

稻飞虱为害胁迫对水稻植株内主要保护酶活性的影响

张金锋, 薛庆中

(浙江大学农业与生物技术学院农学系, 杭州 310029)

摘要: 研究了水稻植株受白背飞虱和褐飞虱为害后体内的活性氧清除系统主要酶活性的变化动态。结果表明, 受白背飞虱为害后, 稻株体内的超氧化物歧化酶(SOD)活性增加、过氧化氢酶(catalase)活性下降, 过氧化物酶(POD)活性变化在抗虫和感虫材料中有差异, 前者活性增加, 后者下降; 受褐飞虱为害后, SOD活性增加, catalase和POD活性在抗虫材料中下降, 而在感虫材料中增加; 其为害造成的抗虫材料SOD活性增长率和感虫材料catalase活性下降率均比白背飞虱高。这和褐飞虱的取食量明显高于白背飞虱的取食量趋势相似。

关键词: 水稻; 白背飞虱; 褐飞虱; 蜜露量; 超氧化物歧化酶(SOD); 过氧化物酶(POD); 过氧化氢酶(catalase)

The Activity Dynamics of Main Protective Enzymes in Rice Plants Under Feeding Stresses of *Sogatella furcifera* and *Nilaparvata lugens*

ZHANG Jin-feng, XUE Qing-zhong

(Department of Agronomy, College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029)

Abstract: The activity dynamics of main protective enzymes in active oxygen elimination system of restoring and sterile rice line after damaged by white-backed planthopper (WBPH, *Sogatella furcifera*) and brown planthopper (BPH, *Nilaparvata lugens*) were investigated. The result showed that after the infestation of WBPH, the activity of superoxide dismutase (SOD) increased and that of catalase decreased, and that of peroxidase (POD) increased in resistant rice and decreased in susceptible rice. While after the infestation of BPH, the activity of SOD increased, and those of catalase and POD decreased in resistant rice and increased in susceptible rice. Similar to the tendency that the feeding amount (indicated by honeydew amount) of BPH on rice plants was significantly higher than that of WBPH, both the increased rate of SOD in resistant rice and decreased rate of catclase in susceptible rice caused by the feeding of BPH were significantly higher than those by WBPH.

Key words: Rice; *Sogatella furcifera*; *Nilaparvata lugens*; Honeydew; SOD; POD; Catalase

白背飞虱(*Sogatella furcifera*)和褐飞虱(*Nilaparvata lugens*)具有迁飞性、突发性和猖獗性^[1], 是我国乃至全世界水稻生产国的主要害虫。水稻植株体内游离氨基酸、可溶性糖、光合作用及一些防御性生理反应等因素对白背飞虱和褐飞虱的生长发育和取食有重要影响^[2]。据报道, 两种飞虱在感、抗性品种上的取食量存在显著差异, 白背飞虱在抗性品种上的取食量除在Mudgo上外均大于褐飞虱^[3]。褐飞虱在感虫品种上排泄的蜜露量是抗虫品种上的3~10倍^[4]。稻飞虱对抗虫材料的取食量均明显低于对感虫材料的取食量^[5]。说明飞虱取食习性与水稻抗虫性有紧密联系。

水稻植株受稻飞虱为害的过程实质是一种生物胁迫, 它会引发植株体内的活性氧清除系统主要酶活性的变化。本试验针对籼稻恢复系、不育系受飞虱为害前后3个酶(SOD、POD和catalase)活性的变化进行比较研究, 以此, 探讨水稻植株体内在昆虫为害胁迫下所产生的生理变化, 为抗虫育种提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试水稻材料 恢复系为TE358、TE363、TE367; 不育系为印尼水田谷胞质不育系II32A、矮败胞质不育系协青早A(XieqingzaoA); 杂交组合为II

