

灌浆期水稻受褐飞虱侵害后赤霉素含量的变化^{*}

刘井兰^{**} 杨霞 吴进才^{***}

(扬州大学园艺与植物保护学院 扬州 225009)

摘 要 应用酶联免疫吸附法(ELISA)研究灌浆期水稻协优963、TN1受褐飞虱 *Nilaparvata lugens* (Stål) 若虫侵害后根、叶片赤霉素(gibberellin, GA)含量的变化,以探讨褐飞虱若虫侵害后灌浆期水稻耐虫性与植物体内源激素的关系。结果表明:虫口密度40头/株和80头/株120头/株侵害灌浆期水稻协优963后3 d根GA含量显著下降,40头/株和80头/株侵害后协优963后3 d根冠(叶片)比显著下降;40头/株侵害协优963后6 d根冠比显著下降。40头/株、80头/株和120头/株侵害灌浆期水稻TN1后3 d根GA含量显著下降;80头/株和120头/株侵害TN1后6 d根GA含量显著下降,120头/株侵害TN1后6 d根冠比显著下降。表明灌浆期水稻协优963、TN1受褐飞虱若虫侵害后基本变化趋势为根GA含量、GA含量根冠比下降(3 d、6 d),叶片GA含量变化规律不明显;耐、感虫水稻品种变化一致,变化幅度无明显差异。

关键词 水稻, 灌浆期, 褐飞虱, 赤霉素含量

Effects of *Nilaparvata lugens* infestation on gibberellin levels of rice at the grain-filling stage

LIU Jing-Lan^{**} YANG Xia WU Jin-Cai^{***}

(College of Horticulture and Plant Protection, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract To understand the relationship between tolerance and endogenous plant hormones in rice plants infested with *Nilaparvata lugens* (Stål) at the grain-filling stage, change in gibberellin (GA) in the roots and leaves of two representative rice varieties in response to *N. lugens* nymph infestation was studied using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The results indicate that GA content in the roots of the Xieyou 963 variety, and the ratio of GA contents in roots to that in leaves (R/L ratio), decreased significantly after 3 d, and the R/L ratio also decreased significantly after 6 d. The GA content of the roots of the TN1 variety also decreased significantly after 3 d and 6 d and the R/L ratio decreased after 6 d. These results show that the GA content of roots and the R/L ratio of both tolerant and susceptible rice varieties decreased at 3 d and 6 d after *N. lugens* infestation during the grain-filling stage. The GA content of leaves did not, however, change significantly. So the two rice varieties had the same change law, no significant difference.

Key words rice, grain-filling stage, *Nilaparvata lugens*, gibberellin contents

生长素(indole-3-acetic acid, IAA)、细胞分裂素(cytokinin, kinetin)、赤霉素(gibberellin, GA)、脱落酸(abscisic acid, ABA)和乙烯(ethylene, ET)被公认为植物的五大类激素,在植物的生长发育和产量形成中起重要的调节作用(Doerffling, 1977),其中GA是一种重要的促进型激素,植物体内的含量虽不高,但分布于所有的组织和器官,

可以起到促进植物的营养生长,提高结实率和增加粒重等(Thomas and Sun, 2004),对延缓水稻生育后期叶片衰老和提高水稻产量具有重要作用(聂军等, 2006)。

