

# 不同褐飞虱寄主种群类酵母共生菌形态和数量的比较

孙佳音 傅强\* 赖凤香 王渭霞

(中国水稻研究所, 浙江 杭州 310006; \* 通讯联系人, E-mail: qiangfu1@yahoo.com.cn)

## Comparison on Morphology and Number of Yeast like Symbionts in Different Host Associated Populations of *Nilaparvata lugens*

SUN Jia yin, FU Qiang\*, LAI Feng xiang, WANG Wei xia

(China National Rice Research Institute, Hangzhou 310006, China; \* Corresponding author, E-mail: qiangfu1@yahoo.com.cn)

**Abstract:** The morphology and number of yeast like symbionts (YLS) in three host associated populations of *Nilaparvata lugens* (TN1 population, Mudgo population and ASD7 population) which had been reared on rice varieties TN1 (susceptible), Mudgo (harboring resistance gene *Bph1*) and ASD7 (harboring resistance gene *bph2*) for more than 117 generations, respectively were studied. There was significant difference in the YLS size among the three populations. ASD7 population had the longest and widest YLS, followed by TN1 population and Mudgo population. There was no significant difference in length-width ratio of YLS among the three populations. As for the YLS number of *N. lugens*, the difference among the populations varied with sex of *N. lugens*. Females had no significant difference in most cases, while males had. The males of TN1 population harbored much more YLSs than those of both Mudgo and ASD7 populations. There was no significant difference between the later two populations. The amount of YLS in *N. lugens* males increased significantly when TN1 populations were reared on ASD7 or Mudgo for one generation. On the contrast, the amount in *N. lugens* males decreased significantly when ASD7 and Mudgo populations were reared on TN1. But no significant difference was found for females when their rearing rice varieties were changed from susceptible variety (TN1) to resistant ones (ASD7 or Mudgo). In addition, there was no significant change in YLS number when Mudgo population were reared on ASD7 or ASD7 population on Mudgo.

**Key words:** *Nilaparvata lugens*; yeast like symbionts; host associated population; virulence

**摘要:** 对分别在不同水稻品种 TN1(感虫品种)、Mudgo(含 *Bph1* 抗虫基因)、ASD7(含 *bph2* 抗虫基因)上连续饲养了 117 代以上的 3 个褐飞虱寄主种群(分别称为 TN1 种群、Mudgo 种群、ASD7 种群)体内类酵母共生菌的形态和数量进行了比较。各褐飞虱种群类酵母共生菌的长和宽差异显著,且 ASD7 种群 > TN1 种群 > Mudgo 种群;长宽比无明显差异。种群间类酵母共生菌数量的差异因试虫性别而异,不同种群的褐飞虱雌虫含菌量无明显差异,雄虫则表现出 TN1 种群 > ASD7 种群 > Mudgo 种群的趋势,其中 TN1 种群与后两者差异显著,后两者间无显著差异。各褐飞虱种群转移到不同水稻品种上饲养 1 代,雌虫含菌量变化大多不明显,但雄虫较明显。感虫品种 TN1 上雄虫转移到两个抗性品种 Mudgo 和 ASD7 上饲养含菌量显著降低,抗性品种上的雄虫转移到 TN1 上则含菌量显著增加,抗性品种间的转移含菌量则没有明显变化。

