几种水稻对褐飞虱的抗性鉴定及抗性相关次生物质分析*

李明阳[1, 2**] 姚宇波[1, 2] 徐 翔[3] 贡常委[1, 2]
杨旭东[4] 杨德斌[5] 王学贵[1, 2***]

（1. 四川农业大学国家级作物科学试验教学示范中心，成都 611130；2. 四川农业大学无公害农药研究实验室，成都 611130；
3. 四川省农业农村厅植物保护站 成都 610041；4. 邛崃市农业农村局，邛崃 611530；
5. 崇州市农业技术推广服务中心植物保护与植物检疫站，崇州 611230）

摘 要 **【目的】** 了解次生物质对褐飞虱的抗性机理，筛选高抗性的水稻种质资源，为水稻抗褐飞虱品种的选育及后续推广应用提供理论依据。**【方法】** 采用标准苗期集团筛选法（SSST 法）评价了 9 份水稻种质资源对褐飞虱的抗性水平，测定了不同抗性水平材料叶片中黄酮、总酚和草酸等次生物质的含量，利用气相色谱/质谱（GC/MS）分析了高抗、中抗和敏感品种水稻幼苗叶片化学成分。**【结果】** 岳恢 9113（*Bph15*）为高抗，抗性分数（AS）<60%；岳恢 9113（*Bph14*）、R715、岳恢 9113（*Bph14*+*Bph15*）、蜀恢 527（*Bph6*）为中抗，抗性分数值介于 61%-80%之间，TN1、F638、F669、F660 表现为敏感，抗性分数值>80%。岳恢 9113 中的黄酮含量为 10.13 μg/mL，总酚含量为 74.63 μg/mL，草酸含量为 24.35 μg/mL，均高于敏感材料 TN1。高抗水稻品种岳恢 9113 中的 3-壬醇,1,2,6,7-二聚氧基-3,7-二甲基-乙酸盐、2,4-二甲基苯甲醛、2-甲氧基-4-乙烯基苯酚、2-氧戊二酸、2-正丙基苯酚含量高于中抗 R715 和敏感 TN1 两个水稻品种。**【结论】** 次生物质黄酮、总酚和草酸含量与水稻抗性呈显著正相关，3-壬醇,1,2,6,7-二聚氧基-3,7-二甲基-乙酸盐、2,4-二甲基苯甲醛、2-甲氧基-4-乙烯基苯酚这些物质可能与抗褐飞虱有一定相关性。

关键词 水稻；褐飞虱；抗虫性；次生物质；GC/MS

Relative resistance of several rice varieties to *Nilaparvata lugens* (Stål) and analysis of resistance-related secondary substances

LI Ming-Yang[1, 2**] YAO Yu-Bo[1, 2] XU Xiang[3] GONG Chang-Wei[1, 2]
YANG Xu-Dong[4] YANG De-Bin[5] WANG Xue-Gui[1, 2***]

(1. National Demonstration Center for Experimental Crop Science Education, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130;
2. Biorational Pesticide Research Laboratory, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China;
3. Plant Protection Station, Sichuan Provincial Department of Agriculture and Rural Affairs, Chengdu 610041, China;
4. Agricultural and Rural Burea Sichuan of Qionglai City, Qionglai 611530, China; 5. Agency of Protection and Quarantine, Agriculture Technology and Popularization Center of Chongzhou City, Chongzhou 611230, China)

Abstract **[Objectives]** To investigate the mechanism underlying the resistance of rice to *Nilaparvata lugens* (Stål), identify resistant rice varieties and provide a theoretical basis for the breeding and propagation of rice varieties resistant to *N. lugens*. **[Methods]** The resistance levels of nine rice varieties to *N. lugens* were evaluated with the Standard Seedbox Screening Technique. Secondary substances in rice leaves with different levels of resistance, including flavonoids, total phenols and oxalic acid, were detected and chemical constituents of rice leaves analyzed by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). **[Results]** Yuehui 9113 (*Bph15*) was highly resistant with a resistance score (AS) of less than 60%, whereas

*资助项目 Supported projects：国家重点研发计划项目（2018YFD0200300）
**第一作者 First author，E-mail：263668301@qq.com
***通讯作者 Corresponding author，E-mail：wangxuegui@sicau.edu.cn
收稿日期 Received：2019-09-17；接受日期 Accepted：2020-02-13

Yuehui 9113 (*Bph14*), R715, Yuehui 9113 (*Bph14* + *Bph15*) and Shuhui 527 (*Bph6*) were moderately resistant, with resistance scores ranging from 61% to 80%. TN1, F638, F669, F660 were susceptible to *N. lugens*, with resistance scores greater than 80%. The flavonoid and total phenol content of Yuehui 9113 were 10.13 g/mL and 74.63 g/mL, respectively, and the oxalic acid content (24.35 g/mL) was higher than the sensitive strain TN1 (15.93 g/mL). The contents of 3-Nonanol,1,2,6,7-diepoxy-3,7-dimethyl-,acetate, Benzaldehyde, 2,4-dimethyl-, 2-Methoxy-4- vinylphenol, 2-Oxopentanedioic acid and Phenol, 2-propyl- in the high resistant strain of Yuehui 9113 were higher than in the two sensitive strains R715 and TN1. **[Conclusion]** The flavonoid, total phenol and oxalic acid content of rice varieties were positively correlated with resistance to *N. lugens*. In addition, 3-Nonanol, 1,2,6,7-diepoxy-3,7-dimethyl-, acetate, Benzaldehyde, 2,4-dimethyl- and 2-Methoxy-4-vinylphenol content may also be correlated with resistance to this pest.

