

水稻对白背飞虱取食胁迫的生理反应

孙凯, 钟乐荣, 丁文兵, 李有志*

(湖南农业大学植物保护学院, 湖南 长沙 410128)

摘 要: 为探明水稻应对白背飞虱取食胁迫的生理基础, 分析了 3 个水稻品种(Rathu Heenati、R9810-T 和丰源优 272)在白背飞虱取食胁迫不同时间(0、3、6、12、18、24、30 和 36 h)的部分生理指标的变化。结果表明, 在白背飞虱取食胁迫下, 水稻 Rathu Heenati 丙二醛(MDA)和过氧化氢(H₂O₂)含量变化小, R9810-T 和丰源优 272 丙二醛和过氧化氢含量随胁迫时间延长呈上升趋势; 3 个水稻品种超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性都随胁迫时间延长呈上升趋势, Rathu Heenati 过氧化氢酶(CAT)活性变化小, R9810-T 过氧化氢酶活性呈下降趋势, 丰源优 272 过氧化氢酶活性先下降后稍回升; 3 个品种谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)活性变化小。白背飞虱取食胁迫下, 水稻品种 Rathu Heenati 比 R9810-T 和丰源优 272 受到的氧化伤害少。

关 键 词: 水稻; 白背飞虱; 取食胁迫; 保护酶活性

中图分类号: S511.01

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2014)05-0501-05

Physiological response in different rice varieties against *Sogatella furcifera* undergone feeding stress

SUN Kai, ZHONG Le-rong, DING Wen-bing, LI You-zhi*

(College of Plant Protection, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: To elucidate the physiological basis of the response of rice plant against *Sogatella furcifera* undergone feeding stress, we analyzed some physiological indices therein 3 rice varieties (Rathu Heenati, R9810-T and Fengyuanyou 272) infested by *S. furcifera* undergone feeding stress for 0, 3, 6, 12, 18, 24, 30 and 36 h respectively. The results showed that the levels of malondialdehyde (MDA) and hydrogen peroxide (H₂O₂) had no significant change in Rathu Heenati with *S. furcifera* undergone feeding stress while showed a increasing tendency with the time of feeding stress in R9810-T and Fengyuanyou 272. The activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) in all the 3 varieties were increase with the time of feeding stress. The activities of catalase (CAT) had no significant change in Rathu Heenati and tend to decline in R9810-T, while in Fengyuanyou 272 first declined and then slightly increased. The activities of glutathione peroxidase (GPX) showed no significant change in 3 rice varieties. These results indicate that oxidative damage is less in Rathu Heenati than in R9810-T and Fengyuanyou 272 when infested with *S. furcifera* undergone feeding stress.

Key words: rice; *Sogatella furcifera*; feeding stress; activities of protective enzymes

白背飞虱(*Sogatella furcifera*)刺吸取食水稻, 引起水稻生长缓慢, 分蘖延迟, 千粒重下降, 严重时造成“虱烧”^[1]。过度依赖杀虫剂防治该虫所产生的弊端越来越突出^[2], 利用抗虫水稻品种防控白背飞

虱的为害越来越受到重视。白背飞虱的生长发育和取食与水稻的总氮、可溶性糖、游离氨基酸含量等有关^[3-5]。已有的研究结果表明, 水稻被白背飞虱取食后, 其体内超氧化物歧化酶(SOD)活性提高,

收稿日期: 2014-03-19

基金项目: 公益性行业(农业)科技专项(201303021); 湖南省科学技术厅重点项目(2011NK2009); 湖南省大学生创新性项目(SCX1306)

作者简介: 孙凯(1988—), 男, 湖南宁乡人, 硕士, 主要从事害虫综合治理研究, sunkai424@foxmail.com; *通信作者, liyouzhi2008@sina.com

过氧化氢酶(CAT)活性下降,过氧化物酶(POD)活性的变化在品种间有差异^[6-7]。笔者测定和比较了 3 个水稻品种(Rathu Heenati、R9810-T 和丰源优 272)在白背飞虱取食胁迫 0、3、6、12、18、24、30 和 36 h 后的 SOD、POD、CAT 和 GPX(谷胱甘肽过氧化物酶)活性以及过氧化氢(H₂O₂)和丙二醛(MDA)含量的变化,以期进一步明确不同水稻品种体内保护酶对白背飞虱为害的应答模式,为抗虫育种和持续控制白背飞虱为害提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

