



董亚新, 裴佳禾, 邵钰莹, 宗世祥, 侯泽海. 红脂大小蠹幼虫和成虫耐寒能力及耐寒物质的研究 [J]. 环境昆虫学报, 2021, 43 (4): 978–985.

# 红脂大小蠹幼虫和成虫耐寒能力及耐寒物质的研究

董亚新<sup>1</sup>, 裴佳禾<sup>1</sup>, 邵钰莹<sup>2</sup>, 宗世祥<sup>1</sup>, 侯泽海<sup>1\*</sup>

(1. 北京林业大学林木有害生物防治北京市重点实验室, 北京 100083; 2. 山东省潍坊市自然资源和规划局, 山东潍坊 261000)

**摘要:** 为明确红脂大小蠹 *Dendroctonus valens* LeConte 的耐寒能力以及主要耐寒物质, 对越冬期幼虫和成虫的过冷却点及冰点进行了测定, 同时对越冬期及非越冬期幼虫和成虫体内的抗冻保护物质进行了测定。结果表明, 越冬期幼虫和成虫的过冷却点差异不显著, 分别为  $-18.34 \pm 0.26^\circ\text{C}$  和  $-18.59 \pm 0.63^\circ\text{C}$ , 冰点差异显著, 分别为  $-10.17 \pm 0.36^\circ\text{C}$  和  $-15.90 \pm 0.70^\circ\text{C}$ 。越冬期幼虫体内脂肪、甘油、海藻糖和山梨醇含量均显著高于非越冬期幼虫, 水分、糖原和蛋白质含量差异不显著; 越冬期成虫体内糖原、甘油、海藻糖和山梨醇含量均显著高于非越冬期成虫, 水分、脂肪和蛋白质含量差异不显著。甘油、海藻糖、山梨醇是红脂大小蠹幼虫和成虫的主要抗冻保护物质, 在越冬过程中发挥重要作用; 此外, 脂肪在红脂大小蠹幼虫越冬过程中也发挥重要作用, 糖原在红脂大小蠹成虫越冬过程中发挥重要作用。

**关键词:** 红脂大小蠹; 越冬; 耐寒性; 过冷却点; 冰点

中图分类号: Q965; S433

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2021) 04-0978-08

## Cold tolerance and cold tolerant substances of larva and adult of *Dendroctonus valens* LeConte

DONG Ya-Xin<sup>1</sup>, PEI Jia-He<sup>1</sup>, SHAO Yu-Ying<sup>2</sup>, ZONG Shi-Xiang<sup>1</sup>, HOU Ze-Hai<sup>1\*</sup> (1. Beijing Key Laboratory for Forest Pest Control, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 2. Weifang Natural Resources and Planning Bureau, Weifang 261000, Shandong Province, China)

**Abstract:** To clarify the cold resistance capacity and main cold-tolerant substances of *Dendroctonus valens* LeConte, the supercooling point and freezing point of overwintering larvae and adults were measured, and the antifreeze in overwintering and non-overwintering larvae and adults protected substances were measured. Results showed that there was no significant difference between the supercooling point of larvae  $-18.34 \pm 0.26^\circ\text{C}$  and adults  $-18.59 \pm 0.63^\circ\text{C}$  in wintering period, whereas the freezing point was significantly different between larvae  $-10.17 \pm 0.36^\circ\text{C}$  and adults  $-15.90 \pm 0.70^\circ\text{C}$  in wintering period. The contents of fat, glycerol, trehalose and sorbitol in overwintering larvae were significantly higher than those in non-overwintering larvae, and there were no significant differences in the contents of water, glycogen and protein. The contents of glycogen, glycerol, trehalose and sorbitol in overwintering adults were significantly higher than those in non-overwintering adults, and there were no significant differences in water, fat and protein. The results showed that the glycerol, trehalose and sorbitol were the main antifreeze protective substances of the larvae and adults of *D. valens*, which may play an important role in

基金项目: 国家自然科学基金 (31870642)

作者简介: 董亚新, 女, 1994年生, 河北邯郸人, 硕士研究生, 主要研究方向为森林有害生物防控, E-mail: 1360350074@qq.com

\* 通讯作者 Author for correspondence: 侯泽海, 博士, 讲师, 主要研究方向为林业有害生物控制, E-mail: houzehai@bjfu.edu.cn

收稿日期 Received: 2020-05-15; 接受日期 Accepted: 2020-12-14

the overwintering period. Moreover, fat plays an important role in the overwintering period of larvae and glycogen plays an important role in the overwintering period of adults.

**Key words:** *Dendroctonus valens* LeConte; overwintering; cold tolerance; supercooling point; freezing point

红脂大小蠹 *Dendroctonus valens* LeConte 属鞘翅目 Coleoptera 小蠹科 Scolytidae 大小蠹属 *Dendroctonus*, 是我国重要的林业检疫性害虫。1998 年侵入我国山西阳城、沁水, 随后大面积爆发且呈逐步扩增趋势, 现已扩散至陕西、河南、河北、北京、辽宁、内蒙等地。其危害特性发生变化, 最初危害衰弱木和受伤木, 之后转移到活立木危害; 寄主也发生改变, 起初危害油松, 后逐渐危害白皮松等其他松类林木。2018 年, 在新入侵地内蒙古自治区首次发现樟子松受害, 且受害重于油松 (赵建兴等, 2009; 潘杰等, 2011; 刘漪舟, 2019)。随着红脂大小蠹危害面积的不断扩增, 有学者对其潜在适生区做出了预测, 结果表明, 在历史气候条件下, 该虫在我国的适生区域非常广泛, 其主要适生区为华南和中东部地区, 分布边界也很广泛, 可从云南分布至吉林; 而在未来气候条件下, 其适生区域逐步北移, 东北地区适生面积呈逐步扩大趋势, 温室效应更有利于其繁殖生存 (秦春英等, 2011; 王涛等, 2018; 崔晓芃等, 2019)。

