应用昆虫学报 *Chinese Journal of Applied Entomology* 2011,48(5):1519—1527

应用基础

刺吸电位技术应用中的几个问题*

汤清波 张大山 姬 琨 丁识伯 闫凤鸣**

(河南农业大学化学生态研究所 郑州 450002)

摘 要 近年来,刺吸电位技术(electrical penetration graph,EPG)在我国得到越来越广泛的应用,但在应用过程中还存在一些问题或误区,在一定程度上影响了EPG的应用效果。本文根据多年实际应用经验,讨论了EPG应用中可能遇到的和容易出现的一些问题及解决办法,包括EPG技术的适用范围、昆虫和植物的处理办法、仪器的调试、EPG波形的生物学意义阐释、指标的选择、数据统计分析、人工饲料上的EPG记录等。

关键词 适用范围,材料选择,仪器调试,波形,人工饲料

Some key points in applications of electrical penetration graph technique

TANG Qing-Bo ZHANG Da-Shan JI Kun DING Shi-Bo YAN Feng-Ming**

(Institute of Chemical Ecology, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract The electrical penetration graph (EPG) has been extensively used in research on plant-insect interactions, virus transmission mechanisms and plant resistance mechanisms. However, some misunderstandings in the application of EPG have resulted in mistakes in experimental design or misinterpretation of results. This paper provides solutions to some particular problems in EPG applications, including EPG application fields, how to deal with plant and insect materials, equipment manipulations, interpretations of EPG waveforms and their biological correlations, selection of variables, statistics, as well as EPG recordings on artificial diets.

Key words application scopes, selection of materials, adjusting of equipments, biological correlation of waveforms, artificial diet

目前,刺吸电位技术(electrical penetration graph,EPG)已经成为研究植食性刺吸式昆虫取食行为及其传毒机理、植物抗性机理等的重要手段(Woodford *et al.*, 1990; Nisbet *et al.*, 1992; Rahbe*et al.*, 2000; Mauck *et al.*, 2010),在国内外的昆虫学研究中得到了广泛应用。国内已经举办了几次EPG培训班和研讨会,目前很多单位利用EPG开展了许多工作。但作者在审稿和阅读一些国内发表的EPG相关论文中发现,EPG应用中存在着多个误区甚至错误,这在一定程度上影响了EPG应用的效果和对研究结果的阐释;也有不少研究生经常来信或来电询问EPG应用的一些细节。本文根据长期从事EPG研究的经验和教训,就实验中需要注意的一些问题和技巧进行分析和讨论,以期为从事此项研究的科研工作者和研究生提供参考和借鉴。由于我国多数学者使用的是直流电刺吸电位仪(DC-EPG),所以本文着重讨论DC-EPG的应用问题。

1 EPG技术的适用范围

从理论上来说,EPG既可以用于研究昆虫与植物的关系,也可以用于研究吸血昆虫(或蜱螨)与动物(或人)的关系,但由于应用上的一些技术原因,到目前为止,EPG还是仅应用于刺吸式口器

* 资助项目:国家自然科学基金(30571219)、国家转基因新品种培育重大专项(2009ZX08012-007B)。

**通讯作者,E-mail: fmyan@henau.edu.cn

收稿日期:2010-12-13,接受日期:2011-03-05

昆虫(同翅目、半翅目)、锉吸式口器昆虫(蓟马)、植食性螨类等与植物关系方面的研究。由于刺吸式昆虫独特的取食特点,使得直接观察其取食行为非常困难。对于咀嚼式昆虫,可以通过观察植物的受损来判断昆虫的取食程度、取食量,以及昆虫对于植物种类、部位的喜好程度;但刺吸式昆虫的取食情况就很难通过常规观察来了解。而 EPG 技术可以将刺吸式口器昆虫的取食过程通过电位的形式记录下来(Tjallingii,1988),在刺吸式昆虫与植物的关系研究上具有独特的优势。目前,EPG 主要应用于以下 3 个方面:

第一,EPG 技术可以用来进行刺吸式口器昆虫在植物上取食行为的研究。有很多技术可以用来研究这些昆虫的取食行为,如生态学方法中的昆虫在寄主植物上的繁殖速率、昆虫在寄主植物上的分布,或者利用直接观察的方法、蜜露钟法来研究昆虫在寄主植物上的取食等。虽然这些生态学和生物学方法对昆虫行为的干扰较少,能够获得相关昆虫取食的宏观信息,但这些方法不能得到昆虫口针在寄主植物中刺吸的相关信息。用 EPG 技术来研究昆虫的取食行为,可以准确得知昆虫口针的刺探位置、是否吸食汁液、吸食时间长短、植物对昆虫的抗性因素的存在部位等信息(Walker and Janssen,2000)。

第二,EPG 可以进行植物对刺吸式昆虫抗性机制的研究和植物的诱导防御反应机理的研究(Eenink *et al.*, 1984; Will *et al.*,2009; Yin *et al.*, 2010)。EPG 波形及发生顺序、持续时间等,可以在一定程度上反映昆虫对植物各个组织的喜好程度,同时可以说明植物在组织水平上是否存在对昆虫的抗性或诱食因子,因此,利用 EPG 可以对抗性或诱食因子进行准确定位。

第三,EPG 在刺吸式昆虫传播植物病毒机理的研究中可以发挥重要作用。研究表明,植物病毒可以修饰媒介昆虫的取食行为和寄主植物的营养状况,而 EPG 的一些特征波形(或其亚波)能够反映出昆虫是否带毒、植物染毒程度等(Martin *et al.*, 1997)。

因此,DC-EPG 技术在研究昆虫在寄主植物上的取食行为、植物的抗性机制、昆虫的传毒机理等方面成为一种重要的工具。

2 植物与昆虫的选择

2.1 植物材料及实验叶片的选择

EPG 实验所用植物,生长情况应严格保持一致,这样才能尽可能减少因为实验材料引起的误差。植物不同部位对于昆虫的取食行为也有很大的影响(Tjallingii and Mayoral, 1992),待测植株上放置昆虫的叶片位置应是昆虫喜食叶片的所在位置。刺吸式昆虫一般在叶背的叶脉附近取食,所以应将昆虫放在叶背叶脉周围。人工直接放置在叶背的昆虫容易滑落,在屏蔽笼中也不好操作,因此可以用斜放的塑胶板或聚酯板固定叶片,使其叶背向上,用封口膜固定在板上,以防叶片翻转或移动导致昆虫脱离叶面或者金线接触叶面进而干扰记录。同时,这样也可以使昆虫更容易获得充足的光源,方便昆虫觅食。

