文章编号: 1001-411X (2001) 04-0036-03

### 小粒野生稻对褐稻虱抗性物质的研究

肖汉祥1,张良佑2

(1 广东省农业科学院植物保护研究所, 广东 广州510640, 2 华南农业大学资源环境学院, 广东 广州510642)

摘要:测定了不同水稻品种叶鞘内游离氨基酸及草酸的含量。并对草酸对褐稻虱的生物活性进行了测定. 试验结果表明:水稻叶鞘内含有 21 种游离氨基酸。在小粒野生稻中,氨基酸总量及天冬氨酸、谷氨酸、天冬酰胺、丝氨酸、丙氨酸和缬氨酸等 6 种主要游氨基酸含量分别为: 4 057.9、215.0、308.3、611.8、571.2、192.1 和 94.7  $\mu$ g/ g.均低于感虫品种 TN1 中的含量. 此外,小粒野生稻内草酸含量为 0.38 mg/ g. 明显高于感虫品种  $TN_1$  中的草酸含量.

关键词: 小粒野生稻; 褐稻虱; 游离氨基酸; 草酸中图分类号: \$233 文献标识码: A

氨基酸是褐稻虱[Nilaparvata lugen(stål)] 生长、发育和繁殖的重要营养物质之一. 据报道,水稻叶鞘内游离氨基酸的含量与品种抗性存在一定的关系,其中天冬氨酸、天冬酰胺、丙氨酸、谷氨酸、缬氨酸、丝氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸对褐稻虱的取食有刺激作用,这些氨基酸在抗性品种中的含量明显低于感虫品种[1~8].

Yoshihara 等<sup>9</sup> 在分析抗虫品种时,发现其草酸含量较感虫品种的高,草酸对褐稻虱有拒食作用. 在国内,有关草酸含量与品种抗性关系的研究报道较少,为了弄清野生稻内草酸含量与其抗性的关系,笔者在测定其含量的基础上,进一步对草酸含量对褐稻虱若虫的忌避性、成虫蜜露分泌量和成虫虫体质量变化的影响进行了研究.

### 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试的水稻品种为小粒野生稻[ $Oryza \ minuta$ ] (编号为  $E_{13-9}$ ),雄性不育系(编号为  $E_{69}$ )、 $E_{69}$ / $E_{13-9}$ 的  $F_1$ 代(简称  $F_1$ ),由广东省农科院水稻所野生稻种质资源圃提供,另设感虫对照品种  $TN_1$  和抗虫对照品种 Mudgo,上述两品种由华南农业大学抗虫性课题组从国际水稻研究所(IRRI)引进,供试虫源为褐稻虱生物型 I.

### 1.2 方法

1.2.1 水稻叶鞘内游离氨基酸和草酸的测定 游离 氨基酸的测定参照张增全<sup>[4]</sup>、曾玲<sup>[6]</sup>等的方法.草酸 含量的测定采用高锰酸钾滴定法 <sup>[10]</sup>进行.

1.2.2 不同浓度草酸对褐稻虱若虫忌避作用的测定 若虫忌避性测定采用圆圈排列法进行.实验装置由塑料盆( $d=30~{\rm cm}$ )与透明塑料罩( $d=24~{\rm cm},h=61~{\rm cm}$ )组成,塑料罩上面用纱布封顶.实验前先用泡沫板做一个圆盘( $d=28~{\rm cm}$ ),然后在圆盘上(离四周2 cm)均匀地钻6个小圆孔后将圆盘放入塑料盆内,每个小孔内放一支小指头瓶,并在瓶里注入约1/4高度的水稻培养液,测定前1d,每支小指头瓶内移植1株感虫品种(TN<sub>1</sub>)的稻苗.测定时,去掉稻苗的分蘖后,分别在主茎上用手提喷雾器均匀地喷雾 c为0.0028、0.0056、0.0110、0.0170、0.0250 mol°L<sup>-1</sup>的草酸溶液,对照喷等量的清水.然后从接虫孔接入2~3龄褐稻虱若虫,平均每苗10头,接虫时尽量使虫在盘的中央.每处理重复3次.接虫2h后检查处理与对照稻株上的若虫数.

