



刘敏, 孙程鹏, 黄海广, 刘爱萍, 韩海斌. 茶足柄瘤蚜茧蜂滞育蛹与非滞育蛹体内主要生化物质浓度比较 [J]. 环境昆虫学报, 2022, 44 (3): 689–696.

茶足柄瘤蚜茧蜂滞育蛹与非滞育蛹体内 主要生化物质浓度比较

刘 敏¹, 孙程鹏¹, 黄海广², 刘爱萍^{1*}, 韩海斌^{1*}

(1. 中国农业科学院草原研究所, 呼和浩特 010010; 2. 内蒙古自治区林业科学研究院, 呼和浩特 010000)

摘要: 本研究旨在明确茶足柄瘤蚜茧蜂 *Lysiphlebus testaceipes* 滞育蛹与非滞育蛹体内生化物质浓度和保护酶活性的差异, 为进一步探索茶足柄瘤蚜茧蜂滞育调控的分子机制提供依据。通过控制温光环境获得茶足柄瘤蚜茧蜂滞育蛹和非滞育蛹, 并对滞育蛹设置不同滞育处理时间 (滞育时间为 30 d、45 d、60 d 和 75 d), 最终共设置 4 个滞育处理与 1 个非滞育处理, 分别测定蛹体内主要糖类、醇和蛋白等生化物质的浓度以及过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 3 种保护酶的活性, 并完成对比研究。总糖、海藻糖、甘油、总蛋白浓度在滞育蛹与非滞育蛹中存在显著差异, 而糖原与山梨醇则没有明显差异。在滞育过程中 POD、CAT 和 SOD 活性随着滞育时间的延长, 逐渐增强, 当滞育时间达到 60 d 时, 酶活性最高。茶足柄瘤蚜茧蜂蛹由非滞育进入滞育状态过程中, 通过调节自身生理代谢使其体内糖类、醇等有机物浓度升高, 蛋白质浓度下降, 保护酶活性明显增强, 从而显著提高其抗低温的能力, 以有效应对不利的环境条件。

关键词: 茶足柄瘤蚜茧蜂; 滞育时间; 生化物质; 浓度变化

中图分类号: Q968.1; S433

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2022) 03-689-08

Comparison of the contents of main biochemical substances between the diapausing and non-diapausing pupae of *Lysiphlebus testaceipes*

LIU Min¹, SUN Cheng-Peng¹, HUANG Hai-Guang², LIU Ai-Ping^{1*}, HAN Hai-Bin^{1*} (1. Grassland Research Institute, China Academy of Agricultural Sciences, Hohhot 010000, China; 2. Inner Mongolia Autonomous Region Forestry Science Research Institute, Hohhot 010000, China)

Abstract: This study aimed to ascertain the difference in the contents of biochemical substances and protective enzyme activities between the diapausing and non-diapausing pupae of *Lysiphlebus testaceipes* so as to provide a basis for further exploring the molecular mechanism of diapause regulation. By controlling the temperature and light environment, we obtained diapause and non-diapause pupae, at the meantime we set different diapause treatment time for diapause pupae (duration of diapause was 30 d, 45 d, 60 d and 75 d), finally, 4 diapause treatments and 1 non-diapause treatment were set up. The contents of main biochemical substances including carbohydrate, alcohols and protein, and the activities of protective enzymes including peroxidase (POD), catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) between the diapausing and non-diapausing pupae were assayed and compared. The contents of total sugar, trehalose, glycerol and total protein were significantly different in diapause pupae and non-

基金项目: 国家重点研发项目 (2017YFD02010000); 国家重点研发项目政府间国际科技创新合作重点专项 (2017YFE0104900)

作者简介: 刘敏, 硕士, 研究方向为害虫生物防治, E-mail: lm18883338543@163.com

* 共同通讯作者 Author for correspondence: 刘爱萍, 硕士, 研究员, 主要研究方向为害虫生物防治, E-mail: liuaiping806@sohu.com; 韩海斌, 博士, 副研究员, 主要研究方向为害虫生物防治, E-mail: hhb.25@163.com

收稿日期 Received: 2021-11-12; 接受日期 Accepted: 2022-01-12

deapause pupae, but there was no difference between glycogen and sorbitol. During the diapause process, POD, CAT, and SOD activity gradually increased as the diapause time increased, and when the diapause time reached 60 days, the enzyme activity was the highest. During the process of *L. testaceipes* pupae entering diapause state from non-diapause, the contents of biochemical substances like carbohydrates and alcohols were significantly increased, protein were decreased and the activities of some protective enzymes were significantly enhanced by the regulation of physiological metabolism, which in turn significantly improved low temperature resistance to effectively cope with adverse environmental conditions.