2.2 实验昆虫的固定和预处理

EPG 实验所用昆虫的标准应该严格保持一致,不同龄期和性别的昆虫的取食行为可能有较大的差异。最好将昆虫的龄期差异控制在 24 h 之内。通常情况下,EPG 试虫最好选择成虫,这是因为如果以幼虫作为测试昆虫,实验记录过程中的幼虫脱皮会导致金线脱落,从而影响实验成功率。如有特殊情况必须使用幼虫进行实验,则应该在幼虫蜕皮后最短的时间内进行实验。下面详细介绍昆虫的固定和连接中应当注意的问题。

2.2.1 昆虫的固定一般采取负压法、冷冻法或 CO_2 麻醉法 由于昆虫的活动性,需要将昆虫麻醉或者固定后再进行金丝电极连接。昆虫的固定一般采取负压法、冷冻法或 CO_2 麻醉法。可采用真空泵或负压等制作固定昆虫的装置,简单的也可以利用水流产生的负压。昆虫的麻醉可采用干冰麻醉法和冷冻法。这类方法的难点在于时间的掌握,不同昆虫对于低温的承受能力有差异。例如,烟粉虱在冷冻室中经过 20 ~ 30 s 即不能活动,取出置于操作台上即可进行电极的连接。由于蚜虫的活动性较弱,一般连接过程可以直接在叶片上进行。褐飞虱不宜采用冷冻法,因为经过冷冻的褐飞虱,恢复活动后,取食能力较差,对实验结果影响较大。

2.2.2 昆虫与金丝的连接 昆虫电极上的金丝会在一定程度上影响昆虫的活动,有时也可能影

响昆虫的取食,所以应尽量减少连接金丝对昆虫取食行为的干扰。一般情况下,EPG 记录使用直径 10 ~ 20 μm 的金丝,因为蚜虫虫体较大,使用的金丝要适当粗一些,可以使用直径为 20 μm 的金丝;烟粉虱类微体昆虫应选择直径 10 μm 左右的金丝,这种规格的金线由于直径较小,在连接粉虱的过程中有一定的难度。但是,在使用这种金丝后,实验的成功率由原来的 40% 提高到将近 100%。金丝长度一般应该在 1.5 ~ 3 cm。

电极与昆虫虫体的连接是一个技术难点(岳梅等,2005),即金丝表面比较光滑,横截面较小,很难聚集银胶,而试虫的连接需要一定的接触面积才能保证其牢固性。在实践中,我们可以在金线端部制作一个钩状结构或者使之形成一个银胶球的方式解决上述难点。将金线端部浸入银胶中,抽出后让附着的银胶在空气中干燥 1 ~ 2 min,再将金线端部浸入银胶,如此反复至金线端部形成一个银胶球。对于不同的试虫,银胶球的大小也应不同,像粉虱等小型昆虫,银胶球就需要尽可能的小,不然不只是对昆虫造成负担,影响其取食,还有可能在粉虱活动的过程中使银胶球接触到植物叶面造成实验失败。

2.2.3　昆虫与金丝电极连接后的适应问题　一般情况下,刺吸式昆虫都是在有光照的条件下进行取食,因此,EPG 实验需要在有足够光照的条件下进行,而且进行 EPG 实验的时间应尽可能和所饲养昆虫的光周期保持一致;EPG 实验所用植物应与饲养昆虫的寄主植物保持一致;金丝粘连后的昆虫不要直接放在 EPG 实验所用植物上,而应该另备一株植物用于让昆虫适应背部粘有银胶和金丝的情况,等所有试验昆虫都与金丝连接完毕后,再进行饥饿处理,这个过程大概需要 30 ~ 60 min,视不同昆虫情况而定,虫体大的、生命力强的可以时间相对长一些,虫体小的,生命力弱的,时间相对短一些。烟粉虱粘连后的适应处理,一般需要 20 min 的时间。实验前的饥饿处理对于实验的成功与否至关重要,饥饿处理的时间过长,会造成实验过程中 G 波出现频繁(Johnson and Walker, 2002),饥饿时间过短会使第一个刺探前的时间太长。经过饥饿处理后的昆虫,应在 EPG 仪器开启前同时放在记录植物上。

有的学者不赞成在连好金丝后进行饥饿或适应处理,而认为应该把连好电极的昆虫直接进行记录实验。这样在分析这些记录数据时,应该把记录开始到开始刺探前的这段时间去掉,因为先后连接金丝的昆虫所受的干扰时间和程度不同,可能使得在记录植物上的刺探开始前的适应期不同。

3　实验设计

与其它研究一样,利用 EPG 进行试验,要进行精心设计,减少误差,达到揭示自然规律的目的。与生化、分子生物学等可以严格控制条件的实验不同,EPG 实验属于行为学和电生理学方面的研究,变化因素多,方差大,需要通过增加重复数、随机选择昆虫和植物等来抵消方差造成的影响。

3.1　记录的重复数

在 EPG 实验中,"昆虫 - 植物"组合之间所产生的波形早晚和持续时间长短等指标数据,会有比较大的方差。每次重复都应该使用新的昆虫个体和新的植物个体,因此,方差的产生,既来源于植物个体之间的不同,也来自于不同昆虫个体的表现。大量的实验证明,为了得到客观的结果,每个处理的重复数应该在 15 ~ 20 之间,或者更多。在这种情况下进行的数据统计分析,才能反映客观实际。在实际操作中,有许多实验记录由于各种原因不能使用,建议每个处理记录 30 次,从中挑选出大约 20 个成功的记录进行统计分析(闫凤鸣,2003)。

3.2　不同处理在 EPG 各通道的随机排列

和其它实验一样,EPG 记录中的通道排列也应该是随机的,这样可以消除由于记录通道、植物放置位置、室内光线等的不同所造成的误差。例如,要利用四通道的 EPG 装置(如 Giga-4)记录一种昆虫在 4 种寄主植物上的取食行为,就是 4 个处理,分别编号为 A、B、C、D,利用数理统计书后面的随机表将 4 种植物在 EPG 记录通道的安排列成表格,记录在实验记录本上,每次实验都要按随机顺序安排记录通道(表 1 只是随机的一种可能),而不是在实验的时候任意放置。

4　记录过程中常见问题

4.1　仪器的调试(校正)