**关键词:** 褐飞虱;类酵母共生菌;寄主种群;致害性

中图分类号: Q143<sup>+</sup> 2; Q934; S435.112<sup>+</sup> 3

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2009)05-0546-05

褐飞虱 (*Nilaparvata lugens* Stal) 是亚洲地区一种远距离迁飞性水稻害虫,也是我国长江流域及华南和西南广大稻区水稻上的主要害虫<sup>[1]</sup>。利用抗虫水稻品种抑制其生长发育和繁殖,控制该害虫的田间虫口发生数量,是最为经济、安全、有效的防治途径。国际水稻研究所(IRRI)于 1973 年推广含有抗褐飞虱基因 *Bph1* 的 IR26,1976 年推广具有抗褐飞虱基因 *bph2* 的 IR36,曾在东南亚稻区褐飞虱的控制中发挥了巨大作用<sup>[2]</sup>。我国于 20 世纪 80 年代中后期先后育成了一系列含抗褐飞虱基因 *Bph1* 的抗性品种,并在生产中得到大面积应用,其中汕优 63 在 1990 年种植面积超过 687 万 hm<sup>2</sup>,占当年全部水稻种植面积的 27.1% 和杂交稻总面积的 42.8%<sup>[3]</sup>,对控制褐飞虱的危害起到了重要作用。

然而,抗虫水稻品种大面积推广种植后,品种抗

性胁迫使褐飞虱致害特性迅速发生改变,即产生新的“生物型”,抗虫性随之丧失<sup>[4-10]</sup>,有些抗虫品种的使用寿命甚至不超过 1 年<sup>[11]</sup>。阐明褐飞虱致害性的变异规律及其机制是延缓水稻抗虫性丧失速率,实现抗性水稻品种可持续利用的重要保障。

褐飞虱脂肪体细胞内存在大量的类酵母共生菌,这与褐飞虱对必需氨基酸等重要营养物质的需求密切相关<sup>[12-15]</sup>。近年来,吕仲贤等<sup>[16-17]</sup>发现取食抗性水稻品种能显著降低褐飞虱体内类酵母共生菌(yeast like symbionts, YLS)的数量,并推测褐飞虱致害性可能与体内类酵母共生菌有关。陈法军

收稿日期: 2008-03-12; 修改稿收到日期: 2009-02-24。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30370937); 浙江省自然科学基金青年人才培养项目(R304466); 国家“十一五”科技支撑计划资助项目(2006BAD08A04)。

第一作者简介: 孙佳音(1982-),女,硕士研究生。

等<sup>[18-19]</sup>进一步发现,用抗性水稻品种饲养的褐飞虱体内类酵母菌不仅数量显著降低,同时其大小亦显著减小。然而,上述研究主要见于对褐飞虱不同地理种群,或在抗性水稻品种上饲养数代(3代)种群的观察,缺少对长期饲养于不同抗、感虫水稻品种上不同致害性寄主种群的类酵母菌形态和数量的比较研究。为此,本研究拟通过对在不同抗、感虫品种上连续饲养117代以上的不同致害性褐飞虱种群类酵母共生菌形态和数量进行比较,以期进一步揭示类酵母共生菌与褐飞虱致害性变异的关系。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试材料

#### 1.1.1 供试水稻品种

TN1(常规感虫对照)、Mudgo(携带抗虫基因 *Bph1*)和 ASD7(携带抗虫基因 *bph2*),分期播种于无虫网室,取分蘖期水稻用于褐飞虱的饲养。

#### 1.1.2 供试褐飞虱

不同致害性褐飞虱种群试虫均取自中国水稻研究所养虫室(1995年7月采集的浙江富阳田间褐飞虱种群),室内分别笼罩饲养于 TN1、Mudgo、ASD7等3个抗感虫特性不同的水稻品种上,连续饲养代数超过117代,分别称为 TN1 种群、Mudgo 种群和 ASD7 种群。经标准苗期集团筛选法(SSST法)检测,3个种群对水稻品种的致害性明显不同(未发表资料)。试虫饲养温度除冬季稍低(20~28)外,其他季节为24~30;相对湿度冬季40%~70%,其他季节80%~95%;自然光照。

