滞育昆虫小分子含量变化研究进展*

丁惠梅[1,2**] 马 罡[1] 武三安[2] 赵 飞[1] 马春森[1***]

(1. 中国农业科学院植物保护研究所 北京 100081; 2. 北京林业大学 北京 100083)

摘 要 越冬期间昆虫的滞育深度和虫体健康状态从表面难以判断,但通过虫体生化物质的测定,可以有效解决这一难题,为预测预报提供可靠信息。本文从越冬期生化物质的变化规律和主要影响影子两部分综述了国内外越冬期滞育昆虫的生化研究进展。国内外研究表明,糖原是主要的能量物质,可以转化为海藻糖、葡萄糖/果糖、甘油、山梨醇/甘露醇、肌醇、脂肪酸、氨基酸等小分子防冻剂,这些物质有稳定细胞膜结构和保护蛋白功能的作用。其变化表现出先减少后增加、先增加后减少、持续减少和持续增加4种类型。脂肪的作用与糖原类似。温度和滞育深度是影响生化物质合成、转化的主要因子,滞育深度是昆虫感知温度的先决条件,温度是物质合成的必须条件。这些研究可为翌年昆虫发生的预测预报提供一种新的思路。

关键词 糖类,醇类,脂肪,蛋白,温度,滞育深度

A literature review on changes of small molecules of diapause insects during overwintering period

DING Hui-Mei[1,2**] MA Gang[1] WU San-An[2] ZHAO Fei[1] MA Chun-Sen[1***]

(1. Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China;
2. Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract It is difficult to determine the diapause intensity and health status of diapausing insects while these are overwintering. However, this can be achieved by measuring certain biochemicals in insects' bodies thereby providing useful information for population forecasting. By reviewing the literature on the bio-molecules of diapause insects, we here summarize: 1) methods for correlated studies; 2) changing patterns of certain biochemicals including sugar, polyol, fat and protein; 3) the factors, including temperature, diapause intensity and their interactions, that influence the content of these biochemicals. During the overwintering period, glycogen, which serves as primary energy storage, can be transferred into a series of small antifreeze molecules, including trehalose, glucose/fructose, plycerol, sorbitol/mannitol, inositol, fatty acids and amino acids. These bio-molecules can protect diapausing insects by stabling membrane structures and maintaining protein function. Glycogen showed the following four trends during diapause: 1) first decrease and then increase; 2) first increase and then decrease; 3) continuous increase and continuous decrease. The function of fat is similar to glycogen. Because temperature is necessary for internal bio-molecule synthesis and transformation it is essential that insects that go through a relatively deep intensity diapause are able to detect external temperature fluctuations. These results provide a novel approach to predicting insect population trends.

Key words sugar, polyol, fat, protein, temperature, diapause intensity

滞育是一种遗传学决定的受激素调节的发育停滞现象,发生在昆虫发育的特定阶段(Denlinger,1985; Tauber *et al.*,1986; Han *et al.*,2008),是生活在温带的昆虫躲避冬季低温和食物缺乏的一种主要方式,昆虫通过滞育达到与外界物候的同步性(Danks,1987; Tanaka,1996)。冬滞

* 资助项目:公益性行业(农业)科研专项201103024。

** E-mail: dinghuimei0350@163.com

*** 通讯作者,E-mail: ma_chunsen@cjac.org.cn

收稿日期:2011-03-08,接受日期:2011-05-17

育昆虫要度过长达半年的滞育期,且多在隐蔽处不食不动,越冬期间昆虫的死亡率受昆虫自身滞育深度、营养状况以及滞育期间和滞育后发育期间的温度等环境条件的影响很大,而从表面上很难鉴定越冬虫体的健康状况,如桃小食心虫滞育的越冬茧有些批次的越冬死亡率高达 80%,甚至全部覆没;而有些批次的死亡率则仅为 30%(作者未发表数据)。

已有的研究表明,低温使细胞膜结构和蛋白功能受损,离子转运通道不平衡甚至消失,因而导致昆虫损害或死亡(Morris *et al.*,1983; Lee *et al.*, 1991; Kelty *et al.*,1996; Kostal *et al.*,2004)。醇类如甘油、山梨醇/甘露醇、肌醇等,糖类如糖原、海藻糖、葡萄糖/果糖等,蛋白质和氨基酸如滞育蛋白、脯氨酸、丝氨酸、丙氨酸等,以及脂肪等生物分子已被证实在低温下具有保护细胞的功能(Bale, 2002),称为冷冻保护剂,它们具有在 0℃以上低温和结冰时保护细胞膜和蛋白结构稳定性(Crowe *et al.*, 1983; Carpenter and Crowe, 1988; Crowe *et al.*,1990; Williams,1990),降低渗透压,降低结冰点和减少结冰概率(Lee, 1991; Storey and Storey,1991),保护昆虫免受低温伤害的功能。因此,研究越冬期间滞育昆虫的这些生物分子含量的动态变化有助于了解越冬昆虫的滞育深度和健康状况,再结合温、湿度等环境条件对滞育的影响,可以较为准确地预测昆虫的滞育后发育进度、春季出蛰期和冬后存活的有效种群数量,从而为越冬后昆虫的防治提供有用信息。

目前已有的关于昆虫滞育方面的综述主要侧重于诱导滞育的外界环境条件(光周期、温度、营养等)(王满囤和李周直,2004)、滞育与抗寒性的关系(李毅平和龚和,1998; 陈豪等,2010)以及滞育与休眠的区别(吴坤君,2002)、夏滞育(刘柱东等,2002a,2002b)、滞育相关的激素、酶类及分子(徐卫华,1999; 王洪亮等,2008)等方面的研究。近年来国内外对滞育昆虫生物分子的动态变化及其影响因子进行了研究,获取了不少数据,但尚缺乏全面系统的总结(高玉红等,2004)。因此,本文对越冬期这些生物分子在滞育昆虫体内的动态变化规律以及温度的影响和滞育深度等有关研究进展进行了总结,以期为滞育越冬昆虫的预测预报提供一种思路。

1　滞育昆虫小分子含量变化的研究方法

对滞育昆虫越冬期间的生理生化进行研究,我国学者较常见的方法是进行野外试验,选取整个越冬期间,10 月到翌年 3—4 月,每月定时定点从野外抽样,带回实验室进行测定(陈永杰等,2005; 韩瑞东等,2005; 梁中贵等,2005)。国外学者较多在实验室条件下研究,如进行一系列低温适应训练,每隔相同的时间进行测定,温度和时间的选取参照外界气温数据和滞育持续时间(Goto *et al.*,1998,2001a,2001b)。在野外,温度和滞育深度同时存在,处于一定的温度必然就处于相应的滞育深度。在实验室条件下,可以通过相同处理时间,不同处理温度/不同处理时间,相同处理温度,使昆虫的滞育深度不同,从而区分温度或者滞育深度单个因子对生理生化指标的影响。