Key words rice; *Nilaparvata lugens*; insect resistance; secondary substances; GC/MS

褐飞虱 *Nilaparvata lugens* (Stål)是水稻上的一种迁飞性害虫，极易暴发成灾(凌炎等，2011)，成虫、若虫群集于稻株基部刺吸茎叶组织汁液，使谷粒不饱满，千粒重减轻（邓飞等，2011），能在水稻的各个生长期造成不同程度的经济损失（姜辉等，2005）。长期以来，对该害虫的防治主要以化学防治为主（张凯等，2013）。由于大量化学药剂的使用，导致害虫抗药性上升、有害物质残留、害虫再猖獗及环境污染等问题日益凸显，因此人们意识到单靠化学防治不能从根本上解决稻飞虱危害问题（张小磊等，2016）。而抗虫品种的利用已逐渐成为防治褐飞虱的一种最经济、安全、有效的措施（商科科等，2011）。不同抗性品种在不同生育期往往表现出不同的抗褐飞虱水平，如于文娟等（2016）对西南和长江流域生产的水稻抗褐飞虱品种进行了研究筛选，发现皖稻 51、湘丰优 103、糯优 1 号在苗期对褐飞虱有较强抗性，而湘丰优 103、西农优 10 号、K 优 404、H 优 518、威优 156、川谷优 204、糯稻 N-2 在水稻分蘖期和灌浆期表现为耐褐飞虱；其中，湘丰优 103 在苗期、分蘖期和灌浆期均表现出了良好的抗褐飞虱能力，这一研究结果对该品种在生产上有效防控褐飞虱，并广泛应用提供了有力证明。

水稻抗褐飞虱与水稻品种产生的挥发性次生物质有着重要关联。余娇娇等（2011）用嗅觉仪测定褐飞虱对抗性品种 Rathu Heenati、IR64、Nabeshi 和感虫品种 TN1 稻株中挥发性次生物质的趋性，结果表明化合物苯甲醇和已烯醛对褐飞虱有明显的吸引作用，β-紫罗兰酮和已烯醛对褐飞虱具有明显的驱避作用。李玲玲等（2014）通过包裹抗褐飞虱品种 Rathu Heenati 和感虫对照 TN1，人为掩盖挥发性次生物质后，发现褐飞虱明显趋向没有包裹的稻株，在有包裹的抗、感稻株上的褐飞虱数量基本相同，这表明水稻品系中可能存在一些影响褐飞虱发育繁殖的生理生化因子。李毅等（2018）探讨了水稻与褐飞虱间的化学关系，认为麦黄酮能显著增加褐飞虱无刺探和路径探索阶段的持续时间，并强烈抑制褐飞虱的取食活动，这表明水稻韧皮部的相关化学特性影响了水稻对褐飞虱的抗性。

为更深入的理解水稻次生物质对褐飞虱的抗虫性机理，本研究利用标准苗期集团筛选法（SSST 法）对四川农业大学水稻研究所提供的优良水稻种质资源进行筛选鉴定，筛选出高抗性的材料；对具有抗感差异的水稻品种进行褐飞虱抗生性测定；通过 GC/MS 分析抗感差异水稻的化学成分，探究其本身性质与抗性之间的相关性，研究水稻品种对褐飞虱的抗性机制，为仿生农药的研制、抗性遗传及育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试水稻 选用四川农业大学水稻研究所提供的 9 个水稻品种，TN1、F638、F669、F660、岳恢 9113（*Bph14*+*Bph15*）、R715、蜀恢 527（*Bph6*）、岳恢 9113(*Bph14*)、岳恢 9113(*Bph15*)。

1.1.2 供试虫源 褐飞虱敏感体系由华中农业大学提供的，在室内用养虫笼以常规敏感水稻品

种 TN1 连续饲养，饲养条件为温度（26±1）℃，相对湿度为 70%-80%，光周期为 14L：10 D 。试验所需的褐飞虱为 1-2 龄若虫，试验过程中未接触过任何农药。

1.1.3　主要设备和仪器　三重四级杆气质联用仪 GC-MS-TQ8040（岛津）；烘箱 DHG-9023A（上海三发科学仪器有限公司）；UV-3000 紫外可见分光光度计（上海美谱达仪器有限公司）；D37520 离心机（美国科峻仪器公司）；RXZ 型智能人工气候箱（宁波江南仪器厂）。

1.2　试验方法

1.2.1　水稻抗性等级筛选　采用标准苗期群体集团筛选法对每个水稻品种进行苗期抗虫性鉴定（刘光杰等，2002）。为确保各品种生长情况一致，所有供试水稻种子在相同条件下浸种催芽，并分别播种于装有营养液（91.6 g/L 的 NH_4NO_3、88.6 g/L 的 $CaCl_2$、40.3 g/L 的 NaH_2PO_4、71.4 g/L 的 K_2SO_4、324 g/L 的 $MgSO_4·7H_2O$、1.5 g/L 的 $MnCl_2·4H_2O$、0.074 g/L 的 $(NH_4)_6Mo_2O_{24}·4H_2O$、0.934 g/L 的 H_3BO_3、0.035 g/L 的 $ZnSO_4·7H_2O$、0.031 g/L 的 $CuSO_4·5H_2O$、7.7 g/L 的 $FeCl_3·6H_2O$、11.9 g/L 的柠檬酸-水合物）的圆形塑料杯中（直径 5.5 cm、高 11.0 cm），每品种播 10 粒发芽种子，以敏感品种 TN1 为对照。待苗长到两叶一心时，按 8-10 头/苗的比例接入 1-2 龄若虫。当感虫品种 TN1 全部枯死时，参照国际水稻研究所（IRRI）制定抗性鉴定标准的方法（表 1），对每个地方水稻品种进行分级，以 0、1、3、5、7 和 9 级记载评分。

表 1　水稻抗褐飞虱鉴定评价标准

Table 1　Identification and evaluation criteria of rice resistance to brown planthopper

危害症状 Harmful symptoms	死苗率 (%) Seedling mortality	抗性级别 Resistance level	抗性水平 Resistance grade
未受害 Unharmed	0	0	免疫 I
第一片叶发黄 The first leaf become yellow	<10	1	高抗 HR
第一、二片叶部分发黄 The first and second leaves are partially yellow	11-30	3	抗 R
叶片明显发黄，部分苗矮化或枯死 Leaves obviously yellow, some seedlings dwarf or dead	31-50	5	中抗 MR
大部分苗严重矮化或枯死 Most seedlings serious dwarf or dead	51-70	7	中感 MS
全部苗枯死 All seedlings dead	>70	9	感 S

1.2.2　水稻品种对褐飞虱的死亡率测定　将生长 1 周的水稻幼苗分别接入 4 cm×20 cm 的玻璃试管中（单管单苗），置于温度控制在（28±1）℃ RXZ 型智能人工气候箱中。每个试管接入 2 龄的褐飞虱若虫 5 头，接虫 6 h 后开始观察统计若虫的死亡数，每天同一时间统计，连续观察 4 d。每个品种 9 株水稻幼苗，试验重复 3 次（Sebastin *et al.*，1996）。

