

水稻抗原特征次生物质与抗虫性的关系及其大田检验

钟平生^{1,2}, 梁广文^{1*}, 曾玲¹

(1. 华南农业大学 昆虫生态研究室, 广东 广州 510642; 2. 惠州学院 生命科学系, 广东 惠州 516007)

摘要:应用苗期群体抗性测定方法, 鉴定了华航 1 号、华航 8 号、胜巴丝苗等 10 个水稻品种对稻褐飞虱的抗性; 应用高效液相色谱(HPLC)技术对其中 6 个品种的特征次生物质色谱峰进行了测定, 并分析了主要抗性峰值与抗性级别之间的关系。结果表明: Mudgo 为高抗, 粳粳 89、华航 8 号、胜巴丝苗为抗虫品种; 小农占、籼小占、华航 1 号和粤香占呈中抗反应; 双桂呈感虫反应, TN1 为高感品种, 这一鉴定级别与田间稻褐飞虱种群增长趋势指数变化相一致; 稻褐飞虱在 TN1 上的种群趋势指数达 28.079, 中抗品种粤香占上为 6.427 9, 均表现增长趋势; 在抗虫品种胜巴丝苗上种群趋势指数达 1.513 8, 高抗品种 Mudgo 上仅为 0.862 8。其抗虫作用体现在抗虫品种天敌因子的作用远高于感虫品种。测定的水稻主要抗原特征次生物质色谱峰值表明, 抗原色峰面积大小与抗性水平呈显著负相关性, 可用线性回归方程($y=21.0767-0.5972x$)拟合。

关键词: 水稻; 褐飞虱; 次生物质; 抗性鉴定

中图分类号: Q946.8; S432.2 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2012)06-0626-05

Relationship between rice special secondary compounds and resistance to brown planthopper and tests in field

ZHONG Ping-sheng^{1,2}, LIANG Guang-wen^{1*}, ZENG Ling¹

(1. Laboratory of Insect Ecology, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2. Department of Life Science, Huizhou University, Huizhou, Guangdong 516007, China)

Abstract: Through seedling resistance determination, resistance of ten rice varieties to brown planthopper (BPH), *Nilaparvata lugens* (Stål), was studied in the green house. Among these rice varieties, special secondary compounds of 6 varieties were characterized by chromatography, and the relationship of the main substance peak in chromatography and the resistance level was analyzed. The variety Mudgo were indentified as highly resistant (HR), Jingxian89, Huahang8 and Shengbasimiao as resistant (R), Xiaolongzhan, XianxiaoZhan, Huahang1 and Yuexiangzhan as moderately resistant (MR), Shuanggui feeling insect reaction and TN1 as high susceptible (HS) to BPH. The results in green house were confirmed by the population growth index (I) of BPH in the paddy field. I value of BPH population with TN1 and Yuexiangzhan was 28.079 and 6.422 9 respectively, showing an increasing trend of BPH; I value with resistant varieties Mudgo and Shengbasimiao was only 0.862 8 and 1.513 8, respectively. The resistant effects of the resistant varieties caused by natural enemy factors were far more powerful than those of the sensitive varieties. In addition, the content variations of secondary compounds in rice plants indicated that there was significant correlation between compound peak in chromatography and the resistance level. The fit linear regression equation is $y=21.0767-0.5972x$. Therefore, analyzing the secondary compounds by high-performance liquid chromatography (HPLC) could be used as a simple and fast way to identify rice resistance against BPH and predict the dynamics of BPH populations.

Key words: rice; brown planthopper; secondary compounds; resistance identification

收稿日期: 2012-05-06

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2008BADA5B01; 2008BADA5B04)

作者简介: 钟平生(1964—), 男, 江西宜春人, 教授, 主要从事农业害虫及媒介生物综合治理研究, zhongps@hzu.edu.cn; *通信作者, GWLiang@scau.edu.cn

稻褐飞虱(*Nilaparvata lugens* (Stål))是水稻主要害虫之一,在中国的受害面积达 $4.0 \times 10^6 \text{ hm}^2$,占水稻种植总面积的 50%^[1]。20 世纪 80 年代,中国稻褐飞虱主要以生物型 I 为主;进入 90 年代后,各地的稻褐飞虱种群已逐渐转变为以生物型 II 为优势种群,孟加拉型也占有一定的比例^[2-3]。由于生物型改变,使原有抗虫品种失去抗性,造成虫害逐年加重,因此,选育抗褐飞虱水稻品种,已成为利用抗性品种防治稻褐飞虱危害的关键所在。笔者对当前珠江三角洲普遍种植的水稻品种进行了稻褐飞虱抗性鉴定,并测定了抗虫品种的特征次生物质,以期了解水稻抗原特征次生物质与对褐飞虱抗性的关系,为筛选抗褐飞虱水稻优良品种提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试虫源为稻褐飞虱生物型 II,采自广东省江门市新会区沙堆镇广东省现代农业示范区优质稻田,在室内用水稻品种 Mudgo 饲养 2 代后备用。

