

# 褐飞虱致害性变异过程及其体内酶的变化\*

吕仲贤 俞晓平 郑许松 陈建明

(浙江省农业科学院植保所 杭州 310021)

张志涛

(中国水稻研究所 杭州 310006)

**摘要** 在室内连续用具不同抗虫基因的水稻品种 TN1、IR26、Mudgo 和 ASD7、单管饲养褐飞虱 (*Nilaparvata lugens*) 种群, 研究它对抗虫水稻品种的适应过程及其体内酶的变化规律。结果表明: 褐飞虱在抗虫品种上取食 2 代的若虫存活率、若虫历期和短翅成虫体重均明显比取食感虫品种 TN1 的低, 第 3 代以后与取食 TN1 者基本相同。第 2 代是褐飞虱适应抗虫品种的关键期。天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 和  $\gamma$ -谷氨酰基转移酶 (GGT) 的活性在关键的第 2 代最低, 而超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化氢酶 (CAT) 的含量增加。褐飞虱在适应抗虫品种以后体内天冬氨酸氨基转移酶活性明显提高。

**关键词** 褐飞虱, 抗虫品种, 适应性, 代谢酶, 保护酶

褐飞虱 *Nilaparvata lugens* (Stål) 是威胁我国和其它许多亚洲国家水稻生产的主要害虫之一<sup>[1]</sup>。70 年代初由于褐飞虱虫源地如菲律宾、越南等国家大面积推广水稻抗虫品种, 导致田间褐飞虱种群致害性发生变异, 产生了新的生物型。这给我国的水稻抗虫品种的培育和推广工作构成严重的威胁, 也给褐飞虱的防治工作造成了困难。以往的研究主要集中在水稻品种对褐飞虱的抗性机理、生物型监测、生物型的致害性及生物学特性、形态学、细胞学和酶的多态性等方面<sup>[2~7]</sup>, 而对褐飞虱的致害特性转化和生物型变异规律等方面研究较少, 迄今国内外对褐飞虱致害性的变化过程还未见报道。本文报道了褐飞虱对水稻抗虫品种的适应过程及其体内代谢酶和保护酶的变化规律, 为更有效地防治褐飞虱和延长水稻抗虫品种的使用寿命提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

褐飞虱成虫于 5 月采自中国水稻研究所温室, 在感虫水稻品种 TN1 上继续繁殖 3 代后初孵若虫供用。TN1 和水稻抗性品种 IR26、Mudgo、ASD7 分批、分期播种, 2 叶期移栽到水泥槽, 分蘖拔节期分单株, 清除部分根和基部叶鞘后供试验用。

\* 国家攀登计划和浙江省自然科学基金资助项目

1997-01-31 收稿, 1997-06-27 收修稿稿

## 1.2 褐飞虱连续饲养

将稻株放入已注有 10 mL 水稻营养液的试管中，试管用脱脂棉封口，让水稻叶露在试管外，每试管中接入初孵若虫 1 头。将试管移入  $(26 \pm 1)^\circ\text{C}$ ，L : D = 12 h : 12 h 的生化培养箱内，重复 120 次。每天调查褐飞虱的生长发育情况，定期换苗。将 24 h 内羽化的短翅雌成虫称重，交配产卵。同期分别用不同的抗虫品种群养，在成虫羽化 24 h 内取出大小均匀的短翅雌成虫保存在低温冰箱中供酶测定用。

## 1.3 代谢酶测定

取 10 只褐飞虱短翅雌成虫，加入预冷、pH7.2、0.1 mol/L 的磷酸缓冲液 4 mL，匀浆，以 15 000 r/min 速度离心 5 min。取上清液为酶源。

天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 和  $\gamma$ -谷氨酰基转移酶 (GGT) 的测定参考朱忠勇等 (1992) 方法<sup>[8]</sup>。

羧酸酯酶和乙酰胆碱酯酶的测定参考陈长琨等 (1993) 方法<sup>[9]</sup>。

## 1.4 保护酶测定

取 20 只褐飞虱短翅雌成虫，加入 3 mL 预冷的 1% 聚乙烯吡咯烷酮 (pH7.0、0.2 mol/L 磷酸缓冲液配制) 在冰浴内浆。以 3 500 r/min 速度离心 10 min。取上清液为酶源。

超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 和过氧化物酶 (POD) 的测定参考李周直等 (1994) 方法<sup>[10]</sup>，并根据褐飞虱的具体情况和预备试验结果略加改进。

