

基于 EPG 技术分析杭菊两主栽品种对三种菊蚜抗性及其相关抗性物质

祝 愿¹ 王梦馨¹ 崔 林¹ 沈子尧² 周建松³ 韩宝瑜^{1*}

(1. 中国计量大学浙江省生物计量及检验检疫技术重点实验室, 杭州 310018; 2. 桐乡市农机推广站, 浙江 桐乡 314500; 3. 桐乡市农业技术推广服务中心, 浙江 桐乡 314500)

摘要: 为比较杭白菊主栽品种早、晚小洋菊对菊小长管蚜 *Macrosiphoniella sanborni*、棉蚜 *Aphis gossypii*、桃蚜 *Myzus persicae* 的抗性, 通过刺吸电位技术 (electrical penetration graph, EPG) 研究菊蚜在菊顶叶上刺吸行为, 并检测了菊顶叶主要化合物。结果表明: 在晚小洋菊上, 菊小长管蚜的 E1、E2 波平均持续时间 4.31、3.47 min, 分别短于在早小洋菊上的 4.63、3.75 min; 棉蚜、桃蚜的 E1、E2 波平均持续时间分别为 4.32、4.72 min 和 4.92、4.64 min; 3 种蚜虫的平均刺探次数均大于在早小洋菊上的平均刺探次数。聚类分析结果显示, 2 个主栽品种之间抗性存在差异。早小洋菊顶叶平均可溶性糖和可溶性蛋白含量分别为 2.71 mg/g 和 25.36 mg/g, 均高于晚小洋菊; 早小洋菊顶叶总酚含量为 0.24 mg/g, 显著低于晚小洋菊; 早、晚小洋菊总黄酮含量分别为 3.46 mg/g 和 3.37 mg/g。早小洋菊顶叶可溶性糖、可溶性蛋白含量基本上与每种菊蚜的 E1、E2 波持续时间显著正相关, 总酚含量、总黄酮含量与每种菊蚜的 E1 或 E2 波持续时间显著负相关。推测早小洋菊对于菊长管蚜的抗性稍弱于晚小洋菊, 2 种杭白菊对棉蚜或桃蚜的抗性相当, 且菊叶中的这 4 种物质含量与抗蚜性相关。

关键词: 杭白菊; 菊蚜; 抗蚜性; 刺吸电位技术; 抗性物质

Analysis of resistance of two elite *Chrysanthemum morifolium* cultivars to three species of aphids using EPG techniques and their potential resistant substances

Zhu Yuan¹ Wang Mengxin¹ Cui Lin¹ Shen Ziyao² Zhou Jiansong³ Han Baoyu^{1*}

(1. Zhejiang Provincial Key Laboratory of Biometrology and Inspection & Quarantine, China Jiliang University, Hangzhou 310018, Zhejiang Province, China; 2. Extension Station for Agricultural Machinery of Tongxiang City, Tongxiang 314500, Zhejiang Province, China; 3. Extension Center for Agricultural Techniques of Tongxiang City, Tongxiang 314500, Zhejiang Province, China)

Abstract: In order to compare the differences in the resistance to three species of aphids (*Macrosiphoniella sanborni*, *Aphis gossypii* and *Myzus persicae*) between two elite Hangbaiju (*Chrysanthemum morifolium*) cultivars: Zaoxiaoyangju and Wanxiaoyangju, the probing behaviors of these aphids on the apical leaves of the chrysanthemum plants were studied by using electrical penetration graph (EPG) techniques, and the main compounds of these apical leaves were also analyzed. The results showed that the durations of E1 and E2 waves in *M. sanborni* on the cultivar Wanxiaoyangju (4.31 min and 3.47 min, respectively) were shorter than those on the cultivar Zaoxiaoyangju (4.63 min and 3.75 min); the durations of E1 and E2 waves in *A. gossypii* and *M. persicae* were 4.32, 4.72 min and 4.92, 4.64 min, respectively. The average numbers of probes of the three aphids on Wanxiaoyangju were higher than those on

Zaoxiaoyangju. The cluster analysis separated these two cultivars clearly into two different groups (classes), indicating obvious differences in resistance against these aphids. The average contents of soluble sugars (2.71 mg/g) and soluble proteins (25.36 mg/g) in the apical leaves of Zaoxiaoyangju were more than those in the Wanxiaoyangju apical leaves, whilst the total content of phenols in the former (0.24 mg/g) was significantly lower than that in the latter. The total contents of flavones in Zaoxiaoyangju (3.46 mg/g) and Wanxiaoyangju (3.37 mg/g) were very similar. Moreover, in Zaoxiaoyangju apical leaves the contents of soluble sugars and soluble proteins were positively correlated with E1 and E2 durations of each aphid species, except the E2 duration in *M. persicae*; both contents of phenols and flavones were negatively correlated with either E1 or E2 duration of each aphid species. The results indicated that Zaoxiaoyangju exhibited a relatively weaker resistance against the aphid *M. sanborni* than did Wanxiaoyangju, and there were no significant differences in the resistance to the aphids *A. gossypii* and *M. persicae* between these two cultivars. The contents of these substances in the chrysanthemum leaves seemed to be related to their resistance against or susceptibility to the aphids.

Key words: *Chrysanthemum* cultivars of Hangbaiju; *Chrysanthemum* aphids; resistance against aphid; electrical penetration graph (EPG); resistant substance

杭白菊 *Chrysanthemum morifolium* Ramat ‘Hangbaiju’ 是我国最知名的茶用菊花,原产地是浙江省桐乡市,其严重遭受菊小长管蚜 *Macrosiphoniella sanborni*、棉蚜 *Aphis gossypii* 和桃蚜 *Myzus persicae* 等蚜虫为害(蒋细旺,2005;丁佩等,2015)。菊蚜刺吸菊叶和花瓣汁液,排泄蜜露落于下层叶片上滋生煤污病菌而减弱光合作用,同时还可传播菊花B病毒(*Chrysanthemum virus B*, CVB)、黄瓜花叶病毒(*Cucumber mosaic virus*, CMV)等植物病毒(张春桃等,2010)。尤其是花期时芬芳的花香、花蕊的金黄和洁白的花瓣诱引各种菊蚜潜入花朵,再随着花朵被采摘、加工和贮运而留于菊花产品中,冲泡时蚜尸浸入菊花汤中,致饮者倒胃口,也损坏杭菊形象。长期施用茚虫威和吡虫啉等农药治蚜,已导致菊蚜产生高抗药性,时而引发菊花产品农药残留超标(沈瑶等,2017)。因此,如何有效控制菊蚜已成为杭白菊生产上的难题,种植抗虫品种也成为治蚜举措。