32A/TE358 的 F_1 种子。

1.1.2 标准对照材料 国际通用标准感虫品种 Taichung Native 1 (TN_1) 为对照, 以 ASD7(含 bph2) 为抗虫对照。

1.1.3 供试虫源 白背飞虱来自浙江大学试验农场田并在网室内 TN_1 苗上饲养的雌成虫; 褐飞虱来自中国水稻研究所稻田并在网室内 TN_1 苗上饲养的雌成虫; 经褐飞虱致害性测定, 初步认定为褐飞虱生物型 2 为主的种群。

1.2 研究方法

1.2.1 试验前期准备工作及方法

1.2.1.1 白背飞虱抗性鉴定方法 按照中国水稻所刘光杰等的分蘖盛期单株接虫方法进行抗性鉴定^[6](表 1)。

表 1 水稻材料抗稻飞虱鉴定评价标准^[8]

Table 1 Evaluation standard for planthopper resistance in rice based on seedling mortality

抗性级别 Resistance grade	死苗率 Seedling mortality (%)	抗性水平 Resistance description
0	<1.0	免疫 Immunity
1	1.1~10.0	高抗 Highly resistant
3	10.1~30.0	抗 Resistant
5	30.1~50.0	中抗 Moderately resistant
7	50.1~70.0	中感 Moderately susceptible
9	>70.1	感 Susceptible

1.2.1.2 褐飞虱抗性鉴定方法 按照中国水稻所刘光杰等的苗期群体接虫方法进行抗性鉴定^[6](表 1)。

1.2.1.3 蜜露量测定方法 通过测量蜜露量间接反映褐飞虱的取食量。蜜露量按照刘光杰等的测定方法进行^[7]。

1.2.2 保护酶活性的测定 酶液制备按照张宪政的方法进行^[8]。取鲜样 0.3 g 加入 3 ml 50 mmol·L⁻¹ 磷酸缓冲液(甲液: Na₂HPO₄ 8.9 g 定容于 1 L 蒸馏水; 乙液: KH₂PO₄ 6.8 g 定容于 1 L 蒸馏水取 900 ml 甲液和 100 ml 乙液配制而成), 冰浴中研磨、匀浆, 加入 7 ml 磷酸缓冲液冲洗, 4 层纱布过滤到小烧杯中, 并转至离心管, 4 °C 条件下, 10 000 r/min 离心 20 min, 上清液用同样的磷酸缓冲液定容至 10 ml。低温 4 °C 下保存备用。

1.2.2.1 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定^[8] NBT(氮兰四唑)反应液的制备: 450 ml 磷酸缓冲液+0.87 g 甲硫氨酸(待完全溶解后再放入后续试剂)+0.0206 g NBT+0.00021 g 核黄素+0.0131 EDTA(乙二胺四乙酸)。100 μl 酶液加入到 3 ml NBT 反应液中, 在 400 lx 日光灯下进行光化学反应 15 min, 然后黑暗终止反应, 测定 A₅₆₀ 值, 以不加酶液的反应液作空白对照。SOD

活性($U\cdot g^{-1}$)=[(OD 对照-OD 测试)/OD 对照]×2×(稀释倍数/鲜重)。

1.2.2.2 过氧化物酶(POD)活性测定 采用愈创木酚法^[9]。将磷酸缓冲液、0.05 mol·L⁻¹ 愈创木酚和 2% H₂O₂ 按照 2.7:1:1 的比例混合, 在 37 °C 条件下保温, 加入 0.3 ml 酶液, 摆匀后在 470 nm 比色, 从加入酶液起每隔 1 min 记录 1 次 OD_{470nm} 值, 记录 2 次。用其斜率表示单位时间内的光密度变化率。酶活性以单位时间内每克材料的光密度变化值来表示($\Delta OD_{470nm}\cdot min^{-1}\cdot g^{-1}$)。

1.2.2.3 过氧化氢酶(catalase)活性测定 采用 240 nm 比色法^[10]。将磷酸缓冲液和 30% H₂O₂ 按 3.69:0.01 混匀, 在 37 °C 条件下保温, 加入 0.3 ml 酶液, 摆匀后在 240 nm 比色, 加入酶液后每隔 1 min 记录 1 次 OD_{240nm} 值, 记录 2 次, 用其斜率表示单位时间内的光密度变化率。酶活性以单位时间内每克材料的光密度变化值来表示($\Delta OD_{240nm}\cdot min^{-1}\cdot g^{-1}$)。

