

不同致害性褐飞虱种群刺吸电位图(EPG)的比较

潘建红 陈峰 何佳春 赖凤香 傅强*

(中国水稻研究所 水稻生物学国家重点实验室, 浙江 杭州 310006; * 通讯联系人, E-mail: qiangful@yahoo.com.cn)

Comparison on Electrical Penetration Graph (EPG) of Two Populations of *Nilaparvata lugens* with Different Virulence

PAN Jian-hong, CHEN Feng, HE Jia-chun, LAI Feng-Xiang, FU Qiang*

(State Key Laboratory of Rice Biology, China National Rice Research Institute, Hangzhou 310006, China; * Corresponding author, E-mail: qiangful@yahoo.com.cn)

PAN Jianhong, CHEN Feng, HE Jiachun, et al. Comparison on electrical penetration graph (EPG) of two populations of *Nilaparvata lugens* with different virulence. *Chin J Rice Sci*, 2011, 25(1): 86-90.

Abstract: The electrical penetration graph (EPG) of two populations of *Nilaparvata lugens* with different virulence (TN1 population, Mudgo population) on susceptible rice variety TN1 and resistant rice variety Mudgo (with resistance gene *Bph1*) were studied. The results showed that duration of I waveform significantly affected by population of *N. lugens* and rice variety, followed by A waveform, then S waveform. The sex of *N. lugens* did not affect the three types of waveform. Three virulent treatments (TN1 population on TN1, Mudgo population on TN1 and Mudgo) showed shorter S and A waveforms compared with non-virulent treatment (TN1 population on Mudgo). And a significant difference in A waveform between virulent treatments and non-virulent one was found. The I waveform under the three virulent treatments was significantly shorter than that under non-virulent treatment. The accuracies to distinguish the virulence of TN1 population and Mudgo population were 82.6% and 100%, respectively with 75 min of I waveform in a 3-h record period as a criterion (i.e., I waveform more than 75 min represented virulent, less than 75 min represented non-virulent). It is suggested that the duration of I waveform is a possible alternative for monitoring the virulence of *N. lugens* individual.

Key words: *Nilaparvata lugens*; virulence; electrical penetration graph; rice

潘建红, 陈峰, 何佳春, 等. 不同致害性褐飞虱种群刺吸电位图(EPG)的比较. 中国水稻科学, 2011, 25(1): 86-90.

摘要: 利用刺吸电位图(EPG)比较分析了两个致害性不同的褐飞虱种群(TN1种群、Mudgo种群)在感虫品种TN1和抗性品种Mudgo(含*Bph1*抗虫基因)上的取食行为。结果表明,种群类型、水稻品种对I波的影响最明显,A波次之,S波再次之;试虫性别对各参数均无显著影响。TN1种群在TN1上及Mudgo种群在TN1、Mudgo上这3种能致害处理下的S波、A波均短于TN1试虫在Mudgo上(不能致害),其中A波的差异达显著水平;而能致害的3种处理的I波持续时间则显著长于不能致害处理。若以3h内I波持续时间75min为分界线,高于该值为能致害,低于该值为不能致害,对TN1种群、Mudgo种群致害性的判别准确率分别为82.6%和100%。提出该参数可用于进一步开发褐飞虱个体致害性检测新技术。

关键词: 褐飞虱; 致害性; 刺吸电位图; 水稻

中图分类号: S435.112+.3

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2011)01-0086-05

褐飞虱[*Nilaparvata lugens* (Stål)]是一种远距离迁飞性水稻害虫,系我国长江流域及华南和西南广大稻区水稻上的重要害虫^[1]。利用抗虫水稻品种是该类害虫最为经济、安全、有效的防治途径。然而,抗虫水稻品种大面积推广种植后,品种抗性胁迫褐飞虱致害特性迅速发生改变(即产生新的“生物型”),抗性随之丧失^[2-6],有些抗虫品种的使用寿命甚至不超过1年^[7]。研究褐飞虱致害性的变异规律及其机制是延缓水稻抗性丧失,实现抗性水稻品种可持续利用的重要保障。

