

果树授粉蜂种凹唇壁蜂体内生理指标与抗寒性之间的关系

刘 畅¹, 卜海东¹, 冯章丽¹, 顾广军¹, 张武杰¹, 曹 阳², 赵德英³

(1. 黑龙江省农业科学院 牡丹江分院, 黑龙江 牡丹江 157041; 2. 黑龙江省农业经济职业学院, 黑龙江 牡丹江 157041; 3. 中国农业科学院 果树研究所, 辽宁 兴城 125100)

摘要:为进一步研究凹唇壁蜂低温下安全越冬技术, 通过对凹唇壁蜂体内生理指标检测, 初步研究了生理指标变化与抗寒性之间的关系。结果表明: 凹唇壁蜂体内的含水量与体内各种酶含量的变化与抗寒性之间没有直接联系, 而氨基酸、脂肪、蛋白质和甘油随着温度的逐渐降低, 有逐渐增加并积累的趋势, 在凹唇壁蜂的越冬过程中起促进作用, 是重要的抗寒物质。同时在人工模拟条件下计算凹唇壁蜂的过冷却点和体液冰点, 温度分别为雄性-24.46和-19.41℃, 雌性-25.02℃和-19.97℃。本地的最低极端温度能达到-30℃以下, 说明凹唇壁蜂在室外不能安全越冬。采取保护措施可以使凹唇壁蜂在本地安全越冬, 安全温度应该是-15~-10℃, 而决不能低于-18℃。

关键词:凹唇壁蜂; 过冷却点; 体液冰点; 过氧化氢酶; 过氧化物酶; 超氧化物歧化酶

中图分类号:S66 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2016)02-0072-05 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2016.02.0072

凹唇壁蜂(*Osmia excovata* Alfken)属于膜翅

目蜜蜂总科切叶蜂科壁蜂属的昆虫, 是我国北方苹果、樱桃、梨等果树重要果园传粉昆虫^[1]。日本学者前田泰生、北村泰三等人早在20世纪40年代对日本的6种野生壁蜂进行了20多年的研究^[2]。20世纪70年代初期美国和欧洲各国为了促进果园种植业的不断发展, 由日本引进角额壁

收稿日期: 2015-12-24

基金项目: 黑龙江省农业科技创新工程资助项目(2014ZD009); 现代农业产业技术体系建设专项资金资助项目(CARS-28)

第一作者简介: 刘畅(1984-), 男, 黑龙江省绥化市人, 硕士, 助理研究员, 从事果树育种研究。E-mail: changchang_3000@163.com。

本研究中用来测定和评价杂草发生程度的方法是根据前人评价植物叶斑病的方法演变而来。就是依据测定平均单位面积杂草株数、杂草平均株高和杂草平均单株干重等因子来评价糜子田间杂草发生情况, 并以数量形式对田间杂草发生程度加以表达。这种方法道理简单易懂, 操作简便易行。通过对杂草发生重要因子的比较可明确田间杂草发生的实际情况; 通过综合草情指数可以对不同区域或地块杂草发生程度进行比较和评价。

参考文献:

- [1] 查顺青, 戴蓬博, 冯佰利, 等. 陕北地区糜子田杂草组成及群落特征[J]. 西北农业学报, 2014, 23(5): 164-170.
- [2] 张盼盼, 王君杰, 陈凌, 等. 不同除草剂对糜子田杂草的防除效果[J]. 西北农业学报, 2013, 22(10): 208-212.
- [3] 贾艳荣, 李斌. 偏关县糜子产业现状和发展建议[J]. 农业技术与装备, 2014(10): 75-77.
- [4] 赵秀梅, 李清泉, 谭可菲, 等. 糜子田土壤处理除草剂安全性与药效筛选试验[J]. 黑龙江农业科学, 2012(3): 73-78.
- [5] 刘建勇. 旱地糜子化学除草试验[J]. 陕西农业科学, 2000(5): 29-30.
- [6] 高希武, 郭艳春, 王恒亮, 等. 新编实用农药手册(修订版)[M]. 河南: 中原农民出版社, 2006: 43.