2 结果与分析

2.1 恢复系、不育系对两种飞虱的抗性反应

3 个籼稻恢复系 TE358、TE363、TE367 对两种飞虱都表现为高抗或抗(表 2、3), 其中 TE358 对白背飞虱表现为高抗(表 2), TE367 对褐飞虱表现为高抗(表 3), 说明供试恢复系在水稻抗稻飞虱育种中具有潜在利用价值; 2 个不育系协青早 A 和 II 32A 对两种飞虱均表现为感虫性(表 2、3); 杂交组合 II 32A/TE358 的 F_1 对白背飞虱表现为高抗(表 2), 对褐飞虱却表现为中感(表 3)。

表 2 亲本和 F_1 代对白背飞虱的抗性反应¹⁾

Table 2 Reaction of parents and F_1 to whitebacked planthopper

供试材料 Materials	死苗率 Seedling mortality (%)	抗性级别 Resistance grade	抗性水平 Resistance description
TE358	10	1	高抗 Highly resistant
TE363	20	3	抗 Resistant
TE367	40	5	中抗 Moderately resistant
协青早 A	70	9	感 Susceptible
Xieqingzao A			
II 32A	80	9	感 Susceptible
II 32A/TE358	10	1	高抗 Highly resistant
TN ₁	90	9	感 Susceptible

¹⁾ 分蘖盛期单株接虫鉴定方法

Caged test of individual seedling at 7-8 leaf stage

2.2 白背飞虱和褐飞虱对恢复系、不育系及其 F_1 的取食量

稻飞虱取食后分泌的蜜露量一定程度上反映其取食量^[7]。在同一供试材料上, 褐飞虱取食量明显高于

表3 亲本和F₁代对褐飞虱的抗性反应¹⁾Table 3 Reaction of parents and F₁ to brown planthopper

供试材料 Materials	总苗数 No. of total seedlings	死苗数 No. of died seedlings	死苗率 Seedling mortality (%)	抗性级别 Resistance grade	抗性水平 Resistance description
E358	36	7	19.4	3	抗 Resistant
TE363	36	4	11.1	3	抗 Resistant
TE367	36	2	5.6	1	高抗 Highly Resistant
协青早 A XieqingzaoA	36	32	88.9	9	感 Susceptible
II32A	36	28	77.8	9	感 Susceptible
II32A/TE358	36	22	61.1	7	中感 Moderately susceptible
TN ₁	72	70	97.2	9	感 Susceptible
Muduo	72	40	55.6	7	中感 Moderately susceptible
ASD7	72	5	6.9	1	高抗 Highly Resistant

¹⁾ 苗期群体接虫鉴定方法 Screening test of mass seedling at 2-3 leaf stage

白背飞虱; 不同材料上比较, 两种飞虱对感虫材料上的取食量均明显高于抗虫材料上的取食量(表4)。褐飞虱分泌的蜜露量也明显高于白背飞虱, 暗示褐飞虱取食量大于白背飞虱。在相同虫量下, 褐飞虱比白

表4 白背飞虱和褐飞虱在供试材料上分泌的蜜露量¹⁾Table 4 Honeydew excreted by *Sogatella furcifera* and *Nilaparvata lugens* on different materials

供试材料 Materials	白背飞虱 <i>Sogatella furcifera</i> (mg/♀·d)	褐飞虱 <i>Nilaparvata lugens</i> (mg/♀·d)
TE358	2.4267±3.5395a	16.6589±9.5945a
TE363	3.2533±3.5921a	13.1122±4.683ab
TE367	1.9833±1.5982a	13.1544±6.3123ab
协青早 A XieqingzaoA	4.9833±1.2608a	22.61±2.7619ab
II32A	5.9833±1.7702a	25.7133±16.4095abc
F ₁	2.83±0.2651a	24.19±12.6007bc
ASD7	-	7.0711±4.3043bc
TN ₁	5.2467±2.566a	21.6867±16.3345c