DC-EPG 对外界干扰十分敏感,外界电波的干扰会影响记录的信号,使有意义的信号变得难以

辨认，而且外界嘈杂的环境会影响昆虫的取食活动。所以整个实验装置应置于一个电压比较稳定、免除外界干扰的环境中，DC-EPG 必须使用接地的法拉第笼来屏蔽噪音（Jiang and Walker，2007）。在每次实验前，先要对 EPG 系统进行校正。在整个系统处于没有接通的状态下，把系统恢复到默认状态，然后把植物电极直接插进昆虫电极的探头中，使得回路接通，按下脉冲按钮，如果能够出现一个向下的 5V 的方波，就说明所测试通道正常。如果想要获取比较完美的波形，还要对植物电压和放大系数进行调校。植物电压的调校不当会造成只有正的波形或者只有负的波形被记录的情况；而放大系数的调校不当会造成有些有意义的波形不能明确显示（Jiang and Nombela，2001）。应该使植物电压的指针处于中间稍偏向正的位置，放大系数为 50 倍比较适宜。

表 1　4 株植物在 EPG 记录通道的随机排列示例

Table 1　An example for random arrangements of 4 plants for EPG channels

重复 Replicate #	通道 EPG channel			
	1	2	3	4
1	A	B	C	D
2	C	B	D	A
3	B	D	A	C
4	D	C	B	A
5	A	C	D	B
…	…	…	…	…

4.2　记录时间的长短

EPG 实验记录时间的长短，一直是很多初学者咨询比较多的问题之一。这个问题不能给出统一的标准，从几分钟到持续几天的 EPG 实验都曾经进行过。这主要取决于实验的目的。

如果只是研究寄主植物表面或叶肉层次物理化学性质对昆虫取食行为的影响，一般 30 min 到 3 h 的记录时间就足够了；而研究昆虫传毒机制，最初几个 pd 是十分关键的，记录几分钟就可以了。一般昆虫与植物关系的研究，目的在于探讨植物次生物质在植物的哪个层次对昆虫的取食行为有影响，建议记录 6 h。

如果想要得到昆虫取食的全部波形，就需要给昆虫足够的时间去完成这些取食行为。在蚜虫 EPG 实验中，从实验记录开始到第 1 个 E2 波的出现是一个较长的过程，通常情况下需要几个小时（Van Helden and Tjallingii，1990）。一般情况下，第一次韧皮部取食的时间较短，后来的韧皮部取食时间都会较长。一个理想的决定 EPG 记录持续时间的方法是，通过观察大量昆虫在寄主植物上的第一滴蜜露的分泌，即第一次到达韧皮部的取食时间，然后重复这个时间用来进行 EPG 实验。有研究证明，记录 16 h 和 8 h，在结果上并没有显著的差异。8 h 大约相当于从实验开始到第一个 E2 波出现时间的 2 倍。一般的研究，6 h 的记录是比较合适的。更长的或者更短的 EPG 记录时间，要根据实验研究的需要来决定。

5　EPG 波形的生物学意义的阐释

利用 EPG 无论进行何种目的的研究，都要准确判别各类波形的生物学意义。从严格意义上来说，一种没有利用 EPG 研究过的昆虫，都要进行波形和生物学意义之间的关联研究。但在实际运用中，对于不同目的的研究，可以采取不同的策略。

在利用 EPG 开展研究之前，首先应了解所研究昆虫的取食特点。不同的昆虫取食植物的部位是不一样的。根据吸食部位，植食性刺吸式昆虫可分为 3 类：（1）韧皮部吸食：胸喙亚目昆虫如粉虱、蚜虫、介壳虫，半翅目蝽类等；（2）木质部吸食：头喙亚目昆虫如叶蝉、蝉等；（3）叶肉吸食：缨翅目蓟马类锉吸植物叶肉细胞，部分同翅目叶蝉类也属于这类。

5.1　蚜虫、粉虱等昆虫的 EPG 波形

对于蚜虫、粉虱等同翅目胸喙亚目的昆虫，其 AC-EPG 或者 DC-EPG 波形及其生物学意义都很相似（表 2）。对于第 1 次使用 EPG 进行记录的昆虫，可以参考同类昆虫的 EPG 波形及其生物学意义。

5.2　叶蝉等昆虫的 EPG 波形

对于叶蝉类等头喙亚目昆虫，不同种类昆虫的波形区别很大。因此，几乎每种昆虫都要进行波形和生物学意义的关联研究。在进行 EPG 波形和生物学意义关联研究中，要用到许多技术手段：（1）口针截断技术：能够清晰显示某种波形发生时昆虫口针在植物组织中的位置；（2）人工饲料技术：已经被应用于昆虫取食行为和 EPG 波形关联

的研究中(Harrewijn,1990; Niemeyer and Givovich, 2000) ; (3) 组织切片技术: 刺吸式昆虫在刺探和吸食过程中,会分泌鞘唾液和水溶性唾液,前者在分泌后逐渐固化,形成唾液鞘,即使在昆虫口针拔出后,这些唾液鞘会留在植物组织中,通过切片组织化学染色,显示出的唾液鞘可以表明在最后 EPG 波形发生时昆虫口针端部所在的植物组织位置(Backus *et al.* , 2005) ; (4) 显微摄像技术: 利用信号混合器将 EPG 波形信号和摄像镜头所观察到的昆虫取食行为同时显示在计算机屏幕上并记录下来,可以很方便地研究每类 EPG 波形的生物学意义,在人工饲料上的记录特别有用(Joost *et al.* , 2006) (详见"7 利用人工饲料进行 EPG 记录") 。

表 2　蚜虫类刺吸式昆虫 DC-EPG 波形的生物学意义(闫凤鸣,2003)

Table 2　Biological meanings of DC-EPG waveforms in aphids(Yan FM, 2003)

阶段 Phase	波形 Waveform	刺吸食昆虫行为 Insect behavior	口针端部所处植物组织和部位 Plant tissue(s) where insect stylet tip reaches
刺探路径阶段 Pathway	A	刺探,分泌水溶型唾液	表皮
	B	分泌凝胶型唾液	表皮或叶肉组织
	C	刺探	叶肉细胞间隙或韧皮部筛分子外部
	pd	细胞内刺探	生活细胞内部
	F	口针遇到机械阻力	所有组织,细胞外部
韧皮部阶段 Phloem	E1	分泌唾液	韧皮部筛分子
	E2	被动吸食	韧皮部筛分子
木质部阶段 Xylem	G	主动吸食	木质部

5.3　其它昆虫的 EPG 波形

如果是 EPG 新记录的昆虫,而且没有现成的波形与生物学联系供参考,可以使用下面的这些识别波形的技巧:

(1) 根据可能出现的顺序进行推测: 昆虫口针刺入植物表皮,EPG 波形会出现大的振幅,在蚜虫中称为 A 波,随即会分泌唾液鞘,随着唾液鞘的不断固化,导电性会起伏不定,所以波形会忽高忽低,这称为 B、C 波。一般把 A、B、C 统称为路径波(pathway waveform) 。韧皮部或木质部吸食的波形一般会先有短暂的水溶性唾液分泌的波形,在蚜虫中称为 E_1,接着是振幅比较低但很规律的吸食波形(蚜虫中称为 E_2) 。

