

# 氮肥对稻株含水量和伤流液的影响及其与对褐飞虱为害耐性的关系

吕仲贤<sup>1,2</sup> Sylvia VILLAREAL<sup>3</sup> 俞晓平<sup>2</sup> HEONG Kong-luen<sup>3</sup> 胡 萃<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>浙江大学 应用昆虫学研究所, 浙江 杭州 310029; <sup>2</sup>浙江省农业科学院 植物保护研究所, 浙江 杭州 310021; <sup>3</sup>国际水稻研究所, 菲律宾 马尼拉)

## Effect of Nitrogen on Water Content, Sap Flow of Rice Plants in Association with Tolerance to Brown Planthopper, *Nilaparvata lugens*

LU Zhong-xian<sup>1,2</sup>, Sylvia VILLAREAL<sup>3</sup>, YU Xiao-ping<sup>2</sup>, HEONG Kong-luen<sup>3</sup>, HU Cui<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> Institute of Applied Entomology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; <sup>2</sup> Plant Protection Institute, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China; <sup>3</sup> International Rice Research Institute, DAPO Box 777, Metro Manila, Philippines)

**Abstract:** Water content (WC), sap flow and changes in relative water content (RWC) of rice plants damaged by brown planthopper (BPH), were determined in laboratory, and the tolerance of rice plants with different nitrogen regimes to BPH was evaluated in greenhouse at International Rice Research Institute (IRRI). Results indicated that both WC and RWC were increased significantly, while the sap amount flowed from rice plants were reduced statistically, with the increase of nitrogen content in rice plants. RWC in rice plants applied with high nitrogen fertilizer decreased strongly by the injury of BPH nymphs. Those may be considered to be one of the key factors to increase the susceptibility to BPH damage on rice plants applied with nitrogen fertilizer.

**Key words:** brown planthopper; nitrogen; relative water content; sap flow; tolerance; rice

**摘 要:** 在实验室测定了不同含氮量稻株的含水量和叶鞘伤流液以及被褐飞虱为害后稻株相对含水量的变化,在温室监测和评价了不同氮肥施用量条件下稻株对褐飞虱的耐性。结果表明,随着稻株含氮量的增加,稻株的含水量和相对含水量均显著增加,但叶鞘伤流液总量却明显减少。被高密度的褐飞虱若虫为害后,高氮肥施用量稻株的相对含水量显著低于低氮肥施用量稻株的相对含水量。这些结果可能是高氮肥条件下稻株对褐飞虱为害的敏感性增加的主要原因。

**关键词:** 褐飞虱; 氮素; 相对含水量; 伤流液; 耐性; 水稻

**中图分类号:** S432.2+4; S435.112+.3; S511.06

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1001-7216(2004)02-0161-06

自从 20 世纪 60 年代的“绿色革命”以后,大量增加的农药和化肥投入在大幅度提高水稻产量的同时也迅速导致褐飞虱 (*Nilaparvata lugens* Stål) 等害虫由原来的次要害虫转变为东南亚稻区的主要害虫<sup>[1,2]</sup>。这主要归咎于现代的农艺措施、高产单一的品种布局和不合理的防治措施<sup>[3]</sup>,这些农艺和防治措施主要包括高剂量氮肥和广谱高毒杀虫剂连续施用<sup>[4]</sup>。氮肥、氮肥与水稻种植密度、氮肥与灌溉水的交互作用对褐飞虱种群影响的研究已有许多报道,大多数的研究结果均表明氮对褐飞虱的取食和产卵、生存和发育、蜜露分泌、繁殖和种群数量等有促进作用<sup>[5~10]</sup>,但也有研究表明当氮肥的施用量超过 100 kg/hm<sup>2</sup> 后,褐飞虱的蜜露分泌量反而减少<sup>[11]</sup>。

氮含量是寄主植物质量的主要指标,也是植食性害虫最重要的限制因子<sup>[12,13]</sup>。褐飞虱种群的增长可能是由于氮肥施用后水稻植株体内可溶性氨基酸含量的增加导致吸汁液昆虫营养获得性的提高引

起的<sup>[6,14~17]</sup>。而植株的含水量和其他营养源也是影响植食性昆虫表现的重要因子<sup>[18]</sup>。但是,氮与水稻植株含水量的关系及其对褐飞虱的取食物质稻株汁液流量的影响,以及不同氮肥施用条件下水稻对褐飞虱的敏感性等未见研究报道。