迄今浙江省桐乡市杭白菊原产地孕育了数十个栽培品种,田间作业发现菊花植株、花朵形态和色泽有异,其抗蚜性未知。目前,关于作物抗蚜性的研究大多集中在物理抗虫性和生化物质抗虫性两个方面(郭广君等,2016;杨宙等,2017)。叶片茸毛密度大、香精油含量高的菊花品种抗蚜性能偏强(Deng et al.,2010)。菊花品种的防御酶活性存在差异,则其对蚜虫侵染的响应就不同。刺吸电位技术(electrical penetration graph, EPG)常用作检测作物抗蚜性的辅助手段,其可以快速地解析品种之间抗性差异,配合抗、感性物质的化学分析等试验可进一步认

识植物抗感性与刺吸式昆虫间的互作关系(何应琴等,2015)。本课题组使用EPG技术分析了11个茶树良种对假眼小绿叶蝉 *Empoasca vitis* (Göthe) 抗性差异,发现叶蝉取食波历期和刺探次数可作为茶树抗性评价的主要参数,儿茶素类是一种主要抗性物质(郑雨婷等,2017)。选用对假眼小绿叶蝉抗性水平差异影响较大的8个茶树品种含有的30多种生化物质,将其加到人工饲料中饲养该叶蝉,统计其存活率,初步确定 γ -氨基丁酸是抗虫物质之一,还认为糖类、蛋白质和氨基酸等营养物质的含量在抗、感品种之间存在差异(金珊等,2016)。品种之间抗、感性物质的差异构成了作物抗感性的基础,早小洋菊和晚小洋菊是优势品种,分别占浙江省栽培面积的60%和18%,二者产品的感官审评结果有异,或许可能是物质组成不同。

基于此,本研究选用早小洋菊和晚小洋菊为试验材料,以EPG技术检测二者对于3种菊蚜的抗性及其差异;同时,检验杭白菊叶片主要营养成分可溶性糖、可溶性蛋白、总黄酮和总酚含量与菊蚜EPG参数的相关性,深度解析其抗蚜机理,以期为深化杭白菊抗蚜性研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试杭白菊菊苗:盆栽早小洋菊和晚小洋菊菊苗由桐乡市农业技术推广服务中心提供。

供试虫源:从浙江省桐乡市菊园采集菊小长管蚜、棉蚜和桃蚜,接种于中国计量大学杭白菊园异种

大白菊 *Chrysanthemum morifolium* Ramat 'Yizhongdabaiju' 植株上饲养2代,将产下的蚜卵置于白天温度为24℃、夜晚温度为22℃,相对湿度(65±5)%,光照周期L 14 h:D 10 h的多功能人工气候箱中异种大白菊苗上孵化。繁殖2代之后,选取生长一致、1日龄无翅成蚜用于EPG试验。试验前轻轻取出,让其在滤纸上爬行1 h,禁食。

试剂及仪器:葡萄糖、牛血清蛋白(HLY24-F8S30011)、芦丁(17022801)以及没食子酸(1611-1111)标准品,中国食品药品检定研究院;溶剂乙醇和甲醇为分析纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司。Giga-8型DC-EPG记录仪,荷兰 Wageningen University 研制,包括 EPG Giga-8型直流放大器,有8个检测通道,可同时检测8头蚜虫,接于放大器输出探头的植物电极是1根直径2 mm、长10 cm的细铜棒,连接放大器输入探头的昆虫电极则是直径约20 μm、长3~5 cm的银丝,末端粘接1滴银胶,用于粘连试虫的中胸背板;放大器还联接电脑。

1.2 方法

1.2.1 菊蚜在杭白菊顶叶上刺吸行为的 EPG 检测

用1段长5 cm、直径18.5 μm金丝作为昆虫电极,将其一端蘸取银胶,粘连无翅成蚜中胸背板上,把蚜虫放至菊花顶端嫩叶背面自由取食;昆虫电极另一端插入放大器输入探头,植物电极插入供试菊苗盆钵基质。当蚜虫口针接触植物组织时,则形成闭合回路,电信号经Giga-8型直流放大器的AD转换器和Probe 3.0软件处理后,生成可视波形图谱存于电脑,用于分析菊小长管蚜、棉蚜、桃蚜3种蚜虫对2种杭白菊刺吸行为的差异。将EPG记录仪置于法拉第金属罩内,以屏蔽外界电磁波干扰。

通常蚜虫类产生的EPG波形相同,包括Np、A、B、C、E1、E2、Pd和G波。Np波为蚜虫的未刺探波形。A、B、C为路径波,其中A波:蚜虫口针与叶片接触,并分泌水溶唾液阶段;B波:蚜虫口针在表皮与薄壁组织间的波形,分泌胶状唾液阶段;C波:蚜虫口针正位于表皮与维管束之间;统计分析时将A、B、C和无法判别的杂波归C波,为蚜虫取食过程的刺探路径波。E1波:该阶段蚜虫口针位于韧皮部分泌唾液;E2波:蚜虫口针在韧皮部被动地吸食植物组织汁液。Pd波:蚜虫刺破细胞膜瞬间,膜内外电势落差。G波:与维持蚜虫体内无机盐与水分平衡有关。韧皮部分泌波E1和吸收波E2的持续时间、刺探次数、非刺探波Np持续时间与供试植物对于蚜虫的抗性相关。每头蚜虫试验记录时间是8 h,重复15次,每蚜只用1次。试验期间室温25±2℃,

相对湿度(70±3)%,光照强度600 lx。

统计每种蚜虫在2个杭白菊品种上E1、E2和Np波持续时间、刺探次数,以及E1、E2波出现时间等参数,并分析这些参数在2个杭白菊品种之间的差异。以C、G、Pd、E1、E2和Np波的平均持续时间和平均刺探次数为变量,每种菊蚜与每个杭白菊品种的组合为实体,对6个组合进行离差平方和法系统聚类分析,以揭示2个杭白菊品种之间抗蚜性差异。

1.2.2 菊顶叶主要化合物含量检测及与 EPG 波的关系

分别剪取早小洋菊、晚小洋菊植株顶端嫩叶,分别测定其顶叶可溶性糖、可溶性蛋白、总黄酮、总酚等主要化合物的含量。以早小洋菊为对象,分析其主要化合物含量与菊蚜 EPG 波形历时和刺探次数的相关性。