(2) 可以根据波形分析判断: 路径波比较乱,振幅大,持续时间相对较短; 而吸食波形(蚜虫中的 E_1和 E_2) 比较规律,振幅小,持续时间长。

(3) 根据昆虫蜜露的分泌来判断吸食波形: 吸食开始后大约 1 ~3 min,昆虫的腹部末端就有蜜露分泌出来,这时显示的波形肯定是吸食波。

(4) 在应用中,如果不是特意研究波形的生物学意义,而是以研究昆虫取食或植物抗性为目的,只要识别 4 种波形就可以了: 路径波、2 种吸食波、NP 波(非取食波) ,pd 波。

6　指标的选择及数据的统计分析

分析完波形以后,在 Excel 表格里就形成 2 列数据,第 1 列是波形名称,第 2 列是每个波形开始的时间。通过计算形成第 3 列"持续时间"(在"时间列"中,用下一行减去上一行,就可以得到每个波形持续的时间) 。然后,根据研究目的,选择一系列的指标("指标"这个词对应的英文,过去用 parameter, 现在用 variable) ,也就是计算各种波形的持续时间、发生开始时间等等,以考察昆虫在植物上的不同表现。

EPG 的指标分为 2 类,第一类为"与取食时间顺序无关的指标"(non-sequential variables) , 也可以称为通用指标(general variables) ,如"某种波发生的总次数或平均持续时间", "非刺探时间占总记录时间的百分比"等,主要用于考察昆虫在某种植物上总的取食行为表现,能够得到植物抗性方面的总的信息; 第 2 类是"顺序性指标"(sequential variables) ,即以波形发生的时间顺序,把整个记录

过程分为 3 个阶段: 第 1 阶段是从刺吸开始到第 1 个 E1 出现(反映叶表面性质,叶表皮和叶肉部分的性质),第 2 个阶段是从第 1 个 E1 出现到第 1 次韧皮部持续取食(E2 长于 10 min)(反映叶肉部分的性质),此后至记录结束为第 3 阶段(反映韧皮部的性质)。各个阶段的不同指标,可以更细致地获得植物在不同层次(表皮、叶肉、韧皮部)对昆虫的抗性或刺激因素的信息,如"从记录开始到发生第 1 次 E 波的时间","第 3 阶段内 E1 波发生的总时间",等等。EPG 指标选择的例子见表 3。

EPG 记录取得的数据,处理之间的差异检验一般使用 Mann-Whitney 非参数检验法或 ANOVA,如果有些指标是百分数,配对检验需要进行 χ^2 检验。差异显著性水平一般设为 $P < 0.05$ 就可以了。

7 利用人工饲料进行 EPG 记录

7.1 EPG 记录用人工饲料的主要类型和制作

进行人工饲料上的 EPG 记录,目的主要有: 一是进行波形与生物学意义的关联研究; 二是进行植物次生物质、毒蛋白或农药等对昆虫取食行为影响机理的研究; 三是进行昆虫传播植物病毒机理的研究。此外,人工饲料还可以不与 EPG 研究结合,单独用于昆虫唾液成分的收集。刺吸式昆虫的人工饲料分 2 类,一类是用于长期饲养的,需要满足昆虫生长发育繁殖的需要; 另一类是用于特殊实验目的,一般为体积百分比为 5% ~10% 蔗糖溶液,能够维持昆虫几个小时或几天的需要即可。人工饲料可以分为以下 3 类:

(1) 液体人工饲料囊: 两层封口膜包被 1 ~2 mL 的蔗糖溶液,在瓶口覆上一层封口膜(注意别绷太紧),在膜上滴上一定数量的糖溶液,然后再覆上另一层膜,把周围封严。

(2) 液体人工饲料盒: 可以将载玻片大小、厚约 5 mm 的聚酯从侧面挖个凹槽,在槽内加液体人工饲料,用封口膜密封。也可以使用实验室现成的带凹槽的载玻片。这种人工饲料便于从侧面观察昆虫口针的运动。

(3) 半液体人工饲料: 根据不同昆虫的需要,可以配合琼脂制作成半固体(半液体)人工饲料,但要注意其导电性。

7.2 人工饲料上进行 EPG 记录的特殊考虑

利用人工饲料作为介质进行昆虫 EPG 记录,应该注意以下几点:

(1) 不管使用哪一种人工饲料,都需要把植物电极连接到人工饲料中,不然无法形成回路。

(2) 由于昆虫的取食需要许多刺激因素,因此记录其在人工饲料上的取食行为,成功率会比较低。解决这个问题,可以考虑 2 个措施,一是适当延长昆虫在记录前的饥饿时间,二是可以在人工膜的表面适当涂些植物汁液以刺激昆虫刺探。

(3) 人工饲料毕竟不能和植物一样有那么多的结构层次,所以昆虫在人工饲料结构膜上比在植物上产生的 EPG 波形类型要少,但可以在一定程度上揭示昆虫的取食行为(Joost *et al.*, 2006)。

(4) 由于糖液是透明的,不容易观察到昆虫分泌唾液和取食的情况,可以在糖液中加一些微小颗粒的碳粉,以便于通过碳粒的微小运动,来证明昆虫的取食活动。

7.3 EPG 记录

与在植物上进行 EPG 记录一样,首先需要把金丝用导电胶连接到昆虫背部,再连到 EPG 放大器上。如果要进行波形与生物学意义的关联研究,可以用显微摄像机观察记录昆虫口针的运动,通过图像混合器(video mixer),将 EPG 波形和昆虫口针运动情况同步记录到计算机硬盘并显示在屏幕上。图 1 是利用人工饲料进行琉璃叶蝉 *Homalodisca coagulata* 波形研究的一个实例。

8 应用实例: 利用 EPG 进行转基因棉非靶标效应的研究

以 4 个通道的 DC-PEG(Giga-4)记录棉蚜 *Aphis gossypii* 在转基因棉和常规棉上的取食为例(Xue *et al.*, 2008, 2009),说明如何利用 EPG 进行转基因棉非靶标效应的研究。

8.1 实验材料与方法

实验所选 2 个棉花品系分别为 GK12 和泗棉 3 号,其中 GK12 是以泗棉 3 号作为亲本的、表达 Bt 蛋白 Cry1Ac 的转基因棉品系。实验用棉蚜 *Aphis gossypii* Glover,在 2 种棉株上保持超过 20 代后,该孤雌蚜品系的无翅成蚜即用于实验,在泗棉 3 号上繁殖的品系称为 CK 蚜虫,在 GK12 上繁殖的品系称为 Bt 蚜虫。EPG 实验包括 4 个组合,即 CK 蚜虫 - Bt 棉、CK 蚜虫 - CK 棉、Bt 蚜虫 - Bt 棉