杂交稻品种丰源优 272 由湖南亚华种子有限公司提供;R9810-T 是将茶陵野生稻的基因组 DNA 导入栽培稻 R9810 后得到的表型稳定的后代,由湖南农业大学生物科学技术学院洪亚辉教授提供;Rathu Heenati 是来源于斯里兰卡的抗白背飞虱水稻品种,由中国水稻研究所提供。

白背飞虱成虫经室内用秧苗(品种威优 644)连续多代饲养,养虫室温度(26±1)℃,相对湿度(85±5)%,光周期为 14 h 光照,10 h 黑暗。

总蛋白定量测试盒、超氧化物歧化酶、过氧化物酶、谷胱甘肽过氧化物酶、过氧化氢酶、丙二醛和过氧化氢测试盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.2 方法

1.2.1 水稻培育与人工接虫

将已催芽的水稻种子播至盛营养土的 2 000 mL 玻璃烧杯中,置于(26±1)℃、光周期为 14 h 光照、10 h 黑暗的人工气候箱中培育至三叶期。淘汰弱苗后,每杯保留 30 株幼苗用于人工接虫。接虫前供试飞虱饥饿处理 2 h,选择发育基本一致的白背飞虱短

翅型成虫(进入成虫期约 12~24 h)100 头接入烧杯中(外罩有尼龙纱网),分别取食 3、6、12、18、24、30 和 36 h,以不接虫的稻苗(即取食 0 h)作为对照。每次取食结束后,剪断水稻茎基部收集稻苗,将叶片剪碎后混合均匀,液氮冷冻后置于-72℃保藏。

1.2.2 水稻生理指标测定

取保藏的水稻叶片约 0.15 g,用液氮在研钵中充分研磨,按 1:9 的比例加入磷酸缓冲液(pH=7.2)。所得匀浆液转移至 1.5 mL 离心管,4℃下 12 000 r/min 离心 15 min。取上清液分别测定总蛋白含量、SOD、POD、CAT 和 GPX 活性、H₂O₂ 和 MDA 含量。每 mg 组织蛋白在 1 mL 反应液中 SOD 抑制率达 50%时所对应的 SOD 量为 1 个 SOD 活力单位。在 37℃条件下,每 mg 组织蛋白每 min 催化 1 μg 底物的酶量为 1 个 POD 活力单位。每 mg 组织蛋白每 s 分解 1 μmol 的 H₂O₂ 的量为 1 个 CAT 活力单位。

1.3 数据处理

利用 DPS 软件对测定数据进行统计分析。对同一品种不同处理进行方差分析(ANOVA)和多重比较(Duncan 氏新复极差法, $P=0.05$)。

2 结果与分析

2.1 白背飞虱取食胁迫下水稻 SOD 活性的变化

从表 1 可知,3 个水稻品种 SOD 活性均随白背飞虱取食胁迫时间的延长而呈现上升趋势。Rathu Heenati 在接虫 6 h 内,SOD 活性值变化小,接虫 12 h 后 SOD 值显著升高;R9810-T 在接虫 3 h 时,SOD 活性已显著高于胁迫前的活性;丰源优 272 在接虫 6 h 时,SOD 活性已显著高于取食胁迫前的水平。不同水稻品种 SOD 活性对白背飞虱的胁迫响应速度不同。

表1 白背飞虱取食胁迫下水稻SOD活性

Table 1 The activities of SOD in rice with *S. furcifera* under feeding stress

水稻品种	SOD活性/(U·mg ⁻¹)						
	0 h	3 h	6 h	12 h	18 h	24 h	36 h
Rathu Heenati	(132.3±0.4)d	(133.6±0.1)d	(135.7±0.3)d	(152.3±0.1)c	(157.6±0.2)b	(164.6±0.4)a	(165.3±0.1)a
R9810-T	(113.3±1.2)d	(128.3±0.3)c	(143.3±0.6)b	(144.5±0.1)b	(152.6±0.2)a	(154.3±0.3)a	(158.7±0.2)a
丰源优272	(121.3±0.1)f	(122.7±0.7)f	(137.0±0.2)e	(145.3±0.3)d	(156.4±0.4)c	(163.5±0.1)b	(167.3±0.2)a