从拟测试生物分子所在组织或器官的选择来看,测定蛋白含量时多选取血淋巴,因为其中的蛋白和氨基酸含量最多。其他指标多选取整个虫体,也可根据昆虫自身的特点选取测试组分,如甲虫常具有坚硬的外壳,有些昆虫具有鲜艳的体壁,考虑到取材时的难度及颜色对试验数据的影响,此时宜选取血淋巴和脂肪体。从各指标的测定方法来看,测定糖类物质所需的方法较为传统,用分光光度计法即可测定;在测定山梨醇、甘露醇或者脂肪酸种类时需借助气相或液相色谱,测定氨基酸种类时需氨基酸自动分析仪,测定蛋白质种类时需要进行电泳和谱带分析(孙绪艮等,2000; 强承魁等,2008)。

2　滞育昆虫小分子含量变化趋势

2.1　糖类

越冬期间变化明显的糖类物质主要有糖原、海藻糖、葡萄糖/果糖等。糖原是主要的能量物质,海藻糖具有保护细胞膜和蛋白结构稳定性的功能,葡萄糖/果糖是合成二元和多元糖/醇的原料。

2.1.1　糖原　糖原是由葡萄糖结合而成的支链多糖,是滞育昆虫越冬前期的储能物质,糖原代谢为昆虫顺利越冬提供了能量保证,也是糖、醇类冷冻保护剂的主要来源之一。Hayakawa 和 Chino (1982)把滞育昆虫的糖原代谢分成糖-醇积累型和海藻糖积累型 2 种类型。

越冬滞育昆虫主要有 2 种糖原积累方式。一类是在越冬前积累一次糖原，此后含量逐渐减少。如棉铃虫 *Helicoverpa armigera*、大斑芫菁 *Mylabris phalerate*、大蛛蛛 *Achaearanea tepidariorum* 等属于此类。其中，棉铃虫滞育蛹糖原含量在 10 月、12 月和次年的 3 月下旬，分别占干蛹重的 3.25%、1.14% 和 0.37%（张韵酶，1994），呈明显下降趋势。实验室恒温条件下，大斑芫菁滞育幼虫血淋巴和脂肪体中的糖原代谢表现出相似的规律，滞育初期（0.5 个月）时分别为 0.72 mg/mL 和 0.61 mg/g；到滞育末期（5 个月）时降低至 0.1 mg/mL 和 0.29 mg/g（朱芬等，2008）。大蛛蛛体内糖原含量从 12 月到 3 月也表现出持续的减少（Tanaka，1995）。而另一类昆虫如家蚕 *Bombyx mori*、美凤蝶 *Papilio memnon* 等昆虫在越冬前及越冬间，体内存在着 2 次糖原积累，即糖原含量先减少后增加，呈 U 型曲线变化。其中，家蚕滞育卵 25℃ 下放置 30 d，糖原由 120 μmols/g 减少至 40 μmols/g；此后长时间（600 d）保存在 0℃ 下，糖原含量仍较低；当再转至 5℃ 时，糖原含量增加一倍，滞育开始解除（朱江等，1992）。美凤蝶滞育蛹内糖原含量在 10 月、12 月、1 月下旬的含量分别为 9、3、9 mg/g，糖原在 10 月和 1 月出现 2 次积累，第 2 次糖原积累可能来自体内脂肪的转化和消耗（易传辉等，2009）。

2.1.2 海藻糖 海藻糖是昆虫体内主要的血糖，也是一种抗冻剂，在高温、高寒、高渗透压及干燥失水等恶劣环境条件下在细胞表面能形成独特的保护膜，有效地保护蛋白质分子不变性失活，从而维持生命体的生命过程和生物特征（Crowe *et al.*，1990；Williams，1990），因此海藻糖的积累与昆虫抗寒性的增强关系密切（Storey and Story，1988；Ding *et al.*，2003）。昆虫体内的海藻糖积累主要由糖原分解代谢而来，不同的昆虫变化趋势不尽相同，常见的变化类型有 2 种：一类是在 10 月至次年 3 月间海藻糖含量持续增加。如阿松扁叶蜂 *Acantholyda posticalis*、麦红吸浆虫 *Sitodiplosis mosellana* 等。其中，阿松扁叶蜂滞育幼虫中海藻糖增加最为明显，12 月较 10 月增加约 80%，2 月较 12 月增加 3.5 倍（梁中贵等，2005）。麦红吸浆虫当年或者多年滞育的结茧幼虫，越冬期内海藻糖含量持续增加，一直在较高的水平；解除滞育后，海藻糖含量则急剧下降（仵均祥等，2004）。另一类是海藻糖含量呈倒 U 型变化，即在越冬期内先升高后降低，一般在最冷月份或者略微滞后达到最高值，而后逐渐下降。如滞育红色种子象甲 *Smicronyx fulvus* 幼虫体内的海藻糖含量与同期地温呈明显的负相关，地温最低时，海藻糖含量最高，随着气温的回升，海藻糖含量开始减少（Rojas *et al.*，1991）。赤松毛虫 *Dendrolimus spectabilis* 和螟虫 *Enosima leucotaeniella* 也属于此类（Goto *et al.*，1993；韩瑞东等，2005）。

2.1.3 葡萄糖/果糖 越冬期变化明显的糖类物质还有互为同分异构体的小分子糖——葡萄糖/果糖，葡萄糖是活细胞的能量来源，多元糖、醇的合成原料；果糖的作用与葡萄糖类似，在滞育昆虫抗寒性增强的过程中起着重要作用。赤松毛虫幼虫血淋巴中葡萄糖含量较大，越冬期间呈倒 U 型曲线变化，在 10 月、1 月、3 月时含量分别为其体重的 0.12%、1.21%、0.11%（韩瑞东等，2005）。阿松扁叶蜂滞育初期葡萄糖、果糖含量较高，并且整个越冬期葡萄糖持续上升，而果糖则呈倒 U 型变化（梁中贵等，2005）。

2.2 醇类

很多越冬昆虫通过甘油和其他多元醇的累积，降低过冷却点、固定细胞膜、减少渗透压和结冰概率等，从而保护自身免受寒冷损伤（Zachariassen，1985；Storey and Storey，1988）。越冬期间昆虫体内变化较明显的醇类物质包括：甘油、山梨醇和甘露醇等。

