

EPG-registered probing behaviour of the pea aphid (*Acyrtosiphon pisum* Harris) on selected varieties of yellow lupin (*Lupinus luteus* L.) and narrow-leaved lupin (*Lupinus angustifolius* L.)

Rejestracja EPG zachowania mszycy grochowej (*Acyrtosiphon pisum* Harris) podczas penetracji kłujki na wybranych odmianach łubinu żółtego (*Lupinus luteus* L.) i wąskolistnego (*Lupinus angustifolius* L.)

Anna Wróblewska¹, Katarzyna Dancewicz¹, Beata Gabrys¹, Bożena Kordan²

Summary

The aim of this work was to investigate the relative susceptibility of selected varieties of yellow lupine *Lupinus luteus* L. (Juno and Taper) and narrow-leaved lupine *Lupinus angustifolius* L. (Baron and Karo) to feeding of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* Harris. The studies were carried out using the EPG (Electrical Penetration Graph) technique. Susceptibility of selected varieties of both lupine species was determined upon the analysis of non-sequential parameters derived from 8-hour registration of aphid probing.

The results of the study revealed that two species of lupine showed a low level of susceptibility to the pea aphid feeding. This was evidenced by a short time phloem phase (less than 3% of experimental time). The varieties Karo (narrow-leaf lupine) and Taper (yellow lupine) were the least susceptible. On variety Karo, aphids did not show phloem phase. On variety Taper, aphids showed phloem phase, but the the phloem sap ingestion phase (E2) did not occur.

Key words: Aphidoidea, *Acyrtosiphon pisum*, *Lupinus luteus*, *Lupinus angustifolius*, aphid-plant relationships, EPG (Electrical Penetration Graph)

Streszczenie

Celem badań była ocena względnej podatności wybranych odmian łubinu żółtego *Lupinus luteus* L. (Taper, Juno) oraz łubinu wąskolistnego (*Lupinus angustifolius* L.) (Baron, Karo) na żerowanie mszycy grochowej *Acyrtosiphon pisum* Harris, wykonanej za pomocą techniki EPG (Electrical Penetration Graph). Podatność określono na podstawie analizy parametrów zbiorczych, uzyskanych w wyniku analizy ośmiogodzinnych rejestracji.

Badania wykazały, iż oba gatunki łubinu charakteryzują się małą podatnością na żerowanie mszycy grochowej. Świadczy o tym krótki czas pobierania soku floemowego, który nie przekraczał 3% czasu ośmiogodzinnego doświadczenia. Najmniej podatne okazały się odmiany: Karo (łubin wąskolistny) oraz Taper (łubin żółty). Na odmianie Karo, u żadnej z badanych mszyc nie stwierdzono kontaktu z floemem, natomiast na odmianie Taper zarejestrowano niewielki procent mszyc, które osiągnęły floem, lecz nie stwierdzono u nich fazy żerowania E2.

Słowa kluczowe: Aphidoidea, *Acyrtosiphon pisum*, *Lupinus luteus*, *Lupinus angustifolius*, interakcje mszyca-roślina, EPG (Electrical Penetration Graph)

¹Uniwersytet Zielonogórski
Katedra Botaniki i Ekologii
Szafrana 1, 65-516 Zielona Góra
A.Wroblewska@wnb.uz.zgora.pl

²Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
Katedra Fitopatologii i Entomologii
Prawocheńskiego 17, 10-721 Olsztyn

