环境昆虫学报 2025，47（5）：1570-1578
Journal of Environmental Entomology
http://hjkcxb.alljournals.net
doi:10.3969/j.issn.1674-0858.2025.05.21

郑美鑫，张茜瑜，李蕙，宋潇洋，郭嘉庆，张雪，张俊杰．松毛虫赤眼蜂两种海藻糖转运蛋白基因的克隆与表达分析[J].环境昆虫学报，2025，47（5）：1570-1578. ZHENG Mei-Xin, ZHANG Qian-Yu, LI Hui1, SONG Xiao-Yang, GUO Jia-Qing, ZHANG Xue, ZHANG Jun-Jie. Cloning and expression analysis of two trehalose transporter genes in *Trichogramma dendrolimi* [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2025, 47 (5): 1570-1578.

松毛虫赤眼蜂两种海藻糖转运蛋白基因的克隆与表达分析

郑美鑫[1]，张茜瑜[2]，李　蕙[1]，宋潇洋[1]，郭嘉庆[1]，张　雪[1*]，张俊杰[1*]
（1．吉林农业大学农业现代化综合技术研究所，吉林省农业害虫生物防治国际科技合作重点实验室，吉林省生物防治技术工程研究中心，长春 130118；2．通化师范学院生命科学学院，吉林通化 134002）

摘要：本研究旨在分析松毛虫赤眼蜂*Trichogramma dendrolimi*两种海藻糖转运蛋白基因（*TdTret1*和*TdTret1-2*）的表达模式，和其在松毛虫赤眼蜂不同发育阶段及滞育发育过程中的基因表达规律，为海藻糖调节昆虫抵御低温环境及松毛虫赤眼蜂滞育的调控机制的研究提供理论基础。对两种基因进行克隆和定量试验，结果表明，*TdTret1*和*TdTret1-2*均隶属于MFS超家族，与膜翅目多种昆虫的海藻糖转运蛋白氨基酸序列进行比较分析，*TdTret1*和*TdTret1-2*均与短管赤眼蜂序列一致性最高，亲缘关系最近；这两种海藻糖转运蛋白基因在松毛虫赤眼蜂内体呈现“错峰”表达的模式，其中*TdTret1*主要在松毛虫赤眼蜂生长发育的早期阶段（卵期、幼虫期）高表达，而*TdTret1-2*则是在松毛虫赤眼蜂的卵期、蛹期和成虫期特异性高表达；*TdTret1*和*TdTret1-2*在滞育松毛虫赤眼蜂个体中的表达量显著高于非滞育个体，但两种基因高表达的时间点不同，*TdTret1-2*相较于*TdTret1*对低温的响应更迅速。这两种海藻糖转运蛋白基因在松毛虫赤眼蜂正常发育及滞育发育过程中均发挥重要作用。

关键词：松毛虫赤眼蜂；海藻糖转运蛋白基因；基因克隆；表达模式
中图分类号：Q968.1；Q963　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1674-0858（2025）05-1570-09

Cloning and expression analysis of two trehalose transporter genes in *Trichogramma dendrolimi*

ZHENG Mei-Xin[1], ZHANG Qian-Yu[2], LI Hui[1], SONG Xiao-Yang[1], GUO Jia-Qing[1], ZHANG Xue[1*], ZHANG Jun-Jie[1*] (1. Jilin Engineering Research Center for Biological Control, Jilin Provincial International Cooperation Key Laboratory for Biological Control of Agricultural Pests, Institute of Comprehensive Technology for Agricultural Modernization, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China; 2. School of Life Sciences, Tonghua Normal University, Tonghua 134002, Jilin Province, China)

Abstract: The purpose of this study was to analyze the expression patterns of two trehalose transporter genes (*TdTret1* and *TdTret1-2*) and gene expression patterns at different developmental stages and diapause development in *Trichogramma dendrolimi*. This analysis aimed to provide a theoretical basis for understanding the regulation of trehalose in insects to adapt to low temperature environments and the regulatory mechanism of diapause in *T. dendrolimi*. Gene cloning and quantitative analysis of the two types

基金项目：国家青年科学基金（32102291）；长春市科技发展计划（21ZGN14）
作者简介：郑美鑫，硕士研究生，研究方向为生物防治，E-mail：2571459290@qq.com
*共同通讯作者 Author for correspondence：张雪，女，讲师，主要研究方向为寄生蜂滞育调控机制，E-mail：zhangxue871013@163.com；张俊杰，男，教授，主要研究方向为天敌昆虫繁育关键技术，E-mail：junjiezh@126.com
收稿日期Received：2024-04-25；修回日期Revision received：2024-11-11；接受日期Accepted：2024-11-15

of trehalose transporter genes indicated that *TdTret1* and *TdTret1-2* belong to the MFS superfamily. Amino acid sequences of trehalose transporters were compared with those of hymenoptera insects, revealing that *TdTret1* and *TdTret1-2* had the highest consistency with *Trichogramma pretiosum*, suggesting a close genetic relationship. These two trehalose transporter genes exhibited a "staggered" expression pattern *in T. dendrolimi*. *TdTret1* was mainly expressed in the early growth stages (i.e., egg stage and larval stage), while *TdTret1-2* showed significantly higher expression levels during the egg, pupal and adult stages. Both *TdTret1* and *TdTret1-2* were significantly upregulated in diapausing *T. dendrolimi* compared to non-diapausing ones, but with distinct timing; it was observed that *TdTret1-2* responded more quickly to low temperatures than *TdTret1*. These two trehalose transporter genes play an important role in the normal development and diapause development of *T. dendrolimi*.

