而日益受到国内外学者的重视。来自稗 (*Echinochloa utilis*)、狗尾草 (*Setaria viridis*)、蜀黍属植物 (*Sorghum bicolor*)的麦黄酮及其麦黄酮苷 (tricin-7-O-beta-D-glucoside)具有抗氧化作用^[35~37]。最新研究表明 ,麦黄酮在超微克分子浓度下在体外和裸鼠体内能抑制恶性乳腺癌细胞 MDA-MB-46 的生长^[17] ,对白血病嗜碱细胞 (RBL-2H3)有抑制活性^[38]。从化感水稻品种 PI312777 茎叶提取物中也分离得到麦黄酮 ,在 150μg/g 浓度时 ,对稗草 (*Echinochloa crus-galli*)和 2 种莎草 (*Cyperus iris*、*Cyperus difformis*)的抑制率 (RI)分别达 - 0.46、- 0.49和 - 0.68 ,且随着浓度的增加 ,抑制作用明显增强。在 100μg/g 浓度时就能明显抑制水稻稻瘟病菌 (*Pyricularia oryzae*)和纹枯病菌 (*Rhizoctonia solani*)的孢子萌发^[28]。较系统地研究了麦黄酮对褐飞虱若虫取

食、生长发育、存活及其成虫取食、产卵的影响。结果表明 ,用麦黄酮 (50 ~ 500μg/ml)处理的人工饲料饲养褐飞虱若虫 ,其排蜜露量比对照明显减少 ,在高浓度处理 (500μg/ml)组 ,褐飞虱 3 龄、4 龄若虫的死亡率明显增加 ,但 3 个麦黄酮 (50 ~ 500μg/ml)处理组褐飞虱 3、4 龄若虫的发育历期及相对生长量却与对照相比差异不显著。这些结果表明 ,麦黄酮没有影响褐飞虱若虫对食物的利用率 ,麦黄酮对褐飞虱若虫的影响主要表现在拒食作用 ,同时对褐飞虱成虫也有拒食作用和产卵忌避作用。本项研究明确了水稻源的麦黄酮在水稻对褐飞虱的抗性中有重要的作用。最近研究证明 ,麦黄酮及其苷是水稻转基因表达的主要诱导因子 ,麦黄酮能高效诱导根癌农杆菌 (*Agrobacterium tumerfaciens*)中 *vir* 融合区基因的有效表达^[29 39]。麦黄酮这种 “一物多用 ” 的生态学功能 ,在水稻育种上及其利用生物工程技术培育水稻新品种方面有重要价值。

References :

[1] Li R D , Ding J H , Hu G W , *et al.* Brown planthopper and its management. Shanghai : Fudan Press , 1996 , 1 – 11.

[2] Chen X N , Wu J C , Ma F. Study of Brown planthopper and its control. Beijing : Chinese Agriculture Press , 2003 , 26 – 36 .

[3] Wang B N , Huang Z , Shu L H , *et al.* Mapping of two new brown planthopper resistance genes from wild rice. Chinese Science Bulletin , 2001 , 46 : 1092 – 1096.

[4] Li G Q , Wang Y C , Han Z J , *et al.* The influence of resistant rice variety NJ 14 on orientation and multiplication of brown planthopper (BHP) , *Nilaparvata lugens* (Stål). Journal of Nanjing Agricultural University , 1995 , 18 : 46 – 51.

[5] Lu Z X , Yu X P , Tao L Y , *et al.* Resistance evaluation of newly-bred rice varieties (lines) to brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stål) in China. Scientia Agricultura Sinica , 2002 , 35 : 225 – 229.

[6] Kong C H , Xu X H , Hu F , *et al.* Using specific secondary metabolites as markers to evaluate allelopathic potentials of rice varieties and individual plant. Chinese Science Bulletin , 2002 , 47 : 839 – 843.

[7] Fraenkel G S. The raison d’être of secondary plant substances. Science , 129 : 1466 – 1470.

[8] Zhao Y , Huang F K , Tong X L , *et al.* Secondary compounds in rice varieties resistant to *Nilaparvata lugens*. Chinese Journal of Applied Ecology , 2004 , 15 : 2161 – 2164 .

[9] Khan Z R , Saxena R C. Effect of steam distillate extracts of resistant and susceptible rice cultivars on behavior of *Sogatella furcifera* (Homoptera : Delphacidae). Journal Economical Entomology , 1986 , 79 : 928 – 935.

[10] Beck D L , Dunn G M , Routley D G , *et al.* Biochemical basis of resistance in core to the core leaf aphid. Crop Science , 1983 , 23 : 995 – 998 .

[11] Zhang G R , Zhang W Q , Lian B , *et al.* Insecticidal effects of extracts from rice varieties to brown planthopper , *Nilaparvata lugens*. Journal of Chemical Ecology , 1999 , 25 : 1843 – 1853.

