

非双螺旋 DNA 高级结构对基因转录调控的作用^{*}

牛康康¹ 张晓娟¹ 吴 凤¹ 任彦栋² 邓惠敏¹ 相 辉¹ 郑思春¹ 冯启理¹

(1.广州市昆虫发育调控与应用研究重点实验室,生命科学学院,华南师范大学,广州,510631;
2. 遗传资源与进化国家重点实验室,昆明动物所,中国科学院,昆明,650200)

【目的】自 DNA 双螺旋被发现后,细胞内染色体中的 DNA 被认为是以 A-T 和 G-C 的碱基配对和线性双螺旋的方式而存在。但是,近年来发现, DNA(或 RNA)单链或双链上多个鸟嘌呤(Guanine)的连续重复出现,可以形成 G-quadruplex(G4)高级结构;多个胞嘧啶(Cytosine)的连续重复出现,可以形成 i-motif 高级结构。这些“非正常”碱基配对所形成的“非双螺旋”二级结构可能参与了基因表达、端粒寿命、DNA 复制及蛋白翻译的调控。我们在研究家蚕转录因子 *BmPOUM2* 基因启动子结构时发现,该基因启动子存在 G4 和 i-motif 高级结构。【方法】本课题通过分子生物学、细胞生物学、结构生物学、发育生物学和基因组学等方法,研究 *BmPOUM2* 基因启动子高级结构的特征、结合蛋白及其生物学功能,阐释该结构对基因表达调控的分子机制,分析家蚕全基因组中 G4 和 i-motif 的频率、分布和结构特征。【结果】*BmPOUM2* 基因启动子的正负链上分别存在 G4 和 i-motif 高级结构,这些高级结构参与了对 *BmPOUM2* 基因表达的调控。当这些结构发生改变,该基因转录表达受到影响。其中,i-motif 结构正调控了该基因的表达。核转录因子 BmILF 可与 i-motif 结构结合并影响该基因转录。生物信息学分析初步表明,家蚕基因组中共有 357 个基因可能分别存在 3174 和 3104 个 G4 或 i-motif 结构。【意义】目前基因(或蛋白)表达调控机制仅涉及或依赖于基因 DNA 或转录产物 mRNA 的一级结构序列及表观遗传学调控,包括 DNA 启动子和 RNA 序列本身、调控因子与 DNA 或 RNA 结合、DNA 甲基化、mRNA 剪切、核糖体组装等过程。DNA 高级结构存在及其在调控基因转录表达的功能提供了一种新的基因表达调控机制,具有重要的科学意义:1)基因表达调控并不完全由其 DNA 序列一级结构所决定的,二级结构也参与对基因转录表达的调控;2)这些参与基因转录调控的高级结构可作为调控生物生长发育的新靶标位点。

^{*} 项目资助:国家自然科学基金委项目(31330071,31672494)和科技部“973 计划”项目课题 (2012CB114602)

媒介昆虫发育的代谢调控

邹 振

(农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室, 中国科学院动物研究所, 北京, 100101)

【目的】昆虫及其他无脊椎动物媒介传播疾病主要通过接触、取食和叮咬将病毒等病原物传染给人。蚊虫是传播登革热、疟疾、黄热病、寨卡病毒等人类传染病的重要媒介昆虫,对公共卫生构成严重危害。蚊虫传播疾病是因为其需要吸食脊椎动物的血来营养产卵,其生殖周期被每一次的吸血过程所严格调控。蚊虫在吸血后短短 72 小时内要完成外源血液的消化吸收,脂肪体中卵黄原蛋白的大量合成,卵巢对卵黄蛋白的吸收,产卵等重要生理过程。因此解析蚊虫吸血前后基因表达变化与其生殖发育的关系对于媒介传播疾病的控制具有重要的指导意义。

【方法】本研究以埃及伊蚊(*Aedes aegypti*)为模式生物来研究媒介昆虫的生殖发育,即通过基因芯片、RNA-seq 转录组测序及代谢组学等手段来获取基因表达和代谢物数据,并结合 RNAi 等分子生物学手段,阐明蚊虫进化出强大的能量代谢机制以应对高强度生殖过程的分子机制,包括吸血前的能量贮存和吸血后的利用。

【结果】分析吸血后发育生殖过程中 10 个时间点的高通量数据,并根据差异基因的动态表达谱分为 4 个类群,早期基因、早中期基因、晚中期基因和晚期基因。完成吸血后发育、产卵,为下次吸血做准备。进一步结合生殖过程中 19 个时间点的高通量数据,对其中 6 个重要节点的代谢组学数据进行了全面分析,发现蚊虫羽化后,随着体内 JH 滴度的升高,糖原、脂分解代谢基因、糖酵解基因表达量显著下调,脂肪体中糖原、脂逐渐积聚,ATP、NADH 含量降低。而蚊虫吸血后随着 JH 滴度下降,20E 滴度逐渐升高,这些代谢基因被显著激活,脂肪体中糖原及脂分解加速,ATP 和 NADH 含量升高。利用 RNAi 技术沉默 JH 受体 Met 和 20E 受体 EcR,并结合相应的转录组学和代谢组学数据,发现其变化恰好与时间点数据相反。这些探索解析了 JH 和 20E 分别通过受体 Met 和 EcR 这对分子开关逐步调节蚊虫生殖发育周期的能量代谢平衡。对此分子机制的阐明,有助于我们进一步明确能量代谢途径与模式昆虫生殖发育的密切关系,从而为开发阻断吸血生殖而达到控制病原传播的目的提供理论依据。

大数据时代昆虫学的未来

周 欣*

(中国农业大学,北京,100083)

昆虫学的许多研究方向都具有悠久的历史,如:分类学、生态学、病虫害综合防治等;同时,昆虫分子生物学、分子系统发育、基因组学等新兴研究在近几十年间也取得了长足的进步。随着多组学技术及高性能计算的发展,生物学研究已经迎来了大数据时代,其应用也迅速拓展到昆虫学的各个领域:(1)在昆虫分类学中,整合分类学(Integrative Taxonomy)主张结合形态学、DNA 序列、生物学、生态学等综合证据用以划定物种种界。其中,DNA 条形码国际计划(The Barcode of Life)的兴起和迅速推广不仅为整合分类学提供了海量的标准化分子标记,也为快速物种鉴定提供了新的方法。(2)在昆虫多样性研究中,结合第二代高通量测序技术及生物信息学的方法,分析混合样品物种组成甚至相对丰度的技术迅速成熟。混合样本分析的结果通过与标准 DNA 条形码数据库或者全线粒体数据库的比对,可以快速、准确、经济地获得生物多样性组成的关键信息,使得大规模生态学数据的收集和分析成为可能,从而为环境评估及生态管理效果的评定提供参考依据。(3)在昆虫系统发育关系的研究中,通过大规模转录组高通量测序及 *de novo* 组装,可以获得六足总纲的高阶支系中几乎全部单拷贝直系同源基因,用以构建迄今为止最强健的昆虫演化关系(1,000 Insect Transcriptome Evolution)。与此同时,生物信息学方法可以从昆虫转录组中提取出共表达的昆虫基因家族序列、线粒体基因组及共生细菌、病毒等基因序列,为研究昆虫基因进化、基因组学、昆虫与微生物协同进化等提供了极为宝贵的数据集。本报告结合上述研究热点,在介绍最新研究进展的同时,展望大数据在未来昆虫学研究应用中的作用。

关键词 分类学,进化,生物多样性,基因组学,高性能计算

* 通讯作者, xinzhou@cau.edu.cn

传粉榕小蜂及其寄主榕树协同进化的生态学机制

彭艳琼

(中国科学院西双版纳热带植物园, 勐腊, 666303)

【目的】榕小蜂(Agaonidae)为榕树(*Ficus*)传粉,榕树提供榕小蜂繁衍后代场所,两者互惠共生,已协同进化了7500万年,是动植物间经典的互惠系统。虽然两者协同进化的机制备受关注,但其生态学研究薄弱、发展缓慢。【方法】借助西双版纳便利的野外研究条件,综合利用形态学、行为学、生态学、化学生态学,以及分子生态学研究方法,聚焦研究榕-蜂协同进化的生态学机制。【结果】微小传粉榕小蜂有进入隐头花序的适应性结构,可单只蜂进入,多只蜂和平进入或竞争打斗进入行为。自然界主动传粉很少,但绝大多数传粉榕小蜂主动为寄主榕树传粉,且榕树在形态、结构上与之匹配。榕-蜂联系主要依赖专一性化合物实现,释放多种挥发物同时吸引传粉榕小蜂和两种金小蜂的钝叶榕,从中筛选出6-甲基-5-庚烯-2-酮和芳樟醇具引诱活性;鸡嗉子榕雌花期则释放98%的4-对苯甲基醚,吡啶仅占0.74%,但含量高和低化合物均有引诱活性,且相互增效。一般榕-蜂繁殖物候紧密衔接,但同种榕树分布中心区和边缘区繁殖物候有差异,边缘区衔接不良、繁殖差。同域分布的两种榕树由于繁殖物候互补导致共享同种传粉者。榕-蜂繁殖物候上不匹配,出现果等蜂或蜂等果现象,导致无繁殖或繁殖率降低。进入雌雄同株果内,榕小蜂传粉、产卵同时进行,而进入雌雄异株果内可调整传粉、产卵策略。随着研究的深入,一种榕树上有多种传粉榕小蜂的现象日益增多,并且多种传粉者共存,为传粉榕小蜂欺骗性演化创造了契机,中国已发现两种传粉榕小蜂演化出欺骗性,它们与传粉者共存,但欺骗也付出了代价。此外,榕果内还共生着1-30种不等的非传粉小蜂、瘿蚊、线虫,以及捕食的蚂蚁及食果动物,共同影响着榕-蜂协同进化。【结论】榕-蜂形态结构上的匹配、化学联系的专一性、繁殖物候的紧密衔接等是维持榕-蜂协同进化的主要生态学机制。

关键词 榕小蜂,隐头花序,繁殖,互惠,协同进化

Hippo 信号通路在昆虫卵巢发育中的作用

黄健华

(浙江大学昆虫科学研究所 农业部农业昆虫学重点实验室,杭州,310058)

昆虫的卵巢分为无滋养型和有滋养型,其中有滋养型又分为端滋式和多滋式两种不同的发育模式。双翅目昆虫果蝇的卵巢属于典型的多滋式发育,在卵巢原卵区有两类重要的细胞:生殖干细胞(germline stem cell, GSC)和卵泡上皮干细胞(follicle stem cell, FSC),它们不断地进行着细胞分裂和分化,从而能够保证卵源源不断的生产。前期的研究结果表明,细胞分裂对于 FSC 的维持具有极为重要的作用。据此,我们研究了调控细胞大小和分裂的 Hippo 信号通路在果蝇卵巢中的作用。发现:Hippo 信号下游的效应因子 yki 基因的突变 (Hippo 通路活性的缺失),能够引起 FSC 的细胞分裂减慢和迅速丢失;而过量表达 Hippo 通路的活性能够增加干细胞的分裂速度和数量,能够在和野生型干细胞竞争中获胜,从而取代野生型干细胞。同时,我们发现该表型和 Hedgehog 信号通路在 FSC 中的作用非常相似,进一步作了这两个重要通路的遗传交叉实验,结果表明:(1)yki 是维持 FSC 稳定的重要基因,作为 Hippo 信号的效应因子,yki 调控着 FSC 的分裂。(2)提高 Hippo 通路的活性(增加 Yki 的磷酸化水平),能够增强 FSC 的竞争性。(3)微环境信号 Hedgehog 通过调控 yki 基因的转录水平,从而实现参与调节 FSC 的分裂。最后,我们还研究了 Hippo 通路在 GSC 中的作用,发现 Hippo 通路不影响 GSC 的细胞分裂,对 GSC 的稳定不起作用。上述结果,为昆虫卵巢尤其是多滋式卵巢生长发育的分子机制提供了理论基础。

关键词 昆虫卵巢,生长发育,Hippo 通路,细胞分裂,果蝇

中国天敌昆虫研究应用 60 年

王 甦 张 帆*

(北京市农林科学院植物保护环境保护研究所,北京,100097)

天敌昆虫是现代生物防治体系中的核心组成。1888 年美国农业部自澳大利亚引种澳洲瓢虫 *Rodolia cardinalis* 成功防治加州地区柑橘上的吹绵蚧这一事件被视为现代生物防治的开端。时至今日,全球从事天敌昆虫的研究机构超过 500 家,每年发表的科研论文超过 2000 篇。自上世纪 90 年代以来,在欧洲地区、北美和亚洲地区注册的天敌昆虫生产销售公司就超过 1000 家,而天敌昆虫全球市场规模已经达到数十亿美元。

中国是世界农业文明的发祥地之一,也是世界上最早发现和应用天敌昆虫防治害虫的国家。早在公元 304 年由晋代嵇含所著的《南方草木状》中即记载用黄猢蚁 *Oecophylla smaragdina* 防治柑橘害虫。自清代起,我国开始将生物防治作为晋代科学技术来研究与宣传。至民国年间,国民政府已经开始有范围的使用赤眼蜂和捕食性瓢虫进行生物防治,并取得了显著的功效。新中国成立以来,我国的生物防治以及天敌昆虫研究应用迈入了一个全新的历史发展时期。自上世纪 50 年代起,我国开始大量引入国外的捕食性和寄生性天敌,用以防治各种大田作物、水果以及蔬菜上的害虫。文革后,1979 年开展的首次全国天敌资源调查掀起了我国天敌昆虫研究应用新高潮。以中国农科院植保所、华南农业大学、广东省生物资源应用研究所(原广东昆虫研究所)、浙江大学(原浙江农学院)、北京市农林科学院、吉林农业大学及华中农业大学等为首的科研单位,着眼于天敌昆虫的人工大规模饲养与释放技术,相继开发出赤眼蜂、蚜小蜂、捕食性瓢虫、草蛉和小花蝽等多达 100 余种天敌昆虫的人工饲料以及大规模繁育生产线。仅以赤眼蜂为例,我国每年生产赤眼蜂超过 100 亿头,应用覆盖面积超过 8000 万亩,是世界上应用面积最大的天敌昆虫应用案例。此外,赤眼蜂相关技术已经作为我国生物防治的明星产品,相继在北美、欧洲、中亚和南亚等地区十余个国家和地区推广,有效的防止了玉米、水稻、大豆以及甘蔗上的害虫。

进入新世纪,随着整个昆虫学科新思路以及新技术的发展,天敌昆虫在基础研究、应用基础研究以及应用研究方面有了长足的发展。在天敌昆虫种质资源开发与评价方面,天敌昆虫基因指纹库的建立、重要天敌基因组的深度挖掘以及天敌昆虫生态功效机制的研究,为我们开发新天敌、培育高效功能品系奠定了深厚基础;在天敌繁育方面,微胶囊人工饲料技术、人工滞育调控技术、寄生性天敌人工卵和替代寄主技术等极大提升了天敌昆虫大规模繁育的效率和品质;在天敌应用技术方面,基于基因组学的天敌生态毒理研究、基于高通量基因检测的天敌食物网研究以及基于天敌化学生态感受机制的种群调控技术研究,帮助我们显著提升利用生态环境以丰富天敌昆虫应用效率的技术体系,形成与其它防治手段相结合的技术策略。此外,随着无人机技术以及现代遥感技术的介入,天敌昆虫在大面积应用方面也进入了新型机械化自动化时代。

生生不息,薪火相传。我国天敌昆虫应用在无数科研工作者的努力奋斗下终于形成了盛世之境。2016 年 8 月,天敌昆虫产业联盟在山东济南成立,标志着我国天敌昆虫应用从实验室开始走向市场,走上了一条切实服务农业的坦途。随着我国天敌昆虫商品化日益加强,天敌昆虫国际化输出比重日益提高,我国天敌昆虫工作者开始转变天敌昆虫研究思维与模式。在未来,天敌昆虫基于信息化技术与数字化管理技术的天敌精准工厂化生产、天敌昆虫可控式释放技术以及天敌昆虫异域输出输入的生态安全评价等将会成为新的研究热点。我们相信,只要我国天敌昆虫工作者继承前辈的科研精神,天敌昆虫这面大旗将在中国的大地上屹立不倒!

* 通讯作者, zf6131@263.net

我国粘虫迁飞的研究与防控

江幸福* 罗礼智 张 蕾 程云霞

(中国农业科学院植物保护研究所,植物病虫害生物学国家重点实验室,北京,100193)

粘虫是我国农业生产上重大迁飞害虫,暴发时对玉米、小麦和水稻等粮食作物造成减产或绝收,1958年中央政治局将粘虫列为当时要消灭的10大害虫中第二位。近年来,粘虫一直是我国重大病虫害监测对象。我国对粘虫迁飞与防控的研究可概括为4个阶段:一是粘虫迁飞规律与测报技术原创研究。首创了粘虫“标记-释放-回收”技术,获得了其远距离迁飞的直接证据,共标放粘虫650多万头,回收到52头,基本摸清了全国范围内迁飞规律;提出了粘虫在我国东半部越冬北界为1月份0℃等温线;创建了粘虫“异地测报”技术,极大提高了粘虫防控水平。二是粘虫迁飞行为机制及单项防控技术研究。温度、密度、营养和光周期等均可诱导粘虫迁飞行为发生,且可调控其迁飞距离、高度、速度和方向;具有发达、善于飞行的飞行肌结构,利用转化效能高的酯类作主要飞行能源,符合“卵子发生-飞行拮抗综合症”特征;JH不仅可影响飞行与生殖能力调控其起飞与降落时期,还可调控迁飞型向居留型转换;迁飞能力具有亲代加性遗传效应;研发出粘虫雷达、灯光、糖醋酒和性诱剂等监测技术以及生态调控、生物和化学防治等关键技术。三是粘虫迁飞致灾机制与防控技术集成研究。粘虫迁飞不仅不会以生殖力下降为代价,而且还会促进种群同步生殖,加剧后代集中危害;迁飞型不仅可通过远距离迁飞逃避天敌和病原物攻击,且形成了比居留型更强的防御能力,有利于种群生存和危害;粘虫进化出在极端环境下迁飞行为“二次调控”的弹性策略,由迁飞型转化为居留型在本地快速产卵危害;集成了不同作物不同区域粘虫监测预警和防治技术体系。四是粘虫迁飞分子机制与行为控制技术研究。应用全基因组测序明确了粘虫全基因组大小为680Mb,成功注释了16000多个基因,这些基因分别调控粘虫激素分泌、能源代谢、生物钟、飞行定向、化学感受及天然免疫等生理行为。通过对关键基因表达模式与生物学功能的研究,不仅能揭示粘虫迁飞调控的分子机理,而且还能为发展基因技术抑制迁飞行为从而达到行为控制的目的。

关键词 粘虫,迁飞规律,迁飞机制,致灾机制,防控技术

脉翅类昆虫的多样性与系统演化

刘星月

(中国农业大学植物保护学院昆虫学系,北京,100193)

脉翅类(脉翅总目)是完全变态类昆虫中具有关键系统地位及生态功能的重要类群,具有高度多样化的适应性特征及独特的地理分布格局,并具有一定的生防应用价值。近年来,相继完成了亚洲广翅目、东亚蛇蛉目、东亚栉角蛉科等类群的分类修订,系统记述 500 余个物种,发现 15 新属 175 个新种。此外,在我国西藏墨脱发现了螳蛉科 1 北半球新记录亚科,为揭示螳蛉科的起源演化历史提供了重要的线索。通过对中国东北及缅甸北部中生代脉翅类化石和琥珀的研究,发现蛇蛉目、脉翅目中多个重要过渡类群以及形态高度特化类群。在深入的系统分类研究基础上,综合形态、分子、化石等多方面数据,对脉翅类科间系统发育以及泥蛉科、齿蛉亚科、螳蛉科、栉角蛉科等类群的系统发育进行了研究,初步揭示了脉翅类昆虫的系统发育关系以及重要适应性特征的演化格局。研究结果为脉翅类昆虫多样性提供了新的科学证据,并深入理解该类群的起源演化具有重要的理论意义。

关键词 脉翅类,系统分类,系统发育,多样性

形态特征的数字化及方法创新

白 明 杨星科

(中国科学院动物进化与系统学院重点实验室, 中国科学院动物研究所, 北京, 100101)

【目的】生物结构在不同尺度上、不同维度上和不同部位的观察与形态分析,为科学研究结果提供最直接的证据,在众多学科领域扮演了不可或缺的角色。目前生物结构的二维形态观察手段和定性分析已非常成熟,能够为科学研究提供一定地支撑,但三维技术手段和定量分析方法却明显滞后且应用范围不广。而且已有的三维成像技术无法同时解决复杂突变样本的形态信息缺失、成像速度慢、真实纹理难以还原等问题。【方法】大会报告人致力于开拓并且实践“整合形态学”的新学科研究领域,即通过显微CT、计算机三维重建等已知仪器来获取形态数据,同时还与西安光机所共同提出一种基于结构照明显微术的针对微小动物的高分辨率三维层析成像的新仪器(D-SIM),之后利用几何形态学、支序系统学、有限元等定量形态分析方法,对进化与系统学问题进行全新解读和革命性探索,研究方法系统创新涵盖形态数据的获取、形态特征的模拟和比对分析等流程。【结果】通过与CLSM、Micro-CT、FIB-SEM、MRI等当今流行的三维成像技术进行对比发现,D-SIM技术在成像的单一指标方面虽未必全部占优,但是综合成像质量、成像速度、样本制备方法等要素,其在微小动物精微三维结构成像方面的整体优势确实比较明显。另外,D-SIM技术与传统光学显微镜具有良好兼容性,并且在设备成本方面也存在巨大优势,因此有望在实验室大规模普及,成为常用成像设备(Ruan *et al.*, 2016, *Frontiers in Zoology*)。除了新仪器的研发外,“整合形态学”的研究理念和方法也应用到了现生和古生材料的研究中,如昆虫纲化石新目——奇翅目(Alienoptera)的确立(Bai *et al.* 2016, *Gondwana Research*),首次在琥珀中发现反鸟类(Xing *et al.* 2016, *Nature Comm.*),缅甸琥珀中的栉蚕支持“欧洲扩散”假说(Oliveira *et al.* 2016, *Current Biology*)等研究中。

双模式数字化昆虫雷达的构建与初步应用^{*}

张 智¹ 张鹿平² 杨建国^{**} 张云慧³ 姜玉英⁴ 谢爱婷¹ 王 健¹

- (1. 北京市植物保护站,北京,100029;2. 无锡立洋电子科技有限公司,无锡,214028;
3. 中国农业科学院植物保护研究所 植物病虫害生物学国家重点实验室,北京,100193;
4. 全国农业技术推广服务中心,北京,100025)

大多数迁飞性昆虫在夜间迁飞,它们的飞行高度远在人类视力范围之外,如果没有专门设备,就很难对其迁飞过程进行直接监测与定量分析。雷达(radar)是无线电探测和测距(radio detection and ranging)的缩写,是指利用电磁波进行空中目标探测的一个系统。雷达除可以探测金属物品、云、雨等目标之外,还可以探测体内含有水分的鸟类与昆虫。自20世纪40年代首次证实雷达可探测昆虫以后,雷达得到昆虫学家的高度关注。1968年,世界上首部昆虫雷达诞生。昆虫雷达的出现为监测昆虫迁飞提供了一种卓越的、无可替代且强有力的工具。目前,监测昆虫迁飞常用的昆虫雷达有扫描昆虫雷达和垂直监测昆虫雷达。扫描昆虫雷达具有监测范围大、取样速度快、数据显示直观等优势,但目标解算出的参数较少。垂直监测昆虫雷达具有较强的目标解算能力,但是受其结构设计的影响,其取样范围较小,数据代表性较差。为了弥补两种昆虫雷达的不足,2016年,北京市植物保护站与无锡立洋电子科技有限公司合作研制出世界上首台双模式数字化昆虫雷达(下称“双模式昆虫雷达”)。双模式昆虫雷达利用一套收发系统,将传统扫描运转和垂直运转模式有机地融合为一部雷达,并在水平扫描时引入快速扫描功能。目前,该雷达已进入试运行阶段,实现了自动伺服。通过测试,该雷达既可以在手动模式下作为扫描昆虫雷达或垂直监测昆虫雷达单独长时间运行,也可以选择自动伺服模式实现扫描雷达和垂直监测昆虫雷达的交替运行。在水平扫描运转模式和垂直监测模式下,该雷达均能探测到目标,并按照设定的数据格式分别进行数据存储。今后雷达分析软件将逐步完善,在水平模式下,数量统计、速度计算、方位分析等将趋于自动化,快速扫描时,力争对空间目标构建一个三维视图。此外,随着数据的积累,今后还可以对两种模式的观测结果进行相互验证,奠定应用昆虫雷达开展重大迁飞性害虫监测的理论基础。

关键词 水平扫描昆虫雷达,垂直监测昆虫雷达,双模式昆虫雷达,迁飞

^{*} 基金项目:北京市科技创新驱动发展投入项目(PXM2016_036203_000049)

作者简介:张智(1980-),男,高级农艺师,博士,研究方向为害虫监测预警及防治决策, E-mail:zhangzhicas@126.com

^{**} 通讯作者: E-mail: yangjguo@263.net

气候变化对中国蚊虫及蚊媒传染病的影响研究

刘起勇

(中国疾病预防控制中心传染病预防控制所, 传染病预防控制国家重点实验室, 传染病诊治协同创新中心, 世界卫生组织媒介生物监测与管理合作中心, 北京, 102206)

【目的】从不同尺度、不同维度和不同生态区评估和确认气候变化对我国蚊虫及蚊媒传染病影响的直接和间接证据, 为进一步探索其生态机制和公共卫生决策提供科学依据。【方法】报告人从不同尺度、不同维度和不同生态区对我国主要媒介蚊虫的时空分布采取生态观测, 确认其变异热点地区; 用生态学模型、数理统计模型分析筛选出主要气象决定因子; 基于蚊虫数量、时空分布、蚊媒传染病数据及主要气象决定因子, 构建数学模型和 GIS 系统, 模拟和定量评估气象因子变异和气候变化对主要蚊虫和蚊媒传染病的影响。【结果】生态观测发现, 我国尖音库蚊复合种团、中华按蚊、白纹伊蚊等代表性媒介蚊虫时空分布发生显著变化; 生态模型和数理统计分析确定温度、降水等气象因子是蚊虫扩散和时空分布的主要生态决定因素; 数学建模及 GIS 模拟证实, 主要气象因子可显著影响蚊虫及蚊媒传染病的时空动态; RCP 气候情景预估显示, 仅气温变暖就将显著增加我国未来(2020, 2030, 2050, 2100)主要媒介蚊虫的数量和时空分布, 登革热等蚊媒传染病风险因此显著增加(数倍于目前水平), 我国人群健康将面临更加严峻的公共卫生挑战。

稻赤斑沫蝉交配行为及振动鸣唱研究 (半翅目:头喙亚目:沫蝉科)*

张鼎杰¹ 宋志顺¹ 梁爱萍^{1, 2**}

(1. 中国科学院动物研究所 动物进化与系统学院重点实验室,北京,100101;
2. 中国科学院大学,北京,100049)

【目的】稻赤斑沫蝉 *Callitettix versicolor* 是一种广泛分布于我国南方地区,危害水稻等经济作物的重要害虫,开展其交配行为及相关振动鸣唱特征研究,可为该虫虫害综合治理提供新思路,也为头喙亚目昆虫振动通讯行为进化研究提供基础资料。【方法】摄像机完整记录未交配成虫的交配过程,同时利用激光测振仪 PDV-100 采集雄、雌虫鸣唱信息,使用 Audition 和 Seewave 软件平台对声音信息进行特征分析,并与已知两种沫蝉 *Cercopis intermedia* 和 *C. vulnerata* 的雄性鸣唱特征进行对比。【结果】稻赤斑沫蝉交尾前行为与南美洲沫蝉 *Mahanarva spectabilis* 类似,分为 6 个阶段;期间发现雌性多静止,单独鸣唱,鸣唱间隔较短;该种雄性鸣唱特征与其他两种差异显著,持续时间为 1.77 ± 0.10 s,载波频率为 110 Hz,而雄性 *C. intermedia* 和 *C. vulnerata* 分别为 1.00 ± 0.06 s, 350 Hz 和 2.97 ± 0.62 s, 620 Hz; 雌性稻赤斑沫蝉为 1.38 ± 0.20 s, 90 Hz。【结论】首次报道稻赤斑沫蝉的完整交配过程;雌性交尾前独特的单独鸣唱行为暗示其具有吸引雄性的作用,相关的行为学研究尚待深入开展;三种沫蝉雄性鸣唱特征的显著差异表明声音结构特征在沫蝉分类及其系统发育研究中亦具有重要价值。

关键词 沫蝉,声音分析,繁殖行为,个体行为学

* 资助项目:国家自然科学基金面上项目(31561163003, 31572297, 31572298, 31372249);中国科学院动物进化与系统学重点实验室开放课题(Y229YX5105)

** 通讯作者, E-mail: liangap@ioz.ac.cn

十种蝴蝶喙管感器超微形态研究^{*}

李鹏得^{1,2} 王月月^{1,2} 刘方方^{1,2} 马璐瑶^{1,2} 胡 凯^{1,2} 袁向群^{1,2,3**}

(1.西北农林科技大学植物保护学院, 陕西杨凌, 712100; 2.西北农林科技大学植保资源与病虫害治理教育部重点实验室, 陕西杨凌, 712100; 3.西北农林科技大学旱区作物逆境生物学国家重点实验室, 陕西杨凌, 712100)

【目的】通过扫描电子显微技术对 2 总科 5 科 10 种蝴蝶喙管进行观察, 比较各科喙管及其感器的差异, 探讨各科喙管及其感器形态的不同和分类系统的关系, 并进一步探讨其对蝴蝶不同食性的影响。【方法】本实验通过扫描电子显微镜将 10 种已预先处理好的蝴蝶喙管分别扫描并照相, 测量感器长度并进行数据分析。【结果】蝴蝶喙内外侧共有 3–4 种感器, 分别是刺形感器、锥形感器、栓锥形感器、腔锥形感器。刺形、锥形感器是蝴蝶喙管上分布最多、最广的两类感器, 且通过对 10 种蝴蝶喙管扫描电镜的观察, 发现蝴蝶喙管上的差异主要存在其端部和基部。【结论】1. 蝴蝶喙管上共发现 4 种感器, 分别是栓锥形感器、腔锥形感器、锥形感器和刺形感器; 2. 腔锥形感器主要分布在喙管的端部区域, 另外在朴喙蝶的喙管内侧食物道上也有发现; 而栓锥形感器只在喙管端部发现。刺形感器和锥形感器分布在喙管的整个外侧表面, 同时锥形感器还在蝴蝶喙管内侧食物道上有分布, 并且两种感器在数量和长度上都有一定的差异; 3. 蝴蝶喙管主要在端部和基部存在形态差异, 端部的差异主要在表面分布的体型较大、形态各异的栓锥形感器和直径较大的腔锥形感器之间。基部的差异主要是直纹稻弄蝶基部表面分布最多的是刺形感器, 而其它 9 种其基部表面分布最多的是表皮突; 4. 10 种蝴蝶端部栓锥形感器和腔锥形感器的数量差异很大, 大紫蛱蝶喙管上的 4 种感器数量是 5 科蝴蝶中最多的; 5. 10 种蝴蝶喙管感器形态和长度在雌雄间并无明显差异。

关键词 蝴蝶, 喙, 感器, 超微形态

^{*} 资助项目: 国家自然科学基金 (No. 31272345, 31071693); 中央高校基本科研业务费专项项目 (2011FY120200); 陕西省农业攻关项目 (2016NY-058)

^{**} 通讯作者: E-mail: yuanxq@nwsuaf.edu.cn

基于显微 CT 的棉铃虫翅结构的三维重建^{*}

张睿珂^{1,2**} 葛斯琴³ 陈梅香^{1***} 罗孝竹^{3,4} 王谢爽³ 李 明¹ 温俊宝² 杨信廷¹

(1. 国家农业信息化工程技术研究中心/农业部农业信息技术重点开放实验室/北京市农业物联网工程技术研究中心, 北京, 100097; 2. 北京林业大学, 林木有害生物防治北京市重点实验室, 北京, 100083; 3. 中国科学院动物进化与系统学重点实验室, 中国科学院动物研究所, 北京, 100101; 4. 华南农业大学昆虫生态研究室, 广州, 510642)

【目的】翅一直以来以是鳞翅类昆虫分类、鉴定及识别的主要特征,其翅面的纹理以及翅脉包含了重要的分类信息,传统的昆虫形态学研究对虫体翅的观察会对其造成一定程度的损害。而计算机断层扫描技术(显微 CT)可以获取整只昆虫的无损断层图像,从而进一步分析和构建虫体的三维结构模型。【方法】本文以棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner)成虫为例,采用显微 CT 技术获取虫体断层扫描图像,并用三维图像分析软件 Amira 进行图像分析,重点重构了棉铃虫翅的三维结构,以获取虫体翅的结构信息。【结果】通过显微 CT 技术获取的棉铃虫虫体断层图像的分辨率达到 23.92 μm ,利用 Amira 对断层图像的分割及叠加后,成功构建了棉铃虫成虫翅及虫体的三维结构,避免了利用传统方法导致的翅面损害以及翅脉变形,获得了完整立体形态的翅及身体结构。同时提取到虫体翅的无方向性结构信息:矩形度、延长度、叶状性、偏心率、球状性、似圆度、不变距 HU1-HU7,以及翅的厚度和体积。【结论】本文通过显微 CT 和计算机三维重建技术获取的棉铃虫翅及虫体的三维图像清晰、完整,在其基础上获得了无损的表面信息及体信息,同时得到了棉铃虫成虫前后翅的完整结构及其基本结构数据,对鳞翅目昆虫翅结构的研究提供了基础数据,同时也为鳞翅目害虫的自动监测、识别提供了相应的参考。

关键词 计算机断层扫描技术(显微 CT),三维重建,翅膀结构,棉铃虫

* 资助项目:北京市自然科学基金资助项目(4132027,6164034),国家自然科学基金青年基金项目(31301238),欧盟 FP7 项目(PIRSES-GA-2013-612659)

** 第一作者张睿珂,硕士。E-mail:zhangrk_daisy@163.com

*** 通讯作者,E-mail:chenmx@nercita.org.cn

DNA 条形码技术在小花蝽属昆虫分类鉴定中的应用研究^{*}

胡泽章^{**} 孙 猛^{***} 吕 兵 段 敏 翟一凡 陈 浩 郑 礼^{**} 于 毅

(山东省农业科学院植物保护研究所,天敌与授粉昆虫研究中心,济南,250100)

小花蝽属(*Orius* Wolff)是半翅目异翅亚目(Heteroptera: Hemiptera)花蝽科(Anthocoridae)最大的一个属,全世界有 80 多种。该属的 *Orius albidipennis*、*Orius insidiosus* 等种已在国外实现商品化,在生产中用于防治西花蓟马 *Frankliniella occidentalis*、烟蓟马 *Thrips tabaci*。该属昆虫个体微小,成虫个体仅为 2 mm 左右,而种间形态特征近似,关键性形态特征为雌成虫第七、八腹节节间膜上的交配管的形态,需要通过解剖进行鉴定,耗时费力,而且雄成虫及若虫、卵极难准确鉴定。该属昆虫快速准确鉴定是深入开展其行为学、生态学、生理学及生产应用等相关研究的首先面对和必须解决的问题。

本研究通过对来自 GenBank 数据库中 13 种小花蝽的 59 条 COI 基因片段序列进行碱基组成分析,计算种内、种间遗传距离,并采用 NJ 法、MP 法、BI 法构建了系统发育树,分析同源序列碱基多样性及系统进化关系,探讨利用 DNA 条形码技术快速、准确地鉴定小花蝽的可行性,为进一步研究小花蝽类昆虫及其他形态相近昆虫的快速分子鉴定技术提供理论依据和实践基础。

结果表明,小花蝽属昆虫 COI 基因序列的 A+T 平均含量为 66.4%,明显高于 G+C 含量。特别是在密码子的第 3 位,A+T 含量高达 90.7%,碱基组成与典型的昆虫线粒体 DNA 一致,碱基替换多为同义替换,13 种小花蝽种平均遗传距离为 0.008,种间平均遗传距离为 0.128,而且种内、种间遗传距离没有重叠区域。利用 3 种方法构建的系统发育树的聚类分析与形态学鉴定结果一致,同一种群的不同个体单独聚为一支。从系统发育角度来看,三种方法都支持 *Orius ailigis* 与除 *Orius atratus* 之外的 11 种小花蝽关系较远。都支持毛小花蝽(*Orius niger*)与 *Orius laevigatus* 亲缘关系较近。*Orius strigicollis* 与微小花蝽(*Orius minutus*)、东亚小花蝽(*Orius sauteri*)亲缘关系较近。综合种内与种间的遗传距离和系统发育树的结果,微小花蝽可能存在隐存种现象;利用 DNA 条形码技术对小花蝽属昆虫进行物种快速分子鉴定具有可行性。

关键词 小花蝽属,DNA 条形码技术,COI 基因,遗传距离,系统发育

^{*} 基金项目:国家国际科技合作专项(2013DFA32070);山东省农业重大应用技术创新专项重点项目(设施蔬菜生态高效安全生产技术模式建立与示范);山东省农科院学科带头人科研启动项目

^{**} 作者简介:胡泽章,硕士,E-mail:395674719@qq.com

^{***} 通信作者,孙猛,博士,E-mail:sunmeng8888@qq.com;郑礼,研究员,E-mail:zhengli64@126.com

大别山地区长刺沼石蛾属一新种(毛翅目,幻沼石蛾科)

邱 爽 闫云君*

(华中科技大学,生命科学与技术学院,湖北,430074)

【目的】探索大别山地区的毛翅目昆虫区系,为利用毛翅目昆虫进行水质监测打下基础。

【方法】在清洁河流附近利用空网捕捉,并在夜晚利用紫外光灯进行灯诱,对所采集的标本在实验室中进行分类鉴定。【结果】湖北省大悟县大悟山地区发现一长刺沼石蛾属新种,命名为大悟长刺沼石蛾(*Moropsyche dawuensis* sp. nov.),并记述了其翅脉和雄性外生殖器的形态。模式标本保存于南京农业大学昆虫标本馆和华中科技大学。

关键词 幻沼石蛾,长刺沼石蛾亚科,大悟长刺沼石蛾,新种,大别山

* 通讯作者

FuzzyID2: 针对较大数据集的 DNA 条形码物种鉴定工具

杨采青^{1#} 石志勇^{1#} 郝梦迪¹ 王晓阳^{2,3} R.D. Ward⁴ 张爱兵^{1*}

(1. 首都师范大学生命科学学院, 北京, 100048; 2. 中国科学院昆明动物研究所, 遗传资源与进化重点实验室, 昆明, 650223; 3. 中国科学院大学昆明生命科学院, 昆明, 650223; 4. 澳大利亚联邦科学与工业研究组织 CSIRO, 霍巴特)

利用 DNA 条形码进行物种鉴定已作为一种核心方法在生物多样性相关领域广泛应用。然而, 近年来快速积累的条形码数据给分析过程带来困难: 例如在较大参考数据库中进行全局询问时通常需要花费很长时间。对此, 我们设计了两步搜索策略, 第一步利用隐马模型算法将搜索范围缩小至属级分类阶元, 第二步计算最小 K2P (Kimura-two-parameter) 距离确定物种鉴定结果。此外, 根据 Zhang *et al.* (2012) 提出的模糊成员函数, 该方法还能够进一步对鉴定结果的可信度进行评估。本文中, 我们选用 10 个不同大小的经验数据集, 通过留一法模拟, 测试 FuzzyID2 的鉴定效果。结果显示, 该方法的平均精确度为 93.6% (最低 85.4%, 最高 100.0%); 千条条形码数据集每次询问时间约为 7 秒, 万条条形码数据集每次询问时间约为 15 秒。测试结果表明, FuzzyID2 能够为大数据集生物多样性相关研究提供更为高效和准确的物种鉴定结果。

关键词 DNA 条形码, 物种鉴定, 隐马尔可夫模型, K2P-1NN 算法, 模糊成员函数

* 通讯作者, E-mail: zhangab2008@gmail.com / zhangab2008@mail.cnu.edu.cn

共同第一作者

辽宁浑河源自然保护区寄蝇科昆虫资源调查^{*}

梁厚灿 李赫男 武鹏峰 张焱森 李 新 孙 琦 李 冰 张怡卓 张春田^{**}

(沈阳师范大学生命科学学院, 沈阳, 110034)

调查我国辽宁东北浑河源自然保护区(大苏河黄代沟、湾甸子地车沟)双翅目寄蝇科昆虫资源。网捕法采集寄蝇标本 2553 件,形态分类、生物多样性和动物地理研究法鉴定寄蝇 4 亚科 23 族 84 属 158 种,分别占中国已知 42 族、285 属 1256 种类的 23.54%,29.47%和 12.58%,其中乡蜗寄蝇 *Voria ruralis*,褐瓣麦寄蝇 *Medina fuscisquama*,三齿美根寄蝇 *Meigenia tridentata*,格纳狭颊寄蝇 *Carcelia gnava*,园尼里寄蝇 *Nilea hortulana*,昏暗虻寄蝇 *Phorocera obscura*,乌苏里膝芒寄蝇 *Gonia ussuriensis*,拱头芙寄蝇 *Phryno vetula*,松毛虫锥腹寄蝇 *Smidtia amoena*,阿格筒腹寄蝇 *Cylindromyia agnieszkae*,桓仁突颜寄蝇 *Phasia huanrenensis*,罗德突颜寄蝇 *P. rohdendorfi*,缺缘阳寄蝇 *Panzeria inusta*,钝突长须寄蝇 *Peleteria propinqua*,黄白寄蝇 *Tachina (s.str.) ursina* 种群数量(>40)明显多于其它种类,是本区森林生态系统的优势种;提示本区害虫以鳞翅目、半翅目幼虫为主;寄蝇及其它天敌昆虫明显起到了维持次生森林生态系统自我稳定与平衡的生物控制作用;并给出调查的每种寄蝇季节发生期。浑河源自然保护区寄蝇区系组成有 60 古北界种,85 古北、东洋两界共有种,合计 145 种,占本地区总种数 91.77%。发现 4 中国新纪录种:乌苏等鬃寄蝇 *Peribaea ussuriensis* (Mesnil, 1963),弯叶芙寄蝇 *Phryno tenuiforceps* (Tachi, 2013),花截尾寄蝇 *Nemorilla floralis* (Meigen, 1824),巨角锥腹寄蝇 *Smidtia magnicornis* Mesnil, 1967,给出其主要鉴别特征。增加辽宁新分布纪录 28 种。本研究标本均保存于沈阳师范大学昆虫标本馆。

关键词 辽宁清原,寄蝇科,鉴定名录,中国新纪录,优势种

^{*} 基金项目:国家自然科学基金项目(31272279,31093430,31493021,KJZD-EW-TZ-L07)

^{**} 通讯作者,Email, 13478194638@163.com

中国反颚茧蜂族 *Alysiini* (古北区为主) 的分类研究

姚俊丽

(福建农林大学植物保护学院益虫研究所, 福州, 350002)

反颚茧蜂族是膜翅目, 茧蜂科, 反颚茧蜂亚科其中一族, 反颚茧蜂亚科 *Alysiinae* 因其成虫上颚甚短, 通常多于 2 齿(3-7 齿), 端部明显分开, 上颚闭合时不重叠, 有时直接向两侧外翻等特征, 是膜翅目茧蜂科中较容易区别的一个亚科。反颚茧蜂族全世界目前已知 72 属 1531 余种, 占整个亚科已知种类数量的 63.1%, 且全世界广泛分布(Yu *et al.*, 2012)。陈家骅和伍志山(1994)对中国东洋区的大部分地区(包括少量的古北区)采集的标本进行了系统研究, 本论文对中国古北区的地理区系所采集的标本进行整理, 对大量采自古北区, 少量东洋区的标本进行了系统分类研究。同时作者于 2013.4 – 2015.3, 在美国德州农工大学及史密森尼自然历史博物馆对所有珍藏的反颚茧蜂族标本约 6500 号进行了详细的比对, 观察, 从而从中国采集的反颚茧蜂 3500 号(主要分布在古北区)中鉴定出 17 属 122 种, 其中包括 5 新记录属, 47 新种, 54 中国新记录种和 21 中国已知种。反颚茧蜂族在双翅目中至少寄生 20 科, 在自然控制这些重要害虫中起着非常重要的作用。其中有许多种是农业, 林业, 畜牧业及卫生上一些重要的双翅目蝇类害虫的天敌, 有待于我们研究发现其更好的利用价值, 并将其应用于害虫生物防治, 所以系统地反颚茧蜂族进行资源调查和分类鉴定研究有着极为重要的意义。

关键词 反颚茧蜂族, 古北区, 新种, 新纪录, 生物防治

基于成虫形态特征的世界象蜡蝉亚科系统发育研究 (半翅目:蜡蝉子亚目:象蜡蝉科)

宋志顺^{1,2} Charles R. BARTLETT³ Lois B. O'BRIEN⁴ 梁爱萍^{1,*}

(1. 中国科学院动物研究所 动物进化与系统学院重点实验室, 北京, 100101; 2. 中国科学院东南亚生物多样性研究中心, 勐仑, 云南 666303; 3. Department of Entomology and Wildlife Ecology, University of Delaware, Newark, U.S.A. 19716; 4. Department of Entomology, University of Arizona, Tucson, U.S.A. 85721)

【目的】为了探讨象蜡蝉亚科的系统发育关系和检验该亚科族级分类系统。【方法】首次在世界范围内选取象蜡蝉亚科 12 族 106 属 155 种并基于成虫的 166 个形态特征开展系统发育分析。【结果】简约性分析产生 196 棵同等长度的最简约树, 步长 1502, 一致性指数(CI)0.15, 保留指数(RI)0.72, 严格合意后 27 个节点坍塌。【结论】支持内群为一单系群, 但长象蜡蝉族可单独提升为一个亚科 Aluntiinae, 其他象蜡蝉组成狭义的象蜡蝉亚科 Dictyopharinae s.s.; 象蜡蝉亚科的系统发育关系基本解决, 大部分属的族级归属得到承认; 但澳象蜡蝉族 Hastini 未形成一单系, 其有效性有待进一步研究; Nersiini 和 Lappidini 组成一单系群, 但 Lappidini 的分类地位需要进一步明确。

关键词 象蜡蝉科, 形态, 支序系统学

* 通讯作者

中国粉虱科分类研究进展^{*}

王吉锐^{2**} 杜予州^{2***}

(1. 浙江农林大学农业与食品科学学院, 浙江 临安, 311300;

2. 扬州大学园艺与植物保护学院暨应用昆虫研究所, 江苏 扬州, 225009)

粉虱科 Aleyrodidae 隶属于半翅目 Hemiptera、胸喙亚目 Sternorrhyncha, 是一类体型微小的植食性刺吸式昆虫, 主要以若虫和成虫刺吸寄主植物汁液为害, 许多种类还是重要的农林害虫, Martin (1987) 曾列出全世界粉虱科的重要经济害虫有 46 种。截止 2015 年, 全世界共记录粉虱科 3 亚科、165 属、1605 种, 其中我国记录 2 亚科、49 属、248 种(作者统计), 种类占到全世界的 15.4%。

早期中国粉虱科大部分已知种类是由外国人首次描记的。Takahashi (1931–1955) 描记了我国台湾、香港及其它南方地区共 143 新种, Young (1942, 1944) 记述了我国四川 12 新种。由于地名发音不规则, 寄主和地理资料记述不全, 给后来的工作造成了困难(阎凤鸣, 1987)。胡经甫(1935)收录了粉虱亚科 Aleyrodinae 共 6 属 11 种, 周尧(1949)发表的中国粉虱名录中收录了 21 属 134 种, 汤祯德(1960)进一步整理了我国粉虱名录, 收录 26 属 172 种, 并且描述了穴粉虱 *Aleurolobus* 属二新种。阎凤鸣(1987)研究了中国粉虱亚科种类, 周尧和阎凤鸣(1988)描记了 3 新种和 7 中国新记录种。柯俊成(1992, 1993, 1995, 1998)多年以来一直对台湾地区粉虱进行了系统详细的研究, 成为了台湾地区粉虱分类研究之代表人物。Dubey & Ko (2007–2012) 对台湾地区粉虱进行了系统研究, 并描述了很多新种。Martin & Lau (2011) 整理了香港地区粉虱名录, 收录 2 亚科 31 属 81 种。

从 2010–2016 年作者已记述中国粉虱科 2 亚科、36 属、115 种, 其中 10 新种、2 新记录属、16 新记录种, 订正新异名 1 种; 同时绘制了全部新种、新记录种及部分已知种的分类特征图, 提供了部分种类的光学显微镜观察拍摄的玻片标本照片; 此外还利用扫描电子显微镜对大部分种类进行了超微结构观察, 提供了超微结构电镜照片(Wang et al., 2013; Wang et al., 2014a, b; Wang & Du, 2015; 王吉锐, 2015; Wang & Du, 2016a, b), 丰富了中国粉虱科种类及其寄主和地理分布资料。

关键词 粉虱科, 分类, 新分类单元, 修订, 中国

^{*} 资助项目 Supported projects: 中国博士后科学基金资助项目(2016M592017); 公益性行业(农业)科研专项(项目编号: 201303019)

^{**} 第一作者 First author, E-mail: jrwangjery@aliyun.com

^{***} 通讯作者 Corresponding author, E-mail: yzdu@yzu.edu.cn

基于 DNA 条形码技术对我国外来入侵福寿螺进行分子鉴定

杨倩倩 刘苏汶 俞晓平

(中国计量大学生命科学学院, 杭州, 310018)

福寿螺 *Pomacea* spp. 又名苹果螺、大瓶螺, 隶属于软体动物门, 腹足纲, 新进腹足目, 瓶螺科, 福寿螺属, 是世界恶性入侵水生动物。福寿螺原产于南美洲亚马孙流域, 具有繁殖力强、成熟周期短、适应性和耐受力强等特点, 已经入侵到东亚、东南亚、南亚和北美的许多国家和地区。在我国, 福寿螺最早于 1979 年引入台湾, 次年引入广东中山地区, 迄今已严重入侵扩散 30 余年, 成为南方水稻种植区的一大灾患。2003 年, 我国环保总局就福寿螺列入首批入侵的 16 种“危害最大的外来物种”之一。早期的国内外研究中, 常使用俗名特指 *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822) 这一种, 或未准确鉴定而误认为 *P. canaliculata*。传统形态鉴定的难题严重制约了福寿螺种类, 尤其是入侵性种类的分类地位和多样性研究。2007 年, Rawlings 等使用线粒体 12S-16S rDNA 及 COI 序列, 首次揭示了外来入侵福寿螺除 *P. canaliculata* 外, 还包括另外一个近缘种 *P. insularum* (d'Orbigny, 1839)。2012 年, Hayes 等通过螺壳形态学、解剖学、分子系统学等综合研究, 将 *P. insularum* 归并为 *P. maculata* (Perry, 1810) 的同物异名, 从而明确世界入侵性福寿螺包括 *P. canaliculata* 和 *P. maculata* 两种。DNA 条形码技术被认为是物种分子鉴定的有效方法之一, 为生物多样性的监测与评估等提供了新工具。本研究在广泛采集我国主要发生地的福寿螺样品基础上, 通过 DNA 条形码技术扩增线粒体 COI 基因, 结合 BOLD 数据库中已发表的相关序列, 基于相似度比对、DNA 条形码间隙、系统发育关系分析、序列特征分析等方法, 检测到我国福寿螺除包括 *P. canaliculata* 和 *P. maculata* 两种外, 还可能包括第三个种。不同种类的外来入侵有害生物的生理学、生态学、适应力和耐受力等不同, 在为害程度、扩散速度和入侵模式方面存在差异。本研究新发现的第三种外来入侵福寿螺有待遵循综合分类学的理念进行深入研究。我国福寿螺种类的准确鉴定, 将为其综合治理奠定重要的基础。

关键词 外来入侵种, 福寿螺, COI, *P. canaliculata*, *P. maculata*

几何形态测量学在夜蛾科昆虫分类上的研究

苏筱雨 李 阳 黄大庄

(河北农业大学林学院,河北保定,071000)

【目的】筛选快速、准确进行夜蛾科分类的翅脉标记点特征、翅脉标记点位置及标记点数量,探讨几何形态测量学在夜蛾科分类中的可行性和可靠性,为实现夜蛾科昆虫的数字化鉴定奠定基础。【方法】以 13 种夜蛾的右翅为研究对象,将夜蛾标本展翅后用镊子轻轻取下右前翅和右后翅,注意不要连带胸部肌肉,然后利用化学去鳞方法去除前后翅表面覆盖的鳞片,得到清晰的前后翅翅脉标本,利用扫描仪扫描清晰的前后翅翅脉图像,13 种夜蛾,每种 15 头选取右后翅、右前翅上翅脉的交点以及翅脉的端点共计 12 个地标点,用 tpsDig 软件提取这 12 个地标点的坐标数据,利用普世叠加方法消除大小、方向、摆放位置等非形状因素的影响,使用数理统计软件 SPSS19.0 对这些数据进行方差分析以及判别分析。【结果】方差分析的结果显示利用几何形态测量学的方法所获取的 13 种夜蛾科昆虫右后翅的地标点数据各个地标点的坐标之间差异是显著的,所有的地标点的坐标数据都是可以在夜蛾科昆虫分类过程中使用。判别分析结果显示单独使用夜蛾右后翅数据进行分类的总体正确率为 91.3%;单独使用夜蛾右前翅数据进行分类的总体正确率为 88.7%;夜蛾右后翅和右前翅的数据综合起来分类的总体正确率为 97.9%。【结论】判别分析的结果与传统的昆虫分类学基本相符,夜蛾右后翅和右前翅的综合数据分类正确率较高,说明以夜蛾科昆虫右翅为分类样本时,几何形态测量学的方法是可以对夜蛾科昆虫进行正确分类的。

关键词 几何形态测量学,夜蛾,分类,右后翅,右前翅

东北生物标本馆馆藏昆虫模式标本

边冬菊*

(中国科学院沈阳应用生态研究所, 沈阳, 110016)

中国科学院沈阳应用生态研究所标本馆始建于 1954 年, 是目前东北地区标本保藏量最大、门类齐全的综合性生物标本馆。馆藏的昆虫模式标本以水生鞘翅目为主, 自 1993 年, 标本馆与奥地利维也纳自然历史博物馆开展了水生鞘翅目调查以来, 水生鞘翅目的标本已经达 2 万余号, 其中包含模式标本 12 科, 32 属, 165 种, 其中牙甲科 7 属 46 种、平唇水龟虫科 3 属 43 种、龙虱科 5 属 41 种、溪泥甲科 6 属 10 种、扁泥甲科 4 属 8 种、泽甲科 1 属 7 种、豉甲科 1 属 4 种、角胸牙甲科 1 属 2 种、泥甲科 1 属 1 种、小粒龙虱科 1 属 1 种、隐翅虫科 1 属 1 种、条脊牙甲科 1 属 1 种。同时, 标本馆还保存天牛科模式标本 4 属 5 种、蚤蝽科模式标本 2 属 2 种。水生甲虫标本保藏量及模式标本数量在全国处于领先地位。这些珍贵的模式标本为水生甲虫的正确分类鉴定提供了有力保障。

关键词 梧桐山, 鳞翅目, 物种多样性, 新种, 新纪录种

*Email: Biandongju@163.com

深圳市梧桐山风景区蛾类调查

余甜甜¹ 贾彩娟² 王 敏^{1*}

(1. 农业大学昆虫学系鳞翅学实验室, 广州, 510642; 2. 市梧桐山风景区管理处, 深圳, 518004)

梧桐山风景区位于深圳市中南部, 地理位置独特, 是国内少有的滨海山地风景区, 与香港新界山脉相连, 景区内自然资源丰富, 具备良好的科学考察条件。本研究自 2015 年 4 月至 2016 年 3 月间沿海拔梯度对梧桐山风景区内的蛾类昆虫进行了连续灯诱调查, 了解了梧桐山蛾类物种资源情况及各类群的发生规律。本调查采集的蛾类标本隶属于 43 科 1005 种, 其中发现 1 中国新纪录科杜蠹蛾科 Dudgeoneidae (莱杜蠹蛾 *Dudgeonea leucosticta* Hampson)、1 新种 (梧桐冠尺蛾 *Lophophelma wutongshana* sp.nov.)、2 中国新纪录种 (福沙尺蛾 *Sacinodes fortis* Yazaki 和迪拟木蠹蛾 (*Squamura disciplaga* Swinhoe)。

关键词 梧桐山, 鳞翅目, 物种多样性, 新种, 新纪录种

* 通讯作者

海南岛常见粉蚧种类调查及分子鉴定^{*}

牛黎明 陈俊谕 韩冬银 李 磊 张方平 符悦冠^{**}

(中国热带农业科学院环境与植物保护研究所,海口,571101)

【目的】调查明确海南岛主要热带农林作物及南繁作物上的粉蚧种类。【方法】采集获得海南岛主要热带农林作物(香蕉,木薯,番木瓜,番石榴,番荔枝,咖啡,黄皮,腰果,菠萝,红毛丹,甘蔗,菠萝蜜,槟榔,剑麻,鸡蛋花,花梨木及小叶榕,印度紫檀,扶桑,琴叶珊瑚,变叶木,一品红等)及南繁大豆上的粉蚧样品,通过 DNA 条形码技术对采集到的粉蚧种类进行分子鉴定。利用蚧虫类 DNA 条形码专用引物扩增并测定粉蚧线粒体 CO I 基因片段,通过与 NCBI 及 DNA 条形码数据库 BOLD 上的序列进行比对,确定采集获得的粉蚧种类。【结果】调查发现,海南岛主要热带农林作物上的常见粉蚧有 9 种,分别为:双条拂粉蚧 *Ferrisia virgata*,扶桑绵粉蚧 *Phenacoccus solenopsis*,大洋臀纹粉蚧 *Planococcus minor*,木槿曼粉蚧 *Maconellicoccus hirsutus*,菠萝洁粉蚧 *Dysmicoccus brevipes*,新菠萝灰粉蚧 *Dysmicoccus neobrevipes*,木瓜粉蚧 *Paracoccus marginatus*,甘蔗粉蚧 *Saccharicoccus sacchari* 和杰克贝尔氏粉蚧 *Pseudococcus jackbeardsleyi*。南繁大豆上的粉蚧种类有:双条拂粉蚧 *Ferrisia virgata*,木瓜粉蚧 *Paracoccus marginatus* 和杰克贝尔氏粉蚧 *Pseudococcus jackbeardsleyi*。测得的粉蚧 CO I 基因片段长度除双条拂粉蚧 *F. virgata* 和杰克贝尔氏粉蚧 *P. jackbeardsleyi* 为 647 bp 外,其余均为 649 bp,与 NCBI 及 BOLD 上对应种类 CO I 序列的相似度均在 98%以上。种内遗传距离为 0–0.019,平均为 0.00069;种间遗传距离为 0.087–0.177,平均为 0.117。从系统树上看,菠萝洁粉蚧和新菠萝灰粉蚧、大洋臀纹粉蚧和甘蔗粉蚧、木瓜粉蚧和木槿曼粉蚧亲缘关系较近,分别聚成一支。【结论】通过调查和分子鉴定,明确了海南岛主要热带农林作物及南繁大豆上的常见粉蚧种类。

^{*} 资助项目 Supported projects:公益性行业(农业)科研专项经费项目(201103026,201403075)

^{**} 通讯作者 Corresponding author, E-mail: fygcata@163.com

我国部分地区蚊虫种类的形态与 COI 分子鉴定分析^{*}

郭玉燕 郑学礼^{**}

(南方医科大学公共卫生学院病原生物学系,510515)

