温度对玉树蝠蛾幼虫糖代谢的影响*

李秀璋** 刘 欣 李玉玲***

（青海大学畜牧兽医科学院，青海省畜牧兽医科学院，西宁 810016）

摘 要 【目的】 玉树蝠蛾 *Hepialus yushuensis* 是青海省冬虫夏草主产区优势寄主昆虫，主要分布在海拔 3 000-5 000 m 的高寒草甸，该区域年平均温度不足 5 ℃。通过对玉树蝠蛾幼虫体内糖类物质含量和关键酶活性的分析，探讨冬虫夏草寄主蝠蛾的高寒适应性机制。**【方法】** 以玉树蝠蛾幼虫 4 龄幼虫为研究对象，分析蝠蛾幼虫在温度为 5、15 和 25 ℃的条件下，分别处理 1、2 和 4 h 后体内的糖原、果糖、海藻糖和山梨醇 4 种糖类物质含量的变化，以及海藻糖酶、3-磷酸甘油脱氢酶和 3-磷酸甘油醛脱氢酶活性的变化。**【结果】** 低温（5 ℃）条件下玉树蝠蛾幼虫体内糖原含量显著低于对照处理（15 ℃）（$P<0.05$），高温（25 ℃）条件下玉树蝠蛾幼虫体内糖原含量显著高于对照处理（15 ℃）（$P<0.05$）。玉树蝠蛾幼虫体内海藻糖、果糖和山梨醇含量在低温（5 ℃）条件下均呈现一定的增加趋势，而在高温（25 ℃）条件下均呈一定的下降趋势。低温（5 ℃）条件下海藻糖酶活性显著低于对照处理（15 ℃）（$P<0.05$），而在高温条件下（25 ℃），海藻糖酶活性显著高于对照处理（15 ℃）（$P<0.05$）。5 ℃处理一定时间后玉树蝠蛾幼虫体内 3-磷酸甘油脱氢酶和 3-磷酸甘油醛脱氢酶活性均显著高于对照处理（15 ℃）（$P<0.05$），这表明玉树蝠蛾幼虫通过调控体内有氧代谢和糖酵解代谢水平，加快糖原等糖类物质转化为小分子抗寒物质以提高虫体的抗寒能力。**【结论】** 玉树蝠蛾幼虫体内糖原的分解与 3 种单糖和糖醇含量的增加密切相关，与糖类物质代谢相关的 3 种关键酶活性的变化趋势同 4 种糖类物质的变化趋势相吻合，玉树蝠蛾幼虫体内糖代谢过程受到海藻糖酶、3-磷酸甘油脱氢酶和 3-磷酸甘油醛脱氢酶的调控。

关键词 冬虫夏草；玉树蝠蛾；糖原；海藻糖；海藻糖酶

Effect of temperature on the glycometabolism of *Hepialus yushuensis* larvae

LI Xiu-Zhang** LIU Xin LI Yu-Ling***

(College of Animal Husbandry and Veterinary Sciences, Qinghai University, Xining 810016, China)

Abstract [Objectives] To analyze the carbohydrate content and the activity of key carbohydrases in *Hepialus yushuensis* larvae, the dominant host of *Cordyceps sinensis* in the main *C. sinensis* producing areas of Qinghai province, in order to investigate the mechanism underlying adaptation of *H. yushuensis* larvae to the Tibetan Plateau's cold environment where they are predominantly found in alpine meadows at an altitude of 3 000-5 000 m and an annual average temperature of < 5 ℃. **[Methods]** 4th instar larvae of *H. yushuensis* were randomly assigned to one of three treatment groups which were kept at temperatures of 5, 15 (control), or 25 ℃ for 1, 2, or 4 hours. At the end of each experiment, the glycogen, fructose, trehalose and sorbitol content of larvae, and their trehalase, glycerol 3-phosphate dehydrogenase and glycerol 3-phosphate dehydrogenase activity, were measured. **[Results]** Glycogen content was significantly lower in the 25 ℃ treatment group, than the 15 ℃ control group ($P<0.05$). Trehalose, fructose and sorbitol content were higher in the 5 ℃ treatment group than in the 25 ℃ group ($P<0.05$). Trehalase activity was significantly lower in the 5 ℃ treatment group, and significantly higher in the 25 ℃ group, than in the control group ($P<0.05$). Glycerol 3-phosphate dehydrogenase and glyceraldehyde-3-phosphate

*资助项目 Supported projects：青海省自然基金项目（2019-ZJ-967Q）；青海省野生植物监测项目（QHBY-2021-004）；青海省重大科技专项（2021-SF-A4）

**第一作者 First author，E-mail：xiuzhang11@163.com

***通讯作者 Corresponding author，E-mail：yulingli2000@163.com

收稿日期 Received：2021-07-13；接受日期 Accepted：2021-09-23

dehydrogenase activity were significantly higher in the 5 ℃ group than in the control group ($P < 0.05$), indicating that low temperature may accelerate conversion of glycogen and other sugars into smaller, cold-resistant substances to improve cold-tolerance. **[Conclusion]** Glycogen catabolism in *H. yushuensis* larvae appears to be closely related to increased monosaccharide and sugar alcohol content. The tendency for catalytic alterations of three key carbohydradases is consistent with observed changes in 4 kinds of carbohydrates. The carbohydrate metabolism in *H. yushuensis* larvae is regulated by trehalase, glycerol 3-phosphate dehydrogenase and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase.

