

灰飞虱取食行为刺吸电位波形的初步研究^{*}

荆 裴^{1**} 白素芬¹ 刘 芳^{2***}

(1. 河南农业大学植物保护学院 郑州 450002; 2. 扬州大学园艺与植物保护学院 扬州 225009)

摘 要 利用刺吸电位技术(EPG)研究了灰飞虱 *Laodelphax striatellus* (Fallén) EPG 波形与其取食行为之间的对应关系,并对不同虫龄、性别灰飞虱的取食行为进行 EPG 特征参数的比较。结果表明,灰飞虱取食行为的 EPG 波形可分为 NP、N1、N2-a、N2-b、N3、N4 和 N5 7 种类型,波谱的形状和频率与已报道的褐飞虱 *Nilaparvata lugens* (Stål) 的 EPG 取食波形基本相同。首次发现灰飞虱在口针刺探水稻维管束进行唾液分泌时可明显分为两个阶段即 N2-a 和 N2-b。N2-a 波表示口针移动并伴随唾液的分泌;N2-b 波与灰飞虱持续分泌唾液的行为有关。经对比,不同虫龄、性别灰飞虱的 EPG 取食波形基本相同,但 EPG 特征参数存在差异。雌虫刺探次数显著多于雄虫和低龄若虫;成虫口针在临近韧皮部细胞外移动的时间显著长于若虫。

关键词 灰飞虱, 刺吸电位技术, 取食行为, 虫龄, 性别

Preliminary research on electrical penetration graph (EPG) waveforms in relation to feeding behavior of *Laodelphax striatellus*

JING Pei^{1**} BAI Su-Fen¹ LIU Fang^{2***}

(1. College of Plant Protection, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;

2. Plant Protection College, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract The relationship between EPG waveforms and stylet penetration behavior of the small brown planthopper *Laodelphax striatellus* (Fallén) was evaluated through the use of an electrical penetration graph technique (EPG). The EPG variables of different instars and sexes of *L. striatellus* were also compared. The results showed that the EPG signals of the small brown planthopper were classified into seven different waveforms, NP, N1, N2-a, N2-b, N3, N4, and N5. With similar shapes and frequencies to those of *Nilaparvata lugens* (Stål). A new special waveform was first identified in the salivation phase of N2. It can be divided into two parts, N2-a and N2-b. N2-a corresponds to salivation and stylet movement, and N2-b to sustained salivation. EPG waveforms of *L. striatellus* were similar among different instars and sexes, however, EPG variables differed. Females showed higher probe frequency than males and young nymphs and adults had longer periods of extracellular movement of stylets near the phloem region than nymphs.

Key words *Laodelphax striatellus*, electrical penetration graph, feeding behavior, instar, sex

灰飞虱 *Laodelphax striatellus* (Fallén) 是我国水稻种植区的主要害虫。该虫除直接取食水稻汁液造成水稻减产,还可传播水稻条纹叶枯病、黑条矮缩病和玉米粗缩病,传毒造成的为害较直接为害更为严重,2004 年江苏省仅灰飞虱传播的水稻条纹叶枯病造成的经济损失就高达 100 亿元(郝丹青等,1995;张景飞等,2005)。这两种为害方式

都是灰飞虱在取食过程中产生的。因此,明确灰飞虱取食行为的详细过程对有效控制灰飞虱的为害具有指导作用。

刺吸电位技术(electrical penetration graph, EPG)作为一种用来记录植食性刺吸式口器昆虫在寄主组织中刺探和取食行为的电生理技术,因其定位准确、直观,而成为研究刺吸式昆虫取食行