水稻品种 TN1(感虫对照品种)、Mudgo(抗虫对照品种,具抗性基因 *Bph1*)、粤香占、双桂、粳粬 89 等均由广东省农业科学院水稻所提供;小农占、粬小占由江门市新会区兴业发展有限公司提供;华航 1 号、华航 8 号、胜巴丝苗由华南农业大学农学系提供。

1.2 方法

1.2.1 水稻品种的抗性鉴定

参照曾玲等^[4]苗期群体鉴定方法,将供试水稻种子播种于 $65 \text{ cm} \times 45 \text{ cm} \times 10 \text{ cm}$ 的苗箱内,行距 5 cm,行长 20 cm。每品种设 3 个重复,各品种随机排列,每箱内均播种感虫对照品种 TN1 和抗虫对照品种 Mudgo。待秧苗长至 3 叶时,剔除弱苗,每行保持 20 株壮苗,并罩以大塑料纱养虫笼防虫。于播种后 10~12 d,平均每株接稻褐飞虱 2~3 龄若虫 5 头,每隔 3 d 检查评级 1 次,直至感虫对照植株 TN1 全部枯死,共评级 3 次。参照国际上使用的统一标准进行逐株定级,计算各品种的平均受害级别,稻株平均受害级别大于 5.9 级定为感虫。

水稻受害定级标准:0 级,无明显受害状;1 级,第 1 片叶部分黄化;3 级,第 1、2 叶变黄;5 级,第 1 至 3 叶显著变黄或有些植株呈现矮化或凋

萎;7 级,部分植株开始凋萎或严重矮化;9 级,植株完全死亡。

水稻平均抗性级别:受害级别小于 1.0 为免疫;1.0~1.9 为高抗(HR);2.0~3.9 为抗(R);4.0~5.9 为中抗(MR);6.0~7.9 为中感(MS);8.0~9.0 为高感(HS)。

1.2.2 水稻抗性品种对稻褐飞虱自然种群的作用测定

选取 6 块面积均约为 400 m^2 的稻田,分别种植不同抗虫性的品种 TN1、粤香占、华航 8 号、华粳 74、胜巴丝苗、Mudgo。移栽后 20 d 开始调查各品种上稻褐飞虱种群的发生动态。采用平行跳跃式取样,每品种处理区取 5 个点,每点取 10 丛,共调查 50 丛,每隔 4 d 调查 1 次,记录稻株上稻褐飞虱 1~2 龄若虫、3~5 龄若虫和成虫数量。与此同时,将带卵稻株、3~5 龄若虫带回室内饲养,观察统计卵的寄生与不孵数,3~5 龄若虫的寄生数,估计卵孵化率、寄生率和 3~5 龄若虫寄生率。应用庞雄飞等^[5]方法,组建以作用因子组配的生命表,并利用种群增长趋势指数、干扰作用控制指数(IIPC)、排除作用控制指数(EIPC)评价抗性品种上自然天敌对稻褐飞虱种群的控制作用,以此分析抗性品种对稻褐飞虱种群的田间控制效果。

1.2.3 水稻抗性品种特征次生物质的测定

在对水稻进行抗性鉴定的同时,采用赵颖等^[6]的方法测定稻株抗性次生物质的含量。各品种选取 10 株健壮植株,从上而下将第 2 叶片全部采集;将鲜样剪碎、混匀,经四分法反复缩分后,称取 $(100.0 \pm 0.2) \text{ mg}$,用 5 mL 甲醇浸泡 12 h,取其上清液,待溶剂挥发后,加入 5 mL 体积分数为 50% 的甲醇水溶液重新溶解,作为测试样品,用 HPLC 进行测定。每样品 5 次重复,各峰面积取其平均值,以测定抗原次生物质在水稻苗期植株的含量。

2 结果与分析

2.1 水稻品种对稻褐飞虱的抗性

用稻褐飞虱生物型 II 对各水稻品种进行抗性鉴定。结果表明,不同水稻品种的受害程度差异显著。Mudgo 呈高抗反应,粳粬 89、华航 8 号、胜巴丝苗达抗虫水平,小农占、粬小占、华航 1 号和粤香占呈中抗反应,双桂呈中感反应, TN1 呈高感反