2.2.1 甘油 甘油是一种防冻剂，它的合成是越冬昆虫对抗环境因子（特别是低温）影响的一种固有的模式（Baust，1982）。Nordin 等（1984）认为甘油积累依赖于低温胁迫而非滞育本身。伊淑霞和白成（1991）证实了脂肪体是合成和分泌甘油的部位。Kukal 等（1988）发现甘油是在脂肪体中由葡萄糖合成，但甘油的积累只在 5℃ 以下，超过 5℃ 就被分解。

在糖－醇积累型滞育昆虫中，甘油呈倒 U 型曲线变化。如桑螟 *Diaphania pyloalis* 幼虫在 9 月、翌年 1 月和 4 月甘油含量分别为 3.85、10.82 和 4.07 mg/mL（陈永杰等，2005）。亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* 滞育幼虫 10 月中旬甘油含量几乎为 0，到 1 月中旬增加到 30.4 mg/mL（Goto *et al.*，2001a）。甘油的积累并不是昆虫越冬所必

需的,有些昆虫越冬期并不积累甘油,如棉铃虫滞育蛹和非滞育蛹中甘油含量都较低,经 8℃冷处理后,仍未见增加(高玉红等,2004)。大菜粉蝶 *Pieris brassicae* 滞育蛹也不积累甘油,而仅积累山梨醇(Pullin and Bale,1989)。

2.2.2　山梨醇/甘露醇　除甘油外,互为同分异构体的山梨醇和甘露醇也是研究昆虫越冬生化物质变化的重要指标。山梨醇分子结构中有 6 个亲水基团,很容易与水分子结合,从而使自由水含量减少,降低结冰概率。山梨醇除了提高抗寒性外,还可通过与自由水的结合,使新陈代谢速率降低,促进胚胎的滞育(吴大洋,2002),因此山梨醇的含量可用来衡量昆虫的滞育状态。山梨醇是家蚕在滞育期间的主要积累物质,如在 25℃下处理 30 d,家蚕滞育卵中山梨醇含量达到最高值,此时已完全进入滞育状态;在 0℃长时间保存,山梨醇含量仍然保持较高水平,此时处于滞育维持期;当转移到 5℃时,山梨醇含量降低,滞育开始解除(朱江等,1992)。麦红吸浆虫在越冬滞育期间,山梨醇的含量呈现出随温度降低而逐渐增加的趋势(王洪亮,2007)。甘露醇是山梨醇的异构体,不同昆虫种类的甘露醇变化趋势不尽相同,如赤松毛虫幼虫血淋巴中甘露醇越冬期间呈倒 U 型曲线变化(韩瑞东等,2005),而阿松扁叶蜂滞育期间血淋巴中的甘露醇则呈 U 型曲线变化(梁中贵等,2005)。这说明糖、醇等抗冻物质在不同的滞育昆虫体内发挥的作用也并不相同。

2.2.3　肌醇　肌醇也称为肌糖,是一种环己六醇,也是一种抗冻剂,只存在于少数鞘翅目昆虫和蜘蛛体内,在大姬蛛、马铃薯二十八星瓢虫 *Epilachna vigintioctomaculata* Motschulsky (Hoshikawa,1987) 和黑脚黑守瓜 *Aulacophora nigripennis* Motschulsky (Watanabe and Tanaka,1998) 中有记载。在黑脚黑守瓜中,肌糖积累时抗寒性高,反之减少(Watanabe and Tanaka,1998)。糖原和肌醇之间是协同增长还是相互转化依昆虫种类而定,大姬蛛越冬期肌醇的合成总是伴随着糖原的积累(Tanaka,1995);黑脚黑守瓜肌醇的合成则伴随着糖原转化,表明糖原转化成了肌醇;但糖原损失量较大,可能还参与了基础代谢和成虫的飞行等(Watanabe and Tanaka,1998)。

2.3　脂肪类

脂肪与糖原的作用类似,也是滞育前期的储能物质。脂肪的测试组分一般为整个虫体,常用的测量指标有:脂肪、饱和脂肪酸/不饱和脂肪酸、结合脂肪/游离脂肪。这些物质在昆虫滞育的不同阶段含量不同,可以作为判断滞育深度的指标。脂肪在滞育期间可部分转化为甘油,甘油是合成脂肪的原料(甘油和三分子脂肪酸组成甘油三脂,即脂肪)。

2.3.1　脂肪　一些滞育昆虫越冬前期主要积累脂肪,而不是糖原,如豆蜂缘蝽 *Riptortus clavatus* 滞育态比非滞育态脂肪含量平均高出约 20% (Hoshikawa,1987),甘蓝夜蛾 *Mamestra brassicae* (Ding *et al.*,2003)、金纹小潜细蛾 *Phyllonorycter ringoniella* (Li *et al.*,2002b),豆蜂缘蝽 *Riptortus clavatus* (Morita *et al.*,1999) 也主要积累脂肪。总体上看,脂肪总量在整个滞育期呈 U 型变化,即开始进入滞育时脂肪含量增加,随着滞育的深入其含量逐渐降低,滞育解除时脂肪含量又开始增加。赤松毛虫的脂肪含量在 10 月、翌年 1 月和 3 月时分别为其体重的 13.20%、6.07% 和 8.91% (韩瑞东等,2005)。脂肪在滞育期间可部分转化为甘油。二化螟 *Chilo suppressalis* 滞育幼虫在 15℃下处理 45 d,糖原含量不变,但同时甘油含量大幅增加,这可能由一些中间物质如脂肪转化而来,这刚好与滞育时脂肪的呼吸商(糖类、蛋白或脂肪等作为能量物质进行呼吸作用时释放的二氧化碳和吸收的氧气之比)较低相符(Li *et al.*,2002a)。然而与大多数已研究的昆虫相反,膜翅目蜂类昆虫体内的脂肪则先增加而后减少,即呈“倒 U 型”变化,如卡尼鄂拉蜂 *Apis mellifera* 的脂肪含量在 10 月、翌年 1 月和 3 月时分别为其虫重的 5.61%、7.19% 和 5.86% (常志光等,2008)。阿松扁叶蜂(梁中贵等,2005) 和意蜂(常志光等,2007) 脂肪的变化趋势与其相同。

2.3.2　脂肪酸　总体上看,滞育期间不饱和脂肪酸含量增加而饱和脂肪酸含量减少,游离脂肪酸减少而结合脂肪酸增加;滞育解除后,变化则相反。昆虫体内含量较多的脂肪酸有棕榈油酸、棕榈酸、油酸、亚油酸等,除棕榈酸为饱和脂肪酸外,其余 3 种均为不饱和脂肪酸。棕榈油酸是虫体内含量最高的脂肪酸,如在费氏按蚊 *Anopheles freeborni*、跗斑库蚊 *Culex tarsalis* 和二化螟中棕榈油酸含量最高(Schaefer and Washino,1969;强承魁