1.2.3 不同浓度草酸 对褐稻虱蜜露分 泌量和虫体质量变 化的影响 蜜露量的测定采用蜡膜小袋 (parafilm sachets)法 [11,12]进行. 将播种后  $40 \, \mathrm{d}$  左右的 TN1 稻苗单株移入泥钵内, 去掉分蘖后留下主茎. 将已饥饿  $5 \, \mathrm{h}$ , 但喂水的新近羽化的褐稻虱雌成虫用吸管接入蜡膜小袋内, 每只蜡膜小袋内接入  $2 \, \mathrm{s}$  处地虫, 然后将蜡膜小袋包裹在分别喷有  $c \, \mathrm{h}$  0.002  $8 \, \mathrm{h}$  0.005  $6 \, \mathrm{h}$  0.011  $0 \, \mathrm{h}$  0.017  $0 \, \mathrm{h}$  0.025  $0 \, \mathrm{mol} \, \mathrm{ell}$  一的草酸溶液的稻苗上, 每处理设  $3 \, \mathrm{h}$  一重复. 蜡膜小袋和褐稻虱雌成虫均用灵敏度为  $10^{-4} \, \mathrm{g}$  的电动分析天平称质量, 24  $\mathrm{h}$  后取下蜡膜小袋再次称质量,两次质量之差分别为褐稻虱雌成虫分泌的蜜露量和褐稻虱虫体质量的变化.

### 2 结果与分析

### 2.1 水稻叶鞘内氨基酸种类与含量

分析结果(表1)表明,稻株叶鞘内含有21种游离氨基酸,但不同品种间的含量不同.其中含量较高、变化较大的有6种:天冬氨酸、谷氨酸、天冬酰胺、丝氨酸、丙氨酸、缬氨酸,这6种氨基酸含量占游离氨基酸总量的46.8%~72.7%,在抗性品种中,它们的含量均比感虫品种的低;其次的有7种:色氨酸、谷氨酰胺、苏氨酸、精氨酸、赖氨酸、脯氨酸、甘氨酸,占总量的19.5%~41.7%;其余8种氨基酸含量只占游离氨基酸总量的11.5%以下.

比较各测试品种叶鞘内游离氨基酸总量可知, 感虫品种  $TN_1$  和  $E_9$  上的最多, 分别为 9 050. 2 和 8 828.  $4\mu_g/g$ , 而随着品种抗性的增加, 氨基酸总量逐渐减少, 在抗性品种  $Mudgo_xF_1$  和  $E_{13-9}$ 上, 游离氨基酸的总量分别为4 527. 8、4 509. 8和4 057. 9  $\mu_g/g$ , 只有感虫品种上的  $45\% \sim 50\%$  左右.

表 1 不同抗性品种叶鞘内游离氨基酸含量 $(\mu g/g)$ 

Tab. 1 The concentration of free amino acid in the leaf sheath of different resistant varieties

| 氨基酸种类<br>kinds of amino acid | $TN_1$   | $E_{\Theta}$ | M udgo   | $\mathbf{F}_{1}$ | E13-9    |
|------------------------------|----------|--------------|----------|------------------|----------|
| 天冬氨酸(Asp)                    | 597.1    | 518. 2       | 280. 6   | 289.2            | 215.0    |
| 谷氨酸(Glu)                     | 717.1    | 579.8        | 327. 4   | 361.8            | 308.3    |
| 天冬酰胺(Asn)                    | 2 802. 5 | 2 369. 0     | 817. 5   | 644.3            | 611.8    |
| 丝氨酸(Ser)                     | 1 416. 1 | 1 697. 8     | 841. 3   | 664.1            | 571.2    |
| 谷氨酰胺(Gln)                    | 122.4    | 183.7        | 126.1    | 139.4            | 194. 5   |
| 甘氨酸(Gly)                     | 130.3    | 243. 2       | 196.1    | 220.5            | 284.0    |
| 苏氨酸(Thr)                     | 293.2    | 276. 6       | 229. 3   | 249.9            | 132. 1   |
| 组氨酸(His)                     | 40.8     | 80.5         | 83.0     | 29.9             | 142. 1   |
| 瓜氨酸(Cit)                     | 14.9     | 29.0         | 21. 3    | 20.0             | 23.0     |
| 丙氨酸(Ala)                     | 1 048. 2 | 723. 1       | 253. 8   | 166.6            | 192. 1   |
| γ—氨基丁酸(Gaba)                 | 41.9     | 122. 1       | 141. 5   | 31.4             | 71.2     |
| 精氨酸(Arg)                     | 315.7    | 201.7        | 388.4    | 417.6            | 301.8    |
| 酪氨酸(Tyr)                     | 36.8     | <b>79.</b> 1 | 46. 4    | 28.1             | 56.7     |
| 缬氨酸(Val)                     | 186.8    | 178.9        | 127. 4   | 142.9            | 94.7     |
| 蛋氨酸(Met)                     | 44.9     | 49.9         | 74. 5    | 48.6             | 35.2     |
| 色氨酸(Trp)                     | 265.8    | 674.6        | 219. 7   | 597.9            | 584.2    |
| 苯丙氨酸(Phe)                    | 83.6     | 79.8         | 70. 6    | 51.5             | 42.7     |
| 异亮氨酸(Ile)                    | 106.9    | 115.0        | 85. 1    | 73.0             | 53.4     |
| 亮氨酸(Leu)                     | 85.9     | 77.2         | 71. 9    | 49.0             | 41.8     |
| 赖氨酸(Lys)                     | 228.8    | 159. 1       | 100. 1   | 136.3            | 54.9     |
| 脯氨酸(Pro)                     | 117.8    | 190. 1       | 154. 3   | 147.8            | 47. 2    |
| 总 量(total)                   | 9 050.2  | 8 828.4      | 4 527. 8 | 4 509.8          | 4 057. 9 |

