



刺吸电位技术实验中固定昆虫的 三种方法比较研究*

江守林** 何 花 屈 勇 陈法军***

(南京农业大学植物保护学院昆虫学系, 昆虫信息生态研究室, 南京 210095)

摘 要 刺吸电位技术 (Electrical penetration graph, EPG) 是用来记录刺吸式口器昆虫的口针在其寄主植物组织中刺探所引起的电信号变化特征的技术, 其核心在于建立昆虫取食行为与 EPG 波形的对应关系。近年来, EPG 技术在昆虫取食行为及其传毒行为, 以及植物抗虫机制等研究中得到越来越广泛的应用。其中, 昆虫固定是影响 EPG 电极连接成功与否的关键技术, 进而影响 EPG 实验结果。本文以灰飞虱 *Laodelphax striatellus* (Fallén) 为例, 就 EPG 实验中电极连接时常用的 3 种昆虫固定技术 (麻醉法、冷冻法和负压法) 进行了详细描述与比较。研究结果表明, 固定灰飞虱最优的方法为负压法, 其次为麻醉法和冷冻法。

关键词 刺吸电位技术, 灰飞虱, 昆虫固定技术, 冷冻法, 麻醉法, 负压法

A comparative study of three methods using to fix insects for electrical penetration graph experiments

JIANG Shou-Lin** HE Hua QU Yong CHEN Fa-Jun***

(The Insect-Information Ecology Laboratory, Department of Entomology, College of Plant Protection,
Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract Electrical penetration graph (EPG) is used to record the characteristics of electrical signal variation caused by sucking insects when their stylet pierces a host plant's tissues. This can establish the correlation between an insect's feeding behavior and EPG waveform types. In recent years, EPG has been widely used to study insect feeding behavior and virus transmission, and the mechanisms of host plants' resistance to sucking insects. During EPG experiments, the method using to fix insect subjects is a pivotal skill that can affect the connectivity between the insect and the EPG electrodes. The small brown planthopper (SBPH), *Laodelphax striatellus* (Fallén) was used as a test insect to study and compare three commonly used fixation techniques (i.e., the negative pressure, anesthetization, and freezing, methods). On the basis of the results, these fixation techniques were ranked, in descending order; negative pressure method, anesthetization, freezing methods.

Key words electrical penetration graph, *Laodelphax striatellus*, insect fixation technique, freezing method, anesthetization method, negative pressure method

刺吸电位技术 (Electrical penetration graph, EPG) 是一种用来记录刺吸式口器昆虫的口针在其寄主植物组织中刺探所引起的电信号变化特征的技术, 该技术使昆虫口针在寄主组织中的准

确定位成为可能 (罗晨等, 2005)。早在 1964 年, 美国加利福尼亚大学的 McLean 和 Kinsey 就设计制造了蚜虫取食监测系统 (Electronic monitoring system, EMS)。之后, 随着在应用领域的不断

* 资助项目 Supported projects :国家重点基础发展规划“973”项目(2010CB126200); 国家自然科学基金项目(31272051 和 31470454)

**第一作者 First author, E-mail: 2014202021@njau.edu.cn

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: fajunchen@njau.edu.cn

收稿日期 Received: 2014-10-08, 接受日期 Accepted: 2015-05-03

拓宽,这一技术在实践中得到了不断改进。其中,Tjallingii(1978)采用直流回路系统,并配以 $10^9\Omega$ 的高值输入阻抗,从而可将生物微电流(mV)放大50~5 000倍,使仪器能输出更加清晰精确的波谱,这便是EPG技术。至20世纪80年代中期,EPG技术与计算机联用,大大提高了波谱分析效率。目前,大多数EPG研究已不仅仅是简单的不同种昆虫的刺探取食行为波形,而是建立在波形分析基础上的刺吸式口器昆虫对寄主植物的选择性、昆虫传播植物病毒机制、植物抗虫机制以及内吸性农药杀虫效果评估等行为生态学研究领域(罗晨等,2005),并已成为昆虫生理学研究热点之一。研究对象也已由过去的以蚜虫为主扩展到包括粉虱、飞虱、蓟马等在内的多种刺吸式昆虫。

EPG技术的原理是将供试昆虫及其寄主植物分别连入生物电流放大器的昆虫电极和植物电极,昆虫电极是一段长约2~3 cm,直径约10~20 μm 的金丝、银丝或铂丝,末端用水溶性导电银胶粘连在昆虫前胸背板上,植物电极则插在其生长的土壤中,当昆虫口针刺入植物组织时,回路接通,回路电流经放大器放大后输出一系列电流波谱(Mclean and Kinsey, 1964; Tjallingii, 1978, 1985a, 1985b, 1986, 1987)。由电阻变化引起的电势波动称为电阻(R)成分,由生物电生理变化引起的电势波动称为电动势(emf)成分。通过调节放大器的输入电压可区分这两种成分:其中,极性及幅度随输入电压而变化的是R成分,否则是emf成分(汤清波等,2011)。基于交流电路设计的系统称为AC-EPG,其R和emf成分的变换都可引起输出电压的变化;基于直流电路设计的称为DC-EPG,DC-EPG的R成分固定,输出电压的变化仅为emf成分,且目前应用最为广泛(胡想顺等,2006)。

