

水稻对稻负泥虫取食的生理响应^{*}

王丽艳^{1**} 张海燕¹ 朱莹¹ 于磊¹ 丛斌^{2***}

(1. 黑龙江八一农垦大学农学院 大庆 163319; 2. 沈阳农业大学植物保护学院 沈阳 110161)

摘 要 以水稻负泥虫—水稻互作为研究对象,分析了水稻负泥虫 *Oulema oryzae* Kuwayama 取食过程中抗、感 2 个品种水稻植株内保护性酶 POD、SOD、CAT 和 MDA 活性的变化动态。结果表明:在水稻负泥虫取食为害的过程中, SOD 活性持续增强, POD、CAT 和 MDA 活性呈现出先升高后降低的趋势,而且抗、感水稻植株中 4 种酶的活性均比未处理健康对照增加(抗虫品种中 MDA 含量变化除外)。另外,在 24 h 和 48 h 时水稻负泥虫取食抗虫品种引起的 CAT 活性变化的量明显高于感虫品种。抗、感 2 个水稻品种中 4 种保护性酶活性在虫害和机械伤害不同处理间没有明显差异。

关键词 水稻, 水稻负泥虫, 保护性酶

Physiological respons of rice plants to *Oulema oryzae* feeding

WANG Li-Yan^{1**} ZHANG Hai-Yan¹ ZHU Ying¹ YU Lei¹ CONG Bin^{2***}

(1. College of Agriculture, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China;

2. Plant Protection Institute, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China)

Abstract The activity of four enzymes (POD, SOD, CAT and MDA) in rice varieties with different resistance to *Oulema oryzae* Kuwayama were investigated following insect browsing and mechanical damage to rice plants. The results suggest that SOD activity increased from 0 h to 96 h and that the other enzymes first increased and then decreased. Although MDA activity decreased more in resistant relative to other rice varieties, the activities of all enzymes were greater in both resistant and susceptible varieties compared to the controls. Furthermore, variation in CAT activity was obviously higher in the resistant than in the sensitive variety 24 h and 48 h after insect browsing. There was little difference in enzyme activity between plants subject to insect feeding and those subject to mechanical damage.

Key words rice, *Oulema oryzae*, defense enzymes

水稻负泥虫 *Oulema oryzae* Kuwayama 是水稻苗期主要害虫之一,以幼虫和成虫沿叶脉取食叶肉造成许多白色纵痕,导致水稻叶片破裂从而影响产量(徐来杰, 1999)。近年来黑龙江省等北方水稻产区该虫发生面积和危害程度呈逐年上升趋势(许传红, 2007),严重影响稻米的产量和品质。

植物在昆虫取食胁迫下,将激活相应的防御信号途径,合成防御相关物质和/或释放挥发物,形成直接或间接的防御保障。合成这些功能性次生物质的底物均来源于植物的初生代谢,过氧化物酶(POD)是植物酶促脱毒机制中的一种,该酶

在活性氧的清除中起着重要的作用(姜永根和程家安, 1997)。植株受害虫为害时,将引起植物体内一系列防御反应,主要表现为植株体内的保护性酶活性等生理指标的变化。其中,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和丙二醛(MDA)的含量变化对机体的免疫功能都有不同程度的影响(马旭俊和朱大海, 2003; 张坤生和田荟琳, 2007; 姚海勇等, 2008)。目前,关于稻飞虱的取食胁迫引起水稻植株体内酶活性变化情况已有大量报道(吕仲贤等, 1997; 陈建明等, 2000; Chen *et al.*, 2002; 陈建明和俞晓平, 2003)。而且,有研