【目的】用形态学与线粒体 DNA 细胞色素氧化酶亚基 I (mitochondrion DNA cytochrome c oxidase subunit I, mtDNA-CO I) 分子鉴定方法分析我国部分地区蚊虫种类, 为设计并开发蚊虫形态与分子鉴定系统提供科学依据。【方法】参考国内陆宝麟的《中国动物志 昆虫纲 第 8、9 卷 蚊科》和《中国重要医学昆虫分类与鉴定》, 并结合生命条形码数据系统 (Barcode Of Life Database, BOLD) 与沃尔特·里德生物系统单元 (Walter Reed Biosystematics Unit, WRBU) 对蚊虫进行形态鉴定。单只蚊虫提取基因组 DNA, 参考国际双翅目通用引物扩增蚊虫 CO I 5' 端基因, 连接 pMD18-T 载体并转化 DH5 α 感受态细胞克隆 CO I 基因, 抽提阳性克隆质粒并进行单、双酶切鉴定后送公司测序。用 MEGA5.05、DNAMAN8.0、Clustal1.83 等软件包对序列进行修正、比对和特征分析, 蚊虫聚类关系采用 K2P 和 p 距离法, 系统发育树构建采用最大简约法、最大似然法和邻接法。【结果】共获我国 12 省 28 地区的蚊虫, 形态学鉴定获 9 属(亚属)23 种(亚种), 蚊虫的 COI 片段为 651bp, 保守位点 413 个, 变异位点 238 个, 简约信息位点 196 个, A+T 含量为 68.8%, 全组数据中颠换值高于转换值, 碱基替换表现明显差异。COI 基因编码 217 个氨基酸残基, 包含 18 种氨基酸, 其中使用频率最高的为亮氨酸(Leucine, Leu)。不同蚊种间的 COI 片段碱基变异颠换数高于转换数, 核苷酸序列同源性的 93.38%–99.95%, 其编码的氨基酸序列同源性为 97.97%–100%。COI 核苷酸序列及其编码的氨基酸序列的系统进化关系均显示: 蚊虫的分子鉴定结果与其形态鉴定结果吻合; 尽管来自不同地区, 同种蚊虫均聚为一簇。【结论】形态学与 COI 分子标记鉴定方法的结合, 能准确有效地鉴定我国部分地区蚊虫的种属, 为进一步设计开发蚊虫鉴定数据库奠定基础。

关键词 蚊虫, COI, 形态学, 分子鉴定

^{*} 基金项目: 本文受广东省科技计划项目资助(NO: 2013B021800042)

^{**} 通信作者: 郑学礼, E-mail. zhengxueli2001@126.com

高阶元昆虫图像识别

席天宇 王江宁 纪力强

(中国科学院动物研究所,北京,100101)

昆虫识别在社会经济、生产生活和科学研究中有重要作用,传统的昆虫识别方法需要耗费大量的时间及人力物力,且实用性较低。因此,设计一个可以简易、快速分类的计算机识别系统,是解决这个问题较为行之有效的方法。现今基于计算机图像的昆虫识别系统发展较快,如 ABIS、DrawWing、DAIS、BugVisux、SPIR 等,这些工具在种级水平已经可以较好的鉴定水准。但是现有系统不适用于海量昆虫标本的快速鉴定,而高阶元水平的物种图像鉴定可以弥补这方面的需求,而且对科研、生产等有重要意义。目前为止,我们设计完成了一种可以在目级阶元上鉴定昆虫的图像识别系统。这个系统的设计是基于模式识别理论中的典型处理方法进行物种自动鉴别,包含图像预处理,特征提取以及模式分类,这些过程都已模块化,并且可以存储在数据库中。我们使用形状特征,利用人工神经网络,对 7 目 8 个类群 221 种昆虫的 225 幅图的测试集的检验测试中,系统表现出良好的准确性和稳定性,识别率达 80%左右,最高正确识别率可以达到 95%。这个模型我们也将其设计成网络版供学习和研(<http://bes.biodinfo.org/Pages/ByImage/imgCommonOrder1.aspx>)。在科阶元识别研究中,以蝴蝶图像为例,我们利用基于内容的图像检索(CBIR)技术,构建了“蝴蝶科级标本图像在线鉴定系统(<http://bes.biodinfo.org/Pages/ByImage/imgButterfly1.aspx>)”。该系统主要根据蝴蝶图片的形状,颜色以及纹理特征对蝴蝶图像进行检索。测试结果反映,图像资源较为丰富的凤蝶科识别率达到 84%,在 12 科 60 个随机样本图片中识别率达到 82%。测试所得到的数据结果可以直观反映出一些问题,如图片的质量,物种多样性程度等。在实验过程中,对于鉴定结果影响最大的是图片特征和匹配算法。对于科级的识别鉴定来讲,图片的形状特征比其颜色和纹理特征更重要。这套系统随着模板图像库的不断丰富,对蝴蝶识别能力也会逐渐提高,目前本系统已经收录 4000 多幅蝴蝶图像作为模板图像库,对中国分布的科可以进行较准确的识别。

关键词 检疫性实蝇,适生区预测,生态位

节腹泥蜂属物种多样性及生物学特性研究进展^{*}

李晓莉¹ 马 丽²

(1 山东省寿光市潍坊科技学院, 寿光, 262700; 2 云南农业大学植物保护学院, 昆明, 650201)

【目的】对节腹泥蜂属 *Cerceris* Latreille (1802) (膜翅目 Hymenoptera 方头泥蜂科 Crabronidae) 的种类及生物学特性进行了总结。【材料和方法】在分类文献系统收集的基础上, 对节腹泥蜂属的种类进行系统的总结; 并对该属在世界范围内广泛分布的种类的生物学特性进行了总结和分析。【结果】目前, 世界已知该属 870 种, 其中, 古北区分布 281 种, 新北界分布 48 种, 东洋区分布 110 种, 非洲界分布 167 种, 新热带界 141 种, 大洋洲界分布 59 种, 跨 2 区分布 65 种。其中, 中国已知 85 种。节腹泥蜂为独居捕猎蜂, 雌蜂单独筑巢、捕猎、饲育后代, 该属的雌性大都喜欢在空旷的含沙粘土或含沙砾粘土的平地上筑巢, 巢穴大都靠近泥土路、小路或砖墙、房屋墙壁等区域。巢穴一般呈垂直管道状, 同时雌蜂会建造与地面平行的孵化室。该属种类会在旧的巢穴入口重新挖掘新的巢室, 当受到外界干扰时, 雌蜂有弃巢行为。另据报道该属的少数种类已初具社会行为的现象, 如后代可帮助母代保卫巢穴, 并有共巢的报道。【结论】从分布范围上看, 节腹泥蜂属在世界六大动物地理区均有分布, 许多种类为跨区分布, 表明该属种类对环境适应能力较强。若进行结构与功能统一等方面的研究, 该属应为较理想的研究对象, 但由于我国对节腹泥蜂族的分类研究起步较晚, 且标本采集不够广泛和深入以及节腹泥蜂很多种类鉴定较困难等因素, 我国节腹泥蜂还有很大一部分种类有待发掘。另外, 节腹泥蜂的生物学特性多样, 在长期的进化过程中, 节腹泥蜂形成了自己独特的捕猎行为和生态环境的适应性, 每一个属都有其相对固定的生物学模式。在泥蜂系统发育的研究中, 种的生物学特性以及属的生物学模式均是很有价值的信息和证据, 对属种生物学的分析研究在归合族和亚科的研究中也具有重要的意义。

关键词 膜翅目, 方头泥蜂科, 节腹泥蜂属, 物种多样性, 生物学特性

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金项目(31402009)资助

贵州省绥阳县部分地区吸血蠓类的调查研究^{*}

常琼琼^{**} 段 琛 韩晓静 侯晓晖^{***}

(遵义医学院, 贵州 遵义, 563099)

【目的】初步调查贵州省绥阳县部分地区吸血蠓的种类和不同牲畜厩舍吸血蠓优势种及其吸血率的比较。【方法】采用灯诱法(光触媒紫外诱虫灯)在牲畜厩舍采集吸血蠓,将标本保存至无水乙醇中备用。按照常规方法将标本进行分选、制片、鉴定等工作。【结果】本次共收集吸血蠓类 31475 只,经初步鉴定为 2 属、17 种,其中库蠓属 *Culicoides* 17 种(即刺螯库蠓 *C. punctatus*、日本库蠓 *C. nipponensis*、灰黑库蠓 *C. pulicaris*、麦氏库蠓 *C. mcdonaldi*、东方库蠓 *C. orientalis*、洋岛库蠓 *C. kinabaluensis*、西藏库蠓 *C. tibetensis*、齿纹库蠓 *C. dentiformis*、肩宏库蠓 *C. humeralis*、犍为库蠓 *C. qianweiensis*、细须库蠓 *C. tenuipalpis*、秀茎库蠓 *C. festivipennis*、蓬帐库蠓 *C. tentorius*、荒川库蠓 *C. arakawai*、华莹库蠓 *C. huayinensis*、原野库蠓 *C. homotomus*、吉姆库蠓 *C. gymnopterus*)、蠓蠓属 *Lasiohelea* 3 种(即庐山蠓蠓 *L. lushana*、隐秘蠓蠓 *L. Abdita*、小溪蠓蠓 *L. ripa*) , 总吸血率为 36.04%。牛舍及猪舍优势种群为东方库蠓 *C. orientalis* 和刺螯库蠓 *C. punctatus* ,吸血率分别为 63.67%和 76.80%;羊舍及混合牲畜舍的优势种群为东方库蠓 *C. orientalis* ,吸血率分别为 38.12%和 79.84%;鸡舍的优势种群为荒川库蠓 *C. arakawai* ,吸血率为 20.94%。【结论】研究结果不仅为贵州省吸血蠓类的物种多样性研究提供基础数据,同时也为媒介蠓种的防治提供科学依据。

关键词 蠓科,库蠓属,蠓蠓属,优势种,吸血率

^{*} 资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金(81360257)

^{**} 第一作者 First author, E-mail: 1210995898@qq.com

^{***} 通讯作者 Corresponding author, E-mail: hxx19801122@163.com

中国喜马象属团重要结构的比较形态学

宋真真^{1,2} 任立² 周成刚¹ 张润志^{2*}

(1 山东农业大学植物保护学院, 山东 泰安, 271000; 2 中国科学院动物研究所, 北京, 100101)

【目的】通过对选自喜马象属团的 20 个种进行传统描述和几何形态学分析来探讨前胸背板、后胸叉骨以及雌雄外生殖器在喜马象属团属间和种间的差异和变化趋势, 以及雌雄间差异。【方法】1、通过蔡司立体显微镜对标本进行观察描述。2、经 tps 系列软件对标本进行标点将形态特征数量化; 用 MorphoJ 1.06c 软件进行主成分分析和 CVA 分析; 最后用 NTsys 2.10e 软件创建表型树。【结果】结果表明: 1、前胸背板: 除高原西藏象两侧的鳞片呈覆瓦式排列且彼此重叠外, 其余种的鳞片呈平铺式排列且彼此分离; 前胸背板长宽比为 0.65–0.98。2、后胸叉骨: 前肌腱位置位于叉臂端部近 1/3–1/2 处; 中纵脊前后比值除铜色喜马象、小瘤喜马象和贵南短喜象外均小于 1; 主干与叉臂比值在 0.25–0.33 之间; 中纵脊与叉臂所成角度在 40°–75°之间。3、雄性外生殖器: 玉龙山喜马象阳茎侧面观弯曲度最小, 贵南短喜象最大; 端叶顶端有凸圆和平截两种; 端叶端部有平直、向下弯折和向上弯折三种。4、雌性外生殖器: 储精囊形态的种间差异较大, colum 与 ramus 的角度呈 30°–60°或 $\geq 90^\circ$ 。5、种间前胸背板和后胸叉骨得到的马氏距离的 p 值均小于 0.05; 属间前胸背板和后胸叉骨得到的马氏距离 p 值小于或大于 0.05; 雌雄差异显著性研究中马氏距离的 p 值: 前胸背板除尖角喜马象、玉龙山喜马象和骨板象的 p 值小于 0.05 外, 其余种 p 值均大于 0.05, 而后胸叉骨的 p 值在所有种中均大于 0.05。【结论】研究表明这 20 个种的前胸背板形态的变化趋势是从短粗到瘦长, 不同种的后胸叉骨宽扁程度差异较大; 前胸背板和后胸叉骨形态在种间差异显著, 在大部分属间差异不显著; 前胸背板形态只在部分种雌雄间差异显著, 而后胸叉骨形态在这 20 个种雌雄间差异均不显著; 阳茎和储精囊在这 20 个种种间形态存在明显差异。

关键词 喜马象属团, 传统描述, 几何形态学, 变化趋势, 雌雄差异

* 通讯作者

非传粉榕小蜂 *Sycophaga* sp. 寄主选择机制研究 *杨 培^{1**} 彭艳琼^{1***} 杨大荣¹

(1. 中国科学院西双版纳热带植物园, 热带森林生态学重点实验室, 勐腊 勐仑, 666303)

【目的】榕树除养育与之形成互惠共生的传粉榕小蜂外, 还供养种类丰富的非传粉榕小蜂。它们与寄主间存在专性关系, 产卵于不同发育期的榕果, 且仅在雌雄异株榕树的雄树上寄生。但木瓜榕的非传粉榕小蜂 *Sycophaga* sp. 同时寄生于雄、雌树。本研究以此为材料, 揭示非传粉榕小蜂寄生雌雄异株榕树化学生态学机制, 探讨榕蜂共生系统稳定共存的机理。【方法】野外观测记录 *Sycophaga* sp. 在不同性别寄主上的产卵时间; 通过 Y 型嗅觉仪确定该小蜂对不同时期榕果的行为反应; 利用顶空动态方法收集小蜂产卵期榕果挥发物; 通过 GC-MS 分析化学挥发物成分; 最终借助 GC-EAD 电生理技术揭示引起榕小蜂行为反应的有效化合物。【结果】*Sycophaga* sp. 在雌花前期雄、雌树上寄生的榕果数量少, 寄生率分别为 7.27% 和 1.51%。产卵时间为 B-8 至 B-2 天, 高峰期为 B-6 至 B-4 天。在雄果上能正常产生后代, 成活率为 100%, 而在雌果内的成活率为 80.95%, 且后代数量明显低于雄树上的后代数量 ($p < 0.001$)。 *Sycophaga* sp. 其对雌花前期雄果有明显的偏好性, 而对雌花前期的雄、雌果无明显选择偏好性, 虽对雌花前期雌果及空气的选择无明显差异, 但选择前者较多。雌花前期雄果主要化合物为 α -Pinene、Sabinene、cis- β -Ocimene、2,6-Dimethyl-1,3,5,7-octatetraene 和 α -Caryophyllene 五种, 雌果为 Sabinene 和 cis- β -Ocimene。 *Sycophaga* sp. 电生理测试显示其对 α -Pinene、Sabinene、cis- β -Ocimene、Eucalyptol 和 Cubebene5 种化合物有明显反映。【结论】明确 *Sycophaga* sp. 在不同性别寄主上的精确产卵时间及高峰。该小蜂可同时被雌花前期雄果和雌果吸引, 但在雄果上能更好的繁殖后代。寄主雌花前期的挥发物构成较为一致, 存在性别模拟, 主要化合物成分相似。 α -Pinene、Sabinene、cis- β -Ocimene、Eucalyptol 和 Cubebene5 种化合物是 *Sycophaga* sp. 识别寄主的有效物质, 且为 5 种相互作用形成独特吸引该小蜂的化学通讯信号。

关键词 榕树, 非传粉榕小蜂, 雌雄异株, 寄主选择, 化学生态

* 项目资助 Supported projects: 国家自然科学基金项目 (31611130108), 云南省应用基础研究项目 (2014FB183)

** 第一作者 First author, E-mail: yangpei@xtbg.org.cn

*** 通讯作者 Corresponding author, E-mail: pengyq@xtbg.ac.cn

小叶榕传粉榕小蜂和欺骗性小蜂的繁殖差异^{*}

张 亭^{1,2**} 孔 月¹ 白 鸽¹ 彭艳琼^{1***}

(1. 中国科学院西双版纳热带植物园热带森林生态学重点实验室, 昆明, 650223;

2. 中国科学院大学, 北京, 100049)

【目的】榕树及其传粉榕小蜂互惠共生, 罕见发生传粉欺骗性演化, 然而在分布于云南的小叶榕(*Ficus microcarpa*)果内发现了传粉榕小蜂(*Eupristina verticillata*)与欺骗性小蜂(*Eupristina* sp.)共存的现象, 本研究将揭示小叶榕传粉者和欺骗者繁殖的差异及共存发生规律。【方法】首先通过电镜扫描、展示两种小蜂传粉结构; 其次控制试验单果定量引入传粉者和欺骗者, 比较种间、种内繁殖差异; 再抽样雌花期和雄花期小叶榕自然果, 调查两种小蜂在果及树水平上的发生、共存模式。【结果】传粉榕小蜂有发达的传粉结构, 而欺骗者前足基节上花粉刷消失, 胸部花粉筐退化, 主动传粉行为丧失。雌花期单果引入两种小蜂后, 种内和种间传粉、产卵繁殖后代均存在竞争, 繁殖差异大; 传粉榕小蜂传粉繁殖大量种子, 单只蜂传粉比两只蜂传粉繁殖的种子数量多; 而欺骗者偶然体壁带粉, 仅产生几粒种子, 属于无效传粉者; 当传粉者与欺骗者共存一果时, 传粉效率最低, 繁殖的种子最少。小叶榕传粉者和欺骗者的雌蜂个体相似, 孕卵量相当, 然而, 欺骗者产卵更为成功, 且造瘿率、发育率高, 最终成功繁殖的后代数量欺骗者比传粉者显著多。两种小蜂共存在小叶榕果内, 雌花期单果一般进一只传粉者或欺骗者, 两种共进一个果的比率较低; 雄花期果内一个果内仅繁殖传粉者或欺骗者的比率高, 而两种小蜂共存一果的比率同样较低。【结论】小叶榕上未描述的 *Eupristina* sp. 被证明是全球已知第三例演化出欺骗性的传粉榕小蜂, 但是在繁殖后代效率上, 欺骗性演化没有付出代价。欺骗者与传粉者分散在不同果, 甚至不同的树上繁殖, 欺骗者减少了与传粉者的直接竞争, 是其稳定共存在榕-蜂互惠系统中的机制之一。

关键词 榕树, 传粉榕小蜂, 互惠, 协同进化, 欺骗性, 繁殖成功

^{*} 项目资助 Supported projects: 国家自然科学基金项目 (31372253, 31600302, 31672373), 中国科学院 STS 计划 (KFJ-EW-ST-126)

^{**} 第一作者 First author, E-mail: zhangting@xtbg.ac.cn

^{***} 通讯作者 Corresponding author, E-mail: pengyq@xtbg.ac.cn

不同生态区“路杀”传粉昆虫研究

王 星¹ 张彦文^{1,2}

(1.辽东学院,丹东, 118003;2.长春师范大学,长春, 130032)

【目的】公路网的延伸,连接、分割了不同生态区,尤其是高速公路上的车辆对昆虫的撞击,造成大量的动物“路杀”现象,昆虫是路杀动物中数量最大、种类最多的类群。其中包括对维护生态平衡有重要价值的传粉昆虫。目前我国不同生态区路杀昆虫的种类、数量尚缺少相关报道。【方法】选择农田区、丘陵区、平原区、山区4种不同的生态区,并在春、夏、秋三个季节,通过在汽车上安装强力胶板粘取路杀昆虫,鉴定粘取的昆虫数量与种类,统计分析路杀传粉昆虫的影响因素。【结果】强力胶板可以完全粘住各类路杀昆虫,并保持昆虫的形态完整,是研究路杀昆虫的可靠手段。多种因素影响路杀传粉昆虫的种类与数量:不同生态区自然环境影响路杀传粉昆虫的组成;季节对路杀传粉昆虫种类影响明显,尤其是养蜂人的放蜂路线、放蜂地点对路杀的蜜蜂影响显著;车辆速度对路杀传粉昆虫影响显著;高速公路景观带的蜜源植物种类影响路杀传粉昆虫种类与数量;昆虫生活节律对路杀昆虫种类、数量影响显著。建议针对影响因素,积极采取应对措施,保护传粉昆虫,降低其路杀风险。

关键词 生态区,路杀,传粉昆虫

不同枣区昆虫群落组成及其相似性分析^{*}

张华普^{1**} 李占文²

(1. 宁夏农林科学院植物保护研究所,宁夏银川,750002;

2. 宁夏灵武市农林科技开发中心,宁夏灵武,750400)

红枣作为宁夏优势果品的后起产业,目前发展基本形成了以灵武为核心的灌区鲜食品种区,以中宁红寺堡等地为主的扬黄灌区干鲜兼用品种区,以中宁、中卫、海原为主的中部干旱带压砂地和同心旱地制干区的区域化生产格局,对促进宁夏经济协调发展,改善宁夏生态条件做出了值得肯定的贡献。【目的】为全面摸清宁夏枣林昆虫发生的种类、数量和危害情况,深化对不同枣区生态系统的认识,依据以上种植现状,2013年~2015年系统研究了灵武、中宁、同心和中卫4个红枣种植区昆虫发生种类,并分析了其间的相似性。【方法】调查于4月~10月1次/10天,采用普查采集(徒手采集、搜捕,网捕、振落等方法)和定点采集(糖醋液、性诱剂、灯诱等方法)相结合的方法。【结果】经3年研究,在宁夏枣林共发现昆虫156种,分别隶属10目60科。其中,灵武红枣种植区发现昆虫52种,分别隶属8目31科;中宁红枣种植区发现昆虫74种,分别隶属9目35科;同心红枣种植区发现昆虫94种,分别隶属9目48科;中卫红枣种植区共发现昆虫79种,分别隶属10目40科。不同枣区昆虫群落的种组成相似性的排序为中宁、同心(0.5952)>同心、中卫(0.5780)>中宁、中卫(0.5621)>灵武、中宁(0.5397)>灵武、中卫(0.5038)>灵武、同心(0.4658);不同枣区昆虫群落的群落组成相似性的排序为中宁、中卫(0.5288)>灵武、中宁(0.4494)>同心、中卫(0.3680)>中宁、同心(0.3659)>灵武、中卫(0.3527)>灵武、同心(0.2974);不同枣区昆虫群落特征相似性为灵武、中宁与中卫间昆虫群落较相似,同心枣区昆虫群落显著差异于前3地。【结论】宁夏枣林昆虫物种丰富,4地科数、物种数和丰盛度从多到少依次排序为:同心>中卫>中宁>灵武;灵武枣区昆虫群落结构与中宁较相似;中宁与中卫相似性较高;同心与中卫较相似。此结果与当地气候、植被及枣树种植管理方式(管理精细度为灵武>中宁>中卫>同心)密切相关。

关键词 宁夏,枣树,昆虫群落,相似性

^{*} 基金项目:宁夏自然科学基金(NZ13124,NZ15113);宁夏农林科学院科技创新先导资金(NKYJ-16-09)。

^{**} 作者简介:张华普(1981~),男,河北邢台人,硕士,助理研究员,主要从事昆虫生态与害虫综合治理研究,E-mail:hpzhang305@163.com

柑橘大实蝇蛹低温冷藏适期初探^{*}

李再园^{**} 许弘毅 马跃坤 黄 聪 王福莲^{***}

(长江大学农学院,湖北荆州,434025)

柑橘大实蝇 *Bactrocera minax* (Enderlein) 为我国柑橘类的重要害虫,其人工饲养技术尚未突破,虫源主要从野外收集并于室内保蛹。为探究柑橘大实蝇蛹低温冷藏适期,以期建立柑橘大实蝇实验室种群,作者根据柑橘大实蝇蛹的发育起点温度(10.57℃),将柑橘大实蝇 0 级蛹在 10℃ 下短期冷藏(29d、35d、40d 和 45d)后,研究其 1 级蛹、2 级蛹、3 级蛹和 4 级蛹转入 25℃ 下的发育进度,及其成虫的羽化进度和羽化率。结果表明:短期冷藏后,蛹级发育进度可以推迟,延迟时长与冷藏时间呈正相关。其中 1 级蛹高峰可延迟 9d、15d、21d、24d;2 级蛹高峰可延迟 6d、15d、18d 和 21d;3 级蛹高峰可延迟 12d、24d、24d 和 33d;4 级蛹高峰可延迟 9d、15d、18d 和 39d。1 级蛹、2 级蛹、3 级蛹和 4 级蛹的蛹级高峰延迟天数与冷藏时间的线性关系分别为 $y=0.5195x-1.6813$ ($R^2=0.9104$)、 $y=0.4605x-1.7231$ ($R^2=0.8668$)、 $y=0.6888x-1.9274$ ($R^2=0.9058$)、 $y=0.6773x-3.9843$ ($R^2=0.6841$)。短期冷藏后,成虫羽化高峰明显推迟,且羽化率显著下降。羽化高峰分别延迟 6d、11d、16d、20d,与冷藏时间呈线性正相关,线性方程为: $y=0.4135x-2.1222$ ($R^2=0.7616$)。冷藏 0d、29d、35d、40d 和 45d 后,总羽化率分别为 74%、71.2%、64.4%、53.6%、57.2%。雌成虫羽化率分别为 64%、60.4%、58%、53.2%、55.2%;雄虫羽化率分别为 60%、60.8%、56.4%、50.4%、52%。其中冷藏至 40d 和 45d 后雌、雄虫羽化率分别开始显著下降,但最低羽化率均超过 53%。因此,在 10℃ 低温下保存柑橘大实蝇蛹时,不宜超过 40d,以免推迟蛹发育进度及降低成虫羽化率,导致种群数量减少。本研究结果为柑橘大实蝇室内种群保存、饲养及成虫发生量预测提供决策依据。

关键词 柑橘大实蝇,短期低温,冷藏适期,发育进度

^{*} 基金项目:国家自然科学基金(31572010)和长江大学大学生创新计划项目(2014031)资助。

^{**} 第一作者简介:李再园,男,1993 年出生,陕西渭南人,在读硕士,主要从事害虫综合治理研究。通信地址:434025 湖北荆州长江大学农学院,E-mail:zaiyuanli01@163.com。

^{***} 通讯作者:王福莲,女,1972 出生,吉林东丰人,副教授,硕士生导师,硕士,主要从事害虫综合治理研究。通信地址:434025 湖北荆州长江大学农学院,E-mail:wangfl_hb@163.com。

温度对杜仲梦尼夜蛾生长发育及取食量和排粪量的影响^{*}

王俊雅^{1**} 李孟楼¹ 王云果¹ 贺虹^{***} 王宏涛²

(1. 西北农林科技大学林学院,陕西杨陵,712100;

2. 陕西汉中永扬医药有限责任公司,陕西略阳,724300)

【目的】杜仲梦尼夜蛾(*Orthosia songi* Chen et Zhang)隶属于鳞翅目夜蛾科,是目前危害杜仲的最主要食叶害虫,该害虫食性专一,食叶量大,蔓延扩散快,危害期长,杜仲的整个生命周期皆受其危害。为了开展杜仲梦尼夜蛾室内饲养技术研究,明确室内饲养理想的温度条件,特进行了温度对杜仲梦尼夜蛾生长发育、取食量和排粪量的影响研究。【方法】采用室内人工恒温饲养方法,设置 18℃、22℃、26℃、28℃ 和 30℃ 5 个温度,研究不同饲养温度对杜仲梦尼夜蛾各虫态发育历期、头宽、体长、体重及取食量和排粪量的影响。【结果】(1)在 18 - 30℃ 范围内,杜仲梦尼夜蛾各虫态的发育历期随温度的升高而缩短,其世代发育历期在 30℃ 时最短,幼虫历期在 18℃ 下 37.80 天,而在 30℃ 下仅需 17 天;(2)该虫完成 1 个世代的发育起点温度和有效积温分别为 10.72℃ 和 670.37 日·度;(3)随温度的变化,同龄幼虫的头宽、体长及体重的差异性不大,但随龄期的变化,这些参数的差异均达到显著水平,且其幼虫头宽的变化符合戴尔法则;(4)温度和龄期对幼虫的取排量均存在显著影响,随着龄期的增加,幼虫取排量所占百分比大幅增加,5 龄和 6 龄排粪量的总和近乎整个幼虫期总取排量的 90% 以上,其中仅 6 龄幼虫取排量所占的比例高达 70% 以上。【结论】研究明确了不同温度条件下杜仲梦尼夜蛾的生长发育,以及取食量和排粪量的情况,研究结果对于杜仲梦尼夜蛾的室内饲养、预测预报、综合治理以及资源利用等具有重要的参考价值。

关键词 杜仲梦尼夜蛾,害虫,温度,发育历期,有效积温,取食量,排粪量

^{*} 基金项目:汉中永杨医药科技发展有限公司专项经费,陕西省协同创新计划项目(2015)

^{**} 作者简介:王俊雅,女,在读硕士,研究方向:森林昆虫学。E-mail:1063353621@qq.com

^{***} 通讯作者:贺虹,女,教授,博士生导师,研究方向:森林昆虫学。E-mail: hehong@nwsuaf.edu.cn

桔小实蝇成虫复眼结构及对不同波长光的趋向反应^{*}

刘 欢^{**} 高 舟 陆永跃^{***}

(华南农业大学昆虫学系, 广东广州, 510642)

【目的】为了观察研究桔小实蝇 *Bactrocera dorsalis* Hendel 成虫复眼外部形态、内部显微结构和筛选其成虫敏感的光质, 并进一步探讨敏感光谱单色光对其生物学特性的影响。【方法】本研究应用扫描电镜和组织切片技术观察了桔小实蝇成虫复眼外部形态、显微结构及其在不同波长单色光照射后小眼结构变化, 应用行为学方法测试了羽化 5 d、10 d 和 20 d 后桔小实蝇雌、雄成虫对绿光(520–525nm)、红光(620–625nm)、黄光(590–595nm)、蓝光(460–465nm)、紫光(410–415nm)、白光的趋向反应行为, 并研究了绿光照射对该虫蛹、成虫生命活动的影响。【结果】结果表明桔小实蝇雌、雄成虫复眼在外形和内部结构上无差异, 均属于并置像眼, 复眼半球形表面光滑平坦, 小眼间隙有感觉毛, 单个小眼由角膜、晶锥、网膜细胞及其特化的视杆、基膜等构成, 晶锥、视杆周围和色素细胞内均含有大量的色素颗粒, 不同单色光处理后小眼内的附属色素细胞色素颗粒沿小眼纵轴移动, 白光、绿光和黄光处理后附属色素细胞色素颗粒沿小眼纵轴均匀分布, 紫光、蓝光和红光处理后附属色素细胞色素颗粒主要集中在视网膜细胞远端和角膜的近端。该成虫屏蔽色素颗粒的移动是其复眼适应外界光环境变化的重要机制。各单色光和白光均能引起成虫趋向反应, 其对绿光、白光、黄光、紫光、蓝光、红光趋光反应率分别为 50.66%、43.47%、28.72%、21.29%、20.29%、17.02%, 趋光反应率随着羽化日龄延长而升高, 且雄成虫较雌成虫对光更为敏感; 绿光光照 0 h、12 h、24 h, 蛹羽化率显著提高, 分别为 30.00%、37.33%、60.67%; 夜间绿光光照处理后桔小实蝇成虫体重、单雌产卵量、死亡率均显著高于对照组, 促进了成虫的生长发育和产卵高峰期提前, 但缩短了成虫寿命。【结论】本研究结果为利用桔小实蝇成虫的趋光性对其进行诱杀提供了理论依据。

关键词 桔小实蝇, 复眼, 显微结构, 趋光性

^{*} 基金项目: 国家重点研发计划项目(2016YFC1201200)、广东省高等学校高层次人才项目(粤财教[2013]246 号)

^{**} 第一作者: 刘欢, 博士研究生, E-mail: liuhuan@stu.scau.edu.cn

^{***} 通讯作者, E-mail: luyongyue@scau.edu.cn

共生菌调控的昆虫行为:红火蚁 *Solenopsis invicta* 中的一个典型例子

程代凤 陆永跃*

(华南农业大学红火蚁研究中心,广州,510640)

在长期的进化当中,昆虫与一些对其自身无害甚至有益的微生物形成了复杂的共生关系,这些微生物甚至可以通过生成特定化学信息物质来影响其寄主昆虫的行为。然而,相关共生微生物在合成这些化学信息素中的作用依然不甚明确,这也成为了当今化学生态学研究中一个亟待解决的问题。本文采用多种生物学方法对红火蚁的共生菌类群及其功能进行了深入研究。研究发现,链霉素处理能显著抑制红火蚁中的一种共生菌及油酸和亚油酸的含量。同时红火蚁的弃尸行为(一种社会行为)也相应地受到抑制。进一步研究表明该共生菌可直接通过调控引发弃尸行为的油酸及亚油酸的合成来影响红火蚁的弃尸行为。本研究为探究昆虫社会性行为提供了一个新的机制,亦对揭示昆虫社会性行为的进化具有深远的意义。

关键词 红火蚁,社会性行为,共生菌,弃尸行为,化学生态学

* 通讯作者

水稻潜叶蝇田间空间分布的初步研究

张 强¹ 张云月¹ 李晓光² 张 静² 孙 崑¹ 高月波^{1*}

(1.吉林省农业科学院,136100;2.通化市农业科学研究院,135007)

为了明确水稻潜叶蝇在田间的空间分布的规律,针对水稻潜叶蝇视觉与嗅觉展开试验。在视觉试验中,利用水稻潜叶蝇对黄色有趋性的特性,设置空间垂直分布及水平分布的不同高度和空间水平方向上不同方向的黄色粘虫板,揭示水稻潜叶蝇在田间的空间分布情况。黄色粘虫板在空间垂直分布情况为:距水面 1cm、3cm、5cm、7cm、10cm 等五个处理,每个处理重复 3 次。试验结果如下:在空间垂直分布试验中,距水面 1cm 处理组数量最多,7cm 处理组数量最少,但各处理之间在 5%显著水平和 1%极显著水平上均呈现差异不显著;在空间水平分布试验中,黄色粘虫板的分布情况为:粘虫面向东、向南、向西、向北等 4 个处理,每个处理重复 3 次。试验结果如下:面向东处理组数量最多,向西处理组数量最少,各处理组在两个显著水平上也呈现差异不显著。在嗅觉试验中,设置了糖溶液、酒溶液、醋溶液、糖酒混合溶液、糖醋混合溶液、酒醋混合溶液、唐酒醋混合溶液等 7 个处理,以水为空白对照处理,每个处理重复 3 次。试验结果如下:水稻潜叶蝇对各种气味源的趋性不明显,在单一酒处理中数量最多,对照组水处理中数量最少,各处理中在 5%水平上单一酒与对照组存在差异,而在 1%极显著水平上,各处理组均呈差异不显著。通过本次试验可以证明,虽然水稻潜叶蝇在空间分布过程中,视觉起主要作用,嗅觉起辅助作用;而在不同高度和不同方向上虽然存在着数量上的差异,但差异均不显著,这就表明水稻潜叶蝇在田间的空间分布上呈现完全随机分布。

关键词 水稻潜叶蝇,黄色粘虫板,空间分布

* 通讯作者

晋万柏林生态园不同海拔及 干扰程度访桃花昆虫群落差异^{*}

杜秀娟^{**} 杞 杰 刘俊英 武晓红 时宝凌 张金荣

(山西林业职业技术学院林学系,太原,030009)

【目的】明确万柏林生态园不同海拔及干扰程度访桃花昆虫群落组成、丰富度、多度和多样性参数差异。【方法】不同海拔高度,设置不同生境样地,定点定树拍照法采样。2015年4—6月,桃花盛花期采样2—3天/次,其余时间5—7天/次,采样时间9:00—17:00;4月18日—6月7日,定点定树法采样,共采样14次。低海拔样地,阳坡与阴坡4个小生境各选样树5棵;高海拔样地2个生境,也选样树5棵。每棵固定桃树3个桃花枝拍照,有虫飞停桃花上或采食花蜜花粉时即拍照,采样时间控制在5 min内。利用统计学方法分析万柏林生态园不同海拔及干扰程度分类阶元访桃花昆虫群落物种组成、丰富度、多度及多样性。【结果】经鉴定,万柏林生态园共采集访桃花昆虫126个体,15种;游人汽车干扰强小生境、汽车干扰小生境、游人汽车干扰强生境、汽车干扰生境、游人汽车干扰弱生境、游人干扰生境中各采到访桃花昆虫7种、4种、7种、4种、9种和8种;6个生境都分布有生境和传粉昆虫优势物种为1种、1种、2种、2种、4种、2种;仅高海拔样地游人汽车干扰弱生境、游人干扰生境分布生境特有物种,都为2种。相同年份内游人汽车干扰强小生境与游人汽车干扰强生境、汽车干扰强生境访桃花昆虫群落极相似($q=1.000$),游人汽车干扰强小生境、游人汽车干扰强生境与汽车干扰小生境、汽车干扰生境访桃花昆虫群落极不相似($q=0.100$);低海拔样地访桃花昆虫群落丰富度($R=10$)和多度($P=26$)分别低于高海拔样地访桃花昆虫群落丰富度($R=12$)和多度($P=82$)。【结论】不同海拔及干扰程度访桃花昆虫群落丰富度、多度和多样性参数存在差异;不同干扰程度桃园生境中特有访桃花昆虫物种可作为生境指示物种;优势访桃花昆虫物种可作为桃树传粉昆虫。万柏林生态园桃树花期与果成熟期,干扰严重,需要大力保护花期与果期桃园。

关键词 桃花,访桃花昆虫,物种丰富度,物种多度,多样性,差异

^{*} 基金项目:山西林业职业技术学院科研教改项目(201502)

^{**} 通讯作者:杜秀娟,女,博士,讲师,山东省鄄城人,主要从事森林保护方面的教学与科学研究,E-mail: dudragonfly@163.com

褐飞虱生理发育与趋光行为 对近零磁场的磁响应表型研究^{*}

袁 锐^{1**} 万贵钧¹ 潘卫东² 陈法军^{1***}

(1. 南京农业大学植物保护学院昆虫学系, 南京, 210095;

2. 中国科学院电工研究所生物电磁学北京市重点实验室, 北京, 100190)

地磁场(Geomagnetic field, GMF)强度存在时空动态变化, 且其强度总体呈衰减趋势, 而每年频发的地磁暴现象亦会引起 GMF 强度降低。许多动物(包括昆虫)具有磁感受能力, 而迁飞昆虫的大尺度空间迁移扩散中必然涉及所处地磁环境的强度变化。本团队以近零磁场(Near-zero magnetic field, NZMF)模拟 GMF 强度极端衰减变化, 以迁飞性害虫褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 为模式昆虫, 开展了褐飞虱生理发育和趋光行为对 NZMF 的磁响应表型研究。研究表明: 相对于 GMF, (1)生理发育: 若虫发育方面, NZMF 显著延长了褐飞虱卵期与雌、雄虫若虫发育历期, 其中, NZMF 显著延长了雌虫 4、5 龄和雄虫 4 龄若虫历期; 生殖方面, NZMF 显著降低了单雌产卵量, 并显著增加了卵的孵化率; 翅型分化方面, NZMF 均增加了雌、雄虫的短翅比例, 且对雄虫影响达到了显著水平; 另外, NZMF 均显著降低了雌、雄初羽化成虫体重。(2)趋光行为: 褐飞虱的世代处理与即时处理组中, NZMF 均显著增强了羽化后前 2 日雌、雄长翅成虫的正趋光性, 并明显减弱了羽化后第 5 日长翅雌虫及第 3、4 日长翅雄虫的正趋光性; 此外, NZMF 世代处理羽化后第 4 日长翅雌虫和第 5 日长翅雄虫的正趋光性也被明显减弱, 说明 NZMF 可能改变了褐飞虱长翅成虫趋光行为的日际节律。综上, 本研究首次揭示了褐飞虱生理发育和趋光行为对近零磁场的响应方式, 提供了基于磁响应的稻飞虱稻田防控与迁飞测报新思路, 并对揭示迁飞昆虫的磁感受机理提供了表型研究基础。

关键词 磁场变化, 褐飞虱, 生理发育, 行为生态, 磁响应表型, 迁飞昆虫预测预报

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金项目 (31470454, 31170362 和 31272051), 江苏省自然科学基金青年基金项目 (BK20160717), 国家基础研究"973"项目 (2010CB126200), 中国博士后科学基金 (2016M590470)

^{**} 作者简介: 袁锐, 男, 硕士, 南京农业大学植物保护学院昆虫学系, 主要从事稻飞虱生理和行为的磁生物学研究。Tel: 15895980207, E-mail: 2014102059@njau.edu.cn

^{***} 通讯作者: 陈法军, 南京农业大学植物保护学院昆虫学系教授, 博士生和硕士生导师。Tel: 13675173286, E-mail: fajunchen@njau.edu.cn

环境温湿度对黄脊竹蝗趋尿行为的影响

张 威 舒金平* 孟海林 张守科 吴 鸿 王浩杰

(中国林业科学研究院亚热带林业研究所,浙江富阳,311400)

【目的】黄脊竹蝗(*Ceracris kiangsu* Tsai)在中国南方是最主要、危害最严重的竹子食叶害虫,在炎热干旱的夏季有喜食人尿的特点,是第一例报道具有“趋泥行为”的直翅目昆虫。环境温湿度的改变是否能够激发竹蝗趋泥行为尚不清楚,为了深入理解黄脊竹蝗趋泥行为发生的驱动力,掌握环境温湿度在黄脊竹蝗趋泥行为中的作用。【方法】本文利用温湿度记录仪不间断的记录一天中林间温湿度的变化情况,在 8:00AM–17:00PM 期间,每 90min 为一个时间段,测定每个时间段内竹蝗体内含水率以及每个时间段内竹蝗对发酵人尿的行为反应,分析了环境温湿度对竹蝗体内含水率及其趋泥行为的影响。【结果】结果表明,雌、雄虫体内在一天中含水率的变化情况基本一致,呈现“W”型的变化趋势,与环境温度呈负相关,与湿度呈正相关;在中午高温低湿时段(12:00PM–14:00 PM),人尿毒饵诱杀量最大,达到 140 ± 20.64 头,且竹蝗成虫首次访问诱饵的时间也最短,仅为 410.8 ± 52.6 s。不同时段诱集的成虫性比结果表明,发生趋泥行为的黄脊竹蝗雌虫比例显著高于雄成虫($P < 0.01$)。【结论】环境温湿度对黄脊竹蝗的趋泥行为影响显著,利用毒饵诱杀技术进行黄脊竹蝗防控时,宜选择在炎热干燥的气候条件及环境条件下实施更为有效。

关键词 黄脊竹蝗,趋泥行为,温湿度,含水率,诱杀

* 通讯作者

普通大蓟马 *Megalurothrips usitatus* (Bagrall) 趋光行为及其结构基础研究

闫凯莉^{1,2*} 唐良德² 吴建辉^{1**}

(1 华南农业大学农学院, 广州, 510642;

2 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所, 海口, 571101)

【目的】研究不同光质对普通大蓟马 *Megalurothrips usitatus* 趋光行为的影响及其成虫复眼的外部形态和内部结构, 以期明确其趋光性行为反应及视觉的结构基础。【方法】室内采用自制正八面体装置开展了普通大蓟马对不同光质的选择性试验, 并利用扫描电镜、透射电镜等技术研究了普通大蓟马复眼的外部形态及小眼的内部结构。【结果】选择性试验结果表明普通大蓟马对波长为 480 nm 的蓝色趋性最强; 电镜观察结果表明普通大蓟马复眼位于头部两侧, 为 1/4 椭球形, 雌、雄虫单个复眼分别有小眼约 70 和 62 个。各小眼面微凸, 复眼中心区域小眼多为规则的六边形, 密集排列似蜂窝状; 近背区边缘小眼多为近圆形, 小眼排列疏松, 且少量相邻小眼的间距较大, 小眼间着生有感觉毛。雌、雄复眼小眼面积分别约为 73.12 和 68.66 μm^2 。小眼主要由屈光器(角膜和晶锥)、小网膜细胞、视杆和基膜组成。【结论】普通大蓟马对蓝光尤其是 480nm 波长的趋性最强; 普通大蓟马复眼表面具有少量感觉毛, 每个小眼均由角膜、晶锥、感杆束、网膜细胞及基膜等构成, 属并列像眼。

* 第一作者: 闫凯莉, 女, 硕士, yankaili1992@163.com

** 通讯作者: jhw@scau.edu.cn; tangldgcata@163.com

大豆田双斑萤叶甲成虫发生动态及其经济阈值^{*}

王小奇^{**} 田 径 高 宇 崔 娟 朱诗禹 史树森^{***}

(吉林农业大学农学院,吉林长春,130118)

为明确双斑萤叶甲 *Monolepta hieroglyphica* (Motschulsky)成虫危害对大豆产量损失及其经济阈值,采用田间系统调查和小区罩网接虫方法,研究了不同虫口密度下大豆产量性状的变化规律。结果表明,在长春地区,双斑萤叶甲成虫在大豆田间发生危害的高峰期为7月26日到8月22日,共40 d,随着该害虫虫口密度上升,大豆植株有效结荚数降低,瘪荚率上升,百粒重下降,同时大豆的产量显著降低。双斑萤叶甲成虫密度与大豆瘪荚率的关系符合逻辑斯蒂模型 $y=8.720/(1+e^{(0.7189-0.0260x)})$,与百粒重之间的关系符合二次曲线模型 $y=19.6085-0.155x+0.0024x^2$,与大豆产量的关系符合修正指数模型($y=53.2078+33.4089 \times 0.9408^x$, $p<0.0001$),与产量损失间的关系符合二次函数模型($y=-0.6028+1.8126x-0.0258x^2$, $p<0.01$)。在目前大豆生产中,使用有效药剂2.5%高效氯氟氰菊酯 EC(135 mL/hm²)和90%灭多威 DP(180g/hm²)防治双斑萤叶甲时,其经济危害允许水平分别为2.81%、2.91%,经济阈值分别为193.63只/百株和199.47只/百株。

关键词 双斑萤叶甲,大豆,经济危害允许水平,经济阈值

^{*} 基金项目:国家现代农业产业技术体系(CARS-04)

^{**} 作者简介:王小奇(1990-),男,吉林省长春市人,硕士研究生,主从事农业昆虫与害虫防治研究,E-mail: 692224098@qq.com

^{***} 通讯作者:史树森(1963-)男,吉林省扶余市人,教授,主要从事农业害虫综合治理与昆虫资源利用研究,E-mail: sss-63@263.net

黄胸蓟马对不同颜色的敏感性及挥发性化合物的趋性研究

夏西亚^{1,2} 李 强^{1,3} 付步礼¹ 唐良德¹ 谢艺贤¹ 曾东强³ 符悦冠¹ 刘 奎^{1*}

(1. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所,海口,571101;2. 华中农业大学植物科学技术学院,湖北武汉,430070; 3. 广西大学农药与环境毒理研究所,南宁,530005)

【目的】评估不同颜色、挥发性化合物对黄胸蓟马的行为影响,以期为黄胸蓟马的诱控技术提供科学依据。【方法】室内采用正八面体装置进行选择试验,确定黄胸蓟马对不同颜色的敏感性;利用 Y 型嗅觉仪进行非选择性试验,确定黄胸蓟马对挥发性化合物的趋性。并在田间比较不同色板对黄胸蓟马的诱集效果;设置了引诱装置比较黄胸蓟马对不同挥发性化合物的趋性差异。【结果】经过室内与田间筛选,黄胸蓟马对蓝色趋性最强,其次为黄色、紫色和粉色;黄胸蓟马对 10 种芳香类挥发物的趋性较明显的有:苯丙醛、烟酸乙酯、橙花醇。【结论】可利用蓝板和挥发性化合物对黄胸蓟马进行种群动态监测和诱控技术的研发。

关键词 黄胸蓟马,色板,挥发性化合物,行为趋性

* 通讯作者

从害虫“综合治理”到“生态调控”

赵紫华*

(中国农业大学昆虫学系,北京,100193)

害虫种群治理是农业昆虫学研究的核心问题,也是农业生态系统可持续性发展的重要基础。过去几十年间,在“预防为主,综合防治”植保方针的指导下,害虫综合治理(Integrated Pest Management, IPM)已经形成了全面完善的技术体系,包括物理、化学、生物、生态以及农业防治技术与方法。经典害虫综合治理(IPM)在集约化农业和粮食增产过程中发挥了重要作用,但这种体系框架下的害虫治理策略逐步引发了经济发展和生态环境之间的矛盾,尤其在全球变化加速的背景下,生态安全和环境健康问题日益凸显,这要求害虫种群治理更需要注重农业生态系统的可持续性,这就是害虫生态调控理论(EBPM)。IPM 与 EBPM 既有相通之处,也有明显区别,因此“综合治理”是“生态调控”的基础和手段,“生态调控”是“综合治理”的继承和发展,两者有共同之处,但也存在完全不同的特点和优势:(i)综合治理主要是基于经济因素,兼顾社会效益和环境问题,关注短期的和局部的经济效益,而且经济阈值的理论基础导致综合治理一直未能有效地关注环境问题和社会效益;生态调控主要以生态系统功能与生态安全为前提,强调长期和整体的生态系统服务和生态系统可持续性。(ii)综合治理侧重于人类活动采取的各种防治方法直接对害虫本身进行调控和管理;生态调控侧重于通过人类活动采取各类措施来加强作物和生态系统本身的健康程度,改变农业生态系统的食物网拓扑结构和能量流动关系,增强群落稳定性和作物抗性而间接对害虫进行调控。(iii)生态调控以土壤-作物-害虫-天敌为整体,关注整个害虫控制的生态过程和机制,强调生态系统自身的健康和免疫能力,与新植保防治“公共植保,绿色植保”相得益彰。因此,EBPM 能够在更全面的复合生态系统服务和生态文明建设层次上通过调控食物网拓扑学结构和能量流动,通过天敌的下行控制(top to down)和土壤的上行效应(bottom to up)共同调控害虫种群,最终实现害虫种群的可持续控制。因此,害虫综合治理到生态调控的转变和过渡是可持续农业的要求,也是在全球变化背景下维持农业生态安全的必然选择。

关键词 生态安全, 生态系统服务, 全球变化, 可持续性

* 赵紫华,男,博士,主要从事生物多样性、害虫生态调控以入侵生态学研究,E-mail: zhzhao@cau.edu.cn,电话: 010-62733000

生境及气象因子对南瓜实蝇雄成虫数量动态的影响^{*}

李 磊^{**} 牛黎明 张方平 韩冬银 陈俊谕 符悦冠^{***}

(中国热带农业科学院环境与植物保护研究所, 农业部热带作物有害生物综合治理重点实验室, 海南海口, 571101)

【目的】本研究监测了不同生境下南瓜实蝇雄成虫的数量动态, 分析了影响南瓜实蝇数量变动的关键气象因子。【方法】以南瓜实蝇雄虫诱剂诱蝇酮为引诱源, 分别在住宅区、混合菜地、园林区、市场区、苦瓜地、混合果园 6 类监测点对南瓜实蝇进行诱集。【结果】结果表明生境和气象因子显著影响了南瓜实蝇雄虫的数量动态。混合菜地、园林区以及混合果园诱集的南瓜实蝇雄虫数量多于住宅区、市场、苦瓜地诱集的雄虫数; 通过逐步回归分析和通径分析得出影响南瓜实蝇雄虫数量动态的因子有月平均气温、月平均气压、月平均相对湿度、月最小相对湿度和月日照时数, 这些因子除单独地作用于南瓜实蝇雄虫数量动态外, 彼此间相互影响、相互关联对南瓜实蝇的种群变动形成了综合效应。此外, 研究也发现月平均温度是影响南瓜实蝇变动的最关键因子。【结论】基于本研究的结果, 建议南瓜实蝇的防控应不仅仅局限在其寄主植物生境, 应根据其监测的数据对多生境的南瓜实蝇进行治理。

关键词 南瓜实蝇, 生境, 气象因子, 数量动态

^{*} 基金项目: 公益性行业(农业)科研专项“南繁区生物安全监测预警及控制”(201403075)

^{**} 作者简介: 李磊(1985 年-), 男, 博士, 助理研究员; 研究方向: 昆虫生态学及农业害虫综合治理。

^{***} 通讯作者(Corresponding author): 符悦冠(FU Yueguan); E-mail: fygcata@163.com

大豆食心虫滞育期间体内生化物质含量动态变化^{*}

程媛^{**} 赵奎军^{***} 韩岚岚

(东北农业大学农学院, 哈尔滨, 150030)

【目的】为研究大豆食心虫滞育机制,从生理生化水平上探讨大豆食心虫的耐寒机制,测定了大豆食心虫幼虫在滞育前后不同月份的体内含水量、脂肪、和糖类的含量。【方法】通过蒽酮比色法和氯仿甲醇分离法测定了 4℃、17℃和 25℃三个温度下的大豆食心虫幼虫在滞育不同阶段体内糖类、水分和脂肪含量的变化,结果利用 SPSS17.0 数据分析软件进行分析。【结果】滞育的大豆食心虫体内糖原含量除刚进入滞育时含量明显升高,后期体内糖原含量逐渐下降直到滞育解除,17℃条件下糖原含量较 4℃和 25℃条件下高。海藻糖含量从滞育开始逐渐增加,直至第 2 年 5 月份含量逐渐下降直至滞育解除,且海藻糖含量随温度降低而升高,即 4℃条件下海藻糖含量最高。脂肪含量也为刚进入滞育时含量明显增加,后期逐渐减少,总糖含量变化趋势与糖原相似。含水量在进入滞育以及滞育过程中变化不明显。【结论】大豆食心虫体内海藻糖含量进入滞育以后逐渐增加直至滞育结束前期,故大豆食心虫的滞育属于海藻糖积累性,海藻糖是其体内一种主要的抗冻剂。糖原和脂肪是大豆食心虫滞育期间体内主要的能源物质,故其含量进入滞育以后逐渐减少,不同温度下其代谢速率不同,因而含量的不同。所以大豆食心虫滞育期间这些代谢物质的变化受滞育发育及温度影响,其含量的动态变化可以反映大豆食心虫耐寒性强弱。

关键词 大豆食心虫,滞育,生化物质,动态变化

^{*} 资助项目:现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-04);

^{**} 作者简介:程媛,女,硕士研究生。E-mail:chengyuan720@126.com

^{***} 通讯作者,E-mail:kjzhao@163.com

低温驯化对海宾斯氏线虫的影响^{*}

张旭霞^{**} 韩岚岚 赵奎军^{***}

(东北农业大学农学院,黑龙江哈尔滨,150030)

【目的】本实验通过对东北农业大学昆虫实验室在黑龙江省哈尔滨地区分离的海宾斯氏线虫 *Steinernema litorale* 进行低温驯化,为应用于高寒地区害虫防治与昆虫病原线虫冷冻储存奠定基础。【方法】分别对海宾斯氏线虫 *S. litorale* 进行 23 ℃(6 d)(对照组)、10 ℃(6 d)、4 ℃(6 d) 和 23 ℃(2 d)-10 ℃(2 d)-4 ℃(2 d) 四种条件下的温度处理后,比较了四组均在-20℃下冷冻 1 h、10 h、24 h 和 36 h 后的存活率。【结果】结果表明,-20℃冷冻 1 h 后,四种条件处理下的线虫死亡率为 1%,10 h 后对照组死亡率明显增高为 11%,24 h 后对照组死亡率为 50%,10 ℃、4 ℃ 及 23 ℃-10 ℃-4 ℃条件下分别依次为 10%、11%及 5%,36h 时对照组死亡率达到 100%,23 ℃-10 ℃-4 ℃条件下死亡率为 26%,显著低于其他处理。【结论】四种条件下处理 6 d 后海宾斯氏线虫 *S. litorale* 的冷冻存活率均有改变,并且所有处理温度均可提高其冷冻存活率。这一结果对掌握昆虫病原线虫低温耐受性及可能的应答机理具有重要意义,同时也为耐低温相关新品种的培养奠定了基础。

关键词 海宾斯氏线虫,低温驯化,冷冻存活率

^{*} 基金项目:现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-04)

^{**} 作者简介:张旭霞,硕士研究生, E-mail:wzxxyl@163.com

^{***} 通讯作者, E-mail:kjzhao@163.com

扶桑绵粉蚧雌虫空间分布及其取食后对棉花植株氮、磷含量的影响^{*}

胡俊杰^{**} 郑宇 林国栋 张克定 周佳滨 刘善海

(广州大学生命科学学院, 广州, 510006)

【目的】以扶桑绵粉蚧雌虫空间分布及该虫危害后棉花植株氮、磷含量变化为研究内容, 为摸清扶桑绵粉蚧的空间分布规律和筛选棉花抗虫品种提供理论依据。【方法】2014年10月在广州大学开展室外盆栽棉花植株上扶桑绵粉蚧为害情况的调查工作, 并采用硫酸消煮法测定扶桑绵粉蚧取食后棉花 *Gossypium hirsutum* 植株根、茎、叶等不同部位的氮、磷含量并评价其耐受性。【结果】调查结果显示, 扶桑绵粉蚧雌虫在叶背和茎上的分布显著高于叶面; 在棉花植株中, 上部的分布显著高于下部。随着扶桑绵粉蚧虫口密度的增加, 棉花植株的耐虫指数呈上升趋势, 耐虫性逐渐降低; 根和叶的氮含量随虫口密度增大, 呈现先下降再上升的趋势; 粉蚧危害后棉花植株根、茎和叶的磷含量都低于无虫为害的对照组。【结论】为了解棉花粉蚧为害规律和棉花抗虫品种的选育等提供理论依据

关键词 扶桑绵粉蚧, 空间分布, 氮, 磷

^{*} 资助项目: 广州市属高校科技计划项目(1201430778); 广州大学大学生创新训练项目(201611078064)

^{**} 通讯作者: E-mail: jjhu@gzhu.edu.cn

甘草广肩小蜂趋光行为研究与应用^{*}

陈宏灏^{**} 张 蓉 南宁丽

(宁夏农林科学院植物保护研究所, 宁夏 银川, 750002)

【目的】甘草广肩小蜂(*Bruchophagus glycyrrhizae*)是甘草种子的主要害虫,为害造成 40% 左右种子丧失发芽能力。害虫产卵于荚果表皮内,以幼虫蛀食豆粒,由于危害隐蔽,长期以来依靠药剂很难实现有效控制,对其趋光行为进行研究,有助于田间灯光诱杀技术的研发。【方法】以紫外线到近红外(370nm–960)14 个波长的 LED 荧光灯作为光源,利用自制扇形昆虫光趋性测定仪,分析甘草广肩小蜂趋光特征光谱。在特征光谱 400–440nm 下,测定性别、羽化日龄和暗适应时间对甘草种子小蜂趋光行为的影响。7 月中旬进行野外诱集效果评价试验,对佳多太阳能诱虫灯进行特征光源更换,自动控制灯光开关,甘草收获期评价防治效果。【结果】甘草广肩小蜂的敏感光谱呈多峰性,进入各通道的甘草广肩小蜂数量差异显著($F=4.74, p=0.007$),数量较多的区域依次为 400–440nm 紫色区、590nm 黄光区和白光区。经方差分析,不同羽化日龄的甘草广肩小蜂其趋光行为差异不显著($F=1.764, p=0.2497$),不同性别对趋光性的影响也不显著($F=0.008, p=0.9334$),但暗处理时间具有较大影响($F=8.203, p=0.0014$),最强处理时间为 2h。通过对比灯光诱杀防治区为害率和对照区为害率,特征光谱灯光对甘草广肩小蜂的防治效果为 80.26%。【结论】甘草广肩小蜂趋性最强的光谱位于 400–440nm 处,性别和羽化日龄对趋光行为影响不明显,暗处理时间 2h 能够显著增强甘草广肩小蜂趋光行为。特征光谱杀虫灯应用于田间起到高效防治的作用。

关键词 甘草广肩小蜂,趋光性,行为,防治

^{*} 基金项目:宁夏自然科学基金(NZ14198)

^{**} 作者简介:陈宏灏(1982–),男,甘肃会宁人,助理研究员,硕士。E-mail: chenhunhao@126.com

烟粉虱 MED 隐种 *Dnmt1* 的克隆及温度耐受性分析

戴恬美¹ 吕志创¹ 刘万学¹ 万方浩^{1,2}

(1.中国农业科学院植物保护研究所,植物病虫害生物学国家重点研究室,北京,100193;

2.农业部外来入侵生物预防与控制研究中心,北京,100193)