EPG实验属于行为学和电生理学研究,影响因素多,实验中很多细节因素都可能成为影响实验成功与否的关键(汤清波等,2011)。其中,连接昆虫电极时供试昆虫的固定处理是一个至关重要的实验环节(岳梅等,2005)。如果固定

不好,昆虫还处于可活动状态,就会增加昆虫电极连接的难度;再者,若固定过程中对昆虫本身造成伤害,也会直接影响到昆虫适合度及其取食,进而对实验的可靠性和准确性构成影响。例如,烟粉虱*Bemisia tabaci*(Gennadius)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;而褐飞虱*Nilaparvata lugens*(Stål)的活动受温度影响较大,经过冷冻处理的褐飞虱恢复活动后其取食能力较差,对实验结果有较大影响(汤清波等,2011)。

在EPG实验中通常会用到3种昆虫固定方法,即负压法、冷冻法和麻醉法。Seo(2009)和荆裴等(2013)先后做过稻飞虱的EPG研究,但均没对稻飞虱的固定方法做详细描述与介绍。稻飞虱体型小活跃、成虫有翅善飞翔。稻飞虱EPG研究中,在不损伤稻飞虱情况下固定起来比较困难。本文以灰飞虱为例,通过对3种昆虫固定技术优化后做了较为详细地阐述,并进行了系统比较,为EPG研究中昆虫固定这一关键技术提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试水稻 本研究选用水稻品种为感稻飞虱的TN1。试验中,将TN1种子分期分批播种在恒温($26\pm 1^\circ\text{C}$)恒湿($65\%\pm 5\%\text{RH}$)光周期为14L:10D的温室内。试验时,随机选取生长10 d左右长势一致的三叶期幼苗,将稻苗洗净,去掉枯萎的叶片备用。

1.1.2 供试虫源 本研究以灰飞虱为供试昆虫,选用在TN1水稻上连续饲养10代以上的灰飞虱种群,饲养在恒温恒湿的光照培养箱(型号:RXZ智能型;厂家:宁波江南仪器厂),环境温度设置为($26\pm 1^\circ\text{C}$)环境相对湿度(RH)设置为 $65\%\pm 5\%$,光周期设置为14L:10D。灰飞虱饲养期间均使用生长到10 d左右的三叶期幼苗,适时更换。EPG实验开始时,随机取当天羽化的短翅雌成虫为供试虫源。

1.2 EPG 试验方法

EPG 信号放大器采用荷兰 Wageningen 大学昆虫实验室研制的 Giga-8 型直流放大器, 实验用银胶、铜钉、铜丝、金丝 (直径 $20\ \mu\text{m}$) 均为购买仪器附带。实验中, 将灰飞虱饲水饥饿处理 1 h 后 (Diaz-Montano *et al.*, 2007; 荆裴等, 2013), 再迅速进行负压法、冷冻法和麻醉法 3 种昆虫固定方法的 EPG 实验。实验在恒温 (26.5 ± 1)、灯光常亮的温室内记录 4 h, 整个记录过程在法拉第电磁笼中进行 (Jiang and Walker, 2007)。

1.2.1 负压法 把供试灰飞虱置于干燥的 1.5 mL 离心管中。由于该虫趋光而喜欢向上爬行, 所以将离心管底部斜向上放置, 使之自动留在离心管底部, 且保持头部朝上状态, 从而方便使用吸取定位装置吸附其腹部。本研究利用自主研发的吸虫设备“一种针对灰飞虱等小型昆虫 EPG 实验的吸取定位装置”(图 1; 专利授权号: 201420133901.3) 来固定灰飞虱。首先把枪头的大小修剪成与所选取灰飞虱腹部大小相近程度, 然后将负压调节器调整到最佳吸力来吸附灰飞虱; 之后, 把该设备昆虫吸附头伸入离心管底部吸住灰飞虱腹部, 然后将吸附头固定在装置托架上, 而后迅速用导电银胶将灰飞虱中胸背板与一根直径为 $20\ \mu\text{m}$ 、长 2~3 cm 金丝粘合 (Seo

et al., 2009; Civolani *et al.*, 2011), 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: Giga-8 DC-EPG, 荷兰 Wageningen 农业大学昆虫系研制); 待昆虫电极连接好后, 再将灰飞虱放置在供试稻苗茎秆 (叶鞘) 上, 并适当调整金丝, 避免金丝碰到植株或仪器, 调整完毕后点击采集按钮开始 EPG 波谱记录。