Key words *Cordyceps sinensis*; *Hepialus yushuensis*; glycogen; trehalose; trehalase

冬虫夏草为麦角菌科真菌冬虫夏草菌 *Cordyceps sinensis* (BerK.) Sacc.寄生在蝙蝠蛾科昆虫幼虫上的子座和幼虫尸体的干燥复合体（国家药典委员会，2020）。截止目前超过 60 种鳞翅目幼虫可以作为冬虫夏草菌的潜在寄主，这些昆虫主要集中在蝙蝠蛾科 Hepialidae 蝙蝠蛾属 *Hepialus* 和钩蝠蛾属 *Thitarodes*（Wang and Yao，2011；邱乙等，2015）。玉树蝠蛾 *Hepialus yushuensis* 幼虫是青海省冬虫夏草主产区优势寄主昆虫，主要分布在青海省玉树藏族自治州玉树市、杂多县和称多县。

玉树蝠蛾幼虫是一种多食性的昆虫，主要取食小大黄 *Rheum pumilum*、珠芽蓼 *Polygonum viviparum*、头花蓼 *Polygonum capitatum* 和其它一些蓼科植物的根系，此外还会取食金露梅 *Dasiphora fruticosa* 和其它一些小灌木的幼根（李玉玲等，2007）。由于受到食物和温度的限制，玉树蝠蛾幼虫主要分布在海拔 4 200 m 以上的高山草甸。自然状态下，玉树蝠蛾完成一个世代需要 4-5 年的时间，且均以幼虫虫态度过长达 6 个月的冬季（徐海峰等，2016）。玉树蝠蛾幼虫多在这些地区 5-25 cm 以下的土层活动，该区域土壤年平均温度为 - 3.57 ℃，玉树蝠蛾幼虫对低温表现出了较强的耐受性（李玉玲等，2007）。在低温胁迫下，昆虫通常会处于一种过冷却状态，以此来提高抵御低温的耐寒能力（景晓红和康乐，2002）。因此，昆虫的过冷却点就成为衡量昆虫耐寒能力的重要生理指标之一（来有鹏等，2019）。徐海峰等（2015，2016）研究发现，玉树蝠蛾幼虫龄期、体重与过冷却点之间相关性并不显著，过冷却点并不适合衡量玉树蝠蛾幼虫抗寒性的绝对指标。

昆虫经过长期的生态适应，其过冷却点往往比纯水的冰点低很多，目前认为抗寒性物质起主要作用（陈豪等，2010）。昆虫的抗寒物质以抗冻蛋白和小分子抗寒物质为主，其中小分子抗寒物质主要包括单糖、糖醇、五碳多元醇、氨基酸、脂肪酸类物质等，这些物质共同构成了昆虫的抗寒物质系统（景晓红和康乐，2002；欧阳芳和戈峰，2014）。

海藻糖（Trehalose）是一种非还原型双糖，广泛存在于细菌、真菌、动物和植物中（Elbein *et al.*，2003）。海藻糖占昆虫血淋巴中糖类总量的 80%-90%，是昆虫血淋巴中最重要的糖类物质，因此常被称之为“血糖”（Elbein *et al.*，2003；朱江燕等，2018）。作为能量储备物质，海藻糖为昆虫多种代谢途径提供能量，在外界环境胁迫或内部代谢紊乱时，可作为保护因子，保护其生命体度过多种逆境（Elbein *et al.*，2003；Shi *et al.*，2016；朱江燕等，2018）。研究发现，低温处理异小杆线虫 *Heterorhabditis bacteriophora* 3 h后，海藻糖含量较对照组上升 5-6 倍（Jagdale *et al.*，2005）；高温处理意大利蝗 *Calliptamus italycus* 至 36 ℃时，海藻糖含量呈逐渐上升趋势以抵抗高温逆境（李爽等，2015）；向南极摇蚊 *Belgica antarctica* 体内注射海藻糖可明显提高其干旱耐受力（Benoit *et al.*，2009）；经过干旱环境处理州黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 血淋巴中海藻糖含量显著上升，海藻糖在细胞表面形成特殊的保护膜，保护生物大分子结构不被破坏（Thorat *et al.*，2012）。多元糖醇是除海藻糖外昆虫体内重要的小分子抗寒物质（陈豪等，2010；欧阳芳和戈峰，2014）。多元糖醇能够自由跨膜，容易溶解于水，在代谢过程中对酶活性几乎无影响，并且对血包无毒害作用，这些是其适合作抗冻保护剂的重要原因，在昆虫抗冻保护中起着重

要的作用（朱芬等，2008；丁惠梅等，2011；巩涛等，2016）。昆虫过冷却状态的维持受到小分子抗寒物质的促使，糖和多元醇还可通过一定特定的非依数性的机制使蛋白质和膜的稳定性增加从而保护生物系统正常运作（张瑞和马纪，2013）。海藻糖酶（TRE）是调控以糖为能量来源的关键酶（于彩虹等，2013），海藻糖酶作为海藻糖去向的唯一途径，在调控代谢中有重要的作用，有效调控昆虫响应多种逆境胁迫（Wood *et al.*，2001；Chen *et al.*，2003；Avonce *et al.*，2006；Kikawada *et al.*，2007；Jaime *et al.*，2010；Wharton，2011；唐斌等，2012；Shi *et al.*，2016）。3-磷酸甘油脱氢酶（GPD）和 3-磷酸甘油醛脱氢酶（GAPDH）分别是衡量有氧代谢和糖酵解代谢水平的关键酶（Gunn and Gatehouse，1988；郭娜等，2020）。3 种酶共同作用调控着昆虫糖代谢的相关过程。

有关蝙蝠蛾幼虫抗寒性的研究主要集中在过冷却点、总蛋白、总糖、脂肪、血淋巴物质等相关研究中（杨大荣等，1991；徐海峰等，2015，2016；易杰群等，2015；张青等，2016），然而有关温度变化对蝙蝠蛾幼虫能量代谢中的糖代谢过程的影响尚未见于报道。因此，本文拟以分布在青海省冬虫夏草主产区的玉树蝠蛾幼虫为材料，分析不同温度处理一定时间后玉树蝠蛾幼虫糖代谢变化，以期揭示玉树蝠蛾的抗寒性生理生化机制，为冬虫夏草的人工饲养提供数据支撑。

1　材料与方法

1.1　供试虫源

玉树蝠蛾幼虫饲养于养虫室内，饲养条件设置为：温度（15 ± 1）℃，湿度 65% ± 5%，无光照。选取生长一致的玉树蝠蛾 4 龄幼虫置于温度为（5 ± 1）、（15 ± 1）和（25 ± 1）℃的条件下分别处理 1、2 和 4 h，测定果糖、海藻糖和山梨醇含量以及与糖代谢相关的海藻糖酶（Trehalase，TRE）、3-磷酸甘油脱氢酶（Glycerol 3-phosphatedehydrogenase，GPD）和 3-磷酸甘油醛脱氢酶（Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）活性。以温度为（15 ± 1）℃作为对照。