SOD：每试管中加入 2.8 mL 反应液、酶液 0.1 mL、200 mmol/L  $V_{B2}$  溶液 0.1 mL，在  $25^\circ\text{C}$  生化培养箱、二支 40 W 日光灯光照反应 15 min，立即在 560 nm 处比色。以  $OD_{560}$  值的变化百分率表示酶活力。

CAT：每试管中加入反应液 4.9 mL、酶液 0.1 mL， $30^\circ\text{C}$  水浴反应 3 min，再加 2 mL 10%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  溶液终止反应，用 2 mmol/L  $\text{KMnO}_4$  滴定剩余的  $\text{H}_2\text{O}_2$ 。清水对照。以消耗的  $\text{H}_2\text{O}_2$  量计算 CAT 酶活力。

POD：每试管中加入反应液 3.9 mL、酶液 0.1 mL， $30^\circ\text{C}$  水浴反应 15 min，立即在 470 nm 处比色，以 OD 值表示酶活力。

# 2 结果与分析

## 2.1 褐飞虱对水稻抗虫品种的适应过程

褐飞虱在水稻抗虫品种上的适应性变化结果 (表 1) 表明，随着褐飞虱在抗虫品种上取食代数的增加若虫存活率提高，但均以第 2 代的存活率最低，其短翅雌成虫体重也最轻。第 3 代以后，其存活率和雌成虫体重与取食 TN1 品种者相近。取食 TN1 和抗虫品种各代若虫历期一般都在 12~15 d，不同代数 and 品种间的差异很少，只有取食抗虫品种 IR26 和 Mudgo 的第 2 代若虫历期明显延长。以上结果表明褐飞虱对抗性品种的适应关键期为第 2 代，一旦跨越了第 2 代，以上特征值与取食 TN1 品种基本相同，开始适应抗虫品种。

表 1 褐飞虱对抗虫品种的适应性过程

取食品种 代数	IR26					Mudgo				ASD7				TN1
	1代	2代	3代	4代	5代	1代	2代	3代	9代	1代	2代	3代	12代	15代以上
成活率(%)	43.58	9.17	74.49	77.23	86.72	27.5	2.52	65.7	63.79	28.32	1.87	59.38	65.0	76.92
若虫历期(d)	12.67	18.11	11.56	12.42	12.12	14.01	17.13	13.25	13.61	11.92	12.57	13.34	13.82	13.83
体重(mg/头)	1.98	1.67	2.79	2.57	2.68	1.98	1.50	2.59	2.62	1.88	1.50	2.23	2.75	2.92
种群增长			81.58	91.28				91.85				93.45	105.13	

## 2.2 转换寄主品种对褐飞虱适应性的影响

褐飞虱对抗虫品种适应以后取食感虫品种 TN<sub>1</sub> 对其种群参数的影响结果 (表 2) 表

表 2 转换寄主品种对褐飞虱适应性的影响

虫源 取食品种	IR26 4代 TN <sub>1</sub>	IR26 5代 TN <sub>1</sub>	ASD7 12代 TN <sub>1</sub>	Mudgo 9代 TN <sub>1</sub>
成活率(%)	76.67	84.35	76.37	84.48
历期(d)	12.44	12.94	13.85	13.31
体重(mg/头)	2.80	2.75	2.82	2.80
种群增长	89.21	99.21	103.03	101.26

明, Mudgo 9代和 ASD7 12代虫源在取食 TN<sub>1</sub> 时的存活率比取食 Mudgo 和 ASD7 时 (表 1) 有所增加, 而 IR26 4代和 5代虫源在改变寄主后其存活率无明显变化。若虫历期均无明显的差异。短翅雌成虫的体重和种群增长倍数均有不同程度的增加, 但不明显。

说明褐飞虱对抗虫品种 IR26、Mudgo 和 ASD7 的适应性已趋于稳定。

## 2.3 褐飞虱体内氨基酸转移酶的变化

对褐飞虱体内氨基酸转移酶的测定结果 (表 3、表 4) 表明, 褐飞虱在适应抗性品种 IR26、Mudgo 和 ASD7 过程中体内天冬氨酸氨基转移酶 (AST) 的活性除第 2 代特别低外, 其它均比取食 TN<sub>1</sub> 的高; 取食 Mudgo 和 ASD7 的褐飞虱第 3 代以后, 随着适应代数的增加 AST 的活性提高。同样褐飞虱在适应抗虫品种过程中第 2 代的丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 活性也最低, 但取食不同抗虫品种后 ALT 的活性差异较大, 其顺序为 Mudgo > IR26 > ASD7。此外, 褐飞虱在适应 IR26 过程中, 第 1、2、3、4 代和 TN<sub>1</sub> 虫源体内的  $\gamma$ -谷氨酰基转移酶 (GGT) 的活性分别为 48、40、60、56、和 48 卡门氏酶活力单位, 第 2 代也是最低, 而且在适应 IR26 后其 GGT 活性比取食 TN<sub>1</sub> 的高。