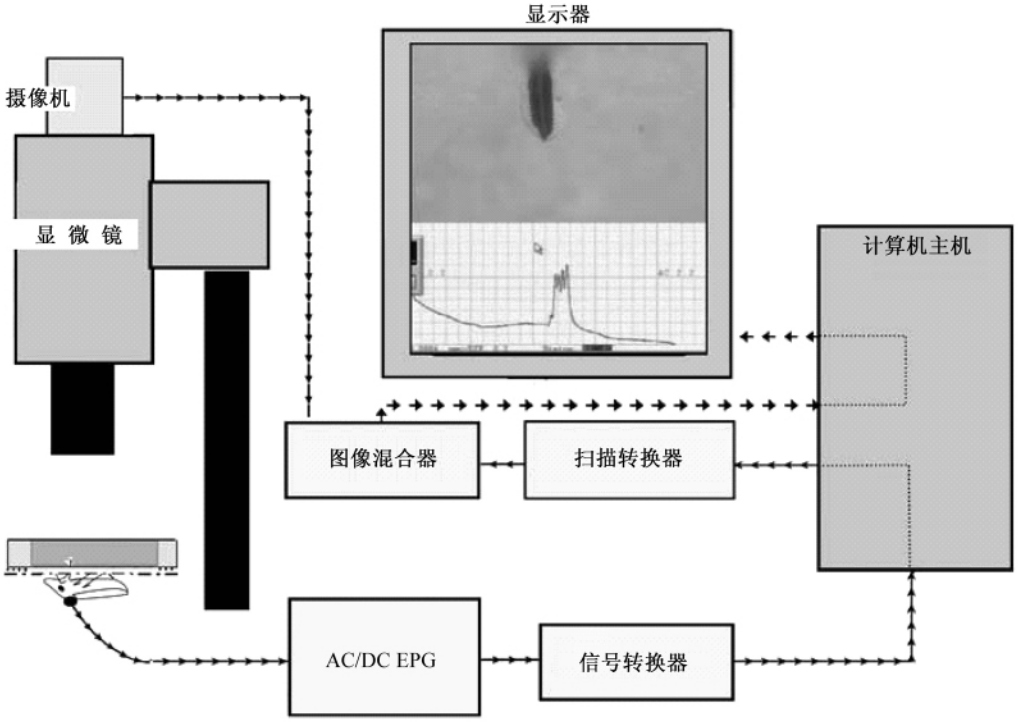

图 1　同步记录琉璃叶蝉 *Homalodisca coagulata* 人工饲料上口针运动和 EPG 波形的装置(Joost *et al.*, 2006)

Fig. 1　Equipment configuration for split screen video of synchronized *Homalodisca coagulata* stylet activities and EPG waveforms(Joost *et al.*, 2006)

和 Bt 蚜虫 - CK 棉。

使用 Giga-4 直流放大器(荷兰瓦格宁根农业大学)记录棉蚜的刺探行为。实验记录之前,使连好金丝的试虫饥饿 1 h。每次使用 2 株 Bt 棉和 2 株常规棉,通道随机安排,试虫和植物均使用 1 次。实验条件为室温,~600 lx 光照强度,记录持续 6 h。

数据统计分析:根据蚜虫品系的不同,将 EPG 数据分为 2 组,即 CK 蚜虫组和 Bt 蚜虫组。组内数据的统计分析使用 t 检验,百分数的比较使用卡方检验,显著性差异水平设为 $P < 0.05$。同样,根据棉花品系的不同,实验数据也可以分为常规棉组和 Bt 棉组。

8.2　使用的指标

一共选择了 47 个指标,包括 14 个通用指标(与时间无关)和 33 个顺序性指标,见表 3(具体数据略)。

8.3　EPG 研究结果

Bt 棉的表面、叶肉实质和韧皮部汁液存在某些可以影响 CK 蚜虫的因素,但是 CK 蚜虫经过几个世代就可以完全适应 Bt 棉; Bt 蚜虫可以没有障碍地在 2 种棉株上取食。棉蚜在 Bt 棉上生命表的研究也证明棉蚜可以很快适应转基因棉株品系。另一方面,Bt 棉上生活的蚜虫可以很容易适应常规棉。

8.4　相关后续研究

棉蚜在 Bt 棉及其亲本常规棉植株上的取食行为存在明显的差异,并且这种差异很可能是由于棉花叶片表面因素引起的。接着就是要比较 2 种转 Bt 基因棉与其亲本常规品系叶片表面物理和化学特征的差异,以及研究这些差异是否可以影响棉蚜的取食行为。

叶片表面化学物质分析和叶毛的观察和记数:正己烷淋洗棉叶表面化学物质,进行化学分析。结果没有发现明显的差异。可以认为棉叶表面的化学物质并不是引起棉蚜在Bt棉上和常规

表 3 棉蚜在转 Bt 基因棉上取食行为的 EPG 指标示例(Xue *et al.*, 2008, 2009)

Table 3 An example of EPG variables used in feeding behaviors of cotton aphids on transgenic Bt cotton(Xue *et al.*, 2008, 2009)

通用指标 General variables	第 1 阶段 The 1st stage	第 2 阶段 The 2nd stage	第 3 阶段 The 3rd stage
刺探总次数	第 1 次 E 波发生的时间(s)	第 1 次持续取食的发生时间(s)	第 3 阶段持续时间(s)
电势降落总次数	第 1 阶段刺探次数	从第 1 次刺探到第 1 次持续取食的时间(s)	第 1 次持续取食之后 E 波的次数
E1 波的总持续时间(s)	第 1 阶段刺探次数占总刺探次数的比率(%)	第 1 次持续取食前路径波的持续时间(s)	第 3 阶段 C 波百分比(%)
E1 波的百分比(%)	第 1 阶段刺探的百分比(%)	第 2 阶段刺探的百分比(%)	第 3 阶段电势降落数量
E2 波的总持续时间(s)	第 1 阶段的电势降落数	第 1 次持续取食前路径波当中的电势降落数	持续取食前的路径波中电势降落的平均数
E2 波的百分比(%)	第 1 阶段电势降落数占总电势降落数的比率(%)	第 2 阶段电势降落数	第 1 次持续取食的持续时间(s)
非刺探的总持续时间(s)	第 1 次刺探的发生时间(s)	第 2 阶段 E 波发生次数	持续取食的次数
非刺探的百分比(%)	第 1 阶段非刺探的百分比(%)	第 2 阶段 E 波百分比(%)	第 3 阶段 E1 波的百分比(%)
非刺探的总次数	第 1 次刺探的持续时间(s)	第 2 阶段非刺探的百分比(%)	第 3 阶段 E2 波的百分比(%)
刺探的总持续时间(s)	第 1 次电势降落的发生时间(s)	第 2 阶段的持续时间(s)	第 3 阶段 E1 波和 E2 波总和的百分比(%)
刺探的百分比(%)	第 1 次刺探即可到达韧皮部的蚜虫比率(%)		第 3 阶段刺探的次数
G 波的总持续时间(s)			第 3 阶段非刺探的百分比(%)
G 波的百分比(%)			
发生木质部吸食的蚜虫比率(%)			