Key words: *Trichogramma dendrolimi*; trehalose transporter; gene cloning; expression pattern

松毛虫赤眼蜂*Trichogramma dendrolimi*作为我国生物防治工程中应用最成功的天敌昆虫之一，目前已基本实现了大规模生产（Smith，1996；武琳琳，2014；张俊杰等，2015；Zang *et al.*，2021）。在工厂化生产及应用赤眼蜂的过程中，贮存是关键的技术环节，而滞育作为常用的贮存方法受到研究者的广泛关注。海藻糖是滞育代谢的标志性产物。柞蚕*Antherea pernyi*在滞育时，海藻糖含量显著提高，解除滞育后，其浓度则会迅速降低（陆明贤等，1992）。在冬滞育和夏滞育的葱蝇*Delia antiqua*中也发现了类似的现象（Nomura and Ishikawa，2001；李源等，2013）。

海藻糖是一种非还原性双糖，存在于几乎所有生物体中，是细胞消耗的主要糖分（García de Castro and Tunnacliffe，2000；Ash，2017；Tellis *et al.*，2023）。在昆虫生长发育过程中，海藻糖在海藻糖酶（Trehalase，Tre）的催化下水解为葡萄糖以提供能量（Shukla *et al.*，2015）。昆虫的体液成分是昆虫适应极端环境的关键因素，在昆虫血淋巴中海藻糖占总糖的80%以上，是昆虫生命活动所必需的（Wen *et al.*，2016）。例如，滞育的麦红吸浆虫*Sitodiplosis mosellana*通过积累海藻糖以免受冻寒迫害（Huang *et al.*，2021），而黑腹果蝇*Drosophila melanogaster*则利用海藻糖度过缺氧干燥等极端环境，保护其避免高温和渗透压的影响（Thorat *et al.*，2012）。

海藻糖并不能直接作用到昆虫的各个组织，而是需要与特定的海藻糖转运蛋白（Trehalose transporter，Tret）结合进行跨膜运输（Wyatt，1967；Kanamori *et al.*，2010）。Kikawada等（2007）从昆虫中分离并表征Tret的功能，发现Tret隶属于主要协同转运蛋白超家族（Major facilitator superfamily，MFS），并证实其参与将脂肪体内合成的海藻糖释放到血淋巴中，在昆虫的营养稳态和胁迫耐受性中起到重要作用（Kikawada *et al.*，2007）。目前，已对部分昆虫的海藻糖转运蛋白基因的序列信息、表达模式和功能等进行了研究。从大猿叶甲*Colaphellus bowring*i中获得的2个*Tret*基因，*Tret1a*和*Tret1b*，分别在滞育个体的脂肪体和非滞育个体的卵巢中高表达，表明不同的海藻糖转运蛋白调控大猿叶甲不同组织内的海藻糖含量，推测*Tret1a*和*Tret1b*分别在其滞育和生殖过程中起到调控作用（Li *et al.*，2020）。周慧玲等（2022）使用CRISPR/Cas9系统靶向敲除小菜蛾*Plutella xylostella PxTret1-like*基因后发现，脂肪体内的海藻糖含量升高，而血淋巴中的海藻糖含量降低，且个体的存活率、产卵量和抗寒能力均显著降低，表明*PxTret1-like*通过协调脂肪体及血淋巴中海藻糖的含量来影响小菜蛾的发育、生殖及对低温环境的适应性（Zhou *et al.*，2022），但海藻糖转运蛋白在松毛虫赤眼蜂中的功能尚不清楚。为此，本研究对松毛虫赤眼蜂两种*Tret*进行克隆和鉴定，分析其在松毛虫赤眼蜂不同发育阶段以及滞育发育过程中的基因表达规律，为海藻糖调节昆虫抵御低温环境及松毛虫赤眼蜂滞育调控机制的研究提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

试验用的松毛虫赤眼蜂采自吉林省长春市公主岭水稻试验田（124°82′ E，43°50′ N），采集寄

主为二化螟卵。根据雄性外生殖器的形态特征鉴定物种后，在吉林农业大学农业现代化综合技术研究所实验室培养箱内（温度25℃ ± 1℃，相对湿度75% ± 5%，L∶D=16∶8）以柞蚕卵繁育至少5代，建立稳定的实验种群。

供试寄主柞蚕卵为新鲜的剖腹卵，接蜂前用0.1%新洁尔灭溶液浸泡10 min，晾干备用。

1.2 样品收集

非滞育松毛虫赤眼蜂繁育：以柞蚕卵为寄主，在温度25℃ ± 1℃，相对湿度75% ± 5%，全黑暗条件下接蜂8 h后去除母蜂，然后置于培养箱中发育，在此期间取松毛虫赤眼蜂卵期、幼虫期、预蛹期、蛹期、成虫期（0、12、24、36 h）的样品，用于后续RNA提取（图1）。

滞育松毛虫赤眼蜂繁育：接蜂条件与非滞育样品相同，去蜂后于培养箱内发育至幼虫中后期（43 h）并取部分样品为12℃ 0 d，转入（12 ± 1）℃，全黑暗条件下进行滞育诱导30 d，取第30天样品为滞育预蛹，另外，在转入滞育诱导条件后，每隔5 d取一次样品；随后将滞育个体转入温度（3 ± 1）℃，全黑暗条件解除滞育70 d；再将滞育解除个体转入10℃缓冲2 d，最后转入正常培养温度下完成整个滞育发育过程，其中在转入正常培养温度5 d后取滞育解除蛹再继续发育3 d后取滞育解除成虫的样品（图1）。收集得到的样品均置于−80℃冰箱保存备用。