Key words: *Lysiphlebus testaceipes*; duration of diapause; biochemical substances; change of content

滞育 (diapause) 是节肢动物中广泛存在的一种适应不利生存环境的遗传现象 (Tauber *et al.*, 1986; Saunders, 2012)。滞育对于昆虫来说, 有着积极的意义。昆虫可以通过进入滞育状态来度过不良环境, 从而使个体在不利条件下仍能继续存活, 还可以保持种群发育整齐, 使交配率得以提高, 以确保种群的繁衍 (王满囤和李周直, 2004)。滞育的昆虫, 在较长一段时间内会处于发育缓慢或发育停滞的状态, 具体表现为不食不动。环境的变化会引起昆虫体内生化物质的改变, 正是由于这样的原因, 才导致了昆虫发育速度的减缓 (徐卫华, 2008)。昆虫的滞育与生化物质的种类及浓度密切相关, 这些生化物质包括糖、醇类物质、蛋白质、酶等。当昆虫处于不利于其生存的环境条件, 这些生化物质能够为机体的发育需求提供保障 (王满囤和李周直, 2004)。有研究认为, 滞育和滞育解除可以依靠昆虫体内生化物质浓度的变化来进行区分 (高玉红等, 2006)。明确茶足柄瘤蚜茧蜂 *Lysiphlebus testaceipes* 滞育过程中体内生化物质浓度的变化和保护酶活性的差异, 为进一步探索茶足柄瘤蚜茧蜂滞育调控的分子机制提供依据。

作为重要的能源物质, 糖类与昆虫的生命活动密不可分, 同时糖类也是一些代谢途径中的中间产物。研究发现, 糖类物质与昆虫滞育也存在着一定的关系, 糖原与海藻糖在滞育阶段就有明显变化。滞育状态的昆虫, 体内的主要能源物质就是糖原, 而糖原也重要的抗冻保护剂; 海藻糖在维持蛋白结构稳定与保持细胞膜完整方面起到重要作用 (任小云等, 2016)。随着滞育时长的变化, 昆虫体内的糖类物质也会发生变化。糖原浓度在烟蚜茧蜂 *Aphidius gifuensis* 滞育期间呈线性下降, 海藻糖浓度呈倒“U”型变化 (李玉艳, 2011)。鞭角华扁叶蜂 *Chinolyda flagellicornis* 在滞

育过程中, 血淋巴中的糖原逐渐减少, 海藻糖浓度逐渐增加, 在滞育前期, 海藻糖与糖原相互转化, 同时发现滞育阶段及温度与这种转化关系有关 (王满囤和李周直, 2002)。斑蛾 *Zygaen trlfolii* 进入滞育后糖原是最重要的能源物质, 在滞育虫体中糖原浓度是非滞育虫体的 2 倍多 (Wipking *et al.*, 1995)。糖原是棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 滞育蛹生命活动的主要能量来源, 随着滞育强度的深入, 糖原浓度逐渐降低 (张韵梅, 1994)。

昆虫在滞育期间通过积累甘油、山梨醇等醇类物质来实现过冷却点的降低、细胞膜的固定、渗透压的减少, 以此来维持内稳态, 使虫体免受低温损伤 (Baust, 1982)。在滞育昆虫体内, 甘油是变化最明显的醇类物质之一, 也是重要的抗冻保护剂, 使昆虫能够抵御低温环境 (陈永杰, 2005)。桑螟 *Diaphania pyloalis* 幼虫体内甘油浓度从越冬早期到越冬末期呈现先升高后降低的现象 (陈永杰, 2005)。非滞育灰飞虱 *Laodelphax striatellus* 幼虫体内的甘油浓度明显低于滞育幼虫, 通过提高甘油浓度来抵抗滞育期间的低温 (宋菁菁等, 2017)。但有研究显示, 有些昆虫在滞育期间并不会合成甘油, 甘油的积累并不是昆虫滞育所必需的 (Jones *et al.*, 1984)。对欧洲玉米螟 *Ostrinia nubilalis* 低温诱导的分析显示, 甘油累积的能力并不是所有过程的固有属性, 王智渝 (1998) 等对滞育和非滞育棉铃虫蛹的甘油浓度展开对比, 发现二者甘油浓度无明显区别, 在滞育期间不存在甘油积累现象。

不同滞育昆虫体内山梨醇的浓度变化也不相同。随着滞育时长的增加, 大斑芜菁 *Mylabris phalerata* 的山梨醇浓度呈增加趋势 (朱芬等, 2008)。越冬过程中的麦红吸浆虫 *Sitodiplosis mosellana*, 随环境温度下降, 山梨醇浓度呈现逐渐增加的发展趋势 (王洪亮, 2007)。桃小食心虫

Carposina niponensis 在整个滞育过程中, 仅在 15℃ 条件下处理 45 d 和 5℃ 条件下处理 15 d 能够检测到山梨醇, 猜测可以通过山梨醇是否存在定性评价该虫的滞育深度 (丁惠梅等, 2011)。

蛋白质是生命活动的主要承担者, 处于滞育状态的昆虫为提高抵御恶劣环境的能力, 通常会通过增加蛋白浓度来达到保护自身的目的。对棉铃虫进行研究发现, 进入滞育后, 血淋巴中的蛋白浓度平稳增加, 脂肪体中的蛋白却呈现先上升缓慢, 后显著下降 (王方海等, 1998)。滞育棉铃虫体内的蛋白浓度要显著高于非滞育虫态, 在化蛹后的 15~60 d 内, 蛋白质浓度始终处于比较平稳的状态, 说明蛋白浓度与棉铃虫滞育的发生与解除密切相关 (Salama and Miller, 1992), 由此推测蛋白浓度与其它昆虫的滞育也相关。

