研究论文

冷驯化对茶尺蠖抗寒性生理指标的影响*

段小凤[1,3**] 王晓庆[3] 李品武[2***] 田景涛[1] 彭 萍[3***] 陈世春[3]

（1. 铜仁职业技术学院，铜仁 554300；2. 四川农业大学园艺学院，雅安 625014；
3. 重庆市农业科学院茶叶研究所，永川 402160）

摘 要 【目的】 冷驯化作为一种有效提高耐寒能力的途径，在昆虫对环境温度变化的适应中发挥重要作用，是当前昆虫耐寒性研究的热点。为了解茶尺蠖 *Ectropis oblique* (Prout)对冷驯化的生理响应机制，本文研究了不同冷驯化对茶尺蠖抗寒性生理指标的影响。**【方法】** 分别对茶尺蠖快速冷驯化 0℃2 h、5℃2 h，长时间冷驯化 5℃24 h、5℃48 h，利用热电偶方法测定了茶尺蠖的过冷却点，采用生理生化测定法研究了其体内的抗寒性生理指标的变化。**【结果】** 长时间冷驯化处理使茶尺蠖过冷却点显著降低；虫体内含水量显著降低；脂质和糖原含量显著增加；蛋白质含量略有增加但无显著差异；过氧化物酶（POD）、过氧化氢酶（CAT）、超氧化物歧化酶（SOD）3 种保护酶活性显著升高及 ATP 能量代谢酶活显著降低。短时间冷驯化使茶尺蠖过冷却点显著降低；虫体内含水量降低但差异不显著；脂质、糖原和蛋白质含量显著升高；POD、CAT、SOD 3 种保护酶活性及 ATP 能量代谢酶活分别显著升高和降低。**【结论】** 长时间冷驯化和快速冷驯化均能提高茶尺蠖耐寒性，这是虫体内的水分、脂肪、糖原、蛋白质等含量以及抗逆酶活性变化的综合反映。本研究结果对深入研究茶尺蠖越冬策略以及结合气候条件确定茶尺蠖的分布，为评价田间死亡率及预测翌年发生程度提供重要依据，对制定防治措施具有重要现实意义。

关键词 茶尺蠖，冷驯化，过冷却点，抗寒性，生理机制，抗逆酶活性

Effects of cold hardening on physiological indices related to cold tolerance in *Ectropis obliqua* pupaes

DUAN Xiao-Feng[1,3**] WANG Xiao-Qing[3] LI Pin-Wu[2***] TIAN Jing-Tao[1]
PENG Ping[3***] CHEN Shi-Chun[3]

(1. Tongren Polytechnic College, Tongren 554300, China; 2. College of Horticulture, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China; 3. Tea Research Institute, Chongqing Academy of Agricultural Sciences, Yongchuan 402160, China)

Abstract [Objectives] To explore the physiological mechanisms by which *Ectropis obliqua* (Prout) responds to cold hardening. **[Methods]** *E. obliqua* pupae were exposed to 0℃ and 5℃ for 2 h (rapid cold hardening), or 5℃ for 24 h and 48 h (cold acclimation). A thermocouple was used to measure supercooling points, and physiological indices related to cold tolerance were measured. **[Results]** The supercooling points and water content of *E. obliqua* pupae were significantly depressed, lipid and glycogen content significantly increased, protein content slightly increased, the activity of three protective enzymes (POD,CAT and SOD) significantly increased, and ATP activity was significantly depressed, by cold acclimation. The supercooling points of *E. obliqua* pupae were significantly depressed, water content slightly depressed, lipid, glycogen and protein content significantly increased, POD,CAT and SOD activity were significantly increased, and ATP activity significantly depressed, by rapid cold hardening. **[Conclusion]** The observed changes in water, lipid, glycogen, protein content and

* 资助项目 Supported projects：国家茶叶产业技术体系西部病虫害防控岗位专家基金（CARS-23）；国家茶产业体系铜仁茶叶综合试验站基金（CARS-23）

**第一作者 First author，E-mail：duanxiao1011@163.com

***通讯作者 Corresponding author，E-mail：lipinwu@126.com；pptea2006@163.com

收稿日期 Received：2015-01-08，接受日期 Accepted：2015-09-11

enzymatic activity suggest that cold acclimation and rapid cold hardening can make *E. obliqua* more cold tolerant. These results can improve understanding of the overwintering strategies of *E. oblique*, estimating the distribution of this species based on climatic conditions, and provide an important basis for predicting mortality and forecasting abundance in the field, all of which are important for improving prevention and control measures for this pest.