抗生性分数（AS）计算公式：

$$AS = [(A_1\times1)+(A_2\times2)+\cdots+(A_n\times n)]\times100/(1+2+\cdots+n)$$

n：接虫后的天数，A_n：第 n 天褐飞虱若虫存活率。

根据抗虫性分数（AS）判断抗性水平，AS 在 0-60%为高抗品种，61%-80%为中抗品种，81%-100%为感虫品种，AS 值越小，其抗生性越强，反之则弱。

1.3　水稻次生物质含量的测定

基于褐飞虱若虫在 9 种水稻品种上的存活率及抗生性反应测定结果，从高抗、中抗、感虫品种中各选择一种最具代表性的品种种子，用 3%的双氧水处理，室温清水浸种 24 h 之后，在人工恒温培养箱内 30 ℃催芽，将催芽后的待测

水稻种子与感虫对照品种 TN1 播到塑料杯中，培育至 3 叶期时，剪取水稻的叶片，采用新鲜叶片测定黄酮、总酚和草酸的含量。

1.3.1 黄酮含量的测定 水稻样品制备：本试验采用乙醇浸提法制备待测样品（蔡文国，2011）。称取 2 g 水稻叶片粉末，加入 40 mL 40%乙醇于 40 ℃水浴锅中提取 45 min，期间超声波辅助作用 15 min （20 kHz），然后 7 000 r/min 离心 5 min，取上清液为待测样品。

芦丁标准曲线制作：称取芦丁标准品（四川省维克奇生物科技有限公司）0.109 1 g 于 100 mL 容量瓶中，用 60%乙醇溶解并定容至刻度，摇匀，然后吸取 10 mL 于 50 mL 容量瓶中，用 30%乙醇定容至刻度摇匀备用。准确吸取上述母液 1、2、3、4、5 和 6 mL 分别置于 25 mL 容量瓶中，用 30%乙醇溶液补充至 10 mL，依次加入 1 mL 5% $NaNO_2$ 溶液，反应 60 min，加入 1 mL 10% $Al(NO_3)_3$ 溶液，反应 6 min，加入 10 mL 1 mol·L^{-1} NaOH 溶液，用蒸馏水定容至刻度线（静置 15 min）。以不加样品为参比溶液，用 UV-3000 紫外可见分光光度计在波长 510 nm 处测定吸光度。

水稻试样黄酮含量测定：取水稻待测样品 1 mL 于 25 mL 容量瓶中，用 30%乙醇溶液补充至 12.5 mL，依次加入 0.7 mL $NaNO_2$，反应 5 min，0.7 mL 10% $Al(NO_3)_3$，反应 6 min，5 mL 1 mol·L^{-1} NaOH 溶液，用 30%乙醇定容至刻度线，静置 10 min 后在波长 510 nm 处测定吸光度。以空白试剂为参比溶液。

1.3.2 总酚含量的测定 水稻试样制备：与 1.3.1 试样配制相同。

没食子酸标准曲线的制作：参考蔡文国等（2010）的方法，称取没食子酸标准品（四川省维克奇生物科技有限公司）44.3 mg，用蒸馏水溶解并定容至 100 mL。以此溶液配成浓度为 8.86、17.72、35.44、70.88、88.60 μg/mL 的溶液。分别取上述不同浓度溶液 2.5 mL 到 25 mL 容量瓶中，然后依次加入 2.5 mL 去离子水，1.25 mL 已稀释 2 倍的 Folin-Ciocalteu 试剂，26.7% Na_2CO_3 溶液，最后用蒸馏水定容至 25 mL，室温下反应 2 h，在 760 nm 下测定其吸光度，并制作标准曲线。

水稻试样测定：取 2.5 mL 样品液于 25 mL 容量瓶中，依次加入 2.5 mL 蒸馏水、1.25 mL Folin-Ciocalteu 试剂、3.75 mL 26.7% Na_2CO_3 溶液，然后用蒸馏水定容至 25 mL，室温下反应 2 h，在 760 nm 下测定其吸光度。测得的吸光度代入标准曲线，求得水稻样品中总酚的含量。

1.3.3 草酸含量的测定 草酸含量的测定，参照段立珍等（2007）的方法。

样品制备：称取待测水稻样品 0.5 g，加入 10 mL KCl-HCl 缓冲液（pH 2.0），石英砂研磨 2-3 min 后用 10 mL 蒸馏水洗入 25 mL 容量瓶中，于 75-80 ℃水浴锅中加热 30 min，其间需取出并震荡数次，然后用蒸馏水定容至刻度线并摇匀过滤，滤液即为草酸待测液。

标准曲线制作：试管中依次加入 2 mL 0.5 g/L $FeCl_3$ 溶液，20 mL 盐酸氯化钾缓冲液（pH 2.0），1.2 mL 0.5%磺基水杨酸，2 g/L $Na_2C_2O_4$ 标准溶液 0、0.1、0.2、0.4 和 0.8 mL 分别加入 25 mL 容量瓶中，蒸馏水定容至刻度线。显色 30 min 后用 UV-3000 紫外可见分光光度计在 510 nm 波长处进行比色测定，以蒸馏水作参比液。

水稻样品测定：用草酸待测液代替草酸钠标准液，其余与标准曲线制作方法相同。

1.4 水稻叶片物质提取与 GC/MS 处理

基于褐飞虱若虫在 9 种水稻品种上的抗生性反应测定结果，从高抗、中抗、感虫品种中各选择一种最具代表性水稻品种做试验。取 100 mg 的水稻样品粉末，用 1.4 mL 甲醇（预冷至 - 20 ℃）提取后，在 11 000 g 下离心 10 min。将上清液转移至 2 mL 离心管中，加入 0.75 mL 氯仿（ - 20 ℃）充分混合，然后再加入 1.4 mL 预冷双蒸馏水（ - 20 ℃）充分振荡 10 s，2 200 g 离心 10 min。将上清液转移到 1.5 mL 离心管中，在 10 000 g 下离心 5 min。取 10 μL 上清液用于 GC/MS 检测（Peng *et al.*，2016）。