* 资助项目: 黑龙江省重点科研项目(GB02B201)。

**E-mail: byndwly@126.com

***通讯作者, E-mail: bin1956@163.com

收稿日期: 2010-10-08, 接受日期: 2011-05-23

研究表明虫害诱导的植物挥发物不能完全由机械损伤所诱导 (Ryan and Pearce, 1998; 姜永根和程家安 2000)。然而, 负泥虫取食为害和机械损伤对水稻植株保护酶的影响仍未见报道。另外, 害虫取食不同水稻品种后, 其体内一些酶的活性明显不同, 稻纵卷叶螟 *Cnaphalocrocis medinalis* 取食抗虫品种的幼虫体内 POD 和谷胱甘肽 S-转移酶 (GST) 活性显著高于取食其他品种的幼虫, SOD 活性显著低于取食感虫品种的幼虫, 抗虫品种对稻纵卷叶螟幼虫有毒害作用 (王元翔等, 2008)。鉴于此, 本文从水稻植株保护性酶活性的变化指标出发, 研究水稻负泥虫取食为害诱导水稻植株体内 SOD、POD、CAT 和 MDA 等酶活性变化的时间动态, 并分析负泥虫取食所造成的伤害与单纯机械损伤二者在引起保护性酶变化上的异同, 揭示不同水稻品种植株体内在水稻负泥虫为害胁迫下所发生的生理变化。

1 材料与方法

1.1 材料

供试虫源: 试验用水稻负泥虫 *Oulema oryzae* Kuwayama 虫源采自黑龙江八一农垦大学试验田。于棚室内 (温度为 $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, 湿度为 $70\% \pm 5\%$) 用新鲜 4 叶 1 心期 (生长至 4 周) 水稻苗饲养, 幼虫发育至 3~4 龄时用于试验。

供试水稻品种: 试验选用 2 种对水稻负泥虫不同抗性的品种, 经前期抗性筛选确定为感虫品种稻花香和抗虫品种绥粳 4 号。在棚室内 (温度为 $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, 湿度为 $70\% \pm 5\%$) 培育水稻幼苗, 水稻幼苗长至 4 叶 1 心 (生长至 4 周) 时转植于无虫网罩下的盆钵 ($D = 18\text{ cm}$) 中, 每个盆钵栽入 2 株水稻秧苗供试。

1.2 试验方法

1.2.1 试验处理方法 水稻负泥虫虫害处理: 棚室内光周期 (L:D = 12:12) 栽植的健康水稻幼苗 (4 叶 1 心水稻), 每钵保留水稻苗 2 株, 用细纱网罩住。然后, 每株接 3~4 龄的稻负泥虫幼虫 4 头分散于 4 片叶上, 用纱网罩住。接虫前取样 (0 h), 分别于接虫后 24、48、72、96 h 各时间段取被害水稻地上部分, 以对应时间罩网的健康不接虫植株为对照。同样处理进行 3 次重复取样。取样植株用液氮速冻后, 于 -70°C 的超低温冰箱中保存。

机械损伤处理: 取上述健康水稻幼苗, 模拟水稻负泥虫幼虫的为害特点和取食量, 用医用刀片小心处理稻叶上表皮, 即每天制造长约 5 cm、宽约 0.2 cm 的纵痕 1 条, 每株处理 4 片稻叶, 其它均同接虫处理, 并于虫害处理相对应的时间取样, 备用。

1.2.2 酶活性测定 在 50 mL 离心管中加入 8 mL 预冷的 PBS 提取缓冲液, 至冰上待用。称取水稻植株 2.0 g, 在研钵中用液氮研磨成粉末, 迅速转移至离心管中, 充分混匀, 低温 4°C 下, 15 000 rpm 离心 30 min, 取上清液, 即为粗酶液。用紫外可见分光光度计 (日立 U-3010) 测定过氧化物酶 (POD)、超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 和丙二醛 (MDA), 具体方法见张宪政 (1992) 和王学奎 (2000)。

1.3 数据统计与分析

试验测得数据使用 SPSS 11.5 软件, 经 Duncan 氏新复极差法和配对 *t* 检验法进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 不同水稻品种 POD 活性的变化

水稻负泥虫取食 0~96 h 时间范围内, 害虫取食引起抗、感虫 2 个品种水稻植株 POD 活性变化都呈现出“先降低, 再升高, 然后下降”的趋势, 即 0~24 h 内略有下降, 24~48 h 内逐渐升高, 48~96 h 内逐渐下降。其中, 在害虫取食 48 h 时 POD 活性增加量达到最大。尽管在抗虫品种和感虫品种中负泥虫取食均引起水稻 POD 活性较未处理对照有不同程度提高, 但在 0~96 h 内 4 个取样点上, 与未处理对照相比, 虫害诱导效果不显著 (图 1)。

