植物保护学报 Journal of Plant Protection，2021，48(4)：814-821 DOI：10.13802/j.cnki.zwbhxb.2021.2020234

基于EPG技术分析苜蓿品种对苜蓿蚜的抗性

于良斌[1] 徐林波[1*] 王予彤[1,2] 王丹阳[3] 韩海斌[1] 康爱国[4] 庞红岩[4]

（1. 中国农业科学院草原研究所，呼和浩特 010010；2. 内蒙古农业大学林学院，呼和浩特 010020；3. 中国林业科学研究院沙漠林业实验中心，内蒙古 磴口 015200；4. 河北省张家口市康保县植保站，张家口 076650）

摘要：为明确6个苜蓿品种对苜蓿蚜 *Aphis craccivora* 的抗性差异机理，观察苜蓿蚜在不同苜蓿品种植株上的取食选择行为，利用刺吸电位（electrical penetration graph，EPG）技术判定取食过程中所出现的波形，并筛选适宜参数作为对不同苜蓿品种抗蚜性的评价指标。结果表明，苜蓿蚜在取食苜蓿时呈现出Np、Pd、A、B、C、E1、E2和F波共8种波形。苜蓿的抗虫位点主要存在于苜蓿植株的表皮、叶肉和韧皮部，当苜蓿蚜开始取食时，中苜2号的抗虫位点在叶表面，但抗性较弱，第1次刺探的发生时间迟，为16.00 min，E2波的总持续时间长，为26.99 min；赛迪7的抗虫位点集中在叶肉和韧皮部且抗性强，E2波的持续时间短，为5.00 min；金皇后的抗虫位点出现在第1个E2波之后，第1次E2波后的E1波个数为7.78个，即韧皮部的抗性最强。苜蓿蚜在不同苜蓿品种上的取食行为各异，且不同品种的抗虫位点和抗虫机制不同。聚类分析结果显示，6个苜蓿品种对苜蓿蚜的抗性存在差异，其中赛迪7的抗性最强，中苜2号的抗性较弱。

关键词：苜蓿蚜；苜蓿品种；取食行为；抗性；刺吸电位技术

Analysis of the resistance of alfalfa varieties to groundnut aphid *Aphis craccivora* using electrical penetration graph technique

Yu Liangbin[1] Xu Linbo[1*] Wang Yutong[1,2] Wang Danyang[3] Han Haibin[1] Kang Aiguo[4] Pang Hongyan[4]

（1. Institute of Grassland Research, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Huhhot 010010, Inner Mongolia Autonomous Region, China; 2. Forestry College, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010020, Inner Mongolia Autonomous Region, China; 3. Experimental Center of Desert Forestry, Chinese Academy of Forestry, Dengkou 015200, Inner Mongolia Autonomous Region, China; 4. Plant Protection Station, Kangbao County, Zhangjiakou 076650, Hebei Province, China）

Abstract: To clarify the mechanism of alfalfa resistance to groundnut aphid *Aphis craccivora*, the feeding behavior of *A. craccivora* on six alfalfa varieties was studied, and the waveforms during the feeding process were determined by using electrical penetration graph (EPG), with suitable parameters selected as evaluation indexes for different alfalfa varieties. The results showed that there were eight kinds of waveforms during *A. craccivora*'s feeding on alfalfa, including Np, Pd, A, B, C, E1, E2 and F waves. The insect-resistant sites of alfalfa mainly existed in the epidermis, mesophyll and phloem of alfalfa plants. When *A. craccivora* started feeding, the resistance sites of Zhongmu No. 2 were on the leaf surface, showing a prolonged first piercing (16.00 min) and a long duration of feeding wave (26.99 min), but the resistance was weak. The resistance sites of Sardi 7 were concentrated on the mesophyll and the phloem. The resistance was strong, which was reflected in the short duration of feeding wave (5.00 min).

基金项目：国家科技基础调查专项子课题（2019FY100304），中央级公益性科研院所基本科研业务费专项（1610332013008）

* 通信作者（Author for correspondence），E-mail：xulinbo@caas.cn

收稿日期：2020-09-06

The resistance sites of Golden Empress appeared after the first E2 wave. It exhibited 7.78 E1 waves, indicating that the phloem had the strongest resistance. The feeding behavior of *A. craccivora* on different alfalfa varieties varied, and the resistance sites and resistance mechanisms of different varieties were different. Cluster analysis showed that there were differences in the resistance to *A. craccivora* among the six varieties, with Sardi 7 having the strongest resistance and Zhongmu No.2 the weaker.

Key words: alfalfa aphid; alfalfa varieties; feeding behavior; resistance; electrical penetration graph (EPG)

苜蓿 *Medicago sativa* 享有“牧草之王”美誉，是世界上栽培最早、分布最广的优质牧草之一，为我国优质饲草和植物性蛋白饲料的重要来源，在草地畜牧业生产中具有重要地位（南志标，2001；孙启忠等，2012）。近些年，随着我国农业结构的调整及国民饮食结构变化，特别是2012年国家“振兴奶业苜蓿发展行动”实施以来，苜蓿的种植面积逐年增加，随着种植面积不断扩大，品种单一和管理措施不到位导致虫害发生日趋严重，成为制约苜蓿生产的重要因素。蚜虫是为害苜蓿生产的主要有害生物类群，在我国主要有3种，苜蓿蚜 *Aphis craccivora*、豌豆蚜 *Acyrthosiphon pisum* 和苜蓿斑蚜 *Therioahhis trifolii*。其中苜蓿蚜是为害苜蓿等豆科牧草的主要害虫之一，主要以成蚜和若蚜为害植株嫩茎、幼芽、花器等部位。蚜虫取食后分泌的蜜露会引起叶片霉菌滋生，影响牧草产量和品质，重者传播苜蓿花叶病毒，对苜蓿产业构成严重威胁（杨彩霞等，2005；He & Zhang，2006；徐林波等，2007）。长期以来对蚜虫的防治主要采用化学防治方法，不仅污染环境，造成害虫产生抗药性和杀伤天敌，同时还影响苜蓿作为优质饲草的品质。在当今发展环境友好型经济和发展可持续畜牧业的背景下，如何实现有效控制害虫和生产优质苜蓿产品双赢，已引起人们的广泛关注。