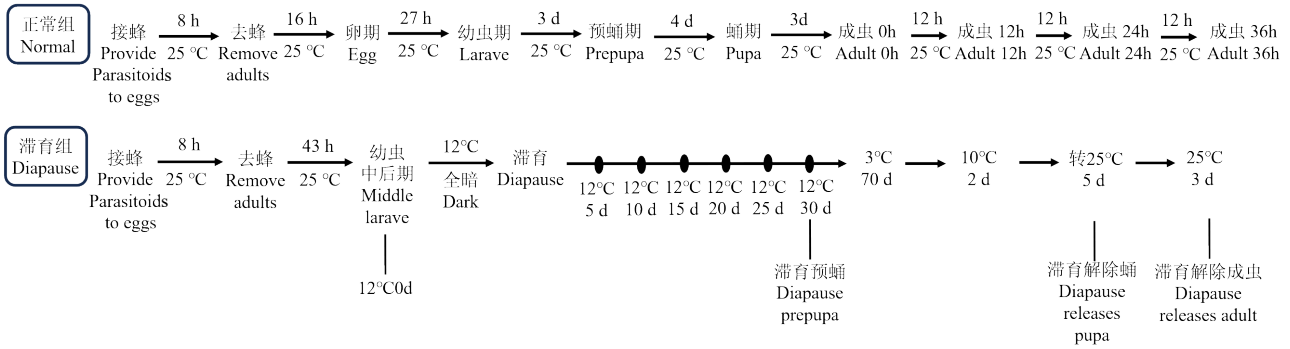

图1 样品收集时间轴

Fig. 1 Sample collection timeline

1.3 *TdTret1* 和 *TdTret1-2* 基因序列克隆及生物信息学分析

1.3.1 总RNA提取和cDNA合成

取3粒柞蚕卵内的松毛虫赤眼蜂样品采用Trizol法提取总RNA，使用核酸蛋白检测仪（德国耶拿ScanDrop2）和1%琼脂糖凝胶电泳检测RNA的浓度、纯度及完整性。使用M-MuLV First Strand cDNA Synthesis Kit（生工生物工程股份有限（上海）公司）将总RNA反转录为cDNA，置于−20℃冰箱中保存用于后续实验。

1.3.2 松毛虫赤眼蜂 *Tret1* 基因和 *Tret1-2* 基因的克隆

根据本实验室已测序得到的转录组数据获得海藻糖转运蛋白的核苷酸序列，经NCBI BLAST比对确定后，使用Primer 6软件设计引物（表1）。以1.3.1中合成的cDNA为模板进行序列扩增，PCR体系（50 μL）如下：2 × High Fidelity PCR Master Mix（上海生工生物工程股份有限公司）25 μL、上游下游引物各2 μL（引物浓度10 μmon/L）、ddH_2O 19 μL、cDNA 2 μL。将能在1%琼脂糖凝胶电泳中显示清晰单一条带、且片段大小符合预期的PCR产物送至生工生物工程股份有限（上海）公司测序。

使用BioEdit软件拼接基因片段序列；在ORFfinder Viewer − NCBI（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/）预测其开放阅读框（ORF）；在NCBI Conserved Domain Search（nih.gov）中确定其蛋白结构域；使用ChiPlot（https://www.chiplot.online/）绘制结构域图；在TMHMM 2.0 − DTU Health Tech − Bioinformatic Services（https://services.healthtech.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/）对其跨膜结构进行预测；在SignalP4.1 Server（http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/）分析其信号肽位点；在ExPASy-ProtParamtool（https：//web.expasy.org/protparam/）分析其理化性质；使用Snapgene viewer软件绘制基因结构图；使用SWISS-MODEL

Interactive Workspace（expasy. org）（https://swissmodel.expasy.org/interactive）构建蛋白质三级结构模型；使用MAGA11软件构建系统发育树并使用Evolview（https://www.evolgenius.info/evolview/）进行美化。

1.4 *TdTret1*和*TdTret1-2*基因的表达分析

以1.2得到的不同松毛虫赤眼蜂样品cDNA为模板，GADPH为内参基因进行荧光定量PCR，引物见表1。反应体系（20 μL）：2 × SG Excel Fast SYBR Mixture（上海生工生物工程股份有限公司）10 μL、上游下游引物各0.6 μL（引物浓度10 μmol/L）、ddH_2O 7.8 μL、cDNA 1 μL。反应条件：预变性95℃ 3 min，变性95℃ 5 s，退火60℃ 20 s，40个循环，添加熔解曲线分析。所有处理均设置3个生物学重复和4个技术重复。基因的相对表达量采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$方法进行计算。

表1 本研究所用引物信息

Table 1 Information of primers used in this study

引物名称Primer name	引物序列（5′-3′）Primer sequence（5′-3′）	用途Purpose
Tret1F1	AAGGAAGCCGAGGAGAAG	*TdTret1*中间片段扩增 *TdTret1* intermediate fragment cloning
Tret1R1	AAGACCAGGAACCAGTTGA	
Tret1F2	ACCTACCTGTCGGAGATAG	
Tret1R2	CCAATGCCATTCCACACT	
Tret1F3	CGATGTGTCGAATCTTGG	
Tret1R3	GCATATAGCCGAGATAACG	
Tret1F4	CGACGACGACGCTCTATA	
Tret1R4	CTTCTCCTCGGCTTCCTT	
Tret1-2F1	ACAATCATTCGCACTCGTA	*TdTret1-2*中间片段扩增 *TdTret1* intermediate fragment cloning
Tret1-2R1	GCAGCCTCTTCATCCTTG	
Tret1-2F2	CGGCTCCTATCTGAATTGG	
Tret1-2R2	CGAGTTGTAGTAGGCGTAG	
Tret1-2F3	ATTATTGGCTGCTCTACTCTC	
Tret1-2R3	CGGCGTAGAACCAGAATG	
qTret1F	GCTCTCGTCATCTGCCTGTT	定量*TdTret1* Quantitative *TdTret1*
qTret1R	TGCCACCAATGCCATTCCA	
qTret1-2F	GCGTGCTGCTGTCGTACAT	定量*TdTret1-2* Quantitative *TdTret1-2*
qTret1-2R	AGCCTCTTCATCCTTGCCATTG	
GADPH-F	CCTCGTCGTCAACGGCAACAA	qPCR内参 Endogenous reference genes
GADPH-R	GACCTTCTTGGCACCACCTTCC	

1.5 数据分析

以SPSS19.0对松毛虫赤眼蜂不同发育阶段的*TdTret1*和*TdTret1-2*相对表达量和滞育过程中的相对表达量的数据进行单因素方差分析及Duncan氏多重比较，松毛虫赤眼蜂滞育组与非滞育组*TdTret1*基因和*TdTret1-2*基因的相对表达量比较采用独立样本*t*检验。

2 结果与分析

2.1 *TdTret1*和*TdTret1-2*基因序列克隆及生物信息学分析

克隆得到*TdTret1*基因CDS全长为1 410 bp，编码469个氨基酸，蛋白大小为50.6 kD，PI值为8.5，蛋白结构域位于18~452位氨基酸；得到

