

李艺琼,姚羽芯,彭正强,等.不同生长阶段椰树叶片对椰心叶甲中肠消化酶活性的影响[J].江苏农业科学,2017,45(7):94-97.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.07.024

不同生长阶段椰树叶片对椰心叶甲中肠消化酶活性的影响

李艺琼¹,姚羽芯¹,彭正强²,吕宝乾²,金启安²,温海波²

(1.海南大学环境与植物保护学院,海南海口 570228; 2.中国热带农业科学院环境与植物保护研究所,海南海口 571101)

摘要:为探明椰心叶甲对椰树不同生长阶段叶片选择性取食的营养生理机制,研究椰树心叶、半展叶、展叶的营养成分含量差异以及这 3 个生长阶段叶片对椰心叶甲 5 龄幼虫中肠 6 种消化酶活性的影响。结果表明,椰树叶片营养成分中,蔗糖、淀粉、脂肪含量均为心叶中最低,展叶中最高,粗纤维含量无显著差异;椰心叶甲幼虫在取食不同生长阶段的椰树叶片后,中肠消化酶活性有显著变化,取食椰树半展叶、展叶的椰心叶甲 5 龄幼虫中肠蔗糖酶、淀粉酶、蛋白酶及脂肪酶比取食心叶的椰心叶甲 5 龄幼虫均有显著下降,而无论是取食椰树心叶、半展叶还是展叶,椰心叶甲 5 龄幼虫中肠消化酶均为淀粉酶活性最高,蛋白酶次之。

关键词:椰心叶甲;寄主植物;营养物质;消化酶活性

中图分类号: S433.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)07-0094-04

椰心叶甲 [*Brontispa longissima* (Gestro)] 属鞘翅目 (Coleoptera) 铁甲科 (Hispididae), 是棕榈科植物的重要害虫, 自 2002 年入侵海南省后, 椰心叶甲迅速扩散繁殖, 现已扩散蔓延到海南全省, 广东、广西、云南、福建等部分地区也有发生危害^[1]。椰心叶甲在我国南方的入侵和暴发严重影响了当地的经济和生态环境^[1]。在野外, 椰心叶甲成虫和幼虫均取食椰树等寄主未展开的心叶表皮组织, 形成与叶脉平行的狭长褐色条斑, 心叶展开后呈大型褐色坏死条斑, 严重时整株死亡^[2]。

植食性昆虫通过取食寄主植物来获取生长发育所需的糖类、蛋白质和脂肪等营养物质。糖类是昆虫重要的植物源营养, 同时也是重要的能量来源, 特别是在繁殖和飞行方面^[3]。蛋白质是植食性昆虫必需的植物源营养, 昆虫可以通过取食含有蛋白质的植物来获取氨基酸, 而这些氨基酸含有多种用途, 如直接用于昆虫蛋白质的生物合成, 特别是信息素和神经肽^[4]。寄主植物的数量和质量是决定昆虫生长发育和繁殖的最重要因素, 每种寄主都含有不同种类和含量的营养物质^[5]。Zhang 等的研究表明, 寄主植物营养成分含量的不同, 可显著影响昆虫的生长发育和繁殖^[3,6-8]。

昆虫中肠消化酶主要包括 α -淀粉酶、蔗糖酶、纤维素酶、半纤维素酶、蛋白酶及脂肪酶^[9], 用来消化分解通过取食摄入的糖类、纤维素、蛋白质和脂肪。昆虫消化酶在将通过取

食摄入的混合食物原料转变成成为小分子物质并提供能量及代谢物中扮演着重要的角色^[10]。同时, 不同寄主植物含有不同含量的营养物质、不同的抑制因子以及次生代谢物质, 因此可以影响昆虫的消化酶活性, 寄主植物的任何变化都会影响这些消化酶的活性及随后的生理过程^[11]。Mardani-Talaei 等研究表明, 在取食不同寄主植物时, 昆虫消化酶活性会发生相应的改变^[5,11-15]。