### 2.2 水稻叶鞘内草酸含量

,水稻叶鞘内草酸含量的测定结果表明,不同抗

性品种稻株叶鞘内草酸的含量不同,它们之间存在着显著的差异. 在感虫品种  $TN_1$  上,草酸的含量为  $(0.107\pm0.015)$  mg/g,在  $E_{\theta}$  上为  $(0.116\pm0.006)$  mg/g,而在抗性对照品种 Mudgo 上,草酸的含量为  $(0.213\pm0.012)$  mg/g,在小粒野生稻上为  $(0.380\pm0.042)$  mg/g,在  $F_1$  上为  $(0.123\pm0.021)$  mg/g. 这说 明水稻稻株叶鞘内草酸含量与品种抗性存在着密切的关系.

### 2.3 褐稻虱若虫对不同浓度草酸忌避性

从实验结果(表 2)可知,不同浓度的草酸溶液对褐稻虱若虫的分布有着显著的影响.在喷清水、 $0.002~8和~0.005~6~mol~L^{-1}$ 的草酸溶液的稻株上,褐稻虱的分布率分别为 20.67%、20.17%和 18.34%,而在喷有 0.011、0.017 和  $0.025~mol~L^{-1}$ 的草酸溶液的稻株上,褐稻虱若虫的分布率则分别为 16.07%、12.79%和 11.96%.说明草酸对褐稻虱若虫有明显的忌避作用,能显著地影响褐稻虱若虫在稻株上的分布.

表2 不同浓度草酸对褐稻虱的影响1)

Tab. 2 The effects of different concentration oxalic acid on brown planthopper

| で草酸<br>oxalic acid/<br>(mol°L <sup>-1</sup> ) | 若虫分布率<br>distributing<br>of nymph / % | 蜜露分泌量 虫体质量增加量<br>honey—dew body—mass<br>amount / mg increased/mg |
|---|---------------------------------------|--|
| CK(清水)  | 20. 67±1. 24a                         | 2. $60\pm0.76a$ 1. $17\pm0.15a$                                  |
| 0.0028  | 20. $17\pm1.49a$                      | 2. $55\pm0.35a$ 1. $00\pm0.14a$                                  |
| 0.005 6                                       | 18. $34\pm0.97\mathrm{ab}$            | 1. $60\pm0.72  ab$ 0. $47\pm0.42  ab$                            |
| 0.011   | 16. 07 $\pm$ 0. 19b                   | 1. $17\pm0.50$ b 0. $37\pm0.47$ ab                               |
| 0.017   | 12. $79\pm2.41\mathrm{c}$             | 1. $17\pm0.35$ b $-0.17\pm0.60$ b                                |
| 0.025   | 11. 96±1.64c                          | 0. $97 \pm 0.38$ b $-0.33 \pm 0.45$ b                            |

1) 表内同列数据后小写英文字母相同者表示经邓肯氏检验差异不显著(P>0.05)

## 2.4 不同浓度草酸对褐稻虱蜜露分泌量和虫体质量增量的影响

从表 2 可以看出, 不同浓度的草酸对褐稻虱的蜜露分泌量有明显的影响. 在喷有清水和 0.002 8 mol °L<sup>-1</sup>草酸溶液的稻株上, 褐稻虱取食 24h 后分泌的蜜露量分别为 2.60 和 2.55 mg, 而在喷有较高浓度草酸的稻株上, 褐稻虱经 24 h 取食后分泌的蜜露量明显减少, 当草酸溶液的浓度升高到 0.025 mol °L<sup>-1</sup>时, 褐稻虱分泌的蜜露量仅为 0.97 mg, 远远低于在清水对照上分泌的蜜露量. 依据褐稻虱取食量与蜜露分泌量成正比的原则可知<sup>[13]</sup>, 一定浓度的草酸能明显地抑制褐稻虱的取食作用.