### 1.2 试验方 法

#### 1.2.1 不同褐飞虱寄主种群类酵母共生菌形态观察

褐飞虱类酵母共生菌有长梭形、杆形、圆形等不同形态,其中以长梭形或杆形为主<sup>[20]</sup>,本研究主要对此类菌的大小、形状进行观察。其中,菌体大小以

长、宽作为评价指标,菌体形状以长宽比为评价依据。试验时,从3个不同的褐飞虱寄主种群中取初羽化成虫进行观察,即取单头成虫置于1.5 mL离心管中,记录其性别和翅型,每管加入0.85%的生理盐水100 μL,用研磨器研磨匀浆,取2 μL滴于血细胞计数器(0.01 mm,1/400 mm<sup>2</sup>)上,小心盖上盖玻片后在400倍生物显微镜下进行观察,每个样本(单虫)记录10个成熟的类酵母共生菌的长、宽数据,并据此计算长宽比。每个种群观察20头不同的个体,其中雌雄虫各10头,长短翅型各半。

#### 1.2.2 不同褐飞虱寄主种群类酵母共生菌数量观察

各褐飞虱种群试虫分别在 TN1、Mudgo、ASD7 3个不同水稻品种上笼罩饲养1个世代(成虫产卵至子代羽化),饲养温度26~29,相对湿度80%~95%,自然光照。取初羽化成虫采用血球计数法进行共生菌数量的计数。观察时,成虫单头称重后置于1.5 mL离心管中,按1.2.1的方法匀浆,滴于血细胞计数器上并小心盖好盖玻片后,在显微镜下通过5点取样法,观察、记载共生菌的数量,计算单头试虫及单位鲜质量试虫所含的共生菌数量。每处理的雌、雄试虫各观察30头以上。

#### 1.2.3 统计分 析

利用 DPS 数据处理软件<sup>[21]</sup>,对共生菌长、宽、长宽比等指标进行褐飞虱寄主种群、性别、翅型三因素方差分析,对共生菌数量则进行寄主种群、供试饲养品种两因素方差分析;采用 Duncan 氏新复极差法进行平均数的多重比较。

## 2 结果与分 析

### 2.1 不同褐飞虱种群类酵母共生菌形态的比较

对不同寄主种群、不同性别、翅型褐飞虱试虫体内类酵母共生菌的长度、宽度和长宽比3个指标的三因素方差分析结果表明(表1),褐飞虱寄主种群

表1 褐飞虱不同寄主种群、性别、翅型对类酵母共生菌形态影响的方差分析(P值)

Table 1 Three way ANOVA for the effects of host associated population, sex and wingform of *N. lugens* on the morphology of yeast like symbionts (YLS) (Pvalue).

误差来源 Source of variance	类酵母菌长度 Length of YLS	类酵母菌宽度 Width of YLS	类酵母菌长宽比 Length width ratio of YLS
种群类型 Population (A)	0.0001	0.0011	0.0232
翅型 Wingform (B)	0.0562	0.4782	0.5152
性别 Sex (C)	0.2821	0.2676	0.8854
A × B 互作效应 A × B interaction	0.0002	0.6937	0.0321
B × C 互作效应 B × C interaction	0.0242	0.9607	0.1719
A × C 互作效应 A × C interaction	0.0001	0.5919	0.3569
A × B × C 互作效应 A × B × C interaction	0.0016	0.0422	0.4674

类型对类酵母菌的长度、宽度和长宽比均有显著影响 ( $P < 0.05$ ), 翅型和性别则对类酵母菌 3 项指标均无显著影响 ( $P > 0.05$ ), 但种群  $\times$  翅型、种群  $\times$  性别、翅型  $\times$  性别及种群  $\times$  性别  $\times$  翅型 4 种交互作用显著影响菌体长度, 种群  $\times$  翅型、种群  $\times$  性别  $\times$  翅型分别对菌体长宽比和菌体宽度有显著影响 ( $P < 0.05$ )。

对不同寄主种群进行比较 (表 2), 发现类酵母菌的长、宽均表现出 ASD7 种群  $>$  TN1 种群  $>$  Mudgo 种群的趋势, 其中 ASD7 种群长、宽均显著大于 TN1 种群和 Mudgo 种群, TN1 种群与 Mudgo 种群间仅菌体长度差异达显著水平 ( $P < 0.05$ ); 共生菌的长宽比则表现出 ASD7 种群  $>$  Mudgo 种群  $>$  TN1 种群的趋势, 其中前两者无显著差异, 且均显著大于 TN1 种群。可见, ASD7 种群的菌体最大, Mudgo 群体最小, 但两者长宽比无显著差异, 形态上相似; TN1 种群菌体大小居中, 但长宽比显著较小, 形态上相对粗短。