培育和利用抗虫品种是持续有效和环境友好的害虫防控措施之一（Gamalath et al.，2012）。应用抗虫品种是防治苜蓿蚜虫最经济、有效的方法，而了解苜蓿品种对蚜虫的抗性机制是筛选抗蚜苜蓿品种所必需的基础研究。昆虫的取食行为与其对不同寄主植物、同一植物不同品种的适应性有关。不同苜蓿品种农艺性状及所含生化物质种类和数量均存在差异，这些差异会影响苜蓿蚜虫对寄主植物的选择、取食等行为（黄伟等，2007；达丽婷等，2015；张洪英等，2016）。揭示苜蓿蚜在不同苜蓿品种上的取食行为有助于明确其抗虫机制。刺吸电位（electrical penetration graph，EPG）技术是一种通过记录刺吸式口器昆虫口针在寄主植物组织中的刺探行为而引起的电信号变化的电生理技术（Tjallingii，1985；胡想顺等，2006）。EPG技术的最大优点在于能够详细记录刺吸式昆虫口针处于植物组织内每个行为精确的起止时间及发生频次。该技术也可作为快速筛选抗虫植物的一种生测手段，从而为探明植物抗虫机制提供便捷（雷宏和徐汝梅，1996；金珊等，2012）。EPG技术已广泛用于水稻、小麦、玉米等农作物及茶树、柑橘、瓜类等经济作物的抗性研究中（Lett et al.，2001；胡想顺等，2008；Yin et al.，2010）。赵曼等（2015）基于EPG技术研究发现，玉米品种浚单20和郑丹958的叶片表面和韧皮部对玉米蚜 *Rhopalosiphum maidis* 具有抗性；胡想顺（2008）等研究发现Ww2730小麦品种在表皮、叶肉以及韧皮部对麦长管蚜 *Sitobion avenae* 均有抗性；刘丽芳等（2011）利用EPG技术对不同品种茶树抗假眼小绿叶蝉 *Empoasca vitis* 进行了研究；Gazro et al.（2018）借助EPG技术对甜瓜韧皮部筛孔分子抗瓜蚜 *A. gossypii* 进行研究，但是有关利用EPG技术探讨苜蓿品种抗蚜性的研究报道较少。

本研究选择国内外广泛种植的6个苜蓿品种为研究对象，根据苜蓿蚜取食后所呈现出的波形，探究苜蓿蚜刺吸行为过程的取食策略和习性，阐明不同品种苜蓿对苜蓿蚜的抗性强弱和抗虫位点，以期为苜蓿蚜虫的有效防治及苜蓿品种选育工作提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试植物及土壤：本试验选取中苜2号、草原2号、准格尔、金皇后、赛迪7、阿尔冈金共6个不同抗性级别的苜蓿品种，种子由中国农业科学院北京畜牧兽医研究所、内蒙古农业大学、国家牧草中期库、北京克劳沃草业技术开发中心和百绿（天津）国际草业有

限公司提供(王森山等,2014;特木尔布和和肖燕子,2017;史敏等,2019)。挑选整齐饱满的苜蓿种子,经1% NaClO消毒5 min,无菌水清洗后种于装有营养土的长锥形育苗杯中,每周浇灌霍格兰溶液2次,共30 mL,在温度(25±2)℃、相对湿度60%±10%、光照周期14 L∶10 D的人工气候室内栽培管理,待植株生长45 d高度为20 cm时备用。土壤购自内蒙古蒙肥生物科技有限公司,将营养土与田间壤土1∶1混合,备用。

供试昆虫:苜蓿蚜采自中国农业科学院草原研究所沙尔沁基地苜蓿试验田,采回后于室内接种在人工培育的蚕豆苗上,培育10代以上,取蜕皮2 d的成蚜供试。蚕豆品种为青海3号,购自呼和浩特全农种子经销部。

仪器:Giga-8型DC-EPG直流刺吸电位仪(包括EPG电极、控制盒、电源适配器、铜钉、金丝、铁架台和法拉第笼)、银胶,荷兰瓦赫宁根大学昆虫系。

1.2 方法

1.2.1 苜蓿蚜取食行为的EPG检测

本试验利用Giga-8型DC-EPG直流刺吸电位仪记录苜蓿蚜的取食行为。首先将苜蓿蚜蜕皮2 d的成蚜饥饿处理30 min,立即用银胶将苜蓿蚜的前胸背板与一根直径20 μm、长1~2cm的金丝粘合,使银胶将蚜虫与金丝粘连在一起,金丝固定于已经焊接好的细铜钉上,将钉子固定于输入电极的探头,形成昆虫电极。然后将另一根直径2 mm、长10 cm的铜棒插在装有待测植物的土壤中,形成植物电极。最后点击采集按钮,根据苜蓿蚜的取食习惯,将其置于供试苜蓿植株上部叶片背面自由取食,当处于植物叶片上的蚜虫刺入植物组织时,连成闭合回路,出现EPG波形。试验过程中须将直流刺吸电位仪置于法拉第笼内,同时将接地线连接,以降噪和消除静电。

