昆虫区系分类

基于大量成虫形态学特征构建

全球遮颜蛾科(鳞翅目:麦蛾总科)"自然"系统分类的研究

David Adamski

(史密森研究院,美国国家自然历史博物馆昆虫学部,MRC-168, NHB-526, 华盛顿特区, 20013-7012, 美国)

以前对于遮颜蛾科(Blastobasidae)的直观分类研究大多数是由电子计算机进行该科的系统发育分析,迄今为止主要有3个。首先所有特征状态都被编写入 Mesquite 矩阵,进而转化为 TNT 的文件格式,并最终载入 TNT 完成支序分析过程。所有获得的最大简约树及一棵严格合意树都被保留下来。必要的话,最大似然法分析由 CIPRES 完成。前两个分析的编码数据是相似的,都只是选取了各个属的模式种。然而,在最后一个分析中,编码数据选取了所有原始模式种及(或)现阶段的分类鉴定已被普遍接受的属种。该分析包含了世界范围内的遮颜蛾科 397 种(世界范围内现共有 499 种,其中 76 种仅描述了雌性,同另 26 种并未包含在当时的分析中)。利用"全包含分析"进行的系统发育分析,证明了取样的方法很大程度上依赖于对内群中属种分类位置的直觉决策。这种取样的方法低估了内群的多样性,并在属种层面上忽略了新组合的存在。这种"全包含"的方法也可以利用模式标本来发现之前属未定类群的分类位置。而前两个分析在科级,亚科级及属级都显示出了单棵树或有良好拓扑结构的结果,但在第 3 种分析中的特征状态频率则给出了更加精确和复杂的树形。在今后的分析中一旦达到一定稳定性,就可以对于世界范围内遮颜蛾科昆虫的进化,宿主偏好及地理分布等进行深入探究。

关键词 遮颜蛾科,系统发育,TNT,数据编码,全包含分析

中国埃内寄蝇族分类研究(双翅目: 寄蝇科)

孙 琦 张春田*

(沈阳师范大学生命科学学院,沈阳 110034)

调查采集我国各地产的双翅目寄蝇科昆虫,以及惠借全国主要研究机构的埃内寄蝇族标 本,将已知埃内寄蝇族标本经整理、分类、鉴定出3300余号。方法比较形态学方法通过 寄蝇外部形态特征和雄性腹部末端外生殖器结构进行分类、鉴定:属及物种分类系统主要依 据 Mesnil (1944-1975), Shima (1986), Tschorsnig & Herting (1994), Herting & Dely-Draskovits (1998), Tschorsnig & Richter (1998), 赵建铭等 (1998), O'Hara 等 (2009) 等 主要参考文献。结果世界已知埃内寄蝇族 55 属 343 种,中国已知该族 11 属 107 种,编写该 族的分属和分种检索表: 经整理、检查、分类和鉴定出埃内寄蝇寄蝇族标本 10 属 61 种: 新 增 29 种省级新分布记录,包括双齿金绿寄蝇 Chrysosomopsis bidentata (Chao et Zhou)(四 川)、合眼金绿寄蝇 C. euholoptica (Chao et Zhou)(黑龙江、西藏)、钩肛亮寄蝇 Gymnocheta goniata Chao(辽宁、内蒙、云南)、梅斯亮寄蝇 G. mesnili Zimin(吉林、甘肃、湖北、云南)、 横带透翅寄蝇 Hyalurgus cinctus Villeneuve (陕西)、黄腿透翅寄蝇 H. flavipes Chao et Shi(吉 林、内蒙古、甘肃)、斑腿透翅寄蝇 H. sima (Zimin)(黑龙江、河北)、叉叶江寄蝇 Janthinomyia elegans (Matsumura) (广西)、拼叶江寄蝇 J. felderi Brauer et Bergenstamm (湖北、广东)、 菲短须寄蝇 Linnaemya (s.str.) felis Mesnil(辽宁)、毛翅短须寄蝇 L. (s.str.) hirtradia Chao et Shi(辽宁)、侧斑短须寄蝇 L. (s.str.) lateralis (Townsend)(湖北)、黄粉短须寄蝇 L. (s.str.) paralongipalpis Chao (辽宁、内蒙)、黄角短须寄蝇 L. (s.str.) ruficornis Chao (内 蒙、河北)、泰短须寄蝇 L. *(s.str.) tessellans* (Robineau-Desvoidy)(吉林、河南、陕西)、 裂肛短须寄蝇 L. (Ophina) fissiglobula Pandellé(甘肃)、饰鬃短须寄蝇 L. (O.) haemorrhoidalis (Fallén)(辽宁)、齿肛短须寄蝇 L. (O.) media Zimin (青海)、奥尔短 须寄蝇 L. (O.) olsufjevi Zimin (河北)、峨嵋短须寄蝇 L. (O.) omega Zimin (河北、青 海)、俄罗斯短须寄蝇 L. (O.) rossica Zimin(辽宁)、鬃额短须寄蝇 L. (O.) setifrons Zimin (辽宁、山西)、查禾短须寄蝇 L. (O.) zachvatkini Zimin (陕西)、采花阳寄蝇 Panzeria anthophila (Robineau-Desvoidy)(甘肃、青海)、望天阳寄蝇 P. connivens (Zetterstedt)(辽 宁、山西、宁夏、甘肃)、对眼阳寄蝇 P. consobrina (Meigen)(河北)、腹球阳寄蝇 P. globiventris (Chao et Shi)(甘肃、青海)、红黄阳寄蝇 P. rudis (Fallén)(湖南)、裸颜阳寄蝇 P. vagans (Meigen)(辽宁);均保存于沈阳师范大学昆虫标本馆(SYNU)。

关键词 寄蝇亚科,检索表,鉴定名录,新纪录,系统分类

^{*}通讯作者

中国小贯小绿叶蝉 Empoasca (Matsumurasca) onukii 种群遗传多样性及遗传结构研究

张 丽 秦道正

(西北农林科技大学植物保护学院,杨凌 712100)

小贯小绿叶蝉 Empoasca (Matsumurasca) onukii Matsuda 是东亚茶叶产区最主要的害虫之一,严重影响茶叶的产量及品质。目前形态学及分子证据均支持发生在我国的该害虫种名是小贯小绿叶蝉 Empoasca (Matsumurasca) onukii Matsuda,而非以前因误鉴而在我国大陆和台湾长期使用的假眼小绿叶蝉 Empoasca (s. str.) vitis (Go èthe) 及台湾雅氏叶蝉 Jacobiasca formosana (Paoli)。通过后续研究,我们还发现该害虫的雄性外生殖器特征(主要是阳茎特征) 在不同种群间存在着较明显的形态变异,但目前该害虫的种群遗传结构仍知之甚少。因此,本研究采用 18 对微卫星标记,对 19 个中国种群和 1 个日本种群共 600个样本进行了扩增、基因分型和遗传分析,在此基础上对中国茶区该害虫的地理种群进行了遗传多样性和遗传结构探讨,以揭示该害虫的种群微进化和种群发生动态。

本研究取得了如下结果: (1) 20 个小贯小绿叶蝉地理种群的平均等位基因数目为8.4-10.4 个,平均等位基因丰富度为6.52-8.27 个;平均有效等位基因数目为5.2 个,其中数目最低的是日本种群(4.2 个),数目最多的为陕西和重庆种群(5.9 个);平均观察杂合度为0.679,平均期望杂合度为0.741;(2)不同种群之间出现低中等的遗传分化,且种群之间的遗传分化与地理距离表现出较显著的相关性,其中西南茶区中各种群之间遗传多样性呈现显著差异,分化程度达到中等程度,与其他茶区种群之间也出现中等分化,分析认为西南茶区内复杂的地理和气候环境组合共同影响西南各个种群遗传多样性和遗传结构;(3)日本种群遗传多样性较窄,与中国种群相比出现中等遗传分化,与南方群体关系最近,表明日本种群可能是由中国南方地区传入,单一的茶树种质资源为小贯小绿叶蝉种群提供相似的群落生境,因而限制了其多样性的发展。本研究认为中国茶区该害虫的地理种群可划分为江北群体、西南群体1、西南群体2和南方群体共4个群体。本研究可以为基于该害虫的其他相关研究,以及不同茶区内环境友好型防治策略的制定提供参考依据。

关键词 小贯小绿叶蝉,微卫星标记,遗传多样性,遗传结构,遗传分化

世界昆虫地理区划

申效诚 任应党 马晓静 杨琳琳 王光华

(河南农业科学院植物保护研究所,郑州 450002)

昆虫是世界最大的生物类群。但生物地理学诞生两个半世纪以来,一直没有自己的地理 区划系统。究其原因,一是昆虫种类繁多,汇总整理难度大;二是缺乏有效的、规范的定量 分析方法。

进入 21 世纪,人们对生物地理的关注度迅速高涨,不少学者用各种方法对不同生物类群提出各种不同的地理区划方案。也先后有人对昆虫的某些类群,如毛翅目、蚤目、蚁科、隐翅虫科、粉虱科、蚊科等进行分析,提出各自的区划意见。尽管没有使用定量分析方法,已不乏有见地的意见和新解。

为了制定世界昆虫的地理区划方案,我们汇总世界 31 目 1208 科 104344 属 1033635 种昆虫的分布资料。按照地形、气候等生态条件将世界陆地划分成 67 个基础地理单元(不包括南极洲)。制成 104344 属×67 区的数据库。用我们提出的相似性通用公式及多元相似性聚类分析法进行分析。得到层次清晰、结构合理的聚类结果。67 个基础地理单元的总相似性系数为 0.058,在 0.300 的相似性水平上聚成 20 个小单元群,0.200 时聚成 7 个大单元群,而且符合地理学、统计学、生态学、生物学对地理区划的要求。远优于目前世界常用的单链法、类平均法、离差平方和法。

按照聚类结果,世界昆虫分布地理分作 7 界 20 亚界:西古北界下辖欧洲、地中海、中亚 3 个亚界;东古北界辖西伯利亚、东北亚、中国 3 个亚界;印度-太平洋界辖南亚、印尼、太平洋岛屿 3 个亚界;非洲界辖中非、南非、马达加斯加 3 个亚界;澳大利亚界辖西澳大利亚、东澳大利亚、新西兰 3 个亚界;新北界辖北美、中美 2 个亚界;新热带界辖亚马孙、阿根廷、智利 3 个亚界。

中国昆虫截止 2013 年有 17018 属 93661 种,隶属世界昆虫的 3 界 4 亚界:西古北界(中亚亚界)、东古北界(西伯利亚亚界、中国亚界)、印度-太平洋界(南亚亚界)。

关键词 地理区划,昆虫

中国平腹小蜂属系统分类研究(膜翅目:旋小蜂科)

唐 璐 彭凌飞*

(闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室,福建农林大学植物保护学院,福州 350002)

平腹小蜂属 *Anastatus* Motschulsky, 1859 是膜翅目 Hymenoptera 旋小蜂科 Eupelmidae 中较大的一个属,多分布在热带和亚热带地区。该属昆虫寄生多种昆虫的卵,是重要的天敌昆虫,如我国早在上世纪 60 年代就开始利用平腹小蜂防治荔枝蝽,并取得了非常好的防效。该属昆虫全世界目前已知 148 种,中国 14 种。

本文基于形态特征,并结合 COI和ITS2基因对中国的平腹小蜂标本进行系统分类研究, 共获得 79 条 COI基因序列和 83 条 ITS2基因序列。重新详细描述了我国已知的 14 个种, 发现新种 13 个,新记录 1 个,新异名 1 个。澄清了麻纹蝽平腹小蜂 Anastatus fulloi Sheng & Wang, 1997 是我国南方广泛人工繁育,并用于防治荔枝蝽的物种,而非多年来认为的日本 平腹小蜂 Anastatus japonicus Ashmead, 1904(或称荔蝽卵平腹小蜂、舞毒蛾卵平腹小蜂等)。 **关键词** 旋小蜂科,COI,ITS2,分类

*通讯作者, E-mail: lingfeipeng@fafu.edu.cn

中国下盾螨亚科分类研究进展(蜱螨亚纲:厉螨科)*

张 倩 ¹ 闫 毅 ^{1**} 金道超 ² 谢丽霞 ^{1**}

- (1. 山东农业大学植物保护学院, 山东省蔬菜病虫生物学重点实验室, 泰安 271018;
 - 2. 贵州大学昆虫研究所, 贵州山地农业病虫害重点实验室, 贵阳 550025)

下盾螨亚科 Hypoaspidinae 隶属于蛛形纲 Arachnida、蜱螨亚纲 Acari、中气门目 Mesostigmata、革螨股 Gamasina、厉螨科 Laelapidae。该类群世界广布,多为自由生活的捕 食者,常被发现于土壤、腐殖质、枯枝落叶层,以及小兽、鸟类和节肢动物的体表或巢穴中。 生物进化学家认为,"营自由生活"的下盾螨是中气门螨类向脊椎动物巢穴移居的"先锋",而 脊椎动物巢穴中的下盾螨,又是从"营自由生活"向"营寄生生活"演化的中气门螨类的起源, 因此下盾螨亚科是研究螨类进化及寄生演化的理想模型。小兽和鸟类巢穴或体表的下盾螨, 能够通过侵袭对人类和其它动物造成危害,同时可能与多种人兽共患病的病原体传播有关, 因此具有特殊的医学意义。此外,尖狭下盾螨 Gaeolaelaps aculeifer、剑毛帕厉螨 Stratiolaelaps scimitus 等下盾螨是重要的害虫天敌,已商品化开发,用于防治蓟马、蕈蚊、根螨等农业害 虫。中国下盾螨亚科分类研究始于 1961 年 Samsinak 报道了采自中国广东家白蚁 Coptotermes formosanus 巢内的一新种。截至目前,该亚科世界已知 20 属 420 余种,中国 11 属 160 余种。 邓国藩、潘錝文、顾以铭、王菊生、王敦清、廖灏溶、马立名、白学礼和郭宪国等老一辈螨 类学家为该类群分类研究付出了大量心血。目前,我国下盾螨亚科分类研究仍存在以下主要 问题: ① 属级分类与国际分类系统长期脱轨,同物异名、无效名普遍存在,造成该类群分 类工作的混乱;② 多数已发表物种特征描述过于简单,特征图绘制不准确,为后续研究遗 留了大量难题;③ 模式标本保存地分散,保存质量参差不一,标本的检视存在诸多不便; ④ 缺少超微形态学、分子生物学和支序系统学等现代研究技术与方法的运用。

本文通过回顾中国下盾螨亚科分类研究的历史,全面总结了我国学者所取得的工作进展,剖析了已有工作中存在的问题、不足和原因,并对今后工作进行了展望。着重提出,当前我国下盾螨亚科分类工作的重点是:对接国际研究,开展中国模式标本的重描述与绘图,厘订问题属种。本文将进一步推动中国下盾螨亚科分类与修订工作的开展,并为其在生物防治等领域的应用研究打下基础。

关键词 蜱螨亚纲,下盾螨亚科,分类,研究进展,生物防治,中国

*资助项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31501847); 山东省重点研发计划项目(2016GNC110012, 2017CXGC0207)

**通讯作者, E-mail: xielixia2006@163.com; miteyy@163.com

龟形小刺蛾线粒体基因组的测序与分析*

江宏燕 彭 萍 陈世春 王晓庆** (重庆市农业科学院茶叶研究所, 重庆 402160)

龟形小刺蛾 Narosa nigrisigna Wileman,又名红点龟形小刺蛾、黑纹白刺蛾、小白刺蛾, 属鳞翅目 Lepidoptera, 刺蛾科 Limacodidae。该害虫分布广泛,在我国主要产茶区的浙江、 安徽、福建、台湾、江西、湖南、湖北、四川、云南、广东、广西和贵州等均有分布。龟形 小刺蛾幼虫不具毒刺,取食茶树叶片,轻则留下圆形或不规则的斑驳透明枯斑,或咬成不规 则的孔洞,重则可将叶片全部吃光,影响树势。近年来,龟形小刺蛾在茶园中的为害日趋增 多。昆虫线粒体基因组具有许多共同特征,包括基因组较小、基因数目少、基因组成稳定、 基因排列相对保守、重组率很低、碱基突变率高和普遍母系可遗传性等特点, 在昆虫的种类 鉴定、种群遗传结构和系统发育研究中得到广泛应用。本实验采用 PCR 技术完成龟形小刺 蛾的线粒体全基因组序列的扩增、拼接、校正和注释。通过测序获得的角形小刺蛾的全线粒 体基因组为单一闭合环状双链 DNA 分子,全长 15 292 bp,在已发表的鳞翅目昆虫中属于较 小的线粒体基因组。该线粒体基因组 J 链碱基组成为 A=38.97%, C=11.12%, G=7.67%和 T=42.24%, 共编码了 37 个基因, 包括(cox1-3, cytb, nad1-6, nad4L, atp6 和 atp8), 22 个 tRNA 基因(tRNA^{Ile}, tRNA^{Cys}, tRNA^{Gln}, tRNA^{Met}, tRNA^{Trp}, tRNA^{Trp}, tRNA^{Leu} (CUN), tRNA^{Leu} $^{(UUR)}$, $tRNA^{Lys}$, $tRNA^{Asp}$, $tRNA^{Gly}$, $tRNA^{Gly}$, $tRNA^{Ala}$, $tRNA^{Arg}$, $tRNA^{Ser\ (AGN)}$, $tRNA^{Ser\ (UCN)}$, tRNA^{Glu}, tRNA^{Phe}, tRNA^{His}, tRNA^{Thr}, tRNA^{Pro}和 tRNA^{Val}), 2 个 rRNA 基因 (rrnS 和 rrnL)。 同时,基因组还包含 1 个的 A+T 富集区,位于 rrnS 和 $tRNA^{Met}$ 之间,长度为 377 bp。目前 鳞翅目刺蛾科仅有 3 个线粒体基因组被报道,包括黄刺蛾 Cnidocampa flavescens(KY628213)、 Monema flavescens (KU946971) 和褐缘绿刺蛾 Parasa consocia (KX108765), 基因组大小 与龟形小刺蛾相差不大,除褐缘绿刺蛾外,3种刺蛾线粒体基因排列顺序相同,褐缘绿刺蛾 有 1 处基因重排, 即 tRNA^{Ala} 和 tRNA^{Arg} 基因的位置进行了交换, 该基因重排现象在鳞翅目 线粒体基因组不常见。 龟形小刺蛾线粒体基因组的测序, 能为探索鳞翅目刺蛾科线粒体基因 组的进化提供数据,以期为鳞翅目昆虫的精准鉴定、分子生物学等研究打下基础。

关键词 茶树害虫, 龟形小刺蛾, 线粒体基因组, 刺蛾科

^{*}资助项目: 国家茶叶产业技术体系刺吸式害虫防控岗位专家基金(CARS-19)

^{**}通讯作者, E-mail: wangxiaoqing2891@126.com

中国叶螨科分类研究进展

李 娟 乙天慈 郭建军 金道超*

(贵州大学昆虫研究所,贵州省山地农业病虫害重点实验室,昆虫资源开发利用省级特色重点实验室, 贵阳 550025)

叶螨科隶属于蜱螨亚纲 Acari 绒螨目 Trombidiformes 叶螨总科 Tetranychoidea,是农、林、园艺重要的害螨。目前,世界范围内已全面开展叶螨分类学修订,我国叶螨分类及其修订亟待开展。近年来笔者开展了中国叶螨科的深化分类与修订工作,主要取得了以下进展:

1 中国叶螨科区系调查和已知种复核与修订

我国叶螨科分类曾有很多研究工作,但区系调查仍然不充分,对物种(新种)构成的认识有待提升(Yi & Zhang, 2017),为丰富中国叶螨区系组成,结合我国叶螨科已知种分布状况,对部分空白地区及模式产地进行了补充采集;对以中国为模式产地的叶螨科 80种(Hong et al., 2010; Ma et al., 1984; Wang, 1981),通过借阅模式标本及检视在模式产地采获的标本,澄清问题种及其归属,开展异名修订,按现代国际惯例重新描记原始描记较为简单的种类,并给出较为完整的、客观的种的引证文献信息(Li et al., 2018a 待发表)。

2 足毛序个体发育比较形态及其分类应用

为保证叶螨科分类的科学性,叶螨个体发育形态研究已成为国际关注热点,笔者近年已对 2 亚科 4 种进行详细的个体发育研究,并发表了部分研究成果(Li et al. 2017; Yi et al., 2017)。笔者首次研究了帕式苔螨(Bryobia pritchardi Rimando 1962)在个体发育过程中足毛序的变化(Li et al., 2018b 待发表),发现足 I 跗节生长 28 根刚毛(7 根感棒)为正常毛数量,足 I 股节毛的数量为 $16\sim17$,其中 9 根毛 $(d,bv'',v'-v'',l'-l'',bv'_1-bv''_1,bl'_1)$ 为"稳定"毛,由幼螨至成螨不发生缺失,但是其余的毛($l'_1-l''_1,l'_2-l''_2,v'_1-v''_1,v'_2-v''_2$)在不同螨态中会发生无规律的缺失。足毛序在个体发育中的"正常"或"稳定"数具有分类应用价值。

中国叶螨分类研究既要注重发现新分类单元,同时应系统地梳理并解决我国叶螨分类存在的问题。鉴于我国已积累丰富的叶螨模式和非模式标本,应以生产实际出发,结合个体发育形态学和比较形态学,全面开展我国叶螨科修订。

关键词 中国,叶螨,分类修订,个体发育形态学

巨螯螨科分类研究进展(蜱螨亚纲:中气门目)*

沈 燕 黄振兴 金道超 乙天慈**

(贵州大学昆虫研究所,贵州省山地农业病虫害重点实验室,昆虫资源开发利用省级特色重点实验室,贵阳 550025)

巨螯螨科 Macrochelidae 隶属于蜱螨亚纲 Acari、中气门目 Mesostigmata、革螨股 Gamasina、 犹伊螨总科 Eviphidoidea。其成螨表面革质,淡黄色到深褐色,体长 400-3000 μm,须肢叉 毛 3 叉; 生殖板两侧各具骨板 1 块; 气门沟发达, 在气门区成 U 形。该科种类的发生与农 林、医牧、仓储、环境科学都有着密切的关系。许多种类是具有重要的生物防治价值的生物 资源。目前全世界已记录 20 属 487 种,其中巨螯螨属 322 种、全昂螨属 41 种、小全盾螨属 38 种、新足螨属 34 种、膺盾螨属 22 种、巨盾螨属 18 种、雕盾螨属 15 种,其余属各含 1 种至 11 种。中国已经报道了 6 属 46 种,其中巨螯螨属 25 种、小全盾螨属 2 种、新足螨属 8种、膺盾螨属3种、巨盾螨属2种、雕盾螨属7种。该科种类主要集中在巨螯螨属(约占 巨螯螨科总数的 60%),中国已知种不足世界已知种类的 10%。该科系统的形态学研究国内 外均较薄弱,其主要体现在自由生活类型和寄携类型形态差异及部分高等分类单元在界定时 所使用个别形态特征的差异。而许多具有重要分类价值的特征,诸如头盖、口下板、背腹板、 背腹毛序、足毛序及其它们在个体发育中变化所知其少。巨螯螨科区系研究不平衡,国外对 巨螯螨科的研究主要集中在北美洲、欧洲和南美洲部分国家。中国已知种主要集中在西南地 区(23种)、东北地区(21种)和西北地区(18种)。巨螯螨科为中国分类研究相对薄弱的 类群之一。就作者对贵州省阶段性研究发现巨螯螨科 6 属 22 种,其中 7 新种, 2 中国新记 录种,4贵州新记录种。该科分类单元的描记、高级分类单元的界定、分类系统的争论仍是 热点研究内容。巨螯螨科分类学存在以下问题: 1) 中国区系组成不明; 2) 属间谱系关系不 清; 3) 形态学研究薄弱, 给予分类鉴定和系统发育研究支撑较少。

今后工作研究重点: 1) 开展中国区系分类研究; 2) 开展分类修订,补充描记或重新描述已知种类,对误鉴种,进行重新厘定; 3) 对具有争议的特征在属种间进行比较形态学研究及个体发育形态学研究。

关键词 巨螯螨科, 研究进展, 存在问题

*资助项目:山地高原捕食螨资源收集评价和重要种类大量繁殖关键技术研究(黔科合平台人[2017]5641)和武陵山区生物多样性综合考察(2014FY110100)

**通讯作者, E-mail: yitianci@msn.com

象蜡蝉科世界范围分类修订与系统发育分析(半翅目: 蜡蝉总科)

宋志顺^{1,2,10} Charles R. Bartlett ³ Lois B. O'brien ⁴ Igor Malenovsk ∮ Jürgen Deckert ⁶ Jacek Szwedo ⁷ Michael D. Webb ⁸ Thierry Bourgoin ⁹ 梁爱萍^{10*}

(1.江苏第二师范学院生命科学与化学化工学院,南京 210003; 2.中国科学院东南亚生物多样性研究中心,内比都,缅甸; 3.Dept. Entomology and Wildlife Ecology, Univ. Delaware, USA; 4.Dept. Entomology, Univ. Arizona, USA; 5.Dept. Botany and Zoology, Faculty of Science, Masaryk University, Czech; 6.Museum für Naturkunde, Leibniz Institute for Research on Evolution and Biodiversity Science, Germany; 7.Dept. Invertebrate Zoology and Parasitology, Univ. Gdańsk, Poland; 8.Dept. Entomology, Natural History Museum, UK; 9.Institut Syst ámatique Evolution Biodiversit é (ISYEB), UMR 7205 MNHN-CNRS-UPMC-EPHE, Mus áum National d'Histoire Naturelle, Sorbonne Universit és, France; 10.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)

象蜡蝉科Dictyopharidae是蜡蝉总科(半翅目)中较大类群,世界性分布,在蜡蝉总科 系统演化中占有重要地位:部分类群可危害水稻、玉米、咖啡和甘蔗等经济作物,也有物种 对水葫芦生长有明显的控制效果,有望用于防控入侵物种。象蜡蝉分类研究历史悠久,但研 究广度和深度上还有待提高,特别是基于模式标本的世界范围内分类订正和系统发育分析亟 需开展。本研究检视了世界30余家博物馆和研究机构的模式或定名标本,对世界象蜡蝉科进 行比较系统的整理,并专注于属及更高阶元的分类修订、动物地理学及其系统发育关系的研 究。在世界范围选择象蜡蝉亚科12族104属(亚属)155种,分别占该亚科已知现生族、属、 种的100%、82%和30%,和短翅象蜡蝉亚科4族9属9种,分别占已知现生族、属、种的100%、 17%和5%为研究内群,研究标本涵盖了世界全部动物地理区。研究内群的每个属都尽可能 包括该属的模式种,每种均包括雌雄标本,避免部分形态数据缺失带来的假阳性结果。选择 146个成虫形态特征,包括头、胸、翅、步足、腹部生殖前节和雌雄外生殖器,首次对世界 象蜡蝉科开展基于形态特征的系统发育分析。已完成象蜡蝉48属170余种分类订正,包括1 新族、8新属、3新恢复属、37新种、14属(种)新异名、12新组合、1中国新纪录亚科等, 大部分为世界范围内属级及更高阶元的修订性文章(Liang & Song, 2006, 2012; Song & Liang, 2006a,b, 2007, 2008a,b, 2011a,b, 2012a,b,c, 2013a,b; Song et al., 2011, 2014, 2016a,b,c,d, 2017, 2018a,b),为后续研究者准确鉴定象蜡蝉物种提供了重要的基础资料。基于形态特征的系统 发育分析,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。系统发育分析结果支持象蜡蝉科为一单系群; 支持长象蜡蝉 族Aluntiini作为其它象蜡蝉的姊妹群,甚至可以提升为一个亚科,然而,分析结果不支持当前 象蜡蝉科两科分类系统,即不支持短翅象蜡蝉亚科的亚科地位,该亚科应该将为象蜡蝉科的 一个族; 象蜡蝉科可以分为7大分支,包括Aluntiini, Arjunini, Hastini, (Taosiini + Lappidini) + Nersiini, a Xenochasma complex (including "Orgeriinae"), Orthopagini 和 Dictyopharini, 基本支持象蜡蝉亚科的族级分类系统。

关键词 象蜡蝉科,形态,分类订正,支序系统学*通讯作者

中华大仰蝽转录组分析及微卫星多态性检测*

李 敏 1,2** 赵晨静 1

(1.太原师范学院生物系,晋中 030619: 2.山西农业大学农学院,太谷 030801)

丰富中华大仰蝽 Notonecta chinensis Fallou 转录组数据信息,获得稳定可靠的中华大仰 蝽微卫星 (Simple Sequence Repeats, SSR) 分子标记。通过 Illumina NextSeq 500 高通量测序 技术对中华大仰蝽转录组进行测序,利用 Trinity 软件将数据组装成转录本,聚类得到 Unigene, 然后对所有 Unigene 进行 GO(Gene Ontology)、COG(Clusters of Orthologous Groups)和 KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)的分类和注释,以及蛋白编码区(Opening reading fragment, ORF) 和微卫星预测,并对微卫星的多态性进行检测。转录组测序共获得 总 reads 36 675 702条, clean reads 34 782 282条, 所占百分比为 94.84%。拼接获得 92 898 个转录本, 37 801 个 Unigene, 其中 ORF 共有 92 898 条, 占所有转录本的 100%。Unigene 的 GO 分类注释表明, 27 781 条 Unigene 被注释, 占总数的 73.49%。在所有注释分类中, 生物学过程数量最多。COG 分类结果表明, 35 079 条 Unigene 被分为 26 个类别, 占总数 的 92.8%。KEGG 分析结果表明, 41 个标准途径中包含 5 638 条 Unigene, 含转录本最多的 类别是代谢。微卫星分析结果: 共检测出 3 124 个 SSR 位点(占总 Unigenes 的 8.26%),发 生频率为 7.07%。中华大仰蝽转录组中 SSR 共有 33 种重复基元类型,其中单核苷酸、二核 苷酸和三核苷酸重复是为主要类型,分别占 SSR 总数的 53.49%, 12.58% 和 33.00%。用 Primer Premier 5.0 软件设计了39对引物,其中27对引物成功扩增出目的条带,占引物总数的69.23%。 选取两对有效引物,随机选取3个种群浙江安期峰(ZJZT)、江苏瓦屋山(JSCL)、安徽黄 山(AHHH)的共 15 个个体进行检测,其中一对引物表现单一性,另一对表现出多态性。 本研究进一步完善了中华大仰蝽的基因信息,潜在的多态性 SSR 的开发为中华大仰蝽遗传 多样性分析、隐存种鉴定及图谱构建提供了更丰富的候选分子标记。

关键词 中华大仰蝽,转录组,微卫星,多态性,遗传多样性

^{*}资助项目: 国家自然科学基金项目(31501840); 山西省高等学校科技创新项目(2017169); 山西农业大学博士后基金(134845)

^{**}通讯作者, E-mail: limin12nk@163.com

青海省祁连县蝶类多样性及区系特征

李雷雷 鲍 敏 郝会文 马存新 旦智措 成 帆 才项卓玛 陈振宁* (青海师范大学生命科学学院,青海省青藏高原药用动植物资源重点实验室,西宁 810008)

积累祁连县蝶类的动态数据,丰富该区域蝶类多样性、区系组成、群落变化,以期为蝶类保护提供数据支撑和理论依据。2016—2017 年采用样线法对祁连县蝶类进行观测,沿既定路线两侧各 2.5 m 内,观测蝴蝶并做好记录;利用 Excel 等软件对采集到的蝶类进行数据整理及相关计算,获得多样性指数、均匀性指数、优势度指数、丰富度指数等。通过对祁连县的蝶类进行观测,获得蝶类 5 科 42 属 60 种。其中蛱蝶科的多样性指数(2.65)、丰富度指数 (3.65)最高,粉蝶科、灰蝶科紧随其后;60 种蝶类中,广布种 38 种,占种类的 63.33%,按照中国动物地理区系划分,不大于 3 个地理区划分布的蝶种有 41 种,共 10 种分布型,占据了蝶类分布的主体。同时,祁连县新增蝶种 23 种,包括青海省新纪录 4 种,丰富了当地的蝶类资源,有记录的 15 种蝴蝶在观测中尚未发现。祁连县蝶类多样性特征与高寒、阴湿的气候与多样的小生境有密切的关系;区系特征符合祁连县所处的地理区位,除广布种外,蝶种以青藏区蝶类为依托,同时渗透有西南区、蒙新区的部分蝶种;通过观测,祁连县新增蝶种增多,表明祁连县拥有较为丰富的蝶类资源,而本研究的生境类型较 1997-1999 年,新增 2 种复合生境,可见生境的复杂程度与蝶类的多样性相关,部分蝶种在观测中未曾发现,与寄主植物减少或消失、生境破碎化有关。

关键词 祁连, 蝶类, 组成, 区系

*诵讯作者

青海蝗虫地理分布格局的聚类分析

郝会文 鲍 敏 柯 君 李雷雷 成 帆 才项卓玛 陈振宁* (青海师范大学生命科学学院,青海省青藏高原药用动植物资源重点实验室,西宁 810008)

应用聚类分析的方法对青海省蝗虫的分布格局进行分析,研究蝗虫种类在青海的分布规律,为动物地理区划提供依据。根据青海的自然环境和植被特征将青海划分为 16 个分布区域,统计蝗虫分布规律,根据蝗虫分布范围将其分为全布种(16 个区域有分布)、多布种(2-15 个区域有分布)和独布种(只分布在一个区域)3 类。在以分布区域为特征做聚类分析的基础上,把多布种分组并确定重叠的分布格局,共分为 12 个组。青海蝗虫多布种共有 12 种分布格局,大多数分布格局呈不连续分布状态;青海目前已知的蝗虫种类中不含全布种,这与青海独特的地形与生态环境(如可可西里地区等)具有密切关系;在 50 个独布种中有 33 种是青海特有种,17 种为非特有种。其中特有种主要分布于湟水-黄河流域森林、温性草原地区,非特有种在青海以外的地区主要分布有 3 种格局,分别是青藏区、蒙新区和东北区。湟水-黄河流域森林、温性草原地区蝗虫的多样化程度较高,是青海省蝗虫多样性研究的热点地区;不连续的生境是造成青海蝗虫多布种不连续分布的主要原因。

关键词 蝗虫,动物地理,分布格局,聚类分析,青海

天津北大港湿地昆虫群落组成的初步分析

曹 威 ¹ 孙文雯 ¹ 王 斌 ² 姚庆峰 ² 刘文彬 ¹ 闫春财 ^{1*} (1. 天津师范大学生命科学学院, 天津市动植物抗性重点实验室, 天津 300387; 2. 天津市北大港湿地自然保护区管理中心, 天津 300270)

2015年4—10月和2016年4—10月,对北大港湿地昆虫群落进行初步调查,共采集昆虫标本8163号,隶属于10目77科136属,利用生物群落的多样性指数、均匀度指数、优势度指数、丰富度指数对北大港湿地昆虫群落进行时间动态分析。功能类群中,植食性昆虫在从分类水平和数量上都占绝对优势,中性昆虫类群较少,但个体数较多。与其他地区的湿地进行比较,北大港湿地昆虫群落组成总体逊于其他三个湿地,优势物种种类较少。研究认为北大港湿地昆虫种类较少,群落组成不稳定,有待于对湿地进行进一步保护。

关键词 昆虫群落,多样性,功能类群,时间动态,北大港湿地

贵州荞麦田间地上节肢动物种类的调查

张晓娜 孟子烨 陈庆富*

(贵州师范大学荞麦产业技术研究中心/荞麦工程技术研究中心,贵阳 550001)

明确贵州省荞麦主产区地上节肢动物的种类,为荞麦种植区补充基础资料、生物多样性的保护和利用提供依据。本研究于 2016—2017 年选择遵义市河闪渡村两个海拔的位置,分别是 A (海拔 1 219 m, 东经 107°52′, 北纬 27°33′) 和 B (海拔 627 m, 东经 107°51′, 北纬 27°31′)、六盘水市木柯村 (海拔 2268 m, 东经 104°69′, 北纬 26°56′)、毕节市威宁雄鹰村 (海拔 2 360 m, 东经 104°53′, 北纬 26°87′)、贵阳市百宜镇 (海拔 1345 m, 东经 106°53′, 北纬 26°52′)、贵阳市贵州师范大学种植室 (海拔 946 m, 东经 106°71′, 北纬 26°59′) 有代表性的 4 个地区 6 个种植点,采取五点取样法进行定点调查,利用网捕、手捉、采集叶片等手段进行采集节肢动物标本。贵州省荞麦田间共发现节肢动物 14 目,38 科,57 种。分布最多的是半翅目 6 科 14 种,占 2 4.56%,其次是鞘翅目 6 科 10 种,占 17.54%,膜翅目 6 科 8 种,占 14.04%,双翅目 5 科 6 种,占 10.53%,蜘蛛目 4 科 4 种,占 7.02%,鳞翅目 3 科 3 种,占 5.26%,之后是蜱螨目 1 科 3 种,占 5.26%,同翅目和真螨目 1 科 2 种,占 3.51%,最后是直翅目、革翅目、缨翅目、脉翅目和中气门目,分别是 1 科 1 目,占 1.75%。遵义市 A 点、百宜镇节肢动物种类最多数量最大,占 57.25%,其次是遵义市 B 点种类和数量占 32.25%,最后是六盘水、毕节市和养殖室,占 10.5%。节肢动物的种类和数量的分布于海拔有关,海拔过高或者过低都会影响节肢动物的种类、数量的分布;温室的种类分布较田间简单。

关键词 贵州省,荞麦,节肢动物,种类,调查

珍稀虎凤蝶属 Luehdorfia 种、亚种地位研究*

苏 杰 ¹ 赖 童 ¹ 周善义 ² 刘兴平 ¹ 叶 清 ^{1,3} 曾菊平 ^{1,3**} (1.江西农业大学林学院,南昌 330045; 2.广西师范大学生命科学院,桂林 541006; 3.江西九连山森林生态系统定位观测研究站,龙南 341701)

珍稀虎凤蝶属 Luehdorfia 种、亚种地位争议较大。本文以文献法、标本记录等方法, 系统采集全球虎凤蝶属种、亚种分类记述与地理发生点数据及其寄主植物(马兜铃科 Aristolochiaceae 细辛属 Asarum 和马蹄香属 Saruma 植物)的地理发生点数据,基于蝴蝶及 其寄主地理分布关系与生态位理论,探讨其种、亚种地位。通过对发生点数据进行逐个整理、 筛选与校正,获得蝴蝶有效发生点 362 个、寄主植物有效发生点 203 个,获知虎凤蝶属各种、 亚种及其寄主地理分布与区域。1.虎凤蝶属地理分布与其寄主植物分布呈协同关系; 2.虎凤 蝶属已记述 6 种 12 亚种,包括中华虎凤蝶 Luehdorfia chinensis (记述指名亚种 L. chinensischinensis、李氏亚种 L. chinensisleei、陕南亚种 L. chinensisshoui 3 亚种),太白虎凤 蝶 L. taibai, 乌苏里虎凤蝶 L. puziloi(记述指名亚种 L. puziloipuziloi、临江亚种 L. puziloilinjiangensis、朝鲜半岛亚种 L. puziloicoreana、本州亚种 L. puziloiinexpecta、北海道亚 种 L. puziloiyessoensis 5 亚种),日本虎凤蝶 L. japonica,周氏虎凤蝶 L. choui 和波氏虎凤蝶 L. bosniackii; 3.中华虎凤蝶与乌苏里虎凤蝶分布广, 具多个地理亚种。太白虎凤蝶与日本虎 凤蝶分布狭窄,前者仅在我国四川、甘肃、湖北与陕西秦岭地区,后者仅在日本; 4.未采集 到波氏虎凤蝶有效发生点: 5.周氏虎凤蝶分布于陕西秦岭以南至湖北地区, 分布区与中华虎 凤蝶李氏亚种、太白虎凤蝶高度重叠: 且周氏虎凤蝶与中华虎凤蝶李氏亚种发生海拔也高度 相似(均以1800~2000 m 为主), 寄主植物均为华细辛 Asarum sieboldii; 6.在秦岭发生重叠 区,太白虎凤蝶在海拔(多为1000~1600 m)、生境(多在山沟、溪流)、寄主植物(马蹄 香 Saruma henryi)上,生态位分化明显; 7.中华虎凤蝶陕南亚种与李氏亚种地理分布重叠明 显(如在秦岭地区),且形态记述无明显差异;8.乌苏里虎凤蝶和日本虎凤蝶地理分布交错 明显,如两者在日本本州生境交错混栖,并存在自然杂交。据此,对波氏虎凤蝶、周氏虎凤 蝶种的地位与中华虎凤蝶陕南亚种的地位提出疑义。鉴于虎凤蝶属蝶种稀有性及其保护价值, 相关的地理分布研究少、质疑多,建议在全球系统开展虎凤蝶属地理分布预测、保护热点与 规划研究和生态位研究以解决其种、亚种地位问题。

关键词 虎凤蝶属,寄主植物,分类地位,地理分布,生态位分化,疑义

^{*}资助项目: 国家自然科学基金(31760640)

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

蝎蛉科(长翅目)系统发育研究*

王吉申 花保祯**

(教育部植保资源与害虫防治重点实验室,昆虫博物馆,植物保护学院,西北农林科技大学,杨凌 712100)

蝎蛉科 Panorpidae 属于长翅目 Mecoptera,由于其雄性外生殖器膨大上举、形如蝎尾,而俗称"蝎蛉"。已知超过 470 个现生种、7 个属,超过长翅目物种数的 60%。广布于全北区和东洋区,多生活于湿润的森林中,对环境要求较严格,可作为生态指示昆虫。成虫由于在交配时具有"献礼"等行为,吸引了许多行为学家的关注。幼虫由于具有复眼,在全变态类昆虫中较为特殊,是研究全变态类昆虫演化的重要材料。蝎蛉科的系统发育研究尚不完善,蝎蛉属 Panorpa 的并系性尚未解决,长腹蝎蛉属 Leptopanorpa 的位置还未明确。

本研究选取蝎蛉科 148 种(包含所有属及种团的代表种)作为内群,拟蝎蛉科Panorpodidae 2 属 3 种作为外群,基于 177 个成虫形态特征,以及 2 个线粒体基因(COI、COII)和 1 个核基因(28S)进行了系统发育分析;并根据分析结果结合地理分布及化石记录,探讨了蝎蛉科起源、演化及扩散的历史。主要的研究结果如下:(1)基于形态特征的系统发育分析肯定了蝎蛉科的单系性,并支持蝎蛉科在基部分为两大支;长腹蝎蛉属 Leptopanorpa 和新蝎蛉属 Neopanorpa 构成支系 1;剩余所有属构成支系 2;长腹蝎蛉属 Leptopanorpa、双角蝎蛉属 Dicerapanorpa、广翅蝎蛉属 Megapanorpa (未发表)、华蝎蛉属 Sinopanorpa 的单系性得到良好支持;新蝎蛉属 Neopanorpa、蝎蛉属 Panorpa 和单角蝎蛉属 Cerapanorpa 均为并系群,需进一步修订;单型属叉蝎蛉属 Furcatopanorpa 位于支系 2 的较基部位置;(2)基于分子数据的系统发育研究基本支持形态特征的结论,但长腹蝎蛉属 Leptopanorpa 的位置不一致;可能需要更多采样以打破"长枝吸引"造成的假象;(3)蝎蛉科起源于劳亚古陆,并主要在东亚地区发生了属级的分化;蝎蛉科昆虫在印度板块与亚欧板块相连后进入印度(ca. 42.1 mya);在图尔盖海峡干涸后进入欧洲(ca. 37.8);至少分两次自始新世 Eocene 从白令陆桥进入北美。

关键词 长翅目,生物地理学,形态学,演化,最大简约法

*资助项目: 国家自然科学基金项目(31172125, 31672341)

**通讯作者, E-mail: huabzh@nwafu.edu.cn

中国长小蠹亚科的分类研究*

赖盛昌 ^{1,2} 廖家新 ¹ 戴小华 ² 段 波 ³ 王建国 ^{1**} (1.江西农业大学农学院,南昌 330045; 2. 赣南师范大学生命科学学院,赣州 341000; 3.云南省热带作物科学研究所,景洪 666100)

长小蠹亚科 Platypodinae 隶属于象虫科 Curculionidae,该亚科全世界现约有 38 属 1500 余种。长小蠹是广泛分布于热带和亚热带地区的钻蛀类食菌小蠹,英文称 Ambrosia beetles, 能在木材中钻蛀隧道、培养真菌作为食物,但同时能传播病原菌致死树木,具有重大经济意 义。在我国的 《中国人民共和国进境植物检疫性有害生物名录》中将长小蠹亚科非中国种 (non Chinese) 列为检疫对象。我国台湾省长小蠹研究相对深入,截止 2007 年记载 5 属 39 种,但大陆长小蠹亚科分类、生物学、生态学和防治等相关研究相对薄弱,种类分布尚不是 很清楚,该亚科此前在我国只有零星记载,中国记载的种类仅有6属20种,制定的长小蠹 亚科检疫对象名录比较模糊,各地林业昆虫普查所采集的长小蠹亚科种类不受重视,且不易 鉴定到种级水平, 因此亟需对我国长小蠹亚科种类进行整理。笔者自 2008 年年开始逐渐积 累长小蠹亚科昆虫样本,在我国江西、福建、海南、云南、广西、山西等多地进行长小蠹野 外标本采集, 并通过交换或受赠等方式获得长小蠹标本, 并收集整理国内外相关资料, 采用 形态鉴定和分子方法相结合的手段,对中国长小蠹亚科种类进行收集和厘定。目前国内长小 蠹亚科的种类已增至40余种,其中包括新记录属2个,新种3个,新记录种10个。发现4 种我国分布的重要长小蠹亚科种类:重新鉴定了上世纪80年代在山西晋城危害山楂的山楂 长小蠹 Platypus contaminatus, 国际重要林业入侵害虫中对长小蠹 Euplatypus parallelus, 日 本有"第二松材线虫"之称的栎枯萎病的媒介昆虫栎长小蠹 Platypus quercivorus,韩国的栎枯 萎病的媒介昆虫韩国长小蠹 Platypus koryoensis 等,此外,在云南橡胶种植区长小蠹的某些 种类还会危害橡胶活树,导致橡胶树枯死,造成经济损失。结果显示,我国长小蠹亚科昆虫 多样性丰富,有大量新的分类单元有待发现,开展该亚科的分类研究,对我国的林业与生态 环境保护有重要意义。

关键词 长小蠹亚科,长小蠹,中国,分类

*资助项目: 国家自然科学基金项目(31360457, 31260116, 31160380); 江西省教育厅项目(GJJ150410); 江西省研究生创新专项资金项目(YC2014-S180); 版纳普洱垦区热带作物病虫害监测与防治 151721301082352710-01

**通讯作者, E-mail: jgwang@jxau.edu.cn

家食甜螨的线粒体基因组测序及分析

蓝杨铭 ¹ 伍 祎 ² 冯士骞 ¹ V áclav Stejskal ³ Radek Aulicky ³ 曹 阳 ² 李志红 ^{1*} (1. 中国农业大学植物保护学院,北京 100193; 2. 国家粮食局科学研究院粮食储运所,北京 100037; 3. 捷克布拉格作物研究所,捷克 999036)

家食甜螨 Glycyhpagus domesticus De Geer 隶属于无气门亚目(Astigmata),食甜螨科(Glycyphagidae),食甜螨属,是一种危害仓储物的世界性害螨,因其个体微小,传统的形态学鉴定无法满足植物检疫及储粮保护等领域的快速鉴定需求。线粒体基因组分子量较小,结构简单、稳定,是目前研究仓储害螨的分子鉴定、系统发育以及群体遗传差异等最有效的方法之一。本研究在成螨形态鉴定的基础上,使用二代测序的方法对采自于捷克的家食甜螨的线粒体基因组进行了建库测序,分析了各个基因重组及排序,在此基础上构建了系统发育树。研究结果表明,家食甜螨的线粒体基因组长度为 14 333 bp,包括 13 个蛋白编码基因,2 个核糖体 RNA 基因,22 个转运 RNA 基因;对比后生动物模式生物的线粒体基因组,其线粒体基因组发生重排;通过 13 个蛋白编码基因和 2 个核糖体 RNA 基因所构建的系统发育树,表明家食甜螨和粉螨科各成一支,说明食甜螨科和粉螨科在分类地位上处于同一水平,符合形态学分类结果。

本研究首次获得了食甜螨科的线粒体基因组全序列,丰富了仓储害螨的分子数据库。将本研究能够为其分子鉴定、系统发育及进化的深入研究奠定基础,同时也能够为仓储害螨的检疫与防治提供科学依据,服务于食品安全管理。

关键词 家食甜螨,线粒体基因组,系统发育,植物检疫,储粮保护

两种寡鬃实蝇属实蝇线粒体基因组序列的测定分析及实蝇 科系统发育关系的研究

张 岳 ¹ 冯士骞 ¹ Lida Fekrat ² Matodzi Khathutshelo ¹ 柳丽君 ¹ 赵紫华 ¹ 李志红 ^{1*}

(1. 中国农业大学植物保护学院,北京 100193; 2. 马什哈德菲尔多西大学农学院,马什哈德 9177948974)

大南瓜实蝇 Dacus bivittatus 和小南瓜实蝇 Dacus ciliatus 隶属实蝇科 Tephritidae 寡毛实蝇亚科 Dacinae 寡毛实蝇族 Dacini 寡鬃实蝇属 Dacus, 主要危害黄瓜、南瓜、西瓜等葫芦科作物,被我国列为进境检疫性有害生物,其高阶元的系统发育关系中存在一定争议。线粒体基因组具有进化速率快、组成稳定、序列易获得等优点,已被广泛用于昆虫的系统发育研究。本研究在形态鉴定的基础上,通过高通量测序技术对采自南非的大南瓜实蝇和伊朗的小南瓜实蝇成虫样品进行了线粒体基因组全序列的测定与分析,并基于已知线粒体基因组序列的13个蛋白编码基因和2个核糖体RNA基因研究了实蝇科的系统发育关系。结果表明,大南瓜实蝇和小南瓜实蝇的线粒体基因组大小分别为15833bp和15808bp,均为典型的环状双链结构,共编码37个基因,包括13个蛋白编码基因(PCGs)、22个转运RNA(tRNAs)和2个核糖体RNA基因(rRNAs);所构建的实蝇科贝叶斯树和最大似然树均支持(鏃果实蝇属 Zeugodacus+寡鬃实蝇属 Dacus)+果实蝇属 Bactrocera 的拓扑结构。本研究在线粒体基因组的水平上证明了鏃果实蝇属 Zeugodacus 与寡鬃实蝇属 Dacus 互为姐妹群关系,进一步支持了将鏃果实蝇属 Zeugodacus 从果实蝇属亚属上升为属的观点。本研究首次获得大南瓜实蝇和小南瓜实蝇的线粒体基因组全序列和结构,对实蝇科种类鉴定、系统发育和进化关系的研究具有重要意义。

关键词 实蝇科,大南瓜实蝇,小南瓜实蝇,线粒体基因组,系统发育关系

黄蚜小蜂属 Aphytis 的系统发育研究*

张正莉 黄 建 张 慧 王竹红** (福建农林大学植物保护学院,福州 350002)

黄蚜小蜂属 Aphytis 隶属膜翅目 Hymenoptera 蚜小蜂科 Aphelinidae, 是介壳虫的重要 寄生蜂, 在蚧类害虫的生物防治中发挥重要作用。本研究对 17 种黄蚜小蜂的 ITS2 rDNA 基因序列进行了分析,分别采用邻接法(NJ)、最大简约法(MP)和贝叶斯法(BI)构建 系统发育树,对各个种团之间的亲缘关系进行了进一步探讨,主要结论如下:黄蚜小蜂属分 为 funicularis 种团、chrysomphali 种团、lingnanensis 种团和 proclia 种团共 4 个种团,还有 4 种未划分种团。在 NJ 树、MP 树和 BI 树中, lingnanensis 种团处于系统发育树的最顶端, 为单系群,且分为 A. lingnanensis 亚种团和 Aphytis sp.1 + Aphytis melinus + A. nr holoxanthus+A. holoxanthus 亚种团。其中, Aphytis sp.1 + (A. melinus + (A. nr holoxanthus+ (A. holoxanthus))) 分支中, A. nr holoxanthus 与 A. holoxanthus 二者亲缘关系很近。 Aphytis sp.1 较 A. melinus 原始, 在树中以很高的支持度(NJ-100%, MP-100%, BI-100%)单独成 支,可以认为是 lingnanensis 种团的不同类群。Chrysomphali 种团不是单系群,包含7个支 系(Aphytis sp.5、Aphytis sp.6、Aphytis sp.7、Aphytis sp.8、A. lepidosaphes、Aphytis sp.9 和 Aphytis sp.10); BI 树很好的呈现了 chrysomphali 种团各类群的关系。proclia 种团也不是单 系群,包含5个支系。funicularis种团的A. gordoni在NJ树、MP树和BI树中都以很高的 支持度(NJ-100%, MP-100%, BI-100%)形成单系群,且靠近树的基部,为 Aphytis 属的原 始类群, A. gordoni 和 proclia 种团的 A. vandenboschi 和 A.nr diaspidis 进化关系很近。funicularis 种团为单系群,虽种类单一,但在3种方法所建的树中都较其它类群原始,且有很高的支持 度。本研究仅基于现有的黄蚜小蜂标本,分析其 ITS2 rDNA 基因序列,新鲜标本数量还有 待于进一步增加,加上 NCBI 库中黄蚜小蜂属的 ITS2 rDNA 序列数量少,因此种团之间系 统发育关系的研究还不完善,至今还有未划分种团的种类。因此,在今后的研究中,一方面 要扩大标本的采集范围,增加样本的丰富度,另一方面要借助更多的分子数据结合形态特征, 完善该属的系统发育研究。

关键词 黄蚜小蜂, 蚜小蜂科, ITS2 rDNA, 系统发育

^{*}资助项目: 国家重点研发计划项目(2017YFE0104900)

^{**}通讯作者, E-mail: wzhuhong@126.com

中国蚜小蜂科亚科和族的系统发育研究*

张正莉 黄 建 王竹红**

(福建农林大学植物保护学院,福州 350002)

蚜小蜂科 Aphelinidae 隶属膜翅目 Hymenoptera, 小蜂总科 Chalcidoidea, 是重要的天 敌昆虫,在害虫生物防治中具重要经济意义。目前该科部分分类单元的划分还比较混乱, 进行深入的系统分类和系统发育研究十分必要。本研究基于蚜小蜂科的 63 个外部形态特 征, 其中包括 1 个整体特征、14 个头部特征、19 个胸部特征、5 个腹部特征、19 个翅特 征和 5 个足特征,以跳小蜂科的 3 种 Thomsonisca typica、Anabrolepis bifasciata 和 Coccidencyrtus sp.为外群,借助 PAUP 4.0b01 系统发育分析软件和 Figtree 1.4.2 树图编辑软 件,运用最大简约法构建系统发育树,对中国已报道的20属55种蚜小蜂进行了亚科和族 的系统发育分析,研究结果将中国蚜小蜂科划分为 6 个亚科(Aphelininae 亚科、Azotinae 亚科、Euryischiinae 亚科、Coccophaginae 亚科、Eriaphytinae 亚科和 Eriaporinae 亚科),且 对亚科进行了族的划分,并对部分属进行重新厘订。具体如下: Aphelininae 亚科分为 Aphytini 族(Aphytis 属、Centrodora 属、Marietta 属、Proaphelinoides 属和 Marlattiella 属)、 Eretmocerini 族 (Eretmocerus 属)和 Aphelini 族 (Aphelinus 属和 Protaphelinus 属)3个族; Eriaphytinae 亚科、Azotinae 亚科和 Euryischiinae 亚科为单型属; Coccophaginae 亚科分为 Coccophagini 族(Coccophagus 属和 Prococcophagus 属)、Physcini 族(Coccobius 属)和 Pteroptricini 族 (Pteroptrix 属、Archenomus 属、Aphelosoma 属、Encarsia 属、Coccophagoides 属和 Prococcophagus 属) 3 个族。Aphelininae 亚科、Azotinae 亚科、Euryischiinae 亚科、 Eriaphytinae 亚科和 Eriaporinae 亚科都有较高的支持度,为单系群; Coccophaginae 亚科是 复系群。Aphelininae 亚科进化最快,在该亚科中 Eretmocerini 族与 Marlattiella 属进化关系 较近; Aphytini 族是复系群, Aphytis 属最进化; Aphelinini 族是单系群, 在 Aphelininae 亚 科中最为原始。Coccophaginae 亚科为复系群, Pteroptricini 族较 Coccophagini 族和 Physcini 族进化, Physcini 族是单系群; Pteroptricini 族和 Coccophagini 族是复系群,建议恢复 Coccophagini 族的 Prococcophagus 属的属级地位。本研究基于蚜小蜂的外部形态特征,运 用支序分析对中国的蚜小蜂科进行系统发育研究,首次对中国蚜小蜂科已描述的各个属进 行了亚科和族的划分,并初步分析了各个类群之间的亲缘关系,为深入研究蚜小蜂科分类 提供了理论依据。但目前由于中国蚜小蜂科仅发现 22 属,数量较少,且某些亚科为单型 属支持, 因此需要更加深入调查采集标本, 增加研究标本数量和形态特征补充, 加上分子 数据分析,尚可全面反映出整个蚜小蜂科的系统发育情况。

关键词 蚜小蜂科,形态特征,支序分析,系统发育

^{*}资助项目: 国家重点研发计划项目(2017YFD0201000)

^{**}通讯作者, E-mail: wzhuhong@126.com

中国腺水螨科分类学研究进展*

王 宇 郭建军**

(贵州大学昆虫研究所,贵州山地农业病虫害重点实验室,贵阳 550025)