2.2 不同水稻品种 SOD 活性的变化

水稻负泥虫取食 0~96 h 时间范围内, 取食抗、感虫 2 个品种引起水稻 SOD 活性变化趋势基本相近, 即在 24~96 h 内 SOD 活性逐渐升高。与未处理对照相比, 在抗虫和感虫品种中负泥虫取食均导致水稻 SOD 活性提高, 值得注意的是在 24 h 时 SOD 活性与对照间存在显著差异 (图 2)。

2.3 不同水稻品种 CAT 活性的变化

水稻负泥虫取食 0~96 h 时间范围内, 取食抗、感虫 2 个品种引起水稻 CAT 活性变化趋势也

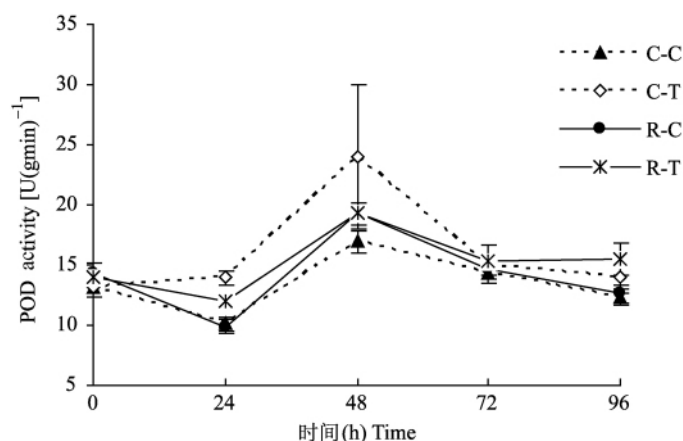


图1 负泥虫取食不同水稻品种植株体内 POD 活性变化

Fig.1 Activity of POD in two rice varieties induced by *Oulema oryzae* feeding

抗虫品种虫害处理 R-T: Treatment of resistant variety feed by *O. oryzae*; 抗虫品种未处理对照 R-C: Control of resistant variety without treatment by *O. oryzae*; 感虫品种虫害处理 C-T: Treatment of sensitive variety by *O. oryzae*; 感虫品种未处理对照 C-C: Control of sensitive variety without treatment by *O. oryzae*. 图2~4 同 The same for Fig.2, Fig.3 and Fig.4.

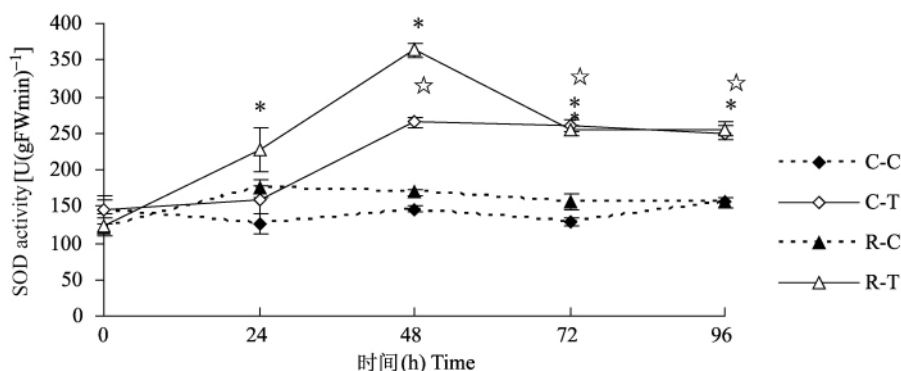


图2 负泥虫取食不同水稻品种植株体内 SOD 活性变化

Fig.2 Activity of SOD in two rice varieties induced by *Oulema oryzae* feeding

“☆”表示感虫品种处理与对照间差异显著 ($P < 0.05$); “*”表示抗虫品种处理与对照间差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

☆ indicates significant difference at 0.05 level in activity of enzyme of resistance varieties between treatment and control using the Duncan's test and *t*-test.

* indicates significant difference at 0.05 level in activity of enzyme of susceptible varieties between treatment and control using the Duncan's test and *t*-test. The same below.