蚜虫在每个品种上的取食行为连续记录5 h,每次同时测试8头蚜虫,每个品种15次有效重复,该试验在室温下进行。参照Tjallingii(1985)方法确定蚜虫取食相关波形。

1.2.2 取食波与苜蓿蚜抗性关系分析

蚜虫取食波一般包括Np、A、B、C、E1、E2、Pd和G波。Np波为非刺探波。A、B、C波为路径波,其中A波为蚜虫口针与叶片接触,并分泌水溶唾液阶段;B波为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波为蚜虫口针位于表皮与维管束之间的波形;为方便分析,统计时将A、B、C和无法判别的杂波统归为C波,即蚜虫取食过程的刺探路径波。E1波为蚜虫口针位于韧皮部分泌唾液的波形;E2波为蚜虫口针在韧皮部被动的吸食植物组织汁液;Pd波为蚜虫刺破细胞膜瞬间,膜内外的电势落差;F波为蚜虫取食过程中的机械阻碍波。其中韧皮部分泌波E1波和吸食波E2波的持续时间、刺探次数、非刺探波Np和F波的持续时间与蚜虫的抗性密切相关,在植物的抗性评价中占据主导地位。

对苜蓿蚜取食前和取食后出现的波形参数分别进行方差分析,并对不同品种苜蓿的抗蚜能力进行评价。以波形参数中的Np波、E波、第1次刺探的持续时间以及第1次刺探到第1个E波的时间等5个抗性相关的指标作为参数,以平方欧式距离为区间,使用集中计划统计,运用瓦尔德法对选定的参数进行聚类分析,进行品种间的抗感性排序。

1.3 数据分析

数据处理采用SPSS 16.0统计分析软件。将苜蓿蚜取食不同品种苜蓿出现的各个波形通过EPG数据分析软件BETA1处理后转化为数据,进行单因素方差分析,应用Duncan氏新复极差法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 苜蓿蚜刺探取食全过程的EPG波形分析

苜蓿蚜取食不同品种苜蓿所呈现出的波形,将数据中出现的波形分为Np、A、B、C、E1、E2、Pd和F波共8种波形(图1)。

在苜蓿蚜刺吸取食过程中,不同品种苜蓿被蚜虫取食所呈现出的波形各有不同。苜蓿蚜在取食不同品种苜蓿时,E2波总次数、E2波总持续时间、Np波个数、Np波总持续时间、Pd波总持续时间、第1次刺探持续时间、第1次刺探的发生时间、第1次E1波持续时间、第1次E2波后的E1波个数、第1次Pd波发生的时间、第1次刺探到第1次E波的时间等指标参数品种间存在显著差异;C波持续总时间、C波总次数、E波总次数、F波总次数、F波总时间、pd波总次数、第1个E1波发生时间、第1个E1波前的刺探次数和第1个E2波后的刺探次数等指标参数品种间差异不显著(表1)。

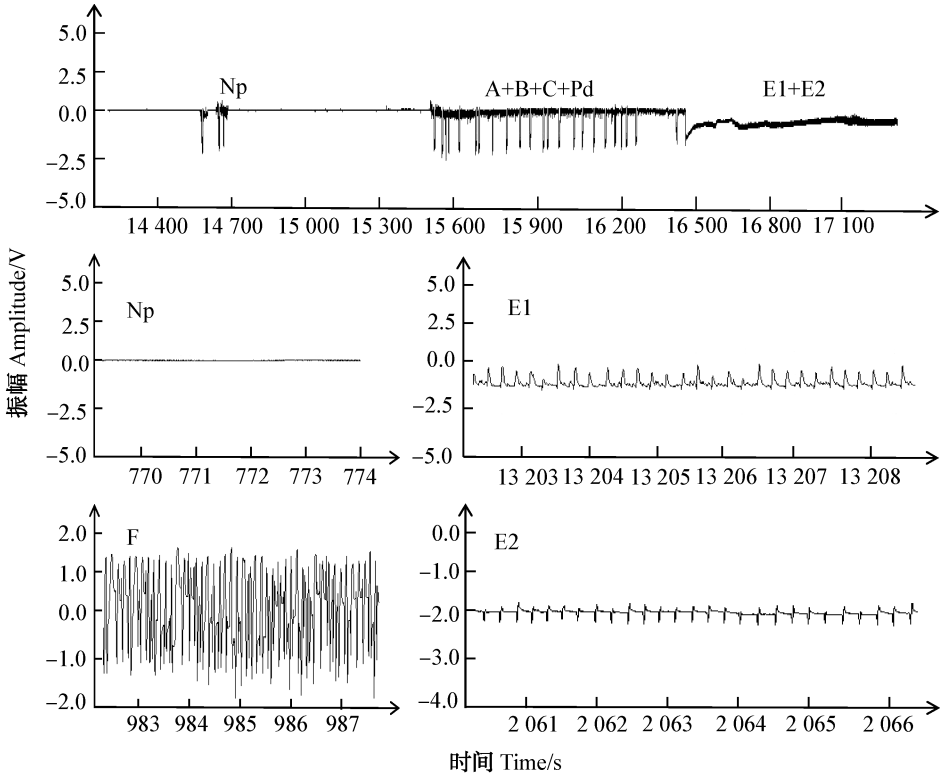

图 1　苜蓿蚜取食不同品种苜蓿的波形

Fig. 1　Waveforms of the alfalfa aphid feeding on different varieties of alfalfa

2.2　苜蓿蚜取食不同品种苜蓿的抗性比较

2.2.1　韧皮部取食之前的刺探行为比较

在苜蓿蚜取食前刺探行为中，阿尔冈金的Np波个数最多，为13.73个，显著高于金皇后的7.18个。中苜2号、草原2号的Np波持续时间分别为11.01 min和10.91 min，显著高于阿尔冈金和赛迪7。在第1次刺探的发生时间上，中苜2号最长，为16.00 min，显著高于4个品种。苜蓿蚜在中苜2号上的第1次刺探持续时间为0.16 min，显著高于赛迪7的0.06 min，其余品种间差异不显著，但刺探时间均长于赛迪7。苜蓿蚜取食赛迪7的Pd波总持续时间最长，为7.31 min，显著长于草原2号和准格尔的总持续时间（表1）。

