

## 水稻植株防御白背飞虱为害的某些生理反应

陈建明<sup>1</sup> 俞晓平<sup>1</sup> 葛秀春<sup>2</sup> 吕仲贤<sup>1</sup> 程家安<sup>2</sup> 颜红岚<sup>3</sup> 刘光杰<sup>3</sup>  
郑许松<sup>1</sup> 陶林勇<sup>1</sup> 孔令军<sup>4</sup>

(<sup>1</sup> 浙江省农业科学院 植物保护研究所, 浙江 杭州 310021; <sup>2</sup> 浙江大学 植物保护系, 浙江 杭州 310029; <sup>3</sup> 中国水稻研究所, 浙江 杭州 310006; <sup>4</sup> 南京农业大学 植物保护系, 江苏 南京 210095)

### Some Physiological Changes of Rice Plants Infested by the White-Backed Planthopper, *Sogatella furcifera*

CHEN Jian-ming<sup>1</sup>, YU Xiao-ping<sup>1</sup>, GE Xiu-cun<sup>2</sup>, LU Zhong-xian<sup>1</sup>, CHENG Jia-an<sup>2</sup>, YAN Hong-lan<sup>3</sup>, LU Guang-jie<sup>3</sup>,  
ZHENG Xu-song<sup>1</sup>, TAO Lin-yong<sup>1</sup>, KONG Ling-jun<sup>4</sup>

(<sup>1</sup> Institute of Plant Protection, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China; <sup>2</sup> Department of Plant Protection, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; <sup>3</sup> China National Rice Research Institute, Hangzhou 310006, China; <sup>4</sup> Department of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** Physiological response of rice plants infested by the white-backed planthopper (*Sogatella furcifera*) (WBPH) was carried out. The results showed that after rice plants were infested by WBPH, photosynthesis rate and chlorophyll contents in leaves of susceptible rice varieties (TN 1 and Shanyou 63) declined obviously compared to those of resistant rice variety (N 22); activity of superoxide dismutase (SOD) increased and of catalase (CAT) and peroxidase (POD) decreased in susceptible rice varieties, but activity of SOD and POD went up, CAT went down in resistant rice variety N 22. In the body of susceptible rice varieties, except for Ala, other free amino acid contents increased, especially Asp, Thr, Val, Met increased rapidly. In resistant rice variety, contents of Asp, Val also increased obviously, but ones of Thr, Met and Ala decreased significantly.

**Key words:** rice variety; *Sogatella furcifera*; chlorophyll; protective enzyme; free amino acid; photosynthesis rate

**摘要:** 以对白背飞虱具有不同抗性水平的水稻品种(组合)为材料,研究了水稻在白背飞虱为害后稻株体内的生理变化。结果表明,稻株受害后,感虫品种(TN 1和汕优 63)光合作用速率和叶绿素含量下降比抗虫品种(N 22)明显;感虫品种超氧化物歧化酶(SOD)活性增加,过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性下降,而抗虫品种POD和SOD均增加,CAT减少;感虫品种除丙氨酸含量下降外,其他氨基酸含量均上升,尤其是天门冬氨酸、苏氨酸、缬氨酸及蛋氨酸等含量增加很快,抗虫品种中天门冬氨酸、缬氨酸等含量增加也很快,但苏氨酸、蛋氨酸、丙氨酸的含量显著下降。

**关键词:** 水稻品种; 白背飞虱; 叶绿素; 保护酶; 游离氨基酸; 光合作用速率

中图分类号: S433.1; S435.11+.3

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2000)01-0043-05

白背飞虱(*Sogatella furcifera*)是亚洲稻区的主要害虫之一,暴发频率高,发生面积大,严重时常造成“虱烧”症状,严重威胁着水稻生产的可持续发展。抗虫品种的应用是防治白背飞虱最经济实用的方法<sup>1,2</sup>,许多国家(尤其是发展中国家)已经把抗性引入品种列为国家育种重要项目<sup>2,3</sup>,但是飞虱生物型的出现使得一些抗虫品种丧失了抗性。水稻品种对白背飞虱的生长发育、取食和繁殖的影响以及水稻对白背飞虱的抗性机理研究已有许多报

道<sup>4-6</sup>,但白背飞虱危害对水稻植株体内生理变化的研究很少。明确水稻植株对白背飞虱防御所产生的生理变化对指导抗虫育种工作和实现白背飞虱的持续控制将具有重要的现实意义。为此,我们进行了