比较相近,以48 h为分界点,先逐渐增加,然后逐渐下降。但是CAT活性变化在抗、感水稻植株中出现分歧:与未处理对照相比,负泥虫取食抗虫品种时在24~96 h区间引起水稻CAT活性显著提高;取食感虫品种时却在48~96 h区间引起水稻CAT活性显著提高,即感虫品种对负泥虫取食的

有效应答较抗虫品种推迟了24 h。而且在24 h和48 h 2个时间点,抗虫品种中CAT活性增加量明显高于感虫品种的增加量(图3)。

2.4 不同水稻品种MDA活性的变化

水稻负泥虫取食0~96 h时间范围内,取食抗、感虫2个品种引起水稻MDA活性变化的总体

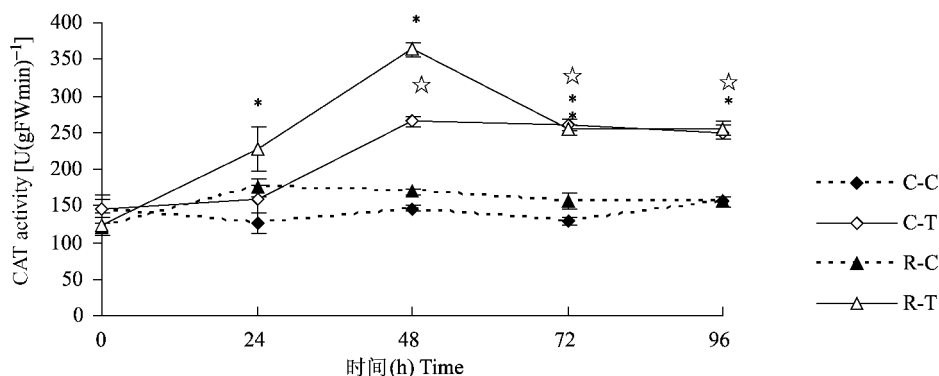


图3 负泥虫取食不同水稻品种植株体内 CAT 活性变化

Fig. 3 Activity of CAT in two rice varieties induced by *Oulema oryzae* feeding

趋势相近,但是抗、感品种间也有一定差异,感虫品种在 0~48 h 内变化幅度比抗虫品种要大。从图 4 可以看出,不同水稻品种对水稻负泥虫取食的响应在 MDA 活性的变化上表现出较大的差异:

与未取食处理对照相比,负泥虫取食感虫品种 48 h 后引起水稻 MDA 活性显著提高;而取食抗虫品种 24 h 引起水稻 MDA 活性显著提高,但在 72 h 差异不显著,96 h MDA 活性又显著升高。

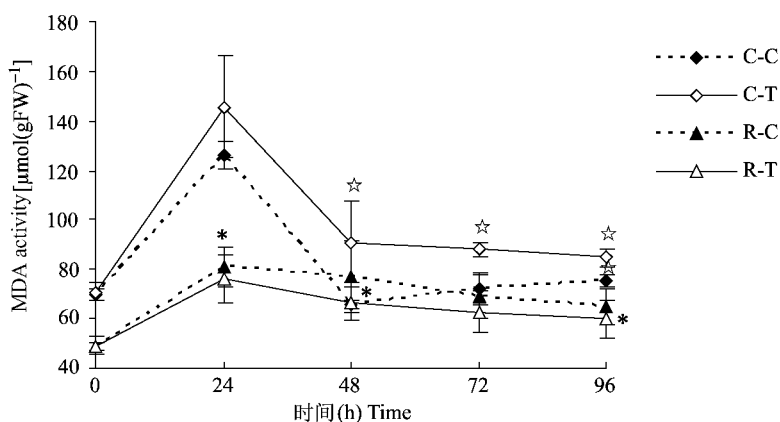


图4 负泥虫取食不同水稻品种植株体内 MDA 活性变化

Fig. 4 Activity of MDA in two rice varieties induced by *Oulema oryzae* feeding

2.5 负泥虫取食与机械损伤的比较

为探讨害虫取食造成的伤害与纯机械伤害的差别,分析了水稻负泥虫取食和纯机械伤害处理对不同水稻品种保护性酶活性的诱导情况。

在纯机械损伤处理的 0~96 h 时间区段内,无论是抗虫品种还是感虫品种,与未处理对照相比纯机械损伤处理均引起水稻植株体内 POD、SOD、CAT 活性增强,但是抗虫和感虫品种间无显著性差异。值得一提的是 MDA 含量变化在抗虫和感虫品种间表现出显著性差异,而且感虫水稻中 MDA 含量较未处理对照增加,抗虫水稻中 MDA 含量却降低。