1.2.2 冷冻法 将供试灰飞虱放入干燥的 1.5 mL 离心管中并盖紧盖子, 之后将其放入 -20°C 冰箱内并开始计时, 冷冻处理 60~80 s 后取出灰飞虱 (此时灰飞虱在低温作用下可瞬时麻痹 40 s 左右), 在其麻痹期间用柔软的毛笔将其挑起并使其中胸背板朝上, 迅速用导电银胶将其与金丝粘合 (此过程与负压法相同), 等待灰飞虱复苏后再将其连接于同一刺吸信号电子记录仪上并进行 EPG 数据记录。

1.2.3 麻醉法 麻醉法是利用气体进行麻醉, 包括乙醚麻醉法和 CO_2 麻醉法两种, 在此选用乙醚麻醉法。具体做法如下: 首先, 将灰飞虱置于干燥的 1.5 mL 离心管中并盖好盖子备用; 其次, 把脱脂棉塞到 2 mL 离心管底部, 使其刚好塞满底部约 5 mm 深度; 然后, 用移液器 (量程: $100\ \mu\text{L}$) 吸取 $80\ \mu\text{L}$ 100% 乙醚均匀地洒在脱脂棉上并盖好盖子, 挥发 30 s 后将装灰飞虱的 1.5 mL 离心管与装乙醚气体的 2 mL 离心管两口对接持

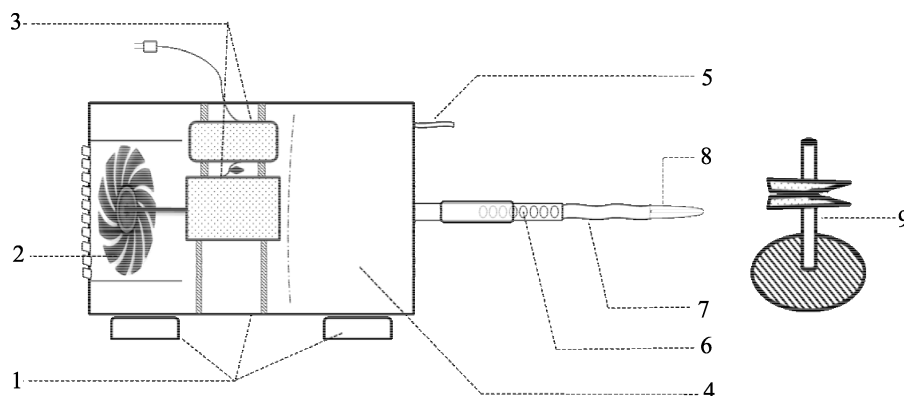


图 1 刺吸电位技术试验中昆虫负压固定装置示意图

Fig. 1 Sketch map of the device using to fix of tested insects in the experiments of electrical penetration graph (EPG)

1: 外壳和减震系统; 2: 叶轮; 3: 供电与驱动系统; 4: 气室; 5: 安全阀;

6: 控压系统; 7: 导气管; 8: 可更换式吸头; 9: 支架。

1: The shell and shock absorption systems; 2: Impeller; 3: Power supply and drive system; 4: Air chamber;

5: Safety valve; 6: Pressure controlling system; 7: Airway; 8: Replaceable pipette tip; 9: Support bracket.

续 10~20 s (此时灰飞虱可以保持麻醉状态 40 s 左右),之后,迅速用柔软的毛笔将灰飞虱挑起,并使其胸背板朝上,再用导电银胶将灰飞虱与金丝粘合(此过程与负压法相同);再次,待灰飞虱复苏后再将其连接于同一型号刺吸信号电子记录仪上;最后,将连接好昆虫的电极的灰飞虱放置在供试植株茎秆上,并调整金丝以避免金丝碰到植株或仪器,调整完毕后开始记录 EPG 波谱数据。

2 结果与分析

2.1 负压法、冷冻法和麻醉法的便捷性与可操作性比较

实验中,负压法所需辅助工具仅为一种针对小型昆虫的吸取定位装置(专利授权号:201420133901.3)。该设备体积小巧、方便携带,且控制简单、运行稳定,并且可根据试虫大小更换相应吸附头的枪头即可。该设备适应性更广,可适应每一种昆虫的固定。冷冻法则需要一台冰箱或者其他制冷设备,这些设备一般较大且不利携带,在冷冻处理时间控制上有严格要求,如冷冻时间短了昆虫麻痹时间太短,很快恢复活跃状态而完不成昆虫电极连接;如冷冻时间长了昆虫容易死亡,既浪费人力、物力,又因为不同昆虫或同种昆虫不同个体都对低温的承受能力有差异,有的甚至受温度影响太大而不适宜用冷冻法,所以冷冻法局限性大、不易控制。麻醉法相对也较简易,但是在昆虫麻痹时间上也是有一定局限。熏的时间越长则昆虫麻痹时间越久而苏醒时间延长,耽误实验进行;熏的时间短则昆虫苏醒太快而完不成昆虫电极的连接,所以相对也不太好控制。后两种方法还都需要用毛笔将昆虫挑起或扶正来连接昆虫和导电金丝,增加了试验操作难度。综上所述,昆虫固定方法的便捷性和可操作性比较为依次为负压法>麻醉法>冷冻法。