等,2008)。棕榈油酸在越冬期的含量变化表现出如下规律:8 月最低,9—10 月开始增加,后保持平稳,到 3 月份时含量最高。棕榈酸含量次之,在越冬期与棕榈油酸的含量呈负相关,不饱和脂肪酸/饱和脂肪酸比率与外界温度亦呈负相关(Atapour *et al.*,2007)。此外,油酸和亚油酸在虫体含量也较高。麦红吸浆虫体内棕榈油酸、棕榈酸、油酸和亚油酸等占脂肪酸组成的 95%,滞育期间饱和脂肪酸减少,而滞育解除后又开始增加(Wu *et al.*,2001)。游离脂肪酸是热量的直接来源,也是中性脂肪(甘油三脂)分解的产物,越冬期间,二化螟滞育幼虫体内的游离脂肪酸先减少后增加,呈 U 型曲线。10 月和 4 月的含量大致相等,都约占其体重的 21%,1 月约为 17%;结合脂肪酸变化趋势则刚好相反,结合脂肪酸部分转化成小分子糖、醇,用作抗冻剂合成(强承魁等,2008)。

2.4 蛋白类

蛋白是昆虫体内的重要物质,越冬期间总量呈"倒 U 型"变化。与滞育关系密切的蛋白类物质主要包括:滞育关联蛋白和脯氨酸、丙氨酸和丝氨酸等多种氨基酸。糖蛋白为一种滞育蛋白。蛋白质的测量组分一般为整个虫体,氨基酸和糖蛋白的测量组分为血淋巴。

2.4.1 总蛋白 赤松毛虫幼虫体内的蛋白含量在越冬期 10 月、翌年 1 月和 3 月分别为 56.15%、68.39% 和 60.78%,符合倒 U 型曲线(韩瑞东等,2005)。桑尺蠖 *Phthonandria atrilineata* 5 龄幼虫蛋白含量在越冬初期为 56.17%,滞育期为 62.56%,其中糖蛋白增加 5 ~ 8 倍(孙绪艮等,2000)。在 15 ~ 0℃ 逐步降温的适应训练中,黄地老虎 *Agrotis segetum* 幼虫体内蛋白增加了 73%,其中糖蛋白增加最多(黄国洋等,1990)。

2.4.2 滞育关联蛋白 在滞育开始时出现、终止时消失的与滞育关系密切的一类蛋白统称为滞育关联蛋白。一种滞育关联蛋白——糖蛋白的增加与抗寒性的提高有着十分密切的关系(梁中贵等,2005)。大黄酸膜叶甲 *Gastrophysa atrocyanea* 的滞育关联蛋白是一种分子量为 220 ku 的糖蛋白(Renault *et al.*,2006),桑尺蠖、黄地老虎的滞育关联蛋白也是糖蛋白。墨西哥棉铃象 *Anthonomus grandis* 中也发现滞育关联蛋白(Lewis *et al.*,2002),在红尾肉蝇 *Sarcophaga crassipalpis* 中发现与滞育相关的 15 个脑蛋白(Joplin *et al.*,1990)。西南部玉米螟 *Diatraea grandiosella* 滞育关联蛋白在脂肪体和血淋巴中含量较高,在预滞育期(pre-diapause)出现,在滞育维持期含量最高,而滞育解除后几乎没有(Brown and Chippendale,1978)。

2.4.3 氨基酸 尽管有些昆虫滞育期间总蛋白含量变化甚微,但其中的几种氨基酸变化明显。在低温适应过程中,不同种昆虫中与滞育相关的氨基酸不同(孙绪艮等,2000; 黄国洋等,1990; Fields *et al.*,1998; Hanzal and Jegorov,1991),较常见的如脯氨酸、丙氨酸和丝氨酸。脯氨酸与抗寒性表现出正相关(Fields *et al.*,1998),作用为稳定细胞膜结构或者蛋白构象(Ichimori *et al.*,1990)。而丝氨酸与尿酸和嘌呤合成相关。丙氨酸和丝氨酸分别为甘油在无氧和有氧条件下的产物,虽然越冬期中变化明显,但与抗寒性的关系尚不明确(Li *et al.*,2001; Goto *et al.*, 2001a)。如亚洲玉米螟血淋巴中的自由氨基酸总量从 10 月到 1 月保持恒定,家蚕滞育卵中蛋白的变化也类似(Goto *et al.*,2001b),但二者都呈现丝氨酸减少,丙氨酸增加的趋势。在西南部玉米螟和欧洲玉米螟滞育幼虫血淋巴中,丝氨酸、丙氨酸、脯氨酸变化与温度变化呈负相关,丝氨酸与尿酸和嘌呤合成相关。在锈赤扁谷盗 *Cryptolestes ferrugineus* 中脯氨酸含量变化也与温度变化呈负相关,与抗寒性相关(Fields *et al.*, 1998; Morgan and Chippendile, 1983)。在越冬期,氨基酸的种类也会出现变化,如赤松毛虫滞育幼虫,天冬氨酸在越冬期消失,而只在越冬前期和后期存在(韩瑞东等,2005)。这些特殊氨基酸的出现与消失可以作为判断滞育深度的关键因子。

3 滞育昆虫生物分子含量变化的影响因子

影响越冬期间昆虫生理生化指标变化的因子主要包括温度和滞育深度。物质合成、转化需要一定的温度和滞育深度,一定的滞育深度是感知温度的先决条件。在野外,温度和滞育深度同时存在。而在实验室条件下,可通过固定其中一个因子来确定另一个因子的作用。

呼吸速率也是一个简单有效的判断滞育深度的指标,昆虫的呼吸速率即单位时间内单位虫重的耗氧量,也可用二氧化碳的呼出量来表示,反映了昆虫体内代谢的速率。耗氧量多即代谢快,耗

氧量少即代谢慢。多种昆虫在滞育过程中,都表现出同样的耗氧量变化规律,即在开始滞育但尚未完全滞育时,耗氧量最低; 进入滞育维持期时,耗氧量略微上升,且整个阶段保持平稳; 滞育解除时,耗氧量开始突增,甚至有些昆虫呈指数倍增长(Sgolastra *et al.*,2010)。家蚕滞育卵在滞育维持阶段,不管处于 25℃还是 5℃下,耗氧量都保持在较低水平; 5℃下处理 60 d 后转移到 25℃,滞育开始解除,耗氧量增加(Yaginuma and Yamashita,1999)。把 4℃下处理 34 周左右的苹果实蝇 *Rhagoletis pomonella* 滞育蛹转到 24℃下,二氧化碳排出量在开始转入后的 10 ~ 15 d 没有变化; 15 ~ 20 d 期间缓慢增长; 20 ~ 40 d 时保持平稳; 40 ~ 50 d时呈指数增长,这刚好与滞育解除过程相符(Ragland *et al.*,2009)。