腺水螨科 Lebertiidae 隶属于蜱螨亚纲 Acari, 前气门亚目 Prostigmata, 腺水螨总科 Lebertioidea。主要特征为:基节板单群型,Coxae I—Coxae II 残留基节板缝 Y 型,Coxae II—Coxae III 残留基节板缝 V 型; 生殖吸盘 3 对,成 2 纵列排列; 须肢 P-II 腹面有 1 根长毛。 腺水螨科由瑞士学者 Lebert 于 1879 年建立, 1900 年被 Thor 提升为科级单元。由于其鉴别 性形态特征明显,一直以来科、属级分类单元较为稳定明确,亚属级单元经过多次厘定,目 前被普遍认同的是 Gerecke 2009 年提出的 4 属 5 亚属系统: 腺水螨属 Lebertia, 带水螨属 Estellosus, 甲腺水螨属 Scutolebertia, 副腺水螨属 Paralebertia, 其中腺水螨属又分为 5 亚属: 腺水螨亚属 Lebertia, 多毛腺水螨亚属 Pilolebertia, 杂腺水螨亚属 Mixolebertia, 曙腺水螨 亚属 Eolebertia, 伦塔腺水螨亚属 Brentalebertia, 400 余种。分类方面: 中国腺水螨的研究 正式起始于金道超 1994 年,后经郭建军、徐成帅、王佳琳等继续研究,现已报道腺水螨科 1属2亚属14种, 其中多毛腺水螨亚属8种: L. inaequalis Koch, 1837; L. carmamaya Cook, 1967; L. porosa Thor, 1990; L. liangi Jin, 1994; L. ramiseta Jin, 1994; L. trifurcilla Jin, 1997; L. ciliata Jin, 1997; L. extendiaa Wang & Guo, 2016; 腺水螨亚属 6 种: L. fimbriata Thor, 1899; L. pectinata Guo et al, 2005; L. pseudociliata Guo et al, 2005; L. abseta Guo, 2013; L. cylinderia Wang & Guo, 2016; L. pseudomaglioi Wang & Guo, 2016。系统发育方面:郭建军&金道超、 徐成帅&郭建军等先后利用 Hennig86、PAUP4.0 中最大简约法(MP)及邻位相连法(NJ) 等分析了腺水螨科亚科、属、亚属的系统发育关系,提出了2亚科、3属、8亚属的系统发 育关系。中国地域辽阔,水体类型多样,腺水螨种类丰富,未来中国的腺水螨物种记述仍然 是主要工作内容。同时生物各领域新型技术的引入也必将给分类学带来巨大变革,为传统分 类学带来巨大便利,特别是分子生物学中的高通量测序,极大推动了分类学的发展。腺水螨 的分类学研究也必将由目前的形态鉴定向分子系统方向发展。

关键词 水螨, 腺水螨科, 分类学, 研究进展, 综述

*资助项目: 国家自然科学基金(31372161)

**通讯作者,E-mail: jjguo@gzu.edu.cn

昆虫生态

大豆田间节肢动物群落调查取样方法的比较研究*

李悦铭 史树森**

(吉林农业大学农学院,大豆区域技术创新中心,长春 130118)

为了明确不同取样法对农田节肢动物群落结构特征研究结果的影响。本文以大豆田间节肢动物群落为对象,采用网捕取样法、吸虫机取样法、定点定株取样法、黄盘诱集取样法、陷阱杯诱集取样法等五种取样方法进行大豆田间节肢动物群落系统调查,通过比较不同取样方法所得样本进行节肢动物群落结构特征分析结果的差异性和相似性,以明确各取样方法的优劣与可替代性。结果显示:(1)5种取样方法样本均不能很好地评价大豆田总体群落的物种丰富度,其指数比较如下:网捕法>吸虫机法>黄盘诱集法>陷阱杯诱集法>定点定株法;(2)除定点定株取样法外,其余4种方法分析大豆田节肢动物群落物种多样性指数与总体群落无显著差异,均可较好地代表豆田节肢动物总体群落多样性;(3)5种取样方法均匀度指数无显著差异,均可代表大豆田总体群落的物种均匀度,其指数比较如下:黄盘诱集法>吸虫机法>陷阱杯诱集法>网捕法>定点定株法;(4)5种取样方法评价群落结构特征相似性分析结果:网捕法取样与吸虫机法取样分析结果最相似;定点定株法与陷阱杯取样法取样的结果较相似,与其它3种取样法群落群落特征相差较大。网捕法是明确群落物种丰富度的最佳取样法,网捕法与吸虫机法可以互相替代。各种取样方法各有优缺点,因此,在调查研究农田节肢动物群落特征时,应根据研究目的的不同来选择某种或几种不同方法进行组合取样。

关键词 取样方法,物种丰富度,物种多样性,物种均匀度,群落结构,相似性分析

*资助项目: 国家现代农业产业技术体系(CARS-04)

**通讯作者, E-mail: sss-63@263.net

温度对茄无网长管蚜无性世代生长发育的影响*

李新畅 史树森**

(吉林农业大学农学院,长春 130118)

茄无长管网蚜 Acyrthosiphon solani 是茄科蔬菜等农作物的重要害虫。为明确环境温度 对茄无网长管蚜虫生长发育、存活、繁殖的影响,本试验设置 16、19、22、25、28 和 31℃ 共 6 个温度梯度,采用叶子圆片法,利用大豆叶片进行单头饲养。结果显示,在 16~25℃范 围内, 茄无网长管蚜可正常发育, 且各个龄期随着温度的升高而逐渐缩短, 不同温度处理间 有显著差异,发育速率与温度呈显著正相关。在 28℃下, 茄无网长管蚜可以发育至成虫, 但不能孤雌繁殖:在 31℃下,若蚜不能正常发育至成虫。利用直线回归法统计茄无网蚜无 性世代的发育起点温度及有效积温,各龄若蚜发育起点温度为1龄9.87℃,2龄13.24℃,3 龄 7.85 °C , 4 龄 6.58 °C , 全若蚜期为 9.46 °C , 成虫期发育起点温度为 15.56 °C , 茄无网长管 蚜各虫态完成发育需要一定的有效积温,1龄33.58日•度,2龄36.01日•度,3龄29.36日• 度,4龄26.47日•度,全若蚜期为95.78日•度,产蚜前期27.85日•度,成虫期95.78日•度, 完成一个无性世代所需要的有效积温为 289.60 日•度。茄无网长管蚜 16℃时存活率最高,其 次为 19 \mathbb{C} 和 22 \mathbb{C} , 28 \mathbb{C} 存活率较低且存活时间最短, 不能完成无性世代。随着温度的增加, 茄无网长管蚜成蚜产蚜量呈先急剧增加后缓慢减少的趋势,不同温度条件下产仔量有显著差 异。22℃条件下单雌平均日产仔量最高,为3.87头,其次是25℃,单雌日产仔量为3.46头。 成虫寿命随着温度升高逐渐降低。25℃成虫寿命最短,为13.88 d;16℃成虫寿命最长为26.83 d。 茄无网长管蚜种群生命表参数分析表明,其世代周期 T 随温度的升高而缩短,净增殖率 R_0 随着温度升高依次降低,内禀增长率 r,, 随温度的升高而增大;种群加倍时间与内禀增长率 的变化规律正相反。该试验结果为茄无网蚜虫预测预报及综合防控技术研究提供了科学依据。 关键词 茄无网长管蚜,发育历期,发育起点温度,有效积温,存活曲线,生命表

^{*}资助项目: 国家现代农业产业技术体系(CARS-04)

^{**}通讯作者, E-mail: sss-63@263.net

汉江中游流域黏虫世代特点分析*

常向前 1 吕 亮 1 雷朝亮 2 张 舒 1***

(1.湖北省农业科学院植保土肥研究所/农业部华中作物有害生物综合治理重点实验室/农作物重大病虫草 害防控湖北省重点实验室,武汉 430064; 2.华中农业大学,武汉 430070)

黏虫 Mythimna separata 是为害禾本科作物的重大迁飞性害虫。汉江中游流域是湖北小麦、玉米等旱作的主产区,是黏虫的常年发生地,也是全国发生黏虫的重要虫源地之一。随着湖北玉米种植面积的扩大,黏虫种群动态发生变化,需要摸清此区域黏虫世代发生的新特点,为黏虫的预测报及防控提供参考。2012—2017年,连续6年在汉江中游的中部地区湖北省宜城市利用糖醋液、频振式杀虫灯结合田间取样调查了黏虫种群的发生动态。

调查发现: 越冬代成虫峰期出现在 2 月中下旬至 3 月底,最早始见期为 2017 年 2 月 14 日,最晚为 2015 年 3 月 10 日。1 代幼虫出现在 4 月至 5 月上旬,1 代成虫峰期为 5 月中旬至 6 月底,2、3 代成虫几乎为零。但 2017 年为特殊年份,7 月底至 8 月初出现 2 代成虫峰期、9 月出现少量的 3 代黏虫。宜城 1 月平均温度为 2.1~6.7℃,日最低温平均温度为-1~0.9℃,但其温度指标与此地成虫的始见期及累积虫量没有明显的相关性,温度不足以影响此地黏虫越冬,根据调查结果推测汉江中游流域可能为黏虫常年越冬地,蛹及成虫均可越冬;4 月份为 1 代黏虫幼虫期,此时温度适宜黏虫生长,小麦处于抽穗、扬花期,幼虫大量发生,严重为害小麦,故 4 月为控制黏虫的关键时期;5 月中下旬至 6 月中上旬为 1 代粘虫成虫高峰期,此后 2、3 代黏虫幼虫量及成虫量均稀少,没有明显成虫峰期,但 2017 年出现明显的 2 代成虫峰期。2017 年 7 月日最高温平均温度为 34.23℃,比常年高 1.4~2.8℃,日均温度为 30.05℃,比常年高 1.3~2.9℃,日最高温度显然不利于黏虫生长,但并没有明显抑制黏虫的种群数量,说明需要探索温度之外的种群影响因子。

关键词 Mythimna separata,种群动态,温度,世代

*资助项目: 公益性行业科研专项(201403031); 国家重点研发计划项目(2016YFD0200807) **通讯作者, E-mail: ricezs6410@163.com

保水剂对台湾乳白蚁觅食行为的影响

谢沁希 熊鸿鹏 秦文权 温秀军 孙朝辉 王 偲* (华南农业大学,林学与风景园林学院,广州 510642)

食物和土壤的水分条件对土栖性白蚁的生存和觅食活动有极为重要的影响。保水剂(高分子吸水性树脂)是一种能吸收保存大量水分的材料。我们假设保水剂可以增加白蚁诱饵及其周围土壤的湿度,因此吸引白蚁觅食并增加取食量。在本研究中,分别设置以下两种实验:在较干(27%湿度)或较湿(54%湿度)土壤基质条件下,把保水剂埋入土壤中或填入诱饵盒的空隙中(塑料圆盒,内含木块,白蚁通过盒壁上的孔洞进出诱饵盒),以测试保水剂对台湾乳白蚁 Coptotermes formosanus Shiraki 的聚集和取食选择、存活率、体含水量和木材取食量的影响。选择试验表明,当保水剂埋在较干的土壤中,白蚁更倾向于取食埋有保水剂的土壤上的木块。而在较湿基质条件下,是否包埋保水剂对白蚁的觅食行为则无显著影响。此外,无论是较干或较湿基质条件下,相比填充土壤或未填充的诱饵盒,白蚁并不选择聚集在填充保水剂的诱饵盒中取食。非选择试验则表明,在较干基质条件下,无论是将保水剂包埋在土壤中或填充进诱饵盒里都显著增加了白蚁体含水量和取食量,同时也提升了木块湿度。我们的研究表明,将保水剂埋入土壤中可以提高白蚁的觅食行为,但用其填充诱捕器则可能不能有效地吸引白蚁。

关键词 台湾乳白蚁,选择试验,觅食行为,湿度,保水剂

*通讯作者, E-mail: wangcai@scau.edu.cn

稻田水生昆虫多样性及其保护策略*

刘雨芳 杨 荷 刘文海

(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)

稻田是一类重要湿地, 其中生存着较大的水生昆虫物种丰富度与个体数量, 他们在维护 稻田生态系统的生态功能平衡与稳定性方面发挥着重要作用。但目前缺少对稻田水生昆虫多 样性及其保护策略的研究文献。本文通过对中国南方主要稻作区的稻田水生昆虫多样性研究, 并比较研究稻田直接施用化学杀虫剂与间接施用植物源杀虫剂(种植转 Bt 水稻)对稻田水 生昆虫群落的影响,揭示稻田水生昆虫的群落组成与结构、数量发生特征,及与水稻生长的 相关性,揭示化学杀虫剂与植物源杀虫剂对稻田水生昆虫的毒杀特点,寻找稻田水生昆虫保 护策略。我们的研究发现稻田水生昆虫群落主要由双翅目、蜉蝣目、蜻蜓目、半翅目与鞘翅 目等水牛类昆虫组成,稻田水牛昆虫的个体数量最大发牛量在水稻牛长前期,水稻牛长的中 期与后期数量较低。稻田水生昆虫食性多样,既有植食性、腐食性、杂性食性昆虫,也有大 量的捕食性昆虫, 他们通过蜘蛛等的捕食与陆地食物链交汇形成食物网, 作为稻田生态系统 中的重要资源补贴,水生昆虫在稳定稻田食物网、维持稻田水体生态功能中发挥着重要的作 用。稻田施用化学杀虫剂与种植 Bt 稻释放植物源杀虫剂,对稻田水生昆虫群落的影响存在 较大差异。 化学杀虫剂明显影响稻田水生昆虫群落的结构与组成, 显著地减少水生昆虫的个 体数量(特别是优势种水生昆虫数量)与物种丰富度。化学杀虫剂对稻田水生昆虫的这种毒 杀作用主要表现在水稻生长前期。种植转 Crv1Ac/Ab 基因 Bt 稻作为植物源杀虫剂,对稻田 水生昆虫没有明显的毒杀效果,对水生昆虫群落结构,如群落组成与物种丰富度、个体数量、 优势种、多样性指数等均与常规对照稻没有显著差异。其田间生态安全性等同于常规对照稻。 研究建议减少水稻生长前期的化学杀虫剂施用量与施用次数,或利用生物技术新品种 Bt 稻, 保护稻田水生昆虫多样性。

关键词 水生昆虫多样性,稻田,保护策略

*资助项目: 国家重点研发计划(2017YFD0200400)

土壤或黏土填充对白蚁取食行为的影响

熊鸿鹏 秦文权 温秀军"王 偲*

(华南农业大学林学与风景园林学院,广东省森林植物种质创新与利用重点实验室,广州 510642)

诱饵法是防治白蚁的常用方法之一,在设置诱饵防治白蚁过程中我们发现,白蚁通常 会将地下的土壤或黏土运送到诱饵装置中,但这一行为的生物学意义尚不清楚。本研究旨在 探索白蚁填充土壤或黏土对其取食行为的影响。实验采用多项选择和非选择实验,将诱饵盒 (盒中放一松木块作诱饵) 周围的土壤设置为两种湿度(中等或者较低),研究白蚁在不同 土壤湿度下,对诱饵空腔被土壤(沙质黏壤土)、黏土(膨润土)填充和未填充诱饵的选择 及其对白蚁取食行为的影响因素。在选择试验中,将土壤、黏土填充以及未填充的诱饵放入 同一圆盒中,分别比较两种白蚁对不同填充或者未填充诱饵的选择。结果表明,当诱饵周围 土壤的水分含量较低时,黏土填充的诱饵吸引的白蚁显著多于土壤填充以及未填充的。然而, 当诱饵周围土壤的水分含量为中等时,装满土壤或黏土的诱饵盒中聚集的白蚁数量没有差异, 但两者显著高于未填充诱饵盒内白蚁的数量。 在非选择试验中,将土壤、黏土填充,或者未 填充的诱饵分别放入盒中。通过比较发现,在含中等水分的土壤中,黏土填充的诱饵盒内台 湾乳白蚁的存活率和木材的被取食量显著高于低水分土壤的。此外, 黏土显著提高了台湾乳 白蚁的含水量,说明在较为干燥的环境中,黏土可以为白蚁提供一个比较湿润的环境,利于 其生存。本研究增强了对白蚁填充诱饵空腔这一行为的理解,有助于改善白蚁的诱捕方法, 例如,在设置诱饵时,可以在诱饵空腔中人为填充土壤或黏土,提高引诱白蚁的几率,从而 增强白蚁防治的效果。

关键词 台湾乳白蚁,取食行为,填充,湿度,广州散白蚁,白蚁诱饵

*通讯作者, E-mail: wangcai@scau.edu.cn; wenxiujun@scau.edu.cn

橘园3种杂草对柑橘木虱存活及其传播黄龙病的影响*

卢慧林 欧阳革成**

(广东省生物资源应用研究所,广东省动物保护与资源利用重点实验室,广东省野生动物保护与利用公共 实验室 510260)

柑橘木虱 *Diaphorina citri* 是毁灭性病害黄龙病 huanglongbing 的媒介,其寄主范围仅为 芸香科内的一些植物,因此,目前对柑橘木虱和黄龙病的监测和防控范围仅限于芸香科植物。但近期发现,在非人工干扰情况下,柑橘木虱成虫会停留在茄科杂草龙葵(*Solanum nigrum*)上。龙葵为柑橘园常见杂草,另有两种常见杂草为菊科植物藿香蓟 *Ageratum conyzoides* 和 假臭草 *Eupatorium catarium*。本文为了验证 3 种杂草对柑橘木虱存活及其传播黄龙病的影响,测试了木虱成虫栖居于其上的存活时长及存活期间带菌木虱带菌率的变化。

木虱成虫最长存活时间受季节温度的影响,夏季高温 7月(气温 35 ℃左右)测试,其在藿香蓟上最长存活 49 d,龙葵 15 d,假臭草 12 d,冬季(气温 20 ℃左右)测试时龙葵上有 48 d,假臭草 24 d;带菌木虱释放前,其带菌抽样测定平均 Ct 值为 30.50,将其释放于健康柑橘、龙葵、假臭草和藿香蓟上,一周后抽样测定(假臭草上木虱全部死亡),柑橘、龙葵和藿香蓟上的平均 Ct 值分别为 29.9、29.08、28.60,两周后的平均 Ct 值分别为 29.06、28.73、27.87,各植物两次测定结果相比无显著性差异。此结果显示,带菌木虱在杂草龙葵和藿香蓟上存活时长均超过 14 d,且其取食杂草后,并未影响其带菌率,其传播黄龙病的能力也并未减弱。实验中,藿香蓟和龙葵均未测出黄龙病菌,但长期生长(至少 6 个月)在带菌木虱下的龙葵,被测出黄龙病,其 Ct 值为 30 左右。由此可知,橘园杂草对柑橘木虱的存活和黄龙病的传播有非常重要的影响,也有助于木虱躲避不良环境(如越冬、施药,特别是目前农药残效期缩短的情况下)和长距离迁移扩散,从而影响到对柑橘木虱的准确检测和有效防治,因此为严格控制柑橘木虱,清除橘园附近柑橘木虱的其它适生植物非常重要。

关键词 柑橘木虱,龙葵,藿香蓟,假臭草,存活时长,带菌率

*资助项目: 国家自然科学基金(31572013); 广东省科学院科技发展专项(2017GDASCX-0107) **通讯作者, E-mail: 18922369378@189.cn

橘小实蝇肠道及生殖系统内生菌多样性研究*

胡凯平 李小珍 王建国**

(江西农业大学入侵生物实验室, 南昌 330045)

近年来,越来越的多的昆虫研究者开始研究昆虫内生菌的多样性及其功能。本文采用 16S 微生物多样性测序技术,研究橘小实蝇肠道及生殖系统内生菌群,以期明确橘小实蝇 Bactrocera dorsalis (Hendel)内生菌菌群组成及其多样性差异,为之后探讨昆虫内生菌的功能以及内生菌与昆虫之间的作用关系提供重要的参考资料。

对采自江西省赣州市的橘小实蝇成虫进行解剖,提取肠道和生殖系统内含物。应用 16SrRNA 扩增子技术对可变区域 V3-V4 进行扩增测序。测序获得 121960 条高质量序列 (Clean Tags),平均长度为 465 bp。稀释曲线表明数据测序量足够大,足以覆盖样品中大部分微生物信息。 橘小实蝇 Bactrocera dorsalis (Hendel) 肠道及生殖系统中存在大量内生细菌,每个样品中拥有不低于 3000 OUTs,且在微生物群落中,以 Proteobacteria (变形菌门) (70%-90%)为主,其次为 Firmicutes(厚壁菌门)、Bacteroidetes(拟杆菌门)和 Actinobacteria (放线菌门)。橘小实蝇肠道和生殖系统内优势菌属为: Enterobacter(肠杆菌属)(15%-30%)、Vagococcus(周游球菌属)(1%-15%)、Escherichia-Shigella (大肠杆菌-志贺菌属)(2%-8%)、Kluyvera (克吕沃氏菌属)(4%-20%)和 Commensalibacter (2%-20%)。 在橘小实蝇成虫阶段,生殖器内生菌比肠道内生菌更丰富。本实验丰富了橘小实蝇体内内生菌的研究,为探究昆虫内生菌提供了理论依据。之后将进一步研究橘小实蝇各内生菌在体内发挥的作用和功能,及各虫态体内内生菌的组成及多样性。

关键词 橘小实蝇,肠道,生殖系统,16SrRNA技术,内生菌,多样性

*资助项目: 国家自然科学基金(31560516)

**通讯作者, E-mail: jgwang@jxau.edu.cn

温湿度对赤拟谷盗成虫飞行能力的影响

王欠欠 1 周国磊 2 张 涛 3 曹 阳 3 邵小龙 1

(1. 南京财经大学食品科学与工程学院,南京 210023; 2. 河南工业大学粮油食品学院,郑州 450001; 3. 国家粮食局科学研究院,北京 100037)

为明确温度和湿度对赤拟谷盗成虫飞行能力的影响,了解赤拟谷盗迁飞生物学、生态学特征,进一步提高对赤拟谷盗的监测预警和综合防治水平。本研究利用昆虫飞行磨分别测定了赤拟谷盗雌、雄成虫在 23℃、26℃、29℃、32℃和 35℃ 5 个温度和 45%、65%和 85% 3 个湿度条件下的飞行距离、时间和速度等反应昆虫飞行能力的参数。 单次飞行距离、单次飞行时间、单次飞行速度、24 h 累计飞行距离和累计飞行时间分析结果表明,温度为 32 ℃时,赤拟谷盗雌成虫的单次飞行距离、飞行时间、飞行速度、24 h 累计飞行距离和飞行时间分别为 0.925 m、9.616 s、0.023 m/s、0.979 km 和 2.886 h;雄成虫的单次飞行距离、飞行时间、飞行速度、24 h 累计飞行距离和飞行时间、飞行速度、24 h 累计飞行距离和飞行时间分别为 0.638 m、6.035 s、0.014 m/s、0.674 km 和 3.175 h。在相对湿度 45 %、65 %和 85 %时,雌成虫的飞行时间分别为 6.998 s、9.616 s 和 6.431 s;雄成虫的飞行时间分别为 3.163 s、6.035 s 和 0.208 s。飞行速度与相对湿度的关系与飞行时间相似。环境温度和湿度对赤拟谷盗雌、雄成虫的飞行能力有显著影响,环境温湿度过高或过低均不利于赤拟谷盗雌、雄成虫飞行能力有显著影响,环境温湿度过高或过低均不利于赤拟谷盗雌、雄成虫飞行;32℃、65%湿度条件下,赤拟谷盗雌、雄成虫飞行能力最强;雌虫的飞行能力优于雄虫。

关键词 赤拟谷盗,温度,湿度,飞行磨,飞行能力

珍稀蝶种金斑喙凤蝶对常绿阔叶林(EBLF)的适应与特化研究:以九连山种群为例*

曾菊平 ^{1,2**} 朱祥福 ^{2,3} 林宝珠 ^{2,3} 陈伏生 ^{1,2} 周善义 ⁴

- (1. 江西农业大学林学院, 南昌 330045; 2. 江西九连山森林生态系统定位观测研究站, 龙南 3417014;
- 3. 江西省九连山国家级自然保护区管理局, 龙南 341701; 4. 广西师范大学生命科学院, 桂林 541004)

自然选择与适者生存理论认为: 生物是在自然选择作用下, 通过顺应部分环境而开发出 自身生境,成为适者,繁衍生息。位于欧亚大陆东南部的亚热带常绿阔叶林(Evergreen broad-leave forest, EBLF) 是新生代第三纪初期(甚至中生代白垩纪)残遗第三纪型森林, 历经 6000 万~1 亿年,繁衍发展成为湿润亚热带顶极群落,生物多样性丰富,尤其孕育大量 昆虫地方种、特化种。研究昆虫顺应 EBLF 的方式、特点,有助于理解该区昆虫物种演化。 金斑喙凤蝶 Teinopalpus aureus 依赖 EBLF 繁衍生息,但有关其适应性鲜有研究。本研究以 金斑喙凤蝶九连山种群为例,通过长期野外踏查、半自然饲养观察获取数据,从生活史策略、 幼虫发育与体色/斑纹变化、成虫行为、寄主与生境选择等方面,研究金斑喙凤蝶顺应 EBLF、 开发出自身生境、成为特化者的过程与相关事件。研究发现:(1)金斑喙凤蝶生活史策略形 成是适应其木兰科寄主植物与 EBLF 季节变化的结果。如蝴蝶生长发育季与其寄主植物(金 叶含笑 Michelia foveolata、深山含笑 M. maudiae) 生长季(包括花期、展叶期、果期等) 相 匹配,且都受 EBLF 的温度、降水季节分布(如干湿季分布)影响。而与附近的龙南县、连 平县(非 EBLF 区)对比发现,仅 EBLF 在时间上能很好地匹配、满足成虫飞行活动期的温 度需求(17-24℃);幼虫各龄期发育指数(头壳宽、体长、取食量等)均符合指数增长模型, 增速在 3 龄后尤其显著,而此时幼虫体色/斑纹变化(如颜色拟态)与寄主绿叶相匹配,进 入 5 龄颜色拟态最好;(2)金斑喙凤蝶生境与寄主选择策略受木兰科 Magnoliaceae 植物与 寄主资源分布影响,而后者发生受限于 EBLF,是其重要组成之一。用 Wilcox 检验木兰科 植物占据斑块(11个)与非占据斑块的16个生境指标,发现11个差异显著(包括平均海 拔高度、腐殖层厚度、平均胸径、平均树高、平均树龄、硬阔类比重、软阔类比重、活立木 蓄积量、枯立木蓄积量、林木平均蓄积量、植被覆盖度),均显著高于非占据斑块。同样地, 比较寄主与非寄主木兰科植物,发现寄主资源明显趋向于高海拔、陡坡分布,且资源量补给 更好(苗木数量多);(3)RAD分析表明:金斑喙凤蝶活动范围受限于寄主资源分布,尤其 受海拔高度(正向)、软阔类比重(负向)与植被覆盖度(负向)影响,而植被覆盖度可能 主要与成虫山顶行为有关。基于以上,可知金斑喙凤蝶在 EBLF 生态系统的长期选择下,其 生活史、生境与寄主选择,已形成专门策略,成为 EBLF 的特化适应蝶种。因而,努力维持 或恢复 EBLF 生态系统健康、完整,即可满足金斑喙凤蝶生境需求,保护该珍稀蝶种。反之, 也可以金斑喙凤蝶为旗舰或指示物种,监测其分布、种群变动,以此快速评价 EBLF 生态系 统保护与生物多样性恢复的质量。

关键词 金斑喙凤蝶, 木兰科, 生活史策略, 寄主植物, 常绿阔叶林, 适应与特化

^{*}资助项目: 国家自然科学基金(31760640: 31160430)

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

光周期、温度、世代和生殖方式对樟叶蜂滞育的影响*

徐川峰 1,2 石昊妮 1,2 殷立新 2,3 周嘉颖 1,2 刘兴平 1,2**

(1. 江西农业大学林学院,江西特色林木资源培育与利用 2011 协同创新中心,南昌 330045; 2. 鄱阳湖流域森林生态系统保护与修复国家林业局重点实验室(江西农业大学),南昌 330045; 3. 江西省南昌市湾里区林业局,南昌 330004)

在过去的几十年中,对于昆虫的滞育诱导因素一直是人们关注的焦点。当前大多数研究 所探讨的是光周期和温度对昆虫滞育的影响,而作为影响昆虫生长发育的其它重要因子如世 代和生殖方式等对滞育影响的相关研究相当匮乏。本实验以具有滞育特性的樟叶蜂 Mesoneura rufonota Rohwer为实验材料,以光周期、温度、世代和生殖方式为影响因子,根 据滞育率的大小研究了不同影响因子对樟叶蜂滞育的影响。其中,光周期、温度和生殖方式 实验中采用第二代樟叶蜂作为试验材料。研究表明:(1)樟叶蜂在25℃恒温条件下表现为明 显的长日照反应型,临界暗长为10时15分;光周期敏感龄期为2龄幼虫。(2)在20、22、25℃ 恒温条件下,樟叶蜂的滞育率随着温度的升高而降低; 当温度升高到28℃时,滞育率又开始 上升, 但在较长的暗长条件下的滞育率较低于25℃。(3) 与两性生殖种群后代相比, 孤雌生 殖种群后代的滞育率时高时低;但总体来看,两者之间差异并不大,且均没有表现为明显的 长日照反应。(4) 在22℃恒温和室内自然环境的条件下, 樟叶蜂第一代大多数光周期下的滞 育率均低于50%,而第二代的滯育率均高于80%,自然条件下饲养的个体全部滯育。通过多 重线性回归分析得出,对樟叶蜂滞育的影响效果大小依次是世代>温度>暗长>生殖方式。 光周期、温度、世代和生殖方式均能影响樟叶蜂的滞育率。与多数昆虫相似,光周期和温度 均能影响樟叶蜂的滞育率。然而,本研究发现世代对于该虫滞育的影响是最大的。虽然两种 生殖方式后代之间的滞育率无明显差异, 但两者均不表现出长日照反应, 并且在长光照下的 滞育率较自然种群有所升高。对于世代和生殖方式影响滞育的内在机理仍然有待于进一步的 研究。

关键词 樟叶蜂,光周期,温度,世代,孤雌生殖,两性生殖,滞育

^{*}资助项目: 国家自然科学基金(NSFC 31000173, 31360092)

^{**}通讯作者, E-mail: xpliu@jxau.edu.cn

熊蜂蜂王交尾后饲喂时间对滞育存活及建群的影响*

刘 冬 何晓庆 方美娟 王玉波**

(河北省农林科学院旱作农业研究所, 衡水 053000)

熊蜂 Bombus terrestris 属于膜翅目 Hymenoptera, 蜜蜂总科 Apoidea 昆虫,具有较强的适应性,能够为多种野生植物和农作物授粉。自上世纪八十年代熊蜂为温室番茄授粉的价值被发现以来,就开始被商业化人工繁育。滞育贮存蜂王是人工繁育熊蜂中一个十分重要的环节,蜂王经过滞育贮存后通常存在较高的死亡率,滞育期间蜂王用以维持生命所需的营养均是在进入滞育前通过取食获得。本研究旨在明确蜂王交尾后至滞育贮存前的饲喂环节是否对蜂王滞育存活及解除滞育后蜂王建群存在影响。研究设置不同饲喂时间处理(0、7、14、21d),比较蜂王滞育存活率及建群率。各处理蜂王 200 头,在 25.0±1.0℃,60±5% RH,光照全黑暗环境中饲喂;滞育贮存环境为 2.5±1.0℃、70±10%RH,光照全黑暗;建群期间饲养环境 28.0±1.0℃,60±5%RH,光照全黑暗。结果表明,随着饲喂时间增加,蜂王饲喂期间死亡率逐渐增加,各处理蜂王死亡率依次为 0、16.1%、21.5%、29.1%;滞育后存活率逐渐降低,各处理蜂王存活率依次为 74.4%、67.8%、50.6%、40.6%;解除滞育后蜂王建群率逐渐降低,各处理蜂王建群率依次为 28.0%、22.4%、20.2%、4.0%。

以上结果表明,蜂王的滞育存活率和建群率均随交尾后至滞育前饲喂天数的增加而降低。因此,在人工繁育熊蜂的过程中,蜂王交尾后应缩短滞育前的饲养时间,以提高蜂王滞育后的存活率及建群率。

关键词 熊蜂,饲喂,滞育,建群

*资助项目:河北省农林科学院科技创新工程项目(F18R06002)

**通讯作者, E-mail: wybnky@126.com

不同温度条件下二斑叶螨在两种寄主植物上的生长发育*

方美娟 李 梦 2 何晓庆 1 刘 冬 1 马雪可 3 王玉波 1**

- (1. 河北省农林科学院旱作农业研究所,河北省农作物抗旱研究重点实验室,衡水 053000;
 - 2. 河北省农林科学院,石家庄 050000; 3. 河北农业大学植物保护学院,保定 071000)

评价甘薯和菜豆两种寄主植物对二斑叶螨的适合度。在恒温 15 ℃、20 ℃、25 ℃、30 ℃ 以及变温 15 ~30 ℃温度条件下用甘薯和菜豆叶片饲养二斑叶螨,比较其存活率、发育历期、以及实验种群生命表参数。二斑叶螨在两种寄主植物上生长发育情况如下:除恒温 15 ℃外,二斑叶螨的存活率均表现为甘薯高于菜豆;二斑叶螨在变温 15 ~30 ℃ (P<0.05) 和恒温 15 ℃ (P<0.05)、25 ℃ (P<0.01) 条件下,在菜豆上未成熟期高于甘薯,其余温度条件下二者差异不显著 (P>0.05);二斑叶螨在 25 ℃温度条件下甘薯上内禀增长率 (r_m) 、净增殖率 (R_0) 、周限增长率 (λ) 高于菜豆 (P<0.05),种群加倍时间 (t) 低于菜豆 (P<0.05),其余温度条件下二者差异不显著 (P>0.05)。二斑叶螨在甘薯上不同温度条件下生长发育情况:在不同温度条件下二斑叶螨存活率有差异,15 ℃时二斑叶螨存活率曲线偏向于 1 型,其它温度条件下,二斑叶螨的存活率偏向于 1 型;不同温度条件下二斑叶螨在甘薯上未成熟期依次为 15 ℃ 20 ℃ 25 ℂ 25

关键词 二斑叶螨,寄主植物,温度条件

*资助项目:河北省农林科学院创新工程项目(F18C10001)

**通讯作者, E-mail: wybnky@126.com

大麦和小麦上麦长管蚜的种群分化和适应性分析*

王 达 翟颖婷 刘德广**

(西北农林科技大学植物保护学院,杨凌 712100)

麦长管蚜 Sitobion avenae (Fabricius)是一种世界性害虫,也是我国小麦上的优势种。 该虫能危害各种麦类作物,生活史复杂。不同寄主植物特别是小麦和大麦的自然选择能导致 该虫的种群分化,并能产生一定程度的寄主专化性。但相关研究较少且尚不深入。因此,从 青海、甘肃、湖北、河南、江苏、浙江、新疆等多个省区的大麦和小麦采集了麦长管蚜样品, 并基于微卫星分子标记、生活史性状分析等对这些种群进行深入比较。用 6个微卫星(SSR) 分子标记(即 Sm10、Sm12、Sm17、Sa4Σ、S5.L 和 S17b)进行了基因型鉴定,基于这些分 子标记的遗传分化结果表明,同一地方小麦和大麦上的麦长管蚜种群间存在明显的基因交流, 但两者在统计上有显著的遗传分化。各地种群间的基因流明显, 但具不对称性和单向性。各 测试种群在转寄主前后的生活史特征发生显著改变,说明不同寄主来源种群呈现一定程度的 分化。不同基因型麦长管蚜的寿命、各虫龄发育历期、若虫总发育历期、成虫体重在大麦、 小麦不同品种上的表现也均有区别。不同麦长管蚜基因型在大麦、小麦等寄主上的生活史性 状(如1~4龄若虫发育历期等)表型可塑性大小存在明显差异。该虫不同基因型的表型可塑 性与适应性指数之间呈密切相关关系,说明可塑性可能是该虫对特定寄主适应性进化中的副 产品。测定了不同基因型麦长管蚜在36个小麦和25个大麦品种(或材料)的生活史及行为 表现,已鉴定出不同麦长管蚜生物型6个。不同寄主植物上麦长管蚜体内的乙酰胆碱酯酶与 解毒酶活力不同,不同基因型麦长管蚜转寄主前后体内解毒酶活力的变化也不相同。这说明 解毒酶在麦长管蚜生物型进化中可能发挥重要作用,也说明需要进一步的深入研究探讨该虫 生物型进化的分子机制。

关键词 麦蚜,生活史性状,遗传分化,微卫星,生物型

*资助项目: 国家自然科学基金(31572002)

**通讯作者, E-mail: dgliu@nwsuaf.edu.cn

亲代温度对螟黄赤眼蜂滞育的影响

周淑香 鲁 新* 李丽娟 张国红 常 雪 丁 岩 (吉林省农业科学院植物保护研究所,公主岭 136100)

亲代效应在昆虫中普遍存在,它是从亲代继承的一种非遗传效应,能增加子代对即将出现的可预测环境变化的适应性,在自然种群进化过程中起重要作用。一般而言,亲代经历的短光照、低温和寄主资源缺乏等,预示着环境条件的改变,能促使亲代产下更多的滞育子代。如广赤眼母代经历短光照,能产生高比率的滞育幼虫,但若将雌蜂饲养在较高温度时,其子代幼虫的滞育率就下降(Zaslavsky and Umarova,1982)。可见,亲代经历的高温条件能部分抵消其所经历的短光照的影响,对广赤眼蜂来说,高温可能有利于其正常发育,而使子代幼虫的滞育比例降低。Sorokina 和 Potemkina(2015)认为亲代温度对螟黄赤眼蜂滞育影响较小。

本试验分别以米蛾卵和柞蚕卵为中间寄主,研究了螟黄赤眼蜂母代经历 22℃相对低温对子代滞育率的影响,结果表明母代经历较低温度能够提高螟黄赤眼蜂子代的滞育率。以柞蚕卵为寄主,螟黄赤眼蜂在较低温度下繁殖一代,子代在 10℃下诱导滞育,诱导 30d 滞育率达到 66.86%,滞育率提高了 37.41%,诱导 40 d 滞育达到 73.05%,滞育率提高了 64.49%;子代在 13℃下诱导滞育,诱导 30 d 滞育率 43.24%,滞育率提高了 19.19%,诱导 40 d 滞育率 51.56%,滞育率提高了 39.47%。以米蛾卵为寄主,螟黄赤眼蜂在较低温度下繁殖一代,子代在 10℃下诱导滞育,诱导 30 d 滞育率达到 75.23%,滞育率提高了 6.01%,诱导 50 d 滞育没有提高;子代在 13℃下诱导滞育,诱导 30 d 滞育率 81.35%,滞育率提高了 14.25%,诱导 40 d 滞育率 86.91%,滞育率提高了 11.84%。

关键词 螟黄赤眼蜂,滞育,亲代效应

*通讯作者

二斑叶螨与柑桔全爪螨取食大豆和甜橙的种群适应性研究

孙勤哲 杨 群 杨婉君 牛金志 王进军*

(西南大学植物保护学院,西南大学农业科学研究院,重庆 400716)

叶螨是农作物上主要的害螨类群,其危害寄主范围广,种类多。而叶螨属 Tetranychus 和全爪螨属 Panonychus 种类是植物生产中的主要防控对象。其中,二斑叶螨和柑桔全爪螨 作为重要的"泛化种"叶螨,却对寄主的选择具有一定的特化性,即二斑叶螨偏好隐性植物(草 本),而柑桔全爪螨偏好显性植物(木本);但是,两者却可以在一定条件下取食"非偏好" 的显性或隐性植物,表明两者均对"特化"或"泛化"的植物防御物质具有一定的耐受性。因 此,我们利用具有相反偏好性的泛化种(二斑叶螨和柑桔全爪螨)作为模式研究叶螨与植物 互作的生态规律。利用二斑叶螨偏嗜的草本植物大豆 Glycine max 和柑桔全爪螨偏嗜的木本 植物甜橙 Citrus sinensis 为食源, 筛选构建 4个叶螨品系; 通过组建种群生命表, 比较研究 二斑叶螨 2 个品系和柑桔全爪螨 2 个品系在取食大豆和甜橙时的种群表现差异以及 4 个叶螨 品系各自的有性生殖和孤雌生殖的差异: 进一步比较研究了 4 个叶螨品系转换寄主后的生殖 力和存活率;本研究也测定了4个叶螨品系雌、雄成螨的体长、体宽、体周长及体表面积。 通过研究 4 个叶螨品系的种群表现,发现两种叶螨均在大豆上有较高的繁殖力、较快的发育 速率和较小的体型: 而在甜橙上具有较低的繁殖力、较慢的发育速率和较大的体型。但二斑 叶螨在其偏好寄主大豆上表现出较长的寿命,而柑桔全爪螨在其偏好寄主甜橙上表现出较长 的寿命。二斑叶螨和柑桔全爪螨在与寄主的协同进化过程中可能产生了不同的特化性策略, 同时叶螨的"种群表现"可能与"解毒代谢"之间存在权衡关系。

关键词 二斑叶螨, 柑桔全爪螨, 生命表, 寄主转换, 种群表现

*通讯作者, E-mail: wangjinjun@swu.edu.cn

平行基因转移对蚜虫种群适合度的影响: 以类胡萝卜素脱氢 酶基因 CdeB 为例

丁碧月 ^{1,2} 尚 峰 ^{1,2} 杨 莉 ^{1,2} 叶 超 ^{1,2} 常藤玉 ^{1,2} 牛金志 ^{1,2} 王进军 ^{1,2*} (1.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;

2. 西南大学农业科学研究院, 重庆 400716)

类胡萝卜素通常是指含 40C 的碳氢化合物和他们的氧化衍生物两大类色素的总称。类 胡萝卜素具有很多重要的生理功能,包括光吸收、光保护、抗氧化和着色等。昆虫类胡萝卜 素的获取有3种方式:1)食物:2)昆虫(如粉虱)通过其体内内共生菌合成类胡萝卜素; 3) 昆虫(如蚜虫、蚊子等)通过基因水平转移,从真菌中获取了类胡萝卜素合成相关基因, 自身合成类胡萝卜素。 豌豆蚜基因组中共发现 7 条与真菌同源的类胡萝卜素相关基因, 其中 包括 4 条脱氢酶基因, 3 条合成环化酶基因。然而, 这些平行转移基因如何调控类胡萝卜素 合成及其对蚜虫的生理功能的影响并不清楚。本研究首先通过 HPLC 检测发现绿色豌豆蚜主 要含有 α-胡萝卜素,β-胡萝卜素和 γ-胡萝卜素,而红色豌豆蚜主要含有红色类胡萝卜素,包 括 torulene 和 3, 4-didehydrolycopene。同时,RT-qPCR 检测发现其中一条脱氢酶基因 CdeB 在红色型中表达量很高,但在绿色型中几乎不表达,暗示该基因可能与红绿色型的决定有关。 利用 RNAi 技术,从一龄至成蚜持续饲喂 dsCdeB,发现种群个体的体色变浅,通过 HPLC 检测发现 torulene 的含量下降, 表明 CdeB 是 torulene 合成的关键基因。干扰后统计个体发 育及种群动态发现: 蚜虫发育历期延迟: 成蚜平均产蚜量无显著性差异, 但产蚜高峰期明显 推迟;种群总重量显著性降低,种群的年龄分布也存在差异。本研究表明 CdeB 可能是 torulene 合成过程的脱氢酶,参与了 γ-胡萝卜素—torulene 的脱氢。Torulene 含量的下降导致了红色 型蚜虫种群适合度的下降,这一现象可能与 torulene 类胡萝卜素参与的环境逆境适应相关。 关键词 类胡萝卜素,脱氢酶,体色,种群

*通讯作者, E-mail: wangjinjun@swu.edu.cn

Maxent 模型参数设置对其所模拟物种地理分布和生态位的 影响——以茶翅蝽为例

原雪姣 朱耿平 范靖宇 王梦琳

(天津师范大学生命科学学院,天津市动植物抗性重点实验室,天津 300387)

生态位模型被广泛应用于入侵生物学和保护生物学研究,现有建模工具中,Maxent 是最流行和运用最广泛的生态位模型。然而最近研究表明,基于 Maxent 模型的默认参数构建模型时,模型倾向于过度拟合,并非一定为最佳模型,尤其是在处理一些分布点较少的物种。本研究以茶翅蝽 Halyomorpha halys(St å)为例,通过设置不同的特征参数、调控倍频、以及背景拟不存在点数分别构建茶翅蝽的本土模型,然后将其转入入侵地来验证和比较模型,通过检测模型预测的物种对环境因子的响应曲线,潜在分布在生态空间中的映射,以及潜在分布的空间差异性,探讨三种参数设置对 Maxent 模型模拟物种分布和生态位的影响。在茶翅蝽的案例分析中,特征参数的设置对 Maxent 模型所模拟的潜在分布和生态位的影响最大,调控倍频的影响次之,背景拟不存在点数的影响最小。作者认为与其他特征相比,基于特征 L,Q和H的模型其响应曲线较为圆滑;随着调控倍频的增加,响应曲线亦变得圆滑。在构建 Maxent 模型时,需要从生态空间中去考虑物种的生态需求,分析模型参数对预测物种分布和生态位可能造成的影响。

关键词 生态位模型, Maxent 模型, 特征参数, 调控倍频, 背景拟不存在点数

迁飞性害虫褐飞虱对地磁强度变化的种群适合度响应

刘瑞莹 ¹ 肖子矜 ¹ 贺静澜 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系,昆虫信息生态研究室,南京 210095; 2.中国科学院电工研究所,北京生物电磁重点实验室,北京 100190)

地球生物时刻处于地磁场环境影响下,迁飞昆虫也不例外。迁飞昆虫多可进行跨纬度长距离迁飞,其迁出与迁入地间必然存在地磁强度差异,进而影响迁飞昆虫的种群适合度,以明确其迁飞种群的生物学特性,服务于迁飞害虫发生的预测预报。本实验利用直流电型亥姆霍兹线圈模拟迁飞害虫褐飞虱(Nilaparvata lugens)春季迁入地(南京:GMF50 μT)与迁出地(广东:GMF45 μT)地磁场环境来研究迁入地和迁出地地磁场强度变化对其生长发育与繁殖的影响。结果表明,与迁出地 GMF45 μT 处理相比,迁入地 GMF50 μT 处理下褐飞虱卵期略有缩短(-0.50%),卵孵化率显著提高(6.11%),雌、雄若虫历期分别延长 5.26%和 2.37%,初羽化雌、雄成虫体重分别提高 0.66%和 9.56%,雌、雄成虫寿命分别缩短了 35.34%和 26.16%,雌成虫产卵量显著提高(30.13%),卵黄原蛋白基因相对表达量显著提高(259.25%);此外,迁入地 GMF50 μT 还显著缩短了褐飞虱 F1 代卵期(2.52%),并显著提高了 F1 代卵的孵化率(10.83%)。可见,每年春季北迁过程中褐飞虱所处的地磁场强度增加有利于其种群适合度提高,进而对其迁飞种群发生有利,并加重其暴发危害风险。

关键词 褐飞虱,地磁场强度,迁飞昆虫,迁出迁入地,磁生物学效应

昆虫数量统计学*

赵紫华**

(中国农业大学植物保护学院昆虫学系, 北京 100193)

昆虫数量统计学(Insect demography)作为昆虫学的一个新兴学科分支,是研究昆虫种 群状态、变化过程及其与环境条件的数量关系的方法论学科。昆虫数量统计学通过种群数量 变化揭示昆虫种群现象的本质、规律和演变趋势,是昆虫学的重要组成部分,也是人口统计 学的延伸和发展。 昆虫数量统计学以昆虫种群生态学为基础, 研究昆虫种群数量变化特征及 其关系、种群持续过程及其模式以及种群演变趋势,具体包括寿命、繁殖、年龄结构、性别 比例、种群分布、迁入与迁出、种群动态调节以及死亡过程。昆虫数量统计学包括从静态的、 动态的和未来种群发展趋势三个方面去进行观察、研究种群现象的数量特征及其内在联系。 一定时空范围内下,昆虫种群密度,性别结构,年龄结构,分工与社会结构,生物型结构和 表型结构等所显示的种群现象的数量特征,即谓之静态昆虫种群特征。昆虫数量统计学又不 仅仅在于孤立地去描述这些种群现象的数量特征,而是尚要进一步去探明这些昆虫种群现象 的各种内在联系, 以揭示某一昆虫种群的性质与特点, 尤其是阐明昆虫种群特征变化的动态 过程,揭示昆虫种群演变的内在机制。昆虫生命表又称"死亡表",是根据死亡率编制,反应 一批昆虫种群(通常>100)陆续死亡全部过程的一种统计表。昆虫生命表是昆虫数量统计 学中一个非常重要的工具,它通常被用于模拟一个种群从出生到死亡的过程。昆虫生命表目 前已经发展成为单递减生命表、多递减生命表、以及种群预测生命表,这些已经成为研究昆 虫数量统计学的重要技术方法。昆虫数量统计学作为方法论学科,首先阐明昆虫种群统计的 原理和方法,保证昆虫种群统计过程具有准确性、及时性和完整性。其次,对昆虫种群数据 进行系统加工和整理,使之系统化、条理化,深化对昆虫种群现象的认识。最后,为了深入 地理解和把握昆虫种群的发展规律,必须研究昆虫种群现象之间、昆虫种群现象同环境因子 之间的相互联系与相互制约的关系,分析影响这些关系的因素及数量表现。 昆虫数量统计学 对分析昆虫种群提供科学的、系统的方法论原则, 昆虫数量统计学是昆虫种群统计工作和进 行昆虫种群分析的理论基础。

关键词 种群生态学,生命表,死亡率,寿命,繁殖

*资助项目: 国家自然科学基金项目(31770453)

** 通讯作者, E-mail: zhzhao@cau.edu.cn

橘小实蝇对幼期极端温度胁迫响应的数量统计学效应

卫 静 王雁楠 赵紫华*

(中国农业大学植物保护学院昆虫学系, 北京 100193)

温度是影响昆虫地理分布的关键因子和必要条件,还可直接调控昆虫活动、觅食、交配、产卵和扩散等行为。随全球气候变暖,极端温度事件频率不断增加,异常的极端气候波动并非连续的,而是短时间的几个小时或几天极端高温或者低温。短时的极端高温立即诱发生物的热激反应,维持个体的存活,但可能造成生物体发育和繁殖受阻、幼虫死亡率增加、以及卵孵化率降低。变温动物,尤其有复杂生活史的昆虫,早期发育阶段的极端高温或低温可能会影响后续发育阶段的表现,幼虫的胁迫耐受性也可能导致成虫雌雄交配改变以及雌雄寿命不对称改变。幼虫期是除卵之外的较早的发育阶段,昆虫早期幼虫遭受的短暂的极高低温胁迫可能会当代成虫期的寿命和繁殖造成影响。

目前国内外对温度胁迫对生物生活史影响的研究集中在一种温度模式,即短时高低温或持续高低温对存活,行为,发育和繁殖的影响,而缺乏幼期短期胁迫后对其整个生活史的后续影响。橘小实蝇 Bactrocera dorsalis(Hendel)是一种全球扩散性入侵生物,目前已经入侵进入超过70个国家,它入侵范围广,生存能力强,其快速的入侵扩散能力和其较强的温度适应性和温度可塑性是分不开的。因此本研究以橘小实蝇作为研究对象,研究幼虫短期极端温度胁迫后的短期瞬时效应和长期延迟效应。本研究运用数量统计学理论,着力于幼虫经受恒温短时极端高低温后的后续生态学响应,研究橘小实蝇幼期遭受短时极端高低温胁迫对后续蛹的发育、存活和成虫的寿命和繁殖的长期动态表现,反映幼期极端温度胁迫调控成虫发生过程以及种群适合度。这对于阐明昆虫应对短时极端高温的生活史策略以及气候变暖背景下极端高低温事件频发对物候发生期及种群动态的预测模拟提供了重要的证据。

关键词 橘小实蝇, 幼期, 短时温度胁迫, 数量统计学效应

*通讯作者, E-mail: zhzhao@cau.edu.cn

橘小实蝇稳定同位素的地理格局及溯源应用

李 浩 李志红 赵紫华*

(中国农业大学植物保护学院昆虫学系,北京 100193)

稳定同位素是指位于元素周期表中同一位置,质子数相同、中子数不同的系列元素。稳 定同位素技术不仅用于地球化学循环过程研究,而且在农业、生态、食品安全等领域该技术 都得到了应用与发展。 稳定同位素溯源技术是利用生物体内稳定同位素自然丰度的差异,区 分不同生物体地理来源的技术。不同地区的大气、土壤、水等环境要素中的同位素组成存在 差异,同时生物体内的同位素组成受到气候、环境和生物代谢等因素的影响,导致不同地理 来源生物体内的同位素自然丰度存在差异。这种自然差异是不同地区环境对生物体综合作用 的体现,也代表了不同地区的自然环境信息。目前,国内外已将稳定同位素溯源技术运用到 粮食、肉类及其他动植物的溯源研究中,多应用于鸟类、鱼类和哺乳类动物的地理起源。近 几年,对于昆虫稳定同位素的研究逐步增多,昆虫本身具有生命周期短、稳定外骨骼等特点, 使之成为良好的稳定同位素研究材料。本研究利用稳定性同位素具有的示踪、整合、指示等 功能,对橘小实蝇 Bactrocera dorsalis (Hendel)进行地理溯源。1911年,橘小实蝇首次在 中国台湾发现,后逐步入侵到周边国家和地区。在我国,橘小实蝇呈现逐步向北扩散趋势。 传统技术无法确定入侵橘小实蝇种群的地理来源,采用氢稳定同位素研究发现不同地区橘小 实蝇的氢稳定同位素存在明显的地理特征, 通过橘小实蝇原产地标准曲线建立, 发现北京地 区橘小实蝇来源于我国南方,在北京地区只是一种季节性存在,并没有定殖。昆虫体内稳定 同位素具有显著的地理差异特征,并可以提供溯源指导。本研究期望通过对我国现有橘小实 蝇不同地理种群的多种稳定同位素比值的差异分析,结合环境信息,研究得到我国橘小实蝇 稳定同位素分布地理格局,并将其应用到未知地理来源的橘小实蝇溯源研究中。

关键词 橘小实蝇,稳定同位素,地理溯源

*通讯作者, E-mail: zhzhao@cau.edu.cn

小菜蛾血淋巴中外源植物 miRNA 的鉴定和分析*

(1. 福建农林大学应用生态研究所,福州 350002; 2. 闽台特色作物病虫生态防控协同创新中心,福州 350002; 3. 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)

microRNA (miRNA) 是一类长为 18~24 nt 的单链非编码 RNA, 其通过基因转录后水平调控等方式广泛作用于植物、动物和病毒。近年来的研究表明 miRNA 还可以在不同物种中水平转移,如植物 miRNA 被摄取后能够穿过动物肠壁细胞,进入到循环系统,在组织中积累进而实现跨界调控。寻找小菜蛾 Plutella xylostella (L.) 体内外源植物 miRNA, 了解其潜在调控作用及机制,为害虫控制提供新的见解。通过收集人工饲料品系小菜蛾(G88 品系)和转食野生型拟南芥的 G88 品系小菜蛾血淋巴的总 RNA, 对其小 RNA 文库进行了 Illumina高通量测序。使用 Sanger 测序和实时荧光定量 PCR(qPCR)技术对跨界 miRNA 进行序列及表达量的验证。在取食拟南芥至四龄的小菜蛾血淋巴中,检测到 40 种寄主植物 miRNA,其中 33 种为已知 miRNA,7 种为新预测 miRNA。寄主植物的已知 miRNA 首位碱基偏好 U,长度以 21 nt 为主,具有典型的植物 miRNA 特征。对测序结果中读数较高的 5 个 miRNA 进行了序列和表达量验证,结果与测序数据基本一致。食物中摄取的外源植物 miRNA 可以通过小菜蛾的肠道,稳定存在于血淋巴中,对小菜蛾有潜在的调控作用。

关键词 小菜蛾, miRNA, 寄主植物, 跨界调控

*资助项目: 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

吉林省粘虫种群发生规律研究*

孙 嵬 ¹ 程志加 ² 赫思聪 ² 雷有荣 ² 余仁康 ³ 徐小松 ³ 高月波 ^{1**} (1.吉林省农业科学院植物保护研究所,农业部东北作物有害生物综合治理重点实验室,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 150080)

为了明确吉林省粘虫的田间种群动态,提出适宜的测报、防控时间,为该虫的区域性监测预警提供科学理论依据。基于多年资料及 2014—2017 年的田间调查,采用轨迹分析和田间系统调查方法,对吉林省粘虫的田间种群动态进行了研究,分析了迁入虫源地。

- (1) 粘虫迁入期的风向以西南风为主。迁入虫源地来自山东、河北、江苏、安徽等省份,其中还有部分来自于朝鲜半岛。各旬之间有差异。
- (2)5月末到6月上中旬为1代成虫高峰期,属迁入虫源;7月中下旬为2代成虫高峰期,组成为本地虫源及迁入虫源。
- (3)1代成虫在吉林省产卵期为5月末到6月中旬,峰期6月上旬。部分年份5月末、6月中旬卵量也较大。
 - (4) 粘虫的幼虫种群全年有2个明显危害时期,分别是6月中下旬及8月上中旬。

本研究初步明确了吉林省粘虫的春季虫源地及种群发生动态,提出了针对于3代粘虫的测报工作的一些新方法,研究结果可为该地区及相近区域的粘虫综合防治提供参考依据。

关键词 粘虫,虫源地,种群动态,防治适期

*资助项目:公益性行业(农业)科研专项经费(201403031); 吉林省科技发展计划(20160520030JH), 吉林省农业科学院创新工程(人才基金); 中国农业科技东北创新中心博士后基金

**通讯作者, E-mail: gaoyuebo8328@163.com

海南水稻两迁害虫监测预警研究进展*

卢 辉** 唐继洪 卢芙萍

(中国热带农业科学院环境与植物保护研究所,海口 571101)

为海南水稻害虫监测与防控水平,为海南水稻产业的可持续发展提供了技术支撑,本团 队开展了海南水稻两迁害虫监测预警与综合防控研究。中国热带农业科学院环境与植物保护 研究所是面向热区 9 省区开展病虫害监测和防治的国家级科研机构, 为加强农业重大迁飞性 害虫的实时监测, 为热区及内地其他相关省市提供早期预警, 在海南岛开展迁飞性害虫昆虫 雷达监测研究工作。项目进展顺利,已在成都锦江电子系统工程有限公司定制三台雷达,包 括一台车载毫米波扫描昆虫雷达、一台厘米波扫描昆虫雷达和一台垂直昆虫雷达, 拟在海南 省三亚市南繁基地、海口市、儋州市设立监测点,利用昆虫雷达配合飞艇高空取样及高空灯 诱集等方式,重点监测稻飞虱、稻纵卷叶螟和斜纹夜蛾等重大农业迁飞性害虫,并利用车载 雷达良好的移动性进行迁飞性害虫迁飞路径的研究。本团队已于2017年3月开始在海南省 北部和西部区域利用高空灯监测迁飞虫群动态,结果表明:北部区域褐飞虱高峰期有2个: 4月下旬到6月中旬和10月中旬到下旬,性比(雌:雄)3:2。白背飞虱高峰期一个:集中 在7月下旬到8月中旬,性比2:1。稻纵卷叶螟有一个峰期,集中在9月-10月,性比3.5:1。 西部区域稻飞虱高峰期不明显,诱集到的数量相对较少,性比 1.5:1,白背飞虱,性比 2.6:1, 稻纵卷叶螟1个高峰期,集中在9月下旬到10月中旬,性比1.5:1。稻纵卷叶螟和斜纹夜蛾 诱集量也相对较多。海南岛昆虫雷达监测工作的顺利、有效开展将为海南岛及周边热区及相 关内地省市的农业重大迁飞性害虫的监测和防治提供实时、实用的早期预警信息。

关键词 水稻两迁害虫,海南,高空灯监测,昆虫雷达

*资助项目:中国热带农业科学院基本科研业务费专项资金(1630042017015,2017hzs1J003);农业部国际交流与合作项目"一带一路"热带国家农业资源联合调查与开发评价

(ZYLH2018010301); 农作物病虫鼠害疫情监测与防治经费

**通讯作者, E-mail: aaaluhui@163.com

烟粉虱一细菌共生关系的分子和细胞机制

栾军波*

(沈阳农业大学植物保护学院, 沈阳 110866)

烟粉虱等昆虫取食营养不均衡的植物韧皮部,它们高度依赖内共生细菌提供必需的营养物质。这些细菌通常被特化的寄主细胞-含菌细胞所包裹。此类内共生细菌基因组退化,并经雌虫卵巢垂直传播。长期以来,退化的共生细菌如何实现代谢功能,共生细菌如何实现垂直传播,含菌细胞在昆虫发育过程中的命运一直是非常重要的科学问题。然而,我们却知之甚少。通过整合遗传学、分子生物学、细胞生物学和现代显微镜等技术,发现了水平转移基因能够促进烟粉虱-细菌共生关系的维持,阐明了烟粉虱含菌细胞介导的共生细菌垂直传播的机制,发现并证明了含菌细胞可母系遗传,从而确保细胞内共生菌严格地母系遗传。

关键词 烟粉虱,共生细菌,水平转移基因,垂直传播,母系遗传

*通讯作者, E-mail: jbluan@syau.edu.cn

农林昆虫

淡脉粘虫在 4 种寄主植物上的生长发育和繁殖

 黄 芊 ^{la} 蒋 婷 ^{la} 蒋显斌 ^{la} 凌 炎 ^{lb} 龙丽萍 ^{la*} 钟 勇 ²

 韦 淑 ³ 黄凤宽 ^{lb} 黄所生 ^{lb} 吴碧球 ^{lb} 李 成 ^{lb}

(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/广西水稻优质化育种研究人才小高地; 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.广西百色市现代农业技术研究推广中心, 百色 533612; 3.广西田阳县农业局, 百色 533699)

淡脉粘虫 Leucania roseilinea (Walker) 属鳞翅目 (Lepidoptera) 夜蛾科 (Noctuidae), 是东方粘虫 Mythimna separata (Walker)和劳氏粘虫 Leucania loreyi (Duponchel)的近缘 种。东方粘虫和劳氏粘虫均是我国农作物的主要害虫,对其生物学特性的研究已有较多报道, 而有关近缘种淡脉粘虫的生物学特性鲜少报道,因此本研究选取禾本科农作物玉米、水稻和 甘蔗,以及禾本科杂草稗草作为寄主植物,系统地研究淡脉粘虫在不同寄主植物上的生长发 育和繁殖等生物学特性,以期为淡脉粘虫的预测预报及防治提供理论依据。在室内条件下(温 度 24±℃, 湿度 75%±5%, 光周期 L: D=12 h: 12h), 以玉米、水稻、甘蔗和稗草叶片为食 料,观察淡脉粘虫各虫态发育历期、存活率、蛹重及成虫繁殖力并计算生命表参数。淡脉粘 虫幼虫历期在水稻上最短为 22.52 d, 在甘蔗上最长为 26.44 d, 在玉米和稗草上分别为 22.96 d和 25.73 d。非成虫期存活率在水稻上最高(68%),在甘蔗上最低(60%),在玉米和稗草 上分别为 65% 和 63%; 雌成虫蛹重以取食玉米最重 (0.1866 g), 取食稗草最轻 (0.1350 g), 取食水稻和甘蔗的雌蛹重分别为 0.1851 g 和 0.1513 g; 取食水稻的产卵量最多, 为 632.31 粒/雌,取食甘蔗的产卵量最少,为 450.90 粒/雌,取食玉米和稗草的产卵量分别为 550.64 粒/雌和 458.82 粒/雌;淡脉粘虫在玉米、水稻、甘蔗和稗草上的内禀增长率(r_m)分别为 0.1023、 0.1138、0.0895 和 0.0946, 净增殖率 (R₀) 分别为 116.46、148.67、102.69 和 100.94。在 3 种农作物中,水稻为淡脉粘虫最佳寄主,其次是玉米,最后是甘蔗。淡脉粘虫在稗草上同样 能正常生长发育繁殖,因此稗草可作为淡脉粘虫的中间寄主。

关键词 淡脉粘虫,寄主植物,实验种群,生长发育,繁殖,生命表参数

*通讯作者

枫香刺小蠹的形态特征及发生为害调查

高 磊 1,2 王建国 3 王章训 1,2 李 猷 4 鞠瑞亭 5

(1. 上海市园林科学规划研究院植保研究所,上海 200232; 2. 上海城市困难立地绿化工程技术研究中心, 上海 200232; 3. 江西农业大学农学院植物保护系,南昌 330045; 4. 佛罗里达大学森林资源与保护学院, 佛罗里达州 32611; 5. 生物多样性和生态工程教育部重点实验室,复旦大学生物多样性科学研究所,上海 200438)

近年来,在上海地区发现大量的北美枫香 Liquidambar styraciflua 死亡,经现场调查,认定该现象是由一种小蠹虫为害所致,经专家鉴定,确定该虫为枫香刺小蠹 Acanthotomicus suncei Cognato。枫香刺小蠹钻蛀北美枫香树干,在韧皮部和木质部之间取食,被为害后产生流胶,遭受该虫攻击的北美枫香叶片会逐渐枯黄,在 1~2 月内完全死亡。在上海及周边地区的苗圃和新建绿地进行了调查,发现该虫已经造成了严重为害,近 4 年,已至少导致 3 万株不同胸径的北美枫香死亡。对被枫香刺小蠹为害的北美枫香活体树干的坑道、成虫和幼虫所携带的真菌进行分离培养,共鉴定出 3 种真菌,分别为 Geosmithia sp.、Phaeoacremonium sp.、Trichoderma sp.,其致病情况有待进一步分析。枫香刺小蠹已知在上海及周边地区发生,但是考虑到该虫寄主分布范围的广泛性和苗木调运的频繁性,其分布范围可能已经远远超过已知的区域,当前急需加强对该虫的野外调查和适生地分布预测等方面的研究,摸清该虫的分布界限,为该虫的预警防控工作奠定基础。

关键词 枫香刺小蠹,北美枫香,上海,发生为害调查

"三维互动"模式在昆虫学本科教学中的探索与创新

马瑞燕 ¹ 陈晶晶 ² 李先伟 ¹ 赵志国 ¹ 贾 栋 ¹ 何云峰 ² (1. 山西农业大学农学院, 太谷 030801; 2. 山西农业大学公共管理学院, 太谷 030801)

昆虫学是生命科学重要的分支科学。新形势下,如何提高教学质量,培养人才,无疑 是这门学科的重要目标之一。当前我国农业院校的昆虫学教学仍存在诸多问题:学生学农缺 乏兴趣、事农缺乏信心: 教师教学投入不足, 教学科研互为支撑的育人作用不能有效发挥: 单一教学方式不能有效激发学生潜能。基于此,本研究从《昆虫研究法》课程的课堂教学切 入,以系统、协同、生态理念为基础,突出强调教学中"教师与学生、教学与科研、创新与 创业"六要素间合理互动、三维度有效促动,构建"理论课堂+活动课堂+社会课堂"贯通联动 的开放课堂时空,形成以学生为主体、教师为主导的"三维互动"教学模式,从而达到创意、 创作、创新、创业"四创"的特色研学效果。该模式在山西农大植保、植检、农学专业持续 16年探索实践,2000余名学生参与,满意度达90%以上,学生在国家级科研、科普、科 创、科教中获奖或发表论文或授权专利达 128 人次, 师生共出版教改论文 23(篇), 专著 2 部,科教电影2部,并荣获山西省教学成果特等奖(2018)。该模式更重要的效果是开放了 课堂时空,优化了育人生态,增强了学生崇学事农的兴趣,让其发现了自我,提高了其学习 力与生长力。该模式遵循着"学生个体—小组—班级—专业—高等农林教育—高等教育"的拓 展思路,得到了国内外院士、专家、40余所农林大学的好评。"三维互动"教学模式,以学 生为中心,促进学生多维发展,实现教学与科研的互促壮大。小教学、大工程,小课堂、大 舞台,开放共享,以小博大,与当下"一懂两爱"、"三全育人"工作新要求及"新发展理念"自 然契合, 师生们也将在"人人有才志——个个是人才"的道路上继续前行!