当研究昆虫防治方法时, 对目标昆虫的生理学、中肠生理生化反应过程及中肠微生物的深入了解是至关重要的^[16]。故本研究从椰树不同生长阶段叶片营养成分含量差异及对中肠消化酶活性的影响出发, 探究其寄主选择的营养代谢机制, 这对阐明椰心叶甲取食选择性及开发利用酶抑制剂防治椰心叶甲等都具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试虫源 供试椰心叶甲为中国热带农业科学院环境与植物保护研究所昆虫饲养室在温度 (26 ± 2) °C、湿度 (75 ± 5) % 条件下, 分别以椰树心叶、半展叶、展叶饲养至 5 龄的椰心叶甲健康虫体。

1.1.2 供试寄主植物 试验中采用的植物材料为椰树的心叶、半展叶、展叶, 均采自海南省儋州市长坡镇椰树林场, 试验前将采自田间的叶片清洗干净, 晾干后备用。

1.2 试验方法

1.2.1 不同生长阶段椰树叶片营养成分含量测定 测定心叶、半展开叶、完全展开叶的营养成分含量。蔗糖含量测定采用紫外分光光度法^[17]; 淀粉含量测定采用紫外分光光度法^[17]; 粗纤维含量测定采用酸碱剂洗涤法^[18]; 粗蛋白含量测定采用微量凯氏定氮法^[19]; 粗脂肪含量测定采用索氏提取法^[20]。

1.2.2 酶液制备 分别采集心叶、半展开叶和完全展开叶饲养的个体大小一致的椰心叶甲 5 龄幼虫各 10 头, 在冰浴上解

收稿日期: 2016-09-12

基金项目: 科技部国际援助项目 (编号: KY201301025); 海南省国际合作项目 (编号: KJHZ2015-01); 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所基本业务费 (编号: 2016hzs1j001)。

作者简介: 李艺琼 (1991—), 女, 甘肃白银人, 硕士研究生, 主要从事昆虫生物生理学研究。E-mail: 514709454@qq.com。

通信作者: 彭正强, 硕士, 研究员, 主要从事热带作物害虫、入侵生物及昆虫分类研究, Tel: (0898) 23300243, E-mail: lypzq@163.com; 吕宝乾, 博士, 副研究员, 主要从事热带农林昆虫与害虫防治研究, Tel: (0898) 23300572, E-mail: lvbaoqian@hotmail.com。

剖取其中肠,置于匀浆器中加入 1 mL 预先冰浴的蒸馏水在冰浴中匀浆,4 ℃、10 000 r/min 离心 10 min,取上清液,置于-20 ℃ 冰箱冷藏,作为酶源备用。样品蛋白含量测定采用考马斯亮蓝 G-250 染色法^[21],以牛血清蛋白(BSA)为标准蛋白。

1.2.3 淀粉酶活性测定 淀粉酶活性测定采用 3,5-二硝基水杨酸法^[22],并略加改进。在 5 mL 试管中分别加入 320 μL 柠檬酸缓冲液(0.1 mol/L,pH 值=5)、150 μL 酶液以及 250 μL 0.1% 淀粉溶液,混匀后于 35 ℃ 水浴中温育 30 min,温育结束后加入 1 mL 二硝基水杨酸(DNS)试剂以停止反应。最后将反应混合物沸水浴 10 min,冷却后于 540 nm 处读取 $D_{540\text{ nm}}$ 。采用麦芽糖标准曲线($y = 5.0326x - 0.0199$, $r = 0.9981$;y 为 540 nm 处吸光度;x 为麦芽糖浓度,mg/mL)计算样品反应后麦芽糖含量。淀粉酶活性以单位时间、单位质量样品蛋白中麦芽糖的物质的量[μmol/(mg·min)]表示。空白对照以缓冲液代替酶液。

1.2.4 蔗糖酶活性测定 蔗糖酶活性测定采用 3,5-二硝基水杨酸法^[23],并略加改进。除反应底物为 1% 蔗糖,缓冲液为磷酸盐缓冲液(0.2 mol/L,pH 值=6.5),反应时间为 60 min,葡萄糖标准曲线($y = 6.0216x + 0.0083$, $r = 0.9991$)外,其余步骤与“1.2.3”节中相同。

1.2.5 纤维素酶活性测定 纤维素酶活性测定采用 3,5-二硝基水杨酸法^[24],并略加改进。除反应底物为 2% 羧甲基纤维素钠(CMC),缓冲液为柠檬酸缓冲液(0.05 mol/L,pH 值=6.0),反应时间为 60 min,反应温度为 50 ℃,葡萄糖标准曲线($y = 10.2930x - 0.0275$, $r = 0.9980$)外,其余步骤与“1.2.3”节中相同。