本文的主要研究目的是建立水稻叶片叶绿素含量 (SPAD 值) 与水稻植株含氮量的直接回归关系,明确植株氮含量对植株含水量和伤流液的影响和评价不同氮肥施用量情况下水稻植株对褐飞虱为害的忍耐性变化。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

感虫水稻品种 TN1 和中抗褐飞虱水稻品种

收稿日期: 2003-02-10; 修改稿收到日期: 2003-05-12。

第一作者简介: 吕仲贤(1963—),男,副研究员,在读博士研究生。

IR64均由国际水稻研究所种质资源研究中心提供。水稻种子每隔15 d播种1次,以保证有足够的寄主植物供褐飞虱饲养和各阶段实验室和田间试验用。3~4株10 d苗龄的秧苗移栽在装有花园土的陶钵(3号钵直径14 cm, 0号钵直径7 cm)中。对于IR64,根据土壤体积计算氮肥的施用量,使其形成200、100、50和0 kg/hm<sup>2</sup>的4个氮肥施用量梯度。用特制的系列小容器定量氮肥,分别于移栽后7 d、分蘖盛期和孕穗初期施用总氮量的30%、30%和40%。培育出的不同含氮量的水稻植株,分别标定为N2、N1、N5和N0。整个水稻生育期不用任何农药,正常水管理。对于TN1,正常氮肥施用量,约100~130 kg/hm<sup>2</sup>。

褐飞虱成虫采自菲律宾Laguna省的稻田,饲养在含有45~60日龄TN1苗的产卵笼内(长50 cm×宽38 cm×高80 cm)交配产卵。每周一和周四放入新鲜的稻苗,24 h后取出产卵苗,移入相同大小的饲养笼内。每周一和周四更换新鲜的TN1稻苗,连续饲养形成TN1褐飞虱种群。

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 稻株含氮量测定

每个水稻生育期,在上午9:00~12:00,随机在不同氮肥施用水泥槽中各选8钵水稻。取顶端的全展叶(1.5叶龄),用叶绿素测定仪(SPAD-502, Minolta公司)在叶片中部和上下各3 cm处延中脉测定叶绿素含量(以SPAD值表示)3次,以平均值表示该叶片的叶绿素含量。在水稻移栽后25 d开始,每个水稻生育期在试验田每个小区随机选择5丛水稻,测定主茎全展叶的SPAD值。剪取带有已测SPAD值的稻株,放入褐色纸袋,立即在110℃的烘箱内杀青30 min。然后在80℃的烘箱内干燥至恒重。应用微量凯氏法测定水稻植株的氮含量( $w_N$ )。在IRRISTAT统计软件中得稻株的氮含量与SPAD值的关系: $w_N = 0.1151 \text{ SPAD} - 1.2772$  ( $R^2 = 0.6532$ ,  $F = 162$ ,  $P < 0.0001$ )。

### 1.2.2 稻株的含水量测定

取顶端全展叶中部5~10 cm<sup>2</sup>的叶片放入已称量的玻璃瓶(直径2.5 cm,高10 cm)内,再称得叶片质量( $m_L$ )。立即注入蒸馏水,用瓶盖密封后放入大约10℃的冰箱内,使叶片完全吸水膨胀。4 h后取出叶片,用滤纸吸干表面的水珠后称量得完全胀水后的质量( $m_T$ )。叶片在80℃烘箱内干燥24 h,称干质量( $m_D$ )。相对含水量(RWC)可以根据下式计算: $\text{RWC} = [(m_L - m_D) / (m_T - m_D)] \times$

100%。

### 1.2.3 褐飞虱为害对稻株相对含水量的影响

为了测定褐飞虱为害对水稻植株相对含水量的影响,将35日龄的水稻苗修剪成仅留2个主茎,塑料笼罩好后接入100或200头3龄褐飞虱若虫,无虫稻苗作为对照。分别于接虫后2 d和5 d测定水稻植株相对含水量。每个处理5次重复。

### 1.2.4 叶鞘伤流液测定

除去最外层叶鞘。在测定了留下外叶鞘的SPAD值后,用已消毒的剪刀在叶鞘中部剪断。在叶鞘的剪断口套上干燥的小试管(直径1.2 cm,高6 cm),试管内放入已称量的干滤纸( $m_1$ )后用parafilm蜡膜封口。在一定时间后,取出吸有伤流液的滤纸,如试管内有水气或水珠用滤纸吸干,再称滤纸质量( $m_2$ )。伤流液的质量就是 $m_2$ 和 $m_1$ 的差。