欢迎访问成果网址 http://nxy.sxau.edu.cn/gjjxj/index.htm

关键词 三维互动, 教学改革, 开放课堂, 实践创新, 教学科研

加州新小绥螨取食二斑叶螨和苹果花粉的 实验种群两性生命表*

朱 睿 郭建军 乙天慈 肖 榕 金道超**

(贵州大学昆虫研究所,贵州省山地农业病虫害重点实验室,贵阳 550025)

为了探究苹果花粉和二斑叶螨对加州新小绥螨 *Neoseiulus californicus* (McGregor)两性生长发育和繁殖的影响。在温度 27±5 $^{\circ}$ C、相对湿度 (75±5)%、光照 16 L: 8 D 的条件下,用二斑叶螨和苹果花粉饲喂加州新小绥螨,组建了其实验种群两性生命表。二斑叶螨和苹果花粉对加州新小绥螨总产卵量、总发育历期及雌雄螨寿命等有明显影响,对产卵期、总产卵前期及未成熟螨存活率等影响不显著。加州新小绥螨雌雄成螨取食苹果花粉(雌 37.44 d,雄 30.99 d)的寿命显著长于二斑叶螨(雌 26.52 d,雄 24.44 d)者(P<0.05)。产卵量在苹果花粉和二斑叶螨上分别为 30.18 粒/雌和 42.88 粒/雌,差异显著(P<0.05),总发育历期在苹果花粉上为 34.43 d,在二斑叶螨上为 25.66 d,差异显著(P<0.05)。加州新小绥螨取食苹果花粉的內禀增长率(P、净增殖率(P0、世代平均周期(P7、周限增长率(P0、分别为 0.2466,13.58,10.64 和 1.2888,取食二斑叶螨的分别为 0.2941,22.15,10.50 和 1.3464。由种群动态参数可知,加州新小绥螨取食二斑叶螨上的种群数量增长快于取食苹果花粉。苹果花粉也是加州新小绥螨较好质量的食物,可作为加州新小绥螨的替代饲养食物。

关键词 加州新小绥螨,苹果花粉,二斑叶螨,实验种群,两性生命表

*资助项目:农业部农作物病虫鼠疫情监测与防治项目(农财发[2016]35号)

**通讯作者, E-mail: daochaojin@126.com

红火蚁食物掩埋行为研究*

秦文权 1 陈 轩 2 温秀军 1** 王 偲 1**

(1. 华南农业大学, 林学与风景园林学院, 广州 510642;

2. Department of Biology, Salisbury University, Salisbury, MD 21801, USA)

食物掩埋行为已在鸟类与哺乳动物中被报道,但鲜少在无脊椎动物中发现该行为。经 观察表明,入侵红火蚁 Solenopsis invicta Buren 在觅食行为过程中常表现出食物掩埋行为, 但其行为模式和影响因素尚不清楚。1)将红火蚁巢进行饥饿处理或饱食处理后,在觅食区 域摆放两块过塑后的坐标纸(5 cm×5 cm),并分别将食物和假食物(对照)用白乳胶固定 在坐标纸中央, 在 4 h 内每隔 60 min 拍摄 1 次高清照片记录红火蚁食物搬运和掩埋行为。每 个巢群重复 4 次 (每天仅重复 1 次), 共 8 个巢群, 重复 32 组。2) 选取 2 个表现出活跃掩 埋行为的饱食红火蚁巢群,通过高清摄影技术观察2小时内蚁群的食物掩埋行为,每个巢群 重复 5 次, 共拍摄 10 段视频。3) 在野外, 将无纺布胶带贴于地面, 用昆虫针将食物固定在 胶带中央,1h后拍摄高清照片,观察红火蚁的食物搬运和掩埋行为,共设置44组重复。1) 当处于饥饿状态时,红火蚁迅速取食食物,鲜少发现其搬运土壤颗粒掩埋食物;而当处于饱 食状态时,红火蚁表现出活跃的食物掩埋行为,且土壤颗粒的搬运量显著高于饥饿条件。此 外,假食物没有发现被搬运或掩埋。2)在掩埋食物过程中,红火蚁首先搬运土壤颗粒到食 物边缘,当边缘布满土粒后,红火蚁搬运较小土粒到食物表面。同时,红火蚁将较大的土壤 颗粒运至食物四周(不与食物接触)。其中,只有少量的工蚁(主要为小型工蚁)在搬运土 壤颗粒掩埋食物,且倾向于反复多次搬运土壤颗粒。此外,分析鉴定出红火蚁土壤颗粒搬运 的 12 种行为模式,其中发生频率最高的是红火蚁将土壤颗粒从觅食区域搬运到食物边缘。3) 红火蚁在野外表现出活跃的食物搬运行为,但并未发现红火蚁掩埋食物,表明食物搬运与掩 埋行为之间可能是竞争的。 研究结果表明, 红火蚁的食物掩埋行为可能与觅食行为受到抑制 有关,且食物掩埋可能由特定的工蚁群体完成。

关键词 红火蚁,食物掩埋,搬运,行为模式

^{*}资助项目:广州市科技计划项目(珠江科技新星专题,201806010182)

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

苹果蠹蛾性信息化合物在不同缓释载体上的缓放速率*

姜 洪 罗 兰 刘兆良 王浩祺 袁忠林**

(青岛农业大学植物医学学院,山东省植物病虫害综合防控重点实验室,青岛 266109)

研究不同载体对苹果蠹蛾性信息化合物的缓释速率,以筛选适合制作苹果蠹蛾诱芯的材料。采用残留法每隔 1 周测定 1 次反口橡胶塞、聚乙烯 PE 软管(细)(内径 2 mm×外径 3 mm)、聚乙烯 PE 软管(中)(内径 4 mm×外径 6 mm)、滤纸片 4 种不同缓释载体中苹果蠹蛾主要性信息化合物 E8,E10-十二碳二烯-1-醇的含量,连续测定 9 周,比较其释放速率。结果表明,反口橡胶塞苹果蠹蛾性信息化合物在室内自然条件下,第 2~5 周的信息素残留量一直在 0.6 mg 左右,第 6 周以后缓慢降低。而其他载体材料对苹果蠹蛾性信息素的缓释效果较差,1 周之内就将绝大多数的性信息素释放掉。反口橡胶塞可作为诱芯的载体用于苹果蠹蛾的监测与防治。

关键词 苹果蠹蛾,性信息素,载体材料,释放

*资助项目: 国家重点研发计划(2016YFC1201200)

**通讯作者, E-mail: zhongliny@163.com

黄野螟对 3 种非寄主植物花精油的 EAG 反应*

唐丽萍 蓝来娇 马 涛 温秀军**

(华南农业大学林学与风景园林学院,广州 510642)

筛选能引起黄野螟成虫触角电位反应的植物源物质,为黄野螟的绿色防治提供一定的理论基础。本实验采用水蒸气蒸馏提取了降香黄檀、红花羊蹄甲、微甘菊 3 种植物花精油,以正己烷作溶剂,分别配置成 1×10⁻¹、1×10⁻²、1×10⁻³、1×10⁻⁴、1×10⁻⁵ mg/L 5 个浓度,以正己烷溶液作为对照,再依次进行雌雄触角电位(EAG)实验,每种精油测定 6 根触角。同一浓度下每根触角测 3 次平均值。3 种非寄主植物花精油均能引起黄野螟雌雄成虫触角电位反应,但不同精油的触角电位反应值明显不同,其中,降香黄檀花精油引起的黄野螟雄成虫的触角电位反应最强,达 3.06 mV,微甘菊次之,为 2.57 mV,红花羊蹄甲最弱,为 1.37 mV;雌成虫对 3 种花精油最高反应值没有明显差别,由高到低反应值依次为:微甘菊 1.24 mV,降香黄檀 1.20 mV,红花羊蹄甲 1.14 mV。此外,同一花精油不同浓度引起黄野螟成虫的触角电位反应也有明显的不同,触角的电位反应值随着精油浓度的升高而逐渐增大,当浓度为 1×10⁻¹ mg/L 达到最大值。黄野螟成虫均能对 3 种非寄主植物花精油产生触角电位反应。

关键词 黄野螟,非寄主植物花精油,触角电位(EAG)反应

^{*}资助项目: 国家自然科学基金(31270692)

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

星天牛成虫对 4 种植物的取食选择与趋性行为反应*

蓝来娇 唐丽萍 马 涛 孙朝辉 温秀军** (华南农业大学林学与风景园林学院,广州 510642)

星天牛 Anoplophora chinensis Forster 是我国危害最严重的一种蛀干性害虫之一,寄主范围广,防治难度大。本研究通过明确星天牛成虫对 4 种寄主植物的取食偏好性,分析研究星天牛同主要寄主之间的选择关系,旨在为筛选星天牛的植物源引诱剂提供理论依据。开展室内选择和非选择试验,并测定了星天牛成虫对苦楝 Melia azedarach、柑橘 Citrus reticulata、木麻黄 Casuarina equisetifolia 和小叶紫薇 Lagerstroemia indica 这 4 种主要寄主植物枝条的取食面积;通过 Y 型管试验,测定了星天牛成虫对这 4 种植物的趋向性;采用动态顶空吸附法结合气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)分析了这 4 种寄主植物枝干挥发物成分。室内选择和非选择试验结果都显示:星天牛成虫最喜欢取食的寄主植物是苦楝,其次是柑橘,最后是小叶紫薇和木麻黄,且二者的取食量相当; Y 型管试验显示,星天牛成虫对这 4 种寄主植物均有趋向性,但是四者之间没有显著性差异(P>0.05),趋向程度相当;在寄主植物挥发物成分中,以烷烃类、萜烯类和芳香族化合物居多,且每种寄主挥发物均含几种特有成分。星天牛成虫的取食偏好性不等同于趋向选择性。

关键词 星天牛, 寄主植物, 取食选择, 趋性行为

*资助项目: 国家自然科学基金(31270692)

**通讯作者, E-mail: wenxiujun@scau.edu.cn

豇豆荚螟生物学特性的初步研究

杨妮娜 万正煌 刘昌燕 丛胜波 万 鹏 (湖北省农业科学院植保土肥研究所,武汉 430064)

豇豆荚螟 Maruca testulalis Geyer 是豆科蔬菜上的一种主要的钻蛀性害虫,通过对其生物学特性的研究,可以掌握其发生规律,从而为更好的进行防治数据支持。2017 年 8 月从河南南阳田间采回大量的豇豆荚螟幼虫,在室内进行人工饲养。并在双目体式镜下,观察不同龄期的形态并进行测量。卵椭圆形,初产卵为黄绿色,长径 0.5±0.02 mm,短径 0.2±0.01 mm,卵壳为有多边形花纹;幼虫分五龄,初孵时淡黄色,随环境不同,体色有所变化,室内发现共有黄色、绿色、粉红色和黑色 4 种体色;蛹体长 12~14 mm,宽 2.3~2.6 mm,茧分内外两层,茧室长 20~30 mm,宽 10 mm,早期蛹为黄绿色,后期为茶褐色,羽化前为黑褐色,在翅芽上可见成虫前翅的透明斑;成虫体长 11~13 mm,展翅 18~27 mm,触角呈丝状,触角9~11 mm,成虫体色有黄褐色和黑褐色两种,黑褐色虫体大于黄褐色。腹面灰白色,复眼黑色,黄褐色前翅茶褐色,中室端部有 1 白色半透明长方形斑,中室中间近前缘处有 1 肾形白斑,后翅白色半透明,近外缘茶褐色透明部分有 3 条淡褐色纵线,雌虫腹部肥大,末端圆形雄虫尖细,成虫产卵喜散产。室内饲养温湿度是影响豇豆荚螟至关重要的因素,采用人工饲料单头饲养,可大大提高其存活率。

关键词 豇豆荚螟,人工饲料,饲养,生物学

辽宁省携带松材线虫的天牛种类研究初报

郑雅楠 1 范立淳 1 杨忠岐 2 张翌楠 3 刘佩旋 1,4 时 勇 1 (1. 沈阳农业大学林学院,沈阳 110866; 2.中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所,北京 100091;

3.北京农业职业学院,北京 102442; 4. 沈阳农业大学植物保护学院,沈阳 110866)

松材线虫引起的病害被称为松树的"癌症",它是目前我国最为严重的森林有害生物,对我国以林业为主的生态环境建设具有重大威胁。2018 年,辽宁省的沈阳市、大连市、抚顺市、本溪市、丹东市和铁岭市被列为松材线虫病的新发生区,这与前人对松材线虫在东北地区适生性分析的结果具有很大的差异。如果不及时有效地控制松材线虫的危害和扩散,它将对我省乃至整个东北地区的松树林地的安全造成极大的威胁。松材线虫虽然危害严重,但却不能自行传播扩散,它必须借助松褐天牛等媒介昆虫才能传播蔓延,因此明确辽宁省松材线虫的传播媒介昆虫种类是防治松材线虫的关键。自2018年5月起,我们收集辽宁省疫区(沈阳市、抚顺市、本溪市和凤城市)松林诱捕器内的天牛样品,采用贝曼氏漏斗法分离天牛体内携带的线虫,进而确定能够携带松材线虫的天牛种类,这项研究有助于明确辽宁省松材线虫病的传播媒介昆虫,对该病害的防控具有重要的意义。研究结果表明,在辽宁省疫区可携带松材线虫的天牛有3种,分别是云杉花墨天牛、四点象天牛和脊鞘幽天牛;且这3种天牛体内携带的松材线虫数量也具有一定的差异。目前,松材线虫及其传播媒介昆虫在辽宁省的生物学特性和发生规律亟待研究和明确,这些基础性的问题对有效地控制松材线虫在辽宁省的的发生和传播扩散具有重要的理论意义。

关键词 松材线虫,媒介昆虫,云杉花墨天牛,四点象天牛,脊鞘幽天牛

高度重视辣椒象甲 Anthonomus eugenii Cano 的检疫*

周 诠 王建国**

(江西农业大学入侵生物实验室, 南昌 330045)

辣椒象甲 Anthonomu seugenii 是美国南部地区辣椒上最主要的害虫。辣椒象甲 Anthonomus eugenii Cano 隶属于昆虫纲 Insecta、鞘翅目 Coleoptera、象甲科 Curculionidae、花象属 Anthonomus。在美国南部地区、中美洲地区以及加勒比海地区,该虫是辣椒上最主要的害虫,可在田间对辣椒造成严重的危害。即使该虫害灾情发生比较轻,也能使辣椒的经济价值和食用价值大大降低。该辣椒象甲虫目前在我国没有分布,研究该虫的生物学特性及危害特点等,对防治该虫有重大的意义。

本研究通过对该辣椒象甲虫文献的大量查阅和相关资料的收集,对辣椒象甲虫的地理分布,生活史及形态描述,寄主植物,危害特点等进行了较详略的叙述。辣椒象甲原在地可能为墨西哥,目前已经传播到了中美洲和加勒比海大部分的地区,以及美国的南部地区,并且成为美国南部地区辣椒上最主要的害虫。辣椒原产墨西哥等美洲地区,我国引种历史悠久,近年从墨西哥引种增加,在墨西哥本土辣椒象甲为害严重,威胁整个辣椒产业,严重影响这些地区辣椒的国内调运和对外贸易。该虫一旦传入我国,将对我国的辣椒产业带来毁灭性危害。我国引种墨西哥辣椒时应加强对辣椒象甲的检疫,本文对辣椒象甲进行全面的介绍,以期为我国辣椒种植业及检疫人员提供有关辣椒象甲的基础信息。

关键词 辣椒象甲,危害,检疫,预警

*资助项目: 国家自然科学基金(31360457; 31260116; 31160380); 江西省教育厅项目(GJJ150410); 江西省研究生创新专项资金项目(YC2014-S180)

**通讯作者, E-mail: jgwang@jxau.edu.cn

从日本进口榉木中截获弯胫大轴甲 Promethis valgipes

张 凌1 蒋志强2 王建国1*

(1.江西农业大学入侵生物实验室, 南昌 330045; 2.嘉兴市康洁有害生物消杀公司)

2018 年嘉兴市康洁有害生物消杀公司于日本进口的榉木上发现一种鞘翅目昆虫为害, 初步形态鉴定结果疑似为轴甲族 Cnodalonini 的昆虫,为明确其种类,笔者进行了实地考察 以及形态与分子鉴定。采用形态鉴定和分子鉴定相结合的方法,通过在实验室对样品进行镜 检,参考形态描述,比对形态分类特征,并经 PCR 扩增获得 DNA 条形码 COI 序列共计 658 bp, 在 NCBI 进行 BLAST 检索。形态鉴定的结果显示, 样品的形态特征和弯胫大轴甲 Promethis valgipes 的形态描述相符合,而分子鉴定的比对结果和韩国 Cho et al.(Unpublished) 提交的弯胫大轴甲 Promethis valgipes 2个样 KC440155、KC440157 相似率为 99%, 覆盖率 为 100%, 形态鉴定和分子鉴定的结果均表明所检测的样品是弯胫大轴甲 Promethis valgipes。 该物种在分类上隶属于鞘翅目 Coleoptera 拟步甲科 Tenebrionidae 窄甲亚科 Stenochiinae 轴甲 族 Cnodalonini 大轴甲属 Promethis。主要分布于中国(河南、湖北、湖南、江西、浙江、福 建、广东、广西),越南,朝鲜,韩国和日本。食性以菌食性为主,取食各类真菌,也取食 朽木或枯枝败叶, 室内常见于受潮后生有霉菌的地方, 国内曾多次报道其危害食用菌菌丝和 子实体,对长满菌丝的潮湿木段破坏力大的惊人,常边取食边排粪便污染食用菌,对食用菌 危害极大, 可造成严重减产, 但对含水量较低、菌丝较少的木段危害较轻, 在干燥木段中甚 至会很快死去。该物种在自然界中是重要的分解者,但同时也是农、林业方面重要的害虫, 可对森林资源及木材加工、出口行业、食用菌产业带来巨大的影响。在防治方面,首选处理 方式是对发生场所进行通风干燥、减少霉菌滋生、清除其食物来源,必要时辅以人工捕杀和 适当的化学防治。弯胫大轴甲的研究基础较为薄弱,在我国只有零星的报道。本文对弯胫大 轴甲进行了较为全面的报道,之后将从生物学习性、防治方法等多个方面对弯胫大轴甲进行 更加深入地研究,从而减少其在木材加工、食用菌产业等方面的危害。

关键词 弯胫大轴甲,榉木,进口,鉴定

*通讯作者, E-mail: jgwang@jxau.edu.cn

星子县松材线虫疫区蚂蚁资源调查*

贺佩珊¹ 邹龙旺² 王建国 1**

(1. 江西农业大学农学院, 南昌 330045; 2. 九江市新天地有害生物防治有限公司, 九江 332000)

松材线虫病是松树的癌症,是重要的检疫性病害。松墨天牛作为松材线虫重要的传播介体,防治松墨天牛即可控制松材线虫病的传播和扩散。对于松墨天牛常采用化学防治和诱集防治,利用天敌对其进行防治还有待研究。捕食性蚂蚁是松墨天牛的天敌,对星子松材线虫疫区的蚂蚁资源进行调查,探究保护当地原有蚂蚁资源以控制松墨天牛的可行性。对星子县松材线虫疫区的蚂蚁进行收集,利用 COI 标记基因以及形态相结合的方法对该地区的蚂蚁进行鉴定。鉴定结果显示星子县松材线虫疫区的蚂蚁主要包括双齿多刺蚁,宽结大头蚁,扁平虹臭蚁及日本弓背蚁 4 种。双齿多刺蚁、扁平虹臭蚁和日本弓背蚁皆为捕食性蚂蚁,有利用这 3 种蚂蚁防治松毛虫取得成功的案例。其中双齿多刺蚁不仅对松毛虫有捕具有食作用,对杨扇舟蛾的初孵幼虫、蚜虫、蚧虫等均具有捕食作用。星子县松材线虫疫区捕食性蚂蚁种类丰富,可尝试人为对疫区蚂蚁资源进行保护以扩大其种群数量,达到控制松墨天牛的作用进而控制松材线虫病的传播扩散。

关键词 松材线虫病,蚂蚁,分子鉴定

*资助项目: 江西省科技厅重点开发项目(20171ACF60023); 江西省林业厅重点项目(201612); 江西农业大学研究生创新项目

**通讯作者, E-mail: jgwang@jxau.edu.cm

江西省新余市柑橘木虱携带黄龙病菌检测

贺佩珊 王建国*

(江西农业大学农学院,南昌 330045)

黄龙病(Huanglongbing,HLB or Crtius greening disease)是柑橘上的毁灭性病害,柑橘木虱(Diaphorina citri)是黄龙病病菌的重要昆虫介体。从黄龙病菌的侵入至受害植物产生典型的受害状之间有较长的潜伏期,且其早期为害状与缺素的症状极其相似。因此,对于黄龙病菌的早期检测及诊断显得及其重要,本文对江西省新余市渝木区柑橘木虱携带黄龙病菌的情况进行检测,以对柑橘黄龙病的发生情况进行监测。利用 Ezup 柱式动物基因组 DNA 抽提试剂盒提取 DNA,参照 Jagoueix 报道引物 OI1/OI2c 进行序列扩增,进而对 PCR 产物通过凝胶电泳进行阳性检测。根据凝胶电泳条带显示,渝木区采集的八份柑橘木虱样本皆未检测到黄龙病菌。在 8 个采样柑橘木虱体内未检测到柑橘黄龙病菌,表明这 8 份送检的柑橘木虱没有携带黄龙病病菌,但即便如此,还是不能放松警惕,应持续对果园中的柑橘木虱和黄龙病进行监测。

关键词 黄龙病,柑橘木虱,病原检测

*通讯作者, E-mail: jgwang@jxau.edu.cm

进口山竹携带南洋臀纹粉蚧新型熏蒸技术研究*

高 明 ^{1,2} 李 丽 ² 李柏树 ² 赵天泽 ^{1,2} 张李香 ^{1**} 刘 涛 ^{2**} (1. 黑龙江大学,哈尔滨 150080; 2. 中国检验检疫科学研究院,北京 100123)

近年来进口山竹携带粉蚧等检疫性有害生物的疫情频发,对我国口岸检疫技术提出了新的挑战,基于口岸检疫快速通关的技术需求,本文测试了低温磷化氢和常温甲酸乙酯熏蒸对南洋臀纹粉蚧的杀灭效果及对进口山竹品质的影响。在5℃条件下,分别使用0.3、0.6、1.2 g/m³磷化氢进行4h的熏蒸处理。20℃条件下,分别使用25、35、45 g/m³甲酸乙酯进行3h的熏蒸处理。分别测定山竹在5℃贮藏21 d和20℃贮藏9 d时的可溶性糖、总酸度、感官品质和VC浓度的情况。结果表明,在5℃条件下,分别使用0.3、0.6、1.2 g/m³磷化氢熏蒸4h对南洋臀纹粉蚧的成虫和若虫都有很好的杀灭效果,与对照组相比,5℃贮藏21 d后低温磷化氢熏蒸组山竹可溶性糖和总酸度均无显著性差异,VC浓度略高于对照组,无明显药害产生;在20℃条件下,分别使用25、35、45 g/m³甲酸乙酯对南洋臀纹粉蚧的成虫和若虫也有很好的杀灭效果。与对照组相比,20℃贮藏9 d后甲酸乙酯各处理组山竹可溶性糖、总酸度和VC浓度均无显著性差异,也无明显药害产生。这些结果表明,低温磷化氢和常温甲酸乙酯熏蒸对南洋臀纹粉蚧有很好的杀灭效果,而且对进口山竹的品质无不利影响,可以作为口岸检疫处理的备选技术。

关键词 磷化氢,甲酸乙酯,熏蒸,山竹,南洋臀纹粉蚧

*资助项目:国家"十二五"科技支撑计划项目(2015BAD08B02);国家质检总局技术支撑专项"2018 动植物检疫处理专项"

**通讯作者, E-mail: fjszhanglx@126.com, liut@caiq.gov.cn

甘蔗新品种苗期抗大螟性评价*

罗志明 尹 炯 张荣跃 黄应昆 李文凤 王晓燕 单红丽 仓晓燕 李 婕 (云南省农业科学院甘蔗研究所, 开远 661699)

大螟是为害甘蔗的一种重要钻蛀性害虫,其发生面广,为害损失大,尤以种植条件较好 的水田蔗区发生重。大螟为害甘蔗主要集中于苗期,造成蔗苗枯心,降低田间有效苗量并导 致减产。因此,明确甘蔗新品种苗期的抗大螟性水平,是其推广应用的基础。采用大螟自然 种群接虫方法,跟踪调查了 2015 年新植蔗、2016 年宿根蔗 12 个甘蔗新品种苗期大螟为害 枯心率水平,应用方差分析方法(Duncan's新复极差法多重比较)、聚类分析法等进行抗大 螟性评价。新植蔗上, 粵糖 60 号、桂糖 31 号、桂糖 29 号、柳城 05-136、粤糖 55 号和福 农 38 号间枯心率差异不显著,与其它品种间差异达极显著水平: 宿根蔗上, 桂糖 29 号、粤 糖 55 号、粵糖 60 号、柳城 05-136 和桂糖 31 号间枯心率差异不显著,与德蔗 03-83 和福农 39 号间差异达极显著水平。通过聚类方法分析,可将12个甘蔗新品种划分为3个抗大螟性 等级: 第1级(中抗): 粵糖60号、桂糖31号、桂糖29号、柳城05-136和粤糖55号,表 现为螟害枯心率低,螟害指数分布在 0.33~0.65 之间; 第 2 级(感虫); 云蔗 06-407、云蔗 05-51、 云蔗 05-49、云蔗 03-194 和福农 38 号,表现为螟害枯心率中等,螟害指数分布在 0.76~1.06 之 间; 第3级(高感): 福农39号和德蔗03-83, 表现为螟害枯心率高, 螟害指数分布在1.33~1.56 之间。不同甘蔗新品种对大螟有不同的抗性水平,其抗性除受品种的物理性状和化学物质含 量影响外,还易受环境和大螟种群密度的影响。本研究评价出粤糖 60 号、桂糖 31 号、桂糖 29 号、柳城 05-136 和粵糖 55 号等中抗大螟的品种,以及福农 39 号和德蔗 03-83 等高感大 螟品种,为甘蔗新品种的推广应用及大螟的防控提供指导。同时,参照 Heinrichs 1985 提出 的水稻二化螟抗性分级方法建立了甘蔗抗大螟性评价标准,为甘蔗品种或种质材料抗大螟性 评价奠定基础。

关键词 甘蔗新品种,大螟,抗性评价

*资助项目:云南省技术创新人才培养对象(2017HB085)

松褐天牛飞机喷雾防治应用与研究现状*

王 辉 ¹ 仇慧娟 ¹ 徐 俊 ² 候佩华 ³ 张 扬 ¹ 刘兴平 ¹ 刘苑秋 ¹ 曾菊平 ^{1**} (1. 江西农业大学林学院江西,南昌 330045; 2. 江西庐山国家级自然保护区管理局,九江 332900; 3. 江西省林业有害生物防治检疫局,南昌 330038)

松材线虫病(松树枯萎病, Pine wood nematode, PWN)是导致多种松树死亡的致命因 素,其主要传播媒介松褐天牛 Monochamus alternatus 广泛分布我国,包括辽宁,河北,山 东,河南,安徽,江西,湖南,湖北,江苏,浙江,福建,台湾,广东,广西,陕西,云 南,四川,西藏,香港19个省份/地区,这为松材线虫病快速扩散、迅猛爆发提供重要基础。 据国家林业局公告(2018),自1982年南京中山陵发现该病以来,病灾已扩散到我国16省 316县区,使各地经济、生态蒙受巨大损失。因而,有效压低松褐天牛种群是隔断松材线虫 病传播等防控工作重点,如天敌释放、死树清理、成虫诱捕等技术已开发应用到松褐天牛 防治实践。近年来松褐天牛飞机喷雾防治(简称飞防)悄然兴起,陆续在我国 12 省 27 地 市开展。飞防最早 1920s 北美启用携带砷酸盐粉尘喷洒控制棉花害虫, 用砷酸钙林冠飞防控 制云杉芽卷蛾 Spruce budworm 等,而 DDT 成为首选药剂后,飞防业务量迅速增加,防控云 杉芽卷蛾、舞毒蛾等林业害虫。但自 1960s 末 DDT 被陆续禁用后,西维因、马拉硫磷、杀 螟硫磷等便被替代地用到飞防。近30多年来,松材线虫病在中国、日本、韩国等松林广布 国家成为灾难,考虑到山地复杂、松林广阔、人力防治艰难且投入巨大,松褐天牛飞防便 开始应用。如日本1982年用飞机喷洒杀螟松等药剂进行防控,10年覆盖到20%的受害松林; 韩国 1988 年在釜山发现松材线虫病,1989 年启用飞防;我国最早南京中山陵于 1984 年启 用飞机喷雾杀螟松乳油防控松褐天牛。杀螟松是早期松褐天牛飞防主要药剂,进入21世纪, 新型氯代烟碱(如啶虫脒、噻虫啉)被开发并用于松褐天牛防控,其高效(低浓度)低毒 (蜂毒性低)特征深受业界认同。尤其,2013年5月25日欧盟发布485/2013号执行法规, 对吡虫啉、噻虫嗪、噻虫胺限制或禁用,这无疑为噻虫啉在更大范围的推广使用提供了机 遇。当前,噻虫啉已成为我国及日本、韩国等飞防松褐天牛的主要药剂。2017年,国家林 业局专门制定出台国家林业行业标准"噻虫啉微囊剂使用技术规程(LY/T2847-2017)",对 噻虫啉微囊悬浮剂、微囊粉剂施药对象/剂量/时期等规范化,如噻虫虫防治天牛选择在其羽 化始盛期施悬浮剂 15~30 mg/kg。然而,目前尽管我们对噻虫啉防治的当代松褐天牛有过直 接/间接致死的短期效果评价,但对其能否或怎样能长期干扰天牛的种群动态(如压低作用), 以及大面积喷施噻虫啉是否存在风险性(如降低生物多样性)等仍未知,亟待深入研究。

关键词 松褐天牛,飞防,噻虫啉,现状,问题

^{*}资助项目: 江西省林业科技创新专项(201711: 201809)

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

不同受害程度云南松树干挥发物成分分析及对 云南切梢小蠹的影响*

刘金林 1 赵 宁 2 杨 斌 1 李宗波 1,2**

(西南林业大学生物多样性保护与利用学院 云南省森林灾害预警与控制重点实验室, 昆明 650224)

云南切梢小蠹 Tomicus yunnanensis 是以危害云南松为特征的一种毁灭性蛀干害虫,其初级引诱是寄主树木次生代谢物质诱发的嗅觉与行为敏感性协同调控的结果,但目前关于云南切梢小蠹寄主选择所利用的挥发性物质及其阶段性动态并不清楚。用气相色谱-质谱联用(GC-MS)和昆虫电生理(GC-EAD)相结合的方法,对不同危害程度云南松树干所释放的挥发物物质进行了定性定量分析和活性成分研究。云南松树干挥发物中共鉴定出 23 种化合物,以萜烯类和海松酸为主要成分,不同危害程度树干挥发物的种类及含量差异明显。其中,α-蒎烯在萎焉木和濒死木中含量显著高于健康木和初侵木,β-蒎烯随着危害程度增加其相对含量上升明显,而莰烯、月桂烯、2-侧柏烯相对含量均有不同程度增加;萜品油烯仅存在健康木及初侵木中,3-蒈烯仅存在初侵木中。随机森林(Random Forest)分析(OOB=2.5%)表明β-蒎烯、α-蒎烯、萜品油烯和莰烯在挥发物中贡献量较大,α-蒎烯、β-蒎烯、莰烯、月桂烯、反-β-金合欢烯和海松酸能够引起云南切梢小蠹雌成虫触角电位反应。α-蒎烯、β-蒎烯和莰烯是云南松受害程度的指示性物质,也是云南切梢小蠹雌成虫触角电位反应。α-蒎烯、β-蒎烯和莰烯是云南松受害程度的指示性物质,也是云南切梢小蠹雌成虫触角电位反应。α-蒎烯、β-蒎烯和莰烯是云南松受害程度的指示性物质,也是云南切梢小蠹雌成虫触角电位反应。

关键词 云南切梢小蠹,云南松,树干挥发物,指示性物质,GC-MS,GC-EAD

*资助项目: 国家自然科学基金(31560213,31760210); 云南省应用基础研究(2011FZ139); 云南省森林灾害预警与控制重点实验室项目(ZK150006); 云南省高校科技创新团队项目 **通讯作者,E-mail: lizb@outlook.com

大麦虫行为节律观察*

周嘉颖 1.2 石昊妮 1.2 徐川峰 1.2 殷立新 2.3 刘兴平 1.2**

- (1. 鄱阳湖流域森林生态系统保护与修复国家林业局重点实验室(江西农业大学), 南昌 330045;
 - 2. 江西农业大学林学院,南昌 330045; 3. 江西省南昌市湾里区林业局,南昌 330004)

大麦虫 Zophobas atratus Fab. 隶属鞘翅目(Coleoptera)、拟步甲科(Tenebrionidae)、拟 步甲族(Tenebrionini)昆虫。由于具有较高的营养价值,该虫近年来经由东南亚国家引入 我国进行大规模饲养,并广泛应用于观赏动物的蛋白质饲料以及我国林业天敌昆虫花绒寄甲 的人工繁育。为探索该虫的繁育技术,本文在室内条件下,开展了该虫行为节律的观察,以 期增强对该虫生物学特性的理解。在 25℃、自然光照条件下的恒温养虫室内,通过人工观 察的方法,以每小时记录一次结果的方式,对该虫化蛹、羽化以及成虫活动等行为进行统计, 明确该虫的行为节律。(1) 化蛹节律:该虫在每日24 h 不同时间点均有不同比例的幼虫化 蛹且不存在差异 (P > 0.05), 其中雌虫化蛹比例在 $2.39\% \sim 6.37\%$ 之间, 雄虫化蛹比例在 2.25%~5.98%之间。(2) 羽化节律: 在每日 24 h 各时间点该虫同样具有不同比例的蛹羽化且 无差异(P > 0.05)。其雌、雄虫的昼、夜间羽化比例分别为 58.17%、41.83%和 52.30%、47.70%。 (3) 成虫行为节律:观察发现大麦虫成虫通常表现为静息、取食、爬行、抱对和交配等行 为。静息行为在8时达到最高值(6.41%),24时达到最低值(0.67%),且在各时间点存在 显著差异 (P < 0.01): 取食行为在各时间点同样存在显著差异 (P < 0.01), 且在 23 时和 8 时分别达到最高值(6.87%)和最低值(1.49%):爬行行为主要集中在夜间(18时-6时), 可达 85.99%, 与昼间的爬行行为存在显著差异 (P < 0.01); 抱对行为最高值出现在 7 时 (7.36%),而最低值在 20 时 (0.97%),且在各时间点存在显著差异 (P < 0.01);交配行为 主要集中在8-12时和17-19时,交配比例高达75%,其中昼间的交配比例(69.44%)高 干夜间(30.56%)但无差异。以上结果表明,该虫在各时间点均有化蛹和羽化现象且不存 在节律性,成虫在 24 h 内各时间点均存在静息、取食、爬行和抱对行为,但活动的节律性 有差异,其中,静息、抱对和交配行为主要发生在白昼,取食与爬行行为主要发生在夜间。 这一结果对于该虫生物学的理解以及人工繁育技术提供理论依据。

关键词 大麦虫,行为节律,爬行行为,静息,取食,抱对行为

^{*}资助项目: 国家自然科学资助项目(NSFC 31760106, 31360092)

^{**}通讯作者,E-mail: xpliu@jxau.edu.cn

桑树害螨及其种质抗螨性研究进展

卢芙萍 耿 涛 武华周 卢 辉 唐继洪 王树昌* (中国热带农业科学院环境与植物保护研究所,海口 571101)

近年来,医养结合、药食同源的桑蚕加工品备受国内外市场青睐。我国的蚕桑产业也正加速从传统的"一粒茧""一根丝",向"一片桑园""一系列资源"多元化发展模式跨越。害螨作为桑树重要有害生物之一,全世界已知种类目前达 29 种,分别属于叶螨科(Tetranychidae)、瘿螨科 (Eriophyidae),跗线螨科(Tarsonemidae)和细须螨科(Tenuipalpidae),其中危害严重的种类达 16 种,包括叶螨科的 Tetranychus cinnabarinus,T. equatorius,T. neocaledonicus,Eotetranychus suginamensis,Panonychus mori 和瘿螨科的 Aceria mori,其中 Panonychus mori 是日本和印度桑树重要害螨,2015年在韩国发现为害枣树,目前已在我国海南桑树上发现。

目前我国桑树害螨种类高达 25 种,其中桑始叶螨和朱砂叶螨在我国各植桑区均严重发生,尤其是桑始叶螨,其为害导致桑园状如火燎,俗称为"风火叶",叶片营养价值降低,失去利用价值,发芽开叶期发生,导致新梢伸长量减少 50%~80%,严重为害时,芽叶完全不能展开,产叶量显著降低。螨害叶与正常叶养蚕比较,全茧量下降 32%,茧层量下降 42%。鉴于害螨为害重,损失日趋加大,二十世纪末开始,我国各桑树育种单位相继把桑树抗螨作为一项重要的指标。随后,我国研究专家通过室内饲养观察及生命表技术,以危害最重的桑始叶螨和朱砂叶螨为主要对象,研究、评价桑树对害螨的抗性水平,发现不同桑树品种对害螨存在显著抗、感性差异,取食不同桑树品种后,害螨内禀增长率存在显著差异,并确定将内禀增长率作为桑树抗螨性评价指标之一。机理研究表明,桑叶"下表皮+海绵组织"厚度超过害螨口针长度,则具有较强的抗螨特性,短于害螨口针的品种则易感螨。

近年来,利用抗性品种及天敌防治害螨等"抗性小虫"被认为是最经济、有效且环保的措施。目前我国已收集保存的各类桑种质资源居世界第一位,不断提高桑树品种的产量、品质、抗病虫性和适应性是现代桑树育种家追求的主要目标。然而,比较而言,近年来在桑树抗螨性研究方面却相对薄弱,因此,今后应加强桑树抗螨性研究,尤其是遗传及分子育种研究,为优良、抗螨桑树种质的创新与利用奠定基础。

关键词 蚕桑产业,桑树种质,抗螨性评价,抗性机理,分子育种

*通讯作者

工蜂密度对熊蜂采集不同品种番茄选择性的影响*

刘 冬 方美娟 何晓庆 王玉波**

(河北省农林科学院旱作农业研究所, 衡水 053000)

熊蜂 Bombus terrestris 是设施栽培番茄应用最广泛的授粉昆虫,是当前被商业化饲养的主要熊蜂种类。为设施番茄授粉时,熊蜂会对某些番茄品种产生采集选择性。因此,在多个品种番茄混合种植的设施内,如何应对熊蜂的采集选择性是提高熊蜂授粉效率的关键。本研究拟探索增加熊蜂工蜂密度实现多品种混合种植番茄利用熊蜂授粉的可能性。试验在春季塑料大棚内进行,面积300 m²,以5个番茄品种混合种植(优乐美、贝利、瑞缇娜、绿亨206、瑞粉882),设置工蜂低密度处理0.05头/m²,高密度处理0.27头/m²,处理间用40目防虫网隔开。放蜂后,每天9:00、12:00、14:00、18:00调查各供试品种花朵的访花率。结果表明,供试番茄品种的访花率受工蜂密度和授粉时间显著影响。低密度处理工蜂对供试品种进行有选择性地采集,各供试品种的最终访花率依次为89.3%、73.9%、73.0%、66.0%、64.9%,而高密度处理各供试品种访花率均达到100%。在一天内9:00、12:00、14:00、18:00时,低密度处理所有品种总访花率依次为25.7%、38.1%、56.8%、73.1%,而高密度处理总访花率依次为78.2%、100%、100%、100%。此外,高密度处理和低密度处理工蜂采集单朵花平均时间分别为5.8和15.5 s。由此可见,随着工蜂密度增大,作物的访花率逐渐增高,访花率达100%时越快,工蜂对单朵花的访花速度加快。因此,增加工蜂密度可以作为熊蜂选择性采集混合种植不同番茄品种的应对措施。

关键词 熊蜂, 工蜂密度, 采集选择性

*资助项目:河北省农林科学院创新工程项目(F18R06002)

**通讯作者, E-mail: wybnky@126.com

工产蜂形成及表型特征

肖祖栋 赵紫华*

(中国农业大学植物保护学院昆虫学系, 北京 100193

蜜蜂是社会型昆虫,一个蜂群通常由3种类型蜜蜂组成,分别是一只蜂王、成千上万只工蜂、和成百上千只雄蜂。蜂王(2n=32)是由受精卵发育而成的生殖器官发育完全的雌性蜂,工蜂(2n=32)是由受精卵发育而来的生殖器官发育不完全的雌性蜂,雄蜂(n=16)是由未受精卵发育而成的生殖器官发育完全的雄性蜂。正常情况下发育成工蜂的受精卵和发育成雄蜂的未受精卵均是由蜂王产生。工蜂受蜂王信息素的抑制生殖器官发育不完全而无法产卵。但是在实际生产中,但当蜂群处于蜂王丢失的情况下,蜂群没有了蜂王信息素的控制,部分工蜂卵巢开始发育并具备产卵的能力,便相继在空巢房内产卵。工蜂产的卵(简称工产卵)和蜂王产的卵极易分辨,蜂王产的卵在巢房底部每房一粒且方向整齐,虽然每只工蜂也在一个巢房里产一粒卵,但由于蜂群内不止一只工蜂产卵,所以就造成了一房多卵现象且卵排列凌乱。

本实验通过人为创造失王环境,令蜂群内的部分工蜂卵巢发育并产卵,再让蜜蜂自行哺育让工产卵发育为成虫,取工蜂,雄蜂,以及工产卵发育来的蜜蜂样本若干,对其发育过程,形态对比研究。研究发现在发育周期以及封盖形态等方面工产卵和雄蜂极其相似,和工蜂不同。通过形态对比发现工产卵发育而来的蜜蜂和雄蜂也有许多相似,比如背部都全黑,都没有螯刺,腹部可见节都为7,触角鞭节数都为11,而工蜂分别为6和10,但是也存在许多差异,比如雄蜂后足和腹部都为棕黑色,而工产卵的成虫后足和腹部为棕黄色,通过形态学测量发现雄蜂和工产卵的成虫在前翅长、腿节长、胫节长、生物量等方面都存在显著差异,同样和工蜂也存在显著性差异。因此,工产卵是发育成雄性蜂的未受精卵,其成虫是不同于工蜂,雄蜂,以及蜂王的第四型蜂。体型大于工蜂而小于雄蜂。这些研究为后续探索蜂群的分化以及社会分工提供了重要的实验证据,也为研究蜂群组成及功能提供理论依据。

关键词 工蜂,工产卵,雄蜂,形态学

*通讯作者, E-mail: zhzhao@cau.edu.cn

冬型中国梨木虱对梨树不同部位产卵的时序选择*

赵龙龙 李庆亮 张未仲 胡增丽 周旭凌 刘朝红 韩 凤 李 捷** (山西省农业科学院果树研究所,太谷 030815)

梨树是我国水果产业的重要组成部分。中国梨木虱 Psylla chinensis 是我国梨树生产中 的重要害虫,遍布整个梨树产区,为梨树害虫的重点防治对象。研究表明中国梨木虱随季节 变化会产生明显两型,分别为冬型和夏型,冬型梨木虱主要发生于梨树休眠期、萌芽期、花 展叶期,夏型梨木虱主要发生于梨树生长期,为危害梨树的主要虫型。对梨木虱产卵特点调 查表明: 夏型梨木虱主要产卵于梨树叶片的叶脉、叶缘、叶柄部位, 而冬型梨木虱在完成产 卵过程因经历萌芽期、花、展叶期3个不同物候期,在此变化过程中,梨树营养分配,外形 特点均发生明显的变化,有关冬型梨木虱产卵部位选择,偏好是否因此而变化却少有研究。 在梨木虱的年生活史当中,冬型梨木虱的发生数量和产卵量直接决定了夏型梨木虱的虫口基 数,间接影响到其危害大小。通过了解冬型梨木虱的产卵选择以及随物候期的变化特点,对 控制梨木虱和制定相关防控策略具有重要借鉴意义。在冬型梨木虱的产卵期,于梨园调查梨 木虱在梨树不同部位的产卵情况以及随梨树不同物候期的变化特点,调查取样部位有:花芽、 叶芽、枝条基部刻痕处,叶柄、幼叶等,对不同部位的产卵情况进行分析并统计。结果表明: 冬型梨木虱产卵活跃期约40日,从初产卵起约20日为产卵峰期,峰期持续约1周左右:以 枝条基部刻痕处落卵数量最高,其次为花芽、叶芽等部位;冬型梨木虱产卵部位的选择随物 候而变化, 萌芽前, 优先选择枝条顶芽进行产卵, 顶芽部位着卵量饱和时, 开始转移到腋芽 和枝条基部刻痕处进行产卵; 花展叶期, 花芽、叶芽、枝条基部刻痕处着卵量下降明显, 主 要于花柄和嫩叶部分进行产卵。本研究明确了冬型梨木虱对梨树不同部位的产卵时序选择, 其产卵特点随梨树物候而变化,时序为花芽、叶芽、枝条基部、花柄和幼叶部位。冬型梨木 虱这种产卵部位的时序选择与梨树物候变化相应,有利后代取食并提高了后代的存活率。通 过本研究, 可在生产中通过修剪等措施以减少冬型产卵部位来减少其后代基数, 另可根据冬 型梨木虱的产卵时序特点,制定相应防控措施。

关键词 梨木虱,产卵选择,玉露香梨,梨树,种群动态

*资助项目:山西省农业科学院博士研究基金(YBSJJ1608);山西省重点研发计划重点项目(201703D221011-4);山西省农业科学院院农业科技创新研究课题(YCX2018302)**通讯作者

台湾乳白蚁工蚁与兵蚁的触角感器形态、分布及丰度*

付丙鲜 1 张大羽 1***

(浙江农林大学农业与食品科学学院, 杭州 311300)

台湾乳白蚁的工蚁及兵蚁在蚁巢中具有截然不同的分工,我们认为这与其主要感觉附肢 -触角所负载的感觉器具有很大关系,因此我们试图找出两者的主要感觉附肢——触角所 负载感器在感器类型、形态、分布及丰度等方面所存在的差异。利用场发射扫描电子显微镜 对台湾乳白蚁工蚁及兵蚁的触角以背面场、腹面场分别进行扫描观察和统计。台湾乳白蚁工 蚁及兵蚁触角上均存在7种类型感觉器,分别为刺形感器(I,II,III)、伯母氏鬃毛、钟形 感器(I, II, III)、毛形感器、毛状弯曲感器、锥形感器、头状感器。此外,还有一种随机 分布于触角表面的圆形孔洞。工蚁及兵蚁触角感器不仅类型相同,其在触角表面的分布模式 及丰度也非常相似。I型刺形感器仅在柄节、梗节发生,III型刺形感器多发生于鞭节,II型 刺形感器在各节均有分布。伯母氏鬃毛成簇发生于柄节、梗节基部。I型钟形感器在触角背 面场近外缘及腹面场近内缘发生较多,多数情况下单个出现:Ⅱ型钟形感器仅发生于梗节端 部一圈; III 型钟形感器特定发生于鞭节背面场顶端两侧(每侧一个)以及腹面场顶端中间 位置。毛形感器、毛状弯曲感器、锥形感器、头状感器仅分布于鞭节,一般在第一亚节不会 发生,锥形感器、头状感器一般仅在腹面场发生。台湾乳白蚁工蚁及兵蚁触角背面场大约分 布有 667~768 个感觉器, 腹面场约有 893~924 个感觉器, 绝大多数为毛形感器, 其次为刺 形感器、毛状弯曲感器。台湾乳白蚁触角的感器形态、分布及丰度在工蚁及兵蚁之间没有差 异,决定工蚁及兵蚁不同分工的关键因子可能并非由感知差别引起。

关键词 台湾乳白蚁,感器,形态,分布,丰度

*资助项目:国家自然科学基金青年科学资助项目(31600520);中国博士后科学资助项目(2016M601970);中国博士后科学资助项目(2013M531470)

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

BdorOR59b 调控桔小实蝇对寄主挥发物的感受

谭 杨 李丹阳 刘 召 王进军

(西南大学植物保护学院,重庆 400716: 西南大学农业科学研究院,重庆 400716)

昆虫的嗅觉受体(olfactory receptors,ORs)是嗅觉系统中的重要一员,参与昆虫取食、交配、产卵地点选择等过程。桔小实蝇是一种世界性的毁灭害虫,其寄主植物多,危害范围广。本研究以桔小实蝇为研究对象,探究 OR 基因 BdorOR59b 感受寄主植物挥发物的分子机理,阐明嗅觉对昆虫行为的影响,为利用昆虫行为调节剂防治害虫提供理论依据。1)根据第3和8d的触角转录组分析差异表达基因,筛选出候选基因 BdorOR59b。2)利用 RT-qPCR技术检测雌、雄虫不同日龄以及不同组织中基因的相对表达量。3)利用 RNAi 技术注射dsRNA,沉默目的基因,4)利用触角电位(Electroantennogram)技术,检测干扰后雌雄虫对寄主挥发物的电生理变化,并进行行为学验证。成虫不同日龄的定量结果表明 BdorOR59b在雌虫五日龄表达量最高,七日龄也有一定表达;在雄虫七日龄相对表达量显著高于其他日龄。不同组织定量结果表明该基因在雌虫中头部(包含触角)表达最高;在雄虫中各组织之间没有显著差异;在雌虫中表达量显著高于雄虫。RNAi 实验中,干扰效率可达 60%以上,对干扰后的虫子进行触角电位的测定结果显示干扰后雌虫对苯丙噻唑的 EAG 响应显著降低,雄虫干扰前后无明显差异。昆虫对不同寄主挥发物有不同的反应,不同嗅觉受体可感受不同的寄主挥发物,BdorOR59b可能参与桔小实蝇感受苯丙噻唑的嗅觉行为。