*TdTret1-2*基因CDS全长为1 125 bp，编码374个氨基酸，蛋白大小为40.56 kDa，PI值为9.1，蛋白结构域位于18~360位氨基酸（图2）。两个基因编码蛋白均隶属于主要协同糖转运蛋白超家族（MFS），经预测不含信号肽，且分别具有12个和10个跨膜区域，均属于跨膜蛋白。以主要协同转运蛋白超家族结构蛋白（ID: A0A6H5I944.1.A来源于甘蓝夜蛾赤眼蜂*Trichogramma brassicae*；ID: A0A7M7GG92.1.A来源于蝇蛹金小蜂*Nasonia vitripennis*）为模型预测Tret1和Tret1-2的3D结构为同源序列，相似度分别为76.87%和90.25%（图3）。系统发育树选取多种膜翅目昆虫的Tret1和Tret1-2进行分析（图4）。可以看出，松毛虫赤眼蜂的两个海藻糖转运蛋白均与短管赤眼蜂*Trichogramma pretiosum*高度相似，亲缘性最高。TdTret1和膜翅目其他物种的Tret1结构域相同，属于MFS_GLUT6_8_Class3_like；TdTret1-2和膜翅目其他物种的Tret1-2结构域属于MFS superfamily（图5）。

2.2 *TdTret1*和*TdTret1-2*基因在松毛虫赤眼蜂不同发育阶段的表达分析

*TdTret1*和*TdTret1-2*基因在松毛虫赤眼蜂各个发育阶段均有表达（图6）。*TdTret1*基因在幼虫期表达量最高，之后表达量降低，到成虫期后表达量一直处于较低水平（$F = 47.035$，$P < 0.01$）；*TdTret1-2*基因同*TdTret1*基因一样，在松毛虫赤眼蜂卵期高表达，不同的是，*TdTret1-2*基因在幼虫期表达量极低，而在成虫期的表达量再次升高，在刚羽化的松毛虫赤眼蜂个体中的表达量达到最大值，随后逐渐降低，到成虫36 h时降到最低（$F = 16.891$，$P < 0.01$）。

2.3 *TdTret1*和*TdTret1-2*基因在松毛虫赤眼蜂滞育发育与正常发育过程中的表达谱分析

*TdTret1*和*TdTret1-2*基因在松毛虫赤眼蜂滞育发育阶段的表达量均存在显著差异（图7）。在滞育发育过程中，两个基因的表达趋势相同，均是在滞育期（预蛹期）表达量升高，而在解除滞育后（蛹期和成虫期）表达量降低（*TdTret1*：$F = 59.832$，$P < 0.01$；*TdTret1-2*：$F = 72.842$，$P < 0.01$）。滞育个体与正常个体相比，滞育个体*Tret1*和*Tret1-2*基因在预蛹期的表达量均极显著高于正常个体（Tret1：$t = -2.915$，$P < 0.01$；Tret1-2：$t = -7.855$，$P < 0.01$）。解除滞育后，滞育个体*Tret1*的表达量在蛹期仍极显著高于正常个体（$t = -3.905$，$P < 0.01$），到成虫期后，两者间无显著差异（$t = -1.280$, $P = 0.162$）；而*Tret1-2*基因在解除滞育个体中的表达量极显著低于正常个体（蛹期：$t = 19.992$，$P < 0.001$；成虫期：$t = 7.500$，$P < 0.001$）。

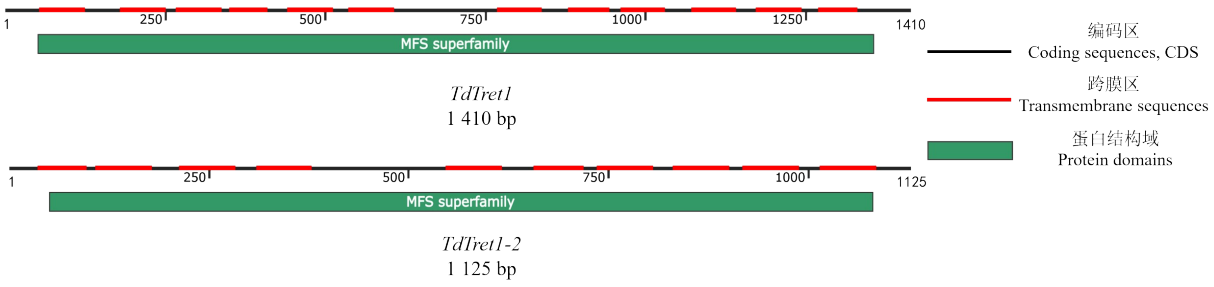

图2 松毛虫赤眼蜂*TdTret1*和*TdTret1-2*基因结构图谱

Fig. 2 Gene structure map of *TdTret1* and *TdTret1-2* in *Trichogramma dendrolimi*

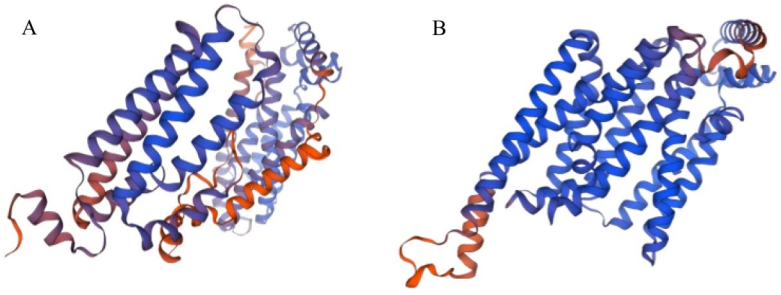

图3 松毛虫赤眼蜂Tret1（A）和Tret1-2（B）蛋白三维结构图

Fig. 3 Predicted three-dimensional structure of Tret1 (A) and Tret1-2 (B) in *Trichogramma dendrolimi*