2.2 负压法、冷冻法和麻醉法对昆虫本身的影响比较

负压法是物理方法,昆虫在负压的作用下被

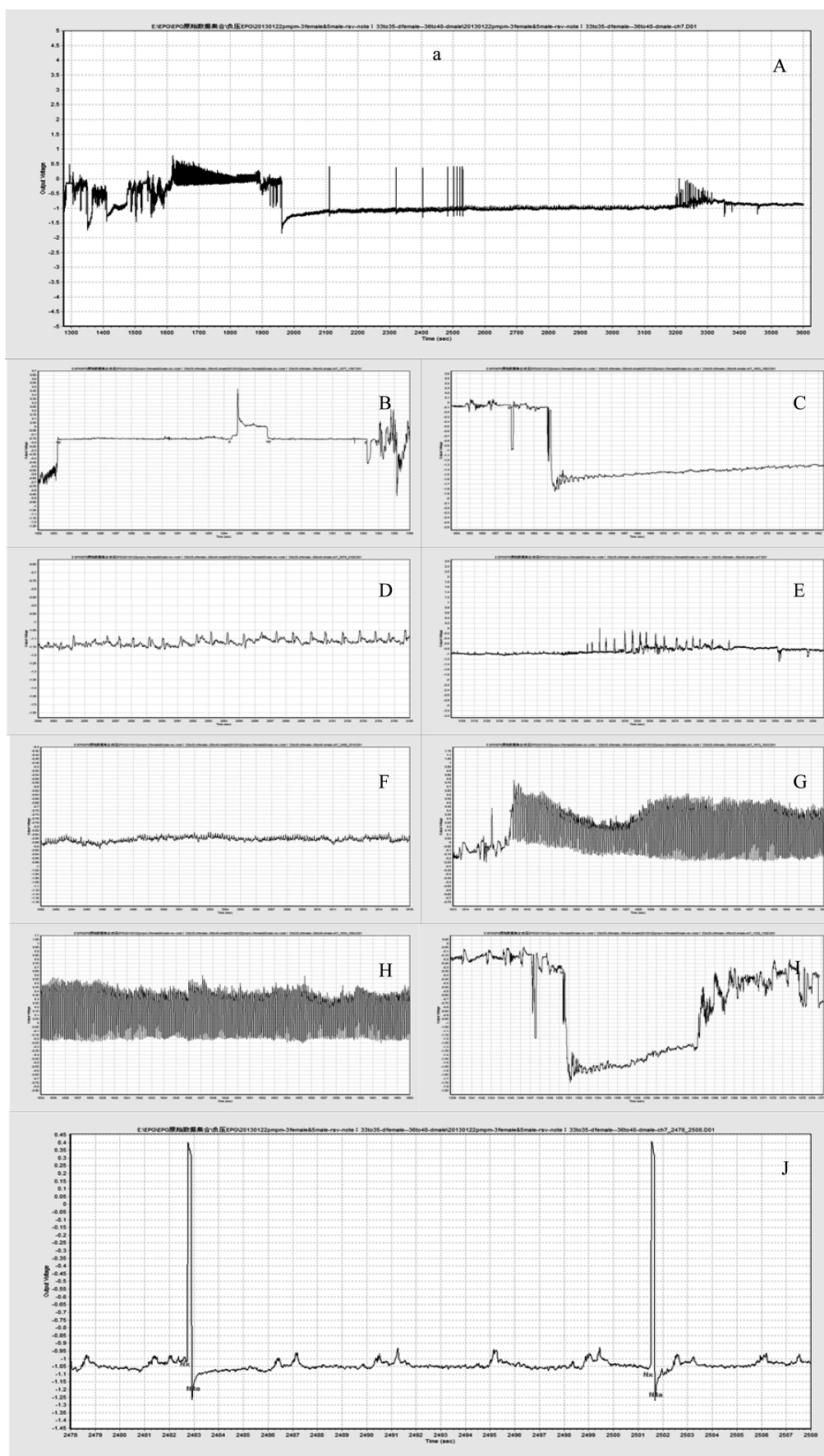
吸附在塑料枪头上,减轻了对昆虫的影响,将外界条件对昆虫本身的影响降到了最低。冷冻法也是物理方法,但在低温作用下,昆虫肢体可能被冻伤,并且人工用毛笔挑起或扶正昆虫过程中如力度把握不好也可能伤及昆虫肢体,实验中昆虫可能由于身体损伤而直接影响实验结果。麻醉法是化学方法,运用气体使昆虫麻醉,如乙醚就是作用于神经系统来使昆虫麻醉的,昆虫个体一般较小,使用乙醚的量不好把握,用量过大会导致昆虫死亡,而用量不足起不到麻痹作用;此外,实验中发现,使用乙醚法固定的灰飞虱活跃度明显降低,且此方法也需要用毛笔挑起或扶正,也可能伤及昆虫肢体。3 种昆虫固定方法对昆虫本身的影响程度依次为负压法<麻醉法<冷冻法,其中,负压法的负面作用最小。