分析仪器：GC-MS-TQ8040，RTX-5MS 毛细管柱（30 m×0.25 mm×0.25 μm）。流动相：氦气，柱流量：1 mL/min。初始烘箱温度在 100 ℃下保持 3 min，然后以 5 ℃/min 速度升温到 280 ℃。保持 5 min 后进样体积 1 μL，配备一个

AS-3000 自动取样器，并设置用于采样无分离注射。注射温度达到 250 ℃时，高压电子轰击 70 EV。碎片离子扫描范围 50-650 m/z（Lisec *et al.*，2006）。记录各成分的保留时间（RT），采用 NIST98 MS 数据库比对识别物质成分并记录其分子式。

1.5　数据处理

利用 SPSS22.0 数据处理系统对实验数据进行统计分析，采用单因子方差分析（One-way ANOVA）不同水稻品种之间黄酮、总酚、草酸含量，以及 GC/MS 测定的化学成分含量之间的差异显著性，处理间差异显著性采用 Duncan's 检验（P<0.05）。

2　结果与分析

2.1　不同水稻种植资源抗褐飞虱鉴定结果

不同水稻材料抗褐飞虱的鉴定结果表明（表 2），有 5 份材料对褐飞虱表现出抗性，岳恢 9113（*Bph15*）表现为高抗（HR），岳恢 9113（*Bph14*）、R715、岳恢 9113（*Bph14+Bph15*）3 份材料表现为抗（R），蜀恢 527（*Bph6*）表现为中抗（MR），而 TN1、F638、F669、F660 这 4 份材料表现为感（S）。岳恢 9113（*Bph15*）死苗率最低，仅 8.23%；F660 死苗率最高，达到 95.32%，超过敏感品种 TN1（90.76%）。

表 2　抗褐飞虱水稻品种筛选结果鉴定表

Table 2　Identification table of screening results of rice varieties resistant to brown planthopper

品种（材料）Varieties	筛选鉴定结果 Screening and identification results		
	抗性级别 Resistance grade	死苗率（%）Seedling mortality	抗性水平 Resistance level
岳恢 9113（*Bph15*）	1	8.23	高抗 HR
岳恢 9113（*Bph14*）	3	18.92	抗 R
蜀恢 527（*Bph6*）	5	38.35	中抗 MR
R715	3	22.38	抗 R
岳恢 9113（*Bph14+Bph15*）	3	15.62	抗 R
F638	9	85.69	感 S
F669	9	88.74	感 S
F660	9	95.32	感 S
TN1	9	90.76	感 S

2.2　不同水稻材料对褐飞虱若虫存活率的影响

接虫 4 d 后观察 9 份水稻材料对褐飞虱若虫存活率的影响，结果如表 3 所示，岳恢 9113（*Bph15*）的抗性分数值（AS）为 59.58%，小于 60%，为高抗品种，岳恢 9113（*Bph14*）、R715、岳恢 9113（*Bph14+Bph15*）、蜀恢 527（*Bph6*）的抗性分数（AS）值介于 61%-80%之间，为中抗品种，F638、F669、F660、TN1 的抗性分数（AS）>80%，为敏感品种。岳恢 9113（*Bph15*）的抗生性最强，与敏感品种 TN1 差异显著；F600 的抗生性最弱，低于感虫品种 TN1，与 TN1 差异显著。接虫 4 d 后岳恢 9113（*Bph15*）上的褐飞虱若虫存活率最低，仅 48.00%，与 TN1（87.50%）相比差异显著；F660 上的褐飞虱若虫存活率最高，达到了 87.67%，但与 TN1（87.50%）相比差异不显著。

2.3　不同抗性水稻次生物质含量

2.3.1　黄酮、总酚、草酸含量测定　3 种水稻材料黄酮含量测定结果表明（表 4），高抗品种岳恢 9113（*Bph15*）的黄酮含量最高，达到 10.13 μg/mL，中抗品种 R715 的黄酮含量为 9.69 μg/mL，低于高抗品种的黄酮含量，感虫品种 TN1 最低，只有 7.01 μg/mL，三者的黄酮含量存在显著性差异（P<0.05，F=529.981，df=2）。这表明抗性水平越高的水稻品种，黄酮含量越高。

3 种水稻材料总酚含量测定结果表明（表 4），高抗品种岳恢 9113（*Bph15*）的总酚含量最高（74.63 μg/mL），中抗品种 R715 的总酚含量次之（63.22 μg/mL），感虫品种 TN1 的总酚含量最低（55.08 μg/mL），三者的总酚含量存在显著性差异（P<0.05，F=606.994，df=2）。表明抗性水平越高的水稻品种，总酚含量越高。

3 种水稻材料草酸含量测定结果表明（表 4），高抗品种岳恢 9113（*Bph15*）的草酸含量

最高，达到 24.35 μg/mL，中抗品种 R715 的草酸含量次之，为 21.35 μg/mL，感虫品种 TN1 的草酸含量最低，仅 15.93 μg/mL，三者的草酸含量存在显著性差异（P<0.05，F=26.588，df=2）。表明抗性水平越高的水稻品种，草酸含量越高。

2.3.2 GC/MS 分析水稻化学成分 选择与质谱数据库匹配率 70%以上的化合物进行分析，共得到 50 种化合物，其中甲基环硅氧烷类物质有 27 种，占主要部分。敏感品种 TN1 组分中 5-羟甲基糠醛占比最高（27.81%），高抗品种岳恢 9113（*Bph15*）中 3-壬醇,1,2,6,7-二聚氧基-3,7-二甲基-乙酸盐的占比最高（11.02%）。3-壬醇,1,2,6,7-二聚氧基-3,7-二甲基-乙酸盐、2,4-二甲基苯甲醛、2-甲氧基-4-乙烯基苯酚、2-氧戊二酸、2-正丙基苯酚 5 种化学成分的含量和水稻品种抗性水平呈正比。与 TN1 组分相比，岳恢 9113（*Bph15*）中的 3-壬醇,1,2,6,7-二聚氧基-3,7-二甲基-乙酸盐占比高出敏感品系 10.53%，2,4-二甲基苯甲醛和 2-甲氧基-4-乙烯基苯酚占比分别高出 4.81%和 4.82%，2-氧戊二酸所占比例高出敏感品系 3.63%，2-正丙基苯酚高出 0.83%，表明影响水稻抗褐飞虱能力的物质可能与 3-壬醇,1,2,6,7-二聚氧基-3,7-二甲基-乙酸盐、2-氧戊二酸等 5 种成分有一定的相关性。而甲基环硅氧烷类物质在 TN1、R715、岳恢 9113（*Bph15*）三种水稻中的含量分别为 50.07%、53.49%、48.15%，差异不大，可能与抗褐飞虱无关。详细见表 5。