[12] Caballero P , Smith C M. Isoflavones from an insect-resistant variety of soybean and the molecular structure of afromosin. Journal of Natural Products , 1986 , 49 : 1126 – 1129.

[13] Xu H H. Insecticide plant and botanical insecticide. Beijing : Chinese Agriculture Press , 2001 , 284 – 309 .

[14] Wu Y Q , Guo Y Y. Potential resistance of tannins-flavonoids in upland cotton against *Helicoverpa armigera* (Hbner). Acta Ecology Sinica , 2001 , 21 : 286 – 289.

[15] Zhang Y J , Guo Y Y , Wu K M , *et al.* Interactions between exogenous Bt-ICP and cotton flavonoids. China Journal Applied Environment Biology , 2002 , 8 : 371 – 377.

[16] Liu B C , Chen J L , Ni H X , *et al.* Effects of secondary flavonoids in wheat on the growth and development of *Sitobion avenae* (Fabricius). Acta Phytophylacica Sinica , 2003 , 30 : 8 – 12.

[17] Cai H , Hudson E A , Mann P , *et al* Growth-inhibitory and cell cycle-arresting properties of the rice bran constituent tricin in human-derived breast cancer cells in vitro and in nude mice in vivo. British Journal of Cancer , 2004. 91 : 1364 – 1371.

[18] Sun L , Zhang M W , Chi J W , *et al.* The antioxidant activity of black rice and its correlation with flavonoids and pigment. Acta Nutrimenta Sinica , 2000 , 22 : 246 – 249.

[19] He R F , Mei X T , Xu D H , *et al.* Improvement of learning and memory functions by rice flavoids in mice. Journal of Chinese Medicinal Materials , 2002 , 5 : 108 – 111.

[20] Manchikanti P , Natarajan S , Thara K V , *et al.* Differential sensitivity of rice pathogens to growth inhibition by flavonoids. Phytochemistry , 1997 , 46 : 499 – 502.

[21] Nakazato Y , Tamogami S , Kawai H , *et al.* Methionine-induced phytoalexin production in rice leaves. Bioscience , Biotechnology and Biochemistry , 2000 , 64 : 3 , 577 – 583.

[22] Padmavati M , Sakthivel N , Thara K V , *et al.* Differential sensitivity of rice pathogens to growth inhibition by flavonoids. Phytochemistry , 1997 , 46 : 499 – 502.

[23] Rakwal R , Tamogami S , Kodama O. Role of jasmonic acid as a signaling molecule in copper chloride-elicited rice phytoalexin production. Bioscience , Biotechnology and Biochemistry , 1996 , 60 : 1046 – 1048.

[24] Hu F , Kong C H , Xu X H , *et al.* Weed-suppressing effect and its mechanism of allelopathic rice accessions. *Scientia Agricultura Sinica* , 2004 , 37 : 1160 – 1165.

[25] Grayer R J , Harborne J B , Kimmins F M , *et al.* Phenolics in rice phloem sap as sucking deterrents to the brown planthopper , *Nilaparvata lugens*. *Acta Horticulturae* , 1994 , 381 : 691 – 694.

[26] Stevenson P C , Kimmins F M , Grayer R J , *et al.* Schaftosides from rice phloem as feeding inhibitors and resistance factors to brown planthoppers , *Nilaparvata lugens*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* , 1996 , 80 : 246 – 249.

[27] Chung I M , Hahn S J , Ahmad A. Confirmation of potential herbicidal agents in hulls of rice , *Oryza sativa*. *Journal of Chemical Ecology* , 2005 , 31 : 1339 – 1352.

[28] Kong C H , Xu X H , Zhou B , *et al.* Two compounds from allelopathic rice accession and their inhibitory activity on weeds and fungal pathogens. *Phytochemistry* , 2004. 65 : 1123 – 1128.

[29] Liu Y , Huang Z S , Xiao J G , *et al.* Identification and biological activity of metabolites capable of inducing *Agrobacterium tumerfaciens* gene expression isolated from rice (*Oryza sativa* L.). *Youji Huaxue* , 1995 , 15 : 72 – 75.

[30] Wu W H. *Plant Physiology* , Beijing : Science Press , 2003 , 89.

[31] Fu Q , Zhang Z Y , Hu C , *et al.* A chemically defined diet enables continuous rearing of the brown planthopper , *Nilaparvata lugens* (Homoptera : Delphacidae). *Apply Entomology Zoology* , 2001 , 36 : 111 – 116.

[32] Stochmal A , Simonet A M , Macias F A , *et al.* Alfalfa (*Medicago sativa* L.) flavonoids 2. Tricin and chrysoeriol glycosides from aerial parts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 2001 , 49 : 5310 – 5314.