### 1.2.5 水稻植株对褐飞虱为害的忍耐性测定

将35日龄的水稻苗修剪,留6个主茎或初分蘖。稻苗笼罩后,在笼内接入200头2龄的褐飞虱若虫或15对初羽化的褐飞虱成虫。根据国际水稻研究所制订的评价标准<sup>[19]</sup>每天记载稻株的被害级别,直至全部死亡。在试验过程中,每隔3 d考查笼子内褐飞虱的数量。当每笼内的数量下降至180头以下时,补充接入同一龄的褐飞虱若虫,以保持200头左右的密度。每处理重复8次。试验前和接虫后第15天测定水稻叶片的SPAD值。氮肥和水管理正常。温室的温度在25~40℃,相对含水量70%~90%,光周期为光照12 h:黑暗12 h。

### 1.2.6 统计分析

在IRRISTAT 4.0 for Windows上进行直线回归分析。方差分析(ANOVA)和邓肯氏新复极差测定在SAS(1990) PROC ANOVA或PROC GLM上进行。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同含氮量水稻植株的含水量

在不同的水稻生育期,稻株的含水量和相对含水量均极显著地与稻株的含氮量呈正相关( $P < 0.001$ )。虽然,含水量和相对含水量均随水稻生育期的延长而有所下降,但与含氮量的回归直线几乎是平行线(图1,图2)。随着稻株含氮量的增加,相对含水量的增加幅度大于含水量的增加幅度,即相对含水量的回归方程 $b$ 值较高。表明稻株相对含水量对含氮量变化的敏感性大于含水量对含氮量变化的敏感性。

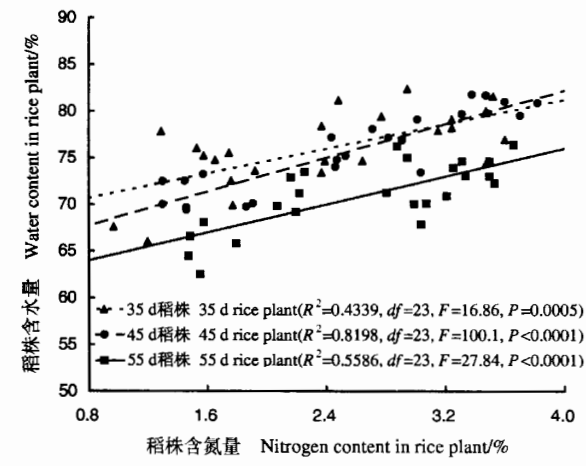


图1 不同含氮量稻株的含水量  
Fig. 1. Water content of rice plants under different nitrogen contents.

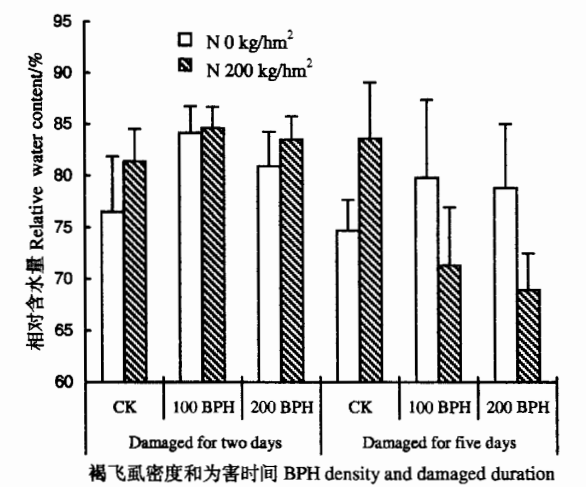


图3 被褐飞虱为害后不同氮肥水平稻株的相对含水量  
Fig. 3. Relative water content of rice plants with different nitrogen regimes damaged by BPH.