表 3 褐飞虱若虫在不同水稻品种上的存活率及抗生性反应

Table 3 Survival rate and resistance response of brown planthopper nymph on different rice varieties

品种 Varieties	接虫后 1 d 1 day after infecting	接虫后 2 d 2 days after infecting	接虫后 3 d 3 days after infecting	接虫后 4 d 4 days after infecting	抗性分数 Antibiosis score
TN1	95.17 ± 0.49a	89.84 ± 0.33b	87.50 ± 1.16b	87.50 ± 1.16a	88.74 ± 0.74b
F638	90.00 ± 0.58b	84.33 ± 0.33d	84.87 ± 0.44c	82.33 ± 0.33b	84.26 ± 0.33c
F669	89.00 ± 0.58c	84.31 ± 0.47d	82.15 ± 0.09d	80.67 ± 0.67c	82.67 ± 0.31d
F660	95.93 ± 0.18a	91.79 ± 0.21a	90.30 ± 0.33a	87.67 ± 0.33a	90.12 ± 0.04a
岳恢 9113（*Bph14*）	88.03 ± 0.09d	86.07 ± 0.07c	80.00 ± 0.00e	76.00 ± 0.00d	68.92 ± 0.02g
蜀恢 527	90.40 ± 0.40b	86.03 ± 0.09c	81.73 ± 0.93d	80.00 ± 0.00c	77.34 ± 0.30e
R715	86.00 ± 0.58e	82.32 ± 0.34e	77.77 ± 0.28f	72.00 ± 0.00e	74.54 ± 0.08f
岳恢 9113（*Bph14*+*Bph15*）	81.67 ± 0.33f	78.40 ± 0.31f	72.47 ± 0.24g	64.00 ± 0.58f	68.23 ± 0.30g
岳恢 9113（*Bph15*）	76.07 ± 1.21g	70.70 ± 0.36g	62.10 ± 0.10h	48.00 ± 0.58g	59.58 ± 0.11h

数据为平均值±标准误，同列数据后标有不同字母表示经 Duncan's 检验后差异显著（P<0.05）。表 4 同。

Data in the table are mean ± SE, and followed by different letters within a column are significantly different by Duncan's test (P<0.05). The same as table 4.

表 4 3 种水稻品种的次生物质含量

Table 4 Secondary biomass content of three rice varieties

品种 Variey	草酸 (μg/mL) Oxalate	总酚 (μg/mL) Polyphenol	黄酮 (μg/mL) Flavone
TN1	15.93 ± 0.20c	55.08 ± 1.58c	7.01 ± 0.39c
R715	21.35 ± 0.60b	63.22 ± 1.63b	9.69 ± 0.07b
岳恢 9113（*Bph15*）	24.35 ± 0.97a	74.63 ± 2.80a	10.13 ± 0.16a