¹⁾ 平均数后具有相同英文小写字母表示平均数之间没有显著性差异, 最小显著差数法, P=0.05

Means followed by the same lowercase letters in the column are not significantly different by least significant difference (LSD) test, P=0.05

背飞虱具有更大的危害性。同时, 抗虫材料上褐飞虱蜜露量为13.1~16.7(mg/♀·d), 感虫材料为22.6~25.7(mg/♀·d)。被国际水稻所列为对照抗、感虫品种ASD7和TN₁上褐飞虱蜜露量分别为7.0和21.7(mg/♀·d), 表现相同趋势。白背飞虱在抗、感虫材料上蜜露量也表现类似差异, 但不如褐飞虱明显。因此, 笔者认为, 蜜露量测定可考虑作为衡量品种抗虫能力的一个指标。

2.3 恢复系、不育系及其F₁受两种飞虱为害后植株体内保护酶活性的变化

白背飞虱为害水稻后, 抗虫材料(TE358、TE363、TE367)植株体内SOD和POD活性都有不同程度的增加, 特别是TE363, 其体内POD活性大幅度增加, 达到87.53%。catalase活性却有不同程度的下降; 感虫材料(协青早A、II32A、TN₁)植株体内只有SOD活性增加, POD活性和catalase活性均下降(表5)。

表5 白背飞虱为害后供试材料植株体内保护酶变化

Table 5 Changes of protective enzymes in rice plant damaged by *Sogatella furcifera*

供试材料 Materials	SOD 处理 SOD treatments CK (U·g ⁻¹)		POD 处理 POD treatments (△OD _{470nm·min⁻¹·g⁻¹)}		Catalase 处理 Catalase treatments (△OD _{240nm·min⁻¹·g⁻¹)}		CK	%
	CK	%	CK	%	CK	%		
TE358	184.44	181.67	1.52	526.67	467.67	12.62	1.5556	3.2222 -51.72
TE363	176.11	112.22	56.93	561.33	299.33	87.53	0.4444	0.4444 0
TE367	176.11	152.22	15.69	494	453.33	8.97	0.5556	0.8889 -37.5
协青早 A XieqingzaoA	189.44	163.89	15.59	368	493.33	-25.4	0.5556	0.8889 -37.5
II32A	187.22	173.89	7.67	460	482	-4.56	0.7778	1.1111 -30
F ₁	178.89	162.22	10.28	486.67	214.67	126.71	0.2222	3.5556 -93.75
TN ₁	184.44	162.78	13.31	320	320	0	0.2222	0.7778 -71.43

褐飞虱为害水稻后, 抗虫材料(TE358、TE363、TE367)植株体内SOD和catalase活性都有不同程度的增加, 尤其是TE367, 其体内catalase活性显著增加, 达到105.69%。抗虫植株体内POD活性均下降; 感虫材料(协青早A、II32A、TN₁)植株体内SOD和POD活性均有不同程度的增加, 但catalase活性下降(表6)。

与白背飞虱为害相比, 抗虫材料(TE358、TE363、TE367)受到褐飞虱为害后, 其植株体内SOD活性的增长率高于前者。感虫材料(协青早A、II32A、TN₁)受害后, 体内catalase的变化率(下降幅度)也高于前者。对照感虫品种TN₁受害后, 其植株体内3个保护酶指标(SOD、POD和catalase)活性的变化率均高于前者的变化率。

表 6 褐飞虱为害后供试材料植株体内保护酶变化

Table 6 Changes of protective enzymes in rice plant after *Nilaparvata lugens* attack