通过比较负泥虫取食与纯机械损伤 2 种处理在相应时间段引起水稻保护性酶活性变化情况,发现 2 种不同处理在相同处理时间内诱导的 POD、SOD 和 MDA 酶活性差异很小,抗虫品种和感虫品种中 3 种酶的诱导变化情况一致(结果未列到本文)。从图 5 可以看出,2 种不同的处理引起抗、感虫品种 CAT 活性变化趋势一致,即都不同程度诱导了该酶活性增强。然而在 72~96 h 处理范围内,负泥虫取食抗虫品种处理诱导的 CAT 酶活性与机械损伤处理抗虫品种诱导的活性均表现出显著性差异,即负泥虫取食引起 CAT 活性显著提高,同比机械损伤处理 CAT 酶诱导活性很小。

但是在感虫品种上 2 种不同处理却没有表现出显著性的差异。

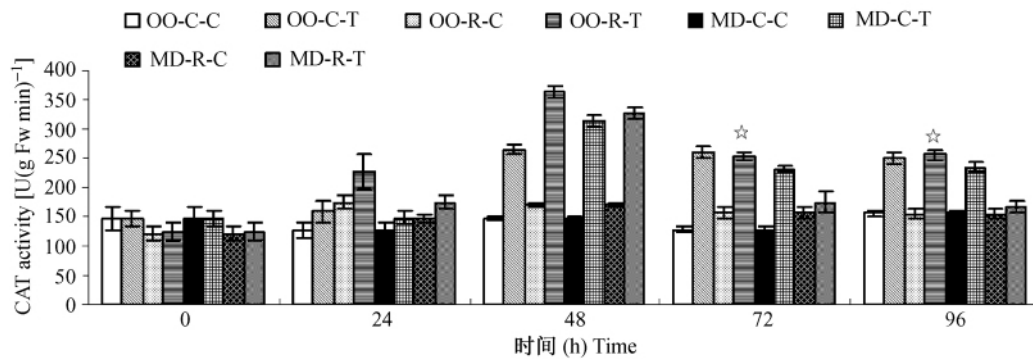


图 5 机械损伤和虫害胁迫下不同水稻品种植株体内 CAT 活性

Fig. 5 Activity of CAT in rice plants resulted from mechanical damage and *Oulema oryzae* feeding

负泥虫取食抗虫品种的处理 OO-R-T: Treatment of resistant variety feed by *O. oryzae*; 抗虫品种未处理对照 OO-R-C: Control of resistant variety without treatment by *O. oryzae*; 负泥虫取食感虫品种的处理 OO-C-T: Treatment of sensitive variety by *O. oryzae*; 感虫品种未处理对照 OO-C-C: Control of sensitive variety without treatment by *O. oryzae*; 机械损伤抗虫品种的处理 MD-R-T: Treatment of resistant variety under mechanical damage; 抗虫品种未处理对照 MD-R-C: Control of resistant variety without mechanical damage; 机械损伤感虫品种的处理 MD-C-T: Treatment of sensitive variety under mechanical damage; 感虫品种未处理对照 MD-C-C: Control of sensitive variety without mechanical damage.

3 讨论

自然环境下,植物时常会遭受多种逆境胁迫,它们能够启动寄主初期感应到威胁种类激发的防卫反应(Poelman *et al.*, 2008)。

生物体内活性氧的增加,对生物功能分子有破坏作用,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)等作为生物体内的保护性酶类,有利于植物细胞迅速清除活性氧,消除超氧阴离子和过氧化氢等,从而减少膜系统的伤害(陈建明和俞晓平, 2003; 刘媛媛等, 2008)。负泥虫取食胁迫下 2 个不同抗性水稻品种植株 POD 活性不仅高于处理前,也高于相应时间未处理对照,使得机械损伤和虫害胁迫下水稻抗氧化能力增加,从而缓解逆境伤害。这与前人研究的感虫品种 POD 活性下降,抗虫品种 POD 活性增加的研究结果有所不同(吕仲贤等, 1997; 陈建明等, 2000)。在抗虫和感虫品种中负泥虫取食均导致水稻 SOD 活性提高,这与白背飞虱为害后水稻植株体内保护酶活性的变化趋势相近(陈建明等, 2000)。CAT 在机械损伤和虫害胁迫下变化幅度均比较大、波动也较大,抗虫和感虫品种 CAT 活性