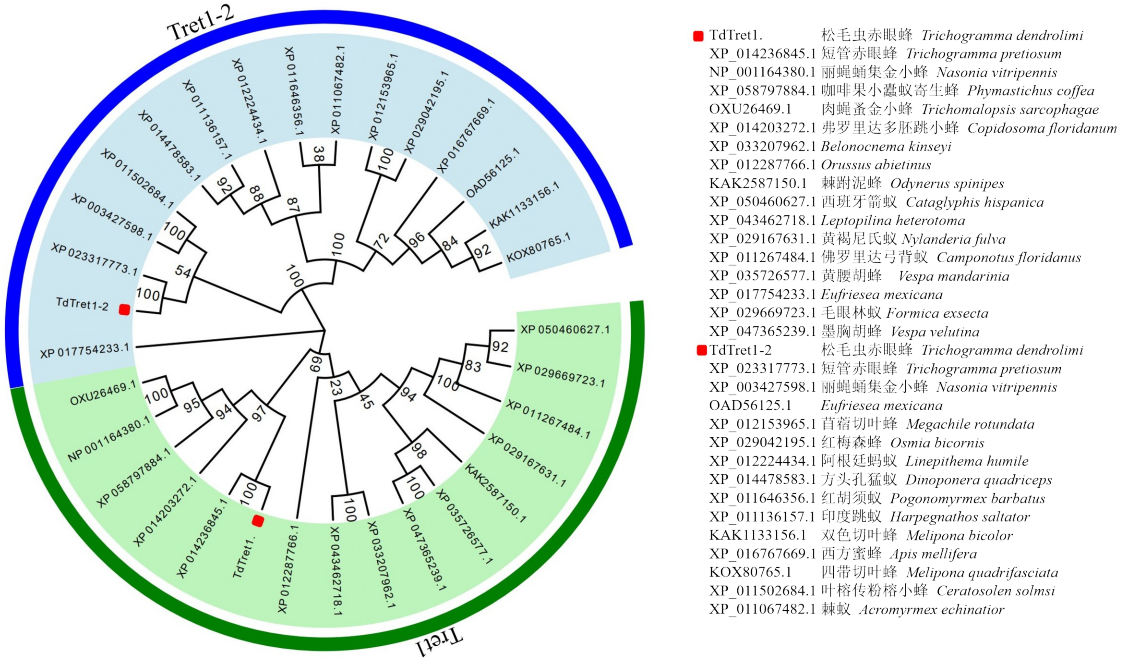

图4 邻接法构建的基于氨基酸序列的松毛虫赤眼蜂Tret1和Tret1-2与其他膜翅目物种Tret的系统进化树（1000次重复）

Fig. 4 Phylogenetic tree of Tret1 and Tret1-2 of *Trichogramma dendrolimi* and other Hymenoptera species constructed by neighbor-joining method based on amino acid sequence (1000 replicates)

注：图右侧标注中左列为氨基酸序列号（NCBI数据库），中间为中文物种名，右侧为拉丁名，其中*Belonocnema kinseyi*、*Orussus abietinus*、*Leptopilina heterotoma*、*Eufriesea mexicana*无中文物种名。Note: The left column on the right side of the figure was the amino acid serial number (NCBI database), the middle was the Chinese species names, and the right was the Latin binomials, among which *Belonocnema kinseyi*, *Orussus abietinus*, *Leptopilina heterotoma*, *Eufriesea mexicana* lack standardized Chinese species name.

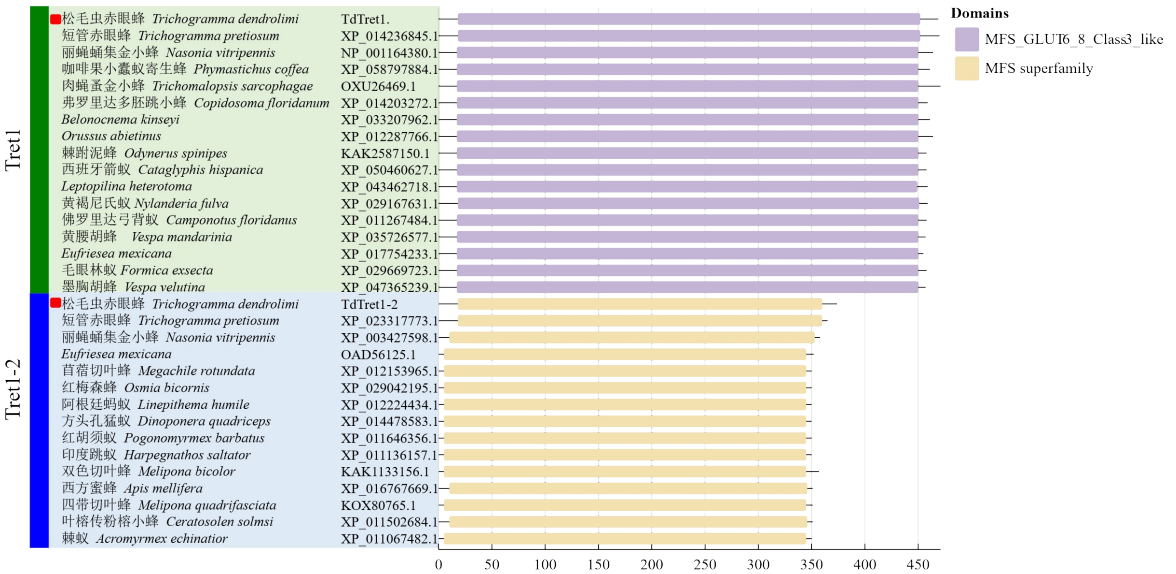

图5 松毛虫赤眼蜂Tret1和Tret1-2与其他膜翅目物种Tret的蛋白结构域

Fig. 5 Protein domain comparison of Tret1 and Tret1-2 between *Trichogramma dendrolimi* and other hymenopteran species

注：图左侧标注中左列为氨基酸序列号（NCBI数据库），中间为中文物种名，右侧为拉丁名，其中*Belonocnema kinseyi*、*Orussus abietinus*、*Leptopilina heterotoma*、*Eufriesea mexicana*无中文物种名。Note: The left column on the left side of the figure was the amino acid serial number (NCBI database), the middle was the Chinese species names, and the right was the Latin binomials, among which *Belonocnema kinseyi*, *Orussus abietinus*, *Leptopilina heterotoma*, *Eufriesea mexicana* lack standardized Chinese species name.