实验结果(表2)表明,在喷有清水的稻株上取食

的褐稻虱体质量增加最多,达到 1.17~mg,当草酸的浓度为  $0.002~8~mol~L^{-1}$ 时,褐稻虱的体质量增加也较显著,达到 1.00~mg,而当草酸的浓度上升到  $0.017~nol~0.025~mol~L^{-1}$ 时,褐稻虱的体质量反而下降,这说明一定浓度的草酸可能对褐稻虱有明显的拒食作用.从表 2~可知,取食喷有清水和低浓度草酸溶液稻株的褐稻虱,不仅分泌的蜜露量多,而且体质量增加也多,但当草酸溶液的浓度上升到  $0.017~mol~L^{-1}$ 以上时,褐稻虱不仅分泌的蜜露量少,而且体质量也下降,这说明一定浓度的草酸能明显地抑制褐稻虱的取食.

### 3 结论与讨论

### 3.1 小粒野生稻叶鞘内的游离氨基酸

水稻植株内的游离氨基酸是褐稻虱生长、发育和繁殖的重要营养物质之一,同时也是刺激取食的物质之一. Sogawak<sup>[1]</sup> 测定水稻叶鞘内游离氨基酸的含量与品种抗性关系时证实天冬氨酸、天冬酰胺、丙氨酸、谷氨酸、缬氨酸对褐稻虱的取食有刺激作用,这些氨基酸在抗性品种中的含量明显低于感虫品种. 本试验结果表明: 在抗性品种叶鞘内游离氨基酸总量及天冬氨酸、谷氨酸、天冬酰胺、丝氨酸、丙氨酸和缬氨酸等 6 种主要游离氨基酸的含量均明显低于感虫品种. 因而可以认为: 叶鞘内游离氨基酸总量及上述 6 种主要游离氨基酸的含量少是小粒野生稻抗褐稻虱的原因之一.

### 3.2 小粒野生稻叶鞘内的草酸含量

Yoshihara 等<sup>[9]</sup> 发现抗虫品种的草酸含量较感虫品种的高,他们的实验证实了草酸对褐稻虱有拒食作用.以后又分析比较了一系列水稻品种中草酸的含量,发现感虫品种较抗虫品种的草酸含量有较低的趋势,因而认为草酸是支配品种抗虫性的重要因子<sup>[14]</sup>.本文的实验结果表明,不同抗性品种叶鞘内草酸含量不同,在小粒野生稻叶鞘中草酸的含量为0.380 mg/g,远高于感虫品种 TN<sub>1</sub> 稻株叶鞘内 0.107 mg/g 的含量,而且它们之间差异显著.此外,草酸生物活性的测定结果证实,当草酸浓度在 0.011~0.025 mol°L<sup>-1</sup>时就能抑制褐稻虱的取食.上述实验结果表明:在小粒野生稻中,草酸的含量较多,从而抑制了褐稻虱的取食,造成褐稻虱生存率、蜜露分泌量和产卵量等下降,因而影响了褐稻虱正常的生长、发育和繁殖.本研究结果表明:叶鞘内的草酸也是小

粒野生稻对褐稻虱的重要抗性物质之一.

致谢:本试验中小粒野生稻及其杂交后代材料由广东省农科院水稻所黄巧云研究员提供.另外,在草酸含量的测定过程中,得到华南农业大学生物技术学院彭新湘教授的指导,谨此致谢!