棉上搜寻和取食行为差异的关键因素。排除了化学因素以后,我们可以推断,叶表的物理特征很有可能是影响棉蚜搜寻和取食行为的重要因素:蚜虫在这 3 种品系的棉花叶上行为的差异来源于叶毛及其密度的变化。

总之,EPG 技术在刺吸式昆虫与植物相互关系、植物抗性机理、昆虫传毒机理等研究中发挥着越来越大的作用,但是掌握其操作技巧需要一个过程,而且不同种类的昆虫和不同的实验目的,其操作都有差异,初学者需要反复摸索,才能达到熟练使用的程度。

参考文献(References)

Backus, EA, Habibi J, Yan FM, 2005. Stylet penetration by adult *Homalodisca coagulata* on grape: electrical penetration graph waveform characterization, tissue correlation, and possible implications for transmission of *Xylella fastidiosa* Ellersieck. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 98(6): 787—813.

Eenink AH, Dieleman FL, Groenwold R, Aarts P, Clerkx B, 1984. An instant bioassay for resistance of lettuce to the leaf aphid *Myzus persicae*. *Euphytica*, 33(3): 825—831.

Harrewijn P, 1990. Resistance mechanisms of plant genotypes to various aphid species // Campbell RK, Eikenbary RD (eds.). Aphid-plant Genotype Interactions. Elsever, Amsterdam. 117—130.

Jiang YX, Nombela G, 2001. Analysis by DC - EPG of the resistance to *Bemisia tabaci* on an Mi-tomato line Muñiz. *Entomol. Exp. Appl.*, 99(3): 295—302.

Jiang YX, Walker GP, 2007. Identification of phloem sieve elements as the site of resistance to silverleaf whitefly in

resistant alfalfa genotypes. *Entomol. Exp. Appl.*, 125(3): 307—320.

Johnson DD, Walker GP, 2002. Stylet penetration behavior resulting in inoculation of a semipersistently transmitted closterovirus by the whitefly *Bemisia argentifolii*. *Entomol. Exp. Appl.*, 102(2): 115—123.

Joost PH, Backus EA, Morgan D, Yan FM, 2006. Correlation of stylet activities by the glassy-winged sharpshooter, *Homalodisca coagulata*(Say), with electrical penetration graph(EPG) waveforms. *J. Insect Physiol.*, 52(3): 327—337.

Martin B, Collar JL, Tjallingii WF, Fereres A, 1997. Intracellular ingestion and salivation by aphids may cause the acquisition and inoculation of non-persistently transmitted plant viruses. *J. General Virol.*, 78: 2701—2705.

Mauck KE, De Moraes CM, Mescher MC, 2010. Deceptive chemical signals induced by a plant virus attract insect vectors to inferior hosts. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 107(8): 3600—3605.

Niemeyer HM, Givovich A, 2000. Use of electrical penetration graphs and phlom sap chemical analysis in studies of the effects of hydroxamic acids in cereals on aphid (Homoptera: Aphididdae) feeding behavior // Walker GP, Backus EA (eds.). Principles and Applications of Electronic Monitoring and Other Techniques in the Study of Homopteran Feeding Behavior. Thomas Say Publications in Entomology, Entomol. Soc. Am., Lanham. 237—244.

Nisbet AJ, Woodford JAT, Strang RHC, 1992. The effect of azadirachtin on feeding by *Myzus persicae* // Menken SBJ, Visser JH, Harrewijn P (eds.). Proceedings of 8th International Symposium on Insect-Plant Relationships. Wageningen, The Netherlands. Kluwer, Dordrecht, The Netherlands. 179—180.

Rahbe Y, Febvay G, Delobel B, Bonnot G, 2000. Amino acids and proteins as cues in interactions of aphids (Homoptera: Aphididate) and plant // Walker GP, Backus EA (eds.). Principles and Applications of Electronic Monitoring and Other Techniques in the Study of Homopteran Feeding Behavior. Thomas Say Publications in Entomology, Entomol. Soc. Am., Lanham. 212—236.

Tjallingii WF, 1988. Electrical recording of stylet penetration activities // Minks AK, Harrewijn P(eds.). Aphid: Their Biology, Natural Enemies and Control. Elevsier, Amsterdam, 2C. 95—108.

Tjallingii WF, Mayoral A, 1992. Criteria for host plant acceptance by aphid // Menken SBJ, Visser JH, Harrewijn P(eds.). Proceedings of the 8th International Symposium on Insect-Plant Relationships. Wageningen, The Netherlands, Kluwer, Dordrecht, The Netherlands. 280—282.

Van Helden M, Tjallingii WF, 1990. Electrical penetration graphs(EPGs) of the aphid *Nasonovia ribisnigri on* resistant and susceptible lettuce (*Lactuca sativa*) // Peters DC, Webster JA, Chlouber CS (eds.). Proceedings of the Symposium on Aphid - Plant Interactions: Populations to Molecules. Stillwater, OK. Oklahoma State Univ., Div. Agriculture Publication. 308.

Walker GP, Janssen JAM, 2000. Electronic recording of whitefly(Homoptera: Aleyrodidae) feeding and oviposition behavior // Walker GP, Backus EA(eds.). Principles and Applications of Electronic Monitoring and Other Techniques in the Study of Homoptera Feeding Behavior. Thomas Say Publications in Entomology, Entomol. Soc. Am., Lanham. 172—200.

Will T, Kornemann SR, Furch ACU, Tjallingii WF, Van Bel AJE, 2009. Aphid watery saliva counteracts sieve-tube occlusion: a universal phenomenon? *J. Exp. Biol.*, 212(20): 3305—3312.

Woodford JAT, Nisbet AJ, Strang RHC, Connolly JD, 1990. Systemic antifeedant effects of azadirachtin on aphids // Peters DC, Webster JA, Chlouber CS(eds.). Proceedings of the Symposium on Aphid-Plant Interactions: Populations to Molecules, Stillwater, OK. Oklahoma State Univ., Div. Agriculture Publication. 350.

