

水稻对褐飞虱的抗性与挥发性次生物质总量的关系

杨朗^{1,2,3}, 孙荣科^{1,3}, 姜建军², 黄立飞², 李容柏^{1,3*}

(1.广西作物遗传改良重点开放实验室, 广西 南宁 530007; 2.广西农业科学院 植物保护研究所, 广西 南宁 530007; 3.国家热带亚热带作物重点实验室, 广西 南宁 530005)

摘 要: 运用水蒸气蒸馏法提取水稻植株的挥发性次生物质, 并进行 GC/MS 分析, 比较水稻抗、感褐飞虱植株中挥发性次生物质总量的差异。结果表明, 感性植株的挥发性次生物质总量明显高于抗性植株, 前者比后者高 45.4%; 挥发性次生物质总量随植株抗性增强而降低, 1 级最低, 7 级最高; 挥发性次生物质总量随植株所含抗性基因数的增加而减少。

关 键 词: 水稻; 褐飞虱; 抗性; 挥发性次生物质

中图分类号: S511.01 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2011)04-0403-04

Relationship between resistance of rice to *Nilaparvata lugens* (Stål) and the contents of volatiles

YANG Lang^{1,2,3}, SUN Rong-ke^{1,3}, JIANG Jian-jun², HUANG Li-fei², LI Rong-bai^{1,3*}

(1.Guangxi Crop Genetic Improvement and Biotechnology Laboratory, Nanning 530007, China; 2.Plant Protection Research Institution, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China; 3.Key Laboratory of Subtropical Bioresource Conversation and Utilization, Nanning 530005, China)

Abstract: Thirty eight resistant plants and 13 susceptible plants against *Nilaparvata lugens*(Stål) were selected for extracting secondary volatiles by steam distillation method. The extracted compounds were analyzed by GC/MS. The results showed that total content of volatiles was significantly different between resistant and susceptible plants, and the total content of volatiles were decreasing with increasing resistance of rice and increasing number of the resistant genes to *Nilaparvata lugens* (Stål).

Key words: paddy; *Nilaparvata lugens* (Stål); resistance; volatiles

植食性昆虫在长期协同进化过程中逐渐形成了以植物气味为线索寻找寄主植物的能力, 植物挥发性次生物质因而成为联系植物、寄主、天敌营养关系的桥梁和纽带^[1-6]。有研究^[7-8]指出, 水稻植株的蒸馏提取物对褐飞虱 *Nilaparvata lugens* (Stål) (BPH) 的趋性和取食有影响。笔者运用水蒸气蒸馏法提取 51 个水稻植株的挥发性次生物质, 并进行气相-质谱分析, 以期了解水稻对稻飞虱抗性与挥发性次生物质总量之间的关系, 为抗稻褐飞虱育种提供依据。

1 材料与方法

1.1 材 料

51 个水稻植株, 包括 38 个抗性植株和 13 个感性植株(表 1), 由广西农业科学院提供。水稻抗性级别的确定采用标准苗期群体鉴定法, 参照国际水稻所抗稻褐飞虱评级标准^[9-11]进行。各级别及标准如下: 0 级, 免疫; 1 级, 高抗(0.1~1.9); 3 级, 抗(2.0~3.9); 5 级, 中抗(4.0~5.9); 7 级, 中感(6.0~7.9); 9 级, 高感(8.0~9.0)。

收稿日期: 2010-11-10

基金项目: 国家“973”项目(2007CB116305); 广西自然科学基金项目(桂科青 0991059; 0640019); 广西农业科学院科技发展基金项目(2007006(Z))

作者简介: 杨朗(1976—), 女, 广西玉林人, 博士, 副研究员, 主要从事农业害虫与昆虫分子生态学研究; *通信作者, lirongbai@126.com

表1 水稻植株对褐飞虱的抗性级别和含抗性基因数

Table 1 Plants selected for GC/MS and their responds and the resistant genes to *Nilaparvata lugens*

编号	植株名称	抗性级别	含抗性基因数	编号	植株名称	抗性级别	含抗性基因数
1	08BPH451-1	1	4	27	08BPH 582-1	1	未鉴定
2	08BPH451-2	3	2	28	08BPH 584-1	5	未鉴定
3	08BPH453-1	1	3	29	08BPH 602-1	3	未鉴定
4	08BPH457-1	5	2	30	08BPH 603-1	5	未鉴定
5	08BPH457-2	5	2	31	08BPH 609-1	5	未鉴定
6	08BPH459-1	5	3	32	08BPH 630-1	3	未鉴定
7	08BPH463-1	3	4	33	08BPH 630-2	3	未鉴定
8	08BPH463-2	3	3	34	08BPH 631-1	1	未鉴定
9	08BPH465-1	1	3	35	08BPH 639-1	1	未鉴定
10	08BPH465-2	1	2	36	08BPH 640	3	未鉴定
11	08BPH466-1	3	3	37	2183	3	2
12	08BPH471-1	1	4	38	BPHR54	1	2
13	08BPH471-2	3	3	39	08GAN-1	7	0
14	08BPH479-1	5	2	40	08GAN-2	7	0
15	08BPH480-1	5	2	41	08GAN-3	7	0
16	08BPH488-1	1	4	42	08GAN-4	7	0
17	08BPH489-1	5	3	43	08GAN-5	7	0
18	08BPH491-1	5	3	44	08GAN-6	7	0
19	08BPH493-1	1	4	45	08GAN-7	7	0
20	08BPH 565-1	1	未鉴定	46	08GAN-8	7	0
21	08BPH 566-1	3	未鉴定	47	08GAN-9	7	0
22	08BPH 569-5	3	未鉴定	48	08GAN-10	7	0
23	08BPH 570-2	5	未鉴定	49	08GAN-11	7	0
24	08BPH 571-1	5	未鉴定	50	08GAN-12	7	0
25	08BPH 574-1	3	未鉴定	51	TN1-1	7	0
26	08BPH 575-1	1	未鉴定				