昆虫属于变温动物, 越冬是昆虫必须要经过的环节, 耐寒能力的高低决定着昆虫能否安全越冬 (Leather *et al.*, 1993)。通常采用过冷却点和冰点来衡量昆虫耐寒能力的强弱, 昆虫的过冷却现象是指温度降至 0℃ 以下仍能保持体液不结冰, 而维持体液过冷却状态时的最低温度就称之为该虫的过冷却点 (Supercooling point, SCP); 当达到体液结冰的最低温度时, 昆虫体液因结冰便会放出热量, 使虫体内温度回升到近 0℃, 即为冰点 (景晓红和康乐, 2004; 霍鸣飞等, 2016)。昆虫在遇到低温环境或者进入越冬过程中, 一般会停止取食以降低自身的代谢速率。因此, 昆虫越冬需要消耗一些自身在越冬前积累的能量物质满足越冬期的生理生化代谢。已有研究表明, 昆虫体内的水分、脂肪、糖类、蛋白质及低分子糖醇等物质在昆虫越冬过程中发挥重要作用, 其中最重要的是糖原和脂肪两种物质 (欧阳芳和戈峰, 2014)。杨海博等 (2019) 研究表明重阳木锦斑蛾 *Hestia rhodope* Cramer 幼虫体重和脂肪含量在越冬

期间逐渐下降, 总蛋白质含量在越冬期间呈先升高后降低的趋势; 韩瑞东等 (2005) 认为赤松毛虫 *Dendrolimus spectabilis* Butler 越冬幼虫体内抗寒物质为小分子碳水化合物类 (山梨醇、海藻糖、葡萄糖)、糖蛋白以及氨基酸类; 而红珠绢蝶 *Parnassius bremeri* Bremer 幼虫和青杨脊虎天牛 *Xylotrechus rusticus* L. 幼虫的主要耐寒物质为甘油 (Li *et al.* 2014; Park *et al.* 2017)。因此, 明确越冬昆虫的耐寒能力以及与耐寒相关的生理生化指标, 可为来年种群发生趋势的准确预测以及制定科学的防治措施提供理论基础。

目前, 关于红脂大小蠹耐寒性的研究报道较少。赵建兴等 (2009) 对山西地区红脂大小蠹的耐寒能力进行了测定, 结果表明, 红脂大小蠹越冬幼虫的平均过冷却点为  $-11.98 \pm 2.55^{\circ}\text{C}$ , 是一种耐冰冻的昆虫, 但并未明确影响红脂大小蠹越冬的耐寒保护物质。本研究通过测定红脂大小蠹越冬期幼虫和成虫的过冷却点、冰点以及越冬期与非越冬期体内水分、脂肪、糖原、蛋白质、甘油、海藻糖和山梨醇的含量, 探究越冬期红脂大小蠹幼虫和成虫的耐寒能力以及主要耐寒物质, 为其防治提供理论基础和依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试虫源与环境温度

供试幼虫和成虫采自内蒙古自治区赤峰市宁城县黑里河镇的人工油松林, 采集时间为 2019 年 1 月 19 日 (越冬期) 和 2019 年 5 月 10 日 (非越冬期)。采集时, 把幼虫 (选用老熟幼虫) 和成虫单头装入 2 mL 离心管中 (离心管用针扎孔, 保证其呼吸顺畅) 避光保存, 从采集地带回实验室不超过 48 h。所有环境温度数据均通过中国气象科学数据共享网 (<http://www.cma.gov.cn/>) 获得。

### 1.2 测定方法

#### 1.2.1 过冷却点和冰点

采用“热电偶-高低温试验箱-过冷却点数据记录仪”连接设备测定红脂大小蠹幼虫和成虫的过冷却点及冰点 (邵钰莹等, 2017)。首先, 用

封口膜包裹红脂大小蠹幼虫和成虫虫体将其固定在过冷却点探针上。然后,将固定好的虫体和探针共同放入 $-40^{\circ}\text{C}$ 至 $150^{\circ}\text{C}$ 的高低温试验箱(北京雅士林试验设备有限公司)中设置恒温 $-30^{\circ}\text{C}$ ,并用保护材料(脱脂棉)包裹虫体,使虫体保持缓慢的速率(约 $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ )持续降温。最后,由昆虫过冷却点测试系统通过计算机软件记录红脂大小蠹幼虫与成虫体表温度的变化,测出1月幼虫和成虫的过冷却点以及冰点。幼虫和成虫各测定30头。

### 1.2.2 含水率

用电子天平(AB204-S, METTLER TOLEDO, 精确至 $0.0001\text{ g}$ )分别测定单头幼虫和成虫鲜重(FW),然后将单头幼虫和成虫放入 $2\text{ mL}$ 离心管中,之后放入 $60^{\circ}\text{C}$ 的烘箱中干燥 $72\text{ h}$ 至恒重,再分别测定其干重(DW)。含水量计算公式为: $(\text{FW}-\text{DW})/\text{FW}\times 100\%$ 。