2.2.2　韧皮部取食之后的刺探行为比较

在苜蓿蚜在韧皮部取食后的行为中，中苜2号第1次E1波持续时间为0.86 min，显著高于草原2号，中苜2号与准格尔、赛迪7、阿尔冈金和金皇后之间差异不显著，但前者高于后者。在苜蓿蚜取食过程中，不同苜蓿品种的E2波总次数存在显著差异；苜蓿蚜取食准格尔的次数显著高于取食赛迪7，说明准格尔的抗性较弱，其余品种间差异不显著（表1）。

苜蓿蚜取食中苜2号的E2波总持续时间为26.99 min，显著高于草原2号、阿尔冈金和赛迪7。苜蓿蚜取食中苜2号的时间最长，取食金皇后、准格尔和草原2号的时间次之，取食阿尔冈金和赛迪7的时间最短。苜蓿蚜取食金皇后的E波总时间为118.54 min，显著高于草原2号和赛迪7，中苜2号、准格尔和阿尔冈金均显著高于赛迪7，草原2号和赛迪7、中苜2号、准格尔、阿尔冈金4个品种之间均差异不显著，其中中苜2号被取食的时间最长，赛迪7被取食时间最短（表1）。

由第1次E1波持续时间、E2波总次数、E2波总持续时间和E波总时间等指标参数可知，苜蓿蚜在韧皮部取食阶段，中苜2号和准格尔抗性最弱，而赛迪7的抗性最强。

苜蓿蚜刺探金皇后第1次E2波后的E1波个数为7.78个，显著高于赛迪7的2.25个。苜蓿蚜刺探阿尔冈金第1个Pd波到E波的时间为68.24 min，显著高于草原2号和金皇后。苜蓿蚜刺探中苜2号第1个Pd波发生时间为21.85 min，显著高于其他5个品种。苜蓿蚜刺探赛迪7第1个刺探波到第1个E波的时间为85.60 min，显著高于金皇后（表1）。

表 1 苜蓿蚜在6个不同抗性苜蓿品种上的EPG参数

Table 1 The EPG parameters of the alfalfa aphid on six different resistant alfalfa varieties

处理 Processing	中苜2号 Zhongmu No. 2	准格尔 Zhunger	草原2号 Caoyuan No. 2	赛迪7 Sardi 7	金皇后 Golden Empress	阿尔冈金 Algonquin
C波总持续时间 Total duration of C wave/min	89.23± 21.70 a	92.19± 15.70 a	137.47± 12.61 a	132.39± 23.49 a	78.36± 20.03 a	134.94± 24.82 a
C波总次数 Total times of C wave	90.17± 17.97 a	99.27± 8.78 a	88.60± 11.74 a	102.17± 14.52 a	85.64± 18.60 a	100.91± 11.75 a
E1波总次数 Total duration of E1 wave	6.42± 1.84 a	7.00± 2.16 a	8.00± 1.79 a	4.25± 1.03 a	8.09± 2.41 a	4.10± 0.87 a
E2波总次数 Total times of C wave	5.75± 0.99 ab	7.09± 1.77 a	6.40± 1.60 ab	2.83± 0.71 b	6.18± 0.94 ab	3.73± 0.72 ab
E2波总持续时间 Total duration of E2 wave/min	26.99± 8.63 a	16.69± 4.23 ab	11.77± 3.04 bc	5.00± 1.18 c	22.96± 3.70 ab	8.02± 2.74 c
E波总次数 Total times of C wave	12.17± 2.76 a	14.09± 3.73 a	14.40± 3.15 a	7.08± 1.60 a	14.27± 2.95 a	7.45± 1.34 a
E波总时间 Total duration of E wave/min	99.02± 22.72 ab	90.10± 20.06 ab	54.06± 10.79 bc	25.53± 7.44 c	118.54± 25.63 a	86.57± 28.68 ab
Np波个数 Total times of Np wave	12.00± 3.03 ab	10.36± 2.11 ab	9.47± 1.37 ab	8.92± 1.74 ab	7.18± 1.52 b	13.73± 1.62 a
Np波总持续时间 Total duration of Np wave/min	11.01± 1.79 a	6.22± 1.38 ab	10.91± 2.22 a	3.54± 0.75 b	6.43± 1.60 ab	4.05± 0.84 b
Pd波次数 Total times of Pd wave	75.67± 15.98 a	85.45± 8.02 a	73.67± 11.15 a	89.92± 13.18 a	74.36± 17.59 a	84.36± 10.84 a
Pd波的总持续时间 Total duration of Pd wave/min	4.96± 0.70 ab	4.33± 0.64 b	4.51± 0.84 b	7.31± 0.90 a	5.63± 1.42 ab	5.14± 0.73 ab
F波总时间 Total duration of F wave/min	64.77± 11.53 a	65.27± 7.16 a	58.32± 7.12 a	66.76± 9.19 a	60.77± 14.11 a	52.29± 6.65 a
F波总次数 Total times of F wave	19.31± 2.14 a	15.91± 2.48 a	15.38± 2.24 a	20.80± 4.14 a	21.00± 1.82 a	20.64± 2.75 a
第1次刺探持续时间 Duration of the first probing/min	0.16± 0.07 a	0.07± 0.00 ab	0.08± 0.02 ab	0.06± 0.01 b	0.08± 0.00 ab	0.07± 0.01 ab
第1次刺探的发生时间 Time point of the first probing/min	16.00± 1.68 a	9.42± 1.98 b	9.60± 1.82 b	5.94± 1.47 b	11.13± 3.22 ab	8.11± 2.13 b
第1次E1波持续时间 Duration of the first E1wave/min	0.86± 0.23 a	0.63± 0.13 ab	0.37± 0.10 b	0.48± 0.14 ab	0.44± 0.12 ab	0.23± 0.05 ab
第1次E1波发生的时间 Time point of the first E1 wave/min	85.31± 15.10 a	71.11± 21.22 a	41.04± 10.68 a	93.75± 22.60 a	61.09± 14.66 a	78.53± 18.73 a
第1次 E1波前的刺探次数 Probing times in the first E1 wave front	68.67± 13.44 a	60.00± 13.91 a	35.20± 5.25 a	70.67± 16.57a	54.00± 17.16 a	63.55± 9.04 a
第1次E2波后E1波个数 No. of E1 waves after the first E2 wave	5.67± 1.60 ab	6.55± 1.93 ab	7.00± 1.85 ab	2.25± 0.62 b	7.78± 2.45 a	2.80± 0.81 ab
第1次E2波后的刺探次数 Probing times after the first E2 wave	88.50± 23.14 a	119.45± 19.26 a	119.87± 23.18 a	113.58± 31.45 a	100.09± 33.15 a	124.09± 25.29 a
第1次Pd到E波的时间 Duration from the first Pd to E wave/min	49.35± 13.41 ab	46.06± 17.64 ab	25.52± 8.68 b	32.41± 10.74 ab	20.13± 8.69 b	68.24± 27.68 a
第1次Pd发生的时间 Time point of the first Pd/min	21.85± 3.60 a	9.49± 2.00 b	10.88± 2.36 b	9.44± 2.93 b	11.79± 3.21 b	10.38± 2.25 b
第1次刺探到第1次E波的时间 Duration of the first probing to the first E wave/min	50.38± 13.25abc	31.00± 12.85 bc	37.57± 10.62 abc	85.60± 23.41 a	12.53± 4.12 c	73.42± 17.66 ab