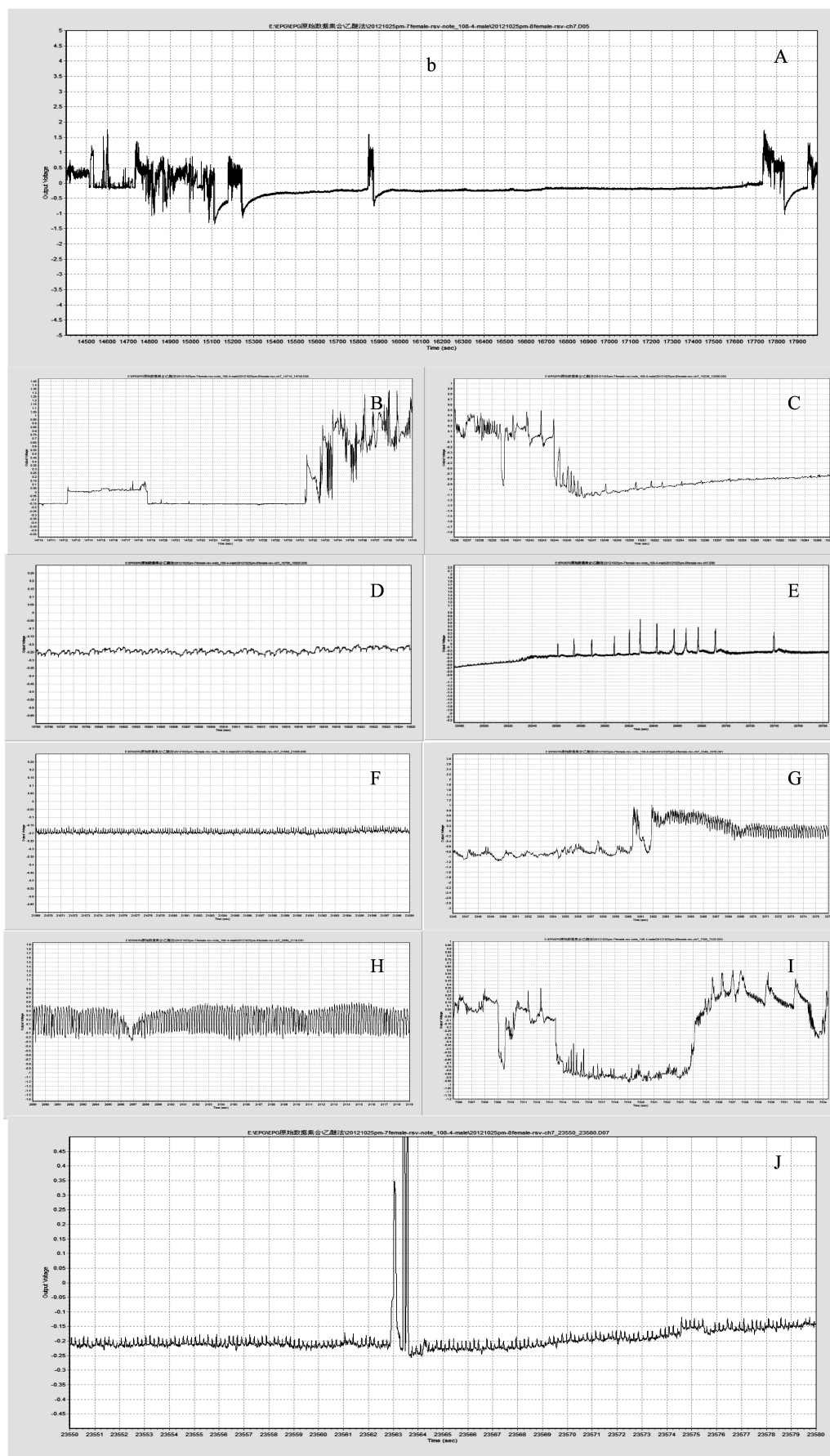
2.3 负压法、冷冻法和麻醉法对 EPG 波谱质量的影响

从 EPG 实验记录的波谱图形看出,使用 3 种方法固定的灰飞虱 EPG 波形均有 8 种波(Kimmins, 1989; Seo *et al.*, 2009),但波形质量上有差异。使用负压法(图 2:a)固定的灰飞虱 EPG 波形清晰、易于辨别,各个波的过渡波也可明显区分且干扰波较少。使用麻醉法和冷冻法固定的灰飞虱波形干扰波相对较多,并且部分过渡波的干扰波较多,增加了波形辨别难度(图 2:A, C, E, G, H, I);但麻醉法的 EPG 波形优于冷冻法。综合来看,3 种固定方法对 EPG 波形质量的影响大小依次为负压法<麻醉法<冷冻法。