从不同寄主种群间长翅雌虫、短翅雌虫、长翅雄虫、短翅雄虫 4 种类型成虫体内的类酵母菌 (图 1) 看, 菌体长度除短翅雌虫外, 其余 3 类成虫均以 ASD7 种群最长, 且与 TN1 种群和 Mudgo 种群差异显著 ( $P < 0.05$ ); 4 类成虫的菌体宽度亦以 ASD7 种群最宽, 但仅雄虫有显著差异 ( $P < 0.05$ )。菌体长宽比除长翅雌虫以 ASD7 种群显著较高外, 3 个寄主种群间短翅雌虫、长翅雄虫和短翅雄虫均无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

### 2.2 不同褐飞虱种群体内类酵母共生菌的数量

褐飞虱寄主种群、饲养用水稻品种两个因子对类酵母共生菌数量影响的方差分析结果表明, 就单头试虫的共生菌数量而言, 不同种群影响极显著 ( $P = 0.0042$ ), 不同饲养用水稻品种亦有一定影响 ( $P = 0.0596$ ), 褐飞虱种群与饲养用水稻品种间存在显

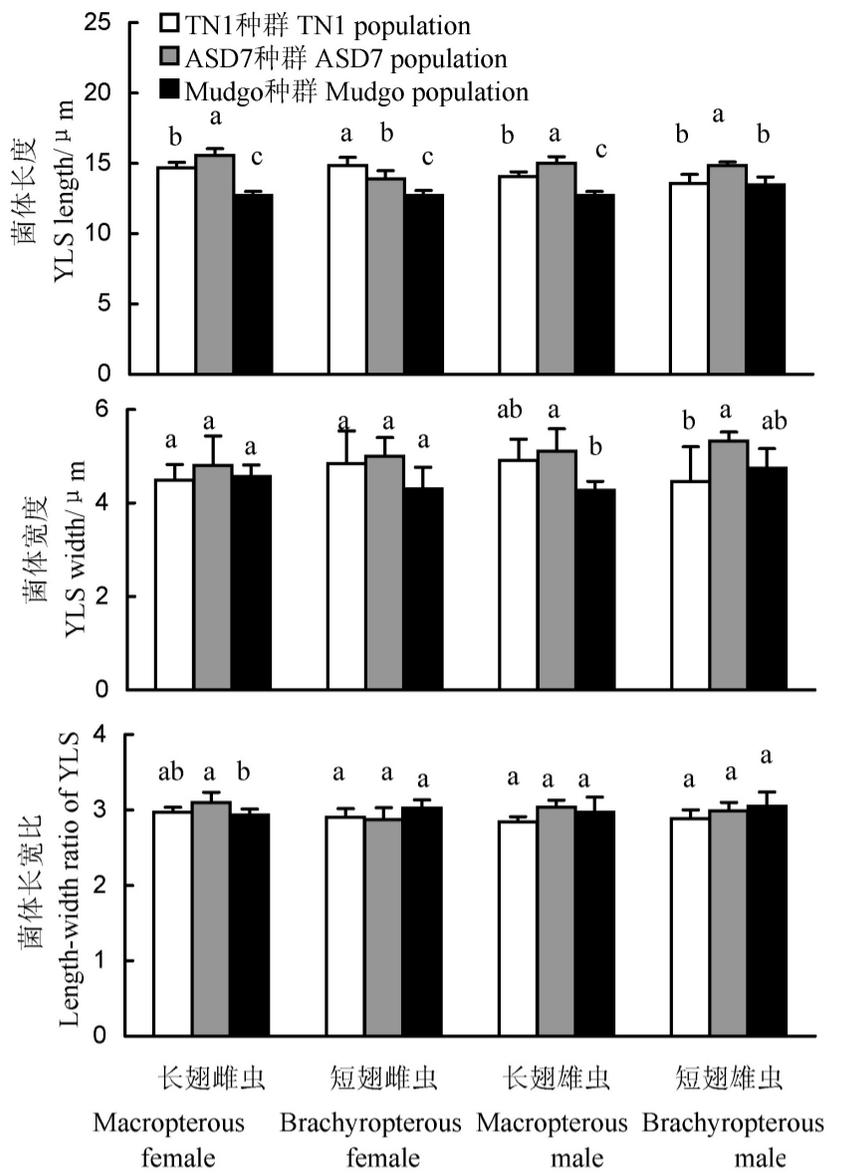


图 1 三个褐飞虱寄主种群各类成虫体内类酵母共生菌的长度、宽度和长宽比

Fig. 1 Length, width and length-width ratio of YLS for different adults of three host associated populations of *N. lugens*.

图中数据为平均值  $\pm$  标准差。柱上方带有相同小写字母者表示在 5% 水平上无显著差异。图 2 同。

The data are shown as mean  $\pm$  Sd. Columns with same lowercase letters above indicate no significant difference at the 5% level. The same as in Fig. 2.