Exploration of Prevention and Control of Weeds on Broom Corn Millet

LENG Ting-rui, WANG Li-qun, WANG Hui, LIU Ting-ting, BU Rui, JIN Zhe-yu
(Baicheng City Academy of Agricultural Sciences, Baicheng, Jilin 137000)

Abstract: In order to reduce costs and labor intensity in broom corn millet production, four control methods of weeds in broom corn millet field were screen out by spraying herbicide in different proportion and way to reduce cost input and labour intensity in broom corn millet. The results showed that control method of gramineous weed was the key of weeding in broom corn millet field. The herbicides those control efficiency were excellent included quinclorac, anilofos, pretilachlor, prometryn, nicosulfuron, atrazine and pendimethalin. Four of these herbicides included prometryn, nicosulfuron, atrazine and pendimethalin that possessed respectively different effect on controlling non-gramineous weeds.

Keywords: herbicide; broom corn millet; weeds; prevention and control

蜂为苹果传粉,效果很好^[3]。1987 年中国农业科学院生物防治研究所由日本引进角额壁蜂和一些蜂具,开始在我国北方果园对该蜂种的适应性和建立种群的可能性,以及该蜂的生物学及传粉效果进行了较为详细的研究,结果表明该蜂能完全适应我国北方的生态环境,并可以繁衍后代、建立种群^[4]。

壁蜂授粉技术自 2011 年从山东省引入黑龙江省后,经过几年的推广,由于其操作简单,便于管理,目前有越来越多的农民想要应用该技术。但黑龙江省位于我国东北部,冬季漫长寒冷干旱^[5]。低温导致凹唇壁蜂在冬天室外自然条件下越冬蜂茧第 2 年春季都不能顺利出茧或者有少量出茧且出茧率极低。如果放在室内,又提前羽化成蜂,与花期不遇。所以每年春季果农仍需大量购买,不仅成本增加,而且阻碍壁蜂授粉技术在黑龙江省的大面积推广。

本试验通过对凹唇壁蜂体内生理指标进行测定,以探明凹唇壁蜂低温下的生理特征与抗寒性之间的关系,为研究凹唇壁蜂低温下安全越冬技术提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试凹唇壁蜂于果实落花后在果园将蜂管收回,悬挂在阴凉干燥处。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 试验于 2014 年 10 月至 2015 年 3 月在实验室进行。2014 年 10 月初将满管的蜂茧挑出来挂在阴凉干燥处保存,10 月末开始将蜂茧放入 0~5℃ 冰箱内保存,随着室外气温的下降,冰箱逐步调到 -10℃ 备用。体内保护酶的测定取成虫分别放置在 10、0、-5、-10、-15、-20、-25、-30℃ 条件下,处理后取酶液,每个处理 3 次重复,取平均值。

1.2.2 测定项目及方法 ①过冷却点的测定:采用 SUN-V 型智能昆虫过冷却点测定仪,海尔 -40℃ 低温冰箱进行测定。将测定仪连接好电脑后,将供试蜂茧从储存冰箱中取出(蜂茧用手术刀片剥茧取虫),用调试好的昆虫夹迅速夹住供试昆虫(使虫体腹面紧贴昆虫夹泡沫垫上的热敏电阻),将夹好昆虫的昆虫夹迅速放入缓温管内,盖好盖并将其放入低温冰箱内,观测电脑屏幕上电阻值变化曲线。

②水分测定:取部分蜂茧称其活体重然后在 60℃ 的恒温烘箱中烘 24 h 至恒重,计算虫体含水量。

③可溶性糖含量测定:分别称取 0.5 g 干样,放入 3 支刻度试管中。试管中加入 15 mL 蒸馏水,封口在沸水中提取 30 min。提取液过滤入 100 mL 容量瓶中,反复冲洗试管及残渣,定容至刻度。吸取 0.5 mL 样品液于试管中,加 0.5 mL 水,0.5 mL 蒽酮乙酸乙酯溶液,加浓硫酸溶液 5 mL,摇匀后放入沸水中煮沸 2 min,取出迅速冷却,在 620 nm 条件下测定分光光度值。

④蛋白质含量的测定:用自动定氮仪测定凹唇壁蜂蛋白质的含量。

⑤脂肪含量的测定:用索氏提取器进行测定。

⑥甘油含量的测定:用分光光度计测其吸光值,查标准曲线得虫体甘油含量。

⑦氨基酸含量的测定:取 60℃ 烘箱中烘干虫体 0.5 g,研成粉末,放入聚四氟乙烯试管中,加 6 mol·L⁻¹ HCl 10 mL,放置 90~100℃ 烘箱中 24 h,取出后过滤取上清液 1 mL 加 1 mL 缓冲液在 Foss 氨基酸自动分析仪上分析。

