

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^{*}

徐丽荣 何康来^{**} 王振营

(中国农业科学院植物保护研究所 植物病虫害生物学国家重点实验室 北京 100193)

摘要 为预测不同寄主植物上桃蛀螟 *Conogethes punctiferalis* (Guenée) 越冬种群的变化, 研究了幼虫期取食玉米、高粱和向日葵的桃蛀螟越冬幼虫体内水分和脂肪及血淋巴小分子糖(醇)与抗寒性的关系。与取食高粱和向日葵相比, 取食玉米的桃蛀螟幼虫生长发育更好, 越冬幼虫体重、脂肪含量显著高于前二者, 降低体内含水量时期显著早, 12月上旬为 74.0%, 而前者为 82.3% 和 84.6%, 过冷却点显著低。初冬和初春, 3 种寄主植物上桃蛀螟越冬幼虫的过冷缺点没有显著差异。然而隆冬季节, 玉米上越冬幼虫的过冷缺点最低 (−17.74°C), 其次是高粱 (−14.62°C), 向日葵的最高 (−11.68°C)。这说明, 寄主植物对幼虫的生长发育、越冬物质储备及含水量有显著的影响, 从而影响了滞育幼虫的抗寒能力。越冬幼虫血淋巴中小分子糖(醇)主要有海藻糖、甘油、肌醇、葡萄糖、山梨醇、半乳糖和甘露糖等。从初冬到隆冬, 幼虫体内甘油含量显著上升, 提高了 15~101.8 倍, 而葡萄糖的含量变化则相反, 越冬幼虫体内甘油含量变化与其抗寒能力的变化一致, 说明甘油是越冬幼虫提高抗寒能力的重要物质, 而合成甘油需要葡萄糖。

关键词 桃蛀螟, 抗寒能力, 过冷却点, 寄主植物, 小分子糖(醇), 脂肪

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

XU Li-Rong HE Kang-Lai^{**} WANG Zhen-Ying

(State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract *Conogethes punctiferalis* (Guenée) is a polyphagous insect pest, which damages fruit, oil, vegetable, and grain crops, especially maize. Because the survival of overwintering larvae affects population density in the following year, investigation of the mechanism of cold tolerance in larvae may lead to new methods of controlling this pest. The relationship between the cold hardiness of overwintering larvae feeding on three different crops; maize, sorghum and sunflower, and larval water, lipid and sugar content was investigated. Larvae feeding on maize developed better, were heavier and had higher lipid content than those feeding on sorghum and sunflower. The reduction of larval water content occurred earlier in larvae feeding on maize than those feeding on sorghum and sunflower; larvae feeding on maize contained just 74.0% water in early December whereas those feeding on sorghum and sunflower contained 82.3% and 84.6% water respectively. In addition, larvae feeding on maize had the highest cold tolerance capability and the lowest super cooling point (−17.74°C), followed by those feeding on sorghum (−14.62°C) and sunflower (−11.68°C). However, there was no significant different in the super cooling capability of larvae from the 3 host plant species in early winter and early spring. These results suggest that larvae developed better on maize than on sorghum and sunflower. The major sugars contained in over-wintering larvae were trehalose, glycerol, myo-inositol, glucose, sorbitol, dulcitol, and mannitol. The glycerol content of larvae significantly increased from early to deep winter, however, glucose content significantly decrease

* 资助项目:973 项目《气候变化介导的农业灾变时空演化规律研究》(2010CB951503)、北京市科技计划项目(Z111100056811009)。

** 通讯作者,E-mail: klhe@ippcaas.cn

收稿日期:2011-06-22,接受日期:2011-09-15

over the same period, suggesting that glycerol plays an important role in increasing the cold tolerance of larvae.