著交互作用 ( $P = 0.0414$ )。单位鲜质量试虫共生菌数量的结果则不同, 不同种群间无显著差异 ( $P = 0.8882$ ), 不同饲养用水稻品种间则有极显著影响

表 2 3 个褐飞虱寄主种群体内类酵母共生菌的长度、宽度和长宽比

Table 2. Length, width and length-width ratio of YLS for three host associated populations of *N. lugens*.

褐飞虱种群 Population of <i>N. lugens</i>	菌体长度		菌体宽度		菌体长宽比	
	Length of YLS/ $\mu m$		Width of YLS/ $\mu m$		Length-width ratio	
	平均值	标准差	平均值	标准差	平均值	标准差
	Mean	Sd	Mean	Sd	Mean	Sd
TN1 种群 TN1 population	14.3 <sup>b</sup>	0.7	4.7 <sup>b</sup>	0.6	2.90 <sup>b</sup>	0.10
ASD7 种群 ASD7 population	14.8 <sup>a</sup>	0.8	5.1 <sup>a</sup>	0.5	3.00 <sup>a</sup>	0.14
Mudgo 种群 Mudgo population	12.9 <sup>c</sup>	0.5	4.5 <sup>b</sup>	0.4	2.99 <sup>a</sup>	0.15

同一栏中, 数据后跟相同字母者表示 Duncan 氏新复极差法多重比较无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

Within a column, data followed by same lowercase letters indicate no significant difference at the level of 0.05 by the Duncan's multiple test.