【目的】烟粉虱 MED 隐种自入侵我国后凭借其极强的生态适应性迅速侵入到我国绝大部分地区。DNA 甲基化作为表观遗传的一个重要方面在调节入侵昆虫的生态可塑性中可能起到较大作用。为阐明 DNA 甲基化在烟粉虱 MED 隐种温度胁迫耐受性中的作用机理,本研究克隆了烟粉虱 MED 隐种 DNA 甲基化转移酶(*Dnmt1* 基因,并探讨了该基因在温度胁迫中的作用。【方法】本文利用 RACE-PCR 方法克隆了烟粉虱 MED 隐种 *Dnmt1* 基因的全长 cDNA 序列,并采用 RNAi 技术对该基因的温度耐受性功能进行了验证。【结果】序列分析结果显示,*Dnmt1* 开放阅读框全长为 4287 bp,编码 1428 个氨基酸,其推导的氨基酸序列具有 Dnmt1 蛋白的典型结构,即 N 端调控区的复制叉作用位点、锌指结构域、两个 BAH 结构域及 C 端催化活性结构域 Dcm。RNAi 结果发现该基因表达量显著降低且能显著影响烟粉虱响应温度胁迫的存活率。【结论】获得了烟粉虱 MED 隐种 *Dnmt1* 基因的 cDNA 全长, *Dnmt1* 在烟粉虱 MED 隐种的温度耐受性中起关键作用,为进一步研究 DNA 甲基化的功能及作用机理奠定了基础。

关键词 烟粉虱,温度耐受性, DNA 甲基化, *Dnmt1*

强化茶园生物多样性对凋落层鞘翅目群落 保益控害的服务功能^{*}

陈李林^{1,2,3,4**} 尤民生^{1,2,3,4***}

(1.福建农林大学闽台作物有害生物防控国家重点实验室,福州,350002;2.福建农林大学应用生态研究所,福州,350002;3.闽台特色作物病虫生态防控协同创新中心,福州,350002;
4.农业部闽台作物有害生物综合治理重点实验室,福州,350002)

【目的】鞘翅目是茶园生态系统中重要且复杂的类群之一,有极其丰富的物种数和个体数。茶园凋落层鞘翅目包含很多害虫种类,但同时也包含众多的天敌种类。本研究针对间作牧草后对茶园凋落层鞘翅目群落发挥趋利避害效应开展研究,探索促进茶园生物防治的策略。【方法】2006年5月-2008年4月,在武夷山市星村镇大坪洲茶园通过间作百喜草或圆叶决明、留养杂草和除杂草四种不同处理,每个月1次捡取凋落物法对茶园凋落层中鞘翅目进行系统采样、标本鉴定和统计分析。【结果】与其他三种生境茶园凋落层相比,间作圆叶决明茶园凋落层显著增加鞘翅目群落的总物种数,增加鞘翅目群落的总个体数,但差异不显著;显著增加捕食性鞘翅目群落的物种数和个体数。四种不同生境茶园凋落层间植食性、腐食性和杂食性鞘翅目群落的物种数和个体数差异均不显著。与其他三种生境茶园凋落层相比,间作圆叶决明茶园凋落层显著增加捕食性鞘翅目主要种烦狭胸步甲和背窗步甲和瓢虫科 sp. 4 的个体数。四种不同生境茶园凋落层间捕食性鞘翅目主要种黄缘狭胸步甲、台毛艳瓢虫、刀角瓢虫和瓢虫科 sp. 2,植食性鞘翅目主要种露尾甲、茶丽纹象甲和叶甲科 sp. 1,腐食性鞘翅目东方薪甲、湿薪甲和三星谷盗,杂食性鞘翅目克氏虎隐翅虫、福建弓胸隐翅虫和梭毒隐翅虫的个体数差异均不显著。【结论】综上,我们研究表明,在茶园间作牧草有助于提高捕食性鞘翅目群落的物种数和个体数,提高捕食性鞘翅目主要种的个体数,可通过对鞘翅目有益部分的调控来促进茶园有害生物的生态控制,从而促进有机茶叶可持续生产。

关键词 鞘翅目,覆盖作物,间作,生物多样性,营养类群

^{*} 资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金(31501650)、国家重点研发计划(2016YFD0200900)、福建省园艺产业重大农技推广服务试点项目(KNJ-151000)、福建省自然科学基金(2015J01610)

^{**} 第一作者 First author, E-mail: llchen4414@sina.com

^{***} 通讯作者, E-mail: msyou@iae.fjau.edu.cn

稻水象甲传播扩散调查与实例分析

赵晓明 张增福 路占军 杜 伟 蒋旭东

(宁夏农林科学院植物保护研究所,宁夏农牧厅农业技术推广总站)

稻水象甲在我国属检疫性水稻害虫,目前已经传入我国 25 个省市自治区,控制稻水象甲扩散是稻水象甲防控的重要工作方向。宁夏是 2014 年发现稻水象甲入侵的最新地区。对新传入稻水象甲的水稻种植区进行的调查显示,稻水象甲的远距离扩散主要是借助交通工具携带的稻谷或稻草及其制品传播。入侵区域内的扩散与稻田的灌渠与排水系统有一定的联系,田间的不均匀分布显示稻水象甲的飞翔能力不是区域内扩散的主要原因。不同水稻种植区的土壤对稻水象甲有一定的影响,宁夏稻区盐碱地区域的稻田至今未发现稻水象甲的危害。

26 个苜蓿品种(品系)对豌豆蚜的抗性评价及机制研究^{*}

魏淑花^{1**} 张 蓉^{1***} 马建华¹ 李克昌² 罗晓玲² 张 宇²

(1.宁夏农林科学院植物保护研究所,宁夏银川,750002;2.宁夏草原工作站,宁夏银川,750002)

【目的】苜蓿蚜虫是危害苜蓿最为严重的害虫之一,而田间蚜虫种类以豌豆蚜(*Acyrtosiphon pisum*)为主,占混合种群数量的80%以上。如何有效地防治蚜虫,已成为苜蓿产业发展的重要课题之一。国内外在防治蚜虫上以培育和应用抗虫品种最为成功,国外在苜蓿抗蚜性研究上较深入并建立了评价方法和标准,我国在苜蓿抗蚜性鉴定和机制方面虽开展了部分研究,但至今有关苜蓿抗蚜鉴定方法和评价标准尚未建立。【方法】运用蚜量比值法和模糊识别法,对26个苜蓿品种(系)进行了田间和室内抗蚜评价试验。在抗性鉴定的基础上,通过室内人工接虫,研究了豌豆蚜取食后苜蓿体内防御性酶活性、营养物质含量的动态变化;同时,利用刺探电位图谱(electrical penetration graph,EPG)技术对豌豆蚜在不同苜蓿品种(系)上的取食行为进行了测定。【结果】通过对供试26个苜蓿品种(品系)中12个苜蓿品种的田间和室内结果综合分析表明:12个苜蓿品种(品系)中,惊喜、WL343HQ和德宝3个品种为高感品种,其蚜量比值均大于1.25,并与其他品种间差异极显著;柏拉图、中苜3号、甘农4号等3个品种为感蚜品种,其蚜量比值位于0.76~1.25之间;先行者为中抗品种,蚜量比值为0.51,位于0.51~0.75之间;皇冠、三得利、皇后、SR4030和MF40205等5个品种为抗蚜品种,其蚜量比值0.26~0.50之间。豌豆蚜为害7d后,与低抗品种相比,抗虫品种的苜蓿幼苗苯丙氨酸解氨酶(PAL)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)及可溶性糖活性变化总体上显著增高($P<0.01$),多酚氧化酶(PPO)和过氧化氢酶(CAT)活性变化显著降低($P<0.01$),中抗品种介于其间,可溶性蛋白质含量变化量无明显规律;刺探电位图谱试验结果正在统计分析中。【结论】本研究提出了室内和田间苜蓿抗蚜鉴定方法分别为模糊识别法和蚜量比值法的评价方法和标准,在此基础上,通过生理生化和电生理方法进一步明确了不同苜蓿品种(系)的抗蚜机制。

关键词 苜蓿品种(系),豌豆蚜,抗性评价,抗性机制

^{*} 基金项目:国家牧草产业技术体系--盐池综合试验站(CARS-35-42),宁夏回族自治区农作物重大育种专项--苜蓿新品种选育(2014NYYZ03)资助。

^{**} 作者简介:魏淑花(1980-),女,宁夏同心人,副研究员,硕士。E-mail: weishuhua666@163.com

^{***} 通讯作者 Corresponding author. E-mail: yczhrnx@163.com

罗布麻昆虫种类的初步调查研究^{*}

文春丽^{**} 张 丽 王小童 袁明龙^{***}

(草地农业生态系统国家重点实验室,兰州大学草地农业科技学院,兰州,730020)

罗布麻是夹竹桃科多年生宿根草本植物,具有抗逆性强、用途广泛、功能多样等特点,是重要的药用和经济植物。罗布麻野生种广泛分布于西欧、中东亚及北美等地,但在我国仅新疆有集中连片分布。近年来,戈宝绿业有限公司在新疆阿勒泰地区大面积人工种植罗布麻。但随着种植面积的不不断扩大,虫害逐渐成为限制罗布麻产量及品质的重要因素之一。本研究在 2016 年 7 月到 8 月,对新疆阿勒泰罗布麻的野生及栽培区昆虫种类进行调查,采用形态学及 DNA 条形码技术鉴定所有采集昆虫样本。结果表明,罗布麻田主要有蜻蜓目、鞘翅目、鳞翅目、直翅目、双翅目、脉翅目和半翅目等昆虫,其中鞘翅目和半翅目昆虫种类最多。主要害虫是蚜虫、叶甲和蝽类,其中蚜虫在罗布麻生长早期为害最重,而叶甲是罗布麻生长中后期最主要的害虫。罗布麻田也有一定的天敌资源,主要是捕食性的蜻蜓和草蛉,而瓢虫和猎蝽等天敌昆虫数量较少。罗布麻不同生态型田间昆虫种类和数量具有差异性,其中盐湖小花虫口密度最高,红杆小花次之,而白麻最少。本研究通过对罗布麻田间昆虫种类的调查,基本摸清了新疆阿勒泰罗布麻田间昆虫种类及其数量,明确了主要害虫和天敌种类,为进一步开展关键昆虫的发生发展规律及制定防治策略奠定了基础。

关键词 罗布麻,昆虫种类,害虫,天敌昆虫

^{*} 基金项目:新疆维吾尔自治区科技支疆项目(2016E02015)

^{**} 第一作者:文春丽(1994-),女,甘肃庆阳人,在读硕士研究生,研究方向为昆虫生态学;E-mail:18709342516@qq.com

^{***} 通讯作者:E-mail:yuanml@lzu.edu.cn

褐飞虱翅型分化敏感期的研究^{*}

张金利 徐海君^{**}

(浙江大学昆虫科学研究所, 杭州, 310058)

褐飞虱(*Nilaparvata lugens*)是我国以及亚洲许多国家重要的水稻害虫之一。褐飞虱是一种典型的具有成虫翅二型现象的昆虫,即若虫选择性发育成短翅型或长翅型成虫的一种特殊的生物学现象。长翅型个体能够飞行,使得其能够到新的栖息地定居;而短翅型个体不能飞行,但是其具有更强的生殖能力,能够在局部地区的水稻上严重为害。因此,翅型分化是褐飞虱取得生态学成功的一个主要原因。但迄今为止,包括对翅型分化敏感期、信号传递途径等在内的诸多遗传与分子机制研究却仍相当缺乏。我们的前期研究初步发现了胰岛素信号传递途径调控了褐飞虱的翅可塑性发育。基于此发现,我们利用 RNAi 技术对褐飞虱的翅型分化敏感期进行了确认。研究发现,5 龄若虫蜕皮后 24h 内是雌性若虫翅型转换的关键期,在 24h 之内翅芽具有短翅向长翅或长翅向短翅转变的能力,而 24h 之后则丧失这种能力;但对雄性若虫而言,5 龄若虫蜕皮后 36h 内是其翅型转换的关键期,表明 5 龄若虫早期是褐飞虱翅型分化的窗口期。另外,研究还发现长翅型飞虱的翅芽细胞增殖速率显著高于短翅型飞虱,其中 Myc 转录因子参与了其调控作用。本研究的实验结果挑战了褐飞虱翅型分化敏感期的界定(2-4 龄),从而更新了人们对翅型分化的认识,同时也对褐飞虱以及其他昆虫翅型变化的遗传学研究提供有价值的信息。

关键词 褐飞虱,翅二型,翅型分化,敏感期,胰岛素受体,细胞增殖

^{*} 本项目受国家优秀青年科学基金(31522047)

^{**} 通讯作者 Corresponding author, E-mail: haijunxu@zju.edu.cn

植物病原菌与其媒介昆虫的互利共生:在葡糖杆菌 *Gluconobacter* sp.与桔小实蝇 *Bactrocera dorsalis* 中的体现^{*}

何沐阳 程代凤^{**} 陆永跃^{**}

(华南农业大学昆虫学系,广州,5106402)

植物病原菌可在寄主昆虫中完成世代循环并通过调控寄主昆虫的行为和发育来提高自身的适应性,昆虫也可利用植物病原菌改变生存环境,提升生物学潜能。本研究从桔小实蝇 *Bactrocera dorsalis*(Hendel)的卵巢和卵中分离并鉴定出一类病原菌葡糖杆菌 *Gluconobacter* sp.,该菌由桔小实蝇传播并可导致水果果实腐烂。研究发现葡糖杆菌的数量随着实蝇卵巢发育及幼虫在水果中的生长显著增加。进一步研究显示该类菌亦可提高桔小实蝇的孵化率,促进其生长发育。葡糖杆菌与其媒介桔小实蝇间存在明显的进化关系。实蝇科昆虫与植物病原菌的这种互利共生现象可能是普遍存在的。本研究讨论了这种互利共生关系可能的进化及二者如何对这种关系进行稳定的维系机制。

关键词 植物病原菌,桔小实蝇,葡糖杆菌,互利共生

^{*} 基金项目:国家重点研发计划项目(2016YFC1201200)

^{**} 通讯作者,E-mail: chengdaifeng@scau.edu.cn, luyongyue@scau.edu.cn

棉花粉蚧对棉花苗期生长发育的影响^{*}

王 磊^{**} 孙 峰 陆永跃^{***}

(华南农业大学昆虫学系,广州,510642)

棉花粉蚧严重为害其入侵地区的棉花生长,是棉花产业的重大威胁。目前,棉花粉蚧数量对棉花生长的影响尚不清楚。为指导棉田棉花粉蚧的防治,本文通过实验室调查不同密度棉花粉蚧对棉花苗期植株茎直径和高度生长的影响,研究建立了棉花粉蚧生物当量、粉蚧为害时间长度与棉苗生长之间的回归方程。结果如下:棉花粉蚧侵染时间(X1)、棉花粉蚧生物当量(X2)和棉花高度增长量(Y)间的回归方程为 $Y=0.2037+0.3864x_1-0.008916x_2+0.006548x_1x_1+0.000007758x_2x_2-0.00009246x_1x_2$;棉花粉蚧侵染时间(X1)、棉花粉蚧生物当量(X2)和棉花茎增长量(Y)间的回归方程为 $Y=0.2037+0.3864x_1-0.008916x_2+0.006548x_1x_1+0.000007758x_2x_2-0.00009246x_1x_2$ 。上述公式可以用于计算获得棉花苗期棉花粉蚧的防治指标,也可推算出棉花苗期棉花粉蚧的防治适期。

关键词 棉花粉蚧,棉花,生长,经济阈值,数学模型

^{*} 基金项目: 自然科学基金项目(31171855)

^{**} 第一作者, E-mail: wanglei1107@outlook.com,

^{***} 通讯作者, E-mail: luyongyue@scau.edu.cn

不同施钾水平对苜蓿次生代谢物质及抗蓟马的影响^{*}

张晓燕^{1,2**} 李小龙^{1,2} 彭 然^{1,2} 胡桂馨^{1,2***}

(1.甘肃农业大学草业学院,兰州,730070;

2.草业生态系统教育部重点实验室,中-美草地畜牧业可持续发展研究中心,兰州,730070)

【目的】为了明确施钾是否能有效提高苜蓿对蓟马的抗性以及钾-次生代谢物质-抗虫性之间的关系,【方法】以感蓟马品种甘农3号和抗蓟马苜蓿品种甘农9号为材料,设0, 6, 9, 12, 15 (K₂O)g/m² 5个钾水平,在大田蓟马为害高峰期,评价和测定了不同钾水平处理下苜蓿的受害指数,叶片钾含量,总酚、黄酮、木质素的变化;【结果】在第2茬和第3茬中,随着钾水平的升高,甘农3号和甘农9号受害指数均显著降低($P<0.05$),且均在9(K₂O)g/m²水平下最低,老叶和心叶的钾含量、次生代谢物质总酚及木质素的含量均升高但不显著,心叶中的黄酮含量上升、老叶中的黄酮先升高而后下降;在第3茬中,甘农3号和甘农9号老叶中的黄酮含量均呈上升趋势。第2茬和第3茬中,不同施钾水平下,苜蓿的受害指数与叶片钾含量呈负相关但不显著($P>0.05$)。两茬苜蓿的受害指数与次生代谢物质总酚、黄酮、木质素均无显著相关性。施钾后甘农3号的受害指数均低于未施钾甘农9号的受害指数。【结论】施钾可以提高苜蓿对蓟马的抗性,施钾后苜蓿叶片总酚、木质素、黄酮的含量增加,但次生代谢物质对于苜蓿抗蓟马的影响程度以及次生代谢物质对蓟马的生长发育的影响有待进一步深入的研究。

关键词 苜蓿,钾肥,蓟马,抗虫性,次生代谢物质

^{*} 基金项目:国家自然科学基金项目(31260579);国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-35)

^{**} 作者简介:张晓燕,女,1989年生,甘肃景泰人,硕士研究生,研究方向为草地昆虫及害虫防治, E-mail: 1226573428@qq.com

^{***} 通讯作者 Corresponding author, Tel: 0931-7632829; E-mail: huguixin@gsau.edu.cn

CMV 侵染诱导的植物防御降低了蚜虫生物学特性

唐 鑫 周序国* 刘 勇*

(湖南省农业科学院植物保护研究所,长沙,410125)

黄瓜花叶病毒(Cucumber mosaic virus, CMV)是一种非常严重的病毒病害,能够侵染多种寄主,在世界范围内造成了严重损失。CMV 可通过蚜虫和摩擦传播,其中蚜虫是一种重要的介体昆虫。在植物-CMV-蚜虫三者互作的过程中,随着时间的变化,病毒量的增长引起的植物防御变化以及这种变化对蚜虫的影响仍缺乏研究。我们调查了在 CMV 侵染植物的不同时间,植物病毒量与植物防御物质水杨酸(salicylic acid, SA)和茉莉酸(jasmonic acid, JA)含量的变化以及它们与蚜虫的交互作用。研究发现蚜虫在感染 CMV 植株上的生物学特性随着病毒量和植物防御的变化而变化。起初,植物防御较弱,蚜虫的生长发育如产蚜量和寿命逐渐增加。随着病毒量的不断积累,病毒诱导的 SA 含量逐渐增多,SA 的量达到一定程度后造成了蚜虫生长发育的下降。此外,病毒量的增加引起了有翅蚜的产生。我们的结果表明病毒量的增长引起了水杨酸含量的升高,进而降低了蚜虫的生物学特性,并引起了有翅蚜的产生。这一现象为蚜虫传播 CMV 机制的研究提供了参考,同时也提醒我们应该在 CMV 侵染的早期及时采取措施控制蚜虫来预防病毒病的爆发。

关键词 蚜虫,黄瓜花叶病毒,水杨酸,生物学特性

* 通讯作者

宿主取食介导的褐飞虱次级内共生菌 *Arsenophonus* 水平传播的研究

陈 孟 庞 锐 张文庆*

(中山大学,生命科学学院 有害生物控制与资源利用国家重点实验室,510006)

Arsenophonus 属于变形菌门(*Proteobacteria*)的 γ 亚类肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*),广泛地寄生于昆虫体内。之前的研究中报道该内共生菌可以在褐飞虱 (*Nilaparvata lugens*) 体内进行系母系遗传的垂直传播,但其水平传播的可能性却鲜有证实。本文以农业水稻害虫褐飞虱及其内共生菌 *Arsenophonus* 为研究对象,利用基于人工饲料蔗糖缓冲液制作的封闭装置模拟褐飞虱的取食环境,发现 *Arsenophonus* 可以借由装置中的人工饲料由携带该内共生菌的阳性褐飞虱种群,传递给未携带该内共生菌的阴性褐飞虱种群,即实现人工条件下内共生菌 *Arsenophonus* 的水平传播。我们通过绝对荧光定量技术 (Quantitative PCR) 构建出了计算 *Arsenophonus* 细胞数的公式,用于检测阳性褐飞虱种群、阴性褐飞虱种群以及人工饲料在模拟水平传播前后,其各自含 *Arsenophonus* 的情况,并且采用荧光原位杂交技术 (fluorescence in situ hybridization, FISH) 检测褐飞虱寄主体内以及人工饲料中 *Arsenophonus* 的分布情况。本研究为证明寄主植物介导的褐飞虱内共生菌 *Arsenophonus* 的水平传播提供了理论基础,使我们能够更好得了解次级类共生菌与宿主昆虫之间的互作关系。

关键词 *Arsenophonus*, 褐飞虱, 水平传播, 绝对荧光定量, 荧光原位杂交

* 通讯作者:张文庆 E-mail:lsszwq@mail.sysu.edu.cn

褐飞虱类酵母共生菌垂直传播与卵黄发生的关系

许益鹏* 南国辉 韩善捷 赵晨星 俞叶微 俞晓平**

(浙江省生物计量及检验检疫重点实验室,中国计量大学,杭州,310018)

褐飞虱(*Nilaparvata lugens* Stål)作为重要的水稻害虫,其生长、发育、繁殖以及致害性变异与其体内垂直传播的类酵母共生菌(yeast-like symbiont, YLS)密切相关,但目前,关于类酵母共生菌垂直传播机制的研究较少。通过长期观察,我们发现,只有在褐飞虱处于卵黄发生时类酵母共生菌才会进入褐飞虱的卵母细胞,而类酵母共生菌大量进入卵母细胞的时间与卵黄蛋白原和卵黄蛋白原受体的表达量显著增加的时间一致,因而,我们认为褐飞虱类酵母共生菌的垂直传播受到卵黄发生的影响。通过解剖实验,我们确认了卵泡的卵黄发生程度与类酵母共生菌入卵情况存在相关性,并且只有在卵泡卵黄发生进入后期时,类酵母共生菌才会进入卵母细胞。后续实验发现,卵黄发生过程中,卵泡的滤泡细胞发生改变,并演化出上皮栓这一特殊结构,以供类酵母共生菌进入卵母细胞。再者,在卵黄发生时,卵黄蛋白原和其它脂类物质在卵母细胞后端和上皮栓处有大量的分布,形成极化现象,这可能与类酵母共生菌从卵母细胞的后端进入卵母细胞有关。同时,卵黄发生过程中,Actin 形成“Actin 桥”,帮助类酵母共生菌从上皮栓运动进入卵母细胞。进一步地,通过体外施加早熟素和 RNAi 干扰,也验证了类酵母共生菌进入褐飞虱卵母细胞与卵黄发生的相关性。所有证据显示,卵黄发生激发类酵母共生菌进入褐飞虱卵母细胞。

关键词 褐飞虱,类酵母共生菌,垂直传播,经卵传播,卵黄发生

* 许益鹏:副教授,xyp@cjlu.edu.cn

** 俞晓平:研究员,yxp@cjlu.edu.cn

两种不同方法收集的植物根部挥发性组分成分分析^{*}

孟海林 舒金平^{**} 王浩杰

(中国林业科学研究院亚热带林业研究所,浙江富阳,311400)

【目的】金针虫是当前全球危害最为猖獗的地下害虫类群之一,其危害周期长、隐蔽性强,种群动态监测及防治一直是植物保护工作的重点和难点。近年来,在我国南方竹区爆发成灾。通过竹林金针虫在土壤中寄主识别机制的探索,为研发高效的金针虫引诱剂进行害虫行为调控提供理论支持。【方法】采用固相微萃取法和动态吸附法收集寄主植物玉米和小麦幼苗根部挥发物,并利用气象色谱-质谱联用仪(GC-MS)分别对两种方法收集的挥发性物质进行化学成分分析鉴定。【结果】应用固相微萃取法收集到玉米根部挥发物有雪松烯、桉树脑、己醛、L-薄荷醇、正十四碳烷等 18 种物质,其中雪松烯的相对含量为 43%、桉树脑为 16.21%、己醛为 12.10%、醇类 10%、烷烃为 4.34%;小麦根部主要挥发物有 17 种,其中樟脑的相对含量最高,为 26.94%、 α -柏木烯为 15.89%、醛类占 13.05%。动态吸附法收集到玉米根部挥发物 16 种,主要成分有雪松烯、 α -蒎烯、樟脑等,其中雪松烯的相对含量为 26.42%、 α -蒎烯为 16.94%、樟脑 15.50%;小麦根部挥发物 22 种,主要成分有 β -柏木烯、雪松烯、樟脑等,其中 β -柏木烯的相对含量为 33.38%、雪松烯为 17.69%、樟脑为 15.74%、 α -蒎烯为 9.65%。【结论】两种方法收集到的挥发物主要以萜烯、醇类、烷烃、醛类为主,研究表明 α -蒎烯为甘蓝地种蝇 *Delia radicum*、松树皮象 *Hylobius abietis* 和小蠹虫 *Hylastus nigrinus* 定位寄主植物的信息物质; β -蒎烯为小蠹虫定位寄主植物的信息物质;己醛为甘蓝地种蝇、洋葱地种蝇 *Delia antiqua* 定位寄主植物的信息物质。此外,单萜在鳃金龟 *Melolontha hippocastani* 定位寄主的过程中发挥着重要作用。为了明确对竹林金针虫定位寄主有一定影响的挥发物,今后需要进一步开展相关的生测实验。

关键词 竹林金针虫,根部挥发物,固相微萃取法,动态吸附法,气-质联用

^{*} 基金项目:“十二五”国家科技支撑计划(2012BAD23B0402)和林业公益性行业重大科研专项(201304403)

^{**} 通讯作者:shu_jinping001@163.com

外源水杨酸处理对烟粉虱的趋避作用

史晓斌^{1,2} 张友军^{2*} 刘 勇^{1*}

(1. 湖南省农业科学院植物保护研究所, 长沙, 410125;

2. 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京, 100081)

烟粉虱是一种重要的农业害虫, 目前在我国发生的主要是 Q 型和 B 型烟粉虱。烟粉虱通过传播病毒造成的危害远远高于自身取食造成的危害。其中, 烟粉虱传播的番茄黄化曲叶病毒病给蔬菜生产造成了严重的损失。水杨酸是一种重要的植物信号物质, 在植物防御过程中发挥着重要作用。我们研究了外源水杨酸处理植物对携带病毒的和未携带病毒的 B、Q 型烟粉虱的选择行为的影响, 选取了三水杨酸浓度 0.01 mM、0.1 mM 和 1 mM, 观察烟粉虱对水杨酸处理植物的选择性, 发现外源水杨酸处理对烟粉虱有趋避作用, 烟粉虱明显趋向于对照植物。随着浓度的升高, 水杨酸处理植物上的烟粉虱数量明显减少, 其中带毒 Q 型烟粉虱的选择性最低, 只有浓度为 1mM 时才明显趋向于未用水杨酸处理的植物。我们收集了外源水杨酸处理植物的挥发物, 发现外源水杨酸处理番茄后比未处理的番茄增加了两种挥发物甲基水杨酸和 δ -柠檬烯。我们用 Y-型管观察烟粉虱对甲基水杨酸和 δ -柠檬烯的选择性, 发现烟粉虱对甲基水杨酸和 δ -柠檬烯都有明显的趋避作用。综上所述, 外源水杨酸处理的番茄增加了挥发物甲基水杨酸和 δ -柠檬烯的释放, 从而增强了对烟粉虱的趋避作用, 然而携带病毒的 Q 型烟粉虱对趋避性挥发物的敏感度降低, 这一现象值得深入研究。

关键词 烟粉虱, 水杨酸, 选择性, 挥发物

* 通讯作者

一种危险性有害生物——斑翅果蝇 *Drosophila suzukii*

郑雅楠¹ 刘佩旋¹ 刘 成² 黄国辉³

(1.沈阳农业大学 林学院,沈阳,110866;2.辽宁省果树科学研究所,营口,115009;

3.辽东学院,丹东,118001)

斑翅果蝇 *Drosophila suzukii* Matsumura 是一种危害浆果、樱桃、葡萄和桃等软皮水果的全球性害虫。该种果蝇不同于其他不危害的果蝇种类,由于其雌成虫产卵器发达,可刺破健康的成熟或亚成熟(非软烂)果实的果皮产卵。幼虫在果实内部取食发育,使被害果实腐烂变质,产卵造成的伤口还会引发真菌、细菌等病害,严重影响果实的商品价值。斑翅果蝇的原产地为东亚地区,1916年,日本人最早发现了该害虫,并在1931年首次进行了记载。该果蝇侵入美国后,2008年首次在加州地区造成危害,短短几年内就迅速在北美洲、欧洲和南美洲的30多个国家和地区传播和扩散,给当地的水果产业造成了严重的危害。近几年,我国也开始有斑翅果蝇分布和危害的报道,目前已在广西、贵州、云南、湖北、浙江、河南和山东和辽宁等地区发现该害虫。2016年6月至9月,我们对辽宁省浆果和樱桃种植园内斑翅果蝇的危害情况进行了调查,在樱桃、蓝莓和树莓的果实上均发现了该害虫,虽然目前并未造成严重危害,但对秋季晚熟品种的果品质量具有潜在威胁。同时,在采集的野生浆果上也发现了大量斑翅果蝇。目前,作为斑翅果蝇的危害国,欧美国家所采用的防治策略主要依赖杀虫剂,而化学农药的频繁使用,会导致果实农残超标、环境污染等一系列问题。因此,越来越多的研究者开始探索如何在减少农药施用的基础上,利用生物防治的方法有效地控制斑翅果蝇的种群数量。考虑到作为斑翅果蝇的原产地,我国很有可能具有丰富的生防天敌资源,在辽宁省调查该害虫分布和危害的同时,我们也对其野外寄生性天敌进行了调查,这些天敌的发现将为斑翅果蝇生物防治技术的研究提供有效的资源。

关键词 浆果,斑翅果蝇,危害,生物防治

不同植物食料对水稻二化螟生长发育的影响

龚朝辉* 龚航莲** 敖新萍

(1.萍乡市农技站,萍乡 337000;2.萍乡市植保站,萍乡,33700;

3.芦溪县银河国家农业示范园,芦溪,337052)

水稻二化螟[*chito suppressalis(walker)*]是杂食性害虫,2014年至2016年在萍乡连陂观察区应用不同植物食料对其生长发育的影响,验证纯一季稻区水稻收割后二化螟能否转移到其他植物上危害。试验选用了杂草稻(*oryza sativa L.f.spontanea*)、野生稻、(*O.rufiogon griff*)茭白 *zianialafifolia (griseb)stapf*, 高粱 *sorghum (L.)moench*, 油菜 *brassica chinensis L.* 稗 *Echinochloa crusglli (L)beaur* 李氏禾(游草) *Leeysia hexandra swartz*、辣椒 *capsicum frutescensl.* 紫之英 *Astragalus sinicusl.* 9种植物食料及水稻作对照,对二化螟进行群体饲养。其方法是,从2014年4月上旬开始到2016年连续进行了三年的观察。应用尼龙沙布做成长2mx宽1.5mx高1m饲养笼,地点在萍乡市连陂观察区二组水稻田中进行10个处理,3次重复,每个处理投放二化螟蚁螟幼虫30条,进行群体饲养,每年饲养三代,第一代4月上旬-5月下旬,第二代6月上旬-7月下旬,第三代8月上旬-10月初。其结果是:杂草稻、野生稻、茭白、高粱、油菜能全部完成世代发育,个体发育以高粱、茭白最优,杂草稻、野生稻次之,最差的是油菜。而李氏禾(游草)第一代接虫后,二龄幼虫后出现大量死亡现象,第二代、第三代均查不到活虫;稗草第一代接虫后,虫体变小,第二代、第三代查不到活虫;紫云英第一代接虫后,能完成世代发育,第二代幼虫死亡率45%左右,第三代幼虫死亡率在80%以上;辣椒第一代接虫后一龄幼虫死亡率高,第二代、第三代查不到活虫。从试验结果分析,萍乡市连陂观察区一季稻收割后,二化螟可以转移到杂草稻、野生稻、高粱、茭白、油菜上进行转移危害,但因观察区杂草稻发生量少,而野生稻只作品种资源引进量有限;二化螟可转株危害,但不产生量变。时下高粱与茭白都已进入收获期,油菜、紫云英有的未播种,播种早的仍为苗期,尤其是二化螟在李氏禾(游草)、稗草、辣椒上无法完成世代发育,这是造成纯一季稻区二化螟年年递减的重要原因之一。

关键词 不同植物食料,水稻二化螟,生育发育

* 作者简介:龚朝辉,男,学士学位,农艺师,研究方向:病虫中长期测报及病虫综合治理。Tel.13970592399
E-mail:26537383@qq.com

** 通讯作者,Tel.138799900267,E-mail:ghl1942916@sina.com

大豆食心虫成虫产卵对寄主表观性状的选择性

吕德东 秦昊东 高 宇 崔 娟 史树森

(吉林农业大学农学院,长春,130118)

为明确大豆品种对大豆食心虫成虫产卵选择的抗性机制,以4个不同抗性水平的大豆品种(系)为材料进行了大豆食心虫成虫产卵选择性试验,研究分析了豆荚株位、豆荚大小、荚毛长度、荚毛密度、荚毛颜色等特征性状与成虫着卵量的关系。结果表明:在相同环境条件下,品种间着卵量存在显著差异,在豆株上大豆食心虫成虫喜于中、下部豆荚上产卵;着卵量与豆荚大小呈显著正相关,模型为 $y \text{ 荚长} = 3.1642 / (1 + \exp(33.2713 - 13.3663x))$ ($F=20.120, P=0.010, R=0.550$),且成虫更喜欢在3-5cm长的豆荚产卵;着卵量与荚毛长度呈显著负相关,模型为 $y \text{ 毛长} = 1356.4635 / (1 + \exp(3.3949 + 1.2865x))$ ($F=170.235, P=0.000, R=0.915$);与荚毛密度呈正相关,模型为 $y \text{ 密度} = 1 / (0.278769 + 2379750.0228 * \exp(-x))$ ($F=91.518, P=0.134, R=0.656$)。在同样大小的豆荚上成虫产卵更青睐于荚毛短、密度大的大豆品种。可见,豆荚荚毛长度、密度等品种特征影响其对大豆食心虫产卵选择抗性的水平,而大豆播种期和品种生育期的不同可能导致其结荚鼓粒期与大豆食心虫成虫盛发期的吻合程度,亦可显著影响其田间落卵量。

关键词 大豆,大豆食心虫,产卵选择,抗选择性,相关性分析

淡脉粘虫各龄幼虫在 4 种寄主植物上的取食选择性

蒋 婷^{1a,2} 黄 芊^{1a} 蒋显斌^{1a} 凌 炎^{1b} 符诚强^{1a} 龙丽萍^{1a*} 黄凤宽^{1b} 黄所生^{1b}

吴碧球^{1b} 李 成^{1b}

(1 广西农业科学院 a 水稻研究所/广西水稻遗传育种重点实验室;b 植物保护研究所/广西作物病虫害生物学重点实验室,南宁,530007;2 广西大学农学院,南宁,530005)

【目的】淡脉粘虫 *Leucania roseilinea*(Walker)属鳞翅目 Lepidoptera 夜蛾科 Noctuidae,喜食禾本科植物。在对粮食作物的害虫调查时发现淡脉粘虫对水稻和玉米有一定程度上的危害,造成作物产量跟质量都有所下降。广西作为重要甘蔗产区,甘蔗大量种植,越冬调查中发现粘虫老熟幼虫在甘蔗宿根危害,同时禾本科杂草稗草也是其栖身之所,所以进一步研究淡脉粘虫各龄幼虫在玉米、水稻、甘蔗和稗草 4 种寄主植物上的取食选择性,为深入了解淡脉粘虫在各寄主植物上的危害规律提供科学依据。【方法】在实验室条件下,采用叶碟改进法比较研究了淡脉粘虫 1 至 6 龄幼虫对 4 种寄主植物的取食选择行为,并分别于 6h 和 24h 记录在各寄主植物上的取食选择率。【结果】1、各龄幼虫在 6h 和 24h 时对 4 种寄主植物的取食选择率均有变化,属 6 龄幼虫取食选择率变化最大,6h 时,在玉米、水稻和稗草上的取食选择率差异不显著,稗草和甘蔗之间差异不显著,24h 时,在水稻上的取食选择率显著高于其他 3 种寄主植物,在玉米、甘蔗和稗草之间差异不显著;2、1 至 6 龄幼虫均偏好取食水稻,其中 1 龄和 5 龄幼虫对水稻的取食选择率显著高于其他 3 种寄主植物,1 龄和 2 龄幼虫在水稻上的取食选择率在 24h 均超过 50%(分别为 67%和 51%);3、2 至 4 龄幼虫在水稻和玉米上的取食选择率显著高于甘蔗和稗草,但水稻与玉米之间,甘蔗与稗草之间的取食选择率差异不显著;4、各龄幼虫对甘蔗和稗草的取食选择性较弱,在甘蔗和稗草上的取食选择率差异均不显著;5、各龄幼虫均存在有暂时不选择取食的行为,6 龄幼虫在 24h 时不取食选择率达 16%,除了在水稻上的取食选择率高于不取食选择率外,在其余 3 种寄主植物上的取食选择率与不取食选择率均差异不显著。【结论】淡脉粘虫各龄幼虫嗜食水稻和玉米,随着龄期的增长幼虫对甘蔗和稗草的取食选择性有一定的增强。

关键词 淡脉粘虫,寄主植物,取食选择率,叶碟改进法

田间常用除草剂对昆虫病原线虫存活的影响^{*}

武海斌^{1,2**} 宫庆涛¹ 张坤鹏¹ 许永玉² 付 丽¹ 孙瑞红^{1***}

(1. 山东省果树研究所, 山东泰安, 271000; 2. 山东农业大学植物保护学院, 山东泰安, 271000)

【目的】昆虫病原线虫作为一种有效的生防因子,已广泛应用于防治地下害虫。然而,昆虫病原线虫防治效果受到很多因素的影响。为有效发挥昆虫病原线虫寄生害虫的作用,明确田间常用除草剂对线虫存活的影响至关重要。【方法】通过采用单因素试验,研究不同浓度、不同时间内田间常用的 33% 的二甲戊灵乳油和 10% 的精喹禾灵乳油两种除草剂对三种昆虫病原线虫嗜菌异小杆线虫 *Heterorhabditis bacteriophora* H06、长尾斯氏线虫 *Steinernema longicaudum* X-7、印度异小杆线虫 *Heterorhabditis indica* LN2 存活的影响。将线虫悬浮液以 1:100 的比例分别与不同浓度梯度的除草剂混合,每个处理设 4 次重复,以蒸馏水配制的线虫悬浮液作空白对照。在(25±1)℃的条件下放置,分别于 24、48 和 72h 随机检查 0.05mL 混合液中线虫的死亡数量,计算死亡率。【结果】二甲戊灵、精喹禾灵在较高浓度下对线虫致死作用显著,并且随着处理时间延长,死亡率增加。【结论】在田间应用昆虫病原线虫时,应避免二甲戊灵,精喹禾灵与昆虫病原线虫同时施用,降低除草剂对昆虫病原线虫侵染寄主能力的影响,从而更好的发挥昆虫病原线虫寄生天敌的作用。

* 基金项目:山东省农业科学院青年科研基金(2015YQN30)

** 第一作者:First author, E-mail:jinghaijiangxuan@126.com

*** 通讯作者:Corresponding author, E-mail:sruihong@126.com

烟粉虱传播的 ToCV 和 TYLCV 对不同番茄品种的复合侵染检测 *

代惠洁^{1,2**} 刘永光² 竺晓平¹ 刘永杰^{***} 赵 静^{2***}

(1. 山东农业大学植物保护学院, 泰安, 271018; 2. 潍坊科技学院, 寿光, 262700)

【目的】近几年,番茄褪绿病毒(Tomato chlorosis virus, ToCV)在我国多地番茄作物上普遍爆发、流行,造成了严重的经济损失。研究发现 ToCV 与我国番茄生产中另一重要病毒病番茄黄化曲叶病毒(Tomato yellow leaf curl virus, TYLCV)可以复合侵染番茄,且两种病毒均可以由烟粉虱传播。因此,明确 ToCV 与 TYLCV 对我国设施番茄复合侵染以及烟粉虱对这两种病毒的传播至关重要,可为这两种病毒的致病机理、协同传播机制研究和综合防治提供理论依据。【方法】2015 年 11 月在山东寿光地区温室内采集 15 个番茄品种的疑似发病植株叶片,利用分子检测技术对 ToCV(RT-PCR 检测)和 TYLCV(PCR 检测)进行鉴定,以确定不同番茄品种上这两种病毒的复合侵染情况;采用五点取样法采集温室内发病番茄植株上的烟粉虱成虫,并检测烟粉虱体内这两种病毒的带毒率。【结果】ToCV 与 TYLCV 复合侵染番茄致使植株长势矮小,叶片脉间褪绿黄化、叶片边缘卷曲、叶片皱缩,后期叶片变厚、变脆,果实变小,产量和品质明显下降。不同番茄品种 ToCV 与 TYLCV 的复合侵染率存在明显差异,在采集的 15 个供试番茄品种中 ToCV 与 TYLCV 的复合侵染率最高可达 73.3%,樱桃番茄的复合侵染率明显低于其他 13 个大果番茄品种的复合侵染率。此外,在发病番茄植株上采集的烟粉虱种群体内可检测到 ToCV 与 TYLCV,其中烟粉虱体内 ToCV 带毒率为 90.7%,TYLCV 带毒率为 80.0%,同时检测到 ToCV 与 TYLCV 的几率为 71.3%。【结论】ToCV 与 TYLCV 的复合侵染加上传毒介体烟粉虱的媒介作用已严重威胁我国番茄生产。目前,抗病品种的应用使 TYLCV 得到一定程度的控制,但是国际上尚未发现有抗 ToCV 的番茄品种,因此,通过防控传毒介体烟粉虱来控制 ToCV 与 TYLCV 的流行是非常重要的。

关键词 番茄褪绿病毒,番茄黄化曲叶病毒,复合侵染,烟粉虱,传毒

* 基金项目:山东省自然科学基金(ZR2015CQ022);国家公益性行业(农业)科研专项(201303028);山东省农业重大应用技术创新课题

**E-mail:climsion@126.com

***E-mail:zhjlovely@163.com;lyj@sdaa.edu.cn

二化螟不同寄主种群的分化机制研究^{*}

钟海英^{**} 张珏锋 李 芳 陈建明^{***}

(浙江省农业科学院植物保护与微生物研究所,浙江杭州,310021)

二化螟(*Chilo suppressalis* Walker)是我国水稻、茭白重要的钻蛀性害虫,发生量大,为害严重。经过长期的适应进化,二化螟在表型上已逐渐分化为水稻种群和茭白种群。本文利用形态学、微生物学、转录组学技术,比较研究二化螟水稻、茭白种群的超微结构差异和分化机制。结果表明:(1)不同种群二化螟不同龄期幼虫的口器和触角构造及感器的形态、数目及分布均相似,但不同种群间鞭节和下颚须感器数目存在显著差异,其中茭白种群鞭节分布 1 个栓锥感器和 2 个锥形感器,下颚须顶端分布 5 个锥形感器和 3 个柱形感器;水稻种群鞭节则分布 1 个栓锥感器和 1 个锥形感器,下颚须顶端分布 4 个锥形感器和 4 个柱形感器。感器长度在两种群间也存有一定差异。(2)二个种群幼虫中肠转录组分析获得 126323 个 Unigene,其中 32788 个注释到 NR 库,14959 个注释到 COG 库,24385 个注释 GO 条目的三个本体(细胞组分、分子功能、生物学过程);22673 个注释到 230 条 Pathways。筛选获得茭白种群相对于水稻种群表达差异的 1633 个 Unigene,其中上调基因 932 个,下调基因 701 个。差异基因显著富集于代谢过程、酶调节活性及结合功能相关的本体,主要参与解毒、营养物质代谢与吸收等相关通路。(3)不同种群二化螟肠道细菌多样性差异显著,其中水稻种群细菌类群以变形菌门、 γ -变形菌纲为主,厚壁菌门、芽孢杆菌纲次之,茭白种群细菌类群与水稻种群相反,以厚壁菌门、芽孢杆菌纲为主,变形菌门、 γ -变形菌纲菌次之。研究结果显示,二化螟中肠细菌类群比例的改变很可能与其取食的寄主食物差异或者种群分化有关。

关键词 二化螟,茭白种群,水稻种群,肠道细菌多样性,种群分化

^{*} 基金项目:浙江省自然科学基金(Y16C140015);浙江省博士后科学基金(BSH1502055);浙江省公益性技术应用研究项目(2016C32G4010117)

^{**} 作者简介:钟海英(1984 年-),女,博士,助理研究员,主要从事昆虫形态和生理生化研究,E-mail: zhy8085@163.com

^{***} 通讯作者:陈建明,博士,研究员,E-mail: chenjm63@163.com

三种稻飞虱体内细菌多样性分析^{*}

张珏锋^{**} 李 芳 钟海英 陈建明^{***}

(浙江省农业科学院植物保护与微生物研究所,浙江杭州,310021)

褐飞虱(*Nilaparvata lugens* Stål),白背飞虱(*Sogatella furcifera* Horvath)和灰飞虱(*Laodelphax striatella* Fallén)是我国长江中下游地区水稻产区的重要害虫。昆虫体内共生细菌在寄主的抗性发展、营养补充和繁殖等方面起着重要作用,共生细菌的这些功能为田间病虫害防治提供新的策略。

本研究利用 Misseq 测序技术分析褐飞虱,白背飞虱和灰飞虱体内细菌多样性。结果表明,经过以上处理后三种稻飞虱(9 个样本)共得到 3.44×10^5 序列,平均长度为 447.78bp,其中 401–500bp 长度的片段占总片段的 99.99%。其中白背飞虱获得的有效序列及碱基数明显多于褐飞虱和白背飞虱,三种飞虱序列的平均长度无显著差异。三种飞虱体内的细菌群落结构、丰富度存在差异,白背飞虱种群体内共生细菌的丰富度高于褐飞虱和灰飞虱种群。三种飞虱种群体内优势微生物属于 7 纲 (γ -proteobacteria, α -proteobacteria, β -proteobacteria,Bacillif, Actinobacteria, Cytophagia, Sphingobacteriia)21 属。在检测到的 21 种共生肠道微生物中, *Wolbachia*、*Arsenophonus* 等 12 个属已在飞虱中有报道, *Kocuria*、*Yersinia* 等 9 个属未见报道。三种飞虱体内优势菌的相对丰度也存在显著差异,我们推测,虽然 3 种飞虱体内微生物群落结构复杂,微生物多样性高,但从优势微生物的相对丰度而言,昆虫体内占主导地位的微生物不易受外界因子的影响而发生改变。研究报道, *Wolbachia*、*Arsenophonu*、*Candidatus Cardinium* 等三种微生物与昆虫的生殖抑制现象有关,此次测序结果显示白背飞虱体内同时存在这三种菌,灰飞虱体内仅存在 *Wolbachia*, 褐飞虱仅 *Arsenophonus*。三种稻飞虱中检测到的 *Halomonas*、*Acinetibacter*、*Aliihoe flea*、*Stenotrophomonas*、*Sphingobacterium* 都与外源有毒化学物质的降解功能有关。研究结果显示,三种稻飞虱体内共生微生物在细菌群落结构、丰富度和功能侧重上均存在差异,灰飞虱与白背飞虱体内存在影响寄主生殖的微生物,褐飞虱体内存在与外源化学物质降解有关的微生物,说明外界环境因子对昆虫体内微生物的结构、功能转变以及环境微生物在昆虫体内存在、定殖具有较强的诱导作用。

关键词 褐飞虱,白背飞虱,灰飞虱,细菌多样性,Misseq 测序技术

^{*} 浙江省自然科学基金(Y13C140025);浙江省农科院-中国科学院合作项目(2012R17Y01E04)

^{**} 作者简介:张珏锋(1978 年—),女,硕士,助理研究员,主要从事昆虫生理生化与分子生物学研究,E-mail: zhangjuefeng@sina.com

^{***} 通讯作者:陈建明,博士,研究员,Email:chenjm63@163.com

黄胸蓟马对乙基多杀菌素的抗性适合度分析

付步礼¹ 李 强^{1,2} 夏西亚^{1,3} 唐良德¹ 谢艺贤¹ 曾东强² 符悦冠¹ 刘 奎^{1*}

(1. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所,海口,571101;2. 广西大学农药与环境毒理研究所,南宁,530005;3. 华中农业大学植物科学技术学院,湖北武汉,430070)

【目的】评估比较黄胸蓟马[*Thrips hawaiiensis* (Morgan)]抗乙基多杀菌素品系与敏感品系的基本生物学特性,明确黄胸蓟马对乙基多杀菌素的抗性规律及抗性风险,为该虫的科学防治和合理用药提供理论依据。【方法】采用群体淘汰法获得黄胸蓟马对乙基多杀菌素的抗性品系,并与实验室敏感品系比较,观察记录其生物学特性;组建抗性、敏感品系生命表参数,并基于净生殖率(R_0)计算抗性品系的抗性适合度。【结果】与敏感品系相比,黄胸蓟马抗乙基多杀菌素种群的发育历期(卵-成虫)延长,成虫存活率、寿命均显著下降,繁殖力显著降低;生命表参数显示黄胸蓟马抗乙基多杀菌素品系的净生殖率(R_0)=14.4905、内禀增长率(r_m)=0.1164、周限增长率(λ)=1.1235、平均世代周期(T)=22.9567 d、种群加倍时间(t)=5.9518 d;经 R_0 计算得到的抗性适合度为 0.42。【结论】黄胸蓟马抗乙基多杀菌素品系存在生物适合度代价,其繁殖力、种群增长受到抑制,具有生存劣势。

关键词 黄胸蓟马,乙基多杀菌素,抗药性,生物学,抗性适合度

* 通讯作者

黄胸蓟马对乙基多杀菌素的抗性选育及抗性风险评估

付步礼¹ 夏西亚^{1,2} 李 强^{1,3} 唐良德¹ 谢艺贤¹ 曾东强³ 符悦冠¹ 刘 奎^{1*}

(1. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所,海口,571101;2. 华中农业大学植物科学技术学院,湖北武汉,430070; 3. 广西大学农药与环境毒理研究所,南宁,530005)

【目的】评估了黄胸蓟马 [*Thrips hawaiiensis* (Morgan)] 对乙基多杀菌素的抗性发展动态、抗性风险,旨在为该虫的科学防治及合理用药提供理论依据。【方法】毒力测定采用叶管药膜法 (TIBS),采用群体淘汰法获得黄胸蓟马对乙基多杀菌素的抗性品系,并采用 Tabashnik 的域性状分析法计算抗性现实遗传力 (h^2) 和测算不同选择亚下抗性发展速率。【结果】经过 20 代 17 次的选育,黄胸蓟马对乙基多杀菌素的抗性达 19.42 倍,平均抗性现实遗传力 h^2 为 0.1317;根据抗性发展规律,获得 4 个选育阶段的 h^2 , 分别为 0.1960 (G1-G3)、0.1796 (G5-G9)、0.1262 (G11-G14)、0.0944 (G16-G20);通过平均抗性现实遗传力 $h^2=0.1317$,预测不同选择亚(死亡率=50%、60%、70%、80%、90%、99%)下,抗性上升 10 倍所需要的代数分别为:16.68、13.70、11.21、9.52、7.55、2.55 代。【结论】黄胸蓟马对乙基多杀菌素具有一定的抗性风险,应注意科学合理用药。

关键词 黄胸蓟马,乙基多杀菌素,抗药性,害虫治理

* 通讯作者

我国芒果蓟马发生种类及分布^{*}

陈俊谕^{**} 李 磊 韩冬银 牛黎明 张方平 符悦冠^{***}

(中国热带农业科学院环境与植物保护研究所,海口,571101)

【目的】芒果是重要的热带水果之一,近年来蓟马已逐渐成为芒果的重要害虫。明确芒果蓟马的发生种类、优势种和分布特征,可为针对性地进行芒果蓟马的有效防治提供依据。【方法】结合我国芒果的主产区分布区域,选取海南、广西、云南、四川和福建 5 个芒果主产省份进行芒果蓟马发生种类的系统调查,并以海南为重点,跟踪调查芒果不同物候期的蓟马种类,并揭示芒果生态系统中杂草的蓟马种类,基于空间分析工具,分析芒果蓟马的分布特征。【结果】调查发现我国芒果蓟马共有 41 种,隶属 3 科 5 亚科 21 属,其中蓟马科 13 属 31 种,管蓟马科 7 属 9 种,纹蓟马科 1 属 1 种。优势种为黄胸蓟马,占所采集标本总量的 42.55%;其次为花蓟马,所占比例为 31.59%。不同芒果主产区蓟马发生种类存在差异,其中海南有 26 种、云南 23 种、广西 17 种、四川 12 种和福建 7 种,作为重要入侵害虫的西花蓟马仅在云南和四川的芒果园有分布。蓟马发生种类与芒果物候期密切相关,在海南,芒果叶期、花期和果期的蓟马发生种类分别为 5 种、26 种和 3 种,其中芒果叶期和果期的蓟马优势种为茶黄蓟马,芒果花期的优势种为黄胸蓟马和花蓟马,且三亚是芒果蓟马发生为害最严重的地区。以海南东方市岛西林场芒果基地(N19°11'17.03",E108°42'57.3")为代表园区的芒果生态系统中的 13 种杂草上共采集到 8 种蓟马,分属 2 科 6 属。花蓟马为优势种,占所采集标本总数的 36.62%,其在 13 种杂草上均有分布,其次为黄胸蓟马(29.80%)和茶黄蓟马(12.75%)。【结论】我国芒果蓟马种类共有 41 种,优势种为花蓟马和黄胸蓟马;不同地区的蓟马种类组成存在差异,应根据不同产区芒果蓟马所发生种类及其优势种进行针对性防治;不同芒果物候期的蓟马种类和优势种也存在差异,因此在进行综合防治时,可结合当地芒果的物候期对其蓟马优势种采取针对性的防治措施;芒果园内杂草蓟马的种类和优势种同芒果蓟马的发生情况一致,推测芒果生态系统中的杂草为芒果提供了蓟马虫源,建议通过清除园内杂草以降低芒果蓟马的田间种群数量。

关键词 芒果蓟马,种类组成,分布,优势种

^{*} 资助项目:芒果行业科技“芒果产业技术研究与示范”(201203092)

^{**} 作者简介:陈俊谕,女,1988.06,汉族,海南文昌,硕士,E-mail: jychencn@163.com

^{***} 通讯作者:符悦冠,男,1963.10,研究员,E-mail: fygcatas@163.com

害虫发生期自动预警仪

孙 崑^{1**} 程志加² 王金生³ 张娇娇³ 张 强¹ 周佳春¹ 高月波^{1***}

(1. 农业部东北作物有害生物综合治理重点实验室, 吉林省农业科学院植物保护研究所, 公主岭, 136100; 2. 吉林农业大学农学院, 长春, 130118; 3. 哈尔滨师范大学生命科学与技术学院, 哈尔滨, 150000)

有效积温预测法是害虫发生期预测预报的重要方法, 主要是通过了解一种害虫某一虫态或全世代的发育起点温度、有效积温及当时田间的虫期发育进度, 根据近期气象预报的平均温度条件, 推算这种害虫某一虫态或者下一世代的出现期, 以提供害虫的预警信息。但这种方法针对于蛀茎害虫的研究时, 因害虫实际生存于小气候环境中, 实际温度与外界所有差异, 在应用上受到限制。本发明的目的在于提供一种害虫发生期自动预警仪, 其解决了目前使用有效积温预测法推算蛀茎害虫发生期存在的问题; 并可准确计算蛀茎害虫各虫态及全世代的有效积温, 通过外界数据的实时采集、传输, 预测其在田间的发育进度, 对于蛀茎害虫的盛发期起到预警的作用。发明的技术方案是这样实现的, 由环境温度采集系统和自动预报系统组成, 其中环境温度采集系统由太阳能板、铅蓄电池、电子线路板、温度传感器、无线发射器组成, 进行温度参数的实时采集, 然后, 将采集到的数据传给微机内的害虫发生期自动预报系统。害虫发生期自动预报系统, 用于完成采集数据的接收、显示、保存和分析, 直接显示目标害虫的虫态及发育情况, 当目标害虫有效积温满足下一虫态的数值时, 系统自动跳转虫态, 工作人员可根据所显示的信息, 结合目标害虫在此年度的发生程度、温度、湿度信息, 及时发送害虫的预警信息, 及时采取相应的防治措施。

关键词 害虫发生期自动预警仪, 有效积温法, 环境温度采集系统, 自动预报系统

* 资助项目: 公益性行业(农业)科研专项经费(201303026); 吉林省青年科研基金项目(20160520030JH); 吉林省农业科技创新工程重大产业技术领域关键技术研究项目

** 第一作者, E-mail: swwsw1221@sina.com

*** 通讯作者, E-mail: gaoyuebo8328@163.com

马铃薯-大豆、玉米-大豆邻作对大豆食心虫发生的影响^{*}

李东坡^{**} 韩岚岚 程 媛 赵奎军^{***}

(东北农业大学农学院, 哈尔滨, 150030)

【目的】本试验以马铃薯-大豆、玉米-大豆邻作防治大豆食心虫,旨在研究此邻作种植模式对大豆食心虫发生的影响,达到减少农药使用的目的,为进一步防治大豆食心虫提供依据。【方法】2014~2016年,采用系统调查的方法,在黑龙江省哈尔滨市东北农业大学实验基地——向阳基地,分别在马铃薯-大豆邻作的大豆田、玉米-大豆邻作的大豆田和非邻作大豆田5点取样法随机取样,统计被害荚数和健康荚数,计算荚害率和虫食率,所得数据采用DPS方法进行差异显著性分析。【结果】结果表明,对照组(非邻作大豆田)虫食率32.63%明显高于马铃薯-大豆邻作的大豆田虫食率22.38%,两者在($P \leq 0.001$)水平上有显著性差异;对照组虫食率32.63%相比玉米-大豆邻作的大豆田虫食率33.38%稍低,两者在($P \leq 0.05$)水平上有明显差异。【结论】马铃薯-大豆邻作种植模式能起到减少大豆食心虫为害的作用,达到减药的目的。

关键词 邻作, 种植模式, 大豆食心虫, 虫食率

^{*} 资助项目:公益性行业(农业)科研专项经费(201303026);吉林省青年科研基金项目(20160520030JH);吉林省农业科技创新工程重大产业技术领域关键技术研究项目

^{**} 第一作者, E-mail: swwsw1221@sina.com

^{***} 通讯作者, E-mail: gaoyuebo8328@163.com

马铃薯-大豆、玉米-大豆邻作对大豆田主要刺吸式害虫以及其他害虫的种群动态影响^{*}

韩岚岚^{**} 王 坤 李东坡 张雯林 程 媛 赵奎军^{***}

(东北农业大学农学院, 哈尔滨, 150030)

【目的】大豆蚜是危害我国大豆产量的重要刺吸式害虫, 茄无网蚜是近年来在大豆田发生逐渐呈上升趋势的刺吸式害虫, 蚜虫的发生动态严重影响大豆的产量和品质, 本试验调查了马铃薯-大豆、玉米-大豆邻作种植模式对大豆田刺吸式害虫及其他主要害虫的种群动态的影响, 为精准使用农药防控蚜虫提供依据。【方法】采用系统调查的方法, 研究大豆田刺吸式害虫以及天敌的种群动态, 在哈尔滨香坊农场进行马铃薯-大豆、大豆-玉米邻作的种植模式, 对其大豆田中大豆蚜、茄无网蚜等刺吸式口器的害虫及天敌动态发生数量进行调查, 采用 DPS 进行 Duncan 氏新复极差法比较各处理之间的显著性差异分析, SPSS 软件进行试验数据单因素分析。【结果】2014 年与 2015 年玉米-大豆、马铃薯-大豆种植模式的大豆田中的大豆蚜数量明显低于对照田, 2014 年玉米-大豆差异更显著, 2015 年马铃薯-大豆差异性显著。2014 年与 2015 年玉米-大豆、马铃薯-大豆邻作种植模式的大豆田中的茄无网蚜数量显著低于对照田。而 2014 年 8 月温度低于 2015 年虫量相对高于 2015 年, 虫量高时天敌总群动态也相对较高, 达到调控作用。【结论】玉米-大豆、马铃薯-大豆邻作种植模式能够起到减少大豆蚜和茄无网蚜的为害的作用, 并能够减少农药的使用量。