2.2 褐飞虱为害后水稻植株的相对含水量变化

在没有褐飞虱取食的情况下,35日龄高氮稻株的相对含水量显著高于低氮稻株的相对含水量( $P=0.0155$ ),而且在5d的试验期间平均相对含水量值基本保持恒定( $P=0.9128$ )。对不同含氮量的稻株在100和200头3龄褐飞虱若虫为害2d和5d后的相对含水量测定结果表明,高氮植株(N2)在100和200头若虫为害后相对含水量显著减少( $P=0.0387$ ),随着为害时间的延长相对含水量减少越来越多( $P=0.0257$ )。而在低氮植株(N0)被褐飞虱若虫为害后,稻株的相对含水量反而比对照略有增加,但不同处理( $P=0.0836$ )和为害时间( $P=0.2413$ )

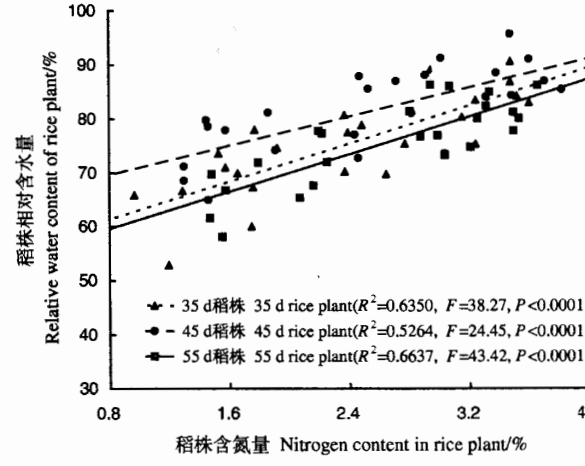


图2 不同含氮量稻株的相对含水量  
Fig. 2. Relative water content of rice plants under different nitrogen contents.

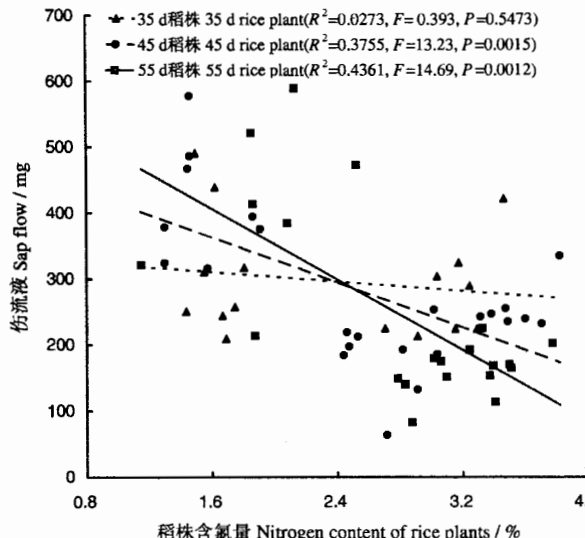


图4 不同含氮量稻株叶鞘在72h内的伤流液  
Fig. 4. Relationship between amount of sap flow and nitrogen content in rice plants within 72 h.

间没有显著差异(图3)。

2.3 叶鞘的伤流液

不同生育期稻株叶鞘72h内的伤流液总量与稻株含氮量的回归结果(图4)表明,45和55日龄稻株叶鞘伤流液总量随稻株含氮量的增加显著减少( $P<0.001$ ),而35日龄稻株叶鞘伤流液总量随稻株含氮量增加略有减少,但不显著( $P>0.05$ )。因此,在低氮(N0)情况下72h内伤流液总量的顺序为55d>45d>35d,而在高氮(N2)时的顺序则相反,为55d<45d<35d。3个生育期伤流液总量与稻株含氮量的回归直线的交叉点约在SPAD值32或含氮量2.4%处,该点的氮肥施用量为50~

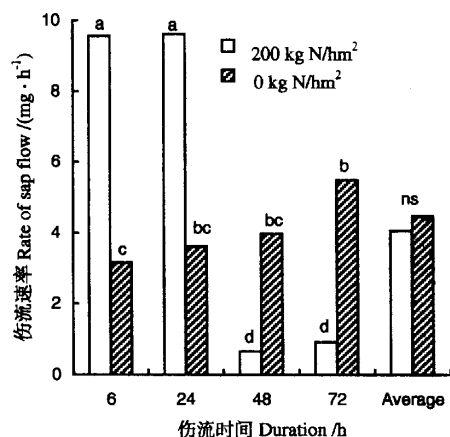


图5 35日龄不同氮肥水平稻株的叶鞘伤流速率

Fig. 5. Rate of sheath sap flow from 35-day old rice plants with different nitrogen regimes.