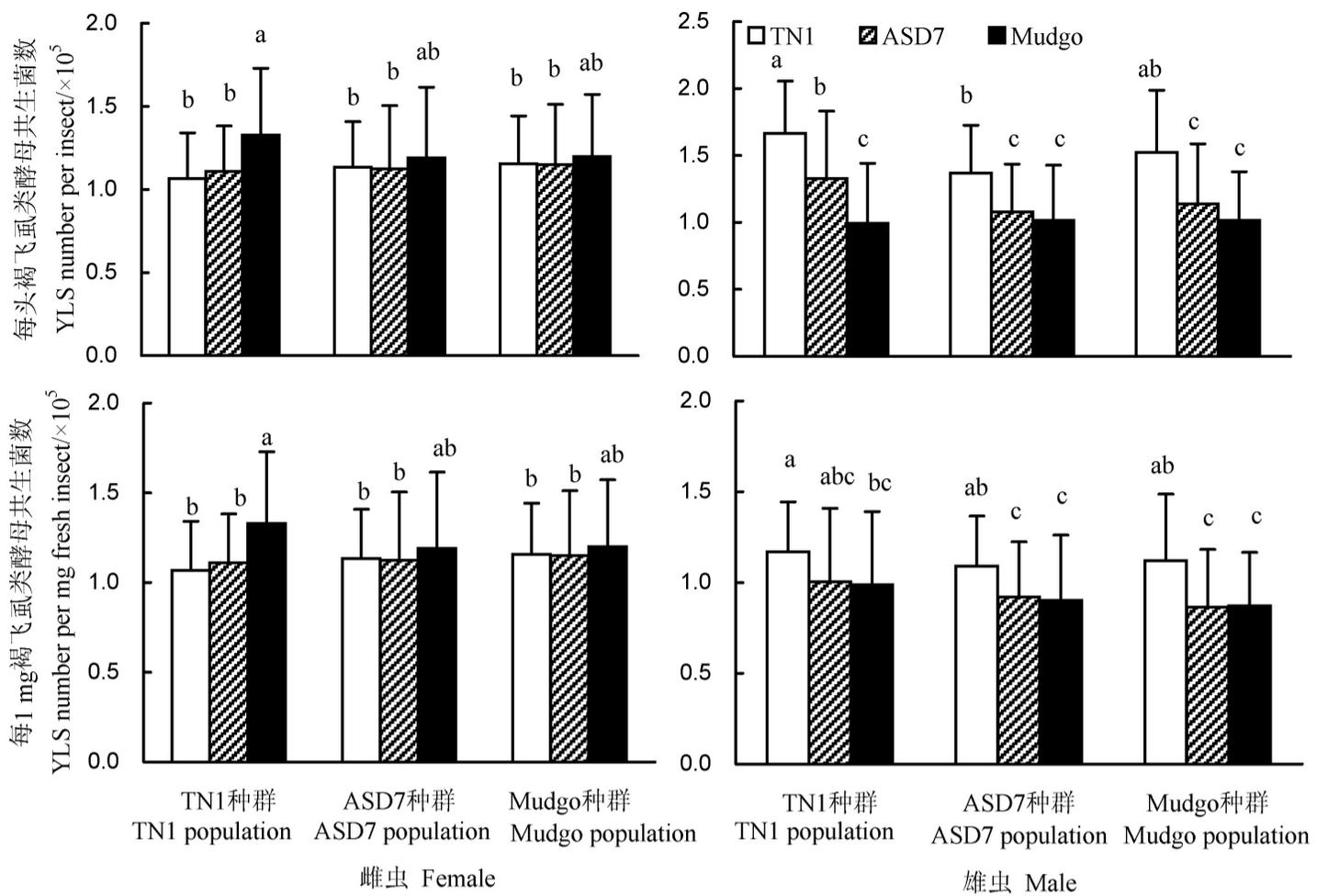


图2 饲喂于水稻品种 TN1、Mudgo 和 ASD7 上的 3 个褐飞虱寄主种群体内共生菌数量的变化

Fig. 2 Number of yeast like symbionts of the three host associated populations of *N. lugens* reared on rice varieties TN1, Mudgo and ASD7.

( $P=0.0095$ ), 褐飞虱种群与饲养用水稻品种间无明显交互作用 ( $P=0.2200$ )。

从各褐飞虱种群在各自累代饲养水稻寄主上 (TN1 种群在 TN1, Mudgo 种群在 Mudgo, ASD7 种群在 ASD7) 类酵母菌数量来看 (图 2), 无论是单虫菌量还是单位鲜质量试虫的含菌量, 3 个寄主种群的雄虫均以 TN1 种群含菌量最高, 且与 ASD7 种群和 Mudgo 种群差异显著 ( $P < 0.05$ ), ASD7 种群与 Mudgo 种群间差异不显著 ( $P > 0.05$ ); 3 个寄主种群的雌虫间则无显著差异 ( $P > 0.05$ )。表明在抗性水稻品种 (Mudgo、ASD7) 上长期饲养后 (> 117 代), 褐飞虱雌虫含菌量无明显变化, 但雄虫含菌量显著降低。