收稿日期: 1999-02-04; 修改稿收到日期: 1999-07-31。

基金项目: 国家自然科学基金重点项目; 中国水稻科学基金资助项目。

第一作者简介: 陈建明(1963-),男,硕士,助理研究员。

这方面的研究,现将结果总结如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试虫源和水稻品种

供试白背飞虱采自浙江省农业科学院农场稻田,经室内饲养2代后取3~4龄若虫试验;饲料苗为30~45 d苗龄的感虫品种TN1。供试品种为TN1、汕优63(感虫品种),N22(抗虫品种)。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 试验稻苗的准备和取样时间

采用塑料盆钵,每个盆钵直播5粒水稻种子,用透明尼龙网罩罩住,肥水管理按常规措施进行,至60 d苗龄时每盆钵只留2株主茎,按40头/株接入3~4龄若虫,以不接虫的作为对照。当感虫品种TN1植株倒2叶叶片开始变黄时,测定各品种的倒2叶叶片的光合作用速率和叶绿素含量,剪取稻株的叶片和叶鞘,放入-28℃的超低温冰箱中保存,分别供以后测定保护酶活力和氨基酸含量用。同时还对接虫前叶片的光合作用速率、叶绿素含量和保护酶活性进行测定。

#### 1.2.2 光合作用速率和叶绿素含量的测定

光合作用速率:用美国CD公司生产的CI-301PS光合作用测定仪测定,重复6次。

叶绿素含量:用日本产的SPAD-501型叶绿素测定仪测得的SPAD值( $x$ )代入下列公式即可计算出叶绿素含量( $y$ ): $y = 0.0996x - 0.152$ (单位: $\text{mg}/\text{dm}^2$ ),重复12次。

#### 1.2.3 保护酶活性的测定

超氧化物歧化酶(SOD):酶液提取及活性测定参照ElMoshaty等的方法<sup>7</sup>。称取叶片的中部1 g,加3 mL 50 mmol/L磷酸缓冲液(含1% PVP, pH 7.0),冰浴中研磨、匀浆,于16 000 × g离心15 min,上清液即为酶液。3 mL反应体系中含50 mmol/L磷酸缓冲液(pH 7.0)、13 mmol/L蛋氨酸、75 μmol/L氮蓝四唑、2 μmol/L核黄素和0.1 mmol/L EDTA,再后加10 μL酶液。置于25℃、4 klx日光下进行光化学反应10 min,然后黑暗中止反应,测 $A_{560}$ 值,以不加酶液的反应液作空白对照。另外,不加酶液的反应液在相同条件下反应10 min,测其 $A_{560}$ 值。根据SOD抑制NBT光化学还原的量计算酶活性,一个酶单位相当于引起3 mL反应液达到50%抑制所需的酶量。

过氧化物酶(POD):参照Hemmerschmidt等的方法<sup>8</sup>提取及测定POD的活性。称取水稻叶片的中部0.5 g,加5 mL 50 mmol/L磷酸缓冲液(含1% PVP, pH 7.0),冰浴中研磨、匀浆,于15 000 × g离心15 min,取上清液即为酶液。反应液含10 mmol/L磷酸缓冲液(pH 6.0)、体积分数为0.25%的愈创木酚、0.1 mol/L  $\text{H}_2\text{O}_2$ 。3 mL反应液中加入9 μL酶液,于室温下反应1 min后,测 $A_{470}$ 值,以50 mmol/L磷酸缓冲液代替酶液作空白对照。酶活性以 $A_{470}/\text{mg}$ 蛋白表示。

过氧化氢酶(CAT):测定参照ElMoshaty等<sup>7</sup>的方法提取及测定CAT的活性。取1 g水稻叶片的中部,加5 mL 50 mmol/L磷酸缓冲液(含1% PVP, pH 7.0),冰浴中研磨、匀浆,于16 000 × g离心15 min,上清液即为酶液。反应液含50 mmol/L磷酸缓冲液(pH 7.0)和15 mmol/L  $\text{H}_2\text{O}_2$ 。3 mL反应液中加入36 μL酶液,混匀反应1 min,于240 nm波长测吸收值,以反应时间0 min为空白对照。

#### 1.2.4 游离氨基酸的测定

称取水稻植株外叶鞘(离基部10 cm)1 g,剪碎,用适量的0.1% HCl溶液研磨混匀后,移入25 mL容量瓶中,用0.1% HCl溶液定容、过滤,吸出滤液2 mL,加入0.1% TFA溶液4 mL,摇匀,用SEP-PAK(带过滤膜)过滤,取过滤液,在Waters 441型氨基酸自动分析仪上进行分析,测定各种游离氨基酸的含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 稻株受害后光合作用速率和叶绿素含量的变化