同行不同小写字母示差异达5%显著水平。下表同。

2.2 白背飞虱取食胁迫下水稻 POD 活性的变化

3 个水稻品种 POD 活性随白背飞虱取食胁迫时间的延长呈升高趋势(表 2)。Rathu Heenati 和丰源优 272 在接虫 3 h 时, POD 活性已显著高于未接虫时

的水平; R9810-T 在接虫 6 h 时, POD 活性显著高于未接虫的水平。至接虫 36 h 时, Rathu Heenati、丰源优 272 和 R9810-T 的 POD 活性值分别比未接虫前升高 3.8、1.9 和 2.9 倍。

表2 白背飞虱取食胁迫下水稻POD活性
Table 2 The activities of POD in rice with *S. furcifera* under feeding stress

水稻品种	POD活性/(U·mg ⁻¹)						
	0 h	3 h	6 h	12 h	18 h	24 h	36 h
Rathu Heenati	(17.1±0.3) e	(26.9±0.1)d	(37.7±0.3)c	(56.3±0.1)b	(61.5±0.2)ab	(63.1±0.3)ab	(66.3±0.4)a
R9810-T	(12.6±0.3)c	(13.3±0.2)c	(18.4±0.2)b	(19.2±0.3)b	(24.5±0.2)a	(24.7±0.4)a	(24.2±0.3)a
丰源优272	(14.3±0.2)f	(23.3±0.1)e	(23.7±0.4)e	(27.4±0.3)d	(31.2±0.2) c	(35.5±0.1) b	(41.7±0.2)a

2.3 白背飞虱取食胁迫下水稻 CAT 活性的变化

不同水稻品种在白背飞虱取食胁迫下 CAT 活性的变化趋势不同(表 3)。Rathu Heenati 在不同胁迫时间下 CAT 活性波动; R9810-T 的 CAT 活性随胁迫时间的延长显著下降; 丰源优 272 的 CAT 活性表

现在胁迫 3 h 时与胁迫前没有显著差异, 胁迫 6 h 时, CAT 活性已显著低于胁迫前的活性, 随胁迫取食时间的延长(12~18 h), CAT 活性继续下降, 在胁迫取食 24 和 36 h 时 CAT 活性显著回升, 但仍然显著低于胁迫前的活性。

表3 白背飞虱取食胁迫下水稻CAT活性
Table 3 The activities of CAT in rice with *S. furcifera* under feeding stress

水稻品种	CAT活性/ (U·mg ⁻¹)						
	0 h	3 h	6 h	12 h	18 h	24 h	36 h
Rathu Heenati	(175.1±0.3)a	(175.9±1.1)a	(174.7±0.5)a	(174.3±0.3)a	(174.5±0.3)a	(174.2±0.3)a	(174.3±0.7)a
R9810-T	(154.2±0.1)a	(151.7±0.2)b	(142.4±1.2)c	(133.2±0.5)d	(124.5±0.2)e	(112.7±0.6)f	(104.2±0.2)g
丰源优272	(161.8±0.4)a	(160.1±0.7)a	(152.3±1.4)b	(142.1±0.5)c	(130.2±1.2)e	(138.5±0.3)d	(143.7±0.2)c

2.4 白背飞虱取食胁迫下水稻 GPX 活性的变化

在白背飞虱取食胁迫前后, 水稻 GPX 活性值波动均不显著, 抗虫品种 Rathu Heenati 的 GPX 活性值稳定在 145 U 左右, R9810-T 稳定在 154 U 左右, 丰源优 272 稳定在 123 U 左右。表明 3 个水稻品种 GPX 对白背飞虱的取食胁迫没有响应。