关键词 桔小实蝇, RNAi, EAG, RT-qPCR

基于随机森林算法的白眉野草螟监测预警模型构建*

战一迪 龚静莲 程 娇 刘 勇**

白眉野草螟 Agriphila aeneociliella (Eversmann)是我国鲁东冬麦区的一种新发害虫,2010年首次在山东莱州发现。其幼虫主要于小麦返青至拔节期在小麦根茎部为害,受害严重的麦苗被齐根咬断,被害麦田严重减产甚至绝产。由于白眉野草螟的危害性尚未被充分认识,目前国内外只是对其分布范围、生物学习性以及发生危害规律做了初步研究,尚未有针对该害虫的监测预警技术和方法。为预测白眉野草螟的发生程度,明确其暴发成灾的关键因子,使用基于 R 语言的随机森林算法,建立白眉野草螟的监测预警模型。以 17 种气象因子为自变量,以白眉野草螟发生程度为因变量,分析了鲁东地区 2010~2016年白眉野草螟发生程度与气象因子之间的关系,构建其监测预警模型。结果表明,影响鲁东地区白眉野草螟发生程度的主要气象因子为"平均地表气温""平均水汽压"和"日最低气温",Gini 值平均降低量分别为 14.56、13.35 和 11.74。利用随机森林袋外估计进行检验,模型准确率可达到81.7%,利用测试数据进行检验,模型准确率为 81.0%。因此,对鲁东地区白眉野草螟监测预警模型,可为该虫的发生程度预测提供技术支撑。此外,此模型的构建对其它作物害虫发生程度预测也具有借鉴作用。

关键词 白眉野草螟,监测预警, R语言,随机森林算法,气象因子

*资助项目: 国家重点研发计划(2017YFD0201705); 山东省重点研发计划(2016GGX109002) **通讯作者, E-mail: liuyong@sdau.edu.cn

检疫性害虫中对长小蠹在中国的适生区

范靖宇¹ 吴 哿 王梦琳¹ 原雪娇¹ 李 敏 高雯芳¹ 朱耿平¹ 蔡 波^{2,3} (1. 天津市动植物抗性重点实验室,天津师范大学生命科学学院,天津 300387; 2. 海南出入境检验检疫局,海口 570311; 3. 海南省外来有害生物预警与检疫防控工程技术研究中心,海口 570311)

中对长小蠹是一种重要的检疫性害虫,多年来随进口货物不断在我国入境口岸截获。该 虫本土分布于中美洲, 现已在我国海南建立种群, 对我国大陆构成一定的传入风险, 其一旦 向扩散将对林业生产和生态环境造成严重危害。 预测其在中国的潜在入侵分布, 可为阻断其 传播和早期监测提供参考。根据中对长小蠹现有分布记录,选取两组相关性的气候变量,对 中对长小蠹的本土生态空间与中国的生态空间进行对比,测试其在我国入侵过程中生态位保 守性, 然后基于两组环境变量在本土中美洲地区分别构建生态位模型, 将其转移至我国和世 界其它国家和地区来检测模型,并预测其在我国的适宜生态空间和潜在分布。我国中对长小 蠹的截获主要在长三角和珠三角地口岸,从木材制品进口中截获。生态空间比对发现中对长 小蠹在我国与其本土所占有的生态空间具有较大的重叠,其在我国的入侵过程中生态位是保 守的,然而与本土空间相比,我国所占有的生态空间存在较大的生态位空缺,表明中对长小 蠹在我国的潜在入侵风险较大。基于两组变量的模型结果均显示中对长小蠹的适宜区主要分 布于中美洲、南美洲中部、非洲中部、澳洲北部和亚洲中部以及东南亚地区。我国海南、台 湾、广东、云南和广西的大部分地区,以及福建沿海地区存在入侵风险,这些潜在分布区多 聚集在沿海地区,人类频繁贸易活动易助长其在入侵地建立种群并扩散,这些高风险地区应 开展预警与监测防止其从海南向大陆扩张或二次入侵。综合潜在分布分析和截获记录统计, 作者认为我国广东珠江三角地区入侵风险最高,需要密切监控。

关键词 中对长小蠹,潜在分布,生态位模型,MaxEnt

家蚕丝腺生物制药与蚕丝生物材料

王 峰 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胶 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,使报 告基因的转录水平和蛋白含量分别提高9、16倍,分泌到茧丝中的蛋白占到茧层重量的9.5%; 建立了家蚕多基因表达系统,可实现多个靶标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%; 并探索提高外源基因表达量的新策略, 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; 并证明 haFGF、HSA 等 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。进一步以重组有人源化功能蛋白的蚕丝为原料,探索制备 功能性医用蚕丝生物材料,对其生物活性进行了系统性评价与研究,有望拓展蚕丝在组织医 学工程材料领域的应用。

关键词 家蚕,转基因,生物制药,生物材料

雪峰虫草菌寄主昆虫巨疖蝙蛾的研究*

李纲陈珊周琼**

(湖南师范大学生命科学学院,长沙 410081)

雪峰虫草为真菌新类群线虫草菌科雪峰虫草菌 Ophiocordyceps xuefengensis T. C. Wen, R. C. Zhu, J. C. Kang & K. D. Hyde 寄生在蝙蝠蛾科昆虫幼虫上的子座和幼虫尸体的复合体 (Wen et al., 2013),是目前为止已知最大的虫草。主要分布于湖南省洞口县、隆回县等雪峰山区。雪峰虫草作为瑶药使用历史悠久,主要用于肺部疾病,如肺炎、干咳、热咳等,配伍后对高血压、病毒性肝炎、类风湿性关节炎、痛风等疾病亦有良好的疗效(黄明和, 2012)。

巨疖蝙蛾 Endoclita davidi (Poujade, 1886) 隶属于鳞翅目蝙蝠蛾科 (Hepialidae) 蝙蛾属 Endoclita, 异名 Phassus giganodus (Chu and Wang, 1985),是一种蛀干性昆虫,朱弘复等(2004)编著的《中国动物志(昆虫纲第38卷蝙蝠蛾科)》记载了该种,但有关其生物学和生态学特性等基础研究尚未见报道。我们经过近五年的连续野外观测、跟踪调查和室内的系统研究,弄清了巨疖蝙蛾的生物学特性、生活史、行为习性、天敌类群、适宜的生存条件和人工饲养技术以及幼虫的营养成分等;并研究了其体表超微感器、性信息素分泌腺体的显微和超微结构,以及通过溶剂提取和顶空微萃取方法获得的活性成分及其引起的触角电位响应,为进一步研究虫草菌与寄主昆虫间的互作,蝙蝠蛾科原始鳞翅目昆虫的性信息素、嗅觉行为机制及其进化,以及雪峰虫草的规模化人工培育奠定了基础。

关键词 巨疖蝙蛾,雪峰虫草,生物学特性,人工饲养,性信息素

*资助项目: 湖南省科技厅重大专项(2014FJ1007); 湖南省生态学重点学科建设项目(0713)

**通讯作者, E-mail: zhoujoan@hunnu.edu.cn

水稻几丁质酶基因 OsCHIT15 的表达模式研究*

鞠 迪 杨雪清** 王小奇**

(沈阳农业大学植物保护学院,辽宁省经济与应用昆虫重点实验室,沈阳 110866)

二化螟 Chilo suppressalis (Walker) 是我国水稻生产上危害最为严重的常发性害 虫之一。化学杀虫剂是防治二化螟的有效武器,但由于不科学使用引发生态污染和昆 虫抗药性等问题, 迫切需要开发新型绿色防控技术。几丁质酶因能够降解植食性昆虫 围食膜中的几丁质,影响昆虫的消化系统,是当前植物抗虫基因工程中的研究热点和 潜在的害虫防治新靶标。本研究基于前期从高抗-抗-感二化螟水稻比较转录组中鉴定 出的水稻几丁质酶基因 OsCHIT15,以东北地区常规种植的 3 个水稻品系 1688、1665 和 1654 为研究对象,研究 OsCHIT15 基因在水稻苗期和分蘖期人工接种二化螟和机 械损伤处理后的时空表达模式。RT-aPCR 结果表明,接虫处理和机械损伤处理均诱 导 OsCHIT15 基因表达水平上调, 但在处理后不同时期和不同处理间表达模式不同。 1654 是 3 个品种中 OsCHITI5 基因被诱导表达最为显著的, 在水稻苗期的根部以及分 蘖期的茎秆中, OsCHIT15 基因的表达量在处理后 12 h 内均有一个非常明显的上升。 OsCHIT15 基因在 1665 品种中表达量相对较低, 且在分蘖期的诱导表达幅度低于苗期。 在 1688 品种中, 分蘖期机械损伤处理后, 根和叶中 OsCHIT15 基因的表达量高于茎 秆,而苗期茎秆中 OsCHIT15 基因的表达量高于根和叶,且随着处理时间延长呈现先 升高后降低趋势。接中处理和机械损伤处理后, OsCHIT15 基因表达水平在3个水稻 品种中均被明显地诱导,表明了其参与水稻抗二化螟危害的功能。

关键词 几丁质酶,水稻,二化螟,防御,诱导表达

*资助项目:中国科协青年人才托举工程(YESS20160085)

**通讯作者, E-mail: sling233@hotmail.com; wxq1120@sina.com

青斑蝶翅热量获取能力的研究*

廖怀建 1** 杜 婷 1 张榆祺 2 石 雷 1**

(1. 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; 2.西南林业大学生命科学学院,昆明 650224)

蝴蝶自主飞行需在胸部温度高于环境温度 4~11℃下发生,胸部温度的热量是翅从太阳光中获取。自主飞行直接参与了蝴蝶繁殖,翅的热量获取能力决定了蝴蝶繁殖成功与否。通过对翅热量获取能力的研究,为蝴蝶人工培育与利用提供理论依据。

测定光照强度 600~60 000 lx 和翅展开角度 15~180 °下青斑蝶胸部实时温度,阐明青斑蝶 热量获取时的适宜光照强度和翅展开角度;分别测定青斑蝶前、后翅热量获取时的胸部实时温度,同时测定前、后翅翅展,阐明前、后翅热量获取能力差异;测定青斑蝶翅面深色区域和浅色区域光谱反射率,并测定青斑蝶在翅面深色区域去除鳞片、翅面浅色区域去除鳞片、翅面完全去除鳞片和翅面鳞片完整状态下热量获取能力,阐明青斑蝶翅面吸热与非吸热区域分布;测定青斑蝶热量获取时,翅面温度实时分布与变化,同时测定特定深色区域、浅色区域温度和翅脉温度,阐明热量获取时,青斑蝶翅面热量暂时存储区域及传递路径分布。

结果发现,光照强度与翅展开角度均显著影响了青斑蝶翅的热量获取,适宜翅热量获取的光照强度为 25 000~40 000 lx,翅展开角度为 75~90°。前、后翅均随着光照强度的增强热量获取越多,前翅热量获取能力强于后翅,可能因为前翅翅面显著大于后翅。浅色区域温度无论何时均显著低于深色区域; 翅面黑色区域为青斑蝶热量吸收主要区域, 而浅色区域则不吸收热量。翅面热量暂时存储区域为前翅翅室 A-CU3 和 Cu2-Cu3,与后翅翅室 1A-Cu2、Cu1-Cu2、M3-Cu1、R2-M1 靠近翅基部中后部分深色区域温度; 热量传递路径为前翅: Cu-Cu2 路径、Cu-Cu3 路径和翅脉 A 路径,后翅: R-R2 路径、R-M-M1 路径、Cu-M-M3 路径、Cu-Cu1 路径、Cu-Cu2 路径和翅脉 1A 路径。本研究可为蝴蝶繁殖的人工调控提供理论基础。

关键词 前翅,后翅,热量,鳞片,光照强度

*资助项目: 国家自然科学基金青年科学资助项目(31702072); 林业公益性行业科研专项经费(201504305); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资助(CAFYBB2017QA012)**通讯作者, E-mail: leishi@139.com; huaixiyu 08@126.com

九香虫滯育期脂肪、糖和蛋白质的含量变化*

吴有芳 周汶桢 赵 帅 金道超 郭建军**

(贵州大学昆虫研究所,贵州山地农业病虫害重点实验室,贵阳 550025)

九香虫 Aspongopus chinensis Dallas, 1851 是重要的药食两用资源昆虫,隶属于昆虫纲 Insecta 半翅目 Hemiptera 兜蝽科 Dinidoridae。现代医学证明其具有良好的抑菌、抗癌作用和医学保健价值,社会需求日增。然而九香虫生长发育过程中存在严重的越冬滞育,且滞育期长达7个月,繁育周期极度延长,严重制约了其有效利用。

本研究以采自于贵州习水的滞育前后的九香虫,分别利用索氏提取法、蒽酮比色法、BCA蛋白定量测定法对比了九香虫滞育期前后体内的脂肪、糖和蛋白的变化,探索九香虫体内营养物质变化与九香虫滞育的关系。九香虫在滞育前后脂肪、糖和蛋白都产生了一系列的变化。脂肪:九香虫 10 月开始滞育时体内脂肪最多,最大为其体重的 40.5466%,后整个滞育过程中脂肪不断减少,滞育后期(次年 4 月)减少至 19.5066%;滞育解除后(次年 5 月),九香虫脂肪增高为 26.5566%。糖:在滞育过程中九香虫体内的糖是一个先上升再下降的过程,最大值为 11 月的 510.3771 μg g⁻¹;滞育后期(次年 4 月)减少为 238.1701 μg g⁻¹;滞育解除后(次年 5 月)九香虫体内的糖物质升高为 822.3218 μg g⁻¹。显著高于滞育时期(P<0.05)。蛋白:在滞育过程中九香虫体内蛋白是一个整体上升的过程。最大值为 3 月的 199.5900 μg mL⁻¹。滞育后期(次年 4 月)蛋白减少至 183.8866 μg mL⁻¹。滞育解除后蛋白质减少较多,减少至 154.3766 μg mL⁻¹。滞育解除后(次年 5 月)九香虫的蛋白含量比滞育时期显著降低 (P<0.05)。九香虫滞育过程中主要消耗的能源物质是脂肪和糖;在越冬滞育过程中九香虫可能会积累某些与滞育相关的蛋白。能量缺失可能导致是九香虫不能提前解除滞育的原因之一。

关键词 九香虫,滞育,脂肪,糖,蛋白,变化

*资金项目:贵州省优秀青年科技人才培养对象专项资金项目(黔科合人字[2015]25号); 国家自然科学基金(81360612)

**通讯作者,E-mail: jjguo@gzu.edu.cn

橘小实蝇种群特征及免疫对紫外辐射的响应

曾译影 杨 铃 卫 静 王雁楠 赵紫华* (中国农业大学植物保护学院昆虫学系,北京 100193)

紫外线辐射(UVR)属于不可见光,也称紫外线,属非电离辐射,波长范围在 100-400 nm 之间,通常用于医疗、卫生、科研等多个领域。紫外辐射通常是混合波段,依据波长可以划分为: A 波段 (400-320 nm); B 波段 (320-280 nm); C 波段 (280-200 nm)以及真空紫外波段 (200-10 nm)。随着全球人口的日益膨胀和工业的迅猛发展,环境问题日趋成为全世界关注的焦点。大气污染急剧加重,臭氧层渐趋变薄甚至出现臭氧空洞,近地表地外辐射剧增。有研究表明大气中臭氧每减少 1%,照射到地球表面的 UVR 就增加 2%。近几年,UV 辐射越来越受到公众的关注,它作为一种重要的环境胁迫因子,能被许多生物大分子(蛋白质和核酸等)吸收,导致它们的结构和功能被破坏,进而影响生物体的正常生理活动,因而太阳光中紫外线强度的增加,会对整个生态系统内生物的遗传与进化产生强大的选择压力。

橘小实蝇 Bactrocera dorsalis(Diptera: Tephritidae)是一种世界性检疫害虫,寄主范围广,具有很强的适应性和扩散性,多个国家已将橘小实蝇列为检疫对象。本课题选择橘小实蝇实验种群,设计一个对照和 3 个实验处理(UVA,UVB,UVC),对各虫态进行相关生物学指标的测定,并对其繁殖能力进行相应的记录,同时进行相关生理生化指标测定,探究其体内免疫系统对于紫外辐射的响应。结果发现:不同波段的紫外线,会在不同程度上推迟雌性橘小实蝇开始产卵的时间,并显著影响橘小实蝇卵的孵化率及总的产卵量,以 UVC 最为显著,而幼虫的化蛹率,蛹的羽化率以及蛹重,成虫重,并无显著性差异;不同波段紫外线的辐射对橘小实蝇体内抗氧化系统中酶物质的含量(MDA,T-AOC,SOD,CAT,PDO)均有不同趋势的影响,免疫响应的机制不同。

本研究阐述了紫外线对橘小实蝇实验种群生长发育及繁殖的影响,为橘小实蝇的紫外线 诱变机制提供参考依据,同时,研究结果为功能基因组学和蛋白组学研究提供了研究基础, 也为橘小实蝇的田间综合治理提供了实践指导价值。

关键词 生命表,繁殖,孵化率,种群,辐射

*通讯作者, E-mail: zhzhao@cau.edu.cn

柑橘木虱对不同颜色的趋性研究

吴兰花 陈仁琛 韩若琛 魏洪义* 郑丽霞* (江西农业大学农学院,南昌 330045)

为研究柑橘木虱对不同颜色的趋性,本试验采用自制长方体与八面体装置进行柑橘木虱的颜色趋性研究。选用的颜色根据 RGB 色彩模式进行设置,分别是 Chartreuse (128, 255, 0), Yellow (255, 255, 0), Lime (0, 255, 0), Red (255, 0, 0), Orange (255, 128, 0), Cyan (0, 255, 255)、Blue (0, 0, 255)。柑橘木虱雌、雄成虫对 7 种颜色的趋性存在差异,其中,Yellow 对柑橘木虱吸引力最强,其次为 Chartreuse,Red 表现为负吸引力;根据 Dan Bruton 虚拟波长与 RGB 值的转换关系,得出柑橘木虱主要趋向于 510-617 nm 的虚拟波长。这种通过精确测定柑橘木虱颜色趋性的方法所得的结果对粘贴板技术监控和管理柑橘木虱种群具有重要意义。

关键词 柑橘木虱, RGB, 颜色, 趋性, 虚拟波长

红棕象甲体色多样性及适合度差异*

王桂花 吴京成 田震宇 姬 光 林 成 侯有明** (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; 福建省昆虫生态重点实验室,福州 350002)

昆虫丰富的体色往往为其生存提供诸多优势,如温度调节,食物的获取,交配识别以及 躲避天敌的捕食等。红棕象甲 *Rhyncophorus ferrugineus* (Olivier) 是一种分布于热带、亚热 带地区棕榈科植物的检疫性入侵害虫,前期研究发现该虫的成虫腹面具有两种典型的体色差 异(红色型和黑色型)。研究表明昆虫黑化在其生理生化方面比非黑化昆虫更具优势。

本实验对两种体色型的红棕象甲进行生物学指标分析,探究不同体色型的适合度差异。 将相同体色雌雄个体进行配对,红、黑型各配对 30 对,统计其后代的产卵量、孵化率、幼虫 存活率、幼虫历期、蛹-成虫不同阶段的历期和体重等生物学指标,进一步分析二者的适合度 差异。红棕象甲两种体色着色发生在老熟蛹阶段,从后胸部位开始,随后全身变色。与红色 型相比,黑色型的产卵量高,孵化率低,幼虫历期长,幼虫存活率高,蛹和成虫的重量高, 蛹-成虫历期较低。其中,只有幼虫历期在两种体色间存在显著性差异,其他参数均不存在显 著性差异。黑色型在产卵量、幼虫存活率、蛹和成虫重量、蛹-成虫历期等方面表现为适合度 提高,而在孵化率和幼虫发育历期等方面适合度降低,这说明红棕象甲黑色型主要通过提高 自身的产卵量,缩短蛹期,增加幼虫存活率和蛹重来消除孵化率低以及幼虫历期长所带来的 不利影响,某种程度上也是对种群繁衍的一种投资权衡。整体来说,红棕象甲黑色型的适合 度比红色型的高,这将为该体色型在生理生化方面的适应性提供优势,也将为后期的研究提 供理论基础。

关键词 红棕象甲,黑化,适合度,体色表型

*资助项目:国家自然科学基金促进海峡两岸科技合作联合基金重点项目(U1705232);国家 重点研发计划课题(2017YFC1200605);福建省科技重大专项(2017NZ0003-1-6)

**通讯作者,E-mail: ymhou@fafu.edu.cn

警惕中对长小蠹入侵海南的风险*

唐继洪 卢芙萍 卢 辉**

(中国热带农业科学院环境与植物保护研究所,海口 571101)

中对长小蠹 Euplatypus parallelus 为鞘翅目(Coleoptera)、长小蠹科(Platypodidae)、长小蠹属昆虫。是我国的一种检疫性农林业害虫。该虫广泛分布于东南亚、非洲、北美洲和南美洲,寄主范围广,包括针叶木和阔叶木,由于其危害整个木质部、钻蛀许多孔洞,影响树木的生长,降低木材的使用价值,一旦入侵定殖,新环境下没有天敌和其他环境因子的控制,极有可能对入侵地森林资源造成严重威胁。2015~2017 年在中国大陆多个出入境检验检疫局共计截获该虫样本 23 379 头,但至今未有野外发现该虫的相关报道。笔者从 2017 年 3 月 20 日开始通过一盏架设在海南省海口市龙华区学院路 4 号中国热带农业科学院环境与植物保护研究所大楼楼顶的高空诱虫灯进行连续观测得知,截止 2017 年 7 月 29 日共有 55 个夜晚诱到该虫,累计诱虫量 121 头,其中雌虫 56 头,雄虫 65 头,单晚最高诱虫量 6 头。高空诱虫灯是一种监测空中迁飞性害虫动态较为实用的工具,近年来被广泛用于各地植保部门的监测工作中。海南省正在进行自由贸易港建设,来往的货物及人员将不断增加,伴随的有害生物带入风险也会增大。海南岛湿润温暖的气候适宜众多动植物的生长繁衍,因而入侵生物侵入并定殖的风险更大。根据有害生物风险性分析程序(PRA 2.0)分析了中对长小蠹在海南的综合风险值为 2.25,属于高度危险的检疫性有害生物,各级检疫及植保部门应加强防范,警惕该害虫的入侵风险。

关键词 中对长小蠹,高空诱虫灯,检疫性害虫,生物入侵

*资助项目:中国热带农业科学院基本科研业务费专项资金(项目编号 1630042017015, 2017hzs1J003);农业部国际交流与合作项目"'一带一路'热带国家农业资源联合调查与开发评价"(ZYLH2018010301);海南省重点研发计划项目:橡胶小蠹虫高效监测及综合防控技术研

发与示范(ZDYF2016031); 农作物病虫鼠害疫情监测与防治经费

**通讯作者, E-mail: aaaluhui@163.com

生理生化

保幼激素和烯虫酯诱导台湾乳白蚁兵蚁品级形成的研究

杜 贺 李志强

(广东省生物资源应用研究所,广东省动物保护与资源利用重点实验室,广东省野生动物保护与利用公共实验室,广州 510260)

台湾乳白蚁 Coptotermes formosanus Shiraki 是我国主要的危害白蚁之一。品级分化是白蚁的重要生物学特征之一,曾有人提出施加外源性的保幼激素诱导工蚁转化成兵蚁,从而导致整个蚁巢营养崩溃来灭治白蚁的方法。但是保幼激素及其类似物在台湾乳白蚁中的效果尚未得到确认。为了验证保幼激素和烯虫酯诱导台湾乳白蚁工蚁转化为兵蚁的效果,本研究用以上两种化合物处理的滤纸喂食工蚁,然后计数兵蚁的个数。结果表明,烯虫酯可以诱导工蚁转化为兵蚁,但是保幼激素对工蚁没有作用效果。同时,烯虫酯的作用存在群体效应,即不同群体的工蚁对烯虫酯的敏感性不同。保幼激素和烯虫酯对台湾乳白蚁工蚁诱导作用的研究,为研制新型白蚁防治药物及揭示工蚁转化为兵蚁的分子调控机理奠定了基础。

关键词 前兵蚁,生物测定,α-纤维素

不同取食因素对白蚁肠道微生物群落的影响

曾文慧 李志强

(广东省生物资源应用研究所,广东省动物保护与资源利用重点实验室,广东省野生动物保护与利用公共实验室,广州 510260)

不同生活习性的白蚁在长期与周围环境互作的过程中,形成了与此对应的特异肠道微生物群落结构。其中,白蚁的取食对其后肠微生物群落多样性及分布组成有着重要的作用。因此白蚁的肠道微生物群落丰度及结构具有特异性与一定程度的可变性。本研究通过对自然形成以及人工处理下形成的"种内取食隔离",以探索白蚁不同后肠共生微生物在木质纤维素降解转化等代谢功能中的协作机制。主要实验结果如下,相同分类的细菌在不同白蚁中其功能可能存在差异性;自然条件的取食隔离,白蚁肠道细菌群落的代谢功能结构稳定性大于群落结构本身的稳定性;非食物更换引起的取食量增加,短期内其细菌群落结构未必会产生显著性变化;分析预测了多种与白蚁解毒代谢相关的细菌类群。以上实验结果为为后续白蚁资源开发与防治新技术提供相关理论基础。

关键词 肠道微生物群落,种内取食隔离,取食量的调控

台湾乳白蚁纤维素酶的 RNAi 研究

吴文静 李志强

(广东省生物资源应用研究所,广东省动物保护与资源利用重点实验室,广东省野生动物保护与利用公共实验室,广州,510260)

社会性昆虫白蚁,依靠自身和体内共生物分泌的纤维素酶,分解食物中的木质纤维素类物质。白蚁纤维素酶包括三类组分: 内切-β-1,4-葡聚糖酶(endo-1,4-β-glucanase,EG); 外切-β-1,4-葡聚糖酶 (exo-1,4-β-D-glucanase); β-葡萄糖苷酶 (β-1,4-D-glucosidase, BG)。其中,EG 和BG 分别是纤维素降解过程的第一步和最后一步,起着关键的作用。为考察 EG 和BG 能否成为白蚁防治药物的分子靶标,研究了 RNA 干扰分别沉默 EG 和BG 基因对台湾乳白蚁基因表达、酶活性等的影响。根据台湾乳白蚁部分 CfEGs 的保守区域、CfBG-Ia 和 CfBG-Ib 分别设计了 dsRNA。向台湾乳白蚁工蚁注射或喂食 dsCfEG,都能显著干扰 CfEGs 基因在工蚁的正常表达,引起酶活性的降低,影响体重和死亡率。向台湾乳白蚁工蚁分别注射 dsCfBG-Ia 和 dsCfBG-Ib,能特异性干扰 CfBG-Ia 或 CfBG-Ib 基因的表达,但对工蚁死亡的影响并不显著。研究结果进一步展现了 EG 在白蚁消化中的重要生理意义,其功能受阻具有间接致死效果,因此可能有助于新型白蚁防治药物靶标设计的研究;而 BG 对白蚁消化也同样有重要作用,但其抑制效果尚不理想,需要进一步的研究摸索。

关键词 内切-β-1,4-葡聚糖酶,β-葡萄糖苷酶,基因表达,酶活性

九香虫血淋巴对 Balb/c 雌鼠乳腺癌移植瘤的影响*

赵 帅 檀 军 吴有芳 郭建军**

(贵州大学昆虫研究所,贵州山地农业病虫害重点实验室,贵阳 550025)

探究九香虫血淋巴对 Balb/c 雌鼠体内乳腺癌移植瘤生长、转移的影响。选择 6-8 周生长状况相近的清洁级 Balb/c 雌鼠,注射 4T1 乳腺癌细胞 0.1 mL,细胞浓度 1×10⁷ 个/ mL,注射位置为雌鼠右侧第二对乳腺脂肪垫;注射癌细胞 11 天后,选择成瘤体积相近的雌鼠,随机分为3组,每组9只,分别注射 PBS、顺铂(1 mg/kg)、九香虫血淋巴(20.83 mg/kg),注射体积均为30 μL,2 天/次,记录体重及瘤体长、宽(游标卡尺测量);两周后颈椎脱臼处死取其瘤体及肝、脾、肺、肾,称重,观察癌细胞脏器间转移情况,HE 染色观察瘤体及癌旁正常组织的形态结构特点,明确九香虫血淋巴对 Balb/c 雌鼠乳腺癌移植瘤生长及转移的抑制作用。

药物干预期间,顺铂组及九香虫血淋巴组乳腺癌移植瘤与 PBS 组相比生长变缓,最终瘤体均重 PBS 组: 0.742 ±0.110 g,顺铂组: 0.299 ±0.632 g,血淋巴组: 0.389 ±0.048 g,顺铂组和血淋巴组与 PBS 对照组有极显著性差异(P < 0.01),血淋巴组与顺铂组无显著性差异;血淋巴组抑瘤率是 47.5%;各组小鼠的最终体重均值 PBS 组: 21.498 ±0.689 g,顺铂组: 19.509 ±0.535 g,血淋巴组: 21.485 ±0.682 g,血淋巴组与顺铂组有显著性差异(P < 0.05),与 PBS 对照组无显著性差异;乳腺癌不同脏器转移情况,顺铂组无转移,九香虫血淋巴组 1 只雌鼠转移至脾脏,PBS 对照组有 3 只雌鼠转移至肺;HE 染色结果显示瘤体组织细胞排列密集,癌旁正常组织细胞排列疏松。九香虫血淋巴对雌鼠体内乳腺癌移植瘤抑瘤率明显,与常用化疗药物顺铂效果接近,且副作用较小;九香虫血淋巴能有效抑制乳腺癌移植瘤的转移,但其机制还需进一步探究。

关键词 九香虫,血淋巴,乳腺癌,4T1细胞,顺铂,抑瘤率

*资助项目: 国家自然科学基金(81360612)

**通讯作者, E-mail: jjguo@gzu.edu.cn

蝶蛹金小蜂储存蛋白基因注释及生物学功能的初探*

刘明明 肖 山 方 琦 叶恭银**

(浙江大学昆虫科学研究所,杭州 310058)

昆虫储存蛋白 (hexamerin)属于节肢动物血蓝蛋白 (arthropod-haemocyanin)超蛋白家族,不仅为幼虫到蛹的变态发育提供物质基础和保障,而且在性别决定、产卵、寿命及免疫等方面也发挥重要作用。蝶蛹金小蜂(Pteromalus puparum)是菜粉蝶(Pieris rapae)和柑桔凤蝶(Papilio xuthus)的蛹期重要寄生蜂,属于膜翅目金小蜂科(Hymenoptera: Pteromalidae)。利用已报道的血蓝蛋白超蛋白家族基因序列,通过序列比对,在蝶蛹金小蜂中注释到 9 个hexamerin 基因: Pphex75、Pphex79、Pphex81、Pphex80、Pphex84、Pphex83、Pphex94、Pphex102、Pphex109 和 3 个原酚氧化酶 prophenoloxidases(PPOs)基因: PpPPO78、PpPPO79、PpPPO80。12 个基因均具有血蓝蛋白家族的 C(PF03723.5)、N(PF03722.5)、M(PF00372.10)三个保守结构域。储存蛋白在全变态昆虫中具有相似的表达模式,即从一龄幼虫至末龄幼虫,其表达量逐渐升高并达到峰值。定量 PCR 结果表明,Pphex81 在蛹期表达量达到最高,而其余11 个基因均在末龄幼虫表达量最高,推测 Pphex81 在螺蛹金小蜂发育过程中具有其他功能。进化树分析表明,Pphex81 与西方蜜蜂(Apis mellifera)Amehex70a 的亲缘关系较近,而Amehex70a 在卵巢的分化和睾丸的成熟和功能中发挥了作用。因此,推测该基因可能与寄生蜂卵巢的发育分化及精子的形成有关。该研究为深入揭示螺蛹金小蜂储存蛋白的生物学功能奠定了重要的信息基础。

关键词 蝶蛹金小蜂,储存蛋白,表达模式

*资助项目: 国家自然科学基金重点国际合作与面上项目资助(31620103915; 31472038)

**通讯作者, E-mail: chu@zju.edu.cn

蝇蛹金小蜂小 RNA 病毒的鉴定和功能初探*

张 佼 王 飞 方 琦 叶恭银**

(浙江大学昆虫科学研究所,杭州 310058)

蝇蛹金小蜂 Pachycrepoideus vindemmiae (Rondani)隶属于膜翅目 Hymenoptera 小蜂总 科 Chalcidoidea 金小蜂科 Pteromalidae, 是家蝇 Musca domestica 蛹期的一种重要寄生蜂。该蜂 寄主范围较广,除家蝇外,该蜂还可以寄生橘小实蝇 Bactrocera dorsalis、瓜实蝇 Bactrocera cucurbitae、黑腹果蝇 Drosophila melanogaster 等, 具有很好的生防潜力。病毒在地球上广泛存 在,随着新一代测序技术的运用,越来越多的病毒被识别发现,其中小 RNA 病毒研究最受关 注。小 RNA 病毒目 *Picornavirales* 的病毒颗粒一般都是直径为 22-30 nm 的正二十面体,无包 膜,其中正链小RNA病毒的基因组具一条正义单链RNA,大小为7000~8000 nt,其5'端连 接一个蛋白(VpG, viral protein genome-linked)。无脊椎动物中报道的正链小 RNA 病毒主要 归为 2 个科:双顺反子病毒科 Dicistroviridae 和传染性软腐病毒科 Iflaviridae, 其中双顺反子 病毒都具很强的侵染性和致死性,如果蝇 C 病毒(Drosophila C virus)。寄生蜂作为最丰富的 动物类群之一,其可能存在有大量的病毒类群。明确寄生蜂和这些病毒间的关系,对于利用 寄生蜂进行生物防治具有非常重要的生物学意义。我们对蝇蛹金小蜂转录组进行了测序,在 其中发现了一些类似病毒的序列。通过基因克隆等手段获得了该病毒的完整序列,经对该病 毒非结构蛋白和结构蛋白进行系统发育分析,发现其属于蟋蟀麻痹病毒属 Cripavirus,双顺反 子病毒科 Dicistroviridae,小 RNA 病毒目 Picornavirales,与果蝇 DCV(Drosophila C virus)病 毒亲缘关系十分相近,是一种正链小 RNA 病毒,故将该病毒命名为蝇蛹金小蜂 C 病毒 PvCV (Pachycrepoideus vindemmiae C virus)。通过 RT-PCR 及测序验证获得了病毒全长序列,基因 组全长为 9 332 nt,包含 2 个线性排列不重叠的开放阅读框。通过考查该病毒在寄生蜂及其寄 主果蝇中的时空分布情况,发现该病毒在寄生蜂幼虫期高表达,并且幼虫的肠道内含量最高, 寄生后的果蝇体内病毒含量也很高。因此,推测寄生蜂在寄生的过程中,将病毒注入寄主果 蝇蛹中,病毒在其中大量扩增,而寄生蜂幼虫取食带毒寄主果蝇后又重新获得大量病毒。

关键词 蝇蛹金小蜂,小RNA病毒,果蝇

^{*}资助项目:国家自然科学基金重点国际合作与面上项目资助(31620103915;31472038)

^{**}通讯作者, E-mail: chu@zju.edu.cn

温度对筛豆龟蝽呼吸代谢关键酶活的影响*

崔 娟 陈菊红 史树森**

(吉林农业大学农学院,长春 130118)

温度是影响昆虫呼吸代谢的主要因素,呼吸强度越大,生命活动旺盛,能量消耗多,其 相应酶活性越高,为明确温度对筛豆龟蝽 Megacopta cribraria (Fabricius)成虫呼吸代谢关键 酶活性的影响。将筛豆龟蝽成虫在 16、19、22、25、28、31、34 和 37 ℃温度条件黑暗处理 4 h,测定呼吸代谢关键酶 3-磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPDH)、3-磷酸甘油脱氢酶 (GPDH)、3-羟酰辅酶 A 脱氢酶(HOAD)、柠檬酸合成酶(CS)和乳酸脱氢酶(LDH)的活力以及总糖 和糖原含量。结果表明: 筛豆龟蝽成虫体内 5 种呼吸代谢关键酶活性随着温度的升高先增加 后减少。糖类代谢相关酶主要为 GAPDH 和 GPDH, 在 16~37℃温度范围内, 筛豆龟蝽雌雄 成虫 GAPDH 在 28℃时活性均最高;而雌虫 GPDH 活性在 28℃时最高,雄虫在 25℃最高。脂 类代谢酶主要为 HOAD, 雌雄成虫在 28℃时活性均最高, 37℃时最低, 且均显著低于其他温 度。LDH和CS分别是判断三羧酸循环和无氧代谢水平的关键酶,雌雄成虫LDH活性均在25℃ 时达最大值; CS 活性雌虫在 34℃时最高, 雄成虫在 28℃时最高。不同处理温度下, 雌虫之间、 雄虫之间关键代谢酶活性无显著差异。GAPDH 与 HOAD 活性比值是判断昆虫能源物质利用 类型的重要指标。比值远大于 1.0 的为糖类利用型;远小于 1.0 的为脂类利用型;接近 1.0 的 为糖类和脂类混合利用型。本试验不同温度处理下雌、雄成虫的 GAPDH 与 HOAD 活性比值 均远大于 1.0, 可见, 在试验温度下筛豆龟蝽呼吸代谢消耗以糖类为主。从总糖和糖原的测定 结果来看,其含量也是随着温度的升高先增加再降低,28℃时均最高,高温和低温都会加速 糖代谢。温度对筛豆龟蝽成虫体内呼吸代谢关键酶活性具有显著影响,糖类是其主要消耗的 能源物质,筛豆龟蝽可通过调节呼吸代谢强度适应温度变化。

关键词 筛豆龟蝽,温度,呼吸代谢,酶活性,能源物质

*资助项目: 国家现代农业产业技术体系(CARS-04)

*通讯作者, E-mail: sss-63@263.net

棉铃虫 Z 染色体的剂量补偿分析

张亚坤1 邓中原2 李显春 1,3*

(1. 植物病虫害国家重点实验室中国农业科学院植物保护研究所,北京 100193; 2. 西北农林科技大学动物科技学院,杨凌 712100; 3. 美国亚利桑那大学昆虫系,图森,AZ 85721,美国)

在有性生殖生物中,雌雄一方具有同型性染色体(如 XX 或 ZZ),而另一方具有异型性染 色体如 XY 或 ZW),这就需要一种机制来平衡雌雄性染色体连锁基因编码的产物量,这个机 制被定义为剂量补偿机制(Dosage compensation mechanism)。该机制主要是通过降低同型配 子基因的表达量或提高异型配子基因的表达量来实现剂量补偿。迄今为止,完全剂量补偿多 发生在 XY 型性别决定的生物体中,而早前关于 ZW 型性别决定的物种则认为不存在剂量补 偿或为不完全剂量补偿。近几年有文献以鳞翅目 ZW 物种家蚕为例研究报道其存在完全剂量 补偿,但关于鳞翅目 ZW 物种的剂量补偿的类型与表现形式仍存在很大的争议。为进一步探 索鳞翅目的剂量补偿类型,本研究以我国重要的农业害虫棉铃虫(Helicoverpa armigera)为例, 通过转录组测序分析对棉铃虫 Z 染色体的剂量补偿类型展开讨论。我们将棉铃虫雌雄成虫的 转录组数据与家蚕所有常染色体与 Z 染色体序列进行直系同源比对,得到棉铃虫的常染色体 和 Z 染色体序列。随后对得到的序列进行筛选处理,排除性别差异基因,并在此基础上对 FPKM 值进行不同程度地过滤(FPKM≠0、FPKM>1)。一方面,比较雌雄差异(Z: ZZ),通过生物学 统计分析发现棉铃虫 Z 染色体为完全剂量补偿,即 ZpproxZZ,且该结果不受 FPKM 值的两种过滤 程度的影响。另一方面,比较常染色体与 Z 染色体差异,我们通过统计分析,进一步发现 FPKM 值对 Z:A 有一定的影响。当 FPKM≠0 时,Z≈ZZ<AA;当 FPKM>1 时,Z≈ZZ≈AA,这一结 果初步反映出低表达量的基因对常染色体与 Z 染色体的影响程度不同。总体来看,棉铃虫 Z 染色体为完全剂量补偿。

关键词 棉铃虫, Z染色体, 剂量补偿

棉铃虫细胞色素 P450 CYP332A1 基因的克隆与表达研究

黄 云 覃舰莹 吴沛卓 邱立红*

(中国农业大学理学院, 北京 100193)

对田间抗性种群(简称 BJ)与相对敏感种群(简称 HDS)棉铃虫细胞色素 P450 CYP332A1 基因进行克隆与时空表达研究,为下一步探究该基因的功能及相关表达调控机制奠定基础。 利用 RT-PCR、RACE 和基因组步移技术(Xu L et al., 2017)分别获得 BJ 与 HDS 棉铃虫 CYP332A1 基因的编码区、3'及5'侧翼序列,并比较两种群之间基因序列的差异性;采用实时 荧光定量 PCR 方法(刘小宁等,2014)测定 CYP332A1 基因在 HDS 与 BJ 种群棉铃虫不同时 期以及同一时期不同组织部位的相对表达水平。通过序列拼接,得到 BJ 与 HDS 种群棉铃虫 CYP332A1 基因的全长序列分别为 2 994 和 2 931 bp。两个种群棉铃虫 CYP332A1 基因编码区 均包含 1 509 个碱基, 编码 502 个氨基酸残基, 其核苷酸同源性为 95.96%, 氨基酸同源性为 99.0%,均存在 P450 典型的特征保守区,主要包括 P450 血红素结合区、C 螺旋、I 螺旋、K 螺旋区和 PERF 保守区。与 HDS 种群相比,BJ 种群棉铃虫 CYP332A1 基因在 P450 非特征保 守区有 5 个氨基酸发生突变(C21F、R28G、Q64K、S290A、I477V)。此外,该基因 5'侧翼序 列在两个种群棉铃虫中存在较大差异,BJ种群相对于 HDS 种群有 3 处较大缺失。两种群中该 基因的 3'侧翼序列末端均具有真核生物 mRNA 典型的多聚腺苷酸 poly(A)尾巴结构,但 BJ 种群的 3'侧翼序列比 HDS 种群的长 79bp。CYP332A1 基因在两种群棉铃虫不同生长发育时期 及不同组织部位均有表达,且表达趋势相似:随着幼虫龄期的增加,其表达量升高,在六龄 期达到最高,在蛹期又显著降低,该基因在同一种群棉铃虫不同组织部位表达量大小顺序均 为中肠>脂肪体>表皮,而在不同种群棉铃虫的相同组织中,BJ 种群棉铃虫的表达量均略高于 HDS 种群,但差异不显著。克隆得到 BJ 与 HDS 种群棉铃虫 CYP332A1 基因的全长序列,与 HDS 种群相比,该基因编码区在 BJ 种群棉铃虫中有 5 个氨基酸发生突变, 5 '侧翼序列有 3 处 较大缺失, 3'侧翼序列比 HDS 种群的长 79 bp。该结果表明 CYP332A1 基因结构及调控区域在 抗性和敏感种群棉铃虫间存在明显差异,该基因的功能及其在抗性中的作用,有待进一步深 入研究。

关键词 棉铃虫,细胞色素 P450, CYP332A1,克隆,时空表达

亚洲玉米螟基因组数据分析

宋振坤^{1*} 施振敏^{2*} 董逸珮¹ 胡 建^{1**} 李 飞^{2**}

(1. 中山大学生命科学学院,广州 510275; 2. 浙江大学昆虫科学研究所,杭州 310058)

亚洲玉米螟 Ostrinia furnacalis (Guené) 是我国玉米生产上的主要害虫,严重影响玉米的产量和品质。对亚洲玉米螟进行基因组测序,可为深入研究亚洲玉米螟提供重要的数据基础。利用 Hiseq 2000 二代测平台和 PacBio RS II 三代测序平台,对实验室长期培养维持的幼虫血细胞系进行了基因组 DNA 测序,分别了获得 37.1 Gb 和 76.1 Gb 的数据,组装后得到基因组大小为 496 Mb,Contig N50 为 1.36 Mb。BUSCO 结果显示,基因组的完整性达到 97.8%。玉米螟基因组具有 195.2 Mb(39.36%)的重复序列。 采用 OMIGA 流程进行基因组注释,预测发现蛋白编码基因共 29 526 个,其中 20 161 个基因能通过 SwisstProt 数据库进行功能注释。选取亚洲玉米螟,家蚕,二化螟中的细胞色素 P450,谷胱甘肽巯基转移酶,气味结合蛋白,化学感受蛋白基因进行基因家族分析,共发现 128 个细胞色素 P450 基因,29 个气味结合蛋白基因,28 个化学感受蛋白基因,30 个谷胱甘肽 s-转移酶基因,均多于二化螟和家蚕的相应基因家族数量。本研究获得亚洲玉米螟的高质量基因组数据,对亚洲玉米螟的研究和防控技术的研发均具有重要的推动作用。

关键词 亚洲玉米螟,基因组注释,比较基因组学,基因家族

*共同第一作者

**共同通讯作者

Fat-Dachsous 信号途径中 Dlish 蛋白 对昆虫生长调控的作用机制

张翼飞1 王 兴2

(1. 湖南科技大学生命科学学院,湘潭 411201; 2,中国农业大学资源与环境学院,北京 100193)

Ft-Ds 信号途径是极少见的对动物生长和平面极性都有重要调控作用的信号传导途径。果蝇 ft 或 ds 突变会造成强烈的过度生长,而人类同源基因的突变会导致 Hennekam 与 Van Maldergem 综合症。Ft-Ds 途径对生长的调控通过 Hippo 信号通路进行,该过程需要两个下游蛋白 Dachs 和 Ex 介导,但长久以来研究者们都未建立起 Ft 与二者的生化联系。通过对新发现的 Dachs 结合蛋白 Dlish 的研究,我们建立了如下信号传导模型: Dlish 可被棕榈酰化酶 App棕榈酰化而定位于细胞亚顶端处细胞膜上;因 Dlish 与 Dachs 紧密结合,故该过程可促进 Dachs复合体迁移到亚顶端皮层,使 Dachs 得以与同样富集于此处的 Hippo 通路激酶 Warts 结合,并抑制 Warts 活性,促进生长。而 Ft 则通过结合并抑制 App 来间接调控 Hippo 通路活性。在上述模型主线之外,我们还发现,Dlish 可能结合 Ex 并促进其泛素化,以此减弱 Ex 对 Warts 的激活功能,从而在另一途径上也起到促进生长的作用。本研究对上述模型展开严格的体内外测试,同时还探讨了 Ft-Ds 对生长调控作用的其他可能并行路径。

关键词 Ft-Ds 信号途径, Hippo 通路, 蛋白质相互作用, 亚顶端皮层, 昆虫发育

异色瓢虫气味结合蛋白基因鉴定及时空表达分析

渠 成 王 然 李峰奇 罗 晨*

(北京市农林科学院植物保护环境保护研究所,北京 100097)

异色瓢虫 Harmonia axvridis 是多种农林作物害虫的重要捕食性天敌,在国内被广泛应用, 其中嗅觉在异色瓢虫寻找猎物过程中起到重要作用,而气味结合蛋白(odorant binding proteins, OBPs)作为昆虫嗅觉系统的重要组成部分,在昆虫感受外界气味分子中起关键作用,为了基 于气味结合蛋白更好利用异色瓢虫防治害虫。我们对异色瓢虫成虫进行了转录组测序,利用 BLAST 同源搜索方法预测 OBPs 基因,构建系统进化树将异色瓢虫 OBPs 基因与其他鞘翅目 和半翅目昆虫的 OBPs 基因进行了比较,并用 qRT-PCR 技术对 5 个 OBPs 基因在不同龄期、 性别和组织中的表达情况进行了分析。从异色瓢虫成虫转录组中共预测到 20 个 OBPs 基因, 所有 OBPs 基因均具有完整开放阅读框(125~241 个氨基酸)。序列比对和进化树分析结果表 明, OBPs 分为两大类, 11 个 OBPs 具有典型的 OBPs 特征, 具有 6 个半胱氨酸位点, 属于 Classic OBPs; 9个 OBPs 具有 4个半胱氨酸位点,属于 Minus-C OBPs。qRT- PCR 结果表明,在不同 龄期和性别中,HaxyOBP7 在雄成虫中高表达,HaxyOBP8 在 4 龄幼虫中高表达,HaxyOBP10 在 1 龄幼虫中高表达,HaxyOBP19 在雌、雄成虫中均高表达,HaxyOBP20 在蛹和雄成虫中高 表达; 在不同组织中,HaxyOBP7 在雌、雄虫触角和头部高表达; HaxyOBP8 在胸中高表达; HaxyOBP10、HaxyOBP19、HaxyOBP20均在雌、雄虫触角中高表达。从异色瓢虫成虫转录组 中鉴定到 20 个 OBPs 基因,明确了部分 OBPs 基因在异色瓢虫不同龄期、性别和组织中的表 达情况,为进一步研究 OBPs 在异色瓢虫气味识别过程中的作用奠定了基础。

关键词 异色瓢虫,气味结合蛋白,转录组,时空表达

橘小实蝇肠道细菌对其生殖发育影响的分子机制初探

施 歌 柏珍珍 Md Shibly Norman 柳丽君 李志红* (中国农业大学植物保护学院昆虫学系,北京 100193)

橘小实蝇 *Bactrocera dorsalis* (Hendel),隶属于双翅目 (Diptera),实蝇科 (Tephritidae),果实蝇属 (*Bactrocera*),它入侵范围广,生存能力强,被我国列为重点防控的外来入侵物种之一。肠道细菌在实蝇的营养代谢和环境适应性过程中发挥着非常重要的作用,如:抑制有害菌的增殖,提高有机磷农药的降解能力和幼虫对未成熟果实中多元酚的抗性等。目前,橘小实蝇肠道细菌的研究多集中在肠道细菌种类及鉴定、肠道细菌在引诱方面的潜能、肠道细菌在提高农药抗性中的作用等,但尚未见关于肠道细菌调控橘小实蝇生殖的报道。

多巴胺是一种神经传导物质,研究表明其参与昆虫的生殖调控。在模式生物果蝇 Drosophila中,多巴胺可有效增强雌虫卵巢的休眠,以应对不利的外界条件,从而参与生殖调控。基于此,本实验室通过文献查阅及实验探索,采用固定的配比和浓度,对橘小实蝇进行抗生素饲喂处理,以揭示肠道细菌在橘小实蝇生殖方面的影响和功能。我们选定羽化后 1、5、10、15、20 和 30 d 的橘小实蝇雌虫并解剖其卵巢,对比发现,正常饲养的雌虫第 15 天卵巢发育成熟,而饲喂抗生素的雌虫的卵巢则至第 20 d 才发育成熟,发育速率被明显延缓。进一步对橘小实蝇雌虫的卵巢进行转录组数据测序,发现抗生素处理前后共有 300 个基因差异表达,其中 24 个与生殖有关。针对这些差异基因,我们进行了 KEGG 富集分析和 GO 聚类分析,结合先前国内外研究进展,最终选定多巴胺受体基因和卵黄原蛋白基因为研究对象,测定两个基因在正常饲喂和饲喂抗生素的橘小实蝇雌虫中的表达模式。同时,测定了两个基因在橘小实蝇雌虫的不同发育历期的时空表达水平,从而初步揭示多巴胺受体基因在肠道细菌调控橘小实蝇生殖中的作用,为后续实蝇与肠道细菌的协同入侵机制和生物防控研究奠定基础。 关键词 橘小实蝇,肠道细菌,多巴胺,生殖发育,分子机制

橘小实蝇成虫盘生长因子 idgf4 的功能研究

顾欣悦 李志红 赵 岩 粟 耘 柳丽君* (中国农业大学植物保护学院,北京 100193)

橘小实蝇 Bactrocera dorsalis 是我国重要的入侵害虫,被农业部列为重点防控的外来入侵物种之一。其繁殖力高,入侵性强,在我国的分布区逐年北移,给我国农业生产和生态环境造成了严重危害。其入侵机制也成为近几年的研究热点。我们前期研究发现,相比于生态位近似种番石榴果实蝇 Bactrocera correcta,橘小实蝇分布范围更广,部分归因于其具有较高的飞行潜力和较强的温度可塑性,但引起这种差异的具体机制尚不明确。体壁作为昆虫的皮肤和骨骼会保护其抵抗许多胁迫。属于糖苷水解酶 18 家族的成虫盘生长因子参与昆虫的体壁合成,并在体壁蛋白、几丁质的合成,以及蜕皮过程中发挥重要作用。本研究在橘小实蝇和番石榴果实蝇转录组分析的基础上,选取关键差异表达基因-成虫盘生长因子 4 (idgf4),通过RNA 干扰技术,研究了其在橘小实蝇生长发育和温度适应过程中的作用。结果表明橘小实蝇idgf4 与果实蝇属其他种的 Idgf4 高度保守,其在幼虫、蛹和成虫期均有表达,在早期蛹、成虫和高温处理的幼虫中显著高表达。从三龄幼虫持续饲喂双链 RNA 干扰,可降低该基因 40%的表达,导致羽化成虫个体变小、翅畸形、以及高温处理时死亡率增加等表型的出现。该研究初步明确了 idgf4 基因在橘小实蝇防御屏障和发育过程中发挥重要作用,为进一步揭示糖苷水解酶 18 家族其他基因的功能,以及深入探讨其在橘小实蝇生物入侵过程中发挥的作用奠定了理论基础。

关键词 橘小实蝇,成虫盘生长因子,RNA干扰

二化螟盘绒茧蜂基因组分析

叶昕海 熊时姣 王嘉乐 滕子文 尹传林 方 琦 叶恭银* 李 飞* (浙江大学昆虫科学研究所,杭州 310058)

二化螟盘绒茧蜂 Cotesia chilonis 是危害水稻重要害虫二化螟 Chilo suppressalis 幼虫期的优势内寄生蜂。自然环境下该蜂的寄生率在 10~30%,我国江苏省曾报道其寄生率高达 90%,其对二化螟的田间控制效果显著,具有较高的生物防治应用潜力。我们利用二代、三代测序技术,对二化螟盘绒茧蜂进行全基因组测序,共测得 72.07 Gb(~381X)原始数据。最终组装获得该蜂基因组大小为 189.53 Mb,Contig N50 为 1.22 Mb,Scaffold N50 为 2.21 Mb,GC 含量为 30.36%。利用 CEGMA 和 BUSCO 评估基因组拼接质量,结果分别为 96%和 97%。在基因组中鉴定到 353649 处重复序列,共 68 Mb,占全基因组序列的 36%。利用昆虫基因组注释流程(OMIGA)预测得到 14 142 个蛋白编码基因,以及 111 个 miRNA。对该蜂和其他 10 种公布基因组数据的膜翅目昆虫进行比较基因组学分析与基因家族扩增与收缩分析,鉴定得出该蜂中具有明显扩增和收缩的基因家族,并且发现与寄生行为相关的一些基因家族在该蜂基因组中显著扩增。这些结果为深入研究理解寄生蜂寄生特性及其控害机理提供了重要的基因信息资源。

关键词 二化螟盘绒茧蜂,基因组,比较基因组学

*通讯作者, E-mail: lifei18@zju.edu.cn; chu@zju.edu.cn

七星瓢虫滞育期间保幼激素代谢基因的表达分析*

刘梦姚 1,2 张礼生 1** 臧连生 2

(1. 中国农业科学院植物保护研究所,农业部作物有害生物综合治理重点实验室,中美合作生物防治实验室, 北京 100193; 2. 吉林农业大学农学院,长春 130000)

七星瓢虫 Coccinella septempunctata L.是一种优良的捕食性天敌昆虫,可捕食多种果树或农作物上的蚜虫,食量大繁殖能力强。滞育是昆虫适应不良环境条件的一种遗传现象,利用昆虫滞育可以延长天敌产品的货架期,为农林害虫的生物防治提供产品支撑。研究表明,激素是调节滞育的关键因素,其中保幼激素起到重要作用。保幼激素的代谢过程中关键的代谢酶是保幼激素环氧化物水解酶和保幼激素酯酶。本实验探究七星瓢虫滞育期间两种酶的基因表达水平。基于七星瓢虫转录组数据,通过RT-PCR和RACE技术克隆得到 jheh cDNA 全长,实时荧光定量 PCR 检测 jheh 和 jhe 基因在滞育不同阶段的表达量。jheh 全长 2076 bp,其中开放阅读框 1 380 bp,共编码 459 个氨基酸。荧光定量检测发现,两基因初羽化阶段表达较高,接着降低,随着滞育诱导时间增加表达量又增高,滞育 30~60 d 一直保持较高水平。本研究得到 jheh 基因 cDNA 序列全长,jheh 和 jhe 在滞育期间表达量高,保幼激素含量极低,两种基因对于调控保幼激素滴度起着重要调控作用。

关键词 七星瓢虫,滞育,保幼激素,生物防治

*资助项目: 国家重点研发计划 (2017YFD0201000); 国家重点研发计划-政府间国际科技创新合作重点专项 (2017YFE0104900); 农业部 948 重点项目(2016-X48)

**通讯作者, E-mail: zhangleesheng@163.com

脂酰辅酶 A 还原酶 Fatty Acyl-CoA reductase 酶活性分析

赵遵岭 王雪庆 杨 璞

(中国林业科学研究院资源昆虫研究所, 昆明 650100)

生物蜡酯是由超长链脂肪酸和高级脂肪醇经酯化反应形成的中性酯,由其质轻、熔点高等优良特性被广泛应用于食品、医药、纺织、化妆品以及精密仪器等领域。有研究表明,生物蜡酯合成途径主要是由脂酰辅酶 A 还原酶(fatty acyl-CoA reductase,FAR)将脂酰辅酶 A 还原成脂肪醇,脂酰辅酶 A 和脂肪醇在蜡酯合酶(wax synthase,WS)作用下酯化形成蜡酯。蜡酯作为生物体表重要的保护物质,在植物和微生物中研究较多,但在昆虫中研究非常少。本研究通过 RACE 技术克隆了一种昆虫脂酰辅酶 A 还原酶基因 *far2*,利用昆虫-杆状病毒表达系统(Bac-to-Bac baculovirus expression system)在 *BmN* 家蚕细胞中成功表达 FAR2,收集表达蛋白 FAR2,分别以 C24、C26、C28 以及 C30 脂酰辅酶 A 为底物进行体外酶活反应,气相色谱(Gas chromatography)检测酶反应产物表明,体外表达的该昆虫 FAR2 蛋白可以将 C28 脂酰辅酶 A 还原成相应脂肪醇,是蜡酯合成中的关键催化反应。该研究对于了解昆虫蜡酯合成具有一定的参考价值。

关键词 体表, 脂酰辅酶 A 还原酶, 真核表达, 脂酰辅酶 A

豌豆蚜有性蚜的诱导及产卵规律研究*

庞瑞萍 缑珍珍 田宏刚** 刘同先**

(西北农林科技大学,旱区作物逆境生物学国家重点实验室,杨凌 712100)