#### 参考文献:

- [1] SOGAWK K, PATHAK M D. Mechanisms of brown planthopper resistance in Mudgo variety of rice [ J]. Appl Ent Zool, 1970, 5(3): 145—158.
- [2] 陈清泉. 水稻体内几种游离氨基酸与抗病虫关系的探讨[3]. 湖南农业科技, 1979, (3): 9—16.
- [3] 刘浩官.水稻叶鞘氨基酸、有机酸含量与稻飞虱抑食相关性分析 』].福建农业科技,1981,(6);11—12.
- [4] 张增全, 顾全炎. 褐稻虱饲料稻株中数种氨基酸的营养效应[1]. 昆虫学报, 1985, 28(1): 15-21.
- [5] 丁锦华, 都 健. 褐飞虱对游离氨基酸的利用[J]. 昆虫知识, 1990, 27(2): 65—67.
- [6] 曾 玲, 吴荣宗, 冯 成, 等. 水稻品种游离氨基酸含量与抗褐稻虱的关系[J]. 华南农业大学学报, 1992, 13 (4): 69—76.
- [7] 李国清,王荫长,韩召军. 南京 14号叶鞘内的抗性因子 及其对褐稻虱取食和存活的影响[J]. 南京农业大学学报,1995,19(1);42—47.
- [8] 彭忠魁, 唐明远, 罗泽民. 关于杂交水稻中 γ— 氨基丁酸等氨基酸含量与抗褐稻虱的相关性[J]. 湖南农学院学报, 1980. (3): 27—30.
- [9] YOSH IHARA T, SOGAWA K, PATHAK M D, et al. Soluble silicic acid as a sucking inhibitor substance in rice against the brow planthopper J. Ent Exp App. 1979, 26: 314—322.
- [ 10] BAKER C. The determination of oxalates in fresh plant material J. Analyst, 1954, 77: 340—344.
- [ 11] HEINRICHS E A, MEDRANOF G, RAPUSAS H R. Genetic evaluation for insect resistance in rice[ M] . Los Banos, Laguna. Philippines; IRRI, 1985. 124—126.
- [12] WU J T. Resistance of wild rice, *Oyza* spp to the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (stål)[J]. Environ Ento, 1986, 15(3): 648—653.
- [13] PAGUIA P, PATHAK M D, HEINRICH E A. Honeydew excretion measurement techniques for determining differential feeding of biotypes of *Nilaparvata lugens* (stal) on rice varieties J. J. Econ Ent, 1980, 73; 35—40.
- YOSHIHARA T, SOGAWA K, PATHAK M D, et al. Oxalic acid as a sucking inhibitor of the brown planthopper in rice
  J. Ent Exp Appl. 1980, 27: 149-155.

(下转第65页)

- [6] 陈 因,方大惟. 外源脯氨酸对受 NaCl 胁迫的蓝藻固氮活性的影响[J]. 植物生理学通讯, 1992, 28(4): 254—258.
- [7] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 第 2 版. 北京: 高等 教育出版社, 1990. 154—155, 259—260.
- [8] 邹 奇. 植物生理生化实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995, 97—99.
- [9] 陈 雄, 王宗灵, 任红旭, 等. 海拔高度对大车前叶和根中抗氧化系统的影响[J]. 植物学报, 1999, 41(8): 846—850.
- [10] 严重玲, 洪业汤, 付舜珍, 等. Cd、Pb 胁 迫对烟草叶片中活性氧清除系统的影响 J]. 生态学报, 1997, 17(5): 488—492.

# Effect of Seed Soaked with Proline on Seed Germination and Seedling Growing of Corn Under NaCl—Stress

LU Yuan-fang

(Dept. of Biology, Qufu Normal University, Qufu 273165, China)

**Abstract**: Under NaCl-stress, seeds soaked with proline enabled to increase the rate of gremination of com, the content of water and proline, and the activity of POD and SOD in corn seedling could be improved. The results showed that seed soaked with proline can promot seed germination and seedling growing of corn under NaCl-stress.

Key words: proline; corn; seed soaking; rate of germination; activity of enzyme

【责任编辑 柴 焰】

(上接第38页)

### Studies on the Resistance Materials of Oryza minuta to Nilapravata lugens (stål)

XIAO Han-xiang<sup>1</sup>, ZHANG Liang-you<sup>2</sup>

(1 Plant Protection Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Science, Guangzhou 510640, China; 2 College of Resource & Environmental Sciences, South China Agric. Univ. Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** The contents of free amino acid and oxalic acid in leaf sheath of different rice and the biological activity of oxalic acid to *Nilaparvata lugnes* (stål) were measured. The results showed that there were 21 kinds of free amino acid in the leaf sheath of rice. In *Oyza minuta*, the content of total amino acid and six main free amino acid such as Asp, Glu, Asn, Ser, Ala and Val were 4 057.9, 215.0, 308.3, 611.8, 571.2, 192.1 and 94.7  $\mu$ g/g respectively, and lower than those in the susceptible check variety TN1. In *Oryza minuta*, the content of oxalic acid was 3.80 mg/g, obviously higher than that in the susceptible check variety TN<sub>1</sub>.

**Key word:** Oryza minuta; Nilaparvata lugnes (stål); free amino acid; oxalic acid

【责任编辑 周志红】