[33] Simmonds M S J. Flavonoid-insect interactions : recent advance in our knowledge. *Phytochemistry* , 2003 , 64 : 21 – 30.

[34] Williams C A , Harborne J B , Greenham J , *et al.* Flavonoid patterns and the revised classification of Australian Restionaceae. *Phytochemistry* , 1998 , 49 : 529 – 552.

[35] Kwon Y S , Kim E Y , Kim W J , *et al.* Antioxidant constituents from *Setaria viridis*. *Archives of Pharmacal Research* , 2002 , 25 : 300 – 305.

[36] Kwon Y S , Kim C M. Antioxidant constituents from the stem of *Sorghum bicolor*. *Archives of Pharmacal Research* , 2003 ; 26 : 535 – 539.

[37] Watanabe M. Antioxidative phenolic compounds from Japanese barnyard millet (*Echinochloa utilis*) grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 1999 , 47 : 4500 – 4505.

[38] Kuwabara H , Mouri K , Otsuka H , *et al.* Tricin from a *Malagasy connaraceous* plant with potent antihistaminic activity. *Journal of Natural Products* , 2003 , 66 : 1273 – 1275.

[39] Xu D H , Li B J , Liu Y , *et al.* Identification of rice (*Oryza sativa* L.) signal factors capable of inducing agrobacterium vir gene expression. *Science in China (Series C)* , 1996 , 39 : 8.

参考文献：

[1] 李汝铎 , 丁锦华 , 胡国文 , 等. 褐飞虱及其种群管理. 上海 : 复旦大学出版社 , 1996. 1 ~ 11.

[2] 程遐年 , 吴进才 , 马飞. 褐飞虱研究与防治. 北京 : 中国农业出版社 , 2003. 6 ~ 36.

[3] 王布娜 , 黄臻 , 舒理慧 , 等. 两个来源于野生稻的抗褐飞虱新基因的分子标记定位. *科学通报* 2001 , 46 (1) : 46 ~ 49.

[4] 李国清 , 王荫长 , 韩召军 , 等. 水稻品种南京 14 号对褐飞虱定位和繁殖的影响. *南京农业大学学报* , 1995 , 18 : 46 ~ 51.

[5] 吕仲贤 , 俞晓平 , 陶林勇 , 等. 水稻新品种 (系) 对褐飞虱抗性的评价. *中国农业科学* , 2002 , 35 : 225 ~ 229.

[6] 孔垂华 , 徐效华 , 胡飞 , 等. 以特征次生物质为标记评价水稻品种及单株的化感潜力. *科学通报* 2002 , 47 : 203 ~ 206.

[8] 赵颖 , 黄凤宽 , 童晓立 , 等. 水稻品种中抗褐飞虱抗原次生物质的分析. *应用生态学报* 2005 , 15 : 2161 ~ 2164.

[13] 徐汉虹. 杀虫植物与植物性杀虫剂. 北京 : 中国农业出版社 2001. 284 ~ 309.

[14] 武予清 , 郭予元. 棉花单宁-黄酮类化合物对棉铃虫的抗性潜力. *生态学报* , 2001 , 21 : 286 ~ 289.

[15] 张永军 , 郭予元 , 吴孔明 , 等. 外源 Bt 杀虫蛋白和棉花抗虫黄酮类化合物的互作关系. *应用与环境生物学报* , 2002 , 8 : 371 ~ 377.

[16] 刘保川 , 陈巨莲 , 倪汉祥 , 等. 小麦中黄酮类化合物对麦长管蚜生长发育的影响. *植物保护学报* , 2003 , 30 : 8 ~ 12.

[18] 孙玲 , 张名位 , 池建伟 , 等. 黑米的抗氧化性及其与黄酮和种皮色素的关系. *营养学报* , 2000 , 22 : 246 ~ 249.

[19] 何容飞 , 梅雪婷 , 许东晖 , 等. 水稻总黄酮对小鼠学习记忆的促进作用. *中药材* , 2002 , 25 : 108 ~ 111.

[24] 胡飞 , 孔垂华 , 徐效华 , 等. 水稻化感材料的抑草作用及其机制. *中国农业科学* 2004 , 37 : 1160 ~ 1165.

[29] 刘煜 , 黄志舒 , 肖剑国 , 等. 诱导根癌农杆菌 vir 基因表达水稻代谢物的分离 \ 鉴定和生物活性研究. *有机化学* , 1995 , 15 : 72 ~ 75.

[30] 武维华. *植物生理学*. 北京 : 科学出版社 , 2003. 89.

[39] 许东晖 , 李宝键 , 刘煜 , 等. 对根癌农杆菌 vir 区基因具诱导作用的水稻信号分子的分离和确定. *中国科学 (C 辑)* , 1996 , 26 : 535 ~ 541.