### 1.2.3 脂肪含量

采用氯仿-甲醇法测定总脂肪的含量(Ouyang *et al.*, 2011)。将烘干后的幼虫和成虫分别置于 $2\text{ mL}$ 离心管中称重(DM),用研磨棒将其研磨成粉末,加入 $1\text{ mL}$ 氯仿-甲醇混合液(chloroform:methanol=2:1)混匀, $2\text{ 600 g}$ 低速离心 $10\text{ min}$ ,移除上清液。再加入 $1\text{ mL}$ 氯仿-甲醇混合液,重复两次。剩余物放入 $60^{\circ}\text{C}$ 烘箱中干燥 $72\text{ h}$ 至恒重(LDM)。总脂肪含量计算公式为: $(\text{DM}-\text{LDM})/\text{DM}\times 100\%$ 。

### 1.2.4 糖原含量

采用蒽酮比色法测定糖原含量。利用强碱性提取液提取糖原,在强酸性条件下利用蒽酮显色剂测定糖原含量,反应后的溶液在 $620\text{ nm}$ 处有最大吸收值。

### 1.2.5 蛋白浓度

采用Bicinchoninic acid法(BCA法)测定蛋白质浓度。碱性条件下,蛋白将 $\text{Cu}^{2+}$ 还原成 $\text{Cu}^{+}$ , $\text{Cu}^{+}$ 与BCA试剂形成紫色的络合物, $562\text{ nm}$ 处有最大吸收峰,根据吸光度与浓度成正比,通过测吸光度即可计算待测蛋白的浓度。

### 1.2.6 甘油浓度

采用甘油含量测试盒测定甘油浓度。在ATP存在下甘油被甘油激酶磷酸化为3-磷酸甘油,再被甘油磷酸氧化酶氧化产生过氧化氢;在过氧化氢酶作用下生成底物转化为苯醌亚胺,光密度值与甘油浓度成正比。

### 1.2.7 海藻糖含量

采用蒽酮比色法进行测定。在强酸性条件下利用蒽酮显色剂测定海藻糖含量,反应后的溶液在 $620\text{ nm}$ 处有最大吸收值。

### 1.2.8 山梨醇含量

采用分光光度法测定山梨醇含量。山梨醇在碱性溶液中与铜离子形成蓝色络合物,在 $655\text{ nm}$ 波长有特殊吸收峰。

以上各物质测定每组幼虫10个重复,每头为一个重复;成虫5个重复,每头为一个重复。其中糖原、海藻糖和山梨醇含量采用分光光度法试剂盒(苏州科铭生物有限公司)进行测定;蛋白和甘油浓度采用微量酶标法试剂盒(南京建成生物工程研究所)进行测定。

### 1.3 数据分析

采用SPSS Statistics 21进行独立样本t检验,并采用Graph Pad 7作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 环境气温的季节性变化

采集地点月平均气温及月平均最低气温如图1所示(2018年9月至2019年5月)。1月(红脂大小蠹越冬期)平均气温为 $-12.1^{\circ}\text{C}$ ,1月平均最低气温 $-18.7^{\circ}\text{C}$ ,为全年最低。5月(非越冬期)平均气温为 $18.7^{\circ}\text{C}$ ,5月平均最低气温为 $11.2^{\circ}\text{C}$ (图1)。

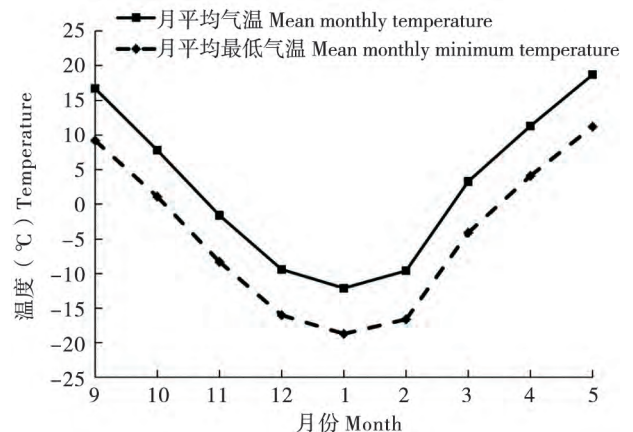


图1 红脂大小蠹采集地的月平均温度及月平均最低温度  
Fig. 1 Mean monthly temperature and mean monthly minimum temperature at the collection site of *Dendroctonus valens*

## 2.2 过冷却点和冰点

结果表明, 1 月幼虫和成虫的过冷却点差异不显著 ( $t = 0.359$ ,  $df = 53$ ,  $P > 0.05$ ), 幼虫和成虫过冷却点的极差值分别为  $6.1^{\circ}\text{C}$  和  $11.1^{\circ}\text{C}$ 。1 月幼

虫的冰点显著高于成虫 ( $t = 7.279$ ,  $df = 53$ ,  $P < 0.05$ ), 幼虫和成虫冰点的极差值分别为  $9.7^{\circ}\text{C}$  和  $13.6^{\circ}\text{C}$  (表 1)。