目前对于昆虫的保护酶系的研究主要集中在 CAT、POD 以及 SOD, 在昆虫体内的这几种酶在生长发育、代谢活动、抗逆性等方面具有重要作用, 可以保护昆虫顺利越冬 (Felton and Summers, 1995)。有研究显示, 松黄叶蜂 *Neodiprion sertifer* 在越冬期间, 滞育蛹中的过氧化氢酶活性降低 (Trofimov, 1975); 对黑纹粉蝶 *Pieris melete* 的滞育展开分析注意到, 与非滞育蛹进行比较, 滞育蛹体内的过氧化氢酶与过氧化物酶活力明显更低 (薛芳森, 1996; 1997); 在对二化螟 *Chilo suppressalis* 进行的研究发现, 与非滞育幼虫相比, 滞育虫体内的过氧化氢酶、过氧化物酶、超氧化物歧化酶 3 种酶活性较高 (林炜等, 2007); 草地螟 *Loxostege sticticalis* 在滞育过程中上述 3 种酶活性会提高, 以顺利度过恶劣环境 (张晓燕等, 2015)。

目前对于茶足柄瘤蚜茧蜂的滞育研究中, 涉及生理生化物质的研究较少, 其滞育的生理机制尚不明确。本实验对茶足柄瘤蚜茧蜂滞育期间的生理生化物质进行测定, 着重分析与非滞育虫态相比, 这些生理生化物质的改变, 以期为进一步进行滞育研究提供一定的指导。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

寄生性天敌茶足柄瘤蚜茧蜂、寄主蚜虫苜蓿蚜 *Aphis craccivora* Koch. 采自中国农业科学院草原研究所沙尔沁基地, 供试寄主植物为蚕豆 *Vicia faba*。

苜蓿蚜采自基地的羊柴 *Hedysarum mongolicum* 植株上, 并转接在室内的水培蚕豆苗上繁殖, 接虫后对蚕豆苗进行笼罩 (100 目防虫网笼, 55 cm × 55 cm × 55 cm), 确保苜蓿蚜未被天敌寄生。试验用苜蓿蚜 2~3 龄若蚜作为寄主, 在温室内饲养 5 代以上作为供试虫源。

从基地采集被寄生的苜蓿蚜僵蚜, 从中挑取未羽化破壳的僵蚜置于人工气候箱温度 25℃ ± 1℃, 相对湿度 70% ± 1%, 光周期 L:D = 14 h: 10 h 条件下培养, 待蜂羽化后, 挑选茶足柄瘤蚜茧蜂转移至试管 (长 10 cm × 直径 3 cm) 内, 用 20% 蜂蜜水作为补充营养, 接入具有苜蓿蚜的蚕豆苗上, 建立茶足柄瘤蚜茧蜂种群作为供试虫源, 并在室温下用苜蓿蚜有效扩繁 10 代以上。取羽化 24 h 内的成蜂待用。

1.2 滞育蛹与非滞育蛹的获取

在室温下养虫笼中将刚羽化成蜂按 1:100 的蜂蚜比释放成对茶足柄瘤蚜茧蜂。根据试验前期研究可知, 苜蓿蚜若蚜被茶足柄瘤蚜茧蜂寄生后, 寄生蜂卵继续发育 120 h, 此时僵蚜体内寄生蜂处于高龄幼虫 (3~4 龄) 阶段, 高龄幼虫是茶足柄瘤蚜茧蜂感受到滞育讯号的敏感虫态, 将此时的僵蚜放入人工气候箱中进行滞育诱导。高龄幼虫处于滞育环境条件时, 并不会立刻停止发育, 而是继续发育一段时间, 经试验验证, 当发育至蛹时, 便不再继续发育 (孙程鹏, 2008)。

本试验中, 诱导茶足柄瘤蚜茧蜂滞育的温光组合为, 温度 8℃、光周期 L:D = 8 h: 16 h, 诱导时长为 30 d、45 d、60 d、75 d, 共设 4 个滞育处理组, 每个处理 30 头蛹。选取经过滞育诱导的僵蚜进行解剖, 对茶足柄瘤蚜茧蜂蛹进行收集, 以获得滞育组样品, 将解剖出的茶足柄瘤蚜茧蜂活蛹放入液氮中速冻暂时保存, 以获得滞育组样品, 将样品放入 -80℃ 冰箱中保存, 以备使用; 苜蓿蚜若蚜被茶足柄瘤蚜茧蜂寄生后, 放置在 25℃ ± 0.5℃、RH 70% ± 5%、光周期 L:D = 14 h: 10 h、光照强度 8 800 Lx (人工气候箱, 上海一恒公司 MGC-HP 系列) 条件下, 寄生蜂卵继续发育 168 h (此时蚜茧蜂处于蛹态), 将正常发育组样本记为滞育处理 0 d, 以便后续统计。设置 1 个非滞育处理组, 每个处理 30 头蛹。对僵蚜进行解剖, 挑选饱满、有活力的蛹作为正常发育组样品放入液氮中速冻暂时保存, 作为正常发育组样品, 将收集好的样品放入 -80℃ 冰箱中保存, 方便后续试验使用。

1.3 茶足柄瘤蚜茧蜂蛹体糖类和醇类的提取与测定

将收集好的滞育蛹与正常发育蛹样品各 30 头从冰箱中取出,用蒸馏水对虫体进行冲洗,体表水分用吸水纸吸干备用。对蛹体称重并记录,虫体质量 (g):提取液体积 (mL) = 1:5,倒入研钵中对蛹进行研磨,将匀浆冰浴,将该组织匀浆在 4℃、8 000g 情况下,离心 10 min,取上清液。参照试剂盒说明书对 5 组样品进行糖类和醇类的测定,每组样品重复测定 3 次。