Xue K, Deng S, Wang RJ, Yan FM, Xu CR. 2008. Leaf surface factors of transgenic Bt cotton associated with the feeding behaviors of cotton aphids: a case study on non-target effects. *Sci. China C.*, 51(2): 145—156.

Xue K, Wang XY, Huang CH, Wang RJ, Liu B, Yan FM, Xu CR. 2009. Stylet penetration behaviors of cotton aphid *Aphis gossypii* on transgenic Bt cotton. *Insect Science*, 16(2): 137—146.

闫凤鸣,2003. **化学生态学. 北京: 科学出版社**. 149—160.

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

岳梅,罗晨,徐洪富,高庆刚,张芝利,2005. **刺吸电波实验中金丝与烟粉虱的粘连技术. 昆虫知识**,42(3): 326—328.

研究选萃

蝴蝶拟态功能由超级基因簇决定

自然界中,不少蝴蝶掌握借助“拟态”躲避天敌的本领。一项最新研究发现,蝴蝶的拟态功能由其体内的“超级基因簇”决定。

英法两国研究人员在2011年8月的《自然》杂志上发表论文说,他们选取了一种生长在亚马逊热带雨林地区的釉蛱蝶进行研究。这种蝴蝶能通过改变翅膀花纹,“伪装”成那些味道不佳的蝴蝶,从而躲过鸟类的捕食。研究人员在分析该种蝴蝶体内的染色体序列后发现,一种染色体内部存在多种变异,各变异组合形成了“超级基因簇”,最终决定着拟态的花纹。参与研究的法国自然历史博物馆马蒂厄·若龙博士形象地用“变形金刚”来解释这个基因簇的作用,他说,蝴蝶可谓昆虫世界的变形金刚,经过简单的基因切换组合就可实现拟态。此外,研究人员表示,“超级基因簇”同样存在于飞蛾等其他昆虫体内,使它们既可模仿其他同类,又能模仿周围环境。(来源:新华网 2011-8-17)

果蝇幼虫视觉神经系统研究获进展

来自加州大学旧金山分校的研究人员介绍了他们在果蝇幼虫视觉神经系统中的新发现,并提出了神经细胞随着环境变化而发生的2个关键因素:cAMP途径,以及另一之前未知的新分子。这一研究成果公布在《科学》杂志上。

神经生物学研究中的一个重要方向就是了解生物是如何建立和维持可靠,并灵活的神经环路的,神经系统能够随着环境的变化而变化,同时还能通过补偿机制,维持其稳定性,比如突触动态平衡。

在这篇文章中,研究人员发现果蝇幼虫视觉系统中,感觉的变化能诱导大量突触后神经元中树突分支结构改变,以及随之而来的生理变化。而且研究人员还通过遗传学分析,发现突触后神经元树突多态性中依赖于环境的变化,能由cAMP和另外一种未知的细胞表面分子进行调控。这对于深入了解神经系统随着环境变化而变化的机制提供了新的资料。

这一研究组曾以果蝇这种模式动物为基础,获得了多项重要的成果,之前他们还发现了果蝇幼虫的新奥秘:果蝇幼虫的整个体壁都覆盖着能够感应蓝光和紫外线的神经树突,这些神经元所采用的光传导机制与其他果蝇光受体分子截然不同。

生物与光线关系颇为密切,生物趋光性就是生物对光刺激的趋向性,比如在植物界,具有叶绿体的游走性植物中常可发现,动物也有趋光性,在没有感受器分化的动物如草履虫身上有所表现,但是多数动物是通过眼来感光的,不过像果蝇幼虫的避光行为是感受光信号的初级感觉神经元和次级视觉信息处理神经元的信号传递处理行为。这种存在眼睛外的光感应在很多动物中普遍存在,不过通常局限于专门的器官。

研究人员发现果蝇幼虫的整个体壁都覆盖着能够感应蓝光和紫外线的神经树突,这些是其幼虫的先天避光行为所必需的。这些神经元所用的光传导机制与其他果蝇光受体分子截然不同,但却与在线虫神经元中所发现的一个系统相似,果蝇的这一机制有助于果蝇的自身保护。(来源:生物通 2011-9-14)

研究揭示果蝇种系突变分布模式

中美科学家4年来对黑腹果蝇种系突变分布模式进行了研究,该研究成果已在《美国科学院院刊》(*PNAS*)上发表。

参与此项研究的研究人员高建军向记者详细介绍了这一研究的重要性。他说,突变是遗传变异的最终来源,其在生物学中的重要性早已得到普遍共识。突变可发生于高等生物的受精卵经一系列细胞分裂形成成体细胞的过程中。由于发生于较早期细胞分裂过程中的突变将会影响更多的组织,并更有可能被遗传给下一代,因此,了解种系细胞发育过程中突变分布的细节,不仅将加深人类对许多遗传缺陷的了解,还有助于解释突变研究中一些更广泛的问题。

在这项为期4年的实验过程中,来自云南大学、中科院昆明动物研究所、美国德克萨斯大学等多个研究机构的科研人员合作完成了这一高难度的研究。研究人员共观察了共8 618个家系的每一个中的突变体数目以及每个独立突变的频率,其丰富的信息使得雄性黑腹果蝇在发育的不同阶段的自发隐性致死突变速率第一次得以严格分析。来自云南大学的符云新教授和中科院的张亚平院士开发了用于分析此类数据的新的统计方法,获得了种系细胞发育不同阶段的突变速率变化。

研究结果表明,在种系细胞发育的不同阶段,自发隐性致死突变的速率呈现高度变化,其中第一次卵裂过程中的突变速率最高,第2次或随后几次卵裂过程中的速率显著降低;在第一次卵裂与精子形成期之间,各次分裂的突变速率至少低一个数量级;精子形成过程中的突变速率也较高。

高建军解释,上述研究结果彻底否定了种系发育过程中速率恒定的流行观点,对于以往基于此观点的研究及其得出的结论提出了质疑,包括对雄性主导进化的理论作出了新的解释。两位中国科学家所构建的新的个体内溯祖理论及其突变统计分析方法,将可能应用于进一步研究人类生殖细胞、体细胞和肿瘤细胞的突变模式。(来源:中新网 2011-9-20)

研究揭示毛虫如何掌握蜕皮时间

一条毛虫在演变成蛾子或蝴蝶的过程中,要蜕皮4到5次,以便给更大的外骨骼让出地方。然而这些小昆虫到底是如何知道蜕皮的时间呢?