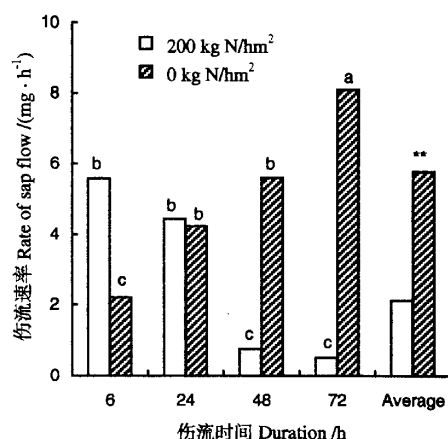


图6 55日龄不同氮肥水平稻株的叶鞘伤流速率

Fig. 6. Rate of sheath sap flow from 55-day old rice plants with different nitrogen regimes.

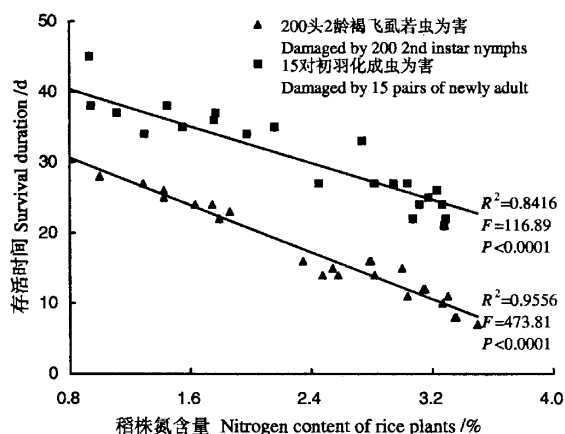


图7 不同含氮量稻株被褐飞虱为害后的存活时间

Fig. 7. Survival duration of rice plants with different nitrogen contents damaged by BPH.

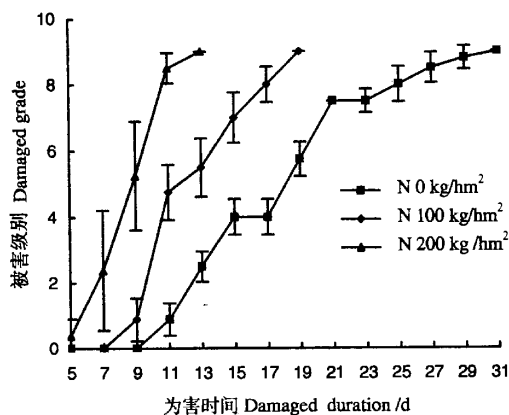


图8 被200头2龄褐飞虱若虫为害后不同氮肥水平稻株的被害级别的变化动态

Fig. 8. Dynamics of damaged grade of rice plants infested by 200 second instar nymphs.

100 kg/hm<sup>2</sup>。

对于35日龄的稻株,高氮植株在24 h内的伤流速率是低氮植株的2倍以上(图5)。但在此后,高氮植株的伤流速率却急剧下降,而低氮植株的伤流速率反而略有加快,最终导致高氮植株的伤流速率比低氮植株的伤流速率低10倍以上。平均72 h内的伤流速率,高氮植株和低氮植株之间无显著差异( $P>0.05$ )。与35日龄的稻株相比,55日龄的高氮稻株只有在6 h内的伤流速率比低氮植株的伤流速率高(图6),25 h后高氮植株的伤流速率却比低氮植株的伤流速率低。而在试验的72 h内低氮稻株的伤流速率随时间的延长显著增加。平均72 h内的伤流速率,低氮植株显著高于高氮植株( $P<$

0.0001)。

## 2.4 稻株对褐飞虱为害的忍耐性

不同含氮量的稻株对褐飞虱为害的忍耐性有显著的差异。无论是被成虫还是被若虫为害,稻株的存活时间或达到9级的时间均随着稻株含氮量的增加而显著缩短( $P<0.0001$ ,图7),说明稻株含氮量的增加对褐飞虱为害的忍耐性反而下降了。但是,直接被若虫为害后的死亡速度更快。

受褐飞虱若虫为害后,高氮稻株(N2)受害等级的波动性明显比中氮(N1)和低氮稻株(N0)的大,SE值高(图8),表明高氮稻株的个体差异更大。高氮稻株的受害等级增加快,在接虫后13 d内稻株全部死亡。而低氮稻株的受害等级增加则比较平稳,