1.2 方法

1) 水稻挥发性次生物质的提取。将水稻植株移栽至大田,常规管理,生长70 d时取叶片约2.0 g,剪碎后置于500 mL蒸馏烧瓶中,加入蒸馏水40 mL,100 °C加热蒸馏,收集蒸馏液至25 mL。加入8 mL正己烷至蒸馏液中,混匀后萃取,取上清液,用无水硫酸钠除去水分后,用针式过滤器过滤,转移至样品瓶中,用于GC/MS分析。

2) 气相色谱-质谱分析。气相色谱条件: Supelco CV1701 柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);进样口温度:250 °C;柱温:初始温度60 °C保持2 min,以2 °C/min升至120 °C,保持2 min,再以4 °C/min升至190 °C,保持20 min。质谱条件:载气为高纯He气,流量1 mL/min;电离方式EI,温度220 °C;电子能70 eV;扫描质量范围45~350 amu;采用分流进样,分流比10:1;进样量1 μL。气相色谱仪与质谱仪连接口温度280 °C。

3) 水稻挥发性次生物质成分的鉴定与定量。通

过GC/MS分析获得GC/MS原始数据,即总离子流色谱图(TIC),图中各峰所代表的化学信息经计算机检索NIST谱图库兼顾色谱保留时间确认及筛选,以此对水稻挥发性次生物质成分进行鉴定。为避免相邻两峰未完全分离可能造成的相互干扰,采用特征离子的质量色谱(mass chromatography, MC)对不同样品中的同一组分的特征离子强度进行比较。以各物质的峰面积值代表该物质的含量,分析比较各植株间的差异。

2 结果与分析

2.1 水稻抗、感褐飞虱植株间挥发性次生物质总量的差异

应用GC/MS从水稻植株中分离得到49种化合物(表2),其中大部分为已知化合物,部分为未知物。以各物质相对应峰的峰面积值代表该挥发性次生物质的含量,分析51个水稻植株的挥发性次生物质总量。结果表明,感性植株的挥发性次生物质总

量高于抗性植株,抗性植株的挥发性次生物质总量 平均为 14 491 901,比抗性植株高 45.4%,它们间 平均为 9 964 377,感性植株的挥发性次生物质总量 差异显著。

表2 水稻植株挥发性次生物质的组成

Table 2 Diferences of volatile constituents between reistant plants and susceptible plants

编号	保留时间/min	挥发性次生物质	占总次生物质比例/%	
			抗性植株	感性植株
1	4.390	2-甲基-十一碳烯	1.34	1.65
2	4.780	Oxime-, methoxy-phenyl-	1.44	1.18
3	5.050	未知物 1	2.77	2.58
4	5.240	2-乙基呋喃	2.28	3.29
5	6.330	5-甲基-2-呋喃甲醛	2.21	2.41
6	6.380	苯甲醛	1.72	1.32
7	7.160	(E,E)-2,4-庚二烯醛	1.29	1.50
8	7.500	未知物 2	1.84	4.91
9	7.730	未知物 3	0.86	0.84
10	8.040	未知物 4	0.88	0.55
11	8.107	2,2,6-三甲基环庚烷	0.62	0.55
12	8.243	β -佛尔酮	0.97	1.24
13	8.294	苯乙醛	6.88	6.12
14	8.900	未知物 5	1.13	1.40
15	9.290	愈创木酚	1.98	1.20
16	9.480	未知物 6	1.62	1.26
17	9.760	未知物 7	4.05	3.51
18	9.920	(+)-异薄荷醇	1.58	1.64
19	10.740	4-氧代异佛尔酮	0.60	0.47
20	11.200	间乙基苯甲醛	1.08	1.27
21	11.500	2,4-二甲基苯甲醛	0.72	0.57
22	11.760	萘	2.83	2.10
23	11.910	水杨酸甲酯	0.72	0.98
24	12.090	2,3-二氢-2,2,6-三甲基苯甲醛	0.82	0.98
25	12.200	未知物 8	1.22	1.43
26	12.420	2,3-二氢苯并呋喃	1.79	1.66
27	12.590	β -环柠檬醛	1.88	2.29
28	12.767	苯并噻唑	2.13	1.19
29	13.594	β -环高柠檬醛	0.54	0.42
30	14.107	4-乙基愈创木酚	1.21	0.98
31	14.680	吡啶	1.78	0.56
32	15.240	4-乙烯基-2-甲氧基-苯酚	20.07	22.27
33	18.158	α -大马酮	0.44	0.41
34	19.220	未知物 9	1.30	0.90
35	19.420	未知物 10	0.81	0.68
36	19.525	未知物 11	1.07	0.92
37	20.080	β -紫罗兰酮	4.31	6.31
38	20.170	未知物 12	1.33	1.71
39	20.730	二叔丁对甲酚	4.36	3.49
40	21.366	二氢猕猴桃内酯	1.55	1.76
41	22.140	未知物 13	1.54	1.29
42	22.590	Megastigmatrienone	2.21	1.78
43	23.450	未知物 14	0.22	1.92
44	23.700	未知物 15	1.14	0.98
45	25.850	未知物 16	1.68	0.56
46	28.960	邻苯二甲酸二异丁酯	1.13	0.63
47	29.833	Cis,cis,cis-7,10,13-hexadecatrienal	2.27	0.73
48	31.560	未知物 17	1.60	1.09
49	31.750	未知物 18	0.16	0.57