根据上周发表在美国《国家科学院院刊》(*PNAS*)上的一项研究结果,一个压力呼吸系统似乎是一条线索。

研究人员发现,尽管身体的其他部分在变成蛾子的过

程中都会生长，但是气管导管却不长。

因此在每一阶段的某个时刻，毛虫的身体对于它的呼吸系统而言会显得太大，昆虫于是开始感到憋气，而由此产生的低氧含量刺激了外骨骼的脱落。研究人员提出，在若干次重复这一过程后，幼虫最终完成了变形。（来源：科学时报 2011-8-31）

百年来全球变暖导致入侵物种定居速度加快

近百年来，外来入侵昆虫在全球范围内的定居速度逐步加快。这种趋势虽然与日益增长的国际贸易导致的物种引入密切相关，但与环境变化的相关性被关注不够。为了更好地了解和控制生物入侵，阐明全球变暖与入侵物种定居速度变化的关系就非常重要，尤其是昆虫等变温入侵动物。

动物研究所张润志研究员领导的外来物种鉴定与控制研究组发现 1900－2005 年中国大陆入侵昆虫定居速度与气温升高呈显著相关性。通过对英国和美国相关数据分析，也证实了与中国存在显著的一致性。由此确定了气温变化与入侵物种数量增加的相关关系模型，发现：大气温度每升高 1℃，入侵物种的数量每 10 年增加 5 种。

全世界生物入侵的历史证明，快速发展的国际贸易直接导致了物种被携带到新的生态系统，而全球变暖却直接影响了物种成功定居并造成入侵危害。这一研究结果充分说明，在制定外来入侵物种控制的策略和政策过程中，需要考虑到完全变暖的重要影响。结果发表在 *PLoS ONE*。（来源：中国科学院动物研究所 2011-9-20）

自复寄生蜂超寄生行为研究获进展

来自吉林农业大学、西北农林科技大学、中国农业科学院等单位的研究人员发表了题为“Reevaluation of the Value of Autoparasitoids in Biological Control”的文章，系统准确地研究了自复寄生蜂的超寄生行为，对重新认识自复寄生蜂的进化地位及其在生物防治中的作用具有重要意义。这一研究成果公布在 *PLoS One* 杂志上。

自复寄生蜂具有利用同种或异种初级寄生蜂产生雄蜂的生物学特性，因此在生物防治中是否引进这类寄生蜂一直是学术界争论的热点问题。这项研究首次发现自复寄生蜂 *Encarsia sophia* 更偏好利用异种寄生蜂生产自己的雄性后代，而且雌蜂同异种来源的雄蜂交配后能寄生更多的寄主昆虫。研究还给出证据表明自复寄生蜂联合应用其它初级寄生蜂可以有效改善害虫防治效果。同行评审专家认为，该文章系统准确地研究了自复寄生蜂的超寄生行为，研究成果对重新认识自复寄生蜂的进化地位及其在生物防治中的作用具有重要意义。（来源：生物通 2011-8-5）

白蚁体内一种酶可将木材化为糖

白蚁能大量吞吃木头，给家具带来灾难性破坏，但美国普渡大学和佛罗里达大学的最新研究发现，它们的这种能力也可能为汽车带来清洁燃料。据美国物理学家组织网 2011 年 7 月 5 日报道，研究人员在白蚁消化道发现了一种可把木头分解成糖的混合酶，有助于克服目前将木材转化为生物燃料过程中存在的障碍。

植物中的木质素是木材分解成糖的最大障碍，而糖是生产生物燃料的基本成分。木质素是构成植物细胞壁的最坚硬的部分，封锁了生物质中的糖。“我们发现白蚁肠消耗系统中有一种混合酶，能把木头分解成糖。”领导该研究的弗罗里达大学昆虫与线虫学系麦克·斯卡福说。研究人员发现，不仅白蚁自身消化道能产生分解木材的酶，在白蚁肠道中还有一种微小的共生生物（一种原生动物），也能产生某种酶，协同帮助白蚁消化木材。他们分离出了白蚁的肠道，并把样本分成含有共生生物和不含共生生物的，分别放在锯末上，然后对二者的产糖量进行了检测。实验结果表明，有 3 种功能不同的酶，能分解不同生物质，其中两种能释放葡萄糖和戊糖，另一种能分解木质素。斯卡福说“长期以来，人们认为共生生物仅仅是帮助消化，其实共生的功能还有很多。我们的实验证明，宿主产生了某种酶，与共生生物产生的酶结合起来发挥了更大作用。宿主酶加共生生物酶的效果，就好比是 1 + 1 = 4。”来自白蚁和它们共生生物的酶能有效克服木质素转化成糖的障碍。将制造这些酶的基因插入病毒中喂给毛虫，就能产出大量的酶。实验显示，人工合成的宿主白蚁酶在分解木质释放糖分方面很有效。人们可以把宿主白蚁作为产出酶源的主要部分，用来生产生物燃料。斯卡福表示，下一步他们将识别共生生物产生的酶，跟宿主白蚁酶结合，让木材能产出更多的糖以提高生物燃料的产量。他的研究小组计划与马里兰州的切萨皮克·皮尔蛋白产品公司合作，生产人工合成酶。该研究发表在《公共科学图书馆－综合》（*PLoS One*）上。（来源：科技日报 2011-7-13）

基因突变催生“夜班”蜜蜂

即便是夜晚，有一些蜜蜂依然会在外面游荡，并用它们“黑暗”的视觉注视着你。

3 种中美洲蜜蜂—Megalopta、Megaloptidia 和 Megommation—会避开阳光、多姿多彩的花木和猛禽，并伺机在月光下寻找那些盛开的为数不多的花朵。通过在一个明亮的灯泡上悬挂一张床单，研究人员在巴拿马捕捉了数以千计的此类蜜蜂，并采集了它们的脱氧核糖核酸（DNA）。在将这些蜜蜂的遗传序列与在多米尼加共和国发现的、被琥珀包裹的 2000 万年至 1500 万年前的蜜蜂的遗传序列进行对比后，研究人员追踪了编码一种眼睛中的蛋白质——名为视蛋白，能够感知不同波长的光线——的基因是如何随着时间的推移而变化的。结果显示，与感知颜色相比，视蛋白遗传密码中的一些小的拼写差异使其能够更好地探测对比度，进而让这些蜜蜂在 2200 万年前从一只在阳光下飞来飞去的花仙子变为夜晚嗡嗡叫的觅食者。巴拿马史密森热带研究所的 Simon M. Tierney 和同事在最新出版的英国《皇家学会学报 B》上报告了这一研究成果。然而有一种蜜蜂——Megalopta 的现代亲戚 Xenochlora——却在 760 万年前重新回到了阳光下，或许它有点怕黑。（来源：科学时报 2011-8-10）