可溶性糖测定:参照李合生(2000)方法进行,称取无水葡萄糖0.1 g置于10 mL容量瓶中,超纯水稀释至刻度,摇匀得到浓度为10 mg/mL的母液。取母液1 mL于10 mL容量瓶中定容至刻度,即得1 mg/mL葡萄糖标准溶液。设置不同梯度浓度的葡萄糖标准品溶液,用蒽酮硫酸法显色,显色后于波长620 nm处比色并测吸光度,以标准品浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,计算测定可溶性糖含量所用的线性关系。准确称量0.1 g早小洋菊或晚小洋菊顶端嫩叶于5 mL超纯水,沸水浴1 h。冷却至室温,8 000 r/min离心10 min,上清液即为待测溶液。在波长620 nm测吸光度,重复5次。

可溶性蛋白测定:参照李合生(2000)方法进行,称取牛血清蛋白1.0 mg,置于10 mL容量瓶中,超纯水稀释至刻度,摇匀得到0.1 mg/mL母液。设置不同梯度浓度的牛血清标准品溶液,用考马斯亮蓝G-250法显色,显色后于波长595 nm处比色并测吸光度,以标准品浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,计算测定可溶性蛋白含量所用的线性关系。准确称取0.1 g早小洋菊或晚小洋菊顶端嫩叶置于5 mL超纯水,超声0.5 h,3 500 r/min离心30 min,上清液即为待测溶液。以考马斯亮蓝G-250法测定,在波长595 nm处测定吸光度,重复5次。

总黄酮测定:参照郭巧生等(2008)方法进行,称取芦丁标准品2.5 mg,置于25 mL容量瓶中,用70%甲醇溶解,定容至刻度,摇匀得到0.1 mg/mL母液。设置不同梯度浓度的芦丁标准品溶液,使用NaNO₂-Al(NO₃)₃-NaOH法显色,显色后在波长510 nm处比色并测吸光度,以标准品浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,计算出测定总黄酮含量所用的线性关系。准确称取0.1 g早小洋菊或晚小洋菊顶叶,浸于70%甲

醇5 mL溶液,超声1 h,3 500 r/min离心30 min。放冷后称量溶剂,补足失重,上清液即为待测溶液。采用ALCL₃法,在波长510 nm处测吸光度,重复5次。

总酚含量测定:参照倪广艳等(2014)方法进行,称取没食子酸标准品2.5 mg,置于25 mL,用70%乙醇溶解,定容至刻度,摇匀,得到0.1 mg/mL母液。设置不同浓度梯度的没食子酸标准品溶液,用福林酚法显色后于波长795 nm处比色并记录,以标准品浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,计算测定总酚含量所用的线性关系。准确称量0.1 g早小洋菊或晚小洋菊顶叶,浸于5 mL 70%甲醇溶液,超声1 h,3 500 r/min离心30 min,静置冷却后称量,补足溶剂损失,上清液即为待测溶液。以福林酚法在波长795 nm处测吸光度,重复5次。

1.3 数据分析

试验数据采用DPS 11.0软件上进行统计分析(唐启义和冯明光,2010),用Duncan氏新复极差法进行差异显著性测验,采用 t 测验法比较2个菊花品种的主要化合物含量之间的差异性,并分析与在其上取食的每种蚜虫E1、E2、Np、C、G和Pd波持续时间的相关性。

2 结果与分析

2.1 3种菊蚜在2个品种杭白菊上的EPG波形

每种菊蚜在每个品种杭白菊上都呈现了8种EPG波形,即Np、A、B、C、E1、E2、Pd和G波,每种蚜虫的每种EPG波形类似,故以菊小长管蚜波形为代表。Np波:非刺探波,无,固定频率;A波:频率5~15 Hz,电势幅度变化大;B波:频率0.1~0.3 Hz,紧随A波后,电势波动急促、峰值高,持续时间极短;C波:主要特征为电势振荡波动、持续时间较长、无固定频率;E1波:频率2~4 Hz,波形呈波浪状,波峰向上;E2波:频率4~7 Hz,波形齿状、波峰向下;Pd波:波形在零电位以下,分为3个阶段:I、II、III,其中II由II-1、II-2、II-3三个亚波组成;G波:口针在木质部的取食波形,图像为锯齿状,频率4~6 Hz。菊小长管蚜、棉蚜、桃蚜在每个品种杭白菊上的G波、C波总持续时间占总刺吸时间1/3以上(图1)。

2.2 3种菊蚜在2个品种杭白菊上的刺吸行为

2.2.1 菊小长管蚜在2个品种杭白菊上的刺吸行为

菊小长管蚜在晚小洋菊上的E1波和E2波平均持续时间分别为4.31 min和3.47 min,均短于在早小洋菊上的4.63 min和3.75 min。菊小长管蚜在

晚小洋菊上第1个E1波出现时间为54.79 min,迟于早小洋菊上的19.74 min,但二者间无显著差异。在晚小洋菊上第1个E2波出现时间32.09 min显著迟于早小洋菊上的13.36 min。菊小长管蚜在晚小洋菊上总刺探次数13.00次显著大于早小洋菊上的4.75次;在晚小洋菊上Pd波总持续时间7.27 min显著长于在早小洋菊上的2.44 min(表1)。说明菊小长管蚜在晚小洋菊上的刺吸活动稍困难于在早小洋菊上。

菊小长管蚜在晚小洋菊上的E1波总持续时间为51.47 min,长于在早小洋菊上的50.76 min,在晚小洋菊上E2波总持续时间50.68 min,短于早小洋菊上的51.56 min。晚小洋菊上菊小长管蚜的E1+E2波平均持续时间102.15 min,较短于早小洋菊上的102.32 min(表1)。

2.2.2 棉蚜在2个品种杭白菊上的刺吸行为

棉蚜在晚小洋菊上E1波平均持续时间4.32 min短于早小洋菊上的4.57 min;E2波平均持续时间4.72 min,长于早小洋菊上的4.19 min。棉蚜在晚小洋菊上第1个E1波平均出现时间72.51 min,早于在早小洋菊上的77.22 min。在晚小洋菊上第1个E2波出现时间53.36 min,显著迟于早小洋菊上的17.83 min。在晚小洋菊上总刺探次数6.25次,大于早小洋菊上的5.50次;在晚小洋菊上Np波平均持续时间34.38 min显著长于早小洋菊上的16.74 min。棉蚜在晚小洋菊上Pd波总持续时间5.00 min,显著短于在早小洋菊上的7.76 min(表1)。可见这2个杭白菊品种对棉蚜刺吸行为的阻抑作用相当。