表 3 天冬氨酸氨基转移酶活力 (卡门氏单位/虫)

代别	1	2	3	4	5	9	12	15代以上
IR26	43.2	9.6	45.6	40.8	50.4			
Mudgo	52.8	33.6	48.0	50.4	57.6	62.4		
ASD7	36.2	9.6	43.2	45.6			48	
TN1								36.0

表 4 丙氨酸氨基转移酶活力 (卡门氏单位/虫)

代别	1	2	3	4	5	9	12	15代以上
IR26	34	18	24	32	38			
Mudgo	50	36	38	70	42	50		
ASD7	28	10	12	26			42	
TN1								30

## 2.4 褐飞虱体内解毒酶变化

褐飞虱对抗虫品种的适应过程中, 对其体内解毒酶——羧酸酯酶和乙酰胆碱酯酶的测定结果 (表 5、表 6) 表明, 取食抗虫品种的褐飞虱体内羧酸酯酶活性比取食 TN<sub>1</sub> 的高。

在适应 IR26 过程中除第 2 代的羧酸酯酶活性较高外, 其它几代活性相同。在适应 Mudgo 和 ASD7 过程中各代的酶活力基本相同。而乙酰胆碱酯酶的活性则有所不同, 特别是取食 IR26 时乙酰胆碱酯酶的活性明显低于取食 TN1 者。

## 2.5 体内保护酶测定

通过对取食 IR26 不同时间的褐飞虱短翅雌成虫体内保护酶的测定, 结果(表 7)表明: 褐飞虱在适应抗虫品种 IR26 的过程中, 第 2 代的 SOD 和 CAT 的活性均比其它代数高, 而 POD 值在各代都很小。说明第 2 代是褐飞虱适应抗虫品种 IR26 的关键期, SOD 和 CAT 在克服逆境过程中所起的作用比 POD 大。

表 5 褐飞虱成虫体内的羧酸酯酶活力 ( $\mu\text{mol}/\text{min}$ )

代别	1	2	3	4	5	9	12	15 代以上
IR26	0.1696	0.1973	0.1697	0.1696	0.1697			
Mudgo	0.1977	0.1973	0.1962	0.1990	0.1964	0.1973		
ASD7	0.1965	0.1970	0.1970	0.1854			0.1973	
TN1								0.1684

表 6 褐飞虱成虫体内的乙酰胆碱酯酶活力 ( $\mu\text{mol}/40 \text{ min}$ )

代别	1	2	3	4	5	9	12	15 代以上
IR26	1.05	0.892	1.05	0.832	1.44			
Mudgo	1.40	1.34	1.62	1.29	2.02	1.66		
ASD7	1.30	1.24	1.31	1.66			1.17	
TN1								1.67

表 7 褐飞虱在 IR26 上取食不同世代后体内保护酶的变化

	48 h	1 代	2 代	3 代	5 代
SOD (抑制%)	17.2	17.9	25.5	19.5	2.9
CAT ( $\text{mLH}_2\text{O}_2$ )	0.05	0.15	0.35	0.25	0.10
POD (OD 值)	0.02	0.013	0.017	0.035	0.025

## 3 讨论

褐飞虱属迁飞性昆虫, 每年春夏之交自南而北迁入我国稻区。由于虫源地国家田间种群的致害性发生变化, 加上褐飞虱抗虫品种上取食 2 代以后即开始适应, 因此在抗虫育种工作中应尽力筛选具更高抗性的品种或寻找新的抗性基因, 以延长抗虫品种的使用寿命, 特别是在每年褐飞虱发生 4~5 代的太湖稻区尤为重要。在淮北和江淮稻区, 由于褐飞虱每年只发生 1~3 代, 它刚开始或还没有适应抗性品种, 就因为条件不适而南迁, 加上第 2 代存活率很低, 虫口较少, 即使第 3 代开始适应该品种也不至于产生很大的种群数量, 损失不大, 因此, 抗性品种仍能继续发挥作用。

褐飞虱的不同生物型对氨基酸的需要各不相同<sup>[11-12]</sup>, 本试验结果证明褐飞虱适应抗虫品种后体内天冬氨酸氨基转移酶 (AST) 的活性增强, 说明它们对天冬氨酸的利用能力提高。IR26 3 代虫源取食 TN1 时蜜露中只有天冬氨酸含量比 TN1 虫源取食 TN1 时低, 且低 41%, IR26 3 代虫源取食 IR26 时蜜露中的天冬氨酸含量比 TN1 虫源取食 IR26 时低 26% (另文发表) 的事实证明了这一点。