Key words *Ectropis obliqua* Prout, cold hardening, supercooling point, cold hardiness, physiological mechanisms, stress-tolerance enzymatic activities

茶尺蠖 *Ectropis obliqua*（Prout）属鳞翅目（Lepidoptera）尺（蠖）蛾科（Geometridae），是我国茶树主要害虫之一。茶尺蠖在国内的分布遍及各主产茶区，近年尤以浙江、江苏、安徽、河南等茶区发生最为严重。茶尺蠖以蛹在茶丛根际土中越冬，少数以幼虫在茶丛中越冬，对其发生规律的研究表明在诸多气象因素中，气温对该虫的影响最大。其猖獗发生常有间隙现象，冬季若特别寒冷则越冬蛹死亡率高，翌年虫口基数减少，发生亦轻（殷坤山和熊兴平，1994；高旭辉等，2007；彭萍等，2013）。

昆虫是变温动物，外界温度波动会引起包括新陈代谢在内的一系列生理生化反应，而冬季低温通常直接影响昆虫的存活、发育、繁殖和种群扩散等（景晓红和康乐，2002，2004；韩鹏飞等，2012）。近年来，随着全球气候变暖问题的日益凸现，异常温度影响下昆虫的耐寒性引起人们的广泛关注，冷驯化作为一种非常有效的耐寒策略，可显著增强昆虫的耐寒性，成为了当前学者们研究的热点。冷驯化又分为长时间冷驯化和短时间冷驯化。长时间冷驯化是指经过几天到几十天的低温过程，从而获得抗低温能力，这种驯化主要适用于间接冷伤害和结冰伤害；而短时间驯化即快速冷驯化，则是指通过几个小时甚至几十分钟内发生的低温驯化过程，主要适应于直接伤害或冷休克。对很多昆虫来说，这样的过程可以使它们免于遭受过冷却点以上的低温的伤害。目前已有大量冷驯化增强昆虫抗寒性的报道，例如将异色瓢虫 *Harmonia axyridis*（Pallas）夏季成虫在 5℃下进行 5、10 d 的低温驯化后存活率分别提高到 76%和 71%，驯化效果显著；西花蓟马 *Frankliniella occidentalis*（Pergande）成、若虫在 0℃或 5℃驯化 2h 后其存活率都得到了明显提高；绿盲蝽 *Apolygus lucorum* 卵在经 0℃低温驯化后，抗寒性迅速提升，40 min 后低温下的死亡率由 61.06%降低到 37.58%（赵静等，2008；卓德干等，2012；李鸿波，2013）。诸多昆虫耐寒性研究被广泛报道，但有关茶尺蠖耐寒性的研究还鲜有报道。在低温胁迫下其对外界环境的适应性或生理上的响应，仍有待研究。鉴于此，本试验主要探究了冷驯化后其过冷却点变化的差异，以及冷驯化前后体内含水量、总脂肪、蛋白质、糖原及酶活性等生理指标的变化，以期为茶尺蠖耐寒性及其预测预报和综合防治提供有价值的理论参考。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

试验用的茶尺蠖采自安徽祁门（29°87' N，117°72' E），将采集的幼虫室内饲养 1~2 代后进行试验（王晓庆等，2013）。收集卵块在人工气候箱内饲养至幼虫化蛹，每次均选择 1 日龄的蛹作为供试虫蛹。人工气候箱内环境条件参数分别为温度（25±1）℃，相对湿度 70%±5%，光周期 L∶D=16∶8。

1.2 茶尺蠖蛹过冷却点的测定

采用热电偶方法测定上述冷驯化处理及对照的茶尺蠖蛹过冷却点 SCP，仪器主要由低温恒温槽（宁波市海曙天恒仪器厂）和数据采集器（中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所）组成。测定时将蛹按照编号依次放在胶带纸上，将过冷却点测定仪的热敏电阻感温探头接触虫体，使两者完全充分接触后置于离心管中。虫体温度随着环境温度以 1℃/min 的非线性速率降温。

1.3 茶尺蠖蛹的冷驯化处理

在前期进行了低温处理后茶尺蠖的存活情

况的基础上，选择 0℃和 5℃作为冷驯化处理。对茶尺蠖蛹进行长时间冷驯化和快速冷驯化两种处理：长时间冷驯化 5℃下 24 h、5℃下 48 h，短时间冷驯化 5℃下 2 h、0℃下 2 h。处理结束后分别测定其过冷却点，每处理 20 头蛹（♀：♂ = 1：1；体型大小均一），以正常蛹作为对照，各处理重复 3 次。

1.4　虫体含水量的测定

将上述各处理的茶尺蠖蛹分别称量后，测定过冷却点，再置于 60℃恒温箱中烘干至恒重，干燥器内室温冷却后再称重，两次称量之差比处理后的虫体重量即为虫体含水量，每处理 10 头蛹，3 次重复。

1.5　虫体内脂肪含量的测定

将 2 mL 离心管编号后置于 60℃的恒温干燥箱中烘 2 h，然后称重（W_1）。取 10 头研磨好蛹的干粉末称重（DW）分别于 2 mL 离心管中，参照杨光平（2013）的方法，先加入氯仿和甲醇的混合液（氯仿：甲醇=2：1）0.5 mL 匀浆，然后再加入 1.5 mL 混合液浸泡 12~24 h，离心 10 min（4 200 r/min），移去上层清液，重复离心 2 次。剩余残渣和管在 60℃的烤箱中烘烤至恒重（W_2）。脂肪含量（%）按下式计算：[（W_2–W_1）/DW]×100。