Key words *Conogethes punctiferalis*, cold hardiness, super-cooling point, host plant, sugar, lipid

昆虫抗寒能力的强弱关乎其种群在特定地区的生存、繁衍与扩散。部分昆虫选择迁飞越冬,如粘虫 *Mythimna separata* (李光博,1993)、君主斑蝶 *Danaus plexippus* (L.),而大多数温带或极地昆虫会以增强自身的抗寒能力来抵御寒冷的冬季 (Danks, 1987),即便是少数热带或迁飞性昆虫也能通过各种方式增强自身的抗寒能力 (Larsen and Lee, 1994)。虽然对于昆虫抗寒能力与抗寒机制国内外已有大量的研究报道 (Salt, 1956; Baust and Rojas, 1985; Graether and Sykes, 2004; 景晓红和康乐, 2004; 陈豪等, 2010),但准确的机制目前还不十分清楚。一些昆虫在体内积累防冻物质如小分子的多元醇和糖以降低过冷却点,避免体液结冰从而提高其抗寒能力,如棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Izumi et al., 2005),过冷却点是这类昆虫能够存活的温度下限,绝大多数生活在温带地区的昆虫都属于这一类。有些昆虫在体内产生较大分子的抗冻蛋白,通过吸附到刚形成的冰晶表面,阻止冰核的生长,以降低和稳定过冷却状态,如 *Dendroides canadensis* (Wu et al., 1991; Wu and Duman, 1991)。深入探究影响昆虫抗寒能力的环境因素如寄主植物,明晰昆虫抗寒能力与抗寒机制,将有助于了解生境中低温作为制约因子对害虫种群发生和繁殖的影响,进一步准确预测来年种群发生趋势,以及利用环境制约因子达到治理害虫的目的。

桃蛀螟 *Conogethes punctiferalis* (Guenée) 是一种多食性害虫。随着全球气候变暖,近些年来桃蛀螟在华北夏玉米区对寄主植物的为害呈上升趋势,在一些地区危害甚或超过亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* (吕仲贤等,1995; 王振营等,2006),其危害区域也正在进一步向北扩大。桃蛀螟在北方以滞育的老熟幼虫越冬,滞育幼虫的抗寒能力直接影响其越冬存活率,越冬存活幼虫是翌年第1代种群发生的基数,与种群发生量密切相关。对桃蛀螟越冬幼虫的过冷缺点已有报道 (鹿金秋等, 2009),但对其抗寒能力的生理生化机制还未见报道。本文通过测定取食3种寄主植物的桃蛀螟越冬幼虫的过冷却点、体重、含水量、脂肪含量以及血淋巴内小分子糖(醇)等体内生化物质的变化与

抗寒性的关系,为深入研究桃蛀螟的抗寒机制积累数据。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

取食3种寄主植物的5龄桃蛀螟幼虫于2009年10月下旬采自河北廊坊,用养虫盒分装,置于纸箱内,保存于北京未供暖气的仓库。实验前,先取出放置于实验室3 h,确定具有活力的幼虫进行虫体过冷却点测定以及越冬储存物含量的测定。

1.2 过冷却点的测定

参考张洪刚等(2010)报道的方法进行过冷却点测定。首先将每头幼虫编号并称重,放入0.5 mL的离心管中,每管1头,将虫体与TMC40A温度检测/控制器的热敏电阻感温探头充分接触,用脱脂棉固定,置于VM04/100型超高低温箱中,降温至0℃保持20 min,再以1℃/min的速率降温至-40℃。虫体温度的变化由TMC-40A霜箱温度检测器记录。测定时被测虫体的温度随温箱环境温度的下降而降低,当虫体温度降到某一点时,即体液冰点,释放出凝固热,虫体温度出现跳跃式升高,此时的虫体温度即为过冷却点。当虫体温度升高到某一值时再次逐渐下降,这样在虫体温度变化曲线上就出现了一个明显的跳跃峰值,此峰值即为结冰点。除12月10日测定取食向日葵的桃蛀螟仅为8头外,其它每个处理测定幼虫23~122头。