蚜虫是一类重要的农业害虫,可以通过刺吸植物韧皮部汁液并传播植物病毒对农业生产 造成重大损失。豌豆蚜具有许多蚜虫的典型特征,并且已完成了全基因组测序,是研究蚜虫 生物学和基因功能的理想对象。然而,目前研究发现在 mRNA 水平上可抑制靶标基因表达的 RNAi 技术在蚜虫中效率普遍较低,这极大的阻碍了对蚜虫基因功能的深入研究。在 DNA 水 平上能够对靶标基因进行特异性编辑的 CRISPR/Cas9 技术则为我们进一步研究蚜虫基因功能 提供了新的契机。在利用 CRISPR/Cas9 技术对昆虫基因进行编辑时,最关键的一点是要在囊 胚期之前将靶标基因的 sgRNA 和 Cas9 蛋白有效导入卵内。然而,由于在实验室内饲养的豌 豆蚜一般均处于孤雌生殖期,因此明确其有性蚜的诱导方式和产卵规律对于 CRISPR/Cas9 在 豌豆蚜中的有效实施具有重要意义。我们对豌豆蚜研究发现,通过低温和短光照(16℃, 10L:14D) 处理可以诱导有性蚜的产生,有性雌蚜在 F2 代即开始出现,而有性雄蚜一般在 F3 代才开始出现。同时,我们对不同性比的有性蚜(1雌1雄和2雌1雄)交配后的产卵规律研 究发现: ①1 雌 1 雄性比交配并产下第一粒卵所需时间显著高于 2 雌 1 雄; ②从产第一粒卵开 始,1雌1雄比例单雌每日产卵数随着时间的延长呈下降的趋势,且前八日内单雌平均产卵数 为 1: 而 2 雌 1 雄比例单雌的每日产卵数均小于 1: ③1 雌 1 雄交配后每天日间的产卵数要高 于夜间,而2雌1雄交配后每日昼夜产卵出无差异。此外,本实验将有性蚜产的卵在4℃分别 滞育 90 天、100 天和 110 天后转入 18℃使其孵化,孵化率分别为 52.3%、49.2%、57.6%;其 中经历 110 天滞育期后的卵孵化率相对较高,同时孵化后所需时间也显著少于其它两组。我们 当前的实验结果表明:单雌单雄交配有利于获得更多的豌豆蚜卵;在一定期限内增加有性蚜 卵在 4℃下的滞育时间有助于提高卵孵化率。本研究为 CRISPR/Cas9 技术在蚜虫中的有效应用 奠定了基础。

关键词 蚜虫,有性蚜,产卵规律,CRISPR/Cas9

*资助项目: 国家重点研发计划(2017YFD0200903); 国家自然科学基金(31101432)

**通讯作者, E-mail: tianhg@nwsuaf.edu.cn, txliu@nwsuaf.edu.cn

桔小实蝇表皮蛋白全基因组鉴定及 CPAP3 家族基因的功能分析

陈二虎 ^{1,2} 豆 威 ^{1,2} 王进军 ^{1,2}

(1. 西南大学植物保护学院, 重庆 400716; 2. 西南大学现代农业科学院, 重庆 400716)

桔小实蝇 Bactrocera dorsalis 是世界性的检疫害虫,由于化学农药的滥用,其抗药性发展 迅速。而表皮蛋白作为昆虫体壁的重要结构蛋白,参与昆虫表皮整合,体形塑造,活动能力, 抗逆等一系列生理活动,因此有希望成为害虫防控的新靶标。利用基因组数据鉴定表皮蛋白: 利用进化树分析对表皮蛋白基因分类;利用转录组数据开展表皮蛋白时空表达模式分析;表 皮蛋白 CPAP3 家族基因的序列分析: aRT-PCR 技术分析 CPAP3 家族基因不同组织和发育阶段 表达模式以及成虫抗逆反应,免疫组化技术对特定表皮蛋白基因进行亚细胞定位,特定表皮 蛋白原核表达以及离体验证其与几丁质结合性;通过 RNAi (RNA interference)技术验证 CPAP3 家族基因参与桔小实蝇幼虫发育和成虫卵巢发育。本研究从桔小实蝇的基因组中共鉴 定得到 164 条表皮蛋白基因,通过与黑腹果蝇,地中海实蝇及鳞翅目,膜翅目和鞘翅目昆虫 的比较分析发现了双翅目昆虫特定基因和表皮的发展模式。它们的进化关系揭示出一些表皮 蛋白家族根据不同昆虫种类的系统发育而进化,而另一些家族基则根据保守结构域,在不同 物种间具有更紧密的关系。转录组分析显示大多数的表皮蛋白基因在表皮中有表达,我们同 样发现在桔小实蝇的内部组织,比如脂肪体和生殖器官中也有表皮蛋白基因的表达。进一步 研究发现表皮蛋白 CPAP3 家族基因参与桔小实蝇成虫应对环境压力(温度、药剂和干旱胁迫) 的响应。针对幼虫阶段,沉默 CPAP3A1,B,E 和 E2 后发现化蛹延迟表型,且注射 dsCPAP3E 后幼虫出现约 40%的死亡率。同时我们发现 CPAP3D2 在卵壳中有表达,注射 dsCPAP3D2 后 卵巢发育受到显著抑制。 表皮蛋白的鉴定工作为我们进一步研究其在桔小实蝇中的功能奠定 基础: 同时进一步的功能分析发现 CPAP3 家族基因在昆虫抗逆、生长发育方面起到重要作用。 **关键词** 桔小实蝇,表皮蛋白,鉴定分析,表达模式分析,抗逆反应,生长发育,RNAi

棉花单萜合成酶基因 GhTPS16 的克隆及功能鉴定

寇俊凤 张永军*

(中国农业科学研究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 100019)

棉铃虫 $Helicoverpa\ armigera\ (Hibner)\ 和绿盲蝽<math>Apolygus\ lucorum$ 是棉花上的重要害虫。棉花在棉铃虫和绿盲蝽取食后大量释放的特异性萜烯挥发物,这些挥发物在趋避毒杀害虫的直接防御反应中以及在吸引天敌昆虫进行寄主搜索和定位间接防御反应中挥发着重要功能。本文分析了棉铃虫和绿盲蝽取食 $36\ h$ 后棉花转录组和挥发物谱的变化,并对棉铃虫和绿盲蝽诱导的一个差异表达基因 $(E\)$ - β -罗勒烯合成酶基因进行了鉴定和功能分析。结果如下:

棉铃虫和绿盲蝽取食导致 3 567 个棉花基因的转录水平发生变化,其中表达量上/下调的基因分别为 2 138 和 1 429 个。这些基因涉及新陈代谢、植物激素合成、转录调控、信号转导和逆境反应等 19 个功能类别。采用顶空采集法收集取食 36 h 后诱导挥发物,并利用 GC-MS 进行定性和相对定量分析。其中挥发物相对含量最多的为(E)- β -罗勒烯,可能在棉花诱导预防行为中起重要作用。从陆地棉(中棉 12) *Gossypium hirsutum* 叶片中克隆 (E)- β -罗勒烯合成酶基因,序列全长 1 815 bp,编码 604 个氨基酸,原核表达获得可溶性蛋白 GhTPS16,重组蛋白 GhTPS16 体外催化底物 GPP 生成 (E)- β -罗勒烯。

关键词 诱导防御反应,防御相关基因,萜烯合成酶,(E)- β -罗勒烯,体外催化

云斑天牛转录组及嗅觉相关基因分析

卓志航1 徐丹萍2 杨 伟3* 杨 桦3 胡佳萌1

(1. 海南大学热带农林学院,海口 570228; 2. 四川农业大学食品学院,雅安 625014; 3. 四川农业大学林学院,成都 611130)

建立云斑天牛 Batocera horsfieldi (Hope)转录组数据库,深入挖掘云斑天牛的基因数据 信息。采用高通量测序平台(Illumina HiSeq)对云斑天牛进行转录组测序、序列组装及生物 信息学分析。 云斑天牛转录组共获得 137 485 条 Transcript 序列和 69 214 条 Unigene 序列; 其 中,Transcript 序列平均长度 1 142 bp,Unigene 序列平均长度 1983 bp。将 Unigene 分别比对 到 NR、NT、SwissProt、KO、PFAM、GO、KOG 数据库进行基因功能注释,NR 数据库 41636 条,NT 数据库 14 895 条,KO 数据库 19 287 条,SwissProt 数据库 33442 条,PFAM 数据库 34687条, GO 数据库的 35 321条, KOG 数据库 20 582条。NR 注释表明,72.0%的云斑天牛 Unigene 与赤拟谷盗 Tribolium castaneum 和中欧山松大小蠹 Dendroctonus ponderosae 具有相似 性。基因功能注释分类表明,云斑天牛转录组在 GO 数据库三大类中包含 5 个最主要功能,分 别是细胞过程、代谢过程、单有机体过程、结合和催化活性,分别占 20 912 条、19 086 条、 17 202 条、21 477 条和 15 823 条 Unigenes;云斑天牛转录组在 KOG 数据库 26 个功能目录共 注释 20585 条 Unigenes,其中,翻译后修饰、蛋白质转换和伴侣共有 1 977 条,一般功能预测 3285 条(最多), 信号传导机制 3 053 条, 合计 8 315 条占全部 Unigenes 40.39%; 总共 19287 条 Unigenes 分至五个 KEGG 功能类别,其中细胞过程 6 793 条,环境信息处理 6 255 条,遗 传信息处理 3 038 条,代谢 3 852 条,有机系统 3 508 条。进一步基因注释分析筛选得到 161 个嗅觉相关基因,包含14个气味结合蛋白(Odorant Binding Protein,OBP),34个化学感受 蛋白 (Chemosensory Protein, CSP) 和 31 个气味受体 (Odorant Receptor, OR)。此外, Unigenes 表达水平分析还表明,包括云斑天牛嗅觉基因在内的不同虫态功能基因表达存在显著差异。 本研究获得了云斑天牛转录组数据库,为进一步研究云斑天牛的基因功能分析及嗅觉感受机 制奠定了分子基础。

关键词 云斑天牛,转录组,高通量测序,基因注释,嗅觉相关基因

小菜蛾 RNAi 通路元件的基因克隆与分析*

陈金芝 ^{1,2,3,4} 李妙雯 ^{1,2,3,4} 蒋颖霞 ^{1,2,3,4} 于慧慧 ^{1,2,3,4} 杨广 ^{1,2,3,4**}

(1. 闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室,福建农林大学应用生态研究所,福州 350002; 2.教育部害虫生态防控国际合作联合实验室,福建农林大学,福州 350002; 3. 农业部闽台作物有害生物综合治理重点实验室,福建农林大学,福州 350002; 4.害虫绿色防控福建省高等学校重点实验室,福建农林大学,福州 350002)

RNAi 通路元件的研究有助于我们更好地将 RNAi 技术应用于小菜蛾的防控中。本实验利 用果蝇与家蚕 Dicer2 和 Ago 家族的序列从小菜蛾数据库中筛选出五条候选基因,采用 RACE-PCR 技术获得小菜蛾 Dicer2 与 Ago 家族(Ago1、Ago2、Ago3 和 piwi)的全长序列。 Dicer2 的 ORF 全长为 5 085 bp, 编码 1 694 个氨基酸。分析可知, 小菜蛾 Dicer2 的结构域从 N 端到 C 端依次是解螺旋结构域,Dicer 二聚体结构域,PAZ 结构域以及两个 RNaseIII 结构域, 与其他物种如果蝇、家蚕相比缺少 dsRBD (dsRNA binding domain),与草地贪夜蛾(NCBI: AVK59442.1) 的相似度最高为 59%; Ago1 有两个亚型, Ago1-1 的 ORF 为 2 490 bp, 编码 829 个氨基酸,Ago1-2 的 ORF 为 2 475 bp,编码 824 个氨基酸,二者具有 N 端结构域、PAZ 结构 域和 Piwi 结构域,在昆虫中的同源性极高,与黑脉金斑蝶(NCBI: OWR47741.1)同源性均 达 99%; Ago2 的 ORF 为 2 379 bp, 编码 792 个氨基酸,同样具有 N 端结构域、PAZ 结构域 和 Piwi 结构域, 在昆虫的同源性一般, 与家蚕 (NCBI: NP_001036995.2) 和斜纹夜蛾 (NCBI: AHC98010.1)的相似性最高(58%)。; Ago3的 ORF为2769 bp,编码922个氨基酸,具有 PAZ 结构域和 Piwi 结构域,与柑桔凤蝶 (NCBI: KPJ05288.1) 相似度最高 (73%); Piwi 有 两个亚型,亚型 1 的 ORF 为 2 340 bp,编码 779 个氨基酸,亚型 2 的 ORF 为 2 367 bp,编码 788 个氨基酸,二者均具有 PAZ 结构域和 Piwi 结构域,与家蚕(NCBI: NP_001098066.2)的 相似性最高(77%)。

关键词 小菜蛾, RNAi 元件, Ago 家族, Dicer2

*资助项目: 国家自然基金 (31772237); 福建省重大专项研究任务 (2015NZ01010012)

**通讯作者, E-mail: yxg@iae.fjau.edu.cn

小菜蛾 Pxvasa 基因 cDNA 及其启动子序列的 克隆与功能鉴定

徐雪娇 1,2 黄宇萍 1,2 何玮毅 1,2 杨 广 1,2 尤民生 1,2*

(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)

vasa 是一种依赖于 ATP 的 RNA 解旋酶基因,在生殖细胞中偏好表达,并且对于调控生 殖细胞的生长发育具有重要的作用。昆虫 vasa 启动子在生殖细胞中的表达活性有利于驱动外 源基因在后代中的遗传并且避免了全身性表达的负效应,已被用于多种转基因品系的构建。 研究小菜蛾(Plutella xylostella) Pxvasa 及其启动子 Pxvasa-pro, 对于进一步将其应用于基因 防控具有重要意义。以小菜蛾 4 龄幼虫和成虫为模板,克隆 *Pxvasa* 的 cDNA 序列,并利用 3'RACE 技术验证其 3'UTR 区域,在不同可变剪接体的保守区域设计 qRT-PCR 引物,探究该 基因在不同龄期和组织中的表达模式;以翻译起始位点(ATG)下游 22 bp 和上游约 2k bp 区 域为潜在的启动子调控区,克隆并测序验证;利用启动子在线预测网站预测所克隆 Pxvasa-pro 序列的转录起始位点及可能的转录因子结合位点;构建 Pxvasa-pro: EGFP 瞬时表达载体,通 过转染小菜蛾 DBM 和草地贪夜蛾 Sf9 细胞体外验证启动子活性。成功克隆得到了 Pxvasa 的 cDNA 序列,与基因组序列比对可知共有 12 个外显子,至少存在 8 种可变剪接体,这些序列 在第1到第6个外显子有不同程度缺失,但在第7到第12个外显子序列保守,并且都能预测 到不同物种中共有的保守基序;成功克隆得到 3'UTR调控区,长度为 959 bp;荧光定量 PCR 结果显示, Pxvasa 在雌雄成虫中的相对表达量显著高于其他龄期, 在卵巢和精巢中的相对表 达量高于成虫其他组织,且在卵巢中的相对表达水平高于精巢; 克隆得到长度为 2038 bp 的 Pxvasa-pro 序列, 预测可知转录起始位点位于 ATG 上游 1319 nt 处, 同时也预测到了 TATA 盒 和 E74A、Hunchback、STAT、BR-C、Abd-B、C/EBP、OVO 等转录因子结合位点,这些转录 因子可能对于启动子活性的调控具有重要作用;细胞转染实验结果表明,Pxvasa-pro 在两种细 胞中都具有启动子活性,但相对于对照 IE1 启动子而言活性较低。本研究成功克隆并分析了 Pxvasa 的 cDNA 和启动子序列,验证了该基因在生殖细胞中的表达偏好性,为下一步的启动 子活性体内验证实验以及最终应用于基因驱动系统的构建奠定基础。

关键词 Pxvasa, 可变剪接, 表达模式, 启动子, 细胞转染

*通讯作者, E-mail: msyou@iae.fjau.edu.cn

在饥饿条件桔小实蝇转录组和代谢组综合分析

裴玉霞 蒋红波 王进军

(西南大学植物保护学院,重庆 400716; 西南大学农业科学研究院,重庆 400716)

桔小实蝇(Bactrocera dorsalis, Hendel)是世界上许多国家和地区最具破坏性的农业害虫之一,危害 450 多种果蔬。近年来,随着全球气温的不断升高,桔小实蝇的适应范围已扩散到高纬度地区。本研究利用转录组和代谢组技术,分析桔小实蝇成虫在饥饿状态下大脑中相关基因表达以及代谢物质产生的情况,为更好地对其生理生化研究提供理论依据。 (1)解剖饥饿 6 h 后的五日龄桔小实蝇成虫大脑(对照组为正常饲喂),每组各 50 头(共 3 组)用于转录组测序分析,每组各 200 头(共 6 组)用于代谢组检测分析;(2)对测序结果进行整理分析,筛选出候选的差异基因和差异代谢物质;(3)利用 Heat map、Gene Ontology和 KEGG pathway等对差异基因和差异代谢物质进行联合分析;(4)使用实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)技术对相关差异表达基因进行验证分析。 (1)转录组共鉴定到 8509条基因,其中 993条为差异表达基因 (P-value < 0.05);(2)代谢组共检测到 12种差异代谢物质(二级质谱);(3)联合分析的结果显示,12种差异代谢物质所对应的 12条代谢通路中,有9条与转录组检测到的差异表达基因通路一致,这些通路共涉及82条差异表达基因;(4)差异表达基因中筛选了8条进行 RT-qPCR 进行验证,其结果与转录组检测到的基本一致。 桔小实蝇成虫在饥饿条件下会引起大脑中一些生物胺、激素等相关通路基因以及代谢物质的变化,由此可进一步研究桔小实蝇在饥饿胁迫下的行为调节机制。

关键词 桔小实蝇,转录组,代谢组,RT-qPCR

保幼激素结合蛋白调控桔小实蝇生殖行为的分子机理

刘雨薇 张迎新 魏 冬 Guy Smagghe 王进军*(西南大学植物保护学院,西南大学农业科学研究院,重庆 400716)

雄性附腺蛋白(Acp)在调控昆虫生殖行为、保障生殖效率方面具有重要的作用。本研究围绕"雄性附腺蛋白对昆虫生殖行为的调控机制"这一科学问题, 拟以果蔬业重要害虫桔小实蝇Bactrocera dorsalis 为研究对象,明确 JHBP 在调控桔小实蝇生殖行为的分子机制。研究结果将在理论上丰富对昆虫雄性附腺蛋白生理功能的认识,为后续研究该类蛋白在生殖调控方面的机理提供重要的理论基础,同时也为研究害虫的生态调控及新药物作用靶标提供新思路。在对桔小实蝇雄性附腺中特异表达的保幼激素结合蛋白 JHBP 鉴定的基础上,(1)综合运用荧光定量 PCR 技术检测雄虫不同日龄以及不同组织中基因的相对表达量。(2)利用原位杂交技术明确 JHBP 在两类雄性附腺中的合成位点。(3)利用 RNA 干扰技术以及 Crispr/Cas9 基因敲除技术明确 JHBP 在调控桔小实蝇生殖行为方面的生理功能。时空表达模式结果表明 BdJHBP 在雄虫羽化后性成熟阶段表达量高,在羽化后第 9 天显著高于其他日龄,在雌虫中几乎没有表达,该基因在雄虫雄性附腺中表达最高。RNAi 实验中,干扰效率可达 60%以上,对干扰后的虫子进行行为学观察结果显示干扰后雄性成虫与雌虫的交配率显著下降,交配后的雌性成虫产卵量也显著下降。本实验组在前期的研究中,对桔小实蝇雄性附腺分泌蛋白开展全蛋白谱测序分析到鉴定到 1 个新的功能未知的附腺蛋白。通过功能位点保守结构域比种较分析发现其为一种 JHBP。后续实验表明,该基因可能参与桔小实蝇雄性成虫的生殖调控。

关键词 桔小实蝇,雄性附腺,保幼激素结合蛋白,生殖,RNA干扰

*通讯作者, E-mail: wangjinjun@swu.edu.cn

神经肽 F 受体 (TcNPFR) 调控赤拟谷盗取食研究

郑莉莎 王进军 蒋红波*

(植物保护学院, 西南大学现代农业科学研究院, 重庆 400716)

赤拟谷盗 Tribolium castaneum 作为一种模式昆虫,被广泛用于解析昆虫生长发育及生理等调控机制的研究工作。神经肽 F (Neuropeptide F, NPF)通过与配对的 G 蛋白偶联受体 NPFR (Neuropeptide F receptor)结合,对昆虫的取食、攻击行为、繁殖等诸多行为发挥调节作用。然而,神经肽 F 受体在赤拟谷盗体内的作用仍未见报道。利用 PCR 成功克隆得到 TeNPFR 的开放阅读框 (ORF);利用 qRT-PCR 技术分析 TeNPFR 的时空表达模式;通过 RNAi (RNA interference)技术验证 TeNPFR 可能参与调控赤拟谷盗的取食行为。序列分析结果表明,TeNPFR 开放阅读框全长 1 200 bp,编码 399 个氨基酸,序列中含有 G 蛋白偶联受体典型的 7 个跨膜结构域。实时定量 PCR 分析结果表明,TeNPFR 在赤拟谷盗各发育阶段均有表达,在早期幼虫阶段转录水平最高;在赤拟谷盗不同组织中,TeNPFR 在中枢神经系统的表达量显著性高于其他组织。对赤拟谷盗早期幼虫(10 日龄)进行 dsRNA 注射,四天后称量结果显示,有效沉默 TeNPFR 的幼虫重量及取食量均显著低于处理组幼虫;同时 RNA 干扰后的幼虫的存活率也远低于对照组幼虫存活率。TeNPFR 在赤拟谷盗中枢神经系统可能发挥重要作用,也可能参与调控了赤拟谷盗幼虫期的取食行为,对其生长发育产生重要影响。

关键词 赤拟谷盗,神经肽 F,表达模式, RNAi

*通讯作者

小菜蛾中 4个 miRNA 及其靶基因的序列分析*

杨婕谢苗**

(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)

小菜蛾 Plutella xylostella(L.)属鳞翅目 Lepidoptera,菜蛾科 Plutellidae,是十字花科蔬菜最主要的害虫之一。MicroRNA(miRNA)是一类长度在 22 nt 左右的内源性非编码小 RNA,在生物体转录后调控中起重要作用。本研究旨在对小菜蛾中 miRNA 及其靶基因进行序列分析,为筛选害虫防治的新靶标提供科学依据。利用小菜蛾转录组数据库,筛选出在不同品系小菜蛾中具有表达差异的 miRNA,并分析其在 ABC 转运蛋白家族中的靶定基因;通过设计茎环引物,克隆验证了 miRNA 序列,并通过 3'RACE 扩增验证小菜蛾靶基因的 3'UTR 区序列。 本课题组筛选到 4 个 miRNA,分别为 miR-1777,miR-1840,miR-3485-5p 及 miR-4806-3p;分别靶定到 4 个 ABC 转运蛋白家族基因,Px002419,Px007185,Px006710,及 Px007950。经测序验证了这 4 个 miRNA 和靶基因的 cDNA 序列。其中,这 4 个 miRNA 分别获得了 22、20、22 和 18 bp 的序列;其中,miR-1777、miR-3485-5p 和 miR-4806-3p 的测序结果和通过转录组数据预测得到的序列完全相同,但 miR-1840 预测的成熟体序列后 6 个碱基与测序所得的碱基有所差异。4 个靶基因经过测序后分别获得了 4 574、 2 929、 2 202 和 1 837 bp 的序列。本研究是对小菜蛾这 4 个 miRNA 及其靶基因的初步分析,下一步将对其互作关系进行分析,为探究 miRNA 对靶基因的调控机制奠定基础。

关键词 小菜蛾, miRNA, 靶基因, 序列分析

*基金项目: 国家自然科学基金青年项目(3170110142)

**通讯作者, E-mail: xmshelly@163.com

桔小实蝇 RNA 病毒组的挖掘与鉴定

张 伟 ^{1,2} 吴藤飞 ^{1,2} 杨 莉 ^{1,2} 常藤玉 ^{1,2} 牛金志 ^{1,2} 王进军 ^{1,2*} (1. 西南大学植物保护学院, 重庆 400716; 2. 西南大学农业科学研究院, 重庆 400716)

RNA 病毒是一类以 RNA 为遗传物质的病毒,也是病毒中分布最为广泛的种类。昆虫通常 感染多种 RNA 病毒,其中包括致死型,无症状型,以及潜伏感染型。目前,随着高通量测序 技术的发展,越来越多的昆虫病毒被发现和鉴定。本文旨在通过病毒宏基因组发掘和鉴定桔 小实蝇自身感染的 RNA 病毒组,为利用以 RNA 病毒和 RNAi 为基础的害虫控制提供新思路。 (1) 利用全转录组技术深度测序挖掘到桔小实蝇疑似的病毒序列,对这些病毒序列进行生物 信息学分析,确定其分类地位。(2)利用差速离心法纯化病毒颗粒,随后注射病毒颗粒,观 察其死亡率。(3)利用 RT-PCR 技术检测实验室种群不同发育阶段和不同地理种群病毒侵染频 率。 全转录组技术深度测序及病毒序列拼接结果显示,桔小实蝇体内含有 9 种疑似的 RNA 病 毒序列:包括4种正链 RNA 病毒(Dicistroviridae,2个 Picornaviridae,Negev-like virus clade), 两种负链 RNA 病毒(Rhabdoviridae,Chuvirus),以及三种双链 RNA 病毒(Orbivirus,2 个 Totiviridae)。小RNA测序数据分析发现:这些病毒衍生的 siRNA(VsiRNA)主要富集在 21 nt, 而 21 nt VsiRNA 是由 Dicer-2 介导的 RNAi 通路切割产生,说明(1)这些病毒可能具有侵染 活性: (2) 病毒的侵染可能诱导了寄主 RNAi 通路的免疫活性。 纯化病毒样品不仅发现病毒的 存在,同时注射纯化的病毒样品,桔小实蝇的死亡率明显上升,而进一步检测发现 4 个正链 RNA 病毒发生了大量复制。而对田间采集的海南、福建、河南 3 个地理种群桔小实蝇的病毒 感染频率检测发现:病毒在田间存在典型多重侵染现象,暗示以 RNA 病毒组为概念研究病毒 与寄主互作关系的重要性。 桔小实蝇体内共发现 9 种新的 RNA 病毒,病毒的侵染可能诱导 了寄主 RNAi 通路的免疫活性,并且这些病毒在桔小实蝇不同地理种群中侵染频率高、个体中 均为多重侵染,且可能有一定的致死作用。

关键词 桔小实蝇,免疫,RNA病毒,RNAi

*通讯作者, E-mail: jjwang7008@yahoo.com

酪胺 β-羟化酶在赤拟谷盗体内起控制爬行速度和 章鱼胺合成的作用

徐 丽 蒋红波 王进军*

(西南大学植物保护学院,西南大学农业科学研究院,害虫控制工程重庆市市级重点实验室,重庆 400716)

生物胺在昆虫中枢神经系统中发挥着多种重要的生理功能,可作为神经调节剂,神经递 质和神经激素起作用。无脊椎动物中五种最丰富的生物胺类型是多巴胺,组胺,5-羟色胺,酪 胺和章鱼胺。然而, 赤拟谷盗(Tribolium castaneum)作为一种模式昆虫, 被广泛用于解析昆 虫生长发育及生理等调控机制的研究工作,到目前为止,酪胺 β-羟化酶 (Tyramine beta-hydroxylase, TBH) 在章鱼胺生物合成途径中的作用和行为的调节作用仍然是未知的。因 此,本研究以赤拟谷盗为研究对象,旨在明确 TβH 在调节赤拟谷盗行为以及在章鱼胺合成通 路中行使的功能。根据 GenBank 登录的相关序列信息(BAM21526.1),利用 RT-PCR 技术 克隆赤拟谷盗酪胺 β-羟化酶基因 *TcTβH* 的 cDNA 序列。利用在线生物信息学分析软件预测 该基因的开放阅读框、编码的氨基酸序列以及跨膜结构域等信息,基于邻接法构建该基因与 其他昆虫相关序列的系统发育树,明确系统进化关系。分别提取赤拟谷盗各发育阶段(卵、 幼虫、蛹和成虫)、不同组织(中枢神经系统、脂肪体、中肠、后肠、马氏管、精巢和卵巢) 的 RNA,以赤拟谷盗核糖体蛋白 S3(TcRPS3)为内参基因,采用实时定量 PCR 技术分析 该基因在赤拟谷盗不同发育阶段、不同组织的表达模式。通过体外合成赤拟谷盗 TcTβH 的双 链 RNA,利用 RNA 干扰以及轨迹球行为分析等技术检测干扰后赤拟谷盗的爬行速度,探究 该基因的生理功能。最后,利用高效液相色谱(HPLC)检测章鱼胺和酪胺在赤拟谷盗干扰前 后的含量,验证酪胺 β-羟化酶在章鱼胺合成通路中的作用。TcTβH 控制 CNS 中章鱼胺的生物 合成,这反过来调节赤拟谷盗的运动速度。本研究中的新结果提供了赤拟谷盗章鱼胺生物合 成途径中关键基因的基本信息,并拓展了我们对章鱼胺在昆虫中的生理功能的认识。

关键词 赤拟谷盗, 酪胺 β-羟化酶, 章鱼胺, 运动速度

*通讯作者,E-mail: jjwang7008@yahoo.com

基于 CRISPR/Cas9 技术的小菜蛾卵黄原蛋白 受体基因功能分析

王 清 ^{1,2,3*} 彭 露 ^{1,2,3*} 邹明民 ^{1,2,3} 汪 蕾 ^{1,2,3} 储丽娜 ^{1,2,3} 尤民生 ^{1,2,3**} (1.福建农林大学应用生态研究所,福州 350002; 2.闽台特色作物病虫生态防控协同创新中心,福州 350002; 3.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)

卵黄原蛋白受体(VgR)是卵黄原蛋白(Vg)的专一性胞吞作用受体,可介导 Vg进入卵 母细胞,对昆虫卵黄沉积与卵子成熟起着至关重要的作用,已成为潜在的害虫控制新靶标。 因此,明确 VgR 基因在小菜蛾生殖发育中的作用,可为阐明小菜蛾成虫的生殖调控机理奠定 基础。通过 PCR 克隆了 VgR 基因全长 cDNA 序列;利用相关软件对核酸和蛋白质 序列进行了比对分析;通过 qPCR 与 Western-blot 研究了 VgR 在小菜蛾不同龄期与 组织的表达模式;最后利用 CRISPR/Cas9 技术,解析了 VgR 基因在小菜蛾生殖发育中的 作用。小菜蛾 VgR 的 ORF4338 全长 5 418 bp, 预计编码 1 805 个氨基酸, VgR 蛋白包含 5 个 典型的保守结构域: 配体结合域、表皮生长因子前体同源域、跨膜域、O-联糖功能域,以胞 质尾域。进化树分析表明小菜蛾 VgR 与粉斑螟蛾 VgR 亲缘关系较近,并且与鳞翅目昆虫 VgRs 聚为一支。VgR 在卵巢中特异性表达;成虫期 VgR 表达量显著高于其他龄期,且随羽化时间 延长, VgR 表达量呈先上升后下降的趋势, 在羽化后第1d 达到峰值。胚胎注射成功筛选到5 bp 基因片段缺失的突变纯合体,与野生型相比,突变纯合体雌虫产卵量无明显差异,但卵子 变小且颜色偏白,卵孵化率极显著降低;卵巢管长度极显著缩短,成熟卵子数目显著降低; VgR 基因表达量显著下调,但 Vg 基因表达量无显著差异;蛋白分析显示,突变纯合的初羽化 雌成虫未能检测到 VgR 蛋白表达。VgR 对小菜蛾卵巢发育、卵子形成以及繁殖力维持起着至 关重要的作用,该结果可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。

关键词 小菜蛾,卵黄原蛋白受体,表达模式,CRISPR/Cas9,生殖调控

^{*}共同第一作者

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

中华蜜蜂 foraging 基因表达特性和定位分析

马卫华 ^{1,2} 姜玉锁 ² 孟 娇 ² 赵慧婷 ³ 宋怀磊 ¹ 申晋山 ¹ (1.山西省农业科学院园艺研究所,太原 030031; 2.山西农业大学动物科技学院,太谷 030801; 3.山西农业大学生命科学学院,太谷 030801)

在社会性昆虫中,觅食基因 foraging 可以调控昆虫依赖年龄和任务的觅食行为。我们研究了 foraging 基因 (Acfor) 在中华蜜蜂工蜂中的表达特性和定位,探讨 Acfor 在内勤蜂和采集蜂的表达和调控差异,为研究蜜蜂采集行为调控奠定基础。采用 qRT-PCR 对工蜂不同组织和不同日龄 Acfor 基因表达特性进行分析,利用原位杂交技术对 Acfor 在工蜂脑中的表达进行定位分析。内勤蜂和采集蜂的触角、头、胸、腹、足 5 个组织中,Acfor mRNA 均有表达。采集蜂5个组织的表达量均显著高于内勤蜂 5 个组织的表达量 (P < 0.01)。内勤蜂中,触角表达量最高,触角与足部与其它三组织存在显著差异 (P < 0.01)。采集蜂中,胸部表达量最高,与其它组织有显著差异 (P < 0.01)。1-30 日龄工蜂 Acfor mRNA 均有表达,25 日龄表达量最高,然后随着日龄的增加而下降。原位杂交的结果显示,Acfor 高表达在工蜂的视神经叶、蘑菇体的肯氏细胞(Kenyon cells)以及触角叶。Acfor 表达会影响中华蜜蜂与日龄有关的觅食行为,还可能与其飞行活动有关。

关键词 蜜蜂, foraging, 组织, 日龄, 定位

滞育烟蚜茧蜂海藻糖积累的分子机制*

张洪志 安 涛 李玉艳 陈红印 张礼生**

(中国农业科学院植物保护研究所,中美合作生物防治实验室,北京 100193)

明确烟蚜茧蜂 Aphidius gifuensis Ashmead 在滞育期间海藻糖积累的分子机制。在实验室低 温短光照条件人工诱导烟蚜茧蜂进入滞育,应用 iTRAO 定量技术和高通量测序技术分析滞育 和非滞育烟蚜茧蜂的差异表达蛋白及基因,并结合生物信息学分析推测烟蚜茧蜂滞育期间的 分子进程。研究发现, 3-磷酸肌醇依赖性激酶 1 (PDK1) 基因的表达量在滞育期间上调 4.08 倍,PDK1 是胰岛素主要下游分子通路 PI3K-Akt 信号通路的重要组成部分,可以磷酸化并激 活丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(Akt)。糖原合酶激酶 3(GSK-3)是 Akt 的重要下游分子,能够磷 酸化糖原合成酶(GYS)而抑制其活性,Akt 能够通过磷酸化 GSK-3 解除其对 GYS 的抑制, 进而增加糖原的合成。在滯育期间,烟蚜茧蜂 GSK-3 蛋白表达量显著下调(滯育/非滯育=0.76), 而 GYS 基因表达量显著上调(滞育/非滞育=1.38),表明滞育准备期间伴随有糖原的大量合成。 糖原在糖原磷酸化酶(glgP)的作用下反应生成葡萄糖-1-磷酸,葡萄糖-1-磷酸一方面可经葡 萄糖磷酸变位酶(pgm)催化生成葡萄糖-6-磷酸,并经过一些列反应转化为丙酮酸,参与三羧 酸循环:另一方面则可在 UTP-葡萄糖-1-磷酸核苷酸转移酶作用下生成 UDP-葡萄糖,后经海 藻糖合酶(TPS)催化生成海藻糖。转录组分析表明,滞育期间 pgm 基因表达量略有下调(滞 育/非滞育=0.88) 而 TPS 基因表达量则为非滞育时的 1.83 倍。此外,蛋白组研究显示三羧酸 循环中的几个主要酶包括丙酮酸脱氢酶、α-酮戊二酸脱氢酶和琥珀酸脱氢酶等在滞育期间蛋白 表达量均有不同程度的下调。探明了滞育烟蚜茧蜂海藻糖积累的相关代谢通路及关键酶,填 补了烟蚜茧蜂滞育理论的空缺,并为其他昆虫滞育和糖类代谢研究提供参考。

关键词 烟蚜茧蜂,滞育,海藻糖,分子机制

*资助项目: 国家自然科学基金(31672326); 中国烟草总公司重大专项(110201601021-LS-01); 国家重点研发计划项目(2017YFD0201000)

**通讯作者, E-mail: zhangleesheng@163.com

基于 Illumina 高通量测序的蠋蝽和茶翅蝽唾液腺 转录组数据的发掘^{*}

苗少明 刘晨曦 张礼生 王孟卿 陈红印***
(中国农业科学院植物保护研究所农业部作物有害生物综合治理重点实验室,

中国-美国生物防治实验室, 北京 100193)

蠋蝽是棉铃虫、马铃薯甲虫、鳞翅目卵及其低龄幼虫等害虫的重要天敌,茶翅蝽则是一种为 害苹果、梨、桃等果树,也可为害大豆、菜豆和甜菜等作物的害虫。两者均为刺吸式口器,体外 消化,在这种消化方式中,唾液腺起到了关键作用。Illumina RNA Denovo 高通量测序技术实现了 从唾液腺大量发掘消化相关基因。本研究分别提取蠋蝽、茶翅蝽成虫唾液腺总 RNA,质检合格后 对总 RNA 进行纯化,对纯化后的总 RNA 进行 mRNA 的分离、片段化、第一链 cDNA 合成、第 二链 cDNA 合成、末端修复、3'末端加 A、连接接头、富集等步骤,完成测序样本文库构建并进 行 Illumina 双向(Pair-end)RNA Denovo 测序,得到 50 596 121 个(A. chinensis)和 47 713 221 个(H. halys)原始 reads。将所得的 reads 进行过滤,去除总体质量较低及测序过程中的引物序列、 末端质量偏低的接头序列,然后应用 CLC Genomics Workbench(version:6.0.4)的 scaffolding contig 算法进行 denovo 两次拼接,共得到 53 618 个(H. halys)和 92 468 个(A. chinensis)unigenes,总 长 39 475 519 bp (H. halys) 和 67 428 111 bp (A. chinensis), N50 (bp) 为 1 439 bp (H. halys) 和 1 311 bp (A. chinensis),最长的 unigene 为 20 406 bp(H. halys)和 39 861 bp(A. chinensis), 平均长度为 729 bp(*H. halys*)和 736 bp(*A. chinensis*)。将拼接得到的 Final unigenes 进行 blastx 注释,与 NR 数据库进行比对,取 E-value < 1e-5,蛋白相似性大于 25%的最好结果。其中分别有 14 801 个和 34 979 个 unigenes 在 Uniprot 和 NR 数据库中获得注释。根据注释结果,应用 blast2GO 算法进行 GO 功能分类,得到所有序列在 Gene Ontology 的三大类:molecular function,cellular component, biological process 的各个层次所占数目分别为 302 212、91 530、59 639 (*A. chinensis*), 175 031、27 841、54 990 (*H. halys*)。本研究丰富了蠋蝽和茶翅蝽基因序列信息和唾液腺相关基因, 为揭示蠋蝽唾液腺消化机制奠定了基础。

关键词 Illumina RNA Denovo 高通量测序,荼翅蝽,蠋蝽,消化基因,转录组

*资助项目: 重点研发专项"中美农作物病虫害生物防治关键技术创新合作研究"(2017YFE0104900)基金项目: 天敌昆虫防控技术及产品研发(2017YFD0201000), 948 重点项目(2016-X48)
**通讯作者, E-mail: liuchenxi2004@126.com

高温胁迫对扶桑绵粉蚧抗氧化保护酶活性的影响

孟 醒 ^{1,2} 陈红松 ^{1,3} 韦中梅 ¹ 姜建军 ¹ 黄立飞 ¹ 杨 朗 ¹ 周忠实 ^{3*} 桂富荣 ^{2*}

(1. 广西农业科学院植物保护研究所/广西作物病虫害生物学重点实验室,南宁 530007; 2.云南农业大学植物保护学院,昆明 650201;

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)

研究高温胁迫对扶桑绵粉蚧抗氧化保护酶活性的影响,预测该害虫在全球气候变化下的发生趋势。在实验室用人工气候箱模拟 6 个最高温度为 30° 、33° 、36° 、39° 、42° 、45° 的不同高温变温(相对湿度均为 70% $\pm 2\%$,光照强度 $30\,000\,1x$,光周期 14L:10D),处理扶桑绵粉蚧成虫 $5\,d$,每个温度取 $10\,$ 头虫称重, $5\,$ 个重复,液氮冷冻保存,用南京建成试剂盒测定超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)的活性。高温变温对扶桑绵粉蚧抗氧化保护酶活性产生一定的影响。总体上, $3\,$ 种保护酶活性随温度的升高呈现出先升高后降低的趋势。CAT 和 POD 的活性在最高温度为 33° 的高温变温处理下最高,45° 下活性最低。CAT 活性在 39° 、42° 、45° 处理下与 33° 处理下差异显著,POD 活性在 36° 、39° 、42° 、45° 处理下差异显著。SOD 的活性在最高温度 39° 的变温处理下达到最高。SOD 活性在 30° 、42° 、45° 与 39° 处理下差异显著。高温变温影响扶桑绵粉蚧体内 SOD、CAT 和 POD 的活性, $3\,$ 种保护酶活性随温度升高先升高后降低,该害虫可抵御一定程度的高温胁迫。

关键词 扶桑绵粉蚧,高温胁迫,抗氧化保护酶,酶活性

*通讯作者, E-mail: zhongshizhou@yahoo.com; guifr@ynau.edu.cn

柑橘全爪螨蜕皮激素合成基因 P450 功能及其与受体 EcR-RXR1/RXR2 结合模式解析

李 刚 ¹ 牛金志 ¹ 孙勤哲 ¹ 张 君 ¹ 刘巽燕 ¹ Guy Smagghe ^{1,2*} 王进军 ^{1*} (1.西南大学植物保护学院,昆虫学及害虫控制功能重庆市重点实验室,重庆 400716; 2.Department of Crop Protection,Faculty of Bioscience Engineering,Ghent University,Coupure Links 653,B-9000 Ghent,Belgium)

柑橘全爪螨是一种重要的农业害螨。蜕皮是节肢动物生长发育中必需经历的过程。蜕皮激素(Ecdysone)是调控节肢动物蜕皮变态发育过程中的重要激素(Liu et al., 2017)。蜕皮激素在昆虫中以 20-羟基蜕皮酮(20E)的生物活性物质形式参与昆虫的发育整个过程(Lenaerts et al., 2016)。二斑叶螨通过 HPLC 及基因组水平上鉴定 Halloween-P450,推测其可能利用百日青蜕皮酮(Ponasterone A,PonA)作为蜕皮活性物质 (Grbic et al., 2011)。在柑橘全爪螨中发现蜕皮激素合成通路上游基因 PcSpo 在不同发育阶段蜕皮后高表达而在进入蜕皮表达量降低,利用 RNAi 技术对柑橘全爪螨蜕皮激素合成通路上有基因 PcSpo 的沉默后发现柑橘全爪螨若螨蜕皮延迟,不能正常蜕皮的若螨被困在旧的表皮中出现死亡且死亡率升高,而这一过程可被 PonA 拯救,这表明 PonA 极有可能是不同叶螨种的共同蜕皮活性物质(Li et al., 2017)。但蜕皮激素信号通路核受体基因 PcRXR1 和 PcRXR2 呈现相反的表达模式,PcRXR1 在进入蜕皮高表达而在蜕皮后表达量降低,PcRXR2 则反之,这表明蜕皮激素可能在发育过程中与蜕皮激素受体的结合方式不同。

关键词 蜕皮激素,信号通路,PonA,蜕皮

*通讯作者, E-mail: jjwang7008@yahoo.com; guy.smagghe@ugent.be

基于 RNAi 的豌豆蚜几丁质合成酶 CHS 靶标潜力评价

叶 超 ^{1,2} 牛金志 ^{1,2} 尚 峰 ^{1,2} 丁碧月 ^{1,2} 王进军 ^{1,2*} (1.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 400700; 2.西南大学农业科学研究院,重庆 400700)

蚜虫是重要的农业经济害虫,不仅掠取植物的营养物质,还传播大量的植物病毒。几丁质合成酶(Chitin Synthetase,CHS)是昆虫等节肢动物几丁质生物合成通路的关键酶。本研究旨在评价豌豆蚜 (Acyrthosiphon pisum) 几丁质合成酶基因(ApCHS)的靶标潜力,为蚜虫的害虫防治提供理论依据。通过系统发育树分析鉴定并克隆 ApCHS,利用 RNAi 技术研究 ApCHS 对不同发育阶段豌豆蚜的影响。ApCHS 在一龄若蚜和二龄若蚜中期显著高表达(P>0.05),且在表皮和胚胎中显著高表达(P>0.05);利用注射法 RNAi 处理三龄若蚜,ApCHS 于在 36 h 时沉默效率为 51%,136 h 累积死亡率 74%,累积蜕皮率为 37%;利用植物介导饲喂法 RNAi 处理一龄若蚜至成蚜,ApCHS 的沉默效率约为 30%,处理后若蚜发育历期延长 32 h,且成蚜平均产蚜量显著降低(P>0.05),136 h 产蚜畸形死亡率达到 41%;利用 250 mg DFB 处理四龄若蚜,ApCHS 的表达量显著上调(P>0.05),132 h 累积死亡率达到 56%。本研究明确了在豌豆蚜生长发育阶段干扰 ApCHS,可有效抑制蚜虫的存活率和生殖力。

关键词 几丁质合成酶, 豌豆蚜, RNAi, 除虫脲

*通讯作者,E-mail: jjwang7008@yahoo.com

桔小实蝇几丁质代谢酶基因的鉴定及表达模式分析*

刘世火 栗洪飞 蒋红波 豆 威 王进军**

(西南大学植物保护学院 农业科学研究院,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),是一种分布广泛、危害严重的果蔬害虫。几丁质是昆虫气 管、围食膜及外骨骼的重要组成成分,几丁质酶(Chts)和几丁质去乙酰酶(CDAs)是几丁 质降解过程中重要的功能酶,在昆虫变态发育、生殖、免疫防御以及食物消化等生命活动中 承担着重要的生理功能。本研究基于桔小实蝇基因组和转录组数据,共鉴定获得 12 条 Chts 相关基因和 6 条 CDAs 基因(编码 7 个蛋白),其开放阅读框长度介于 1125-3069 bp。系统发 育分析表明, 12 个 Chts 和 7 个 CDAs 分别聚集到 8 个 Cht-Groups 和 5 个 CDA-Groups。基于 氨基酸序列的结构域分析表明,12 个 Chts 均含有至少一个几丁质酶催化域结构和 4 个典型的 催化基序,然而仅 4 个 Chts(BdCht-5,-7,-8,-10)含有几丁质结合域; 7 个 CDAs 均含有 一个去乙酰酶催化域和 5 个特征基序,然而仅 6 个 CDAs(BdCDA -1, -2A, -2B, -4 和 -5) 具有几丁质结合域。基于实时荧光定量 PCR 技术的时空表达模式分析表明,在卵至成虫的变 态发育过程中,12个 Chts 相关基因和 6个 CDAs 基因的相对表达量均呈现动态变化趋势;在 3 龄幼虫和成虫的不同组织中, 18 个几丁质代谢酶基因的相对表达量变化多样。本研究系统 地鉴定了桔小实蝇几丁质代谢酶基因的数量及种类,进一步阐明了桔小实蝇 Chts 和 CDAs 基 因表达模式和编码蛋白的结构差异,为进一步探索其生理功能及调控机制奠定了基础,也为 今后以几丁质代谢酶为靶标开发新型防控措施提供理论指导。

关键词 桔小实蝇,几丁质酶,几丁质去乙酰酶,结构域分析,表达模式分析

*资助项目:国家自然科学基金(31672030);重庆市基础与前沿研究计划重点项目(cstc2015jcyjBX0061);现代柑橘产业体系岗位科学家经费(CARS-26)

**通讯作者, E-mail: jjwang7008@yahoo.com

Kr-h1 通过直接抑制昆虫 20E 合成酶基因的转录来 抑制 20E 的合成

张天镭 1* 宋 威 2* 李 政 1* 钱文良 1 魏 玲 3 杨 燕 1 王伟娜 1 周 璇 1 孟 勐 1 彭 健 1 夏庆友 1** Norbert Perrimon 2** 程道军 1** (1.西南大学家蚕基因组生物学国家重点实验室,重庆 400715; 2. 哈佛大学,哈佛医学院,波士顿,02138; 3. 西南大学生命科学学院,重庆 400715)

阐明保幼激素(JH)直接抑制昆虫蜕皮激素(20E)合成的分子机制。(1)保幼激素模拟物(JHM)处理果蝇和家蚕离体培养的前胸腺后,采用实时荧光定量 PCR 检测 20E 合成酶的转录水平。(2)用酶联免疫吸附方法检测果蝇前胸腺中特异干涉 Kr-h1 后 20E 合成的变化。(3)通过启动子活性分析,凝胶阻滞实验,染色质免疫共沉淀实验验证 Kr-h1 与靶基因的直接结合;重亚硫酸盐 PRC 测序实验和甲基化抑制剂处理实验探究 Kr-h1 抑制靶基因转录的分子机制。(1)JHM 处理离体培养的前胸腺抑制了 20E 合成酶基因的转录。(2)前胸腺中特异干涉 Kr-h1 使果蝇的化蛹提前,并增加了 20E 的合成,同时也检测到 20E 合成酶基因的表达显著上调。(3) Kr-h1 能直接结合到 DmSpok/BmSpo 启动子区的 Kr-h1 结合位点(KBS)上,并诱导该区域附近的 DNA 发生甲基化,抑制该基因的表达。在果蝇和家蚕中,JH 直接作用于前胸腺来诱导Kr-h1 的表达,Kr-h1 则通过与 20E 合成酶基因启动子区的 KBS 直接结合,并诱导启动子 DNA 发生甲基化,从而抑制了 20E 合成酶基因的转录水平,最终抑制了 20E 的合成;同时我们发现 Kr-h1 不影响前胸腺中 DNA 的复制。

关键词 保幼激素, Kr-h1, 蜕皮激素合成, 转录抑制

*共同第一作者

**通讯作者, E-mail: xiaqy@swu.edu.cn

家蚕 BR-C 转录因子的磷酸化调节其转录调控活性

 钱文良¹ 刚晓旭¹ 张天镭¹ 魏 玲² 李 政¹ 杨 燕¹

 彭 健¹ 王 鹏¹ 程道军¹* 夏庆友¹*

(1.西南大学家蚕基因组生物学国家重点实验室,重庆 400715; 2.西南大学生命科学学院,重庆 400715)

解析 BR-C 相互作用蛋白的功能及 BR-C 的磷酸化对其转录调控活性的影响。(1) 利用双 酵母杂交系统筛选鉴定 BR-C 的相互作用蛋白,并通过免疫荧光实验分析互作蛋白对其入核的 影响。(2) 突变 BR-C 的磷酸化位点,通过双荧光素酶实验探究其转录调控活性。(3) 通过液 相色谱-串联质谱分析鉴定 BR-C 的磷酸化位点,并通过凝胶阻滞和染色质免疫共沉淀实验验 证蛋白激酶 PKA 介导的 BR-C 磷酸化对其转录调控活性的影响。(1)鉴定到 RACK1 能与 BR-C 相互作用,若消除这种相互作用则抑制 BR-C 的入核及其转录调控活性。(2) 突变 BR-C 上潜 在的 PKC 磷酸化位点 Ser373 和 Thr406 或删除 BTB 结构域,可显著降低其转录激活活性。(3) 鉴定到家蚕 BR-C 的另一磷酸化位点 Ser186, 蛋白激酶 PKA 介导该位点的磷酸化。PKA 介导 的 BR-C 的磷酸化抑制 BR-C 对靶基因直接结合,进而影响了 BR-C 的转录活性,而持续的 20E 通过抑制 PKA 介导的 BR-C 的磷酸化,从而维持其转录调控活性。在昆虫的变态发育过程中, 20E 与其受体复合体结合后直接诱导 BTB-ZF 类转录因子 BR-C 的表达。在细胞质翻译生成的 BR-C蛋白通过其BTB结构域与RACK1相互作用,二者的互作可能介导了PKC对BR-CSer373 和 Thr406 位点的磷酸化; 经过 PKC 磷酸化的 BR-C 进入细胞核发挥转录调控活性; 入核的 BR-C 被 PKA 磷酸化 Ser186 位点而抑制其转录调控活性; 但是, 持续的 20E 通过抑制 cAMP/PKA 信号通路活性抑制 PKA 介导的 BR-C 的磷酸化,从而维持其转录调控活性。 关键词 BR-C 磷酸化,核定位,转录调控活性,PKC,PKA

*通讯作者, E-mail: xiaqy@swu.edu.cn

水椰八角铁甲蛹中三个酚氧化酶原的分子特性分析*

张霞芳 侯有明 汤宝珍**

(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,福建省生态重点实验室,福州 350002)

酚氧化酶在昆虫体内以酶原形式存在 (prophenoloxidase, PPO), 在应对 寄生蜂寄生和 细菌感染时发挥着重要作用,本实验主要探究水椰八角铁甲(Octodonta nipae) 蛹中三个 PPO 在应对不同外源物侵入时分别行使的功能。克隆获得 3 个 PPO 的基因信息并分析其结构和功 能:实时定量 PCR 检测 3 个 PPO 在不同组织中,寄生后以及不同菌诱导后的相对表达情况: RNA 干扰技术验证 3个 PPO 在黑化中的作用及其对外源物的包囊作用。PPO1、PPO2 和 PPO3 的 ORF 长度分别为 2 046、1 980 和 2 061 bp,分别编码 681、659 和 686 个氨基酸。3 个 PPO 同属于 III 型铜离子蛋白家族, PPO1 和 PPO2 均含有由保守的 6 个 His 组成的两个铜离子结合 位点,而 PPO3 中 4 个保守的 His 变为 Tyr、Asn、Ser、Lys。定量 PCR 结果显示,3 个 PPO 皆在血淋巴中的表达量最高。与同期未寄生蛹相比,椰扁甲啮小蜂寄生后8h和4d,水椰八 角铁甲蛹 PPO1 表达量显著上升,而 PPO2 在寄生后 3 d表达量显著下降, PPO3 无显著变化。 与注射 PBS 对照组相比,分别注射大肠杆菌、金黄色葡萄球菌后 12 h, PPO1 表达量显著下降; 而在注射后 24 h, PPO2 表达量显著下降, PPO3 只在注射金黄色葡萄球菌后 1 h 表达量显著 下降。分别干扰 PPO1、PPO2 和 PPO3 后,水椰八角铁甲蛹血淋巴的黑化和血细胞的包囊能 力受到了不同程度的抑制。水椰八角铁甲蛹中 3 个 PPO 在组织间存在着差异表达,在应对不 同外源物侵染时,发挥着不同作用: PPO1 在椰扁甲啮小蜂寄生水椰八角铁甲后发挥着重要作 用;而3个PPO皆参与了对菌的响应。

关键词 水椰八角铁甲,椰扁甲啮小蜂,酚氧化酶原,金黄色葡萄球菌,大肠杆菌

*资助项目: 国家自然科学基金(31672086, 31471829)

**通讯作者,E-mail: tbyun@126.com

家蚕茧和野蚕茧的代谢组学比较分析

张 艳 赵东超 孟 竹 董照明 林 英 陈诗懿 夏庆友 赵 萍* (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 400716)

鉴定家蚕茧和野蚕茧中存在的代谢物,并比较代谢物的差异。利用气相色谱-质谱联用技术,对家蚕茧和野蚕茧中存在的代谢物进行鉴定并比较其差异。从家蚕茧和野蚕茧中共鉴定到 45 种代谢物,包括有机酸、脂肪酸、糖类、氨基酸和烃类等。通过比较分析发现有 17 种代谢物在野蚕茧的含量显著高于在家蚕茧中的含量,包括 3 种有机酸,3 种脂肪酸,3 种醛糖,4 种糖醇,3 种烃类以及吡啶。其中,柠檬酸在野蚕茧中的含量比在家蚕茧中的含量高 40 倍,可能在野蚕茧中发挥抗菌的功能。蚕茧中的烃类主要是烷烃,并且是含 12 个碳到 28 个碳的长链烷烃,它们在蚕茧中以蜡的形式发挥保水剂的作用,使得蚕蛹能够在干燥环境中生存更长的时间。我们发现了蚕茧中含量大量的非蛋白成分,包括有机酸、脂肪酸、糖类、氨基酸和烃类等各种成分,它们在蚕茧中主要发挥抗菌和保水的功能。

关键词 家蚕,野蚕,蚕茧,代谢物,抗菌,保水

*通讯作者, E-mail: zhaop@swu.edu.cn

家蚕多基因表达系统的建立和优化

王元成 王 峰 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)

利用2A裂解肽构建与优化能够在家蚕与茧丝中高效重组表达多个外源靶标基因的多基因 表达系统(MGES)。以红色荧光蛋白基因(DsRed)与绿色荧光蛋白基因(EGFP)的融合基 因为靶标基因,在昆虫细胞系水平(斜纹夜蛾卵巢 Sf9 细胞、家蚕胚胎 BmE 细胞与卵巢 BmN 细胞)与转基因家蚕个体水平,分析了包括来至于家蚕质型多角体病毒 BmCPV2A(30)与猪 肠病毒 P2A 在内的 6 种 2A 裂解肽断裂融合基因的效率,优化了甘氨酸-丝氨酸-甘氨酸接头 (GSG)、Kozak 序列与 2A 侧翼基因的排列顺序等影响 DsRed 与 EGFP 基因表达效率的因素。 (1) 在 Sf9 与 BmN 细胞中,位于 BmCPV2A(30) N端的 GSG 分别提高了融合基因的表达 效率 6.58 倍、1.69 倍;(2)在 Sf9、BmE 与 BmN 细胞中,GSG-P2A 断裂融合基因的效率最 高,高达 100%,并且,其成功地表达了约 66kD 的人血清白蛋白与约 17kD 的人酸性成纤维 细胞生长因子的融合基因、约 196 kD 的家蚕卵黄原蛋白受体蛋白与约 26kD 的绿色荧光蛋白 的融合基因;(3)利用 GSG-P2A 构建的家蚕丝腺 2A-MGES,在家蚕丝腺中成功地重组表达 了 DsRed 与 EGFP 融合基因, 重组表达的 RFP 与 EGFP 蛋白分泌到了茧丝, 但是, 位于 GSG-P2A 下游的 EGFP 基因表达水平仅约为上游 DsRed 基因表达水平的 10%;(4)通过引入 Kozak 序 列或调整 GSG-P2A 侧翼基因排列方式等优化后的家蚕丝腺 2A-MGES,在转基因家蚕丝腺与 茧壳中能够等量地重组表达 GSG-P2A 上、下游的 DsRed 基因与 EGFP 基因: (5) 在家蚕丝腺 2A-MGES 中, 优化 Kozak 序列与 2A 侧翼基因排列方式能够协同提高 DsRed 与 EGFP 基因的 表达水平约 1.5 倍,在转基因茧壳中它们的百分含量分别为 0.36% ±0.03%、0.28% ±0.07%。 利用2A裂解肽构建与优化的家蚕丝腺多基因表达系统能够在家蚕丝腺与茧丝中高效且等量地 重组表达多个外源靶标基因。