* 资助项目:国家自然科学基金项目(30971914;31171842)。

**E-mail: jingpei88215@163.com

***通讯作者, E-mail: liufang@yzu.edu.cn

收稿日期:2013-01-21,接受日期:2013-04-01

为的重要手段。早期的 EPG 技术主要用于建立蚜虫的取食行为与 EPG 波形的对应关系。目前,已对蚜虫、粉虱、褐飞虱等重要害虫建立了比较完善的 EPG 图谱,从中发现不同的昆虫即使取食相同植物所产生的 EPG 波形也不尽相同(闫凤鸣, 2000),同一种昆虫的成虫和若虫的波形也会截然不同(雷宏和徐汝梅, 1998),体现出不同昆虫 EPG 波形的多样性。随着该技术的逐步完善和近年来刺吸式昆虫为害的加重,EPG 的应用不断深入,涉及刺吸式昆虫的寄主专化性、植物的抗虫机制、对农药的抗性机理以及传毒机制等多个研究领域(McLean and Kinsey, 1965, 1967, 1986; 罗晨等, 2005)。然而,作为水稻重要害虫之一的灰飞虱,其 EPG 波形至今尚未见报道。

本文利用 EPG 技术研究了灰飞虱 EPG 波形与其取食行为细节的对应关系,以及不同虫龄和性别灰飞虱取食行为的 EPG 波形和特征参数,以期为灰飞虱对寄主植物的适应性、传毒机制以及品种抗性等研究奠定基础 and 提供可靠方法。

1 材料与方法

1.1 植物和昆虫

供试植物选用感虫水稻品种武育梗 3 号,长至三叶期备用。供试昆虫灰飞虱采自扬州大学试验田,在温度(25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$, $65\% \pm 5\%$ RH, 光周期 L:D = 12:12, 光照强度 3 000 ~ 4 000 lx 的温室内以武育梗 3 号饲养。

1.2 EPG 记录

将灰飞虱饲水饥饿 1 h 后,迅速用可导电胶将灰飞虱的中胸背板与一根直径为 20 μm , 长 2 ~ 3 cm 的金丝粘合,再通过铜丝连接于 8 通道昆虫刺吸信号电子记录仪上(型号:CR-8 DC-EPG I, 购自武汉普赛斯电子技术有限公司)。点击开始采集按钮后,将试虫放置在供试植株的茎秆上进行取食。记录过程在温室内的屏蔽罩中进行。

1.3 灰飞虱取食的 EPG 波形认定

利用 EPG 技术观察、记录不同虫龄和性别的灰飞虱在取食过程中产生的 EPG 波形。参照褐飞虱取食行为与 EPG 波形的对应关系(Seo *et al.*, 2009),对灰飞虱的取食波形进行类比、分析及认定。

1.4 不同虫龄、性别灰飞虱取食行为的比较

将灰飞虱低龄若虫(1 ~ 2 龄)、高龄若虫(3 ~ 5 龄)、雌虫、雄虫分别接入 8 通道 DC-EPG 中进行 4 h 的取食行为记录。以各个取食行为环节的持续时间为指标,分析比较不同虫龄及性别之间的取食行为差异。单头灰飞虱为一个重复,每个处理设 20 个重复。

1.5 数据的处理

用 DPS 统计软件进行单因素试验统计分析。处理结果均以平均值 $\pm$ 标准误表示。

2 结果与分析

2.1 灰飞虱 EPG 波形图谱

依据波谱的形状、振幅和频率,将灰飞虱在取食过程中产生的 EPG 波形分为 7 种类型:即 NP、N1、N2-a、N2-b、N3、N4 和 N5(图 1)。它们分别代表灰飞虱口针在水稻表面和组织内部刺探、移动、分泌唾液和取食的典型波形。