2.5 白背飞虱取食胁迫下水稻 H₂O₂ 含量的变化

表 4 结果表明, 接虫前后 Rathu Heenati 的 H₂O₂ 含量变化不显著; R9810-T 的 H₂O₂ 含量随接虫时间的延长而不断升高, 不同处理间差异显著; 和接虫前相比, 接虫 36 h 时 H₂O₂ 升高 65.5%; 丰源优 272 的 H₂O₂ 含量在接虫 12 h 时显著高于接虫前的水平, 在接虫 36 h 达到最大值, 升高 20.3%。

表4 白背飞虱取食胁迫下水稻H₂O₂含量
Table 4 The levels of H₂O₂ in rice with *S. furcifera* under feeding stress

水稻品种	H ₂ O ₂ 含量/(mmol·g ⁻¹)						
	0 h	3 h	6 h	12 h	18 h	24 h	36 h
Rathu Heenati	(20.9±0.2)a	(20.8±0.1)a	(21.1±0.2)a	(21.4±0.3)a	(21.0±0.1)a	(21.4±0.2)a	(21.3±0.1)a
R9810-T	(23.2±0.3)g	(24.1±0.6)f	(27.2±0.5)e	(29.3±0.4)d	(31.7±0.7)c	(35.2±1.1)b	(38.4±0.3)a
丰源优272	(19.7±0.2)c	(19.6±0.1)c	(20.0±0.2)c	(20.9±0.1)b	(21.9±0.3) ab	(22.3±0.1) ab	(23.7±0.4)a

2.6 白背飞虱取食胁迫下水稻 MDA 含量的变化

白背飞虱取食胁迫后, 不同水稻品种 MDA 含量的变化大小和趋势不同(表 5)。Rathu Heenati 的

MDA 含量变化不显著; R9810-T 的 MDA 含量在接虫 3 h 时和接虫前相比变化不显著, 但在接虫 6 h 时已显著高于接虫前水平, 以后逐渐升高, 在接虫 18 h 已显著高于接虫 12 h 的; 丰源优 272 的 MDA

含量先升后降,在接虫 18 h 达到最大值,且显著高于其他处理。

表 5 白背飞虱取食胁迫下水稻 MDA 含量

Table 5 The levels of MDA in rice with *S. furcifera* under feeding stress

水稻品种	MDA 含量/(nmol·mg ⁻¹)						
	0 h	3 h	6 h	12 h	18 h	24 h	36 h
Rathu Heenati	(0.65±0.03)a	(0.67±0.01)a	(0.71±0.05)a	(0.74±0.03)a	(0.72±0.05)a	(0.69±0.01)a	(0.66±0.03)a
R9810-T	(0.52±0.03)c	(0.58±0.02)c	(0.72±0.06)b	(0.76±0.02)b	(0.86±0.03)a	(0.88±0.01)a	(0.87±0.03)a
丰源优272	(0.68±0.01)e	(0.79±0.07)c	(0.86±0.04)b	(0.85±0.02)b	(0.92±0.03)a	(0.75±0.03)cd	(0.72±0.01)d

3 讨 论

GPX 最初在动物体内被发现,可迅速清除生物体内多余的活性氧(ROS)。近年来发现 GPX 在植物中也有类似的功能,可能在植物氧化信号转导中起重要作用^[8]。在白背飞虱胁迫不同时间后,3 个水稻品种 GPX 活性都没有出现显著的变化,说明 3 个水稻品种的 GPX 对白背飞虱的取食胁迫没有作出响应。

SOD 是植物体内天然存在的 ROS 清除因子,它可以把有害的 O₂⁻ 转化为 H₂O₂,而 H₂O₂ 将被 POD 和 CAT 分解,多种保护酶协调作用使植物体内 ROS 达到动态平衡,从而减少对膜系统的伤害。随胁迫时间的延长,3 个品种的 SOD 和 POD 活性都增高,而 CAT 活性在不同品种中的变化存在差异,Rathu Heenati 的 CAT 活性在不同的处理时间下没有明显变化,R9810-T 呈下降趋势,丰源优 272 则先下降后稍回升。这表明水稻迅速启动了 SOD、POD 和 CAT 等保护酶系,以抵御白背飞虱的取食胁迫。