1.2　测试方法

分别取不同温度条件下处理 1、2 和 4 h 后的玉树蝠蛾 4 龄幼虫 3 头，进行糖类物质和与糖代谢相关的海藻糖酶、3-磷酸甘油脱氢酶和 3-磷酸甘油醛脱氢酶 3 种关键酶活性的测定，每个处理重复 3 次。取处理完成的玉树蝠蛾幼虫使用蒸馏水清洗体表，用解剖针刺入虫体脑部致死，置于 60 ℃烘箱中烘干 24 h 后，粉碎过 60 目筛，冷藏于 - 20 ℃的冰箱中备用。

参照车锡冰等（1996）及朱昱翰等（2016）的方法，采用蒽酮法对虫体的糖原含量进行测定。参照胡磊等（2004）及朱昱翰等（2016）的方法，采用高效气相色谱-质谱联用的方法对果糖、海藻糖和山梨醇进行测定。

参照王洪亮等（2006）的方法进行海藻糖酶活性测定，采用 3，5-二硝基水杨酸比色法，于 550 nm 波长处测吸光值，以每分钟每毫升酶液的 OD 值为酶活性单位[OD/(mL·min)]。使用 3-磷酸甘油脱氢酶专用试剂盒（上海源叶生物科技有限公司）对 3-磷酸甘油脱氢酶进行测定。参照 Zera 等（1999）及朱昱翰等（2016）的方法对 3-磷酸甘油醛脱氢酶的活性进行测定，以每克蛋白每分钟转化 1 μmol NADH 的酶量为酶活性单位[mol /(min·g pro)]。

1.3　数据处理

应用 Excel 2016 进行数据录入，使用 SPSS 19.0 进行单因素及双因素方差分析，并用 LSD 分析数据的差异显著性，差异显著性水平 $P<0.05$。

2　结果与分析

2.1　温度对玉树蝠蛾幼虫体内糖类物质含量的影响

2.1.1　温度对玉树蝠蛾幼虫体内糖原含量的影响　同一温度处理下，随着处理时间的延长，玉树蝠蛾幼虫体内糖原含量发生了明显的变化；不同温度处理下玉树蝠蛾幼虫体内糖原含量在不

同处理时间下的变化趋势也不同(图 1:A)。5 ℃条件下,玉树蝠蛾幼虫体内糖原含量随着处理时间的延长持续降低,且在处理时长达到 4 h 时糖原含量差异显著($P<0.05$);15 ℃条件下,玉树蝠蛾幼虫体内糖原含量随着处理时间的增加持续积累,并在处理 4 h 后糖原含量出现显著性差异($P<0.05$);25 ℃条件下,玉树蝠蛾幼虫体内糖原含量随着处理时间的延长出现先上升后下降的趋势,但 3 种处理时长之间无显著性差异($P>0.05$)(表 1)。处理 1 h 后,5 ℃和 25 ℃条件下玉树蝠蛾幼虫体内糖原含量差异不显著($P>0.05$),但均显著高于对照组(15 ℃)($P<0.05$);处理 2 h 后,25 ℃能够显著提高玉树蝠蛾幼虫体内的糖原含量,而 5 ℃使得玉树蝠蛾幼虫体内糖原含量略微降低,但二者之间差异不显著($P>0.05$);处理 4 h 后,与对照组(15 ℃)相比,5 ℃能够使得玉树蝠蛾幼虫体内糖原含量显著降低($P<0.05$),而 25 ℃轻微上调了玉树蝠蛾幼虫体内的糖原含量,尽管差异不显著($P>0.05$)。

2.1.2 温度对玉树蝠蛾幼虫体内果糖含量的影响 同一度处理下,随着处理时间的延长,玉树蝠蛾幼虫体内果糖的含量发生了明显的变化,不同温度处理下玉树蝠蛾幼虫体内果糖含量在不同处理时间下的变化趋势也不同(图 1:B)。5 ℃条件下,玉树蝠蛾幼虫体内果糖含量随着处理时间的延长逐渐增加,处理时长达到 4 h 后果糖含量显著高于处理 1 h 和 2 h($P<0.05$);15 ℃条件下,尽管玉树蝠蛾幼虫体内果糖含量随着处理时间的增加出现下降的趋势,但是在处理 1、2、4 h 后三者之间无显著差异($P>0.05$);25 ℃条件下,玉树蝠蛾幼虫体内果糖含量随着处理时间

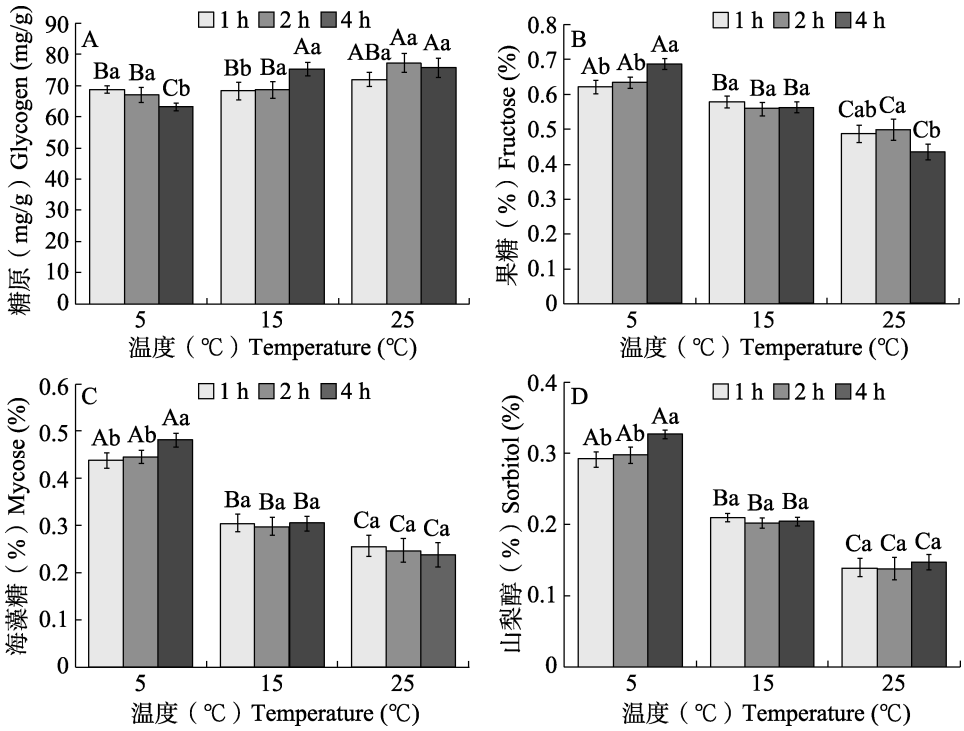

图 1 温度对玉树蝠蛾幼虫体内糖类物质的影响

Fig. 1 The effect of temperature on the carbohydrate content of *Hepialus yushuensis*