检测和判断褐飞虱的致害性是研究该虫致害性的关键。不同致害性褐飞虱种群没有明显的形态特征差异,目前一般通过褐飞虱在系列不同抗、感水稻

品种的生物参数(如生长、发育、繁殖、取食等方面的指标)及水稻品种的受害级别来进行判断。多数是评价褐飞虱种群的群体致害性,仅蜜露排泄量可用于个体致害性检测,但每头试虫需连续检测3d,耗时长,且受到试虫日龄的影响。研究开发一种更为快速的褐飞虱个体致害性检测新技术较为迫切。

褐飞虱是一种典型的刺吸式昆虫,通过口针鞘取食水稻韧皮部汁液^[8]。自McLean等^[9]发明刺

收稿日期: 2010-03-30; **修改稿收到日期:** 2010-06-08。

基金项目: 国家973计划资助项目(2010CB126200); 国家现代农业产业技术体系建设专项资助项目(NCYTX-01); 国家公益性行业(农业)专项资助项目(200803003); 国家科技支撑计划资助项目(2006BAD08A04)。

吸电位图(electrical penetration graph, EPG)技术以来,该技术已被广泛应用到刺吸式昆虫与寄主植物相互关系的研究^[10-11]。就稻飞虱而言,已有多例利用刺吸电位图技术研究的报道^[12-24],主要涉及稻飞虱取食或产卵过程的刺吸电位图特征及寄主植物抗性等方面的研究。

Khan 等^[14]对不同致害性褐飞虱种群的研究发现,3种褐飞虱生物型在不同抗感品种上的刺吸电位图特征与致害性一致。然而,关于能否利用刺吸电位图技术检测褐飞虱个体的致害性尚未见报道。

为此,本研究以分别在水稻品种 TN1(感虫品种)、Mudgo(含抗性基因 *Bph1* 的抗虫品种)上连续胁迫饲养 140 代以上的两个褐飞虱种群(分别称为 TN1 种群、Mudgo 种群)为研究对象(其中 TN1 种群能致害 TN1,不能致害 Mudgo;Mudgo 种群则能同时致害 TN1 和 Mudgo),通过刺吸电位图技术记录不同致害性褐飞虱的刺吸电位图,阐明不同致害性褐飞虱的刺吸电位图特征参数差异,以期探讨进一步研究基于刺吸电位图技术的褐飞虱致害性检测新技术的可行性。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

供试水稻:感虫对照品种 TN1(台中本地 1 号)及含抗褐飞虱基因 *Bph1* 的抗虫品种 Mudgo。两品种分期、分批播种,于 25 d 左右秧龄时移栽于无虫网室种植槽中。试验前选约 45 d 秧龄的健壮稻苗,小心去除分蘖,仅留带根的主茎,洗净备用。

供试虫源:本实验室分别在水稻品种 TN1、Mudgo 上连续胁迫饲养 140 代以上的两个褐飞虱种群(饲养用稻苗一般处于分蘖期至孕穗期),分别称为 TN1 种群和 Mudgo 种群。两者对水稻品种的致害性明显不同,前者仅能致害 TN1 苗,不能致害 Mudgo 苗;后者对 TN1 和 Mudgo 均能致害(未发表数据)。吸取羽化 24 h 内的雌、雄成虫供试。

1.2 实验方法

设置 4 个不同的处理,包括 TN1 种群分别在 TN1、Mudgo 两种稻苗上的刺吸电位图(EPG)记录,Mudgo 种群分别在这两种稻苗上的刺吸电位图记录。其中,仅 TN1 种群在 Mudgo 上的处理代表不能致害的情况,TN1 种群在 TN1 上及 Mudgo 种群在 TN1、Mudgo 两种稻苗上的 3 个处理均代表能致害的情况。