1.3 幼虫体内含水量和脂肪的含量测定

将每头供试龄幼虫称量(FW)并编号,置于60℃烘箱烘烤24 h至恒重,再次称重(DW),两者差值计算出单头含水量(孔峰等,2007)。

测完干重后,单头研磨。加氯仿和甲醇混合液(氯仿:甲醇=2:1)匀浆。离心10 min(2 600 g)去上清,重复离心1次。残渣置于60℃烤箱烘烤48 h至恒重(LDW)。单头幼虫脂肪含量和脂肪重分别按下式计算:[(DW-LDW)/DW]×100和DW-LDW(Folch et al., 1957)。

除4月1日取食高粱的桃蛀螟越冬虫测定样本数为9头外,其它测定幼虫体重、含水量和脂肪

含量样本为 17~127 头。

1.4 小分子糖(醇)的测定

小分子糖(醇)含量采用硅烷化衍生物改进的方法利用气象色谱测定。从单头越冬幼虫取 10 μL 血淋巴液加入到含有 0.4 mL 79% (v/v) 乙醇(含 10 μg 赤鲜糖做内标)的离心管中匀浆, 离心 5 min(10 000 g), 取上清, 重复离心 1 次。上层清液置于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中保存。分析前, 样液在 40 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下用氮气吹干, 剩余物中分别加入 25 μL 二甲基酰胺和含羟胺的吡啶溶液, 在 70 $^{\circ}\text{C}$ 的水浴中加热 15 min; 在反应混合物中加入 75 μL 的二甲基酰胺和 30 μL 的三甲基硅烷基咪唑, 在 80 $^{\circ}\text{C}$ 的水浴中反应 15 min 完成硅烷; 然后加入 1 mL 异辛烷萃取, 用微量注射器取 1 μL 萃取液注入气象色谱仪进行定量分析(Andrews, 1989; 刘柱东, 2004)。

1.5 统计分析

采用 SAS 分析软件, 对越冬幼虫的过冷缺点

和结冰点、不同寄主间的越冬积累物质的含量进行方差分析, 平均数差异显著性比较采用 LSD 测验。

2 结果与分析

2.1 越冬幼虫的过冷却能力

不同寄主植物上的桃蛀螟越冬幼虫在冬春季的不同时期其过冷却能力有显著差异(表 1)。初冬和初春时期, 3 种寄主植物上桃蛀螟越冬幼虫的过冷却点没有显著差异。然而隆冬季节, 3 种寄主植物上桃蛀螟越冬幼虫的过冷却点存在显著差异, 以玉米上越冬幼虫的过冷却点最低, 其次是高粱, 向日葵的最高。与此同时, 相同寄主, 玉米上越冬幼虫初冬时的过冷却点显著高于隆冬, 向日葵上越冬幼虫则初春时显著低于隆冬, 而高粱上越冬幼虫 3 个时期间没有显著差异。这说明取食不同寄主植物对于越冬幼虫的抗寒能力有显著的影响。

表 1 3 种不同寄主植物上的桃蛀螟越冬幼虫的过冷却点和结冰点

Table 1 Super-cooling points and freezing points of overwintering *Conogethes punctiferalis* larvae from three host plants

寄主 Host plants	12月上旬 Early December		1月 20 日 20 January		4月 1 日 1 April	
	过冷却点 SCP(°C)	冰点 FP(°C)	过冷却点 SCP(°C)	冰点 FP(°C)	过冷却点 SCP(°C)	冰点 FP(°C)
玉米 Corn	-14.70 ± 0.52 A	-6.29 ± 0.13b	-17.74 ± 0.62c B	-6.00 ± 0.12b	-15.94 ± 0.89 AB	-4.94 ± 0.27
向日葵 Sunflower	-12.81 ± 0.70 AB	-4.47 ± 0.29a	-11.68 ± 0.60a A	-5.14 ± 0.15a	-14.02 ± 0.67 B	-4.71 ± 0.21
高粱 Sorghum	-16.62 ± 1.10	-5.57 ± 0.50b	-14.62 ± 0.67b	-5.68 ± 0.16b	-16.12 ± 0.94	-5.43 ± 0.30