供试材料 Materials	SOD 处理 SOD treatments		POD 处理 POD treatments		Catalase 处理 Catalase treatments				
	(U·g ⁻¹)	CK	%	(△OD _{470nm} ·min ⁻¹ ·g ⁻¹)	CK	%	(△OD _{240nm} ·min ⁻¹ ·g ⁻¹)	CK	%
TE358	210.54	175.38	20.05	451.37	530.25	-14.88	2.37	1.67	41.35
TE363	196.55	120.35	63.32	223.17	314.28	-28.99	0.72	0.52	39.84
TE367	191.36	148.52	28.84	387.45	467.33	-17.09	1.85	0.9	105.69
协青早 A XieqingzaoA	192.54	167.91	14.67	567.87	497.37	14.17	0.41	0.86	-51.97
II32A	205.37	180.41	13.84	570.23	491.51	16.02	0.71	1.26	-43.22
F ₁	177.31	150.58	17.75	225.61	155.42	45.16	1.54	3.74	-58.74
TN ₁	219.64	168.87	30.06	447.28	334.51	33.71	0.15	0.85	-88.2

3 讨论

在生物体内，氧被视为电子传递的受体，得到电子时能生成超氧化物阴离子 O_2^- 及其衍生物 $HO\cdot$ 和 H_2O_2 等^[11]自由基，正常状态下，它们的产生和清除处于平衡。植株体内保持低的自由基浓度，不仅不会对生物体引起损伤，而且还能显示独特的生理作用^[12]。但是，遇逆境胁迫时，体内自由基会过量积累，致使膜脂过氧化水平提高，膜的透性增加，膜结构及其功能受到损伤，最终对生物体引起危害。而活性氧清除系统 3 个主要酶（超氧化物歧化酶 SOD、过氧化物酶 POD 和过氧化氢酶 catalase）能有效抑制活性氧自由基对机体的伤害，其中 SOD 可以清除 O_2^- 并反应生成 H_2O_2 ，catalase 能进一步催化 H_2O_2 分解成 H_2O 和 O_2 ，POD 则具有分解 H_2O_2 的能力，正是这 3 种酶的彼此协调、相互作用，使细胞内的自由基保持正常水平，减轻自由基对生物体造成的毒害，提高生物体抗逆能力。

白背飞虱取食抗虫品种过程中，虫体内 SOD 和 catalase 活性明显增加，且起着主要作用，POD 作用不明显^[13]。本试验表明，水稻植株受到稻飞虱为害的生物胁迫时，体内也能引发 SOD、POD 和 catalase 3 个酶活性相应的变化，在一定范围内，随植株受害程度幅度增大，SOD 增大有利于清除更多的超氧化物阴离子自由基 O_2^- ，catalase 则进一步消除自由基 H_2O_2 对植株的毒害，从而增强其抗逆能力；但是各个指标变化的幅度不同。其中以 SOD 和 catalase 对受褐飞虱为害较为敏感，抗虫材料 SOD 活性增长率和 catalase 活性下降均比白背飞虱为害明显。这一趋势和褐飞虱的取食量明显高于白背飞虱的取食量相似。