表 5　3 种水稻材料中主要化学成分

Table 5　Main chemical constituents in three rice materials

化合物名称 Compound name	分子式 Molecular formula	保留时间（min）RT	百分含量（%）Percentage content		
			TN1	R715	岳恢 9113（*Bph15*）
3-(1-哌嗪基)-丙酰胺 3-(1-piperazinyl)-Propanamide	$C_7H_{15}N_3O$	5.820	0.15	3.91	0.42
2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4H-吡喃-4-酮 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-Pyran-4-one	$C_6H_8O_4$	6.026	3.58	0.58	0.38
苯甲酸 Benzoic acid	$C_7H_6O_2$	6.570	0.48	3.08	0.80
1,3-二异丙氧基-1,3-二甲基-1,3-二硅环丁烷 1,3-Diisopropoxy-1,3-dimethyl-1,3-disilacyclobutane	$C_{10}H_{24}O_2$	6.729	1.20	0.97	1.26
八甲基环四氧硅烷 Octamethyl-cyclotetrasiloxane	$C_8H_{24}O_4Si_4$	6.820	1.31	5.76	5.71
2,6-二叔丁基对苯二酚-3α,8-二醇 2,6-Di-t-butyloctahydroazulene-3α,8-diol	$C_{18}H_{34}O_2$	6.865	0.74	7.58	4.75
八甲基环四氧硅烷 Octamethyl-cyclotetrasiloxane	$C_8H_{24}O_4Si_4$	7.047	14.99	4.40	7.88
2,4-二甲基苯甲醛 2,4-dimethyl-Benzaldehyde	$C_9H_{10}O$	7.323	2.50	5.44	7.31
3,3,5-三乙氧基-1,1,1,7,7,7-六甲基-5-(三甲基硅氧基)四氧硅烷 3,3,5-Triethoxy-1,1,1,7,7,7-hexamethyl-5-(trimethylsilyloxy)tetrasiloxane	$C_{15}H_{42}O_7Si_5$	7.458	2.27	8.04	3.44
十四甲基-环庚硅氧烷 Tetradecamethyl-cycloheptasiloxane	$C_{14}H_{42}O_7Si_7$	7.644	1.20	5.49	5.97
5-羟甲基糠醛 5-Hydroxymethylfurfural	$C_6H_6O_3$	7.796	27.81	5.50	7.77
四甲基苯乙硅烷 Hexakis(4-methylphenyl)-disilane	$C_{19}H_{42}O_2Si$	9.288	13.41	3.75	5.98
2-甲氧基-4-乙烯基苯酚 2-Methoxy-4-vinylphenol	$C_9H_{10}O_2$	9.645	0.82	0.81	5.64
2-氧戊二酸 2-Oxopentanedioic acid	$C_5H_6O_5$	9.832	0.35	1.22	3.98
1,2-双(三甲基硅烷基)苯 1,2-Bis(trimethylsilyl)benzene	$C_{12}H_{22}Si_2$	10.090	0.25	1.31	1.85
十二烷二酸 Dodecanedioic acid, 2TBDMS derivative	$C_{24}H_{50}O_4Si_2$	10.960	0.12	6.35	0.93
15-羟基-7-氧代去氢松香酸 15-Hydroxy-7-oxodehydroabietic acid, methyl ester, TMS derivative	$C_{24}H_{36}O_4Si$	11.065	0.24	1.41	0.77
十甲基环五硅氧烷 Decamethyl-cyclopentasiloxane,	$C_{10}H_{30}O_5Si_5$	11.207	2.02	0.74	0.53
(R)-(-)-2-吡咯酮-5-甲酸甲酯 DL-Proline, 5-oxo-, methyl ester	$C_6H_9NO_3$	11.314	2.41	1.43	0.68
2-正丙基苯酚 2-propyl-Pheno	$C_9H_{12}O$	11.480	0.71	0.81	1.54
环丁基甲酸环戊基酯 Cyclobutanecarboxylic acid, cyclopentyl ester	$C_{10}H_{16}O_2$	11.970	0.34	0.63	0.79
1,7-二(4-联苯)-2,2,4,4,6,6-六甲基-1,3,5,7-四氧基-2,4,6-三硅烷 1,7-Di(4-biphenyl)-2,2,4,4,6,6-hexamethyl-1,3,5,7-tetraoxa-2,4,6-trisilaheptane	$C_{30}H_{36}O_4Si_3$	12.232	7.44	1.02	0.90
十四甲基环庚硅氧烷 Cycloheptasiloxane, tetradecamethyl-	$C_{14}H_{42}O_7Si_7$	13.430	0.78	1.27	0.89
3-甲基庚-3-甲酸酯 Formic acid, 3-methylhept-3-ylester	$C_9H_{18}O_2$	13.605	0.16	6.45	0.71
3-壬醇,1,2,6,7-二聚氧基-3,7-二甲基-乙酸盐 3-Nonanol, 1,2,6,7-diepoxy-3,7-dimethyl-, acetate	$C_{13}H_{22}O_4$	13.873	0.49	1.34	11.02
2,4-二叔丁基苯酚 2,4-Di-tert-butylphenol	$C_{14}H_{22}O$	14.494	0.57	0.45	0.83
十二甲基环己硅氧烷 Dodecamethyl-cyclohexasiloxane	$C_{12}H_{36}O_6Si_6$	15.150	1.48	3.39	1.54
3,5-二甲氧基苯乙酮 3',5'-Dimethoxyacetophenone	$C_{10}H_{12}O_3$	15.695	0.65	1.38	0.43
亚甲基双-4-(三甲基硅烷基)磷酸酯 Phosphonic acid, methylenebis-, tetrakis(trimethylsilyl) ester	$C_{13}H_{38}O_6P_2$	15.817	3.37	0.77	0.50

续表 5 (Table 5 continued)

化合物名称 Compound name	分子式 Molecular formula	保留时间（min）RT	百分含量（%）Percentage content		
			TN1	R715	岳恢 9113（*Bph15*）
N-(邻苯甲酰)甲酸乙酯 Ethyl N-(o-anisyl)formimidate	$C_{10}H_{13}NO_2$	16.401	0.73	0.42	0.45
3-甲基-4-(三甲基硅烷基)氧苯甲酸 3-methyl-4-[(trimethylsilyl)oxy]benzoate	$C_{14}H_{24}O_3Si_2$	17.035	0.18	0.64	0.69
十六烷基环八硅氧烷 Hexadecamethyl-cyclooctasiloxane	$C_{16}H_{48}O_8Si_8$	17.234	0.41	0.49	0.39
3-甲基-4-(三甲基硅烷基)氧苯甲酸 3-methyl-4-[(trimethylsilyl)oxy]benzoate	$C_{14}H_{24}O_3Si_2$	18.713	0.25	0.51	0.93
5-异丁酰胺-2-甲基嘧啶 5-Isobutyramido-2-methyl pyrimidine	$C_9H_{13}N_3O$	18.875	0.62	0.65	0.47
7,7,9,9,11,11-六甲基-3,6,8,10,12,15-六氧-7,9,11-三甲氧基硅烷 7,7,9,9,11,11-Hexamethyl-3,6,8,10,12,15-hexaoxa-7,9,11-trisilaheptadecane	$C_{14}H_{36}O_6Si_3$	20.411	0.27	0.43	0.73
十八甲基环九硅氧烷 Cyclononasiloxane, octadecamethyl-	$C_{18}H_{54}O_9Si_9$	20.564	0.53	0.76	0.50
芥子酸 sobenzofuran-1(3H)-one, 3,6,7-trimethoxy-	$C_{11}H_{12}O_5$	20.815	0.16	1.59	0.64
十六甲基环辛硅氧烷 Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl-	$C_{16}H_{48}O_8Si_8$	21.947	0.13	0.93	2.88
二十甲基环十硅氧烷 Cyclodecasiloxane, eicosamethyl-	$C_{20}H_{60}O_{10}Si_{10}$	23.527	0.48	0.48	0.92
棕榈酸 n-Hexadecanoic acid	$C_{16}H_{32}O_2$	24.256	0.93	0.58	0.60
十六甲基环辛硅氧烷 Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl-	$C_{18}H_{54}O_9Si_9$	26.244	0.34	1.38	0.60
十八甲基环壬硅氧烷 Cyclononasiloxane, octadecamethyl-	$C_{18}H_{54}O_9Si_9$	28.706	0.22	0.84	0.73
二十甲基环十硅氧烷 Cyclodecasiloxane, eicosamethyl-	$C_{20}H_{60}O_{10}Si_{10}$	30.985	0.25	0.59	0.39
二十甲基环十硅氧烷 Cyclodecasiloxane, eicosamethyl-	$C_{20}H_{60}O_{10}Si_{10}$	33.135	0.40	0.77	0.76
十八甲基环壬硅氧烷 Cyclononasiloxane, octadecamethyl-	$C_{18}H_{54}O_9Si_9$	35.140	0.50	1.08	0.56
2-甲基-4-(2,5-二甲苯基)-丁酸 2-methyl-4-(2,5-xylyl)-butyric acid	$C_{13}H_{18}O_2$	36.925	0.28	0.56	0.43
十六甲基环辛*硅氧烷* Cyclononasiloxane, octadecamethyl-	$C_{18}H_{54}O_9Si_9$	37.041	0.28	0.47	0.41
二十甲基环十硅氧烷 Cyclodecasiloxane, eicosamethyl-	$C_{20}H_{60}O_{10}Si_{10}$	38.805	0.17	0.56	0.73
二十甲基环十硅氧烷 Cyclodecasiloxane, eicosamethyl-	$C_{20}H_{60}O_{10}Si_{10}$	40.626	0.15	0.63	0.54
三(2,4-二-叔丁基苯基)磷酸酯 Tris(2,4-di-tert-butylphenyl) phosphate	$C_{42}H_{63}O_4P$	42.044	0.88	0.46	0.45