表中数据为平均数±标准误。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± SE. Different lowercase letters in the same row indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

2.3 不同品种苜蓿抗蚜性强弱的聚类分析

聚类分析结果显示，可以将6个苜蓿品种归纳为第I类和第II类（图2），第I类包括中苜2号、准格尔、草原2号、金皇后、阿尔冈金5个品种；第II类只包括1个品种，即赛迪7。

由图2可知，第II类的抗性显著强于第I类，赛迪7的抗性均高于其他品种，表明其为高抗品种，第I类中金皇后抗性强于其余品种，据此排序为赛迪7>金皇后>草原2号>阿尔冈金>准格尔>中苜2号。

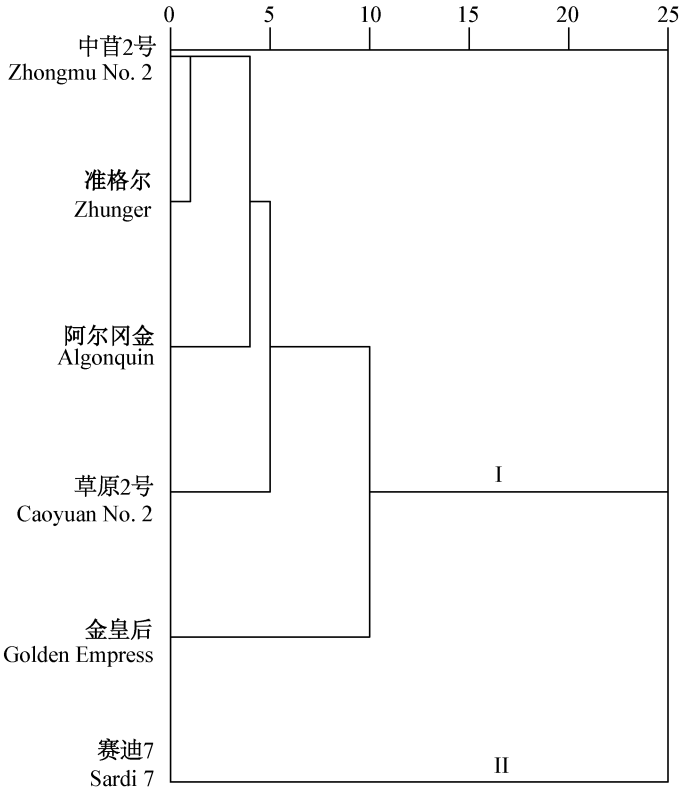

图2 苜蓿蚜在6个苜蓿品种上取食行为的聚类分析图

Fig. 2 Cluster analysis of the feeding behavior of the alfalfa aphid on six alfalfa varieties

3 讨论

EPG技术作为研究刺吸式口器昆虫取食行为的一种电生理技术，在揭示刺吸式昆虫与寄主植物的相互关系方面发挥着重要作用。通过区分昆虫在不同寄主植物上刺探的详细行为，结合其他相关技术确定抗性因子的类型，筛选与抗性相关的代表性EPG波形参数指标，能准确判断其抗性的强弱（Calderon & Backus，1992；苗进和韩宝瑜，2007；Liang et al.，2012）。