本研究结果表明,Rathu Heenati 的 CAT 活性和 H₂O₂ 及 MDA 含量在胁迫前后没有发生显著的变化。CAT 的作用是将 H₂O₂ 催化为水和氧气,而且 CAT 只对 H₂O₂ 起作用^[9]。据此推测,Rathu Heenati 的 CAT 活性没有发生显著的波动,可能是由于其底物 H₂O₂ 含量没有升高。MDA 是植物膜脂过氧化的最终产物,是衡量膜结构损伤程度的指标^[10]。Rathu Heenati 的 POD 活性在白背飞虱取食胁迫后显著升高,而衡量膜结构损伤程度的指标 MDA 含量基本保持稳定,这表明在白背飞虱取食胁迫后,除 H₂O₂ 以外的其他活性氧含量升高,导致 POD 活性升高,并将其降解成不损伤生物膜的无害物质,

从而使 MDA 含量在胁迫前后基本保持稳定。在白背飞虱取食胁迫不同时间后,丰源优 272 和 R9810-T 的 H₂O₂ 和 MDA 含量都随胁迫时间的延长而升高,表明 R9810-T 和丰源优 272 易受害,且受害程度随取食胁迫时间的延长而增大。

白背飞虱在 3 个水稻品种上取食行为的 EPG 分析结果^[11]表明,白背飞虱在 R9810-T 和丰源优 272 上的刺吸取食行为基本一致,都表现为感虫,而在 Rathu Heenati 上非刺探时间更长,有效吸食韧皮部汁液的时间更短,表现为抗虫。本研究中,抗、感品种受白背飞虱取食胁迫后 POD 活性增加这一结果,与段灿星等^[12]利用灰飞虱 3 龄若虫测定的结果一致。但陈建明等^[6]利用 3~4 龄白背飞虱若虫取食种植 30~45 d 的水稻后,抗虫品种 POD 活性增加,感虫品种 POD 活性下降;张金锋^[7]研究了白背飞虱雌成虫和褐飞虱雌成虫取食水稻后的 POD 活性,结果抗虫品种的 POD 活性增加,感虫品种的 POD 活性下降。造成这种差异的原因可能与测定时选用的水稻品种、水稻生育期和供试飞虱种类及其虫态等因素有关。另外,本研究中,R9810-T 在白背飞虱取食胁迫下易受氧化损伤这一结果,也支持了转茶陵野生稻基因品种 R9810-T 并没有获得明显的抗白背飞虱的作用这一结论^[11,13]。

白背飞虱在抗性品种 Rathu Heenati 上有效取食的时间相对更短,这可能是导致该品种受到的氧化伤害较轻的间接原因^[11]。胁迫前,Rathu Heenati 3 种保护酶的活性都显著高于其余 2 个品种,在胁迫不同时间后也呈现出相同的情形,由此推测,Rathu Heenati 可能存在更为强大和高效的保护酶防御系统,这可能是该品种受到氧化伤害较轻的直接原因。

参考文献:

- [1] 沈君辉, 尚金梅, 刘光杰. 中国的白背飞虱研究概况[J]. 中国水稻科学, 2003, 17(增刊): 7-22.
- [2] Suri K S, Singh G. Insecticide-induced resurgence of the whitebacked planthopper *Sogatella furcifera*(Horvath) (Hemiptera: Delphacidae) on rice varieties with different levels of resistance[J]. Crop Protection, 2011, 30: 118-124.
- [3] 刘光杰, Wilkins R M, Saxena R C. 白背飞虱对不同抗虫性稻株糖类物质的利用[J]. 昆虫学报, 1995, 38(4): 421-427.
- [4] 许跃, 俞晓平. 水稻品系“9101”对白背飞虱产卵的抗性及其与稻株营养成分的关系[J]. 植物保护学报, 1988, 15(1): 61-62.
- [5] 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, 20(3): 55-61.
- [6] 陈建明, 俞晓平, 葛秀春. 水稻植株防御白背飞虱为害的某些生理反应[J]. 中国水稻科学, 2000, 14(1): 42-47.
- [7] 张金锋, 薛庆中. 稻飞虱为害胁迫对水稻植株内主要保护酶活性的影响[J]. 中国农业科学, 2004, 37(10): 1487-1491.
- [8] 苗雨晨, 白玲, 苗琛, 等. 植物谷胱甘肽过氧化物酶研究进展[J]. 植物学通报, 2005, 22(3): 350-356.
- [9] Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, et al. Reactive oxygen gene network of plants[J]. Trends in Plant Science, 2004, 9(10): 490-498.
- [10] Hao Z, Wang L P, He Y P, et al. Expression of defense genes and activities of antioxidant enzymes in rice resistance to rice stripe virus and small brown planthopper[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2011, 49: 744-751.
- [11] 孙凯, 李冠华, 丁文兵, 等. 白背飞虱在不同水稻品种上取食行为的 EPG 分析[J]. 昆虫学报, 2014, 57(3): 335-342.
- [12] 段灿星, 彭高松, 王晓鸣, 等. 抗感水稻品种受灰飞虱为害后的生理反应差异[J]. 应用昆虫学报, 2013, 50(1): 145-153.
- [13] 蒋斌元, 张齐, 康敏, 等. 茶陵野生稻及其导入后代间的遗传差异 RAPD 分析[J]. 湖南农业科学, 2012(13): 5-7.

责任编辑: 罗慧敏

英文编辑: 罗 维

(上接第 500 页)

- [11] 傅冬和, 刘仲华, 黄建安, 等. 茯砖茶加工过程中主要化学成分的变化[J]. 食品科学, 2008, 29(2): 64-67.
- [12] 李佳莲, 胡博涵, 刘素纯, 等. 微生物与茯砖茶品质形成研究进展[J]. 食品工艺科技, 2010(9): 406-408, 413.
- [13] 文杰宇. 茯砖茶发花过程中微生物多样性研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2011: 2-3.
- [14] 刘石泉, 赵运林, 胡治远, 等. 不同渥堆条件对茯砖茶品质的影响研究[J]. 食品工艺科技, 2012(22): 256-259.
- [15] 胡治远, 刘素纯, 赵运林, 等. 茯砖茶生产过程中微生物动态变化及优势菌鉴定[J]. 食品科学, 2012(19): 244-248.
- [16] Liu Wenjun, Bao Qiuhua, Qing Manjun. Isolation and identification of lactic acid bacteria from Tarag in Eastern Inner Mongolia of China by 16S rRNA sequences and DGGE analysis[J]. Microbiological Research, 2012, 167(2): 243-249.
- [17] 许爱清, 李宗军, 王远亮, 等. 应用 PCR-DGGE 技术检测发酵食品和饲料中真菌菌群[J]. 食品科学, 2010, 31(7): 317-322.
- [18] Xu Aiqing, Wang Yuanliang, Wen Jieyu, et al. Fungal community associated with fermentation and storage of Fuzhuan bricktea[J]. International Journal of Food Microbiology, 2011, 146(1): 14-22.
- [19] 刘石泉, 胡治远, 赵运林. 基于 DGGE 技术的茯砖茶发花过程细菌群变化分析[J]. 生态学报, 2014, 34(11): 3007-3015.
- [20] 孙婷婷, 赵明, 李亚莉, 等. 普洱茶发酵样品细菌和真菌 DNA 同时提取方法研究[J]. 中国农学通报, 2011, 27(15): 249-253.
- [21] Li Anying, Yu Wei, Sun Zhenjun. Analysis of bacterial and fungal community structure in replant strawberry rhizosphere soil with denaturing gradient gel electrophoresis[J]. African Journal of Biotechnology, 2012, 49(11): 10962-10969.
- [22] 钱迎倩, 马克平. 生物多样性研究的原理与方法[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1994: 141-165.
- [23] Koichiro Tamura, Daniel Peterson, Nicholas Peterson et al. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods[J]. Mol Biol Evol, 2011, 28(10): 2731-2739.
- [24] 刘石泉, 雷存喜, 赵运林. 黑茶中微生物群落结构和多样性研究方法思考[J]. 茶叶科学技术, 2010(1): 9-11.

责任编辑: 王赛群

英文编辑: 王 库