特别是在达到7级以后受害等级增加的速率更慢,在接虫后30 d稻株才全部死亡。研究还发现在低氮稻株上褐飞虱若虫的死亡率高、虫体小,发育慢(将另文发表)。

### 3 讨论

相对含水量用于测定植物体内由于生理缺水而引起的水状态变化。渗透调节是在干旱条件下植物保持细胞水分的主要机制,而植株相对含水量则表示了渗透调节的能力。因此,相对含水量可以合理地根据细胞水分含量对植株水状态进行评价<sup>[20]</sup>。植物叶片相对含水量的正常值范围从胀水时的98%到干枯时的40%左右。水稻叶片萎蔫时的相对含水量为60%~70%。高氮稻株被高密度褐飞虱若虫为害5 d后的叶片相对含水量比低氮稻株显著减少(图3),被200头褐飞虱若虫为害5 d后的叶片相对含水量只有68.89%,叶片已经萎蔫。这表明褐飞虱对稻株的致害特性可能与相对含水量有关,虱烧机理与干旱胁迫相似。干旱胁迫也会导致植株组织内渗透势的下降和含氮化合物(氨基酸、硝酸盐和内铵盐)浓度的提高<sup>[21]</sup>,以及植食性昆虫种群的增加<sup>[22]</sup>。

高氮水稻植株被褐飞虱为害后叶片相对含水量可能与叶鞘伤流速率有关,因为高氮含量稻株的伤流速率在叶鞘切开24 h后急剧下降(图5)。这可能是由于高氮稻株的高含水量和含氮量可以提供给一定密度的褐飞虱足够的汁液和营养,使其存活率提高、生长发育加快。但是,当褐飞虱的密度达到一定程度或取食到一定时间时,由于稻株伤流速率的限制和褐飞虱取食速率的增加,稻株所能提供的汁液量少于褐飞虱的取食量,从而导致稻株叶片相对含水量减少。当相对含水量继续减少时就出现萎蔫症状,即虱烧。水胁迫的植物还会增加体内游离氨基酸和可溶性碳水化合物浓度<sup>[23]</sup>,同时减少有效防御化学物质的数量和质量,因此更能吸引植食性昆虫的取食,加重对寄主植物的为害<sup>[24]</sup>。

寄主植物的抗性是有害生物综合治理的重要组成部分。虽然它由其本身的遗传特性所决定,但也受到外界环境因子的影响,同时许多遗传特性的表达也可能受到环境因子的制约。非生物的环境因子如气候、土壤和农艺措施等都有可能直接影响植物的生理过程从而间接地影响害虫的种群动态<sup>[24]</sup>。碳-营养平衡假说认为土壤中氮的变化打破了碳-营养平衡,所引起的植物结构性变化导致抗性的下

降<sup>[25, 26]</sup>。碳-营养平衡假说还预测可获得性营养的增加可能减少植物对害虫的诱导抗性<sup>[27]</sup>。碳-营养平衡在营养限制的植物中是可变的,当植物营养减少时碳物质可以增加对害虫的抗性。本研究结果表明,稻株在过多地增加氮肥施用量时对褐飞虱的抗性明显下降,这也可能与碳-氮平衡破坏后水稻叶鞘内部的结构发生了改变,导致伤流速率下降,在高强度的被害过程中容易引起萎蔫有关。

谢辞:本研究得到国际水稻研究所奖学金的资助。试验过程中承蒙国际水稻研究所昆虫植物病理系的G. Javier、A. Salamatin和D. Dizon先生在技术上的帮助。谨此表示感谢。