Wstęp / Introduction

Jednym z najgroźniejszych szkodników roślin motylkowatych (Fabaceae) w Polsce jest mszyca grochowa (*Acyrtosiphon pisum* Harris) (Bogdanowicz i wsp. 2004; Słomka i Kordan 2008). W przypadku masowego występowania powoduje: ogólne osłabienie rośliny, utratę turgoru rośliny oraz jej zasychanie, opadanie kwiatów i młodych strączków oraz karłowacenie strąków i nasion, a zasiedlone przez mszyce wierzchołki pędów przestają rosnąć (Häni i wsp. 1998; Ciepielewska i wsp. 2001). Gatunek ten jest wektorem ponad 30 wirusów roślinnych, np. mozaiki grochu, mozaiki ogórka, żółtej mozaiki fasoli (Kordan i wsp. 2008). Jednym z elementów metody integrowanej w ochronie roślin jest wykorzystanie odmian roślin odpornych na żerowanie fitofagów (Boczek 1988). W latach 2002–2006 zbadano podatność szeregu odmian i gatunków łubinu na żerowanie mszycy grochowej (Kordan i wsp. 2008). Stwierdzono, że mszyca grochowa nie pobierała soku floemowego na żadnej z badanych odmian łubinu wąskolistnego, a poszczególne nakłucia tkanek roślinnych (czyli penetracje klujki) były krótkie i dotyczyły tylko tkanek pozafloemowych. Na łubinie żółtym, mszyca grochowa pobierała sok floemowy, jednakże czas trwania żerowania był stosunkowo krótki. Na tej podstawie wywnioskowano, że żadna z badanych odmian łubinu wąskolistnego nie była podatna na żerowanie mszycy grochowej, a odmiany łubinu żółtego tylko w niewielkim stopniu (Kordan 2006; Kordan i wsp. 2008). Badania przeprowadzono przy użyciu techniki elektronicznej rejestracji zachowania się mszyc, związanego z żerowaniem (EPG – Electrical Penetration Graph). Metoda ta umożliwia rejestrację penetracji tkanek roślinnych przez sztylety aparatu gębowego mszyc, a rejestracje EPG są źródłem informacji o interakcjach mszyca – roślina (Tjallingii 2001). System elektronicznej rejestracji zachowania mszyc, z zastosowaniem źródła prądu stałego, oparty jest na obwodzie elektrycznym, a jego elementami są mszyca i jej roślina żywicielska. Owad połączony jest z obwodem za pomocą złotej elektrody, przymocowanej do jego odwłoka za pomocą srebrnej farby. Roślina połączona jest z drugą elektrodą, która umieszczona jest w glebie. Obwód zostaje zamknięty w momencie nakłucia rośliny przez mszycę (Gabryś 2000; Dancewicz 2006). Rejestracja sygnałów systemu EPG zapisywana jest w postaci modeli EPG, skorelowanych z aktywnością owadów i pozycją klujki w tkankach roślinnych (Gabryś 2000). System umożliwia poznanie czasu żerowania na roślinie, czasu po którym mszyca osiągnie floem oraz to, jak długo w nim żeruje. Porównanie danych dla różnych roślin żywicielskich oraz różnych odmian umożliwia ustalenie ich przydatności pokarmowej oraz odnalezienie odmian odpornych (Cichocka i wsp. 1998).

Celem badań była powtórna, po pięciu latach, ocena względnej podatności odmian łubinu żółtego Taper i Juno oraz łubinu wąskolistnego Baron i Karo na żerowanie mszycy grochowej.

Materiały i metody / Materials and methods

Rośliny i mszyce hodowano w warunkach laboratoryjnych (~20°C, 60% RH, 16:8 L:D). Do badań wykorzystano wybrane odmiany łubinu żółtego – Juno i Taper oraz wąskolistnego – Karo i Baron (trzytygodniowe okazy z 4–6 liśćmi) oraz dorosłe, bezskrzydłe samice mszycy grochowej, które hodowane były na grochu cukrowym *Pisum sativum*, odmiana Oregon. Badania nad oceną podatności łubinu żółtego i łubinu wąskolistnego na żerowanie mszycy grochowej zostały przeprowadzone w laboratorium przy użyciu techniki elektronicznej rejestracji zachowania się mszyc (EPG). Rejestracje kontrolne przeprowadzono na grochu cukrowym. Dla każdej odmiany łubinu oraz roślin kontrolnych zostało wykonanych 11–12 pełnych 8-godzinnych rejestracji. Każda rejestracja obejmuje zapis aktywności sztyletów jednej mszycy na jednej roślinie.

W analizie rejestracji EPG wyróżniono etapy odpowiadające penetracji tkanek roślinnych oraz etapy braku penetracji (np) – moment kiedy klujka owada nie ma kontaktu z rośliną. Ponadto, określono wartości parametrów zbiorczych, opisujących częstość i czas trwania poszczególnych modeli: fazy ścieżki (C, F), fazy ksylemowej (model G) oraz fazy floemowej (modele E1 – wydzielanie śliny wodnistej i E2 – pobieranie soku floemowego) (Leszczyński 1996; Gabryś 2000). W analizie statystycznej wykorzystano test nieparametryczny U Manna-Whitneya (STATISTICA 9) dla porównania wartości parametrów EPG uzyskanych w wyniku rejestracji żerowania mszyc na badanych odmianach łubinu i roślinach kontrolnych (groch *P. sativum*).

Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Analiza wartości parametrów EPG wykazała różnice istotne statystycznie w zachowaniu się mszyc podczas penetracji roślin badanych odmian łubinu w odniesieniu do kontroli.