采用 AC 型(Tsukuba Rika Seiki Co. Ltd.) 电子记录仪记录^[21]单头试虫的取食波,并参照 Hattori^[18]的方法进行波形的识别和分析,其中 S 波代表飞虱取食前口针的刺探及口针鞘分泌与形成的过程,波形上表现为连续大幅波动的高频脉冲;I 波代表飞虱口针刺入稻株筛管后的吸食过程,此时口针处于相对稳定状态,波形上表现出较连续的低频脉冲;A 波出现于 I 波之前,期间飞虱的口针顶端已刺入水稻筛管,但目前关于该波与取食行为的关系还不明确。A 波与 Seo 等^[23]报道的 N₃ 波相似,出现于飞虱口针顶端刺入筛管尚未开始吸食筛管液的阶段。Velusamy 等^[13]推测 A 波可能与口针刺入筛管后的味觉判别过程相关。

实验时,将初羽化成虫饥饿饲水 2 h 后,用 CO₂ 气流短时间麻醉,快速用导电银胶将一根细金线(长约 3~5 cm,直径 20 μm)的一端与褐飞虱中胸背板黏合,金线的另一端与一段较粗的铜丝相连至昆虫电极。同时取一洗净的稻苗主茎,将其根部置于一个加有水的三角瓶中,用海绵塞将稻茎固定在瓶口中央,在海绵塞边缘插入一段粗铜丝与植物电极相连。将植株以 500 Hz、0.5 V 电流通电,并将黏好金线且已完全苏醒的试虫轻轻放于上述稻株上,同时开始记录取食波,每一试虫连续记录 3 h,分析 S、A、I 等 3 种波的持续时间及试虫首次开始刺探的时间等参数。每个处理的雌、雄试虫各观察 9 头以上。

实验在室内进行,温度为(27±2)℃,相对湿度为(65±5)%。

1.3 数据分析

采用唐启义等^[25]的 DPS 数据处理系统进行数据的统计分析。因不同处理间重复数不完全一致,褐飞虱性别、种群来源及供试品种三因素方差分析及各平均数间的多重比较均采用一般线性模型(GLM)进行。

2 结果与分析

2.1 取食特征

褐飞虱放置到稻株上后,需经过一段时间才开始取食刺探。这段时间 TN1 种群在 TN1、Mudgo 上分别为(6.1±5.5) min、(9.1±17.0) min; Mudgo 种群在 TN1、Mudgo 上分别为(4.1±2.1) min、(4.5±2.3) min,不同处理间无显著差异,但在能致害的 3 种情况下(TN1 种群在 TN1 上及 Mudgo 种群在 TN1、Mudgo 上)这段时间介于 1~18 min,而不能致害的情况下(TN1 种群在 Mudgo 上)介于 1~