A. 糖原;B. 果糖;C. 海藻糖;D. 山梨醇。A. Glycogen; B. Fructose; C. Trehalose; D. Sorbitol.

图中数据为平均值±标准误,柱上标有不同的大写字母表示不同温度处理下玉树蝠蛾幼虫糖类物质在 0.05 水平上差异显著,柱上标有不同的小写字母表示不同时间处理下玉树蝠蛾幼虫糖类物质在 0.05 水平上差异显著。

Data are mean ± SE, and histograms with the different capital letters indicate significant difference ($P < 0.05$) among the carbohydrate at different temperature, while histograms with the different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$) among the carbohydrate at different times.

表 1　温度对玉树蝠蛾幼虫糖类物质的影响的双因素方差分析

Table 1　Two-way ANOVA of the effect of temperature on the carbohydrate of *Hepialus yushuensis*

糖类物质 Carbohydrate	处理 Treatment	*F*	Sig.
糖原 Glycogen	温度 Temperature	6.454	0.008
	时间 Times	0.281	0.759
	温度+时间 Temperature+Times	1.650	0.205
果糖 Fructose	温度 Temperature	35.162	0.000
	时间 Times	0.010	0.990
	温度+时间 Temperature+Times	1.952	0.145
海藻糖 Trehalose	温度 Temperature	60.259	0.000
	时间 Times	0.164	0.850
	温度+时间 Temperature+Times	0.482	0.749
山梨醇 Sorbitol	温度 Temperature	132.408	0.000
	时间 Times	1.081	0.360
	温度+时间 Temperature+Times	0.714	0.593

的延长出现先上升后下降的趋势，但处理 1 h 和 2 h 后二者无显著差异（$P>0.05$）（表 1）。处理 1 h 后，随着温度的升高玉树蝠蛾幼虫体内果糖含量逐渐下降，15 ℃条件下果糖含量显著低于 5 ℃（$P<0.05$），25 ℃条件下果糖含量显著低于 15 ℃（$P<0.05$）；处理 2 h 和 4 h 后，玉树蝠蛾幼虫体内果糖含量也呈下降趋势，并且三者之间差异均显著（$P<0.05$）。

2.1.3　温度对玉树蝠蛾幼虫体内海藻糖含量的影响　同一温度处理下，玉树蝠蛾幼虫体内海藻糖的含量随着处理时间的延长发生了明显的变化，不同温度处理下玉树蝠蛾幼虫体内海藻糖含量在不同处理时间下的变化趋势也不同（图 1：C）。5 ℃条件下，玉树蝠蛾幼虫体内海藻糖含量随着处理时间的延长出现上升趋势，但是三者之间并无显著差异（$P>0.05$）；15 ℃条件下，玉树蝠蛾体内海藻糖含量随着处理时间的延长变化不明显，不同处理时间之间并无显著差异（$P>0.05$）；25 ℃条件下，玉树蝠蛾幼虫体内海藻糖含量随着处理时间的延长出现下降趋势，但 3 种处理时长之间并无显著性差异（$P>0.05$）（表 1）。玉树蝠蛾幼虫分别经 1、2 和 4 h 处理后，体内海藻糖含量随着处理温度的升高均呈降低趋势，且三者之间差异均显著（$P<0.05$）。

2.1.4　温度对玉树蝠蛾幼虫体内山梨醇含量的影响　同一温度处理下，玉树蝠蛾幼虫体内山梨醇的含量随着处理时间的延长，发生了明显的变化，不同温度处理下玉树蝠蛾幼虫体内海藻糖含量在不同时间处理下的变化趋势也不同（图 1：D）。5 ℃条件下，尽管玉树蝠蛾幼虫体内山梨醇的含量随着处理时间的延长呈上升趋势，但是三者之间并无显著差异（$P>0.05$）；15 ℃和 25 ℃条件下，玉树蝠蛾幼虫体内山梨醇的含量随着处理时间的延长变化并不明显，三者之间并无显著差异（$P>0.05$）。玉树蝠蛾幼虫分别经 1、2 和 4 h 处理后，体内山梨醇含量随着处理温度的升高均呈下降趋势，且三者之间差异均显著（$P<0.05$）（表 1）。

2.2　温度对玉树蝠蛾幼虫体内糖代谢关键酶活性的影响

2.2.1　温度对玉树蝠蛾幼虫体内海藻糖酶活性的影响　同一温度处理下，玉树蝠蛾幼虫随着处理时间的延长，体内海藻糖酶活性发生了明显的变化，不同温度处理下玉树蝠蛾幼虫体内海藻糖酶活性在不同时间处理下的变化趋势不同（图 2：A，表 2）。5 ℃条件下，玉树蝠蛾幼虫体内海藻糖酶活性随着处理时间的延长呈上升趋势，但三者之间差异并不显著（$P>0.05$）；15 ℃条件下，玉树蝠蛾幼虫体内海藻糖酶活性随着处理时间的延长变化并不明显，不同处理时间之间差异不

显著（P>0.05）；25 ℃条件下，玉树蝠蛾幼虫体内海藻糖酶活性随着处理时间的延长出现下降趋势，并在处理 2 h 和 4 h 后海藻糖酶活性出现显著性差异（P<0.05）。玉树蝠蛾幼虫分别经 1、2 和 4 h 处理后，体内海藻糖酶活性随着处理温度的升高均呈下降趋势，并且三者之间差异性均显著（P<0.05）。