水稻植株受白背飞虱为害后,其光合作用速率和叶绿素含量均下降,且不同抗虫品种变化不同(表1~2)。中抗品种N22的光合作用速率下降率为10.68%,感虫品种TN1、汕优63分别为39.38%和33.19%(表1)。白背飞虱为害后,TN1品种的叶绿素含量减少29.70%,汕优63品种减少22.97%,而N22品种只减少8.47%(表2),这说明抗虫品种受害后光合作用速率和叶绿素含量下降比感虫品种慢。

### 2.2 稻株受害后保护酶活性的变化

白背飞虱为害水稻后,植株体内保护酶发生变化(表3)。感虫品种TN1和汕优63在白背飞虱为

表1 白背飞虱为害对水稻各品种光合作用速率的影响

Table 1 Effects of *Sogatella furcifera* attack on photosynthetic rate in leaf of rice varieties

品种 Variety	未受害光合作用速率 Photosynthetic rate of uninfested leaf $/(\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$	受害后光合作用速率 Photosynthetic rate of infested leaf $/(\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$	光合作用速率下降率 Decrease percentage of photosynthetic rate /%
TN 1 (Susceptible)	18.08 ± 3.28	10.96 ± 2.07	39.38
汕优 63 Shanyou 63 (Susceptible)	18.65 ± 3.43	12.46 ± 2.29	33.19
N 22 (Resistant)	18.25 ± 4.23	16.30 ± 2.86	10.68

表2 白背飞虱为害后水稻叶片叶绿素含量的变化

Table 2 Changes of chlorophyll content in rice leaf after *Sogatella furcifera* damage

品种 Variety	叶绿素含量 Chlorophyll content $/(\text{mg} \cdot \text{dm}^{-2})$		增减率 Increase or decrease /%	变化率 <sup>1)</sup> Corrective change percentage <sup>1)</sup> /%
	接虫前 Uninfested	接虫后 Infested		
TN 1	CK	3.9482 ± 0.2026	4.7007 ± 0.2947	+ 19.16
	处理 Treatment	3.8818 ± 0.0761	3.6937 ± 0.1853	- 4.85
汕优 63 Shanyou 63	CK	3.6667 ± 0.4969	4.2027 ± 0.2910	+ 14.62
	处理 Treatment	3.8818 ± 0.4294	3.6881 ± 0.5335	- 4.99
N 22	CK	3.5208 ± 0.1447	3.6162 ± 0.2087	+ 2.71
	处理 Treatment	3.4004 ± 0.3025	3.2123 ± 0.4713	- 5.53

<sup>1)</sup>指稻株受害后叶片叶绿素的校正变化率。

<sup>1)</sup>Meant corrective change percentage of chlorophyll contents in leaf of rice plants infested by *Sogatella furcifera*.

表3 白背飞虱为害后水稻植株体内的保护酶变化

Table 3 Changes of protective enzymes in rice plants after *Sogatella furcifera* attack

品种 Variety		SOD	POD	CAT
		$/(\text{U} \cdot \text{mg}^{-1})$	$/(\text{OD}_{470} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1})$	$/(\text{OD}_{240} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1})$
TN 1	CK	37.4	140.0	1.2008
	处理 Treatment	57.5	105.6	1.1172
	变化率 Percentage of change/%	53.74	- 24.57	- 6.96
汕优 63 Shanyou 63	CK	39.2	140.6	0.5502
	处理 Treatment	48.2	135.4	0.0381
	变化率 Percentage of change/%	22.96	- 3.70	- 93.08
N 22	CK	30.9	163.0	0.6155
	处理 Treatment	33.6	227.2	0.2950
	变化率 Percentage of change/%	8.74	39.26	- 52.07

害后,其体内 SOD 活性增强,前者增加 53.74%,后者为 22.96%;POD 和 CAT 活性则下降。POD 活性下降以 TN 1 品种较明显,达 24.57%,汕优 63 品种较小,为 3.70%。CAT 下降则以汕优 63 最显著,高达 93.08%,TN 1 只有 6.96%。抗虫品种 N 22 受到为害后,稻株内 SOD 和 POD 活性都增加,特别是 POD 活性增加较快,为 39.26%;但 CAT 活性下降也很快,高达 52.07%。这说明水稻不同抗感虫品种受到白背飞虱为害后,体内 3 种保护酶所起的作用不同,抗虫品种上 POD 和 SOD 活性增加,CAT 活性下降;而感虫品种只有 SOD 活性增加,POD 和 CAT 下降。