其中,NP 波表示灰飞虱的口针尚未产生刺探行为,此时灰飞虱在水稻表面停留或爬动,其产生的电势水平几近为零,EPG 波形图谱近似直线(图 1:B)。N1 波表示口针的刺探行为,当灰飞虱口针刺入植物组织内部时,其电势水平会根据植物本身的电势水平产生急剧的升高或降低,但其刺探过程通常只维持数秒(图 1:C)。刺探之后,灰飞虱的口针开始向维管束移动并伴随有唾液的分泌,在此阶段会形成一段无规律且振幅较小的波形,我们将此波形定义为 N2-a 波(图 1:C)。在 N2-a 波之后,灰飞虱开始持续分泌唾液,产生一段比较规律的波形即 N2-a 波(图 1:D)。通常 N2 波之后会紧跟着 N3 波或 N5 波,N3 波是口针在临近韧皮部细胞外面移动的波形,此波形通常每 3 ~ 7 s 重复一次,并且与其他波形相比波形的电势水平变化幅度较大(图 1:E)。N4 波与韧皮部取食汁液有关,此波形在 N3 波之后产生(图 1:H),是一段频率较高(3 ~ 8 Hz)、振幅较小、波峰向上的有规律重复的波形,通常 N4 波能持续几分钟或几小时(图 1:F)。N5 波表示吸食木质部导管汁液,此波形的波峰向下并且是有规律重复的,其频率可高达 18 Hz(图 1:G)。