关键词 大豆蚜, 茄无网蚜, 马铃薯-大豆, 玉米-大豆, 种群动态

^{*} 资助项目 Supported projects: 现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-04);

^{**} 作者简介: 韩岚岚, 女, 副教授。 E-mail: hanll_neau@aliyun.com

^{***} 通讯作者, E-mail: kjzhao@163.com

储粮害虫综合防治新技术研究应用

李文辉¹ 郑 妙¹ 张小松¹ 卢木波¹ 张少波¹ 蒋社才² 黄志雄³

(1. 广东省粮食科学研究所, 广东广州, 510050; 2. 中山市储备粮管理有限公司, 广东中山, 528400; 3. 清远市阳山县粮食局, 广东清远, 513100)

针对粮食储存过程中粮食损失严重、防治方法落后的现状, 本文研究分析应用生物防治方法防治储粮害虫的必要性, 经应用 8mg/kg 双氧威、5mg/kg 双氧威+1mg/kg 除虫脲、5mg/kg 双氧威+2mg/kg 除虫脲、8mg/kg 双氧威+2mg/kg 除虫脲、8mg/kg 双氧威+3mg/kg 除虫脲、10mg/kg 双氧威、10mg/kg 双氧威+2mg/kg 除虫脲储存稻谷, 确保稻谷一年基本无虫。研究应用除氧杀虫技术, 用量为 2.5 克/公斤、3.0 克/公斤、3.5 克/公斤、4.0 克/公斤, 对谷蠹、米象、赤拟谷盗及 2.0 克/公斤对赤拟谷盗、谷蠹杀灭效果在 95% 以上。所保管粮食中如有米象害虫时需除氧剂最多。控氧储藏方法实用可行, 对粮食及环境安全, 前景广阔。

随着化学农药的长期和大量使用, 引起环境污染、有害生物产生抗药性和害虫再猖獗等问题。储粮害虫是直接影响粮食品质的重要因素之一, 随着人们对粮食安全及环境保持的要求越来越高的形势下, 农药污染粮食已成为粮食产业发展面临的难题。在虫害日益严重, 而化学农药防治又易造成污染的情况下, 综合防治必将成为首选。

本项研究属于综合防治范畴, 其作用靶标是储粮害虫特有的生长发育过程, 具有高度的选择性, 对人畜安全, 其不同于常规杀虫剂的独特作用方式正逐渐引起人们的重视, 对这类杀虫剂的研究也越来越深入。生物防治及生态防治用于储粮害虫防治, 其作用机理是干扰了害虫的代谢, 影响其生长、发育, 因而可归在生物防治之中。本试验所采用脱氧剂是一种能与氧发生反应从而除去空气中氧气的物质。当除氧剂与储藏物密封在一起时, 除氧剂能将容器中的氧气吸收, 使储藏物处于基本无氧的环境中, 从而免受氧的作用失去原有品质和虫害危害。在低氧环境下发育的昆虫个体与正常环境中发育的个体相比身材更小, 缺乏活力。在低氧环境中, 储粮害虫发育历期会被延长, 引起储藏物害虫改变其生活习性, 成为防治储粮害虫一种安全、高效、经济的防治措施。该方法具有许多优点, 用量少, 杀虫效果好。不会污染环境, 对人和哺乳动物较安全, 不会产生抗药性等。

研究出生物防治剂除具有防效高、持效期长等特点外, 还具有毒性低、无残留等优势, 对人畜安全、不污染环境的特点, 在粮食这种相对限制的空间内, 人工建立“平衡”的生态系统比大田内更容易实现, 而且生物防治方法具有长期效应, 可以节省大量的人力、物力和财力, 应用空间广阔。

脱氧储藏作为一种新型粮食保管方法正在我国和世界各地蓬勃发展, 各种新型的脱氧剂层出不穷如除氧吸收脱氧剂, 除氧吸收水份脱氧剂等等, 新的制备手段和技术使脱氧剂的质量明显提高如超细微制造技术使铁粉粒径可达 10 μ 左右。脱氧剂不仅在粮油食品中得到广泛应用, 而且在果蔬和农林种子等的保鲜保存上也有应用。随着科学和技术的发展, 新型高效的脱氧剂将会不断满足社会市场的发展需求也随之会使我国的储藏领域带来一场革新。

关键词 绿色储粮, 储粮害虫, 生物防治, 双氧威, 除虫脲, 生态防治, 粮食安全

入侵害虫稻水象甲在我国的扩散形势^{*}

姜春燕^{1,2} 刘 慧³ 秦 萌³ 赵守歧³ 张润志^{1,2**}

(1. 中国科学院动物研究所, 北京 100101; 2. 中国科学院大学, 北京, 100049;

3. 全国农业技术推广服务中心, 北京, 100026)

害虫稻水象甲 *Lissorhoptrus oryzophilus* Kuschel 原产美国, 目前已入侵加拿大、墨西哥、古巴、意大利、印度、日本、韩国、朝鲜和中国。我国于 1988 年在河北省唐海县首次发现其入侵危害, 目前呈现扩散速度加快的趋势, 危害形势更加严峻。我们依托全国各有关省区植物保护和植物检疫部门, 利用黑光灯诱集、田间普查等, 发现目前已经在全国 24 省区 369 个县市发生危害, 在我国的华北、东北、西北、华中、华南、华东和西南地区均有发生危害。从 2011 到 2015 年, 稻水象甲入侵扩散的就增加了 4 个省 121 个县市, 尤其在西南地区、华东地区、新疆以及山东胶东半岛等扩散速度明显加快(图 1)。成虫沿稻叶叶脉啃食叶肉, 留下长短不等的白色长条斑。幼虫咬食稻根, 造成断根, 使稻株生长矮小, 分蘖数减少, 稻谷千粒重下降, 从而影响产量。根据全国农业技术推广服务中心和农业部规划设计院最新研究表明, 稻水象甲在我国华南、华东、西南、华北和东北的主要水稻生产区均适合其生存, 适生程度强, 潜在危害很大(图 2)。尽管稻水象甲在我国发生范围广, 但其分布为点状, 实际发生区仅占水稻种植面积的 4%。因此, 加强稻水象甲认为传播成为组织扩散蔓延的关键环节。切实做好对稻水象甲发生区的检疫监管并阻断稻秧、稻谷及其寄主材料调运传播途径, 加强水流、物流管控等, 才能有效控制其传播扩散。

关键词 稻水象甲, 分布, 扩散, 入侵害虫, 水稻

^{*} 农业部“农作物病虫鼠害疫情监测与防治项目(10162130108235039)”资助

^{**} 通讯作者, zhangrz@ioz.ac.cn

转基因水稻对褐飞虱肠道细菌组成的影响^{*}

李 强^{1,2,3,4,5**} 夏晓峰^{1,2,3,4,5} 林 胜^{1,2,3,4,5***} 尤民生^{1,2,3,4,5***}

(1. 省部共建闽台作物有害生物防控国家重点实验室; 2. 福建农林大学应用生态研究所;
3. 闽台特色作物病虫生态防控协同创新中心; 4. 农业部闽台作物有害生物综合治理重点实验室;
5. 福建省昆虫生态学重点实验室, 福州, 350002)

昆虫肠道内集聚着大量的微生物, 这些微生物对寄主的食物消化、生长繁殖以及抵御病原菌都起着重要的作用。本文利用传统微生物纯培养法分别从取食非转基因水稻闽恢 3301 (MH3301)(CK) 和转 cryIAb 基因抗虫水稻 (mf-MH3301-1)(Bt) 的褐飞虱肠道内分离细菌, 以便深入研究褐飞虱若虫肠道微生物的群落结构及其功能。研究结果显示在取食非转基因水稻的褐飞虱肠道内分离得到 14 株细菌, 经 16S rDNA 分子鉴定, 分属于 *Pantoea* (7 株), *Staphylococcus* (2 株), *Acinetobacter* (2 株), *Microbacterium* (1 株), *Herbaspirillum* (1 株) 5 个属, 其中 11 株菌均归类于变形菌门 Proteobacteria (9 株菌是 γ -变形菌纲 Gammaproteobacteria, 1 株菌是 β -变形菌纲 Betaproteobacteria), 2 株菌归类于厚壁菌门 Firmicutes, 1 株菌归类于放线菌门 Actinobacteria, 表明取食非转基因水稻褐飞虱肠道内可培养菌的优势菌群为变形菌门 Proteobacteria。在取食 Bt 水稻褐飞虱肠道内也分离得到 14 株细菌, 分属于 *Enterobacter* (3 株), *Megasphaera* (2 株), *Burkholderia* (4 株), *Staphylococcus* (3 株), *Acinetobacter* (1 株), *Pantoea* (1 株) 6 个属, 其中 9 株属于变形菌门 (5 株菌是 γ -变形菌纲 Gammaproteobacteria, 4 株菌是 β -变形菌纲 Betaproteobacteria), 5 株属于厚壁菌门 Firmicutes, 取 Bt 水稻褐飞虱肠道内优势菌群依然是变形菌门 Proteobacteria, 但是厚壁菌门数量高于取食非转基因水稻的褐飞虱。本研究为后续深入研究褐飞虱肠道共生细菌的功能, 以及转基因水稻对非靶标生物肠道细菌的影响提供了材料和基础。

关键词 Bt 水稻, 生态安全, *Nilaparvata lugens* (Stål), 肠道微生物, 非靶标效应

^{*} 资助项目: 国家自然科学基金项目 (31300464); 国家转基因专项 (2016ZX08011001); 高校博士点基金 (20123515120001)。

^{**} 第一作者, 1262553004@qq.com

^{***} 通讯作者, linsn001@163.com; msyou@iae.fjau.edu.cn

外来种——刺槐叶瘿蚊

姚艳霞 尚兴朴 赵文霞 淮稳霞

(中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所,北京,100091)

刺槐叶瘿蚊 *Obolodiplosis robiniae* (Haldeman) (双翅目:瘿蚊科)是我国重要的外来有害生物,主要危害刺槐属(*Robinia*)的刺槐、香花槐、四倍体刺槐当年生嫩叶。被害叶片边缘向背面卷曲,后期卷曲部分出现干枯,影响刺槐的健康生长。该害虫由 Haldeman 于 1847 年在宾夕法尼亚州发现,一个多世纪仅分布于北美东部地区。然而,自本世纪初期亚洲(日本、韩国,2002 年)和欧洲(意大利,2003 年)相继报道发现该害虫以来,在短短十年内,刺槐叶瘿蚊已在欧洲 20 多个国家和地区发生危害,因而引起了世界各国的广泛关注。我国于 2004 年在河北省秦皇岛市首次发现,截止目前,我们已经在全国 23 个省、市、自治区的 38 个地区(市)进行摸查采样,其中共有 17 个省、市、自治区的 30 个地区(市)采集到成(幼)虫,并运用分子标记技术对其遗传变异进行了研究,最终 UPGMA 聚类分析显示我国刺槐叶瘿蚊种群聚为三大类。此外,值得一提的是刺槐叶瘿蚊在自然界中被刺槐瘿蚊广腹细蜂(*Platygaster robinia*)寄生,而且寄生率较高,特别是在刺槐叶瘿蚊发生几代以后,天敌种群数量大大增加,导致刺槐叶瘿蚊成虫羽化率很低,并且这种寄生蜂在其原产地(作者曾在美国纽约州 Goat Island 和 Finger Lakes 采集到刺槐叶瘿蚊和刺槐瘿蚊广腹细蜂)与新入侵地均有分布,因此,是否天敌与其寄主同时传播,还是这种该天敌为世界广布种尚待进一步验证。

关键词 外来种,刺槐叶瘿蚊,遗传变异,扩散传播,天敌

马尾松新害虫——松树材小蠹 *Xyleborus pinicola* 和 山民瘤小蠹 *Orthotomicus chaokhao*

李 猷¹ Craig Bateman¹ James Skelton¹ 郭建军² Jiri Hulcr¹

(1. University of Florida, Gainesville, Florida, USA 32603;

2. 贵州大学昆虫研究所, 贵阳, 550025)

【目的】在对我国福建、贵州和云南三省马尾松林钻蛀性害虫的调查中新发现两种小蠹害虫——松树材小蠹 *Xyleborus pinicola* 和山民瘤小蠹 *Orthotomicus chaokhao*, 为进一步了解其为害特征和两种小蠹的共生真菌, 开展了下述研究。【方法】1、利用佳能立体显微镜对松树材小蠹和山民瘤小蠹及它们的为害虫道进行观察描述; 2、利用马铃薯葡萄糖琼脂培养基来分离培养两种小蠹的共生真菌; 3、通过共生真菌 LSU 基因的序列测定, 进行真菌鉴定。【结果】1、松树材小蠹是蛀干小蠹, 为害松树主干的木质部; 修筑虫道时, 通过贮菌器传播真菌孢子, 并以这些真菌为食; 贮菌器和虫道内的主要真菌为长喙壳菌目 Ophiostomatales 的 *Raffaelea* sp.、*Leptographium* sp. 和 *Ophiostoma ips*; 2、山民瘤小蠹是树皮小蠹, 危害松树韧皮部和边材, 在虫道内分离到的真菌为 *Leptographium* sp.。【结论】两种小蠹均只为害松树, 松树材小蠹属于材小蠹族 Xyleborini, 主要通过其贮菌器内携带的共生真菌对松树进行为害, 其传播的长喙壳菌目 Ophiostomatales 真菌是重要的森林病菌; 山民瘤小蠹属于齿小蠹族 Ipini, 主要取食松树韧皮部与边材中的淀粉纤维, 破坏树木的营养水分传导, 造成植株死亡。这是我国境内首次发现松树材小蠹和山民瘤小蠹, 两种小蠹发生均十分隐蔽, 相关生物学研究报道较少, 急需在未来开展进一步研究。

关键词 共生真菌, 贮菌器, 长喙壳菌, 中国南方, 针叶林

斑翅果蝇 *Drosophila suzukii* 在中国的风险性分析^{*}

刘佩旋^{**} 郑雅楠^{***} 辛 蓓
(沈阳农业大学 林学院, 沈阳 110866)

【研究意义】斑翅果蝇 *Drosophila suzukii* Matsumura, 又称铃木氏果蝇或樱桃果蝇, 属于双翅目 (Diptera) 环列亚目 (Cyclorrhapha) 果蝇科 (Drosophilidae) 果蝇属 (*Drosophila*) 水果果蝇亚属 (Subgenus *Sophophora*) 黑腹果蝇种组。斑翅果蝇原产地为东亚地区, 于 1916 年在日本首次发现。自 2008 年起, 斑翅果蝇在美国加州发现后, 迅速扩散至全美及其他国家和地区, 对当地软皮水果造成严重的危害。目前斑翅果蝇已经广泛分布于美洲、欧洲、亚洲的 30 多个国家和地区, 并被欧盟列入 A2 检疫性害虫名单。作为斑翅果蝇的原产地之一, 我国早在 1937 年就有关于该虫的记载, 但一直未造成危害。近几年, 我国开始出现斑翅果蝇危害的报道, 分析其原因: 其一, 随着国内市场对樱桃和小浆果的消费量增加, 我国从欧美国家进口的鲜果数量也大幅递增, 而这些国家的鲜果有可能携带斑翅果蝇, 这会增加斑翅果蝇在我国扩散的可能性, 其二, 与早年相比, 我国樱桃和小浆果栽培种植产业的发展突飞猛进, 伴随着种植面积迅速扩大, 栽种区域较为集中, 以及在同一区域内果树种类较为单一, 均为这种有害生物提供了大量的寄主, 这些因素都增加了斑翅果蝇在我国传播危害的风险性。因此, 分析评估斑翅果蝇在中国的风险性是十分必要, 这项工作将对该害虫的早期监测和及时防控提供指导, 从而防止其扩散蔓延, 以确保相关水果种植业的安全生产具有重要的现实意义。【目的】分析评估斑翅果蝇在中国的风险性, 提出相关的风险管理对策, 使其风险减少到可接受的水平。【方法】根据联合国粮农组织 (FAO) 国际植物检疫措施标准 (ISPM) 规定的有害生物风险分析 (PRA) 程序, 从国内外分布情况 (P_1)、潜在的危险性 (P_2)、受害对象的经济重要性 (P_3)、扩散定殖的可能性 (P_4) 及管理难度 (P_5) 5 个方面对斑翅果蝇在我国的风险性进行定性、定量分析, 计算综合风险值 (R)。【结果】斑翅果蝇综合风险值 R 为 2.12 (大于 1.5), 符合检疫性有害生物的条件。【结论】斑翅果蝇是对中国具有较高危险性的有害生物, 一旦其大面积地扩散蔓延, 将对樱桃和小浆果等水果的生产及生物安全构成严重威胁, 应将其列入检疫性有害生物名单, 实施检疫。

关键词 斑翅果蝇, 有害生物风险性分析, 风险性管理

^{*} 基金项目: 沈阳市国家级科技思想库决策咨询课题 (Sxk-201471P)

^{**} 作者简介: 刘佩旋 (1991-), 女, 学生, 硕士研究生, 从事害虫生物防治研究。Tel: 15204058850, E-mail: liupeixuan91@163.com

^{***} 通讯作者 Corresponding author, 郑雅楠 (1980-), 女, 讲师, 博士, 硕士研究生导师。Tel: 18640403865, E-mail: rockya@163.com

蝶蛹金小蜂 α -淀粉酶基因分子特性分析及表达

王蓓蓓 方 琦 朱 宇 叶恭银*

(浙江大学昆虫科学研究所农业部农业昆虫学重点实验室,杭州,310058)

【目的】从蝶蛹金小蜂 *Pteromalus puparum* 转录组数据中找寻目标基因,克隆其 cDNA 全序列,并进行酶活性测定、原核表达及抗体制备,同时对基因的时空表达模式进行分析,并推测其可能的生物学功能。【方法】解剖蝶蛹金小蜂雌蜂毒腺,分离毒液,使用 α -淀粉酶试剂盒检测酶活性。分析蝶蛹金小蜂转录组数据,设计引物,提取雌蜂总 RNA,利用 RT-PCR 和 cDNA 末端快速扩增技术,扩增编码该基因的 cDNA 全序列。利用原核表达载体 pET-28a 在大肠杆菌中表达两个编码 2 个基因成熟肽的 cDNA 序列,并用 Ni-NTA 亲和层析柱对表达产物进行纯化,制备针对 2 个表达产物的多克隆抗体。同时利用定量 PCR 分析两基因表达水平的组织特异性表及其随雌成蜂发育的动态变化。【结果】本研究参照蝶蛹金小蜂的转录组数据成功克隆得到 2 个 α -淀粉酶基因,将其分别命名为 PPU11450 和 PPU11452。两个基因分子特性分析结果如下:PPU11450 基因全长 1802bp,编码 521 个氨基酸,分子量 59.3KD,室温下在毒腺中酶活为 12.94U/mg;PPU11452 基因全长 1863bp,编码 519 个氨基酸,分子量为 57.5KD。定量 PCR 结果表明,PPU11450 在毒腺中特异性高表达,并且在羽化后 7 天的未交配雌蜂中表达量达到高峰;而 PPU11452 在寄生蜂各组织均有表达,胸部表达量最高,羽化后不同天数的未交配雌蜂体内表达量总体差异不大。【结论】推断 PPU11452 可能在寄生蜂代谢供能方面起一定作用,而 PPU11450 则存在于蝶蛹金小蜂毒腺内或可能伴随寄生过程随毒液进入寄主体内,这可能与寄生蜂寄生行为或与寄主间相互作用有关。后期我们将会采用 RNAi 技术与表型观察并结合 RNA-Seq,对两个基因功能进行深入研究。

关键词 蝶蛹金小蜂,毒液蛋白, α -淀粉酶,基因克隆,表达模式

* 通讯作者

果蝇天然免疫与寄生蜂毒液蛋白对其调控研究进展

杨磊 方琦 黄佳 叶恭银*

(浙江大学昆虫科学研究所农业部农业昆虫学重点实验室,杭州,310058)

寄生蜂与寄主昆虫间互作一直是昆虫免疫学与寄生学的研究重点。模式昆虫果蝇主要依赖其天然免疫系统来成功抵御外来生物入侵。其过程如下,首先寄生蜂卵刺激果蝇幼虫脂肪体分泌细胞因子 edin,同时激活 Toll 信号通路,使黏附于幼虫表皮下浆血细胞迅速释放至血淋巴。尔后由血小板源性生长因子 PDGF 和血管内皮细胞生长因子受体 Pvr 家族成员调控浆血细胞向寄生蜂卵迁移。进而 Rho 家族成员 GTP 酶调控浆血细胞延展并附着于蜂卵表面。同时 JAK-STAT 信号通路被激活,部分原浆血细胞与浆血细胞分化成薄层细胞,在 JNK 信号通路与氮端糖基化共同作用下,薄层细胞行使包裹作用。最后晶细胞释放酚氧化酶原,并通过激活级联反应使血淋巴发生黑化反应,最终导致寄生蜂卵因被包裹和黑化而发生死亡。通过长期协同进化,寄生蜂亦已形成用以攻克果蝇天然免疫防御系统的策略。相关研究主要集中于果蝇幼虫寄生蜂,而有关其蛹期寄生蜂的相关研究则尚无报道。果蝇幼虫寄生蜂调控寄主天然免疫因子主要包括,毒液、类病毒颗粒和畸形细胞等。其中有关毒液蛋白组份及功能组成的研究已较深入。现有研究表明,寄生蜂 *Leptopilina heterotoma*、*Asobara japonica* 及 *A. citri* 毒液蛋白组份可抑制寄主薄层细胞分化或引起寄主血细胞死亡;*L. boulardi* 和 *L. heterotoma* 毒液蛋白组份可改变薄层细胞形态进而抑制包裹作用;*Ganaspis* sp.1 寄生果蝇后,其浆血细胞无法向蜂卵发生迁移,其浆血细胞无法延展。*L. boulardi*、*L. heterotoma* 和 *A. citri* 毒液蛋白组份能抑制寄主血淋巴黑化反应。对果蝇寄生蜂毒液蛋白组份进行鉴定与功能研究将有助于深入揭示寄生蜂与寄主间互作机理,并为发展新型害虫绿色防控技术提供依据。

关键词 果蝇,寄生蜂,免疫反应,毒液蛋白,相互作用

* 通讯作者

昆虫寿命调控的影响因子及其分子机制研究进展

熊时姣 黄 佳* 叶恭银*

(浙江大学昆虫科学研究所农业部农业昆虫学重点实验室,杭州,310058)

生物衰老是由一系列生理变化和多种生物途径变化综合作用的生物进程。昆虫是衰老机制及寿命调控的绝佳模型,人们已经在果蝇、蜜蜂和蚂蚁等昆虫中发现了许多与寿命调控相关的基因。同时,研究昆虫的寿命调控对于深入理解昆虫的生理过程和害虫控制都有重要作用。昆虫寿命调控的研究主要以果蝇和社会性昆虫作为研究对象。果蝇是一种重要的模式生物,通过在果蝇幼虫上应用 RNA 干扰技术,或是果蝇成虫上使用 GAL4/UAS 系统进行实验研究,揭示了许多对寿命调控有着关键影响的基因和多条信号通路。这些基因在进化上是保守的,它们大多是在生长代谢过程中起重要作用的基因,或者与压力应激调控有关的基因。它们参与了不同的信号通路,包括胰岛素/胰岛素样生长因子-1 信号通路 (IIS)、腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK) 途径、雷帕霉素靶蛋白 (TOR) 途径和 Jun 氨基端激酶 (JNK) 途径等。社会性昆虫,如蚂蚁和蜜蜂,由于它们可育雌性成虫的极端长寿以及它们在寿命方面显著的级型差异,也是研究寿命调控机制的一个绝佳模型。相关研究发现卵黄蛋白原、保幼激素和抗氧化基因对社会昆虫性的寿命与生殖有重要作用。目前虽已取得诸多进展,但对昆虫的衰老机制及寿命调控过程还是了解甚少。调控营养途径和其他几种信号通路对寿命的影响都是充分的,但尚不清楚调控这些途径到何种程度上能够最大的保留他们的有利功能,而又能延长寿命,也不清楚调控这些生物途径的副作用究竟如何。一个值得注意的问题是,在寿命的调控能使昆虫的繁殖力受到了一定影响,似乎生存和繁殖策略存在着一种平衡。在昆虫中研究这些问题是非常重要的,不仅能够为探明寿命的调控机制提供数据,同时也能为其他生物研究提供参考,比如发现潜在的药物靶标等。

关键词 昆虫,衰老,寿命,基因,信号通路

* 通讯作者

果蝇取食行为的神经回路研究进展

毛 芬 叶恭银* 黄 佳*

(浙江大学昆虫科学研究所农业部农业昆虫学重点实验室,杭州,310058)

取食是所有动物都具备的一种与生俱来的能力,通过取食营养物质,动物体才能获得生存和繁衍所需要的能量。近年来,越来越多的学者将果蝇作为研究取食这一行为的神经调控机制的模式生物。根据神经系统的功能,可以将果蝇体内跟取食相关的神经元分为:味觉感知神经元、取食连接神经元和取食运动神经元。果蝇的味觉感知神经元分布在唇瓣、咽部、足、翅膀前缘、雌虫腹部产卵器等身体的不同部位。根据受体表达情况,至少可以将味觉感知神经元分为两类:甜味感知神经元和苦味感知神经元。对这两类感知神经元研究较多的是位于唇瓣和足上的表达 Gr 基因家族的神经元。除此之外,果蝇还可以通过表达 PPK 基因家族的神经元感知水和盐等物质。而负责感知不同食物信息和分布在果蝇不同身体部位的味觉感知神经元所激活的神经通路是不同的。果蝇的取食连接神经元分布在咽下区域。研究发现,对单一味道有反应的取食连接神经元数目多于对两种味道都有反应的取食连接神经元,又多于对混合物有反应的取食连接神经元,说明不同的味觉信号连接到咽下区域的层次可能不同,然后最后再整合到综合性的连接神经元中。另外,果蝇的某些取食连接神经元还和其他神经回路也有信息交流。按功能分类,目前只有四类取食连接神经元被证明直接控制取食行为,包括:FDG、DSOG1、NP115/883/1076-Gal4、IN1。果蝇取食运动神经元也分布在咽下区域。按功能可以分为两类:一是 E49,控制喙伸长;二是 MN11/MN12,控制食物吞咽。从整体来看,到目前为止对于味觉感知神经元的研究已经比较透彻了,而对于取食连接神经元和取食运动神经元的研究还远远不够。

关键词 果蝇,取食,味觉感知神经元,取食连接神经元,取食运动神经元

* 通讯作者

5-羟色胺通过 5-HT_{1B} 和 5-HT_{2B} 受体调控昆虫血细胞对病原菌的吞噬反应

齐易香 黄 佳* 李萌琪 武亚苏 夏仁英 叶恭银*

(浙江大学昆虫科学研究所农业部农业昆虫学重点实验室,杭州,310058)

5-羟色胺是动物体内的一种重要的小分子,它们在体内通过对应的 G 蛋白偶联受体发挥作用。5-羟色胺可以在昆虫神经系统中调节行为活动,比如取食、生物钟周期、聚集、学习和记忆等,但是其在免疫系统中的作用还没有被报道。我们首次发现了 5-羟色胺可以通过 5-羟色胺受体 5-HT_{1B} 和 5-HT_{2B} 调控昆虫血细胞吞噬。我们的实验发现鳞翅目害虫菜青虫的血细胞能够自身合成和分泌 5-羟色胺,用药理学或 RNAi 干扰其合成酶的功能会显著降低血细胞吞噬细菌的能力。菜青虫血细胞主要表达 5-HT_{1B} 和 5-HT_{2B} 受体,用拮抗剂阻断或者 RNAi 干扰这两个受体的功能也会显著影响血细胞的吞噬能力。通过对模式生物黑腹果蝇 5-羟色胺受体的敲除突变体和血细胞特异性 RNAi 的实验,进一步在遗传学上证实了在 5-羟色胺受体缺失或表达下调的情况下,果蝇由于血细胞吞噬能力的降低从而在被病原菌感染后更加容易死亡。该研究在分子水平上证实昆虫也与哺乳动物一样可以通过 5-羟色胺来调控神经系统和免疫系统的相互作用,并第一次在遗传学上发现昆虫利用血细胞上的神经小分子信号通路来帮助自身对抗病原微生物,提示了通过药物特异性地干扰昆虫免疫系统从而增强生物杀虫剂效力的可能性。

关键词 5-羟色胺受体,菜青虫,细菌感染,吞噬,血细胞,先天免疫

* 通讯作者

昆虫生物胺受体的药理学和生理学研究

黄 佳

(浙江大学昆虫科学研究所农业部农业昆虫学重点实验室,杭州,310058)

生物胺如 5-羟色胺、酪胺、多巴胺和章鱼胺等是昆虫体内一类非常重要的神经小分子,广泛调控昆虫的各种生理功能,比如生殖、发育、内分泌和各种行为活动等。它们在昆虫体内通过对应的 G 蛋白偶联受体发挥作用,这些受体也是杀虫剂开发的潜在靶标,比如过度激活或者阻断这些受体可能会影响害虫的正常生理功能甚至导致死亡。另外,这些生物胺受体与非靶标生物比如哺乳动物体内的对应受体存在很大的药理学差异,所以针对这些受体开发的杀虫剂会具有较好的选择性和安全性。最近十几年,我们以鳞翅目害虫二化螟和菜青虫以及模式昆虫黑腹果蝇为研究对象,通过一系列的分子药理学,神经生物学,遗传学,细胞生物学等技术手段,对上述昆虫体内的生物胺受体进行了系统的从药理学,信号通路到生理功能的研究,同时发现了几类新的从未被报道过的生物胺受体家族。比如从水稻二化螟中发现了一类新型章鱼胺受体并命名为 OA3 受体,其同源基因在其他昆虫基因组中保守存在。该受体可被低浓度的杀虫脒和双甲脒激活,推测可能是甲脒类杀虫剂的精确分子靶标。我们还在菜青虫中发现一类新的 5-羟色胺受体并命名为 5-HT₈ 受体,其只在蚊子及鳞翅目和鞘翅目的基因组中存在,可以作为特异性杀虫剂的靶标来开发。同时还发现菜青虫通过 5-HT_{1B} 和 5-HT_{2B} 受体调控血细胞的吞噬能力,首次明确昆虫利用神经小分子来帮助自身对抗病原微生物,揭示了通过药物干扰昆虫免疫系统从而增强生物杀虫剂效力的可能性。酪胺是章鱼胺的合成前体,其生理功能一直不明。我们首次通过遗传学手段证实酪胺可以通过酪胺受体来调控昆虫的求偶行为,为通过化学或生物方法来控制害虫提供了潜在靶标。

关键词 生物胺受体,二化螟,菜青虫,黑腹果蝇,药理学,生理学

运用定量蛋白组学研究 *Wolbachia* 诱导果蝇 细胞质不亲和的分子机制 *

袁林玲 吴春红 王玉凤 **

(华中师范大学生命科学学院,武汉,430079)

沃尔巴克氏体(*Wolbachia*)是广泛存在于昆虫体内的一类共生菌,能够通过多种机制影响宿主的生殖方式。细胞质不亲和(CI)是 *Wolbachia* 引起的最普遍的一种表型,即感染 *Wolbachia* 的雄性和未感染的雌性宿主交配后,受精卵不能正常发育,在胚胎期死亡。为探究 *Wolbachia* 诱导果蝇 CI 的分子机制,本研究首先用感染和未感染 *Wolbachia* 的雄蝇分别与未感染的雌蝇交配,2h 后取出雌蝇的受精囊和纳精囊(SSR),提取蛋白,用基于 iTRAQ 标记的定量蛋白组学方法,筛选与感染或未感染 *Wolbachia* 的雄蝇交配后雌蝇的 SSR 蛋白之间的差异。本研究鉴定到 83 个蛋白发生了至少 1.5 倍的变化,这些差异表达蛋白与代谢、免疫、生殖相关,其中包含许多精液蛋白。*Wolbachia* 可能通过泛素——蛋白酶体途径影响了 SSR 中蛋白质的改变。在下调的蛋白质中,Dynamitin(Dmn)是动力蛋白激活蛋白(dynactin)的核心组分。在果蝇精巢中敲降 *Dmn* 基因导致其后代胚胎孵化率显著降低,而在 *Wolbachia* 感染的雄蝇中过量表达该基因则可以挽救雄蝇的育性,表明 *Dmn* 确实在 *Wolbachia* 诱导 CI 的过程中起重要作用。进一步研究发现,*Dmn* 敲降的果蝇精巢中精子束分散、包囊中精细胞发生融合、线粒体衍生物异常、精细胞降解、精子个体化过程中肌动蛋白锥分散。这些结果表明,*Wolbachia* 可能通过影响细胞中一些重要物质的运输从而对精子发生和受精过程产生影响,进而影响了雄性果蝇的育性。该研究为 *Wolbachia* 与其昆虫宿主相互作用的机制研究,特别是诱导昆虫宿主产生 CI 的分子机制研究提供了基础资料。

关键词 *Wolbachia*,果蝇,定量蛋白组学,细胞质不亲和,*Dynamitin*,精子发生

* 资助项目:国家自然科学基金(31172155)

** 通讯作者,Email: yfengw@mail.ccnu.edu.cn

蛋白酶抑制剂对梨小食心虫中肠蛋白酶活性的影响^{*}

赵爱平^{1,2**} 孙 聪^{1,2} 展恩玲^{1,2} 仵均祥^{1,2,3***} 李怡萍^{1,2,3***}

(1.西北农林科技大学植保资源与病虫害治理教育部重点实验室,陕西杨凌,712100;

2.西北农林科技大学应用昆虫学重点实验室,陕西杨凌,712100;

3.西北农林科技大学旱区作物逆境生物学国家重点实验室,陕西杨凌,712100)

【目的】梨小食心虫 *Grapholitha molesta* 是一种危害极其严重的果树害虫,中肠消化蛋白酶在昆虫生长发育过程中起着重要作用。本研究测定梨小食心虫幼虫中肠内蛋白消化酶活性的最适 pH、蛋白酶抑制剂和激活剂对蛋白消化酶活性的作用,为利用蛋白酶抑制剂防治该害虫提供新思路。【方法】提取梨小食心虫中肠液,利用生化分析技术测定蛋白酶活性。【结果】梨小食心虫幼虫中肠总蛋白酶在 Tris-HCl, KH₂PO₄/NaOH 和 Glycine/NaOH 三种缓冲液中最适 pH 分别为 10.5, 11.0, 11.0, 强碱性胰蛋白酶分别为 10.5, 11.0, 11.0, 弱碱性胰蛋白酶分别为 8.5, 9.0, 9.0, 胰凝乳蛋白酶分别为 8.5, 9.0, 9.5, 发现强碱性胰蛋白酶与总蛋白酶的活性变化相似,可推测其在梨小食心虫中肠内是一种极其重要的消化蛋白酶。5 种蛋白酶抑制剂(DTT, PMSF, TLCK, TPCL, STI)中,除 TLCK 对凝乳蛋白酶激活外,其它蛋白酶抑制剂对 4 种蛋白酶均表现为抑制,且浓度越大抑制效应越明显。抑制剂 DTT 对总蛋白酶和弱碱性胰蛋白酶的抑制效果高于其它抑制剂。4 种蛋白酶激活剂(MgCl₂, CaCl₂, EDTA, EGTA)中,MgCl₂ 抑制总蛋白酶和胰凝乳蛋白酶活性,而激活胰蛋白酶活性;CaCl₂ 激活总蛋白酶和弱碱性胰蛋白酶活性,而抑制强碱性胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶,EDTA 对 4 种蛋白酶均表现为抑制,EGTA 除对强碱性胰蛋白酶表现为激活外,对另外 3 种蛋白酶表现抑制。用蛋白酶抑制剂 PMSF, TLCK, TPCL, STI 饲喂梨小食心虫幼虫,各抑制剂均可抑制 4 种蛋白酶活性,且在不同饲喂时间抑制水平不同。其中 STI(50 μg/mL)对 4 种蛋白酶的抑制效果高于其它抑制剂,且浓度越大抑制效应越明显。10, 20 和 50 μg/mL STI 3 种浓度处理组,在取食 4 h 时,4 种蛋白酶活性升高,且上升高度与 STI 浓度有关;酶活性在 20 μg/mL STI 处理组 48 h, 50 μg/mL STI 处理组 60 h 时最低,最后达到稳定,表现出抑制剂 STI 的高效性和持效性。【结论】本研究结果发现蛋白酶抑制剂对梨小食心虫幼虫中肠蛋白消化酶的活性具有一定的抑制作用,其中大豆胰蛋白酶抑制剂 STI 在害虫防治中具有极其重要的应用价值。

关键词 梨小食心虫,蛋白消化酶,最适 pH,蛋白酶抑制剂,活性

^{*} 资助项目:国家自然科学基金(No.31272043; No.31071693);中国博士后科学基金(No.2013M542388);陕西省博士后科研项目资助;中央高校基本科研业务费专项项目(No.2014YB087);陕西省农业科技创新与攻关项目(No.2016NY-058)。

^{**}E-mail: 759088052@qq.com

^{***} 通讯作者 E-mail: junxw@nwsuaf.edu.cn; liyiping@nwsuaf.edu.cn

小菜蛾中肠 Polycalin 基因克隆及其功能分析 *

孙 聪^{1,2**} 杜 潇^{1,2} 展恩玲^{1,2} 赵爱平^{1,2} 刘同先^{1,2,3*} 李怡萍^{1,2,3***}

(1.西北农林科技大学应用昆虫学重点实验室,陕西杨凌,712100;2.西北农林科技大学植保资源与病虫害治理教育部重点实验室,陕西杨凌,712100; 3.西北农林科技大学旱区作物逆境生物学国家重点实验室,陕西杨凌,712100)

【目的】小菜蛾 *Plutella ylostella* (Linnaeus) 是一种世界性范围内广泛分布的十字花科蔬菜重要害虫。Bt 毒素的作用机理是与昆虫中肠上的刷状缘膜蛋白受体结合,形成寡聚化的结构,在中肠细胞膜上形成穿孔,导致昆虫死亡,Polycalin 蛋白是报道的可与 Bt 毒素结合的新受体。【方法】本研究以对 Bt 毒素敏感的小菜蛾为研究对象,对其肠 Polycalin 蛋白基因进行克隆。分析了该基因在小菜蛾不同发育时期,幼虫不同部位的表达量。测定了 Bt Cry1Ac 毒素蛋白对小菜蛾的毒力,比较了小菜蛾取食不同浓度 Cry1Ac 毒素后 Polycalin 基因的表达量。制备 Polycalin 蛋白抗体,提取小菜蛾中肠受体 BBMV 蛋白,检测了 Polycalin 蛋白在小菜蛾中肠上的存在及其与 Cry1Ac 的结合特性。【结果】1、获得了小菜蛾 Polycalin 基因的全长序列为 9102 bp,预测蛋白的等电点和分子量分别为 4.39 和 326.38 kDa,该基因与已报道的其他昆虫的氨基酸序列比对,同源性的 35.9%–50.5%。2、发现 Polycalin 基因在小菜蛾各个发育阶段均可以表达,幼虫期表达量远高于蛹期和成虫期,其中以 3 龄幼虫表达量最高,成虫期表达量最低。同时比较了小菜蛾幼虫头部、胸部和腹部 Polycalin 基因表达情况,结果表明 Polycalin 在腹部表达量最高,头部和胸部表达量较低。3、发现小菜蛾 3 龄幼虫取食活化的不同浓度 Bt Cry1Ac 毒素蛋白后,Polycalin 基因的表达量下降,但随着取食时间的延长,小菜蛾 Polycalin 的表达量逐渐恢复。4、用 Western blot 技术检测到中肠 BBMV 蛋白中有一个约 300kDa 的条带可以与 Polycalin 蛋白抗体结合,说明中肠上确实存在 Polycalin 蛋白。5、通过 Ligand blot 方法,运用 Bt Cry1Ac 活化毒素及其抗体检测,发现 Polycalin 蛋白条带可以与 Bt Cry1Ac 活化毒素结合。【结论】小菜蛾中肠上确实存在 Polycalin 蛋白,而且该蛋白可以与 Bt 毒素结合,推测具有受体功能。

关键词 小菜蛾, Polycalin, Bt, 克隆, 功能分析

* 资助项目:国家自然科学基金(No.31071693);中国博士后科学基金(2013M542388);陕西省博士后科研项目资助;中央高校基本科研业务费专项项目(2014YB087);陕西省农业科技创新与攻关项目(2016NY-058)。

**E-mail: 940615670@qq.com

*** 通讯作者 E-mail:txliu@nwsuaf.edu.cn; liyiping@nwsuaf.edu.cn

转 *cry1Ab* 抗虫水稻对褐飞虱生态适合度的影响 *

董亚强^{1,2,3,4,5**} 李 强^{1,2,3,4,5} 陈森平^{1,2,3,4,5} 刘 振^{1,2,3,4,5} 林 胜^{1,2,3,4,5***} 尤民生^{1,2,3,4,5***}

(1.省部共建闽台作物有害生物防控国家重点实验室;2.福建农林大学应用生态研究所;3.闽台特色作物病虫生态防控协同创新中心;4.农业部闽台作物有害生物综合治理重点实验室;5.福建省昆虫生态学重点实验室,福州,350002)

非靶标效应一直是转基因抗虫水稻环境安全评价的重要研究内容。本研究主要围绕转 *cry1Ab* 抗虫水稻(mf-MH3301-1)对褐飞虱 [*Nilaparvata lugens* (Stål)] 生态适合度开展相关研究,以非转基因水稻(MH3301)为对照。主要研究结果如下:

通过 Y 型嗅觉仪研究了褐飞虱对两种水稻的趋性反应,通过 GC-MS 鉴定分析水稻挥发物组分。室内对取食和产卵选择行为研究表明,接虫后的第 2、4、8 h mf-MH3301-1 对褐飞虱成虫的取食选择行为有显著的负面影响。Y 型嗅觉仪研究表明,mf-MH3301-1 对褐飞虱的产卵选择性和褐飞虱的趋性反应均无显著影响。GC-MS 鉴定分析健康的转 *cry1Ab* 基因抗虫水稻和非转基因水稻的挥发物没有差异,但被褐飞虱取食后挥发物组分存在一定的差异。

通过两性生命表对褐飞虱的生态适合度进行研究,结果表明 mf-MH3301-1 对褐飞虱的世代周期未产生显著影响,但是取食 mf-MH3301-1 的褐飞虱内禀增长率、周限增长率、净增殖率都显著高于对照 MH3301。而且取食 mf-MH3301-1 的褐飞虱雌成虫存活率以及生殖力都显著高于非转基因水稻。对于褐飞虱翅型统计发现,无论取食 mf-MH3301-1 还是 MH3301,雌成虫中大部分为短翅型,而雄成虫几乎全为长翅型。

综上所述,转 *cry1Ab* 抗虫水稻并未对褐飞虱的取食、产卵、嗅觉行为产生不利影响。两性生命表分析发现,转 *cry1Ab* 抗虫水稻明显有利于褐飞虱生殖发育,且取食转 *cry1Ab* 抗虫水稻的褐飞虱种群增长趋势显著加快。

关键词 Bt 水稻,非靶标生物,生态安全,适合度,两性生命表

* 资助项目: 国家自然科学基金项目 (31300464); 国家转基因专项 (2016ZX08011001); 高校博士点基金 (20123515120001)。

** 第一作者,631810858@qq.com

*** 通讯作者,linsn001@163.com;msyou@iae.fjau.edu.cn

荔枝蒂蛀虫触角嗅觉受体基因 CsinOrco 的克隆与组织表达分析^{*}

李鹏燕^{1**} 刘艳萍¹ 王思威¹ 柏建山² 孙海滨^{1***}

(1.广东省农业科学院植物保护研究所,广东省植物保护新技术重点实验室,广州,510640;

2.中华人民共和国广东省出入境检验检疫局,广州,510623)

荔枝蒂蛀虫 *Conopomorpha sinensis* (Bradly) 属鳞翅目细蛾科 (Lepidoptera: Gracillariidae), 是我国荔枝龙眼的常发性重要害虫, 对荔枝龙眼产业造成了巨大的经济损失。嗅觉受体 (olfactory receptor, OR) 在荔枝蒂蛀虫取食、求偶和产卵等方面起着至关重要的作用。嗅觉受体共受体 (olfactory receptor co-receptor, Orco) 是 OR 的一种, 在不同昆虫中具有较高的保守性。Orco 最早在黑腹果蝇中被命名为 Or83b, 后来被重新命名 Orco。Orco 不与气味分子直接结合, 而是与 OR 结合成 Or-Orco 异质二聚复合体, 协同行使功能。Orco 的作用是促进 OR 在神经元树突上的定位并保持其稳定性, 从而提高 OR 对气味分子反应的效率。为了解明荔枝蒂蛀虫 Orco 基因的分子特征和表达, 通过雌雄虫触角转录组测序和反转录-PCR 技术克隆了荔枝蒂蛀虫 Orco 基因, 并采用实时荧光定量 PCR 技术研究了该基因的组织表达谱。结果显示, 荔枝蒂蛀虫嗅觉受体 Orco 基因开放阅读框全长 1428bp, 编码 475 个氨基酸, 经氨基酸结构预测具有 7 个跨膜区, N 端在细胞膜内, C 端在细胞膜外的亲水区, 符合 Orco 亚家族基因的特征; 该基因编码的氨基酸序列与其它昆虫 Orco 序列相似性极高, 因此将该基因命名为 CsinOrco (GeneBank 登录号: KX618692); 差异分析结果显示, CsinOrco 主要在成虫触角中表达, 且在雄蛾触角中的表达量是雌蛾触角中的 5.3 倍, 在足、翅、胸、腹等组织中也有极少量表达。

关键词 荔枝蒂蛀虫, 触角, 嗅觉受体, 基因克隆, 组织表达

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金 (31401745)

^{**} 李鹏燕, 1983 年 9 月出生, 广东省农业科学院植物保护研究所, 助理研究员, 主要研究领域农业害虫防治与农药应用研究, E-mail: lpycau@163.com;

^{***} 通讯作者: 孙海滨, 1962 年 3 月出生, 广东省农业科学院植物保护研究所, 研究员, 主要研究领域农药应用与农药残留研究, E-mail: sunhb@gdppri.cn

吸引苜蓿盲蝽属三种盲蝽的寄主植物挥发物组分鉴定

修春丽 陆宴辉*

(中国农业科学院植物保护研究所,植物病虫害生物学国家重点实验室,北京,100193)

【目的】中黑盲蝽 *Adelphocoris suturalis* (Jakovlev)、苜蓿盲蝽 *A. lineolatus* (Goeze)、三点盲 *A. fasciaticollis* (Reuter)对寄主植物挥发物具有明显的识别选择行为,本研究拟解析三种盲蝽与寄主植物之间的化学通讯机制。【方法】利用气相色谱-触角电位联用技术(GC-EAD)、气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)和 Y 型嗅觉仪行为测定方法,测定了三种盲蝽对 11 种寄主植物(牛膝 *Achyranthes bidentata* Blume、黄花蒿 *Artemisia annua* L.、艾蒿 *Artemisia argyi* Lévl. et Vant.、野艾蒿 *Artemisia lavandulaefolia* DC.、猪毛蒿 *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit.、沙苑子 *Astragalus complanatus* Bunge、寒麻 *Cannabis sativa* L.、棉花 *Gossypium hirsutum* L.、紫花苜蓿 *Medicago sativa* L.、草木樨 *Melilotus suaveolens* Ledeb.和薄荷 *Mentha haplocalyx* Briq.)挥发物的触角电生理反应和选择行为。【结果】共鉴定出 7 种(间二甲苯、对二甲苯、二丁醚、丙烯酸丁酯、丙酸丁酯、丁酸丁酯和 1,8-桉叶油素)能引起三种盲蝽雌、雄成虫触角电生理反应的活性物质,雄虫对活性物质反应程度均高于雌虫。行为测试表明,中黑盲蝽成虫对 4 种活性组分(二丁醚、丙烯酸丁酯、丙酸丁酯和丁酸丁酯)具有显著的行为趋性;除以上 4 种活性组分外,对二甲苯也可显著地吸引苜蓿盲蝽成虫;而三点盲蝽成虫仅对丙烯酸丁酯、丙酸丁酯和丁酸丁酯具有显著的趋向性。【讨论】本文阐明了三种盲蝽识别寄主植物的化学通讯机制,为明确三种盲蝽与寄主植物的互作关系提供了重要的理论依据。

关键词 植食性昆虫,寄主选择,化学通讯

* 通讯作者

通过触角转录组分析具有不同宿主范围的蛾类近源种的嗅觉相关基因家族——中国绿刺蛾, 迹斑绿刺蛾

石志勇 张爱兵*

(首都师范大学生命科学学院, 100048))

昆虫与宿主植物的协同进化关系一直是进化生物研究的热点领域。本研究针对具有不同宿主范围的近缘植食性昆虫, 研究近缘种昆虫宿主多样性的分化机制。植食性昆虫主要通过化学感受系统对宿主散发的次生性挥发物进行鉴别和定位。其中嗅觉相关基因家族在该过程中起到决定性作用。具有不同宿主范围的近缘种昆虫, 嗅觉相关基因家族应该经历了快速进化过程, 相关基因经受较强的选择压力。我们在福建省建宁县金绕山自然保护区采样点采集了同属于绿刺蛾属的中国绿刺蛾 *Parasa sinica* Moore, 迹斑绿刺蛾 *P. arasa pastoralis* Butler。其中中国绿刺蛾属于广食性昆虫, 迹斑绿刺蛾属于寡食性昆虫。本研究应用二代测序技术测序两种昆虫的触角转录组, 对嗅觉相关基因家族进行鉴定, 找出并通过嗅觉同源基因进行系统发育分析, 确定基因家族中各基因成员间的进化关系。分析两种昆虫的触角感受器中嗅觉相关基因的种类和表达量差异。比较分析嗅觉相关基因家族的进化与昆虫宿主范围分化之间的关系。

关键词 鳞翅目刺蛾科, 昆虫食性, 昆虫化学感受器, 触角转录组, 昆虫嗅觉相关蛋白家族

* 通讯作者, E-mail: zhangab2008@gmail.com/zhangab2008@mail.cnu.edu.cn

武汉地区田间烟粉虱抗性监测及其解毒酶活性的测定

杨妮娜 龙 同 黄大野 朱志刚 姚经武 胡洪涛 曹春霞

(湖北省生物农药工程研究中心,武汉,430064)

【目的】对武汉地区田间烟粉虱进行抗性监测,并测定其体内解毒代谢酶活性的变化。【方法】采用琼脂保湿浸叶法对湖北武汉地区 10 个点的烟粉虱进行杀虫剂敏感性的测定,根据 mtCOI 基因序列鉴定烟粉虱生物型,并采用生理生化方法进行三大解毒代谢酶活性的测定。【结果】在这 10 个点的监测中烟粉虱的生物型均为 Q 型。在所监测的地区,与室内敏感种群相比,所有烟粉虱对 5 种杀虫剂均产生了不同程度的抗性,对吡虫啉、噻虫嗪分别产生了 12.3–30.2、6.8–21.4 倍的抗性,对啉虫脒产生了 22.1–41.2 倍的抗性;对溴氰虫酰胺分别产生了 5.4–10.2 倍的抗性,对阿维菌素产生了 1.2–3.4 倍的抗性。同时对所有地区的烟粉虱样品进行了解毒酶活性的测定。结果表明:与室内敏感种群相比,田间种群的细胞色素 P450 单加氧酶活力有显著提高;谷胱甘肽 S 转移酶和羧酸酯酶的活力在田间和室内敏感种群间的差异不显著。【结论】田间种群抗性的产生可能跟多功能氧化酶活力的增强有关。

关键词 烟粉虱,生物型,杀虫剂,抗药性,解毒酶活性

二化螟 *CAT* 基因的克隆及逆境胁迫对其表达的影响 *

鲁艳辉^{1**} 白 琪^{1,2} 郑许松¹ 吕仲贤^{1***}

(1.浙江省农业科学院 植物保护与微生物研究所,浙江杭州,310021;

2.浙江师范大学,浙江金华,321004)

【目的】过氧化氢酶(Catalase, *CAT*)广泛存在于动植物体内,是一种含铁的氧化酶,也是一种重要的机体保护酶,它将过氧化氢(H_2O_2)还原成氧分子和水,从而维持细胞和机体的正常生理活动。本文旨在克隆二化螟 *Chilo suppressalis* *CAT* 基因,研究其在不同发育历期、不同组织以及逆境条件胁迫下的表达水平。【方法】通过 RACE 技术克隆二化螟 *CAT* 基因全长 cDNA 序列,利用荧光定量 PCR 的方法检测 *CAT* 基因在二化螟不同发育历期,3 龄幼虫不同组织以及 3 龄幼虫受温度、化学物质、杀虫剂、寄主植物等外界条件胁迫下的表达水平。【结果】克隆获得二化螟 *CAT* 基因的 cDNA 全长序列,命名为 *CsCAT*,全长为 2176 bp,其中开放阅读框 1662 bp,编码 554 个氨基酸,编码蛋白质的理论分子量和等电点分别为 62.06 kDa 和 8.83,氨基酸序列包含 *CAT* 蛋白的特征序列“FDRERIPERVVHAKGAGA”和“RLFAYPDTH”。*CsCAT* 基因在二化螟的各发育阶段均有表达,在 5 龄幼虫中表达量最高,在卵中表达量最低。不同组织的表达量测定发现该基因在脂肪体中的表达量显著高于头、表皮和中肠组织的表达量($P<0.05$)。此外,我们测定了 4 种逆境条件胁迫对二化螟 *CsCAT* 基因表达的影响,结果表明:相对于 25℃ 的常温,30℃ 以上的高温处理二化螟 3 龄幼虫 1 h 后,能够显著诱导 *CsCAT* 基因的表达,表达量提高了 4 倍左右($P<0.05$),而低温对该基因表达无明显的诱导作用;化合物 H_2O_2 (100 mM),过氧化氢异丙苯(CHP, 25 mM),硫酸铜($CuSO_4$, 5 mg/L)和氯化镉($CdCl_2$, 5 mg/L)处理 48 h 后,显著诱导 *CsCAT* 基因的表达,表达量与对照比提高了 2–3 倍($P<0.05$);杀虫剂亚致死剂量(LC_{25})处理 48 h 后,与对照比,阿维菌素和氯虫苯甲酰胺显著诱导了 *CsCAT* 基因的表达($P<0.05$),而甲氧虫酰肼显著降低了 *CsCAT* 基因的表达($P<0.05$);以饲喂人工饲料的试虫为对照,不同寄主植物饲喂二化螟 3 龄幼虫 48 h 后,取食香根草的试虫 *CsCAT* 基因表达量显著降低($P<0.05$),而取食茭白和水稻的试虫 *CsCAT* 基因表达量相对于对照组无显著变化。【结论】*CAT* 不仅在二化螟的生长发育过程中发挥重要作用,而且其表达量变化是二化螟响应外界环境条件胁迫的重要作用机制之一。

关键词 二化螟,基因克隆,过氧化氢酶,逆境胁迫,*CAT* 基因,基因表达

* 资助项目 Supported project:公益性行业(农业)科研专项(201303017)

** 第一作者 First author:Email, luyanhui4321@126.com

*** 通讯作者 Corresponding author:Email, luzxmh2004@aliyun.com

东亚飞蝗烟碱型乙酰胆碱受体附属蛋白 lynx 的鉴定与功能研究

鲍海波^{1,2} 王 鑫² 孙画姘² 刘泽文^{2*}

(1.江苏省农业科学院植物保护研究所,南京,210014;

2.南京农业大学植物保护学院,农业部病虫监测与治理重点开放实验室,南京,210095)

【目的】烟碱型乙酰胆碱受体(nAChRs)是昆虫中枢神经系统中重要的神经递质受体,介导快速胆碱能传递,是新烟碱类、多杀菌素类、沙蚕毒素类等多类杀虫剂和天然产物烟碱等的作用靶标。前期研究表明,nAChRs 的附属蛋白 Ly-6/neurotoxin(lynx)对其功能具有重要影响。本研究对东亚飞蝗(*Locusta migratoria*)中的 lynx 进行了鉴定,并对 lynx 对 nAChRs 功能的调节模式进行了研究。【方法】通过东亚飞蝗神经组织的转录组数据获得了三个可能编码 lynx 蛋白的 cDNA 片段,通过 RACE 等技术获得了基因全长。氨基酸序列分析结果表明,这些蛋白属于 Ly-6/neurotoxin 超家族,序列中包含连续出现半胱氨酸的特征序列(motif),蛋白锚定位点等保守特征,可以确定其为东亚飞蝗 nAChRs 的附属蛋白 Loc-lynx1、Loc-lynx2 和 Loc-lynx3。在非洲爪蟾卵母细胞体外表达系统中,通过电生理技术分别检测了这些 lynx 对不同 nAChR 亚型对同一激动剂反应的影响和同一 nAChR 亚型对不同激动剂反应的影响。【结果】在东亚飞蝗中鉴定得到三个 nAChRs 的附属蛋白 Loc-lynx1、Loc-lynx2 和 Loc-lynx3。电生理实验表明,共表达 Loc-lynx1 和 Loc-lynx3 能够增强重组型受体 Loc α 1/r β 2 对乙酰胆碱(分别为 3.18 倍和 2.93 倍)和吡虫啉(分别为 4.31 倍和 6.67 倍)的最大反应电流;然而,共表达 Loc-lynx2 后,重组型受体 Loc α 1/r β 2 对乙酰胆碱和吡虫啉的最大反应电流均无显著变化。相反,当重组型受体 Loc α 2/r β 2 与 Loc-lynx2 共表达后,重组型受体 Loc α 2/r β 2 对乙酰胆碱和吡虫啉的最大反应电流显著增强(分别为 2.90 倍和 2.33 倍),而与 Loc-lynx1 和 Loc-lynx3 共表达对受体 Loc α 2/r β 2 的反应电流没有显著影响。上述实验中,无论 Loc-lynx1、Loc-lynx3 或 Loc-lynx2 对受体的 EC_{50} 值都没有显著影响。【结论】附属蛋白 lynx 对 nAChRs 的功能有显著的调节作用,并且表现出一定的选择性,表现为激动剂相同时一些 lynx 只对特定的 nAChRs 亚型起到调节作用,受体亚型相同同时对不同激动剂的调节强度不同,激动剂和受体亚型都相同时不同的 lynx 表现出差异显著的调节功能。

关键词 东亚飞蝗,烟碱型乙酰胆碱受体,附属蛋白,Loc-lynx

* 通讯作者

介体电光叶蝉经卵传播水稻瘤矮病毒的机制^{*}

廖珍凤^{**} 毛倩卓 陆承聪 魏太云^{***}

(福建农林大学植物病毒研究所/福建省植物病毒学重点实验室,福州,福建,350002)