由于刺吸式昆虫的种类差异性，及其与寄主植物互作关系的复杂性，EPG波形相应表现出稳定性和多样性。目前，已研究的刺吸式昆虫取食阶段波形的特征参数基本相似，尤其是刺探波和取食波（荆裴等，2013）。本研究采用EPG技术测定了苜蓿蚜在不同品种苜蓿上的刺探取食行为，均产生8种取食波形，分别为非刺探波（Np波）、路径波（A、B、C波）、Pd波、韧皮部分泌唾液波（E1波）、韧皮部被动吸食波（E2波）以及机械阻碍波F波，这与祝愿等（2019）、胡想顺等（2008）关于蚜虫取食行为的波形类别一致。

蚜虫口针定位在韧皮部筛管分子时会刺入活细胞并识别细胞内汁液，Pd波可以真实记录口针的这一穿刺过程（郭建国等，2017）。本研究中，苜蓿蚜在中苜2号上第1个Pd波发生时间长，即刺探过程中出现较长时间的路径刺探以及非取食行为，而从记录开始到第1次刺探的时间上看，初始刺探时以中苜2号发生的时间最长，推测在苜蓿叶片上存在抗性物质，说明中苜2号的抗性因子存在于植物表面，这与罗晨等（2005）、林克剑等（2008）对烟粉虱*Bemisia tabaci*寄主植物抗性的研究结果相一致。从记录开始到第1次韧皮部唾液分泌波出现的时间，以及从记录开始到第1次韧皮部取食波出现的时间，可以推测叶肉至韧皮部存在抗性因子。从开始刺探行为到出现第1次E波所持续的时间，以赛迪7最长，表明其抗性因子存在于叶肉和韧皮部。苜蓿

蚜取食品种金皇后第1个E2波后，E1波出现频率变多，且多于赛迪7，此时金皇后的抗性明显加强，这可能是随着蚜虫的吸食，金皇后组织内含物发生变化，形成了针对苜蓿蚜取食的防御系统（Nielson & Don, 1974; Kennedy et al., 1978; Tjalling et al., 1997），而对应的中苜2号仅在蚜虫刺吸叶表面时存在明显抗性，之后的抗性显著降低，与史敏（2019）在苜蓿抗蚜性评价中认为其为低抗品种的研究结果相一致。武德功等（2011）研究发现寄主植物体内存在着阻碍刺吸式害虫取食的次生代谢物，能够提高植物的抗性水平；Sogawa（1982）研究发现苜蓿植株韧皮部含有的草酸等物质会阻碍害虫取食。据此分析，与其他苜蓿品种相比，赛迪7韧皮部可能存在较多的类似物质，能够有效地抵御蚜虫的侵害。刘丽芳等（2011）研究认为害虫取食时间越长，寄主植物的抗性越弱。

昆虫刺吸寄主植物时，单位时间内的刺探次数与取食时间负相关，刺探次数越多，则取食时间越短，寄主植物的抗性越强；反之则寄主植物的抗性越弱。唾液分泌波历时长，也表明寄主组织内阻抑因子的作用强，抗性就强。本研究中，与其余品种相比，赛迪7被刺吸取食的时间最短，聚类分析结果也表明第II类中赛迪7的抗性显著强于第I类，第I类中金皇后的抗蚜性强于同类中其余品种。唾液分泌波历时长，植物组织内阻碍因子的作用性就强，植株抗性也相对较强，这与本研究的结果相一致。

阐明蚜虫取食行为对于评价苜蓿品种的抗性水平，探索抗性因子和抗性位点，对于揭示苜蓿与蚜虫的协同进化关系具有重要意义。本研究从电生理方面研究了不同苜蓿品种对苜蓿蚜的抗性水平，还应进一步结合田间调查数据综合评价，以期为深化苜蓿抗蚜性研究和抗蚜牧草品种选育提供科学依据。

致谢：河南农业大学闫凤鸣教授和河南工业大学卢少华博士对EPG的操作方法和数据处理进行了指导和帮助，特此感谢！

参 考 文 献（References）

Calderon JD, Backus EA. 1992. Comparison of the probing behaviors of *Empoasca fadae* and *E. kraemeri* (Homoptera: Cicadellidae) on resistant and susceptible cultivars of cotton beans. Journal of Economic Entomology, 85(1): 88−99

Da LT, Zhu YL, Song LW, Hu GX, Wang SS. 2015. The effect of different alfalfa varieties on the midgut protease activity of pea aphid (*Acyrthosiphon pisum*). Acta Prataculturae Sinica, 24(10): 80−87 (in Chinese) [达丽婷, 朱亚灵, 宋丽雯, 胡桂馨, 王森山. 2015. 不同苜蓿品种对豌豆蚜中肠消化酶活性的影响. 草业学报, 24(10): 80−87]

Gamalath NS, Tufail M, Sharma PN, Mori N, Takeda M, Nakamura C. 2012. Differential expression vitellogenin mRNA and protein in response to rice resistance genes in two strains *Entomology lugens* (Hemiptera: Delphacidae) with different levels of virulence. Applied Entomology and Zoology, 47(1): 9−16

Gazro E, Femandez-Pascual M, Morcilo C. 2018. Ultrastructure of compatible and incompatible interactions in phloem sieve elements during the stylet penetration by cotton aphids in melon. Insect Science, 25(4): 631−642