褐飞虱 *Nilaparvata lugens* (Stål) 是长江流域水稻生长中后期的主要害虫之一,抗、耐虫水稻品种是褐飞虱综合治理的重要策略。抗性机制包括

^{*} 资助项目: 国家自然科学基金(31101450)、扬州大学科技创新基金(2007CXJ017)。

^{**}E-mail: liujl@yzu.edu.cn

^{***}通讯作者, E-mail: jc.wu@public.yz.js.cn

收稿日期:2011-09-22,接受日期:2011-10-20

物理抗性及相关生物物质含量如黄酮类、草酸等(Salim and Saxena, 1991; Zhang *et al.*, 1999)。植物耐虫性机制的研究现已涉及到植物激素的研究,褐飞虱侵害灌浆期水稻后,耐虫品种协优 963 叶片 ABA 含量先上升后下降,感虫品种 TN1 叶片 ABA 含量持续上升,两水稻品种 ABA 含量根冠比先下降后上升,根 ABA 含量变化规律不明显(刘井兰等, 2010b)。褐飞虱侵害灌浆期水稻对细胞分裂素之一的玉米素核苷(zeatin riboside, ZR)的影响与 ABA 不同,水稻根、叶片 ZR 含量下降,根下降较叶片明显(刘井兰等, 2006)。而对于褐飞虱若虫侵害对水稻 GA 含量的影响也有报道,分蘖期,耐、感虫水稻品种受褐飞虱若虫侵害后 GA 含量的变化与 ABA 和 ZR 含量的变化不同,根、叶片 GA 含量先上升后下降,耐虫品种变化幅度较感虫品种明显,持续期较感虫品种短,根冠比变化无明显规律(刘井兰等, 2010a),耐、感虫水稻品种内源激素在褐飞虱侵害后变化规律的不同可能是耐虫品种耐褐飞虱的生理生化机制之一。灌浆期,是水稻产量和品质形成的关键时期,GA 含量的高低直接影响到水稻的产量,本研究灌浆期耐、感虫水稻受褐飞虱若虫侵害后根与叶片 GA 含量的变化,对理解灌浆期水稻的冒穿与褐飞虱的综合治理具有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 供试水稻

以协优 963(中抗,耐虫)、TN1(感虫)作为供试水稻品种。挑选饱满水稻种子,清水浸种 12 h 后用次氯酸钠消毒 20 min,再用清水冲洗干净,放于 35 ℃ 阴处催芽,露出胚根后播于筛子筛过的细土中,将水稻单株移栽至土壤来源一致的小桶中,保证每桶的水稻生长营养条件一致,让其生长至灌浆期。整个实验过程中均在自然气候条件下生长,用 60 目网罩罩住以防虫害危害。每株水稻取 1 主茎 2 分蘖作为灌浆期 GA 含量测试所用的供试材料。

1.2 供试虫源

实验中所用褐飞虱来自于中国水稻研究所(杭州)。接虫试验前,褐飞虱在扬州大学养虫圃中繁殖 2 个世代。

1.3 实验方法

1.3.1 接虫安排 接虫处理为 40 头、80 头、120 头 3 龄褐飞虱/株,接虫后 24 h,检查一次每个处理飞虱数量,如有死亡,补足至所设计的密度,对照不接虫。

1.3.2 采样 接虫后 3 d 和 6 d 各取样一次;所有处理取样部位均为水稻倒 1 至倒 3 叶片和根。采样量为 0.4500 ~ 0.4505 g,样品称重后迅速液氮冷冻,放于低温冰箱中保存,等待样品处理。对照与接虫的每个处理只采样 1 次,4 次重复。

1.3.3 GA 含量测定 GA 试剂盒由北京北农为天生物技术有限公司提供。按试剂盒说明书对样品进行研磨、提取、冷冻离心、C₁₈ 过滤等处理后,进行 ELISA 反应测定,方法参见刘井兰等(2010a)方法。

1.4 数据分析

数据统计分析采用 DPS 软件系统提供的软件包(唐启义和冯明光, 2002),各品种各数据未经数据转换。采用三因素方差分析,分析水稻品种、器官(根、叶片)、褐飞虱密度对灌浆期水稻 GA 含量的影响;多重比较均采用 Duncan 氏新复极差法。

2 结果与分析

2.1 灌浆期两水稻品种受褐飞虱若虫侵害后根、叶片(冠)GA 含量的变化

灌浆期,褐飞虱若虫侵害后 3 d,水稻品种(A)、器官(B)、密度(C)对水稻 GA 含量的影响存在显著差异($F = 59.02, df = 1, 32, P < 0.0001$; $F = 958.26, df = 1, 32, P < 0.0001$; $F = 14.18, df = 3, 32, P < 0.0001$);品种 × 器官、品种 × 密度、器官 × 密度、品种 × 器官 × 密度均有显著交互作用($F = 11.80, df = 1, 32, P = 0.0017$; $F = 5.22, df = 3, 32, P = 0.0048$; $F = 12.35, df = 3, 32, P < 0.0001$; $F = 12.55, df = 3, 32, P < 0.0001$) (表 1, 图 1)。褐飞虱若虫侵害后 6 d,器官对 GA 含量的影响存在显著差异($F = 259.56, df = 1, 32, P < 0.0001$);品种 × 器官、品种 × 密度、器官 × 密度、品种 × 器官 × 密度均有显著交互作用($F = 13.54, df = 1, 32, P = 0.0009$; $F = 13.58, df = 3, 32, P < 0.0001$; $F = 4.07, df = 3, 32, P = 0.0148$; $F = 11.61, df = 3, 32, P < 0.0001$);品种间、密度间无显著差异($F = 0.01$,