3 讨论

与其他生物研究一样,利用 EPG 技术进行昆虫学试验研究要进行精心设计、减少误差,以达到揭示自然规律的目的。与生物化学和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交叉学科研究,且受影响的因素多、实验误差大。可见,在 EPG 实验的每个环节都要尽量降低产生误差的可能性。





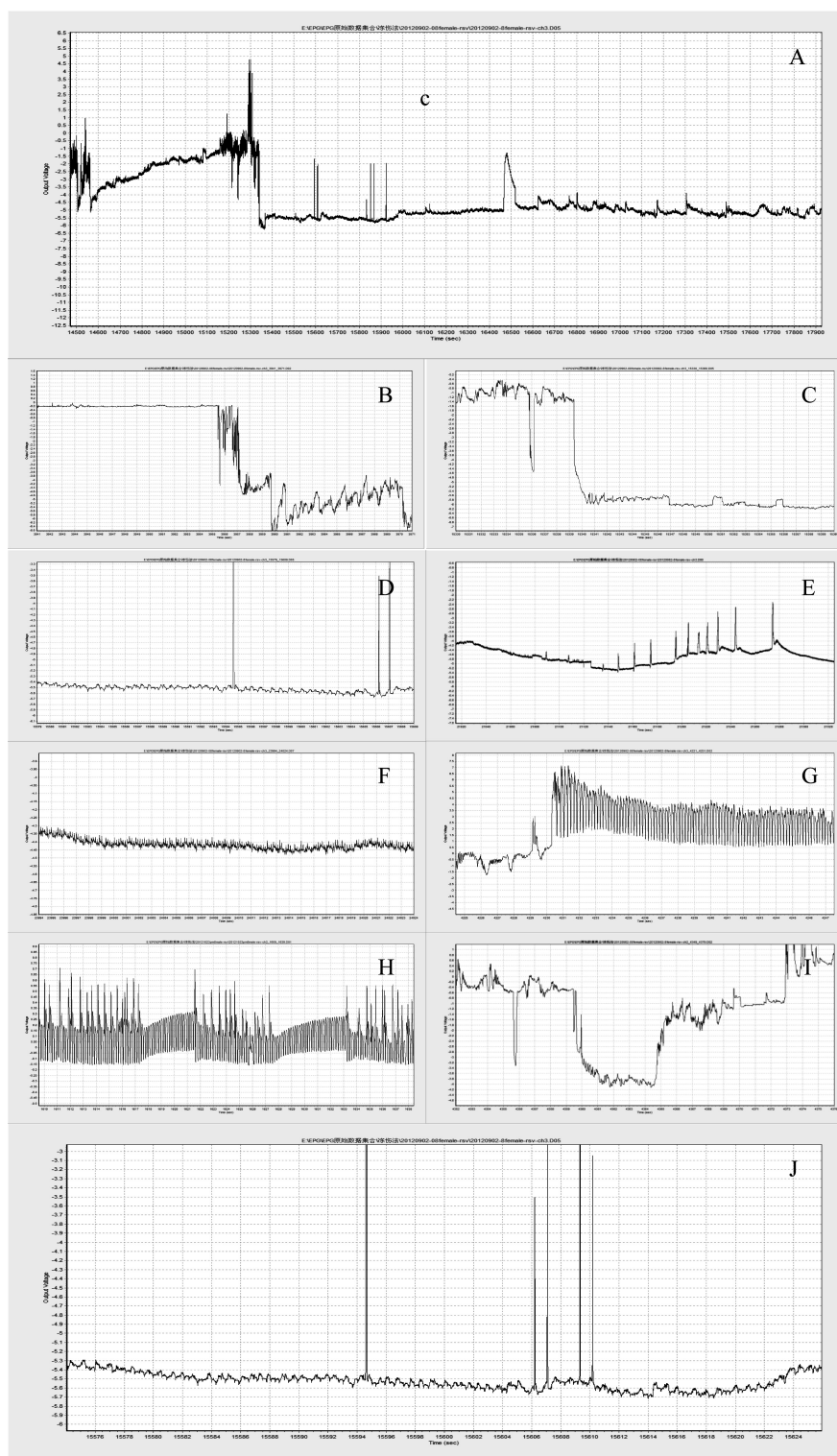


图 2 EPG 实验中应用负压法 (a)、乙醚法 (b) 和冷冻法 (c) 固定灰飞虱后的取食 EPG 波形图
Fig. 2 The EPG waveforms of feeding behavior using different methods, i.e., negative pressure method (a), anesthetization method (b) and freezing method (c), to fix *Laodelphax striatellus* in EPG experiment

A. 全波形; B. np 波和 p 波; C. p 波至 N4-a 波的过渡; D. N4-a 波; E. N4-a 波至 N4-b 的过渡波 N4-ab 波; F. N4-b 波; G. p 波至 N5 波的过渡; H. N5 波; I. N7 波; J. Nx 波。

A. Full waveform; B. np and p waveform; C. p waveform transition to N4-a waveform; D. N4-a waveform; E. N4-ab waveform (i.e., the N4-a waveform transition to N4-b waveform); F. N4-b waveform; G. p waveform transition to N5 waveform; H. N5 waveform; I. N7 waveform; J. Nx waveform.