【目的】电光叶蝉以持久增殖型方式进行传播水稻瘤矮病的病原——水稻瘤矮病毒(RGDV)。针对 RGDV 在介体电光叶蝉中是否能经卵传播,以及病毒在电光叶蝉卵巢内的侵染过程研究。【方法】本研究通过 qRT-PCR、免疫荧光标记、透射电子显微镜、RNA 干扰技术对 RGDV 经卵传播的机制进行了初步的研究。【结果】免疫荧光标记与电镜结果表明 RGDV 首先聚集在电光叶蝉雌虫卵巢管端丝,由生殖区侵入并大量增值,并随卵巢的发育逐渐侵染整个卵巢。在这一过程中,RGDV 利用病毒编码的非结构蛋白 Pns11 形成的管状结构运输病毒粒体穿过滤泡细胞及微绒毛区进入卵黄区,最终经卵传播给后代。此外,通过体外合成 RGDV 的 S11 基因双链 RNA,通过显微注射带毒若虫干扰 RGDV 编码的非结构蛋白 Pns11 的形成,羽化后进行单雌单雄交配实验。产卵十天,挑取统计每天的产卵量并提取单个卵的总 RNA,应用 qRT-PCR 技术检测卵的带毒率。结果显示,显微注射 dsPns11 干扰带毒雌虫与健康雄虫进行交配子代的带毒率仅为 5.5%,显著低于带毒雌虫与健康雄虫及注射 dsGFP 的带毒雌虫与健康雄虫交配子代带毒率(21.3%)。双链 RNA 干扰技术进一步验证了 Pns11 是 RGDV 突破电光叶蝉经卵传播屏障的运输工具。【结论】RGDV 能在电光叶蝉中经卵传播,并借助 Pns11 穿过电光叶蝉卵巢微绒毛结构入卵。研究结果为进一步阐明病毒在介体昆虫经卵传播的机制提供了依据,也为开拓新的病害防治途径奠定了基础。

关键词 电光叶蝉,水稻瘤矮病毒,非结构蛋白 Pns11,经卵传播

^{*} 资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金项目(31571979)

^{**} 第一作者 First author, E-mail: Liaozenfeng2@163.com

^{***} 通讯作者 Corresponding author, E-mail: weitaiyun@163.com

叶蝉共生菌 *Sulcia* 介导水稻矮缩病毒经卵传播 *

贾东升 ** 毛倩卓 陈 勇 刘宇艳 王海涛 吴 维 陈 倩 陈红燕 魏太云 ***

(福建农林大学植物病毒研究所/福建省植物病毒学重点实验室,福州,福建,350002)

【目的】黑尾叶蝉以持久增殖型方式传播水稻矮缩病毒(*Rice dwarf virus*, RDV),并经卵传播。本研究针对 RDV 的经卵传播机制开展实验。【方法】通过免疫荧光标记对 RDV 侵入卵巢的过程进行系统分析,通过酵母双杂交和 GST pull-down 技术证明共生菌 *Sulcia* 与 RDV 的的互动。【结果】发现病毒首先侵染卵柄,随后扩散到卵柄上皮鞘,然后侵入卵母细胞,因此推测病毒是通过卵柄上皮鞘侵入卵母细胞。根据已有的文献报道叶蝉内共生菌 *Sulcia* 也经卵垂直传播,本研究对 RDV 和共生菌 *Sulcia* 在卵巢的侵染进行共标记,发现共生菌 *Sulcia* 未侵入卵柄上皮鞘时,RDV 仅侵染卵柄部位,当 *Sulcia* 侵入卵柄上皮鞘时 RDV 也侵入卵柄上皮鞘,且 RDV 粒体分布在共生菌表面。同时通过电镜在卵柄上皮鞘和卵母细胞内均观察到 RDV 吸附或嵌入共生菌 *Sulcia* 表面。此外,通过 RT-qPCR 对带毒和无毒黑尾叶蝉体内 *Sulcia* 的含量进行比较,发现带毒叶蝉体内的共生菌含量比无毒黑尾叶蝉高,且带毒卵内的共生菌与 RDV 含量呈正相关。由此我们初步认为共生菌 *Sulcia* 侵入卵的过程中介导 RDV 侵入卵,并推测两者间存在互动而导致 RDV 吸附在共生菌表面。并且共生菌 *Sulcia* 外膜蛋白(OMP)的 BSA 结构域与 RDV 外壳蛋白 P2 的 N 端(1-688aa)存在特异性互动。当用提取的 RDV 粒体与卵巢组织在体外孵育,发现 RDV 可与卵巢卵柄上皮鞘部位的共生菌相结合,且原核表达的 P2 蛋白 N 端多肽也可与卵柄上皮鞘的共生菌在体外相结合,而通过注射法将 *Sulcia* 外膜蛋白 OMP 的多克隆抗体注入叶蝉腹部封闭共生菌,导致 RDV 无法侵入卵柄上皮鞘。该研究进一步表明 RDV 的 P2N 与共生菌外膜蛋白间存在直接的互动。【结论】首次明确黑尾叶蝉共生菌 *Sulcia* 通过外膜蛋白与 RDV 粒体表面 P2 蛋白间的直接互动介导 RDV 突破经卵传播屏障侵入叶蝉卵柄上皮鞘,并侵入卵母细胞。

关键词 水稻矮缩病毒,黑尾叶蝉,共生菌 *Sulcia*,经卵传播

* 资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金项目(31571979)

** 第一作者 First author, E-mail: jiadongsheng2004@163.com

*** 通讯作者 Corresponding author, E-mail: weitaiyun@163.com

棉铃虫谷氧还蛋白基因参与抗氧化防御的功能鉴定

张松斗* 申忠健 刘孝明 李 贞 张青文 刘小侠**

(中国农业大学昆虫系,北京,100193)

谷氧还蛋白(Glutaredoxins, Grxs),又叫巯基转移酶(thioltransferase, TTase),在植物和哺乳动物中能够维持细胞内的氧化还原平衡和保护细胞免受氧化胁迫的损伤。本文假设棉铃虫 Grxs 在抗氧化防御的过程中起着重要的作用。利用 RT-PCR 的方法克隆得到了 3 个棉铃虫 Grxs 基因的全长 cDNA 序列,并分别命名为 *HaGrx*、*HaGrx3* 和 *HaGrx5*。序列分析结果表明 *HaGrx* 有一个保守的 CPYC 位点,和其它选择的昆虫同源蛋白的氨基酸序列一致性较高,大概为 58–78%。而 *HaGrx3* 和 *HaGrx5* 也都具有一个保守的 CGF(S/G)催化活性位点。qRT-PCR 结果显示 *HaGrx*、*HaGrx3* 和 *HaGrx5* 在不同发育阶段和不同组织里的表达均属于时间依赖型和空间依赖型。同时,*HaGrx*、*HaGrx3* 和 *HaGrx5* 的 mRNA 表达也受到不同温度处理和双氧水处理的诱导。利用 RNAi 的方法将棉铃虫幼虫体内的 *HaGrx*、*HaGrx3* 和 *HaGrx5* 基因分别干涉掉,发现选择的大部分抗氧化基因的表达是上调的,只有 Tpx 基因是下调的。本文还进一步检测了 RNAi 介导的 *HaGrx*、*HaGrx3* 和 *HaGrx5* 基因的干涉对抗氧化酶活性和代谢成分的影响。结果表明当这三个基因分别被干涉掉以后,SOD、CAT 和 POD 的酶活性,过氧化氢、抗坏血酸、蛋白羰基和总谷胱甘肽的代谢活性均是升高的。这些结果强有力的证明了本文的假设,即棉铃虫 *HaGrx*、*HaGrx3* 和 *HaGrx5* 基因在抗氧化防御的过程中起着重要的作用,为进一步深入研究昆虫谷氧还蛋白家族基因的生理功能提供理论基础。

关键词 棉铃虫,谷氧还蛋白, RNA interference, 抗氧化防御, 酶活性, 代谢成分

* 第一作者,张松斗,博士研究生,河南省驻马店市人,zhangsongdou1128@126.com

** 通讯作者,刘小侠,副教授,陕西人,liuxiaoxia611@cau.edu.cn

褐飞虱核受体 nuclear receptor 基因鉴定、克隆及转录表达分析

徐 鹿¹ 顾中言¹ 韩召军²

(1 江苏省农业科学院植物保护研究所,南京,210014;2 南京农业大学植物保护学院,农作物生物灾害综合治理教育部重点实验室,南京,210095)

【目的】核受体是生物体内感受外源物质胁迫并进行基因转录的转录因子,可以调控解毒代谢基因表达以代谢外源物质维持自我平衡。为了研究核受体基因(*NINR*)在褐飞虱代谢杀虫剂过程中的作用,对其核受体基因进行鉴定、克隆及暴露杀虫剂下的转录表达分析。【方法】基于褐飞虱转录组和基因组数据,同源寻找核受体基因转录本序列。利用 RT-PCR 和 RACE 技术验证和克隆 *NINR* 转录本的开放阅读框,通过 qPCR 研究其暴露在氟啶虫胺胍下不同时间和不同组织的表达情况。利用 ClustalX 和 MEGA5 构建 *NINR* 系统进化树。【结果】褐飞虱体内包含 20 个 *NINR* 基因,依据命名法则分别属于 NR0–NR6 亚家族。3 个 *NINR* 基因属于 NR0,4 个 *NINR* 基因属于 NR1,8 个 *NINR* 基因属于 NR2,1 个 *NINR* 基因属于 NR3,1 个 *NINR* 基因属于 NR4,2 个 *NINR* 基因属于 NR5 和 1 个 *NINR* 基因属于 NR6。系统进化树显示出 *NINR* 基因进化的遗传距离,进一步促进研究 *NINR* 基因的功能和进化。褐飞虱暴露在氟啶虫胺胍不同的时间下,*Nlknr*,*NlUSP* 和 *NITLL* 在 12 h 时过表达,*NlKnrl*,*NlE78*,*NITLL*,*NlHR51*,*NlHR83*,*NlPNR* 和 *NlFTZ-F1* 在 24 h 时过表达,*NlFTZ-F1* 在 48 h 时过表达。6 h 和 72 h 时没有 *NINR* 基因表达。褐飞虱不同组织暴露在氟啶虫胺胍下,*NlHR39* 在头部过表达,*NlDSF* 在胸部过表达,*NlHR3*,*NITLL*,*NlHR83*,*NlFTZ-F1* 和 *NlHR4* 在腹部过表达,在腹部 *NINR* 基因表达数量多。【结论】本研究鉴定的褐飞虱 *NINR* 基因是涉及褐飞虱代谢氟啶虫胺胍的候选基因,能够为解毒代谢基因的调控和新分子靶标农药的创制提供研究基础。

关键词 褐飞虱,核受体基因,鉴定,克隆,转录表达分析

水椰八角铁甲中三种 PPAF 的克隆与功能分析 *

张华剑 ** 汤宝珍 侯有明 ***

(福建农林大学植物保护学院,福建省昆虫生态重点实验室,
农业部闽台作物有害生物综合治理重点实验室,福建福州,350002)

【目的】克隆和分析水椰八角铁甲 *Octodonta nipae* Maulik(鞘翅目:叶甲科)中发现的三种 PPAF(原酚氧化酶激活蛋白因子),弄清该蛋白的结构特征以及其在水椰八角铁甲免疫反应中的关键作用,为水椰八角铁甲的生物防治提供新的思路 and 新的靶标。【方法】根据实验室已有的水椰八角铁甲的转录组数据设计引物,通过 RACE PCR 技术克隆获得 *OnPPAFs* 的基因全长序列,再经 NCBI blast 比对寻找同源蛋白。将基因全长序列翻译成氨基酸序列后与其他已经研究清楚的昆虫的 PPAFs 进行序列比对,再依据最大似然法构建进化树,分析它们之间的近源关系。通过 qPCR 技术定量 *OnPPAFs* 和 *OnPO* 在不同组织的表达情况以及经大肠杆菌和金黄色葡萄球菌分别诱导后的差异表达情况。【结果】蛋白结构分析表明,所发现的三种蛋白均为具有 CLIP 结构的 Trypsin-like 丝氨酸蛋白酶,同属于 S1 丝氨酸蛋白酶超家族,其中 *OnPPAF3* 为丝氨酸蛋白酶,而 *OnPPAF1* 和 *OnPPAF2* 为丝氨酸蛋白酶同系物。氨基酸序列比对以及进化树分析结果表明,*OnPPAF3* 为具有催化活性的 CLIPB 族成员,*OnPPAF1* 和 *OnPPAF2* 为通常不具有催化活性而是作为 CLIPB 族的协同因子的 CLIPA 族成员。定量分析结果表明,*OnPPAFs* 在血淋巴的表达量最高,而且经过诱导后 *OnPPAFs* 的表达量均有上调,其中经金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 诱导后 *OnPPAF3* 的表达量显著高于大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 和 PBS 诱导组。【结论】*OnPPAFs* 氨基酸序列保守位点分析表明其可能在水椰八角铁甲的黑化反应中具有作用而参与免疫反应,诱导结果验证了 *OnPPAFs* 在水椰八角铁甲免疫反应中具有关键作用。因此 *OnPPAFs* 将可成为研究重要入侵害虫水椰八角铁甲的免疫系统的切入点,也有望成为水椰八角铁甲有效防治的切入点,为生物防治措施提供新的更有效的靶标。

关键词 水椰八角铁甲,免疫反应,黑化反应,丝氨酸蛋白酶,原酚氧化酶激活因子,酚氧化酶

* 基金项目:国家自然科学基金(31272108; 31301727 and 31471829)

**E-mail:15080064081@163.com

*** 通讯作者,E-mail:ymhou@fafu.edu.cn

黄翅大白蚁肠道几丁质酶基因的克隆与表达

谭慧军 曹春静 倪金凤*

(山东大学生命科学学院/微生物技术国家重点实验室,泰安,250100)

【目的】黄翅大白蚁(*Macrotermes barneyi*, Isoptera: Macrotermitidae)是一种与真菌共生,广泛分布于我国南方的高等培菌白蚁,前期本实验室对该种白蚁的整个肠道进行了转录组测序,发现两个功能注释为几丁质酶的 unigenes 基因(comp174658_c0 和 comp182537_c0)在中肠和后肠的表达量都在 500 以上。为了解这两个基因在肠道中起的作用,本研究分别对上述两个基因进行了基因克隆和表达研究。【方法】通过 RT-PCR 获得白蚁肠道各个部分的 cDNA 全长,然后构建表达载体在大肠杆菌中异源表达,进一步确认表达后,再通过几丁质酶活性测试,验证表达产物是否具有降解几丁质的能力。【结果】Unigenes 基因 comp174658_c0:全长为 1227 bp, 包含一个 1194 bp 的开放阅读框,编码的氨基酸长度为 397 个氨基酸,其中包含一个 22 个氨基酸长度的信号肽,预测分子量为 41.1 kDa。BLAST 比对发现该基因与内华达古白蚁来源的几丁质酶的同源性是 60%。Unigenes 基因 comp182537_c0 全长为 1413 bp, 包含一个 1404 bp 的开放阅读框,编码的氨基酸长度为 467 个氨基酸,其中不包含信号肽,预测分子量为 51.26kDa,该蛋白含有一个大概 100 个氨基酸长度的几丁质结合域, BLAST 比对发现该基因与台湾乳白蚁来源的几丁质酶的同源性是 50%。这两个基因所编码的目的蛋白均在大肠杆菌中表达,并且其表达产物具有降解胶体几丁质的能力。【结论】本实验证明这两个基因所编码的蛋白都具有降解几丁质的能力。由于中肠和后肠是黄翅大白蚁消化摄取营养的主要场所,这两种蛋白在白蚁肠道中所起的作用可能是降解真菌的细胞壁来达到抵抗致病真菌的入侵,也可能是降解鸡枞菌孢子,使孢子内含物释放出来,一同完成木质纤维素的降解。但是具体的作用还需要进一步实验确认。

关键词 黄翅大白蚁,肠道,几丁质酶基因,异源表达

* 通讯作者

黄翅大白蚁几丁质酶基因克隆与表达分析

曹春静 谭慧军 倪金凤*

(山东大学生命科学学院/微生物技术国家重点实验室,250100)

白蚁属于昆虫纲等翅目,是生活在热带或亚热带地区的一种昆虫,根据白蚁后肠是否含有共生原生动物,可以分为低等白蚁(有共生原生动物)和高等白蚁(无共生原生动物)两大类群。本文所用实验材料黄翅大白蚁(*Macrotermes barneyi*)是我国南方特有的一种高等培菌白蚁,高等白蚁有发达的代谢机制,然而有关高等白蚁的研究很少。【目的】从黄翅大白蚁 *Macrotermes barneyi* 前肠中克隆几丁质酶基因 *MbSfgCht* (comp133624_c0),研究该基因在黄翅大白蚁不同组织中的表达水平,对该基因的功能进行研究,为理解昆虫代谢机制提供理论基础。【方法】在黄翅大白蚁转录组测序与分析的基础上,通过 PCR 技术克隆得到几丁质酶 *MbSfgCht* 全长基因序列。构建原核表达载体在大肠杆菌 JM109 中进行表达。SDS-PAGE 和 Western Blot 分析重组蛋白 MbSfgCht 在大肠杆菌中的表达情况,利用 DNS 法,进行几丁质酶活分析。【结果】克隆获得了 *MbSfgCht*cDNA,全长 1469 bp,其中可读框 1134 bp,编码 377 个氨基酸,有一个由 20 个氨基酸组成的信号肽,预测的分子量大小为 39.21kDa。Blast 分析发现该序列与昆虫几丁质酶相似性最高,但是同源性很低,其中与内华达古白蚁的同源性最高为 60%。通过 SDS-PAGE 以及 Western Blot 分析,可以在 39 kDa 左右看到明显的目的条带,诱导的空质粒则没有。利用 DNS 法进行酶活分析,与诱导空质粒以及高温灭活的粗提液相比,诱导的 *MbSfgCht* 有明显的颜色变化。【结论】培菌白蚁前肠由来的 *MbSfgCht* 在大肠杆菌中已成功表达,并且具有几丁质酶活性。【讨论】尽管我们已经在体外表达了几丁质酶基因 *MbSfgCht*,但是由于有关白蚁几丁质酶的研究很少,有很多条件不是很完善,表达量不是很高,最适表达条件以及表达载体还需继续探索。结合其他昆虫中几丁质酶的研究比较,中肠,后肠几丁质酶基因主要与昆虫免疫以及蜕皮有关,而关于前肠几丁质酶的报道很少,有关它的作用还不是很明确,还需要进一步研究探索。

关键词 黄翅大白蚁,前肠,几丁质酶,基因克隆,表达分析

* 通讯作者

盐胁迫对棉花次级代谢及棉蚜消长、转录组差异的影响^{*}

王琦^{1**} 马惠¹ 赵鸣¹ 王红艳¹ 薛超¹ 隋洁¹ 焦艳艳² 董合忠^{1***}

(1.山东棉花研究中心,济南,250100;2.山东省茌平县农业局,茌平,252100)

【目的】随着 Bt 棉的广泛种植,棉铃虫和其他鳞翅目害虫得到了有效的控制,但是,蚜虫等次要害虫的危害日趋严重。先前研究表明生物或者非生物环境因素会影响植物的次级代谢,植物在次级代谢过程中会产生对害虫具有一定的防御反映的次生抗虫物质。鲜为人知的是,植物如何响应这种非生物胁迫并进一步影响到害虫的消长。本研究的目的是确定盐胁迫后的棉株是否并如何影响棉蚜的种群动态变化。【方法】大小均一的棉苗在 5 片真叶期进行 NaCl 处理,浓度分别为 0、50mM、100mM、150mM、200mM,其中一部分棉株用于盐胁迫条件下,敏感型棉蚜的侵染试验,另一部分棉株作为对照试验。盐处理第一天每株棉株上接种一头棉蚜,7 天时间观察记录棉蚜的产卵量、繁殖一代所需时间。【结果】盐处理 28 天后,棉株体内棉酚含量由 26.8%增加到 51.4%,黄酮类含量由 22.5%增加到 37.6%,单宁含量由 15.1%增加到 24.3%。与非盐处理的棉株上棉蚜种群数量相比,盐处理后的棉蚜种群数量明显降低。针对高盐和低盐浓度胁迫棉株上生长的棉蚜,利用 Illumina 测序技术,共获得 1289 个差异表达的 mRNAs,基因转录分析显示谷胱甘肽-S-转移酶 (glutathione-S-transferase)、磷酸-N-乙酰胞壁酰基五肽转移酶 (phospho-N-acetylmuramoyl-pentapeptide-transferase), 和细胞色素 P450 中差异表达的基因较多。通过 GO 功能分析确定这些基因涉及脂肪酸和脂质合成、代谢过程、分子传感器活性、刺激反应以及酶调节活性类。同时,盐胁迫激活了棉株的次级代谢反应,发现了 97 个与抗药性有关的转录基因。【结论】以上试验结果表明,棉株受到逆境胁迫后次级代谢逐渐增强,产生大量的具有杀虫效果的次生抗虫物质,直接影响到蚜虫的生长发育,以及转录组水平上相关基因的差异表达情况。在滨海盐碱地植棉区,利用棉花自身的次级代谢产生的抗虫物质抑制棉蚜等次要害虫的危害和发生,是一种有效的综合防治农业害虫的重要措施。

^{*} 基金项目:山东省农业科学院青年基金基金(2016YQN08)。

^{**} 作者简介:王琦(1984-),女,博士,副研究员,wangqijj-2005@163.com;

^{***} 通讯作者,董合忠,donghz@saas.ac.cn

昆虫神经肽 sulfakinin 和胰岛素肽调节昆虫摄食和发育

于 娜^{1,2} 林献瑜² Guy Smagghe² 刘泽文¹

(1.南京农业大学植物保护学院,农业部病虫监测与治理重点开放实验室,南京,210095

2.Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University, Ghent, B-9000)

昆虫神经肽组成复杂的网络,在多个层次调控昆虫的生理、发育及行为。为了更深入了解神经肽网络,我们尝试探究神经肽 sulfakinin(SK)信号通路和昆虫胰岛素样肽(ILP, insulin-like peptide)信号通路在摄食和发育中的作用关系。本试验以赤拟谷盗(*Tribolium castaneum*)为实验材料,利用 RNA 干扰技术分别或同时沉默 SK 受体和 ILP 受体,测定昆虫摄食量和发育水平。结果表明,SK 信号通路抑制摄食;ILP 信号通路根据营养水平调控生长发育。ILP 信号通路通过 SK 信号通路调节摄食和营养条件,进而调控生长发育。该试验明确了两条昆虫神经肽信号通路在调控昆虫摄食和发育中的交叉联系,为探究和完善昆虫神经多肽功能网络提供必要信息。

关键词 昆虫神经肽,sulfakinin,胰岛素样肽,摄食,发育

双链 RNA 对持续表达 BmToll9-1 受体的家蚕 Bm5 细胞中 RNA 干扰相关基因的诱导表达

刘吉升^{1*} Guy Smagghe² Luc Swevers³

(1.广州大学生命科学学院, 中国广州 510006; 2.Department of Crop Protection, Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University, Ghent, Belgium; 3.Insect Molecular Genetics and Biotechnology, Institute of Biosciences & Applications, National Centre for Scientific Research “Demokritos”, Athens, Greece)

昆虫 RNA 干扰主要指外源双链 RNA 诱发的基因沉默的机制, 也是昆虫免疫通路中的组成部分之一。在昆虫的免疫通路中, Toll 受体是一类重要的免疫受体; 在家蚕中, BmToll9-1 是与哺乳动物的 TLR3 受体最为接近的一个 Toll 受体, 因此 BmToll9-1 很有可能与双链 RNA 相互作用。为了研究 BmToll9-1 受体与双链 RNA 之间的相互关系, 我们构建了一株持续表达 BmToll9-1 受体的家蚕 Bm5 细胞株。通过对细胞进行双链 RNA 浸泡实验, 并对 RNA 干扰通路中相关基因进行表达情况的检测与分析。结果表明, 在加入双链 RNA 的构建细胞株中, Dicer-2 和 Ago-3 基因的表达可以被诱导表达; 而 Ago-2 基因表达不受双链 RNA 诱导, 也不受 BmToll9-1 影响。

关键词 家蚕, BmToll9-1, 受体, Bm5, 细胞, RNA 干扰

* 通讯作者, E-mail: jisheng.liu@gzhu.edu.cn

沙漠蝗章鱼胺受体空间结构预测及 内源性配体结合位点研究^{*}

鲁晓莉 翟家慧 卢慧莹^{**}

(西北工业大学生命学院,特殊环境生物物理学研究所,空间生物实验模拟技术国防重点学科
实验室,陕西西安,710072)

沙漠蝗是世界著名的农业害虫之一。章鱼胺(Octopamine, OA)是昆虫特有的微量神经胺,通常作为神经递质、神经激素或神经修饰物质影响昆虫的嗅觉、能量代谢、运动、侵略行为等生理活动。其生理机能的发挥依赖于章鱼胺与章鱼胺受体(Octopamine Receptor, OAR)的相互作用,因此 OAR 有望成为新型杀虫剂的靶标。基于沙漠蝗章鱼胺受体与内源性配体 OA 相互作用机制和受体结构设计杀虫剂先导药物,可具有特异针对性,减少对非目标物种的伤害。

本文结合同源建模软件 I-TASSER、分子动力学模拟软件 NAMD、对接软件 AutoDock 等一系列数据分析和图像处理软件,实现了章鱼胺受体的三维结构建模、内源性配体结合位点的识别以及配体结合相互作用分析。动力学模拟结果表明章鱼胺受体胞外第二个环区和胞内第三个环区为高变区域,物种间进化差异大,空间构象不稳定。分析数据可知,内源性配体与氨基酸通过 H 键和 π - π 堆积作用稳定复合体构象,使 OA-OAR 复合体在膜溶剂体系中稳定的氨基酸位点与理论预测值一致。这为下一步开展以沙漠蝗 OAR 为靶标的理性药物设计工作奠定了基础。

关键词 沙漠蝗,章鱼胺受体,同源建模,分子动力学模拟,H 键, π - π 堆积作用,理性药物设计

^{*} 国家自然科学基金(31402019),陕西省自然科学基金(2014JQ4140),中央高校基础研究基金(3102015ZY082)

^{**} 通讯作者

细胞色素 P450 还原酶在禾谷缢管蚜中的研究

王 康

(西北农林科技大学植物保护学院,杨凌,712100)

【目的】细胞色素 P450 酶系(P450s)调控生物体多种内源物质和外源物质的代谢,在多种昆虫中被证明为抗药性机制的重要组成部分;细胞色素 P450 还原酶(CPR)为下游 P450s 反应体系提供必需电子,可作为开发新型杀虫剂的理想作用靶标。我们探究 *CPR* 基因在禾谷缢管蚜抗药性方面的相关性,了解该基因在自然种群中的核苷酸多样性,为禾谷缢管蚜的有效控制提供新的科学依据。【方法】实验室内培养禾谷缢管蚜抗吡虫啉和异丙威品系;并结合全国 11 个地区采集禾谷缢管蚜田间试虫,分析禾谷缢管蚜 *CPR* 基因(*RpCPR*)表达和突变情况。【结果】基因克隆获得 *RpCPR* 全长为 2476bp,编码 681 个氨基酸。相对定量研究发现相较于敏感品系,抗吡虫啉品系和抗异丙威品系中 *RpCPR* 基因均显著性高表达,分别为 3.53 倍和 3.74 倍。另外,诱导实验表明吡虫啉和异丙威两种药剂均能诱导该基因上调表达。以实验室敏感品系中 *RpCPR* 核苷酸序列为基准,在 167 个田间试虫中,该基因共检测到 334 个核苷酸多态位点,其中 65 个多态位点在 2 个以上样本中检测到。核苷酸突变共导致 194 个氨基酸位点发生错义突变,其中,脯氨酸₄₈₄ 在 59 个自然个体中检测到突变为丝氨酸,占 35.1%。【结论】禾谷缢管蚜自然种群中 *RpCPR* 基因存在较高的核苷酸多态性,产生大量的差异个体,这为 *RpCPR* 蛋白的突变研究提供了可靠的事实依据。同时,室内条件下 *RpCPR* 基因在抗性品系中的高表达也揭示了该基因在禾谷缢管蚜抗药性方面存在重要作用。

关键词 禾谷缢管蚜, *RpCPR*, 抗药性, 多态性

飞蝗飞行肌和跳跃肌的转录组比较^{*}

李 晶^{1,2**} 程 阳^{1,2} 张海满^{1,2} 邹 振¹ 李向东^{1***}

(1.中国科学院动物研究所,农业害虫鼠综合治理国家重点实验室,北京,100101;

2.中国科学院大学,北京,100049)

【目的】比较飞蝗 *Locusta migratoria* 的飞行肌(胸部背纵肌, Dorsal longitudinal muscle)和跳跃肌(后足胫节后提肌, Hind leg extensor muscle)在转录组水平上的差异,为昆虫肌肉分化机理研究和飞蝗防治奠定基础。【方法】选择羽化第八天的飞蝗雌虫,解剖得到飞行肌和跳跃肌,利用 Illumina Hiseq2000 对 cDNA 库进行高通量测序结合功能分析,比较两种肌肉组织在转录组水平差异。【结果】通过对测序结果的整理拼接共获得了 32,147 条 unigenes, BLAST 搜索 NCBI non-redundant 和 Uniprot 数据库得到 19,444 条注释基因。转录组分析和 real-time PCR 检测结果表明,两种肌肉在能量代谢和肌肉收缩蛋白方面存在很大差异。能量代谢方面,飞行肌主要利用三羧酸循环和脂肪酸代谢为飞行提供能量,而跳跃肌主要利用糖酵解代谢为跳跃提供能量。肌肉收缩蛋白方面,两种肌肉表达不同类型的肌球蛋白异构体和收缩调节蛋白 Troponin 复合体。进一步生化实验表明两种肌肉中表达的肌球蛋白的马达活性具有不同的 pH 依赖性,在生理 pH 范围内,飞行肌肌球蛋白的马达活力变化不大,而跳跃肌球蛋白的马达活性受酸激活。【结论】飞蝗在飞行肌和跳跃肌中表达不同类型的功能蛋白,适应其不同的生理需求。

关键词 飞蝗, 转录组测序, 能量代谢, 肌节

* 资助项目: 国家重点基础研究发展规划 973 项目(2012CB114100), 国家自然科学基金项目(31672359, 31301917)。

** 第一作者, jingli@ioz.ac.cn

*** 通讯作者, E-mail: lixd@ioz.ac.cn

基于 CRISPR/Cas9 的桔小实蝇 *mew* 基因功能研究 *

郑文平 李青梅 张宏宇 **

(园艺植物生物学教育部重点实验室,农业微生物学国家重点实验室,城市与园艺昆虫研究所,
华中农业大学植物科学技术学院,武汉,430070)

CRISPR/Cas9 技术是近几年发展起来的一种由 sgRNA 指导 Cas 蛋白对靶标基因进行修饰的技术。由于其具有高效性、准确性、低脱靶性、普适性等特点,已经在包括昆虫学在内的动物、植物、微生物以及人类医学等分子生物学领域显示出巨大应用前景而被广泛关注。桔小实蝇是一种重要的农业害虫,为害 250 多种蔬果。本研究以桔小实蝇为研究对象,在成功建立的桔小实蝇 CRISPR/Cas9 基因敲除体系基础上,研究了 *multiple edematous wings (bdmew)* 基因在桔小实蝇翅与肌肉发育中的功能。*mew* 表达模式研究表明 *mew* 在胸部表达量最高,其次为脂肪体和胚胎,在桔小实蝇不同发育阶段均有表达,其中以蛹期和初羽化成虫表达水平最高;利用 CRISPR/Cas9 成功编辑靶标基因,产生碱基缺失或替换,实现基因突变。G0 进行异型杂交获得的 G1 突变率达 73.8%,其中 20.0% 的未能成功羽化,53.8% 的成虫翅发育障碍,不能够正常飞行且行走不协调。进一步研究发现翅发育障碍主要表现为褶皱展翅失败,翅表刚毛弯曲易折;其胸部肌肉与腿部肌肉肌节长度显著边长,肌节宽度变窄,导致其肌肉收缩力量变小。上述研究表明,*bdmew* 基因在桔小实蝇肌肉收缩与展翅过程中起着关键作用,同时证明了 CRISPR/Cas9 技术在桔小实蝇中基因编辑的可行性,为桔小实蝇基因功能研究和综合防治中的应用提供工具。

关键词 桔小实蝇,基因编辑;*bdmew*,CRISPR/Cas9

* 基金项目:现代农业(柑橘)产业技术体系(NO:CARS-27)和国家自然科学基金(No. 31572008),国际原子能机构 International Atomic Energy Agency's Coordinated Research Project (No. D42016) 和中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(No. 2662015PY129)

** 通讯作者 Corresponding author. Tel.:+862787280276;Email: hongyu.zhang@mail.hzau.edu.cn

BmNPV 多角体蛋白与宿主细胞自噬的相互博弈关系研究

郭忠建 于萌涵 董现云 田 婷 陶柳性
(江苏大学生命科学研究院,镇江,212013)

多角体蛋白(polyhedrin)是杆状病毒多角体病毒粒子在野外自然环境中长期保持感染能力的必需蛋白。几十年以来,杆状病毒领域科研人员一直认为该蛋白仅仅是杆状病毒的一个结构蛋白而已,因此其功能的研究被忽略至今,毫无进展。在本项目前期的研究中,我们发现:(1)由于表达量高、表达速度快,polyhedrin 没有充裕时间折叠而倾向于形成聚集物/体。这些聚集物/体与热休克蛋白 70(Heat shock cognate/protein 70,HSC/HSP70)、泛素蛋白共定位。在一些分子伴侣作用下,部分聚集物恢复了三维结构并转运至细胞核形成多角体病毒粒子;另一部分则形成聚集体并进一步形成了自噬体;(2) polyhedrin 被泛素化修饰,形成 K48 和 K63 的泛素链;(3)加入自噬抑制剂 3-methyladenine(3-MA)后,polyhedrin 的多聚化和/或翻译后修饰程度显著降低,细胞核中形成的多角体病毒粒子亦显著减少;(4) polyhedrin 能与微管相关蛋白 1-轻链 3(Microtubule-associated protein 1-light chain 3,MAP1LC3,简称 LC3)相互作用;在受 BmNPV 感染的细胞中,polyhedrin 与 LC3 共定位于自噬体膜;(5) polyhedrin 还能与宿主细胞自噬受体蛋白 sequestosome 1(SQSTM1)相互作用。过表达 SQSTM1 时,polyhedrin 表达量降低,呈现多角体病毒粒子的细胞数亦显著减少。这些结果表明,BmNPV 与宿主之间在自噬通路上存在着复杂的博弈关系,值得进一步深入研究。

关键词 BmNPV,细胞自噬,polyhedrin,LC3,SQSTM1

荔枝蒂蛀虫转录组高通量测序分析及嗅觉基因研究^{*}

孟翔 刘慧 欧阳革成 郭明昉

(广东省生物资源应用研究所, 广东省野生动物保护与利用公共实验室,
广东省农业害虫综合治理重点实验室, 广州, 510260)

【目的】荔枝蒂蛀虫(*Conopomorpha sinensi* Bradley) 是专一性危害我国华南地区荔枝和龙眼的重要害虫, 隐蔽性强, 防治困难, 基因组信息缺乏。为获得荔枝蒂蛀虫的基因数据, 寻求有效控制害虫的分子靶标, 【方法】采用新一代高通量测序技术 Illumina Hiseq™ 4000 对荔枝蒂蛀虫进行转录组测序和生物信息学分析。【结果】经序列拼接获得 68996 条 unigenes。进一步利用七大公共数据库进行同源比对和注释了 22348 unigenes。研究发现: 注释到 Nr 数据库的 unigenes 数量最多, 达 27.01%, 其中 Nr 注释的物种中与家蚕 *Bombyx mori* 同源性最高, 达 39.4%; 将 unigenes 与 GO 数据库比对发现: 15585 条 unigenes 根据其功能大致可分为 3 类 47 亚类; KEGG pathways 分析表明: 7272 条 unigenes 定位为 267 个代谢通路; 基因注释进一步筛选鉴定获得 100 个荔枝蒂蛀虫嗅觉相关基因。【结论】本研究首次获得了荔枝蒂蛀虫的转录组数据, 研究结果为生物控制荔枝蒂蛀虫提供了重要的基础数据和候选分子靶标。

关键词 荔枝蒂蛀虫, 转录组, 高通量测序, 基因注释, 嗅觉基因

^{*} 资助项目: 国家自然科学基金(31301664); 广东省科技计划项目(2014A020208079; 2015A020209091); 广州市科技计划项目(201504290946316); 广东省科学院优秀青年科技人才基金(rcjj2015)

基于转录组数据的三色书虱解毒代谢酶基因的发掘与分析^{*}

吴玉娴^{**} 王桂强 景田兴 肖林帆 魏丹丹 豆威 王进军^{***}

(西南大学植物保护学院,昆虫学及害虫控制工程重点实验室,重庆,400716)

书虱(psocids)隶属于啮虫目(Psocoptera)、书虱科(Liposcelididae)、书虱属(*Liposcelis*),是世界范围内广泛发生并造成严重经济损失的一类储藏物害虫。书虱已对多种储粮保护剂产生了抗药性,且许多针对其他仓储害虫具有良好效果的防治措施,对书虱的防治效果甚微。然而,书虱的研究主要集中在基础生物学、生理生化以及应用防治等方面,对该类害虫抗逆性形成的分子机制方面的研究知之甚少,亟待加强。本研究基于新一代高通量 Illumina Solexa 测序技术,建立三色书虱(*Liposcelis tricolor*)转录组总库(包含不同发育阶段的 RNA 样本)。结果共获得 21,431,111 条读序(reads),总核苷酸数为 4,328,780,518(4.3 Gb),Q₃₀ 达到 93.94%。利用 Trinity 软件组装获得非冗余独立基因(Unigene)35,596 条,平均长度为 934 bp。将 Unigene 提交至 Nr、Swiss-Prot、KEGG、COG、GO 数据库进行 BLASTX 比对,发现共有 18,330(51.49%)条 Unigene 得到了同源基因的匹配。针对三色书虱抗药性相关的三大解毒代谢酶基因分别进行鉴定。结果共鉴定得到 167 条细胞色素 P450 基因(P450s)序列,经人工校正剔除不能正确翻译、与非昆虫高度同源以及序列长度较短的序列(<800 bp)后,共获得 94 个 P450 基因,隶属于 CYP2 Clan 的有 14 个,线粒体 CYP Clan 的有 7 个,CYP3 Clan 的有 42 个,CYP4 Clan 的有 31 个;共鉴定到 40 条谷胱甘肽-S-转移酶(GSTs)基因序列,剔除与非昆虫高度同源以及短序列(<300 bp)后,获得 35 个 GST 基因,分属于 Sigma 家族(6 个)、Delta 家族(18 个)、Omega 家族(1 个)、Theta 家族(6 个)、Zeta 家族(2 个)以及 Microsomal GSTs 家族(2 个)等六大家族;共鉴定到 60 条酯酶(Esterase)相关基因序列,剔除短序列(<1000 bp)后,获得 34 个酯酶基因,分属于 Clade A(7 个)、Clade B(10 个)、Clade F(3 个)、Clade I(3 个)、Clade J(2 个)、Clade L(6 个)、Clade M(2 个)以及 Clade N(1 个)等 8 个家族。以上抗药性相关基因的挖掘和鉴定不仅为后续其功能的研究提供了基础数据,也为杀虫剂新靶标的开发以及药剂代谢分子机理的研究奠定理论基础。

关键词 书虱,转录组,酯酶,细胞色素 P450,谷胱甘肽 S-转移酶

^{*} 基金项目:国家自然科学基金(31301667);重庆市前沿与应用基础研究项目(cstc2015jcyjA80009)

^{**} 作者简介:吴玉娴,女,湖北黄冈人,本科生,研究方向为昆虫分子生态学;E-mail:yuxianwu1996@163.com

^{***} 通讯作者:王进军,教授、博士生导师;E-mail:jjwang7008@yahoo.com

雕纹书虱线粒体基因组测序与分析^{*}

石 岩^{**} 魏丹丹 楚 庆 尚 峰 豆 威 王进军^{***}

(西南大学植物保护学院 昆虫学及害虫控制工程重点实验室,重庆,400716)

书虱(booklice)隶属于啮虫目(Psocoptera)、书虱科(Liposcelididae)、书虱属(*Liposcelis*),是一类在世界范围内广泛发生并可造成严重经济损失的储藏物害虫。书虱中常见的代表种有嗜卷书虱 *Liposcelis bostrychophila*、嗜虫书虱 *L. entomophila*、无色书虱 *L. decolor* 和小眼书虱 *L. paeta* 等,它们与人们的生产、生活密切相关。两侧对称动物线粒体基因组的特点是共有 37 个基因,并分布在一个染色体环上。目前,书虱属的线粒体基因组已经有四个种被测序报道,分别是嗜虫书虱、无色书虱、嗜卷书虱和小眼书虱,它们分别隶属于书虱属的 A、B 和 D 组。与两侧对称动物线粒体基因组结构不同的是,嗜卷书虱、嗜虫书虱和小眼书虱线粒体基因组发生裂化现象,线粒体基因分布于两个染色体环上。然而,无色书虱固守着典型动物线粒体基因组的特征。为探究书虱属线粒体基因组裂化是否具有组内特异性,本研究利用长 PCR 技术,对书虱属 D 组的雕纹书虱 *L. sculptilis* 进行线粒体全基因组测序。结果表明,其 35 个基因位于同一个染色体环上,可见线粒体基因组裂化现象并不被书虱属 D 组所共享,即裂化现象在书虱属的组内不具有特异性,裂化现象是随机发生的。此外,雕纹书虱线粒体基因组在基因组成与基因排序等方面,也与其它书虱种类具有很大不同,可推断书虱属内不同种类线粒体基因组的进化速率差异很大。同时,我们首次基于线粒体基因组数据,一个化石记录和两个进化结论作为标尺(书虱化石:100–145 百万年;象虱亚目和吸虱亚目分化时间:94–101 百万年;人体虱、人头虱和阴虱共同进化至少 7 百万年),利用 BEAST 软件重构了啮总目 21 个物种的进化历史,发现书虱和虱目已经共同进化了 134 百万年,其中吸虱亚目(Anoplura)在白垩纪晚期开始分化。

关键词 两侧对称动物线粒体基因组, 雕纹书虱, 线粒体基因组, 分化时间

^{*} 基金项目:国家自然科学基金项目(31301667);中央高校基本科研业务费专项资金(XDJK2015B034)

^{**} 作者简介:石岩(1989–),男,博士研究生,研究方向为昆虫分子生态学;E-mail:shiyanyuanyi@aliyun.com

^{***} 通讯作者:王进军,教授,博士生导师;Email:jjwang7008@yahoo.com

桔小实蝇抗菌肽基因 *Cecropin-2* 和 *Defensin* 的分子生物学特性研究^{*}

刘世火^{**} 魏 冬 袁国瑞 蒋红波 王进军^{***}

(西南大学植物保护学院 昆虫学及害虫控制工程重点实验室, 重庆, 400716)

桔小实蝇(*Bactrocera dorsalis*)(Hendel)隶属于双翅目(Diptera)、实蝇科(Tephritidae),果实蝇属(*Bactrocera* Macquart),是一种全世界分布广泛、危害严重的果蔬害虫。抗菌肽(antimicrobial peptides, AMPs)是有机生物体内的一类由基因编码的,用于抵御外来病原体感染而产生的具有抗菌活性的小分子蛋白质,是昆虫先天性防御系统的重要组成部分。*Cecropin*是已知的最强的抗菌肽之一,而*Defensin*是昆虫和其它脊椎动物中分布最广泛的抗菌肽,这两种抗菌肽均具有广谱抗细菌和病毒的效果,是昆虫中重要的两类抗菌肽。已有研究表明,抗菌肽的表达有助于昆虫适应新的生态环境。近年来,桔小实蝇在我国适生范围陡增、抗逆能力增强,为探明桔小实蝇抗菌肽基因的时空表达模式及免疫诱导反应,本研究基于桔小实蝇转录组数据,克隆获得*Cecropin-2*(*BdCec-2*)和*Defensin*(*BdDef*)两条抗菌肽基因的cDNA,其开放阅读框(open reading frame, ORF)长度分别为192 bp和282 bp,编码的氨基酸序列的长度分别为63 aa和93 aa。并利用qPCR技术解析这两条基因在桔小实蝇卵、幼虫、蛹和成虫四个不同发育阶段,头、胸、腹三个体段以及腹部中肠、马氏管和脂肪体三个组织的表达模式。结果表明二者均在成虫期表达量最高,在卵期的表达量最低,暗示这两种抗菌肽可能参与成虫期因取食和生殖等行为引发的免疫防御反应;此外,二者均在腹部高表达,进一步不同组织表达模式分析结果表明它们均在脂肪体中高表达,该结果与以往的研究结果相一致,说明桔小实蝇成虫的防御反应可能主要发生在腹部,其中脂肪体在免疫防御反应中承担着主要作用。采用肽聚糖(peptidoglycan, PGN)注射成虫诱导后,*BdCec-2*和*BdDef*的表达量均上调,表明这两种抗菌肽可能参与了桔小实蝇对细菌入侵的免疫反应进程。本研究结果为进一步探索桔小实蝇的免疫反应机制奠定了一定的基础,也为今后利用昆虫病原微生物防治桔小实蝇提供理论指导。

关键词 抗菌肽, *Cecropin-2*, *Defensin*, 桔小实蝇, 免疫

^{*} 基金项目:国家公益性行业(农业)科研专项(201203038);现代柑橘产业体系岗位科学家经费

^{**} 作者简介:刘世火(1992-),男,硕士研究生,研究方向为昆虫分子生态学;E-mail:liushihuo@126.com

^{***} 通讯作者:王进军,教授,博士生导师;Email:jjwang7008@yahoo.com

桔小实蝇 *Taiman* 基因选择性剪切分析 *

刘 鸿 ** 李亚丽 李慧敏 豆 威 *** 王进军

(西南大学植物保护学院 昆虫学及害虫控制工程重点实验室,重庆,400716)

桔小实蝇(*Bactrocera dorsalis*)隶属于双翅目(Diptera),实蝇科(Tephritidae),是一种世界范围内广泛分布的重要农业害虫。近年来由于适生范围陡增、抗药性发展迅速等原因,桔小实蝇危害愈演愈烈、但防治越来越难。面对上述防控困局,探索桔小实蝇防控的新靶标显得尤为迫切!保幼激素是昆虫生长发育时期的重要信号传递者,本研究主要针对保幼激素信号通路中关键基因 *Taiman* 进行分析。经克隆获得 *Taiman* 基因 C 端有 2 个 Indel 区域,其中 Indel I 和 Indel II 各有 2 个和 5 个可变剪切。利用 RT-qPCR 技术解析了该基因 Indel II 在桔小实蝇不同发育阶段的表达模式,发现不同转录本在桔小实蝇不同发育时期表达量差异较大,其中 *Taiman A*、*B* 在低龄幼虫期高量表达,*Taiman C* 在成虫性成熟初期高量表达,*Taiman D* 在老龄幼虫高量表达。进一步利用 JH III 和烯虫酯通过点滴法处理 1 日龄蛹,发现处理后不同时期(1d,3d,5d,7d)各转录本有不同程度的上调。本研究为阐明 *Taiman* 基因不同转录本在保幼激素信号通路中的功能及其调节方式奠定了一定的分子基础。

关键词 桔小实蝇,保幼激素,*Taiman*,定量表达

* 基金项目:公益性行业科研专项(201203038);重庆市基础与前沿研究计划重点项目(cstc2015jcyjBX0061)

** 通讯作者:豆威,副教授;Email: douwei80@swu.edu.cn

*** 作者简介:刘鸿(1992-),男,硕士研究生,研究方向为昆虫分子生态学;E-mail: liuhong741@yeah.net

桔小实蝇神经肽 Corazonin 及其受体生理功能研究 *

侯秋莉 ** 蒋红波 桂顺华 陈二虎 魏丹丹 王进军 *** Guy Smagghe ***

(西南大学植物保护学院 昆虫学及害虫控制工程重点实验室, 重庆, 400716)

Corazonin (Crz) 是昆虫中普遍存在的一类结构非常保守的神经肽, 与昆虫的心跳速度、体色变化、群栖行为、生理节律过程等密切相关。桔小实蝇(*Bactrocera dorsalis*)是一种严重危害果蔬的双翅目害虫, 具有繁殖速度快、寄主范围广等特点。明确 Corazonin 信号系统在桔小实蝇体内的生理功能, 开发其受体(Corazonin receptor)的杀虫剂靶标潜力, 对害虫防控及新型药剂开发利用具有重要意义。本文以桔小实蝇为研究对象, 采用 RT-PCR 技术克隆获得了 *BdCrz* 及其受体 *BdCrzR* 基因的 cDNA 序列, 结果表明 *BdCrz* 属于[His⁷, Ser¹¹]-Crz 亚型; *BdCrzR* 编码 608 个氨基酸具有七个跨膜结构域, 属于典型的 G 蛋白偶联受体, 序列多重比对表明 *BdCrzR* 与果蝇 *CrzR* 具有高度同源性。采用哺乳动物细胞异源表达系统, 在 CHO 细胞中成功进行 *BdCrzR* 瞬时表达; 利用 GPCR 实验测定了 *BdCrzR* 在不同亚型配体的刺激下胞内 Ca²⁺流的变化, 结果表明[His⁷, Ser¹¹]-Crz 和[Arg⁷]-Crz 两种亚型的配体均能成功激活该受体, 并且存在浓度依赖性, 该结果说明 Corazonin 在进化过程中具有较高的序列保守型和结构多样性。为进一步明确其生理生化特性, 我们运用 qRT-PCR 技术对 Crz 及其受体的时空表达模式进行解析, 结果表明 *BdCrz* 和 *BdCrzR* 在桔小实蝇不同发育阶段均有表达, 其中在幼虫期表达量较高, 并且在幼虫三龄末期达到最高值; 在幼虫和成虫的不同组织中, *BdCrz* 和 *BdCrzR* 均主要在中枢神经系统高表达, 此外 *BdCrzR* 在中枢神经系统以外组织中也有少量表达。采用免疫组化试验对 Crz 进行细胞水平定位分析, 结果表明在幼虫前脑背外侧区域存在 3 对 Crz 神经元, 在腹神经索区域存在 8 对 Crz 神经元; 在成虫前脑背外侧存在 3 对 Crz 神经元。以上结果表明 Crz 及其受体在桔小实蝇幼虫的生育发育过程中具有重要作用。因此, 我们采用 RNAi 技术, 对桔小实蝇三龄后期幼虫注射 CrzR-dsRNA, 结果表明 *BdCrzR* 沉默导致幼虫化蛹显著性延迟, 延迟时间达到 2-3 天。以上研究结果表明 CrzR 在桔小实蝇幼虫-蛹转化过程中承担了重要的生理功能, 该结果进一步丰富了 Corazonin 及其受体的生理生化特性以及 Corazonin 信号系统在昆虫体内的生物学功能, 为基于神经肽受体为靶标研究桔小实蝇有效控制提供了科学依据。

关键词 神经肽, Corazonin, Corazonin receptor, 桔小实蝇, RNAi, 生理功能

* 基金项目: 国家公益性行业(农业)科研专项(201203038); 现代柑橘产业体系岗位科学家经费

** 作者简介: 侯秋莉, 女, 博士研究生, 研究方向为昆虫分子生态学; E-mail: houqiuli2000@126.com

*** 通讯作者: 王进军, 教授, 博士生导师; Email: jjwang7008@yahoo.com

*** 通讯作者: Guy Smagghe, 教授, 博士生导师; guy.smagghe@ugent.be (G. Smagghe)

昆虫神经肽 Natalisin 对橘小实蝇交配行为的调控研究^{*}

桂顺华^{**} 蒋红波 刘小强 徐 丽 王进军^{***}

(西南大学植物保护学院,国家现代柑橘产业体系病虫害防控功能研究室,重庆,400716)

柑橘是重要的经济作物,是我国多地区的支柱产业。橘小实蝇由于其极强的环境适应能力和入侵扩散能力,严重危害多种重要经济果蔬,尤其是柑橘,由于其适生范围陡增、抗药性发展迅速等原因,其危害愈演愈烈、防治越来越难。神经肽在昆虫生理活动中具有重要作用,以昆虫神经肽受体(GPCR)作为潜在靶标创制害虫特异的、新型控制剂来达到控制害虫的方法引起人们极大的关注。神经肽 Natalisin(NTL)是一个新发现的神经肽,该神经肽于 2013 年首次从果蝇、赤拟谷盗和家蚕 3 种模式昆虫中发现并鉴定的。并在果蝇和赤拟谷盗中发现 NTL 通过其受体调控着昆虫的交配行为以及生殖力。鉴于昆虫 NTL 信号传递系统在其它昆虫中所具有的重要功能,有理由相信 NTL 对于橘小实蝇同样重要。本研究中,我们采用 RT-PCR 克隆了橘小实蝇神经肽 NTL 及其受体 NTLR 的 cDNA 序列并进行序列分析,发现 NTL 的前体序列具有 3 个成熟肽且皆含有典型的 NTL 基序,通过与多个昆虫的 NTLR 和 TRPs 受体序列进行系统发育分析发现所有的 NTLR 与 TRPs 受体明显聚为两支;应用 qPCR 分析 NTL 及其受体的不同发育阶段表达模式,结果发现 NTL 的转录水平在卵期表达量最高,NTLR 在蛹期和成虫阶段具有较高表达。对于组织特异性的表达模式分析发现 NTL 的表达主要集中在中枢神经系统(CNS),与之不同的是,NTLR 除在 CNS 表达外,在后肠、卵巢、精巢也有一定的表达;利用免疫组化和原位杂交技术对橘小实蝇脑部进行了亚细胞定位分析,共定位到 3 对神经元,包括前脑背外侧神经元(DLP),对侧中间神经元(ICLI)及前背外侧神经元(ADLI);随后,利用 RNAi 技术对神经肽基因 NTL 进行沉默,RNAi 后发现,橘小实蝇交配率出现明显下调,说明 NTL 调控着橘小实蝇的交配行为,证实了该神经肽信号传递系统具有新型控制剂靶标的潜力;我们利用哺乳动物细胞(CHO 细胞)表达系统,对橘小实蝇 NTL 受体进行了瞬时表达,并利用细胞内钙离子流动测定的方法测定了 3 个内源性配体(BdNTL1、BdNTL2、BdNTL3)对 NTLR 的激活效应并确定了 3 个内源性配体的浓度依赖性曲线,确定了 BdNTL2 为模式配体,为建立橘小实蝇 NTL 受体拮抗剂和激发剂筛选平台奠定了基础。

关键词 橘小实蝇,神经肽,Natalisin,GPCR,交配行为

^{*} 资助项目:本研究感谢教育部创新团队发展计划(IRT0976)以及国家自然科学基金(31572016)

^{**} 第一作者信息:桂顺华,男,博士研究生。

^{***} 通信作者信息:王进军,教授,博士生导师。

基于 RNA 干扰对胰岛素受体基因调控橘蚜发育及翅形成的研究^{*}

丁碧月^{**} 尚 峰 牛金志 熊 英 张 强 杨 群 王进军^{***}

(西南大学植物保护学院 昆虫学及害虫控制工程重点实验室, 重 庆, 400716)

褐色橘蚜(*Toxoptera citricida*)(Kirkaldy)隶属于半翅目(Hemiptera)、蚜科(Aphididae),是重要的柑橘害虫,也是柑橘衰退病病毒(*citrus tristeza virus*,CTV)的主要传播媒介。橘蚜有翅型分化现象,即无翅型具有强大的繁殖能力,而有翅型具有长翅、强壮的飞行肌使其随风扩散。有翅蚜翅的形成以及飞行肌的发育需要大量的营养物质的传递及能量再分配。胰岛素信号通路是目前研究最为深入的与营养物质传递相关的生物学通路之一,在昆虫中与能量代谢、营养、发育、行为等均有重要关系。而胰岛素受体作为胰岛素信号通路的最上游组分,其对于营养物质的传递起到关键作用。那么胰岛素受体基因对橘蚜翅发育过程起到什么样的作用呢?本研究首先通过 RT-PCR 方法,首先获得 2 条褐色橘蚜胰岛素受体基因([WTBX] *TciInR1* [WTBZ] 和 *TciInR2*)。随后通过 RT-qPCR 方法,分析了 *TciInR1* 和 *TciInR2* 在不同发育阶段的表达模式。结果表明,*TciInR1* 和 *TciInR2* 在不同发育阶段均有表达,但 *TciInR1* 在有翅成虫中显著性高表达,而 *TciInR1* 在翅型分化的关键时期二龄若虫中显著性高表达。最后通过 RNA 干扰技术,探索 *TciInR1* 和 *TciInR2* 对四龄有翅若蚜翅发育的影响。分别干扰 *TciInR1* 和 *TciInR2* (dsRNA 浓度为 1500 ng/uL),72h 后均出现蚜虫不正常发育现象(翅不发育、翅卷曲以及仍然处于 4 龄若虫期的蚜虫),而对照(dsGFP)则均为正常的有翅成虫。较低沉默效率的 *TciInR1* (45%)导致了更高比例的蚜虫(73%)不能正常发育,而较高沉默效率的 *TciInR2* (54%)仅导致 60% 的蚜虫不能正常发育;同时干扰 *TciInR1* 和 *TciInR2* 后,仅有 13%的蚜虫正常发育,25%的蚜虫翅卷曲以及 62%的四龄若虫死亡,混合干扰对照组(dsGFP)有 13%的死亡率。本研究结果表明 *TciInR1* 和 *TciInR2* 都对橘蚜个体发育和翅发育起到重要作用。本研究结果为深入研究胰岛素影响蚜虫生长发育奠定了基础,同时也为通过 RNAi 技术控制橘蚜扩散提供了理论依据。

关键词 褐色橘蚜,翅型,胰岛素受体基因,定量表达,RNAi

^{*} 基金项目:国家公益性行业(农业)科研专项(201203038);现代柑橘产业体系岗位科学家经费

^{**} 作者简介:丁碧月(1994-),女,硕士研究生,研究方向为昆虫分子生态学;E-mail: biyueding@163.com

^{***} 通讯作者:王进军,教授,博士生导师;Email: jjwang7008@yahoo.com

棉铃虫羧酸酯酶 CarE001C 突变及代谢活性研究^{*}

鲁 梅 蔺 珊 闫海生 李永强^{**} 马志卿 张 兴

(西北农林科技大学植物保护学院, 杨凌, 712100)

【目的】棉铃虫(*Helicoverpa armigera*)是许多重要农作物的一种主要害虫,其对有机磷、拟除虫菊酯类化学杀虫剂已产生较严重的抗药性。为了揭示羧酸酯酶基因在棉铃虫代谢抗性形成及发展中的可能作用及分子机制,本文对羧酸酯酶 CarE001C 及系列人工构建的突变体进行了原核表达及杀虫剂代谢活性测定。【方法】根据酯酶相关活性部位,通过设计突变引物,采用 QuikChange 单位点突变技术对羧酸酯酶基因 *CarE001C* 进行定点突变,获得了 7 个单位点突变体;在突变体 *CarE001C*^{A127D} 序列基础上采用 QuikChange 多位点突变技术进行多位点突变,获得了 6 个多位点突变酶,通过原核表达及分离纯化获得纯度较高的单位点和多位点突变酶表达产物,最后采用酶标仪测定其对 α -乙酸萘酯(α -NA)的酶活,通过高效液相色谱(HPLC)仪测定其对 β -氯氰菊酯、氰戊菊酯及毒死蜱的代谢活性。【结果】结果表明,突变酶对羧酸酯底物 α -NA 丧失部分甚至全部活性,但其中部分突变酶对杀虫剂氰戊菊酯的代谢活性却有较明显的提高,与酯酶 CarE001C 相比,单位点突变酶 CarE001C^{F276L} 和 CarE001C^{H423I} 对氰戊菊酯的代谢活性为突变前 2~3 倍;多位点突变酶 OP4-1 (P77A / A127D / S274I / W329T)、OP4-2 (P77A / A127D / W329T / M436S)和 OP5 (P77A / A127D / S274I / W329T / M436S)对毒死蜱的代谢活性为突变前 1.5~2 倍。【结论】上述研究结果表明,棉铃虫羧酸酯酶 CarE001C 氨基酸序列某些位点的替代变化会增强酯酶对拟除虫菊酯和有机磷类杀虫剂的代谢活性,表明今后棉铃虫有可能在长期适应及进化中通过自身体内的羧酸酯酶单位点或多位点变异而对部分化学杀虫剂产生抗药性。

关键词 棉铃虫,羧酸酯酶,原核表达,定点突变,代谢活性

^{*} 资助项目:国家基金项目(31201517)

^{**} 通讯作者 Email:yongqiangli@nwsuaf.edu.cn

褐飞虱与抗性水稻互作的基因表达谱分析及相关基因功能研究^{*}

郝培应 朱家骏 陆潮峰 冯娅琳 俞晓平^{**}

(中国计量大学生命科学学院,浙江省生物计量及检验检疫技术重点实验室,杭州,310018)