表 1 越冬期红脂大小蠹成虫和幼虫的过冷却点和冰点

Table 1 Supercooling point (SCP) and freezing point (FP) of overwintering larvae and adults of *Dendroctonus valens*

| 虫态<br>Stage | 样本数<br>Sample number | 过冷却点 ( $^{\circ}\text{C}$ ) Supercooling point |            |            | 冰点 ( $^{\circ}\text{C}$ ) Freezing point |            |            |
|-------------|----------------------|--|------------|------------|--|------------|------------|
|             |                      | 平均值 $\pm$ 标准差<br>Mean $\pm$ SD                 | 最大值<br>Max | 最小值<br>Min | 平均值 $\pm$ 标准差<br>Mean $\pm$ SD           | 最大值<br>Max | 最小值<br>Min |
| 幼虫 Larva    | 30                   | $-18.34 \pm 1.45$ a                            | -15.6      | -21.7      | $-10.17 \pm 1.97$ b                      | -6.5       | -16.2      |
| 成虫 Adult    | 25                   | $-18.59 \pm 3.14$ a                            | -13.4      | -24.5      | $-15.90 \pm 3.50$ a                      | -9.8       | -23.4      |

注: 同列数据后不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。Note: Different lowercase letters in the same column indicated significant difference ( $P < 0.05$ ).

## 2.3 不同越冬时期幼虫和成虫体内物质含量

越冬期 (1 月) 幼虫和非越冬期 (5 月) 幼虫体内甘油 ( $t = 12.038$ ,  $df = 10$ ,  $P < 0.05$ ) (图 2-A)、海藻糖 ( $t = 4.091$ ,  $df = 12$ ,  $P < 0.05$ ) (图 2-B)、山梨醇 ( $t = 2.812$ ,  $df = 12$ ,  $P < 0.05$ ) (图 2-C)、脂肪 ( $t = 4.365$ ,  $df = 16$ ,  $P < 0.05$ ) (图 2-D) 含量均存在显著差异。甘油浓度从越冬期的  $1031.67 \pm 80.20 \mu\text{mol/L}$  降至非越冬期的  $64.27 \pm 5.18 \mu\text{mol/L}$ ; 海藻糖含量从  $52.99 \pm 5.93 \text{ mg/g}$  降至  $28.19 \pm 1.28 \text{ mg/g}$ ; 山梨醇含量从  $25.60 \pm 3.84 \text{ mg/g}$  降至  $15.82 \pm 0.98 \text{ mg/g}$ ; 脂肪含量从  $1.49\% \pm 0.14\%$  降至  $0.71\% \pm 0.11\%$ 。然而, 糖原 ( $t = 1.292$ ,  $df = 16$ ,  $P > 0.05$ ) (图 2-E)、蛋白质 ( $t = 1.525$ ,  $df = 15$ ,  $P > 0.05$ ) (图 2-F)、水分 ( $t = -1.841$ ,  $df = 18$ ,  $P > 0.05$ ) (图 2-G) 含量在越冬期和非越冬期幼虫中差异不显著。

成虫甘油 (越冬期:  $631.77 \pm 112.65 \mu\text{mol/L}$ ; 非越冬期:  $89.99 \pm 12.25 \mu\text{mol/L}$ ;  $t = 4.781$ ,  $df = 4$ ,  $P < 0.05$ ) (图 2-A)、海藻糖 (越冬期:  $24.13 \pm 2.06 \text{ mg/g}$ ; 非越冬期:  $9.03 \pm 0.73 \text{ mg/g}$ ;  $t = 7.894$ ,  $df = 10$ ,  $P < 0.05$ ) (图 2-B) 和山梨醇 (越冬期:  $37.38 \pm 1.82 \text{ mg/g}$ ; 非越冬期:  $14.55 \pm 2.78 \text{ mg/g}$ ;  $t = 5.802$ ,  $df = 6$ ,  $P < 0.05$ ) (图 2-C) 含量在越冬期也均显著高于非越冬期。此外, 成虫糖原含量在越冬期显著高于非越冬期 (越冬期:  $21.55 \pm 1.93 \text{ mg/g}$ ; 非越冬期:  $13.30 \pm 1.41 \text{ mg/g}$ ;  $t = 3.456$ ,  $df = 8$ ,  $P < 0.05$ ) (图 2-E)。然而, 越冬期成虫和非越冬期成虫脂肪 ( $t = -1.033$ ,  $df = 8$ ,  $P > 0.05$ ) (图 2-D)、蛋白质

( $t = -1.119$ ,  $df = 8$ ,  $P > 0.05$ ) (图 2-F)、水分 ( $t = -0.184$ ,  $df = 17$ ,  $P > 0.05$ ) (图 2-G) 含量差异均不显著。