1.6　虫体蛋白质含量的测定

标准曲线的绘制、蛋白质提取和含量测定参考 Bradford（1976）的方法。取上述已制备好的虫粉 0.02 g 于匀浆器中，冰浴操作，先加入 1 mL 蒸馏水充分匀浆，用 4 mL 蒸馏水冲洗玻棒。4℃ 5 000 r/min 离心 20 min，将上清液转入 10 mL 离心管，往沉淀中加入 2 mL 蒸馏水充分摇匀，再离心一次，合并上清液。取上清液测定吸光值查标准曲线，3 次重复。

1.7　虫体糖原测定

标准曲线的绘制、糖原提取和含量测定参照林炜（2008）的方法，称取虫体粉末，加 30%KOH 消化。冷却后加入乙醇（95%）后，4℃冰箱内过夜。次日离心后沉淀溶于蒸馏水中再加入乙醇（95%），在冰箱内放置 3~4 h，离心后沉淀用蒸馏水溶解过滤并定容得样品待测液。取待测样品液用冰水混合物冷却后加入蒽酮试剂，摇匀冷却后置沸水浴中，取出后迅速放于冰水浴中在暗处静置进行比色，查标准曲线即得糖原含量。

1.8　虫体酶活性测定

取处理后的茶尺蠖蛹进行抗逆酶活性测定，以正常条件下的蛹体内酶活力作为对照。每处理 10 头，重复 3 次。过氧化物酶（POD）、过氧化氢酶（CAT）、超氧化物歧化酶（SOD）、三磷酸腺苷酶（ATP）提取后采用标准试剂盒（南京建成公司）进行测定，酶的提取和测定参照其说明书介绍的方法。

1.9　数据统计与分析

采用 PASW Statistics 18 统计分析软件对试验数据间的差异进行单因素方差分析（One-way ANOVA）和 Tukey 法多重比较（P<0.05）。

2　结果与分析

2.1　冷驯化处理对茶尺蠖蛹过冷却点和结冰点的影响

从图 1 可以看出，不同冷驯化条件下茶尺蠖蛹的过冷却点不同，由低到高分别是 5℃24 h 组、5℃48 h 组、5℃2 h 组和 0℃2 h 组较对照组分别降低了 19.70%、17.47%、11.83%、11.60%。说明各低温冷驯化可使茶尺蠖过冷却点显著降低（$F_{4,95}$= 11.094，P=0.0001<0.05），其耐寒能力增强。虽然长时间冷驯化的驯化效果相对快速冷驯化要好，但 48 h 组的过冷却点相对 24 h 组有所上升，表明超出一定范围的冷驯化会不利于提高茶尺蠖蛹耐寒性，这也反映了耐寒性的可塑性是有限的。

从图 2 可以看出，经冷驯化后茶尺蠖蛹的结冰点变化趋势与过冷却点一致，其中长时间冷驯化处理 5℃24 h 组和 5℃48 h 组较对照显著降低（$F_{2,57}$=9.619，P=0.0003<0.05），短时间冷驯化处理 5℃2 h 组和 0℃2 h 组较对照也明显降低但无显著差异（$F_{2,57}$=3.942，P=0.0249）。总的来

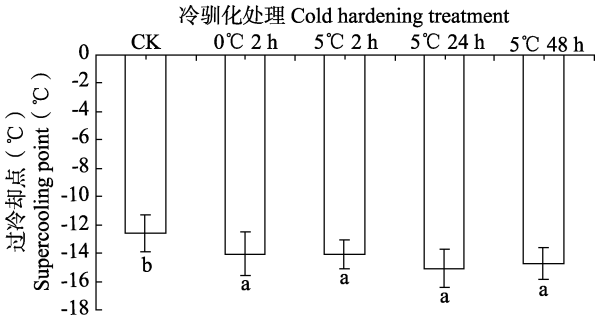

图 1　快速冷驯化（0℃2 h、5℃2 h）和长时间冷驯化（5℃24 h、5℃48 h）对茶尺蠖蛹过冷却点的影响

Fig. 1　Effects of rapid cold hardening (0℃, 5℃ for 2 h) and cold acclimation (5℃ for 24 h, 48 h) treatments on supercooling points in *Ectropis obliqua* pupae

图中数据为平均数±标准差，柱上标有不同小写字母表示同一种群内不同处理间差异显著（Tukey，P<0.05）。下图同。

Data are mean±SD, histograms with different lowercase letters indicate significant difference among treatments at the 0.05 by Tukey test. The same below.