【目的】本研究旨在探明褐飞虱与抗性水稻互作的基因表达谱变化规律,从中筛选并鉴定关键基因。【方法】采用 RNA-Seq 技术,进行了 4 个不同褐飞虱种群以及 5 个世代 TN1 转接 RHT 种群的基因表达谱分析,获得了差异表达的基因信息,进而克隆相关基因的全长 cDNA,通过定量 PCR 和 RNA 干扰技术研究目标基因的功能。【结果】基因表达谱数据提示,在抗性品种上,褐飞虱的核糖体应激、免疫、解毒等通路上调,而生长发育等相关通路下调。克隆了 *NIKTIP* 等 10 多个基因的全长 cDNA,其中,*NIKTIP* 基因在 Tn 种群的怀卵褐飞虱中表达量最高,在 RF1~RF5 中的表达量呈现逐渐下调的趋势。RNA 干扰结果表明,未添加 dsRNA 的空白组与 dsGFP 对照组的褐飞虱体重不存在显著差异,ds*NIKTIP* 低浓度与中浓度干扰实验的褐飞虱体重与空白组存在显著差异,与 dsGFP 对照组不存在显著差异,而高浓度组褐飞虱的体重与空白组和 dsGFP 对照组均存在显著的差异($P<0.05$)。空白组、dsGFP 对照组都在 4 天内全部羽化完毕,低浓度组在第 5 天也全部羽化,而中浓度和高浓度组在统计第 1 天就与空白组存在极显著差异($p<0.01$),到第 7 天尚未全部羽化,羽化率分别为 75%和 62.47%。空白组、dsGFP 对照组和低浓度组褐飞虱的卵巢小管内有大量的成熟的卵,说明这 3 组褐飞虱的卵巢发育速率比较相近,均处于 IV 级卵巢。中浓度组和高浓度组褐飞虱的卵巢发育相对前 3 组慢,卵巢发育程度分别处于 III 级和 II 级。【结论】*NIKTIP* 对褐飞虱的体重、羽化速率、卵巢的发育有重要的影响,可能参与褐飞虱适应抗性水稻的调节,通过降低生长发育和生殖指标,换取个体在抗性品种上的生存,并最终发展为适应抗性水稻品种的新种群。

关键词 褐飞虱,水稻,基因表达谱,基因功能

^{*} 资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金项目(31171860, 30900944); 国家重点基础研究发展计划(“973”计划)项目(2012CB114100, 2011CB111602); 浙江省公益性技术应用研究计划项目(2012C22041)

^{**} 通讯作者 Corresponding author, E-mail: haopeiy@163.com; yxp@cjlu.edu.cn

褐飞虱 *Ubx* 基因克隆及功能研究

刘方舟 胡定邦 华红霞 赵 景 蔡万伦

(华中农业大学植物科技学院水稻害虫课题组)

褐飞虱是严重危害水稻的重要害虫，拥有翅二型的特点是导致褐飞虱很难防治的重要原因。为了更好的研究影响其翅二型发育的分子机理，经过 40 代遗传稳定筛选，我们得到了长翅品系和短翅品系褐飞虱。利用同源比对的方法，我们从转录组中找到了 56 个翅发育相关基因，并比较这 56 个基因在长翅品系和短翅品系褐飞虱若虫中的表达差异，结果表明有 6 个基因在长、短翅品系中表达量差异显著，*Ultrabithorax* (*NIUbx*) 是其中之一。我们克隆了 *NIUbx* 全长 cDNA，针对 *NIUbx* 的 cDNA 序列合成 dsRNA，用 dsRNA 注射三龄褐飞虱若虫，干扰 *NIUbx* 的表达。结果显示 *NIUbx* 表达被抑制的表型有：(1) 5 龄褐飞虱若虫前翅翅芽变短，不能覆盖后翅翅芽；(2) 褐飞虱不能顺利蜕皮和羽化；(3) 后胸背板“中胸化”；(4) 长翅和短翅品系的褐飞虱成虫前翅和后翅都出现畸形扭曲；(5) 短翅品系褐飞虱成虫后翅出现了刚毛；(6) 长翅品系褐飞虱成虫前翅和后翅显著变短，而短翅品系褐飞虱成虫后翅显著变长。另外，我们还检测了 *NIUbx* 被干扰后保幼激素代谢相关基因 (*NIJHMT*, *NIJHEH* 和 *NIIMet*) 蜕皮激素代谢相关基因 (*NIIMet*, *NIIEcR*, *NICYP18A1* 和 *NICYP315A1*) 的表达，结果表明 *NIUbx* 被干扰后，这些基因的表达也发生了不同程度的变化。

关键词 褐飞虱, *Ultrabithorax*, 翅发育, 蜕皮

辐照对瓜实蝇遗传区性品系肠道菌多样性变化和结构组成的影响

姚明燕 张贺贺 骆米娟 蔡普默 季清娥* 陈家骅

(福建农林大学植物保护学院,福建 福州,350002)

瓜实蝇 *Bactrocera cucurbitae* 肠道中寄居着大量丰富的微生物,它们在寄主的碳氮循环、营养代谢、生殖免疫和生物防治方面扮演者重要的角色。本研究中,我们用高通量 Illumina MiSeq 测序平台对瓜实蝇遗传区性品系 *B. cucurbitae* genetic sexing strain (GSS) 的肠道菌进行测序分析,比较辐照、性别和不同的成虫龄段对其肠道微生物多样性变化和结构组成的影响。从所有样品肠道中,我们测得 3 个主要的细菌门:变形菌门 *Proteobacteria* (50–98%)、厚壁菌门 *Firmicutes* (2–47%)、拟杆菌门 *Bacteroidetes* (1–16%)和 1 个至今微生物界还未确定的稀少菌门 *unclassified rare phyla* (<1%);8 个主要的菌属:普罗威登斯菌属 *Providencia*、摩根氏菌属 *Morganella*、柠檬酸杆菌属 *Citrobacter*、肠杆菌属 *Enterobacter*、大肠杆菌属 *Escherichia-Shigella*、乳球菌属 *Lactococcus*、沙雷氏菌属 *Serratia*、*Dysgonomonas* 和其他未能确定到属名的菌属。然而,菌种多样性指数(Chao1, Shannon、Simpson 指数)、菌落组成结构(PCA 分析)和分类操作单元(OTU)随着样品而变化各异。通过评估辐照条件对瓜实蝇遗传区性品系不同性别和成虫龄段,肠道微生物的多样性变化和结构组成的影响,我们发现瓜实蝇遗传区性品系辐照条件对肠道微生物的多样性变化影响不显著,但大部分肠道微生物的相对丰度在辐照后明显降低,且其肠道微生物多样性的变化受到成虫不同日龄的影响要显著于辐照和性别带来的影响。未来的研究要注重探索适合于实蝇的最佳辐照条件,以期最小程度的降低辐照对虫源肠道微生物多样性和相对丰度的破坏,并研究鉴定出能开发应用于实蝇生物防治的有利菌种。

关键词 瓜实蝇遗传区性品系,肠道微生物,辐照,成虫,Illumina MiSeq 测序

* 通讯作者

低氧胁迫下小菜蛾的转录组分析^{*}

刘天生^{1,2,3,4**} 柯富士^{1,2,3,4} 何玮毅^{1,2,3,4} 尤民生^{1,2,3,4***}

(1.福建农林大学闽台作物有害生物防控国家重点实验室,福州,350002;2.福建农林大学应用生态研究所,福州 350002;3.闽台特色作物病虫生态防控协同创新中心,福州,350002;
4.农业部闽台作物有害生物综合治理重点实验室,福州,350002)

【目的】小菜蛾是一种广域分布,主要危害十字花科蔬菜的害虫,在我国各个省份均有分布,包括青藏高原地区。青藏高原平均海拔超过 4000 米,在西藏地区空气含氧量大约只有海平面的 60%。由于长期生活在低氧环境中,青藏高原小菜蛾可能比平原上的小菜蛾能够更好地适应低氧环境。然而,有关这方面的研究未见任何报道。本研究通过比较低氧处理前后小菜蛾转录组的差异,以进一步揭示小菜蛾适应低氧的分子机理机制。【方法】采用高通量测序技术,分别对 1.8%氧含量处理 2h 和未经低氧处理的青藏高原小菜蛾雌雄成虫进行转录组测序。【结果】通过生物信息学分析,获得了大量差异表达基因,从中筛选出 88 个显著差异表达的基因。对这些差异表达基因进行功能富集分析,发现它们主要包括丙酸代谢、半胱氨酸代谢、糖酵解或糖异生代谢、泛素水解以及新陈代谢途径等生物学过程。除此之外,还有一些基因富集在跟 DNA 复制相关的通路中,如 DNA 复制和重组,核苷酸切除修复,碱基切除修复,错配修复,同源重组等;以及泛素水解通路,该通路上基因的下调表达会促使缺氧诱导因子 α 和 β 二聚体结合,从而启动与缺氧相关基因的表达,使细胞及机体适应低氧环境。【结论】我们发现与能量代谢相关的通路在小菜蛾适应低氧过程中发生了明显的变化,推测昆虫可以通过对新陈代谢过程的调节来适应不同的环境。

关键词 小菜蛾,青藏高原,转录组,缺氧诱导因子

^{*} 资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金项目(31320103922 和 31230061)

^{**} 第一作者 First author, E-mail: liutsafu@163.com

^{***} 通讯作者 Corresponding author, E-mail: msyou@iae.fjau.edu.cn

不同时期小菜蛾卵巢转录组分析及 卵子发生相关基因鉴定^{*}

彭 露^{1,2,3,4,5**} 杨一帆^{1,2,3,4,5**} 邹明民^{1,2,3,4,5} 汪 蕾^{1,2,3,4,5} 何玮毅^{1,2,3,4,5}

王 月^{1,2,3,4,5} 王 清^{1,2,3,4,5} 杨 广^{1,2,3,4,5} 尤民生^{1,2,3,4,5***}

- (1. 福建农林大学闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室,福州, 350002;
2. 福建农林大学应用生态研究所,福州,350002;3. 闽台特色作物病虫生态防控协同创新中心,
福州,350002;4. 农业部闽台作物有害生物综合治理重点实验室,福州,350002;
5. 福建省昆虫生态重点实验室,福州,350002)

【目的】小菜蛾(*Plutella xylostella* L.)是世界性的对十字花科蔬菜具有毁灭性危害的重要害虫,给全球带来了严重的经济损失。生殖能力是其成为全球分布最广泛的鳞翅目害虫的重要因素之一。作为昆虫生殖的特殊专一化组织,卵巢在确保卵子产生以及成功繁殖的过程中起着至关重要的作用。昆虫成熟卵子的产生需要经历一个复杂的卵子发生过程,包括表观遗传过程,细胞生殖行为,细胞周期调节,发育模式机制等。因此,鉴定小菜蛾卵巢发育与卵子发生相关基因对于阐明小菜蛾生殖发育的分子机制具有重要意义。【方法】本研究采用 Illumina Hiseq 平台对小菜蛾卵巢发育的各个时期进行转录组测序。【结果】结果显示,3 个测序重复分别获得 56,754,304, 48,122,060, 52,668,652 个 clean reads,分别包含 8.51, 7.22, 7.9 Gb 的核苷酸,其中包括 1861 个新的转录本。表达分析显示,大约 61.7% 的基因在小菜蛾卵巢中表达(FPKM $\geq$ 1 作为筛选阈值)。对转录本进行 Clusters of Orthologous Groups (COG), Gene Orthology (GO), Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathways 分类注释发现,与生殖发育相关的部分 GO 通路显著富集,例如多细胞生物生殖,多细胞生物生殖过程,以及配子生成,绒毛发生。在富集基因数量最多的 20 个 KEGG 通路中,包含许多与生殖调控相关的通路,如剪接体,泛素介导的蛋白水解作用,内吞作用,RNA 转运,PI3K-Akt 信号途径,胰岛素信号途径,以及 cAMP 信号途径。最后对卵子发生相关基因,包括绒毛膜蛋白、核孔复合蛋白,卵黄膜蛋白,热激蛋白,细胞周期蛋白的功能进行了分析。同时,qPCR 结果显示,绒毛膜蛋白(Px011665 和 Px011666)与卵黄膜蛋白(Px000306 和 Px016343)在雌虫期特异性高表达,而细胞周期蛋白(Px015088)在卵期与雌成虫其显著高表达。【结论】本研究为解析小菜蛾雌虫生殖发育的分子机理提供了基础数据,为探讨与昆虫卵子发生过程密切相关的基因与蛋白调控网络,以及进化机制奠定了基础。在实践上有助于筛选控制小菜蛾的潜在分子靶标,为有效防治和持续控制小菜蛾种群暴发与危害提供创新思路和途径。

关键词 小菜蛾,转录组,卵巢,卵子发生,生殖调控

^{*} 资助项目 Supported projects:国家自然科学基金(31320103922, 31230061, 31401744),福建省自然科学基金面上项目(2015J01088)

^{**} 共同第一作者

^{***} 通讯作者 Corresponding author, E-mail:msyou@iae.fjau.edu.cn

小菜蛾保幼激素合成与受体关键基因的分子特性及生殖调控作用研究^{*}

杨一帆^{1,2,3,4**} 彭 露^{1,2,3,4**} 邹明民^{1,2,3,4} 汪 蕾^{1,2,3,4} 何玮毅^{1,2,3,4} 王 清^{1,2,3,4}
杨 广^{1,2,3,4} 尤民生^{1,2,3,4***}

- (1. 福建农林大学省部共建闽台作物有害生物防控国家重点实验室,福州,350002;
2. 福建农林大学应用生态研究所,福州,350002;3. 闽台特色作物病虫生态防控协同创新中心,
福州,350002;4. 农业部闽台作物有害生物综合治理重点实验室,福州,350002)

【目的】小菜蛾(*Plutella xylostella* L.)(鳞翅目菜蛾科 Lepidoptera, Plutellidae)是危害十字花科蔬菜的世界性害虫,生殖能力是其成为全球分布最广的鳞翅目害虫的重要因素之一。保幼激素是参与昆虫生殖调控的重要物质,在昆虫卵子发生中起着至关重要的作用,但其作用效应与方式具有明显的物种特异性。【方法】为探索保幼激素在小菜蛾生殖调控中作用,本文鉴定了保幼激素合成通路末端核心酶保幼激素酸甲基转移酶基因(juvenile hormone acid methyltransferase, *PxJHAMT*)以及两个关键的保幼激素受体基因(methoprene-tolerant, *PxMet1* and *PxMet2*),并对其进行了功能分析。【结果】结果表明, *PxJHAMT* 含有一个 825 bp 的开放阅读框(ORF),预计编码 274 个氨基酸,理论分子质量为 31.7 kDa,预测等电点为 5.77。 *PxJHAMT* 属于依赖 SAM 甲基转移酶超家族成员,包含有 SAM 保守基序,以及典型的 SAM-MT 二级折叠结构。 *PxJHAMT* 在蛹期(2、3 d)以及雌成虫期(0–72 h)均有表达,且在羽化后 24 与 72 h 出现表达高峰,但仅在头部特异性表达。 *PxMet1* 与 *PxMet2* 开放阅读框(ORF)全长分别为 1575 和 2100 bp,预计编码 524 和 699 个氨基酸,理论分子质量为 60.5 和 70.7 kDa,预测等电点为 6.73 和 5.50。 *PxMet1* 和 *PxMet2* 都具有 3 个保守结构域,分别是 Helix-loop-helix 结构域(bHLH)以及两个 PAS 保守基序。 *PxMet1* 在蛹期(1–3 d)与雌成虫期(0–72 h)均有表达,在雌虫羽化后 72 h 出现表达高峰,蛹期(1–3 d)的表达量均显著高于雌成虫期(0–48 h);而 *PxMet2* 在各个发育阶段的表达模式与 *PxJHAMT* 类似; *PxMet1* 与 *PxMet2* 在脂肪体的表达量显著高于其他组织(头、中肠、卵巢、残渣)。利用 RNAi 技术同时干扰 *PxMet1* 和 *PxMet2*,结果显示,小菜蛾卵巢发育受到明显抑制,卵巢体积变小,卵巢管长度缩短,卵黄沉积减缓,成熟卵子数目减少,产卵量也随之下降。【结论】本研究首先阐明了 Met 基因在小菜蛾卵黄发生与卵子形成中的作用,为探索保幼激素的生殖调控机理奠定了基础。在实践上有助于筛选控制小菜蛾的潜在靶标,为有效防治和持续控制小菜蛾种群暴发与危害提供创新思路和途径。

关键词 小菜蛾,保幼激素, *JHAMT*, *Met*, 生殖调控

^{*} 资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金(31230061 和 31320103922); 澳大利亚研究理事会资助项目(FT140101303)

^{**} 第一作者 First author, E-mail: ygnw486@163.com

^{***} 通讯作者 Corresponding author, E-mail: msyou@iae.fjau.edu.cn

小菜蛾长非编码 RNA 的全基因组鉴定和特征分析 *

王 月^{1,2,3,4,5**} 许婷婷^{1,2,3,4,5} 何玮毅^{1,2,3,4,5} 赵 茜^{1,2,3,4,5} 尤民生^{1,2,3,4,5***}

(1. 福建农林大学应用生态研究所,福州,350002;2. 福建农林大学闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室,福州,350002;3. 闽台特色作物病虫生态防控协同创新中心,福州,350002;4. 农业部闽台作物有害生物综合治理重点实验室,福州,350002;5. 福建省昆虫生态重点实验室,福州,350002)

【目的】因为长非编码 RNA(lncRNA)参与了很多重要的生物过程而成为了当前的研究热点。小菜蛾是一种全球性害虫,许多研究者已经为防控小菜蛾做了很多研究。本文中,我们对小菜蛾 lncRNA 进行了全基因组鉴定和特征分析。【方法】通过 Tophat 和 Cufflinks 结合对 6 个样本的高通量 RNA 测序数据拼接分析,得到转录本数据;通过可编码性预测、筛选得到非编码序列。【结果】我们一共鉴定了 11,605 条 lncRNA 序列,根据它们与蛋白质编码基因的相对位置关系,分为三类,分别为:2,316 条内含子 lncRNA,6,400 条基因间 lncRNA 和 2,889 条重叠 lncRNA。相对于蛋白编码基因,小菜蛾的 lncRNA 序列全长较短,但是内含子和外显子序列较长。另外,lncRNA 的 GC 含量比信使 RNA(mRNA)要低,而 lncRNA 绝大多数的剪切位点信号与常见的 mRNA 剪切位点是相同的。根据 lncRNA 的表达谱,我们鉴定了 197 条在小菜蛾四个发育时期里差异表达的 lncRNA,并且发现大多数 lncRNA 有时间特异性。我们还发现了 49 条在敏感品系幼虫和两种抗性品系幼虫间差异表达的 lncRNA。有些 lncRNA 被鉴定为基因调控因子,而有些可能是 miRNA 的前体或者是内源竞争性 RNA,这些 lncRNA 都有可能参与了小菜蛾 miRNA 调控系统。【结论】小菜蛾 lncRNA 的全基因组鉴定推动了小菜蛾的生物学研究,也为 lncRNA 的功能研究奠定了基础。

关键词 长非编码,小菜蛾,RNA 测序分析

* 资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金 (31230061 和 31320103922); 澳大利亚研究理事会资助项目 (FT140101303)

** 第一作者 First author, E-mail:ygnw486@163.com

*** 通讯作者 Corresponding author, E-mail:msyou@iae.fjau.edu.cn

小菜蛾 PxDcr-2 基因的相关分子特性及 对小菜蛾 RNAi 通路的影响

沈修婧^{1,2,3,4} 陈金芝^{1,2,3,4} 龚文丽^{1,2,3,4} 杨 广^{1,2,3,4*}

(1. 福建农林大学闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室,福州,350002;2.福建农林大学应用生态研究所,福州,350002;3.闽台特色作物病虫生态防控协同创新中心,福州,350002;4.农业部闽台作物有害生物综合治理重点实验室,福州,350002)

RNA 干扰(RNA interference, RANi)是由双链 RNA(double-stranded RNA, dsRNA)引发,使得 mRNA 降解或翻译被抑制的现象,在真核生物中高度保守。而小菜蛾 *Plutella xylostella* (L.) 属鳞翅目 Lepidoptera, 菜蛾科 Plutellidae, 是目前全球分布的重要十字花科害虫,在其虫体中能够实现 RNAi。为了研究 RNAi 在昆虫体内的作用机制,我们选取与其他鳞翅目昆虫在 RANi 保守元件中存在自身特异性的小菜蛾作为研究对象,并主要针对在 RNAi 通路中起到关键作用的 Dicer 进行了。

作为 RNAi 通路中的起到切割作用的核心元件,Dicer-1 蛋白主要在 miRNA 通路中发挥作用,Dicer-2 蛋白则是 siRNA 形成中至关重要的。本研究中,对小菜蛾 Dicer-1 (*PxDcr-1*)基因 CDS 的全长和小菜蛾 Dicer-2 (*PxDcr-2*)基因 CDS 的全长首次进行了克隆和分析,并且通过 RNAi 实验对 *PxDcr-2* 基因的功能进行了初步探索。*PxDcr-1* 基因的 CDS 全长为 8457 bp,氨基酸序列长度为 2818 aa,分子量为 316.4 kDa,等电点为 5.24;*PxDcr-2* 基因的 CDS 全长为 5,091 bp,氨基酸序列长度为 1,696 aa,分子量为 190.4kDa,等电点为 6.56。通过氨基酸序列比对和进化树分析,*PxDcr-1* 和 *PxDcr-2* 蛋白都与鳞翅目昆虫同源性最高,特别是黑脉金斑蝶。在不同发育阶段的表达模式中显示,*PxDcr-1* 在卵期的表达量相对较高,之后在 1 龄降至最低,再从 1 龄至成虫阶段逐渐升高,蛹期和成虫期的雌性表达量高于雄性;*PxDcr-2* 基因则是在卵期表达量最低,之后逐渐升高,蛹期和成虫期的雄性表达量高于雌性。在 4 龄幼虫不同组织的表达模式中表明,*PxDcr-1* 和 *PxDcr-2* 基因在中肠和血淋巴表达量较高,且 *PxDcr-1* 基因在脂肪体中也能够高表达。在 RNAi 干扰的实验中,针对 *PxDcr-2* 蛋白中的 Helicase 结构域设计的 dsDcr-2-2 对 *PxDcr-2* 的 mRNA 表达量的抑制效果最佳,但在注射 dsRNA 后,在生长发育过程中没有明显的表型变化。为了研究 *PxDcr-2* 在小菜蛾 siRNA 通路中的作用,将 dsDcr-2-2 和 dsBursα/dsCYP 同时向虫体注射,发现小菜蛾蛹的畸形率和死亡率与单独注射 dsBursα/dsCYP 相比,有所下降,说明 *PxDcr-2* 在小菜蛾 RNAi 通路中发挥了作用。

关键词 小菜蛾, RNAi 通路, Dicer

* 通讯作者

小菜蛾 *GSS* 与 *SUMF* 基因响应寄主植物硫苷表达

徐雪娇^{1,2,3,4,*} 马小丽^{1,2,3,4} 陈 玮^{1,2,3,4} 何玮毅^{1,2,3,4,**} 尤民生^{1,2,3,4,**}

(1.福建农林大学闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室,福州,350002;2.福建农林大学应用生态研究所,福州,350002;3.闽台特色作物病虫生态防控协同创新中心,福州,350002;4.农业部闽台作物有害生物综合治理重点实验室,福州,350002)

【目的】硫代葡萄糖苷是十字花科植物中普遍存在的防御物质,能够被植物体内的黑芥子酶水解为对昆虫有毒的次生代谢物质。十字花科植物专食性昆虫小菜蛾,能通过自身的硫代葡萄糖苷硫酸酯酶与黑芥子酶竞争结合并水解硫苷底物,达到解毒的作用。我们前期研究发现,小菜的硫代葡萄糖苷硫酸酯酶基因(*GSS*)及其修饰因子(*SUMF*)在幼虫中肠协同高表达。本研究在此基础上,拟进一步探明小菜蛾 *GSS* 与 *SUMF* 是否能够同时响应硫苷,及其响应硫苷的顺式调控元件。【方法】分别使用经不同浓度黑芥子硫苷酸钾(sinigrin, SG)及硫苷代谢产物异硫氰酸烯丙酯(allyl isothiocyanate, AITC)处理的人工饲料和萝卜苗叶片,饲喂小菜蛾 3 龄幼虫 24 和 48 小时,通过 qRT-PCR 检测 *GSS* 和 *SUMF* 在虫体和中肠的表达水平;克隆 *GSS1* 的启动子,并通过生物信息学方法预测启动子上的转录因子结合位点及其它顺式调控元件。【结果】小菜蛾幼虫取食 AITC 处理的人工饲料和萝卜苗叶片,对其 *GSS1*, *GSS2*, *SUMF1a* 和 *SUMF1b* 的表达均无显著影响。幼虫在取食经三种浓度 SG 处理的叶片后, *GSS1*, *GSS2*, *SUMF1a* 和 *SUMF1b* 的表达未表现出明显的规律。取食三种浓度 SG 处理的人工饲料 48 小时后能显著诱导 *GSS1* 的表达。经 25 μ g/ μ l SG 处理 48 小时后小菜蛾幼虫中肠,其基因表达的结果与整虫表达情况基本相符。分析 *GSS1* 的启动子测序结果显示,其启动子区域含有转录因子 Bcd, En, Dfd, Eve, Ftz, Hb, 和 SGF-3 的结合位点以及 TATA box 和 CCAAT box 等元件。【结论】本研究初步证实了小菜蛾 *GSS1* 基因能够响应寄主植物硫苷,通过克隆测序获得了该基因的启动子,并预测了转录因子结合位点等顺式调控元件,将为研究小菜蛾与寄主植物协同进化关系的分子机制奠定基础。

关键词 小菜蛾, *GSS*, *SUMF*, 十字花科植物, 硫苷

* 第一作者 First author, Email: 415451989@qq.com

** 通讯作者 Corresponding author, Email: msyou@iae.fjau.edu.cn; xy.he@fafu.edu.cn

CRISPR/Cas9 系统介导的小菜蛾 Hox 基因的敲除

黄宇萍^{1,2,3,4*} 王亚军^{1,2,3,4} 徐雪娇^{1,2,3,4} 孟 钱^{1,2,3,4} 杨 广^{1,2,3,4} 尤民生^{1,2,3,4**}

(1.福建农林大学闽台作物有害生物防控国家重点实验室,福州,350002;2.福建农林大学应用生态研究所,福州,350002;3.闽台特色作物病虫生态防控协同创新中心,福州,350002;4.农业部闽台作物有害生物综合治理重点实验室,福州,350002)

【目的】CRISPR/Cas9 系统具灵活性及适应性,在基因功能分析,基因编辑生物,转录调控以及基因治疗等方面发挥巨大潜能。得益于基因组测序以及生物信息学的研究,可以迅速对基因进行定位分析。然而我们面对的更大需求及挑战是如何解析基因调控表型的分子机理,尤其在非模式物种中,这种需求尤为迫切。小菜蛾属世界性害虫,其抗性发展机制,抗性治理及遗传防治方面的研究,备受瞩目,CRISPR/Cas 系统是实现这些研究行之有效的方法之一。本研究以 *Pxabd-A* 为对象,验证 CRISPR/Cas9 系统在小菜蛾中的编辑效率,并分析该基因在小菜蛾发育过程中的功能。【方法】克隆鉴定 *Pxabd-A*,并利用荧光定量 PCR 分析该基因在不同发育阶段的表达水平;分析鉴定小菜蛾内源 U6 启动子,构建 U6-sgRNA 表达载体;采用显微注射的方法,将 Cas9 mRNA 和 sgRNA/U6-sgRNA 注射于胚胎中,分析注射后小菜蛾的变化。【结果】*Pxabd-A* 在小菜蛾中存在两种剪切体:isoform A 与 isoformB。该基因在小菜蛾的不同发育时期均有表达,蛹和成虫表达量相对较高。直接注射 Cas9 mRNA 与 *abd-A*-sgRNA 后,91% 的 G_0 个体呈现腹节,腹足以及生殖器的畸形,且突变的表型可稳定遗传至 G_1 个体。 G_1 个体的基因型分析表明,CRISPR/Cas9 系统介导 *Pxabd-A* 靶点的高效切割,DNA 双链断裂后非同源末端的修复导致靶点发生插入或缺失。共注射 DBMU6-sgRNA 表达质粒与 Cas9 mRNA, G_0 个体呈现腹节和腹足的畸形与直接注射 sgRNA 的表型相一致。序列的突变分析结果表明,靶点序列存在点突变,插入与缺失,大片段的删除,有些个体缺失了两个靶点之间的~28kb 的序列。【结论】小菜蛾内源性的 U6 启动子能高效的驱动 sgRNA 表达,CRISPR/Cas9 系统有效地对 *Pxabd-A* 进行基因编辑,敲除后突变的小菜蛾呈现腹节,腹足以及生殖器的畸形,并能稳定遗传至 G_1 个体。本研究为 CRISPR/Cas 系统在小菜蛾基因功能研究及寻求遗传防治策略奠定基础。

关键词 基因编辑,abd-A 基因,基因突变,鳞翅目害虫,U6 启动子

* 第一作者 First author,Email:yphuang@outlook.com

** 通讯作者 Corresponding author,Email:msyou@iae.fjau.edu.cn

小菜蛾 DNA 甲基化特性及其在寄主转移过程中的动态变化^{*}

李 芳 张珏锋 钟海英 陈建明^{**}

(浙江省农业科学院植物保护与微生物研究所,浙江杭州,310021)

【目的】基因组 DNA 甲基化能够响应外界环境的变化,通过影响基因表达的模式引发表型的可塑性,是物种适应性进化的重要调控机制。昆虫由于种类繁多、表型复杂,已经成为研究 DNA 甲基化功能的良好材料。小菜蛾是十字花科蔬菜上的重要害虫,长期与十字花科寄主植物协同进化。DNA 甲基化是否参与该过程,值得探究。【方法】本研究利用 *Msp* I/*Hpa* II 和 *Msp* I 对不同发育阶段的小菜蛾基因组 DNA 进行酶切实验,结合试剂盒检测了其 5-mC 含量;利用 qRT-PCR 比较了小菜蛾 DNA 甲基化转移酶 1(DNMT1)并其不同发育阶段和组织的表达模式;借助萝卜-拟南芥转寄主体系,追踪了不同世代小菜蛾 5-mC 含量、CCGG 位点甲基化的比例和 *DNMT1* 的表达模式。【结果】酶切实实验证实小菜蛾存在低水平的基因组 DNA 甲基化,其 5-mC 含量随生长发育而变化,具有卵期和雌虫期相对高含量的模式。其 *DNMT1* 表达模式同样呈现卵期、雌虫期高表达,幼虫低表达的特性。寄主转移实验表明萝卜苗世代与转拟南芥后第一代的 DNA 甲基化模式相近,而拟南芥第二代和第三代各自具有新的模式。转寄主前后以及世代之间 *DNMT1* 表达模式相符,但转寄主后小菜蛾不同发育阶段的 *DNMT1* 表达量显著降低,且随着代数的增加进一步下降。【结论】以上证据表明,小菜蛾基因组存在较低的 DNA 甲基化水平,同时寄主环境的改变会影响小菜蛾固有的甲基化模式,且新的模式在低世代内很难建立,这将为进一步研究 DNA 甲基化参与昆虫适应外界环境变化的功能奠定基础。

关键词 小菜蛾, DNA 甲基化, DNA 甲基化转移酶, 转寄主, 甲基化敏感扩增多态性

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金国际合作重大项目(31320103922), 国家自然科学基金重点项目(31230061), 国家自然科学基金青年项目(31301677)。

^{**} 通讯作者, E-mail: msyou@iae.fjau.edu.cn; wy.he@fafu.edu.cn

发育激活蛋白 *BrlA* 对金龟子绿僵菌无性发育的 调控机制研究 *

李 芳 张珏锋 钟海英 陈建明 **

(浙江省农业科学院植物保护与微生物研究所, 浙江杭州, 310021)

金龟子绿僵菌 (*Metarhizium anisopliae*) 是一种重要的丝孢类昆虫病原真菌, 为土壤分离物中常见菌种之一, 能侵染包括同翅目、鳞翅目、双翅目、鞘翅目和膜翅目等 8 个目的多种昆虫, 已被开发成多种真菌杀虫制剂用于农林害虫防治, 真菌杀虫剂的环境稳定性和杀虫速度问题是产业化发展的主要制约因素和技术难题。

金龟子绿僵菌为无性生殖型, 产生疏水性的气生分生孢子侵染昆虫, 其产孢能力和孢子质量是实现生物防治潜能的关键, 整个分生孢子产生过程包括对外界环境刺激的感应、发育信号的转导、发育调控基因正确的时序表达以及特殊细胞的分化等受到精准的遗传控制。近年来, 我们实验室开展了金龟子绿僵菌无性发育过程的研究, 从褐飞虱染病虫体上分离出的金龟子绿僵菌为样本, 以锌指转录因子 *brlA* 作为模型, 以水稻重要害虫褐飞虱为靶标, 初步明确了金龟子绿僵菌无性发育过程中的调控机制及影响真菌毒力的潜在因子, 研究结果将为真菌杀虫剂的遗传改良提供新思路。

关键词 金龟子绿僵菌, *brlA*, 无性发育, 调控机制

* 基金项目: 国家自然科学基金国际合作重大项目(31320103922), 国家自然科学基金重点项目(31230061), 国家自然科学基金青年项目(31301677)。

** 通讯作者, E-mail: msyou@iae.fjau.edu.cn; wy.he@fafu.edu.cn

Stunted 通过 *lipase3* 和 *brummer* 信号通路调节赤拟谷盗的脂质动员

于晓娟 李 斌*

(江苏省生物技术与生物多样性重点实验室 南京师范大学生命科学学院, 南京, 210046)

现有研究报道表明,果蝇 *Stunted* 是 Methuselah(Mth)的内源性配体,参与调控果蝇的发育、寿命、生殖和应激能力。我们前期研究表明敲减赤拟谷盗 *stunted* 不仅使幼虫发育出现停滞,蜕皮、化蛹和羽化缺陷,而且有趣的是在敲减样本中观察到幼虫的体重和体长都显著低于对照组。结合差异转录组学分析,我们发现敲减 *stunted* 会使两种脂肪酶基因—昆虫脂肪三酰甘油脂肪酶同系物 *brummer* 和酸性脂肪酶 *lipase3* 发生上调表达。表明 *stunted* 可能通过体内的某些通路参与了赤拟谷盗的脂肪动员。进一步研究发现敲减了 *stunted* 后不仅使 *brummer* 和 *lipase3* 的表达量发生了上调,并且与对照组相比,干扰组的脂肪体中三酰甘油下降,而血淋巴中三酰甘油含量升高。进一步的双干扰实验,即干扰 *stunted* 和 *brummer* 以及 *stunted* 与 *lipase3*,脂肪体和血淋巴中的三酰甘油含量有所恢复。这些结果暗示 *stunted* 可能通过上调 *lipase3* 和 *brummer* 的表达进而影响赤拟谷盗的脂肪动员。此外,*lipase3* 和 *brummer* 的 RNAi 结果显示 *lipase3* 的敲减导致赤拟谷盗不能启动羽化,*brummer* 也影响赤拟谷盗的羽化,可能由于 *lipase3* 和 *brummer* 的敲减导致脂肪代谢紊乱,不能供给足够的能量启动蛹的羽化;而且 *brummer* 的敲减抑制了赤拟谷盗卵黄原蛋白基因(*vg*)的表达,导致产卵量显著下降,90%的成虫甚至不产卵;同时抑制 *brummer* 基因的表达,提高了赤拟谷盗成虫对饥饿的抵抗能力。

我们首次证明 *stunted* 可以在脂质代谢中发挥作用,主要通过调控脂肪分解通路上的关键基因 *lipase3* 和 *brummer* 的上调表达,同时 *lipase3* 和 *brummer* 对赤拟谷盗的生长发育以及生殖也有重要的影响。这将有利于我们更深入的探究昆虫脂肪代谢提供重要信息。

关键词 *stunted*, 脂肪动员, 三酰甘油, *brummer*, *lipase3*, 生殖, 羽化

* 通讯作者: libin@njnu.edu.cn

赤拟谷盗蛛毒素受体 *Latrophilin* 克隆、表达及功能研究

高姗姗 李 斌*

(南京师范大学生命科学学院,江苏省生物技术与生物多样性重点实验室,南京,210023)

G 蛋白偶联受体(GPCR)Latrophilin (LPH)不仅涉及人类与哺乳动物的多动症、精神分裂症及成瘾等精神疾病的发生,还涉及到对外源蛛毒素的信号传递及多种药物的敏感性。目前关于 Latrophilin 受体在昆虫中的功能和信号传导机制不清。

本研究首先对 LPH 进行了进化分析,结果显示,*lph* 是由一个共同祖先基因衍化而来,但是 *lph* 分别在脊椎动物、头索动物、尾索动物和昆虫中发生了独立的进化。*lph* 基因在脊椎动物中发生了复制,产生了 3 个拷贝(*lph-1*, *lph-2* 和 *lph-3*);鸟类、尾索动物、头索动物中也发生了基因复制事件只存在 *lph-2* 和 *lph-3*。线虫中有两个拷贝,分别对应于脊椎动物 *lph-1* 和 *lph-2*;然而,*lph* 基因在昆虫只有一个拷贝。这些物种的 *lph* 虽然起源与一个共同祖先基因,但是却发生了复杂的分化,暗示其在这些物种中可能发生了功能分化。

为了研究 LPH 在赤拟谷盗生长发育中的调控作用,我们克隆了其 *lph* 基因,发现该基因在赤拟谷盗中存在 3 种选择性拼接形式 *lpha*,*lphb* 和 *lphc*。为了进一步研究赤拟谷盗中这 3 种剪接本的作用,我们分别敲减了三种剪接本特异区域及公共区域,结果显示,*dslph* 组不产卵,成虫翅异常比例约 22%,成虫性成熟时累计死亡率约 35%;进一步分析表明,这些效应由转录本 *lphb* 所引起。且进一步回交实验结果显示 *dslph* 组会导致雌性卵巢萎缩,其萎缩比例约为 65%,进而影响赤拟谷盗的生殖。

在 mRNA 水平上对 *lph* 的信号通路进行初步研究发现抑制 *lph* 表达后可导致 *plc*,*pka*,*foxo* 表达上调,进而影响 cAMP/PKA、PLC/IP3 及 ISS 信号通路。这些信号通路会影响昆虫翼羽化后表皮细胞死亡、卵黄原前体蛋白 Vg 合成及寿命进而导致赤拟谷盗生长发育及生殖受到影响。推测 *lph* 可能是通过这些信号通路来影响赤拟谷盗的生长发育。本研究解析了赤拟谷盗 Latrophilin 的功能,并初步揭示其信号通路,为进一步阐明昆虫 Latrophilin 的信号通路奠定了基础。

关键词 赤拟谷盗, Latrophilin, 生殖, RNAi

* 通讯作者: libin@njnu.edu.cn

Homeodomain 家族转录因子 BmPOUM2 与 BmBrC-Z2 应答蜕皮激素协同调控 *BmVg* 的转录

林 英 杨从文 刘红玲 沈关望 张海燕 陈恩祥

韩超珊 张艳嫡 徐银莹 吴金鑫 夏庆友

(1.家蚕基因组生物学国家重点实验室,西南大学,重庆,400716;

2.重庆新型蚕丝材料工程与技术研究中心,西南大学,重庆,400716)

卵黄原蛋白是胚胎发育的营养物质之一。蜕皮激素是调节家蚕生理、发育以及行为等的重要激素之一。在前期研究中,我们已经阐明了 BmBrC-Z2 可以结合在 *BmVg* 基因启动子上应答蜕皮激素调节 *BmVg* 的转录表达。本研究信息学分析发现位于-186~-211nt 的 BrC-Z2 CRE 邻近存在 POU 元件。通过细胞转染、EMSA 和 Chip 实验分析显示,BmPOUM2 元件应答蜕皮激素调控 *BmVg* 启动子的活性有影响,而且 BmPOUM2 转录因子可以特异结合该元件。qPCR 和免疫组化定位显示,*BmPOUM2* 基因在雌蚕变态期前后的转录趋势与 *BmVg* 基因一致;*BmPOUM2* 蛋白的信号主要集中在细胞核中,而 *BmVg* 蛋白信号则在细胞质中,这也暗示了 BmPOUM2 作为转录因子可调控 *BmVg* 转录。在 BmE-SWU1 细胞系中同时过表达 BmPOUM2 与 BmBrC-Z2 时,*BmVg* 启动子响应蜕皮激素的活性会更高;GST-pull down 及免疫共沉淀实验显示,BmPOUM2 与 BmBrC-Z2 可以结合。RNA 干涉下调家蚕蛹期 BmPOUM2 时,会影响 *BmVg* 的表达下调,而且卵的发育异常。总之,结果表明 BmPOUM2 与转录因子 BmBrC-Z2 协调应答蜕皮激素调控 *BmVg* 转录。

关键词 Homeodomain 家族转录因子,POUM2,BrC-Z2,卵黄原蛋白,家蚕

夜蛾科昆虫斜纹夜蛾的基因组揭示了多食性, 农药抗性 及其在东亚地区传播的奥秘

程廷才¹ 吴佳齐² Chiluburi R.V.³ Yamamoto K.⁴ 黎万顺⁵ 陈志伟¹ 郭慧珍¹ 刘践秋¹
李胜龙¹ 冯 莉¹ Tomar A.³ Hilliou F.⁶ Montagne N.⁷ Jacqin-Joly E.⁷ Huang K.⁸ Seth .R⁹
Bhatnagar R.¹⁰ Jouraku A.¹¹ Shiotsuki T.¹¹ Kadono-Okuda K.¹¹ Kishino H.² 冯启理⁷
夏庆友¹ 三田和英¹

(1.西南大学 2.University of Tokyo, Japan, 3.CDFD, India, 4.Kyushu University, Japan,
5.BGI, Shenzhen, 6.INRA Sophia Antipolis, France, 7.INRA Versailles, France, 8.South China
Normal University, Guangzhou, 9.University of Delhi, India, 10.ICGEB, India, 11.NIAS, Japan.)

夜蛾科家族包括多种主要的农业害虫,比如:实叶蛾属,棉铃虫,夜蛾属。其中斜纹夜蛾是遍布在亚洲的最重要的多食性农业害虫。斜纹夜蛾的宿主植物多达 100 多种农作物,这些植物遍布印度、中国和日本的热带以及亚热带区域。本文报道了斜纹夜蛾的全基因组序列及其结构,基因组大小为 439 Mb,预测包含 15317 个编码蛋白基因。与宿主植物互作相关的基因家族的人工注释揭示苦味受体基因、解毒类的 P450 基因、羧酸酯酶基因家族、GST 基因家族经历了很大的基因扩增事件。转录组分析显示毒素诱导了扩增的解毒类基因簇的表达,这极大增强了斜纹夜蛾代谢宿主植物及农药中外源化合物的解毒能力。从亚洲三个国家共 16 个地方收集的 64 个个体种群遗传分析表明,斜纹夜蛾可以在印度南部-中国南部-日本之间发生频繁的交流,是通过具有高度飞行能力的长距离迁徙,揭示出这种农业害虫是如何在东亚扩增的。这种农业害虫飞向多种地方会遇到不同的生态环境,对于不同的宿主植物及农药,他们凭借高度的解毒能力可以很容易的生存下来并适应。

褐飞虱对吡虫啉的代谢抗性机理研究

张懿熙 张建华 丁志平 杨保军 刘泽文

(南京农业大学植物保护学院,农业部病虫害监测与治理重点开放实验室,南京,210095)

褐飞虱(*Nilaparvata lugens*)是重要的水稻害虫之一。长期依赖化学防治导致褐飞虱对不同
类型杀虫剂产生了不同水平的抗性。明确田间褐飞虱对新烟碱类杀虫剂吡虫啉产生高水平抗
性的代谢机理,能够为害虫抗药性综合治理提供支持。本研究基于褐飞虱基因组信息,通过比
较室内抗性品系、田间抗性种群,以及吡虫啉诱导前后的敏感品系中,解毒代谢酶 P450s 的表
达量差异,分析了与吡虫啉代谢相关的 P450s 基因或基因家族。在室内抗性品系和田间抗性种
群中,增效剂 PBO 对吡虫啉均具有显著的增效作用,表明 P450s 在褐飞虱对吡虫啉的代谢抗性
中发挥着重要作用。荧光定量 PCR、RNAi 及重组蛋白对吡虫啉的代谢研究表明,CYP6AY1 的
mRNA 表达量上升在褐飞虱对吡虫啉的抗性中发挥着重要作用。然而,褐飞虱 P450 基因信息
不完整限制了褐飞虱对吡虫啉抗性机理的研究。最近,褐飞虱基因组测序工作的完成为该研究
提供了大量信息。通过比较吡虫啉诱导前后敏感品系和田间抗性种群中,褐飞虱全部 45 个
P450s 的表达量变化,发现在吡虫啉处理后的敏感品系中,18 个 P450s 表达量显著上调。其中,
Clade 3 家簇中上调的基因所占的比例最高,且上调 4 倍以上的 3 个基因(CYP6CS1、CYP6CW1
和 CYP6ER1)均属于该家簇。在田间抗性种群中,表达量变化最大的 3 个基因分别为 CYP6CS1
(9.8-fold)、CYP6ER1(7.7-fold)和 CYP6AY1(5.1-fold)。综上所述,P450s 的过量表达是褐飞虱
对吡虫啉产生抗性的主要生化机制,利用基因组信息,检测吡虫啉诱导后 P450s 的表达量变
化,为研究害虫对新烟碱类杀虫剂抗性的代谢机制提供了重要的信息。

关键词 代谢抗性,P450s,诱导表达,吡虫啉,褐飞虱

致谢 褐飞虱基因组中的全部 P450 基因序列信息由浙江大学张传溪教授提供,在此表示感谢!

小菜蛾对氯虫苯甲酰胺抗性相关 miRNAs 的鉴定^{*}

朱 斌 梁 沛^{**} 高希武

(中国农业大学植保学院昆虫学系,北京,100193)

【目的】小菜蛾 *Plutella xylostella* (L.)是十字花科蔬菜的重要害虫,目前对包括氯虫苯甲酰胺在内的多种杀虫剂都已产生了高水平的抗性。现有研究已经表明多个蛋白编码基因参与调控了小菜蛾对氯虫苯甲酰胺的抗药性,但有关氯虫苯甲酰胺抗药性转录后调控机制的报道还相对较少。本研究系统鉴定了与小菜蛾对氯虫苯甲酰胺抗药性相关的 microRNA (miRNA)。【方法】构建了一个小菜蛾敏感品系(CHS)以及两个氯虫苯甲酰胺抗性品系(CHR,ZZ)的 miRNA 文库,并进行高通量测序分析,运用生物信息学软件对 miRNA 及其靶基因进行预测。【结果】通过测序共鉴定得到了 481 个已知的小菜蛾 miRNAs 和 30 个新的 miRNAs。在 CHR 和 CHS 之间共检测到 31 个差异表达的 miRNAs,在 ZZ 和 CHS 之间检测到 176 个差异表达的 miRNAs,其中有 21 个差异表达的 miRNA 是两个抗性品系共有的。利用 miRNA 靶标预测软件 miRanda 和 RNAhybrid,在 186 个差异表达的 miRNA 中共预测到了 2802 个靶标基因,其中包含了多条解毒酶基因。进一步应用 qRT-PCR 对部分差异表达的 miRNA 及其靶标基因的表达情况进行了验证。【结论】本研究首次系统的鉴定了小菜蛾氯虫苯甲酰胺抗性相关的 miRNA,为进一步在小菜蛾和其他目标昆虫中研究 miRNA 介导的氯虫苯甲酰胺抗性机制提供了重要线索。

关键词 小菜蛾,氯虫苯甲酰胺,miRNA,抗药性,差异表达

^{*} 基金项目:国家自然科学基金(31171873, 31371956 和 31572023)

^{**} 通讯作者:liangcau@cau.edu.cn

UDP-葡萄糖基转移酶调控小菜蛾对氯虫苯甲酰胺的抗性^{*}

李秀霞 梁 沛^{**} 高希武

(中国农业大学植保学院昆虫学系,北京,100193)

【目的】糖基转移酶是自然界广为存在的一大类酶,广泛存在于动物、植物、细菌和病毒中,在一系列内源和外源化合物的解毒代谢方面起着重要作用。尿苷二磷酸-糖基转移酶(UDP-glycosyltransferases, UGTs)是其中重要的一类酶。昆虫的UGTs是以UDP-葡萄糖作为糖供体,参与了很多生理学过程,已经明确在植物次生物质的解毒代谢方面起着重要作用,此外还参与其它过程包括角质层的形成,色素沉着和嗅觉作用等。小菜蛾 *Plutella xylostella* 是危害十字花科作物类的害虫,在全世界分布广泛,造成了严重的经济损失。目前对小菜蛾的防治仍然以化学防治为主,然而小菜蛾几乎对所有用于防治它的杀虫剂都产生了抗药性,包括双酰胺类杀虫剂氯虫苯甲酰胺。本文旨在明确UGTs是否参与了小菜蛾对氯虫苯甲酰胺的抗性。【方法】利用UGTs的抑制剂5-硝基尿嘧啶和磺吡酮处理3龄初小菜蛾后,研究小菜蛾对氯虫苯甲酰胺的敏感性变化。系统比较了敏感和4个不同抗性品系中23个UGTs基因的表达量;诱导和抑制UGT2B17表达后观察小菜蛾对药剂的敏感性变化。【结果】利用UGTs的抑制剂处理小菜蛾后,发现小菜蛾对氯虫苯甲酰胺的敏感性显著升高。在检测的所有UGTs基因中,发现UGT2B17的相对表达量在小菜蛾所有检测的抗性品系中都显著上调,分别是敏感品系的30.7(77.3)倍。当采用RNAi技术抑制敏感和抗性品系中的UGT2B17表达后再用LC₅₀的氯虫苯甲酰胺处理,发现与对照相比,小菜蛾的死亡率分别升高了27.4%和29.8%。相反,当用诱导剂苯巴比妥处理诱导小菜蛾的UGT2B17表达上调后,再用LC₅₀的氯虫苯甲酰胺处理,其死亡率则比对照下降了14.0%。【结论】UGT2B17的过表达与小菜蛾对氯虫苯甲酰胺的抗性相关。首次实验证明了UGTs参与了昆虫的抗药性。

关键词 UGTs,小菜蛾,氯虫苯甲酰胺,抗药性,解毒代谢

^{*} 基金项目:国家自然科学基金(31171873, 31371956 和 31572023)

^{**} 通讯作者:liangcau@cau.edu.cn

两种非靶标农药对稻纵卷叶螟生长发育和繁殖的影响

王 亭^{1,2} 徐红星¹ 吕仲贤¹

(¹浙江省农业科学院植物保护与微生物研究所,杭州,310021;

²南京农业大学植物与保护学院,南京,210014)

本研究通过利用吡虫啉和吡蚜酮的推荐最低剂量(20g/亩、2g/亩)分别喷施水稻,研究其对稻纵卷叶螟幼虫生长发育和繁殖的影响。结果表明,吡虫啉处理后,稻纵卷叶螟 F0 和 F1 代幼虫发育历期分别为 18.8 ± 2.8 d 和 17.9 ± 3.2 d,比对照组(21.2 ± 3.1 d 和 20.9 ± 2.8 d)分别缩短了 2.5d 和 3.0 d。蛹重分别为 19.96 ± 2.26 mg 和 19.58 ± 2.69 mg,与对照组(22.11 ± 2.31 mg 和 21.31 ± 2.37 mg)无显著差异。此外,显著提高了连续两代成虫产卵量和怀卵量总数($P<0.05$),分别为 203.1 ± 15.1 粒和 202.3 ± 8.1 粒,比对照(132.8 ± 6.3 粒和 124.4 ± 3.7 粒)增加了 70.3 粒和 77.9 粒。吡蚜酮处理后也有类似趋势,稻纵卷叶螟 F0 和 F1 代幼虫的发育历期,分别为 17.6 ± 2.7 d 和 18.9 ± 3.3 d,比对照组试虫 (21.2 ± 3.1 d、 20.9 ± 2.8 d) 缩短了 3.6d 和 2.0d。蛹重分别为 19.57 ± 2.70 mg 和 19.11 ± 3.03 mg,相对于对照组试虫的(22.11 ± 2.31 mg 和 21.31 ± 2.37 mg) 有显著影响($P<0.05$)。同样显著提高了两代成虫产卵量和怀卵量总数($P<0.05$),分别为 198.4 ± 9.7 粒和 204.0 ± 2.9 粒,比对照组试虫(132.8 ± 6.3 粒和 124.4 ± 3.7 粒)增加了 65.6 粒和 79.6 粒。实验结果证明吡虫啉和吡蚜酮两种非靶标农药的使用会缩短稻纵卷叶螟幼虫历期,提高稻纵卷叶螟成虫的生殖能力,增加种群数量,使得稻纵卷叶螟对水稻的危害程度更严重。

关键词 稻纵卷叶螟,吡虫啉,吡蚜酮,发育历期,蛹重,产卵量

增味剂对红火蚁的存活与行为的影响^{*}

黄玉婷^{**} 王 磊 许益镌^{***}

(华南农业大学昆虫学系, 广州, 510642)

红火蚁是我国重要的入侵物种, 对人类健康和生态环境均造成严重的为害。目前, 化学防治是该种害虫的最主要控制手段, 但是长期使用化学药剂容易对本地生物和生态环境造成负面影响。为寻找对红火蚁具有毒杀效果的环境友好型材料, 本文通过室内试验测定了人类常食用的增味剂对红火蚁存活和行为的影响。结果表明: 喂食了增味剂的红火蚁的工蚁死亡率明显高于对照(糖水和清水), 其中甘氨酸和鸟苷酸二钠的毒性最强, 喂食了浓度为 0.1g/mL 的这两种药 72h 后, 工蚁死亡率分别是 97.25% 和 100%。甘氨酸和鸟苷酸二钠毒性的传递速度在工蚁之间最快, 其次是幼虫, 最后是生殖蚁。另外, 喂食了增味剂的红火蚁的红火蚁的挖巢能力、觅食能力和弃尸能力明显低于未被喂食增味剂的红火蚁。研究表明, 这两种增味剂具有进一步用于红火蚁饵剂开发的潜力。

关键词 红火蚁, 增味剂, 饵剂

^{*} 资助项目 Supported projects: 科技部生物安全关键技术研发重点专项(2016YFC1201200)

^{**} 第一作者 First author, Email: 2371608023@qq.com

^{***} 通讯作者 Corresponding author, Email: xuyijuan@scau.edu.cn

混合制剂对褐飞虱及其体内类酵母共生菌的影响

李丹婷 申屠旭萍 俞晓平

(中国计量大学生命科学学院,浙江省生物计量及检验检疫技术重点实验室,杭州,310018)

【目的】将前期筛选的能抑制褐飞虱类酵母共生菌(YLS)生长的杀菌剂作为辅剂和杀虫剂混合使用,通过研究混合制剂对褐飞虱及其体内类酵母共生菌的影响,明确混合制剂防治褐飞虱的效果,为褐飞虱防治提供新的手段和科学依据。【方法】利用血细胞计数板法测定褐飞虱体内 YLS 数量,并结合褐飞虱死亡率的测定,研究了 2 种混合制剂对褐飞虱的防治效果。【结果】研究表明,杀菌剂 27%丰加霉素 & 四霉素 P& 四烯菌素 B& 四霉素 A 和 75%肟菌酯 & 戊唑醇分别与杀虫剂吡虫啉的混合制剂对褐飞虱体内 YLS 有显著的抑制作用,吡虫啉对褐飞虱体内 YLS 无明显抑制作用。两种杀菌剂分别与吡虫啉的混合制剂能导致比单独使用吡虫啉更高的褐飞虱死亡率,并且褐飞虱体内 YLS 数量减少越显著,其对应的褐飞虱死亡率越高,两种混合制剂对褐飞虱的防治效果无明显差异,但均优于吡虫啉的防治效果。【结论】杀菌剂可作为杀虫剂的助剂通过抑制褐飞虱体内 YLS 来进一步提高褐飞虱的防治效果。

关键词 褐飞虱,类酵母共生菌,杀菌剂,吡虫啉,防治效果

宁夏本地球孢白僵菌对枸杞蚜虫控制作用

刘 浩¹ 梁香丽² 张宗山¹

(1.宁夏农林科学院植物保护研究所,宁夏植物病虫害防治重点实验室,宁夏 银川,750002;
2.贺兰县林木检疫站,宁夏 贺兰,750200)

为明确宁夏本地球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* 对枸杞蚜虫 *Aphis* sp.的控制作用,选4株球孢白僵菌研究对枸杞蚜虫的室内致病性及影响致病性的环境因素。结果表明:2号菌株对枸杞蚜虫控制作用最好,其致死中浓度 LD_{50} 为 1.7×10^6 孢子/mL,致死中时 LT_{50} 为 4.46 d(1.0×10^6 孢子/mL);随着温度的升高,球孢白僵菌对枸杞蚜虫的侵染校正死亡率逐渐升高,在 22~28℃范围内,校正死亡率的升高速率最快,在 31℃下,校正死亡率最高,最有利于白僵菌侵染枸杞蚜虫;随着湿度的升高,球孢白僵菌对枸杞蚜虫的侵染校正死亡率逐渐升高,相对湿度 90%时,校正死亡率极显著高于其他湿度,最有利于白僵菌的侵染;随着照射时间的延长,紫外线对球孢白僵菌孢子萌发抑制率升高,在孢子萌发抑制率 50%时,照射时间为 3.18 min,田间施用应避免阳光强烈时段。

关键词 宁夏,球孢白僵菌,本地菌株,枸杞蚜虫,控制作用

小菜蛾对病原真菌蝉拟青霉的体液免疫研究^{*}

李双双 叶 良 彭 耀 李胜男 钱益波 聂 跃 许慧慧 肖 原 党向利^{**}

(安徽农业大学植物保护学院,安徽合肥,230036)

昆虫主要依靠其自身的天然免疫来抵御各种病原物的入侵。昆虫的天然免疫包括细胞免疫和体液免疫。昆虫病原真菌是昆虫病原微生物中最大的一个类群。病原真菌采取了一些有效对策来抵御昆虫的天然免疫保护反应。昆虫是如何体液免疫病原真菌的分子机理目前尚不清楚。

蝉拟青霉(*Paecilomyces cicadae*)是从蝉若虫僵尸上分离到半知菌纲拟青霉属病原真菌。前期研究发现蝉拟青霉对小菜蛾具有较高致病性。为探讨小菜蛾对蝉拟青霉入侵的体液免疫机制,对蝉拟青霉侵染小菜蛾幼虫的免疫转录组进行大规模测序,获得 5 万多个 Unigene。功能注释结果发现一些参与免疫过程基因。免疫相关基因按功能可分为 4 类:模式识别分子、蛋白酶及蛋白酶抑制剂、抗菌效应因子和其它基因。利用芯片和 qPCR 方法分析小菜蛾经不同微生物免疫诱导前后免疫基因的表达模式,发现免疫相关基因在不同微生物诱导下的表达模式存在不同。在 RNA 水平上明晰了它们在小菜蛾体液抵御蝉拟青霉侵染的作用。在蛋白水平上,运用 iTRAQ 技术对蝉拟青霉侵染的小菜蛾样品进行标记,将液相色谱与质谱联用,鉴定出 2410 个小肽,1134 个蛋白。真菌诱导后部分免疫相关蛋白上调表达,包括:肽聚糖识别蛋白、谷胱甘肽 S-转移酶、气味结合蛋白、溶菌酶、乙醇脱氢酶等等。通过表达纯化的 PxMRP 重组蛋白与不同病原物细胞的结合实验鉴定出它的识别对象。深入研究和阐明小菜蛾对病原真菌的体液防卫机制,丰富了我们对于昆虫天然免疫反应的认知,也可以为真菌生物杀虫剂找到新的靶标或途径。