生物体在逆境条件下具有很强氧化能力的 O<sub>2</sub> 自由基、氢氧自由基 (HO·) 和过氧化氢 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 等活性氧增加, 破坏了生物体内许多功能分子的作用。但生物体内存在着自由基清除系统——保护酶系统, 它们包括超氧化物歧化酶 (SOD)——能清除 O<sub>2</sub> 自由基形成 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 过氧化氢酶 (CAT) 和过氧化物酶 (POD) 具有分解 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的能力, 所以这三种酶协调作用, 使生物体处于一种动态平衡状态, 使细胞内的自由基维持在一个低水平, 防止自由基的毒害。褐飞虱对抗虫品种的适应过程也属于克服逆境条件的过程, 因此它在对抗虫品种的适应过程中其体内的保护酶含量增加, 以抵抗体内活性氧的增加。取食抗虫品种 IR26 的第 2 代短翅雌成虫体内保护酶的增加与其存活率下降、若虫历期延长和体重减轻的结果完全一致。但在褐飞虱克服抗虫品种的过程中过氧化物酶 (POD) 的活性很低, 其作用不明显。

**致谢** 浙江省农科院陈兵、吴吉安同志帮助测定保护酶, 特此致谢!

## 参 考 文 献

- 1 Heinrichs E A, Mochida O. From secondary to major pest status; the case of insecticide-induced rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, resurgence. *Prot. Ecology*, 1984, 201~208
- 2 巫国瑞, 陶林勇, 刘少华等. 稻褐飞虱生物型研究. *昆虫学报*, 1983, 26 (2): 154~159
- 3 Yu XP, WuGR, Tao LY. Virulence of brown planthopper population collected in China. *IRRN*, 1991, 16: 3
- 4 陶林勇, 俞晓平, 巫国瑞. 我国褐飞虱生物型监测初报. *中国农业科学*, 1992, 25 (3): 9~13
- 5 吴荣宗, 江志强, 张良佑. 褐飞虱生物型的研究进展. *华南农业大学学报*, 1992, 13 (4): 113~120
- 6 张志涛. 褐飞虱的生物型. *国外农学——水稻*, 1986, (4): 16~22
- 7 俞晓平, 叶恭银. 褐稻虱生物型监测技术的研究. *科技通报*, 1993, 9 (4): 260~264
- 8 朱忠勇主编. *实用医学检验学*. 北京: 人民军医出版社, 1992
- 9 陈长琨主编. *昆虫生理生化实验*. 北京: 农业出版社, 1993
- 10 李周直, 沈惠娟, 蒋巧根等. 几种昆虫体内保护酶系统活力的研究. *昆虫学报*, 1994, 37 (4): 399~403
- 11 Sogawa K. Variations in gestatory response to amino acid, sucrose solutions among biotypes of brown planthopper. *Inter. Rice Res. Newsl*, 1978, 3 (5): 9
- 12 Saxena R C, Barrion A A. Biotypes of brown planthopper, *Nilaparvata lugens* and strategies in development of host plant resistance. *Insect Sci. Applic.*, 1985, 6 (3): 271~289

# VARIATION IN VIRULENCE OF THE BROWN PLANTHOPPER TO RESISTANT RICE VARIETIES AND ITS RELATION TO THE CHANGES IN THE ACTIVITIES OF ENDOGENOUS ENZYMES

Lu Zhongxian Yu Xiaoping Zheng Xusong Chen Jianming

(*Institute of Plant Protection, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences Hangzhou 310021*)

Zhang Zhitao Fu Qiang

(*China National Rice Research Institute Hangzhou 310006*)

**Abstract** Experiments showed that lowest survival rate, longest duration of nymphs and lightest weight of brachypterous female occurred in the 2nd generation of brown planthopper (BPH) *Nilaparvata lugens* (Stål) on feeding on resistant rice varieties. There were no obvious differences in the survival rate, duration of nymphs and weight of brachypterous female between feeding on resistant rice varieties IR26, Mudgo, ASD7 after 3rd generation and feeding on susceptible variety TN1. The 2nd generation of BPH was found to be key generation adapting to the resistant rice varieties. In the variation of virulence of the brown planthopper, the lowest activities of alanine transaminase (ALT) and aspartic transaminase (AST) and the highest activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) were detected in the 2nd generation of the BPH feeding on resistant rice varieties.

**Key words** brown planthopper, resistant varieties, adaptability, metabolic enzymes, protective enzymes