## 3 结论与讨论

### 3.1 过冷却点与红脂大小蠹耐寒性

生活在温带的昆虫要经历漫长的冬季, 越冬期昆虫过冷却点的高低是衡量昆虫耐寒能力的重要指标 (Sømme *et al.*, 1999), 过冷却点越低, 耐寒能力就越强, 存活率就越高 (Lee, 1991; 冯宇倩等, 2015)。花绒寄甲 *Dastarcus helophoroides* Fairmaire 野生种群的过冷却点平均为  $-23.9^{\circ}\text{C}$ , 最低可达到  $-27.3^{\circ}\text{C}$ , 表明花绒寄甲在我国大多数地区可以顺利越冬 (魏建荣等, 2010)。凹唇壁蜂 *Osmia excavata* Alfken 越冬成虫滞育阶段和非滞育阶段的过冷却点分别为  $-26.48^{\circ}\text{C}$  和  $-18.4^{\circ}\text{C}$ , 表明凹唇壁蜂在我国北方大部分地区可安全越冬 (魏永平等, 2001)。有研究表明沙葱萤叶甲 *Galeruca daurica* Joannis 不同发育阶段的过冷却点存在显著差异, 卵的过冷却点最低, 为  $-29.8 \pm 0.88^{\circ}\text{C}$ , 解释了其以卵进行越冬的原因 (李浩等, 2014)。本研究结果表明, 红脂大小蠹越冬幼虫的过冷却点平均为  $-18.34 \pm 0.26^{\circ}\text{C}$ , 越冬成虫的过冷却点平均为  $-18.59 \pm 0.63^{\circ}\text{C}$ , 说明红脂大小蠹越冬幼虫和成虫均通过降低其自身的过冷却点来提高耐寒能力, 且均可在最低环境气温下存活。赵建兴等 (2009) 研究结果表明, 山西地区的红脂大小蠹越冬幼虫的平均过冷却点为  $-11.98 \pm 2.55^{\circ}\text{C}$ ,

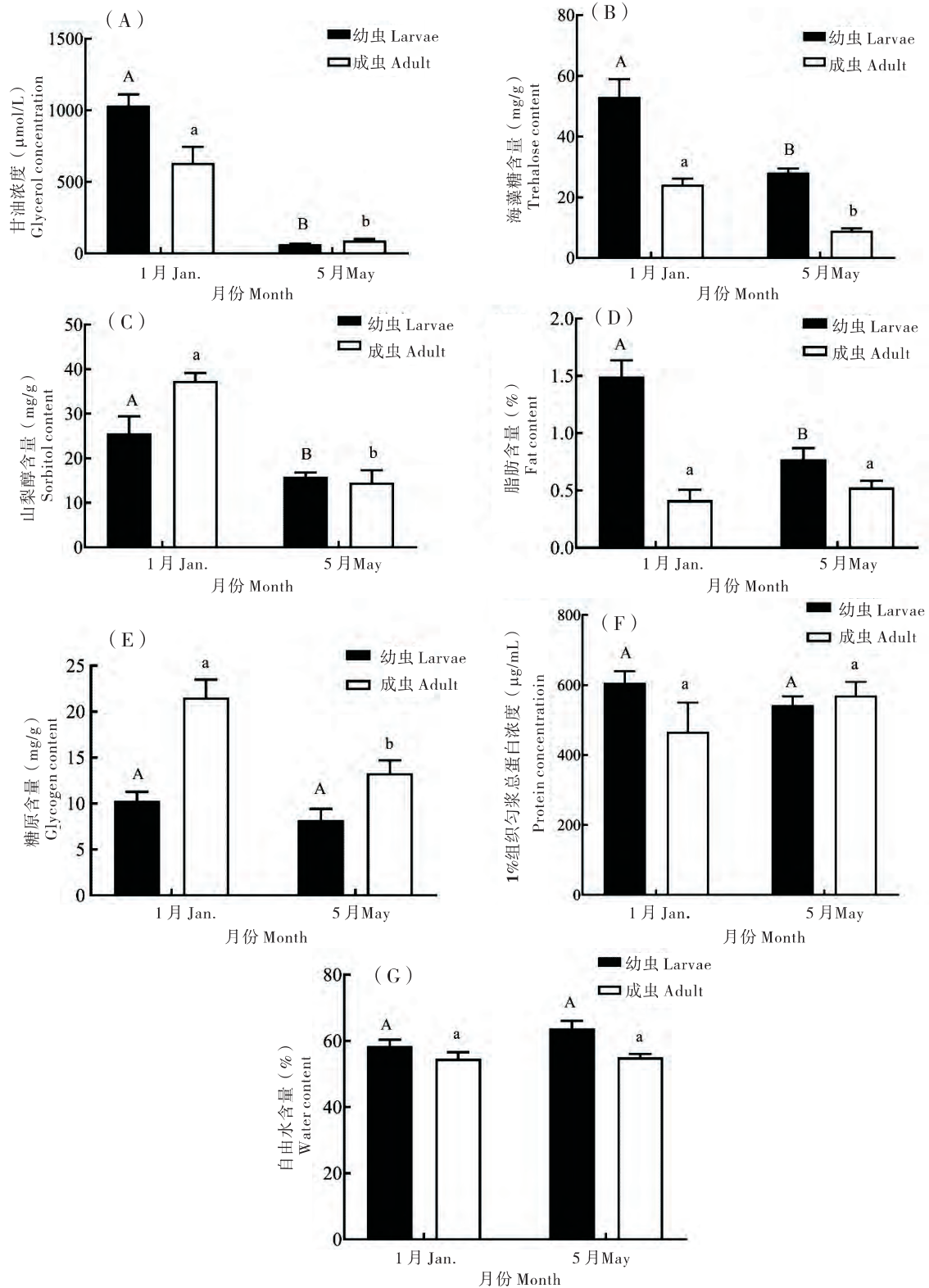


图2 红脂大小蠹幼虫和成虫不同越冬时期体内各物质含量

Fig. 2 Contents of various substances in the larvae and adults of *Dendroctonus valens* at different wintering periods

注: (A), 甘油; (B), 海藻糖; (C), 山梨醇; (D), 脂肪; (E), 糖原; (F), 蛋白质; (G), 自由水。同一小图内不同大写字母表示越冬期幼虫和非越冬期幼虫存在显著差异 ( $P < 0.05$ ); 同一小图内不同小写字母表示越冬期成虫和非越冬期成虫存在显著差异 ( $P < 0.05$ )。Note: (A), Glycerol; (B), Trehalose; (C), Sorbitol; (D), Fat; (E), Glycogen; (F), Protein; (G), Water. Different capital letters in the same small picture indicated that there were significant differences between overwintering larvae and non-overwintering larvae; Different lowercase letters in the same small picture indicated that there were significant differences between overwintering adults and non-overwintering adults.