3 结论与讨论

水稻抗性水平鉴定方法多种多样，标准苗期集团筛选法、分蘖期筛选法、蜜露量测定法、种群建立测定法等可从不同方面检测水稻品种对褐飞虱的抗性（李玲玲，2014）。标准苗期集团筛选法通过对大量稻种资源多重复的苗期筛选，可以良好的鉴定水稻品种对褐飞虱的趋避性和抗生性，基本判断对稻飞虱的抗性水平（于文娟等，2016）。本研究通过标准苗期集团筛选法对褐飞虱进行抗生性测定，在鉴定的 9 份水稻材料中，对褐飞虱表现敏感的材料有 4 份，表现抗性的材料 5 份，其中表现高抗的是岳恢 9113（*Bph15*）。Huang 等（2001）发现高抗水稻抗褐飞虱的基因中含 *Bph15*，这验证了抗性鉴定结果的可靠性。

本研究经过对存在抗感差异的 3 份水稻材料进行次生物质黄酮、总酚、草酸含量的测定，发现高抗、中抗、敏感的水稻材料间 3 种次生物质含量差异显著，高抗岳恢 9113 中黄酮、总酚、草酸含量均较高，敏感品种 TN1 中黄酮、总酚、草酸含量均较低。这与商科科（2012）认为的水

稻抗虫材料对褐飞虱的抗性与稻株中草酸含量相关的结论一致，与李玲玲（2014）研究发现的总酚和黄酮含量与水稻的抗性呈显著正相关结果吻合，即水稻材料中黄酮、总酚、草酸含量越高，表现抗褐飞虱的能力越强。水稻受害级别、褐飞虱的若虫存活率会随稻株总酚含量的增加而降低，若虫发育历期则随总酚含量的增加而延长（吴莹莹等，2012），这说明次生物质在水稻抗褐飞虱过程中发挥的重要作用。利用气相色谱/质谱技术分析 3 种不同抗性水平的化学组成，结果表明岳恢 9113（*Bph15*）中的 2-甲氧基-4-乙烯基苯酚、2-正丙基苯酚的含量明显高于 TN1 和 R715，这与肖英方等（2001）研究认为的存在抗感差异的水稻品种中次生物质苯酚含量差异明显，可能与抗褐飞虱有一定相关性结论一致。水稻的次生代谢物质中的酚类、黄酮类、单宁、生物碱等都具有杀虫的活性（吴碧球等，2016），岳恢 9113（*Bph15*）中的 3-壬醇，1,2,6,7-二聚氧基-3,7-二甲基-乙酸盐、2-氧戊二酸、2,4-二甲基苯甲醛含量均高于敏感材料 TN1，可能与抗褐飞虱有一定相关性，但需要进一步的验证。而甲基环硅氧烷类物质在 TN1、R715、岳恢 9113（*Bph15*）3 种水稻品种间占比无显著性差异，分别为 50.07%、53.49%、48.15%，可能与抗褐飞虱无关。

本研究仅对 3 叶期苗龄的水稻品种进行了室内苗期鉴定，未对成株期水稻做抗性鉴定，若要将品种作为抗源进行育种，并进一步了解水稻品种次生物质与抗性间的关系，则需要进行田间成株期抗性的研究，同时，应对水稻多个生育期进行测定，以综合评价水稻品种的抗性。

参考文献 (References)

Cai WG, 2011. Study on the contents of polyphenol, flavonoid and antioxidant activity in vitro of *Houttuynia cordata* Thunb. Master dissertation. Ya'an: Sichuan Agricultural University. [蔡文国, 2011. 鱼腥草总酚和黄酮含量测定及其体外抗氧化能力研究. 硕士学位论文. 雅安: 四川农业大学.]

Cai WG, Wu W, Shao JF, Chen Q, Wang YB, Liu ZQ, 2010. Determination of polyphenol content in *Houttuynia cordata* Thunb by Folin-Ciocalteu colorimetric method. *Food Science*, 31(14): 201–204. [蔡文国, 吴卫, 邵金凤, 陈鹊, 王元彪, 刘正琼, 2010. Folin-Ciocalteu 法测定鱼腥草总酚的含量. 食品科学, 31(14): 201–204.]

Deng F, Ni S, Zhu XD, 2011. Present status and prospect of breeding resistant cultivars of brown planthopper in rice. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 27(24): 229–237. [邓飞, 倪深, 朱旭东, 2011. 水稻抗褐飞虱育种研究的现状与展望. 中国农学通报, 27(24): 229–237.]

Duan LZ, Wang JF, Zhao JR, 2007. Study on the determining conditions of oxalate content in spinach with coloration method. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 35(3): 632–633. [段立珍, 汪建飞, 赵建荣, 2007. 比色法测定菠菜中草酸含量的条件研究. 安徽农业科学, 35(3):632–633.]

Huang Z, He G, Shu L, Li X, Zhang Q, 2001. Identification and mapping of two brown planthopper resistance genes in rice. *Theoretical & Applied Genetics*, 102(7): 929–934.

Jiang H, Lin RH, Liu L, Qu WG, Tao CJ, 2005. Planthoppers damage to rice and the resurgence mechanism. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 42(6): 612–615. [姜辉, 林荣华, 刘亮, 瞿唯钢, 陶传江, 2005. 稻飞虱的危害及再猖獗机制. 应用昆虫学报, 42(6):612–615.]