⑧体内酶活性的测定:酶液的制备参照李周直等^[6]的方法并加以改进。过氧化氢酶(Catalase, CAT)活性测定参照王学奎等^[7]的方法并加以改进。过氧化物酶(Peroxidase, POD)活性测定参照李周直等^[6]改进的愈创木酚法。超氧化物歧化酶(Superoxidase dismutase, SOD)活性测定参考王学奎等^[7]氮蓝四唑(NBT)光还原法测定。

1.2.3 数据分析 数据处理采用 Excel,分析方法采用 DPS 7.05 数据处理系统对试验数据进行方差分析和相关回归分析,其中组间均值差异用 Duncan 新复极差法分析($\alpha=0.05$)。显著性检验用“DMRT”法, $R^2=0.999$ 。

2 结果与分析

2.1 凹唇壁蜂过冷却点的测定

对凹唇壁蜂过冷却点与体液冰点温度测定及其方差分析结果如表 1。结果表明,在不同测定日期之间均有显著差异。进一步进行新复极差多重比较结果表明,第 2 次和第 3 次所测结果差异不显著且过冷却点和体液冰点温度最低,说明此时为凹唇壁蜂最低过冷却点与体液冰点温度,分别为雌性 -24.46 和 -19.41℃,雌性 -25.02 和 -19.97℃。凹唇壁蜂的过冷却点与体液冰点温

度间的相关系数达极显著水平。说明凹唇壁蜂的且体液冰点温度高于过冷却点温度,且雌性耐寒过冷却点与体液冰点温度间相互关系非常密切,能力略高于雄性。

表 1 凹唇壁蜂过冷却点与体液冰点温度及其方差分析

Table 1 SCP and humor freezing point and variance result of *O. excovata*

序号 Sequeece	测定日期 Determination date	过冷却点温度/℃ SCP		体液冰点温度/℃ HFP	
		雄蜂 Male	雌蜂 Female	雄蜂 Male	雌蜂 Female
1	2014-12-25	-20.01±1.43 ab	-21.99±1.43 ab	-15.63±2.36 ab	-17.50±2.36 ab
2	2015-01-05	-24.17±1.28 a	-24.99±1.28 a	-19.27±1.30 a	-19.88±1.30 a
3	2015-01-15	-24.46±1.36 a	-25.02±1.36 a	-19.41±1.30 a	-19.97±1.30a
4	2015-02-25	-17.01±2.45 bc	-19.2±2.45 bc	-11.67±1.83 bc	-15.83±1.83 bc
5	2015-03-10	-11.60±2.63 bc	-13.79±2.63 bc	-5.01±2.02 bc	-9.42±2.02 bc

不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著
Differel lowercases mean significant difference at 0.05 level.

2.2 凹唇壁蜂体内水分、糖、蛋白质含量的测定

从表 2 中可以看出虫体最高含水量出现在 11 月份,为 4.25%,其次是 3 月份为 4.19% 最低出现在 1 月份虫体含水量分别为 4.03%。凹唇壁蜂在整个越冬期体内水分含量变化不明显,含水量在 4.03%~4.25%变动。

同时对越冬期体内的可溶性糖和蛋白质进行了测定。通过表 3、表 4 可以看出,进入越冬期后,凹唇壁蜂体内的可溶性糖含量和蛋白质含量是逐渐增加的。说明它们是重要的抗寒物质之一,对抗寒性的增强起促进作用。

表 2 凹唇壁蜂体内含水量的测定

Table 2 Determination of the water content of the *O. excovata* in the body

月份 Month	重复次数 Repeat times	测定头数 The number of determination	烘干前重量/g Weight before drying	烘干后重量/g Weight after drying	含量/% Water content	平均含量/% Average water content
11	1	31	18.356	17.609	4.07	4.25 a
	2	30	18.179	17.523	3.61	
	3	30	18.171	17.252	5.06	
1	1	20	11.108	10.675	3.90	4.03 a
	2	20	10.662	10.254	3.83	
	3	22	12.695	12.142	4.36	
3	1	10	7.085	6.785	4.23	4.19 a
	2	10	6.763	6.483	4.14	
	3	10	6.782	6.496	4.21	