W aktywności mszyc na odmianach łubinu żółtego dominowała faza ścieżki, która zajmowała do 55% czasu całego ośmiogodzinnego doświadczenia. Fazę ksylemową odnotowano tylko na odmianie Juno i stanowiła ona 7,2% czasu eksperymentu. Na obu odmianach łubinu, faza floemowa występowała sporadycznie i trwała bardzo krótko, średnio mniej niż 0,5% czasu doświadczenia (rys. 1). Jedynie osobniki na odmianie Juno pobierały sok floemowy z rośliny, aczkolwiek okresy żerowania były krótkie (E2 < 10 minut) (rys. 2). W przypadku obu odmian odnotowano znaczący udział wydzielania śliny podczas fazy floemowej. Pozostały czas rejestracji zajmowała faza braku penetracji, tj. do 42% (tab. 1, rys. 1).

Na odmianach łubinu wąskolistnego – Baron i Karo, ponad połowę czasu doświadczenia stanowiła faza braku penetracji, odpowiednio 53,3 i 83,5%. Fazę ksylemową odnotowano jedynie na odmianie Karo, stanowiła ona 0,04% (rys. 1). Na odmianie Karo żadna z mszyc nie dotarła do floemu. Na odmianie Baron prawie połowa osobników wykazała fazę floemową, z czego 36,3% osobników wykazało fazę żerowania, a u 36% mszyc stwierdzono okresy

żerowania E2 dłuższe niż 10 minut (rys. 1, 2). Pozostały czas doświadczenia stanowiła faza ścieżki, tj. około 44% na odmianie Baron i około 16% na odmianie Karo (rys. 1). Na wszystkich badanych odmianach odnotowano trzykrotnie większą liczbę nakłuć roślin przez mszyce w stosunku do kontroli, jednak całkowity czas trwania penetracji był krótszy (tab. 1).

Krótki czas trwania penetracji roślin niezakończony żerowaniem, znacznie mniejszy udział fazy floemowej

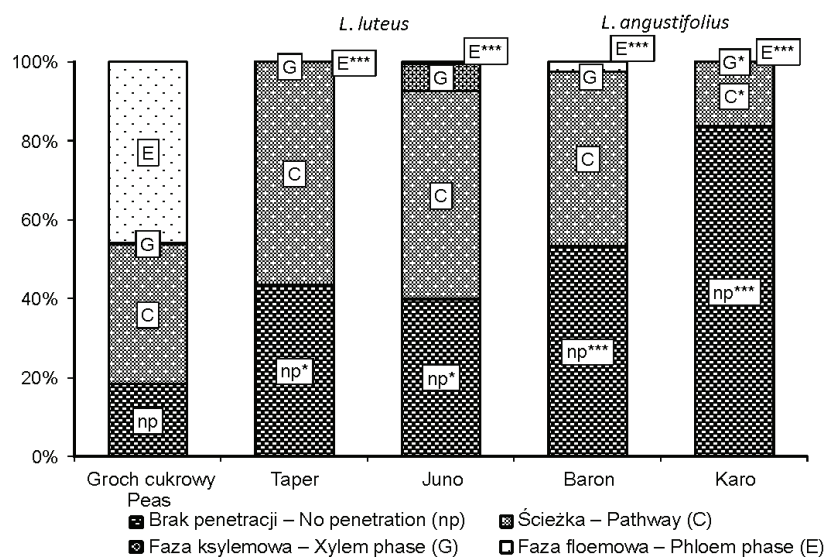
w czasie penetracji roślin w porównaniu z kontrolą oraz duży udział wydzielania śliny w czasie żerowania, mogą wskazywać na negatywne czynniki zlokalizowane zarówno w tkankach pozafloemowych, jak i w soku floemowym wszystkich odmian łubinu żółtego i wąskolistnego. Po zestawieniu najnowszych wyników badań z wynikami badań prowadzonych w latach 2002–2006 (Kordan i wsp. 2008) stwierdzono, że na tych samych gatunkach i odmianach łubinu przeważały czynności mszyc związane

Tabela 1. Wartości parametrów uzyskane w trakcie ośmiogodzinnych rejestracji zachowania się mszycy grochowej *A. pisum* na wybranych odmianach łubinu żółtego *L. luteus* oraz łubinu wąskolistnego *L. angustifolius*

Table 1. Values of the parameters derived from 8-hour recording of the probing behaviour of the pea aphid *A. pisum* Harris on the varieties of yellow lupine *L. luteus* and narrow-leaved lupine *L. angustifolius*