2.2.2 温度对玉树蝠蛾幼虫体内 3-磷酸甘油脱氢酶活性的影响 同一温度处理下，玉树蝠蛾幼虫体内 3-磷酸甘油脱氢酶活性随着处理时间的延长发生了明显的变化，不同温度处理下玉树蝠蛾幼虫体内 3-磷酸甘油脱氢酶活性在不同时间处理下的变化趋势不同（图 2：B，表 2）。5 ℃条件下，玉树蝠蛾幼虫体内 3-磷酸甘油脱氢酶活性随着处理时间的延长呈上升趋势，但 3 种处理时长之间无显著性差异（P>0.05）；15 ℃条件下，玉树蝠蛾幼虫体内 3-磷酸甘油脱氢酶活性在不同处理时长之间变化不明显，三者之间并无显著性差异（P>0.05）；25 ℃条件下，玉树蝠蛾幼虫体内 3-磷酸甘油脱氢酶活性随着处理时间的延长出现下降趋势，但是三者之间并无显著性差异（P>0.05）。玉树蝠蛾幼虫分别经 1、2 和 4 h 处理后，体内 3-磷酸甘油脱氢酶活性随着处理温度的升高均呈下降趋势，并且三者之间差异性均显著（P<0.05）。

2.2.3 温度对玉树蝠蛾幼虫体内 3-磷酸甘油醛脱氢酶活性的影响 同一温度处理下，玉树蝠蛾幼虫体内 3-磷酸甘油醛脱氢酶活性随着处理时间的延长发生了明显的变化，不同温度处理下玉树蝠蛾幼虫体内 3-磷酸甘油醛脱氢酶活性的变化趋势不同（图 2：C，表 2）。5 ℃条件下，玉树蝠蛾幼虫体内 3-磷酸甘油醛脱氢酶活性随着处理时间的延长呈上升趋势，但三者之间差异不显著（P>0.05）；15 ℃和 25 ℃条件下，玉树蝠蛾幼虫体内 3-磷酸甘油醛脱氢酶活性在处理不同时长之间变化不明显，三者之间差异性均不显著（P>0.05）。玉树蝠蛾幼虫分别经 1、2 和 4 h 处理后，体内 3-磷酸甘油醛脱氢酶活性随着处理温度的升高均呈下降趋势，且三者之间差异性均显著（P<0.05）。

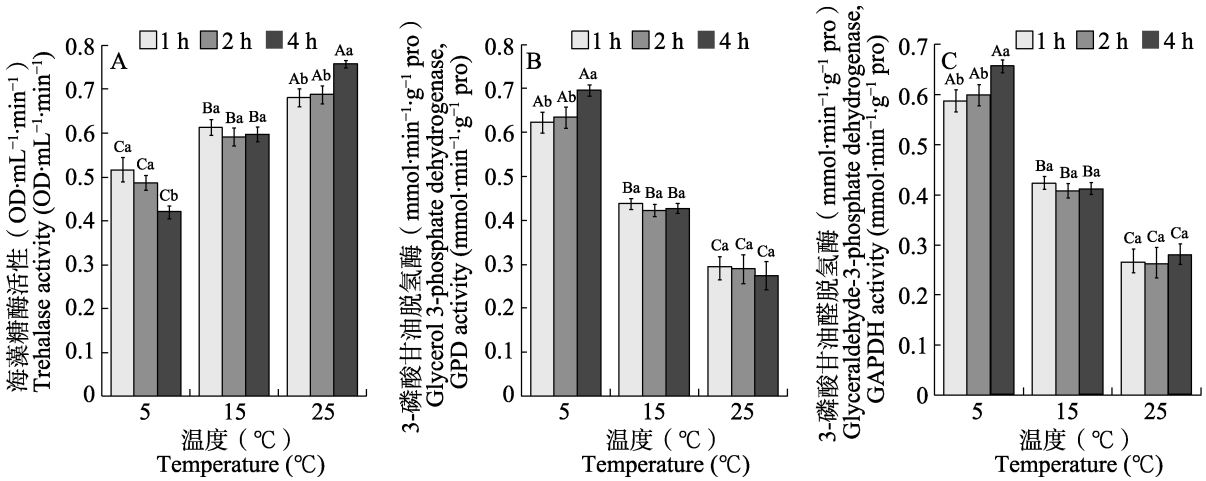

图 2 温度对玉树蝠蛾幼虫海藻糖酶（A）、3-磷酸甘油脱氢酶（B）、3-磷酸甘油醛脱氢酶（C）活性的影响

Fig. 2 The effect of temperature on the activities of trehalase (A), glycerol 3-phosphate dehydrogenase (B) and glyceraldehyde-3-phosphate ehydrogenase (C) of *Hepialus yushuensis*

图中数据为平均值±标准误，柱上不同的大写字母表示不同温度处理下玉树蝠蛾幼虫海藻糖酶、3-磷酸甘油脱氢酶、3-磷酸甘油醛脱氢酶活性在 0.05 水平上差异显著，柱上不同的小写字母表示不同时间处理下玉树蝠蛾幼虫海藻糖酶、3-磷酸甘油脱氢酶、3-磷酸甘油醛脱氢酶活性在 0.05 水平上差异显著。

Data are mean ± SE, and histograms with the different capital letters indicate significant difference (P < 0.05) among the trehalase, glycerol 3-phosphate dehydrogenase and glyceraldehyde-3-phosphate ehydrogenase at different temperature, while histograms with the different lowercase letters indicate significant difference (P < 0.05) among the trehalase, glycerol 3-phosphate dehydrogenase and glyceraldehyde-3-phosphate ehydrogenase at different times.

表 2　温度对玉树蝠海藻糖酶、3-磷酸甘油脱氢酶、3-磷酸甘油醛脱氢酶活性的影响的双因素方差分析

Table 2　Two-way ANOVA of the effect of temperature on the activities of trehalase, glycerol 3-phosphate dehydrogenase and glyceraldehyde-3-phosphate ehydrogenase of *Hepialus yushuensis*

酶 Enzyme	处理 Treatment	*F*	Sig.
海藻糖酶 Trehalase	温度 Temperature	77.739	0.000
	时间 Times	0.339	0.717
	温度 + 时间 Temperature + Times	3.937	0.018
3-磷酸甘油脱氢酶 Glycerol 3-phosphate dehydrogenase	温度 Temperature	133.596	0.000
	时间 Times	0.325	0.727
	温度 + 时间 Temperature + Times	0.979	0.444
3-磷酸甘油醛脱氢酶 Glyceraldehyde-3-phosphate ehydrogenase	温度 Temperature	155.946	0.000
	时间 Times	1.129	0.345
	温度+时间 Temperature+Times	0.770	0.559