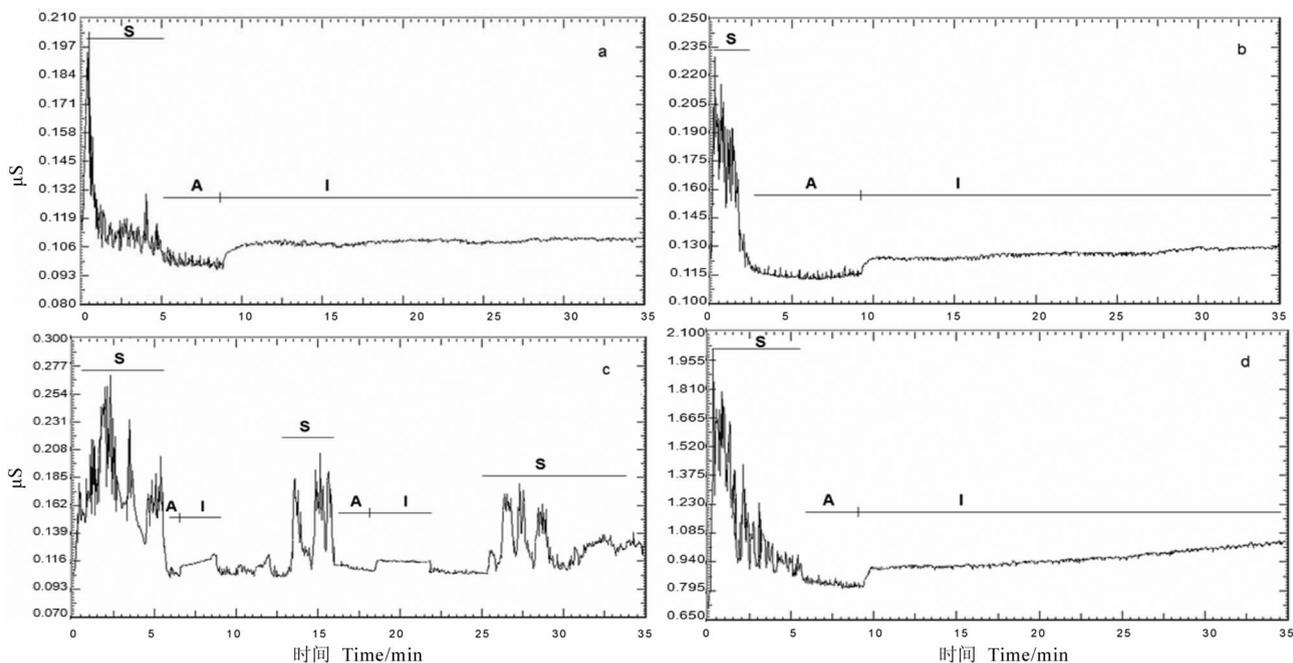


图1 不同处理条件下褐飞虱的典型刺吸电位图波形

Fig. 1. Typical waveform of EPG recorded during two populations of *N. lugens* feeding on rice varieties TN1 and Mudgo.

a—TN1 种群试虫取食 TN1(能致害); b—Mudgo 种群试虫取食 TN1(能致害); c—TN1 种群试虫取食 Mudgo(不能致害); d—Mudgo 种群试虫取食 Mudgo(能致害)。S—刺探与唾液分泌期; A—出现于 I 波前的未知取食波; I—吸食筛管液阶段。

a, TN1 population feeding on TN1 (virulent); b, Mudgo population feeding on TN1 (virulent); c, TN1 population feeding on Mudgo (non-virulent); d, Mudgo population feeding on Mudgo (virulent). S, Primary probing and salivation phase; A, The unknown waveform occurred before I waveform; I, Primary ingestion phase.

67 min。其中,10.3%的试虫持续 40~67 min。表明褐飞虱 TN1 种群取食抗性品种 Mudgo 时,需经历较长时间才开始刺探。

从波形图来看,在能致害的 3 种处理(图 1-a、图 1-b、图 1-d)中,取食波包括典型的 S、A 和 I 波,其中 I 波持续时间相对较长;而在不能致害的情况下(图 1-c),I 波的持续时间相对较短,常表现为不断重复

的 S、A 和 I 波组合(一组刺探、唾液分泌与筛管液吸食行为)。

2.2 不同处理对各取食波参数的影响

对 S、A、I 这 3 种取食波持续时间的三因素(褐飞虱种群类型、性别及供试水稻品种)方差分析结果表明(表 1),试虫性别对这 3 个参数均无明显影响,故后续各处理的比较中将雌雄试虫合在一起进行分

表 1 褐飞虱不同取食波参数的试虫性别、种群来源及供试水稻品种三因素方差分析

Table 1. Three-factor analysis of variance for different feeding parameters of *N. lugens* based on sex, population and rice variety.

变异来源 Variance source	S 波 S waveform		A 波 A waveform		I 波 I waveform	
	F 值 F value	P 值 P value	F 值 F value	P 值 P value	F 值 F value	P 值 P value
A	2.687	0.1054	0.122	0.7274	0.153	0.6973
B	1.843	0.1787	5.443	0.0224	25.821	0.0001
C	2.349	0.1297	2.893	0.0932	21.285	0.0001
A×B	0.631	0.4295	0.101	0.7518	2.320	0.1320
A×C	0.029	0.8661	0.965	0.3292	1.043	0.3105
B×C	3.755	0.0565	11.048	0.0014	34.439	0.0001
A×B×C	0.032	0.8592	0.698	0.4063	1.446	0.2330

A—褐飞虱的性别; B—不同致害性褐飞虱种群; C—供试水稻品种。

A, Sex of *N. lugens* tested; B, *N. lugens* populations with different virulence; C, Rice varieties tested.