关键词 2A 裂解肽,家蚕,多基因表达,Kozak 序列,基因工程

*通讯作者, E-mail: xiaqy@swu.edu.cn

打破 tRNA 异戊烯基转移酶的平衡影响家蚕的正常生长发育

陈燕飞 柏冰川 颜 颢 吴 磊 秦道远 王根洪* 夏庆友 (家蚕基因组生物学国家重点实验室,西南大学,重庆 400715)

Transfer RNAs (tRNA)是蛋白质翻译过程中的适配器,其在蛋白翻译过程中发挥着重要 的枢纽作用。对于一些 tRNA 来说,其 37 位腺嘌呤(A37)一般会发生异戊烯基化修饰。已 有研究表明, 这种修饰是通过 tRNA 异戊烯基转移酶催化形成的, 其对于生物体蛋白质翻译的 效率和精确性至关重要。家蚕 Bombyx mori 是一种重要的经济昆虫,其生长速度快、茧层率高, 具有高效的蛋白质合成能力。然而,家蚕的高效蛋白合成机制是否与 tRNA 的修饰调控相关, 至今未有报道。本研究首先从家蚕中鉴定了家蚕的 tRNA 异戊烯基转移酶基因,通过基因 PCR 扩增发现此基因存在 3 种选择性剪接形式 (BmIPTI-BmIPT3)。然后, 研究通过在 tRNA 异戊 烯基转移酶基因缺陷型酵母菌株(MT-8)中表达 BmIPT1-BmIPT3, 功能互补实验证明仅有 BmIPT1 能恢复酵母 tRNA 异戊烯基转移酶基因的功能。进化分析显示家蚕 tRNA 异戊烯基转 移酶基因在鳞翅目昆虫中相对保守。表达特征分析显示 BmIPTs 在各组织器官中均有一定表达 且其在 5 龄期丝腺随发育时间呈显著表达上调趋势,研究也发现其在家蚕中的转录丰度明显 高于野蚕。基于 RNAi 技术的 BmIPT 功能研究显示,下调 BmIPTs 的表达将导致家蚕吐丝营茧 障碍,60%的干扰处理家蚕无法吐丝营茧,丝蛋白合成比例明显失调,变态期的组织降解过程 受到抑制或明显延缓。最后,我们也基于 piggyBac 转座子介导的昆虫转基因技术,通过看家 基因启动子 Actin4 promoter 启动 BmIPT1 在家蚕的增量表达。结果表明在家蚕各组织器官广 泛高强度增强 *BmIPTI* 的表达水平, 也不利于家蚕的正常生长发育。 以上研究结果证实, tRNA 异戊烯基转移酶对于家蚕的蛋白合成调控发挥着重要作用,一个相对适度的 tRNA 异戊烯基转 移酶表达水平对于家蚕的吐丝营茧、生长发育至关重要。

关键词 家蚕,tRNA 异戊烯基转移酶基因,tRNA 修饰,RNA 干扰,昆虫转基因

*通讯作者

家蚕 clip 丝氨酸蛋白酶 BmSP95 在蜕皮过程的表达与功能

刘华伟 夏庆友 赵 萍

(西南大学家蚕基因组生物学国家重点实验室,重庆 400716)

分析家蚕(Bombyx mori) 蜕皮液中 clip 丝氨酸蛋白酶的表达情况,并以 clip 丝氨酸蛋白 酶 BmSP95 为靶标,探究其在蜕皮过程中的表达与功能。利用 LC-MS/MS 对家蚕幼虫-蛹和蛹 -成虫期的蜕皮液组分进行鉴定,分析其中 clip 丝氨酸蛋白酶的表达与功能;对家蚕 BmSP95 基因进行克隆和生物信息分析;采用原核表达和镍柱亲和层析对 BmSP95 进行重组蛋白的表 达和纯化:利用半定量 RT-PCR、实时荧光定量 PCR、蛋白免疫印迹和免疫荧光定位分析 BmSP95 的组织和时期表达特征;利用 RNA 干扰分析 BmSP95 基因在蜕皮中的功能。从家蚕 化蛹和羽化前 14~16 h 的蜕皮液中共鉴定到 375 个蛋白, GO 聚类分析显示, 蜕皮液中的蛋白 主要参与催化、结合、结构分子和酶活性调控等分子功能。在鉴定到的34个丝氨酸蛋白酶中, 有 11 个属于 clip 丝氨酸蛋白酶,进化和同源分析表明它们中的一些可能参与体液免疫反应。 而蜕皮液中鉴定到的 BmSP95 蛋白属于家蚕 CLIPD 亚家族成员,该蛋白在 N 端含有一个 clip 结构域,C 端具有一个丝氨酸蛋白酶催化结构域。随后,通过原核表达获得了重组 BmSP95 包涵体蛋白,并用该蛋白制备了效价较高的多克隆抗体。组织和时期表达分析表明,BmSP95 是一个体壁特异性表达的蛋白酶,主要在幼虫和变态发育的蜕皮期高量表达。另外,*BmSP95* 基因的表达变化与蜕皮激素滴度的变化趋势一致,且20-羟基蜕皮酮可以显著诱导其上调表达。 蛋白免疫印迹和荧光定位表明,在蜕皮时,BmSP95蛋白合成后以前体形式累计在表皮细胞中, 随后被分泌到皮下空间,并在旧表皮降解时被激活为成熟体来发挥功能。RNA 干扰实验表明, 降低蛹期 BmSP95 基因的表达导致了蛹-成虫羽化的延迟。家蚕蜕皮液中鉴定到 375 个蛋白, 它们可能发挥多种功能。其中,体壁特异性表达的 clip 丝氨酸蛋白酶 BmSP95 在 20-羟基蜕皮 酮的调控下影响蜕皮过程。

关键词 家蚕,蜕皮液,clip丝氨酸蛋白酶,体壁,20-羟基蜕皮酮

家蚕卵黄原蛋白基因核心启动子在转录调控研究中的运用

刘红玲 1 林 英 1,2 沈关望 1,2 顾健健 1 张海燕 1 吴金鑫 1 徐银莹 1 龙 威 1 夏庆友 1,2*

- (1. 西南大学,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研究中心, 重庆 400716)

家蚕细胞系缺乏稳定的双荧光素酶报告基因系统的内参质粒以及可用于研究转录元件的基础启动子,前人的研究发现家蚕卵黄原蛋白基因核心启动子 BmVgP78(转录起始位点上游-38bp 到转录起始位点下游+40 bp)能在家蚕细胞中稳定表达。因此,本研究通过对 BmVgP78进行改造,构建适于家蚕细胞系的内参质粒以及基础启动子。首先,突变 BmVgP78启动子上的激素应答相关元件,获得在家蚕细胞中不响应激素的组成型启动子 BmVgP78M;然后,用BmVgP78M 替换 pRL-SV40质粒上的 SV40启动子和嵌合内含子序列,构建 pRL-VgP78M 内参质粒;其次,为了避免空间位阻效应,我们在 BmVgP78M 基础上构建不同长度间隔基序连接 BrC 元件的测试启动子的细胞转染载体;最后,通过细胞转染实验分析 pRL-VgP78M 内参质粒和不同长度间隔的测试启动子在家蚕细胞系中的稳定性以及对激素的响应。(1)BmVgP78M 启动子能够在家蚕细胞系中稳定表达且表达量适中;(2)pRL-VgP78M 内参质粒的表达活性不受蜕皮激素、保幼激素及激素相关转录因子的影响;(3)当测试启动子的间隔序列为 28bp,即启动子为 VgP78M+28+BrCE 时,BrC 元件能够正常发挥其活性。pRL-VgP78M内参可以有效地作为双荧光素酶报告基因系统的内参质粒用于家蚕细胞系中激素的研究;VgP78M+28 可以作为基础启动子在家蚕细胞中研究转录调控元件对启动子活性的影响研究。 关键词 家蚕,卵黄原蛋白基因,双荧光素酶报告基因系统,内参质粒,激素,基础启动子

*通讯作者, E-mail: xiaqy@swu.edu.cn

家蚕缩蚕突变基因的定位克隆及分子机制解析

刘 春 聂红毅 黄小凤 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)

分离克隆家蚕缩蚕(cot)突变体的突变基因,研究其突变机理。 利用定位克隆方法对缩 蚕回交群体构建缩蚕突变基因的精细图谱,结合生物信息学及基因功能研究方法对候选基因 进行功能研究。(1) 缩蚕突变表型的诱因主要由温度控制,当温度大于 30℃, cot 表现出癫痫 表现,个体体节严重缩短、胸部膨大、身体翻滚、吐液,且部分个体会暂时丧失行动能力。(2) 通过初定位和精细定位锁定缩蚕的突变区域为 SNP 19 和 SNP 25,物理距离为 268 kb 的区域, 该区域内包含 10 个预测基因,生物信息学分析表明,BGIBMGA007794 基因是编码跨膜离子 通道蛋白的基因,介导了兴奋性膜的电压依赖性钾离子渗透性,与果蝇的癫痫基因(seizure) 高度同源,而且 seizure 突变体产生类似于 cot 的表型,推测 BGIBMGA007794 (Bmsei)基因 可能为缩蚕的突变基因。(3)基因测序结果表明,在 cot 突变体中, Bmsei 的 5 内含子发生了 特有的 15 bp 的缺失,产生 3 种不同的选择性拼接方式,编码功能缺失的蛋白。在正常对照中, 则只有一种拼接形式,产生一个有 7 次跨膜结构域的钾离子通道蛋白亚基。(4) Bmsei 的表 达分析表明该基因主要在家蚕的神经和丝腺组织有表达,免疫荧光定位表明,该蛋白定位与 细胞膜和细胞质。WB 结果显示, Bmsei 蛋白有两种形式, 而且随温度的上升发生降解, 在 cot 中, 其蛋白的降解速度远比正常对照快。(5)通过在胚胎期进行 Bmsei 的 RNAi 实验, 发现 实验组在高温情况下诱发 cot 表型,而对照则无此表型; Bmsei 基因的功能缺失导致 cot 突变。 **关键词** 缩蚕,定位克隆,温度,钾离子,通道蛋白

*通讯作者, E-mail: xiaqy@swu.edu.cn

家蚕卵黄原蛋白受体(BmVgR)转运 30 kD 脂蛋白 1 (LP1) 的机制研究

徐银莹 1 毛雪芹 1 贾林帮 1 刘红玲 1 沈关望 1,2 吴金鑫 1 顾健健 1 张海燕 1 龙 威 1 林 英 1,2* 夏庆友 1,2

- (1. 西南大学,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研究中心, 重庆 400716)

卵黄原蛋白受体(vitellogenin receptor, VgR)是低密度脂蛋白家族受体(low density lipoprotein receptor, LDLR)家族中的一员,主要将卵黄原蛋白(vitellogenin, Vg)以胞吞的 方式摄入到正在发育的卵母细胞中,为卵巢的生长和胚胎的发育提供营养。同时, VgRs 除了 运输卵黄原蛋白外,还运输多种甚至完全不相关的配体。而家蚕 VgR(BmVgR)是否参与转 运其它配体蛋白,其转运机制还未见报道。本研究将阐释 BmVgR 转运除了 BmVg 外的其它 脂蛋白配体如 30 kD 蛋白 LP1 的分子机制。通过生物信息分析 30 kD 蛋白家族中哪些具有穿 梭肽基序: 然后通过天然纯化和原核表达并荧光标记的 BmLP1 蛋白孵育不表达 BmVgR 的 sf9 细胞,通过 Western-blotting 和红色荧光信号分析 BmLP1 进入细胞的量;同时也将含有 BmVgR 的卵巢总蛋白与原核表达的 BmLP1 蛋白(His-BmLP1)进行了 Co-IP 实验,检测 BmVgR 与 BmLP1 的结合,并通过在 sf9 细胞中分别过表达 BmVgR、以及 BmVgR 的两个重复结构域分 别链接上信号肽、O-糖链结构域+跨膜结构域+胞质尾区(SP+LBD1+EGF1+OTC(S11C)和 SP+LBD2+EGF2+OTC(S22C)), 进行胞吞实验,分析和验证 BmVgR 结合和转运 BmLP1。 另通过转基因恢复 BmVgR 突变体 vit/vit 的表型及卵中蛋白的含量,以进一步证实 BmVgR 结 合和转运 BmLP1 蛋白。30 kD 家族中有少部分具有像 BmLP3 蛋白类似的穿梭肽基序, 大部分 是不具有同源穿梭肽基序如 LP1。通过实验验证发现 BmLP1 蛋白不是穿梭蛋白。通过细胞实 验、内吞标记蛋白实验、Western-blotting 和 Co-IP 实验等表明了 BmLP1 蛋白可以被 BmVgR 结合并胞吞转运到细胞及卵母细胞中。并且两个重复结构域即 S11C 转运 BmLP1 蛋白的能力 比 S22C 略强些。本研究还进一步通过转基因恢复实验证实了 BmVgR 是转运 BmLP1 蛋白。 BmVgR 除了转运 BmVg 外,还要转运其它配体蛋白如 30 K 蛋白中的 BmLP1 蛋白,并再次揭 示了 BmVgR 在家蚕卵的形成及后期胚胎发育中发挥着重要作用, 为鳞翅目害虫防御提供了理 论依据。

关键词 家蚕,卵黄原蛋白受体,30 kD 脂蛋白1(LP1),转运,机制

^{*} 通讯作者

STING 促进 Dredd 介导的 NF-kB 的激活增强 昆虫的抗病毒免疫

化晓婷 1,2 李彬彬 1 宋 亮 1 胡翠美 1 李显扬 1 王丹丹 1 熊 颖 1 赵 萍 1,2 何华伟 1,2* 夏庆友 1,2* 王 菲 1,2*

(1. 家蚕基因组生物学国家重点实验室,西南大学,重庆 400715; 2. 重庆新型蚕丝材料工程技术研究中心,西南大学,重庆 400715)

鉴定昆虫中 Cyclic GMP-AMP (cGAMP) - STimulator of Interferon Genes (STING) 的抗 病毒信号机制。通过 LC-MS/MS 鉴定感染病毒的细胞中 cGAMP 及其含量变化;利用过表达 和干涉鉴定 BmSTING 的抗病毒功能;通过免疫沉淀,银染和 LC-MS/MS 鉴定 BmSTING 互 作蛋白,解析 cGAMP-BmSTING 发挥作用的详细机制。家蚕核型多角体病毒(BmNPV)感 染的家蚕细胞存在 DNA 识别信号通路中的第二信使——cGAMP: 过表达 BmSTING 可以显著 抑制 BmNPV 病毒在细胞内的复制,而对其干涉则能够促进病毒的增殖:同时发现过表达 BmSTING 时,NF-(B相关转录因子 BmRelish 的活化和核转位增强。对 BmSTING 互作蛋白 进行鉴定,发现 BmCaspase-8 like (BmCasp8L) 不仅与 BmSTING 具有相互作用,且作为 BmRelish 的负调控分子发挥作用; cGAMP 的刺激则解除了该抑制作用——与 BmSTING 结合 的 BmCasp8L 减少,同时 BmRelish 的活性增强。而 BmCasp8L 同源分子 death-related ced-3/Nedd2-like caspase (BmDredd)也与 BmSTING 互作,并促进 BmRelish 的活化。该研 究结果揭示了 BmSTING 作为鳞翅目模式昆虫-家蚕中一个关键的抗病毒免疫调控分子,通过 与相关分子的互作调控抗病毒免疫的分子机制:未感染病毒时,BmCasp8L与BmSTING结合, 抑制 BmSTING 激活的信号通路,从而使机体维持正常的生理稳态;病毒感染后,细胞合成 cGAMP 从而导致 BmSTING 与 BmCasp8L 解离并与 BmDredd 结合,激活 NF-кВ 类转录因子 BmRelish,诱导抗菌肽和抗病毒效应分子的产生。

关键词 家蚕,免疫,信号转导,感染,免疫抑制分子,病毒

*通讯作者, E-mail: xiaqy@swu.edu.cn

家蚕裸蛹突变基因鉴定及突变机理解析

胡文波 ¹ 刘 春 ^{1,2*} 陆 卫 ¹ 陈玉琳 ¹ 魏丽婉 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)

动物的泌丝和营茧能力是生物在自然界中经过长久进化获得的一种生存智慧。本研究选取与家蚕丝蛋白合成相关的裸蛹(Naked pupa,Nd)突变体作为研究对象,旨在阐明其突变机理,以丰富对丝蛋白合成分泌的认识。Nd 突变由单基因控制,呈显性遗传,遗传连锁将其定位于第 25 号染色体 0.0 cM 位点,为家蚕第 25 号染色体经典的遗传标记。本研究通过表型观察、基因鉴定、通路解析和功能验证全面地解析了 Nd 突变的突变机理。泌丝行为调查发现,Nd 突变体丝素蛋白分泌能力从始至终存在缺陷,其后部丝腺发育受到影响。遗传连锁定位分析与测序分析发现,定位于候选区间且编号为 BGIBMGA005111 的基因(丝素重链基因 fibroin heavy chain,FibH)在 Nd 突变体中缺失 19 bp 并引起翻译提前终止,导致编码的蛋白质 C 端发生缺失。Western blot 分析验证了这种突变的存在。透射电镜分析发现,C 端缺失的 FibH 在从细胞内向细胞外分泌过程中发生障碍。转录组分析发现,分泌受阻的突变 FibH 使丝腺细胞持续处于压力应激环境导致丝腺萎缩。此外,利用 CRISPR/dCas9 转录激活系统与遗传杂交分析,我们在细胞水平和个体水平分别验证了 FibH 分泌障碍激活了细胞应激反应(细胞自噬、泛素蛋白酶系统和热激反应等)通路。文章首次揭示了 Nd 突变基因及其突变机理,发现 CTD对于具有高分子量、高重复片段的 FibH 组装及分泌至关重要,扩展了对丝素蛋白分泌机制的认识。

关键词 家蚕,裸蛹突变,丝素重链基因,分泌障碍,丝腺萎缩

*通讯作者, E-mail: xiaqy@swu.edu.cn

家蚕 BmCaspase-8-Like 的免疫负调控功能研究

胡 杰 化晓婷 王鑫怡 王 菲

(西南大学家蚕基因组生物学国家重点实验室, 重庆 400716)

在个体和细胞水平上探讨家蚕 BmCaspase-8-Like 的免疫负调控功能,为研究昆虫免疫负 调控机制提供参考。通过 RT-PCR 技术克隆 BmCaspase-8-Like 并进行结构域预测和进化分析; 利用荧光定量 PCR 检测 BmCaspase-8-Like 在家蚕各龄期、5 龄第 3 d 及预蛹期各组织中的时 空表达特征和家蚕感染细菌后的免疫诱导表达特征; 合成用于 RNAi 的 dsRNA,通过注射 dsRNA 在个体中降低 BmCaspase-8-Like 的表达水平,并检测对抗菌肽基因表达水平的影响; 构建 BmCaspase-8-Like 的细胞表达载体,通过质粒或 dsRNA 的转染在 BmE 细胞中过表达 BmCaspase-8-Like 或降低 BmCaspase-8-Like 的表达水平, 并利用 Western blotting 或定量 PCR 予以确认, 同时检测抗菌肽基因表达水平的变化及转录因子 BmRelish 的切割。 BmCaspase-8-Like 与鳞翅目 Caspase-6、哺乳动物 Caspase-8 同源,其序列与 BmDredd、DmDredd N 端分别具有 61%、42%的相似性,但缺少 C 端的 Caspase 结构域。时空表达特征分析表明, BmCaspase-8-Like 在眠蚕期表达量高于起蚕期,在预蛹期、蛹7d、蛾1d表达量明显升高; 在 5 龄第 3 d 幼虫体内, BmCaspase-8-Like 在血细胞中的表达量明显高于其他组织, 而在预蛹 期,BmCaspase-8-Like 主要在丝腺中表达。 免疫诱导表达谱显示,家蚕在注射感染黑胸败血芽 孢杆菌或粘氏沙雷氏菌 1 h 内, BmCaspase-8-Like 的表达水平上升, 此后逐渐恢复正常。对 5 龄第2d家蚕注射 dsRNA,24h后通过荧光定量 PCR 检测到 BmCaspase-8-Like 的表达量在注 射 dsCaspase-8-like 的家蚕中显著下调,而抗菌肽 BmCecropinA1 的表达水平显著上调。在 BmE 细胞中过表达 BmCaspase-8-Like,抗菌肽 BmCecropinA1 的表达水平与对照相比显著降低,且 转录因子 BmRelish 的切割受到抑制。 在细胞中转染 dsRNA 后, *BmCaspase-8-Like* 的表达水平 被有效降低,抗菌肽 BmCecropinA1 的表达水平显著上调。进化分析、表达特征以及细胞和个 体上的功能研究表明,BmCaspase-8-Like 是一个具有免疫负调控作用的分子,通过抑制 BmRelish 的切割,抑制抗菌肽的表达,从而负调控 Imd 信号通路,降低 BmCaspase-8-Like 的 表达水平则导致抗菌肽表达水平升高,有助于家蚕抵御微生物病原的侵染。

关键词 家蚕,免疫负调控,BmCaspase-8-like,表达特征,抗菌肽,BmRelish

家蚕丝素酶 Fibroinase 活性周期性变化的分子机制

郭鹏超 王 展 张韵诗 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 400715)

家蚕丝素酶 Fibroinase 是一种 cathepsin L-like 半胱氨酸蛋白酶,最初是由于其具有降解液态丝素和丝胶的能力而得名。丝素酶的活性在丝腺发育过程中呈现周期性的变化趋势,即盛食期活性几乎没有,眠期和预蛹期活性高。目前认为丝素酶 fibroinase 活性的周期性变化是控制丝腺腔内的丝蛋白在眠期和预蛹期的降解的关键因素之一。

本研究发现丝素酶 fibroinase 在丝腺中的活性受两方面影响: 一是丝素酶的表达调控、二是丝素酶活性调控。丝腺中丝素酶的表达特征显示其在盛食期表达量低,眠期和预蛹期表达量高。通过激素诱导、细胞验证及 EMSA 等实验发现,丝素酶的表达受到蜕皮激素诱导并出现明显上调;并且在靠近转录起始位点的启动子区鉴定到了蜕皮激素相关的调控元件 POU-M2、Abd-B 和 BrcZ2。其中转录因子 POU-M2 和 Abd-B 可以显著上调丝素酶启动子的活性,而 BrcZ2 则下调丝素酶启动子活性。从五龄到预蛹期,POU-M2 和 Abd-B 表达量受蜕皮激素正向调节,BrcZ2 表达量受蜕皮激素反向调节,它们协同调控了丝素酶的周期性表达。利用毕赤酵母表达系统表达了活性的丝素酶蛋白,并检测了其生化活性;结合蛋白质组学数据和生化活性分析找到了其生理抑制剂 Serpin18 和 BCPI39。表达特征分析显示,在五龄盛食期有丝素酶少量表达;而 Serpin18 在五龄第 3~5 d 高量表达,第 7 d 开始下降,BCPI39则在五龄第 7 d 和上簇第一天高量表达。Serpin18 和 BCPI39 接力式的表达模式,巧妙的抑制了丝腺腔内丝素酶的活性,保证了在丝蛋白合成和积累的关键时期不被降解。到了预蛹期,丝素酶高量表达,降解丝腺腔残余内丝蛋白并启动丝腺的降解程序。本研究从表达调控和活性调控两方面阐明了丝素酶在丝腺发育过程中的调控作用,为实现丝腺发育的人为控制及创制免烘茧素材提供了参考。

关键词 丝腺,丝素酶,蛋白酶抑制剂,转录调控,抑制剂活性测定

*通讯作者, E-mail: xiaqy@swu.edu.cn

蚕丝蛋白的组成与功能研究

董照明 张 艳 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 400715)

蚕丝是一种天然的动物蛋白质纤维。早在5000年前,中华民族的祖先就发现了蚕丝作 为纺织服饰材料的利用价值。古往今来,蚕丝制品以其独特的魅力一直被人们所喜爱。近 20 多年来,研究者们针对再生丝蛋白生物材料开发的研究做了很多有益的探索,使蚕丝在 传统纺织服饰领域以外开拓出了广阔的应用空间。虽然蚕丝生物材料的开发与应用风风火火, 蚕丝蛋白组成和特性的基础研究却依然非常薄弱,成为影响丝绸产业发展的重要因素。本研 究组利用蛋白质组学技术对家蚕七个不同发育时期的蚕丝进行了系统鉴定,在已报道的丝素 蛋白和丝胶蛋白之外,新发现了400多种丝蛋白。通过非标定量分析发现三种丝素蛋白在不 同蚕丝中的比例并不是恒定的 6:6:1, 三种丝胶蛋白在小蚕期和大蚕期的表达模式不同, 蛋 白酶抑制剂主要分布于蚕茧的最外层。最有趣的是我们发现了很多未知功能的丝蛋白。通过 研究丝蛋白的分泌过程发现在后部丝腺表达的丝蛋白分泌到丝素层中,是构成丝纤维的主要 成分,在中部丝腺中后区表达的丝蛋白等分泌到丝胶内层,约束并粘合丝纤维以形成三维结 构的蚕茧, 在中部丝腺前区表达的丝蛋白分泌到丝胶的外层, 具有抗微生物的功能。我们从 蚕丝中提取获得了30种蛋白酶抑制剂,发现它们通过抑制微生物分泌的蛋白酶的活性来发 挥抗真菌的作用;对蚕丝中 seroin 蛋白的研究发现它们能够抑制大肠杆菌的生长,并揭示了 其抑制细菌生长的关键氨基酸位点;发现蚕丝中的 seroin2 蛋白比 seroin1 蛋白的抗菌活性 更强,且主要分布于蚕丝的表层、能够更好的发挥抗菌功能。本研究第一次全面系统揭示了 蚕丝的蛋白质组成成分,深入地阐释了蚕丝保护功能的生物学基础与分子机理,极大地提高 了人们对蚕丝抗菌功能的认识,有助于开发具有市场竞争力的和高附加值的天然抗菌蚕丝制 品,拓展蚕丝在美容、化妆以及医疗卫生领域的应用。

关键词 蚕丝,蚕茧,丝腺,丝蛋白,蛋白质组学

家蚕全基因组范围内响应蜕皮激素的转录调控研究

程 冬 1 程廷才 1.2 杨 茜 1 张 权 1 龚 娇 1 夏庆友 1.2

(1. 西南大学家蚕基因组生物学国家重点实验室, 重庆 400715:

2. 西南大学生物技术学院, 重庆市蚕丝纤维新材料工程技术研究中心, 重庆 400715)

家蚕作为典型的鳞翅目变态发育昆虫,主要依靠体内蜕皮激素滴度的变化,调节幼虫蜕皮、蛹变态和成虫分化等胚后发育。蜕皮激素通过其受体(EcR),调控一系列基因的级联表达,进而调控发育、繁殖,代谢和免疫等多个生物学进程。目前对全基因范围内响应蜕皮激素的转录调控元件的鉴定及其是如何精准的调控响应基因的表达的机制尚不清楚。 在本研究中,我们通过 ChIP-seq 的方法研究三种组蛋白修饰(H3K4me1, H3K4me3, H3K27ac)对蜕皮激素的响应,进而构建了家蚕全基因组响应蜕皮激素变化的增强子活性图谱。 相对于 H3K4me3 和 H3K4me1,组蛋白修饰 H3K27ac 对蜕皮激素的响应较为剧烈。相对于基因组其他区域,H3K27ac 在增强子区域的的变化尤为剧烈,且与靶基因的表达量一致。这说明蜕皮激素可以通过调控组蛋白修饰 H3K27ac 在增强子的变化,来调控基因的特异表达。我们发现 EcR 不仅可以结合靶基因的启动子,还可以结合到增强子区域来调节基因的转录。此外,52.65%的 EcR 结合位点包含蜕皮激素受体响应元件(EcRE),这表明 EcR 可能通过直接或间接的与其他转录因子结合进而调节靶基因表达。蜕皮激素主要通过组蛋白 H3K27ac 修饰调控基因表达,全基因组分布广泛,表明蜕皮激素响应靶基因转录调控的复杂性,为理解蜕皮激素的复杂转录调控过程章定了基础。

关键词 组蛋白修饰,增强子,蜕皮激素受体,转录调控元件,家蚕

microRNAs 介导卵黄原蛋白受体(VgR)的表达 调控家蚕卵子发生

陈恩祥 ¹ 陈志伟 ² 李胜龙 ¹ 林 英 ¹ 郭慧珍 ¹ 刘践秋 ¹ 季小存 ³ 徐莹莹 ¹ 刘仕平 ¹ Masahiro Ajimura ¹ Kallare P. Arunkumar ⁴ Marian R. Goldsmith ⁵ 夏庆友 ¹ Kazuei Mita ^{1*}

(1. 家蚕基因组生物学国家重点实验室,重庆 400716; 2.重庆医科大学,重庆 400016; 3.病理研究所和西南癌症中心,西南医院,陆军军医大学,重庆 400038; 4. Centre for DNA Fingerprinting and Diagnostics, Hyderabad, 500001, India; 5. University of Rhode Island, Kingston, 02881, USA)

探究 microRNAs 通过调控家蚕卵黄原蛋白受体(BmVgR)的表达而影响家蚕卵子发生 的机制。通过对家蚕卵黄发生期和卵壳形成期的滤泡组织进行 Small RNA 测序分析以及双 荧光素酶报告系统筛选作用于 BmVgR-3'UTR 上的 miRNAs; 利用细胞水平过表达或抑制 miRNAs 进一步验证筛选到的 miRNAs 对靶基因的调控作用; 最终通过在家蚕体内瞬时过表 达 miRNAs, 观察分析其对卵子发生的影响。(1) Small RNA 测序结果显示从卵黄发生期到 卵壳形成期共鉴定到 242 个差异表达的 miRNAs, 其中 27 个在 BmVgR-3'UTR 上预测到可 能的结合位点。进一步利用 qRT-PCR 分析发现 13 个 miRNAs 从卵黄发生期到卵壳形成期上 调表达。随后利用双荧光素酶报告系统发现 bmo-miR-2739 和 novel-miR-167 与 BmVgR-3'UTR 结合并显著下调荧光素酶的表达; (2) 在家蚕 BmN4-SIDI 细胞中过表达这 两个 miRNAs 均能使 BmVgR 蛋白的表达下调,而抑制细胞內源 miRNAs 能够上调 BmVgR 的表达,并促进细胞内吞 BmVg 蛋白; (3) 在蛹期家蚕中过表达 bmo-miR-2739 和 novel-miR-167,均能造成产卵率下降;同时发现 bmo-miR-2739 过表达家蚕产生的蚕卵较正 常家蚕蚕卵明显偏小偏白,而与家蚕 VgR 缺陷型品种(vit/vit)蚕卵相似;(4)对这两个 miRNAs的组织表达特征检测,结果表明 bmo-miR-2739 为卵巢高量表达的 miRNA,而 novel-mir-167 则在非卵巢组织中表达量较高,推断 bmo-miR-2739 和 novel-mir-167 分别参与调控 VgR 的 时期和组织特异性表达。本研究报道了 bmo-miR-2739 和 novel-mir-167 通过作用于 BmVgR-3'UTR,调控 BmVgR 的时期和组织特异表达,进而确保卵黄原蛋白蛋白在卵母细 胞中的积累和卵巢的正常发育。

关键词 microRNA, 卵子发生, 卵黄原蛋白受体, 家蚕

^{*}通讯作者

赤拟谷盗小分子热激蛋白的功能及 hsp18.3 作用机制初探*

谢 佳 胡星星 熊文峰 李 斌**

(南京师范大学生命科学学院,南京 210023)

小分子热激蛋白(sHSPs)广泛分布于各种生物体内,在机体适应环境及生长发育过程 中起重要作用。本研究通过全面探究 shsps 在鞘翅目代表昆虫赤拟谷盗中的进化、应激、生 理功能,初步探讨其相关调控机理,以促进对昆虫 sHSPs 功能的全面了解,通过阐明 sHSPs 对昆虫生长发育及环境适应性的影响机制进而为害虫防治提供理论依据。构建归属不同目的 代表昆虫 shsps 的系统发育树分析其进化模式。基于分析鉴定,采用定量 PCR 检测赤拟谷 盗 10 个 shsps 在生长发育时期及温度、紫外等应激模式下的表达,利用 RNA 干扰技术分析 shsps 在赤拟谷盗生长发育中的生理作用,并通过 RNA-seq 技术对其中发挥重要作用的 hsp18.3 进行了进一步差异转录组学分析。系统进化分析显示赤拟谷盗共有 10 个 shsps, 其 中 2 个为直系同源 shsps, 8 个为物种特异 shsps。10 个 shsps 在赤拟谷盗生长发育各个时期 均有表达,且均在热激(45℃)时表达量上调,冷激(4℃)时表达量不变。根据其响应程 度可分为 6 个强应激型 shsps (上调几百甚至上万倍), 1 个中应激型 (上调约 30 倍), 3 个 弱应激型(上调10倍以下)。对紫外应激的响应则可分为早应激型、晚应激型和不敏感型。 另外, 敲減 shsps 后会不同程度地降低昆虫存活率和生殖能力, 其中敲减 hsp18.3 后最显著: 86.1%的蛹发育停滞并死亡;产卵抑制率为94.7%。RNA-seq 结果显示敲减 hsp18.3 后有569 个差异表达基因(DEGs),在应激、生长发育、繁殖等生理过程分别有 31、18 和 9 个 DEGs; 胰腺分泌、蛋白质消化和吸收等信号通路也受到较大影响。shsps 对同一刺激响应不同表明 了它们在机体内的不同分工。同时,它们不同程度地参与调控赤拟谷盗的生长发育过程,其 中 hsp18.3 可能通过调控代谢相关的下游信号通路在抵抗应激以及羽化和生殖方面均起至关 重要作用。本研究将帮助我们全面了解昆虫 shsps 功能并为阐明 hsp18.3 的信号转导机制奠 定基础。

关键词 赤拟谷盗, shsps, hsp18.3, 应激, 发育, 生殖

*资助项目: 国家自然科学基金(31572326; 31172146)

**通讯作者, E-mail: libin@njnu.edu.cn

中红侧沟茧蜂肽聚糖识别蛋白(PGRP)的鉴定与功能研究

王瑞娟 1 林 哲 2 周丽贞 1 邹 振 2* 吕志强 1*

(1. 西北农林科技大学植物保护学院,陕西杨凌 712100; 2. 中国科学院动物研究所,北京 100101)

寄生蜂作为一类重要害虫天敌资源,在害虫生物防治中发挥着重要作用。寄生蜂将卵产在鳞翅目、鞘翅目和双翅目等昆虫的卵、幼虫、蛹的体表或体内,幼虫从寄主获取营养营寄生生活,羽化为成虫后独立自由生活。寄生蜂与其它昆虫的不同之处在于其生命周期中有一段时期高度依赖寄主,这就意味着寄生蜂不仅像其他昆虫一样会面临环境带来的各种免疫刺激,而且在依赖寄主的时期面临着寄主免疫的攻击,尤其是内寄生蜂。那么在这样复杂环境下,作为天敌昆虫的寄生蜂是如何生存的呢?

中红侧沟茧蜂自身免疫中,PGRP 也发挥着重要的免疫功能。从转录组中鉴定得到 6个 PGRP 基因,结构域功能预测分析显示,S型 PGRP 在 N 端具有信号肽,而 L型 PGRP 在 N 端都含有跨膜区。序列比对分析结果表明,MmePGRP-S1 和-S2 具有酰胺酶活性。除了 MmePGRP-S3,所有的 PGRP 都具有保守的精氨酸(Arginine)位点,此位点是识别 DAP型肽聚糖所必需的。同源进化分析结果显示,MmePGRP 与同样来自膜翅目的 PGRP 具有最近的进化关系。在卵和幼虫阶段 MmePGRP 的表达量较低,发育后期表达逐渐升高,成虫时期最高,只有 MmePGRP-L1 在发育早期表达量较高,随着生长发育表达量逐渐降低。MmePGRP-S1 和-S2 在 E. cloacae 感染后 6,24 和 48 h 以及 M. luteus 或 B. bassiana 感染后 48 h,表达量显著升高,且与表达谱热图分析结果一致。然而,MmePGRP-S3 在不同免疫下均没有明显变化。MmePGRP-L1 和-L3 只有在革兰氏阳性菌 M. luteus 感染后表达量明显上升,而 MmePGRP-L2 在细菌感染后 24 和 48 h 以及真菌感染后 48 h 均有显著的升高。在干扰 MmePGRP-S1 的同时以不同的病原物进行免疫刺激,在革兰氏阳性菌的感染下,存活率有显著的差异,表明 MmePGRP-S1 在抵御革兰氏阳性菌的反应中起重要作用。研究表明,中红侧沟茧蜂的 PGRP 在其对外界不良环境的应对中起着至关重要的作用。该研究为深入了解中红侧沟茧蜂的免疫机制奠定了基础,对天敌益虫的保护具有潜在意义。

关键词 寄生蜂,天然免疫,肽聚糖识别蛋白

^{*}通讯作者, E-mail: zouzhen@ioz.ac.cn; zhiqianglu@gmail.com

绿脓杆菌分泌的金属蛋白酶 Elastase B 对家蚕免疫系统的调控

马 力 ¹ 周丽贞 ¹ 林金水 ² 季玖园 ¹ 王 阳 ³ 蒋浩波 ³ 沈锡辉 ² 吕志强 ^{1*} (1.西北农林科技大学植物保护学院,杨凌 712100; 2. 西北农林科技大学生命科学学院,杨凌 712100; 3. 俄克拉荷马州立大学昆虫学系,美国 俄克拉荷马州)

昆虫依赖其简单而有效的天然免疫系统抵御病原微生物和寄生生物等的侵染,其中黑化反应和抗菌肽的产生是昆虫的两种主要的免疫应答反应。而病原微生物有自己的策略来克服寄主的免疫攻击,例如:在侵染和致病过程中病原微生物分泌的毒力因子和毒素等帮助病原微生物逃避、阻碍甚至调控寄主的免疫系统。

我们以绿脓杆菌——蚕为模式系统,探究了绿脓杆菌分泌的金属蛋白酶 Elastase B 对家蚕免疫系统的影响。在感染了绿脓杆菌的家蚕体内,las B 基因快速表达,产生 Elastolytic 活力,并且随着绿脓杆菌的增殖 las B 的表达和 Elastolytic 活力逐渐增强,这表明绿脓杆菌侵染家蚕后快速产生 Elastase B,并且 Elastase B 的量随绿脓杆菌的增殖而增加。将纯化的 Elastase B 注射到家蚕体内,发现:家蚕血淋巴中的酚氧化酶原(PPO)剪切受到抑制从而导致酚氧化酶(PO)活力降低,而抗菌肽 Gloverin 的表达轻微上调。为了进一步验证以上结果,用绿脓杆菌 las B 基因敲除突变体(Δlas B)和野生型分别感染家蚕,发现:野生型绿脓杆菌感染家蚕血淋巴的 PO 活力显著地低于突变体 Δlas B 感染的家蚕;野生型绿脓杆菌感染家蚕血淋巴的抗菌活力和 Gloverin 的表达高于突变体 Δlas B 感染的家蚕。相比于野生型绿脓杆菌,突变体 Δlas B 表现出对家蚕较低的致死率和在家蚕体内较低的增殖能力。以上结果表明,作为一个重要的毒力因子,Elastase B 在绿脓杆菌侵染过程中调控家蚕的免疫系统。

关键词 家蚕,绿脓杆菌,Elastase B,酚氧化酶,抗菌肽

*通讯作者, E-mail: zhiqianglu@gmail.com

赤拟谷盗 DNA 甲基化转移酶功能分析

宋晓雯 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)

DNA 胞嘧啶甲基化是一种重要的表观遗传修饰,广泛存在于绝大多数的真核生物中,可参与调控多种重要的生物学过程。赤拟谷盗作为一种重要的模式生物,近来其全基因组甲基化图谱得到破译。由于其体内仅含有两种甲基化转移酶: DNMT1 和 DNMT2,缺失从头甲基化转移酶 DNMT3,因此,关于赤拟谷盗甲基化胞嘧啶位点建立机制及其生物学功能,至今尚不清楚。本研究以赤拟谷盗 DNA 甲基化转移酶为研究对象,对其催化能力及生物学功能进行了探究。体外甲基化催化实验表明,TcDNMT1a,TcDNMT1b 均能特异性结合 CpG位点,但仅有 TcDNMT1a 能够特异性催化半甲基化 CpG 位点甲基化,行使维持甲基化转移酶的功能。TcDNMT1b 不能催化甲基化 CpG 位点的形成,这可能与其 C 端催化结构域的缺失有关。而 TcDNMT2 不能结合 DNA 底物,暗示其并不参与 DNA 甲基化,可能同其他物种负责 tRNA 甲基化。敲减甲基化转移酶基因在体内表达发现,Tcdnmt1a 缺失导致赤拟谷盗羽化停滞及胚胎期死亡,而 Tcdnmt1b,Tcdnmt2 缺失对赤拟谷盗正常生命发育无明显影响,以上事实暗示赤拟谷盗 DNA 甲基化参与调控变态发育及胚胎发育。此外,Tcdnmt1a 敲减后,与对照组相比,干扰组赤拟谷盗体内 CpG 甲基化水平发生明显降低,体内证据进一步支持TcDNMT1a 负责赤拟谷盗 CpG 位点的甲基化。

关键词 赤拟谷盗, DNA 甲基化, DNA 甲基化转移酶, RNAi

*通讯作者, E-mail: libin@njnu.edu.cn

红裸须摇蚊 α-烯醇化酶分子特性及其在镉胁迫下的响应

郑先云1 李王红2 高 叶2

(1. 山西大学环境科学研究所,太原 030006; 2. 山西大学体育学院运动人体科学中心,太原 030006)

α-烯醇化酶(alpha-Enolase,ENOL1)是烯醇化酶的 3 个亚型之一,可以作为糖酵解酶 参与细胞代谢进而影响生命活动,研究发现 ENOL1 还可充当应激蛋白对环境胁迫发生适应 性应答。本课题组前期用 iTRAQ 标记结合 LC-MS/MS 技术发现 ENOL1 是红裸须摇蚊对 Cd²+ 胁迫产生应答的一个差异表达蛋白,但红裸须摇蚊 ENOL1 的基因分子特性及其在重金属镉 胁迫下的响应并不清楚。

昆虫ENOL基因序列,根据保守区域设计简并性引物克隆红裸须摇蚊ENOL基因片段,用RACE法克隆得到基因全长;进一步利用分子生物学软件分析红裸须摇蚊ENOL基因的分子特征,同时用实时定量PCR测定红裸须摇蚊在Cd²⁺胁迫下血淋巴中ENOL1基因的表达并用ELISA法测定酶活性变化。

红裸须摇蚊ENOL1 基因全长1731 bp,包含1308 bp 的编码阅读框(148~1452 bp),该基因共编码435个氨基酸,进一步用InterproScan分析氨基酸序列的特征基序,并用Clustal W法对包括红裸须摇蚊ENOL1在内的9个双翅目昆虫的ENOL1序列进行多重比对,可以看出ENOL1序列的保守性特别强,在这些序列中发现了4个金属离子结合位点,7个底物结合位点,ENOL1特征基序以及疏水结构域;ENOL1的基因表达与酶活性均在Cd²+胁迫72小时达到峰值,在96小时降低到对照水平,这与iTRAQ结果有一些差异。但可以确定的是无论是蛋白质还是miRNA表达,都在Cd²+胁迫72小时达到峰值。表明红裸须摇蚊血淋巴中的ENOL1是一种可诱导的快速表达蛋白,它对于Cd²+胁迫相当敏感,可能在红裸须摇蚊抗Cd²+方面起重要作用。

关键词 红裸须摇蚊, α -烯醇化酶,分子特性,镉,实时定量 PCR

Amsp4 通过调控 Amdnmt3 基因影响西方蜜蜂的级型分化

王子龙 李 茫 赵方媛 曾志将*

(江西农业大学蜜蜂研究所,南昌 330045)

自然界中的蜜蜂、胡蜂、蚂蚁等多种社会性昆虫均存在级型分化现象。其中,蜜蜂的雌性具有蜂王和工蜂两种级型,它们都是由遗传物质相同的受精卵发育而成,但是由于幼虫期接受营养物质的差异,导致两者在形态、生理、社会职能和寿命等方面均出现巨大的差异。前人研究表明 Amdnmt3 是西方蜜蜂级型分化途径中的一个关键性基因,本研究鉴定出了Amdnmt3 基因上游的一个转录调控因子 Amsp4,它编码一个含有 3 个 C₂H₂ 锌指结构域的蛋白。在西方蜜蜂幼虫期 48、84 和 120 h,Amsp4 基因在工蜂幼虫中的表达量均显著高于蜂王幼虫(P<0.05)。对西方蜜蜂工蜂幼虫体内 Amsp4 基因进行 RNAi 之后,Amdnmt3 基因的表达量显著降低,同时刚羽化雌性蜜蜂的初生重、体长、第 3 背板长等显著升高。这些结果说明 Amsp4 可以通过调控 Amdnmt3 影响西方蜜蜂的级型分化。

关键词 西方蜜蜂,级型分化,转录因子, RNAi

*通讯作者, E-mail: bees1965@sina.com

飞蝗肌肉肌钙蛋白钙离子结合亚基的序列分析及功能研究

梁慧芳 李 晶 李向东*

(中国科学院动物研究所虫害鼠害综合治理国家重点实验室,北京100101)

蝗虫是研究昆虫运动与肌肉生理的模式动物。蝗虫能够持续飞行数个小时,而只能持续跳跃数分钟,暗示相关肌肉收缩调节可能是不同的。肌钙蛋白复合体是调控肌肉收缩的关键蛋白,由 TnC(钙离子结合亚基)、TnI(抑制亚基)和 TnT(与原肌球蛋白相互作用亚基)三个亚基组成。我们发现飞蝗背纵肌(飞行肌)和后足胫节伸肌(跳跃肌)表达不同的 TnC亚型。飞行肌表达 TnC1 和 TnC2 两种亚型,(TnC1 的表达量大约是 TnC2 的 4000 倍),而跳跃肌表达 TnC3 亚型。光度分析显示钙离子结合会引起 TnC 的酪氨酸荧光增加,TnC1、TnC2 和 TnC3 分别增加 12%、11.5%和 53.5%。利用酪氨酸荧光光谱,我们测定了 TnC1 和 TnC3 的钙离子亲和常数,发现 TnC1 对钙离子的亲和力显著高于 TnC3,暗示较低的钙离子浓度可以引起飞行肌的收缩,这个特性可能与飞蝗长时间飞行有关。利用重组表达方法,我们成功获得肌钙蛋白复合体。该复合体与原肌球蛋白(Tropomyosin)和细丝(actin filaments)结合后,可以调控肌动蛋白激活的肌球蛋白 ATPase 活性。其中我们发现包含 TnC3 的肌钙蛋白复合体的调节程度(即高低钙离子浓度下 ATPase 活性。其中我们发现包含 TnC1 的肌钙蛋白复合体,暗示飞行肌的收缩可能还受其它因素的调节。这些研究结果有助于揭示飞蝗肌钙蛋白复合体结构与功能的关系,并为阐明飞蝗肌肉收缩调节的分子机制奠定基础。

关键词 肌钙蛋白, 肌球蛋白, 细丝, ATPase, 钙离子

*通讯作者, E-mail: lixd@ioz.ac.cn

可变剪切编码部位对东亚飞蝗横纹肌肌球蛋白 马达活性的影响

刘 畅 郝 杰 李 晶 李向东*

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

昆虫运动依赖于横纹肌的收缩。横纹肌肌球蛋白(Myosin)是肌肉中最重要的功能蛋白,可以将 ATP 水解产生的能量转化为机械能,驱动肌肉收缩。东亚飞蝗基因组中只有一个 Myosin 重链基因,但可以通过可变剪切编码 360 种不同类型的 Myosin 重链蛋白。飞蝗胸部飞行肌,腿部跳跃肌和腹部节间肌的收缩特性各不相同,其表达的 Myosin 重链可变剪切编码区域也各不相同,但尚不清楚可变剪切编码部位对飞蝗 Myosin 马达功能的影响。本研究旨在确定飞蝗 Myosin 的结构与功能的关系,为揭示昆虫运动和肌肉收缩调节的分子机制奠定基础。首先,我们利用昆虫 Sf9 细胞成功地表达了飞蝗 Myosin 的重酶解片段 HMM (Heavy Meromyosin),并纯化得到具有 ATPase 活力和体外运动活力的 HMM。其次,我们发现飞行肌和跳跃肌 HMM 的 ATPase 活力无明显差异,二者均明显高于节间肌 HMM 的活力。而在体外运动活力方面,飞行肌与腹部节间肌 HMM 差异较小,但二者都显著高于跳跃肌 HMM。最后,我们构建了飞行肌-节间肌 HMM 杂合体,以确定飞行肌和节间肌 HMM 的三个不同可变剪切编码部位对 ATPase 活力的影响。我们发现由第 14 位外显子编码的 relay 区域是影响飞行肌和腹部节间肌 HMM 的 ATPase 的关键可变剪切部位。

关键词 东亚飞蝗,肌肉收缩,肌球蛋白,ATPase,可变剪切

*通讯作者, E-mail: lixd@ioz.ac.cn

小菜蛾硫酸酯酶 GSS1 基因在 Bac to Bac 系统中的表达

郑 玲 1,2,3 陈 玮 1,2,3 荆晓东 1,2,3 张玲玲 1,2,3 何玮毅 1,2,3*

(1. 福建农林大学应用生态研究所,福州 350002; 2. 闽台特色作物病虫生态防控协同创新中心,福州 350002; 3. 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)

硫代葡萄糖苷硫酸酯酶(Glucosinolate Sulfatase, GSS)及其修饰因子(Sulfatase Modifying Factor 1, SUMF1)是小菜蛾代谢十字花科寄主植物化学防御物质硫代葡萄糖苷的关键因子, GSS 能够与植物黑芥子酶竞争底物硫代葡萄糖苷(GS)并水解形成无毒产物。为了探究小 菜蛾 GSS 解毒 GS 的分子机制,需要制备具有活性的目标蛋白。由于原核表达体系缺乏 GSS 的修饰因子 SUMF1 从而导致其活力丢失,因此采用杆状病毒表达系统开展 GSS 真核表达 的研究。扩增并克隆小菜蛾 GSSI 基因全长序列,将去除信号肽的片段引入 His 标签序列后 亚克隆至 pFastBac 载体中构建重组载体 pFastBac-GSS1, 并将其转化到 DH10Bac 感受态细 胞中得到重组杆粒 rBacmid-GSS1;将重组杆粒 rBacmid-GSS1转染 Sf9 昆虫细胞, 收获重组 病毒盲传三代(P1 至 P3 病毒液),利用 PCR 鉴定重组病毒是否带有 GSS1 片段;利用间接 免疫荧光技术(IFA)以及 Western blot 检测重组蛋白的表达情况。提取重组载体 pFastBac-GSS1 并进行测序,证实去除信号肽的 GSS1 序列成功插入至 pFastH1 中,同时利 用 M13 引物进行 PCR 检测,证实重组杆粒 rBacmid-GSS1 构建成功;重组杆粒 rBacmid-GSS1 转染 Sf9 细胞 72 h 后细胞病变明显,即细胞贴壁性变弱、增殖缓慢,符合杆粒感染后细胞 的变化特点: 经 IFA 检测, 转染 rBacmid-GSS1 的 sf9 细胞相比未侵染杆粒的对照组细胞具 有特异荧光信号; 利用 His 抗体检测 P3 病毒液侵染的 sf9 细胞,结果显示存在预期大小的 条带。本研究借助杆状病毒表达系统在 sf9 细胞系中成功表达 GSS1 蛋白,后续将进一步通 过 Ni 柱纯化的方式纯化和浓缩目标蛋白,用于活性的验证。这将为 GSS 家族其他成员功能 的研究奠定基础,也为进一步研究小菜蛾 GSS 与十字花科寄主植物协同进化的分子机理提 供理论支持。

关键词 小菜蛾, GSS1 基因, 真核表达, 重组杆粒

*通讯作者, E-mail: wy.he@fafu.edu.cn

小菜蛾黑芥子酶同源序列的鉴定及其重要基因的功能探究*

董玉红 ^{1,2,3} 陈 玮 ^{1,2,3} 荆晓东 ^{1,2,3} 张玲玲 ^{1,2,3} 何玮毅 ^{1,2,3**}

(1. 福建农林大学应用生态研究所,福州 350002; 2.闽台特色作物病虫生态防控协同创新中心,福州 350002; 3. 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)

十字花科植物具有一套经典的"芥子油苷炸弹"防御机制,当其被昆虫取食时,植物体内 的黑芥子酶催化底物硫代葡萄糖苷反应产生有毒的氰类化合物,毒害天敌从而保护自身。然 而,在长期与十字花科寄主协同进化的过程中,有些昆虫基因组中也产生出昆虫特异的黑芥 子酶基因,利用植物体内的硫代葡萄糖苷(GS)作为底物从而形成一套与寄主相类似的防 御机制。小菜蛾黑芥子酶同源序列是否也具有一套这样的防御机制值得深入研究。基于小菜 蛾基因组数据设计特异性引物,分别取食萝卜子叶的福州品系(FZ)和取食未添加 GS的饲 料品系(AD)小菜蛾,对其黑芥子酶同源序列进行了序列验证,并利用 qRT-PCR 对各成员 在不同发育阶段、幼虫不同组织的基因表达模式进行分析;其次,利用气相色谱串联质谱 (GC-MS) 对小菜蛾不同发育阶段以及幼虫不同组织黑芥子酶的活性进行验证;最后为探 究植物源物质对小菜蛾黑芥子酶同源序列基因的影响, 收集取食萝卜子叶或含有不同 GS 浓 度(35-500 mg/kg)的饲料不同时间点AD品系幼虫的中肠样本,利用qRT-PCR检测各成 员基因的表达模式,同时观测其生物学参数的变化;最后,基于荧光数据的结果针对重要基 因 PX008848 制备了特异性抗体,利用 Western blot (WB) 方法检测了该基因在不同处理中 蛋白层面的表达模式。小菜蛾黑芥子酶同源序列共有13个成员,其基因表达模式在不同发 育阶段、幼虫不同组织以及萝卜子叶和硫苷喂食过程中具有多样性:GC-MS 结果显示,小 菜蛾体内并不存在能够水解硫代葡萄糖苷产生有毒物质的黑芥子酶系;取食萝卜子叶和高浓 度硫苷饲料的过程中, 基因 PX008848 的基因和蛋白表达量会受到萝卜子叶以及高浓度 GS 的显著诱导: 生物学参数结果显示, AD 品系幼虫在取食萝卜子叶之后, 其存活率并未发生 显著性变化,然而蛹重和虫重变化却显著性降低,并伴随着幼虫发育历期的显著性延长。本 研究发现小菜蛾并不存在"芥子油苷炸弹"体系,并且小菜蛾中黑芥子酶基因同源序列的表达 受到植物源物质和 GS 所影响,这为后续深入研究昆虫中黑芥子酶基因同源序列的功能奠定 了基础。

关键词 小菜蛾,昆虫黑芥子酶同源序列,硫代葡萄糖苷,气相色谱串联质谱

^{*}资助项目: 国家自然科学基金青年项目(31301677)

^{**}通讯作者, E-mail: wv.he@fafu.edu.cn

小菜蛾寄主转移前后 DNA 甲基化特性变化的研究*

陈 玮 ^{1,2,3} 荆晓东 ^{1,2,3} 董玉红 ^{1,2,3} 张玲玲 ^{1,2,3} 周 立 ^{1,2,3} 何玮毅 ^{1,2,3**} 尤民生 ^{1,2,3**}

(1. 福建农林大学应用生态研究所,福州 350002; 2. 闽台特色作物病虫生态防控协同创新中心,福州 350002; 3. 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)

基因组 DNA 甲基化广泛存在各类生物体中,能够响应外界环境变化来调控基因表达模 式,引发表型的可塑性,是物种适应性进化的重要调控机制。目前对昆虫基因组的 DNA 甲 基化特性与功能的研究已逐步开展,但在农业害虫领域报道较少。小菜蛾专食性取食十字花 科寄主, 而目前十字花科作物的单一化种植模式加剧其对农业生产的危害。因此, 不同寄主 环境是否会影响小菜蛾基因组 DNA 甲基化的特性从而影响其适应新寄主的能力, 值得探究。 本实验首先利用CpGog生物信息学分析方法和酶切实验研究了长期取食萝卜叶的福州品系 基因组 DNA 甲基化的基本特性; 其次, 收集小菜蛾在新寄主拟南芥连续饲养三代(G1、 G2 和 G3) 和原寄主萝卜叶饲养一代(Gck) 不同发育阶段的样本,利用荧光定量 PCR 实验 和甲基化胞嘧啶(5mC)定量试剂盒分别检测了各样本间 DNA 甲基化转移酶 1(DNMT1) 的表达模式和 5mC 含量,结合荧光法甲基化敏感扩增多态性(F-MSAP)分析不同世代间 CCGG 位点甲基化变化模式:最后,利用 5 氮杂脱氧胞苷(5-Aza-dC)处理拟南芥叶片重新 喂食福州品系3龄幼虫,观测其至结蛹期间的生物参数。小菜蛾不同发育阶段样本存在低水 平的全基因 DNA 甲基化, 其 5-mC 含量在卵期和雌性成中期相对较高: 寄主转移实验表明 Gck 与 G1 世代幼虫 DNA 甲基化模式相近, 而 G2 和 G3 各自具有新的模式: 5-Aza-dC 处理 后的拟南芥叶片喂食能够显著降低幼虫 5-mC 含量,但对其体重增长、存活率和蛹重在 48 小时内无显著影响。 寄主环境的改变会影响小菜蛾固有的甲基化模式, 且新的稳定模式在两 代后仍未建立:通过 5-Aza-dC 降低小菜蛾 3 龄幼虫甲基化水平对其短期内适应新寄主并无 显著影响,需要对后代进行长期的观测,这些将为进一步研究 DNA 甲基化参与昆虫适应外 界环境变化的功能研究奠定基础。

关键词 小菜蛾, DNA 甲基化, DNA 甲基化转移酶, 转寄主, F-MSAP

*资助项目: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

PPL2ab 多巴胺神经元参与调节雄性果蝇的求偶行为

傅在峰* 陈秀玲 陈昱晖

(台湾暨南大学应用化学系)