棉蚜在晚小洋菊上E1波总持续时间50.81 min,稍长于在早小洋菊上的50.4 min,在晚小洋菊上E2波总持续时间53.30 min,稍长于在早小洋菊上的52.54 min。晚小洋菊上棉蚜的E1+E2波总持续时间为104.11 min,稍长于早小洋菊上的102.94 min(表1)。

2.2.3 桃蚜在2个品种杭白菊上的刺吸行为

桃蚜在晚小洋菊上E1波平均持续时间4.92 min,长于早小洋菊上的4.79 min;E2波平均持续时间4.64 min,短于早小洋菊上的4.75 min。桃蚜在晚小洋菊上第1个E1波出现时间134.42 min,显著迟于早小洋菊上183.34 min,在晚小洋菊上第1个E2波出现时间27.47 min,迟于早小洋菊上的21.95 min。在晚小洋菊上总刺探次数11.75次大于早小洋菊上的9.50次;在晚小洋菊上Np波平均持续时间

12.39 min 短于早小洋菊上的 14.54 min。桃蚜在晚小洋菊上 Pd 波总持续时间 7.06 min 显著长于在早小洋菊上的 2.33 min(表 1)。早、晚小洋菊对于桃蚜刺吸行为的阻抑作用差异不显著。

桃蚜在晚小洋菊上的 E1 波总持续时间为

50.36 min, 稍长于在早小洋菊上的 50.12 min; 在晚小洋菊上 E2 波总持续时间 52.86 min, 显著长于在早小洋菊上的 52.30 min。晚小洋菊上桃蚜的 E1+E2 波总持续时间为 103.22 min, 稍长于早小洋菊上的 102.42 min(表 1)。

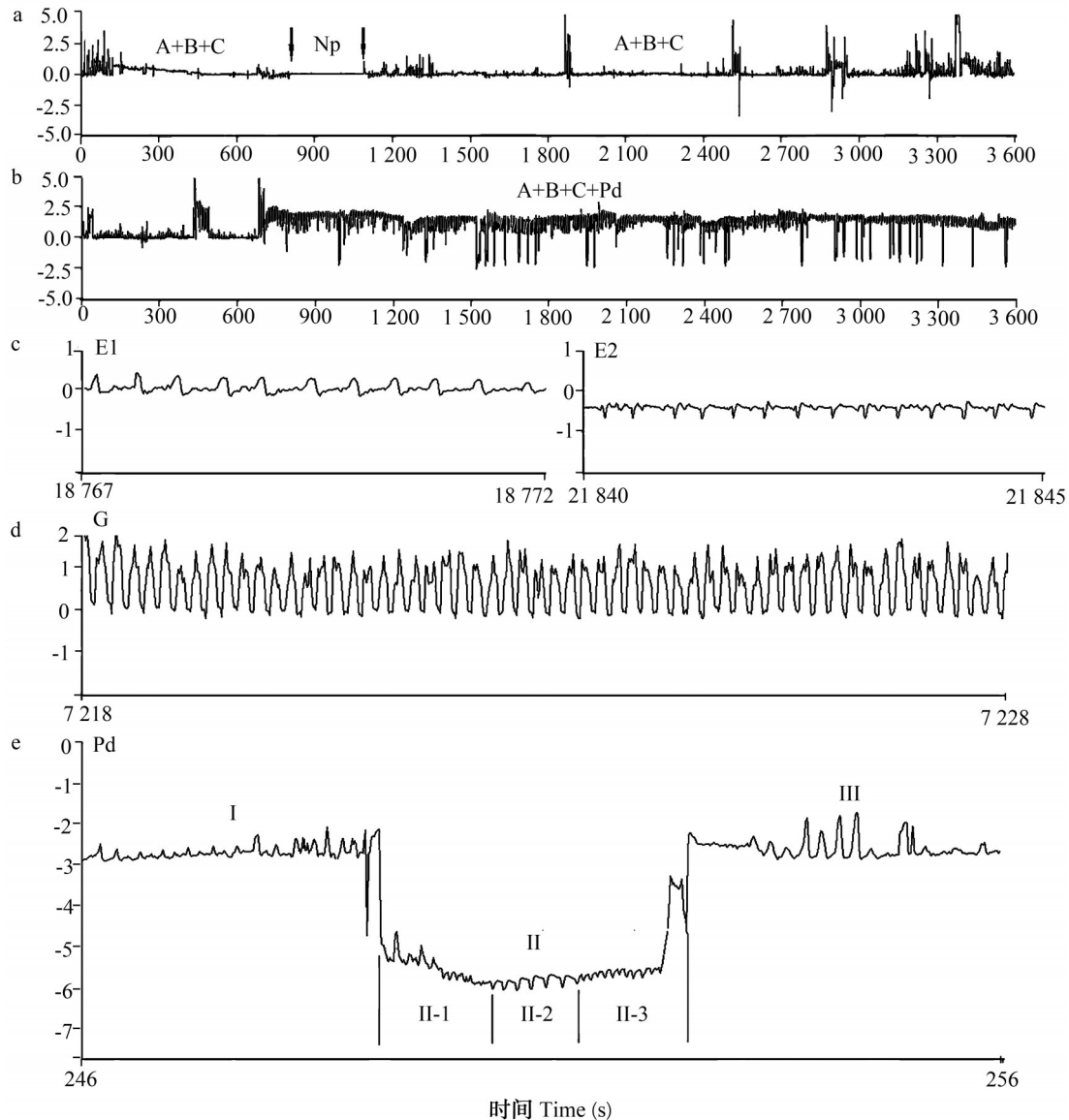


图 1 菊小长管蚜在杭白菊顶叶上的 EPG 波形

Fig. 1 EPG waveforms of *Macrosiphoniella sanborni* on Hangbaiju chrysanthemum apical leaf

a: 蚜虫刺探取食过程中的一个整体波形图(A+B+C波、Np波); b: 蚜虫刺探过程中的路径波(A+B+C+Np波); c: 蚜虫口针在韧皮部(E1、E2波); d: 蚜虫口针在木质部(G波); e: 蚜虫 Pd 波。 a: An overview of waveforms during the probing process (A+B+C, Np); b: the pathway waveform of aphid (A+B+C+Np); c: the aphid feeding waveforms of phloem phase (E1, E2); d: the aphid feeding waveform of xylem phase (G); e: the Pd waveform patterns.