应(表1)。随着水稻的生长发育,中感品种双桂受稻褐飞虱为害不断加重;中抗品种籼小占、华航1号和粤香占等在第1次测定时均达到抗性水平,但6d

后(即第3次)鉴定时均为中感。抗性以上的品种抵御稻褐飞虱为害,抗性较强而稳定。

表1 10个水稻品种苗期受褐飞虱为害的级别与抗性

Table 1 Suffer level and resistant reaction to BPH on 10 rice varieties seedling stage

水稻品种	受害级别			平均受害级别	抗性
	第1次测定	第2次测定	第3次测定		
TN1	(9.000±0.000) a	(9.000±0.000) a	(9.000±0.000) a	(9.000±0.000) a	HS
双桂	(6.600±1.572) b	(7.233±2.060) b	(7.723±1.767) ab	(7.185±0.325) ab	MS
籼小占	(3.617±1.005) c	(5.417±0.425) cd	(7.267±0.153) bc	(5.434±1.054) bc	MR
粤香占	(3.433±0.569) c	(4.567±0.551) cd	(6.500±0.557) bcd	(4.833±0.896) bcd	MR
华航1号	(2.550±0.260) de	(4.000±0.529) d	(6.367±0.651) bcd	(4.306±1.112) cd	MR
小农占	(2.000±0.328) ef	(4.300±1.300) d	(5.833±1.079) cd	(4.044±1.114) cd	MR
胜巴丝苗	(2.083±0.275) ef	(2.967±0.757) e	(4.933±0.666) d	(3.328±0.842) cde	R
华航8号	(1.800±0.661) ef	(2.200±0.627) e	(4.300±1.044) d	(2.767±0.775) de	R
粳粳89	(1.872±0.177) ef	(2.200±0.250) e	(3.433±1.050) e	(2.502±0.475) de	R
Mudgo	(0.883±0.202) f	(1.000±0.000) e	(1.600±0.173) f	(1.161±0.222) e	HR

2.2 水稻抗性品种对稻褐飞虱种群的作用

根据田间调查和室内饲养结果,应用庞雄飞等^[5]方法,组建稻褐飞虱自然种群生命表(表2)。以感虫品种TN1为对照,计算各品种对稻褐飞虱的干扰作用控制指数。由不同水稻品种抗性干扰作用控制指数可知,水稻抗性品种对褐飞虱种群的抑制作用与苗期抗性鉴定结果基本一致。由表2可知,稻褐飞虱在Mudgo品种上的种群趋势指数为0.8628,小于1.00,即稻褐飞虱经过1个世代的发展,种群表现为下降;而在TN1上的种群趋势指数为28.079,中抗品种粤香占为6.4279,均表现快速增长趋势;抗性品种胜巴丝苗,稻褐飞虱增长仅达1.5138,虽

然种群是增长的,但增长幅度很小。此外,以干扰作用控制指数分析,抗性品种对褐飞虱的抑制效果显著,褐飞虱在高抗品种Mudgo、抗性品种胜巴丝苗上的干扰作用控制指数分别为0.0307、0.0539,而中抗品种粤香占的干扰作用控制指数较大,为0.2289,仍表现出优良的抗虫效果。

利用种群增长趋势指数与苗期品种抗性鉴定结果进行线性回归方程拟合,其方程为: $y=2.3052+0.2458x$, $R=0.9538$ 。对回归方程进行检验, $F=30.2155$, $P=0.0118$,达到显著差异。由此可知,田间稻褐飞虱种群增长趋势指数可作为评价与预测品种抗虫性的指标。

表2 6个抗性品种中稻褐飞虱自然种群生命表

Table 2 Life table of BPH natural population on 6 resistant varieties

虫期	致死因子	存活率					
		TN1	粤香占	华航8号	华粳74	胜巴丝苗	Mudgo
卵	捕食与其他	0.8990	0.7769	0.8347	0.8256	0.6439	0.5445
	寄生	0.9167	0.9459	0.8824	0.8947	0.9000	0.9744
	不孵	0.9744	0.9687	0.9333	0.9355	0.9767	0.9412
1~2龄若虫	捕食与其他	0.7020	0.5815	0.4887	0.4886	0.4176	0.3213
3~5龄若虫	捕食与其他	0.7200	0.5725	0.4180	0.3321	0.4305	0.4422
	寄生	0.8381	0.8637	0.8342	0.9036	0.8636	0.9444
成虫	逐日存活率	0.8149	0.8262	0.8040	0.8040	0.8040	0.8672
	雌虫比率	0.5649	0.6323	0.6083	0.6083	0.6083	0.5629
	达标准卵量百分比	82.5440	31.4030	17.2260	17.2260	17.2260	12.8780
种群趋势指数		28.0790	6.4279	2.0179	1.7454	1.5138	0.8628
干扰作用控制指数			0.2289	0.0719	0.0622	0.0539	0.0307