$df = 1, 32, P = 0.9167; F = 0.99, df = 3, 32, P = 0.4120$) (表 1, 图 1)。

表 1 灌浆期水稻受褐飞虱若虫侵害后 GA 含量变化的方差分析

Table 1 Analysis of variance for GA contents in rice after *Nilaparvata lugens* nymph infestation

变异来源 Variance source	褐飞虱侵害后天数 Days after infestation (d)			
	3		6	
	F 值 F value	P 值 P value	F 值 F value	P 值 P value
A	59.02	$P < 0.0001$	0.01	0.9167
B	958.26	$P < 0.0001$	259.56	$P < 0.0001$
C	14.18	$P < 0.0001$	0.99	0.4120
A × B	11.80	0.0017	13.54	0.0009
A × C	5.22	0.0048	13.58	$P < 0.0001$
B × C	12.35	$P < 0.0001$	4.07	0.0148
A × B × C	12.55	$P < 0.0001$	11.61	$P < 0.0001$

A: 水稻品种 rice variety; B: 水稻器官 rice organ; C: 接虫密度 *Nilaparvata lugens* nymph density.

表 2 灌浆期水稻受褐飞虱若虫侵害后 GA 含量变化百分比

Table 2 Percentages of increase or decrease of GA contents in rice after *Nilaparvata lugens* nymph infestation at the grain-filling stage

水稻品种 Rice variety	褐飞虱侵害 后天数 Days after infestation (d)	褐飞虱密度(头/株) <i>Nilaparvata lugens</i> density (nymphs/plant)	GA 含量变化百分比(%) Percentages of increase or decrease of GA contents		
			根 Root	叶 Leaf	根冠比 R/L ratio
协优 963 Xieyou 963	3	40	-21.64*	9.44*	-28.67*
		80	-22.06*	21.19*	-35.85*
		120	-17.50*	-10.73*	-7.91
	6	40	-7.33	15.68*	-26.17*
		80	4.90	3.99	-2.54
		120	19.30*	8.93	13.38*
TN1	3	40	-22.13*	-9.54	-13.14
		80	-18.80*	-5.83	-13.73
		120	-28.00*	-4.96	-24.37
	6	40	-4.80	0.84	-5.31
		80	-15.21*	-0.90	-14.17
		120	-31.63*	-5.29	-27.56*

注:* 表示在同一品种、同一器官和相同侵害时间与对照相比差异显著。

“*” shows that there are significant difference between the GA contents of the same organ at the same rice variety for the same time of *N. lugens* infestation within the same column and the control.

2.2 GA 含量变化趋势分析

多重比较后发现,耐虫水稻品种协优 963 体内 GA 含量较 TN1 高,叶片 GA 含量也明显高于根;褐飞虱侵害后水稻体内 GA 含量的变化主要取决于水稻品种、器官(根、叶)和褐飞虱密度(图 1)。虫口密度 40 头/株、80 头/株和 120 头/株侵

害协优 963 后 3 d 根 GA 含量显著下降了 21.64%、22.06% 和 17.50%,40 头/株、80 头/株侵害后水稻 GA 含量根冠比显著下降了 28.67% 和 35.85%;40 头/株侵害后 6 d 水稻 GA 含量根冠比显著下降了 26.17% (表 2)。40 头/株、80 头/株和 120 头/株侵害 TN1 后 3 d 根 GA 含量显