致谢：浙江省农业科学院俞晓平研究员曾对本文予以认真审议；中国水稻研究所傅强博士提供了褐飞虱虫源；朱海江、王州飞同学在酶活性测定中予以协助，在此一并表示感谢。

References

- [1] 李汝铎, 丁锦华, 胡国文, 苏德明. 褐飞虱及其种群管理. 上海: 复旦大学出版, 1996:67-81.
Li R D, Ding J H, Hu G W, Su D M. *The Brown Planthopper and Its Population Management*. Shanghai: Fudan University Press, 1996: 67- 81.(in Chinese)
- [2] 陈建明, 俞晓平, 葛秀春, 吕仲贤, 程家安, 颜红岚, 刘光杰, 郑许松, 陶林勇, 孔令军. 水稻植株防御白背飞虱为害的某些生理反应. 中国水稻科学, 2000, 14(1): 43-47.
Chen J M, Yu X P, Ge X C, Lu Z X, Cheng J A, Yan H L, Liu G J, Zheng X S, Tao L Y, Kong L J. Some physiological changes of rice plants infested by the whitebacked planthopper, *Sogatella furcifera*. *Chinese Journal of Rice Science*, 2000, 14(1):43-47. (in Chinese)
- [3] 朱麟, 古德祥, 张古忍, 游金平. 褐飞虱和白背飞虱在抗褐飞虱水稻品种上的行为反应. 植物保护学报, 2002, 29(2):145-152.
Zhu L, Gu D X, Zhang G R, You J P. Behavioral response of brown planthopper and whitebacked planthopper to BPH-resistant rice varieties. *Acta Phytophylacica Sinica*, 2002, 29(2):145-152. (in Chinese)
- [4] 曾玲, 吴容宗. 水稻品种对褐稻虱的抗性. 昆虫学报, 1984, 27 (4): 375-383.
Zeng L, Wu R Z. The resistance to brown planthopper, *Nilaparvata lugens* in rice varieties. *Journal of Entomology*, 1984, 27(4): 375-383. (in Chinese)
- [5] 俞晓平, 巫国瑞, 陶林勇. 褐飞虱和白背飞虱在水稻品种上的为害特性. 中国水稻科学, 1991, 5(2):91-93.
Yu X P, Wu G R, Tao L Y. The infestation of brown planthopper and the whitebacked planthopper on rice varieties. *Chinese Journal of Rice Science*, 1991,5(2):91-93. (in Chinese)
- [6] 刘光杰, 付志红, 沈君辉, 张亚辉. 水稻品种对稻飞虱抗性鉴定方法的比较研究. 中国水稻科学, 2002, 16 (1): 52-56.
Liu G J, Fu Z H, Shen J H, Zhang Y H. Comparative study on evaluation methods for resistance to rice planthopper (*Homoptera: Delphacidae*) in rice. *Chinese Journal of Rice Science*, 2002, 16(1): 52-56. (in Chinese)
- [7] 刘光杰, 占小登, 沈君辉, 曹立勇, 程式华. 水稻同核异质不育系材料对白背飞虱抗性的研究初报. 中国水稻科学, 2003, 17(1): 89-90.

- Liu G J, Zhan X D, Shen J H, Cao L Y, Cheng S H. Preliminary study on the resistance of mononuclear-heteroplasmic CMS lines of rice to the whitebacked planthopper, *Sogatella furcifera*. *Chinese Journal of Rice Science*, 2003, 17(1):89-90. (in Chinese)
- [8] 张宪政. 作物生理研究法. 北京: 农业出版社, 1992.
- Zhang X Z. *The Research Technique of Crop Physiology*. Beijing: Agricultural Press, 1992. (in Chinese)
- [9] 荆加海, 丁钟荣. 植物生物化学分析方法. 北京: 科学出版社, 1981:95-101.
- Jing J H, Ding Z R. *The Analysis Method of Plant Biochemistry*. Beijing: Science Press, 1981:95-101. (in Chinese)
- [10] Trevor E, Kraus R, Austin F. Paclobutrazol protects wheat seedlings from heat and paraquat injury by detoxification of active oxygen involved. *Plant Cell Physiology*, 1994, 35(1):45-52.
- [11] 蒋德安, 朱诚. 植物生理学试验指导. 成都: 成都科技大学出版社, 1999:83.
- Jiang D A, Zhu C. *Plant Physiological Experiment Guidance*. Chengdu: Chendu Technology University Press, 1999:83. (in Chinese)
- [12] 曹仪植, 宋占午. 植物生理学. 兰州: 兰州大学出版社, 1998:396.
- Cao Y Z, Song Z W. *Plant Physiology*. Lanzhou: Lanzhou University Press, 1998:396. (in Chinese)
- [13] 陈建明, 俞晓平, 吕仲贤, 陶林勇, 郑许松, 徐红星, 程家安. 白背飞虱取食抗虫品种过程中体内保护酶和自由基的变化. *华东昆虫学报*, 2002, 11(2):41-45.
- Chen J M, Yu X P, Lu Z X, Tao L Y, Zheng X S, Xu H X, Cheng J A. Changes of protective enzymes and hydroxylamine in body of the whitebacked planthopper (WBPH), *Sogatella furcifera*, Horvath, feeding on resistant rice varieties. *Entomological Journal of East China*, 2002, 11(2): 41-45. (in Chinese)

(责任编辑 王红艳)