1.4 茶足柄瘤蚜茧蜂蛹体总蛋白浓度的提取与测定

将收集好的滞育蛹与正常发育蛹样品各 30 头从冰箱中取出,放于 2 mL 离心管中称重并记录,每 0.1 g 样品中加入 1 000 μ L 工作液,倒入研钵中对蛹进行研磨,用匀浆器在冰上匀浆,冰浴 10 min,设离心机转动速度为 8 000 r/min,离心 10 min,取上清液。根据 SOD、CAT 和 POD 试剂盒 (苏州科铭生物技术公司) 说明书对试样完成测定,每组样品重复测定 3 次。

1.5 酶液提取与保护酶活性测定

将收集好的滞育蛹与正常发育蛹样品各 30 头从冰箱中取出,放于 2 mL 离心管中称重并记录,倒入研钵中加入液氮进行研磨,虫体质量 (g):磷酸盐缓冲溶液 (0.05 mol/L, pH 7.0) 体积 (mL) = 1:9,冰浴匀浆,设置离心机转速为 5 000 rpm/min,在 4℃ 下离心 10 min,取上清液即为酶液。对 SOD 活性来进行测定时,将匀浆稀释 10 倍;对 POD 及 CAT 完成活性测定时,直接用上清液。根据蛋白定量测试盒说明书对样品进行总蛋白测定,每组样品重复测定 3 次。

1.6 数据统计与分析

运用 DPS 统计分析软件完成数据分析和模型模拟,使用 Duncan's 氏新复极差法完成差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 滞育期间茶足柄瘤蚜茧蜂糖类浓度的变化

2.1.1 滞育期间茶足柄瘤蚜茧蜂总糖浓度的变化

滞育期间的茶足柄瘤蚜茧蜂蛹体内总糖浓度要高于非滞育状态下蛹体内的总糖浓度。在 5 个处理中,滞育 30 d 时总糖浓度最高,平均浓度为

120.47 μ g/mg,随着滞育时间的延长,总糖浓度逐渐降低 (图 1)。

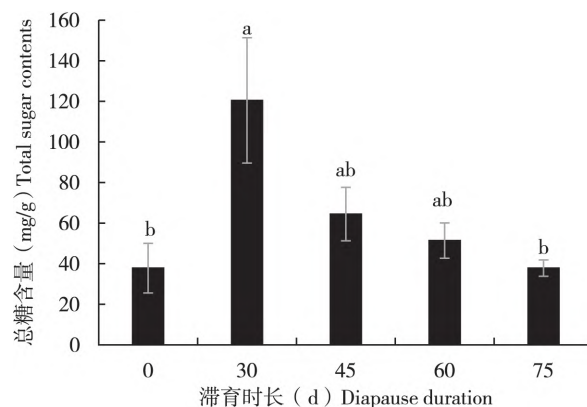


图 1 不同滞育时间下茶足柄瘤蚜茧蜂蛹体内总糖浓度

Fig. 1 Contents of total sugars of the diapausing pupa of *Lysiphlebus testaceipes*

注: 图中数据为平均数 $\pm$ 标准误, 不同字母者表示不同滞育时间之间总糖浓度差异显著 (Duncan's 氏新复极差法, $P < 0.05$), 下同。Note: Data in the figure were mean $\pm$ standard error. Different letters meant that there was significant difference in total sugar concentration between different diapause times (Duncan's new multiple range test, $P < 0.05$), same below.

2.1.2 滞育期间茶足柄瘤蚜茧蜂海藻糖浓度的变化

与其它 4 个滞育组处理相比,非滞育的茶足柄瘤蚜茧蜂蛹体内海藻糖浓度最低,为 5.62 μ g/mg,且随着滞育时间的延长,海藻糖浓度呈现增加趋势,当滞育时长为 75 d 时,海藻糖浓度最高,为 15.06 μ g/mg。由此可以发现,在滞育期间,茶足柄瘤蚜茧蜂属海藻糖累积型 (图 2)。

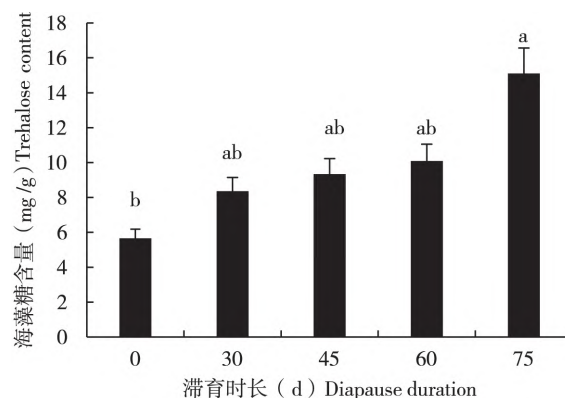


图 2 不同滞育时间下茶足柄瘤蚜茧蜂蛹体内海藻糖浓度

Fig. 2 Contents of trehalose of the diapausing pupa of *Lysiphlebus testaceipes*

2.1.3 滞育过程中茶足柄瘤蚜茧蜂糖原浓度的变化

滞育蛹体内的糖原浓度高于非滞育蛹, 且随着滞育时间的延长, 糖原浓度逐渐减少, 与滞育蛹体内的海藻糖浓度变化呈相反的发展趋势, 茶足柄瘤蚜茧蜂在滞育 30 d 时, 糖原浓度最高, 约为非滞育个体的 5 倍多, 当滞育时间达到 75 d 时, 与非滞育个体相比, 糖原浓度无显著差异 (图 3)。