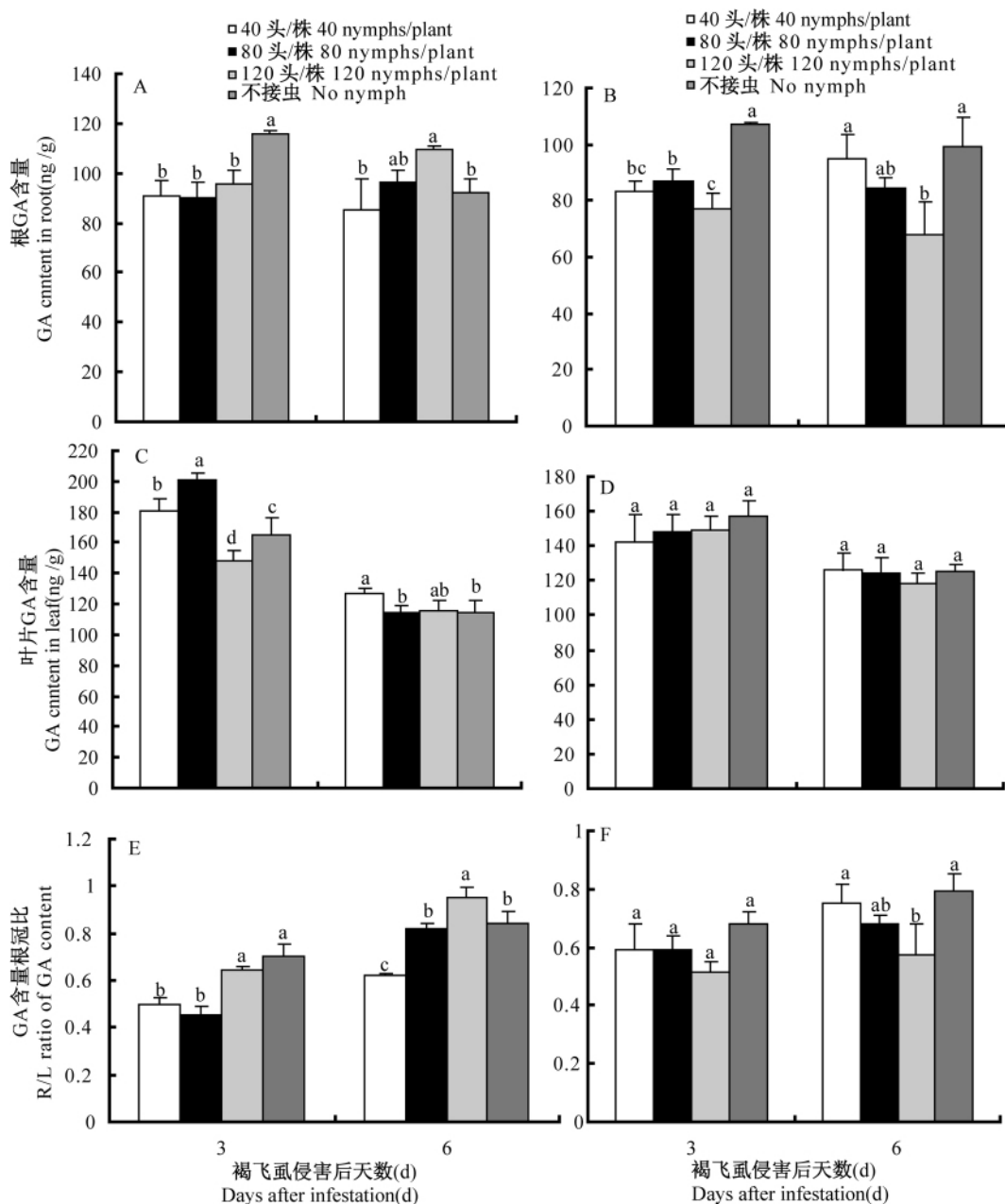


图1 灌浆期水稻协优 963 (A, C, E) 和 TN1 (B, D, F) 受褐飞虱若虫侵害后根及叶片 GA 含量、GA 含量根冠比变化

Fig.1 Effects of *Nilaparvata lugens* nymph infestation on GA contents in roots and leaves, and R/L ratio for Xieyou 963 (A, C, E) and TN1 (B, D, F) at the grain-filling stage

数据为平均值 $\pm$ 标准差, 柱子上不同小写字母表示同一品种、同一侵害时间、同一器官内差异显著 ($P < 0.05$, t test)。

The values are mean $\pm$ SD. For the same time of *N. lugens* infestation, at the same organ of the same rice variety, histograms with different letters indicate significantly different at 0.05 level (t test).