1.2.6 半纤维素酶活性测定 半纤维素酶活性测定采用 3,5-二硝基水杨酸法^[25],并略加改进。除反应底物为 1% 木聚糖,缓冲液为柠檬酸缓冲液(0.05 mol/L,pH 值=6.0),反应时间为 60 min,反应温度为 50 ℃,葡萄糖标准曲线($y = 10.2930x - 0.0275$, $r = 0.9980$)外,其余步骤与“1.2.3”节中相同。

1.2.7 蛋白酶活性测定 蛋白酶活性测定采用 Folin-酚试

剂法^[14],并略加改进。将 40 μL 酶液与 100 μL 0.5% 酪蛋白溶液加入 5 mL 试管中,混匀后于 37 ℃ 水浴 15 min,然后加入 100 μL 10% 三氯乙酸,混匀后离心 15 min(10 000 r/min,4 ℃)。取 150 μL 上清液加入 2 mL 离心管内,再加入 750 μL 0.55 mol/L 碳酸钠溶液以及 150 μL Folin-酚试剂,混匀后于 37 ℃ 水浴 15 min。水浴后于 680 nm 处测量 $D_{680\text{ nm}}$ 。采用酪氨酸标准曲线($y = 4.4938x + 0.0156$, $r = 0.9993$;y 为 680 nm 处吸光度;x 为酪氨酸浓度,mg/mL)计算反应后酪氨酸含量。蛋白酶活性以单位时间、单位质量样品蛋白中酪氨酸的物质的量[μmol/(mg·min)]表示。空白对照以缓冲液代替酶液。

1.2.8 脂肪酶活性测定 脂肪酶活性测定采用碱溶液滴定法^[26],并略加改进。在 10 mL 试管中加入 0.5 mL 磷酸盐缓冲液(0.025 mol/L,pH 值=7.5)以及 0.4 mL 聚乙烯醇橄榄油乳液,混匀后于 40 ℃ 水浴 10 min,水浴后加入 0.5 mL 酶液,并继续于 40 ℃ 水浴 20 min,水浴完成后加入 1.5 mL 95% 乙醇以及 1 滴 1% 酚酞指示剂。最后用 0.05 mol/L 标准氢氧化钠溶液滴定至微红色,记录滴定用氢氧化钠体积。脂肪酶活性以单位时间、单位质量样品蛋白中脂肪酸的物质的量[μmol/(mg·min)]表示。对照以缓冲液代替酶液,并将 95% 乙醇在第 1 步时加入。

1.2.9 数据处理 应用 SPSS 19 进行方差分析(ANOVA),并用 Duncan's 新复极差法检验差异显著性。

2 结果与分析

2.1 不同生长阶段椰树叶片营养成分含量

表 1 表明,不同生长阶段椰树叶片营养成分含量除粗纤维含量外,其他 4 种营养成分的含量均存在显著差异。其中粗蛋白含量以展叶最高,为 9.64%,半展叶最低,为 7.96%;蔗糖、淀粉、脂肪含量均为展叶最高,心叶最低。总体来说,4 种营养成分含量均为展叶最高。各生长阶段的椰树叶片营养成分含量顺序均为粗纤维>粗蛋白>蔗糖>脂肪>淀粉(表 1)。

表 1 不同生长阶段椰树叶片营养成分含量

椰叶生长阶段	蔗糖含量(%)	淀粉含量(%)	粗纤维含量(%)	粗蛋白含量(%)	脂肪含量(%)
心叶	3.10 ± 0.16a	0.62 ± 0.11a	35.12 ± 0.04a	8.85 ± 0.03a	1.39 ± 0.08a
半展叶	4.65 ± 0.19b	0.93 ± 0.10b	35.40 ± 0.17a	7.96 ± 0.21b	2.64 ± 0.68b
展叶	6.53 ± 0.18c	1.71 ± 0.04c	33.60 ± 4.59a	9.64 ± 0.35c	3.39 ± 1.49c