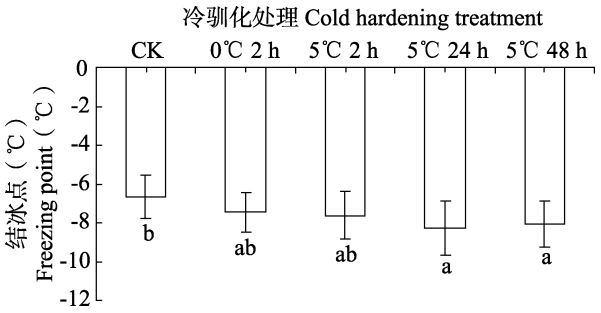

图 2　不同冷驯化处理对茶尺蠖蛹结冰点的影响

Fig. 2　Effect of different cold hardening treatments on freezing points in *Ectropis obliqua* pupae

说，茶尺蠖蛹的结冰点变化受外界低温影响较过冷却点小。

2.2　冷驯化处理对茶尺蠖蛹自由水含量的影响

测定结果显示（图 3），长时间冷驯化处理（5°C24 h 组、5°C48 h 组）能显著降低茶尺蠖虫体内自由水含量（$F_{2,57}$=11.507，P=0.0001<0.05），分别较对照降低了 2.83%、2.96%。短时间冷驯化处理 0°C2 h 组虫体含水量显著降低（$F_{1,38}$=14.262，P=0.0005<0.05），5°C2 h 组略有下降但与对照差异不显著（$F_{1,38}$=6.658，P=0.2411> 0.05），表明虫体过冷却点与自由水含量呈正相关。

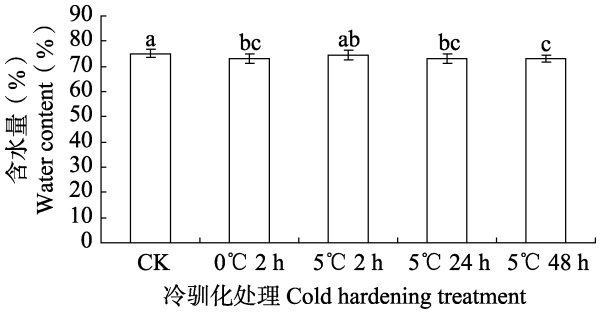

图 3　不同冷驯化处理对茶尺蠖蛹自由水含量的影响

Fig. 3　Effect of different cold hardening on water content in *Ectropis obliqua* pupae

2.3　冷驯化处理对茶尺蠖蛹脂肪含量的影响

实验结果表明（图 4）各处理脂肪含量 0°C2 h 组、5°C2 h 组、5°C24 h 组、5°C48 h 组分别较对照增加了 2.78%、2.68%、5.66%和 8.44%。两种冷驯化方式均显著提升虫体脂肪含量，长时间冷驯化处理效果较短时间冷驯化好，且差异显著（$F_{4,10}$=40.752，P=0.0001<0.05）。茶尺蠖在低温胁迫时脂肪含量增加，说明脂肪作为组成其抗寒物质系统的物质之一，对其抗寒性的增强起积极作用。

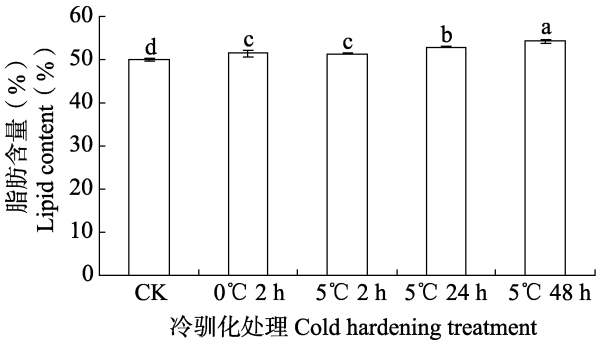

图 4　不同冷驯化处理对茶尺蠖蛹脂肪含量的影响

Fig. 4　Effect of different cold hardening on lipid content in *Ectropis obliqua* pupae

2.4　冷驯化处理对茶尺蠖蛹蛋白质含量的影响

试验结果表明（图 5），各处理虫体蛋白质含量范围在 78.85~87.71 μg/mg，短时低温驯化处理 0°C2 h 和 5°C2 h 分别比对照增加了 11.24%、10.18%，其差异显著（$F_{2,6}$=26.941，P=0.0010< 0.05），长时间冷驯化处理较对照略有增加但无显著差异（$F_{2,6}$=1.110，P=0.3889>0.05），表明茶尺蠖

会调节体内蛋白质含量来适应环境温度的变化。

2.5　冷驯化处理对茶尺蠖蛹糖原含量的影响

经短时间冷驯化处理能提高虫体糖原含量，而长时间冷驯化处理使糖原含量降低，其中短时间 5℃2 h 组（10.49 μg/mg）和长时间 5℃48 h 组（7.61 μg/mg）均与对照（8.78 μg/mg）具方差显著性（$F_{2,6}$=63.448，P=0.0001<0.05），另两组与对照无显著差异（$F_{2,6}$=8.936，P=0.0159）。