3　讨论

糖类物质代谢的变化是昆虫响应温度等逆境的重要过程，海藻糖等小分子糖类物质与昆虫维持过冷却能力密切相关，是构成昆虫体抗寒的主要物质（王娟等，2016；朱江燕等，2018）。本研究表明，与对照相比，低温（5 ℃）条件下玉树蝠蛾幼虫体内糖原含量显著下降（$P<0.05$），而高温（25 ℃）条件下玉树蝠蛾幼虫体内糖原含量出现上升趋势。这可能是由于低温条件下玉树蝠蛾幼虫代谢加快，糖原分解为单糖等其它能源物质。尽管高温（25 ℃）条件下处理 1 h 和 2 h 玉树蝠蛾幼虫体内糖原含量出现上升趋势，但是当处理时长增加到 4 h 时又开始下降，这可能是由于短时间的高温处理并未对蝠蛾幼虫的糖代谢造成明显的影响，然而随着处理时间的延长蝠蛾幼虫代谢加快致使糖原分解。与对照 15 ℃相比，玉树蝠蛾幼虫体内海藻糖、果糖和山梨醇含量在低温（5 ℃）条件下均呈现一定的增加趋势，而在高温（25 ℃）条件下均呈一定的下降趋势，这一变化趋势正好与糖原的变化趋势相反，能够在一定程度上证实玉树蝠蛾幼虫体内糖原的分解与几种单糖和糖醇含量的增加密切相关。前人（杨建全和张玉珍，1998）研究发现，低温处理条件下小地老虎 *Agrotis ypsilon* 幼虫体内糖原开始积累，而当温度进一步降低后糖原开始分解，小分子的糖类和糖醇类物质含量急剧上升，这与本研究结果较为类似。此外在其它昆虫的抗寒研究中也得到了类似的结果（朱芬等，2008；丁惠梅等，2011）。在一定的温度范围内，当处理温度持续降低，昆虫体内的糖原和小分子糖类物质及糖醇类物质之间存在着一定的转化关系，昆虫体液的过冷却点和冰点通过溶质效应得到降低发生在昆虫适应寒冷的过程中（黄国洋，1990）。此外，研究证实昆虫通过调控体内多种抗寒物质的种类及其含量来维持过冷却状态来抵御严寒（黄晓勤和蒋宏华，2005）。桑尺蠖 *Phthonandria atrilineata* 越冬幼虫以小分子糖-氨基酸-糖蛋白系统抵御外界低温（孙绪艮等，2000），二化螟 *Chilo suppressalis* 幼虫则通过在越冬初期到中期积累海藻糖、脂肪、糖原和甘油等越冬（林炜，2008），蠋蝽 *Arma chinensis* 则通过积累葡萄糖、山梨醇、甘油等提高耐寒性（李兴鹏等，2012）。这些小分子既增强膜的抗冻性能，又为机体活动供应能量（Storey and Stoery，2012），然而有关蝠蛾类昆虫的抗寒性物质的组成系统却尚未见于报道。

干旱胁迫条件下，黑腹果蝇体内海藻糖酶活性显著下降（$P<0.05$），海藻糖开始大量积累，作为抗逆保护因子快速清除昆虫体内的由于干旱产生的高浓度活性氧（Rizzo *et al.*，2010）。此外研究发现，褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 体内 TRE-1 被干扰后，海藻糖合成通路上的己糖激酶活性、葡萄糖-6-磷酸异构酶等表达均显著下调（$P<0.05$），体内糖代谢受阻（Zhao *et al.*，2016）。本研究中，低温（5 ℃）条件下海藻糖酶活性显

著低于对照处理（15 ℃）（$P<0.05$），而且随着处理时间的延长，海藻糖酶活性呈现逐渐下降的趋势。这表明低温条件下玉树蝠蛾幼虫通过降低体内海藻糖酶活性，减少海藻糖的分解，从而维持体内的过冷却状态以适应较低的温度。而在高温条件下，海藻糖酶活性显著高于对照处理（$P<0.05$），海藻糖含量显著低于对照（$P<0.05$），随着时间的延长海藻糖含量持续下降，海藻糖被快速分解为相应代谢过程提供能量。

相对于对照处理（15 ℃），5 ℃处理一定时间后玉树蝠蛾幼虫体内 3-磷酸甘油脱氢酶和 3-磷酸甘油醛脱氢酶活性均显著高于对照（$P<0.05$），这表明玉树蝠蛾幼虫通过调控体内有氧代谢和糖酵解代谢水平，加快糖原等糖类物质转化为小分子抗寒物质以提高虫体的抗寒能力。而在 25 ℃处理下一定时间后玉树蝠蛾幼虫体内 3 种酶活性均显著低于对照（$P<0.05$），这表明玉树蝠蛾幼虫体内有氧代谢和糖酵解代谢水平降低，糖原等多糖类物质分解速度降低，部分单糖及小分子抗寒物质合成糖原及其它糖类物质进行储存。3 种酶活性的变化趋势同几种糖类物质的变化趋势基本吻合，意味着玉树蝠蛾体内糖代谢过程受到海藻糖酶、3-磷酸甘油脱氢酶和 3-磷酸甘油醛脱氢酶的调控。研究发现昆虫体内海藻糖酶主要分为可溶性海藻糖酶（TRE1）和膜结合型海藻糖酶（TRE2）（俞玲园等，2019），玉树蝠蛾幼虫体内海藻糖酶的组成及调控虫体响应低温的相互关系有待于进一步深入研究。

本研究在不同温度梯度下（5、15、25 ℃）对玉树蝠蛾幼虫分别进行了 1、2 和 4 h 的处理，研究发现玉树蝠蛾幼虫在 5 ℃和 25 ℃处理 1 h 后，其体内果糖、海藻糖和山梨醇含量及海藻糖酶、3-磷酸甘油脱氢酶和 3-磷酸甘油醛脱氢酶活性与对照处理（15 ℃）之间差异性显著（$P<0.05$）。这表明在长期的适应性进化过程中，玉树蝠蛾幼虫温度变化的影响异常敏感，体内相关温度代谢过程能够在极短的过程中做出响应（张小香等，2021）。关于玉树蝠蛾幼虫短响应温度变化的时间阈值及调控机制有待于进一步深入研究。这将为明确玉树蝠蛾幼虫的抗寒性及探讨全球气候变化下冬虫夏草寄主蝠蛾及冬虫夏草潜在分布区域的变化提供支撑。

参考文献 (References)

Avonce N, Mendoza-Vargas A, Morett E, Iturriaga G, 2006. Insights on the evolution of trehalose biosynthesis. *BMC Evolotion Biology*, 6(1): 109.