对 EPG 实验研究而言,在选择昆虫固定方法的时候,负压法是比较有优势的,可尽可能地避免人为因素对实验结果造成的不利影响。负压法中,通过使用吸取定位装置不仅可根据不同供试昆虫设定适宜压力,还可依据试虫的体型大小来更换合适的枪头,从而使负压法的适用范围更广。负压法的装置简单,方便操作且稳定性好,从而可为实验的顺利开展提供良好的基础条件;此外,在吸附时间上没有限制,对昆虫本身也不会造成危害。另一方面,因为 EPG 就是记录昆虫的行为变化时所对应的电信号变化的技术,所以在昆虫受到外力作用而导致其肢体损伤时,极有可能会影响到昆虫的各种行为,包括取食行为,EPG 所反映出来的图谱也就会产生干扰波。目前对波形分类还是人工操作的,若干扰波太多,势必会影响波形判断,进而在一定程度上影响实验结果的准确性。而负压法的干扰波少,有利于后期对波形的处理。麻醉法是次于负压法的昆虫固定技术之一。由于麻醉法使用的气体是通过影响神经系统使昆虫麻醉的,实验开展也会对操作人员的健康造成不利影响。所以,在使用麻醉法的时候要选择在通风处操作。以往文献中也经常会用到 CO₂ 麻醉法(He *et al.*, 2011),其原理是通过使用 CO₂ 来隔绝氧气,从而使昆虫缺氧以导致其晕厥。此方法也需要控制好处理时间,但要想固定昆虫并使其背部朝上,这依然需借助毛笔挑起或扶正来连接昆虫和导电金丝,从而会对昆虫造成伤害。冷冻法在操作上较为繁琐,可选择在冰箱或冰块上处理,对于像稻飞虱这类活跃昆虫,使用这种方法就略显繁琐。综上所述,在 EPG 实验研究中,固定昆虫最好的方法是负压法,其次是麻醉法,最后再考虑冷冻法。再者,应考虑到昆虫自身特点以选取最适方法,比如蚜虫活动性很弱,可以直接在叶片上进行昆虫电极的连接(Prado and Tjallingii, 1997)。

目前,EPG 技术还处于发展与完善阶段,除了昆虫固定方法需要优化以外,仍在其他一些方面存在一定的不足。由于昆虫连接导电金丝的缘故,其活动收到了限制,这有可能会

导致波形不能准确反映自然状态下昆虫与寄主植物的相互活动(Caillaud, 1999),因此,实验中应该根据应试昆虫的大小考虑金丝的直径和长度,因为这些因素可以影响到应试昆虫被束缚的程度,即昆虫是不是在更接近自由状态下取食(Kindt *et al.*, 2003; Jacobson and Kennedy, 2014)。此外,EPG 实验结果需要有自由活动昆虫的发生危害与取食数据加以补充才能更加准确(Prado and Tjallingii, 1999)。因此,EPG 研究必须与其他研究方法相结合,才能更准确有效地揭示刺探电位波形与昆虫刺探和取食行为等之间的对应关系,并借助组织学技术、蜜露化学成分分析、生物染色液处理植物根系、观察植物表面残留口针中有无汁液溢出、直接观察人工食物中口针的行踪以及直接观察昆虫口针在植物组织中的行踪和利用放射性同位素技术等(陈建明等, 2002)。目前,EPG 技术已在多种昆虫试验中得到广泛应用。相信随着 EPG 技术的不断完善并辅以更多的其他研究方法,有望在刺吸式口器昆虫的寄主专化型、植物的抗虫性(Lei *et al.*, 1999)、昆虫的获毒及传毒(Wetering *et al.*, 1998)等方面的研究取得更为积极有效的成果。

参考文献 (References)

- Caillaud MC, 1999. Behavioural correlates of genetic divergence due to host specialization in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Entomol. Exp. Appl.*, 91(1): 227–232.
- Chen JM, Yu XP, Cheng JA, Lu ZX, Zheng XS, Xu HX, 2002. Principle and application of electronic monitoring system—an effective and quantitative method in the study of probing and feeding behaviors of piercing-sucking insects. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 14(4): 237–243. [陈建明, 俞晓平, 程家安, 吕仲贤, 郑许松, 徐红星, 2002. 定量研究刺吸式昆虫取食行为的有效方法——电子取食监测仪的原理和应用技术. *浙江农业学报*, 14(4): 237–243.]
- Civolani S, Leis M, Grandi G, Garzo E, Pasqualini E, Musacchi S, Chicca M, Castaldelli G, Rossi R, Tjallingii WF, 2011. Stylet penetration of *Cacopsylla pyri*; an electrical penetration graph (EPG) study. *Journal of Insect Physiology*, 57(10): 1407–1419.
- Diaz-Montano J, Reese JC, Louis J, Campbell LR, Schapaugh WT, 2007. Feeding behavior by the soybean aphid (Hemiptera: Aphididae) on resistant and susceptible soybean genotypes. *J.*