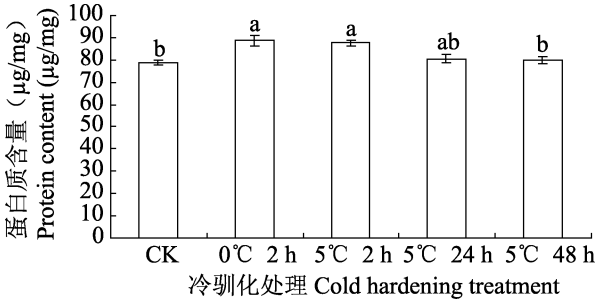

图 5　不同冷驯化处理对茶尺蠖蛹蛋白质含量的影响

Fig. 5　Effect of different cold hardening on protein content in *Ectropis obliqua* pupae

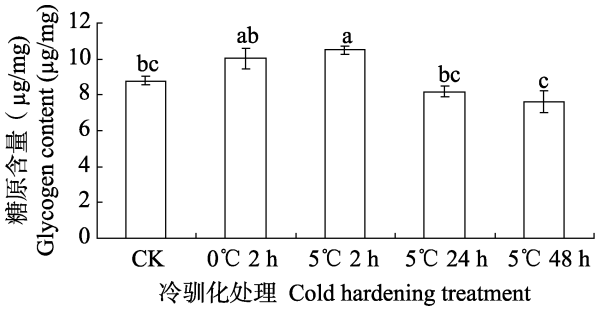

图 6　不同冷驯化处理对茶尺蠖蛹糖原含量的影响

Fig. 6　Effect of different cold hardening on glycogen content in *Ectropis obliqua* pupae

2.6　冷驯化处理对茶尺蠖蛹酶活性的影响

不同冷驯化处理条件下虫体酶活性测定显示（表 1），虫体内 POD、CAT、SOD 3 种保护酶活性均明显增加，而 ATP 活性降低。两种冷驯化方式均能显著提高 POD 活性且长时间冷驯化处理效果较明显，5℃24 h 和 5℃48 h 处理后酶活分别增加了 43.08%和 44.24%，0℃2 h 和 5℃2 h 处理后酶活分别增加了 19.31%和 23.78%；两种冷驯化方式均能提高虫体 CAT 活性且短时间冷驯化处理效果较好，0℃2 h 和 5℃2 h 处理分别增加了 43.53%和 44.86%，5℃24 h、5℃48 h 处理后分别增加了 24.56%、24.11%；各处理 SOD 活性经冷驯化之后呈明显上升趋势，5℃24 h、5℃48 h 处理后酶活分别较对照增加了 49.43%、83.40%；与对照差异显著，短时间冷驯化后活性也有小幅度增加，0℃2 h、5℃2 h 处理后酶活分别较对照增加了 32.64%、19.62%，5℃2 h 组与对照未达到显著差异。ATP 活性经低温冷驯化后显著降低，且两种低温驯化效果差异不明显。茶尺蠖抗逆酶系统活性变化各异，其中 POD 和 SOD 的活性长时间冷驯化处理增加幅度较短时间冷驯化处理大，而 CAT 正好与 POD 和 SOD 相反。由此可见，低温胁迫可提高 POD、SOD 活性来消除 O^{2-}使其维持在一个较低水平，而由此细胞中积累的 H_2O_2 则由 CAT 分解消除，这种协调一致性在一定程度上可减轻低温造成的伤害。ATP 是能力运转的重要酶，低温驯化使虫体 ATP 活性降低而减少能量消耗，增加其抗寒能力。

表 1　不同冷驯化处理对茶尺蠖蛹酶活性影响（**μmol·g^{-1}(FW)·min^{-1}**）

Table 1　Effect of different cold hardening on the enzymes activites in *Ectropis obliqua* pupae

冷驯化处理 Cold hardening	POD	CAT	SOD	ATP
CK	6.94±0.70c	11.28±0.16c	5.30±0.53c	0.93±0.11a
0℃2 h	8.28±0.29b	16.19±1.57ab	7.03±0.57b	0.41±0.04b
5℃2h	8.59±0.38b	16.34±0.25a	6.34±0.54bc	0.42±0.09b
5℃24 h	9.93±0.18a	14.05±0.40b	7.92±0.95b	0.56±0.03b
5℃48 h	10.01±0.38a	14.00±0.80b	9.72±0.27a	0.52±0.10b

表中数据为平均数±标准差，同列数据后标有不同小写字母表示不同处理间差异显著（Tukey，P<0.05）。

Data are mean±SD, and followed by different lowercase letters indicate significant difference among treatments in each column at the 0.05 by Tukey test.