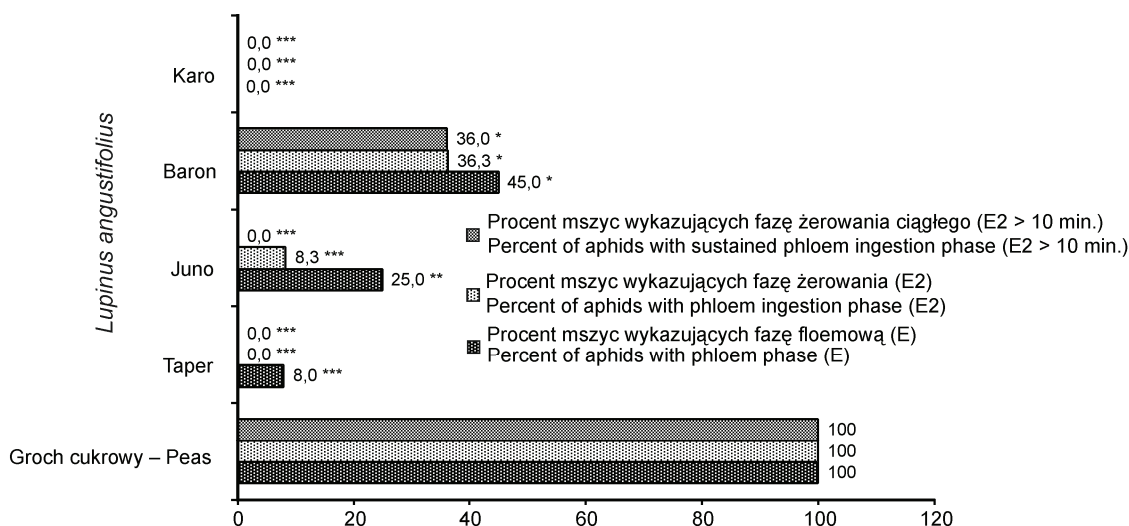
Parametry Parameters	Groch zwyczajny Peas <i>P. sativum</i> n = 12	Łubin żółty Yellow lupin <i>L. luteus</i>		Łubin wąskolistny Narrow-leaved lupin <i>L. angustifolius</i>	
		Taper n = 12	Juno n = 12	Baron n = 11	Karo n = 11
Czas penetracji (C + G + E + F) [h] Probing time (C + G + E + F) [h]	6,5 (±0,4)	4,5 (±0,5)**	4,8 (±0,5)*	3,7 (±0,5)**	1,3 (±0,3)***
Liczba penetracji Number of probes	24,9 (±10,1)	64,3 (±7,0)**	77,0 (±11,1)**	82,0 (±12,8)***	69,9 (±7,3)**
Faza floemowa E podczas penetracji (C + G + E + F) [%] Phloem phase E during penetration (C + G + E + F) [%]	52,0 (±8,0)	0,02 (±0,01)***	1,0 (±0,3)***	4,2 (±1,8)***	0,0***
Wydzielanie śliny E1 podczas fazy floemowej E [%] Salivation E1 during phloem phase E [%]	4,0 (±0,9)	8,3 (±8,3)***	18,1 (±11,1)*	13,2 (±8,9)	0,0***

n – liczba rejestracji; średnia/mszycę (±SD); test U Manna-Whitneya – gwiazdki wskazują różnice istotne statystycznie w stosunku do kontroli; *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001;
(EPG; n – number of replicates; means ±SD); U Mann-Whitney test – asterisks at means indicate significant differences in comparison to the control; *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001;



Rys. 1. Procentowy udział modeli EPG w trakcie ośmiogodzinnych rejestracji zachowania się mszycy grochowej *A. pisum* na wybranych odmianach łubinu żółtego *L. luteus* oraz łubinu wąskolistnego *L. angustifolius*. Gwiazdki wskazują różnice istotne statystycznie w stosunku do kontroli. ***p < 0,001; **p < 0,01; *p < 0,05

Fig. 1. Proportion of EPG waveforms in 8-hour recording of the pea aphid *A. pisum* probing behaviour on selected varieties of yellow lupin *L. luteus* and narrow-leaved lupin *L. angustifolius*. Asterisks denote statistically significant differences in comparison to the control. ***p < 0.001; **p < 0.01; *p < 0.05