2.3 3种菊蚜在2个杭白菊品种取食行为的聚类分析

聚类分析结果显示,菊小长管蚜一早小洋菊、桃蚜一早小洋菊、棉蚜一早小洋菊归为第I类,菊小长管蚜一晚小洋菊、桃蚜一晚小洋菊、棉蚜一晚

小洋菊归为第II类,即每个品种分别与3种蚜虫的互作系统自成一个体系(图2),说明这2个品种抗蚜性存在差异。

表 1 3 种菊蚜在 2 个品种杭白菊上的 EPG 参数

Table 1 EPG parameters of three aphid species on two chrysanthemum cultivars of Hangbaiju

EPG 参数 EPG parameter	菊小长管蚜 <i>M. sanborni</i>		棉蚜 <i>A. gossypii</i>		桃蚜 <i>M. persicae</i>	
	早小洋菊 Zaoxiao- yangju	晚小洋菊 Wanxiao- yangju	早小洋菊 Zaoxiao- yangju	晚小洋菊 Wanxiao- yangju	早小洋菊 Zaoxiao- yangju	晚小洋菊 Wanxiao- yangju
总刺探次数	4.75±	13.00±	5.50±	6.25±	9.50±	11.75±
Total probing times	1.65 b	3.81 a	1.04 ab	2.25 ab	1.85 ab	3.12 ab
第 1 次刺探出现时间	9.58±	5.76±	0.05±	0.21±	3.81±	3.76±
Time to 1st probe (s)	1.37 a	1.57 b	0.03 c	0.10 c	2.23 bc	0.97 bc
第 1 次刺探历时	1.53±	3.06±	5.03±	2.95±	5.36±	4.39±
Duration of 1st probe (s)	0.19 c	0.28 b	0.67 a	0.19 b	0.92 a	0.26 ab
Np 波平均持续时间	20.51±	7.28±	16.74±	34.28±	14.54±	12.39±
Average duration of Np (min)	2.17 b	1.89 c	1.37 b	5.25 a	1.46 bc	1.71 bc
C 波平均持续时间	1.06±	1.08±	1.66±	1.71±	1.29±	2.45±
Average duration of C (min)	0.08 b	0.12 b	0.39 ab	0.39 ab	0.26 b	0.51 a
G 波平均持续时间	21.17±	23.80±	18.31±	22.47±	17.78±	19.49±
Average duration of G (min)	1.33 ab	0.88 a	0.85 c	1.13 a	0.59 c	0.50 bc
E1 波平均持续时间	4.63±	4.31±	4.57±	4.32±	4.79±	4.92±
Average duration of E1 (min)	0.67 a	0.48 a	0.55 a	0.45 a	0.43 a	0.70 a
E2 波平均持续时间	3.75±	3.47±	4.19±	4.72±	4.75±	4.64±
Average duration of E2 (min)	0.08 ab	0.22 b	0.46 ab	0.46 a	0.37 a	0.29 a
Pd 波平均持续时间	3.77±	3.22±	4.52±	5.14±	4.89±	4.87±
Average duration of Pd (s)	0.19 bc	0.13 c	0.27 ab	0.57 a	0.58 ab	0.22 ab
C 波总持续时间	160.62±	147.71±	123.40±	128.35±	130.27±	140.20±
Total duration of C (min)	14.46 a	11.17 a	9.95 a	8.72 a	12.42 a	13.77 a
E1 波总持续时间	50.76±	51.47±	50.40±	50.81±	50.12±	50.36±
Total duration of E1 (min)	0.03 b	0.12 a	0.11 bc	0.36 b	0.01 c	0.13 bc
E2 波总持续时间	51.56±	50.68±	52.54±	53.30±	52.30±	52.86±
Total duration of E2 (min)	0.06 d	0.03 e	0.17 bc	0.15 a	0.22 c	0.23 ab
G 波总持续时间	149.77±	142.74±	153.66±	136.61±	117.17±	116.01±
Total duration of G (min)	4.50 ab	3.04 ab	3.84 a	4.56 b	3.60 c	7.00 c
Pd 波总持续时间	2.44±	7.27±	7.76±	5.00±	2.33±	7.06±
Total duration of Pd (min)	0.12 d	0.16 ab	0.32 a	0.11 c	0.13 d	0.34 b
第 1 个 E1 波出现时间	19.74±	54.79±	77.22±	72.51±	183.34±	134.42±
Time to 1st E1 (min)	10.53 c	33.42 c	11.45 bc	12.35 bc	27.31 a	26.34 ab
第 1 个 E2 波出现时间	13.36±	32.09±	17.83±	53.36±	21.95±	27.47±
Time to 1st E2 (min)	2.90 c	7.54 b	4.22 bc	6.45 a	5.60 bc	4.55 bc

表中数据为平均数±标准差。同行不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SD. Different letters in the same row indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

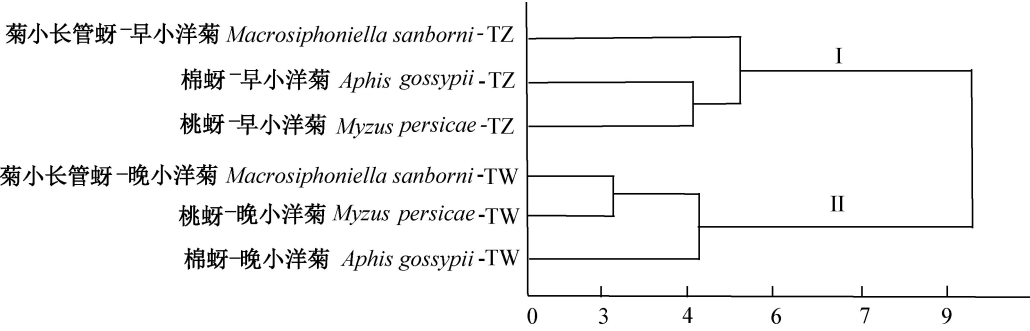


图 2 不同蚜虫在不同杭白菊品种上取食行为的聚类分析

Fig. 2 Cluster analysis of feeding behaviors of different species of *Chrysanthemum* aphids on the cultivars Zaoxiaoyangju (TZ) and Wanxiaoyangju (TW)

对以上2个类型的各波形平均持续时间、以及刺探次数进行*t*测验,结果显示,总刺探次数、Pd波平均持续时间在2个类型之间的差异显著;第II类的刺探次数11.17次,显著大于第I类的5.58次,第

II类的E1+E2波平均持续时间8.79 min,短于第I类8.86 min(表2)。表明了晚小洋菊对于3种菊蚜的抗性稍高于早小洋菊。

表2 每个聚类中3种菊蚜的EPG的6种波形平均持续时间和总刺探数

类别 Classification	平均持续时间 Average duration						总刺探次数 Total probing times
	E1波 E1 wave (min)	E2波 E2 wave (min)	Pd波 Pd wave (s)	Np波 Np wave (min)	G波 G wave (min)	C波 C wave (min)	
第I类 1st category	4.63±0.09 a	4.23±0.41 a	4.39±0.33 b	17.26±6.62 a	19.09±1.05 a	1.07±0.01 a	5.58±0.88 b
第II类 2nd category	4.52±0.29 a	4.27±0.57 a	4.41±0.60 a	17.98±8.28 a	21.92±1.27 a	1.48±0.18 a	11.17±1.65 a

表中数据为平均数±标准差。同列数据后不同字母表示经*t*测验法检验在*P*<0.05水平差异显著。Data are mean±SD. Different letters in the same column indicate significant difference at *P*<0.05 level by *t* test.