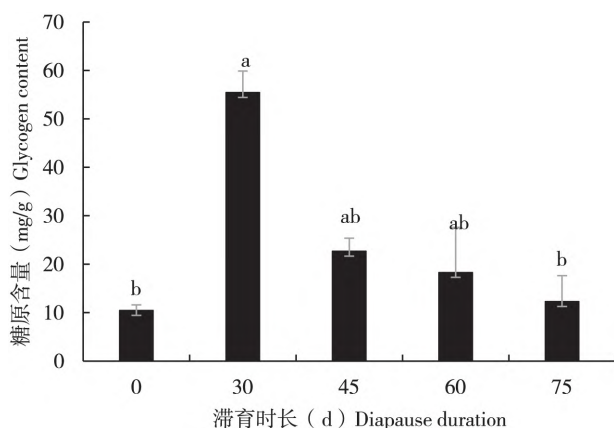


图 3 不同滞育时间下茶足柄瘤蚜茧蜂蛹体内糖原浓度

Fig. 3 Contents of glycogen of the diapausing pupa of *Lysiphlebus testaceipes*

2.2 滞育时间对茶足柄瘤蚜茧蜂醇类代谢的影响

2.2.1 滞育过程中茶足柄瘤蚜茧蜂甘油浓度的变化

甘油在非滞育蛹体内浓度最低, 为 $3.60 \mu\text{g}/\text{mg}$, 随着滞育时间的增加, 甘油浓度也呈现上升趋势, 当滞育 75 d 时, 甘油浓度最高, 为 $16.16 \mu\text{g}/\text{mg}$, 是非滞育蛹的 4 倍多 (图 4)。

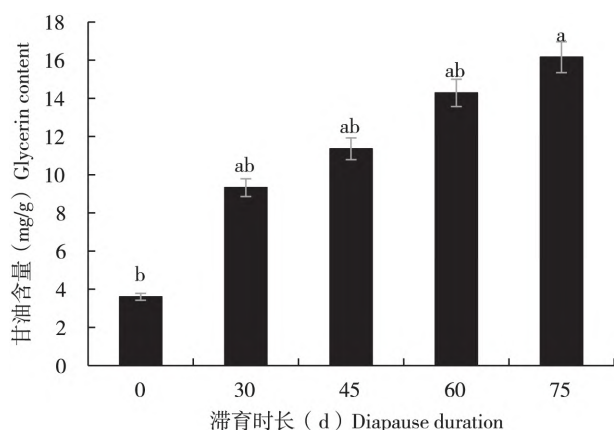


图 4 不同滞育时间下茶足柄瘤蚜茧蜂蛹体内甘油浓度

Fig. 4 Contents of glycerol of the diapausing pupa of *Lysiphlebus testaceipes*

2.2.2 滞育过程中茶足柄瘤蚜茧蜂山梨醇浓度的变化

随着滞育时间的增加, 山梨醇的浓度出现先增加后减少的趋势, 当滞育 45 d 时, 出现山梨醇浓度的最大值, $82.55 \mu\text{g}/\text{mg}$ 。总体来看, 非滞育蛹体内的山梨醇浓度低于滞育虫体, 但与滞育 30 d 相比, 浓度差异不大。同时, 滞育 60 d 与 75 d 的蛹, 山梨醇浓度也无差异 (图 5)。

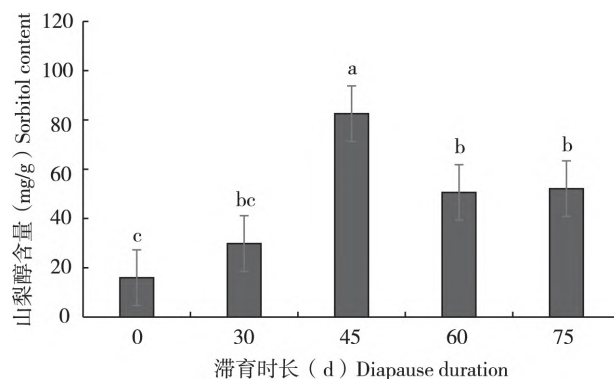


图 5 不同滞育时间下茶足柄瘤蚜茧蜂蛹体内山梨醇浓度

Fig. 5 Contents of sorbitol of the diapausing pupa of *Lysiphlebus testaceipes*

2.3 滞育时长对茶足柄瘤蚜茧蜂蛋白浓度的变化

非滞育的茶足柄瘤蚜茧蜂蛹体内的蛋白浓度与滞育组的 4 个处理相比, 非滞育组显著高于滞育组。随着滞育时间的增加, 蛋白浓度越来越低。当滞育诱导时间为 30 d 时, 蛋白浓度仍有 $18.31 \mu\text{g}/\text{mg}$, 但是当滞育时间延长到 75 d 时, 蛋白浓度仅有 $8.80 \mu\text{g}/\text{mg}$ (图 6)。