3.1　温度和滞育深度的关系

温度影响滞育深度,低温会导致滞育时间的延长(Saunders *et al.*,1986),但只有经历低温,才能完成并顺利解除滞育。如将樱桃绕蝇 *Rhagoletis cerasi* 高山地区刚进入滞育种群带到冬季温度较高的沿海地区,其成虫羽化率不足 20%,远低于原生地的 60%。这可能是由于沿海的冬季温度不能满足樱桃绕蝇滞育期的低温需冷量完成滞育过程受阻的结果(Papanatasiou,2010)。Bosch 和 Kemp (2004) 也发现若滞育维持阶段温度较高,则滞育解除较早,但糖原、脂肪等能量物质损耗多,导致昆虫存活率低,且滞育后发育较差。此外一些研究也表明,解除滞育所需时间的长短由滞育期间积累的日度而定,与温度相关,而与光周期无关(Eizaguirre *et al.*,2008)。

3.2　温度及滞育深度对昆虫生化物质合成和转化的影响

糖原合成需要一定的温度: Hayakawa 和 Chino (1982) 在研究家蚕时发现,2℃时糖原磷酸化酶被激活,使糖原分解为海藻糖; 在 25℃时糖原合成酶被激活,海藻糖和葡萄糖转化为糖原。甘蓝夜蛾 *Mamestra brassicae* 夏/冬滞育蛹,依次进行 25、20 和 10℃温度处理各 1 周,糖原含量均增加(Goto *et al.*, 2001b)。亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* 滞育幼虫长时间处于 10 ~ 15℃时,糖原可保持高含量(Goto *et al.*,1998)。但家蚕滞育卵在 25℃时糖原转化成山梨醇(朱江等,1992)。对一种螟虫 *Enosima leucotaeniella* 幼虫依次进行 - 5、0、5、10、15℃的温度处理,时间均为 30 d,结果在 5 ~ 10℃时糖原减少,同时海藻糖增加; 在 0 ~ 5℃时糖原也减少,同时丙氨酸增加,这表明存在温度调控机制,使糖原糖酵解的碳流从海藻糖流向丙氨酸。同时因为竞争同一种底物糖原,海藻糖和丙氨酸转化相互制约(Storey *et al.*,1981; Goto *et al.*, 1998)。而在 - 5 ~ 0℃时海藻糖减少,丙氨酸消失,同时糖原增加,海藻糖和丙氨酸再次合成了糖原,且从野外采集虫体的试验结果与此相符(Goto *et al.*,1993)。

甘油合成需要特定的温度阈值和滞育深度: 滞育深度是滞育昆虫感知温度信号的先决条件。如二化螟滞育幼虫在 15℃下处理 15 d,几乎没有甘油合成; 若将处理时间延长到 60 d,甘油的积累量为 155.5 μmol/g ww; 相当于在 0℃下处理 15 d 时的积累量 148.1 μmol/g ww。这表明 0℃左右的低温不是二化螟幼虫合成甘油必须的。大田试验结论与此相符,野外 9 月采集的二化螟幼虫经 0℃低温适应后仍不能积累糖原和甘油,但 10 月、11 月采集的幼虫具备积累能力(Li *et al.*,2002a)。而云杉食心虫 *Choristoneura fumiferana* 滞育幼虫无低温诱导不积累甘油,在 18℃下处理 25 周甘油几乎为零; 随着滞育深度不同甘油的积累量也不同,低温与敏感度之间存在协同作用,在长度为 25 周的固定时间内,先在 18℃下处理 5 周,再在 2℃下处理 20 周,甘油积累 17.8 μg/mg ww; 18℃下处理 15 周,再在 2℃下处理 10 周,积累 34.3 μg/mg ww,其中积累甘油所需的时间都大致为 2 周(Han and Bauce,1995)。这表明温度和滞育时间共同决定着滞育昆虫体内甘油含量及变化,温度控制着甘油合成速度,而滞育时间影响着甘油的积累量。

脂肪代谢: 多数情况下,温度影响滞育昆虫的脂肪代谢。Downer 和 Matthews(1976) 和 Downer (1985) 证实在一些昆虫中,脂肪消耗速率与温度密切相关,温度高,脂肪消耗速率高; 反之则低。但六点斑点飞蛾 *Zygaena trifolii* 脂肪消耗速率在 5 和 20℃时相同,温度对其没有影响(Wipking *et al.*,1995)。Saunders(2000) 将处于不同地理纬度带的红头丽蝇 *Calliphora vicina* 3 个地理种群的滞育蛹置于相同温度下观察脂肪代谢速度,发现 3 个种群的滞育蛹脂肪以同样的速率消耗(脂肪为

其主要能量物质，越冬期减少 30% ~40%），并未表现出因滞育深度不同而引起的脂肪代谢的差异。

4 展望

尽管关于滞育昆虫体内小分子含量变化已开展了大量的工作，但作者认为今后应加强以下方面的研究：

为什么有些昆虫在低温来临前解除滞育，而滞育解除后仍然积累海藻糖之类的抗冻剂，整个越冬期间的生理生化指标变化与滞育期长的昆虫没有区别？昆虫滞育分为 2 种模式：1）滞育期长，滞育后蛰伏期较短；2）滞育期短，滞育后蛰伏期较长。如文中之前提到的甘蓝夜蛾就属于后者，在最冷月来临前解除滞育。但这并不影响之后的物质积累，这些昆虫在解除滞育后仍然积累海藻糖之类的抗冻剂。如将甘蓝夜蛾的冬滞育蛹和解除滞育蛹都经历 5、0、－5、－10℃各 1 周的低温适应，解除滞育蛹中海藻糖积累量更高（Goto *et al.*，2001a），在螟虫 *Enosima leucotaeniella* 也有相同结论（陈永杰，2005）。积累海藻糖这种抗冻剂同样可以提高其抗寒性，抵御随后的低温。就生化物质的变化而言，这些昆虫与滞育期长的昆虫一致。但为什么在低温来临前解除滞育，有一种对此的解释：0℃以下的低温不能促进滞育解除，还有抑制作用，所以这些昆虫在温度 0℃以上打破滞育，其后处于蛰伏期（仵均祥，2002）。但其原因仍需进一步探究。