著下降了 22.13%、18.80% 和 28.00% ; GA 含量根冠比与对照相比下降但并不明显; 80 头/株、120 头/株侵害后 6 d 根 GA 含量显著下降了 15.21%

和 31.63% ; 120 头/株侵害后水稻 GA 含量根冠比显著下降了 81.60% (表 2)。可见, 灌浆期水稻协优 963、TN1 受褐飞虱若虫侵害后基本变化趋势为

根 GA 含量、GA 含量根冠比下降(协优 963 虫口密度在 120 头/株侵害后上升除外),叶片 GA 含量变化规律不明显,耐、感虫水稻品种变化幅度无明显差异。

3 讨论

外界环境胁迫下,植物体内源 GA 含量会产生一定的变化,但目前大多为非生物胁迫对植物 GA 的影响。盐胁迫后,甜菜植株总 GA 含量下降(Kim *et al.*, 2009);水分胁迫后,中华芦荟叶片和根系 GA 含量降低,且越干旱,GA 的含量越低(兰小中等, 2006);高温胁迫后,拟南芥体内 GA 含量下降,植株生长受阻(Stavang *et al.*, 2009)。GA 在植物根、叶片中均可合成,研究生物-褐飞虱胁迫后水稻 GA 含量的变化对于褐飞虱综合治理具有重要的意义。灌浆期,GA 与 ABA 对水稻籽粒充实起调控作用(杨建昌等, 1999),所以研究灌浆期水稻受褐飞虱若虫侵害后 GA 含量的变化较其它生育期意义更加重大。有研究表明,GA 可以作为自由基清除剂,通过影响超氧化物歧化酶(superoxide dimutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)等酶的活性而延缓衰老(周相娟等, 2003)。本实验研究表明,灌浆期水稻受褐飞虱若虫侵害后 3 d 根 GA 含量显著下降,叶片变化规律不明显,褐飞虱若虫侵害抑制了水稻根 GA 合成,也有可能相对利于 GA 向地上部分如叶片或籽粒的输送,根 GA 含量下降使其对氧自由基清除和提高 SOD 等膜保护酶活性的作用受到干扰;褐飞虱若虫侵害后 6 d,两水稻品种根 GA 含量及根冠比继续下降,表明随褐飞虱若虫侵害时间的延长,水稻根系生物膜的过氧化作用更加明显,根系吸收功能受到影响,可能最终对水稻籽粒充实产生影响。

与分蘖期水稻体内源 GA 含量变化比较(刘井兰等, 2010a),灌浆期水稻根、叶片 GA 含量较分蘖期低,这可能是因为灌浆期水稻籽粒中 GA 需求量多,植株 GA 量供籽粒相对较多,保证水稻籽粒正常充实;水稻灌浆期较分蘖期敏感,灌浆期在褐飞虱若虫侵害后 3 d 水稻根 GA 含量迅速下降,而分蘖期在褐飞虱若虫侵害后 6 d 根 GA 含量才下降。水稻灌浆期,高密度 120 头/株褐飞虱若虫侵害耐虫水稻品种协优 963 后 6 d,根 GA 含量显著上升,叶片 GA 含量未有明显变化,GA 含量根冠

比显著上升,这可能是因为高密度的褐飞虱若虫侵害后,水稻根系暂时积累较高的 GA,以产生保护性措施,保证根系吸收营养物质,但由于研究的时间段只有 6 d,6 d 后根 GA 含量的变化未知,我们推测 6 d 后水稻根 GA 含量将会大幅度下降。灌浆期 2 种水稻 GA 含量变化比较,差异并不大,而分蘖期耐虫品种超级矮培矮 64S/E32 变化幅度较感虫品种 TN1 明显,持续期较感虫品种短。

植物激素在植物生长发育和作物产量形成中起十分重要的调控作用(Yoshida *et al.*, 1970; Yang *et al.*, 2000, 2002; 董学会等, 2001; 杨建昌等, 2001)。在近 50 年的时间里,植物激素及其调控作用一直都是植物生理学研究的热点和重要内容。本研究探讨了灌浆期不同水稻品种在褐飞虱若虫侵害后根、叶内源 GA 含量变化的不同,但在如何改变不同水稻品种的抗虫性方面未做研究,在生产上可以进行外源激素处理改变水稻品种耐虫性及进行激素间(GA、ZR 和 ABA)的相互作用研究,另外籽粒 GA 含量在褐飞虱若虫侵害后的变化也是以后研究的重点。