Benoit JB, Lopez-Martinez G, Elnitsky MA, Lee RE Jr, Denlinger DL, 2009. Dehydration- induced cross tolerance of *Belgica antarctica* larvae to cold and heat is facilitated by trehalose accumulation. *Comparative Biochemistry & Physiology Part A*, 152(4): 518–523.

Che XB, Xia NB, Song CY, Tu QH, 1996. Studies on energy substances of migratory flight of adult pine caterpillar. *Journal of Beijing Forestry University*, 18(4): 29–34. [车锡冰, 夏乃斌, 宋长义, 屠泉洪, 1996. 油松毛虫成虫迁飞能源物质的研究. 北京林业大学学报, 18(4): 29–34.]

Chen H, Liang GM, Zou LY, Guo F, Wu KM, Guo YY, 2010. Research progresses in the cold hardiness of insects. *Plant Protection*, 36(2): 18–24. [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.]

Chen QF, Behar KL, Tian X, Chenhao F, Haddad GG, 2003. Expression of *Drosophila* trehalose-phosphate synthase in HEK-293 cells increases hypoxia tolerance. *Journal of Biological Chemistry*, 278(49): 49113–49118.

Chinese Pharmacopoeia Commission, 2020. Pharmacopoeia of People's Republic of China: One Edition. Beijing: China Medical Science Press. 119. [国家药典委员会, 2020. 中国药典(一部). 北京: 中国医药科技出版社. 119.]

Ding HM, Ma G, Wu SA, Zhao F, Ma CS, 2011. A literature review on changes of small molecules of diapause insects during overwintering period. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 48(4): 1060–1070. [丁惠梅, 马罡, 武三安, 赵飞, 马春森, 2011. 滞育昆虫小分子含量变化研究进展. 应用昆虫学报, 48(4): 1060–1070.]

Elbein AD, Pan YT, Pastuszak I, Carroll D, 2003. New insights on trehalose: A multifunctional molecule. *Glycobiology*, 13(4): 17r–27r.

Gong T, Liu DH, Wang JW, Yang WL, Xie FH, 2016. Advances in trehalose biosynthesis pathways and application of molecular biology technique. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 32(14): 62–67. [巩涛, 刘德海, 王继雯, 杨文玲, 解复红, 2016. 海藻糖合成途径及分子生物学研究进展. 中国农学通报, 32(14): 62–67.]

Gunn A, Gatehouse AG, 1988. The development of enzymes involved in flight muscle metabolism in *Spodoptera exempta* and *Mythimna separata*. *Comparative Biochemistry and Physiology. B, Comparative Biochemistry*, 91(2): 315–324.

Guo N, Gao SJ, Wang N, Han HB, Xu LB, Dong RW, Na RMDH,

Na BQY, 2020. Effects of temperature on the activities of respiratory metabolism-related and antioxidant enzymes in adults of *Oedaleus asiaticus* (Orthoptera: Acridoidea). *Acta Entomologica Sinica*, 63(11): 1358–1365. [郭娜, 高书晶, 王宁, 韩海斌, 徐林波, 董瑞文, 娜仁满都呼, 娜布其亚, 2020. 温度对亚洲小车蝗成虫体内呼吸代谢相关酶和抗氧化酶活性的影响. 昆虫学报, 63(11): 1358–1365.]

Hu L, Guo B, Wang L, Lu H, Chen XM, Jiang XN, 2004. Methods of GC-MS and capillary gas chromatography for determining trehalose in plant tissues. *Plant Physiology Communications*, 40(4): 474–478. [胡磊, 郭蓓, 王乐, 陆海, 陈雪梅, 蒋湘宁, 2004. 分析植物组织中海藻糖的气质联用及毛细管气相色谱法. 植物生理学通讯, 40(4): 474–478.]

Huang GY, 1990. Studies on cold tolerance functions of *Agrotis segetum*. *Journal of Zhejiang AF University*, 7(2): 140–146. [黄国洋, 1990. 黄地老虎耐寒机理初探. 浙江农林大学学报, 7(2): 140–146.]

Huang XQ, Jiang HH, 2005. The preliminary research on the diapause and cold-hardiness of rice stem borer, *Chilo suppressalis* (Walker). *Hunan Agricultural Sciences*, (5): 49–51. [黄晓勤, 蒋宏华, 2005. 二化螟滞育及抗寒性的初步研究. 湖南农业科学, (5): 49–51.]

Jagdale GB, Grewal PS, Salminen S, 2005. Both heat-shock and cold-shock influence trehalose metabolism in an entomopathogenic nematode. *Journal of Parasitology*, 91(5): 988–994.

Jaime A, Francisca RG, Antonio PJ, 2010. Cold response in *Saccharomyces cerevisiae*: New functions for old mechanisms. *Fems Microbiology Reviews*, 31(3): 327–341.

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.]

Kikawada T, Saito A, Kanamori Y, Nakahara Y, Iwata K, Tanaka D, Watanabe M, Okuda T, 2007. Trehalose transporter 1, a facilitated and high-capacity trehalose transporter, allows exogenous trehalose uptake into cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(28): 11585–11590.

Lai YP, Li Q, Zhang G, 2019. Effects of altitude and ice nucleating active bacteria on the supercooling point of *Evergestis extimalis* Scopli (Lepidoptera: Pyralidida). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 56(6): 1347–1352. [来有鹏, 李秋荣, 张贵, 2019. 海拔和冰核细菌对茴香薄翅野螟过冷却点的影响. 应用昆虫学报, 56(6): 1347–1352.]

Li S, Wang DM, Li J, Hu HX, Ji R, 2015. Differences in heat tolerance and physio-biochemical mechanisms between adult female and male *Calliptamus italycus* (Orthopera: Acrididae). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 52(4): 960–967. [李爽, 王冬梅, 李娟, 扈鸿霞, 季荣, 2015. 雌雄意大利蝗耐高温差异及其生理生化响应对策. 应用昆虫学报, 52(4): 960–967.]