Li LL, 2014. Screening of rice germplasms resistant to *Sogatella furcifera* and the mechanism of resistance. Master dissertation. Ya'an: Sichuan Agricultural University. [李玲玲, 2014. 水稻抗白背飞虱种质资源筛选鉴定与抗性机制研究. 硕士学位论文. 雅安: 四川农业大学.]

Li Y, Zhang JJ, Du B, He GC, Li JR, 2018. Advances in chemical relations between rice and brown planthopper. *Plant Physiology Journal*, 54(4): 528–538. [李毅, 张嘉娇, 杜波, 何光存, 李家儒, 2018. 水稻与褐飞虱化学关系的研究进展. 植物生理学报, 54(4): 528–538.]

Ling Y, Huang FK, Long LP, Zhong Y, Yin WB, Huang SS, Wu BQ, 2011. Studies on the pesticide resistant of *Nilaparvata lugens* in China and Vietnam. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 48(5):1374–1380. [凌炎, 黄凤宽, 龙丽萍, 钟勇, 尹文兵, 黄所生, 吴碧球, 2011. 中国和越南褐飞虱抗药性研究. 应用昆虫学报, 48(5):1374–1380.]

Lisec J, Schauer N, Kopka J, 2006. Gas chromatography mass spectrometry-based metabolite profiling in plants. *Nature Protocols*, 1(1): 387–396.

Liu GJ, Fu ZH, Shen JX, Zhang YH, 2002. Comparative study on evaluation methods for resistance to rice planthoppers (Homoptera: Delphacidae) in rice. *Chinese Journal of Rice Science*, 16(1): 52–56. [刘光杰, 付志红, 沈君辉, 张亚辉, 2002. 水稻品种对稻飞虱抗性鉴定方法的比较研究. 中国水稻科学, 16(1): 52–56.]

Peng L, Zhao Y, Wang H, Zhang JJ, Song CP, ShangGuan XX, Zhu LL, He GC, 2016. Comparative metabolomics of the interaction between rice and the brown planthopper. *Metabolomics*, 12(8):132.

Sebastin L, Ikeda R, Huang N, 1996. Molecular mapping of resistance to rice tungro spherical virus and green leafhopper. *Phytopathology*, 86(1): 25–30.

Shang KK, 2012. Study on resistance of new rice resistant varieties (lines) to *Nilaparvata lugens* and adaptability changes of *Nilaparvata lugens*. Master dissertation. Wuhan: Huazhong Agricultural University. [商科科, 2012. 水稻新材料对褐飞虱的抗性及褐飞虱适应性变化. 硕士学位论文. 武汉: 华中农业大学.]

Shang KK, Xu XL, Wang H, Hu DB, Zhang QL, Yang CJ, Hua HX, 2011. Resistance to brown planthopper (*Nilaparvata lugens*) of 16 rice varieties (lines). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 48(5):1335–1340. [商科科, 徐雪亮, 王晖, 胡定邦, 张青玲, 杨长举, 华红霞, 2011. 十六个水稻品种(系)对褐飞虱的抗虫性评价. 应用昆虫学报, 48(5): 1335–1340.]

Wu BQ, Huang SS, Li C, Sun ZX, Zhou JL, Ling Y, Jiang XB, Huang Q, Long LP, Huang FK, 2016. Effect of environment factors on secondary substance of rice planting and relationship with resistance to brown planthopper (Homoptera: Delphacidae). *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 29(10): 2371–2378. [吴碧球, 黄所生, 李成, 孙祖雄, 周君雷, 凌炎, 蒋显斌, 黄芊, 龙丽萍, 黄凤宽, 2016. 环境因素对水稻次生物质的影响及其与抗褐飞虱关系. 西南农业学报, 29(10): 2371–2378.]

Wu YY, Wu BQ, Chen Y, Huang SS, Huang FK, 2012. Relations between resistance of rice induced by methyl jasmonate, brown plant hopper (*Nilaparvata lugens*) and total phenol content. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 25(2): 462–466. [吴莹莹, 吴碧球, 陈燕, 黄所生, 黄凤宽, 2012. 茉莉酸甲酯诱导水稻对褐飞虱抗性与植株总酚含量的关系研究. 西南农业学报, 25(2): 462–466.]

Xiao YF, Zhang CZ, Gu ZY, 2001. Studies on the relationship between resistance to whitebacked planthopper *Sogatella furcifera* (Horvath) and contents of some metabolites in rice varieties. *Journal of Plant Protection*, 28(3): 198–202. [肖英方, 张存政, 顾正远, 2001. 水稻品种对白背飞虱的抗性机理. 植物保护学报, 28(3): 198–202.]

Yu JJ, Du CX, Li WC, Zhu ZD, Wang XM, 2011. Advances in inheritance and mapping of rice genes resistance to plant hoppers. *Journal of Plant Genetic Resources*, 12(5):750–756. [余娇娇, 段灿星, 李万昌, 朱振东, 王晓鸣, 2011. 水稻抗稻飞虱基因遗传与定位研究进展. 植物遗传资源学报, 12(5): 750–756.]

Yu WJ, Wang J, Lai FX, Zhong XL, Fu Q, Peng YL, 2016. Evaluation on resistance of commercial rice varieties from southwest China and reach of Yangtze River to planthoppers (Homoptera: Delphacidae). *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 29(4):751–757. [于文娟, 王健, 赖凤香, 钟雪莲, 傅强, 彭云良, 2016. 西南和长江流域水稻生产品种对稻飞虱的抗性.西南农业学报, 29(4):751–757.]

Zhang K, Wang ZW, Gao CF, 2013. Methods for rice planthopper resistance monitoring. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 50(2): 542–547. [张凯, 王志伟, 高聪芬, 2013. 稻飞虱的抗药性监测方法. 应用昆虫学报, 50(2): 542–547.]

Zhang XL, Liao X, Mao KK, Wan H, Lu P, Li JH, 2016. Resistance monitoring of the field populations of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae) to common insecticides in rice production areas of Hubei province, central China. *Acta Entomologica Sinica*, 59(11):1222–1231. [张小磊, 廖逊, 毛凯凯, 万虎, 卢鹏, 李建洪, 2016. 湖北稻区褐飞虱田间种群对常用杀虫剂抗药性监测. 昆虫学报, 59(11): 1222–1231.]