多巴胺(Dopamine; DA)影响许多重要的生理与行为反应,对调控性欲(sexuality)的相关研究报导也相当的多。在我们过去的研究中发现,在果蝇大脑中的 PPL2ab 多巴胺神经元参与调节雄性果蝇的求偶强度(courtship strength);同时,也证实当 PPL2ab 神经元的多巴胺量增加后也可诱发雄果蝇产生视觉讯号依赖(visual cue dependent)的同性间求偶行为,但仍不影响对雌性的性别选择偏好(sexual preference);有趣的是,如果目标雄蝇(target male)的 PPL2ab 神经元多巴胺量下降时,可能导致该雄蝇体表碳氢化合物(cuticular hydrocarbons; CHs)组成的变化,进而在剥夺视觉讯息(block visual input)的黑暗环境中,仍能观察到求偶强度增强的雄蝇对其展开同性求偶行为。求偶行为是自然界中动物的一种本能,雄性透过求偶的行为达到交配、繁衍后代的目的,同性间求偶的行为并不常见,大脑中调控此行为的神经网络(neuronal circuit)目前仍未被清楚地厘清,我们预期这些成果将提供后续针对神经网络与性反应相关研究上一个有趣的研究方向。

关键词 果蝇,求偶行为,多巴胺

*通讯作者, E-mail: tffu@ncnu.edu.tw

dWAKE 透过调节胰岛素恒定抑制雄果蝇 同性间求偶行为的发生

傅在峰^{*} 陈秀玲 邓耀邦 何淑敏 刘柏廷 (台湾暨南大学应用化学系)

性活动与生活质量息息相关,我们长期关注调节动物"性反应"的分子机制,此论文研究使用果蝇为模式动物,首次清楚理解一个新的蛋白质分子 dWAKE 参与调控雄性果蝇的同性间求偶行为,证据显示 dWAKE 在胰岛素生合成细胞(insulin producing cells; IPCs)透过调节 GABA_A receptor Resistant to Dieldrin (Rdl)的表现量来维持胰岛素的恒定,藉以达到抑制雄性果蝇的同性间求偶行为,有趣的是,我们预期因为 dWAKE 在 IPCs 的功能低下导致紊乱的胰岛素讯息可能影响雄性昆虫性费洛蒙组成。预期这些结果将提供新的性费洛蒙调节方式藉以供做植病昆虫防治的新方向,这可能是一个新的同性间求偶行为的反应机转,未来进一步了解 dWAKE 在脊椎动物中是否也参与调节胰岛素的恒定或许是另一个有趣的研究方向。

关键词 果蝇,雄性间求偶行为,dWAKE,GABA接受器

*通讯作者, E-mail: tffu@ncnu.edu.tw

基于转录组的茶小绿叶蝉抗逆基因鉴定*

陈世春 王晓庆** 江宏燕 彭 萍 (重庆市农业科学院茶叶研究所, 重庆 402160)

茶小绿叶蝉 Empoasca onukii (Matsuda),又名茶浮尘子、小绿浮沉子,隶属于半翅 目 Hemiptera 叶蝉科 Cicadellidae。该昆虫常年发生于我国各大茶区,是国内目前在茶树种植 和茶叶生产上造成损失最为严重的害虫。茶小绿叶蝉繁殖速度快,世代周期短,世代重叠, 且雌成虫将卵产于茶树嫩梢内,为其防治工作带来极大的困难。目前国内外对茶小绿叶蝉的 研究主要集中于其行为学、发生规律和防治策略等方面,分子生物学信息的缺失成为阻碍研 究深入的一大问题。高通量测序技术的广泛应用为茶小绿叶蝉分子生物学信息的研究提供了 便利,本研究通过高通量测序技术在转录组水平上对茶小绿叶蝉的分子生物学信息进行解析, 获得其与抗逆相关基因信息,为后续研究工作的开展奠定基础。本研究使用 Illumina Hiseq 平台一共测得 6.69 Gb 数据,总 GC 含量为 40.07 %。通过对测序结果的组装、拼接及分析, 获得了 127 647 条 Contig 和 46 148 个 Unigene。将本研究组装获得 Unigene 提交 NCBI 数据 库进行比对, 共有 27 261 个得到成功注释。根据 Clusters of Orthologous (COG)、Gene Orthology (GO) 和 Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) 注释, 对 Unigene 的功能分类和代谢通路进行了预测分析。从茶小绿叶蝉转录组中共鉴定出 185 个与解毒代谢 相关的 Unigene,它们主要编码谷胱甘肽 S-转移酶(Glutathione S-transferases, GSTs)(30 个)、羧酸酯酶 (Carboxylesterases, CarEs) (37 个)、细胞色素 P450 (Cytochrome P450s) (118 个)。同时鉴定出 80 个编码热激蛋白的 Unigene, 它们主要编码 sHsps、Hsp60、Hsp70、 Hsp70 和 Hsp90, 分别有 sHsps 基因 12 个、Hsp60 基因 2 个、Hsp70 基因 51 个、Hsp75 基 因 4 个和 Hsp90 基因 11 个。所鉴定出的基因大部分具有完整的开放阅读框。本研究提供了 茶小绿叶蝉大量的基因信息,为从分子生物学角度研究茶小绿叶蝉抗逆基因功能和后续通过 RNAi技术研究其抗药性奠定坚实的基础。

关键词 茶小绿叶蝉,转录组,Illumina,抗逆基因

*资助项目: 国家茶叶产业技术体系刺吸式害虫防控岗位专家基金(CARS-19); 重庆市基础与前沿研究计划一般项目(cstc2015jcyjA80038)

**通讯作者, E-mail: wangxiaoqing2891@126.com

入侵害虫水椰八角铁甲两种 C 型凝集素(C-type lectin)的 免疫学功能分析*

张华剑 林亚平 刘 敏 汤宝珍 侯有明**

(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,福建省生态重点实验室,福州 350002)

本研究以水椰八角铁甲 Octodonta nipae Maulik (鞘翅目: 叶甲科) 中发现的两种 C型 凝集素(OnCTL1, OnCTL2)为切入点研究水椰八角铁甲的免疫反应,进而探究该入侵害 虫在新入侵地的适应性机理,为水椰八角铁甲的生物防治提供新的思路和新的靶标。根据水 椰八角铁甲的转录组信息,通过 RACE PCR 技术克降获得 OnCTLs 的基因全长,利用生物 信息软件进行同源比对分析和结构功能分析:通过 qPCR 技术定量 OnCTLs 在不同组织的表 达情况以及经大肠杆菌 Escherichia coli 和金黄色葡萄球菌 Staphylococcus aureus 分别诱导后 的差异表达情况: 通过 RNAi 验证干扰 OnCTLs 后酚氧化酶激活相关基因以及抗菌肽的表达 谱变化情况,同时也检测干扰 OnCTLs 对水椰八角铁甲蛹的包囊能力的影响等。蛋白结构分 析表明两种C型凝集素都是典型的凝集素家族成员,具有一个典型的糖蛋白结合区域(CRD) 以及保守的半胱氨酸位点。定量分析结果表明 OnCTLs 在血淋巴、脂肪体、肠道都有较高的 表达丰度,且在血淋巴中的表达量最高,在大肠杆菌、金黄色葡萄球菌诱导后 OnCTLs 在 6、 12 h 都显著上调, 表明 OnCTLs 在病原菌识别过程中具有重要作用: 酚氧化酶活性检测结果 表明干扰 OnCTL1 后酚氧化酶活性受到显著抑制, 而干扰 OnCTL2 并无明显影响: 包囊实验 结果表明干扰 OnCTL2 血细胞的包囊能力受到显著抑制, 而干扰 OnCTL1 并无明显影响, 表 明 OnCTL1、OnCTL2 在免疫过程中的作用存在差异,分别在酚氧化酶活性、血细胞包囊过 程中发挥作用。OnCTLs 作为重要的免疫识别受体介导水椰八角铁甲的酚氧化酶激活反应以 及血细胞的包囊反应,在水椰八角铁甲免疫反应中具有重要作用,对水椰八角铁甲的 C 型 凝集素的深入研究将有助于深入了解其免疫系统,也将有助于生物防治新思路、新靶标的开 发。

关键词 水椰八角铁甲, 免疫反应, 包囊反应, C型凝集素, 酚氧化酶级联反应

^{*}资助项目: 国家自然科学基金项目(U1705232; 31471829); 国家重点研发计划课题(2017YFC1200605); 福建省科技重大专项(2017NZ0003-1-6)

^{**}通讯作者, E-mail: ymhou@fafu.edu.cn

基于代谢组学技术的红棕象甲体外免疫分泌物 化学成分的鉴定和分析*

蒲宇辰 向海军 梁馨予 侯有明**

(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,福建省昆虫生态重点实验室,福州 350002)

为明确红棕象甲 Rhynchophorus ferrugineus (Olivier) 体外分泌物的组成成分,揭示其 发挥体外免疫抑制效能的主要因子,本研究在前期验证分泌物的体外抑菌活性及其差异的基 础上,开展了对红棕象甲分泌物的代谢组分析。采用 Bradford 蛋白定量法测定分泌物的蛋 白质浓度:通过基于气相色谱-质谱联用(GC-MS)技术的非靶向代谢组测序,分别定性和 定量鉴定与分析红棕象甲幼虫口腔分泌物、幼虫腹部分泌物和成虫腹部分泌物液相和固相的 化学成分。幼虫口腔分泌物的蛋白质含量显著高于成虫腹部分泌物和幼虫腹部分泌物,它们 的平均蛋白质浓度分别为 1689.72、164.17 和 40.00 ug/mL。这些分泌物共含有醌、酚、醛、 酸、醇、酮、酯、糖、盐、尿素和杂环类等 200-300 种化学成分,其中苯醌和酪氨酸占主导 地位,同时在固相中这两种物质的含量皆高于液相。幼虫口腔分泌物、幼虫腹部分泌物和成 虫腹部分泌物的液相中含量最高的成分分别是β-甘露糖基甘油酸酯(32.01%)、乳酸(22.09%) 和尿素 (28.04%), 然而固相中含量最高的成分分别是酪氨酸 (15.73%)、β-甘露糖基甘油酸 酯(18.35%)和尿酸(13.88%)。筛选出来的64种差异代谢物聚为两个分支,富集到32条 代谢通路中, 其中显著富集的通路有 5 条, 分别是精氨酸和脯氨酸代谢, 氨基酰-tRNA 生物 合成,谷胱甘肽代谢,苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成,缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸生 物合成等。此外,与液相相比,固相中含有5种共有的差异代谢物,分别是羟脯氨酸、苯醌、 缬氨酸、N-乙酰基-N-甲酰基-5-甲氧基犬尿氨酸和羟胺,其中只有苯醌的含量皆显著上调。 (1) 红棕象甲分泌物中含有一定量的蛋白质,推测其可能含有抗菌肽:(2)分泌物含有多 种化学成分,它并不是依靠单一的组分来发挥体外免疫作用的,而是多种成分之间共同协同 或拮抗;(3)苯醌是发挥体外免疫功能的主要物质。

关键词 红棕象甲,体外分泌物,体外免疫防御,代谢组,气相色谱-质谱联用

*资助项目:国家自然科学基金促进海峡两岸科技合作联合基金重点项目(U1705232);国家重点研发计划课题(2017YFC1200605);福建省科技重大专项(2017NZ0003-1-6);福建农林大学优秀博士学位论文资助基金项目(324-1122yb038)

**通讯作者, E-mail: ymhou@fafu.edu.cn

核转录因子 RfRelish 在入侵害虫红棕象甲肠道菌群稳态 调控中的功能解析*

肖 蓉 ^{1,2} 王兴红 ^{1,2} 纪田亮 ^{1,2} 侯有明 ^{1,2} 石章红 ^{1,2**}

(1. 省部共建闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室,福州 350002; 2. 福建省昆虫生态学重点实验室,福建农林大学植物保护学院,福州 350002)

红棕象甲 Rhynchophorus ferrugineus Olivier 肠道内栖居着丰富的肠道菌群,而且对其营 养代谢具有重要影响。然而,当前对于昆虫如何耐受和维持肠道菌群稳态的机理知之甚少。 本研究系统分析了核转录因子 RfRelish 介导的免疫信号通路在该害虫肠道菌群稳态调控中 的作用机理。采用 RACE 技术克隆获得了 RfRelish 的全长序列并检测其在不同组织中以及感 染细菌后的表达量变化: 利用 RNAi 技术和 16s rDNA 高通量测序技术解析 RfRelish 在调控 肠道菌群稳态中的作用。克隆获得 RfRelish 基因的全长序列为 2 707 bp,编码 714 个氨基酸, 具有 NF-κB 家族蛋白所具有的典型保守结构域和核转位定位信号。荧光定量分析发现,该 基因在免疫相关组织脂肪体、血淋巴、嗉囊和中肠中的表达量显著高于非免疫相关组织。注 射感染细菌后,脂肪体中 RfRelish 基因的表达量显著提高,而在肠道中仅在 6 h 时升高:喂 食细菌后,肠道中 RfRelish 基因的表达量仅在 6 h 时显著高于对照组,在脂肪体中表达量无 变化。注射 dsRelish 48 h 后,其肠道中的细菌数显著高于对照组,而且肠道中抗菌肽 Cecropin 的表达量显著降低。此外,RfRelish 被沉默后,经注射和喂食感染的含 eGFP 标记 E.coli 在 血淋巴和肠道中的数目均显著高于对照组。RfRelish 被干扰后,红棕象甲的肠道菌群结构发 生了变化。例如,与对照组相比,实验组试虫肠道中的 Acetobacteraceae 和 Moraxellaceae 分别降低了 18.69%、2.09%,而 Lactobacillaceae 和 Vibrionaceae 分别增加了 10.63%、35.8%。 红棕象甲 RfRelish 基因编码的蛋白质是一类具有重要功能的转录因子,参与介导调控该害虫 体内相应抗菌肽基因的表达,进而在红棕象甲肠道菌群稳态的调控中扮演着关键角色。

关键词 红棕象甲,核转录因子,昆虫免疫,肠道菌群,生物入侵

^{*}资助项目: 国家自然科学基金(31470656); 国家重点研发计划(2017YFC1200605)

^{**}通讯作者, E-mail: shizh@fafu.edu.cn

生物防治

丽蝇蛹集金小蜂滞育的研究进展*

高 飞^{1,2} 李玉艳¹ 王曼姿¹ 张礼生^{1**} 艾洪木^{2**}

(1.中国农业科学院植物保护研究所,农业部作物有害生物综合治理重点实验室,中美合作生物防治实验室,北京 100193; 2.福建农林大学植物保护学院,闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室,福州 350002)

丽蝇蛹集金小蜂*Nasonia vitripennis*属于膜翅目(Hymenoptera)金小蜂科(Pteromalidae), 可以蛹外寄生多种双翅目蝇科害虫,在防治卫生害虫及牲畜害虫方面效果显著。该蜂是实验 室内研究寄生蜂的理想模式昆虫,其遗传学、生态学、发育学以及行为学的研究已有70多年 的历史, 近年来, 随着金小蜂基因组测序的完成, 系统的RNAi方法和CRISPR-Cas9技术在 丽蝇蛹集金小蜂中的成功应用,该蜂现已成为优良的新型遗传学研究模式昆虫。丽蝇蛹集金 小蜂以末龄幼虫进行滞育, 其滞育受母代经历的短光照和低温影响, 深入开展该蜂的滞育研 究, 不仅有助于揭示昆虫滞育的分子机制, 也可解决有益昆虫实际应用中的贮存、运输和适 时防治等问题,为提高天敌昆虫的应用潜能提供技术支持。滞育是昆虫应对不利环境时生长 发育停滞的一种生理状态,由内在调控并受环境条件影响。滞育昆虫通常大量积累糖类、醇 类、氨基酸、脂肪等低温保护物质和能量物质,并伴随着代谢抑制、抗逆性提高、特定基因 及蛋白表达等。已有研究表明滞育可显著提高金小蜂的耐寒性,利用代谢组学研究发现滞育 金小蜂氨基酸和碳水化合物代谢途径富集显著,尤其是哌啶酸、脯氨酸和海藻糖高度积累, 诠释了滞育提高耐寒性的生理机制。通过QTL分析,证实光周期在金小蜂的滞育调控中具有 重要作用,干扰其生物钟基因(per)会影响金小蜂对光周期的感应,阻断DNA甲基化使雌 蜂在长光照下产下滞育后代。利用蛋白质组学研究发现该蜂的滞育除了受蛋白质合成和降解 的影响,也依赖于其他生理生化途径。在细胞水平上,研究发现金小蜂滞育和非滞育幼虫的 细胞分裂周期的GO/G1期、S期和G2/M期的细胞比例显著不同,调控滞育的中枢神经系统细 胞在滞育幼虫体内其周期的S部分消失,大约80%和20%的细胞分别停滞在细胞周期的G0/G1 期和G2期。进一步研究发现,滞育幼虫细胞周期调节基因和管家基因相对于正常幼虫均下 调,从而解释了滞育金小蜂细胞周期停滞的分子机制。丽蝇蛹集金小蜂作为模式昆虫,其滞 育研究为寄生蜂的滞育和生防潜能提供了理论依据和技术指导。

关键词 丽蝇蛹集金小蜂,滞育,分子机制,生物防治

^{*}资助项目: 国家重点研发计划项目(2017YFD0201000); 国家自然科学基金青年基金(31601689); 中国博士后科学基金项目(2016M590162); 948项目(2016-X48)

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

实验室条件下益蝽 Picromerus lewisi Scott 的生命表记录*

唐艺婷 何国玮 刘晨曦 毛建军 陈红印 张礼生 王孟卿** (中国农业科学院植物保护研究所/中美合作生物防治实验室,北京 100193)

益蝽 Picromerus lewisi Scott 属于半翅目 Hemiptera, 蝽科 Pentatomidae, 益蝽亚科 Asopinae 的一种捕食性昆虫,主要分布于我国各省市以及日本,朝鲜,俄罗斯等区域。益蝽 喜食鳞翅目和部分鞘翅目的幼虫和成虫,可应用于生物防治中,笔者也多次在田间观察到其 取食高龄斜纹夜蛾幼虫、粘虫、叶甲成虫等害虫。然目前关于益蝽的研究仍停留在分类学,以及少许生物学特性,其具有刺吸式口器,体色为暗黄褐色,据记载益蝽在我国东北地区每年完成 2 代,以卵越冬。但是迄今仍未见成功饲养益蝽的报道。

本试验为了探究室内饲养条件下益蝽的生长发育和繁殖情况,在实验室条件下(T: 24 ± 1° C,P: 16L:8 D,RH: 70% ±5%),通过使用容量为 300 mL 的航空杯,覆以纱网,单头饲养,共 100 个重复,以粘虫 *Mythimna separata* (Walker)为猎物,供其取食,每隔 24 h 记录益蝽发育状态,死亡情况,以及每次蜕皮后的体重,待成虫后将其配对记录雌虫的产卵前期,产卵期和产卵量。试验结果:益蝽 1~5 龄的龄期和雌雄成虫的寿命分别为: 4~6 d,5~7 d,5~7 d,5~7 d,7~9 d,35~83 d,30~72 d;雌益蝽产卵前期: 12~23 d,产卵期: 19~32 d,平均产卵量: 115~218 粒;益蝽 2~5 龄以及雌雄成虫的体重分别是 0.67~2.12 mg, 3.81~5.18 mg, 10.29~17.84 mg, 29.35~52.01 mg, 91.98~120.44 mg, 67.94~97.37 mg;若虫存活率为 78%;雌雄性比为 0.66:1;其种群动态参数净增殖率 $R_0=86.42$ 头,平均世代周期 T=52.01 d,内禀增长率 $r_m=0.086$,周限增长率 $\lambda=1.09$ 和种群加倍时间 t=8.16。本试验结果可以为后期益蝽的研究提供一定的基础数据。

关键词 益蝽,生命表,生物防治,粘虫

*资助项目: 重点研发计划(2017YFD0201000)(2017YFE0104900); 国家自然科学基金(31672326); 948 重点项目(2016-X48)

**通讯作者, E-mail: mengqingsw@163.com

加州新小绥螨在不同温度条件下对3种橡胶害螨的捕食效能*

陈俊谕1 贾静静2 张方平1 牛黎明1 符悦冠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.海南大学热带农林学院,儋州 571737)

六点始叶螨、东方真叶螨和比哈小爪螨是橡胶树的主要害螨,可导致橡胶叶片枯黄、落 叶,影响植株生长和产胶量。加州新小绥螨是叶螨的重要捕食性天敌,明确其对这3种害螨 的控害能力,可为利用该天敌进行害螨生物防治提供参考依据。在21、24、27、30、33℃5 个温度条件下,观察加州新小绥螨对六点始叶螨、东方真叶螨和比哈小爪螨各螨态的捕食作 用,并明确不同猎物条件下其自身密度干扰作用,采用 Holling-II 型功能反应模型和 Hassell-Verley 模型分别拟合加州新小绥螨对 3 种叶螨的捕食效能和自身密度干扰效应。不 同温度条件下加州新小绥螨对六点始叶螨、东方真叶螨和比哈小爪螨各螨态的功能反应均能 很好地拟合 Holling-II 型方程,但其捕食效能存在差异。当 3 种叶螨不同虫态同时存在时, 加州新小绥螨对幼螨的选择性最高,其中较嗜食六点始叶螨的幼螨。在 21~33℃,加州新小 绥螨对六点始叶螨成螨、若螨和幼螨的捕食效能(a/Th)在30℃时最强,分别为19.91、44.91 和 192.10 头/d, 对卵的捕食效能在不同温度间无显著差异。在相同温度下捕食螨对六点始叶 螨各螨态的捕食量大小依次为: 幼螨>若螨>成螨>卵。加州新小绥螨对东方真叶螨成螨和 卵的捕食效能(a/Th)在33℃时最强,分别为5.65和84.93粒/d,而对若螨和幼螨的捕食效 能(a/Th)则在 30℃最强,分别为 49.58、126.60 头/d。在 21~30℃,加州新小绥螨对比哈 小爪螨各螨态的瞬间攻击系数(a)和捕食效能(a/Th)均随温度的升高而增大,对猎物的 处理时间(Th)缩短, 当温度高于 30℃时, 捕食效能(a/Th)降低, 处置时间(Th)有所 延长。在同一温度下捕食螨对比哈小爪螨各螨态的捕食量大小依次为: 幼螨>若螨>卵>成 螨。在相同的猎物密度条件下,加州新小绥螨的捕食量随其自身密度的增加而逐渐降低,说 明加州新小绥螨存在种内竞争和自我干扰作用,分别以六点始叶螨、东方真叶螨和比哈小爪 螨为猎物时,其自身干扰系数分别为 0.349、0.395 和 0.286。在不同温度条件下,加州新小 绥螨对3种橡胶重要害螨均具有较好的控害潜能,可考虑作为优势天敌进行橡胶树害螨的生 物防治。

关键词 加州新小绥螨,橡胶,六点始叶螨,东方真叶螨,比哈小爪螨,捕食效能

*资助项目:天然橡胶产业技术体系(CARS-33-BC2);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(1630042017009)

^{**}通讯作者,E-mail: fygcatas@163.com

蝇蛹金小蜂对不同处理寄主的选择趋性研究

赵海燕 林珠凤 吉训聪 秦 双 潘 飞

(海南省农业科学院植物保护研究所,农业农村部海口作物有害生物科学观测实验站,海南省植物病虫害防控重点实验室,海口 571100)

蝇蛹金小蜂是实蝇类害虫蛹期的主要天敌之一,该蜂对桔小实蝇蛹有较好的控害潜能,研究蝇蛹金小蜂对不同处理寄主的选择趋性,可为蝇蛹金小蜂的繁殖与利用提供科学依据。实验室条件下(27±1°C),用饲料、香蕉、芒果和杨桃连续饲养桔小实蝇,五代后用于试验,通过非选择性和选择性试验,明确蝇蛹金小蜂对四种处理寄主的选择趋性。4种处理同时存在时,该蜂明显选择饲料饲养的桔小实蝇蛹,其次是香蕉和芒果饲养的桔小实蝇蛹。香蕉、芒果和杨桃分别与饲料饲养桔小实蝇蛹同时存在时,该蜂明显选择饲料饲养的桔小实蝇蛹。芒果与香蕉饲养的桔小实蝇蛹同时存在时,该蜂对两种实蝇蛹没有明显的选择趋向性。芒果与杨桃饲养的桔小实蝇蛹同时存在时,该蜂对芒果饲养的桔小实蝇蛹有明显的选择趋向性。香蕉与杨桃饲养的桔小实蝇蛹同时存在时,该蜂对香蕉饲养的桔小实蝇蛹有明显的选择趋向性。

关键词 蝇蛹金小蜂, 桔小实蝇, 选择趋性

斑翅果蝇诱捕器配方与装置的研究

刘佩旋^{1,2} 刘广纯³ 时 勇¹ 范立淳¹ 郑雅楠^{1*}
(2. 沈阳农业大学林学院, 沈阳 110866; 2.沈阳农业大学植物保护学院, 沈阳 110866; 3.沈阳大学生命科学与工程学院, 沈阳 110044)

斑翅果蝇 Drosophila suzukii 是一种危害软皮水果的全球性害虫,近年来对我国的蓝莓、树莓和樱桃等水果造成了严重的危害。为了有效地控制斑翅果蝇的危害,保障水果的产量和品质,本研究于 2017 年 8 月,在辽宁省法库县的马鞍山树莓园内通过悬挂诱捕器并统计斑翅果蝇的诱捕数量,测定了 5 种配方和 2 种结构的诱捕器在田间对斑翅果蝇的的引诱效果,进而筛选出了一种防治效果最佳的诱捕器。研究结果表明,不同配方的诱捕器诱到斑翅果蝇的数量从高到低依次是 2 号>4 号>1 号>3 号>5 号,其中 2 号配方诱捕器诱到斑翅果蝇的数量(雌成虫:79.50 头/诱捕器,雄成虫:67.00 头/诱捕器)明显多于其他配方的诱捕器,5号配方诱捕器诱到斑翅果蝇数量(雌成虫:13.17 头/诱捕器,雄成虫:8.50 头/诱捕器)明显少于其他配方的诱捕器。在诱捕配方相同的条件下,A 结构诱捕器诱到斑翅果蝇的数量均多于 B 结构诱捕器,其中除装有 2 号配方以外,装有其他配方的两种结构诱捕器诱到斑翅果蝇的数量均多 是 8 结构诱捕器,其中除装有 2 号配方以外,装有其他配方的两种结构诱捕器诱到斑翅果蝇的划透效果最的数量均差异显著。研究结果表明采用 2 号配方和 A 结构的诱捕器对斑翅果蝇的引诱效果最好,因此建议将 2 号配方和 A 结构诱捕器相结合在防治斑翅果蝇的过程中进行推广使用。

关键词 斑翅果蝇,防治效果,诱捕器配方,诱捕器装置

*通讯作者

七星瓢虫捕食柑橘木虱行为研究*

何国玮 唐艺婷 刘晨曦 毛建军 陈红印 张礼生 王孟卿** (中国农业科学院植物保护研究所生物防治研究室/中美合作生物防治实验室,北京 100193)

柑橘木虱 Diaphorina citri Kuwayama 是柑橘黄龙病的主要传播媒介,在柑橘抽新梢期为害严重,成虫若虫均具有传毒性。七星瓢虫 Coccinella septempunctata L.是重要的捕食性天敌昆虫,成虫可捕食多种蚜虫蚜、介壳虫等小型害虫,被人们称为"活农药",在我国各地广泛分布。但是目前还未见到七星瓢虫取食柑橘木虱的报道。

笔者结合田间观察和室内饲养观察了七星瓢虫成虫对柑橘木虱的取食行为。结果如下: 1.七星瓢虫对柑橘木虱若虫取食较常见,在有柑橘木虱若虫的情况下七星瓢虫对柑橘木虱的 卵通常"视而不见",并且由于柑橘木虱成虫的快速爬行和弹跳力,而其对柑橘木虱成虫通常 "可望而不可及",相对偏爱取食柑橘木虱若虫。2.七星瓢虫对柑橘木虱的搜索行为通常从叶 片边缘开始向叶片中心一点一点推进,期间也会爬到树叶面搜索,有些七星瓢虫会在搜索的 过程中停歇 10~30 s 后继续搜索。3.搜寻时,七星瓢虫触角、下颚须以及下唇须不停地摆动 或碰触叶片,头部的两触角呈平行向前伸展状态,偶尔做些清理动作,主要是清理触角、下 颚须以及下唇须上的附着物。4.单头七星瓢虫单日可以取食多头柑橘木虱,并且取食前几个 猎物通常是连续完成、没有间歇,以取食柑橘木虱5龄若虫为例:最开始通常连续取食猎物, 并完全吃掉猎物: 取食第6头猎物后,常常需休息2~5 min 后才捕食后续的猎物,在2~5 min 的休息期间,瓢虫对自身进行清洁;取食第6头猎物后,对木虱若虫选择性取食,通常对第 7只猎物只取食一半木虱生物体就开始搜索下一个目标猎物了。5.七星瓢虫捕食 5 龄若虫, 从5龄若虫侧缘开始咬食,部分瓢虫一边将若虫旋转一边吃,取食过程中需要前足帮助,据 观察,七星瓢虫可从腹部、胸部、头部、尾部等多个不同部位咬食柑橘木虱若虫,以咬食腹 部最为常见,对第7只猎物开始就只取食了其腹部。6.取食木虱最快时间为1分06秒,最 慢为 3 分 24 秒,以取食柑橘木虱 5 龄若虫为例:取食第 6 头猎物后处理猎物的时间明显延 长,取食第9头后行动更慢,当吃到第11头猎物时,瓢虫用口器咬住1分钟左右后才取食 木虱,期间木虱挣扎但通常并不能挣脱。7.七星瓢虫搜索同是柑橘木虱五龄若虫的过程中触 角及下颚须会触碰一些木虱但并没有取食而是在寻找其他个体。8. 七星瓢虫停止取食后, 通 常静止在叶片上3对胸足折叠于身体的腹面,原地不动,静息时触角呈倒八字型,偶有鞘翅 展开上举,后翅向外伸展,呈飞翔状;或鞘翅微张,后翅从腹背面展出,然后收回、折叠。 关键词 七星瓢虫,捕食行为,柑橘木虱

^{*}资助项目:天敌昆虫防控技术及产品研发(2017YFD0201000);国家自然科学基金(31672326);948重点项目(2016-X48)

^{**}通讯作者, E-mail: mengqingsw@163.com

土壤捕食螨——剑毛帕厉螨对韭菜迟眼蕈蚊 捕食功能反应的研究*

周春迎1,2** 张 倩1** 张 娜1 王 烁1 闫 毅1*** 谢丽霞1***

- (1. 山东农业大学植物保护学院,山东省蔬菜病虫生物学重点实验室,泰安 271018;
 - 2. 南京农业大学植保学院,昆虫分子生态与进化实验室,南京 210095)

韭菜是广受人们喜爱的蔬菜,韭菜迟眼蕈蚊 Bradysia odoriphaga Yang & Zhang 是近年来危害韭菜的重要根部害虫,长期过量施用剧毒化学农药已严重影响了人们的健康和造成环境的污染,挖掘和筛选有效防控韭蛆的天敌迫在眉睫。剑毛帕厉螨 Stratiolaelaps scimitus 是一种栖息于土壤环境中的捕食性螨类,是韭菜迟眼蕈蚊等双翅目害虫的天敌。目前尚无关于剑毛帕厉螨对韭蛆的捕食功能反应的研究。测定了剑毛帕厉螨对 1 龄韭蛆的捕食作用和种内干扰对其捕食能力的影响。剑毛帕厉螨对 1 龄韭蛆的捕食功能反应符合 Holling II 型;随着捕食螨密度的增加,该螨成虫间存在相互干扰作用;其搜寻效应随猎物密度的增加而下降,表明猎物对捕食作用的干扰较明显。剑毛帕厉螨具有防治韭蛆的潜力,有较好的应用前景。 **关键词** 剑毛帕厉螨,韭菜迟眼蕈蚊,生物防治,捕食功能反应,搜寻效应,干扰作用

*资助项目: 国家自然科学基金(31501847); 山东省重点研发计划项目(2016GNC110012; 2017CXGC0207); 山东省"双一流"奖补资金资助(SYL2017XTTD06); 国家重点研发计划子课题(2017YFD0200607)

**共同第一作者

***共同通讯作者, E-mail: miteyy@163.com; xielixia2006@163.com

辽宁地区蓝莓的主要害虫及防治策略

时 勇1 刘佩旋1,2 范立淳1 郑雅楠1*

(1.沈阳农业大学林学院, 沈阳 110866: 2.沈阳农业大学植物保护学院, 沈阳 110866)

辽宁省作为我国蓝莓的主要种植地区之一,近年来随着蓝莓种植面积的快速增加,蓝莓虫害问题凸显,直接影响果实的产量和质量,制约了辽宁省蓝莓种植业的发展。因此,明确我国蓝莓害虫的种类、发生规律以及综合防治方法对维护蓝莓产业可持续发展具有重要的意义。

据调查,蓝莓害虫种类很多,有地下害虫、食叶害虫、刺吸害虫和果实害虫。其中,在生产上造成严重危害的主要有以下3种:1)斑翅果蝇,为果实害虫,不同于其他果蝇,斑翅果蝇雌成虫的产卵器可刺破亚成熟和成熟的果实,未采收前幼虫在果实内取食危害,导致蓝莓果实品质变劣,甚至腐烂。我们采用多种防治方法相结合来控制斑翅果蝇的危害,早期,通过悬挂诱捕器对害虫进行监测,发现成虫后,可以采用药剂防治,结合诱捕器诱杀成虫,以降低坐果前的虫口密度;同时,在果实成熟期,注意及时采收,并清理落果和过熟果实,保持果园的卫生。2)金龟子类害虫,其幼虫蛴螬为主要的地下害虫,通过啃食根系使植株的生长受阻,甚至死亡;成虫通过取食叶片、花蕾和果实进行危害。通过深翻土壤,使用腐熟粪肥,并使用药剂对土壤进行处理,可以较好地控制蛴螬的危害;采用黑光灯和诱捕器等物理方法来诱杀成虫,能有效控制下一代害虫的发生数量。3)红蜘蛛,为保护地蓝莓的主要害虫,该害虫通过刺吸植株的叶片造成危害。由于红蜘蛛体型微小,繁殖速度快,极易暴发成灾,严重影响温室蓝莓的产量和品质,频繁使用杀虫剂易产生抗药性,目前在省内推广通过释放捕食螨来预防和控制保护地红蜘蛛的危害。

关键词 蓝莓,害虫,斑翅果蝇,金龟子,红蜘蛛,防治方法

*通讯作者

农业景观组成对瓜蚜的初寄生一重寄生食物网结构的影响*

董兆克 张志勇**

(农业应用新技术北京市重点实验室,植物生产国家级实验教学示范中心,北京农学院,北京 102206)

农业景观组成影响物种相互作用关系,进而影响食物网的结构。农业景观随着城市化的 进程发生变化:城市周边大田作物面积较少,温室大棚面积增加。瓜蚜 Aphis gossypii Glover 是在温室中瓜类作物上重要的害虫,寄生蜂种类多。它的寄生蜂食物网结构如何响应周围农 业景观还未知。我们提出假说认为,农业景观组成某些成分会影响初寄生-重寄生食物网结 构,并且这种影响具有尺度效应。我们在北京市大兴和顺义两个区选取 11 个调查点进行连 续两年的取样,调查点之间相距2到80km左右,在每年5月至6月瓜蚜发生期进行取样。 每个取样点每次采集时间 1 h, 采集累计 5 个以上的西瓜大棚, 大棚内随机选取带有蚜虫和 僵蚜的叶片,带回室内笼罩饲养,定期收集羽化后的寄生蜂成虫,鉴定至种。瓜蚜的初寄生 -重寄生食物网结构采用的是量化食物网分析。计算常用的四个指标,即概括度、脆弱度、 连接密度和关系均匀度。提取取样点周围 0.5~3 km 的景观组成数据,用线性混合模型分析 景观因素(农田、林地、草地、果园、蔬菜大棚)与食物网指标的关系。结果显示,概括度 (相对于每种重寄生的初寄生蜂平均数量)与农田面积是明显正相关,而且在多个尺度上都 一致。脆弱度(相对于每种初寄生蜂的重寄生平均数量)与林地面积在 0.5 km 尺度是明显 负相关。连接密度和关系均匀度不受景观因素影响。另外,景观因素并不影响初寄生蜂物种 丰富度,概括度与农田的正相关关系是因为初寄生蜂的数量随着农田面积增加。林地面积在 0.5km 尺度降低了重寄生蜂物种丰富度。可以认为, 脆弱度受林地影响是因为重寄生蜂物种 丰富度降低。另外脆弱度与重寄生率有高度正相关,暗示了通过景观布局减少重寄生率的潜 在策略。结论认为,温室中瓜蚜的寄生蜂食物网受到周围农田生境的显著影响,在农业景观 布局中,应考虑农田对初寄生蜂的积极作用。

关键词 温室,蚜虫,寄生蜂,群落,景观尺度,生物防治

^{*}资助项目: 国家重点研发计划子课题(2017YFD020030703); 国家自然科学基金(31501646)

^{**}通讯作者, E-mail: zzy@bua.edu.cn

不同湿度条件下马六甲肉食螨的生长发育初探*

孙为伟 1,2 刘 1 曹 1 贺培欢 1 于 青 1 伍 1 **

马六甲肉食螨是一种捕食性的天敌,广泛存在我国粮库中,以储粮害虫害螨为食,能捕食常见储粮害虫的卵和低龄幼虫,是储粮虫螨的潜在天敌资源。本研究根据粮库中害虫发生的常规条件,研究马六甲肉食螨在 24℃、不同相对湿度(RH65±2%、75±2%、85±2%、95±2%)条件下的生长发育,为马六甲肉食螨在粮库应用和饲养扩繁提供基础资料。结果表明: 马六甲肉食螨的生长发育经历卵、幼螨、原若螨、后若螨、成螨 5个阶段,其中雄螨没有后若螨态。在 RH(85±2)%时马六甲肉食螨雌成螨由卵发育为成螨所需的时间最短,平均为 16.3 d,RH(65±2)%时所需发育时间最长,平均为 18.6 d;而雄螨在 RH(95±2)%时所需发育时间最短,平均为 12.6 d,RH(65±2)%时最长,平均为 14.7 d。在 RH(95±2)%时,发育总历期最长为 95.8 d,湿度对马六甲肉食螨雄螨的成螨期和发育总历期有显著影响。雌螨平均产卵总数、产卵天数和每日产卵量在 RH(85±2)%时最大,分别为 493.0 粒、46.2 d、10.3粒/d,本研究为马六甲肉食螨规模化人工饲养提供了生物学基础参数。

关键词 马六甲肉食螨,生长发育,生物防治

*资助项目: 国家重点研发计划(2016YFD0401004-2); 粮食公益性行业科研专项(201513002-5-5)

^{**}通讯作者, E-mail: wuyi@chinagrain.org

海南桑螟寄生性天敌昆虫的自然寄生率调查

王娜玉^{1,2} 卢芙萍¹ 武华周¹ 王树昌^{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.海南大学,海口 570228)

桑螟是海南桑树主要的害虫之一,由于其幼虫具有卷叶习性,利用农药很难达到理想的防治效果,因此有必要开展海南桑螟天敌自然寄生率的调查与研究,以期能为海南桑螟的生物防治提供理论依据。按照五点取样方法调查海南不同地区桑园的桑螟发生率,并采集桑螟幼虫,带回室内饲养,统计桑螟寄生性天敌的自然寄生率。桑螟发生率与桑螟寄生性天敌的田间自然寄生率存在显著正相关性,其中临高寄生率最高,达32.53%;其次是琼中,为13.76%;最后是昌江,仅8.7%。天敌的寄生率升高,桑螟的发生率降低。反之,桑螟的发生率升高。因此,桑螟寄生性天敌可作为有效的生物防治的资源开发。

关键词 桑螟,幼虫期,寄生性天敌,生物防治,自然寄生率

*通讯作者

南方小花蝽对普通大蓟马雌成虫的控害潜能研究

唐良德1 韩 云2 刘 奎1 吴建辉2

(1.中国热带农业科学院环境与植物保护研究所,海口 571101; 2.华南农业大学农学院,广州 510642)

小花蝽是多种农林害虫重要的天敌类群,尤其对蓟马有很好的控制作用。南方小花蝽是我国华南地区的优势种,评价南方小花蝽对普通大蓟马的控害潜能,可为该害虫的生物防治提供数据支持。室内条件下(27 ± 1 °C)采用捕食功能反应评估了南方小花蝽对普通大蓟马的控害潜能。南方小花蝽成虫及若虫对普通大蓟马的捕食量均随猎物密度的增加而增加,能够拟合 Holling II 功能反应模型。3 龄、4 龄、5 龄若虫及成虫对普通大蓟马的捕食功能反应方程分别为: Na=0.5197N/(1+0.0016N)、Na=0.87297N/(1+0.0092N)、Na=0.86527N/(1+0.0068N)和 Na=1.0362N/(1+0.0080N);瞬时攻击率(T_h)分别为 0.0116、0.0105、0.0079和 0.0078;日理论最大捕食量($1/T_h$)分别为 86.21、95.24、126.58 和 128.21 头。南方小花蝽若虫和成虫均能有效捕食普通大蓟马,对普通大蓟马具有较好的控害潜能。

关键词 南方小花蝽,普通大蓟马,功能反应

花绒寄甲幼虫龄期对其寄生能力及个体发育的影响*

石昊妮^{1,2} 周嘉颖^{1,2} 徐川峰^{1,2} 殷立新^{2,3} 刘兴平^{1,2**}

(1. 江西农业大学鄱阳湖流域森林生态系统保护与修复国家林业局重点实验室,南昌 330045; 2.江西农业大学林学院,南昌 330045; 3. 江西省南昌市湾里区林业局,南昌 330004)

花绒寄甲 *Dastarcus helophoroides* Fairmaire(鞘翅目:寄甲科)是天牛类和吉丁虫类等林木蛀干害虫的重要天敌昆虫,其以幼虫体外寄生于寄主的老熟幼虫和蛹,已成为当前林业蛀干害虫生物防治的重要天敌种类。如何扩大室内种群繁育,提高防效是当前生产上亟待解决的问题。

本文以刚羽化的大麦虫 Zophobas atratus Fab.虫蛹作为花绒寄甲幼虫的替代寄主,通过以益害比 4:1 的接虫试验,比较花绒寄甲幼虫龄期的差异对其自身寄主定位、寄主致死率、化蛹率以及寄生后的个体发育情况,以期获取花绒寄甲幼虫的最佳寄生时间。1. 花绒寄甲幼虫的寄主定位时间以 0 日龄最短(18.25 (4.24 min),随着幼虫日龄的增长而延长,以 4 日龄最长(47.90 (8.41 min),寄主定位时间与幼虫日龄呈显著正相关(y=7.44x+11.05, $R^2=0.94$)。2. 不同日龄的幼虫以益害比 4:1 接虫后,对寄主的致死率在 97.06%~100%之间且不同处理间无差异($x^2=0.20$,P=0.66),说明不同龄期的幼虫均具寄生能力。3. 花绒寄甲幼虫在 0 日龄时寄生,幼虫发育历期最短(10.98 (0.12d),随着寄生时的日龄增加幼虫发育历期显著延长且存在明显的线性相关(y=0.21x+10.69, $R^2=0.95$)。4. 化蛹率随着幼虫寄生日龄的增加从 0 日龄的 90.44%下降至 4 日龄的 57.35%,其趋势符合曲线方程: $y=-2.15x^2+5.35x+86.32$ ($R^2=0.95$)。以上结果表明,尽管不同龄期的幼虫对寄主的致死率无差异,但随着幼虫日龄的增加,其寄主定位能力减弱,发育历期延长,化蛹率明显下降。综合以上分析认为花绒寄甲幼虫的最佳寄生时间应为刚孵出的 0 日龄幼虫。

关键词 花绒寄甲,大麦虫,替代寄主,发育历期,化蛹率

*资助项目: 国家自然科学基金(NSFC 31760106, 31360092)

**通讯作者, E-mail: xpliu@jxau.edu.cn

不同蚜虫混合种群对食蚜瘿蚊终身产卵量的影响*

方美娟1 何晓庆1 刘 冬1 李鑫荣2 王玉波1***

(1. 河北省农林科学院旱作农业研究所,河北省农作物抗旱研究重点实验室,衡水 053000; 2.河北农业大学植物保护学院,保定 071000)

食蚜瘿蚊Aphidoletes aphidimyza (Rondani)属双翅目(Diptera)瘿蚊科(Cecidomyiidae), 是蚜虫的重要捕食性天敌。据报道食蚜瘿蚊可捕食60余种蚜虫,在防治果园苹果蚜、蔬菜甘 蓝蚜、温室桃蚜以及禾谷类作物蚜虫上获得了很好的控制效果。为探明不同蚜虫混合种群对 食蚜瘿蚊产卵量的影响。本文选用玉米蚜、禾谷缢管蚜和麦长管蚜为寄主昆虫,按单种、2 种混合和3种混合,分别设置4个密度梯度,单种种群(6、12、24和48头/株)、2种蚜虫混合 种群(3:3,6:6,12:12,24:24头/株),3种蚜虫混合种群(2:2:2,3:3:3,8:8:8,16:16:16头/ 株)研究了食蚜瘿蚊在不同密度单种蚜虫种群和混合种群下的终身产卵量。结果表明,在3 种蚜虫单种种群上,4个密度处理间食蚜瘿蚊终身产卵量差异极显著(P<0.01),并随着蚜虫 密度增加而增加,呈6头/株<12头/株<24头/株<48头/株规律,其中密度为6头/株上终身产卵 量最低(玉米蚜、禾谷缢管蚜、麦长管蚜依次为30.10、22.70、41.40粒),48头/株终身产卵 量最高(为70.20、57.65、83.45粒)。在两种蚜虫混合种群上食蚜瘿蚊终身产卵量随着蚜虫 总密度的增加而增加,呈3:3头/株<6:6头/株<12:12头/株<24:24头/株规律,在3种蚜虫混合种 群上食蚜瘿蚊终身产卵量呈2:2:2头/株<4:4头/株<8:8;8头/株<16:16:16头/株规律。蚜虫种类 对食蚜瘿蚊终身产卵量的影响:食蚜瘿蚊在蚜虫总密度为6头/株(F=27.33, P<0.01), 12头 /株 (F=27.33, P<0.01), 24头/株 (F=27.33, P<0.01), 48头/株 (F=27.33, P<0.01) 4个密 度条件下,3种蚜虫单种种群和混合种群间都表现为差异显著。食蚜瘿蚊在单种种群上的产 卵量高于混合种群,并且在4个密度下都表现为食蚜瘿蚊在麦长管蚜单种种群上的产卵量最 高,分别为 41.40、63.05、79.05、83.45粒,在玉米蚜和禾谷缢管蚜混合种群下产卵量最低, 分别为17.95、31.30、44.35、46.90粒。

关键词 食蚜瘿蚊,玉米蚜,禾谷缢管蚜,麦长管蚜,产卵

*资助项目: 国家重点研发计划项目(2017YFD0201000);河北省农林科学院创新团队项目(F18E10001)

^{**}通讯作者, E-mail: wybnky@126.com

Bt 与其 RNAi 工程菌混配对 小菜蛾生长发育和种群动态参数的影响*

陈金芝 1,2,3,4 蒋颖霞 1,2,3,4 李妙雯 1,2,3,4 于慧慧 1,2,3,4 杨 广 1,2,3,4**

(1.闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室,福建农林大学应用生态研究所,福州 350002; 2.教育部 害虫生态防控国际合作联合实验室,福建农林大学,福州 350002; 3.农业部闽台作物有害生物综合治理重点实验室,福建农林大学,福州 350002; 4.害虫绿色防控福建省高等学校重点实验室,福建农林大学,福州 350002)

RNAi 技术可以应用于害虫防控,是第四代杀虫剂,但目前有关 RNAi 对实验室昆虫种 群动态变化的影响报道较少。本研究将实验室已构建好的苏云金芽孢杆菌 RNAi 工程菌 8010AKi 和 BMB171AKi 分别与 Bt 8010 按 10:0、9:1、7:3、5:5、3:7、1:9 和 0:10 的比 例混合,用菌液混合物浸泡后的小菜蛾饲料饲养小菜蛾,按照年龄-龄期两性生命表理论的 统计方法记录原始数据,组建两性生命表,以水作为对照。利用 Twosex-MSChart-20180212-B 200000 软件对收集到的数据进行处理, 我们发现除 8010AKi 处理组(20.81 ± 1.54 d)外, 其余各组的寿命均显著低于水对照组(23.79 ± 1.43 d), 其中 BMB171AKi 处理组的寿命仅 为 12.57 ±1.28 d, 幼虫历期、蛹历期, 成虫历期、产卵前期, 产卵天数等多项指标均有差异, 但是工程菌无论以哪种比例混合 8010 均不会影响小菜蛾的生殖力和雄虫寿命; 比较各处理 的种群动态参数,我们发现 BMB171AKi、8010:8010AKi = 5:5, 8010:BMB171AKi = 3:7 和 8010: BMB171AKi = 7:3 四个处理组的内禀增长率、周限增长率和净增殖率均显著低于 对照组,8010:8010AKi=9:1 处理组的净增殖率也低于对照组,但除8010 处理组外其余各组 的平均世代周期均与对照组无显著差异:不同混配比例对小菜蛾的预期寿命、繁殖力和存活 率的影响不同,部分处理组对雌虫和雄虫的作用效果也不同,BMB171AKi处理组是唯一一 组对雌雄虫发育历期均产生作用的实验组。综合所有参数,我们发现,8010:BMB171AKi= 7:3 处理组对小菜蛾的作用效果最好,延缓小菜蛾幼虫发育,缩短雌虫成虫的寿命,从而影 响小菜蛾整个种群的变化。

关键词 苏云金芽孢杆菌, RNAi 工程菌, 小菜蛾的两性生命表, 混配

*资助项目: 国家自然科学基金(31772237); 福建省重大专项研究任务(2015NZ01010012) **通讯作者, E-mail: yxg@iae.fjau.edu.cn

寄主转换对丽蚜小蜂的寄主选择及其 后代发育适合度的影响*

王 娟 陈红印 刘晨曦 张礼生** 王孟卿**

(中国农业科学院植物保护研究所农业部作物有害生物综合治理重点实验室,中国-美国生物防治实验室, 北京 100193)

丽蚜小蜂 Encarsia formosa Gahan 是粉虱专性寄生性天敌,可以有效控制温室白粉虱 Trialeurodes vaporariorum Westwood 及烟粉虱 Bemisia tabaci Gennadius 的危害。本研究中, 作者在日光温室内,分别以茄子上的温室白粉虱和烟粉虱作为扩繁寄主,经多代连续扩繁, 各自建立起稳定的丽蚜小蜂种群(分别以 W1 和 W2 表示),以这 2 种不同寄主来源的丽蚜 小蜂为天敌试虫,在北方保护地常见蔬菜番茄、黄瓜、茄子、菜豆4种植物上研究了寄主转 换对丽蚜小蜂寄主选择性及其后代发育适合度的影响,观察了寄主转换后其对不同植物上混 合发生的2种寄主粉虱若虫的选择性,并记录了寄主转换后其子代蜂生长发育历期、羽化率 及存活率,结果表明,当番茄、茄子、菜豆上温室白粉虱和烟粉虱的同龄若虫同时存在时, 2种不同寄主来源的丽蚜小蜂均偏好寄生于温室白粉虱,寄生率分别为 W1寄生温室白粉虱: 31.9%、55.2%、53.1%; W1 寄生烟粉虱: 14.5%、23.2%、61.2%; W2 寄生温室白粉虱: 34.0%、 43.4%、39.8%; W2 寄生烟粉虱: 28.4%、27.3%、21.6%。选择系数分别为 W1、温室白粉 虱: 0.65、0.69、0.48; W1、烟粉虱: 0.35、0.31、0.52; W2、温室白粉虱: 0.57、0.63、0.66; W2、烟粉虱: 0.43、0.37、0.34。2 种小蜂寄生温室白粉虱若虫内的子代蜂发育历期均显著 短于寄生烟粉虱若虫的发育历期。黄瓜上两种粉虱的同龄若虫同时存在时, W1 偏好寄生于 烟粉虱,寄生率分别为: 45.4%(寄生烟粉虱)和23.9%(寄生温室白粉虱)。选择系数分别 为 0.65(烟粉虱)和 0.35(温室白粉虱)。其子代蜂在烟粉虱若虫内的发育历期显著短于在 温室白粉虱若虫内的发育历期,但寄主粉虱转换对丽蚜小蜂的羽化率及存活率均无显著影响。 上述研究结果表明寄主转换对丽蚜小蜂寄主选择性影响较小,植物、寄主及寄生蜂三因素共 同影响丽蚜小蜂的寄生选择及后代发育适合度,其偏好选择最适于子代蜂发育的寄主进行寄 生产卵, 本结果为丽蚜小蜂的生物防治实践提供重要的科学依据。

关键词 丽蚜小蜂,温室白粉虱,烟粉虱,寄主转换,发育历期

*资助项目: 国家重点研发计划(2017YFD0201000); 国家重点研发计划-政府间国际科技创新合作重点专项(2017YFE0104900); 农业部 948 重点项目(2016-X48)

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

美国白蛾蛹对白蛾周氏啮小蜂引诱作用的研究

杨艺新^{1,2} 潘丽娜^{1,2} 相伟芳^{1,2} 张新玥^{1,2} 朱耿平^{1,2} 李 敏^{1,2*} (1.天津师范大学 生命科学学院,天津 300387; 2.天津市动植物抗性重点实验室,天津 300387)

美国白蛾是危害猖獗的世界性检疫害虫,主要以幼虫取食植物叶片为害,最喜食植物包括桑、榆、臭椿、法桐、泡桐、杨、柳等。白蛾周氏啮小蜂是美国白蛾蛹期的寄生性天敌,是抑制美国白蛾的主要天敌因子。为探究取食不同植物的美国白蛾蛹挥发物是否对白蛾周氏啮小蜂引诱性存在差别,本研以不同寄主植物叶片饲养美国白蛾直至化蛹,包括桑树、碧桃、毛泡桐、国槐、臭椿、垂柳,山杨等。利用Y型嗅觉仪研究取食不同种植物的美国白蛾蛹对白蛾周氏啮小蜂的引诱作用是否具有差异,结果如下:取食不同植物的美国白蛾蛹对白蛾周氏啮小蜂的引诱性无显著差异,因此证实蛹对白蛾周氏啮小蜂的引诱作用与所食植物无相关性。本研究为寄生性天敌昆虫的嗅觉机制,尤其是蛹寄生蜂的嗅觉机制研究积累相关资料。

关键词 三级营养关系,美国白蛾,白蛾周氏啮小蜂,寄主植物

*通讯作者, E-mail: skylimin@tjnu.edu.cn

白蛾周氏啮小蜂气味结合蛋白 OBP1 与寄主挥发物的 分子对接研究

相伟芳^{1,2} 李 敏^{1,2} 林艳平³ 王 静³ 张新玥^{1,2} 郭美琪¹ 杨艺新^{1,2} 朱耿平^{1,2} 潘丽娜^{1,2*}

(1.天津师范大学 生命科学学院,天津 300387; 2.天津市动植物抗性重点实验室,天津 300387; 3.漯河市豫中南林业有害生物天敌繁育研究中心,漯河 462300)

白蛾周氏啮小蜂为重大入侵害虫美国白蛾的主要天敌因子。本课题组前期通过转录组测序技术,测定了 25 个白蛾周氏啮小蜂的气味结合蛋白的全序列,并且通过研究其在不同性别不同组织中的表达水平,筛选出 8 个主要在雌性触角中表达的 OBPs,推测这些 OBPs 与雌性寻找寄主相关。然而目前,对这些 OBPs 的具体结构和功能仍不清楚。因此,本研究选取一个在雌性周氏啮小蜂触角特异表达的气味结合蛋白 OBP1,通过分子对接技术模拟寄主挥发物与 OBP1 的结合情况。通过 Swiss-Model 对白蛾周氏啮小蜂气味结合蛋 *CcOBP1* 进行同源建模,获得该蛋白的三维结构。从 Pubchem 下载 γ-丁内酯、邻苯二甲酸二甲酯和萘等11 种小分子的三维结构。用 Schrodinger Suites 2015-2 中的 maestro10.2 软件进行分子对接。结果表明,在 11 种挥发物中,有 3 种与 *Cc*OBP1 结合特性较好的小分子物质,分别是 γ-丁内酯、邻苯二甲酸二甲酯和萘。白蛾周氏啮小蜂气味结合蛋白 CcOBP1 与 γ-丁内酯、邻苯二甲酸二甲酯和萘结合特性较好且 CcOBP1 的功能可能与白蛾周氏啮小蜂趋避效应相关。本研究初步探明了白蛾周氏啮小蜂 OBP1 的功能,可为白蛾周氏啮小蜂嗅觉分子机制的研究积累数据。

关键词 分子对接,气味结合蛋白,小分子化合物,白蛾周氏啮小蜂,美国白蛾

*通讯作者

小麦蚜虫-寄生蜂食物网定量分析*

杨 帆1 朱玉麟1,2 陆宴辉1**

(1.植物病虫害生物学国家重点实验室,北京 100193; 2. 吉林农业大学农学院,吉林 130118)

目前关于蚜虫-寄生蜂关系的研究仅局限于田间种群动态调查和单链食物关系的研究,为展现完整麦田蚜虫-寄生蜂食物网关系,我们调查了小麦单作和麦棉间作田蚜虫和僵蚜发生状况,并采集田间僵蚜样品利用多重 PCR 体系进行检测分析。通过两年的调查发现,小麦蚜虫种群均呈现先增长后下降的发生动态,麦长管蚜为优势物种,其次为禾谷缢管蚜,小麦不同耕作模式下蚜虫蚜量并无显著差异。单作和间作麦田寄生率发生规律相似,整个季节寄生率也无显著差异。田间采集僵蚜检测结束显示单间作麦田蚜虫-寄生蜂物种组成相似且食物网参数普遍性、易损性、连接密度、加权连通性和互作均匀性无显著差异。小麦间作模式对蚜虫-寄生蜂食物网影响不大,这可能是因为麦田和棉田蚜虫和寄生蜂种类差异大,间作模式并未对食物网结构产生显著影响。我们利用多重 PCR 检测技术可以快速便捷地检测田间采集僵蚜样品,揭示物种组成和营养级关系,为进一步开展不同景观结构下蚜虫-寄生蜂食物网结构分析打下基础。

关键词 小麦蚜虫,寄生蜂,定量食物网

*资助项目: 国家自然科学基金(31621064)

**通讯作者, E-mail: yhlu@ippcaas.cn

日本食蚧蚜小蜂对寄主的龄期选择性*

吴晓霜¹ 张方平² 符悦冠² 牛黎明² 陈俊谕² 朱俊洪^{1**} (1.海南大学热带农林学院,海口 570228; 2.中国热带农业科学院环境与植物保护研究所,海口 571101)