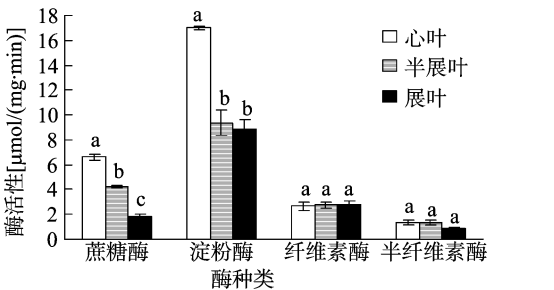
注:数值均为“平均值±标准误”,同列数值后不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。

2.2 不同生长阶段椰树叶片对椰心叶甲 5 龄幼虫中肠糖酶活性的影响

不同生长阶段椰树叶片对椰心叶甲 5 龄幼虫中肠糖酶活性的影响如图 1 所示。可见无论取食心叶,还是半展叶、展叶,椰心叶甲 5 龄幼虫中肠糖类消化酶中均为淀粉酶活性最高,其次为蔗糖酶,再次为纤维素酶和半纤维素酶,可见椰心叶甲 5 龄幼虫对于糖类的需求主要来自于淀粉。取食椰树半展叶及展叶相较于取食心叶的椰心叶甲 5 龄幼虫中肠的蔗糖酶及淀粉酶活性有显著下降;而取食不同生长阶段椰树叶片的椰心叶甲 5 龄幼虫中肠纤维素酶与半纤维素酶活性均无显著差异。

2.3 不同生长阶段椰树叶片对椰心叶甲 5 龄幼虫中肠蛋白酶活性的影响

由图 2 可以看出,取食椰树半展叶及展叶相比于取食心



不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。下图同图 1 不同生长阶段椰树叶片对椰心叶甲 5 龄幼虫中肠糖类酶活性的影响

叶的椰心叶甲 5 龄幼虫中肠蛋白酶活性显著下降;取食椰树半展叶与取食椰树展叶的椰心叶甲 5 龄幼虫中肠蛋白酶活性

无显著差异。取食不同生长阶段椰树叶片的椰心叶甲5龄幼虫中肠蛋白酶活性分别为9.36(心叶)、5.51(半展叶)、5.95(展叶) $\mu\text{mol}/(\text{mg}\cdot\text{min})$ 。

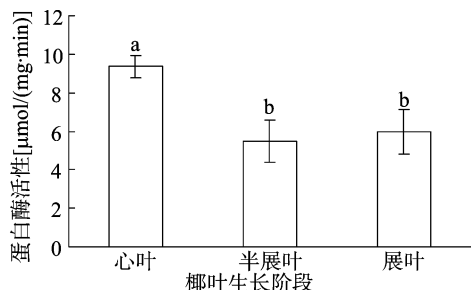


图2 不同生长阶段椰树叶片对椰心叶甲5龄幼虫中肠蛋白酶活性的影响

2.4 不同生长阶段椰树叶片对椰心叶甲5龄幼虫中肠脂肪酶活性的影响

由图3可以看出,取食不同生长阶段椰树叶片的椰心叶甲5龄幼虫中肠脂肪酶活性有显著差异,取食心叶的最高,其次为半展叶,取食展叶的最低,分别为6.84(心叶)、4.00(半展叶)、2.73(展叶) $\mu\text{mol}/(\text{mg}\cdot\text{min})$ 。