注: 表中同列数据后有相同小写字母者表示平均数差异不显著(LSD 测验, $P \geq 0.05$)。(12 月上旬 FP: $df = 2, 152$; $F = 6.57$; $P = 0.0018$; 1 月 20 日 SCP: $df = 2, 163$; $F = 23.26$; $P < 0.0001$; 1 月 20 日 FP: $df = 2, 163$; $F = 8.50$; $P = 0.0003$)。同行数据后有相同大写字母者, 表示两个平均数差异不显著, LSD 测验, $P \geq 0.05$ 。(玉米 SCP: $df = 2, 212$; $F = 6.35$; $P = 0.0021$; 向日葵 SCP: $df = 2, 91$; $F = 3.42$; $P = 0.0371$; 高粱 SCP: $df = 2, 91$; $F = 1.68$; $P = 0.1930$)。

Date in the same column followed by same small letters are not significantly different, data in the same raw followed by same capital letters are not significantly different (LSD, $P \geq 0.05$).

2.2 寄主植物与越冬幼虫体重、含水量和抗寒性的关系

不同寄主植物上越冬期幼虫体重差异显著(表 2)。以玉米上幼虫体重最重, 其次是向日葵, 取食高粱的幼虫最低。这说明 3 种寄主对于桃蛀螟幼虫的适合度存在显著差异。同时, 随着越冬时间的延长, 幼虫体重有明显的下降, 即消耗体内

物质抵御寒冷冬季。

不同寄主植物上越冬幼虫在越冬不同时期其体内含水量之间存在显著差异(表 2)。初冬以玉米上越冬幼虫的含水量显著低于向日葵和高粱, 隆冬和初春时节以高粱上的越冬幼虫含水量显著高于玉米和向日葵。这说明由于取食不同寄主植物的营养不同, 幼虫发育速率不同, 则其完成越冬

准备的时间出现显著差异,从而导致其在越冬不同时间的抗寒能力出现显著差异(表1,2)。

表2 3种不同寄主植物上的桃蛀螟越冬幼虫的体重和体内水分含量

Table 2 Larval weight and water content *in vivo* of overwintering *Conogethes punctiferalis* larvae from three host plants

寄主 Host plants	幼虫体重 (mg) Larval weight			幼虫体内含水量 (%) Percentage of water		
	12月上旬 Early December	1月20日 20 January	4月1日 1 April	12月上旬 Early December	1月20日 20 January	4月1日 1 April
玉米 Corn	117.95 ± 2.66a A	106.67 ± 2.71a B	98.49 ± 2.77a B	74.0 ± 0.4c	73.7 ± 0.6b	73.3 ± 0.7b
向日葵 Sunflower	102.02 ± 2.63b A	96.91 ± 2.54b A	87.95 ± 2.43b B	84.6 ± 0.6a A	73.8 ± 0.7b B	72.1 ± 0.7b B
高粱 Sorghum	97.36 ± 2.50b A	88.22 ± 2.30c B	83.93 ± 3.38b B	82.3 ± 0.9b A	79.8 ± 1.0a AB	77.0 ± 1.7a B

注:表中同列数据后相同小写字母者表示平均数差异不显著(LSD测验, $P \geq 0.05$)。12月上旬: $df = 2, 209; F = 13.30; P < 0.0001$; 1月20日: $df = 2, 184; F = 13.17; P < 0.001$; 4月1日: $df = 2, 85; F = 7.01; P = 0.0015$)。同行数据后有相同大写字母者,表示两个平均数差异不显著(LSD测验, $P \geq 0.05$)(幼虫体重,玉米: $df = 2, 221; F = 9.02; P = 0.0002$;向日葵: $df = 2, 133; F = 5.66; P = 0.0044$;高粱: $df = 2, 123; F = 5.61; P = 0.0047$;含水量,玉米: $df = 2, 221; F = 0.16; P = 0.8530$;向日葵: $df = 2, 133; F = 77.65; P < 0.0001$;高粱: $df = 2, 123; F = 4.12; P = 0.0185$)。

Date in the same column followed by same small letters are not significantly different, data in the same raw followed by same capital letters are not significantly different (LSD, $P \geq 0.05$).