Guo JG, Yuan WN, Zhou TW, Zhang XR, He CG, Zhao GQ, Zhang ZW. 2017. Feeding behavior of biotype E of the greenbug, *Schizaphis graminum* (Hemiptera: Aphididae) on oats with different phenotypic resistance. Acta Entomologica Sinica, 60(11): 1315−1323 (in Chinese) [郭建国, 袁伟宁, 周天旺, 张新瑞, 贺春贵, 赵桂琴, 张宗文. 2017. E型麦2叉蚜在不同抗性表型燕麦上的取食行为. 昆虫学报, 60(11):1315−1323]

He CG, Zhang XG. 2006. Field evaluation of lucerne (*Medicago sativa* L.) for resistance to aphids in northern China. Australian Journal of Agricultural Research, 57: 471−475

Hu XS, Liu XF, Zhao HY. 2006. Development and application of electrical penetration graph (EPG) technique. Plant Protection, 32(3): 1−4 (in Chinese) [胡想顺, 刘小凤, 赵惠燕. 2006. 刺探电位图谱(EPG)技术的原理与发展. 植物保护, 32(3): 1−4]

Hu XS, Zhao HY, Hu ZQ, Li DH, Zhang YH. 2008. EPG comparison of *Sitobion avenae* (Fab.) feeding behaviors on three wheat varieties. Scientia Agricultura Sinica, 41(7): 1989−1994 (in Chinese) [胡想顺, 赵惠燕, 胡祖庆, 李东鸿, 张宇红. 2008. 麦长管蚜在3个小麦品种上取食行为的EPG比较. 中国农业科学, 41(7): 1989−1994]

Huang W, Jia ZK, Han QF. 2007. Effects of herbivore stress by *Aphis medicaginis* Koch on the contents of MDA and activities of protective enzymes in different alfalfa varieties. Acta Ecologica Sinica, 27(6): 2177−2183 (in Chinese) [黄伟, 贾志宽, 韩清芳. 2007. 蚜虫(*Aphis medicaginis* Koch)危害胁迫对不同苜蓿品种体内丙二醛含量及防御性酶活性的影响. 生态学报, 27(6): 2177−2183]

Jin S, Sun XL, Chen ZM, Xiao B, Gao Y, Bian L, Luo ZX, Zhang ZQ. 2012. Applications of electric penetration graph (EPG) technique in the research of resistance of tea plant to piercing-sucking insects. Journal of Tea Science, 32(5): 393−401 (in Chinese) [金珊, 孙晓玲, 陈宗懋, 肖斌, 高宇, 边磊, 罗宗秀, 张正群. 2012. 昆虫刺探电位图谱(EPG)技术在茶树抗刺吸式口器害虫研究中的应用. 茶叶科学, 32(5): 393−401]

Jing P, Bai SF, Liu F. 2013. Research progress on EPG waveform types analysis on the feeding behavior of common piercing-sucking insects. China Plant Protection, 33(4):18−23 (in Chinese) [荆裴, 白素芬, 刘芳. 2013. 常见植食性刺吸式昆虫取食行为的EPG波形分析研究进展. 中国植保导刊, 33(4): 18−23]

Kennedy GG, Mclean DL, Kinsey MG. 1978. Probing behavior of *Aphis gossypi* on resistant and susceptible muskmelon. Journal of Economic Entomology, 71: 13−16

Lei H, Xu RM. 1996. EPG: an effective method for studying the prying behavior of herbivorous piercing insects. Entomological Knowl-

edge, 33(2): 116−120 (in Chinese) [雷宏, 徐汝梅. 1996. EPG: 一种研究植食性刺吸式昆虫刺探行为的有效方法. 昆虫知识, 33(2): 116−120]

Lett JM, Granier M, Grondin M, Turpin P, Molinaro F, Chiroleu F, Peterschmitt M, Reynaud B. 2001. Electrical penetrationgraphs from *Cicadulina mbila* on maize, the fine structure ofits stylet pathways and consequences for virus transmission efficiency. Entomologia Experimentalis et Applicata, 101(2): 93−109

Liang LY, Liu LF, Yu XP, Han BY. 2012. Evaluation of the resistance of different tea cultivars to tea aphids by EPG technique. Journal of Integrative Agriculture, 11(12): 2028−2034

Lin KJ, Wu KM, Zhang YJ, Guo YY. 2008. The feeding and oviposition behaviors of *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotype B on five host plant. Journal of Plant Protection, 35(3): 199−204 (in Chinese) [林克剑, 吴孔明, 张永军, 郭予元. 2008. B型烟粉虱成虫对五种寄主植物的取食和产卵行为. 植物保护学报, 35(3): 199−204]

Liu LF, Xu DL, Mu D, Han BY. 2011. Analysis of the feeding behaviours of tea green leafhoppers on resistant to sensible cultivars of tea plants by electrical penetration graphy techniques. Journal of Anhui Agricultural University, 38(2): 281−286 (in Chinese) [刘丽芳, 徐德良, 穆丹, 韩宝瑜. 2011. EPG技术分析不同品种茶树抗假眼小绿叶蝉取食行为的差异. 安徽农业大学学报, 38(2): 281−286]

Luo C, Yue M, Xu HF, Zhang ZL. 2005. Application of electrical penetration graph (EPG) in entomological studies and new findings. Acta Entomologica Sinica, 48(3): 437−443 (in Chinese) [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]

Miao J, Han BY. 2007. Probing behavior of the tea green leafhopper on different tea plant cultivars. Acta Ecologica Sinica, 27(10): 3973−3982 (in Chinese) [苗进, 韩宝瑜. 2007. 假眼小绿叶蝉(*Empoasca vitis* Gothe)在不同品种茶树上的取食行为. 生态学报, 27(10): 3973−3982]