变化量较大,这与吕仲贤等(1997)和 Chen 等(2002)的结论相似。另外本研究认为在一定时期害虫取食的情况,抗虫品种能够快速启动防卫信号途径,产生防卫相关的代谢物,表现为 MDA 酶在 48 h 时抗虫品种水稻植株显著高于对照,这与前人的相关研究所获得的结论(陈建明等, 2000; Chen *et al.*, 2002)有所不同,很可能是因为水稻负泥虫为害对水稻植株形成的损伤与飞虱为害形成生理性伤害的性质不同所致。

通过比较负泥虫取食与机械损伤 2 种处理下酶活性变化,发现 2 种逆境胁迫下 4 种酶的活性变化趋势大体一致。机械损伤除导致抗虫品种 MDA 含量比对照降低外,其余 3 个酶在抗虫品种中以及所有 4 个酶在感虫水稻植株中的活性均比对照增加。不管是抗虫品种还是感虫品种中,POD, SOD 和 MDA 活性在负泥虫取食与机械损伤之间的都没有明显差异,2 种处理只有在抗虫品种中且在 72 ~ 96 h 范围内的 CAT 酶活性变化量存在一定的差别。通过分析 4 种保护性酶在负泥虫取食和模拟取食的机械损伤的过程中的变化趋势,作者发现在负泥虫取食的过程中确实产生了活性氧伤害,而且这种伤害的修复可能并不是因

负泥虫取食而特有的,水稻与负泥虫互作机制还有待进一步深入研究。

参考文献(References)

- 陈建明,俞晓平,2003. 不同水稻品种受褐飞虱危害后体内生理指标的变化. 植物保护学报,30(3):226—231.
- 陈建明,俞晓平,葛秀春,吕仲贤,程家安,颜红岚,刘光杰,郑许松,陶林勇,孔令军,2000. 水稻植株防御白背飞虱为害的某些生理反应. 中国水稻科学,14(1):43—47.
- Chen JM, Yu XP, Lu ZX, Ge XC, 2002. Studies on tolerance and compensations of rice varieties to the brown planthopper, *Nilaparata lugens* (Stål), attacking. *CRRN*, 10(3/4):19—20.
- 刘媛媛,滕中华,王三根,2008. 高温胁迫对水稻可溶性糖及膜保护酶的影响研究. 西南大学学报,30(2):59—63.
- 娄永根,程家安,1997. 植物的诱导抗性. 昆虫学报,40(3):320—331.
- 娄永根,程家安,2000. 虫害诱导的植物挥发物:基本特性、生态学功能及释放机制. 生态学报,20(6):1097—1106.
- 吕仲贤,俞晓平,郑许松,陈建明,张志涛,1997. 褐飞虱致害性变异过程及其体内酶的变化. 昆虫学报,40(增):122—127.
- 马旭俊,朱大海,2003. 植物超氧化物歧化酶(SOD)的研究进展. 遗传,25(2):225—231.
- Poelman EH, Broekgaarden C, Van Loon JJA, Dicke M, 2008. Early season herbivore differentially affects plant defence responses to subsequently colonizing herbivores and their abundance in the field. *Mol. Ecol.*, 17:3352—3365.
- Ryan CA, Pearce G, 1998. Systemin: a polypeptide signal for plant defensive genes. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.*, 14:1—17.
- 王元翔,许路,吴进才. 水稻品种对稻纵卷叶螟抗性的物理及生化机制. 昆虫学报,2008,51(12):1265—1270.
- 王学奎,2000. 植物生理生化实验原理和技术. 北京:高等教育出版社. 202—204.
- 徐来杰,1999. 稻负泥虫生物学特性与防治指标研究. 植保技术与推广,19(3):13.
- 许传红,2007. 水稻负泥虫生物学特性及其防治. 北方水稻,1(1):50—51.
- 姚海勇,华兆哲,堵国成,陈坚,2008. 枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)过氧化氢酶的分离纯化及性质. 应用与环境生物学报,14(6):820—824.
- 张坤生,田荟琳,2007. 过氧化氢酶的功能及研究. 食品科技,1:8—10.
- 张宪政,1992. 作物生理研究法. 北京:中国农业出版社. 208—215.