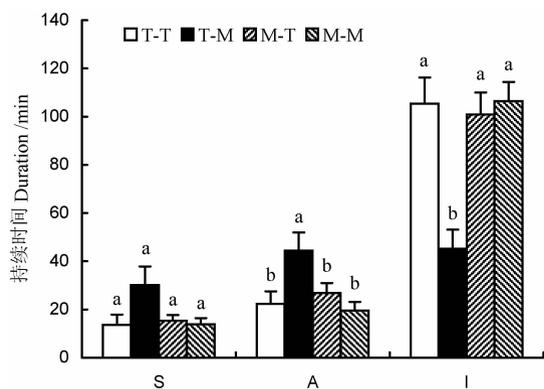


图2 不同处理条件下褐飞虱 S、A、I 波的持续时间
Fig. 2. Duration of S, A, and I waveforms recorded during two populations of *N. lugens* feeding on different rice varieties (Mean ± SE).

T-T—TN1 种群试虫取食 TN1(能致害); M-T—Mudgo 种群试虫取食 TN1(能致害); T-M—TN1 种群试虫取食 Mudgo(不能致害); M-M—Mudgo 种群试虫取食 Mudgo(能致害)。同一参数不同处理间具相同字母者示无显著差异($P > 0.05$)。图 3 同。

T-T, TN1 population feeding on TN1 (virulent); M-T, Mudgo population feeding on TN1 (virulent); T-M, TN1 population feeding on Mudgo (non-virulent); M-M, Mudgo population feeding on Mudgo (virulent). S, A and I are same as in Fig. 1. Bars with a same letter above within the parameters show no significant difference ($P > 0.05$). The same as in Fig. 3.

析; 试虫种群类型对 I 波、A 波的影响均显著, 其中对 I 波的影响极显著, 对 S 波的影响未达显著水平; 供试水稻品种对 I 波的影响亦极显著, 但对 A、S 波的影响不显著。不同因素的交互作用中, 试虫种群类型与供试水稻品种的交互作用对 A、I 波有极显著影响, 对 S 波的影响接近显著($P = 0.0565$), 其他两因素交互作用及三因素交互作用均无显著影响。表明 3 个因素中试虫种群类型、供试水稻品种对各取食波参数的影响相对较大。在 S、A、I 这 3 个取食波参数中, I 波较易受到这两个因素的影响, A 波次之, S 波再次之。

从不同处理试虫各取食波的持续时间来看(图 2), TN1 种群在 TN1 上及 Mudgo 种群在 TN1、Mudgo 上这 3 种代表能致害的处理的 S 波、A 波分别相当于不能致害时(TN 种群在 Mudgo 上)的 45.3%~51.0%、44.0%~60.4%, 其中 A 波在两种不同致害状况间的差异达显著水平; 而能致害的 3 种处理的 I 波持续时间相当于不能致害处理的 2.23~2.35 倍, 且差异达显著水平。表明能致害情况下刺探活动、分泌唾液等正式吸食汁液之前的时间相对较短, 而持续吸食时间相对较长。

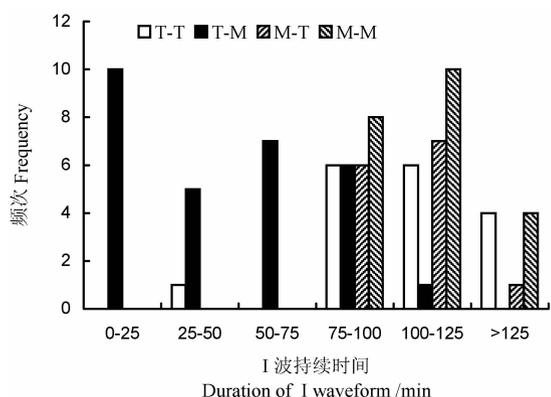


图3 不同处理条件下褐飞虱 I 波持续时间的频次分布
Fig. 3. Frequency distribution of duration of I waveform recorded during two populations of *N. lugens* feeding on different rice varieties.