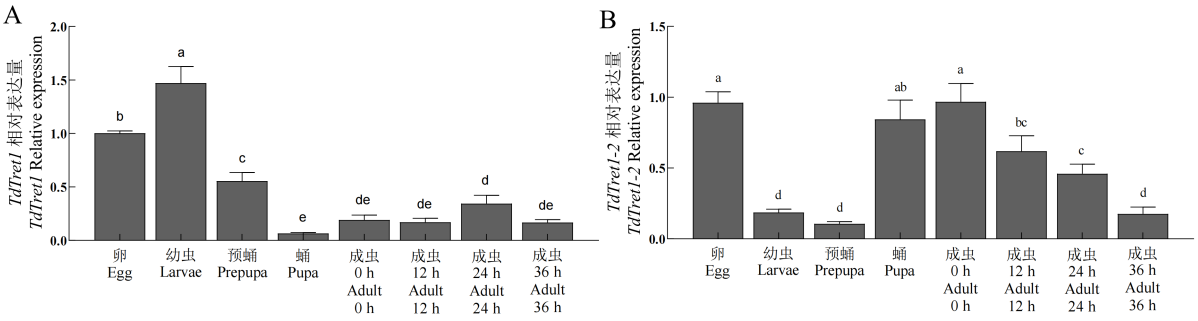

图6 *TdTret1*（A）和*TdTret1-2*（B）在松毛虫赤眼蜂不同发育阶段相对表达量

Fig. 6 Relative expression levels of *TdTret1*（A）and *TdTret1-2*（B）at different developmental stages of *Trichogramma dendrolimi*

注：图中数据为平均值 ± 标准误；柱上不同字母表示差异显著（$P < 0.05$，Duncan氏多重比较）。Note: The data in the figure were average ± standard error. Different letters above bars indicated significant difference ($P < 0.05$, Duncan′s multiple comparisons).

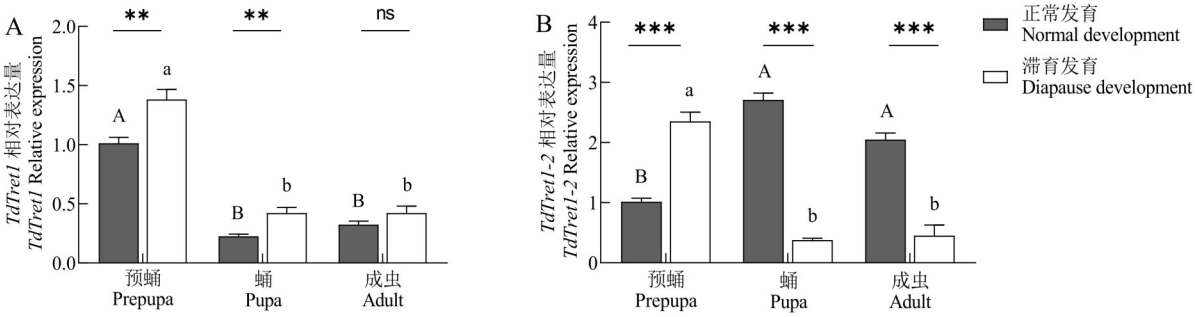

图7 *TdTret1*（A）和*TdTret1-2*（B）在松毛虫赤眼蜂滞育发育与正常发育不同阶段相对表达量

Fig. 7 Relative expression levels of *TdTret1* (A) and *TdTret1-2* (B) at different stages of diapause and normal development in *Trichogramma dendrolimi*

注：图中数据为平均值 ± 标准误；柱上***表示差异极显著（$P < 0.001$，t检验），**表示差异极显著（$P < 0.01$，t检验），ns表示差异不显著（$P > 0.05$，t检验）；柱上不同大写字母表示正常发育组差异显著，柱上不同小写字母表示滞育发育组差异显著（$P < 0.05$，Duncan氏多重比较）。Note: The data in the figure were average ± standard error. *** on the column meant the difference was extremely significant ($P < 0.001$, t − test), ** meant the difference was extremely significant ($P < 0.01$, t − test), ns meant no significant ($P > 0.05$, t − test). Different capital letters above bars indicated significant differences in normal development group, and different lowercase letters above bars indicated significant differences in diapause development group ($P < 0.05$, Duncan′s multiple comparison).

2.4 松毛虫赤眼蜂滞育诱导过程中*TdTret1*和*TdTret1-2*基因表达变化分析

在松毛虫赤眼蜂滞育诱导过程中，*TdTret1*基因的相对表达量逐渐升高，在第15天达到峰值之后下降，在第25天和第30天下降到最低值（$F = 13.686$，$P < 0.01$，图8-A）；而*TdTret1-2*基因的相对表达量则呈现在第5天达到峰值后逐渐降低的趋势（$F = 11.442$，$P < 0.01$，图8-B）。

3 结论与讨论

本研究克隆得到两条松毛虫赤眼蜂海藻糖转运蛋白基因*TdTret1*和*TdTret1-2*开放阅读框序列，分别编码469个和374个氨基酸，均含有一个MFS超家族结构域，分别具有12个和10个跨膜区。大猿叶甲、小菜蛾等昆虫的Tret1均具有12个跨膜区（Li *et al.*，2020；Zhou *et al.*，2022），棉铃虫*Helicoverpa armigera*中的大多数糖转运体有10～12个跨膜区，这说明*TdTret1*和*TdTret1-2*与大多数糖转运蛋白结构相似（Tellis *et al.*，2023）。与膜翅目其他昆虫的海藻糖转运蛋白氨基酸序列进行比较，结果表明TdTret1和TdTret1-2均与短管赤眼蜂序列一致性最高，亲缘关系最近。另外，通过对比他们的结构域可知TdTret1和TdTret1-2均属于主要协同糖转运蛋白MFS superfamily，但TdTret1包含葡萄糖转运蛋白MFS_GLUT6_8_Class3_