成虫参数来源于文献[7]。

2.3 抗性品种中天敌因子的作用

依据表 2，将捕食性天敌和寄生性天敌的作用合并，计算得到天敌类群对稻褐飞虱的排除作用控制指数(表 3)。

由表 3 可知，捕食性天敌的捕食效能抗虫品种上最高，中抗品种次之，感虫品种上最弱。寄生性天敌的寄生作用虽不如捕食性天敌强，但也表现出相似的变化趋势，即在抗虫品种上最高，中抗品种次之，感虫品种上最弱。如在高抗虫品种 Mudgo、抗虫品种胜巴丝苗、中抗品种粤香占和感虫品种 TN1 上，排除作用控制指数依次降低。表明抗虫品种对褐飞虱种群的抑制作用也体现在自然天敌作用的增强上。

表 3 天敌对稻褐飞虱种群的排除作用控制指数
Table 3 The exclusion index of population control of natural enemy on brown planthopper population

天敌	排除作用控制指数					
	TN1	粤香占	华航 8 号	胜巴丝苗	华粳 74	Mudgo
捕食性	2.200 7	3.867 0	5.865 1	6.329 1	7.462 7	12.920 0
寄生性	1.086 7	1.224 0	1.358 5	1.286 7	1.236 9	1.301 8

2.4 水稻抗性特征次生物质与抗性的关系

在水稻抗性品种稻褐飞虱自然种群生命表中，Mudgo、胜巴丝苗、华航 8 号、粤香占、TN1、华粳 74 的种群趋势指数分别为 0.862 8、1.513 8、2.017 9、6.427 9、28.079 和 1.745 4，液相色谱峰值分别为 32.978、32.106、27.845、26.513、21.719，由此建立的线性回归方程为： $y=71.273 9-2.262 4x$ ，相关系数 $R=0.879 7$ ，对回归方程进行检验， $F=13.693 2$ ， $P=0.020 8$ ，达到极显著差异。表明抗性品种特征次生物质色谱峰值的大小与大田褐飞虱种群的发生程度呈负相关性。

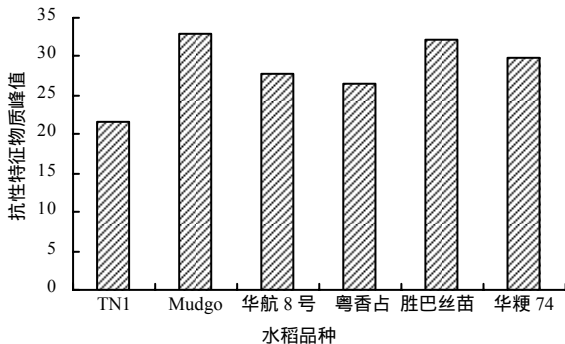


图 1 水稻品种抗性特征次生物质含量
Fig.1 Rice varieties resistant characteristics material content

上述结果表明，抗性级别的大小与抗性色谱峰值呈现显著负相关性，也与大田褐飞虱种群的发生程度呈负相关性，因此，利用高效液相色谱技术与方法，可以简捷、快速地测定出水稻品种的抗虫性，并预测大田稻褐飞虱种群的发生动态。

3 讨论

1982 年，广东省农业科学院等从稻褐飞虱田间种群中分离出生物型 [8]，但此时大田仍以生物型 I 为主。1992—1994 年，王维专等 [9] 对广东省 7 个不同生态类型地区取样测定的结果表明，广州稻褐飞虱田间种群对带有 *Bph1* 抗性基因的代表品种 IR26 的致害率不断增强，1992 年以来抗性反应达生物型 II 的水平，生物型 II 已上升为广东稻褐飞虱田间主害代的优势种群。对水稻产区主栽品种和新育成品种进行抗性鉴定，结果表明这些品种抗性水平有所降低。小农占、粳小占为珠三角地区的地方品种，已种植近 20 余年，20 世纪 80 年代初被鉴定为抗虫品种。在本试验的抗性鉴定中属中抗品种，这可能与珠三角地区连年种植小农占、粳小占，稻褐飞虱生物型发生转变有关，也是稻褐飞虱连年发生流行的主要原因之一。