为了明确寄主龄期对日本食蚧蚜小蜂的产卵选择性及后代发育的影响,本文在橡副珠蜡蚧 1 龄若虫、2 龄若虫、3 龄若虫、初期成虫、褐色期成虫、初产卵期 1~2 d 成虫等 6 个发育阶段条件下观察了日本食蚧蚜小蜂的产卵选择率、发育历期、寄生率、羽化率及性比。结果表明:选择性产卵条件下,日本食蚧蚜小蜂对褐色期成虫的产卵量、寄生率、选择系数最高,其次为初期成虫,1 龄若虫最低均为 0;日本食蚧蚜小蜂在橡副珠蜡蚧 2 龄若虫——褐色期成虫体内能完成世代发育,发育历期以褐色期寄主最长(24.0 d),2 龄若虫最短(22.1 d);羽化率以 3 龄若虫最高(99.12%),雌性比均为 1。综合考虑,可选用橡副珠蜡蚧初期成虫及褐色期成虫作为日本食蚧蚜小蜂的室内扩繁寄主。

关键词 橡副珠蜡蚧, 日本食蚧蚜小蜂, 龄期, 选择性

*资助项目: 热科院基本业务费(1630042017002); 海南省重点研发项目(ZDYF2017041); 天然橡胶产业技术体系(CARS-33-GW-BC2)

**通讯作者, E-mail: 5477750@qq.com

东亚小花蝽对黄胸蓟马的室内捕食潜能评价研究*

付步礼 李善光 李 强 唐良德 邱海燕 刘 奎** (中国热带农业科学院环境与植物保护研究所,海口 571101)

本研究旨在为明确东亚小花蝽Orius sauteri对黄胸蓟马Thrips hawaiiensis的生物防治潜能。室内采用天敌昆虫的室内捕食功能研究方法,系统研究了东亚小花蝽不同虫态包括:若虫(3龄和5龄)和成虫,分别对黄胸蓟马2龄若虫和成虫的捕食功能反应、搜索效应与种内干扰效应。东亚小花蝽对黄胸蓟马的室内捕食功能反应均符合HollingII 型圆盘方程,其中东亚小花蝽5龄若虫对黄胸蓟马2龄若虫的捕食量最大:功能反应模型方程 $Na=0.8485N/(1+0.0057N_0)$,瞬间攻击率a=0.8485,瞬时捕食量 $a/T_h=126.64$ 头;东亚小花蝽成虫对黄胸蓟马成虫的捕食量最大: $Na=0.7587N/(1+0.009N_0)$,a=0.7587, $a/T_h=64.30$ 。东亚小花蝽对黄胸蓟马的搜索效应与猎物密度呈负相关,东亚小花蝽成虫对黄胸蓟马的寻找效应。东亚小花蝽对黄胸蓟马的寻找效应。东亚小花蝽对黄胸蓟马的神索效应与猎物密度呈负相关,东亚小花蝽成虫对黄胸蓟马的寻找效应。东亚小花蝽对黄胸蓟马的捕食作用存在较强的种内干扰效应,捕食率与个体间相互干扰的关系均符合Hassell模型($E=qP^{-m}$),其中东亚小花蝽不同虫态(3龄、5龄和成虫)对黄胸蓟马成虫的种内干扰反应较大,其中种内干扰系数m分别为0.5633、0.6713和0.6187。东亚小花蝽对黄胸蓟马具有良好的生物防治潜能,所获研究结果为科学利用花蝽类天敌昆虫对蓟马类害虫进行生物防治提供了理论依据。

关键词 蓟马,生物防治,天敌昆虫,捕食作用

*资助项目: 国家重点研发计划项目(2017YFD0202105); 中国热带农业科学院院级创新团队"天敌昆虫创新利用团队"(1630042017010)

**通讯作者, E-mail: lk0750@163.com

椰扁甲啮小蜂在两种寄主上的适应性

林亚平 张华剑 张小梅 汤宝珍 侯有明* (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; 福建省昆虫生态重点实验室,福州 350002)

研究椰扁甲啮小蜂 Tetrastichus brontispae 在椰心叶甲 Brontispa longissima 和水椰八角 铁甲 Octodonta nipae 上的适应性,为人工繁殖该寄生蜂以及防控这两种棕榈科植物入侵害虫提供重要的理论指导。本实验通过观察、比较两品系的椰扁甲啮小蜂寄生椰心叶甲和水椰八角铁甲时的寄生行为以及后代的生长发育来判断其对寄主的适应性。椰扁甲啮小蜂寄生椰心叶甲和水椰八角铁甲,都是在羽化后第 1 天的寄生能力最强,随寄生天数的增加而逐渐减弱;前期实验结果得知椰扁甲啮小蜂转寄主一代后,其子代的适应性参数未发生显著变化,但是当其转寄主连续用水椰八角铁甲饲养 40 多代后,其寄生能力增强,而出蜂数、总产卵量显著下降,且幼蜂的发育历期显著延长;两品系寄生蜂同时寄生椰心叶甲时,椰心叶甲饲养的椰扁甲啮小蜂的出蜂率、出蜂数以及总产卵量更高,而另一品系寄生蜂的寄生率却更高。然而,当两品系寄生蜂寄生水椰八角铁甲时,寄生率及子代的生物学参数无显著差异。椰扁甲啮小蜂寄生椰心叶甲和水椰八角铁甲时,母代蜂的寄主经历不影响子代雌蜂的适应性。此外,相比于水椰八角铁甲,椰扁甲啮小蜂更适应于椰心叶甲。

关键词 椰扁甲啮小蜂,椰心叶甲,水椰八角铁甲,适应性

*通讯作者, E-mail: ymhou@fafu.edu.cn

水椰八角铁甲 apolipophorin-III 的基因克隆与功能分析*

乔 婷 汤宝珍 侯有明**

(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,福建省昆虫生态重点实验室,福州 350002)

克隆和分析水椰八角铁甲 Octodonta nipae (Maulik) 载脂蛋白 (apolipophotrin-III, apoLp-III),研究 apoLp-III 的蛋白特征及其在应对寄生蜂寄生过程中所起的作用,以期探究 水椰八角铁甲免疫应答机制,为生物防治提供理论基础。基于水椰八角铁甲转录组信息,克 隆获得 apoLp-III 的 cDNA 全长,并对序列进行组成结构预测以及系统发育树分析; qRT-PCR 检测 OnapoLp-III 在大肠杆菌 Escherichia coli、金黄色葡萄球菌 Staphylococcus aureus 诱导后 的差异表达情况; RNAi 验证 OnapoLp-III 对机体血细胞包囊能力的影响; 免疫荧光定位技 术验证 OnapoLp-III 是否参与对椰扁甲啮小蜂 Tetrastichus brontispae 蜂卵识别。蛋白序列特 征分析结果表明 OnapoLp-III 的全长序列为 831bp, 共编码 191 个氨基酸, 蛋白主要由两亲 α 螺旋组成,这与 apoLp-III 蛋白的典型特征一致;序列比对及系统发育树结果表明, OnapoLp-III 与鞘翅目昆虫的 apoLp-III 亲缘关系更近,其次是膜翅目和直翅目;定量分析结 果表明 apoLp-III 的表达量在 E. coli 诱导后 6、12、24 h均上调,且在 12 h 显著上调,而 S. aureus 诱导后 apoLp-III 的表达量并无明显变化, 椰扁甲啮小蜂寄生后 apoLp-III 的表达量也显著上 调; RNAi 结果表明,沉默 OnapoLp-III 后机体血细胞对微珠的包囊能力显著下降,血细胞 对椰扁甲啮小蜂蜂卵的包囊能力显著升高;间接免疫荧光结果显示,重组 apoLp-III 蛋白孵 育后的蜂卵有 62.8%被标记。免疫诱导实验和包囊差异分析实验验证了 OnapoLp-III 在水椰 八角铁甲免疫反应中具有重要作用,其可能作为免疫识别受体参与对革兰氏阴性菌的识别作 用以及介导血细胞的包囊反应;椰扁甲啮小蜂寄生后 OnapoLp-III 表达量显著上调以及其对 蜂卵的识别作用进一步证明其作为识别受体起到对外来物识别的重要功能。因此 OnapoLp-III 将可成为研究水椰八角铁甲免疫系统的切入点以及研究寄生蜂与寄主互作机制 的切入点,为以寄生蜂为主的生物防治措施提供更完善的理论基础。

关键词 水椰八角铁甲,椰扁甲啮小蜂,载脂蛋白,包囊

^{*}资助项目: 国家自然科学基金(31471829 和 31672086)和国家重点研发计划课题(2017YFC1200600)

^{**}通讯作者, E-mail: ymhou@fafu.edu.cn

椰甲截脉姬小蜂对椰心叶甲及水椰八角铁甲的 寄生适应性差异分析*

付婷婷 汤宝珍 侯有明**

(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,福建省昆虫生态重点实验室,福州 350002)

椰心叶甲 Brontispa longissimi(Gestro)及水椰八角铁甲 Octodonta nipae (Maulik)是我国重要入侵害虫。引进椰甲截脉姬小蜂 Asecodes hispinarum Bouček 防治椰心叶甲效果显著,但未见防治水椰八角铁甲的报道。本实验通过探究椰甲截脉姬小蜂在椰心叶甲及水椰八角铁甲上的适应性差异,揭示 2 种入侵害虫对姬小蜂免疫响应机理。在不同时间点(12、24、48、72、96 h)解剖单头椰甲截脉姬小蜂寄生的椰心叶甲及水椰八角铁甲四龄幼虫,比较蜂卵在不同寄主上的发育情况以及包囊率;利用细胞计数法,分别对椰心叶甲及水椰八角铁甲四龄幼虫进行血细胞计数及血细胞类型鉴定,比较两种虫体血细胞总数的差异(THC)。椰甲截脉姬小蜂蜂卵能够在椰心叶甲幼虫体内正常发育为幼虫,在水椰八角铁甲幼虫体内则无法正常发育;蜂卵在椰心叶甲幼虫及水椰八角铁甲幼虫体内的包囊率分别为 0.02%、98.17%;血细胞观察结果表明两虫体内血细胞种类一致,包括原血细胞、浆血细胞、粒血细胞、类绛色细胞以及珠血细胞,水椰八角铁甲幼虫体内血细胞数量为椰心叶甲的 10 倍。椰甲截脉姬小蜂对椰心叶甲及水椰八角铁甲右寄生适应性差异,水椰八角铁甲为椰甲截脉姬小蜂的非适宜寄主,造成该寄生适应性差异的原因主要是水椰八角铁甲幼虫对姬小蜂的强大的免疫抑制效能,包括包囊反应和更多血细胞的免疫。

关键词 椰甲截脉姬小蜂,寄主适应性,血细胞,非适宜寄主

*资助项目: 国家重点研发计划课题(2017YFC1200600)

**通讯作者, E-mail: ymhou@fafu.edu.cn

苏云金芽胞杆菌研发及其在害虫防治上的应用

黄勤清*

(福建农业职业技术学院,福州 350119)

近年来,对苏云金芽胞杆菌(Bacillus thuringiensis,Bt)生物农药的增效途径探索逐渐成为其研究热点之一。其中,开发新剂型是重要手段之一。而开发一种新剂型,助剂是关键因素。良好助剂可改善制剂的理化性质并提高使用效果。通过对 5 种助剂进行筛选,我们提出了一个新的 Bt 助剂研究选择方法。本试验发现,所挑选的所有助剂均能提高 Bt 原粉的湿润性,助剂与原粉混合后理化性能均能符合制剂标准。其中,BCM-101、JFC 不仅能显著改善制剂的理化性能,还显著提高了 Bt 原粉的效价。所筛选的助剂在增效试验中与 Bt 原粉均无拮抗作用,增效比较不显著的助剂均表现出相加作用。本研究最终得到了对该制剂既能提高湿润性又能增效的 BCM-101 和 JFC 新型助剂,提高了 Bt 制剂的杀虫活性。此外,研制了一种集 Bt 杀虫剂与营养型生长调节剂 TA-BR 于一体的新型生物药肥。研究结果表明,喷施生物药肥后,质量和产量均明显提高,鲜叶亩产量增幅为6.76%~26.90%,酚氨比明显降低,水浸出物、水溶性糖及维生素 C 均有所增加。同时,生物药肥对茶毛虫、茶尺蠖和茶蚕等茶树主要鳞翅目害虫的防效可达 90%以上,且对天敌安全。

关键词 苏云金芽胞杆菌,助剂,生物药肥,芸苔素内酯,茶叶

*通讯作者, E-mail: qinqinghuang@126.com

管氏肿腿蜂寄生松褐天牛幼虫的行为与体外消化 第Ⅲ部分——幼蜂吮食,生长到结茧

来燕学*

(宁波市森林病虫防治检疫站,宁波,315000)

长期以来,管氏肿腿蜂作为典型的抑性外寄生蜂,其寄生行为表述为: 先用尾针蜇刺麻 醉寄主,然后在被麻醉的寄主体上产卵;再后,初孵幼虫就在被麻醉的寄主体上取食血淋巴, 生长发育直至羽化为成虫。笔者通过管氏肿腿蜂寄生松褐天牛幼虫的试验,发现了新规律: 第一步管氏肿腿蜂是用上颚叮咬方式,而非用尾针的蜇刺麻醉方式制伏寄主;第二步母蜂需 要等待 100~250 h 直到寄主幼虫的虫体表皮软化、内部组织彻底液化,才能产卵,不是麻醉 了就可产卵。前二步已在前几次会议上作了报告。本文介绍第三步: 幼蜂吮食, 生长到蜕皮 与吐丝结茧。这一过程也与前二过程一样,完全颠覆了传统的观察结果。首先,肿腿蜂的卵 到幼虫无需经过蜕皮孵化而是直接变为幼虫,并经过卵形、葫芦形、香蕉形、胖茄形 4 个阶 段,只是体积膨大,尾端无排泄孔:然后进入长南瓜形的第5、第6个阶段,有体节和排泄 孔, 化蛹前蜕皮一次。第二, 幼蜂具齿钩, 取食时只用齿钩夹住寄主表皮, 不咀食肉质, 然 后头内缩,背腹肌紧贴寄主表皮,形如"吸盘",产生负压,吮吸渗出的汁液;随着取食的进 程,幼虫头部会深深地陷入寄主表皮形成许多圆坑,但不会扎破表皮,偶尔扎破,使寄主的 汁液外流,导致寄生失败;幼虫取食直到吮干母蜂预制的体外消化液,留下寄主皮壳;幼蜂 数量大时,老熟幼虫偶尔也能取食寄主的虫壳,在蜕皮化蛹前,作一次性的排泄。第三,母 蜂全程护理幼蜂的生长发育,有时幼虫齿钩松动脱落寄主,母蜂会帮助幼虫重新钩住寄主吸 食; 当幼虫老熟吐丝作茧前, 母蜂会搬老熟幼虫离开寄主残体到适当的位置, 让其在干净的 位置吐丝作茧。幼蜂不蜕皮、不排泄特性及取食行为,与母蜂全程精心护理行为,表明经母 蜂体外消化的的寄主是一种"袋装牛奶"需精心呵护,否则极易受微生物感染,导致寄生失败。 关键词 管氏肿腿蜂, 松褐天牛, 行为, 体外消化

*通讯作者, E-mail: 87169312@163.com

药剂毒理

前体杀虫剂的应用及研究进展*

能 婷 1,2 邱星辉 2 曾鑫年 1**

(1.华南农业大学天然农药与化学生物学教育部重点实验室,广州 510642; 2.中国科学院动物研究所,北京 100101)

前体杀虫剂是指具有低毒或者无毒的母体化合物,经过生物体的代谢后发挥毒性,对蟑螂、白蚁、红火蚁等城市昆虫的防治高效,同时又对人、畜等非靶标生物和环境安全,符合绿色农药的创制要求。前体杀虫剂通过影响药剂在昆虫体内的吸收、分布、代谢和分泌,以此来获得其在靶标生物和非靶标生物之间的毒性差异。

前体农药的活化方式主要有(1)通过氧化还原作用,在细胞色素 P450 酶系作用下生成比母体毒性更强的化合物。(2)通过水解作用,释放母体化合物中的活性基团。(3)通过结合反应,干扰昆虫体内物质代谢与转化过程。前杀虫剂的主要作用机制可概括为:(1) 乙酰胆碱酯酶抑制剂。(2) γ-氨基丁酸门控氯离子通道阻断剂。(3)钠离子通道调节剂。(4)电压门控钠离子通道阻断剂。(5)烟碱乙酰胆碱受体竞争性抑制剂。(6)烟碱样乙酰胆碱受体(nAChR)离子通道阻断剂。(7) 线粒体 ATP 合酶抑制剂。(8) 线粒体电子传递复合物抑制剂。(9)氧化磷酸化解偶联剂。(10) 章鱼胺受体激活剂。(11) 乙酰辅酶 A 羧化酶抑制剂。(12) 昆虫体内微生物的干扰剂。

目前在昆虫防治中应用比较成功的实例有有机磷、氨基甲酸酯、新烟碱类、氮杂环类、 菊酯类、噁二嗪类、硫脲类、吡啶酰胺生长调节剂类、萘醌杀虫杀螨剂、生物毒蛋白类杀虫 剂共 23 种,其中,茚虫威、氟虫腈已在城市昆虫中作为饵剂应用较为成功,它们可以通过 社会性昆虫的交哺传毒作用,促进毒力在种群中的传播,这类低毒或无毒的农药前体能够利 于毒力的传递,而经过代谢后产生的高于母体农药的毒力,又是对整个种群防治的保障。本 文通过概述昆虫生理生化与前体杀虫剂之间的关系,为定向合成低毒高效的前体农药提供建 议,同时也为城市昆虫防治药剂的筛选提供参考意见。

关键词 前体杀虫剂,代谢作用,研究进展

*资助项目:广东高校国际科技合作创新平台项目(GJH21140)

**通讯作者, E-mail: zengxn@scau.edu.cn

二化螟中肠 ABCC2 介导的 Cry1Ab 毒素杀虫功能分析*

张 川 陈 耕 韩兰芝** 彭于发

(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)

二化螟 Chilo suppresssalis 是严重威胁水稻生产的重要害虫之一,转 Bt 基因抗虫水稻的 成功研制为螟虫的防治提供了新策略。目前被大家广泛接受的昆虫中肠受体与 Bt 毒素互作 的分子模型表明:经碱性肠道环境活化的 Bt Cry 毒素单体与昆虫中肠刷状缘膜囊泡(Brush Border Membrane Vesicle, BBMV) 上一系列受体蛋白的结合引起细胞穿孔,进而导致昆虫 死亡(Pardol ópez et al., 2013)。ABCC2(ATP-binding cassette subfamily C member2)是最 新报道的昆虫中肠受体,其变异与昆虫 Bt 抗性的关系已在烟芽夜蛾、粉纹夜蛾、小菜蛾、 家蚕、甜菜夜蛾和棉铃虫中报道(Gahan et al., 2010; Baxter et al., 2011; Atsumi et al., 2012), 但 ABCC2 在 Cry 毒素对二化螟的杀虫作用中的功能还未有报道。本研究开展了二化螟中肠 ABCC2 的时空表达分析及 RNAi 功能分析。二化螟幼虫不同龄期及不同虫态的 qRT-PCR 结 果表明,ABCC2 在二化螟三龄幼虫体内表达量最高,与其它各龄期存在显著性差异(P < 0.05); 在二化螟三龄幼虫的各种虫体组织中,ABCC2 在肠道内的表达量显著高于头、表皮和淋巴 液中 ABCC2 的表达量 (P < 0.05), 但后肠 ABCC2 的表达量显著低于前肠和中肠 (P < 0.05), 前、中肠之间的表达量无显著差异(P<0.05)。利用 Primer Premier 6.0 设计 5'端连接 T7 启 动子序列的引物,采用 MEGAscript® RNAi Kit 试剂盒合成 ABCC2 的 dsRNA,采用饲喂法 进行 RNAi 功能分析。结果表明,取食 ABCC2-dsRNA 48 小时的二化螟幼虫,其 ABCC2 的 表达量降低了 54%, 显著低于对照组(P < 0.05)。生测结果显示, 取食 48 小时 ABCC2-dsRNA的二化螟幼虫在 LC90 的 Cry1Ab 毒饲料上 7 天的存活率显著高于对照组(P<0.05)。这说 明, ABCC2 的下调表达与二化螟对 Cry1Ab 的敏感性下降密切相关。以上结果表明, ABCC2 参与了 Cry1Ab 对二化螟的杀虫作用,存在 Cry 毒素与二化螟 ABCC2 的互作机制,这为进 一步阐明 ABCC2 介导的二化螟 Bt 抗性机制奠定了基础。

关键词 二化螟,中肠,Cry1Ab

^{*}资助项目: 国家转基因生物新品种培育重大专项(2016ZX08011-001)

^{**}通讯作者, E-mail: lzhan@ippcaas.cn

烟粉虱对溴氰虫酰胺抗性的相关研究

王 K^{1} 王锦达 2 车午男 3 渠 成 1 罗 \mathbb{R}^{1*}

(1. 北京市农林科学院植物保护环境保护研究所,北京 100097; 2.福建农林大学国家甘蔗工程技术研究中心,福州 351102; 3.沈阳农业大学植物保护学院,沈阳 110866)

新型杀虫剂溴氰虫酰胺对烟粉虱有较好的防控效果,但随着应用范围的不断扩大和使用 频率的增加,特别是由于用药不合理造成药剂选择压力,其抗药性快速发展。田间抗性监测 发现,一些烟粉虱种群对溴氰虫酰胺已产生初步抗性。虽然在美国和欧洲地区烟粉虱田间种 群对溴氰虫酰胺仍处于敏感水平,但在我国尚未对烟粉虱溴氰虫酰胺抗性开展系统研究,因 此,研究烟粉虱对溴氰虫酰胺抗药性机理是必要的。研究表明:相比于常用杀虫剂,溴氰虫 酰胺对烟粉虱成虫的室内毒力较高,表现出较好的杀虫效果;同时,溴氰虫酰胺对各虫态的 烟粉虱存在不同程度的亚致死效应。此外,通过对烟粉虱鱼尼丁受体的克隆,获得5122个 氨基酸的全长序列; 通过构建基因表达谱发现, 溴氰虫酰胺不同施药浓度处理下的烟粉虱与 其鱼尼丁受体的表达量具有显著相关性。连续两年对我国 9 个省级行政区的烟粉虱开展田间 抗性监测工作发现,我国华北及中部地区的多个地区田间烟粉虱种群对溴氰虫酰胺已存在低 水平或中等水平抗性。其中,通过对 SX 种群(26.4倍)室内连续16代的筛选以及抗性衰 退试验,获得了抗性品系 SX-R (138.4 倍) 以及抗性衰退品系 SX (2.9 倍);同时利用 SX-R 与 SX 品系,明确了溴氰虫酰胺烟粉虱抗性种群的交互抗性谱、抗性遗传方式。最后,通过 开展增效剂试验,明确了PBO对溴氰虫酰胺在烟粉虱抗性种群中存在显著的增效作用。虽 然溴氰虫酰胺在我国的田间应用时间较短,但部分地区的抗药性水平已较为显著;基于室内 抗性种群 SX-R 所开展的交互抗性谱、抗性遗传方式以及增效作用的研究将有助于揭示烟粉 虱对溴氰虫酰胺抗性机理,为今后深入开展烟粉虱对溴氰虫酰胺抗性相关基因研究提供基础, 也为制订烟粉虱的抗性治理对策提供理论依据。

关键词 烟粉虱溴, 氰虫酰胺, 抗性监测, 交互抗性, 抗性遗传方式, 增效剂

*通讯作者

新烟碱类杀虫剂对剑麻新菠萝灰粉蚧的毒力研究*

莫秀芳 1 冯 岗 2 叶火春 2 贺春萍 2 曾鑫年 1** 易克贤 2** (1.华南农业大学,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)

新菠萝灰粉蚧 Dysmicoccus neobrevipes Beardsley 是近年我国新发现的一种外来物种,是危害剑麻的主要害虫之一,本研究旨在筛选出防治新菠萝灰粉蚧的有效杀虫剂。采用喷雾法测定了啶虫脒、呋虫胺、噻虫胺、噻虫嗪和烯啶虫胺等 5 种新烟碱类杀虫剂对新菠萝灰粉蚧不同虫态的室内毒力。研究结果表明: 5 种新烟碱类杀虫剂对新菠萝灰粉蚧均有明显的触杀作用,其中以烯啶虫胺毒力最高。烯啶虫胺对新菠萝灰粉蚧 1 龄、2 龄、3 龄若虫和雌成虫的 LC50 分别为 0.1406 mg/L、0.155 mg/L、0.387 mg/L 和 0.506 mg/L。总体而言,烯啶虫胺对新菠萝灰粉蚧的毒力最高,啶虫脒和噻虫嗪则次之,呋虫胺和噻虫胺最差。不同龄期新菠萝灰粉蚧对同一药剂的敏感性表现为: 1 龄>2 龄>3 龄>雌成虫。新烟碱类杀虫剂可作为防治新菠萝灰粉蚧的供选药剂。

关键词 新菠萝灰粉蚧,新烟碱类杀虫剂,触杀毒力

*资助项目: 国家重点研发计划项目(2018YFD0201102, 2018YFD020024); 广东高校国际科技合作创新平台项目(GJHZ1140)

**通讯作者, E-mail: zengxn@scau.edu.cn; yikexian@126.com

阿维菌素对瓜实蝇解毒酶活性研究*

姜建军 黄立飞 陈红松 王凤英 杨 朗**

(广西壮族自治区农业科学院植物保护研究所/广西作物病虫害生物学重点实验室,南宁 530007)

阐述瓜实蝇对阿维菌素抗药性的代谢机制,为延缓和治理瓜实蝇对阿维菌素的抗药性问题提供理论基础。以实验室饲养和选育的敏感(SS)和抗阿维菌素(RS)瓜实蝇种群为材料,测定了 2 个种群的谷胱甘肽-S-转移酶(GST)、羧酸酯酶(CarE)和多功能氧化酶(MFO)3种解毒酶的比活力及 3 种增效剂顺丁烯二酸二乙酯(DEM)、磷酸三苯酯(TPP)和增效醚(PBO)的增效作用。瓜实蝇 RS 种群 GST 和 CarE 的比活力分别为 SS 种群的 1.99 倍和1.21 倍,差异达显著水平(P<0.05),MFO 比活力是 SS 种群的 1.04 倍,差异不显著(P<0.05)。3 种增效剂 DEM、TPP 和 PBO 对抗阿维菌素种群的增效比分别为 2.03、2.27 和 1.15,对敏感种群的增效比为 1.14、1.12 和 1.07。解毒酶活性和增效剂试验结果均表明瓜实蝇对阿维菌素抗药性同谷胱甘肽-S-转移酶和羧酸酯酶活力增强有关,今后研究瓜实蝇对阿维菌素的代谢抗性机制应侧重关注这两类酶。

关键词 瓜实蝇,阿维菌素,抗药性,解毒酶

*资助项目: 广西自然科学基金 (2018GXNSFAA138068); 广西作物病虫害生物学重点实验室基金 (2016-ST-4)

**通讯作者, E-mail: jiangjianjun8008@126.com; yang2001lang@163.com

基于代谢与靶标抗性机制的褐飞虱交互抗性分析

张懿熙 田佳华 王云超 于 娜 刘泽文

(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)

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。与单一杀虫剂的抗性相比,交互抗性逐渐成为害虫防治 面临的更为严峻的问题。明确害虫对不同杀虫剂产生交互抗性的机制是交互抗性治理的基础 和关键。本研究利用长期筛选和特殊处理的多个吡虫啉抗性品系,评价抗性品系对其它新烟 碱类杀虫剂和醚菊酯的交互抗性水平以及可能的交互抗性机制。两个褐飞虱抗吡虫啉品系来 自同一田间种群,该田间种群经吡虫啉室内连续筛选20代后,被分为两个种群。其中,一个 种群继续用吡虫啉连续筛选至36代,获得抗性品系G36:另一个种群停止筛选,饲养至36代, 获得恢复品系G36-U。基于前期的研究结果,检测两个品系对吡虫啉的抗性机制发现,G36 对吡虫啉的抗性由靶标亚基表达量下降(靶标敏感性降低)和P450s表达量上升(解毒代谢 能力增强)2个因素造成:而G36-U对吡虫啉的抗性机制为靶标敏感性降低,其P450s的表达 量与敏感品系相比没有显著差异。比较两个吡虫啉抗性品系对噻虫啉、烯啶虫胺、氟啶虫胺 腈和醚菊酯的交互抗性发现, G36对4种杀虫剂均具有一定的交互抗性。其中, G36对噻虫啉 的抗性倍数(RR=51.20)为G36-U(RR=19.55)的2.6倍,说明褐飞虱对吡虫啉-噻虫啉的交 互抗性由靶标敏感性降低和解毒代谢能力增强两方面因素造成。G36和G36-U对烯啶虫胺的 抗性倍数相当,说明褐飞虱对吡虫啉-烯啶虫胺的交互抗性主要由靶标敏感性降低导致。 G36-U对氟啶虫胺腈和醚菊酯不存在交互抗性,而G36对这两种杀虫剂的抗性倍数分别为 13.37和30.63,说明P450s解毒代谢能力增强是其产生交互抗性的主要原因。PBO增效剂试验 进一步验证了以上结果。明确交互抗性机制,为有效药剂的选择和使用提供了依据,具有重 要意义。

关键词 褐飞虱,新烟碱类杀虫剂,醚菊酯,交互抗性机制

桔小实蝇BdGSTd1和BdGSTd10介导的马拉硫磷 解毒代谢研究

蒙力维 袁国瑞 鲁学平 景田兴 (西南大学现代农业科学院, 重庆 400716)

桔小实蝇 Bactrocera dorsalis 是一种重要的世界检疫性果蔬害虫, 其寄主和分布范围极 为广泛。随着有机磷等化学农药的不合理使用,桔小实蝇田间抗性发生形势不容乐观,防治 桔小实蝇危害的难度也持续加大,因此研究桔小实蝇对杀虫剂的解毒代谢机制尤为重要。谷 胱甘肽硫转移酶(Glutathione S-transferase, GSTs)作为一类重要的次级代谢酶,在昆虫的 解毒代谢过程中扮演了重要的角色。利用 PCR 成功克隆得到 BdGSTd1 和 BdGSTd10 的开放 阅读框(ORF); 利用 qRT-PCR 技术分析 BdGSTd1 和 BdGSTd10 的时空表达模式; 通过 RNAi (RNA interference) 技术验证 BdGSTd1 和 BdGSTd10 可能参与桔小实蝇解毒代谢马拉硫磷 的过程; 最后通过原核表达和 HPLC (High Performance Liquid Chromatography)检测技术 从离体验证 BdGSTd1 和 BdGSTd10 对马拉硫磷的代谢功能。本研究分析了桔小实蝇两个谷 胱甘肽硫转移酶基因, BdGSTd1 和 BdGSTd10 介导其对马拉硫磷解毒代谢功能。基因的时空 表达模式分析表明:两基因主要在5日龄成虫高表达,BdGSTd1和BdGSTd10分别在成虫中 肠和马氏管中高表达。马拉硫磷(LC50=162 μg/mL)诱导 48 h 后,两基因在转录水平上分 别上调了 2.63 和 2.85 倍; 利用 RNAi 分别有效沉默两基因后, 在相同剂量马拉硫磷处理下, 死亡率分别提高了 12%和 21%。酶动力学参数测定标明: BdGSTd1 的最大反应速率 Vmax 和 Km 值分别为 3.50 ±0.64 μmol/min/mg 和 0.78 ±0.30 mM; 而 BdGSTd10 则相对较高, Vmax 和 Km 分别为 5.70 ± 1.14 \(\mu\text{mol/min/mg} \) 和 1.17 ± 0.4 mM。Dxion plot 结果显示 BdGSTd1 和 BdGSTd10 的抑制常数(Ki)分别为 0.33 ± 0.02 mM 和 0.15 ± 0.03 mM, 酶活性受马拉硫磷 影响,并且都与马拉硫磷存在竞争性抑制关系。利用高效液相色谱(HPLC)检测到 BdGSTd1、 BdGSTd10 均能在还原性谷胱甘肽存在的情况下,直接代谢或阻隔马拉硫磷。BdGSTd1 和 BdGSTd10 可能参与了桔小实蝇解毒马拉硫磷这一过程,并在其中扮演了重要的角色。

关键词 桔小实蝇,谷胱甘肽转移酶,马拉硫磷,解毒代谢,RNAi,HPLC

应用差异蛋白质组学初探 印楝素诱导斜纹夜蛾雄性不育的作用机制*

孙冉冉 崔高峰 陈瑶瑶 易 欣 钟国华** (天然农药与化学生物学教育部重点实验室,华南农业大学昆虫毒理研究室,广州 510642)

印楝素作为一种广谱的植物源杀虫剂,因其活性高,低毒、低抗性、低残留等特点,具有广泛的应用前景和开发潜力。研究报道印楝素能够通过调节激素合成,生殖器官的发育和昆虫的交配能力影响昆虫的生殖,但其详细的作用机理尚不明确。初探印楝素诱导斜纹夜蛾 Spodoptera litura (Fabricius)雄性不育的作用机制。从三龄幼虫开始,用(CK,0.05,0.1,0.15) mg/L 的印楝素处理斜纹夜蛾,至成虫期进行室内交配实验,测定印楝素对斜纹夜蛾生殖力的影响;基于 iTRAQ 定量蛋白质组学鉴定蛹期和成虫期精巢中受印楝素调控的差异表达的蛋白质;运用 TUNEL,qRT-PCR 和 Western Blot 分析细胞凋亡在印楝素诱导斜纹夜蛾雄性不育过程中的潜在作用。印楝素能显著降低斜纹夜蛾的生殖力,且呈剂量依赖的关系。蛋白质组学结果表明:在蛹期阶段,印楝素主要通过 Focal Adhesion 信号途径破坏细胞间的相互作用诱导细胞凋亡,而在成虫期,印楝素主要通过 Focal Adhesion 信号途径破坏细胞间的相互作用诱导细胞凋亡,而在成虫期,印楝素主要通过 AMPK 信号途径降低脂肪酸的合成,干扰减数分裂,破坏性染色体的结构诱导来雄性不育。更重要的是,我们发现 ACTB-G1,STRADa,mTORC1 可以作为印楝素诱导雄性不育的潜在靶标蛋白。本文从差异蛋白质组学的角度初步阐明了印楝素导致斜纹夜蛾雄性不育的的作用机制,也将为今后开发研制环境友好型的杀虫剂提供理论指导。

关键词 印楝素,蛋白质组学,斜纹夜蛾, Spodoptera litura (Fabricius),雄性不育

*资助项目: 国家自然科学基金(31572335)

**通讯作者, E-mail: guohuazhong@scau.edu.cn

PI3K/Akt/mTOR 通路参与 β-咔啉类生物碱诱导的 Sf9 细胞自噬

崔高峰 舒本水 袁海琪 Veeran Sethuraman 张晶晶 易 欣* 钟国华* (华南农业大学,天然农药与化学生物学教育部重点实验室,广州 510642; 华南农业大学,农业部华南 作物有害生物综合治理重点实验室)

β-咔啉类生物碱是一大类天然或人工合成的吲哚类生物碱。它们不仅具有显著的药用价值,还有一定的杀虫作用。它们能够诱导肿瘤细胞程序性死亡,为研究其杀虫机理提供了一定的参考价值。利用 MTT 法检测 5 种 β-咔啉类生物碱对昆虫 Sf9 细胞的毒性,并通过显微观察、荧光染色、蛋白免疫印迹等观察自噬诱导情况。此外,结合转录组分析与 qRT-PCR结果,验证 PI3K/Akt/mTOR 通路在其中的作用。β-咔啉类生物碱能够抑制细胞的增殖,且抑制作用呈时间-剂量关系。其中去氢骆驼蓬碱和骆驼蓬醇效果最佳。显微观察和荧光染色结果发现去氢骆驼蓬碱和骆驼蓬醇是较好的自噬诱导剂,蛋白免疫印迹结果显示,Sf-ATG8随着处理浓度的增加表达量增加,而 p-PI3K,p-Akt 和 p-mTOR 表达量则下降。qRT-PCR 结果与转录组数据发现,PI3K/Akt/mTOR 通路上的 PTEN、TSC1/2、FOXO等基因均发生下调。综上,β-咔啉类生物碱能够诱导昆虫 Sf9 细胞的自噬,且 PI3K/Akt/mTOR 通路参与其中。 **关键词** β-咔啉类生物碱能够诱导昆虫 Sf9 细胞的自噬,且 PI3K/Akt/mTOR 通路参与其中。

*通讯作者, E-mail: yixin423@126.com; guohuazhong@scau.edu.cn

新壮态沼液对辛硫磷防治棉花害虫的增效作用*

赵一鸣 王 鉴 陈 妍 王艳文 裴艳瑞 张坤朋 王兴云** (安阳工学院,农业农村部航空植保重点实验室,安阳 455000)

"新壮态"液肥是山东民和生物科技有限公司利用鸡粪等动物粪便经生物发酵、纳米透析工艺提取而成的一种全能型植物生长促进液,富含多种有机活性物质及植物生长所必须的营养元素,还具有一定的杀虫功效,属于绿色生物杀虫剂。本实验采用不同浓度的新壮态沼液和辛硫磷复配的方法,来防治棉田的主要害虫棉铃虫和甜菜夜蛾。复配剂的使用可以达到一次用药兼治两种或两种以上防治对象的效果,这样就可以减少施药的次数、复配剂的使用,也可以有效的延缓防治对象对农药的抗药性,从而延长农药的使用年限。复配剂较单剂来说,有很多优点,节省了农民施药的次数同时也节省了劳动时间。

本实验对 93.5%的辛硫磷进行稀释,配置浓度为 1 mg/mL 的母液,选取 Lc30 (害虫死亡率为 30%时辛硫磷的浓度)分别加入沼液原液,稀释 5 倍沼液、稀释 10 倍沼液、稀释 20 倍沼液、稀释 40 倍沼液、稀释 80 倍沼液,饲料板以每孔 50 微升的药量的进行添加,进行其对二龄期甜菜夜蛾和棉铃虫幼虫的毒力测定。结果表明,稀释 20 倍的沼液对辛硫磷防治害虫有明显的增效作用。

关键词 棉铃虫,甜菜夜蛾,辛硫磷,新壮杰沼液,增效

*资助项目:安阳工学院博士科研启动基金(BSJ2017015);安阳工学院大学生科技创新项目
**通讯作者,E-mail: wangxingyun402@163.com

新壮态沼液对高效氯氟氰菊酯防治棉花害虫的增效作用*

薛 威 赵赛楠 周许英 王明阳 张梵铃 王兴云 张坤朋** (安阳工学院,农业农村部航空植保重点实验室,安阳 455000)

"新壮态"液肥是一种叶面肥,叶面肥具有迅速补充营养、充分发挥肥效的作用。高效 氯氟氰菊酯是一种具有多种优点的生物杀虫剂,有研究表明,单用有抗性上升的趋势,为延 缓或避免高效氯氟氰菊酯对棉花害虫耐受性升高而进行了本试验的研究。本试验以棉铃虫、 甜菜夜蛾为研究对象,采用表面涂抹法通过胃毒作用对它们进行毒力测定。将叶面肥的 6 个梯度:原液、稀释 5 倍、10 倍、20 倍、40 倍、80 倍分别与高效氯氟氰菊酯复配,进行生 物活性测定,通过共毒因子公式计算得出试验结果。结果表明:高效氯氟氰菊酯与稀释 40 倍及 40 倍以下的叶面肥复配对防治棉铃虫有增效作用;高效氯氟氰菊酯与稀释 20 倍及 20 倍以下的叶面肥复配对防治对甜菜夜蛾有增效作用。

关键词 棉铃虫,甜菜夜蛾,高效氯氟氰菊酯,新壮态沼液,增效

*资助项目:安阳工学院博士科研启动基金(BSJ2017015);安阳工学院大学生科技创新项目
**通讯作者,E-mail: 1095557379@gq.com

小贯小绿叶蝉超疏水翅面黏附特性的防治应用

林美珍 1,2,3 杨 广 1,2,3 施龙清 1,2,3 尤民生 1,2,3*

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

明确小贯小绿叶蝉翅面超疏水与高黏附力特性对杀虫剂毒力作用的影响,为该害虫的减药控害提供参考。分别通过喷雾行为观察、翅面结构及疏水性分析确定翅面特性后,采用液滴法和纱网药膜法测定小贯小绿叶蝉双翅黏附于 3 种杀虫剂的毒力效果,并与浸叶法和离心管药膜法进行比较。喷雾行为观察发现小贯小绿叶蝉成虫可以轻易逃离喷雾区,但在笼罩内则 66.7%以上试虫困于水滴或水膜;前后翅经扫描电镜观察显示都均匀覆盖微纳米级网粒体(0.30±0.01 μm);前后翅与水的静态接触角经测定 CAs >150°,去除网粒体后的疏水性水平显著降低;前后翅与水的粘附力达 160.3±3.5 μN,接近其自身重力的 33倍;与浸叶法和离心管药膜法相比,所测 3 种药剂联苯菊酯、Bt 和印楝素采用液滴法 LC₅₀值分别为 0.10 mg/L、1.05 IU/mL 和 0.004 mg/L;采用纱网药膜法的 LC₅₀值分别为 0.12 mg/L、0.45 IU/mL 和 0.043 mg/L,而采用浸叶法的 LC₅₀值分别为 0.08 mg/L、7.64 IU/mL 和 17.80 mg/L,采用离心管药膜法的 LC₅₀值分别为 38.44 mg/L、256.02 IU/mL 和 9.98 mg/L,除与联苯菊酯的浸叶法浓度相近外,液滴法和纱网药膜法的 LC₅₀值显著低于 Bt 和印楝素的浸叶法和离心管药膜法。小贯小绿叶蝉翅面因网粒体的覆盖表现出超疏水与高黏附力特性,将该特性用于杀虫剂室内毒力测定,所测药剂在低浓度就表现出较高致死率,值得开发应用于茶园小贯小绿叶蝉的生产防挖中。

关键词 小贯小绿叶蝉, 疏水性, 黏附性, 毒力测定

*通讯作者

小菜蛾酪胺受体的药理学性质和功能分析

马海昊1 黄青婷2 周小毛1,2

(1.湖南省农业科学院农业生物技术研究所,长沙 410125; 2.湖南大学研究生院降平分院,长沙 410125)

酪胺是无脊椎动物体内重要的神经递质、神经调质和神经激素,可以激活对应的受体(如 酪胺受体和章鱼胺受体),调控个体的生理活动和行为过程。昆虫酪胺受体(TARs)属于 G 蛋白偶联受体(GPCRs)家族,研究发现其参与调控昆虫的学习、分工、聚居、味觉应答和 免疫反应等多种行为,是潜在的绿色杀虫剂靶标。本研究以家蚕、二化螟 TARs 为参考序列, 基于同源序列比对成功克隆得到两个小菜蛾酪胺受体基因(tarl 和 tar2),序列分析表明这 2 个基因编码蛋白均具有典型的 GPCRs 结构特征。小菜蛾 tarl 基因编码区全长 1404 bp, 和 家蚕 TAR1 同源性最高(82%);实时荧光定量 PCR 分析其时空表达规律,发现该基因在四 龄幼虫头部表达量最高,在蛹期和雄性成虫中表达量较高;小菜蛾 tar2 基因全长 1407bp, 和二化螟 TAR2 同源性最高 (80%): 比较不同生长阶段小菜蛾样品发现 tar2 在卵和雌性成 虫中表达量最高, 蛹期和雄性成虫次之, 解剖 4 龄幼虫发现其在头部表达量最高。基于慢病 毒技术构建了 TAR1/HEK-293T 和 TAR2/HEK-293T 稳定表达细胞系,发现两种细胞均可以 对酪胺信号做出响应,提高细胞内钙离子浓度;酪胺还可以抑制 forskolin 诱导的 TAR1/HEK-293T 细胞 cAMP 浓度升高。通过 cAMP 测定和钙离子浓度测定,发现多种章鱼 胺受体激动剂和拮抗剂也可以作用于小菜蛾酪胺受体。利用 RNA 干扰技术下调小菜蛾成虫 中的 TARs 水平,发现干扰小菜蛾雄性成虫 tarl 基因表达,可以抑制小菜蛾的交配行为,降 低雌虫产卵量;同时干扰雄性和雌性小菜蛾成虫中 tar2 基因也可以产生同样的效果。表明 克隆到的小菜蛾酪胺受体在控制小菜蛾交配和产卵行为中发挥重要作用。总之,本研究分析 了小菜蛾酪胺受体的药理学性质,发现两个酪胺受体基因均可以调控小菜蛾的交配和产卵行 为,为新型杀虫剂的开发提供条件。

关键词 小菜蛾, 酪胺受体, G蛋白偶联受体, 行为调控, RNA 干扰

latrophilin 通过调控 esterase4 和 esterase6 影响 赤拟谷盗的杀虫剂耐受性和雌性生殖力

魏璐婷 高姗姗 刘娟娟 熊文峰 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(G protein-coupled receptors, GPCRs)是存在于细胞膜上的蛋白质超 家族,因其均具有七次跨膜α螺旋结构域也被称为7次跨膜结构域受体,其在真核生物中通 过信号传导在生长、发育、生殖等基本生命活动中发挥重要作用。研究表明,作为 GPCRs 家族一员的 latrophilin (Tclph) 不仅能改变赤拟谷盗对抗胆碱酯酶杀虫剂的耐受性,而且 能调控雌性赤拟谷盗的生殖力。然而,Tclph 参与这些生理功能的分子机制还未研究清楚。 本研究通过 RNA-sequencing 和 qRT-PCR 技术,鉴定分别受 Tclph 负、正调控的两个关联基 因, esterase4 和 esterase6 (Tcest4 和 Tcest6), 并进一步证明了这两个基因在 Tclph 调节杀 虫剂耐受性和雌性生殖力的过程中发挥的作用。qRT-PCR 实验结果揭示 Tcest4 和 Tcest6 分 别在进食较旺盛的晚期幼虫和晚期成虫高表达: 并且 2 个羧酸酯酶的 mRNA 表达主要富集 在幼虫的脂肪体和肠等解毒器官及中枢神经系统和血淋巴等全身性调控组织中,暗示 Tcest4 和 Tcest6 对外源异质性物质代谢和防御有重要的生理功能。此外,与丙酮对照组相比,两 种不同的抗胆碱酯酶杀虫剂(敌敌畏,百克威)在 12~72 h 内成功诱导了 Tcest4和 Tcest6 的表达。而敲减这两个基因并没有导致赤拟谷盗幼虫发育异常, 但是其对杀虫剂的耐受性显 著降低,说明这2个基因通过影响杀虫剂的代谢过程参与到杀虫剂的抵抗。为了进一步探讨 Tclph 在杀虫剂耐受性中对 Tcest4 和 Tcest6 的表达的调控作用。我们下调 Tclph 的表达后进 行杀虫剂的处理,在 12~72 h 内检测这 2 个基因的表达,结果表明 Tcest4 表达被显著诱导而 Tcest6 的表达被显著抑制, 暗示 Tclph 的功能缺失抑制 Tcest6 的表达是杀虫剂耐受性降低的 原因之一,而过度表达的 Tcest4 则可能是 Tclph 降低的补偿效应。另外, Tcest6 的敲低还会 导致雌性赤拟谷盗生殖力降低 43%,说明 Tclph 通过正调控 Tcest6 的表达影响雌性生殖力。 以上研究结果初步阐释了 Tclph 参与杀虫剂耐受性和生殖力调控的分子机制,为害虫防治提 供了新的线索。

关键词 latrophilin, esterase, 杀虫剂耐受性, 生殖, RNA 干扰, 赤拟谷盗

*通讯作者, E-mail: libin@njnu.edu.cn

多个细胞色素 P450 基因过表达介导二化螟对 氯虫苯甲酰胺的抗性*

徐 鹿 ¹ 赵春青 ² 孙 杨 ³ 徐德进 ¹ 徐广春 ¹ 张月亮 ¹ 韩召军 ² 张亚楠 ⁴ 顾中言 ^{1**}

(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; 3.江西省农业科学院植物保护研究所,南昌 330200; 4.淮北师范大学生命科学学院,淮北 235000)

二化螟 Chilo suppressalis(Walker)是一种危害严重的多食性经济类害虫,已进化出对多种杀虫剂的抗性,监测发现其已发展出对氯虫苯甲酰胺的抗性,鱼尼丁受体基因位点突变 G4910E、Y4667D 和 I4758M 可能涉及此药剂的抗性形成,但其对此药剂的代谢抗性尚未报道。首先,利用氯虫苯甲酰胺筛选二化螟四龄幼虫,建立抗感品系;其次,利用 qRT-PCR 检测氯虫苯甲酰胺抗感品系中细胞色素 P450 基因的表达情况;最后,利用 RNAi 技术干扰差异表达的 P450 基因,分析氯虫苯甲酰胺对二化螟的毒力。经过室内 25 代筛选获得 82.37倍的氯虫苯甲酰胺抗性品系(WHR)和衰退敏感品系(WHS)。解毒酶活力测定表明细胞色素 P450 可能参与氯虫苯甲酰胺抗性形成,CYP6CV5,CYP9A68,CYP321F3 和 CYP324A12 在 WHR 品系中过量表达(4.48~44.88 倍)。在 WHR 品系中,这些过表达的 P450 基因在后期发育阶段表达,而在卵中缺失表达,同时它们的表达在抗性 WHR 品系比在敏感 WHS 品系中更易被诱导。注射单个和混合过表达的 P450 基因的 dsRNA 后,这 4 个基因的相对表达量显著降低(55.2%~73.2% 和 43.2%~50.2%),二化螟幼虫死亡率显著增加(55.1%~65.1%和 88.2%)。RNAi 证实细胞色素 P450 基因组成型过表达潜在地贡献氯虫苯甲酰胺抗性的形成,表明细胞色素 P450 介导氯虫苯甲酰胺的代谢抗性。

关键词 二化螟,氯虫苯甲酰胺,抗药性,细胞色素 P450, RNAi

*资助项目:公益性行业(农业)科研专项(201303017);国家重点研发计划资金项目(2017YFD0200305)

**通讯作者, E-mail: zhongyangu@yeah.net

苹果蠹蛾谷胱甘肽 S-转移酶 CpGSTd3 和 CpGSTe2 基因功能研究

王 炜 杨雪清

(沈阳农业大学植物保护学院,辽宁省经济与应用昆虫重点实验室,沈阳 110866)

Delta 和 Epsilon 是昆虫中特有的 2 个谷胱甘肽 S-转移酶 (Glutathione S-transferase, GSTs) 基因家族,参与昆虫对内源和外源有害化合物的代谢作用,但 其在我国重要的入侵有害生物苹果蠹蛾 Cydiapomonella 中的功能尚不清楚。方法 本 试验从转录组数据库中分别鉴定出 4 个 Delta 家族(CpGSTd)和 5 个 Epsilon 家族 (CpGSTe) 基因,并对其中 CpGSTd3 和 CpGSTe2 基因的时空表达模式、重组蛋白 表达纯化、酶动力学特性、杀虫剂的抑制作用和对杀虫剂的代谢作用进行了研究。 RT-qPCR 结果表明, CpGSTd3 和 CpGSTe2 基因在幼虫期表达量明显高于其它生长 发育阶段,在4龄幼虫的中肠和马氏管中的表达量显著高于其它组织,而 CpGSTd3 在脂肪体内不表达。原核表达的 CpGSTd3 和 CpGSTe2 重组蛋白对模式底物 CDNB 的最大反应速率 Vmax 值分别为 13.11±0.68 和 9.71±0.18 μmol/min/mg, 米氏常数 Km 值分别为 0.63±0.087 和 0.089±0.009 mM。高效氯氟氰菊酯、氯氰菊酯、氟氯氰菊酯、 醚菊酯、毒死蜱和辛硫磷对重组 CpGSTd3 具有明显的抑制作用,其 IC50 值分别为 0.65、0.19、0.48、0.29、0.19 和 0.53mM; 而对重组 CpGSTe2 抑制作用较弱, 氟氯 氰菊酯和辛硫磷对该酶无抑制效果。HPLC 结果显示,重组 CpGSTd3 能代谢高效氯 氟氰菊酯, 1 h 代谢率达 32.10%。在苹果蠹蛾中, CpGSTd3 和 CpGSTe2 基因可能 参与对内源和外源物质的代谢,CpGSTd3基因具有杀虫剂的代谢功能。

关键词 苹果蠹蛾, GST, 代谢作用, 化学杀虫剂

P450 介导迁飞粘虫对高效氯氟氰菊酯的抗性机制*

李鑫茹 1 杨雪清 1** 吴孔明 2**

(1.沈阳农业大学植物保护学院,辽宁省经济与应用昆虫重点实验室,沈阳 110866; 2.中国农业科学院植物保护研究所,北京 100193)

粘虫 Mythimna separata(Walker)是我国小麦、玉米等农作物的主要害虫,具有季节性迁飞习性。由于长期使用化学农药对其进行防治,目前该虫已对高效氯氟氰菊酯产生抗性。然而,粘虫迁飞种群对高效氯氟氰菊酯抗性发展规律和机制尚不清楚。

本研究利用高空探照灯,收集了 2017 年 5 月至 9 月份跨渤海湾迁飞粘虫种群,并对 F1 代和 F2 代 3 龄幼虫进行了室内毒力测定、增效剂增效作用以及酶活性分析。生物测定 结果表明,不同月份迁飞粘虫种群对高效氯氟氰菊酯具有不同程度的抗性(0.90~24.56 倍), 5 月下旬北迁种群(24.56 倍)和 7 月下旬回迁种群(17.43 倍)抗性水平明显高于其它迁飞种群。增效剂增效作用结果显示,胡椒基丁醚(PBO)对高效氯氟氰菊酯对 7 月下旬回迁种群 F1 代幼虫的增效作用最显著(24.70 倍),1,2,4-三丁基三硫磷酸酯(DEF)次之(2.53 倍),说明细胞色素 P450 酶系是抗性的主要机制,但不是唯一机制。酶活测定结果显示,解毒酶活性与抗性水平有较高的相关性,P450 酶系 ECOD 活性与抗性倍数相关系数 r=0.74,羧酸酯酶活性与抗性倍数相关系数 r=0.73;乙酰胆碱酯酶活性与抗性倍数相关系数较低。综上,迁飞粘虫种群对高效氯氟氰菊酯具有明显抗性演化规律,第 2 次(向北迁飞)和第 3 次(向南回迁)集中迁飞种群抗性水平显著高于其它种群;P450 是迁飞粘虫对高效氯氟氰菊酯抗性的主要机制。

关键词 粘虫, 高效氯氟氰菊酯, 抗性演化, 解毒酶, P450

*资助项目:中国博士后科学基金面上项目(2017M621160);中国科协"青年人才托举工程"(YESS20160085);国家自然科学基金青年项目(31501666)

**通讯作者, E-mail: wukongming@caas.cn; sling233@hotmail.com

新型药剂 18%卷螟杀 3 号防治稻纵卷叶螟的田间防效

龚朝辉1 龚航莲2*

(1.江西省萍乡市农技站, 萍乡 337000; 2.江西省萍乡市植保站, 萍乡 337000)

应用新型药剂 18%卷螟杀 3 号防治稻纵卷叶螟 Cnaplocrocis medinalis 的田间防治效果,为推广应用提供依据采用喷雾法,将 18%卷螟杀 3 号设 3 个剂量处理 30、50、80 mL/666.7m²,80% 敌敌畏 80 mL/666.7m²,25%杀虫双 100 mL/666.7m²,每个处理 3 次重复,每重复一个小区,每小区面积 60 m²,各小区随机排列,药后 12、24、72 h 检查对稻纵卷叶螟幼虫的杀伤效果比较 18%卷螟杀 3 号不同使用剂量与对照药剂防治稻纵卷叶螟幼虫的效果,采用 DPS 法进行差异显著性分析。18%卷螟杀 3 号 80 mL/666.7m²的效果最好,其防效达 98.82%,显著高于 18%卷螟杀 3 号 50 mL/666.7m²防效 78.62%及 80%敌敌畏 80 mL/666.7 ** 2 防效 72.57%的防治效果。极显著高于 18%卷螟杀 3 号 30 mL/666.7 ** 6 防效 68.52%及 25%杀虫双 100 mL/666.7 ** 6 防治效果。 萨乡市三农农资及农业分会联合创制的 18%卷螟杀 3 号是防治稻纵卷叶螟的特效药剂,但对其防机制等尚未进行试验总结,创制新型农药尚有大量的工作量。

关键词 18%卷螟杀 3 号,稻纵卷叶螟, 田间防效

*通讯作者, E-mail: ghl1942916@sina.com

木醋液对几种昆虫杀虫活性研究*

王亚黎 ¹ 宫雪松 ¹ 石丽萍 ¹ 宋玉姗 ¹ 赵慧玲 ² 曹克强 ¹ 王勤英 ^{1**} (1. 河北农业大学植物保护学院,保定 071000; 2. 赵县德康梨果种植专业合作社,赵县 051530)

木醋液是把木头烧成木炭的过程中冒出的烟气自然冷却液化而得到的,含有醋酸、酚类以及 K, Ca, Mg, Zn, Ge, Mn, Fe 等矿物质,在发达国家有机农业栽培中已被广泛利用,主要用于促进作物生长及控制植物病虫害。为了解木醋液的杀虫活性,我们通过室内和田间试验,测定了木醋液对小菜蛾、棉铃虫和甜菜夜蛾的二龄幼虫、山楂叶螨、绣线菊蚜的生物活性。以喷雾法将稀释 100 倍和 300 倍的木醋液分别喷施在有山楂叶螨和绣线菊蚜的叶片上,结果表明,96 h 后木醋液对成螨没有明显的致死作用,对卵的孵化抑制率分别为 34.56%、18.76%;喷施 100 倍木醋液 72 h 后,绣线菊蚜室内校正死亡率为 28.24%,果园校正死亡率为 58.97%,稀释 300 倍的木醋液对蚜虫没有明显的致死作用。采用浸叶法测定木醋液对甜菜夜蛾、棉铃虫和小菜蛾二龄幼虫的杀虫活性,稀释 100 倍木醋液对三种幼虫具有明显的杀虫活性,72 h 后甜菜夜蛾、棉铃虫和小菜蛾的死亡率分别为 43.33%、3.33%和 28.30%;对甜菜夜蛾和棉铃虫幼虫体重抑制率分别为 72.22%、26.38%,稀释 300 倍木醋液对三种幼虫的致死作用和体重抑制作用均很低。总之,木醋液 100 倍稀释液对山楂叶螨表现出一定的孵化抑制作用;对绣线菊蚜、甜菜夜蛾幼虫、棉铃虫幼虫和小菜蛾均具有明显的杀虫活性。

关键词 木醋液;体重抑制率;杀虫活性

*资助项目: 国家苹果产业技术体系(CARS-28)

**通讯作者, E-mail: wqinying@hebau.edu.cn