2.3 寄主植物与越冬幼虫脂肪含量及抗寒性的关系

取食不同寄主植物的桃蛀螟越冬幼虫虫体脂肪含量变化差异显著。取食玉米的桃蛀螟幼虫脂肪量显著最高,其次为向日葵,取食高粱的最低

(表3)。这说明取食不同寄主植物显著影响幼虫生长发育和虫体脂肪物质的积累。而脂肪含量与越冬幼虫抗寒性一致。说明幼虫会储备大量营养物质,以备越冬之需。

表3 3种不同寄主植物上的桃蛀螟越冬幼虫的脂肪含量

Table 3 Lipids content *in vivo* of overwintering *Conogethes punctiferalis* larvae from three host plants

寄主 Host plants	12月上旬 Early December		1月20日 20 January		4月1日 1 April	
	脂肪量 (mg) Lipid weight	脂肪含量 (%) Lipid content	脂肪量 (mg) Lipid weight	脂肪含量 (%) Lipid content	脂肪量 (mg) Lipid weight	脂肪含量 (%) Lipid content
玉米 Corn	18.51 ± 1.29a	15.98 ± 1.10a	17.69 ± 1.00a	16.45 ± 0.88a	13.54 ± 1.14a	13.86 ± 1.06a
向日葵 Sunflower	12.34 ± 0.56b	12.32 ± 0.53b	13.62 ± 1.02b	14.48 ± 0.83b	14.54 ± 1.12a	16.64 ± 1.00a
高粱 Sorghum	9.96 ± 0.95b	10.41 ± 0.82b	10.51 ± 0.81b	11.15 ± 0.63c	8.32 ± 0.82b	-9.78 ± 1.11b

注:表中同列数据后有相同小写字母者表示平均数差异不显著(LSD检验, $P \geq 0.05$)(12月上旬脂肪量: $df = 2, 57; F = 20.46; P < 0.0001$; 脂肪含量: $df = 2, 57; F = 8.37; P = 0.0009$; 1月20日脂肪量: $df = 2, 57; F = 13.10; P < 0.001$; 脂肪含量: $df = 2, 57; F = 9.23; P = 0.0003$; 4月1日脂肪量: $df = 2, 41; F = 6.62; P = 0.0033$; 脂肪含量: $df = 2, 41; F = 9.05; P = 0.0004$)。表中同行数据后有相同大写字母者表示平均数差异不显著(LSD检验, $P \geq 0.05$)(脂肪量,玉米: $df = 2, 53; F = 5.20; P = 0.0088$; 向日葵: $df = 2, 54; F = 1.40; P = 0.2553$; 高粱: $df = 2, 48; F = 1.08; P = 0.3481$; 脂肪含量,玉米: $df = 2, 53; F = 2.10; P = 0.1326$; 向日葵: $df = 2, 54; F = 7.71; P = 0.0012$; 高粱: $df = 2, 48; F = 0.52; P = 0.5991$)。

Date in the same column followed by same small letters are not significantly different, data in the same raw followed by same capital letters are not significantly different (LSD, $P \geq 0.05$).