综合以上 EPG 图谱信息,确立了灰飞虱 EPG 波形与其刺探、取食行为的对应关系(表 1),初步明确了灰飞虱取食波形的生物学意义。

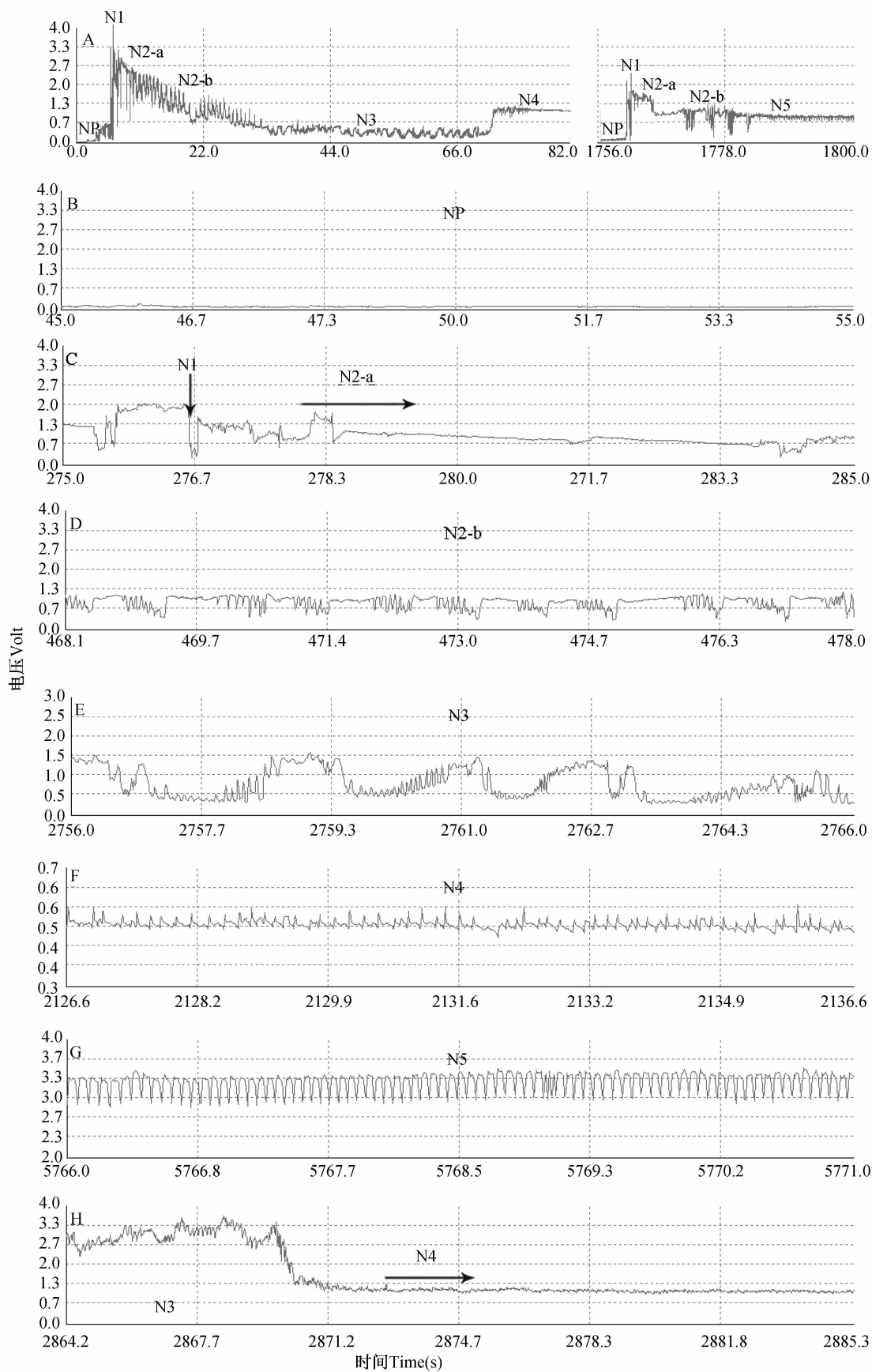


图 1 灰飞虱 EPG 波形图谱

Fig. 1 The EPG waveforms of *Laodelphax striatellus*

注:A. EPG 记录的所有典型波形; B. 非刺探阶段产生的 EPG 波形(NP 波);C. 口针在刺探、移动及伴随唾液分泌阶段产生的 EPG 波形(N1 波和 N2-a 波);D. 口针持续分泌唾液阶段产生的 EPG 波形(N2-a 波);E. 口针在临近韧皮部细胞外移动产生的 EPG 波形(N3 波);F. 持续吸食韧皮部汁液产生的 EPG 波形(N4 波);G. 吸食木质部导管汁液产生的 EPG 波形(N5 波);H. N3 波向 N4 波过渡时的波形。

A. all identified typical EPG waveforms; B. the waveform of non-penetration phase; C. the waveform of stylet penetration and movement with salivation (N1 and N2-a); D. the waveform of sustained salivation (N2-a); E. the waveform of extracellular movement of stylet near the phloem region (N3); F. the waveform of phloem sap ingestion (N4); G. the waveform of xylem sap ingestion (N5); H. the waveform of transition phase from N3 to N4.

表 1 灰飞虱口针刺探行为与对应的 EPG 波形

Table 1 Penetration behaviors of *Laodelphax striatellus* in relation to EPG waveforms

EPG 波形 EPG waveforms	刺探行为 Penetration behaviors	频率 Frequency (Hz)
NP	口针未刺探 Non-penetration	—
N1	口针刺探进入水稻表皮 The stylet penetrating into rice epidermis	—
N2 N2-a	分泌唾液及口针移动 Salivation and movement of stylet	—
N2-a	持续分泌唾液 Sustained salivation	0.8 – 1.0
N3	口针在临近韧皮部的细胞外移动 Extracellular movement of stylet near the phloem region	0.14 – 0.30
N4	吸食韧皮部汁液 Sap ingestion in phloem	3 – 8
N5	吸食木质部水分 Water ingestion in xylem	15 – 18

2.2 不同虫龄、性别灰飞虱取食行为的 EPG 特征比较

对不同虫龄、性别灰飞虱取食行为的 EPG 图谱进行系统比较,未发现有特殊波形的出现,它们的波谱特征基本相同。

灰飞虱取食过程中,低龄若虫、高龄若虫、雌虫和雄虫在非刺探阶段即 NP 波的持续时间没有显著差异。表明寄主植物水稻表面的物理结构和化学物质对不同虫龄、性别灰飞虱的影响一致。雌虫在 4 h 取食过程中口针刺探总次数为(35.6 ± 4.1)次,显著高于雄虫(21.2 ± 3.2)次和低龄若虫(16.3 ± 2.8)次。这可能是雌虫对水稻表皮、叶肉层的取食阻碍因子更敏感。灰飞虱口针移入水稻维管束后,开始分泌唾液,低龄若虫和高龄若虫唾液分泌的持续时间分别为(56.44 ± 5.77) min、(68.55 ± 10.08) min,分别是雄虫(30.31 ± 4.64) min 的 1.91 和 2.32 倍,达显著性差异;但雌、雄虫之间差异不显著。雌、雄虫口针在临近韧皮部细胞外移动的持续时间明显高于若虫。不同虫龄和