就一些昆虫而言，滞育不是抵御低温最好的选择，但为什么还要滞育，对这些昆虫而言，滞育与抗寒性无关吗？某些昆虫，滞育态的抗寒性低于非滞育态，如美国白蛾 *Hyphantria cunea* 在整个越冬期，滞育蛹的抗寒性（在 －15℃时的存活率）直线下降，这与绝大多数滞育昆虫都不同。在低温训练（5 ~ －5℃）中，非滞育蛹积累的海藻糖要多于滞育蛹，且糖原可以转化成海藻糖，但滞育蛹没有这种能力。野外该昆虫滞育和非滞育蛹都通过选择合适的越冬场所来躲避低温（Li *et al.*，2001）。综上，滞育并不是美国白蛾越冬最好的选择，但为什么还要进行滞育，一些学者认为某些昆虫的滞育与其抗寒性无关（Baust and Miller，1970；Nordin *et al.*，1984；Tanaka，1997），美国白蛾可能属于此类。

如何综合分析滞育昆虫生物分子含量变化，以阐明昆虫的抗寒性？滞育昆虫耐寒力的增加应是体内多种物质协同作用的结果，这些物质共同组成一个抗寒物质系统，参与组成的物质因昆虫而异，现在明确提出抗寒物质系统的，只有欧桦小蠹 *Scolytus ratzeburgi*、黄地老虎等几种昆虫（Joplin *et al.*，1990；韩瑞东等，2005；梁中贵等，2005）。目前关于昆虫滞育生理生化研究中对生化指标的选取较为单一，若能扩展测定指标的涵盖范围，综合多种物质变化，将会对越冬期间滞育昆虫生化方面的认识更为深入。其中，冷激是研究昆虫生理生化变化的较为快捷准确的方法，可以快速的把某一生化指标的变化限定于一定的温度范围内，通过开展模拟整个越冬期温度变化模式的研究，可得到昆虫越冬期生化物质的变化规律，若与野外试验数据相结合可使两者都更加完善。根据生化物质种类及含量的变化来判断昆虫滞育深度，预测昆虫的发生程度及发展趋势，从而用来指导预测预报。

未来的研究趋势：笔者认为，在未来的研究中应着重揭示以下 2 种关系：1）温度和时间 2 因子的叠加作用与滞育深度之间的关系，这里主要指滞育期间积累的日度与滞育深度间的关系。相同日度，不同的温度和时间组合模式，对滞育深度的作用可能不同。2）生化指标的含量及其变化趋势与滞育深度和越冬存活率之间的关系。就一种昆虫而言，如果建立起生化指标含量与日度相互之间关系的模型，将有助于准确判断昆虫的滞育深度，进而明确其越冬存活率，为冬季入土滞育，预测预报难度大的昆虫提供一种更为准确的测报方法。

参考文献（References）

Atapour M，Moharramipour S，Barzegar M，2007. Seasonal changes of fatty acid compositions in overwintering larvae of rice stem borer，*Chilo suppressalis*（Lepidoptera：Pyralidae）. *J. Entomol. Society Iran*，10（1）：33—38.

Bale JS，2002. Insects and low temperatures：from molecular biology to distributions and abundance. *Philos. Trans. R. Soc.*，357b（1423）：849—862.

Baust JG，1982. Environmental triggers to cold hardening. *Comp. Biochem. Physiol.*，73a（4）：563—570.

Baust JG，Miller LK，1970. Seasonal variations in glycerol

content and its influence on cold hardiness in the Alaskan carabid beetle, *Pterostichus brevicornis*. *J. Insect Physiol.*, 16(5): 979—990.

Bosch J, Kemp WP, 2004. Effect of pre-wintering and wintering temperature regimes on weight loss, survival, and emergence time in the mason bee, *Osmia cornuta* (Hymenptera: Megachilidae). *Apidologie*, 35(5): 469—479.

Brown JJ, Chippendale GM, 1978. Juvenile hormone and a protein associated with the larval diapause of the southwestern corn borer, *Diatraea Grandiosella*. *Insect Biochem.*, 8(5): 359—367.

Carpenter JF, Crowe JH, 1988. The mechanism of cryoprotection of proteins by solutes. *Cryobiology*, 25(3): 244—255.

常志光,高洪学,葛英,2007. **越冬意蜂体内水分、蛋白质、脂肪的变化与抗寒性的关系**. **中国蜂业,**58(2): 17.

常志光,李志勇,高寿增,2008. **卡尼鄂拉蜂越冬期体内水分、蛋白质、脂肪的变化与抗寒性的关系研究**. **蜜蜂杂志,**28(1): 6—7.

陈豪,梁革梅,邹朗云,2010. **虫耐寒性的研究进展**. **植物保护,**36(2): 18—24.

陈永杰,孙绪艮,张卫光,牟志刚,郭光智,2005. **桑螟越冬幼虫体内、水分、脂肪、甘油的变化与抗寒性的关系**. **蚕业科学,**31(1): 22—25.

Crowe JH, Carpenter JF, Crowe LM, Anchordoguy TJ, 1990. Are freezing and dehydration similar stressvectors? A comparison of modes of interaction of stabilizing solutes with biomolecules. *Cryobiology*, 27(3): 219—231.

Crowe JH, Crowe LM, Mouradian R, 1983. Stabilization of biological membranes at low water activities. *Cryobiology*, 20(3): 346—356.

Danks HV, 1987. Insect Dormancy: An Ecological Perspective. Ottawa: Biological Survey of Canada Press. 114—122.

Denlinger DL, 1985. Hormonal Control of Diapause. Comprehensive Insect Physiology Biochemistry and Pharmacology, vol. 8. Oxford: Pergamon Press. 353—412.

Ding L, Li YP, Goto M, 2003. Physiological and biochemical changes in summer and winter diapause and non-diapause pupae of cabbage armyworm *Mamestra brassicae* L. during long-term cold acclimation. *J. Insect Physiol.*, 49(12): 1153—1159.

Downer RGH, 1985. Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology // Kerkut GA, Gilbert LI (eds.). Lipid Metabolism. Oxford: Pergmon Press. 77—114.

Downer RGH, Matthews JR, 1976. Pattern of lipid distribution and utilization in insects. *Am. Zool.*, 16(4): 733—745.

Eizaguirre M, Lo´pez C, Albajes R, 2008. Factors affecting the natural duration of diapause and post-diapause development in the Mediterranean corn borer *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Insect Physiol.*, 54(6): 1057—1063.

Fields PG, Fleurat-Lessard F, Lavenseau L, Febvay G, Peypelut L, Bonnot G, 1998. The effect of cold acclimation and deacclimation on cold tolerance, trehalose and free amino acid levels in *Sitophilus granaries* and *Cryptolestes ferrugineus* (Coleoptera). *J. Insect Physiol.*, 44(10): 955—965.