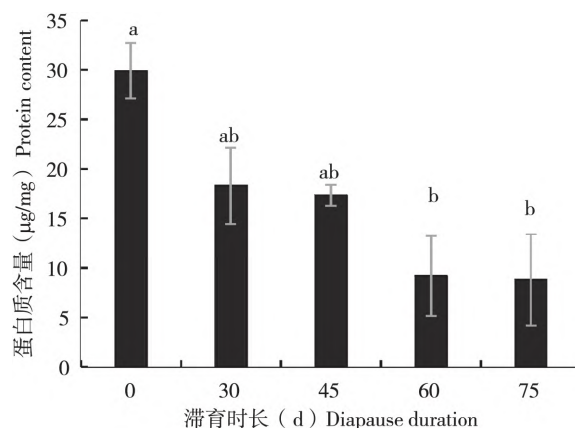


图 6 不同滞育时间下茶足柄瘤蚜茧蜂蛹体内蛋白浓度

Fig. 6 Contents of protein of the diapausing pupa of *Lysiphlebus testaceipes*

2.4 滞育时间对茶足柄瘤蚜茧蜂体内保护酶活力的影响

非滞育蛹体内 POD、SOD、CAT3 种保护酶活性均最低,随着滞育时间的延长,活性均呈现上升趋势(表 1)。

表 1 不同滞育时间下茶足柄瘤蚜茧蜂体内的保护酶活性
Table 1 Activities of protective enzymes of of the diapausing pupa of *Lysiphlebus testaceipes*

滞育 时间 (d)	POD 活性 (U/mg)	SOD 活性 (U/mg)	CAT 活性 (U/mg)
Diapause duration	Peroxidase activity	Superoxide dismutase activity	Catalase activity
0	3.99 ± 0.54 a	0.15 ± 0.07 a	3.26 ± 0.26 a
30	6.16 ± 0.51 b	0.18 ± 0.06 a	4.58 ± 0.18 b
45	6.26 ± 0.29 b	0.25 ± 0.03 b	5.57 ± 0.44 b
60	14.59 ± 1.02 c	0.37 ± 0.04 b	8.58 ± 1.03 c
75	17.85 ± 0.68 c	0.58 ± 0.14 c	10.97 ± 0.76 d

注: 同列数据(平均值 ± 标准误)后不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$) (Duncan's 氏新复极差法)。Note: Different letters after the same column of data (mean ± standard error) indicated significant differences ($P < 0.05$) (Duncan's new multiple range test) .

3 结论与讨论

昆虫在滞育期间代谢减弱,但仍需要大量能源物质来维持基本的生命活动,包括糖、醇、蛋白质等物质。有研究显示,麦红吸浆虫在不同滞育年份下,滞育虫态幼虫,体内的总糖浓度无显著差异,表明该虫在滞育状态下,耗能极少,从滞育过程中的能量消耗来看,能够证明该虫滞育 12 年的可能性(仵均祥和袁锋,2004)。在本实验中,非滞育茶足柄瘤蚜茧蜂蛹体内的糖原浓度显著低于滞育 30 d 糖原浓度,说明了在滞育期间糖原与抵抗低温有关。随着滞育时长的增加,总糖的浓度呈现降低的趋势,这也说明处于滞育状态的茶足柄瘤蚜茧蜂蛹仍需要较多能量维持生命活动。在茶足柄瘤蚜茧蜂滞育试验中观察到的滞育持续时间约 3 个月,可能与其滞育过程中耗能较大有关。

在冬滞育的昆虫中,大多数体内都会有浓度

较高的甘油,甘油能够使昆虫体液冰点降低,使其具有较高的抗冻能力(Barnes, 1969; Wu and Yuan, 2004)。本研究结果表明,滞育状态下的茶足柄瘤蚜茧蜂蛹体内甘油浓度高于非滞育状态,表明在滞育期间茶足柄瘤蚜茧蜂体内合成大量甘油,推测滞育期间茶足柄瘤蚜茧蜂蛹体内甘油浓度的增加是虫体自身应对低温而引起的体内物质代谢转化,最终达到提高抗寒性的目的。而山梨醇随滞育时间的延长呈现浓度先增加后减少的趋势,推测在糖醇转化的过程中可能存在某种障碍,而使滞育时间为 45 ~ 60 d 的山梨醇浓度降低,具体原因需进一步研究。

处于滞育状态的多数昆虫是消耗蛋白质的,或将蛋白质转化为其他物质来参与一些代谢过程(Denlinger and Lee, 2010)。在本次实验中也得出了类似结论,非滞育茶足柄瘤蚜茧蜂蛹体内有较高浓度的蛋白质,而在滞育情况下,蛹体内蛋白浓度降低,可能是为抵御不利环境而将蛋白质转化为其他物质,提供能量。而草地螟幼虫、棉红铃虫在滞育期间蛋白浓度会增加,从而提高虫体的防护能力,以顺利度过滞育阶段,因此在滞育过程中需要更多地蛋白来满足正常生命活动(Salama and Miller, 1992; 张健华等, 2012)。

昆虫体内的 POD、CAT、SOD 是重要的防御系统保护酶,处于滞育状态的昆虫通过调节这些酶的活性来保护自身在不利条件下能够继续生存。研究发现, CAT、SOD 和 POD 在滞育的幼虫体内,随着滞育时长的延长,酶活性会呈现增强趋势(杨光平, 2013)。在滞育二化螟幼虫中发现,这 3 种酶的活性均高于非滞育幼虫(张晓燕等, 2015)。本研究中, POD, CAT 和 SOD 这 3 种酶在滞育过程中,随着滞育时间的延长,活性会逐渐增强,当滞育时间达到 60 d 时,酶活性最高,昆虫通过调节这 3 种保护酶的活性达到自我保护的作用。

本研究测定了滞育与非滞育茶足柄瘤蚜茧蜂蛹体内的总糖、海藻糖、糖原、甘油、山梨醇、总蛋白的浓度,结果发现,总糖、海藻糖、甘油、总蛋白浓度在滞育蛹与非滞育蛹中存在显著差异,而糖原与山梨醇则没有明显差异。在茶足柄瘤蚜茧蜂滞育过程中,滞育时间的不同,虫体内的生理生化物质的浓度、种类也不完全相同,这些物质的变化,与在逆境下保证虫体的生存密切相关,