2.4 寄主植物与越冬幼虫血淋巴生化物质含量及抗寒性关系

桃蛀螟越冬幼虫血淋巴中小分子糖(醇)物质主要有海藻糖、甘油和肌醇、葡萄糖、山梨醇、半乳糖和甘露糖等(表4)。与初冬时相比较,越冬幼虫血淋巴中甘油含量在隆冬时显著增加,而葡萄糖的含量变化则相反,越冬幼虫体内甘油含量变化与其抗寒能力的变化一致,说明甘油是越冬幼虫提高抗寒能力的重要物质,而合成甘油需要葡萄糖。

3 讨论

不同寄主植物对昆虫提供的营养物质及各成分比率有所不同,导致昆虫个体之间的差异(Hartley and Lawton, 1992)。在越冬期,昆虫个体会储备大量营养物质,以备越冬之需。体重越大,能量储备物质准备越充分,脂肪和糖原是主要的能量储存形式,其含量的高低,间接反映出昆虫滞育发育状态的好坏。粉蝶燈蛾 *Cymbalophora pudica* 在越冬滞育过程中脂肪和糖原大量积累(Kostal et al., 1998)。幼虫期取食人工饲料的棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 滞育蛹重显著高于取食棉花、菜豆和烟草的,又显著高于取食玉米和辣椒的;而取食辣椒的滞育蛹的糖原和脂肪含量最高(Liu et al., 2007)。本研究表明,在3种寄主植物中以取食玉米的桃蛀螟幼虫体重和脂肪含量上最占优势、其次是向日葵,高粱体重和脂肪量最少。说明取食玉米的桃蛀螟越冬虫滞育发育最好。

过冷却点是评价昆虫抗寒能力的直接指标。对取食15种果蔬的桔小实蝇的过冷却点的研究表明,不同寄主发育的桔小实蝇过冷却点之间存在显著差异(任璐等,2006)。对取食不同寄主植物的棉铃虫越冬蛹的过冷却点的测定也表明,不同寄主喂养的棉铃虫越冬蛹过冷却点之间差异显著(杨燕涛等,2003)。鹿金秋等(2009)分别在2006年12月初对取食向日葵和高粱,2007年11月中旬对取食玉米和向日葵桃蛀螟越冬老熟幼虫过冷却点进行比较,发现取食向日葵和高粱,取食玉米和向日葵的桃蛀螟幼虫过冷却点之间差异不显著。本实验结果与这一结论有差异,取食玉米的桃蛀螟越冬幼虫的抗寒能力显著高于高粱和向日葵。

大多数昆虫在越冬过程中,体内水分含量下

降,从而增强体内溶质浓度,降低了体液的过冷却点,从而增强昆虫抗寒能力(Salt, 1956; Worland, 1996),虫体含水量与过冷却点通常呈正相关(常志刚等,2008)。壮实蝇 *Eurosta solidaginis* 幼虫含水量从8月到11月逐渐下降(Lee and Hankson, 2003)。六齿小蠹 *Ips acuminatus* Gyll 成虫虫体含水量从8月份的60%下降到11月份的50%,而相应的过冷却点从-16℃下降到-25℃,含水量与过冷却点成线性相关,相关系数为0.85(Unn, 1995)。南极摇蚊 *Belgica antarctica* 的抗寒能力与虫体脱水速度和脱水程度相关(Blanco et al., 2009)。在越冬期,取食高粱的桃蛀螟越冬幼虫虫体含水量最高,而取食玉米的最低,取食向日葵的初冬高后期低。从越冬虫体含水量分析,3种寄主中,以玉米为寄主的桃蛀螟越冬幼虫更有可能躲过严寒,顺利越冬。