高玉红,赵特,郭线茹,罗梅浩,蒋金炜,2004. **昆虫滞育期中生理生化的变化**. **当代昆虫学研究 – 中国昆虫学会成立** 60 **周年纪念大会暨学术讨论会议论文集**. 83—186.

Goto M, Fujii M, Suzuki K, Sakai M, 1998. Factors affecting carbohydrate and free amino acid content in overwintering larvae of *Enosima leucotaeniella*. *J. Insect Physiol.*, 44(1): 87—94.

Goto M, Li YP, Kayaba S, Outani S, Suzuki K, 2001a. Cold hardiness in summer and winter diapause and post-diapause pupae of the cabbage armyworm, *Mamestra brassicae* L. under temperature acclimation. *J. Insect Physiol.*, 47(7): 709—714.

Goto M, Sekine Y, Outa H, Hujikura M, Suzuki K, 2001b. Relationships between cold hardiness and diapause, and between glycerol and free amino acid contents in overwintering larvae of the oriental corn borer, *Ostrinia furnacalis*. *J. Insect Physiol.*, 47(2): 157—165.

Goto M, Takahashi K, Suzuki C, 1993. Ecological study on the barnyard grass stem borer, *Enosima leucotaeniella* (Ragonot) (Lepidoptera: Pyralidae) Ⅷ. Seasonal changes of carbohydrate contents in overwintering larvae. *Appl. Entomol. Zool.*, 28(4): 417—421.

Han EN, Bauce E, 1995. Glycerol synthesis by diapausing larvae in response to the timing of low temperature exposure, and implications for overwintering survival of the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. *J. Insect Physiol.*, 41(11): 981—985.

Han RD, Gan YL, Kong XH, Ge F, 2008. Physiological and endocrine differences between diapausing an nondiapausing larvae of the pine caterpillar *Dendrolimus tabulaeformis* (Lepidoptera: Lasiocampidae). *Zoo. Stud*., 47(1): 96—

102.

韩瑞东,孙绪艮,许永玉,张卫光,2005. **松毛虫越冬幼虫生化物质变化与抗寒性的关系**. **生态学报,**5 (6):1352—1356.

Hanzal R, Jegorov A, 1991. Changes in free amino acid composition in haemolymph of larvae of the wax moth, *Galleria mellonella* L., during cold acclimation. *Comp. Biochem. Physiol.*,100a (4):957—912.

Hayakawa Y, Chino H, 1982. Phosphofructo kinase as a possible key enzyme regulating glycerd or trehalose accumulation in diapausing insects. *Insect Biochem.*, 12 (6):639—642.

Hoshikawa K, 1987. Interconversion between glycogen and inositol in hibernating adults of a phytophagous lady beetle *Epilachna vigintioctomaculata*. *Insect Biochem.*, 17 (2): 265—268.

黄国洋,王荫长,尤子平,1990. **黄地老虎耐寒机理初探**. **浙江林学院学报,**7 (2):140—146.

Ichimori T, Ohtomo R, Suzuki K, Kurihara M, 1990. Specific protein related to adult diapause in the leaf beetle, *Gastrophysa atrocyanea*. *J. Insect Physiol.*, 36 (2):85—91.

Joplin KH, Yocum GD, Denlinger DL, 1990. Diapause specific proteins expressed by the brain during the pupal diapause of the flesh fly, *Sarcophaga crassipalpis*. *J. Insect Physiol.*, 36 (10):755—783.

Kelty JD, Killian KA, Lee RE, 1996. Cold shock and rapid coldhardening of pharate adult flesh flies (*Sarcophaga crassipalpis*)— effects on behaviour and neuromuscular function following eclosion. *Physiol. Entomol.*, 21 (1): 283—288.

Kostal V, Vambera J, Bastl J, 2004. On the nature of pre-freeze mortality in insects: water balance, ion homeostasis and energy charge in the adults of *Pyrrhocoris apterus*. *J. Exp. Biol.*,207(9):1509—1521.

Kukal O, Serianni AS, Duman JG, 1988. Glycerol metabolism in a freeze—tolerant arctic insect: an in vivo 13 C NMR study. *J. Comp. Physiol.*, 158b(2):175—183.

Lee RE, 1991. Principles of insect low temperature tolerance. // Lee RE, Denlinger DL (eds.). Insects at Low temperature. New York: Chapman & Hall. 131—148.

Lewis DK, Spurgeon D, Sappington TW, Keeley LL, 2002. A hexamerin protein, AgSP-I, is associated with diapause in the boll weevil1. *J. Insect Physiol.*, 48(9):887—901.

李毅平,龚和,1998. **昆虫低温生物学:Ⅰ.昆虫耐冻的生理生化适应机制**. **昆虫知识,**35 (6):364—369.

Li YP, Goto M, Ding L, Tsumuki H, 2002a. Diapause development and acclimation regulating enzymes associated with glycerol synthesis in the Shonai ecotype of the ricestem borer larva, *Chilo suppressalis* Walker. *J. Insect Physiol.*, 48(3):303—310.

Li YP, Goto M, Ito S, Sato Y, Sasaki K, Goto N, 2001. Physiology of diapause and cold hardiness in the overwintering pupae of the fall webworm *Hyphantria cunea* (Lepidoptera: Arctiidae) in Japan. *J. Insect Physiol.*, 47 (10):1181—1187.

Li YP, Oguchi S, Goto M, 2002b. Physiology of diapause and cold hardiness in overwintering pupae of the apple leaf miner *Phyllonorycter ringoniella* in Japan. *Physiol. Entomol.*, 27(2):92—96.

梁中贵,张卫光,刘学辉,孟庆英,孙绪艮,2005. **阿松扁叶蜂越冬幼虫体内抗寒物质分析**. **昆虫知识,**2 (6):695—699.

刘柱东,吴坤君,龚佩瑜,2002a. **昆虫的夏滞育**. **昆虫知识,**39 (3):234—237.

刘柱东,吴坤君,龚佩瑜,2002b. **昆虫夏滞育的调控及其遗传基础**. **昆虫知识,**39 (4):261—264.

Morgan TD, Chippendile GM, 1983. Free amino acids of the haemolymph of the southwestern corn borer and the European corn borer in relation to their diapause. *J. Insect. Physiol.*,29 (10):735—740.

Morita A, Soga K, Hoson T, Kamisaka S, Numata H, 1999. Changes in mechanical properties of the cuticle and lipid accumulation in relation to adult diapause in the bean bug, *Riptortus clavatus*. *J. Insect Physiol.*, 45(3):241—247.

Morris GJ, Coulson G, Meyer MA, McLellan MR, Fuller BJ, Grout BWW, 1983. Cold shock—a widespread cellular reaction. *Cryo-Letters*, 4:179—192.