3 讨论

3.1 不同冷驯化处理对茶尺蠖蛹抗寒性的影响

体液结冰对大多数昆虫来说都是致命的，因此，在研究昆虫的耐寒性时，过冷却点是首要考查的因素。昆虫可以采用耐冻和避冻两种完全不同的策略越冬。耐冻对策指通过提高过冷却点来诱导胞外结冰，使胞内亚细胞结构免受伤害；避冻对策指通过降低过冷却点来增加抗寒力，即降低结冰概率来提高存活率（李毅平和龚和，1998）。由于长时间和短时间这两种驯化机制会因昆虫种类和发育阶段不同而呈现各自的特异性，二者的作用效果也有差异。如 Chen 等（1990），Larsen 和 Lee（1994）的研究均表明，与短时间冷驯化相比，长时间冷驯化能更好地保护红尾肉蝇 *Sarcophaga crassipalpis* 和帝王蝶 *Danaus plexippus* 免受冷休克的伤害。本研究中，短时间和长时间冷驯化处理均能使茶尺蠖蛹过冷却点显著降低，表明其抗寒性具有可塑性，能够通过冷驯化反应提高其耐寒力来应对自然界中温度的变化，这与赵静等（2008）、李兴鹏等（2012）及岳雷等（2014）的研究结果一致。因此，可推测与大多数昆虫相同，茶尺蠖越冬采用的是避冻对策。但两种冷驯化方式对茶尺蠖过冷却点的影响差异不显著，过冷却点与冷驯化条件的关系比较复杂，这是由于过冷却点高低除了与昆虫的重量、所处的生理状态有关外，还取决于抗冻保护物质或冰核剂的有无及多寡等（Sjursen and Somme，2000）。

3.2 不同冷驯化处理对茶尺蠖蛹生理代谢的影响

Lee（1991）提出昆虫低温诱导抗寒性增强包含一系列复杂的生理生化过程，诸如体内水、脂质和甘油、海藻糖等小分子冷冻保护剂种类及其含量的变化、胞外液体中阻止冰晶形成的冰核剂的诱导、抗冻蛋白和相关酶类的产生以及对细胞膜脂进行的修饰等。本研究发现，茶尺蠖体内自由含水量经两种低温驯化均有降低，与二化螟 *Chilo suppressalis* 滞育幼虫和异色瓢虫 *Harmonia axyridis*（Pallas）等昆虫经冷驯化后的变化相同（赵静，2011；强承魁等，2012），相关研究认为昆虫在低温胁迫下，体内的含水量下降，而虫体失水可提高机体内抗冻保护剂的浓度和血淋巴中溶质浓度，从而降低昆虫过冷却点，同时虫体中的冰核也因失水而降低活性（Worland，1996）。目前许多研究报道昆虫耐寒性与体内耐寒物质变化的关系，如高玉红（2005）、郭海波等（2006）、赵静（2011）、黄娜娜（2015）等研究都显示脂肪、糖原、甘油和血淋巴蛋白等耐寒物质含量的提高而使虫体的抗寒性增加，本研究得出相似的结果，茶尺蠖经冷驯化处理后耐寒性提高伴随着体内脂质、蛋白质、糖原含量的上升，除长时间冷驯化未引起蛋白质含量显著变化外，其余均达到显著差异。脂质作为能源物质消耗或转化；蛋白质作为结构物质、参与运输和调节等；糖原作为该虫的重要抗寒储能物质起到重要作用，此外，糖原还可能转化为血淋巴中的甘油、海藻糖等小分子碳水化合物来增加抗寒性（黄国洋等，1990；Li *et al.*，2002），长时间低温胁迫糖原含量略有降低可能与能源物质分解和转化有关。这些物质积累起来综合作用而使其免受低温造成的伤害，但其协调增效机制还需深入研究。

3.3 不同冷驯化处理对茶尺蠖蛹酶活性的影响

POD、CAT、SOD 是昆虫体内重要的防御系统保护酶，ATP 酶是参与活细胞能量转换及离子转运的关键酶类，它们的活性与昆虫对外界刺激的响应强度有关。目前已有大量研究表明昆虫体内酶活力的增高或下降与抗寒有着较密切的关系，如林炜等（2007）及赵静等（2010）等对二化螟的研究中滞育幼虫体内 CAT、POD 和 SOD 酶活性高于解除滞育幼虫体内的酶活性，而 ATP 和 LDH 的活性解除滞育幼虫高于滞育幼虫；异色瓢虫在长时冷驯化后，SOD 活性和 CAT 的活性显著提高，而与新陈代谢有关的 LDH 及 ATP 酶活性则显著降低。本研究与林炜等（2007）及赵静等（2010）的研究结果相似，茶尺蠖蛹酶活性经冷驯化后，POD、SOD 和 CAT 活性显著升高，而 ATP 活性显著降低。由此可见，低温胁

迫该虫通过提高 POD、SOD 活性来消除 O^{2-}使其维持在一个较低水平，而由此细胞中积累的 H_2O_2 则由 CAT 分解消除，而 ATP 活性的降低减少能量消耗以维持正常生命活动，机体通过对这几种酶的综合调控最大程度上缓解冷胁迫对细胞的毒害以及膜脂的过氧化作用，是其低温胁迫下的一种抗逆表现。

致谢: 试验所需茶尺蠖种群由安徽省农业科学院张家侠等同志采集，在此一并致谢。

参考文献 (References)

Bradford MM, 1976. A rapid and sensitivemethod for the quantitation ofmicrogram quantities ofprotein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1/2): 248–254.