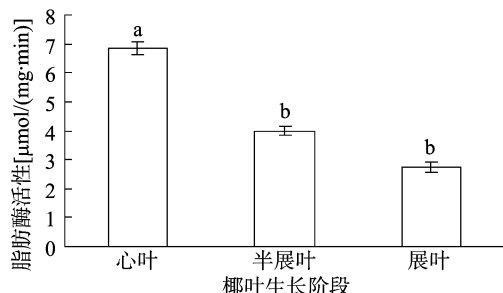


图3 不同生长阶段椰树叶片对椰心叶甲幼虫中肠脂肪酶活性的影响

3 结论与讨论

动物在不同的生长环境条件下,或者是在不同的生长发育阶段,都会有不同种类及活性的消化酶,消化酶离不开与动物食性的联系;捕食性昆虫具有高活性的蛋白酶和脂肪酶,却没有淀粉酶;食性单一的昆虫,体内含有较少类别的消化酶,例如以木为食的天牛含有高活性的纤维素酶;吸血昆虫则含有胰蛋白酶^[27]。从不同生长阶段椰树叶片对椰心叶甲中肠消化酶活性的影响试验中可以看出,不论是取食心叶还是半展叶、展叶,均为淀粉酶活性最高,蛋白酶活性次之,由此可见,淀粉酶和蛋白酶是椰心叶甲幼虫消化酶系统中最重要的2种酶。而王健敏等研究发现,在松墨天牛幼虫和纵坑切梢小蠹幼虫中,淀粉酶活性最高,其次为纤维素酶^[28];Lima等研究发现,象白蚁属的*Nasutitermes corniger*则为纤维素酶活性最高,其次为半纤维素酶及蛋白酶,淀粉酶活性最低^[29]。这些结果的不同或许正体现了不同食性昆虫的不同生理活性。

当植食性昆虫被迫取食营养比例不适宜的食物时,它们将会应用一些管理调整程序去调控所取食的营养含量过剩或不足的食物^[30]。在不同生长阶段椰树叶片对椰心叶甲中肠消化酶活性的影响试验中,取食半展叶及展叶的椰心叶甲幼虫中肠蔗糖酶、淀粉酶、蛋白酶、脂肪酶活性均有显著下降,但在叶片营养成分分析中,半展叶及展叶的蔗糖、淀粉、粗蛋白

及脂肪含量均显著高于心叶。Kotkar等在棉铃虫取食不同营养含量的寄主植物时中肠消化酶活性的变化试验中也得到类似结果,在取食糖类含量较高的寄主植物时,棉铃虫幼虫淀粉酶活性会下降,在取食蛋白含量高的寄主植物时,中肠蛋白酶活性下调^[31];郭文卿对稻纵卷叶螟幼虫对氮、糖营养的需要试验中显示,在取食一定浓度范围内氮、糖含量较高的人工饲料时,稻纵卷叶螟幼虫蛋白酶及淀粉酶活性下降^[32]。Kotkar等认为,这些现象表明昆虫体内或许存在一种机制可以精确地检测到食物营养含量并调节相应的重要消化酶,其中肠相应消化酶活性下调以代谢对应营养成分含量高的食物来摄取所需能量^[31]。李亚等研究表明,虽然在自然界椰心叶甲喜食椰树心叶,但在人为控制供饲寄主叶片的生长阶段,在被迫改变食性的条件下,椰心叶甲取食棕榈科植物的成熟叶片也可以完成其生长发育过程,故推测椰心叶甲在取食半展叶及展叶时4种消化酶活性降低是它对于高营养含量寄主的一种自我生理调节,即当寄主植物营养成分含量高时,即使较低的消化酶活性也可以满足虫体的新陈代谢^[33]。在取食半展叶和展叶后,椰心叶甲幼虫中肠纤维素酶和半纤维素酶活性相比于取食心叶的椰心叶甲幼虫均无显著变化,这可能是由于椰树不同成熟程度的叶片粗纤维含量无显著差异而不需要调节酶活性所致。

综上所述,在取食不同生长阶段的椰树叶片时,椰心叶甲可通过调节自身中肠消化酶活性来满足不同营养条件下虫体正常的新陈代谢,即椰心叶甲针对不同营养含量的寄主,具有一定的生理适应性。因此椰心叶甲对椰树的危害潜力并不局限于心叶,在某些恶劣环境胁迫下,椰心叶甲依旧有危害椰树半展叶及展叶的可能性。

参考文献:

- [1] 吕宝乾,金启安,温海波,等. 入侵害虫椰心叶甲的研究进展[J]. 应用昆虫学报,2012,49(6):1708-1715.
- [2] 吕宝乾,陈义群,包炎,等. 引进天敌椰甲截脉姬小蜂防治椰心叶甲的可行性探讨[J]. 应用昆虫学报,2005,42(3):254-258.
- [3] Zhang B, Huai L I U, Helen H S, et al. Effect of host plants on development, fecundity and enzyme activity of *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. Agricultural Sciences in China, 2011, 10(8):1232-1240.
- [4] Morgan E D. Biosynthesis in insects [J]. Biosynthesis in Insects, 2004, 58(8):314-322.
- [5] Mardani - Talae M, Rahimi V, Zibae A. Effects of host plants on digestive enzymatic activities and some components involved in intermediary metabolism of *Chrysodeixis chalcites* (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. Journal of Entomological and Acarological Research, 2014, 46(3):96-101.
- [6] 吴坤君,李明辉. 棉铃虫营养生态学研究:取食不同蛋白质含量饲料时的种群生命表[J]. 昆虫学报,1993,36(1):21-28.
- [7] Sanders H H. Performance and enzyme activity of beet armyworm *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) under various nutritional conditions [J]. Agricultural Sciences in China, 2011, 10(5):737-746.
- [8] Raubenheimer D, Simpson S J. Nutrient balancing in grasshoppers: behavioural and physiological correlates of dietary breadth [J]. Journal of Experimental Biology, 2003, 206(10):1669-1681.
- [9] 王荫长. 昆虫生理生化学 [M]. 北京:中国农业出版社,1994:

- 38-44.
- [10] Wigglesworth V B. Insect physiology [M]. New York; Springer, 1974:46-62.
- [11] Teimouri N, Sendi J J, Zibae A, et al. Feeding indices and enzymatic activities of carob moth *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller) (Lepidoptera: pyralidae) on two commercial pistachio cultivars and an artificial diet [J]. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 2015, 14(1):76-82.
- [12] 肖留斌, 谭永安, 孙 洋, 等. 绿盲蝽对寄主转换的适应性及生理响应[J]. 中国农业科学, 2013, 46(23):4941-4949.
- [13] 杨建霞, 郝德君, 戴华国. 寄主植物对松墨天牛幼虫体内酶系活性的影响[J]. 昆虫知识, 2008, 45(6):940-943.
- [14] 张桂芳, 雷 芳, 万方浩, 等. 寄主植物转换对B型烟粉虱和温室粉虱淀粉酶及蛋白酶活性的影响[J]. 生物多样性, 2008, 16(4):313-320.
- [15] 王倩倩, 王 蕾, 李克斌, 等. 不同寄主植物对草地螟的营养作用及消化酶的影响[J]. 植物保护, 2015, 41(4):46-51.
- [16] Kazzazi M, Bandani A R, Hosseinkhani S. Biochemical characterization of α - amylase of the sunn pest, *Eurygaster integriceps* [J]. Entomological Science, 2005, 8(4):371-377.
- [17] 张文钊. 氮素调控对大豆碳氮代谢及产量的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2008.
- [18] 黄 萍, 钟新民, 李必元, 等. 雪菜中粗纤维含量的测定[J]. 吉林农业科学, 2011, 36(1):45-47.
- [19] 史 玮, 孙 莹, 徐振斌. 凯氏定氮法测定粮食蛋白质含量方法研究[J]. 粮食科技与经济, 2013, 38(5):31-32.
- [20] 阎 伟, 唐 超, 彭正强, 等. 寄主叶片营养物质、物理结构与椰心叶甲危害的关系[J]. 热带作物学报, 2012, 33(3):535-539.
- [21] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1/2):248-254.
- [22] Vatanparast M, Hosseiniaveh V. Digestive amylase and pectinase activity in the larvae of alfalfa weevil *Hypera postica* (Coleoptera: Curculionidae) [J]. Entomological Research, 2010, 40(6):328-335.
- [23] Fisk F W, Shambaugh G F. Invertase activity in adult *Aedes aegypti* mosquitoes [J]. 1954, 54(4):237-239.
- [24] Oppert C, Klingeman W E, Willis J D, et al. Prospecting for cellulosytic activity in insect digestive fluids [J]. Comparative Biochemistry & Physiology Part B, 2010, 155(2):145-154.
- [25] Koroiva R, Souza C W, Toyama D, et al. Lignocellulolytic enzymes and bacteria associated with the digestive tracts of *Stenochironomus* (Diptera: Chironomidae) larvae [J]. Genetics & Molecular Research Gmr, 2013, 12(12):3421-3434.
- [26] 白 燕, 王维新. 刺参肠道蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶与纤维素酶活性的测定方法[J]. 饲料工业, 2012, 33(20):28-32.
- [27] 宋婷婷. 蝗虫消化酶的提取与酶学性质及白蛾酶抑制剂研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2014.
- [28] 王健敏, 陈晓鸣, 冯 颖, 等. 两种蛀干昆虫消化酶组成和活性比较[J]. 林业科学研究, 2007, 20(2):170-175.
- [29] Lima T A, Pontual E V, Dornelles L P, et al. Digestive enzymes from workers and soldiers of termite *Nasutitermes corniger* [J]. Comparative Biochemistry & Physiology Part B: Biochemistry & Molecular Biology, 2014, 176:1-8.
- [30] Behmer S T. Insect herbivore nutrient regulation [J]. Annual Review of Entomology, 2008, 54(1):165.
- [31] Kotkar H M, Sarate P J, Tamhane V A, et al. Responses of midgut amylases of *Helicoverpa armigera* to feeding on various host plants [J]. Journal of Insect Physiology, 2009, 55(8):663-670.
- [32] 郭文卿. 稻纵卷叶螟幼虫对氮和糖营养的需要[D]. 南京: 南京农业大学, 2012.
- [33] 李 亚, 程立生, 彭正强, 等. 寄主植物叶片生长阶段对椰心叶甲幼虫生长发育的影响[J]. 热带农业科学, 2006, 26(5):17-20.