而本研究结果表明赤峰地区的红脂大小蠹越冬幼虫的过冷却点可达  $-18.34 \pm 0.26^{\circ}\text{C}$ , 表明红脂大小蠹赤峰种群比山西种群耐寒能力更强。

### 3.2 体内生化物质与红脂大小蠹耐寒性

越冬期昆虫会贮藏大量营养物质, 以满足越冬需求。大多数昆虫会通过降低体内水分含量、储存脂肪等增强抗寒能力, 如华山松大小蠹 *Dendroctonus armandi* Tsai and Li、日本龟蜡蚧 *Ceroplastes japonicus* Green 等 (Worland, 2003; 徐丽荣等, 2012; 刘兆良等, 2017; Wang *et al.*, 2017)。本研究结果表明, 红脂大小蠹幼虫和成虫在越冬期与非越冬期含水量均差异不显著, 但越冬期幼虫平均含水量为  $58.43\% \pm 1.94\%$ , 非越冬期为  $63.84\% \pm 2.21\%$ , 说明越冬期含水量还是有一定的降低。此外, 越冬期幼虫体内脂肪含量显著高于非越冬期幼虫, 脂肪含量从越冬期的  $1.49\% \pm 0.14\%$  下降至非越冬期的  $0.71\% \pm 0.11\%$ , 说明红脂大小蠹幼虫在越冬期积累脂肪进行代谢来维持生存。

糖原是昆虫越冬期最直接的物质, 其含量随温度降低而逐渐增加 (强承魁等, 2008; 杨海博等, 2019)。此外, 总糖含量也可作为昆虫耐寒能力强弱的指标, 其含量在越冬前和越冬期均高于越冬后期 (Bemani *et al.*, 2012; Behroozi *et al.*, 2012; 刘兆良等, 2017; 杨海博等, 2019)。本研究结果表明, 越冬期幼虫与非越冬期幼虫体内糖原含量无显著差异, 而越冬期成虫与非越冬期成虫体内糖原含量存在显著差异, 糖原含量从越冬期的  $21.55 \pm 1.93 \text{ mg/g}$  降至非越冬期的  $13.30 \pm 1.41 \text{ mg/g}$ , 这可能是由于成虫在越冬期代谢需要更多的能量, 说明糖原在红脂大小蠹成虫越冬过程中起着非常重要的作用。

蛋白质是生命的物质基础, 也是昆虫越冬的重要耐寒物质, 例如重阳木锦斑蛾、赤松毛虫等昆虫在越冬前期蛋白质含量较低, 1 月含量最高, 随后含量呈下降趋势 (韩瑞东等, 2005; 杨海博等, 2019)。而本研究结果表明, 红脂大小蠹幼虫和成虫在越冬期与非越冬期蛋白质含量均无显著差异, 说明蛋白质在红脂大小蠹越冬过程中可能并没有起到重要作用。

昆虫在越冬期体内会聚集大量小分子抗冻保护剂, 目前已知的小分子抗寒物质有甘油、山梨醇、甘露醇、五碳多元醇、葡萄糖、海藻糖、果糖以及一些氨基酸和脂肪酸 (陈豪等, 2010; 史彩

华等, 2016)。长角血蜱 *Haemaphysalis longicornis* Neumann 滞育卵越冬抗冻保护剂主要是山梨醇和甘油, 二化螟 *Chilo suppressalis* Walker 越冬期主要抗寒物质是甘油 (徐淑等, 2009; Yu *et al.*, 2014)。本研究结果表明, 越冬期幼虫和成虫体内甘油、海藻糖和山梨醇含量均显著高于非越冬期幼虫和成虫。因此, 甘油、海藻糖和山梨醇很可能是红脂大小蠹越冬的主要耐寒物质, 在耐寒过程中发挥着重要作用。

本研究对采自油松的红脂大小蠹过冷却点及冰点进行测定, 表明红脂大小蠹幼虫和成虫均可忍受较低的温度并安全越冬。此外, 揭示了甘油、海藻糖和山梨醇可能是红脂大小蠹的主要抗冻保护物质; 脂肪和糖原也可能分别在红脂大小蠹幼虫和成虫越冬过程中发挥作用。红脂大小蠹传入我国以后, 除了危害油松, 也逐渐危害白皮松、樟子松等。不同寄主中红脂大小蠹的耐寒能力及耐寒物质是否存在差异, 还有待深入探究。