2.4 菊株顶叶化合物含量及其与EPG波形历时关系

2.4.1 2种菊花顶叶4种化合物的含量

早小洋菊可溶性糖含量2.71 mg/g,大于晚小洋菊2.64 mg/g;早小洋菊可溶性蛋白含量25.36 mg/g,

显著大于晚小洋菊的22.08 mg/g;早小洋菊总酚含量0.24 mg/g,显著低于晚小洋菊总酚含量0.29 mg/g。早小洋菊和晚小洋菊总黄酮含量分别为3.46 mg/g和3.37 mg/g,在2个杭白菊品种间未有显著区别(表3)。

表3 早小洋菊和晚小洋菊顶叶主要化学成分含量

品种 Cultivar	可溶性糖 Soluble sugar	可溶性蛋白 Soluble protein	总黄酮 Total flavonoid	总酚 Total phenolic	绿原酸 Chlorogenic acid	木犀草苷 Galuteolin	3,5-O-二咖啡酰奎宁酸 3,5-dicaffeoyl quinic acid
早小洋菊 Zaoxiaoyangju	2.71±0.12 a	25.36±0.50 a	3.46±0.05 a	0.24±0.00 b	3.00±0.05 a	12.13±0.20 a	4.91±0.16 a
晚小洋菊 Wanxiaoyangju	2.64±0.06 a	22.08±0.53 b	3.37±0.01 a	0.29±0.00 a	3.00±0.15 a	12.22±0.19 a	4.90±0.10 a

表中数据为平均数±标准差。同列数据后不同字母表示经*t*测验法检验在*P*<0.05水平差异显著。Data are mean±SD. Different letters in the same column indicate significant difference at *P*<0.05 level by *t* test.

2.4.2 早小洋菊化合物含量与EPG波平均持续时间关系

在早小洋菊上,叶片可溶性糖含量与取食的菊小长管蚜E1波平均持续时间极显著正相关(*r*=0.714)、与E2波平均持续时间显著正相关(*r*=0.720);可溶性蛋白含量与E1、E2波平均持续时间显著正相关(*r*=0.795,*r*=0.726);总酚含量与E2波平均持续时间呈显著负相关(*r*=-0.687)(表4)。

早小洋菊顶叶可溶性糖含量与取食的棉蚜E1、E2波平均持续时间显著正相关(*r*=0.500,*r*=0.720);可溶性蛋白含量与E1、E2波平均持续时间显著正相关(*r*=0.612,*r*=0.520);总酚含量与E1波平均持续时间呈显著负相关(*r*=-0.530),总黄酮含量与E2波平均持续时间呈显著负相关(*r*=-0.563)。

早小洋菊顶叶可溶性糖含量与取食的桃蚜E1波平均持续时间极显著正相关(*r*=0.632);可溶性蛋白含量与E1、E2波平均持续时间显著正相关(*r*=0.741,*r*=0.524);总黄酮含量与E2波平均持续时间呈显著负相关(*r*=-0.669,表4)。说明杭白菊叶片可溶性糖含量和可溶性蛋白含量与菊蚜口针在菊花韧皮

部取食时间皆显著正相关,而总酚含量与菊蚜口针在韧皮部的取食时间显著负相关。

3 讨论

早小洋菊和晚小洋菊是浙江省桐乡市菊农喜欢种植的品种,只因前者开花时间稍早,种植面积较大,尚未发现二者对于3种菊蚜的抗性差异。通常将蚜虫、叶蝉等刺吸式昆虫口针在植物韧皮部取食波E1和E2波持续时间、刺探次数作为抗性指标(韩宝瑜和陈宗懋,2001;金珊等,2016;张文平等,2016)。本研究结果发现菊小长管蚜在早小洋菊韧皮部E1、E2波平均持续时间皆稍长于晚小洋菊,在早小洋菊上刺探次数也显著少于在晚小洋菊上,表明早小洋菊抗蚜性稍弱;棉蚜、桃蚜在早小洋菊和晚小洋菊上的EPG参数之间几乎没有差异。

寄主植物可溶性糖、可溶性蛋白是昆虫生长发育所必需的物质(陈顺立等,2011)。蔗糖浓度影响烟粉虱 *Bemisia tabaci* 的EPG波形特征,在一定浓度下E波持续时间随着蔗糖浓度的升高而延长(李晓敏

等,2013)。多个品种的小麦叶片中蛋白含量越高,麦长管蚜 *Sitobion avenae* 的取食能力越强(刘芳华等, 2017)。而寄主植物黄酮类、酚类物质对于昆虫生长发育有一定阻抑效应(陈建新等, 1997; Lattanzio et al., 2000; Njom et al., 2017)。本研究中,除了桃蚜 E2

波之外,每种菊蚜的 E1、E2 波平均持续时间显著正相关早小洋菊顶叶的可溶性糖、可溶性蛋白含量,每种菊蚜的 E1 或 E2 波平均持续时间显著负相关于早小洋菊顶叶总酚含量、总黄酮含量,揭示了这 4 类物质与菊蚜取食嗜好性或菊花抗感性密切相关。

表 4 早小洋菊顶叶 4 种物质含量与 3 种菊蚜 EPG 各波平均持续时间和刺探次数的相关系数

Table 4 Correlation coefficients between the contents of four chemical components in apex foliage of cultivar Zaoxiaoyangju and the average durations of various waveforms and probing times of three aphid species