性别的灰飞虱在取食韧皮部和木质部汁液的持续时间均无明显差异,但在韧皮部的取食时间明显长于在木质部的取食时间(表 2)。灰飞虱依靠韧皮部汁液来满足自身生长发育对营养物质的需求,而吸食木质部汁液则用来保持体内的水分平衡。

3 结论与讨论

灰飞虱在取食过程中产生 7 种典型的 EPG 波形,即 NP、N1、N2-a、N2-a、N3、N4 和 N5,与褐飞虱的基本相同(Kimmins, 1989; Seo *et al.*, 2009),而且非刺探波 NP、口针刺探波 N1、口针移动并伴随唾液分泌的波 N2-a、韧皮部持续取食波 N4 以及木质部取食波 N5 与蚜虫和粉虱的 EPG 波形的各项参数也基本相同(Tjallingii, 1988; 雷宏和徐汝梅, 1998)。沈军辉等(2003)报道的白背飞虱 *Sogatella furcifera* 的 EPG 电位图仅有 3 种波形,S、A 和 I 波,分别与灰飞虱的 N2、N3 和 N4 波相对应。所不同的是,灰飞虱在产生代表口针移动及

表 2 不同虫龄、性别灰飞虱取食行为 EPG 特征参数的比较

Table 2 The EPG variables of *Laodelphax striatellus* among different instars and sex

取食环节 Feeding phases	低龄若虫 Young nymphs	高龄若虫 Old nymphs	雌虫 Females	雄虫 Males	方差分析 Analysis of variance	
					F 值	P 值
					F value	P value
NP 波的持续时间 Total duration of NP (min)	145.70 ± 11.75a	126.11 ± 13.33a	104.63 ± 10.84a	137.63 ± 10.46a	2.346	0.0794
刺探总次数 Total numbers of stylet penetration	16.30 ± 2.80b	27.10 ± 4.00ab	35.60 ± 4.10a	21.20 ± 3.20b	5.443	0.0019
N2 的持续时间 Total duration of N2 (min)	56.44 ± 5.77a	68.55 ± 10.08a	50.65 ± 4.99ab	30.31 ± 4.64b	5.619	0.0016
N3 的持续时间 Total duration of N3 (min)	3.37 ± 0.88b	13.15 ± 2.91b	29.75 ± 5.37a	27.56 ± 5.37a	11.18	0
N4 的持续时间 Total duration of N4 (min)	34.31 ± 6.64a	29.58 ± 10.40a	49.53 ± 9.38a	43.85 ± 10.60a	0.926	0.4324
N5 的持续时间 Total duration of N5 (min)	0.19 ± 0.16a	2.61 ± 2.47a	5.02 ± 2.93a	0.66 ± 0.53a	1.293	0.2829

注:表内数据为平均值 ± 标准误,同一行数据后标有不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Data in the table are mean ± SE, and followed by different letters in the same row indicate significantly different ($P < 0.05$).