### 参考文献 (References)

- Behroozi E, Izadi H, Samih MA, *et al.* Physiological strategy in overwintering larvae of pistachio white leaf borer, *Ocneria terebinthina* Strg. (Lepidoptera: Lymantriidae) in Rafsanjan, Iran [J]. *Italian Journal of Zoology*, 2012, 79 (1): 44-49.
- Bemani M, Izadi H, Mahdian K, *et al.* Study on the physiology of diapause, cold hardiness and supercooling point of overwintering pupae of the pistachio fruit hull borer, *Arimania comaroffi* [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2012, 58 (7): 897-902.
- Chen H, Liang GM, Zou LY, *et al.* Research progresses in the cold hardiness of insects [J]. *Plant Protection*, 2010, 36 (2): 18-24. [陈豪, 梁革梅, 邹朗云, 等. 昆虫抗寒性的研究进展 [J]. 植物保护, 2010, 36 (2): 18-24]
- Cui XP, Shi J, Wang HX, *et al.* Prediction of *Dendroctonus valens* in China based on the MaxEnt model [J]. *Journal of Plant Protection*, 2019, 46 (4): 925-926. [崔晓芃, 石娟, 王海香, 等. 基于 MaxEnt 模型的红脂大小蠹在中国适生区的预测 [J]. 植物保护学报, 2019, 46 (4): 925-926]
- Feng YQ, Li WB, Luo YQ, *et al.* Cold-hardiness of overwintering *Asias halodendri* larvae [J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2015, 24 (12): 175-180. [冯宇倩, 李文博, 骆有庆, 等. 红缘天牛越冬幼虫耐寒性研究 [J]. 西北农业学报, 2015, 24 (12): 175-180]
- Han RD, Sun XG, Xu YY, *et al.* The biochemical mechanism of cold-hardiness in overwintering larva of *Dendrolimus spectabilis* Butler (Lepidoptera: Lasiocampidae) [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25 (6): 1352-1356. [韩瑞东, 孙绪良, 许永玉, 等. 赤松毛虫越冬幼虫生化物质变化与抗寒性的关系 [J]. 生态学报, 2005, 25 (6): 1352-1356]