Chen CP, Lee RE, Denlinger DL, 1990. A comparison of the responses of tropical and temperate flies (Diptera: Sarcophagidae) to cold and heat stress. *Comp. Physiol.*, 160(5): 543–547.

Gao XH, Wan XC, Yang YQ, Zheng GY, Shen Q, 2007. Studies on the biological habits of *Ectropis obliqua* Prout. *Plant Protection*, 33(3): 110–113. [高旭辉, 宛晓春, 杨云秋, 郑高云, 沈强, 2007. 茶尺蠖生物学习性研究. 植物保护, 33(3): 110–113.]

Gao YH, 2005. Studies on the physological and biochemical mechanism of diapause pupae of oriental tobacco budworm, *Helicoverpa assulta*. Master degree thesis. Henan: Henan Agricultural University. [高玉红, 2005. 烟夜蛾越冬滞育蛹的生理生化特性研究. 硕士学位论文. 河南: 河南农业大学.]

Guo HB, Xu YY, Ju Z, Li MG, 2006. Seasonal changes of cold hardiness of the green lacewing, *Chrysoperla sinica* (Tjeder) (Neuroptera: Chrysopidae). *Acta Ecologica Sinica*, 26(10): 3238–3244. [郭海波, 许永玉, 鞠珍, 李明贵, 2006. 中华通草蛉成虫抗寒能力的季节性变化. 生态学报, 20(10): 3238–3244.]

Han PF, Wu JH, Qiu BL, Ren SX, 2012. Extreme low temperature tolerance of *Leptocybe invasa*, *Chinese Journal of Applied Entomology,* 49(6): 1553–1558. [韩鹏飞, 吴建辉, 邱宝利, 任顺祥, 2012. 桉树枝瘿姬小蜂的耐寒性测定. 应用昆虫学报, 49(6): 1553–1558.]

Huang GY, Wang YC, You ZP, 1990. Studses on cold tolerance functios of *Agrotis segetum*. *Journal of Zhejiang Forestry College*, 7(2): 140–146. [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.]

Huang NN, Dai P, Fu Y G, Jing T, Huang QY, 2015. Measurement of physiological indices of cold tolerance in *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett), *Chinese Journal of Applied Entomology,* 52(3):694–701. [黄娜娜, 代鹏, 符悦冠, 金涛, 黄求应, 2015. 瓜实蝇耐低温相关生理指标的测定. 应用昆虫学报, 52(3): 694–701.]

Jing XH, Kang L, 2002. Research progress in insect cold hardiness. *Acta Ecologica Sinica*, 22(12): 2202–2207. [景晓红, 康乐, 2002. 昆虫耐寒性研究. 生态学报, 22(12): 2202–2207.]

Jing XH, Kang L, 2004. Overview and evaluation of research methodology for insect cold hardiness. *Entomological Knowledge*, 41(1): 7–10. [景晓红, 康乐, 2004. 昆虫耐寒性的测定与评价方法. 昆虫知识, 41(1) : 7–10]

Larsen KJ, Lee RE, 1994. Cold tolerance including rapid cold hardening and inoculative freezing of fall migrant monarch butterflies in Ohio. *Insect Physiol.*, 40 (10): 859–864.

Lee JJ, 1991. Principles of insect low tempeperature tolerance// Lee Jr RE, Denlinger DL (eds.). Insect at Low Tempeperatures. New York: Chapman and Hall. 17–46.

Li HB, 2013. Response to thermal stress in the western flower thrips *Frankliniella occidentalis*. PhD thesis. Yangzhou : Yangzhou University. [李鸿波, 2013. 入侵害虫西花蓟马的对温度胁迫的响应. 博士学位论文. 扬州: 扬州大学.]

Li XP, Song WL, Zhang HH, Chen YQ, Zuo TT, Wang J, Sun W, 2012. Responses of *Arma chinensis* cold tolerance to rapid cold hardening and underlying physio-logical mechanisms. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 23(3): 791–797. [李兴鹏, 宋丽文, 张宏浩, 陈越渠, 左彤彤, 王君, 孙伟, 2012. 蠋蝽抗寒性对快速冷驯化的响应及其生理机制. 应用生态学报, 23(3): 791–797.]

Li YP, Gong H, 1998. Insects cryobiology: Ⅰ. a frozen insect resistant physiological and biochemical adaptation mechanisms. *Entomological Knowledge*, 35(6): 364–369. [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, 2002. Diapause development and acelimation regulating enzymes assoeiated with glycerol synthesis in the Shonai ecotype of the rice stemborer *Chilo suppressalis* Walker. *Joumal of Inscet Physiology*, 48(3): 303–310.

Lin W, 2008. Differenees in cold-hardiness of over-wintering larval populations of the rice stem borer, *Chilo suppressalis* walker (Lepidoptera: Pyralidae) and their underlying mechanisms. Master degree thesis. Changsha: Hunan Agricultural University. [林炜, 2008. 不同二化螟越冬幼虫种群抗寒性的差异及其机理研究. 硕士学位论文. 长沙: 湖南农业大学.]