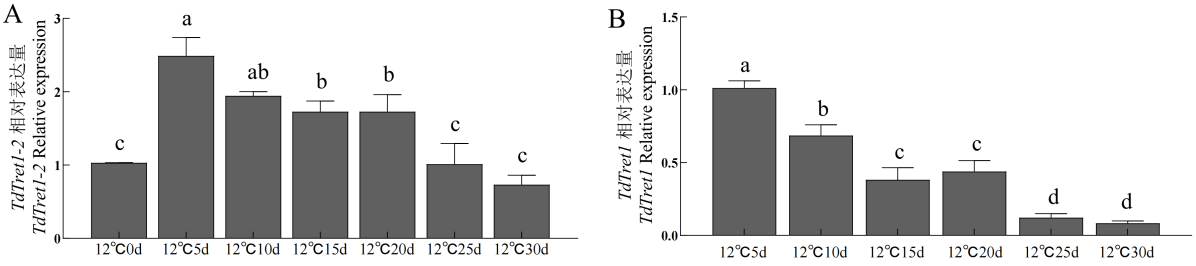

图8 *TdTret1*（A）和*TdTret1-2*（B）在松毛虫赤眼蜂滞育过程中相对表达量

Fig. 8 Relative expression levels of *TdTret1*（A）and *TdTret1*-2（B）during diapause in *Trichogramma dendrolimi*

注：图中数据为平均值 ± 标准误；柱上不同字母表示差异显著（$P< 0.05$，Duncan氏多重比较）。Note: The data in the figure were average ± standard error. Different letters above bars indicated significant difference ($P < 0.05$, Duncan′s multiple comparisons).

like结构，说明这两个蛋白在功能上有共通的作用但又有所差异。在嗜睡摇蚊 *Polypedilum vanderplanki* 中发现的Tret1编码蛋白可能属于葡萄糖转运蛋白超家族，对海藻糖和葡萄糖类似物均有转运作用（Kanamori *et al.*，2010）。

海藻糖在昆虫体内的循环主要依靠海藻糖转运蛋白的调节。对比松毛虫赤眼蜂不同发育阶段的 *TdTret1* 和 *TdTret1-2* 基因的相对表达量，发现 *TdTret1* 和 *TdTret1-2* 均在松毛虫赤眼蜂卵期高表达，这可能是由于松毛虫赤眼蜂在卵期需要大量海藻糖以提供能量来完成胚胎发育，在家蚕 *Bombyx mori* 胚胎发育中后期 *Tret1* 高表达（Gu *et al.*，2023）。*TdTret1* 在松毛虫赤眼蜂的幼虫期高表达，幼虫期是松毛虫赤眼蜂取食的主要时期，在这一时期松毛虫赤眼蜂大量取食以促进体积增长和消化道发育。昆虫幼虫期的能源物质主要为碳水化合物（王代娣，2002）。而 *TdTret1-2* 在松毛虫赤眼蜂的成虫期高表达，成虫期后松毛虫赤眼蜂的各种器官已形成，可进行飞行和交配等生命活动，由之前的“静态”转变为“动态”（曾继贤等，1982）。在小菜蛾蛹期和成虫期海藻糖转运蛋白基因高表达（Zhou *et al.*，2022）。另外有研究发现在敲低黑腹果蝇的 *Tret1-2* 后会导致其无法飞行，海藻糖在昆虫飞行活动中发挥重要作用（Volkenhoff *et al.*，2015；Marten *et al.*，2020）。根据本研究结果推测，*TdTret1* 和 *TdTret1-2* 基因可能在松毛虫赤眼蜂不同发育阶段发挥作用，因此，这两种海藻糖转运蛋白基因在松毛虫赤眼蜂体内呈现“错峰”表达的模式。

当昆虫进入一个低温环境时，体内会积累大量的海藻糖来维持生存，而海藻糖则需要海藻糖转运蛋白来协助运输到昆虫各个组织（Mohammadzadeh *et al.*，2017；王雪莹等，2023）。在松毛虫赤眼蜂中，滞育松毛虫个体的 *TdTret1* 和 *TdTret1-2* 基因的表达量显著高于正常发育的个体，说明这两个基因均在松毛虫赤眼蜂滞育时发挥作用。在松毛虫赤眼蜂滞育诱导的过程中，*TdTret1* 的表达量呈现先升高再降低的趋势，在第15天达到峰值，这可能是因为其前期需要转运大量海藻糖以抵抗低温并进入滞育状态，而在第15天以后柞蚕卵内多数松毛虫赤眼蜂已经进入稳定滞育及进入预蛹状态。而 *TdTret1-2* 的表达量在诱导前期最高，随着滞育诱导时间的增加逐渐下降，由此推测这两个海藻糖转运蛋白基因在调控松毛虫赤眼蜂滞育的过程中，发挥作用的时间点不同，*TdTret1-2* 相较于 *TdTret1* 对低温的响应更快。

近年来，越来越多的国内外学者发现海藻糖几乎在昆虫生长发育的所有阶段均发挥重要作用。本研究从基因克隆和表达层次初步阐释了两个海藻糖转运蛋白基因在松毛虫赤眼蜂滞育发育过程中的表达模式，为海藻糖调节昆虫抵御低温环境以及松毛虫赤眼蜂滞育的调控机制的研究提供理论基础。后续还需开展RNAi试验进行功能验证，另外关于海藻糖转运蛋白在昆虫体内调节昆虫糖代谢的机理仍有待进一步研究。

参考文献（References）

Ash C. Trehalose confers superpowers [J]. *Science*, 2017, 358 (6369): 1398-1399.

García de Castro A, Tunnacliffe A. Intracellular trehalose improves osmotolerance but not desiccation tolerance in mammalian cells [J]. *Febs Letters*, 2000, 487 (2): 199-202.

Gu SH, Lin PL, Chang CH. Expressions of sugar transporter genes during *Bombyx mori* embryonic development [J]. *Journal of*

Experimental Zoology, 2023, 339 (8): 778-798.

Huang QT, Zhang GJ, Nan JL, *et al.* Characterization of trehalose metabolic genes and corresponding enzymatic activities during diapause of *Sitodiplosis mosellana* [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2021, 135: 104324.