### 2.3 稻株受害后游离氨基酸含量的变化

白背飞虱为害水稻,使植株体内的氨基酸含量发生变化(表 4),感虫品种 TN 1 受到白背飞虱为害后,体内除丙氨酸含量略有降低外,其他 15 种游离氨基酸含量都增加,尤其是天门冬氨酸、苏氨酸、谷氨酸、丝氨酸、蛋氨酸和缬氨酸等 6 种游离氨基酸含量增加超过 100%;感虫杂交稻品种汕优 63,除丙氨酸降低外,酪氨酸也降低,而蛋氨酸无变化,其他种类氨基酸均有不同程度的增加,其中天门冬氨酸和组氨酸的增量最大,分别达 733% 和 200%。抗虫品种 N 22 受害后,除丙氨酸下降外,苏氨酸、蛋氨酸也显著下降,几乎测不到;其他各种氨基酸均有不

表 4 白背飞虱为害后水稻植株内氨基酸含量的变化

Table 4 Changes of free amino acid content in rice plants infested by *Sogatella furcifera* $\mu\text{g/g}$ 

	TN 1			汕优 63 Shanyou 63			N 22		
	CK	处理 Treatment	变化 Change/%	CK	处理 Treatment	变化 Change/%	CK	处理 Treatment	变化 Change/%
天门冬氨酸 A sp	100	710	610	150	1250	733.3	330	1710	418.2
苏氨酸 Thr	60	290	383.3	90	180	100	200	微量	-100
丝氨酸 Ser	100	280	180	170	320	88.2	590	1000	69.5
谷氨酸 Glu	110	380	245.5	190	380	100	510	660	29.4
甘氨酸 Gly	30	60	100	50	70	40	110	120	9.1
丙氨酸 Ala	190	180	-5.26	270	190	-29.6	360	290	-19.4
胱氨酸 Cys	微量	微量	微量	微量	微量	微量	微量	微量	微量
缬氨酸 Val	140	340	142.9	170	230	35.3	20	300	1400
蛋氨酸 Met	30	80	166.7	70	70	0	40	微量	-100
异亮氨酸 Ile	70	130	71.4	60	120	100	60	100	66.7
亮氨酸 Leu	70	100	42.9	70	100	42.9	70	110	57.1
酪氨酸 Tyr	50	70	40	70	50	-28.6	60	70	16.7
苯丙氨酸 Phe	60	110	45.5	90	100	11.1	70	100	42.9
组氨酸 His	30	40	33.3	20	60	200	30	60	100
赖氨酸 Lys	90	160	77.8	160	190	18.81	80	230	27.8
精氨酸 Arg	80	150	87.5	200	320	60	700	740	5.7
总量 Total	1180	3080	161.0	1830	3630	98.4	3690	5490	48.8

同程度的增加,特别是缬氨酸增加高达 1400%,其次是天门冬氨酸,达 418.2%。另外还可以看出,这 3 个品种受害后稻株内游离氨基酸总量都增加,且感虫品种大于抗虫品种。

### 3 讨论

飞虱取食引起的水稻植株枯萎是飞虱强烈吸取稻秆韧皮部汁液所致<sup>9</sup>,根据本文试验结果可推断,飞虱吸食可能阻断韧皮部运输,导致光合作用产物无法分配,植株含水量下降,从而引起叶绿素分解,光合作用下降,最后整个植株枯萎死亡。本文结果表明,受白背飞虱危害后稻株体内光合作用速率和叶绿素含量均下降,但在不同抗虫品种中下降速率不同,尤其是中抗兼有耐虫性品种 N 22 在受害后光合作用速率和叶绿素含量下降较小,这与俞晓平等<sup>5</sup>报道的结果基本一致。同样在褐飞虱危害后稻株叶片光合作用速率、叶绿素含量也减少<sup>10</sup>。

生物体在逆境条件下具有很强的氧化能力的  $\text{O}_2^-$  自由基、氢氧自由基  $\text{HO}\cdot$  和过氧化氢  $\text{H}_2\text{O}_2$  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和保护酶系统,它们包括超氧化物歧化酶 SOD 能清除  $\text{O}_2^-$  形成  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,过氧化氢酶 CAT 和过氧化物酶 POD 具有分解  $\text{H}_2\text{O}_2$  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。水稻植株遭受白背飞虱的取食为害的过程也属于稻株克服逆境的过程,因此白背飞虱取食过程中水稻植株体内保护酶含量增加,以抵抗体内活性氧的增加。但不同抗虫品种中,体内保护酶的变化有所不同,感虫品种主要是 SOD 活性增加, CAT 和 POD 活性下降;而抗虫品种则是 SOD 和 POD 活性增加, CAT 活性下降。