各种群试虫转移到不同水稻品种上饲养 1 个世代, 体内类酵母菌的数量有所变化, 尤以雄虫含菌量变化较为明显 (图 2)。TN1 种群转移到抗性水稻品种 Mudgo 或 ASD7 上, 雄虫单头含菌量显著降低, 且 Mudgo 上的雄虫又显著低于 ASD7 上的雄虫, 雌虫单位鲜质量含菌量亦下降, 但仅在 Mudgo 上下降显著, 雌虫仅 Mudgo 上的单位鲜质量试虫含菌量变化显著, 其余均无明显变化。ASD7 种群转移到感虫品种 TN1 上, 雄虫含菌量均明显增加, 雌虫则变化不明显, 转移到 Mudgo 上, 雄、雌虫含菌量均无显著变化。Mudgo 试虫转移到 TN1 上, 雄虫含菌量

明显增加, 雌虫仅单头含菌量明显增加, 雌虫单位鲜质量含菌量则无明显变化; 转移到 ASD7 上, 雄、雌虫含菌量均无显著变异, 与 ASD7 种群试虫转移到 Mudgo 上时情况相似。显然, 褐飞虱雄虫含菌量对饲养水稻品种的更换较雌虫敏感, 感虫品种上的 TN1 种群转移到抗性品种 Mudgo 和 ASD7 上, 雄虫含菌量显著降低, 抗性品种上的试虫转移到 TN1 上, 雄虫含菌量则显著增加。

### 3 讨论

类酵母共生菌与褐飞虱间是一种相互依存的共生关系, 自然界中尚未发现不含类酵母共生菌的褐飞虱个体。人为地降低褐飞虱体内的类酵母共生菌数量亦使得褐飞虱的生长发育延缓, 存活率降低 [15]。陈法军等 [19] 通过对强迫饲养于抗性水稻品种 (IR26、IR36) 上的褐飞虱连续 3 个世代的观察发现, 无论雌虫还是雄虫体内的类酵母共生菌数量均显著少于感虫品种上的试虫; 吕仲贤等 [16-17] 亦发现取食抗性水稻品种能显著降低褐飞虱体内共生酵母菌的数量。而本研究结果并不完全一致。首先, 感虫品种上的褐飞虱 TN1 种群饲养于抗性水稻品种 Mudgo 或 ASD7 上 1 个世代后, 仅褐飞虱雄虫的共生菌数量明显降低, 而雌虫含菌量未显著下降; 其次, 在抗性品种上长期饲养 (> 117 代) 的 Mudgo 种

群及 ASD7 种群进一步证实,仅雄虫含菌量显著低于 TN1 种群,雌虫含菌量无明显变化。此外,从类酵母菌的大小来看,前人报道饲养于抗性水稻品种 IR26 和 IR36 上的褐飞虱雌、雄虫体内类酵母菌的长和宽均明显减小<sup>[19]</sup>,本研究结果亦不尽一致。在抗性品种 Mudgo、ASD7 上,仅 Mudgo 上的褐飞虱类酵母菌菌体的长和宽显著小于 TN1 试虫,而 ASD7 上褐飞虱体内菌体的长和宽均显著大于 TN1 种群。这种差异可能源于所用抗性水稻品种的不同,说明在抗性水稻品种的胁迫下,褐飞虱类酵母共生菌的数量和菌体大小的变化可能因抗性水稻品种而异。鉴于抗性品种 IR26、Mudgo 均含抗虫基因 *Bph1*, IR36、ASD7 则含抗虫基因 *bph2*, 水稻抗虫基因与褐飞虱类酵母菌数量及形态的变化间似不存在明显的对应关系。