蚜虫 Aphid	参数 Parameter	可溶性糖含量 Soluble sugar content	可溶性蛋白 含量 Soluble protein content	总黄酮含量 Total flavonoid content	总酚含量 Total phenolic content
菊长管蚜 <i>Macrosiphoniella sanborni</i>	E1 波平均持续时间 Average duration of E1 wave	0.714**	0.795*	-0.654	-0.250
	E2 波平均持续时间 Average duration of E2 wave	0.720*	0.726*	-0.031	-0.687*
	Np 波平均持续时间 Average duration of Np wave	0.569	0.623	0.607	0.361
	C 波平均持续时间 Average duration of C wave	0.366	0.028	0.041	0.284
	G 波平均持续时间 Average duration of G wave	0.388	0.391	0.235	-0.313
	Pd 波平均持续时间 Average duration of Pd wave	0.115	0.585	-0.200	0.452
	刺探次数 Probe times	0.381	0.211	0.668	0.548
棉蚜 <i>Aphis gossypii</i>	E1 波平均持续时间 Average duration of E1 wave	0.500*	0.612*	-0.439	-0.530*
	E2 波平均持续时间 Average duration of E2 wave	0.720*	0.520*	-0.563*	-0.338
	Np 波平均持续时间 Average duration of Np wave	0.325	0.510	0.379	0.243
	C 波平均持续时间 Average duration of C wave	0.266	0.320	0.158	-0.402
	G 波平均持续时间 Average duration of G wave	0.290	0.410	-0.278	0.285
	Pd 平均波持续时间 Average duration of Pd wave	0.240	0.585	0.128	0.395
	刺探次数 Probe times	0.251	0.211	0.447	0.233
桃蚜 <i>Myzus persicae</i>	E1 平均波持续时间 Average duration of E1 wave	0.632**	0.741*	-0.454	-0.167
	E2 平均波持续时间 Average duration of E2 wave	0.228	0.524*	-0.669*	-0.335
	Np 平均波持续时间 Average duration of Np wave	0.430	0.345	0.546	0.193
	C 平均波持续时间 Average duration of C wave	0.534	0.042	0.237	0.057
	G 波平均持续时间 Average duration of G wave	0.420	0.104	0.147	-0.072
	Pd 波平均持续时间 Average duration of Pd wave	0.194	0.042	-0.058	0.148
	刺探次数 Probe times	0.483	0.128	0.368	0.246

*和**分别表示在 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 水平显著相关。* or ** indicates significant correlation at $P<0.05$ or $P<0.01$ level.

早小洋菊顶叶可溶性糖和可溶性蛋白的含量分别高于晚小洋菊,其顶叶总酚含量显著低于晚小洋菊、总黄酮含量 3.46 mg/g 略高于晚小洋菊总黄酮含量 3.37 mg/g,亦即早小洋菊含有的可溶性糖和可溶性蛋白这两类营养物质含量偏高,且阻抑物质总酚含量显著偏低;本课题组还观察了在开放环境中,飞行中的菊小长管蚜对这 2 个菊花品种的选择行为及其在 2 个品种上繁衍过程,发现菊小长管蚜更喜好叶片形状狭长、叶色更加黄绿且更加鲜亮的早小洋菊(祝愿等,2018);综合分析,认为其抗蚜性稍弱于晚小洋菊。

参 考 文 献 (References)

Chen JX, Song DL, Cai CQ, Cheng DF, Tian Z. 1997. Biochemical studies on wheat resistance to the grain aphid, *Rhopalosiphum padi* (L.). *Acta Entomologica Sinica*, 40(1): 186-189 (in Chinese) [陈建新, 宋敦伦, 采长群, 程登发, 田喆. 1997. 小麦抗禾缢管蚜的生

化研究. *昆虫学报*, 40(1): 186-189]
Chen SL, Du RQ, Wu H, Zhang HF. 2011. Discriminant analysis of the relationship between nutrient contents in needles of *Pinus massoniana* and its resistance against *Hemiberlesia pitysophila* (Homoptera: Diaspididae). *Acta Entomologica Sinica*, 54(3): 312-319 (in Chinese) [陈顺立, 杜瑞卿, 吴晖, 张华峰. 2011. 不同抗性马尾松针叶中营养物质含量与对松突圆蚧抗性关系的判别分析. *昆虫学报*, 54(3): 312-319]
Deng YM, Chen SM, Lu AM, Chen FD, Tang FP, Guan ZY, Teng NJ. 2010. Production and characterisation of the intergeneric hybrids between *Dendranthema morifolium* and *Artemisia vulgaris* exhibiting enhanced resistance to chrysanthemum aphid (*Macrosiphoniella sanbourni*). *Planta*, 231(3): 693-703
Ding P, Ma HQ, Dai DJ, Wang HD. 2015. Application technique of 70% imidacloprid WDG controlling aphids on *Chrysanthemum morifolium*. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 31(17): 95-99 (in Chinese) [丁佩, 马海芹, 戴德江, 王华弟. 2015. 70% 吡虫啉 WDG 防治杭白菊蚜虫应用技术研究. *中国农学通报*, 31(17): 95-99]