昆虫过冷却能力的高低是由低分子糖(醇)和抗冻蛋白的水平决定的(Sømme, 1982)。目前已知的小分子抗寒物质有甘油、山梨酸、甘露醇、五碳多元醇、葡萄糖、海藻糖、果糖、以及某些昆虫的氨基酸和脂肪酸(陈豪等,2010)。越冬昆虫体内海藻糖含量与抗寒性成正相关关系(Fields et al., 1998)。海藻糖的积累可以防止线虫虫体结冰(Behm, 1997)。与未经冷驯化的相比,经冷驯化的玉米象 *Sitophilus granarius* 和锈赤扁谷盗 *Cryptolestes ferrugineus* 海藻糖含量明显增高;且生活在加拿大地区的玉米象种群海藻糖含量比法国种群的高(Fields et al., 1998)。取食不同寄主的铁杉尺蠖 *Lambdina fiscellaria* 越冬卵甘油大量存在(Rochefort et al., 2011)。取食不同寄主植物的棉铃虫越冬蛹血淋巴内主要的小分子糖(醇)为海藻糖、甘油和肌醇,且寄主之间差异不显著(Liu et al., 2007)。海藻糖、甘油、肌醇作为昆虫体内主要抗寒物质在桃蛀螟越冬幼虫血淋巴内普遍存在,且目前两者在越冬中期还保持在一个比较高的水平。海藻糖、甘油和肌醇含量高低也是衡量越冬虫抗寒能力的一个重要指标,且在越冬的整个过程中,其含量会逐渐变化。测定结果表明,3种寄主植物,在越冬过程中,海藻糖含量都保持在较高水平,而取食向日葵的桃蛀螟幼虫甘油含量显著高于取食其他2种寄主的桃蛀螟越冬虫。可能是因为向日葵含有大量亚油酸,桃蛀螟取食后部分转化为甘油。或者是由于桃蛀螟的抗寒能力高

低由甘油和海藻糖等物质的综合作用。

参考文献(References)