2.2 水稻不同级别抗性植株间挥发性次生物质总量的差异

水稻不同抗性级别间植株的挥发性次生物质总量随植株抗性增强而降低, 1级抗性植株的挥发性次生物质总量最低, 平均为 8 242 934, 3级和 5级抗性植株的平均挥发性次生物质总量分别为 10 523 262 和 10 553 120, 1级抗性植株的显著低于 3级和 5级及 7级植株, 而 3级与 5级植株间没有显著差异; 7级植株总量最高, 与 1、3、5级相比均差异显著。

2.3 含不同数量抗性基因的水稻植株间挥发性次生物质总量的差异

从已鉴定基因型的抗性植株中选取 15 个植株, 其中 5 个植株含有 2 个纯合抗性基因, 5 个植株含有 3 个纯合抗性基因, 5 个植株含有 4 个纯合抗性基因。分别对这 3 组背景相似, 但含有不同抗性基因数的植株的挥发性次生物质进行分析, 结果发现, 这 3 组植株挥发性次生物质总量随所含抗性基因数的增加而减少, 但差异不显著; 经比较发现, 含有抗性基因的植株挥发性次生物质与未含抗性基因的植株相比差异显著(表 3)。

表 3 含不同数量抗性基因植株的挥发性次生物质总量

Table 3 Comparisons of total content of rice volatiles between plants with deferent number of resistant genes to *Nilaparvata lugens*

含抗性基因数	挥发性次生物质总量
0 ($n=13$)	(14 411 800±359 751) a
2 ($n=5$)	(10 865 190±394 248) b
3 ($n=5$)	(10 230 568±200 999) b
4 ($n=5$)	(10 135 463±267 111) b

参考文献:

- [1] 杜永均, 严福顺. 植物挥发性次生物质在植食性昆虫、寄主植物和昆虫天敌关系中的作用机理[J]. 昆虫学报, 1994, 37(2): 233-250.
- [2] 练永国, 王素琴, 王振营, 等. 挥发性信息化合物对赤眼蜂寄生行为的影响及其利用[J]. 中国生物防治, 2007, 23(1): 89-92.
- [3] 吕小红, 王彤彤, 杨广海, 等. 植物挥发性次生物质在植物—害虫—天敌三重营养关系中的作用与机理[J]. 中国植保导刊, 2006, 26(10): 14-17.
- [4] 杨朗, 黄凤宽, 曾玲, 等. 水稻挥发性次生物质对褐飞虱的寄主定向及生长的影响[J]. 生态学报, 2009, 29(9): 5106-5114.
- [5] 周强, 徐涛, 张古忍, 等. 虫害诱导的水稻挥发物对褐飞虱的驱避作用[J]. 昆虫学报, 2003, 46(6): 739-744.
- [6] 孔垂华, 徐效华, 胡飞, 等. 利用特征次生物质为标记评价水稻品种和单株的化感潜力[J]. 科学通报, 2002, 47: 203-206.
- [7] Obata T. Constituents of planthopper attractant in rice plant[J]. Appl Ent Zool, 1983, 18(2): 161-169.
- [8] Saxena R C, Barrion A A. Biotype of the brown planthopper *Nilaparvata lugens*(Stål) and strategies in deployment of host plant resistance[J]. Insect Sci Applic, 1985, 6(3): 271-289.
- [9] 韦素美, 罗善昱, 黄凤宽, 等. 广西水稻新品种对稻褐飞虱不同生物型的抗性评价[J]. 广西农业科学, 1998(5): 238-239.
- [10] 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[J]. 应用生态学报, 2004, 15(11): 2161-2164.
- [11] 赵颖, 黄凤宽, 童晓立, 等. 水稻品种对褐飞虱不同生物型抗性的HPLC分析[J]. 华南农业大学学报, 2005, 26(2): 52-55.

责任编辑: 罗慧敏