通过物质浓度变化的幅度, 可以衡量茶足柄瘤蚜茧蜂蛹的抗寒性能力, 但上述物质对滞育昆虫所起的作用, 以及浓度发生变化的原因与变化机制仍需要进行进一步的研究。

参考文献 (References)

- Barnes HF. Gall midges of economic importance [J]. *Anzeiger Für Schädlingkunde*, 1969, 42 (4): 62.
- Baust JG. Environmental triggers to cold hardening [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A Physiology*, 1982, 73 (4): 563–570.
- Chen YJ, Sun XG, Zhang WG, *et al.* Relation between variation of water, fat, glycerol *in vivo* of over-wintering *Diaphania pyralis* Walker larvae and cold-hardiness [J]. *Acta Sericologica Sinica*, 2005, 31 (1): 22–25. [陈永杰, 孙绪良, 张卫光, 牟志刚, 等. 桑螟越冬幼虫体内水分脂肪甘油的变化与抗寒性的关系 [J]. 蚕业科学 2005, 31 (1): 22–25]
- Denlinger DL, Lee RE. Low Temperature Biology of Insects [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 2010: 141–165.
- Ding HM, Ma G, Wu SA. A literature review on changes of small molecules of diapause insects during overwintering period [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2011, 48 (4): 1060–1070. [丁惠梅, 马罡, 武三安. 滞育昆虫小分子含量变化研究进展 [J]. 应用昆虫学报, 2011, 48 (4): 1060–1070]
- Felton GW, Summers CB. Antioxidant systems in insects [J]. *Archives of Insect Biochemistry & Physiology*, 1995, 29 (2): 187–197.
- Gao YH, Guo XR, Luo MH, *et al.* Contrastive study on the biochemistry characteristics of diapause and non-diapause pupae of oriental tobacco budworm, *Helicoverpa assulta* [J]. *Journal of Henan Agricultural University*, 2006, 40 (6): 627–629, 645. [高玉红, 郭线茹, 罗梅浩, 等. 烟实夜蛾滞育蛹和非滞育蛹生化特性的比较研究 [J]. 河南农业大学学报, 2006, 40 (6): 627–629, 645]
- Jone JH, Guthrie WD, Brindly TA. Postembryonic development of the reproductive system of male [J]. *Entomological Society*, 1984, 77: 155–164.
- Li YY. Temperature and Photoperiodic Response of Diapause Induction and Diapause Physiology in *Aphidius gifuensis* Ashmead [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences Master Thesis, 2011. [李玉艳. 烟蚜茧蜂滞育诱导的温光周期反应及滞育生理研究 [D]. 北京: 中国农业科学院硕士学位论文, 2011]
- Lin W, Liu YD, Hou ML. Comparison of the activities of stress-tolerant enzymes in diapaused and diapause-terminated larvae of *Chilo suppressalis* from different geographic populations [J]. *Plant Protection*, 2007, 33 (5): 84–87. [林炜, 刘玉娣, 侯茂林. 不同地理种群二化螟滞育和解除滞育幼虫的抗逆性酶活性比较 [J]. 植物保护, 2007, 33 (5): 84–87]
- Ren XY, Qi XY, An T, *et al.* Research on the accumulation, transformation and regulation of nutrients in diapause insects [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2016, 53 (4): 685–695.
- [任小云, 齐晓阳, 安涛, 等. 滞育昆虫营养物质的积累、转化与调控 [J]. 应用昆虫学报, 2016, 53 (4): 685–695]
- Salama MS, Miller TA. A diapause associated protein of the pink bollworm *Pectinophora gossypiella* Saunders [J]. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 1992, 21 (1): 1–11.
- Saunders DS. Insect Clock. Third Edition [M]. Amsterdam: Elsevier Science Publisher B. V. Press, 2002: 1–555.
- Song JJ, Zhu WC, Lin KJ. The impact of diapause on physiological and biochemical characteristics of the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus* [J]. *Journal of Plant Protection*, 2017, 44 (2): 312–317. [宋菁菁, 朱文超, 林克剑. 滞育对灰飞虱生理生化特性的影响 [J]. 植物保护学报, 2017, 44 (2): 312–317]
- Sun CP. Studies on Artificial Rearing and Characteristics of Diapause of *Lysiphlebus testaceipes* [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University Master Thesis, 2018. [孙程鹏. 茶足柄瘤蚜茧蜂的人工繁育及滞育特性的研究 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2018]
- Tauber MJ, Tauber CA, Masaki S. Seasonal Adaptations of Insects [M]. Oxford: Oxford University Press, 1986: 1–416.
- Trofimov SB. Some physiological features of diapause in the European pine sawfly [J]. *Soviet Journal of Ecology*, 1975, 5: 85–88
- Wang FH, Gong H, Qin JD. Measurement and electrophoresis patterns of hemolymph protein from diapause and non-diapause - destined *Helicoverpa armigera* [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 1998, 41 (4): 426–430. [王方海, 龚和, 钦俊德. 滞育和非滞育棉铃虫血淋巴中蛋白质含量及图谱的比较 [J]. 昆虫学报, 1998, 41 (4): 426–430]
- Wang HL. Chemical Substances Change and Molecular Mechanism of the Wheat Blossom Midge, *Sitodiplosis mosellana* (Diptera: Cecidomyiidae) during Diapause [D]. Yangling: Northwest A & F University PhD Dissertation, 2007. [王洪亮. 滞育麦红吸浆虫的化学物质变化与分子机理研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学博士学位论文, 2007]
- Wang MQ, Li ZZ. The research advance of insect diapause [J]. *Journal of Nanjing Forestry University*, 2004, 28 (1): 71–76. [王满囤, 李周直. 昆虫滞育的研究进展 [J]. 南京林业大学学报, 2004, 28 (1): 71–76]
- Wang MQ, Li ZZ. The carbohydrate levels of the fat body and haemolymph in prepupa of sawfly *Chinolyda flagellicornis* [J]. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences)*, 2002, 26 (2): 21–23. [王满囤, 李周直. 鞭角华扁叶蜂预蛹脂肪体和血淋巴中糖类含量动态 [J]. 南京林业大学学报 (自然科学版), 2002, 26 (2): 21–23]
- Wang ZY, Hu DX, Wang ZS. Comparison of biochemistry character in haemolymph of diapause and non-diapause pupae of cotton bollworm (*Heliothis armigera* Hübner) [J]. *Journal of China Agricultural University*, 1998, 3 (1): 33–39. [王智渝, 胡敦孝, 王宗舜. 棉铃虫滞育蛹和非滞育蛹血淋巴某些生化特性的比较研究 [J]. 中国农业大学学报, 1998, 3 (1): 33–39]
- Wipking W, Viebahn M, Neumann D. Oxygen consumption, water,