本研究发现,褐飞虱不同寄主种群间,虽然雄虫类酵母菌数量存在明显差异,但雌虫含菌量的差异不明显,依据类酵母菌数量鉴别不同致害性褐飞虱种群的可能性应该不大。类酵母菌大小在不同寄主种群间的差异较明显,且这种差异受性别、翅型等因素的影响小,而主要受不同寄主种群的影响,菌体长、宽均呈 ASD7 种群 > TN1 种群 > Mudgo 种群的趋势,菌体大小似可以用作判断不同褐飞虱种群的重要依据。如何利用菌体的大小判别不同褐飞虱致害性种群尚待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 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,2003:1.
- [2] 李汝铎,丁锦华,胡国文.褐飞虱及其种群管理.上海:复旦大学出版社,1996:229-230.
- [3] 谢华安,郑家团,张受刚,等.中国种植面积最大的水稻良种“汕优 63”培育的理论与实践.福建省农科院学报,1996,11(4):1-6.
- [4] Saxena R, Barrion A. Biotypes of the brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stal) and strategies in deployment of host plant resistance. *Insect Sci Appl*, 1985, 6: 271-289.
- [5] 巫国瑞,陶林勇,俞晓平,等.褐飞虱生物型的发生与现状.昆虫知识,1990,27(1):47-51.
- [6] 江志强,吴荣宗,张良佑.褐稻虱生物型的形成.华南农业大学学报,1993,14(1):76-83.
- [7] 李青,罗善煜.褐飞虱生物型的监测和控制对策.昆虫学报,1997,40(增):139-146.
- [8] 张志涛,陈伟,姜人春,等.稻褐飞虱致害性的转化(同翅目:飞虱科).昆虫学报,1997,40(增):110-115.
- [9] 王桂荣,傅强,张志涛,等.稻褐飞虱致害性变异的研究.中国水稻科学,1999,13(4):229-232.
- [10] 刘芳,傅强,赖凤香,等.稻褐飞虱致害性遗传与性别的相关性研究.昆虫学报,2005,48(6):892-897.
- [11] Cohen M, Medina E. Brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, resistance in rice cultivar IR64: Mechanism and role in successful *N. lugens* management in Central Luzon, Philippines. *Entomol Exp Appl*, 1997, 85: 221-229.
- [12] Sasaki T, Kawamura M, Ishikawa H. Nitrogen recycling in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*: Involvement of yeast like endosymbionts in uric acid metabolism. *J Insect Physiol*, 1996, 42(2): 125-129.
- [13] Noda H, Kaizumi Y. Sterol biosynthesis by symbiotes: Cytochrome P450 sterol C 22 desaturase genes from yeast like symbiotes of rice planthoppers and anobiid beetles. *Insect Biochem Mol Biol*, 2000, 33: 649-658.
- [14] 傅强,张志涛,胡萃,等.高温对酵母类共生菌和褐飞虱氨基酸需求的影响.昆虫学报,2001,44(4):534-540.
- [15] 王国超,傅强,张志涛.稻飞虱体内的类酵母共生菌及其营养功能.昆虫学报,2005,42(4):353-357.
- [16] 吕仲贤,俞晓平,陈健民,等.不同虫源和致害性的褐飞虱体内共生菌的种群动态.华东昆虫学报,2001,10(1):44-49.
- [17] 吕仲贤,俞晓平,陈健民,等.共生菌在褐飞虱致害性变化中的作用.昆虫学报,2001,44(2):197-204.
- [18] 陈法军,张珏峰,吕仲贤,等.不同地理种群褐飞虱体内共生酵母菌的个体大小及数量差异.昆虫知识,2006,43(4):460-465.
- [19] 陈法军,张珏峰,陈建明,等.水稻与褐飞虱互作过程中虫体内类酵母共生菌的个体大小及数量变化.浙江农业学报,2006,18(5):294-298.
- [20] 陈法军,张珏峰,夏湛恩,等.褐飞虱体内酵母类共生菌的形态观察.动物分类学报,2006,31(1):55-62.
- [21] 唐启义,冯明光.DPS 数据处理系统:实验设计、统计分析 & 数据挖掘.北京:科学出版社,2007:85-142.