表 3 凹唇壁蜂体内可溶性糖含量的测定

Table 3 Determination of the soluble sugar content of the *O. excovata* in the body

月份 Month	吸光值 Absorbance	糖含量/% Sugar content
11	0.369	11.86
12	0.577	19.27
1	0.635	21.34

表 4 凹唇壁蜂体内蛋白质含量的测定

Table 4 Determination of the protein content of the *O. excovata* in the body

月份 Month	吸光值 Absorbance	蛋白质含量/% Protein content
11	0.625	13.59
12	0.654	14.22
1	0.812	17.66

2.3 凹唇壁蜂体内脂肪、甘油含量的测定

进入越冬期后分别对凹唇壁蜂在 11 月份和 1 月份进行两次脂肪测定,结果分别是 5.85%和 10.43%,说明在越冬期间体内的脂肪含量是明显上升的。同时对体内的甘油含量进行测定。由表 5 可以看出,凹唇壁蜂从越冬初期进入越冬期后体内甘油含量呈现增加趋势,越冬期后随着温度的升高体内甘油含量逐渐下降。这说明在越冬期间以脂肪和甘油作为体内抗寒物质加以储存积累,可以降低冰点和过冷却点而提高昆虫的抗寒能力。

表 5 凹唇壁蜂体内甘油含量的测定
Table 5 Determination of the glycerol content of the *O. excovata* in the body

月份 Month	吸光度值 Absorbance	甘油含量/% Glycerol content
11	0.070	1.52 b
12	0.085	2.21 a
1	0.097	2.97 a
2	0.081	1.96 b

2.4 凹唇壁蜂体内氨基酸含量的测定

对凹唇壁蜂体内氨基酸总含量在波长 570 nm下基光密度比色进行了测定见表 6。进入越冬期后,凹唇壁蜂体内的氨基酸平均含量呈现先增加后降低趋势,其中 12 月份达到最大值,比越冬初期含量增加 45.3%。越冬后氨基酸含量又降低,到 2 月份比越冬期低了 32.8%。说明氨基酸在越冬过程中是重要的抗寒物质。

表 6 凹唇壁蜂体内氨基酸总含量的测定
Table 6 Determination of the amino acids content of the *O. excovata* in the body

月份 Month	平均含量/(mg·(100 mg) ⁻¹) The average content
10	35.35 c
11	48.65 b
12	64.64 a
1	57.40 a
2	43.42 b

2.5 凹唇壁蜂体内酶活性的测定

对凹唇壁蜂体内的酶活性进行了测定,通过

图 1 可以发现,在温度变化过程中,凹唇壁蜂体内的酶活性变化没有固定规律,所以可以判断在抗寒越冬过程中酶活性的变化不是主要抗寒因子,不因温度的降低而增加。

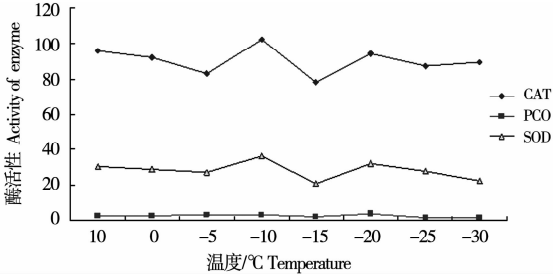


图 1 低温处理对凹唇壁蜂体内酶活性的影响
Fig. 1 Effects of temperature processing on the activity of enzyme in the *O. excovata*

3 结论

本研究采用多种试验方法,通过对凹唇壁蜂体内生理指标检测初步研究了生理指标变化与抗寒性之间的关系。同时在人工模拟条件下计算凹唇壁蜂的过冷却点和体液冰点。

凹唇壁蜂最低过冷却点与体液冰点温度,分别为雄性-24.46和-19.41℃,雌性-25.02℃和-19.97℃。本地的最低极端温度能达到-30℃以下,说明凹唇壁蜂在室外不能安全越冬。采取保护措施可以使凹唇壁蜂在本地安全越冬,安全温度应该是-15~-10℃,而决不能低于-18℃。

通过对凹唇壁蜂体内的生理指标进行测定发现体内的含水量与体内各种酶含量的变化与抗寒性之间没有直接联系,而氨基酸、脂肪、蛋白质和甘油随着温度的降低,有逐渐增加并积累的趋势,在凹唇壁蜂的越冬过程中起促进作用,是重要的抗寒物质。