参考文献(References)

- Doerffling K, 1977. Storage processes: the role of hormones. *Z. Pflanzenernaehr Bodenkd*, 140(1): 3—14.
- Kim SK, Sohn EY, Joo GJ, Liu IJ, 2009. Influence of jasmonic acid on endogenous gibberellin and abscisic acid in salt-stressed chard plant. *J. Environ. Biol.*, 30(3): 333—338.
- Salim M, Saxena RE, 1991. Nutritional stresses and varietal resistance in rice: effects on whitebacked planthopper. *Crop Sci.*, 31(3): 797—805.
- Stavang JA, Gallego-Bartolome J, Gomez MD, Yoshida S, Asami T, Olsen JE, Garcia-Martinez JL, Alabadi D, Blazquez MA, 2009. Hormonal regulation of temperature-induced growth in Arabidopsis. *Plant J.*, 60(4): 589—601.
- Thomas SG, Sun TP, 2004. Update on gibberellin signaling. A tale of the tall and the short. *Plant Physiol.*, 135(2): 668—676.
- Yang JC, Peng SB, Visperas RM, Visperas RM, Zhu QS, 2000. Grain filling pattern and cytokinin concentration in the grains and roots of rice plants. *Planth Growth Regulation*, 30(3): 261—270.
- Yang JC, Zhang JH, Wang ZQ, Zhu QS, Liu LJ, 2002.

- Abscisic acid and cytokinins in the root exudates and leaves and their relationship to senescence and remobilization of carbon reserves in rice subjected to water stress during grain filling. *Planta*, 215 (4) :645—652.
- Yoshida R, Oritani T, Nishi A, 1970. Studies on nitrogen metabolism in crop plants VIII. Occurrence of kinetin-like factor in root exudates of rice plants. *Proc. Crop Sci. Soc. Jpn.*, 39 (3) :363—369.
- Zhang G, Zhang WQ, Lian B, Gu L, Zhou Q, Liu TX, 1999. Insecticidal effects of extracts from two rice varieties to brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *J. Chem. Ecol.*, 25 (8) :1843—1853.
- 董学会, 何钟佩, 关彩虹, 2001. 根系导入生长素和玉米素对玉米光合产物输出及分配的影响. 中国农业大学学报, 6 (3) :21—25.
- 兰小中, 阳义健, 陈敏, 廖志华, 张明生, 2006. 水分胁迫下中华芦荟内源激素变化的研究. 种子, 25 (8) :1—3.
- 刘井兰, 仇正华, 吴进才, 王鹏, 于建飞, 王芳, 2006. 褐飞虱胁迫下两种水稻不同生育期玉米素核苷含量动态. 昆虫学报, 49 (1) :86—92.
- 刘井兰, 吴进才, 杨霞, 于建飞, 2010a. 褐飞虱侵害对不同水稻品种根及叶片赤霉素含量的影响. 植物保护学报, 37 (4) :353—358.
- 刘井兰, 吴进才, 于建飞, 杨国庆, 2010 b. 褐飞虱侵害后不同水稻品种根及叶片脱落酸含量的变化. 昆虫学报, 53 (5) :531—539.
- 聂军, 郑圣先, 廖育林, 戴平安, 易国英, 2006. 控释氮肥对水稻叶片内源激素含量及平衡的影响. 湖南农业大学学报 (自然科学版), 32 (1) :15—19.
- 唐启义, 冯明光, 2002. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统. 北京:科学出版社. 65—70.
- 杨建昌, 彭少兵, 顾世梁, Visperas RM, 朱庆森, 2001. 水稻结实期籽粒和根系中玉米素与玉米素核苷含量的变化及其与籽粒充实的关系. 作物学报, 27 (1) :35—42.
- 杨建昌, 王志琴, 朱庆森, 苏宝林, 1999. ABA 与 GA 对水稻籽粒灌浆的调控. 作物学报, 25 (3) :341—348.
- 周相娟, 姜微波, 胡小松, 周立刚, 2003. 赤霉素和乙烯对香菜叶片衰老的影响. 北方园艺, 3 (3) :54—56.