- Andrews MA, 1989. Capillary gas-chromatographic analysis of monosaccharides: Improvements and comparisons using trifluoroacetylation and trimethylsilylation of sugar O-benzyl and O-methyl-oximes. *Carbohyd. Res.*, 194:1—19.
- Baust JG, Rojas RR, 1985. Insect cold hardiness: Facts and fancy. *J. Insect Physiol.*, 31(10):755—759.
- Behm CA, 1997. The role of trehalose in the physiology of nematodes. *Int. J. Parasitol.*, 27(2):215—229.
- Blanco CA, Gould F, Paulina V, Jurat-Fuentes JL, Perera OP, Abel CA, 2009. Response of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) strains to *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac incorporated into different insect artificial diets. *J. Econ. Entomol.*, 102(4):1599—1606.
- Danks HV, 1987. Insect Dormancy: An Ecological Perspective. Ottawa: Biological Survey of Canada (Terrestrial Arthropods). ix + 439.
- Fields PG, Francis FL, Lucien L, Gérard F, Lionel P, Guy B, 1998. The effect of cold acclimation and deacclimation on cold tolerance, trehalose and free amino acid levels in *Sitophilus granaries* and *Cryptoleste ferrugineus* (Coleoptera). *J. Insect Physiol.*, 44(10):955—965.
- Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH, 1957. A sample method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226(1):497—509.
- Graether SP, Sykes BD, 2004. Cold survival in freeze-intolerant insects: the structure and function of β -helical antifreeze proteins. *Eur. J. Biochem.*, 271(1):3285—3296.
- Hartley SE, Lawton JH, 1992. Host-plant manipulation by gall insect: a test of the nutrition hypothesis. *J. Anim. Ecol.*, 61(1):113—119.
- Izumi Y, Anniwaer K, Yoshida H, Sonoda S, Fujisaki K, Tsumuki H, 2005. Comparison of cold hardiness and sugar content between diapausing and nondiapausing pupae of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Physiol. Entomol.*, 30(1):36—41.
- Kostal V, Sula J, Simek P, 1998. Physiology of drought tolerance and cold hardiness of the mediterranean tiger moth *Cymbalophora pudica* during summer diapause. *J. Insect Physiol.*, 44(2):165—173.
- Larsen KJ, Lee RE, 1994. Cold tolerance including rapid cold-hardening and inoculative freezing of fall migrant monarch butter-fies in ohio. *J. Insect Physiol.*, 40(10):859—864.
- Lee JRE, Hankison SJ, 2003. Acquisition of freezing tolerance in early autumn and seasonal changes in gall water content influence inoculation freezing of gall fly larvae, *Eurosta solidaginis* (Dipter: Tephritidae). *J. Insect Physiol.*, 49(4):385—393.
- Liu ZD, Gong PY, Wu KJ, Wei W, Sun JH, Li DM, 2007. Effect of larval host plants on over-wintering preparedness and survival of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Insect Physiol.*, 53(10):1016—1026.
- Rohefort S, Berthiaume R, Hébert C, Charest M, Baucé E, 2011. Effect of temperature and host tree on cold hardiness of hemlock looper eggs along a latitudinal gradient. *J. Insect Physiol.*, 57(6):751—759.
- Salt RW, 1956. Influence of moisture content and temperature on cold-hardiness of hibernating insect. *Can. J. Zool.*, 34(4):238—284.
- Sømme L, 1982. Supercooling and winter survival in terrestrial arthropods. *Comp. Biochem. Physiol.*, 73(4):519—543.
- Unn G, 1995. Correlative influence of gut appearance, water content and thermal hysteresis on whole body supercooling point of adult bark beetles, *Ips acurninatus* Gyll. *Comp. Biochem. Physiol.*, 112(1):207—214.
- Worldland MR, 1996. The relationship between water content and cold tolerance in the arctic collembolan *Onychiurus arcticus* (Collembola: Onychiuridae). *Eur. J. Entomol.*, 93(3):341—348.
- Wu DW, Duman JG, 1991. Activation of antifreeze proteins from larvae of the beetle *Dendrodoea canadensis*. *J. Comp. Physiol. B*, 161(3):279—283.
- Wu DW, Duman JG, Xu L, 1991. Enhancement of insect antifreeze protein activity by antibodies. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1076(3):416—420.
- 常志刚, 李志勇, 高寿曾, 王海生, 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. 蜜蜂杂志, (1):6—7.
- 陈豪, 梁革梅, 邹朗云, 郭芳, 吴孔明, 郭予元, 2010. 昆虫抗寒性的研究进展. 植物保护, 36(2):18—24.
- 景晓红, 康乐, 2004. 昆虫耐寒性的测定与评价方法. 昆虫知识, 40(1):7—10.
- 孔锋, 李红梅, 裴元慧, 李玉梅, 康平, 孙绪良, 2007. 美国白蛾越冬蛹体内脂肪、甘油、蛋白质的变化与抗寒性的关系. 昆虫学研究动态. 鹤壁:中国昆虫学会第八次全国会员代表大会暨2007年学术年会. 199—203.
- 李光博, 1993. 我国粘虫研究概况及主要进展. 植物保护,

- 19(4):2—4.
- 刘柱东, 2004. 棉铃虫母带效应及不同寄主植物对其抗寒性的影响. 博士学位论文. 北京:中国科学院.
- 鹿金秋, 王振营, 何康来, 刘勇, 2009. 桃蛀螟越冬老熟幼虫过冷却点测定. 植物保护, 35(2):44—47.
- 吕仲贤, 杨樟法, 王桂跃, 1995. 玉米螟和桃蛀螟在玉米上的生态位及其种间竞争. 浙江农业学报, 7(1):31—34.
- 任璐, 陆永跃, 曾玲, 庞淑婷, 2006. 寄主对桔小实蝇耐寒性的影响. 昆虫学报, 49(3):447—453.
- 王振营, 何康来, 石洁, 马嵩岳, 2006. 桃蛀螟在玉米上危害加重原因与控制对策. 植物保护, 3(2):67—69.
- 杨燕涛, 谢宝瑜, 高增祥, 刘柱东, 李典漠, 2003. 寄主植物对棉铃虫蛹抗寒能力影响. 昆虫知识, 40(6):509—512.
- 张洪刚, 鲁新, 何康来, 王振营, 2010. 亚洲玉米螟抗寒及低温对策. 植物保护学报, 37(5):398—402.