Nan ZB.2001. Alfalfa disease and its comprehensive control system in China. Animal Science and Animal Medicine, 18(4): 81−84 (in Chinese) [南志标. 2001. 我国的苜蓿病害及其综合防治体系. 动物科学与动物医学, 18(4): 81−84]

Nielson MW, Don H. 1974. Probing behavior of biotypes of the spotted alfalfa aphid on resistant and susceptible alfalfa clones. Entomologia Experimentalis et Applicata, 17: 477−487

Shi M, Cao S, Hu JL, Dang SZ, Li YZ. 2019. Investigation of soil insect pest species, damage and resistance in alfalfa. Pratacultural Science, 36(11): 2895−2906 (in Chinese) [史敏, 曹师, 胡进玲, 党淑钟, 李彦忠. 2019. 苜蓿地下害虫种类、为害及抗性评价. 草业科学, 36(11): 2895−2906]

Sogawa K. 1982. The rice brown planthopper: feeding physiology and host plant interaction. Annual Review of Entomology, 27: 49−73

Sun QZ ,Yu Z, Xu CC.2012. Urgency of future developing alfalfa industry in China. Pratacultural Science, 29(2): 314−319 (in Chinese) [孙启忠, 玉柱, 徐春城. 2012. 我国苜蓿产业亟待振兴. 草业科学, 29(2): 314−319]

Temuerbuhe, Xiao YZ. 2017. Breeding of new variety of *Medicago sativa* cv. Caoyuan No. 4. relationships between panicle and the grain quality traits of hybrid sorghum. Pratacultural Science, 34(4): 855−860 (in Chinese) [特木尔布和, 肖燕子. 2017. 苜蓿新品种草原4号的选育. 草业科学, 34(4): 855−860]

Tjallingii WF. 1985. Electrical nature of recorded signals during stylet penetration by aphids. Entomologia Experimentalis et Applicata, 38: 177−186

Tjallingii WF. 1997. Regulation of phloem sap feeding by aphids.// Chapman RF, de Boer G. Regulatory mechanism in insect-feeding. New York: Chapman & Hald Publication, pp. 191−209

Wang SS, Zhu YT, Song LW, Da LT. 2014. Field evaluation of resistance of different alfalfa varieties to *Acyrthosiphon pisum* Harris. Acta Agrestia Sinica, 22(5): 1139−1142 (in Chinese) [王森山, 朱亚灵, 宋丽雯, 达丽婷. 2014. 不同苜蓿品种对豌豆蚜田间抗性评价. 草地学报, 22(5): 1139−1142]

Wu DG, He CG, Liu CZ, Du GJ, Hu GX, Wang SS. 2011. Biochemical resistance mechanism of *Medicago sativa* to *Acyrthosiphon pisum*. Acta Agrestia Sinica, 19(3): 497−501 (in Chinese) [武德功, 贺春贵, 刘长仲, 杜军利, 胡桂馨, 王森山. 2011. 不同苜蓿品种对豌豆蚜的生化抗性机制. 草地学报, 19(3): 497−501]

Xu LB, Liu AP, Wang H, Di CX, Wang LL. 2007. Predation of *Propylaea japonica* on *Aphis medicaginis*. Acta Agrestia Sinica 15(3): 296−298 (in Chinese) [徐林波, 刘爱萍, 王慧, 狄彩霞, 王玲玲. 2007. 龟纹瓢虫对苜蓿蚜的捕食效应(简报). 草地学报, 15(3): 296−298]

Yang CX, Gao LY, Zhang R, Zhang ZK. 2005. Occurrence and comprehensive control of alfalfa aphid in Ningxia. Ningxia Journal of Agriculture and Forestry Science and Technology, (2): 4−6, 3 (in Chinese) [杨彩霞, 高立原, 张蓉, 张治科. 2005. 宁夏苜蓿蚜虫的发生和综合防治. 宁夏农林科技, (2): 4−6, 3]

Yin HD, Wang XY, Xue K, Huang CH, Wang RJ, Yan FM, Xu CR. 2010. Impacts of transgenic Bt cotton on the stylet penetration behaviors of *Bemisia tabaci* biotype B: evidence from laboratory experiments. Insect Science, 17(4): 344−352

Zhang HY, Wei SH, Zhang R, Miao R, Li KC, Luo XL, Zhang Y. 2016. Effects of *Acyrthosiphon pisum* on enzyme activities and nutrients of different alfalfa varieties. Pratacultural Science, 33(1): 144−152 (in Chinese) [张洪英, 魏淑花, 张蓉, 苗润, 李克昌, 罗晓玲, 张宇. 2016. 豌豆蚜为害对苜蓿品种酶活性和营养物质的影响. 草业科学, 33(1): 144−152]

Zhao M, Tian TW, Li WZ, Luo MH, Guo XR, Yan FM. 2015. Comparative analysis of *Rhopalosiphum maidis* feeding behaviors on eight maize hybrids (inbreds). Scientia Agricultura Sinica, 48(8): 1538−1547 (in Chinese) [赵曼, 田体伟, 李为争, 罗梅浩, 郭线茹, 闫凤鸣. 2015. 玉米蚜在8个玉米品种(系)上取食行为的比较分析. 中国农业科学, 48(8): 1538−1547]

Zhu Y, Wang MX, Cui L, Shen ZY, Zhou JS, Han BY. 2019. Analysis of resistance of two elite *Chrysanthemum morifolium* cultivars to three species of aphids using EPG techniques and their potential resistant substances. Journal of Plant Protection, 46(2): 425−433 (in Chinese) [祝愿, 王梦馨, 崔林, 沈子尧, 周建松, 韩宝瑜. 2019. 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. 植物保护学报, 46(2): 425−433]

（责任编辑：王　璇）