国内外对水稻品种的抗性机理进行了广泛研究，普遍认为抗、感植株次生物质的差异是水稻品种抗感与否的决定因素 [10-12]。稻褐飞虱对寄主的定向和取食行为常受到稻株所含有的次生物质的影响，水稻挥发性物质在褐飞虱取食定向中起着重要作用 [13-14]，而稻株韧皮部抗虫成分的存在与否及其含量、组合的差异则决定了褐飞虱是否取食，即水稻品种的抗感程度 [15-18]。赵颖等 [6] 利用高效液相色谱对水稻抗褐飞虱生物型 II 的抗原次生化合物进行了研究，在被测极性组分的 13 个谱峰中，明确了其中 4 个(峰 1、峰 2、峰 8、峰 12)是影响水稻对褐飞虱生物型 II 抗性水平的主要抗原次生物质，即特征次生物质。本研究结果表明，特征次生物质的含量与品种抗虫性呈现较好的相关性，可以通过测定特征次生物质来预测品种的抗虫性。此外，在抗褐飞虱水稻品种的筛选过程中，发现同一品种不同苗龄稻株的抗虫性存在差异，这与曾玲等 [4]、刘光杰等 [19]、王建军等 [20] 的研究结果相似。

在大田褐飞虱自然种群生命表中,种群增长趋势指数与品种的抗性水平具有显著的负相关性,表明种群趋势指数是测定和评价水稻品种抗虫性的另一重要指标,这与王维专^[9]的研究结果相同。然而不同抗性品种中抗原特征次生物质含量不同,大田自然天敌对稻褐飞虱的控制作用也不一样,抗原特征次生物质含量与天敌又存在怎样的关系有待于深入探讨。

参考文献:

- [1] 王布哪,黄臻,舒理慧,等.两个来源于野生稻的抗褐飞虱新基因的分子标记定位[J].科学通报,2001,46(1):46-49.
- [2] Khush G S, Brar D S, Hardy B. Genetics of resistance to insects in crop plants[J]. Adv Agron, 1991, 45: 223-274.
- [3] 李青,罗善昱,韦素美,等.褐飞虱生物型测定及其与迁飞关系分析[J].昆虫知识,1999,36(5):257-260.
- [4] 曾玲,吴荣宗.水稻品种对褐飞虱的抗性[J].昆虫学报,1984,27(4):375-383.
- [5] 庞雄飞,梁广文.害虫种群系统的控制[M].广州:广东科学技术出版社,1995.
- [6] 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.
- [7] 王维专.水稻抗性对稻褐飞虱种群生命系统的控制作用[D].广州:华南农业大学,1987.
- [8] 谭玉娟,潘英,莫禹诗,等.抗稻瘿蚊水稻品种的筛选鉴定[J].广东农业科学,1982(6):32-33.
- [9] 王维专,曾玲,梁广文,等.控制指数在水稻抗褐飞虱研究中的应用[J].华南农业大学学报,1991,12(2):9-14.
- [10] 卢伟,侯茂林,文吉辉,等.植物挥发性次生物质对植食性昆虫的影响[J].植物保护,2007,33(3):7-11.
- [11] 肖英方,张存政,顾正远.水稻品种对白背飞虱的抗性机理[J].植物保护学报,2001,28(3):198-202.
- [12] Mattice J D, Dilday R H, Gbur E E, et al. Barnyardgrass growth inhibition with rice using high-performance liquid chromatography to identify rice accession activity[J]. Agron J, 2001, 93: 8-11.
- [13] Obata T, Koh H S, Kim M, et al. Constituents of planthopper attractant in rice plant[J]. Appl Entomol Zool, 1983, 18(2): 161-169.
- [14] 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.
- [15] 杨朗,黄凤宽,曾玲,等.水稻挥发性次生物质对褐飞虱寄主定向及生长的影响[J].生态学报,2009,29(9):5106-5114.
- [16] 刘光杰,沈君辉,寒川一成.中国水稻抗虫性的研究及其应用:回顾与展望[J].中国水稻科学,2003,17(增刊):1-6.
- [17] 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):52-56.
- [18] 杨朗,孙荣科,姜建军,等.水稻对褐飞虱的抗性与挥发性次生物质总量的关系[J].湖南农业大学学报:自然科学版,2011,37(4):403-406.
- [19] 刘光杰,郑宜才,桂丽琴,等.水稻品种抗褐飞虱鉴定方法的比较研究[J].浙江农业学报,1999,11(6):306-310.
- [20] 王建军,俞晓平,陶林勇,等.杂交水稻的褐飞虱抗性研究[J].浙江农业学报,1999,11(4):163-166.

责任编辑:罗慧敏

英文编辑:罗维