Nordin JH, Cui Z, Yin CM, 1984. Cold-induced glycerol accumulation by *Ostrinia nubialis* larvae is developmentally regulated. *J. Insect Physiol.*, 30(7):563—566.

Papanatasiou SA, Nestel D, Diamantidis AD, Naka CT, Papadopoulos NT, 2011. Physiological and biological patterns of a highland and a coastal population of the European cherry fruit fly during diapause. *J. Insect Physiol.*, 57 (1):83—93.

Pullin AS, Bale JS, 1989. Influence of diapause and temperature on cryoprotectant synthesis and cold hardiness in pupae of *Pieris brassicae*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 4a (3):499—503.

强承魁,杜予州,于玲雅,崔亚东,陆明星,郑福山,2008. **水稻二化螟越冬幼虫耐寒性物质的动态变化**. **应用生态学报,**19(11):599—605.

Ragland GJ, Fuller J, Feder JL, Hahn DA, 2009. Iphasic

metabolic rate trajectory of pupal diapause termination and post-diapause development in a tephritid fly. *J. Insect Physiol.*, 55(4): 344—350.

Renault D, Bouchereau A, Delettre YR, Hervant F, Vernon P, 2006. Changes in free amino acids in *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) during thermal and food stress. *Comp. Biochem. Physiol.*, 143a(3): 279—285.

Rojas RR, Charlet LD, Leopold RA, 1991. Biochemistry and physiology of overwintering in the mature larve of the red sunflower seed weevil, *Smicronyx fulvus* Leconte (Coleoptera: Curculionidae). *J. Insect Physiol.*, 37(7): 489—496.

Saunders DS, 2000. Larval diapause duration and fat metabolism in three geographical strains of the blow fly, *Calliphora vicina*. *J. Insect Physiol.*, 46(4): 509—517.

Saunders DS, Macpherson JN, Cairncross K, 1986. Maternal and larval effects of photoperiod on larval diapause in the flies *Calliphora vicina* and *Lucilia sericuta*. *Exp. Biol.*, 46(1): 51—58.

Schaefer CH, Washino RK, 1969. Changes in the composition of lipids and fatty acids in adult *Culex tarsalis* and *Anopheles freeborni* during the overwintering period. *J. Insect Physiol.*, 15(3): 395—402.

Sgolastra F, Bosch J, Molowny-Horas R, Maini S, Kemp WP, 2010. Effect of temperature regime on diapause intensity in an adult-wintering Hymenopteran with obligate diapause. *J. Insect Physiol.*, 56(2): 185—194.

Storey KB, Baust JG, Storey JM, 1981. Intermediary metabolism during low temperature acclimation in the overwintering gall fly larva *Eurosta solidaginis*. *J. Comp. Physiol.*, 144(2): 183—190.

Storey KB, Storey JM, 1988. Freeze tolerance in animals. *Physiol. Rev.*, 68(1): 27—84.

Storey KB, Storey JM, 1991. Insects at low temperature // Lee RE Jr, Denlinger DL (eds.). Biochemistry of Cryoprotectants. New York: Chapman & Hall. 64—93.

孙绪艮,郭慧玲,李恕廷,王兴华,2000. 桑尺蠖越冬幼虫的耐寒性研究. 蚕业科学,6(3): 129—132.

Tanaka K, 1995. Seasonal change in giycogen and inositol/sorbitol contents of the house spider, *Achaearanea tepidariorum* (Arrmeae: Thendiidae). *Comp. Biochem. Physiol.*, 110B(3): 539—545.

Tanaka K, 1996. Seasonal and latitudinal variation in supercooling ability of the house spider, *Achaearanea tepidariorum* (Araneae: Theridiidae). *Funct. Ecol.*, 10(2): 185—192.

Tanaka K, 1997. Evolutionary relationship between diapause and cold hardiness in the house spider, *Achaearanea tepidariorum* (Araneae: Theridiidae). *J. Insect Physiol.*, 43(3): 271—274.

Tauber MJ, Tauber CA, Masaki S, 1986. Seasonal Adaptations of Insects. NewYork, Oxford: Oxford University Press. 1—411.

王洪亮,2007. 滞育麦红吸浆虫的化学物质变化与分子机理研究. 博士学位论文. 杨凌: 西北农林科技大学.

王洪亮,王丙丽,任素云,宋应星,2008. 昆虫滞育激素研究进展. 河南科技学院学报(自然科学版),36(3): 44—47.

王满囤,李周直,2004. 昆虫滞育的研究进展. 南京林业大学学报(自然科学版),28(1): 71—76.

Watanabe M, Tanaka K, 1998. Adult diapause and cold hardiness in *Aulacophora nigripennis* (Coleoptera: Chrysomelidae). *J. Insect Physiol.*, 44(11): 1103—1110.

Williams WP, 1990. Cold-induced lipid phase transitions. *Philoso. Trans. R. Soc. Lond.*, 326b(1237): 555—570.

Wipking W, Viebahn M, Neumann D, 1995. Oxygen consumption, water, lipid and glycogen content of early and late diapause and Non-diapause larvae of the burnet moth *Zygaena trifolii*. *J. Insect Physiol.*, 41(1): 47—56.

吴大洋,2002. 家蚕滞育的生理学研究 - 滞育激素对家蚕卵脂质、碳水化合物代谢的影响与滞育卵长期保存. 博士学位论文. 重庆: 西南农业大学.

Wu JX, Yuan F, Zhang YM, 2001. Changes of fatty acids in larvae of the wheat blossom midge, *Sitodiplosis mosellana* (gehin) (Diptera: Cecidomyiidae). *Entomol. Sinica*, 8(4): 315—322.

吴坤君,2002. 关于昆虫休眠和滞育的关系之浅见. 昆虫知识,39(2): 154—156 转 160.

仵均祥,2002. 麦红吸浆虫滞育与化学物质变化研究. 博士学位论文. 杨凌: 西北农林科技大学.

仵均祥,袁锋,苏丽,2004. 麦红吸浆虫幼虫滞育期间糖类物质变化. 昆虫学报,47(2): 178—183.

徐卫华, 1999. 昆虫滞育的研究进展. 昆虫学报,42(1): 100—107.

Yaginuma T, Yamashita O, 1999. Oxygen consumption in relation to sorbitol utilization at the termination of diapause in eggs of the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Insect. Physiol.*, 45(7): 621—627.

伊淑霞,白成,1991. 冷诱导亚洲玉米螟幼虫产生甘油的研究. 昆虫学报,34(2): 129—133.

易传辉,陈晓鸣,史军义,周成理,2009. 美凤蝶滞育期间糖类物质与脂肪含量变化研究. 安徽农业科学,37(12): 5516—5517 转 5558.