- Econ. Entomol.*, 100(3): 984–989.
- He YP, Zhang JF, Chen JM, Wu QC, Chen L, Chen LZ, Xiao PF, Zhu YC, 2011. Influence of pymetrozine on feeding behaviors of three rice planthoppers and a rice leafhopper using electrical penetration graphs. *J. Econ. Entomol.*, 104(6): 1877–1884.
- Hu XS, Liu XF, Zhao HY, 2006. Development and application of electrical penetration graph (EPG) technique. *Plant Protection*, 32(3): 1–4. [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.]
- Jacobson AL, Kennedy GG, 2014. Electrical penetration graph studies to investigate the effects of cyantraniliprole on feeding behavior of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) on *Capsicum annum*. *Pest Management Science*, 70(5): 836–840.
- 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.
- Jing P, Bai SF, Liu F, 2013. Preliminary research on electrical penetration graph (EPG) waveforms in relation to feeding behavior of *Laodelphax striatellus*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 50(3): 758–763. [荆裴, 白素芬, 刘芳, 2013. 灰飞虱取食行为刺吸电位波形的初步研究. 应用昆虫学报, 50(3): 758–763.]
- Kimmins FM, 1989. Electrical penetration graphs from *Nilaparvata lugens* on resistant and susceptible rice varieties. *Entomol. Exp. Appl.*, 50(1): 69–79.
- Kindt F, Joosten NN, Peters D, Tjallingii WF, 2003. Characterisation of the feeding behaviour of western flower thrips in terms of electrical penetration graph (EPG) waveforms. *Journal of Insect Physiology*, 49(3): 183–191.
- Lei H, van Lenteren JC, Tjallingii WF, 1999. Analysis of resistance in tomato and sweet pepper against the green- house whitefly using electrically monitored and visually observed probing and feeding behavior. *Entomol. Exp. Appl.*, 92(2): 299–309.
- 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): 437–433. [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): 437–433.]
- McLean DL, Kinsey MG, 1964. A technique for electronically recording of aphid feeding and salivation. *Nature*, 202(4939): 1358–1359.
- Prado E, Tjallingii WF, 1997. Effects of previous plant infestation on sieve element acceptance by two aphids. *Entomol. Exp. Appl.*, 82(2): 189–200.
- Prado E, Tjallingii WF, 1999. Effects of experimental stress factors on probing behavior by aphid. *Entomol. Exp. Appl.*, 90(3): 289–300.
- 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. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 12(2): 89–95.
- Tang QB, Zhang DS, Ji K, Ding SB, Yan FM, 2011. Some key points in applications of electrical penetration graph technique. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 48(5): 1519–1527. [汤清波, 张大山, 姬琨, 丁识伯, 闫凤鸣, 2011. 刺吸电位技术应用中的几个问题. 应用昆虫学报, 48(5): 1519–1527.]
- Tjallingii WF, 1978. Electronic recording of penetration behaviour by aphids. *Entomol. Exp. Appl.*, 24(3): 721–730.
- Tjallingii WF, 1985a. Electrical nature of record signals during styled penetration by aphids. *Entomol. Exp. Appl.*, 38(2): 177–186.
- Tjallingii WF, 1985b. Membrane potentials as an indication for plant cell penetration by aphids stylets. *Entomol. Exp. Appl.*, 38(2): 187–193.
- Tjallingii WF, 1986. Wire effects on aphids during electrical recording of stylet penetration. *Entomol. Exp. Appl.*, 40(1): 89–98.
- Tjallingii WF, 1987. Electrical recording of stylet penetration activities//Minks AK, Harrewijn AP (eds.). *Aphids, Their Biology, Natural Enemies and Control*. Amsterdam: Elsevier. 95–108.
- Wetering F, van de, Hulshof J, Posthuma K, Harrewijn P, Goldbach R, Peters D, 1998. Distinct feeding behavior between sexes of *Frankliniella occidentalis* results in higher scar production and lower tospovirus transmission by females. *Entomol. Exp. Appl.*, 88(1): 9–15.
- Yue M, Luo C, Xu HF, Gao QG, Zhang ZL, 2005. Gluing techniques of gold wire electrode to *Bemisia tabaci* in electrical penetration graph. *Entomological Knowledge*, 42(3): 326–328. [岳梅, 罗晨, 徐洪富, 高庆刚, 张芝利, 2005. 刺吸电波图实验中金丝与烟粉虱的粘连技术. 昆虫知识, 42(3): 326–328.]