2.3 I 波持续时间的频次分布及致害性的判别

如前所述, I 波持续时间较易受到试虫种群与饲养品种的影响。进一步分析其频次分布情况可以看出(图 3), 不能致害情况下, 多数试虫 I 波持续时间在 75 min 以内, 少数分布在 75~125 min; 而能致害的 3 种处理试虫中, 仅 1 例试虫的 I 波持续时间处于 25~50 min, 其余均分布于 75 min 以上。

若以 I 波持续时间 75 min 为标准, 低于该指标的判为不能致害, 高于该指标的判为能致害, 则 TN1 试虫的判别准确率为 82.6%(38/46), Mudgo 试虫的判别准确率为 100%(36/36)。

3 讨论

本研究表明不同致害性褐飞虱种群的刺吸电位图与该虫对不同抗感水稻品种的致害性相关, 在能致害的水稻品种上(Mudgo 种群在 Mudgo 和 TN1 上, TN1 种群在 TN1 上), 褐飞虱的 S 波(与刺探与唾液分泌有关)及 A 波(口针刺入筛管, 尚未吸食阶段)持续时间相对较短, I 波(吸食筛管液阶段)持续时间相对较长; 在不能致害的水稻品种上(TN1 种群在 Mudgo 上)则反之, S 波、A 波持续时间较长, I 波持续时间较短。这与 Khan 等^[14]对不同褐飞虱“生物型”的研究及其他有关褐飞虱及白背飞虱在抗、感虫品种上的研究结果^[12-13, 15-16, 18-22]一致。

利用抗、感水稻品种上刺吸电位图特征的差异评价水稻品种的抗虫性已有多例报道^[18-19, 22], 但用于稻飞虱致害性检测的研究仅见于沈君辉等^[21]对白背飞虱的研究。他们以筛管液取食持续时间作为评价白背飞虱致害性的重要指标, 但未给出致害性

判别的具体标准。本研究提供了一个利用刺吸电位图特征参数作为褐飞虱致害性判别标准的案例和尝试。在本研究试验条件下,以3 h观察时间内I波吸食累计持续75 min作为标准,对TN1种群和Mudgo种群的致害性进行判别,结果与两个褐飞虱种群的致害性基本一致,准确率分别达82.6%和100%。其中,TN1种群致害性的判别准确率相对较低,应与该种群中可能存在部分对抗性品种Mudgo表现为较强致害性(I波持续时间长于75 min)的个体有关,主要原因是TN1种群在感虫品种TN1上长期饲养,不存在足够的选择压淘汰其中可以致害抗性水稻品种的部分个体;而Mudgo种群因长期在抗性品种Mudgo上胁迫饲养,不能致害Mudgo的个体得以淘汰,在对Mudgo的致害能力方面表现相对一致。

利用刺吸电位图对褐飞虱的致害性进行判别还需考虑多种影响因素。本研究基于I波持续时间的褐飞虱致害性判别结果是在对试虫连续观察3 h的情况下获得的,若缩短观察时间则判别准确率降低。如TN1种群可以致害TN1,不能致害Mudgo,若只取记录的前1 h或2 h数据进行分析,两个品种上的I波累计持续时间仅雌虫有显著差异,而雌虫则差异不显著(数据未列出)。同时,褐飞虱在水稻品种上的刺吸电位图还受到环境温度和湿度、抗性水稻品种类型和生育期、试虫虫龄等因素的影响,尚需进一步研究阐明,进而建立一种实用的基于刺吸电位图技术的褐飞虱个体致害性检测新方法。

参考文献:

- [1] 程遐年, 吴进才, 马飞. 褐飞虱研究与防治. 北京: 中国农业出版社, 2003: 1.
- [2] Saxena R, Barrion A. Biotypes of the brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stål) and strategies in deployment of host plant resistance. *Insect Sci Appl*, 1985, 6: 271-289.
- [3] 巫国瑞, 陶林勇, 俞晓平, 等. 褐飞虱生物型的发生与现状. *昆虫知识*, 1990, 27(1): 47-51.
- [4] 张志涛, 陈伟, 姜人春, 等. 稻褐飞虱致害性的转化(同翅目: 飞虱科). *昆虫学报*, 1997, 40(增): 110-115.
- [5] 刘芳, 傅强, 赖凤香, 等. 稻褐飞虱致害性遗传与性别的关联性研究. *昆虫学报*, 2005, 48(6): 892-897.
- [6] 孙佳音, 傅强, 赖凤香, 等. 不同褐飞虱寄主种群类酵母共生菌形态和数量的比较. *中国水稻科学*, 2009, 23(5): 546-550.
- [7] Cohen M, Medina E. Brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, resistance in rice cultivar IR64: Mechanism and role in successful *N. lugens* management in Central Luzon, Philippines. *Entomol Exp Appl*, 1997, 85: 221-229.
- [8] Sogawa K. The rice brown planthopper: Feeding physiology and host plant interactions. *Annu Rev Entomol*, 1982, 27: 49-73.
- [9] McLean D L, Kingey M G. A technique for electronically recording of aphid feeding and salivation. *Nature*, 1964, 202: 1358-1359.
- [10] Backus E A, Serrano M S, Ranger C M. Mechanisms of hopperburn: An overview of insect taxonomy, behavior, and physiology. *Annu Rev Entomol*, 2005, 50: 125-151.
- [11] Walker G P, Backus E A. Principles and applications of electronic monitoring and other techniques in the study of homopteran feeding behavior//Thomas Say Publications in Entomology. Lanham, MD: Entomological Society of America, 2000.
- [12] Khan Z R, Saxena R C. Electronically recorded waveforms associated with the feeding behavior of *Sogatella furcifera* (Homoptera: Delphacidae) on susceptible and resistant rice varieties. *J Econ Entomol*, 1984, 77: 1479-1482.
- [13] Velusamy R, Heinrichs E A. Electronic monitoring of feeding behavior of *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae) on resistant and susceptible rice cultivars. *Environ Entomol*, 1986, 15: 678-682.
- [14] Khan Z R, Saxena R C. Probing behavior of three biotypes of *Nilaparvata lugens* (Stål) (Homoptera: Delphacidae) on different resistant and susceptible rice varieties. *J Econ Entomol*, 1988, 81: 1338-1345.
- [15] Kimmins F M. Electrical penetration graphs from *Nilaparvata lugens* (Stål) on resistant and susceptible rice varieties. *Entomol Exp Appl*, 1989, 50: 69-79.
- [16] Hattori M. Probing behavior of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål) (Homoptera: Delphacidae) on a non-host barnyard grass, and resistant and susceptible varieties of rice. *Appl Entomol Zool*, 2001, 36(1): 83-89.
- [17] Hattori M, Sogawa K. Oviposition behaviour of the rice planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål), and its electronic monitoring. *J Insect Behav*, 2002, 15(3): 283-292.
- [18] Hattori M. Electronic monitoring of feeding and oviposition behaviour of rice planthopper and its application in plant resistance study. *Chin J Rice Sci*, 2003, 17(Suppl): 31-36.
- [19] 服部诚. 电子记录稻飞虱取食和产卵行为及其在植物抗性研究中的应用. *中国水稻科学*, 2003, 17(增): 31-36.
- [20] 沈君辉, 刘光杰, 陈爱辉, 等. 电子记录白背飞虱的取食和产卵行为. *中国水稻科学*, 2003, 17(1): 73-76.
- [21] 沈君辉, 李平, 刘光杰. 运用电子记录技术检测白背飞虱田间种群致害性. *应用生态学报*, 2005, 16(6): 1090-1094.
- [22] 陈建明, 俞晓平, 程家安. 电子取食监测仪在植物抗性研究中的应用. *昆虫知识*, 2005, 42(5): 485-490.
- [23] Seo B Y, Kwon Y H, Jung J K, et al. Electrical penetration graphic waveforms in relation to the actual positions of the stylet tips of *Nilaparvata lugens* in rice tissue. *J Asia-Pacific Entomol*, 2009, 12: 89-95.
- [24] Hao P, Liu C, Wang Y, et al. Herbivore-induced callose deposition on the sieve plates of rice: An important mechanism for host resistance. *Plant Physiol*, 2008, 146: 1810-1820.
- [25] 唐启义, 冯明光. DPS数据处理系统: 实验设计、统计分析及数据挖掘. 北京: 科学出版社, 2007: 85-168.