植物蛋白质的合成,需要氨基酸作为物质基础。不同水稻品种或品系植株体内游离氨基酸的种类和数量都有差异,病虫种类不同,对游离氨基酸的要求也不一致。植物氨基酸的定量差异,能影响植株对寄主的抗感性<sup>3</sup>。白背飞虱主要是韧皮部的取食者,而韧皮部运输的氨基酸主要是丙氨酸、亮氨酸等 8 种氨基酸<sup>4</sup>。在白背飞虱为害后,不同抗虫水稻植株内主要游离氨基酸的数量发生了变化:在抗感虫品种上,游离氨基酸总量均增加,丙氨酸均下降,但在感虫品种上天门冬氨酸、苏氨酸、蛋氨酸等含量急剧上升;而抗虫品种上苏氨酸、蛋氨酸等含量却显著下降,其他氨基酸有不同程度增加,尤其是缬氨酸和天门冬氨酸增加最多。水稻植株受褐飞虱为害后,叶片中游离氨基酸的总量也增加,但天门冬氨酸、谷氨酸、缬氨酸和胱氨酸的量则明显减少<sup>11</sup>。丁锦华等<sup>12</sup>报道在所测的 16 种游离氨基酸中,受害苗含

量增加的有 12 种, 其中增加最多的是苯丙氨酸和苏氨酸(15 倍), 其次是组氨酸 8 倍, 再次是赖氨酸、胱氨酸和蛋氨酸 4~ 5 倍; 而谷氨酸、丙氨酸和天门冬氨酸分别下降 0.6~ 0.8 倍, 酪氨酸未监测到。说明白背飞虱、褐飞虱危害后, 稻株体内游离氨基酸的总量都增加, 但不同种类氨基酸的含量变化有所不同。

### 参考文献

- 1 Auclair J L, Baldos E. Feeding by the white-backed planthopper, *Sogatella furcifera* within susceptible and resistant varieties [J]. *Entomol Exp & Applic*, 1982, 32: 200~ 203
- 2 Heinrichs E A, Rapusas H R. Genetic Valuation for Insect Resistance in Rice [M]. Los Banos, Laguna, Philippines: IRR I, 1985
- 3 Pathak M D, Dale D. The biochemical basis of resistance in host plants to insect pests [A]. In: Shennitt L W. Chemistry and World Supplies: The New Frontiers [C]. Oxford, New York: Pergamon Press, 1983. 129~ 142
- 4 俞晓平, 巫国瑞, 胡萃. 水稻品种对白背飞虱的抗性及其与稻株营养成分的关系[J]. 中国水稻科学, 1989, 3(2): 56~ 61
- 5 俞晓平, 巫国瑞, 胡萃. 水稻品种对白背飞虱耐虫性和抗生性的研究[J]. 植物保护学报, 1990, 17(4): 327~ 330
- 6 黄次伟, 冯炳灿, 陈建明, 等. 水稻品种对白背飞虱种群增长的影响[J]. 昆虫知识, 1994, 31(4): 196~ 198
- 7 El-Moshaty F IB, Pike SM, Novacky A J, et al. Lipid peroxidation and superoxide production in poroepa (*Vigna unguiculata*) leaves infested with tobacco rugspot virus or southern bean prosoain virus[J]. *Physiol Mol Plant Pathol*, 1993, 43: 109~ 119
- 8 Hemmerschmidt R, Nuckles E M, Kuc J. A association of enhanced peroxidase activating with induced systemic resistance of cucumber to *Collectotrichum lagenarium* [J]. *Physiol Plant Pathol*, 1982, 20: 73~ 82
- 9 Sogawa K, Cheng C H. Brown Planthopper: threat to rice production in Asia [M]. Los Banos, Laguna, Philippines: IRR I, 1979. 125~ 142
- 10 李汝铎, 丁锦华, 胡国文, 等. 褐飞虱及其种群管理[M]. 上海: 复旦大学出版社, 1996, 67~ 81
- 11 Sogawa K. Effects of feeding of the brown planthopper on the components in the leaf blade of rice plants[J]. *Japan J Appl Entomol Zool*, 1971, 15: 175~ 179
- 12 丁锦华, 都健. 褐飞虱危害后稻株中游离氨基酸的变化[J]. 南京农业大学学报, 1990, 13(3): 125~ 130