分泌唾液的波之后会经历一段规律重复的波形,然后再进入 N3 波或 N5 波阶段,这段规律重复的波形在褐飞虱、蚜虫、粉虱等其他刺吸式昆虫中均未发现(雷宏和徐汝梅,1998;Tjallingii,1988;Seo *et al.*,2009)。我们将其定义为 N2-a 波,表示灰飞虱开始持续分泌唾液。这一特殊波形的出现反映了灰飞虱与水稻间的特殊关系,而该波形的确定也为我们后续开展的灰飞虱获毒和传毒路径研究提供了充足的依据(另文发表)。Velusamy 和 Heinirichs(1986)在研究褐飞虱取食行为时发现了一种褐飞虱特有的 EPG 波形(A 波),A 波通常出现在褐飞虱持续取食之前,他们推测 A 波可能与口针刺入筛管后的味觉判别有关。经对比分析,此波与本研究中的 N3 波相似,其生物学意义表示昆虫开始持续取食之前在临近韧皮部区域活动的行为。褐飞虱、蚜虫和粉虱口针在韧皮部细胞内行为的波形均可分为两种,即 N4-a 波、N4-b 波或 E1 波、E2 波。N4-a 波或 E1 波表示昆虫口针在韧皮部筛管移动并分泌水溶性唾液(Tjallingii,1988;雷宏和徐汝梅,1998;Seo *et al.*,2009)。而灰飞虱取食行为过程中并未发现这类波形,只产生一种

与持续取食有关的 N4 波,N4 波与上述 N4-b 波或 E2 波对应,这说明不同刺吸式昆虫 EPG 波形的特殊性和多样性。N4 波或 E 波是衡量植物抗性的重要标志(罗晨等,2005),并且与持久性病毒的传播有关(Tjallingii,2006)。灰飞虱的 N4 波与植物抗性、病毒传递等的关系有待进一步研究。目前,3 种稻飞虱中只有褐飞虱 EPG 取食图谱有详细报道,在此基础上,已开展了有关褐飞虱致害性、抗药性以及外源物质对褐飞虱取食行为影响的一系列研究(何月平等,2010;金亮等,2011;潘建红等,2011)。我们相信随着灰飞虱 EPG 波形的认定及其生物学意义的初步解释,必将为今后深入揭示灰飞虱成灾机理奠定基础。

昆虫本身的发育、生理和行为状态会直接影响昆虫的取食行为,同时也会对植物本身的防御反应做出不同的行为反应(裴元慧等,2007)。本研究表明不同虫龄、性别灰飞虱在取食过程中产生的 EPG 特征参数有所不同。在 4 h 的取食过程中灰飞虱雌虫的刺探次数显著高于雄虫和低龄若虫,说明雌虫判断寄主适合性的能力较强,这可能与其生殖的需求相关联。在利用 EPG 研究褐飞虱

和白背飞虱在水稻不同抗性品种上的取食行为时发现,飞虱在抗虫品种上的口针重复性刺探时间与感虫品种相比较长,说明抗虫品种的表皮、叶肉层中明显存在有取食阻碍因子(Khan and Saxena, 1984; Velusamy and Heinirichs, 1986; Kimmins, 1989)。也许正是这些取食阻碍因子的存在,使灰飞虱雌虫的刺探行为更为明显。一些刺吸式昆虫如蚜虫、叶蝉类昆虫在取食之前会先在植物体内分泌唾液以分解植物细胞壁从而保证其取食过程中植物汁液的顺利流动(裴元慧等,2007)。灰飞虱若虫在唾液分泌阶段持续的时间远高于雄虫,可能受自身生理条件的限制需要较长时间分泌唾液用以分解植物细胞壁。成虫口针在持续取食之前临近韧皮部细胞外的探索时间显著高于若虫,由此推测,灰飞虱的若虫较成虫对抗性植物可能会表现出较强的适应能力。不同虫龄、性别灰飞虱在韧皮部和木质部取食阶段的持续时间均没有显著差异,这表明灰飞虱的取食能力并没有受虫龄和性别的影响。同时,研究发现灰飞虱在韧皮部的取食时间明显多于在木质部的取食时间,进一步验证了灰飞虱与褐飞虱一样主要依赖摄取韧皮部汁液维持其生长发育(Novotny and Wilson, 1997)。

致谢:中国水稻研究所傅强研究员在 EPG 操作及图谱分析中提供宝贵建议,在此表示感谢。

参考文献 (References)