关键词 小菜蛾,蝉拟青霉,天然免疫,抗菌肽,模式识别

^{*} 资助项目:国家自然科学基金项目(31201569)、安徽农业大学稳定和引进人才科研资助项目、国家级大学生创新创业训练计划项目

^{**} 通讯作者, E-mail:xianglidang@aliyun.com

短期食物驯化对麦蛾卵饲养的东亚小花蝽的捕食功能反应影响^{*}

吕 兵^{**} 孙 猛^{**} 翟一凡 陈 浩 于 毅 郑 礼^{***}

(山东省农业科学院植物保护研究所,天敌与授粉昆虫研究中心,济南,250100)

东亚小花蝽 *Orius sauteri* 是一种可有效防治蓟马等多种小型农林害虫的天敌昆虫。为降低成本,多种鳞翅目昆虫的卵被用作小花蝽产业化繁育的替代饲料。本课题组已可成功利用麦蛾 *Sitotroga cerealella* 卵规模化饲养东亚小花蝽,但其对主要防治对象的控害能力尚不明确。有必要通过捕食功能反应研究,评价麦蛾卵饲养东亚小花蝽对主要防治对象的控害效果,为是否有必要在释放前进行短期食物驯化提供理论依据。

为探明使用替代饲料麦蛾卵饲养的东亚小花蝽在释放前是否有必要针对其主要防治对象——蓟马、蚜虫、叶螨进行短期食物驯化,以及进行短期食物驯化对其捕食能力的影响。本试验以西花蓟马 *Frankliniella occidentalis*、玉米蚜 *Rhopalosiphum maidis*、二斑叶螨 *Tetranychus urticae* 为猎物,全程饲喂麦蛾卵的东亚小花蝽雌成虫为处理 A,以提前 2 d 饲喂猎物的东亚小花蝽雌成虫为处理 B,2 种处理的东亚小花蝽雌成虫对 3 种猎物在不同猎物密度(5、15、30、50/管)进行东亚小花蝽雌成虫的捕食功能反应研究。

结果表明,无论是否经过短期食物驯化,东亚小花蝽雌成虫对 3 种猎物在不同猎物密度捕食功能反应均符合 Holling II 型反应模型。不经短期食物驯化与短期食物驯化的东亚小花蝽雌成虫对 3 种猎物的瞬间攻击率 a' 均相近,其中对西花蓟马的瞬间攻击率 a' 均为 1.099,对玉米蚜分别为 1.675,1.730,二斑叶螨分别为 1.474,1.507;不经短期食物驯化的东亚小花蝽雌成虫处理 3 种猎物的平均时间均低于提前短期食物驯化的东亚小花蝽,东亚小花蝽雌成虫处理每头西花蓟马的时间 Th 分别为 0.024 和 0.031,玉米蚜分别为 0.081 和 0.103,二斑叶螨为 0.078 和 0.090。另外,是否经西花蓟马驯化对东亚小花蝽捕食西花蓟马的量无显著差异,在饲喂玉米蚜和二斑叶螨的研究中也出现相同结果。由此可知,在东亚小花蝽规模化生产中,麦蛾卵是一种优良的替代饲料;以麦蛾卵作为替代饲料人工饲养的东亚小花蝽,在释放前不需要针对猎物进行短期食物驯化。

关键词 东亚小花蝽,短期食物驯化,麦蛾卵,捕食功能反应

^{*} 基金项目:国家国际科技合作专项(2013DFA32070);山东省农业重大应用技术创新专项重点项目(设施蔬菜生态高效安全生产技术模式建立与示范);山东省农科院学科带头人科研启动项目

^{**} 共同第一作者(Co-first authors),E-mail: 291705129@qq.com;sunmeng8888@qq.com。

^{***} 通讯作者(Author for correspondence),E-mail: zhengli64@126.com

食蚜瘿蚊捕食能力研究^{*}

林清彩^{**} 翟一凡 陈 浩 尹园园 孙 猛 于 毅 郑 礼^{***}

(山东省农业科学院植物保护研究所,天敌与授粉昆虫研究中心,济南,250100)

食蚜瘿蚊 *Aphidoletes aphidimyza* (Rondani) 是多种蚜虫的重要天敌,在农业生产中具有重要的应用潜力。食蚜瘿蚊通常在作物定植 1~2 周或初见蚜虫时开始释放,此时,由于食物匮乏,人工释放的食蚜瘿蚊常处于饥饿或半饥饿状态,严重影响它们的生存,种群数量增长受到限制,并且捕食活动和食性也受到严重影响。因此,食蚜瘿蚊的耐饥饿能力以及捕食能力决定其在自然界生存与否、存活时间长短、控制目标害虫能力以及能否建立自然种群等。

为系统了解食蚜瘿蚊幼虫对玉米蚜的搜寻和控害潜能及饥饿胁迫对其捕食行为的影响。本文在室内条件下研究了食蚜瘿蚊各龄幼虫对玉米蚜的捕食量;3 龄幼虫饥饿 24 h 后的捕食速度;各龄幼虫饥饿 12 h 后的爬行能力;各龄幼虫耐饥饿能力及 3 龄幼虫不同饥饿程度下的捕食功能反应。

结果显示表明,食蚜瘿蚊 1-3 龄幼虫对玉米蚜的总捕食量为 29 头,3 龄幼虫捕食量最大为 19.21 头。各龄期幼虫随着龄期的增加,活动时间逐渐增加,2 龄和 3 龄幼虫的爬行速度较快,觅食能力较强。食蚜瘿蚊 3 龄幼虫耐饥饿能力最强,不取食状态下 3 龄幼虫最长可存活 12.5 d,2 龄幼虫最长可存活 10 d,1 龄幼虫最长可存活 7.5 d。3 龄幼虫在饥饿 24 h 后,在 12-24h 内对玉米蚜的捕食量达到最大。不同饥饿程度的食蚜瘿蚊 3 龄幼虫对玉米蚜的捕食功能反应属 Holling II 型,蚜虫密度对食蚜瘿蚊幼虫捕食量有极显著影响,饥饿处理时间及饥饿时间和蚜虫密度互作对食蚜瘿蚊幼虫捕食量没有显著影响。总之食蚜瘿蚊 2 龄末 3 龄初幼虫是捕食蚜虫的主力,有较强的捕食和耐饥饿能力,是控制蚜虫的重要天敌。

关键词 食蚜瘿蚊,玉米蚜,捕食能力,耐饥饿能力,功能反应

^{*} 基金项目:山东省农业科学院学科带头人科研启动项目;山东省农业重大应用技术创新项目“设施蔬菜生态高效安全生产技术模式建立与示范”,山东省农业科学院科技创新重点项目“高档蔬菜生产病虫害生态防控关键技术研究”

^{**} 作者简介:林清彩(1989-),女,硕士,E-mail:linqingcai@yeah.net

^{***} 通信作者,郑礼,男,硕士,研究员,E-mail:zhengli64@126.com

温度对麦蛾卵繁育的玉米螟赤眼蜂发育和生殖的影响^{*}

代晓彦^{**} 陈 浩 翟一凡 高宗军 于 毅 郑 礼^{***}

(山东省农业科学院植物保护研究所,天敌与授粉昆虫研究中心,济南,250100)

玉米螟赤眼蜂 *Trichogramma ostriniae* Pang et Chen 是玉米螟的优势卵寄生性天敌,田间应用表明其对防治亚洲玉米螟有良好的效果。田间释放赤眼蜂防治玉米螟不仅成本低廉、省工省力,而且不污染环境、不杀伤天敌、对人畜无害。由于实现了利用中间寄主进行工厂化繁育,近年来推广应用范围不断扩大,已成为目前防治玉米螟的一项重要措施。探讨主要环境因子——温度对玉米螟赤眼蜂的发育、存活及繁殖等方面的影响,是工厂化生产中至关重要的环节。

本试验以麦蛾卵为寄主,放在湿度为 75%±5%、光周期 14L:10D 的人工气候箱中,设置 8 个不同温度(18、20、23、25、28、30、33、36℃),每天观察记录亲代雌蜂的存活情况,每个试管中的黑卵数及子代羽化率和发育历期,研究其对玉米螟赤眼蜂的寿命和生殖力、子代羽化率和发育历期的影响。

结果表明,20 至 25℃条件下雌蜂寿命最长,达 7.9–9.0 d。在 18 至 30℃生殖力和子代羽化率无显著差异,产卵量最高达 40.9–61.7 粒;羽化率维持在 74.31–84.22%。玉米螟赤眼蜂从卵到羽化的发育历期随温度的升高而显著缩短,由 18℃时的 22.6 d 缩短至 33℃的 7.0 d。36℃时,雌蜂的寿命仅为 0.56 d,且不能进行正常的生殖活动。综上,室内用麦蛾卵大规模繁育玉米螟赤眼蜂,适宜的温度为 28 至 30℃;仅保存蜂种时,可选用温度 18 至 20℃。

关键词 玉米螟赤眼蜂,温度,生殖力,羽化率

^{*} 基金项目:山东省农科院学科带头人科研启动项目;山东省农业重大应用技术创新专项“设施蔬菜生态高效安全生产技术模式建立与示范”

^{**} 作者简介:代晓彦,女,1988 年生,汉族,山东潍坊人,硕士,研究方向为生物防治,E-mail:abeamsunshine@163.com

^{***} 通讯作者 Author for correspondence, E-mail:zhengli64@126.com

丽蚜小蜂对烟粉虱和温室白粉虱不同龄期若虫的寄生及取食选择性^{*}

尹园园^{**} 林清彩 翟一凡 陈 浩 于 毅 郑 礼^{***}

(山东省农业科学院植物保护研究所,天敌与授粉昆虫研究中心,济南,250100)

温室白粉虱和烟粉虱均属于世界性害虫,形态十分相似,在许多作物上常常混合发生,发生严重时很难控制。丽蚜小蜂是粉虱类害虫的专性寄生性天敌,是一种孤雌产雌的寄生蜂,许多国内外研究表明丽蚜小蜂可以有效控制粉虱类害虫的发生。丽蚜小蜂不仅可以通过将卵产在粉虱若虫体内将粉虱杀死,还可以通过直接取食粉虱若虫体液将粉虱杀死。关于寄生蜂取食寄主的行为很长时间未引起重视,自从 Jervis 和 Kidd(1986)对寄生蜂的取食寄主行为进行了综述,国内外学者逐渐认识到这种行为的重要性。通过寄主取食也是导致粉虱死亡的重要原因,研究表明,在恒温 27℃条件下,丽蚜小蜂平均寿命 19 d,一生可杀死粉虱 197 头,产卵占 74.4%,取食占 25.6%。

为了明确丽蚜小蜂对温室白粉虱及烟粉虱不同龄期若虫的寄生及取食的选择性,本研究以番茄苗为供试植物,观察记录 1 头羽化 24h 之内的丽蚜小蜂 24h 内对两种粉虱不同龄期若虫的寄生及取食数量,从而为丽蚜小蜂的繁育及田间应用提供一定的依据。

结果表明,丽蚜小蜂更偏好寄生温室白粉虱,并且寄生 2 龄或 3 龄粉虱若虫数最多,对 2、3 龄若虫的寄生总量分别为 9.52、7.59 头,取食 1 龄及 4 龄若虫数较多;丽蚜小蜂对两种粉虱若虫的总致死量无显著性差异。在丽蚜小蜂的大规模繁育中应选用温室白粉虱作为繁育寄主,2 龄或 3 龄温室白粉虱若虫接种丽蚜小蜂。

关键词 丽蚜小蜂,粉虱,寄生,取食,选择性

^{*} 基金项目:国家国际科技合作专项(2013DFA32070);山东省农业重大应用技术创新专项重点项目(设施蔬菜生态高效安全生产技术模式建立与示范);山东省农科院学科带头人科研启动项目

^{**} 第一作者(First author),尹园园,女,1989年生,汉族,山东聊城人,硕士,研究方向为生物防治,E-mail: yinyuanyuan008@126.com

^{***} 通讯作者(Author for correspondence),E-mail: zhengli64@126.com

粘质沙雷氏菌 PS-1 对甜菜夜蛾幼虫侵染规律的研究^{*}

赵晓峰^{**} 凌 冰 杨安嶝 张茂新^{***}

(华南农业大学昆虫学系, 广州, 510642)

【目的】粘质沙雷氏菌 *Serratia marcescens* PS-1 菌株是从罹病黄曲条跳甲幼虫体内分离获得的病原菌, 它对甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 幼虫的生长发育及存活有显著的抑制作用。研究 PS-1 菌株对甜菜夜蛾幼虫的侵染规律可为粘质沙雷氏菌 PS-1 菌株的进一步开发应用提供依据。【方法】本文观察了甜菜夜蛾幼虫感染 PS-1 菌株后的病症, 并采用组织切片和透射电镜的方法研究了感染 PS-1 菌株后中肠组织的病理变化。【结果】结果表明: 随感染时间的延长, 甜菜夜蛾幼虫逐渐出现反应迟钝、麻痹、丧失条件反射能力等症状, 最终虫体伸直或是收缩, 直至死亡。感染后虫体发红或变黑, 轻轻一碰体壁即流出红色菌脓; 甜菜夜蛾幼虫取食 PS-1 菌株后, 中肠肠壁细胞和细胞器均发生了一系列病变: 如中肠肠壁柱状细胞顶端膨胀、破裂; 细胞质出现空洞; 细胞脱落至肠腔; 微绒毛大量变粗、紊乱、脱落; 细胞核降解、核膜变形等现象。【结论】粘质沙雷氏菌 PS-1 菌株侵染甜菜夜蛾幼虫中肠, 造成中肠细胞的结构发生变化, 侵染后期严重破坏了幼虫中肠细胞结构, 是直接导致甜菜夜蛾幼虫致死的原因之一。

关键词 粘质沙雷氏菌 PS-1 菌株, 甜菜夜蛾, 中肠组织, 病理变化

^{*} 基金项目 Supported projects: 国家科技部支撑计划子课题 (2012BAD19B0107); 广东省科技计划项目 (2014A020208106)

^{**} 第一作者 First author, E-mail: xiaofengzhao_ok@163.com

^{***} 通信作者 Corresponding author, E-mail: mxzhang@scau.edu.cn

稻田捕食性昆虫研究的国际现状与趋势分析^{*}

孙丽川 刘雨芳^{**}

(湖南科技大学生命科学学院, 园艺作物病虫害治理湖南省重点实验室, 湘潭, 411201)

基于大量科技文献事实的文献计量法能较全面地揭示学科研究现状与热点问题, 被广泛应用于各学科领域研究论文数量统计、研究者与科研机构的研究实力与国际影响力评价等, 有助于科研工作者把握学科整体布局、发展方向和学科优势。本文在客观分析稻田捕食性昆虫研究国际科研 SCI 文献以及国际稻田捕食性昆虫研究的发展趋势的基础上, 了解我国稻田捕食性昆虫研究情况及在全球研究中的地位。利用 Web of ScienceTM 核心集合数据库, 对 1975–2016 年间该库收录的稻田捕食性昆虫研究文献进行综合统计分析, 并对发文量居前 20 位的国家、科研机构、发文作者、资助基金以及高被引文献等进行计量分析。结果显示 Web of Science 数据库中共检索到稻田捕食性昆虫研究文献 1259 篇, 总被引频次 12963 次, 篇均引用次数 10.3, H-index = 42。1259 篇文献来源于 3182 位作者, 其中核心作者 175 位, 全体作者来自 79 个国家的 1022 个机构。最高发文量 22 篇, 是美国约翰霍普金斯大学的 Watanabe T, 中国最高发文量 20 篇, 是中国农业科学院的 Peng YF。最高单篇论文被引用 149 次, 中国最高单篇论文被引用 93 次。来源出版物 87 个, 文献收录量位居首位的出版物为 Journal of economic entomology, 被收录 112 篇, 占 8.90%。全部文献涵盖昆虫学 (Entomology)、农学 (Agriculture)、生物技术应用微生物学 (Biotechnology Applied Microbiology)、兽医科学 (Veterinary sciences)、生理学 (Physiology)、生物化学分子生物学 (Biochemistry molecular biology)、动物学 (Zoology)、生物多样性保护 (Biodiversity conservation)、进化生物学 (Evolutionary biology)、环境科学生态学 (Environmental sciences ecology) 与化学 (Chemistry) 等 11 个学科与研究方向。转基因抗虫水稻对稻田捕食者的生态安全问题成为新的研究热点。分析结果表明, 美国、日本与中国是稻田捕食性昆虫研究文献的主要贡献国。中国政府提供了较充足经费支持稻田捕食性昆虫研究。在亚洲, 中国是稻田捕食性昆虫研究领域最具影响力与优势的国家, 但与世界发达国家比较, 中国在稻田捕食性昆虫研究领域发表的论文影响力, 还有待进一步提升。

关键词 WOS, 稻田, 捕食性昆虫, 文献计量

^{*} 资助项目: 国家转基因生物新品种培育重大专项 (2012ZX08011002-002)

作者简介: 孙丽川, 男, 吉林白山人, 硕士生, 研究方向为农业昆虫学与生态学, E-mail: sunlc92@foxmail.com

^{**} 通讯作者: E-mail: yfliu2011@126.com

仓储害虫的生物防治资源与应用机制研究^{*}

蔡朝辉¹ 陈浩梁^{1,2} Akinkurolere Rotimi Oluwafemi¹ 张宏宇^{1**}

(1.农业微生物学国家重点实验室,城市与园艺昆虫研究所,华中农业大学植物科学技术学院,武汉,430070;2.安徽省农业科学院植物保护与农产品质量安全研究所,合肥,230000)

仓库害虫每年在世界范围内造成的损失在 10 亿美元以上。目前的防治方法都以化学药剂熏蒸为主,但随着人们对熏蒸剂残留问题越来越关注,研究其它潜在的替代化学药剂熏蒸的方法越来越受到重视。鉴于此,我们对微生物和天敌昆虫这两种环境友好型防治方法的应用潜力进行了一系列研究。

首先我们明确我国仓库杀虫微生物资源及遗传多样性,在我国 59 个县市不同类型的仓库中调查采集到 413 份杀虫微生物样本,筛选获得了 122 个对常见仓储害虫具有高毒力的苏云金芽孢杆菌菌株,并分别从血清学、蛋白和基因水平对这些菌株进行了遗传多样性研究。此外,首次在我国发现了对鞘翅目害虫具有高毒力的苏云金杆菌菌株。同时我们探究了麦蛾柔茧蜂滞育及扩繁机制,在国际上首次成功诱导了麦蛾柔茧蜂的滞育,并对滞育麦蛾柔茧蜂冷藏及冷藏后的生物学特性进行了深入研究。然后我们进一步研究了苏云金杆菌与麦蛾柔茧蜂互作机制,首次提出并试验了应用苏云金杆菌和麦蛾柔茧蜂联合防治印度谷螟这一新方法,并研究了用这两种方法联合控制印度谷螟时的互作机制。

通过我们对仓储害虫的天敌昆虫麦蛾柔茧蜂、病原微生物苏云金芽孢杆菌的调查筛选及其对仓储害虫的防控机理等的研究,为仓储害虫的生物防治提供了理论依据,并可有效的控制仓库害虫爆发,改善仓库生态环境,保证仓储物对人畜的安全性,从而建立了一套科学有效的仓库害虫综合防治技术体系。

关键词 仓库害虫,生物防治,麦蛾柔茧蜂,苏云金芽孢杆菌

^{*} 基金项目: 国家科技支撑计划 (2006BAD02A18-03、2006BAI09B04-06); 湖北省自然科学基金 (2000J116); 国际科学基金 [(IFS)E/2549-1、(IFS)E/2549-2、(IFS)E/2549-3]

^{**} 通讯作者 Corresponding author. Tel.: +862787280276.

Email: hongyu.zhang@mail.hzau.edu.cn

波动温度对大草蛉及其猎物生长发育和繁殖的影响^{*}

程丽媛^{**} 陈珍珍 许永玉^{***}

(山东农业大学植物保护学院, 山东泰安, 271018)

大草蛉 *Chrysopa pallens* (Rambur) 属于脉翅目、草蛉科, 是自然界发生的草蛉类天敌的优势种之一。其分布范围广, 幼虫和成虫对蚜、螨、粉虱、鳞翅目卵和低龄幼虫等都具有捕食作用, 是农林生态系统的重要天敌资源。大草蛉及其猎物在自然条件下经历的并非恒温, 而是昼夜波动的温度。为明确波动温度对大草蛉及其猎物豌豆修尾蚜 *Megoura crassicauda* Matsumura 和豆蚜 *Aphis craccivora* (Koch) 生长发育和繁殖的影响, 我们采用年龄-龄期两性生命表方法, 制作了大草蛉和 2 种蚜虫在恒温 22℃ 及变温 22±3℃ 和 22±5℃、光周期和湿度均为 15:9(L:D) 和 65±5% RH 条件下的生命表。结果显示变温条件下大草蛉在的幼虫期显著长于恒温条件下, 而豌豆修尾蚜和豆蚜则相反。恒温条件下大草蛉和豌豆修尾蚜的总寿命长于变温条件, 而豆蚜在 22±5℃ 的波动温度条件有最大寿命。大草蛉和豌豆修尾蚜的平均繁殖力在 2 种波动温度下较低, 而豆蚜在波动温度下的每日产蚜量和总繁殖力比恒温下高。波动温度下大草蛉和豌豆修尾蚜的内禀增长率(r) 小于恒温条件下, 豆蚜在波动温度下的内禀增长率较大。因此, 波动温度对昆虫生物学特性的影响是因种而异的, 波动温度不利于大草蛉的豌豆修尾蚜种群的增长, 而有利于豆蚜的生长发育和繁殖。与 22±3℃ 相比, 22±5℃ 影响更大。用恒温条件下得到的数据来监测自然波动温度环境下大草蛉及其猎物的种群动态可能会存在一定偏差, 这也会影响对最佳防治时机的判断, 并影响害虫的综合治理效果。

关键词 大草蛉, 蚜虫, 波动温度, 内禀增长率, 种群增长

^{*} 资助项目: 山东省茶产业技术体系 (SDAIT-19-04); 山东省自然科学基金(ZR2014CP018); 山东省小麦体系项目 (SDAIT-01-09)。

^{**} 作者简介: 程丽媛(1990~), 山东临沂人, 博士研究生, 主要从事昆虫生理生态研究。E-mail: 15552837771@163.com

^{***} 通讯作者, E-mail: xuyy@sdaa.edu.cn

四种实蝇类寄生性天敌寄生蜂对甲基丁香酚的行为反应

谷小红 蔡普默 李清娥 陈家骅*

(福建农林大学植物保护学院, 福建福州, 350002)

甲基丁香酚(ME)是使用最广泛的雄性实蝇引诱剂,特别是果实蝇属。阿里山潜蝇茧蜂 *Fopius arisanus* (Sonan), 布式潜蝇茧蜂 *F. vandenboschi* (Fullaway), 长尾潜蝇茧蜂 *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) 和切割潜蝇茧蜂 *Psytalia incisi* (Silvestri), 在国内外,都广泛用于实蝇类害虫的综合治理。为了优化由 ME 灭雄技术,不育雄虫技术和释放多种寄生蜂组成的实蝇综合防治方法,采用了 Y 型,六臂嗅觉仪以及触角电位仪测定了 ME 对四种实蝇类寄生蜂的影响,并测定了在有 ME 的环境下对寄生蜂寻找寄主的行为的影响。嗅觉行为实验结果表明:四种实蝇寄生蜂对无稀释的 ME 产生了显著的趋避作用;并且不同浓度的 ME 对寄生蜂的行为影响有所不同,低浓度(10^{-5} , 10^{-4} , 和 10^{-3})的 ME 对寄生蜂产生了吸引作用,然而随着浓度的升高,对寄生蜂的趋避作用越来越显著。触角电位反应和 ME 对寄生蜂产卵行为的影响实验结果表明高浓度的 ME 对寄生蜂寻找寄主的行为产生了干扰。上述结果为有效的利用几种联合的实蝇防治措施提供了必要的基础。

关键词 甲基丁香酚,寄生蜂,实蝇,生物防治,行为反应

* 通讯作者

寄主龄期对褐带卷蛾茧蜂寄生和繁殖的影响^{*}

钟宝珠 吕朝军 覃伟权^{**}

(中国热带农业科学院椰子研究所,海南文昌,571339)

【目的】揭示寄主龄期对褐带卷蛾茧蜂寄生和繁殖的影响,为褐带卷蛾茧蜂的大规模繁殖和利用提供科学依据。【方法】以红脉穗螟为寄主,通过自由选择和强迫选择试验,研究褐带卷蛾茧蜂在红脉穗螟 1~5 龄幼虫和蛹上的寄生和发育情况。【结果】在自由选择和强迫选择试验中,褐带卷蛾茧蜂均能寄生红脉穗螟的 3~5 龄幼虫。在自由选择条件下,褐带卷蛾茧蜂对红脉穗螟 4 龄幼虫的平均寄生数量最多;其次为 3 龄幼虫和 5 龄幼虫;而对 1 龄、2 龄幼虫和蛹没有寄生作用。在强迫选择试验中,褐带卷蛾茧蜂对红脉穗螟的寄生作用会随着幼虫龄期的增长逐渐增强,在试验中发现寄生蜂在选择寄主进行产卵时,刺死寄主幼虫的数量远大于寄生数量。寄主龄期也会影响褐带卷蛾茧蜂的产卵量、幼虫孵化率和化蛹率,其大致趋势均随着红脉穗螟幼虫龄期的增加而增加。【结论】褐带卷蛾茧蜂对红脉穗螟 4 龄幼虫寄生率高,且子代存活率高,对后代发育有利,在进行室内大规模繁育时可以其作为寄主进行扩繁。

关键词 褐带卷蛾茧蜂,红脉穗螟,龄期,发育,繁殖

^{*} 基金项目:海南省重点研发计划项目(ZDYF2016059);海南省重大科技专项项目(ZDZX2013008-2)

第一作者:钟宝珠,女,助理研究员,主要从事农业昆虫与害虫防治研究,E-mail:baozhuz@163.com

^{**} 通讯作者:覃伟权,E-mail:qwq268@126.com

竹林金针虫高致病性绿僵菌筛选及其保护酶活性测定^{*}

叶碧欢 张亚波 吴 鸿 王浩杰 舒金平^{**}

(中国林业科学研究院亚热带林业研究所,富阳,311400)

【目的】筛胸梳爪叩甲(*Melanotus cribricollis*)是当前中国南方竹区危害最为猖獗的地下害虫,监测及防治难度大,造成巨大经济损失。绿僵菌(*Metarhizium* spp.)是控制竹林金针虫(筛胸梳爪叩甲幼虫)的重要虫生真菌,具有广阔的应用前景。研究绿僵菌与金针虫间的互作机理,对于选育高效的生防菌具有重要的指导价值。【方法】本文测定了平沙绿僵菌 WP08 菌株(*M. pingshaense*)、金龟子绿僵菌 WTKH 菌株(*M. anisopliae*)和杀蝗金龟子绿僵菌(*M. anisopliae* var. *acridum*)不同浓度对金针虫的致病性,并测定了金针虫在不同侵染时间体内 SOD、CAT 和 POD3 种保护酶的活性变化。【结果】试验周期内 WP08 不同浓度的校正累计死亡率均显著高于其余两种菌株;WP08 的 LT_{50} 分别为 9.09d(10^8)、10.81d(10^7)和 14.46d(10^6), WTKH(10^8)的 LT_{50} 为 23.40d,前两者差异不显著性,与后两者两两间的差异均显著。酶活测定结果表明,不同时间金针虫酶原浓度无显著差异。CAT 活力变化呈先下降后升高再下降趋势,这说明初期菌在虫体内快速生长和繁殖削弱了 CAT 活力,随着体内 H_2O_2 逐渐积累 5d 时 CAT 活性被激发,同时毒力测定表明虫体 7d 时开始出现大量死亡,推测此时由于菌的重度干扰和迫害致使 CAT 活力降低甚至逐渐失活。SOD 和 POD 测定则发现感病虫体与 CK 差异不显著,但 7d 时 POD 活性最低。3 种酶活性变化趋势不相同,而 CAT 对绿僵菌侵染的响应更快速敏锐。【结论】WP08 的致病力与浓度成正相关但浓度为 10^8 与 10^7 间差异不显著,且明显优于其它两种菌株,是防控竹林金针虫最为有效的生防菌株。昆虫的防御体系十分复杂,保护酶也可作为昆虫先天性免疫能力的指标参数之一,绿僵菌侵染后引起虫体内保护酶活性的不同变化,为揭示虫菌互作机理奠定了基础,但本文仅选取了侵染过程中的几个关键节点,3 种保护酶在虫菌免疫互作中的作用和机理仍需进一步的探究和验证。

关键词 竹林金针虫,绿僵菌,致病性,保护酶

^{*} 基金项目:“十二五”国家科技支撑计划(2012BAD23B0402)和林业公益性行业重大科研专项(201304403)

^{**} 通讯作者:shu_jinping001@163.com

阿里山潜蝇茧蜂的毒液器官结构及其毒液蛋白的电泳分析

王 丹

(福建农林大学益虫研究所,福州,350002)

【目的】阿里山潜蝇茧蜂 *Fopius arisanus* (Sonan)是橘小实蝇 *Bactrocera dorsalis* (Hendel)的一种卵--蛹跨期寄生蜂。本研究旨在,明确阿里山潜蝇茧蜂毒液器官的形态结构,在此基础上,分析其毒液蛋白的分子量组成,以期进一步探索毒液在寄生过程中发挥的作用。【方法】研究通过显微镜观察以及 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)技术,得到研究结果。【结果】阿里山潜蝇茧蜂的毒液器官由一对呈黄色的锥状体毒囊和多个短粗、椭圆且末端封闭游离的毒腺以及毒液导管组成,另有一薄壁透明的椭圆型杜氏腺,与产卵器相接;毒液蛋白的电泳图谱表明,介于 10-100KDa 之间约有 9 条蛋白带,其中有 3 条含量较高的条带,分子量大小分别在 10KDa、28KDa、75KDa 左右,另有 3 条分子量高于 100KDa 的条带。【结论】阿里山潜蝇茧蜂的毒液器官属较低等进化模式,其毒液蛋白主要集中于中、低分子量。

关键词 阿里山潜蝇茧蜂,橘小实蝇,毒液器官,毒液蛋白,SDS-PAGE

松毛虫质型多角体病毒超低容量油剂的研制

林思诚¹ 赵同海² 陈昌洁² 柯沛强¹ 林明辉¹ 陆雨丽³

(1.广东茂名市林业科学研究所,广东茂名,525000; 2.中国林科院森林生态环境与保护研究所,北京,100091;3.茂名石化公司研究院,广东茂名,525011)

【目的】超低容量喷雾是一种喷液量小、工效高、药效好、节省药剂、防治成本低的飘移累积性喷雾方式。早在上世纪 40 年代,国外就开始研究超低容量喷雾技术,迄今这一技术已被美国、加拿大、澳大利亚等工业化程度较高的国家广泛应用。松毛虫质型多角体病毒杀虫剂已被证明对我国多种松毛虫有较好的防治效果,但与其它微生物杀虫剂一样,在剂型的研究上离发达国家还有很大差距,主要表现为剂型单一、稳定性差等等。笔者尝试通过研制松毛虫质型多角体病毒超低容量油剂,丰富松毛虫质型多角体病毒的使用技术、减轻劳动强度、降低使用成本,克服山高路陡等环境地理条件对使用的限制,促进其进一步的大面积推广应用。【方法】本研究通过试验,综合考虑毒性、粘度、挥发性、闪点、再悬浮性、稳定性等指标,筛选到 2 种溶剂、3 种助剂,配制成每公顷用量为 3000ml 的松毛虫质型多角体超低容量油剂。测试松毛虫质型多角体超低容量油剂对马尾松毛虫的毒力,并比较不同溶剂和助剂配制的油剂在松茸毒蛾危害严重的马尾松林内的防治效果。【结果】实验表明,研制成的松毛虫质型多角体病毒超低容量油剂对马尾松毛虫有较高的毒力。每亩喷洒 200ml 含多角体 50-300 亿的超低量油剂,3 龄马尾松毛虫幼虫死亡率 35%-75%,存活幼虫感染率 50%-80%,总有效率 70-95%。其中,每亩喷洒 200ml 含 100 亿 PIB 的油剂时,死亡率、感染率和总有效率分别为 50%、50%和 75%。用 2 种不同溶剂和助剂配制的松毛虫质型多角体病毒超低容量油剂致 2-4 龄松茸毒蛾死亡率、存活虫感染率和总防治效果均较接近,总防治效果均为 90%左右。【结论】该剂具有良好的分散性能,粘度、挥发性、闪点、稳定性、再悬浮性等指标达到超低容量喷雾的要求,对马尾松毛虫和松茸毒蛾均有较好的感染和致死效果。

关键词 微生物杀虫剂,松毛虫质型多角体病毒,超低容量喷雾油剂

苏云金杆菌对红棕象甲的生物活性研究^{*}

蒲宇辰^{**} 马天铃 侯有明^{***}

(福建农林大学植物保护学院, 福建省昆虫生态重点实验室, 农业部闽台作物有害生物综合治理重点实验室, 福建福州, 350002)

【目的】红棕象甲 *Rhynchophorus ferrugineus* 是一种林业检疫性有害生物, 主要危害棕榈科植物, 且防治困难, 为林业、园林上重要的蛀干害虫, 严重影响寄主的观赏价值。苏云金杆菌 *Bacillus thuringiensis* 作为一种重要的昆虫病原细菌, 因其具有寄主范围广, 对人畜安全, 不污染环境等特点, 已被开发成多种制剂广泛应用于害虫生物防治, 成为农林业最普遍使用的一种微生物杀虫剂。本研究通过苏云金杆菌对室内饲养的红棕象甲生物活性测定, 分析评价苏云金杆菌对红棕象甲的作用效果, 为林业上红棕象甲的生物防治提供新的思路 and 手段。【方法】在室内条件下, 选取五个浓度梯度的苏云金杆菌悬浮液作为处理组, 以无菌水作为对照组, 对红棕象甲卵和二龄幼虫进行生物测定, 比较不同处理之间卵孵化率、卵历期、二龄幼虫致病力等方面的差异。将感染的红棕象甲卵和幼虫进行病原菌的分离和培养, 通过菌落形态观察和 16S rRNA PCR 扩增的分子技术, 来确认苏云金杆菌对寄主的感染。同时, 测定苏云金杆菌对红棕象甲四龄幼虫的钻蛀活性, 探讨不同的菌液浓度和不同的菌液处理方式对四龄幼虫钻蛀能力的影响。【结果】虽然卵孵化率皆超过 85%, 但是和对照组相比, 在最高浓度条件下 (2.18×10^{11} CFU/ml) 的卵历期显著延长 1.2 d。该菌对二龄幼虫的致死中浓度 (LC_{50}) 是 4.92×10^9 CFU/ml, 致死中时间 (LT_{50}) 分别是 25.01、16.99、14.89、11.61 和 10.00 d。随着菌悬液浓度的升高, 二龄幼虫的校正死亡率显著升高。在 2.18×10^{11} CFU/ml 条件下, 二龄幼虫的校正死亡率最高, 达 94.32%。在四龄幼虫钻蛀活性生物测定中, 苏云金杆菌的处理显著降低四龄幼虫的钻蛀活性, 且胃毒方式处理的效果更加明显。【结论】红棕象甲卵和幼虫对苏云金杆菌的侵染呈现出一定的敏感性。因此, 苏云金杆菌可以作为一种微生物制剂, 在红棕象甲生物防治中具有较强的应用潜力, 有望于未来实现红棕象甲的有效控制, 从而减小入侵昆虫红棕象甲对棕榈树的破坏。

关键词 红棕象甲, 苏云金杆菌, 生物测定, 生物防治, 致病力

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金 (31470656)

^{**} 作者简介: 蒲宇辰 (1992-), 男, 福建漳州人, 博士研究生, 主要从事入侵昆虫病原学及昆虫免疫的研究工作, Email: fafupuyuchen@163.com

^{***} 通讯作者: 侯有明 (1966-), 男, 陕西白水人, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 昆虫生态与害虫综合治理、入侵昆虫学, Email: ymhou@fafu.edu.cn

阿里山潜蝇茧蜂雌成虫肠道细菌的分离鉴定

张贺贺¹ 骆米娟¹ 蔡普默¹ 姚明燕¹ 李清娥¹ 杜迎刚² 陈家骅^{1*}

(1.福建农林大学植物保护学院,福州,350002;2.潍坊科技学院贾思勰农学院,寿光,262700)

肠道微生物与宿主昆虫在长期进化过程中形成了一种相互依存、互惠互利的共生关系,在为宿主提供营养需求,调节消化、排泄、繁殖和抵御外侵病菌等方面发挥着重要作用。为了探究阿里山潜蝇茧蜂雌成虫肠道细菌的组成和多样性,及优势菌群对寄生蜂生长发育和繁殖的影响。本研究利用传统微生物培养的方法结合 16S rDNA 的 V6-V8 可变区测序技术从阿里山潜蝇茧蜂雌成虫肠道中初步分离鉴定了 8 种不同细菌,这些细菌分属于肠杆菌属(*Enterobacter*)、沙雷氏菌属(*Serratia*)和芽孢杆菌属(*Bacillus*),其中肠杆菌属(*Enterobacter*)为其肠道菌群中的优势菌,以期作为繁殖代接种辅助剂或增强剂来提高阿里山潜蝇茧蜂室内饲养的质量和寄生率,增强其野外环境适应性提供理论依据。

关键词 阿里山潜蝇茧蜂,肠道菌,分离鉴定,寄生率

* 通讯作者

将核辐射应用于阿里山潜蝇茧蜂大量繁殖的研究

蔡普默 谷小红 张贺贺 季清娥 杨建全 陈家骅

(福建农林大学植物保护学院益虫研究所,福州,350002)

本课题组研究了不同剂量的 ^{60}Co 辐照不同卵龄的橘小实蝇 *Bactrocera dorsalis* (Hendel) 卵对橘小实蝇生长发育的影响,并在此基础上研究得出了能满足卵寄生蜂阿里山潜蝇茧蜂 *Fopius arisanus* (Sonan) 大量人工饲养要求的适宜的辐照剂量和辐照卵龄。结果表明,当辐照剂量大于 20Gy 时,无论橘小实蝇辐照卵龄为多少,橘小实蝇蛹重显著降低,基本不羽化;橘小实蝇羽化率、飞出率、正常羽化的成虫数量和 F_1 卵孵化率都是随辐照剂量的升高而降低;辐照组间性比差异极不显著,辐照对于橘小实蝇雌虫和雄虫的影响比较均一。24h 和 27h 的卵辐照后,孵化率与化蛹率偏低,不适合作为大量繁蜂的有利寄主卵龄;而辐照剂量超过 20Gy,各个卵龄的蛹重骤降,因此大于 20Gy 的剂量不适合作为寄生蜂繁殖的适宜剂量。当卵龄为 30h–36h、辐照剂量为 15Gy 时,橘小实蝇羽化率、飞出率与后代孵化率都远大于 20Gy 辐照组,且其成虫死亡率也远小于 20Gy 组,15Gy 组和 20Gy 组的蛹重和化蛹率皆与对照组无差异。所以当辐照剂量率为 1Gy/min,辐照剂量为 20Gy 时,辐照卵龄 30h–36h 的橘小实蝇符合大量饲养繁殖寄生蜂的基本要求和经济效益。

经 20Gy 辐照的 30h–36h 卵龄的橘小实蝇卵作寄主供阿里山潜蝇茧蜂寄生其羽化出的都是寄生蜂,而没有橘小实蝇,对羽化出的当代寄生蜂和后代寄生蜂的质量进行实验室内测定,结果发现辐照寄主对当代寄生蜂的性比及寿命影响显著,性比比对照组低,雌雄蜂寿命比对照组长, F_2 和 F_3 性比和寿命即恢复正常;辐照寄主对当代和后代寄生蜂的寄生率和羽化率影响都不显著。对比 F_1 和 F_2 、 F_3 代辐照寄主羽化出的寄生蜂,其后代羽化率、寄生率和性比都比当代略高,由此可知,后代的寄生蜂质量甚至比 F_1 好。辐照卵繁殖出的当代阿里山潜蝇茧蜂及其后代在室外的寄生率、出蜂率、子代性比及寿命都与用正常卵繁育出的寄生蜂无显著差异。

关键词 橘小实蝇,卵期辐照,阿里山潜蝇茧蜂,寄生蜂大量饲养

中草药源黑肩绿盲蝽引诱剂研究进展

刘思仪 华红霞 何月平 赵 景 蔡万伦

(华中农业大学植物科技学院)

黑肩绿盲蝽是水稻害虫飞虱和叶蝉的重要天敌,为了从传统中草药中开发其引诱剂,利用其捕食作用控制飞虱和叶蝉的为害,本研究利用乙醇浸提法获得夹竹桃、高良姜等 9 种中草药植物精油。在室内利用 Y 型嗅觉仪和 H 型管测定这些精油对黑肩绿盲蝽的引诱作用,结果发现人心果、夹竹桃和香菜精油对黑肩绿盲蝽若蝽和成蝽均具有显著的引诱作用。通过极性分离、GC-MS 测定这 3 种植物精油的化学组成,并从中挑选 10 种化合物,测定这些化合物对黑肩绿盲蝽的引诱作用。结果发现两种化合物对黑肩绿盲蝽若蝽和成蝽有极显著的引诱作用,在温室实验中对黑肩绿盲蝽的引诱效率达 71.8%及 54.8%。目前正在进行田间实验,期望能获得黑肩绿盲蝽行为调控剂。该研究为开发稻田天敌行为调控剂奠定了基础。

关键词 黑肩绿盲蝽,引诱剂,中草药精油

高效氯氰菊酯胁迫作用对东亚小花蝽成虫的大豆蚜捕食功能的影响研究^{*}

张文霖^{**} 韩岚岚 董天宇 赵奎军^{***}

(东北农业大学农学院, 哈尔滨, 150030)

【目的】通过研究东亚小花蝽成虫在农药胁迫下大豆蚜捕食功能的变化规律,为更好的利用天敌昆虫进行生态农业提供参考。【方法】通过试管药膜法,利用配制的6个不同浓度梯度的高效氯氰菊酯溶液对东亚小花蝽成虫进行毒力测定,其所获数据经分析得到30%高效氯氰菊酯乳油对东亚小花蝽成虫的LC₂₅、LC₅₀、LC₇₅分别为10 mg/L、40 mg/L、140 mg/L,利用这三种浓度农药对东亚小花蝽进行胁迫试验,其结果用Holling II型圆盘方程进行拟合。【结果】结果表明,在试验农药梯度作用下,东亚小花蝽成虫的捕食量在农药浓度为0mg/L(对照浓度)下最高,140mg/L条件下最低,且其增加幅度随着猎物密度增加以0mg/L下最大,140mg/L条件下最小;其寻找效应在不同浓度梯度下有较大的差异,表现为随着农药浓度的增加,寻找效应相应大幅度下降。在高效氯氰菊酯胁迫下,东亚小花蝽成虫捕食大豆蚜过程中的自我干扰方程为 $E=0.1255P^{0.2956}$,其相关系数为0.9665。【结论】东亚小花蝽成虫在试验农药浓度梯度范围内对大豆蚜的功能反应均符合Holling II型方程,浓度越高,对东亚小花蝽成虫捕食大豆蚜越不利。

关键词 东亚小花蝽,高效氯氰菊酯,胁迫作用,捕食功能

^{*} 基金项目:现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-04)

^{**} 作者简介:张文霖,硕士研究生, E-mail:2422880512@qq.com

^{***} 通讯作者, E-mail:kjzhao@163.com

黑龙江省苏云金杆菌的分离及 对玉米螟高毒力菌株的筛选*

徐馨竹** 周长梅 韩岚岚 程 媛 赵奎军***

(东北农业大学农学院, 哈尔滨, 150030)

【目的】从黑龙江省不同地区、不同类型的 352 份土壤中分离出 46 株苏云金杆菌(*Bacillus thuringiensis*)野生菌株中筛选出对玉米螟具有毒力高的菌株。【方法】采用醋酸钠选择性培养基分离土样中的 Bt 菌株, PCR-RFLP 鉴定方法对分离株进行基因型分析, SDS-PAGE 方法进行杀虫晶体蛋白检测。【结果】从黑龙江省采集的土样中共分离筛选出 3 株对玉米螟的毒力效果与实验室野生菌株 HD-73(LC_{50} 为 $35.061\mu\text{g/ml}$)相当的菌株, 分别是 H3、H17、H21; 对玉米螟的生测结果 LC_{50} 分别为 $27.025\mu\text{g/ml}$ 、 $56.978\mu\text{g/ml}$ 、 $77.676\mu\text{g/ml}$; 经 PCR-RFLP 法鉴定 H3 菌株含 *cryIAa*、*cryIAb*、*cry2Ab* 类基因, H17 菌株含 *cryIAa*、*cryIAb*、*cryIAc* 类基因, H21 菌株含 *cryIAa*、*cryIAb* 类基因; 经 SDS-PAGE 蛋白分析 H3、H17 菌株表达了 130、60 ku 蛋白, H21 表达了 130、90ku 蛋白。【结论】从黑龙江省土壤中分离出对玉米螟有高毒力的苏云金杆菌菌株, 对东北地区玉米螟的绿色防控及延缓其抗性意义深远。

关键词 苏云金杆菌, 绿色防控, 玉米螟, 毒力

* 基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-04)

** 作者简介: 张文霖, 硕士研究生, E-mail: 2422880512@qq.com

*** 通讯作者, E-mail: kjzhao@163.com

Bt 毒素对小菜蛾和梨小食心虫中肠蛋白酶活性的影响^{*}

赵爱平^{1,2**} 孙 聪^{1,2} 展恩玲^{1,2} 李怡萍^{1,2,3***}

(1.西北农林科技大学植保资源与病虫害治理教育部重点实验室,陕西杨凌,712100;

2.西北农林科技大学应用昆虫学重点实验室,陕西杨凌,712100;

3.西北农林科技大学旱区作物逆境生物学国家重点实验室,陕西杨凌,712100)

【目的】为了明确 Bt 毒素对小菜蛾 *Plutella xylostella* 和梨小食心虫 *Grapholita molseta* 两种鳞翅目昆虫幼虫中肠内丝氨酸蛋白酶消化白酶活性的影响。【方法】本研究分别用不同浓度 Bt 毒素(Cry1Ac)饲喂试虫,取其中肠蛋白酶液,测定蛋白酶活性,探讨 Bt 毒素与蛋白酶活性的关系。【结果】Bt 毒素对小菜蛾的致死中浓度 LC_{50} 为 $0.343 \mu\text{g/mL}$; 对梨小食心虫的 LC_{50} 为 $0.86 \mu\text{g/g}$ 。用不同浓度的 Bt 毒素分别饲喂小菜蛾和梨小食心虫幼虫后,二者的蛋白酶活性变化有一定差异。在毒素的作用下,小菜蛾中肠蛋白酶活性随饲喂时间而发生改变,整体上表现为不同浓度的 Bt 毒素处理组的各蛋白酶活性均高于对照组,高浓度 Bt 毒素处理组的各蛋白酶活性均高于低浓度处理组,且前者酶活性到达最高的时刻要迟于后者,表现出持效性;而梨小食心虫中肠蛋白酶活性也随饲喂时间而发生改变,表现为不同浓度的 Bt 毒素处理组的各蛋白酶活性在 0~60 h 期间均低于对照组,在 60~84 h 期间除 $0.3 \mu\text{g/g}$ 处理组的酶活性低于对照组外,其它均高于对照组,表明梨小食心虫对 Cry1Ac 的敏感程度低。【结论】本研究发现 Bt 毒素能够影响蛋白酶活性,抑制昆虫的生长发育,为探讨 Bt 毒素的作用机理和采用 Bt 作为生防措施,防治小菜蛾和梨小食心虫提供理论基础。

关键词 小菜蛾,梨小食心虫,蛋白酶,Bt 毒素(Cry1Ac),活性

^{*} 资助项目:国家自然科学基金(No.31071693;No.31272043);中国博士后科学基金(No.2013M542388);陕西省博士后科研项目资助;中央高校基本科研业务费专项项目(No.2014YB087);陕西省农业科技创新与攻关项目(No.2016NY-058)

^{**}E-mail: 759088052@qq.com。

^{***} 通讯作者 E-mail: liyiping@nwsuaf.edu.cn

基于农户视角的黑水虻养殖技术推广

徐齐云 安新城 李志刚 韩诗畴

(广东省生物资源应用研究所,广东省农业害虫综合治理重点实验室,
广东省野生动物保护与利用公共实验室,广州,510260)

黑水虻处理鸡粪和猪粪的效果得到证实,组研究出了完善的黑水虻规模化繁殖技术体系和操作规程,并在广州市花都建立了一个日处理2吨的黑水虻幼虫处理餐厨垃圾示范基地,同时也对鸡粪和猪粪的进行了研究,且处理效果好,处理后的粪便可用作有机肥料。此外,黑水虻幼虫蛋白质含量超过40%,是优质的动物性蛋白,可替代鱼粉作为饲料。

随着政府对于农村政策的支持,越来越多的农民开始回到农村发展养殖业,其中鸡和猪的养殖越来越多,且养殖日趋集约化。但是在养殖过程中,会产生大量的鸡粪和猪粪,由于农村对于禽畜粪便的处理水平落后,大部分粪便直接进入环境中,给农村戴上了脏、乱、差的帽子,使农村环境日益恶化。

本文从黑水虻养殖技术、农民知识水平、养殖意愿、盈利能力进行了分析,针对农村养殖户进行培训,指导农户养殖黑水虻,用此来处理禽畜粪便,从而减轻农村集约化养殖过程中对环境造成的污染,优化养殖模式,延长养殖产业链,扩大了养殖业的发展空间,拓宽了农民增收渠道,为实现农村养殖业可持续发展提供了切实可行的有效途径。

关键词 黑水虻,养殖,技术推广,禽畜粪便

视觉和嗅觉信息在白带锯蛱蝶识别同类及异性中的作用^{*}

李承哲^{**} 王 华 陈晓鸣^{***} 石 雷

(中国林业科学研究院资源昆虫研究所, 国家林业局资源昆虫培育与利用重点实验室,
云南昆明, 650224)

蝶类在求偶中会利用多种感官通道, 如视觉、嗅觉和触觉等信息来识别同类及异性配偶。本研究以雌雄异型、极具观赏价值的白带锯蛱蝶 *Cethosia cyane cyane* Drury 为研究对象, 首先观察其求偶追逐行为, 然后探究了视觉和嗅觉信息在性二型的蝶类求偶中扮演的作用。结果证明白带锯蛱蝶求偶是雄蝶主动追逐雌蝶, 同时出现雄追雄和雌追雌的同性追求行为。塑封模型实验表明, 同类翅膀色彩在雌雄蝶的求偶识别过程中扮演重要角色。雄蝶访问雄模型和雌模型无显著差异($\chi^2=2.384, P>0.05$), 说明雄蝶对同类性别的辨别能力不强。雌蝶访问雄模型和雌模型有极显著差异($\chi^2=18.000, P<0.0001$), 表明雌蝶对两性翅膀色彩的识别能力较强。雌雄蝶翅膀有微弱的紫外反射能力, 但差异不大; 前后翅长度有极显著差异, 背面色彩及其反射光谱有很大差异, 说明该蝶主要根据视觉信息(翅膀色彩或大小)来识别异性配偶。检测到雌蝶身体挥发物 21 种, 雄蝶 20 种, 仅有雪松醇(cedrol)在雌蝶中检测到。雌蝶和雄蝶对低浓度($1 \mu\text{g}/\mu\text{l}$)和高浓度($100 \mu\text{g}/\mu\text{l}$)的氧化芳樟醇(linalool oxide)与其余七种化合物 EAG 值有显著差异($P<0.05$); 高浓度时, 雌蝶($P=0.001$)和雄蝶($P=0.014$)对二乙二醇丁醚(2-(2-butoxyethoxy)-ethanol)和 2-甲基丙烯(2-methyl-1-propene)EAG 反应有显著差异, 且前者在雌雄蝶挥发物中所占的比例最高(雌蝶 41.42%, 雄蝶 35.8%), 说明氧化芳樟醇和二乙二醇丁醚可能参与了白带锯蛱蝶识别同类的过程。雌蝶和雄蝶对高浓度的雪松醇 EAG 反应有显著差异, 且雪松醇为雌蝶特有, 说明雪松醇很可能参与了近距离识别异性的过程。因此, 白带锯蛱蝶在求偶中识别同类及异性配偶以视觉信息为主, 嗅觉信息可能也参与异性识别过程。通过分析白带锯蛱蝶在求偶中对视觉和嗅觉信号的利用, 有助于加深我们对色彩和气味在性二型蝶类求偶交配中所扮演作用的认识。

关键词 视觉, 嗅觉, 性二型, 求偶交配行为, 配偶识别

^{*} 项目基金: 林业公益性行业科研专项项目“开放式蝴蝶景观构建关键技术研究及应用”(201504305)

^{**} 第一作者: 李承哲, 博士生, 主要研究昆虫行为学及化学生态学, E-mail: chengzheli@163.com

^{***} 通讯作者: 陈晓鸣, 研究员, 博士生导师, 从事资源昆虫学研究, E-mail: cafxm@139.com

红锯蛱蝶觅食过程中的视觉和嗅觉反应

王 华 李承哲 陈晓鸣* 姚 俊 周成理 石 雷

(中国林业科学研究院资源昆虫研究所,国家林业局资源昆虫培育与利用重点实验室,
云南 昆明,650224)

【目的】探讨颜色和气味对红锯蛱蝶觅食的引诱作用。【方法】分别测定不同颜色和挥发性信息化合物对红锯蛱蝶的引诱效应。【结果】实验发现视觉和嗅觉信号对红锯蛱蝶觅食均有引诱作用,红、粉、黄、紫、白 5 种颜色中,红锯蛱蝶明显偏好白色假花(占总访问次数的 56.67%),对黄色(20.00%)和粉红色(15.00%)假花的趋性次之;灯光的选择中,夜晚的引诱效果好于白天,粉红色灯光(42.22%)对红锯蛱蝶的诱集效果最好;红锯蛱蝶对蜜源信息挥发物有明显的趋性,无气味时,访花次数较少,添加气味后,访花次数急剧增加,其中 1%水杨酸甲酯(35.17%)和化合物组合(1% α -萘烯+1%水杨酸甲酯+1%1-辛醛)(32.42%)对红锯蛱蝶的引诱效果最为明显。【结论】研究表明,视觉和嗅觉信号均在红锯蛱蝶的觅食过程中发挥作用,但觅食时更侧重依赖嗅觉信号选择合适的食物。红锯蛱蝶明显偏好白色,可能与白色的强反光能力有关。

关键词 红锯蛱蝶,视觉,嗅觉,觅食行为,引诱效应

* 通讯作者

幻紫斑蝶 *Euploea core* 对不同寄主的产卵选择与适合度

刘微芬 廖怀建 石 雷

(中国林业科学研究院资源昆虫研究所/国家林业局资源昆虫培育与利用重点实验室,
昆明 云南,650224)

【目的】明确幻紫斑蝶 *Euploea core* 对 4 种不同寄主的产卵选择和适合度,可以为雌蝴蝶的人工培育与利用提供理论支持。【方法】本研究测定了经交配过的幻紫斑蝶在爬森藤 *parsonia laevigata*、聚果榕 *Ficus raecmosa*、古钩藤 *Cryptolepis buchannani* 和黄花夹竹桃 *Thevetia peruviana* 上的产卵量,同时利用四种寄主植物叶片进行饲养幻紫斑蝶幼虫,并测定了化蛹率和羽化率,以及羽化后成虫交配率、产卵量和卵孵化率。【结果】幻紫斑蝶雌蝶优先选择古钩藤进行产卵,选择率为 $(64\pm 3)\%$,其次爬森藤为 $(27\pm 5)\%$,对聚果榕和黄花夹竹桃最差,两者选择率分别为 $(6\pm 4)\%$ 和 $(3\pm 1)\%$ 。聚果榕与古钩藤饲养下的 1-5 龄幼虫存活率最高,超过 80%以上;其次为爬森藤,最差的为黄花夹竹桃,5 龄幼虫存活率只有 40%左右。聚果榕和古钩藤饲养下的幻紫斑蝶幼虫化蛹率显著最高,化蛹率分别为 $(87\pm 4)\%$ 和 $(83\pm 4)\%$,其次为爬森藤的 $(67\pm 2)\%$,黄花夹竹桃最差,为 $(34\pm 5)\%$ 。不过,各寄主饲养下的幻紫斑蝶羽化率无显著差异,均高于 80%。本研究还发现,黄花夹竹桃饲养下的幻紫斑蝶幼虫历期显著最长,为 (14.32 ± 0.24) 天,其它 3 种寄主植物饲养的幼虫历期无显著差异,较黄花夹竹桃少 1 天时间。4 种寄主植物饲养下的蛹历期无显著差异,均为 8-8.5 天时间。聚果榕饲养下的幻紫斑蝶每雌交配次数为 2.89 次,显著高于爬森藤(1.85 次)、夹竹桃(1.67 次)和古钩藤(1.29 次)。同样的,每雌产卵量和卵孵化率也表现出聚果榕显著最高,其次为爬森藤和黄花夹竹桃,古钩藤最差。聚果榕饲养的成虫所产卵的孵化率平均超过 72%,爬森藤和古钩藤则在 60%左右。【结论】聚果榕是幻紫斑蝶幼虫优势寄主,而幻紫斑蝶成虫产卵优先选择古钩藤,表明幻紫斑蝶幼虫阶段可选择聚果榕进行饲养,羽化后产卵时可选择古钩藤为产卵寄主。

关键词 幻紫斑蝶,寄主,存活,发育,繁殖

太阳光照对飞行的影响间接影响金斑蝶 *Danaus chrysippus* 成虫繁殖

廖怀建 石 雷 杜 婷 周成理 邓 疆

(中国林业科学研究院资源昆虫研究所/国家林业局资源昆虫培育与利用重点实验室,昆明,650224)

【目的】自然情况下,光照强度与温度均显著影响昆虫飞行,蝴蝶自主飞行需在体温高于环境下产生,飞行直接参与了蝴蝶求偶婚飞和交配繁殖,目前未有研究阐明影响蝴蝶自主飞行的关键因子。因此阐明影响蝴蝶自主飞行的关键因子及其对蝴蝶繁殖的影响,可以为蝴蝶人工饲养时的合理环境条件设定提供必要的理论支持。【方法】本研究在野外设置 6 种不同的自然太阳光照处理,观察 6 种自然太阳光照连续 4d 处理下 3 日龄金斑蝶 *Danaus chrysippus* 成虫飞行与交配行为以及产卵量与卵孵化率。同时,测定未交配 3 日龄金斑蝶成虫在 8:20am–17:40pm 时间段内,停歇、正在飞行、边飞行边访花和访花未飞行时前翅翅面、翅基部、胸部和腹部后端的温度以及空气温度。【结果】一天中的太阳光照强度与环境温度均显著影响金斑蝶飞行频率,通过二因素线性(General linear models of two-way GLM)分析,太阳光照强度是影响金斑蝶飞行的主要影响因子。高光照强度(>30000 lux)下飞行频率高于弱光照(<30000 lux)。处于飞行与边飞行边访花状态下的成虫体温显著比空气温度高 2–6℃,而处于停歇和访花未飞行状态的成虫体温与空气温度相同,显著低于处于飞行状态的成虫。太阳光照强度是成虫自主飞行所需热量的关键来源,而不是环境温度。强光照能够促使金斑蝶成虫从太阳光照中更容易吸收热量,以此来提高飞行频率。不过,当空气温度达到 36℃及以上时,即使光照强度继续增加或者剧烈下降,依然未有成虫处于飞行中。光照较强的处理,交配频率、产卵量和卵孵化率也显著高于光照较弱的处理。通过线性回归分析,交配频率、产卵量和卵孵化率均与飞行频率成线性正相关。因此,表明飞行频率越高,交配频率也越高,同样的产卵量和卵孵化率也相应升高。【结论】光照强度是影响金斑蝶成虫飞行的关键因子,强光照显著提高成虫飞行频率,高飞行频率显著提高成虫交配成功率,从而提高成虫产卵量与卵孵化率。