椰甲截脉姬小蜂野外种群与实验种群差异性比较^{*}

孙蕊芬^{1**} 田小青² 张先敏³ 李样聪¹ 全峰¹ 朱麟^{1***}

(1. 海南师范大学生命科学学院 海南省热带动植物生态学重点实验室 海口 571158;

2. 上海市金山区林业站 上海 201500; 3. 海南省林业科学研究所 海口 571100)

摘 要 通过随机抽样,比较了椰甲截脉姬小蜂 *Asecodes hispinarum* Bouček 林间种群与室内种群的雌雄比、出蜂量、未出蜂量、怀卵量的差异。*t* 检验表明这些参数在 2 个种群间均存在显著的差异。野外种群和室内种群雌雄比例分别占 $81.63\% \pm 2.54\%$ 和 $65.34\% \pm 1.80\%$,出蜂量分别是 (25.13 ± 1.17) 头和 (52.90 ± 1.88) 头。利用相关分析分析了寄主大小对寄生蜂性比的影响,表明寄主大小和寄生蜂雌雄比没有相关关系,不符合 Charnov 建立的寄生雌雄比与寄主大小关系的数学模型。

关键词 椰甲截脉姬小蜂,种群差异性,性比

Comparisons of the field and laboratory populations of *Asecodes hispinarum* Bouček

SUN Rui-Fen^{1**} TIAN Xiao-Qing² ZHANG Xian-Min³

LI Yang-Cong¹ QUAN Feng¹ ZHU Lin^{1***}

(1. College of Life Sciences, Hainan Normal University, Hainan Provincial Key Laboratory of Tropical Plant and Animal Ecology, Haikou 571158, China; 2. Jinshan Forestry Station in Shanghai, Shanghai 201500, China;

3. Forestry Research Institute of Hainan Province, Haikou 571100, China)

Abstract Field and laboratory populations of the parasitoid *Asecodes hispinarum* Bouček were randomly sampled, and sex ratios, the number of emerged and unemerged adults and egg numbers compared between the two populations. *t*-test indicated that these parameters differed significantly between the two populations. The proportion of females in the field population was $81.63\% \pm 2.54\%$ compared to $65.34\% \pm 1.80\%$ in the laboratory population and the number of emerged adults in the field population was 25.13 ± 1.17 compared to 52.90 ± 1.88 in the laboratory. The effect of host size on sex ratio was analyzed by correlation analysis; no relationship between host size and sex ratio was observed. This result is contrary to the prediction derived from Charnov's model.

Key words *Asecodes hispinarum*, population differences, sex ratios

膜翅目雌性通过调控卵的受精过程决定后代性比(Flanders, 1965; Godfray, 1994),单倍体是雄性,二倍体是雌性(查幸福等, 2006; Wilgenburg *et al.*, 2006; Verhulst *et al.*, 2010)。寄生蜂的性别决定除遗传因子以外,寄主资源质量、雌蜂生理状况和营养水平以及环境条件等因素都对性比分配和发育有影响(王问学, 1990)。Hamilton

(1967)建立了本地配偶竞争理论模型(local mate competition, LMC),该模型预测:同一寄主上产卵的雌蜂越多,后代雄性比例越高,反之则偏雌。大量研究证明了这一模型的广泛适用性(Burton-Chellew *et al.*, 2008; Abe *et al.*, 2009)。1982年Charnov建立了寄生蜂雌雄比与寄主大小关系的数学模型。这个模型显示:雌蜂会识别寄主大小

* 资助项目:海南省教育厅“椰心叶甲种群生物学研究”(hjkj200618)、“椰心叶甲两种寄生蜂生态适应性研究”(Hjkj2009-38)项目和海南省教育厅高校研究生创新课题“椰心叶甲两种寄生蜂热激蛋白的表达研究”(Hxwsy2009-20)。

**E-mail: ecology-sun@163.com

***通讯作者, E-mail: lzhu2005@hainnu.edu.cn

收稿日期: 2010-04-15, 接受日期: 2011-02-07