- Guo GJ, Sun S, Wang XX, Guo YM, Jonh CS, Wang SB, Du YC, Gao JC. 2016. Analysis of characteristics of leaf trichome and secondary metabolites related to resistance to type B *Bemisia tabaci* of tomato. *Acta Horticulturae Sinica*, 43(8): 1493–1503 (in Chinese) [郭广君, 孙帅, 王孝宣, 国艳梅, Jonh CS, 王述彬, 杜永臣, 高建昌. 2016. 番茄抗B型烟粉虱相关叶表腺毛性状及其次生代谢物质分析. *园艺学报*, 43(8): 1493–1503]
- Guo QS, Wang T, Cheng LT, Shen XG, Liang YN, Wang TY, Zhou JS. 2008. Study on quality of flavone in various cultivars of *Chrysanthemum morifolium* for medicine. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 33(7): 756–759 (in Chinese) [郭巧生, 汪涛, 程俐陶, 沈学根, 梁迎暖, 王桃银, 周建松. 2008. 不同栽培类型药用菊花黄酮类成分比较分析. *中国中药杂志*, 33(7): 756–759]
- Han BY, Chen ZM. 2001. The differences between probing behavior of tea aphids on different parts of tea tree. *Journal of Plant Protection*, 28(1): 7–11 (in Chinese) [韩宝瑜, 陈宗懋. 2001. 茶蚜在茶树不同部位上刺探行为的差异. *植物保护学报*, 28(1): 7–11]
- He YQ, Chen WL, Lu ZY, Zhou CY, Li ZA, Li TS. 2015. EPG analysis of feeding behavior of three aphids on citrus reticulate. *Journal of Plant Protection*, 42(2): 217–222 (in Chinese) [何应琴, 陈文龙, 鲁卓越, 周常勇, 李中安, 李太盛. 2015. 柑橘三种蚜虫取食行为的EPG分析. *植物保护学报*, 42(2): 217–222]
- Jin S, Sun XL, Zhang XZ, Ye NX, Chen ZM. 2016. Chemical analysis of 8 tea cultivars with different levels of resistance to *Empoasca vitis* Göthe and a preliminary identification of the chemical basis of this resistance. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 53(3): 516–527 (in Chinese) [金珊, 孙晓玲, 张新忠, 叶乃兴, 陈宗懋. 2016. 8个茶树品种生化成分分析及抗性成分的初步鉴定. *应用昆虫学报*, 53(3): 516–527]
- Jiang XW. 2005. Major pests damage characteristics and control measures in tea chrysanthemum. *Journal of Jiangnan University (Natural Science)*, 33(2): 74–76, 79 (in Chinese) [蒋细旺. 2005. 茶用菊花主要虫害危害特征及防治措施. *江汉大学学报(自然科学版)*, 33(2): 74–76, 79]
- Lattanzio V, Arpaia S, Cardinali A, DiVenere D, Linsalata V. 2000. Role of endogenous flavonoids in resistance mechanism of vigna to aphids. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 48(11): 5316–5320
- Li HS. 2000. Plant physiology and biochemistry experiment principle and technology. Beijing: Higher Education Press, pp. 184–185, 195–197 (in Chinese) [李合生. 2000. 植物生理生化实验原理和技术. 高等教育出版社, pp. 184–185, 195–197]
- Li XM, Li JJ, Tang QB, Yan FM. 2013. Effects of nicotine on feeding behavior of *Bemisia tabaci* B and Q biotypes based on EPG and liquid diet sac technique. *Scientia Agricultura Sinica*, 46(10): 2041–2049 (in Chinese) [李晓敏, 李静静, 汤清波, 闫凤鸣. 2013. 烟碱对B型和Q型烟粉虱取食行为的影响——基于EPG和液体饲囊技术体系. *中国农业科学*, 46(10): 2041–2049]
- Liu FH, Kang ZW, Hu XS, Zhang ZF, Liu TX. 2017. Effects of foliage nutrients of different wheat cultivars on the grain aphid *Sitobion avenae* (Hemiptera: Aphididae). *Journal of Plant Protection*, 44(2): 305–311 (in Chinese) [刘芳华, 康志伟, 胡想顺, 张战凤, 刘同先. 2017. 小麦叶片营养物质与抗麦长管蚜的相关性分析. *植物保护学报*, 44(2): 305–311]
- Ni GY, Zhu LW, Niu JF, Zhao XH, Zhang ZZ, Zhao PQ. 2014. Growth and chemical defense in three Asteraceae invasive weeds in lower subtropical China. *Ecology and Environmental Sciences*, 23(1): 1–6 (in Chinese) [倪广艳, 朱丽薇, 牛俊峰, 赵秀华, 张振振, 赵培强. 2014. 三种菊科入侵植物的生长与化学防御的关系研究. *生态环境学报*, 23(1): 1–6]
- Njom HA, Mebalo J, Terefe TG, Ndip RN, Bradley G. 2017. Phenolics and their potential as biochemical markers for wheat rust and Russian wheat aphid resistance in South Africa. *African Journal of Soil Science*, 5(5): 426–434
- Shen Y, Dai DJ, Shen Y. 2017. Investigation on the use of pesticides in *Chrysanthemum morifolium* in Zhejiang and countermeasures. *Zhejiang Agricultural Sciences*, 58(3): 438–441 (in Chinese) [沈瑶, 戴德江, 沈颖. 2017. 浙江省杭白菊农药使用情况调查及对策建议. *浙江农业科学*, 58(3): 438–441]
- Tang QY, Feng MG. 2010. DPS data processing system: experimental design, statistical analysis and data mining. Beijing: Science Press (in Chinese) [唐启义, 冯明光. 2010. 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]
- Yang Z, Lv ZP, Huang RL, Cao FS, Luo SY. 2017. Content of Bt protein in different backgrounds of rice and its effect on insect resistance. *Journal of Plant Protection*, 44(6): 1017–1023 (in Chinese) [杨宙, 吕再萍, 黄仁良, 曹丰生, 罗世友. 2017. Bt蛋白在水稻不同遗传背景下的含量及对抗虫性的影响. *植物保护学报*, 44(6): 1017–1023]
- Zhang CT, Chen Y, Cai JW, Song XL. 2010. Integrated control of disease and insect pests and pollutant-free cultivation techniques of ornamental *Dendranthema morifolium*. *China Plant Protection*, 30(3): 25–27 (in Chinese) [张春桃, 陈轶, 蔡建武, 宋学林. 2010. 观赏性杭白菊病虫害综合防治及无公害栽培技术. *中国植保导刊*, 30(3): 25–27]
- Zhang WP, Liu BM, Zhang S, Wan FH, Chu D. 2016. Comparison of feeding behavior between two *Bemisia tabaci* strains using EPG technique. *Scientia Agricultura Sinica*, 49(13): 2544–2552 (in Chinese) [张文平, 刘佰明, 张珊, 万方浩, 褚栋. 2016. 基于EPG技术的烟粉虱两个品系取食行为的比较. *中国农业科学*, 49(13): 2544–2552]
- Zheng YT, Wang MX, Cui L, Han SJ, Yu PF, Han BY. 2017. Resistance of tea cultivars to the tea green leafhopper analyzed by EPG technique and their resistance-related substances. *Acta Ecologica Sinica*, 37(23): 8015–8028 (in Chinese) [郑雨婷, 王梦馨, 崔林, 韩善捷, 俞鹏飞, 韩宝瑜. 2017. 基于EPG技术分析茶树品种对茶小绿叶蝉的抗性及其相关的抗性物质. *生态学报*, 37(23): 8015–8028]
- Zhu Y, Wang MX, Cui L, Han BY. 2018. Effects of external morphology of two main *Chrysanthemum* cultivars of Hangbaiju on its resistance to *Macrosiphoniella sanborni* (Gillette). *Journal of Anhui Agricultural University*, 45(6): 1143–1146 (in Chinese) [祝愿, 王梦馨, 崔林, 韩宝瑜. 2018. 2个杭菊主栽品种形色差异及其与菊小长管蚜数的相关性. *安徽农业大学学报*, 45(5): 1143–1146]

(责任编辑:王 璇)