关键词 太阳光照强度,环境温度,*Danaus chrysippus*,飞行,交配,繁殖

冬虫夏草菌与寄主蝠蛾免疫互作分子机制的初探^{*}

孟茜 张寰 张继红 周桂灵 赵燕妮 王红托 李瑄 苗麟

秦启联^{**} 邹振^{**}

(中国科学院动物研究所农业虫害鼠害综合治理国家重点实验室,北京,100101)

冬虫夏草菌(*Ophiocordyceps sinensis*, Os)侵染宿主蝠蛾是非常独特的真菌-昆虫互作的研究模型。观察发现,Os 侵入蝠蛾幼虫血腔后,虫和菌共存长达 5~12 个月,最终幼虫死亡形成僵虫。此感染过程明显不同于其它常见病原真菌(如白僵菌、绿僵菌、蛹虫草菌)数天致死昆虫的过程。为探究蝠蛾-Os 长期互作的分子机制,选取生理盐水(Ringer's, RS)、病原细菌阴沟肠杆菌(*Enterobacter cloacae*, Ec)、病原真菌蛹虫草(*Cordyceps militaris*, Cm)和专一性侵染真菌 Os 作为 4 种代表性的外源刺激。前期利用高通量二代测序技术,构建了蝠蛾免疫应激转录组信息库,发现 258 条免疫相关基因。通过分析基因表达谱数据,我们初步明确了蝠蛾的免疫调控网络及其应答机制。其中,Toll 通路以及酚氧化酶原(prophenoloxidase, PPO)激活级联反应是蝠蛾响应真菌入侵的主要免疫通路。比较分析不同外源刺激下,参与上述通路的元件的应答情况发现,Os 使用免疫逃逸和免疫抑制两种策略,使宿主蝠蛾以免疫耐受的方式容忍该真菌侵入,由此保证两者的长期共存。具体说来,利用免疫荧光法和半定量 PCR 技术观察发现,在 Os 感染后期,虽然蝠蛾的模式识别受体 β -1,3-葡聚糖识别蛋白(β -1,3-glucan recognition protein, β GRP1)在转录水平上有较高表达丰度,但是该识别蛋白无法结合至该真菌表面,同时 Toll 通路相关基因以及下游效应基因也处于低表达状态,暗示 Os 入侵蝠蛾一段时间后,可能通过某种方式躲避了宿主 Toll 通路系统的监测;通过免疫印迹实验发现,Cm/Ec 的侵入,诱导蝠蛾血淋巴内 PPO 和 PO(phenoloxidase)含量显著升高,而 Os 的侵染对 PPO/PO 的诱导不明显。考虑到 PPO 激活级联反应上游元件(若干发夹结构丝氨酸蛋白酶)以及 PPO 本身,转录水平上在 Os、Cm 和 Ec 3 个处理组中均普遍上调表达,推测 Os 入侵蝠蛾后可能分泌抑制因子阻碍 PPO 的切割激活。上述研究结果,不仅解析了蝠蛾免疫调控网络,为后续解答蝠蛾-Os 互作的分子机制提供线索,而且也将为人工培育冬虫夏草提供理论指导。

关键词 冬虫夏草菌,蝠蛾,基因表达谱,免疫调控,逃逸,抑制

^{*} 基金项目:国家自然科学基金(31272366)

^{**} 通讯作者:秦启联,研究员,主要从事昆虫病毒开发与应用研究。Email: qinqi@ioz.ac.cn

邹振,研究员,主要从事昆虫的免疫与发育研究。Email: zouzhen@ioz.ac.cn

南瓜不同传粉昆虫对生境丧失的响应多样性

谢正华

(中国林业科学研究院资源昆虫研究所, 云南昆明, 650224)

【目的】以滇东南喀斯特地貌下南瓜(*Cucurbita* spp.)及其传粉昆虫为对象,揭示不同传粉昆虫类群对生境丧失的响应多样性(response diversity)。【方法】研究两种生境丧失条件下传粉昆虫的响应规律:1)景观中自然和半自然生境数量变化梯度,2)离自然、半自然生境不同距离的样点。按样方法研究南瓜传粉昆虫访花密度(visit density),分析南瓜不同传粉昆虫对景观变化的空间响应尺度,以及在最大响应尺度下不同传粉蜂访花密度动态规律。【结果】南瓜主要访花昆虫有蜜蜂(*Apis* spp.)、熊蜂(*Bombus* spp.)、胡蜂(Vespinae)和蚁类。胡蜂为捕食者,于花间捕食昆虫,较少接触花器官,不能为南瓜传粉。蚁类采集花蜜,但因南瓜雌花、雄花空间分隔,蚁类难于有效传粉。研究主要分析有效传粉者蜜蜂和熊蜂访花密度对生境丧失的响应规律。从(半)自然生境百分率变化梯度的角度来看,蜜蜂和熊蜂对(半)自然生境空间响应尺度存在差异。蜜蜂访花密度对(半)自然生境百分率最大空间响应尺度在 2,500 m,且其访花密度不随(半)自然生境的变化而变化;熊蜂访花密度对(半)自然生境百分率最大空间响应尺度在 500 m,且其访花密度随(半)自然生境百分率的增加而显著增加。从离(半)自然生境不同距离的样点来看,蜜蜂访花密度不随离(半)自然生境的距离的增大而减少,但熊蜂访花密度随离(半)自然生境的距离的增大而显著减少。【结论】蜜蜂和熊蜂对生境丧失的响应空间尺度和响应规律存在差异。【讨论】蜜蜂和熊蜂对生境丧失的响应多样性可能是保障滇东南喀斯特地貌南瓜受粉的重要机制。

关键词 传粉昆虫,响应多样性,熊蜂,蜜蜂,南瓜

蜜蜂性别决定基因 *csd* 互作因子的鉴定

王子龙 胡弯弯 李淑云 曾志将
(江西农业大学蜜蜂研究所,南昌,330045)

【目的】*csd* 基因为蜜蜂性别决定关键基因,但其决定蜜蜂性别的具体分子机理还不清楚。本研究对与蜜蜂 *csd* 基因互相作用的因子进行了筛选鉴定及功能分析。【方法】以 36 小时的蜜蜂受精卵为材料构建酵母双杂交 cDNA 文库,通过对文库进行筛选获得 1 个与 *csd* 互作的前体 mRNA 剪切因子 *pabp2*。利用 RNAi 分析了 *Pabp2* 对 *csd* 下游基因 *dsx* 选择性剪切的影响。利用 GST pull-down 分析了 *pabp2* 与 *csd* 的互作。【结果】通过酵母双杂交筛选到一个与蜜蜂 *csd* 互作的基因 *pabp2*。该基因的 ORF 长为 687bp,编码 228 个氨基酸残基,预测分子量为 25.73kD,含有 8 个外显子、7 个内含子,蛋白质结构域分析表明 *pabp2* 基因所编码的蛋白具有 1 个 RRM 结构域。RT-PCR 结果表明该基因在蜜蜂雌雄中均有表达。对 *pabp2* 基因进行 RNAi 之后,*csd* 下游基因 *dsx* 在蜜蜂雌性胚胎中的剪切形式变为雄特异性剪切形式,说明干扰 *pabp2* 基因后能够影响 *csd* 下游基因 *dsx* 的性别特异性选择性剪切。【结论】*pabp2* 能够与 *csd* 基因互作并能影响 *csd* 下游基因 *dsx* 的选择性剪切,该基因可能是一个调控蜜蜂雌雄性别发育的前体 mRNA 剪切因子。

关键词 蜜蜂,性别决定,酵母双杂交,选择性剪切,互作因子

基于光电传感器和嗅觉活性的蜜蜂授粉效率监控和增效技术研究

李红亮^{1*} 陈东晓² 余红³ 柴秋子¹

(1.中国计量大学生命科学学院,杭州,310018;2.中国计量大学信息工程学院;

3.杭州市农业科学研究院,杭州,310024)

【背景】利用以蜜蜂为代表的昆虫授粉在欧美等发达国家开展已经有上百年的历史,其规模和商业运作均已经非常成熟,如美国每年用于商业化授粉的蜜蜂总价值就达150~200亿美元。与美国坚果、牧草等天然环境进行蜜蜂授粉作业不同的是,目前中国商业授粉主要存在于利用蜜蜂尤其是中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* 为设施农业草莓授粉。利用蜜蜂对草莓授粉可大大提高草莓品质和产量,为提高果农收入,增加社会效益均起到重要的推动作用。但浙江中北地区冬季大棚设施草莓的授粉效率由于受低温影响,导致授粉效率低下。如何监控并评价蜜蜂授粉效率,成为提高设施农业授粉的关键因素。【目的】开发一套监控蜜蜂授粉的计数系统,可实时动态监控蜜蜂飞出飞入蜂巢的变化规律;研究中蜂对于不同气味信息的嗅觉反应谱;利用蜜蜂计数系统和蜜蜂访花数据评价蜜蜂授粉增效情况。【方法和结果】基于单片机原理开发了一套基于光电传感器的蜜蜂蜂群活力计数系统,包括光电传感器 H42B6、MSP430G2553 单片机、无线串口装置、数据显示和电源供电五部分组成。其中蜜蜂计数光电传感器安装在蜂箱出入口,每个通道有两个平行的光电传感器,根据蜜蜂依次通过两传感器的信号变化顺序对蜜蜂进出蜂巢进行数据统计。采用 433m 无线模块进行串口数据与上位机的通信。并在计算机端自编串口软件上可查看任意小时内蜜蜂的进出数目,并按 1 分钟一组将每小时内的进出数据的显示,反应出蜜蜂的活跃情况。利用昆虫触角电位系统测试了中蜂工蜂对 17 种蜜蜂信息素、植物花香气味等反应。通过蜜蜂对 β -紫罗兰酮和对-羟基苯甲酸甲酯结合糖水对授粉草莓进行喷施,可以大大提高增加蜜蜂活动效率。【结论】通过开发的蜜蜂活动计数器系统,结合蜜蜂嗅觉反应活性剂,可为提高蜜蜂对设施农业授粉效率等研究提供了有力的基础。

关键词 中华蜜蜂,草莓授粉,光电传感器,嗅觉活性剂

* 作者简介:李红亮,博士,副教授,从事蜜蜂嗅觉生物学研究工作,E-mail: hlli@cjlu.edu.cn

中华蜜蜂 Ac-CSP3 与新烟碱类农药的相互作用

宋欣密* 谭 静 吴 帆 李红亮**

(中国计量学院生命科学学院,浙江省生物计量及检验检疫重点实验室,杭州,310018)

【背景】新烟碱类杀虫剂(neonicotinoid insecticides)是上世纪80年代发展起来的一种全新结构的超高效杀虫剂,由于它具有高效、广谱、药效持续时间长、对人兽低毒等优点,在我国农业生产环节中被广泛使用,然而亚致死剂量下的新烟碱杀虫剂对蜜蜂等授粉昆虫亦具有不同的毒性,这种毒性差异引起的蜜蜂毒害及其分子机制未得到深入解析。【目的】探讨 Ac-CSP3 与新烟碱类农药吡虫啉的结合过程中关键氨基酸位点并阐释详细作用机理,为明确新烟碱类杀虫剂对蜜蜂的杀伤机理和结合机制提供理论依据。【方法】本研究通过荧光光谱分析技术研究并比较了中华蜜蜂化学感受蛋白 CSP3 分别与吡虫啉(对蜜蜂为高毒)和啉虫脒(对蜜蜂为低毒)之间的相互作用;并通过 SWISS-MODEL 预测 Ac-CSP3 蛋白结构,与吡虫啉进行 Docking 分析,确定其关键氨基酸位点,进行定点突变,并进行荧光光谱分析和热力学计算,并着重探讨了吡虫啉与 Ac-CSP3 的结合机理。【结果】结果表明,中蜂 CSP3 与吡虫啉在 300K 和 310K 时的结合能力较强,表观结合常数 K_A 分别达到 $2.45 \times 10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ 和 $2.98 \times 10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$,且呈现为静态猝灭。热力学计算结果显示,其主要作用力为氢键和范德华力;Ac-CSP3 与啉虫脒在 300K 和 310K 时的表观结合常数 K_A 分别为 $8.24 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ 和 $1.95 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$,亦为静态猝灭,而热力学计算结果显明其主要作用力为疏水作用力。根据 Docking 分析设计了 3 组点突变体即 S6Y7G、R66G 和 K100F101G,在 300K 时与吡虫啉作用的 K_A 值较野生型分别下降了 96.2%、95.3%和 75.5%,表明所有突变体均参与了 Ac-CSP3 与吡虫啉的相互作用,且 S6Y7 的贡献最大,R66 次之,K100F101 最小,暗示 Ac-CSP3 的主要作用结构位于 N 端。三者与吡虫啉的作用模式均为静态猝灭,与野生型一致。热力学结果显示,M3-R66G 与吡虫啉的主要作用力变为疏水作用力,而 K100F101G 和 S6Y7G 仍为氢键和范德华力,表明 R66 主要贡献了氢键。由于 R66 和 S6Y7G 突变体与吡虫啉互作的 K_A 值下降程度最大,表明 Ac-CSP3 的 N 端以及 R66 产生的氢键在其与吡虫啉的相互作用过程中可能起到了关键作用。【意义】本研究通过新烟碱类杀虫剂吡虫啉和啉虫脒对中蜂 CSP3 的结合机理分析,进一步阐明了新烟碱类杀虫剂对蜜蜂的毒性机理,从而对农田、果园等蜜源植物的病虫害防治提供指导,对改进害虫防治策略及杀虫剂的合理使用具有重要意义。

关键词 中华蜜蜂,吡虫啉,啉虫脒,荧光光谱,定点

* 作者简介:宋欣密,1989 年 12 月出生,河南南阳人,硕士研究生在读,主要研究领域为中华蜜蜂化学感受蛋白的生化功能与农药互作机理。E-mail: 164682531@qq.com

** 通讯作者:李红亮,博士,副教授,从事蜜蜂嗅觉生物学研究工作,E-mail: hlli@cjlu.edu.cn

中华蜜蜂化学感受蛋白 CSP1 与吡虫啉相互作用的生化分子机理

谭 静* 吴 帆 倪翠侠 张林雅 李红亮**

(中国计量大学生命科学学院/浙江省生物计量及检验检疫重点实验室,杭州,310018)

【目的】诱导表达中华蜜蜂(*Apis cerana cerana*)化学感受蛋白 CSP1 重组蛋白,研究其与新烟碱类农药吡虫啉的结合特性、结合过程中关键氨基酸位点并阐释详细作用机理,以及对 β -紫罗兰酮的结合影响。【方法】pET-32a(+)作为原核表达载体,利用 BL21(DE3)大肠杆菌感受态细胞,诱导获得 CSP1 重组蛋白。利用多重分子荧光光谱法,分为 2 组实验,首先分别于 284 K、294 K 条件下用 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的吡虫啉滴定 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CSP1 蛋白溶液,直至蛋白最大发射波长的荧光值完全猝灭,然后用双倒数方程算出 CSP1 与吡虫啉间的表观结合常数 K_A ,用 Stern-Volmer 方程算出 CSP1 与吡虫啉间的 Stern-Volmer 常数 K_{SV} 。用圆二色谱测定 CSP1 与吡虫啉互作时的二级结构变化。用分子对接的方法确定了 CSP1 与吡虫啉结合过程中 2 个重要氨基酸位点,并将这两个重要氨基酸位点:第 44 位 Phe 和第 63 位的 Gln 突变为 Gly,得到 CSP1-F44G、CSP1-Q63G 两个单突变蛋白,并再次进行荧光猝灭实验。另一组实验为:于 284 K 条件下用 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 β -紫罗兰酮滴定 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CSP1 蛋白溶液,直至蛋白最大发射波长的荧光值完全猝灭,然后再于相同条件下用 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 β -紫罗兰酮滴定含有 $13.2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 吡虫啉的 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CSP1 蛋白溶液,并用 Double-Log 方程算出它们的表观结合常数 K_A 。【结果】吡虫啉可以使 CSP1 在 $\lambda_{em}=335 \text{ nm}$ 处荧光发生显著猝灭,猝灭机理为动态猝灭。猝灭过程中 $\Delta H > 0, \Delta S > 0$,表明二者间的作用力主要为疏水作用力。284 K 条件下,CSP1 与吡虫啉 K_A 值为 $4.067 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。同步荧光光谱显示 CSP1 主要荧光贡献来源于色氨酸。圆二色谱显示 CSP1 在与吡虫啉结合后,表现为 α -螺旋有所增加,表明蛋白结构更加紧密。根据分子对接结果预测了 CSP1 的两个重要氨基酸位点,并利用定点突变构建了两个突变体 CSP1-F44G 和 CSP1-Q63G,二者在 284 K 下与吡虫啉的相互作用, K_A 值分别为 $3.858 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ 和 $4.223 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$,表明 F44 主要参与了 CSP1 与吡虫啉的相互作用,且热动力学实验进一步证实 CSP1-F44G 与吡虫啉作用为疏水作用力和静电作用力,而 CSP1-Q63G 则为疏水作用力,表明 F44 克服了 CSP1 与吡虫啉静电作用力的产生,而 Q63 甚至可能抑制了 CSP1 与吡虫啉的疏水相互作用。另外在 284 K 时,CSP1 与 β -紫罗兰酮的 K_A 值为 $3.994 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$,而相同条件下加入吡虫啉的 CSP1 蛋白与 β -紫罗兰酮的 K_A 值为 $0.147 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$,表明吡虫啉会显著降低化学感受蛋白 CSP1 与 β -紫罗兰酮的结合。【结论】解析了中华蜜蜂化学感受蛋白 CSP1 与吡虫啉的结合和作用模式,即疏水作用力为主要驱动力的作用模式,且 F44 主要参与了这一作用,这与蜜蜂普通气味结合蛋白 OBP2 与吡虫啉的作用模式一致,但是由于 OBP2 与吡虫啉作用模式为静态猝灭,这体现了中蜂嗅觉相关化学感受蛋白与普通气味结合蛋白与吡虫啉互作机制上的相似和不同之处。

关键词 中华蜜蜂,化学感受蛋白,多重荧光光谱,点突变,热动力学

* 作者简介:谭静,1990 年 8 月出生,山东威海人,硕士研究生在读,主要研究领域为中华蜜蜂化学感受蛋白的生化功能与分子互作机理。E-mail: 786867455@qq.com

** 通讯作者:李红亮,博士,副教授,从事蜜蜂嗅觉生物学研究工作,E-mail: hlli@cjlu.edu.cn

家蚕雏翅基因 mw 的定位与功能分析

于 焱^{1,2*} 李木旺^{1,2} 黄勇平^{2**} 谭安江²

(1.江苏科技大学蚕业研究所,镇江,212018;2.中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所中国科学院昆虫发育与进化生物学重点实验室,上海,200032)

家蚕蚕雏翅突变品系是一种翅膀发育缺陷个体。本实验利用家蚕雏翅突变品系 U11 与野生型品系 P50,对家蚕雏翅基因 (minute wing, mw) 进行精确定位。以家蚕雏翅突变品系 U11 与野生型品系 P50 为亲本,获得回交群体 BC1F 和 BC1M,以回交群体为材料,提取总 DNA 和总 RNA,利用 STS 分子标记技术对雏翅突变基因进行定位分析,并利用 CRISPA/Cas9 技术对候选基因进行功能性鉴定。通过 STS 标记,将 mw 基因锁定于 275kb 范围内,在该范围内共有 15 个预测基因。对预测基因在 U11 与 P50 中进行 RT-PCR 差异分析,7 个预测基因在翅原基中稳定表达,其中 BGIBMGA012754-TA 基因只在 P50 品系中正常表达,故将该基因作为 mw 候选基因。分别在 U11 品系与 P50 品系中克隆 mw 基因,并对其基因序列进行差异比对。对 mw 基因在不同品系中进行克隆序列比对发现,该基因的 CDS 序列在 U11 与 P50 品系中无差异,在 U11 品系中,在起始密码子上游大约 800bp 的启动子区域存在 10bp 碱基的插入。对两个品系的 mw 启动子区域进行克隆,构建载体进行活性分析,发现 U11 品系中 mw 启动子无活性,不能正常启动基因的表达。利用 CRISPR/Cas9 技术干扰 mw 在野生型家蚕 Nistari 中的表达,获得了与 U11 雏翅突变品系相同表型的雏翅突变体家蚕,突变率为 50%。这项研究结果表明家蚕雏翅基因 mw 突变的形成是由于启动子的活性丧失导致。为明确家蚕雏翅形成的分子机制、家蚕翅原基发育的探究、鳞翅目害虫的防治等奠定了基础。

关键词 家蚕,雏翅基因,定位克隆,CRISPR/Cas9

*E-mail:yuye_1208@163.com

**E-mail:yphuang@sibs.ac.cn

家蚕 *BmTCTP* 基因的功能研究

刘祖莲^{1,2*} 许 军² 商 澎¹ 黄勇平^{2**}

(1. 西北工业大学生命科学学院, 西安, 710072;

2. 中国科学院上海植物生理生态研究所, 上海, 200032)

翻译调节肿瘤蛋白(translationally controlled tumor protein, TCTP), 是一个在物种间广谱表达、结构保守的亲水性蛋白, 广泛存在于真核生物包括酵母、真菌、哺乳动物、昆虫、植物中。目前研究表明, TCTP 具有调节细胞骨架动态变化、细胞生长、增值和凋亡、保护细胞免受多种应激损伤等多种功能。TCTP 的功能研究大部分集中在模式物种果蝇及人类的生理和病理过程中, 在其它昆虫中的功能研究较少。

为了阐明 *BmTCTP* 基因在家蚕中的功能, 我们调查了 *BmTCTP* 的表达模式, *BmTCTP* 基因在家蚕生命的各个龄期、各个组织表达量都较高, 说明 *BmTCTP* 在家蚕中有着重要的生物学功能。接着, 我们利用转基因 CRISPR/Cas9 系统定点敲除 *BmTCTP*, 其突变导致家蚕幼虫在三龄第一天开始身体尺寸变小, 体重变轻, 且在三龄蜕皮期间死亡。经解剖发现, 突变体同时也导致家蚕的主要组织包括中肠、丝腺、外生殖器变小, 且解剖时组织极易破碎; 经过石蜡切片发现, 突变体的中肠横截面明显小于野生型, 用 HE 染色可观察到突变体影响家蚕中肠的主要结构(肌肉层、基底膜、上皮细胞)。利用扫描电镜观察围食膜, 野生型家蚕围食膜呈波状, 表面紧致, 无孔缝和小孔, 而突变体家蚕围食膜表面平滑, 有小缝和微孔。通过 Hoechst 33258、DiI 染色, 可观察到家蚕重要组织脂肪体细胞变小。这些表明 *BmTCTP* 基因在家蚕生命过程中起着至关重要的作用。

关键词 家蚕 TCTP 基因, CRISPR/Cas9

*E-mail: liuzuliankl@163.com

**E-mail: yphuang@sibs.ac.cn

家蚕抗病分子育种研究

蒋 亮* 夏庆友**

(家蚕基因组生物学国家重点实验室,西南大学;重庆 北碚,400715)

家蚕是具有重要经济价值的驯化昆虫,其饲养过程中面临多种病害威胁。家蚕核型多角体病毒(BmNPV)是对养蚕业危害最严重的一类病原,培育抗病品种是应对蚕病威胁最经济有效的手段。但是,蚕体强健性和茧丝性状间的负相关问题等已经成为传统育种技术至今仍难以逾越的障碍,转基因技术则有望突破传统育种方法的这些瓶颈。

在我们的研究中,首先建立了家蚕抗性检测平台,单头添食保证每头蚕食下病原量一致,避免因个体食下病原量不同给实验结果带来的影响。然后,根据 BmNPV 的侵染过程选择不同靶标基因,通过减少病毒侵染早期的原发性感染、降低病毒基因 mRNA 转录量、抑制病毒总蛋白合成水平和调控家蚕免疫防御等 4 种策略抑制病毒,利用转基因技术制备了高抗病毒的转基因家蚕育种素材。多数研究结果显示,通过分子手段创制的抗病家蚕品系在抵抗力显著提高的同时没有影响其生长发育和经济性状,展示了良好的应用前景。

为了进一步提高家蚕的抗性,我们对这四种策略进行了优化和整合。克隆了家蚕的 3 个中肠特异启动子,进而制备了同时增量表达抗性基因和干涉多个病毒基因的改进型转基因家蚕品系 SW-H,在感染高剂量的 BmNPV 后,SW-H 的存活率比非转基因对照提高 80%左右。然后,我们选取蚕业主产区使用范围比较广的多个家蚕品种进行遗传改良。目前正在进行转基因抗病毒家蚕的安全检测,结果显示外源插入片段在转基因家蚕中能够稳定遗传,这为后续的产业化推广奠定了基础。

关键词 家蚕,核型多角体病毒,转基因,抗病毒,分子育种

*E-mail: jiangliang@swu.edu.cn

**E-mail: xiaqy@swu.edu.cn

卡路里限制增强模式生物家蚕对金黄色葡萄球菌的抗性研究

潘 晔 吕 鹏 陈克平

(江苏省镇江市京口区学府路 301 号江苏大学生命科学研究院,江苏镇江,212013)

鳞翅目昆虫家蚕是研究先天免疫的一种很好的模式生物,卡路里限制对于免疫系统具有有益的影响。在该研究中,利用模式昆虫家蚕,研究了卡路里限制对于家蚕免疫系统的影响。结果表明,卡路里限制能够显著地增加感染金黄色葡萄球菌家蚕的存活率,对感染其他微生物,如大肠杆菌,家蚕核型多角体病毒家蚕的存活率,影响不显著。对于卡路里限制的家蚕感染金黄色葡萄球菌的研究发现,家蚕血细胞的吞噬增强,转录组测序结果也表明与吞噬相关的基因的表达也出现了显著的上调。其中免疫相关基因 Hdd1 可能参与了卡路里限制增强家蚕抵抗金黄色葡萄球菌的免疫反应。

关键词 家蚕,卡路里限制,金黄色葡萄球菌,免疫反应

利用液质联用技术鉴定被家蚕核型多角体病毒 泛素化的宿主靶蛋白

吕 鹏 杨艳华 朱菲菲 陈克平

(江苏省镇江市京口区学府路 301 号江苏大学生命科学研究院,江苏镇江,212013)

家蚕杆状病毒(*Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus, BmNPV)是能够自身编码泛素基因的杆状病毒属病毒成员,而泛素-蛋白酶体系统在 BmNPV 的早期复制过程中扮演了重要角色,所以在 BmNPV 侵染过程中,病毒及宿主泛素化蛋白的鉴定对于研究泛素-蛋白酶体系统在病毒复制中所起得作用显得尤为重要。本研究借助 Red 重组系统缺失掉家蚕杆状病毒编码的泛素基因,再通过杆状病毒表达系统构建出融合表达泛素-myc-his 蛋白的重组病毒,通过镍柱纯化获得泛素化蛋白,最终利用 LC-MS/MS 技术对这些蛋白进行鉴定。结果表明家蚕杆状病毒在侵染过程中,其本身一些衣壳蛋白以及和复制相关的 DNA 聚合酶、解旋酶等都被自身泛素给泛素化。而宿主糖代谢中的一些关键酶及自噬途径中的相关蛋白也都能被病毒泛素化。

关键词 家蚕杆状病毒,Red 重组,杆状病毒表达,泛素化

金属离子参与蚕丝纤维化的研究及应用

王 鑫 李 懿 刘青松 夏庆友 赵 萍*

(家蚕基因组生物学国家重点实验室,西南大学,重庆,400716)

蚕丝蛋白在家蚕纺丝管道内转变为固态丝纤维的过程是目前动物丝研究的热点之一,但其具体的机制仍然未被完全阐明。尽管现有的体外结果表明金属离子可以诱导再生丝蛋白构象发生转变,但在体内是否也存在这一现象仍然未知。金属离子在体内参与蚕丝纤维化及其与蚕丝力学性能的关系还有待进一步研究。基于此,本研究利用向家蚕注射金属离子(Ca^{2+} 、 K^{+} 、 Cu^{2+})盐溶液的方法探索了金属离子与蚕丝蛋白构象转变及蚕丝纤维力学性能的相互关系。发现注射 Ca^{2+} 可以诱导丝蛋白形成更多的无规则卷曲结构,从而使丝纤维的延展性和韧性提高,而注射 K^{+} 或 Cu^{2+} 可以提高丝蛋白中的 β 折叠结构含量,导致丝纤维的强度提升。进一步,本研究利用特异启动子在家蚕纺丝管道过量表达了钙离子转运蛋白 BmSERCA 和钠钾离子转运蛋白 BmNKA。对获得的转基因茧丝进行分析后发现,过量表达 BmSERCA 的茧丝中钙元素含量下降,导致其 β 折叠和螺旋结构含量增加,并使蚕丝的力学性能显著提高,其中强度提高了 21%,延展性提高了 54%,韧性提高了 73%;而过量表达 BmNKA 的转基因茧丝中钾元素含量下降,使其无规卷曲含量增加, β 折叠结构含量下降,最终导致其力学性能显著下降。以上结果说明金属离子可以在体内调控蚕丝蛋白构象转变,从而参与了蚕丝纤维化过程,并且通过改变丝纤维形成的离子环境可以调控丝纤维的力学性能,进而对丝纤维性能的改造提供一个全新的视野。

* 通讯作者

雌激素及相关受体调控家蚕卵黄原蛋白表达的机制

沈关望 林 英 吴金鑫 王 勇 刘红玲 张海燕 韩超珊 张艳嫡 徐银莹 夏庆友*

(家蚕基因组生物学国家重点实验室,西南大学,重庆 北碚,400715)

雌激素属于高等动物(如哺乳动物)雌性激素,是一种甾类物质。事实上,自高等动物性激素发现后不久,在越来越多的昆虫组织提取物中发现存在某些典型的高等动物甾类性激素(孕酮、睾酮、雌二醇)并对昆虫的某些生理功能具有一定的影响,但昆虫与哺乳动物相比,无论是在形态还是生理方面都存在巨大差异,对于高等动物甾类物质是在昆虫中是如何发挥功能的研究并不多见。

多数关于脊椎动物甾类物质在昆虫中的研究并未深入了解该物质为什么在昆虫中会产生这种作用及产生这种作用更深层次的原因。本文通过比较生物学的方法:以家蚕为研究对象,从验证雌激素在家蚕中是否具有生理功能入手,重点分析了高等动物性甾类物质在家蚕中的生理功能以及发挥生理功能的分子机制,为无脊椎动物中脊椎动物性甾类激素的生物学功能及作用机制的进一步研究提供了参考:

1. 针对脊椎动物卵黄原蛋白响应雌激素的特点以家蚕卵黄原蛋白(*BmVg*)基因为Biomarker,证明*BmVg*与脊椎动物*Vg*一样可以受到雌激素的调节;

2. 克隆到了全长的家蚕雌激素相关受体(*BmERR*)基因,发现该基因的表达可以受到雌激素诱导,结合凝胶阻滞等实验发现了*BmERR*在*BmVg*基因启动子上的应答元件-雌激素相关受体应答元件(ERRE),证明E2对*BmVg*的调节可以通过诱导*BmERR*结合到*BmVg*基因启动子上的ERRE元件来实现;

3. 进一步深入研究发现雌激素与家蚕20E受体具有亲和力且ERRE可以结合家蚕的20E受体,证明雌激素在家蚕中是通过雌激素相关受体参与或者干扰20E受体的信号通路来发挥作用的。

* 通讯作者

家蚕缩蚕突变基因的定位克隆研究

刘 春 聂红毅 夏庆友*

(家蚕基因组生物学国家重点实验室,重庆,400716)

【目的】家蚕缩蚕突变体(*contraction*, *cot*)是家蚕少有的行为突变体之一,缩蚕幼虫突变表型为幼虫身体粗短,手碰触后即强度收缩,翻倒,吐消化液,一时不能行动。遗传分析表明该性状由单基因控制,呈隐性遗传,其突变基因被定位于第 15 连锁群的 25.0 位点,但其对应的突变基因及突变机理一直未被克隆和揭示。【方法】本研究通过定位克隆、western blot、荧光免疫组化、RNAi、转录组及蛋白质组学等方法分离了 *cot* 突变基因,并对其突变基因进行了功能验证。【结果】*cot* 的突变性状主要由温度诱导产生。通过定位克隆将缩蚕的突变区域锁定在 SNP 19 和 SNP 25 之间,物理距离为 268 kb 的区域,该区域内包含 10 个预测基因,其中 BGIBMGA007794(*Bmsei*)基因编码跨膜离子通道蛋白,介导兴奋性膜的电压依赖性钾离子渗透性,与果蝇的癫痫基因(*Bmsei*)高度同源,而且 [WTBX] seizure [WTBZ] 突变体产生类似于 *cot* 的表型。对其进行全基因组测序发现该基因的第 5 内含子发生了特有的 15 bp 缺失,其 mRNA 发生了异常的选择性剪切,导致其编码缺失结构域的功能蛋白。荧光免疫组化实验表明 *Bmsei* 在 *cot* 神经组织中的表达量较低,且突变蛋白在高温下易于降解。为了验证 *Bmsei* 基因就是 *cot* 的突变基因,在胚胎期,通过注射 dsRNA 干涉降低 *Bmsei* 基因的表达量,可以导致正常型 Dazao 在高温下产生头部剧烈摆动和吐肠液的现象,与 *cot* 突变表型类似。转录组及蛋白质组学分析结果表明 *cot* 突变种中热激蛋白、泛素降解体系、神经信号转导分子及心脏兴奋-收缩偶联过程、Notch 信号通路与正常相比有明显差异。【结论】*Bmsei* 的功能缺失导致 *cot* 在高温情况下诱发类似人类癫痫疾病表型。

关键词 家蚕,缩蚕,*Bmsei*,钾离子转运

* 通讯作者

家蚕丝腺特异转录调控因子 *Bmsage* 和 *Bmdimm* 对丝素蛋白重链基因的转录调控研究

刘 春^{1,2} 赵小明¹ 夏庆友^{1,2,*}

(1. 家蚕基因组生物学国家重点实验室, 重庆, 400716;

2. 重庆市蚕丝纤维新材料工程技术中心, 重庆, 400716)

【目的】家蚕丝蛋白的合成具有高效特异性, 到目前为止, 该机制还未被完全阐释。目前研究表明这一特性主要通过转录水平实现的。*Bmsage* 和 *Bmdimm* 是通过基因芯片新发现的一类含 HLH 结构域的丝腺特异转录因子, 它们是否参与及如何参与丝蛋白的转录调控还未见报道。【方法】本研究通过 RT-PCR、荧光定量 PCR、western blot、荧光免疫组化、EMSA、Far-western、RNAi 等方法研究 *Bmsage* 和 *Bmdimm* 基因参与丝蛋白重链基因(*fib-H*)的调控方式。【结果】*Bmsage* 和 *Bmdimm* 无论是在转录水平还是蛋白水平都在丝腺组织特异表达, 而且, 其表达量与 *fib-H* 及茧丝量成正相关关系。*Bmsage* 和 SGF1 蛋白形成复合物, 通过 SGF1 结合到丝素重链基因 (*fib-H*)A 和 B 位点上间接对其进行调控。*Bmdimm* 通过 *fib-H* 上游的 E-box (CAAATG) 位点直接调控 *fib-H* 基因的表达。*Bmdimm* 除了与 CAAATG 元件结合外还可以与 CAATTG、CAACTG 其它几种形式的 E-box 结合。同时, 通过突变实验证明 *Bmdimm* 碱性区域保守的第 113 位精氨酸是结合 E-box 元件的关键位点。对其信号通路进行研究发现, *Bmdimm* 受保幼激素(JH)通路的 Kr-h 的调控。【结论】*Bmsage* 和 *Bmdimm* 分别通过间接和直接的方式参与 *fib-H* 基因的表达调控, 进而调控丝蛋白的合成。

关键词 家蚕, 丝腺, *fib-H* 基因, 表达调控

* 通讯作者

家蚕肠道蛋白酶 P-IIc 在胚胎发育后期的功能研究

王丹丹 张 艳 董照明 郭鹏超 马三垣 郭凯雨 夏庆友 赵 萍*

(家蚕基因组生物学国家重点实验室,西南大学;重庆 北碚,400715)

家蚕是重要的鳞翅目模式昆虫,探究家蚕胚胎发育具有重要意义。家蚕卵黄蛋白由卵黄磷蛋白(vitellin, Vtn),卵特异蛋白(egg-specific protein, ESP)和 30K 蛋白构成。在胚胎发育过程中,卵黄蛋白质依次被降解,为胚胎发育提供物质基础和能量。已有研究报道称 ESP 和 Vtn 在专一性蛋白酶(Vtn-proteases 和 ESP-protease)的作用下,分别在胚胎发育的第 7 天和第 8 天被降解利用。30K 蛋白在胚胎发育后期,特别是蚁蚕孵化当天被迅速降解。然而,30K 蛋白降解酶的鉴定一直是研究家蚕胚胎发育的难点。在本文中,我们从肠道中纯化得到了丝氨酸蛋白酶 P-IIc;从核酸和蛋白水平验证了该蛋白酶在胚胎发育后期高量表达。体外孵育实验表明 P-IIc 是一个底物广谱性蛋白酶;不仅能水解 30K 蛋白 BmLP1,对 BmLP2 和 BmLP3 也具有部分水解作用;此外,P-IIc 还能水解 Vtn 和 Vtn 的降解片段(由 Vtn-proteases 产生)。在个体水平上,我们利用 RNAi 技术干涉 P-IIc 的表达,能显著降低 BmLP1 在胚胎后期的降解效率。因此,我们认为家蚕肠道蛋白酶 P-IIc 参与了胚胎发育过程中 30K 蛋白 BmLP1 的降解。

* 通讯作者

家蚕基因组编辑

马三垣* 夏庆友**

(家蚕基因组生物学国家重点实验室,西南大学,重庆,400716)

近年来,锌指核酸酶(ZFN)、类转录激活效应子核酸酶(TALEN)和成簇规律间隔短回文重复序列系统(CRISPR/Cas9)等基因组编辑技术的产生与发展,已经在生命科学基础理论研究、经济物种的遗传改造以及人类疾病的预防与治疗等领域掀起了一场如火如荼的革命。家蚕作为鳞翅目昆虫的模式生物,也相继实现了基于 ZFN、TALEN 和 Cas9 的基因组编辑技术,为解决蚕桑丝绸业界长期关注和难以解决的蚕丝遗传改良、丝腺生物反应器等问题提供了重要的突破点,也为其他昆虫基因组编辑研究提供了重要的参考。本研究在此基础上,进一步优化和完善了基于 CRISPR 的家蚕基因组编辑技术体系:(1) 利用 CRISPR 实现了大片段基因组结构变异;(2)通过载体优化提高了 SpCas9 的编辑效率,实现了 SaCas9 和 AsCpf1 介导的基因组编辑,扩展了基因组上的可编辑位点;(3)系统的检测了家蚕细胞对 Cas9 切割的全基因组响应,分析了脱靶效应的发生机制并利用非天然氨基酸提高了基因组编辑的特异性。

*E-mail:(masy@swu.edu.cn)

**E-mail:(xiaqy@swu.edu.cn)

家蚕转基因与生物反应器

王 峰 王元成 赵 萍 夏庆友

(家蚕基因组生物学国家重点实验室;西南大学生物技术学院,重庆,400715)

家蚕的丝腺具备了超强的丝蛋白合成与分泌能力,是理想的生物反应器器官,将其用于生产高附加值外源蛋白是拓展家蚕在非绢丝领域应用的重要举措且意义重大。首先,我们利用转基因技术并通过系统性优化,建立了一套高效的转基因家蚕丝腺 1(Ser1)表达系统,可实现外源基因在转基因家蚕丝腺中的高效表达并分泌至蚕茧中。优化表达系统效率,使 DsRed 的转录水平和蛋白含量分别提高 9 倍、16 倍,分泌到茧丝中的蛋白占到茧层重量的 9.5%;建立了基于 2A 裂解肽的多基因表达系统,可实现单个或者多个基因同时在转基因家蚕中的高效重组表达;通过转座删除策略实现转基因的长期稳定性,为转基因家蚕生物反应器的实用化进程奠定坚实基础。进一步,以人酸性成纤维细胞生长因子(*haFGF*)、人血清白蛋白(*HSA*)、人超氧化物歧化酶(*SOD*)以及人血小板衍生生长因子(*PDGF*)等多个具有重要应用价值的基因为靶标构建转基因家蚕,发现靶标基因能在丝腺细胞中高效表达并分泌到蚕丝的丝胶层,其含量占到蚕丝溶出蛋白的 5%~40%。进一步探索了利用持续表达转座酶的 jumpstarter 家蚕品系促转基因再次转座提高外源基因表达量的策略,获得高量表达 *haFGF*、*HSA* 以及 *SOD* 等多个重组蛋白的家蚕品系;建立分别从丝腺以及蚕丝中分离纯化外源重组蛋白的技术体系,纯化获得毫克级的高纯度的重组蛋白。通过实验证实 *haFGF* 重组蛋白、*HSA* 重组蛋白具有促进细胞生长增殖的功能,*SOD3* 重组蛋白具有抗氧化活性等,表明这些重组蛋白具备进一步开发应用的潜力。通过本研究推进了家蚕丝腺生物反应器的实用化进程。

关键词 家蚕,转基因,生物反应器

家蚕丝腺在眠龄转换过程中的组织形态观察及转录组分析

胡文波¹ 刘 春^{1,2} 程廷才¹ 李 伟¹ 王念念¹ 夏庆友^{1,2*}

(1. 家蚕基因组生物学国家重点实验室, 重庆, 400716;

2. 重庆市蚕丝纤维新材料工程技术中心, 重庆, 400716)

【目的】眠-龄周期是半变态和完全变态昆虫发育的重要特征。家蚕丝腺在眠-龄周期中发生了显著的形态和功能改变,并伴随着丝素基因转录被反复地关闭和开启。然而,控制这些变化的分子机制未被阐明。【方法】本研究通过组织形态观察和转录组测序,探索了丝腺在眠-龄发育过程中的细胞结构变化和基因表达模式。【结果】利用切片染色和透射电镜观察,发现眠期丝腺发生可恢复的细胞损伤,并发现大量自噬体与溶酶体存在于丝腺细胞的细胞质中。通过转录组测序共获得 54,578,413 个读长,其中 85%的读长能匹配到家蚕参考基因组。对丝蛋白基因和丝腺转录因子的表达分析表明,丝素轻链、重链,*P25/fhx*,丝胶 1,丝胶 3 和丝腺转录因子 *Dimm* 基因呈现一致的时期表达模式。此外,通过对差异表达基因(DEGs)进行鉴定,发现大多数与蜕皮激素信号转导、mRNA 降解、蛋白质水解和自噬相关的差异表达基因的表达水平在眠龄转换过程中明显下调,表明这些代谢途径参与丝腺的组织更新。【结论】文章首次揭示了丝腺在眠龄转换过程中的发育特征:丝腺在血液中激素(蜕皮激素和保幼激素)的交替作用下,通过改变基因的表达模式促使细胞更新/生长、调控丝蛋白基因转录等生理生化变化。

关键词 家蚕,眠龄转换,丝腺发育,细胞更新,形态学,转录组学

* 通讯作者

家蚕丝腺特异 serpins 类抑制剂的三维结构与功能研究

郭鹏超 董照明 何华伟 赵 萍 夏庆友*

(家蚕基因组生物学国家重点实验室,西南大学,重庆北碚,400715)

Serpins (serine protease inhibitors) 是一类具有丝氨酸或半胱氨酸蛋白酶抑制活性的蛋白,这些蛋白酶抑制剂通过在不同时期和部位表达调节着靶蛋白酶的活性,参与了如凝血、纤维化和免疫等很多生理过程。家蚕中共有 34 个 serpin 基因被鉴定到,其中有 3 个 serpin 蛋白在家蚕丝腺中被鉴定到,分别为:serpin16,serpin18 和 serpin22。这 3 个 serpin 蛋白都是由 392 个氨基酸组成,序列同源性高达 87%,均分布在中部丝腺腔中。这些现象暗示了他们可能在丝腺中发挥着同样的功能。为了探究它们的结构特征及生理功能,我们克隆表达了 serpin16 和 serpin18 的重组蛋白,并利用结构生物学手段解析了抑制剂 serpin18 的晶体结构。发现它除了具有保守的核心 β -折叠片区域和 α -螺旋区域外,还有一个特异的活性 loop 区(RCL)。与典型的 serpin 蛋白结构相比,serpin18 的核心 β -折叠片区域和 α -螺旋区域是保守的,但活性区 RCL 比典型 serpin 蛋白的短了 7 个氨基酸。体外活性实验表明,serpin18 具有抑制半胱氨酸蛋白酶的功能,而不具有抑制丝氨酸类蛋白酶的活性。通过体外孵育实验,发现 serpin18 在抑制木瓜蛋白酶活性时二者不会形成稳定的复合物,而是形成一个瞬时的 serpin18-papain 中间态,该中间态会促使蛋白酶的构象扭曲而自我降解,从而达到抑制蛋白酶的效果;与此同时,serpin18 会因构象变化而被降解,而不是形成“cleaved”状态的 serpin。因此,本研究发现了 serpin 类蛋白抑制蛋白酶的一种全新机制。另外,我们通过对蚕丝蛋白质组学数据分析发现了一个可以分泌到丝腺腔的半胱氨酸蛋白酶,丝素酶。对丝素酶进行天然提取后与 serpin18 反应,发现其活性可以被 serpin18 抑制。表达谱分析显示,丝素酶在五龄期有少量表达,预蛹期高量表达,其作用是主要参与丝素蛋白的降解。而丝腺特异的 serpin18 仅在五龄的中部丝腺高量表达,育蛹期消失。这些证据表明家蚕丝腺特异的 serpin18 的生理功能是调节丝素酶对丝素蛋白的降解过程。

关键词 蛋白酶抑制剂,晶体结构,活性测定,丝素酶,丝素蛋白,丝腺

* 通讯作者

家蚕油蚕突变体的分子遗传学研究

王凌燕^{1,2,3} 王娟¹ 木内隆史³ 李木旺⁴ 嶋田透³ 夏庆友² 赵萍^{2*}

(1.生物技术学院,重庆,400716; 2.家蚕基因组生物学国家重点实验室,重庆,400716;

3.日本东京大学,日本;4.中国农业科学院蚕业研究所,镇江,212018)

【目的】家蚕是典型积累尿酸的昆虫,尿酸以尿酸盐颗粒的形式在家蚕幼虫表皮积累,使家蚕幼虫表皮成白色或不透明。家蚕有很多突变资源,其中和体色及斑纹相关的大约有150多种。油蚕是一种体色突变的家蚕突变体,幼虫表皮看起来半透明或透明,是由于家蚕幼虫表皮细胞中尿酸盐含量不足或者没有引起的。虽然目前也有一些油蚕突变体基因被克隆,但其具体的分子机制仍不清楚。【方法】为了进一步解析家蚕及鳞翅目其它昆虫的尿酸盐代谢途径,本研究主要通过定位克隆及基因功能验证技术 RNAi 干扰等方法对油蚕突变体 *ov*、*ok*、及 *Obs* 三种油蚕突变体基因进行了克隆。【结果】研究结果显示 *ov* 由于溶酶体相关细胞器生物发生复合体 BLOC-1 的一个亚基 Dysbindin 表达量下降引起;*ok* 由于一个 ABC 转运蛋白编码基因序列的突变引起;*Obs* 可能和一个表皮蛋白信号肽的缺失导致其不能正常分泌到表皮有关。【结论】最后结论:1. 家蚕表皮细胞中尿酸颗粒形成的机制可能和溶酶体相关细胞器形成机制相似。2. Bm-ok 是一个新发现的 ABC 转运蛋白,在家蚕表皮细胞中负责尿酸的转运。3. 表皮蛋白正常的分泌是家蚕表皮细胞中尿酸颗粒形成的必要条件。

关键词 家蚕,油蚕突变体,尿酸,尿酸盐颗粒,定位克隆,RNAi 干扰

* 通讯作者

九香虫对染锰雄性大鼠生殖损伤的保护作用^{*}

王凤月^{**} 刘川燕 付惠惠 侯晓晖^{***}

(遵义医学院, 贵州遵义, 563099)

【目的】探讨九香虫对慢性低剂量锰暴露雄性大鼠生殖系统损伤的保护作用及其机制。【方法】将 50 只 8 周龄雄性 SD 大鼠随机分为 5 组($n=10$), 即空白组、模型组和九香虫高、中、低剂量干预组。除空白组外, 其余 4 组连续 16 周按 2 mg/kg.d 腹腔注射 $MnCl_2$ 溶液(5d/w), 其中模型组给予正常饲料、九香虫各干预组给予九香虫饲料(分别含九香虫 20%、10%和 5%)。通过 HE 染色比较各组大鼠睾丸组织的形态结构变化; 通过行为学观察、血清性激素水平、睾丸及附睾脏器系数和精子数目计数, 比较九香虫对染锰大鼠生殖功能和生殖能力的影响; 通过睾丸组织 GSH-PX、SOD、T-AOC 等指标检测, 比较各组大鼠睾丸组织的抗氧化能力。【结果】通过对锰暴露大鼠进行中药九香虫干预, 与模型组相比, 随着剂量的增加大鼠睾丸组织结构得到了明显改善, 生精小管管腔逐渐变小、基膜基本完整, 生精上皮细胞排列有序、细胞界限清晰; 行为学的结果显示: 九香虫中、低剂量干预组的扑捉次数、射精能力明显增加($P<0.05$); 与模型组相比, 各干预组大鼠睾丸及附睾脏器系数、血清睾酮水平明显增加, 而血清黄体生成素水平明显降低, 差异均有统计学意义($P<0.05$); 抗氧化应激水平显示: 九香虫高、中剂量干预组大鼠睾丸组织 GSH-PX、SOD、T-AOC 水平明显高于模型组($P<0.05$), 具有统计学意义。【结论】中药九香虫对雄性 SD 大鼠的长期低毒染锰导致的生殖系统损伤具有一定的保护作用, 其机制可能与抑制自由基引发的脂质过氧化作用相关。

关键词 九香虫, 锰暴露, 生殖损伤, 生殖保护, 氧化应激

^{*} 资助项目 Supported projects: 贵州省“125 计划”重大科技专项(黔教合重大专项字[2014]031)

^{**} 第一作者 First author, E-mail: 3231989163@qq.com

^{***} 通讯作者 Corresponding author, E-mail: hxh19801122@163.com

黄河中游地区古槐、古柏、古银杏生存现状及健康等级评价

张 婷 贺 虹*

(西北农林科技大学林学院,陕西杨陵,712100)

【目的】古树名木是悠久历史和文化的象征,是不可再生的自然资源,具有非常重要的经济、文化、生态价值。古树的健康程度随着古树年龄的增长而降低,但目前国内还没有针对古树健康评价的统一标准。为此,在充分研究国内外古树健康评价方法的基础上,本研究以黄河中游地区代表性的古树为研究对象,对其进行了生存现状调查和健康评价,旨在为古树名木的健康评价提供指导和参考。【方法】依据古树树势、树形、枝条、叶芽生长等指标制定古树名木健康等级评价表,并建立古树生存档案;档案内容主要包括记录古树名木的年龄、地理位置、保护制度、气象概况、环境概况、生存现状,测量及统计分析古树名木树高、胸径、冠幅等树体指标,采集古树照片,绘制树形简图等,综合以上信息确定古树健康等级。【结果】(1)在陕西省榆林市、延安市、渭南市、西安市等地调查古树 120 株;在山西省运城市、太原市、晋中市、吕梁市、临汾市等地调查古树 143 株;共计调查古树 263 株,其中古柏 204 株,古槐 54 株,古银杏 5 株。(2)依据当地资料记载、古树挂牌或者走访询问确定古树的年龄,调查古树名木的年龄在 100~5000 年之间,其中树龄小于 500 年的有 28 株,500~1000 年的有 64 株,1000~2000 年的有 95 株,2000~3000 年的有 52 株,3000 年以上的有 24 株。古树名木树高在 4~28m 之间,胸径在 40~380cm 之间,冠幅在 3.65~25m 之间。(3)根据制定的古树名木健康等级评价表,将所调查的古树健康现状划分为 5 个等级:其中Ⅰ级(生长情况良好)21 株、Ⅱ级(生长情况较好)96 株、Ⅲ级(生长情况不良)75 株、Ⅳ级(生长情况显著不良)40 株、Ⅴ级(濒临枯死)18 株、13 株已枯死。【结论】黄河中游地区古树名木生存现状整体不佳,56%的古树生存状况不良,5%的古树已经死亡,亟需对这些古树采取保护和复壮措施。本研究采用的健康评价表可以作为我国古树名木的生存现状及健康等级评价的指导性标准。

关键词 古树名木,生存现状,健康等级评价,黄河中游地区

* 通讯作者

巴氏新小绥螬滞育初步研究^{*}

董婷婷 武星彤 党向利 牛婷婷 韩溶溶 江俊起 李桂亭^{**}

(安徽农业大学植物保护学院,合肥,230036)

巴氏新小绥螬是叶螬、瘿螬、蓟马、粉虱等小型害虫的重要天敌,因其捕食量高,繁殖速度快,发育历期短,被认为是开发潜力极大的天敌。巴氏新小绥螬成功进行生物防治的关键问题该螬能成功越冬和次年春天顺利发生。许多学者致力于研究捕食螬产生滞育的临界光周期及相应的温度范围,以用于打破滞育或培育无滞育品系。为此我们对巴氏新小绥螬的滞育温度和光照条件进行筛选,并利用转录组测序筛选调控巴氏新小绥螬滞育的相关基因。【方法】设置不同温度(14,16,18,20 和 25℃)和光周期(0,8,16 和 24h 光照)组合,筛选出使巴氏新小绥螬滞育的温度和光照条件。对巴氏新小绥螬进行大量收集,利用高通量测序技术,对转录组进行深度测序,在无参转录组数据分析过程中,开展测序数据拼接、拼接结果功能注释及基因表达和基因表达差异水平的衡量等,通过查看文献筛选出与滞育相关的基因,设计合适的引物,开展巴氏新小绥螬滞育相关基因的半定量及荧光定量 PCR 检测。【结果】实验结果表明使巴氏新小绥螬滞育的最合适的温度和光照条件是:18℃,L:D=8:16,此时巴氏新小绥螬的死亡率小于 10%,滞育率大于 95%。在 14℃条件下,巴氏新小绥螬不能发育成成螬;在 16℃下,不论光照时长为多少,其雌成螬都会进入滞育状态;在 25℃条件下,无论光照时长为多少,没有雌成螬进入滞育状态。从转录组测序结果中筛选得到一些可能参与滞育相关基因,例如:Vg1(卵黄原蛋白 1),Vg2(卵黄原蛋白 2),VgR(卵黄原蛋白受体),JH(保幼激素),cyp315a1(细胞色素 P450 酶),EcR(蜕皮激素受体),MEF(肌细胞促进因子),JHE(保幼激素酯酶)等。

关键词 巴氏新小绥螬,滞育,温度,光照,转录组

^{*} 资助项目:国家公益性行业(农业)科研专项(200903032);国家自然科学基金项目(31201569)

^{**} 通讯作者,E-mail:lgt604@163.com

氨基酸营养添加下巴氏新小绥螨热激蛋白基因的表达分析^{*}

武星彤 董婷婷 党向利 毕思佳 马 磊 江俊起 李桂亭^{**}

(安徽农业大学植物保护学院,合肥,230036)

巴氏新小绥螨 *Neoseiulus barkeri* 是目前应用最广泛的捕食性天敌之一。通过改进人工饲养方法提高巴氏新小绥螨的抗逆性,有助于解决巴氏新小绥螨在生产、存贮、运输以及防治应用过程中出现的诸多难题。巴氏新小绥螨氨基酸营养添加实验结果显示:氨基酸营养添加能延长巴氏新小绥螨的耐饥时间,25℃下,巴氏新小绥螨雌成螨在没有食物的条件下,其最长的耐饥饿时间为 96h,组氨酸添加最长的耐饥饿时间为 120h,亮氨酸最长的耐饥饿时间为 144h;亮氨酸、组氨酸营养添加饲养后的巴氏新小绥螨的捕食能力有所提高,组氨酸的捕食能力相对提高了 33.28%,亮氨酸的捕食能力相对提高了 17.08%;在 40℃高温环境下,与未经氨基酸添加饲养相比,氨基酸营养添加能够提高巴氏新小绥螨的耐高温程度。在转录组学水平上研究了巴氏新小绥螨对营养因子敏感相关基因,以期从分子水平阐明其机理。转录组测序结果表明:巴氏新小绥螨转录组共获得 7.92G 的测序总量。Trinity 拼接结果获得 86422 个转录本,23893 个基因。注释到 GO 数据库中的 6604 个基因主要具有转录、转录调控、翻译、细胞分裂、自噬、信号转导、ATG 结合、GTP 结合等 50 多个功能。在 KEGG 数据库中获得注释的 6078 个基因,涉及新陈代谢、机体代谢、细胞过程、环境信息加工、遗传信息加工等通路。其中巴氏新小绥螨热激蛋白基因家族包括 HSP90、HSP70、HSP60 及小 HSP 家族。Nbhs90mRNA 序列包含 2142bp 的开放阅读框,编码 714 个氨基酸;Nbhs70 序列包含 705bp 的开放阅读框,编码 235 个氨基酸;Nbhs60 序列包含 1341bp 的开放阅读框,编码 447 个氨基酸。采用 qPCR 检测了在不同温度下未添加氨基酸的巴氏新小绥螨与添加氨基酸的巴氏新小绥螨成虫的热激蛋白基因的表达情况。

关键词 巴氏新小绥螨,氨基酸,温度胁迫,热激蛋白,qPCR

^{*} 资助项目:国家公益性行业(农业)科研专项(200903032);国家自然科学基金项目(31201569)

^{**} 通讯作者,E-mail:lgt604@163.com

干旱胁迫对棉叶螨在鲁棉研 28 号上发生的影响^{*}

马 惠 赵 鸣 王红艳 王 琦 董合忠^{**}

(山东棉花研究中心, 山东济南, 250100)

我国干旱、半干旱地区占全国陆地总面积的二分之一, 干旱土地的开发利用日益受到重视。棉花是干旱地区的主要作物, 转基因抗虫棉的种植有效遏制了棉铃虫的发生和危害, 但棉叶螨等次要害虫的发生逐渐加重。本文初步研究了干旱胁迫对鲁棉研 28 号(SCRC28)上棉叶螨发生的影响。

实验室内水培棉苗, 于 6 叶期时用聚乙醇(PEG6000)进行干旱胁迫处理, 设定 2 个浓度, 2.5% 和 5%, 以不含 PEG 的营养液为对照(CK)。每个处理重复 4 次, 每个处理 5 棵棉苗, 随机排列。处理后 1 d, 每株接种棉叶螨成螨 5 头, 并用纱网进行隔离。在温度为(25±1)℃、相对湿度(65±5)%、光周期 L:D=16 h:8 h 的人工气候室内培养观察。每 5 d 调查一次, 查全株若螨、成螨数量。同时采集不同处理叶片, 接种初产卵, 于生化培养箱内进行其发育历期及产卵量的调查。

结果发现, 棉叶螨的发生随 PEG 浓度的升高而减轻, 发生量逐渐减少, 虫量增长速度逐渐变慢。从每个处理棉株上的棉叶螨的消长趋势来看, 处理后 5d, 各处理棉株上的棉叶螨虫量均有所增加, 对照处理的棉叶螨虫量显著高于两个干旱处理的虫量。处理后 10d, 对照处理的棉叶螨虫量继续增加, 而两个干旱处理的棉叶螨数量开始减少。棉叶螨的发育历期逐渐延长、产卵量逐渐降低, 高 PEG 和低 PEG 的未成熟期分别比对照延长了 16.5% 和 7.45%; 高 PEG 和低 PEG 的产卵量分别比对照降低了 55.8% 和 26.9%。综上所述, 干旱胁迫对 SCRC28 上棉叶螨的发生有显著的影响, PEG 浓度越高, 棉叶螨发生量越小。其影响机制还有待于进一步研究。

关键词 干旱胁迫, SCRC28, 棉叶螨, 影响

^{*} 基金项目: 山东省自然科学基金(ZR2014YL018); 山东省农业科学院青年基金(2014QNM02)

^{**} 作者简介: 马惠(1981-), 女, 硕士, 副研究员, mahui8.18@163.com; * 通信作者 donghz@saas.ac.cn