Lin W, Liu YD, Hou ML, Li JW, 2007. Comparison of the activities of stress-tolerant enzymes in diapaused and diapause-terminated larvae of *Chilo suppressalis* from different geographic populations. *Plant Protection*, 33(5): 84–87. [林炜, 刘玉娣, 侯茂林, 黎家文, 2007. 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. 植物保护, 33(5): 84–87.]

Peng P, Wang XQ, Li PW, 2013. Tea pest forecasting and control techniques. Beijing: China Agriculture Press.52-54.[彭萍, 王晓庆, 李品武, 2013. 茶树病虫害测报与防治技术. 北京: 中国农业出版社. 52–54.]

Qiang CK, Yu LY, Du YZ, Qin YH, Zhao H, Hu CX, 2012.

Physiological effects of rapid cold hardening on diapause larvae of rice stem borers, *Chilo suppressalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Chinese Journal of Rice Science*, 26(2): 251–254. [强承魁, 于玲雅, 杜予州, 秦越华, 赵虎, 胡长效, 2012. 快速冷耐受对水稻二化螟滞育幼虫的生理效应. 中国水稻科学, 26(2): 251–254.]

Sjursen H, Somme L, 2000. Seasonal changes in tolerance to cold and desiccation in *Phauloppia* sp. (Aeari, Oribati-da) from Finse, Norway. *Journal of Insect Physiology*, 46(10): 1387–1396.

Wang XQ, Sheng ZL, Peng P, Guo X, Hu X, Lin Q, 2013. Difference in the fitness of the geographic populations of *Ectropis oblique*. *Plant Protection*, 29(2): 63–66. [王晓庆, 盛忠雷, 彭萍, 郭萧, 胡翔, 林强, 2013. 不同地理种群茶尺蠖适合度差异研究. 植物保护, 29(2): 63–66.]

Worland MR, 1996. The relationship between water content and cold tolerance in the arctic collembolan *Onychiurus arcticus* (Collembola: Onychiuridae). *European Journal of Entomology*, 93(3): 341–348.

Yang GP, 2013. Physiological profile and effects of temperatue/humidityon cold-hardiness of diapauses larvae of *Chilo suppressalis* (Walker). Master degree thesis. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences. [杨光平, 2013. 二化螟滞育幼虫的生理特性及温湿度对其抗寒性的影响. 硕士学位论文. 北京: 中国农业科学院]

Yin KS, Xiong XP, 1994. Effects of temperature on fecundity of *Ectropis oblique*. *China Tea*, (2) : 18–19. [殷坤山, 熊兴平, 1994. 温度对茶尺蠖繁殖力的影响. 中国茶叶, (2): 18–19.]

Yue L, Zhou ZS, Liu ZB, Wan FH, 2014. Effects of rapid cold hardening in different intensities on the physiological indices related to cold tolerance in adults of *Ophraella communa* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Acta Entomologica Sinica*, 57(6): 631–638. [岳雷, 周忠实, 刘志邦, 万方浩, 2014. 不同强度快速冷驯化对广聚萤叶甲成虫耐寒性生理指标的影响. 昆虫学报, 57(6): 631–638.]

Zhao J, 2011. Response to cold stress and overwintering strategy of *Harmonia axyridis*(Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae) adults. PhD thesis. Tai'an: Shandong Agricultural University. [赵静, 2011. 异色瓢虫低温胁迫耐受性及其越冬策略的研究. 博士学位论文. 泰安: 山东农业大学]

Zhao J, Chen ZZ, Qu JJ, Zhang F, Yin XC, Xu YY, 2010. *Harmonia axyridis*(Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae) adults to cold acclimation and the related changes of activities of several enzymes in their bodies. *Acta Entomologica Sinica*, 53(2): 147. [赵静, 陈珍珍, 曲建军, 张帆, 印象初, 许永玉, 2010. 异色瓢虫成虫冷驯化反应及体内几种酶活力的相关变化. 昆虫学报, 53(2): 147.]

Zhao J, Yu L Y, Li M, Zheng FQ, Zhang F, Xu YY, 2008. Seasonal variation in cold tolerance of the multicolored ladybeetle, *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae) adults. *Acta Entomologica Sinica*, 51(12): 1271–1278. [赵静, 于令媛, 李敏, 郑方强, 张帆, 许永玉, 2008. 异色瓢虫成虫耐寒能力的季节性变化研究. 昆虫学报, 51(12): 1271–1278.]

Zhuo DG, Li Z H, Men XY, Yu Y, Zhang AS, Li LL, Zhang SC, 2012. Cold tolerance of the overwintering egg of *Apolygus lucorum* Meyer-Dür(Hemiptera: Miridae). *Acta Ecologica Sinica*, 32(5): 1553–1561. [卓德干, 李照会, 门兴元, 于毅, 张安盛, 李丽莉, 张思聪, 2012. 绿盲蝽越冬的卵耐寒能力. 生态学报, 32(5): 1553–1561.]