Rys. 2. Procent mszyc wykazujących fazę floemową podczas ośmiogodzinnej rejestracji EPG; test U Manna-Whitneya – gwiazdki wskazują różnice istotne statystycznie w stosunku do kontroli. *** $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$

Fig. 2. Percent of aphids with phloem phase during 8-hour EPG recording; U Mann-Whitney test – asterisks denote statistically significant differences in comparison to the control. *** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$

z penetracją tkanek pozafloemowych lub z brakiem penetracji, natomiast faza floemowa występowała sporadycznie i nie przekraczała 2,5% czasu doświadczenia. Uzyskane wyniki mogą świadczyć o utrzymywaniu się zróżnicowanego, ale niskiego stopnia podatności badanych odmian łubinu żółtego i łubinu wąskolistnego na żerowanie mszycy grochowej.

Wnioski / Conclusions

1. Łubin żółty *L. luteus*, odmiany Taper i Juno oraz łubin wąskolistny *L. angustifolius* odmiany Baron i Karo nie

są podatne na żerowanie mszycy grochowej *A. pisum*. W aktywnościach mszyc na obydwu gatunkach roślin przeważa brak penetracji kłujki, faza floemowa występuje sporadycznie, a okresy żerowania są bardzo krótkie.

2. Odmiany łubinu wąskolistnego są w mniejszym stopniu akceptowane przez mszycę grochową niż odmiany łubinu żółtego. Spośród odmian łubinu wąskolistnego mniej podatną jest odmiana Karo, na której nie stwierdzono fazy floemowej podczas penetracji tkanek przez mszycę, a wśród badanych odmian łubinu żółtego – odmiana Taper, gdzie faza floemowa występowała sporadycznie.

Literatura / References

- Boczek J. 1988. Odporność roślin oraz hodowla i uprawa odmian odpornych jako metoda walki ze szkodnikami. s. 47–67. W: „Nauka o Szkodnikach Roślin Uprawnych” (J. Boczek, red.). PWRiL, Warszawa, 338 ss.
- Bogdanowicz W., Chudzicka B., Filipiuk J., Skibińska E. 2004. Fauna Polski. Muzeum i Instytut Zoologii PAN, Warszawa, 603 ss.
- Cichocka E., Goszczyński W., Leszczyński W. 1998. Wykorzystanie techniki EPG do oceny podatności roślin na mszycę. Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin 38 (1): 165–170.
- Ciepielewska D., Kordan B., Sądej W. 2001. Szkodniki Roślin Uprawnych. Wydawnictwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego, Olsztyn, 219 ss.
- Dancewicz K. 2006. Wpływ wybranych naturalnych i syntetycznych terpenoidów na zachowanie i żerowanie mszycy brzoskwiniowej *Myzus persicae* (Schulz.). Praca doktorska. Akademia Podlaska, Siedlce, 151 ss.
- Gabrys B. 2000. Powiązania między owadami i roślinami – badania nad mechanizmami odporności roślin na żerowanie mszyc. Biotechnologia 3 (50): 69–80.
- Häni F., Popow G., Reinhard H., Schwarz A., Tanner K., Volret M. 1998. Groch. s. 222. W: „Ochrona Roślin Rolniczych w Uprawie Integrowanej: Choroby, Szkodniki, Organizmy Pożyteczne” (F. Häni, G. Popow, H. Reinhard, A. Schwarz, K. Tanner, M. Volret, red.). PWRiL, Warszawa, 333 ss.
- Kordan B., Gabrys B., Dancewicz K., Lahuta L.B., Piotrowicz-Cieślak A., Rowińska E. 2008. European yellow lupine, *Lupinus luteus*, and narrow-leaf lupine, *Lupinus angustifolius*, as hosts for the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. Entomol. Exp. Appl. 128: 139–146.
- Leszczyński B. 1996. Charakterystyka chemicznych oddziaływań owady – rośliny: s. 16–63. W: „Kurs Praktyczny z Zakresu Chemicznych Interakcji Owady – Rośliny na Przykładzie Mszyc (Aphidodea)” (B. Leszczyński, red.). Wyższa Szkoła Rolniczo-Pedagogiczna w Siedlcach, Siedlce, 390 ss.
- Słomka W., Kordan B. 2008. Rozwój mszycy grochowej (*Acyrtosiphon pisum* Harris) na siewkach wybranych odmian grochu siewnego (*Pisum sativum* L.). Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin 48 (3): 970–973.
- Tjallingii W. 2001. Plant penetration by aphids as revealed by electrical penetration graphs. Aphids and Other Homopterous Insects 8: 105–120.