(上接第93页)

- [7] 曹志平, 周乐听, 韩雪梅. 引入小麦秸秆抑制番茄根结线虫病[J]. 生态学报, 2010, 30(3):765-773.
- [8] 温 丹, 巩 彪, 郭纹秀, 等. 松杉树皮和玉米秸秆堆肥对番茄根结线虫病的防治及土壤微生物的影响[J]. 中国蔬菜, 2011, (20):39-44.
- [9] 姚槐应, 黄昌勇. 土壤微生物生态学及其实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2006.
- [10] 许光辉, 郑洪元. 土壤微生物分析手册[M]. 北京: 农业出版社, 1986.
- [11] 刘维志. 植物线虫学研究技术[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1995:1-87.
- [12] Lou Y L, Liang W J, Xu M G, et al. Straw coverage alleviates seasonal variability of the topsoil microbial biomass and activity [J]. Catena, 2011, 86(2):117-120.
- [13] 杨滨娟, 钱海燕, 黄国勤, 等. 秸秆还田及其研究进展[J]. 农学报, 2012, 3(5):1-4.
- [14] 张进良. 玉米秸秆还田对土壤中微生物群落的影响[J]. 湖北农业科学, 2013, 52(12):2745-2746.
- [15] 路怡青, 朱安宁, 张佳宝, 等. 免耕和秸秆还田对土壤酶活性和微生物群落的影响[J]. 土壤通报, 2014, 45(1):85-88.
- [16] 刘 娟, 田永强, 高丽红. 夏季填闲作物及秸秆还田对日光温室黄瓜连作土壤养分和微生物的影响[J]. 中国蔬菜, 2011(8):12-16.
- [17] 谭兆赞, 刘可星, 廖宗文. 生化腐植酸对土壤微生物多样性及番茄青枯病的影响[J]. 腐植酸, 2005(6):23-27.
- [18] 孔维栋, 刘可星, 廖宗文, 等. 不同腐熟程度有机物料对土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 生态学报, 2005, 25(9):2291-2296.
- [19] El - Nagdi W M A, Youssef M M A. Soaking faba bean seed in some bio - agents as prophylactic treatment for controlling *Meloidogyne incognita* root - knot nematode infection [J]. J Pest Sci, 2004, 77(2):75-78.
- [20] 杨思存, 霍 林, 王建成. 秸秆还田的生化他感效应研究初报[J]. 西北农业学报, 2005, 14(1):52-56.
- [21] 马永清, 毛仁钊, 刘孟雨, 等. 小麦秸秆的生化他感效应[J]. 生态学杂志, 1993, 12(5):36-38.
- [22] 喻景权. “十一五”我国设施蔬菜生产和科技进展及其展望[J]. 中国蔬菜, 2011, 1(2):11-23.
- [23] 张 赛, 王龙昌, 赵琳璐, 等. 温室栽培中秸秆还田方式对作物生长及土壤碳氮的影响[J]. 中国蔬菜, 2013(12):71-75.
- [24] 张亚丽, 吕家珑, 金继运, 等. 施肥和秸秆还田对土壤肥力质量及春小麦品质的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2012, 18(2):307-314.
- [25] 乔俊卿, 刘卮洲, 余 翔, 等. 集成生物防治和秸秆还田技术对设施番茄增产及土传病害防控效果研究[J]. 中国生物防治学报, 2013, 29(4):547-554.