Kanamori Y, Saito A, Hagiwara-Komoda Y, *et al.* The trehalose transporter 1 gene sequence is conserved in insects and encodes proteins with different kinetic properties involved in trehalose import into peripheral tissues [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2010, 40 (1): 30-37.

Kikawada T, Saito A, Kanamori Y, *et al.* Trehalose transporter 1, a facilitated and high-capacity trehalose transporter, allows exogenous trehalose uptake into cells [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104 (28): 11585-11590.

Li JX, Cao Z, Guo S, *et al.* Molecular characterization and functional analysis of two trehalose transporter genes in the cabbage beetle, *Colaphellus bowringi* [J]. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 2020, 23 (3): 627-633.

Li Y, HAO YJ, Zhang YJ, *et al.* Cloning, bioinformatic analysis and diapause-related expression of trehalose-6-phosphate synthase gene from the onion maggot, *Delia antiqua* (Diptera: Anthomyiidae) [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2013, 56 (4): 329-338. [李源, 郝友进, 张玉娟, 等. 葱蝇海藻糖-6-磷酸合成酶基因的克隆、序列分析及滞育相关表达 [J]. 昆虫学报, 2013, 56 (4): 329-338]

Lu MX, Yang CS, Teng XY, *et al.* Temperature and photoperiodic effects on the dynamics of sugar content in the fat body and haemolymph of *Quercus serrata* pupae [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 1992, 35 (1): 30-37. [陆明贤, 杨长松, 滕秀银, 等. 柞蚕蛹脂肪体和血淋巴中糖类含量动态的温度和光周期效应 [J]. 昆虫学报, 1992, 35 (1): 30-37]

Marten AD, Stothard AI, Kalera K, *et al.* Delays Development and prevents flight in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) [J]. *Journal of Medical Entomology*, 2020, 57 (4): 1096-1103.

Mohammadzadeh M, Borzoui E, Izadi H. Physiological and biochemical differences in diapausing and nondiapausing larvae of *Eurytoma plotnikovi* (Hymenoptera: Eurytomidae) [J]. *Environmental Entomology*, 2017, 46 (6): 1424-1431.

Nomura M, Ishikawa Y. Dynamic changes in cold hardiness, high-temperature tolerance and trehalose content in the onion maggot, *Delia antiqua* (Diptera: Anthomyiidae), associated with the summer and winter diapause [J]. *Applied Entomology and Zoology*, 2001, 36 (4): 443-449.

Shukla E, Thorat LJ, Nath BB, *et al.* Insect trehalase: Physiological significance and potential applications [J]. *Glycobiology*, 2015, 25 (4): 357-367.

Smith SM. Biological control with *Trichogramma*; advances, successes, and potential of their use [J]. *Annual Review of Entomology*, 1996, 41 (1): 375-406.

Tellis MB, Chaudhari BY, Deshpande SV, *et al.* Trehalose transporter-like gene diversity and dynamics enhances stress response and recovery in *Helicoverpa armigera* [J]. *Gene*, 2023, 862: 147259.

Tellis MB, Kotkar HM, Joshi RS. Regulation of trehalose metabolism in insects: From genes to the metabolite window [J]. *Glycobiology*, 2023, 33 (4): 262-273.

Thorat LJ, Gaikwad SM, Nath BB. Trehalose as an indicator of desiccation stress in *Drosophila melanogaster* larvae: A potential marker of anhydrobiosis [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2012, 419 (4): 638-642.

Volkenhoff A, Weiler A, Letzel M, *et al.* Glial glycolysis is essential for neuronal survival in *Drosophila* [J]. *Cell Metabolism*, 2015, 22 (3): 437-447.

Wang XY, Hou JM, Bo LQ, *et al.* Effects of low temperature stress on trehalose and trehalase in muscle larvae of *Trichinella spiralis* [J]. *Chinese Veterinary Science*, 2023, 53 (1): 78-84. [王雪莹, 侯嘉茗, 薄禄琪, 等. 低温胁迫对旋毛虫肌幼虫海藻糖及海藻糖酶的影响 [J]. 中国兽医科学, 2023, 53 (1): 78-84]

Wang DD. Study on the Dynamics of Individual Energy Balance in the *White elm tussock* [D]. Xi'an: Northwest Agriculture and Forestry University Master Thesis, 2002. [王代娣. 杨毒蛾个体能量收支动态的研究 [D]. 西安: 西北农林科技大学硕士论文, 2002]

Wen X, Wang S, Duman JG, *et al.* Antifreeze proteins govern the precipitation of trehalose in a freezing-avoiding insect at low temperature [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113 (24): 6683-6688.

Wu LL. The Factory Production of *Trichogramma dendroliml* and Technology Research of Field Application [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences Master Thesis, 2014. [武琳琳. 松毛虫赤眼蜂工厂化生产及田间应用技术研究 [D]. 北京：中国农业科学院硕士论文, 2014]

Wyatt GR. The biochemistry of sugars and polysaccharides in insects [J]. *Advances in Insect Physiology*, 1967, 4: 287-360.

Zang LS, Wang S, Zhang F, *et al.* Biological control with *Trichogramma* in China: History, present status, and perspectives [J]. *Annual Review of Entomology*, 2021, 66 (1): 463-484.

Zeng JX, Yang YZ, Shi TJ. Individual developmental observations of *Trichogramma dendroliml* [J]. *Chinese Bulletin of Entomology*, 1982, 3: 44. [曾继贤, 杨攸奏, 史土金. 松毛虫赤眼蜂的个体发育观察法 [J]. 昆虫知识, 1982, 3: 44]

Zhang JJ, Ruan CC, Zang LS, *et al.* Technological improvements for mass production of *Trichogramma* and current status of their applications for biological control on agricultural pests in China [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2015, 31 (5): 638-646. [张俊杰, 阮长春, 臧连生, 等. 我国赤眼蜂工厂化繁育技术改进及防治农业害虫应用现状 [J]. 中国生物防治学报, 2015, 31 (5): 638-646]

Zhou HL, Lei GK, Chen YT, *et al.* *PxTret1*-like affects the temperature adaptability of a cosmopolitan pest by altering trehalose tissue distribution [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23 (16): 9019.