- lipid and glycogen content of early and late diapause and non - diapause larvae of the burnet moth *Zygaena trifolii* [J]. *Journal of Insect Physiology*, 1995, 41 (1): 47 - 56.
- Wu JX, Yuan F. Change of carbohydrate contents in larvae of the wheat midge, *Sitodiplosis mosellana* [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2004, 47 (2): 178 - 183. [仵均祥, 袁锋. 麦红吸浆虫幼虫滞育期间糖类物质变化 [J]. 昆虫学报, 2004, 47 (2): 178 - 183]
- Wu JX, Yuan F. Changes of glycerol content in diapause larvae of the orange wheat blossom midge *Sitodiplosis mosellana* (Gehin) in various seasons [J]. *Entomologia Sinica*, 2004, 11 (1): 27 - 35.
- Xu WH. Advances in insect diapause [J]. *Chinese Bulletin of Entomology*, 2008, 45 (4): 512 - 517. [徐卫华. 昆虫滞育研究进展 [J]. 昆虫知识, 2008, 45 (4): 512 - 517]
- Xue FS, Li BT, Zhu XF. A preliminary study on the superoxide dismutase (SOD) activity of diapause pupae of the cabbage worm, *Pieris melete* Menetries [J]. *Jiangxi Plant Protection*, 1996, 19 (1): 34 - 36. [薛芳森, 李保同, 朱杏芬. 黑纹粉蝶滞育蛹体内超氧化物歧化酶活力的初步研究 [J]. 江西植保, 1996, 19 (1): 34 - 36]
- Xue FS, Wei HY, Zhu XF. On the catalase activity in diapause pupae of striated white butterfly [J]. *Journal of Plant Protection*, 1997, 24 (3): 45 - 47. [薛芳森, 魏洪义, 朱杏芬. 黑纹粉蝶滞育蛹体内过氧化氢酶活力的研究 [J]. 植物保护学报, 1997, 24 (3): 45 - 47]
- Yang GP. Physiological Profile and Effects of Temperature/Humidity on Cold - hardiness of Diapause Larvae of *Chilo suppressalis* (Walker) [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences Master Thesis, 2013. [杨光平. 二化螟滞育幼虫的生理特性及温湿度对其抗寒性的影响 [D]. 北京: 中国农业科学院硕士学位论文, 2013]
- Zhang JH, Luo LZ, Jiang XF, et al. Changes in protein and nucleic acid contents in diapause larvae of the beet webworm, *Loxostege sticticalis* (Lepidoptera: Pyralidae) [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2012, 55 (2): 156 - 161. [张健华, 罗礼智, 江幸福, 等. 草地螟滞育幼虫的蛋白和核酸含量变化 [J]. 昆虫学报, 2012, 55 (2): 156 - 161]
- Zhang XY, Zhai YF, Zhuang QY. Research advance of insect diapause [J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2015, 47 (2): 143 - 148, 156. [张晓燕, 翟一凡, 庄乾营. 昆虫滞育研究进展 [J]. 山东农业科学, 2015, 47 (2): 143 - 148, 156]
- Zhang YM. Study on changes of main biochemical composition fat glycogen and so on in diapause pupa of *Heliothis armigera* Hübner [J]. *Journal of Shandong Agricultural University* (Natural Science Edition), 1994, 25 (2): 147 - 150. [张韵梅. 棉铃虫蛹在滞育中脂肪、糖原等生化成分含量变化的研究 [J]. 山东农业大学学报 (自然科学版), 1994, 25 (2): 147 - 150]
- Zhu F, Li H, Wang Y. Change of trehalose, glycogen and polyol contents of the diapausing larvae of *Mylabris phalerata* (Pallas) (Coleoptera: Meloidae) at different diapausing stages [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2008, 51 (1): 9 - 13. [朱芬, 李红, 王永. 大斑芜菁滞育幼虫在滞育不同阶段体内糖类和醇类含量的变化 [J]. 昆虫学报, 2008, 51 (1): 9 - 13]