- Huo MF, Lv JH, Liu SL, *et al.* Effect of different low temperature acclimation on supercooling point and freezing point of important stored grain insects [J]. *Journal of Henan University (Natural Science)*, 2016, 46 (6): 665–669. [霍鸣飞, 吕建华, 刘淑丽. 不同低温驯化处理对重要储粮害虫过冷却点和冰点的影响 [J]. 河南大学学报 (自然科学版), 2016, 46 (6): 665–669]
- Jing XH, Kang L. Overview and evaluation of research methodology for insect cold hardiness [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2004, 40 (1): 7–10. [景晓红, 康乐. 昆虫耐寒性的测定与评价方法 [J]. 昆虫知识, 2004, 40 (1): 7–10]
- Li JW, Luo YQ. Thermal Tolerance, Cold Hardness and the Leading Physiological Variation of Grey Tiger Long-horned Beetle (*Xylotrechus rusticus* Linnaeus) [C]. Nanjing: Proceedings of the 4<sup>th</sup> International Conference of Insect Physiology, Biochemistry and Molecular Biology, 2013: 93–94.
- Leather SR, Walters KFA, Bale JS. The Ecology of Insect Overwintering [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1993.
- Lee R, Jr. Principles of insect low temperature tolerance In: R. Lee, Jr. and D. Denlinger eds: *Insects at Low Temperature* [M]. US: Springer, 1991: 17–46.
- Li H, Zhou XR, Pang BP, *et al.* Supercooling capacity and cold hardiness of *Galeruca daurica* (Coleoptera: Chrysomelidae) [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2014, 57 (2): 212–217. [李浩, 周晓榕, 庞保平, 等. 沙葱萤叶甲的过冷却能力与抗寒性 [J]. 昆虫学报, 2014, 57 (2): 212–217]
- Liu YZ. A preliminary Study on the Relationship between the Occurrence of *Dendroctonus valens* and the Species Diversity of Communities in the Early Stage of Invasion [D]. Beijing: Beijing forestry University, 2019. [刘漪舟. 入侵早期红脂大小蠹发生与群落物种多样性关系的初步研究 [D]. 北京: 北京林业大学, 2019]
- Liu ZL, Yuan ZL, Luo L. Changes in the cold hardiness and contents of the related biochemical substances in female adults of *Ceroplastes japonicus* (Hemiptera: Coccoidea) before and after overwintering [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2017, 60 (1): 120–126. [刘兆良, 袁志林, 罗兰. 日本龟蜡蚧雌成虫越冬前后耐寒性及相关生化物质含量的变化 [J]. 昆虫学报, 2017, 60 (1): 120–126]
- Ouyang F, Ge F. Determination and analysis of antifreeze and cold resistance of insects [J]. *Journal of Applied Entomology*, 2014, 51 (6): 1646–1652. [欧阳芳, 戈峰. 昆虫抗冻耐寒能力的测定与分析方法 [J]. 应用昆虫学报, 2014, 51 (6): 1646–1652]
- Ouyang F, Liu ZD. Effects of transgenic Bt cotton on overwintering characteristics *Helicoverpa armigera* [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2011, 57: 153–160.
- Park Y, Kim Y, Park GW, *et al.* Supercooling capacity along with up-regulation of glycerol content in an overwintering butterfly, *Parnassius bremeri* [J]. *Journal of Asia Pacific Entomology*, 2017, 20 (3): 949–954.
- Pan J, Wang T, Zong SX, *et al.* Geostatistical analysis and sampling technique on spatial distribution pattern of *Dendroctonus valens* population [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31 (1): 195–202. [潘杰, 王涛, 宗世祥, 等. 红脂大小蠹种群空间格局地统计学分析及抽样技术 [J]. 生态学报, 2011, 31 (1): 195–202]
- Qiang CK, Du YZ, Yu YL, *et al.* Dynamic changes of cold-resistant substances of overwintering *Chilo suppressalis* (Walker) larvae [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19 (3): 599–605. [强承魁, 杜予州, 于玲雅, 等. 水稻二化螟越冬幼虫耐寒性物质的动态变化 [J]. 应用生态学报, 2008, 19 (3): 599–605]
- Qin CY, Zhao GX, Li Z, *et al.* Analysis of the impact of climate change on the survival of *Dendroctonus valens* [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2011, 27 (19): 38–43. [秦春英, 赵桂香, 李峥, 等. 气候变化对红脂大小蠹生存的影响分析 [J]. 中国农学通报, 2011, 27 (19): 38–43]
- Shao YY, Feng YQ, Tian B, *et al.* Effects of cold acclimation on the supercooling point and major cold hardiness chemicals of overwintering *Dendrolimus tabulaeformis* larvae [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2017, 54 (6): 961–970. [邵钰莹, 冯宇倩, 田斌, 等. 冷驯化对油松毛虫越冬幼虫过冷却点及主要耐寒物质的影响 [J]. 应用昆虫学报, 2017, 54 (6): 961–970]
- Shi CH, Hu JR, Li CR, *et al.* Research progress in the cold tolerance mechanism of insects under environmental stress [J]. *Plant Protection*, 2016, 42 (6): 21–28. [史彩华, 胡静荣, 李传仁, 等. 环境胁迫下昆虫的耐寒适应机制研究进展 [J]. 植物保护, 2016, 42 (6): 21–28]
- Sømme L. The physiology of cold hardiness in terrestrial arthropods [J]. *European Journal of Entomology*, 1999, 96 (1): 1–10.
- Wang J, Guo GQ, Zhang RR. Metabolism and cold tolerance of Chinese white pine beetle *Dendroctonus armandi* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) during the overwintering period [J]. *Agricultural and Forest Entomology*, 2017, 19 (1): 10–22.
- Wang T, Ge XZ, Zong SX. Predicting the potential distribution in China of *Dendroctonus valens* Leconte [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2018, 40 (4): 758–768. [王涛, 葛雪贞, 宗世祥. 气候变化条件下红脂大小蠹在中国的潜在适生区预测 [J]. 环境昆虫学报, 2018, 40 (4): 758–768]
- Wei JR, Wang SY, Niu YL, *et al.* Cold tolerance of *Dastarcus helophoroides* [J]. *Forest Pest and Disease*, 2010, 29 (5): 19–21. [魏建荣, 王素英, 牛艳玲, 等. 花绒寄甲耐寒性研究 [J]. 中国森林病虫, 2010, 29 (5): 19–21]
- Wei YP, Yuan F, Zhang YL. The resistance and reproductive potential of *Osmia excavata* Alfken [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2001, 38 (2): 122–124. [魏永平, 袁锋, 张雅林. 凹唇壁蜂的耐寒性及生殖潜力研究 [J]. 应用昆虫学报, 2001, 38 (2): 122–124]
- Worland M R, Block W. Desiccation stress at sub-zero temperatures in polar terrestrial arthropods [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2003, 49 (3): 193–203.
- Xu LR, He KL, Wang ZY. Studies on variation in cold hardiness in relation to the in vivo water, lipid, and sugar content of *Conogethes*

- punctiferalis* (Guenée) larvae living on three different host plant species [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2012, 49 (1): 197–204. [徐丽荣, 何康来, 王振营. 不同寄主上桃蛀螟越冬幼虫体内生化物质变化与抗寒性研究 [J]. *应用昆虫学报*, 2012, 49 (1): 197–204]
- Xu S, Zhou XM, Zeng J, et al. Cold hardiness of overwintering larvae of *Chilo suppressalis* at different ages [J]. *Acta Phytophylacica Sinica*, 2009, 36 (1): 11–15. [徐淑, 周兴苗, 曾俊, 等. 二化螟不同年龄段越冬幼虫的耐寒性比较 [J]. *植物保护学报*, 2009, 36 (1): 11–15]
- Yang HB, Hu ZJ, Dong JF, et al. Changes in the cold hardiness of overwintering larvae of *Histia rhodope* (Lepidoptera: Zygaenidae) [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2019, 62 (8): 979–986. [杨海博, 胡镇杰, 董钧锋, 等. 重阳木锦斑蛾越冬幼虫的耐寒性变化 [J]. *昆虫学报*, 2019, 62 (8): 979–986]
- Yu ZJ, Lu YL, Yang XL, et al. Cold hardiness and biochemical response to low temperature of the unfed bush tick *Haemaphysalis longicornis* (Acari: Ixodidae) [J]. *Para-sites & Vectors*, 2014, 7 (1): 1–7.
- Zhao JX, Yang ZQ, Gregoire, JC. The cold-hardiness of *Dendroctonus valens* (Coleoptera, Scolytidae) and *Rhizophagus grandis* (Coleoptera, Rhizophagidae) [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2009, 31 (1): 20–28.