### 参考文献:

- Conway G R, Barbier E B. After the Green Revolution: Sustainable Agriculture for Development. London: Earthscan Publications Ltd, 1990.
- Heinrich E A, Mochida O. From second to major pest status; the case of insecticide-induced rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, resurgence. *Prot Ecol*, 1984, 7: 201-218.
- Dyck V A, Thomas B. The brown planthopper problem. In: IRRI. Brown Planthopper: Threat to Rice Production in Asia. Manila: IRRI, 1979. 3-20.
- Gallagher K D, Kenmore P E, Sogawa K. Judicial use of insecticides deter planthopper outbreaks and extend the role of resistant varieties in Southeast Asian rice. In: Denno R F, Perfect T J. Plant-hoppers: Their Ecology and Management. London: Chapman & Hall, 1994. 559-614.
- Li R D(李汝铎), Ding J H(丁锦华), Hu G W(胡国文), Su D M(苏德明). The Brown Planthopper and its Population Management(褐飞虱及其种群管理). Shanghai: Fudan Press(复旦大学出版社), 1996. (in Chinese)
- Hu J Z(胡建章), Lu Q H(陆秋华), Yang J S(杨金生), et al. Effects of fertilizer and irrigation on the population of main insect pests and the yield of rice. *Acta Entomol Sin* (昆虫学报), 1986, 29(1): 49-54. (in Chinese with English abstract)
- Liu C M(刘春茂), Wu R Z(吴荣宗). Influence of light intensity and nitrogen fertilizer on resistance to brown planthopper in rice. *J South China Agric Univ* (华南农业大学学报), 1992, 13(2): 27-33. (in Chinese with English abstract)
- Wang M Q(汪茂卿), Wu R Z(吴荣宗). Effects of nitrogen fertilizer on the resistance of rice varieties to brown planthopper. *Guangdong Agric Sci* (广东农业科学), 1991, (1): 25-27. (in Chinese)
- Ma K C, Lee S C. Occurrence of major rice insect pests at different transplanting times and fertilizer levels in paddy field. *Korean J Appl Entomol*, 1996, 35(2): 132-136.
- Preap V, Zalucki M P, Nesbitt H J, Jahn G C. Effect of fertiliz-

- er, pesticide treatment, and plant variety on the realized fecundity and survival rates of brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, generating outbreaks in Cambodia. *J Asia-Pacific Entomol*, 2001, 4(1): 75—84.
- 11 Kumar P, Pathak P K. A simple and accurate method of quantifying honeydew excretion in brown planthopper. *Indian J Entomol*, 2001, 63(2): 208—210.
- 12 Slansky F J, Scriber J M. The nutritional ecology of immature insects. *Ann Rev Entomol*, 1981, 26: 183—211.
- 13 White T C R. The Inadequate Environment: Nitrogen and the Abundance of Animals. Berlin: Springer, 1993.
- 14 Balasubramanian P, Palaniappan S P, Gopalan M. The effect of carbofuran and nitrogen on leaf folder incidence. *IRRN*, 1983, 8: 13—14.
- 15 Cheng C H. Effect of nitrogen application on the susceptibility in rice to brown planthopper attack. *J Taiwan Agric Res*, 1971, 20(3): 21—30.
- 16 Kajimura T, Fujisaki K, Nakasuji. Effect of organic rice farming on leaf folder and planthoppers; 2. Amino acid content in the rice phloem sap and survival rate of planthoppers. *Appl Entomol Zool*, 1995, 30(1): 17—22.
- 17 Sogawa K. Studies on feeding habits of brown planthopper. I. Effects of nitrogen-deficiency of host plants on insect feeding. *Jap J Appl Entomol Zool*, 1970, 14: 101—106.
- 18 Slansky F J, Rodriguez J G. Nutritional Ecology of Insects, Mites, Spiders and Related Invertebrates. New York: John Wiley & Sons, Inc. 1987.
- 19 IRRI. Standard Evaluation System for Rice. Manila: IRRI, 1980. 44.
- 20 Bar H D, Weatherley P E. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. *Aust J Biol Sci*, 1962, 15: 413—428.
- 21 Kramer P J. Water Relations of Plants. Florida: Academic Press, 1983.
- 22 Mattson W J, Haack R A. The role of draught in outbreaks of plant-eating insects. *BioScience*, 1987, 37: 110—118.
- 23 Fukutoku Y, Yamada Y. Accumulation of carbohydrates and proline in water-stressed soybean. *Soil Sci Plant Nutr*, 1982, 28: 147—151.
- 24 Panda N, Khush G S. Host Plant Resistance to Insects. Wallingford: CAB International, 1995. 67—103.
- 25 Bryant J P, Beichardt P B, Clausen T P, Werner R A. Effects of mineral nutrition on delayed inducible resistance in Alaska paper birch. *Ecology*, 1993, 74(7): 2072—2084.
- 26 Bryant J P, Chapin F S, Klein D K. Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. *Oikos*, 1983, 40: 357—368.
- 27 Mutikainen P, Walls M, Ovaska J, *et al.* Herbivore resistance in *Betula pendula*: effect of fertilization, defoliation and plant genotype. *Ecology*, 2000, 81(1): 49—65.