参考文献:

[1] 李海茂,丛斌,李建平,等.壁蜂及其在果树授粉中的应用[J].吉林农业大学学报,2004,26(4):422-425.
[2] 前田泰生,北村泰三.マメコバチ手用人工巢の開発[J].畏野果樹報告,1983,12(1):24-30.
[3] Torchio P F. Field and Experiment with the pollinator species, *Osmia lignaria* propinqua cresson, in apple orchards[J]. Journal of the Kansas Entomological Society, 1982,55(1):136-144.
[4] 魏枢阁,王韧.利用驯化的角额壁蜂提高苹果树座果率及产量[J].中国果树,1990,15(1):31-32.

- [5] 牛力武. 关于牡丹江地区果树产业发展的几点思考[J]. 黑龙江农业科学, 2007(4):101-102.
- [6] 李周直, 沈惠娟, 蒋巧根, 等. 几种昆虫体内保护酶系统活力的

的研究[J]. 昆虫学报, 1994, 37(4):399-403.

- [7] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.

Relationship Between Physiological Indicators and Cold Resistance on Fruit Pollinators *Osmia excovata* Alfken

LIU Chang¹, BU Hai-dong¹, FENG Zhang-li¹, GU Guang-jun¹, ZHANG Wu-jie¹, CAO Yang², ZHAO De-ying³

(1. Mudanjiang Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Mudanjiang, Heilongjiang 157041; 2. Heilongjiang Agricultural Economy Vocational College, Mudanjiang, Heilongjiang 157041; 3. Institute of Polomogy of CAAS, Xingcheng, Liaoning 125100)

Abstract: In order to research the safe wintering technology at low temperature of *Osmia excovata* Alfken, through the excovata in vivo physiological index detection, a preliminary study of the relationship between physiological changes and cold tolerance was analyzed. The results showed that the change of moisture content and different enzyme content did not have a direct link with the cold resistance. And amino acids, fats, proteins and glycerine with decreasing temperature, there was an increasing trend and gradually accumulated which played a catalytic role in the excovata wintering process, it was an important cold substances. Meanwhile in artificial conditions, the *Osmia excavata* supercooling points(SCP) and humor freezing point(HFP) were determined, that indicated that the winter minimum super-cooling point and humor freezing point of male *Osmia excavata* were -24.46 and -19.41°C , -25.02 and -19.97°C for female *Osmia excavata*. As the lowest temperature of the local areas -30°C , *Osmia excavata* could not survive safely the winter. Taking protective measures could make *Osmia excovata* in the local security, safety temperature should be between $-15 \sim -10^{\circ}\text{C}$, and must not be lower than -18°C .

Keywords: *Osmia excovata* Alfken; supercooling point; humor freesing point; catalase; peroxidase; superoxide

(该文作者还有孙静轩, 单位同第一作者)

(上接第 62 页)

在制度机制层面, 推进两个完善: 完善监管制度。“十三五”主要从两个大的方面入手, 实现农产品质量安全全程监管有法可依、有章可循。在法律法规方面, 要修订《农产品质量安全法》及农药、畜禽屠宰、转基因等配套法规, 将一些有效管用的办法上升为法律制度, 实现与《食品安全法》两法并举、各有侧重、相互衔接。在监管制度方面, 要围绕农业产业链条, 抓住农业投入品、产地环境、种植养殖、收贮运、畜禽屠宰等关键节点, 制定相应的制度规范, 提出管理要求, 形成一整套制度体系, 用管用的制度来规范生产经营主体行为, 提升监管水平。

完善工作机制。“十三五”需要在长效机制上下更大力气。要强化协调配合机制, 对内要细化农口相关单位的职能任务, 形成统分结合、有统有分的工作格局; 对外要强化绩效考核和工作指导, 推动落实属地管理责任; 对外要加强与食药等部门的合作沟通, 一起谋划全程监管措施, 推进无缝衔接, 形成监管合力。要引入社会监督机制, 加大信息公开力度, 有关农产品质量标准、认证认可、检测结果、行政处罚等, 要依法向社会公开, 鼓励各方参与农产品质量安全监督。要强化责任追究机制, 对失职渎职、徇私枉法等问题, 严肃追究相关人员责任。

——中国农业信息网