- Khan ZR, Saxena RC, 1984. Electronically recorded waveforms associated with the feeding behavior of *Sogatella furcifera* (Homoptera: Delphacidae) on susceptible and resistant rice varieties. *J. Econ. Entomol.*, 77(6):1479 – 1482.
- Kimmins FM, 1989. Electrical penetration graphs from *Nilaparvata lugens* on resistant and susceptible rice varieties. *Entomol. Exp. Appl.*, 50(1):69 – 79.
- McLean DL, Kinsey MG, 1965. Identification of electrically recorded curve patterns associated with aphid salivation and ingestion. *Nature*, 205:1130 – 1131.
- McLean DL, Kinsey MG, 1967. Probing behavior of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. I. Definitive correlation of electronically recorded waveforms with aphid probing activities. *Ann. Ent. Soc. Am.*, 60(2):400 – 405.
- McLean DL, Kinsey MG, 1968. Probing behavior of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. III. Effect of temperature differences on certain probing activities. *Ann. Ent. Soc. Am.*, 61(4):927 – 933.
- Novotny V, Wilson MR, 1997. Why are there no small species among xylem-sucking insects? *Evol. Ecol.*, 11(4):419 – 437.
- Seo BY, Kwon YH, Jung JK, Kim GH, 2009. Electrical penetration graphic waveforms in relation to the actual positions of the stylet tips of *Nilaparvata lugens* in rice tissue. *J. Asia-Pac. Entomol.*, 12(2):89 – 95.
- Tjallingii WF, 1988. Electrical recording of stylet penetration activities//Minks AK, Harrewijn P (eds.). *Aphids, Their Biology, Nature Enemies and Control*. 2B. Elsevier, Amsterdam. 95 – 108.
- Tjallingii WF, 2006. Salivary secretions by aphids interacting with proteins of phloem wound responses. *J. Exp. Bot.*, 57(4):739 – 745.
- Velusamy R, Heinrichs EA, 1986. Electronic monitoring of feeding behavior of *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae) on resistant and susceptible rice cultivars. *Environ. Entomol.*, 15(3):678 – 682.
- 郝丹青, 顾才东, 洪波, 1995. 灰飞虱发生规律与防治. 宁夏农学院学报, 16(1):74 – 78.
- 何月平, 陈利, 陈建明, 陈列忠, 张珏锋, 2010. 吡蚜酮对水稻褐飞虱取食行为的影响. 中国水稻科学, 24(6):635 – 640.
- 金亮, 俞晓平, 边亚琳, 周义深, 郝培应, 2011. 苦杏仁酸对褐飞虱取食行为影响的刺探电位测试分析. 中国计量学院学报, 22(2):95 – 101.
- 雷宏, 徐汝梅, 1998. 温室白粉虱取食行为的刺探电位 (EPG) 研究. 昆虫学报, 41(2):113 – 123.
- 罗晨, 岳梅, 徐洪富, 张芝利, 2005. EPG 技术在昆虫学研究中的应用及进展. 昆虫学报, 48(3):437 – 443.
- 潘建红, 陈锋, 何佳春, 赖凤香, 傅强, 2011. 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, 25(1):86 – 90.
- 裴元慧, 孔锋, 韩国华, 孙垒光, 孙绪良, 2007. 昆虫取食行为研究进展. 山东林业科技, 6:97 – 101.
- 沈君辉, 刘光杰, 陈爱辉, 寒川一成, 2003. 电子记录白背飞虱的取食和产卵行为. 中国水稻科学, 17(1):73 – 76.
- 闫凤鸣, 2000. 芥子油苷在甘蓝蚜寄主部位选择行为中的作用. 昆虫学报, 43(3):297 – 304.
- 张景飞, 龚林根, 瞿燕, 屈惠良, 2005. 2004 年常熟市 5、6 代灰飞虱严重危害水稻. 中国植保导刊, 25(4):39.