Li XP, Song LW, Zhang HH, Chen YQ, Zuo TT, Wang J, Sun W, 2012. Responses of *Arma chinensis* cold tolerance to rapid cold hardening and underlying physiological 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 YL, Xu CT, He LJ, 2007. Biology of the *Hepialus yushuensis* larvae, host of *Cordyceps sinensis*. *Chinese Bulletin of Entomology*, 44(2): 285–288. [李玉玲, 徐成体, 何力剑, 2007. 冬虫夏草寄主玉树蝠蛾幼虫的生物学. 昆虫知识, 44(2): 285–288.]

Lin W, 2008. Differences in cold-hardiness of qver-wintering larval populations of the rice stem borer, *Chilo suppressalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae) and their underlying mechanisms. Master dissertation. 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.]

Ouyang F, Ge F, 2014. Methodology of measuring and analyzing insect cold hardiness. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 51(6): 1646–1652. [欧阳芳, 戈峰, 2014. 昆虫抗冻耐寒能力的测定与分析方法. 应用昆虫学报, 51(6): 1646–1652.]

Qiu Y, Cheng YL, Peng C, Wan DG, Shen CH, Yi B, Hou FX, Guo JL, 2015. Study on host insects of *Cordyceps sinensis* in China. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 26(3): 720–722. [邱乙, 程元柳, 彭成, 万德光, 沈才洪, 易彬, 侯飞侠, 国锦琳, 2012. 中国冬虫夏草寄主昆虫研究. 时珍国医国药, 26(3): 720–722.]

Rizzo AM, Negroni M, Altiero T, Montorfano G, Corsetto P, Berselli P, Berra B, Guidetti R, Rebecchi L, 2010. Antioxidant defences in hydrated and desiccated states of the tardigrade *Paramacrobiotus richtersi*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 156(2): 115–121.

Shi ZK, Liu XJ, Xu QY, Qin Z, Wang S, Zhang F, Wang SG, Tang B, 2016. Two novel soluble trehalase genes cloned from *Harmonia axyridis* and regulation of the enzyme in a rapid changing temperature. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 198: 10–18.

Storey KB, Storey JM, 2012. Insect cold hardiness: Metabolic, gene, and protein adaptation. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne de Zoologie*, 90(4): 456–475.

Sun XG, Xu CQ, Zhou CG, Yin SY, Zhen QW, 2000. Performances and reproductive isolation of different populations of *Oligonychus ununguis* (Jacobi) on conifer and broadleaf trees. *Acta Entomologica Sinica*, 43(1): 52–57. [孙绪艮, 徐常青, 周成刚, 尹淑艳, 甄文全, 2000. 针叶小爪螨不同种群在针叶树和阔叶树上的生长发育和繁殖及其生殖隔离. 昆虫学报, 43(1): 52–57.]

Tang B, Wei P, Chen H, Wang SG, Zhang WQ, 2012. Progress in gene features and functions of insect trehalases. *Acta Entomologica Sinica*, 55(11): 1315–1321. [唐斌, 魏苹, 陈洁, 王世贵, 张文庆, 2012. 昆虫海藻糖酶的基因特性及功能研究进展. 昆虫学报, 55(11): 1315–1321.]

Thorat LJ, Gaikwad SM, Nath BB, 2012. Trehalose as an indicator of desiccation stress in *Drosophila melanogaster* larvae: A

potential marker of anhydrobiosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 419(4): 860–860.

Wang HL, Wu JX, Wang BL, 2006. Changes of trehalase and sorbitol dehydrogenase activity in the wheat midge, *Sitodiplosis mosellana* (Gehin) during mature and diapause stage. *Journal of Northwest AF University* (*Natural Science Edition*), 34(8): 139–142. [王洪亮, 仵均祥, 王丙丽, 2006. 麦红吸浆虫滞育期间海藻糖酶和山梨醇脱氢酶活性的变化. 西北农林科技大学学报 (自然科学版), 34(8): 139–142.]

Wang J, Li BL, Wu JX, Xu XL, 2016. Effects of fluctuating temperature on the reproduction and metabolism of primary energy substances in *Mythimna separata* (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Entomologica Sinica*, 59(9): 917–924. [王娟, 李伯辽, 仵均祥, 许向利, 2016. 变温对粘虫生殖及主要能源物质代谢的影响. 昆虫学报, 59(9): 917–924.]

Wang XL, Yao YJ, 2011. Host insect species of *Ophiocordyceps sinensis*: A review. *Zookeys*, 127: 43–59.

Wharton DA, 2011. Cold tolerance of New Zealand alpine insects. *Journal of Insect Physiology*, 57(8): 1090–1095.

Wood JM, Bremer E, Csonka LN, Kraemer R, Poolman B, van der Heide T, Smith LT, 2001. Osmosensing and osmoregulatory compatible solute accumulation by bacteria. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 130(3): 437–460.

Xu HF, Li YL, Liu X, Zhang ZH, 2016. Study on cold hardiness of *Hepialus yushuensis* larvae. *Chinese Qighai Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 46(1): 7–9. [徐海峰, 李玉玲, 刘欣, 张宗豪, 2016. 玉树蝠蛾幼虫抗寒能力的研究. 青海畜牧兽医杂志, 46(1): 7–9.]

Xu HF, Zhang ZH, Li YL, Liu X, 2015. Determination of supercooling point of *Hepialus yushuensis* larvae. *Chinese Qighai Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 45(6): 22–23. [徐海峰, 张宗豪, 李玉玲, 刘欣, 2015. 玉树蝠蛾幼虫的过冷却点测定. 青海畜牧兽医杂志, 45(6): 22–23.]

Yang DR, Yang YX, Shen FR, Lu Z, 1991. The cold tolerance of the larvae of ghost moth *Hepialus baimaensis* Liang. *Acta Entomologica Sinica*, 34(1): 32–37. [杨大荣, 杨跃雄, 沈发荣, 鲁自, 1991. 白马蝠蛾幼虫的抗寒性研究. 昆虫学报, 34(1): 32–37.]

Yang JQ, Zhang YZ, 1998. Development duration，development initial temperature and effective accumulative temperature of *Agrotis ypsilon* (Rottemberg). *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University* (*Natural Science Edition*), 27(4): 510–512. [杨建全, 张玉珍, 1998. 小地老虎的发育历期, 发育起点温度与有效积温. 福建农业大学学报, 27(4): 510–512.]

Yi JQ, Zhang GR, Guo CL, Min Q, Zou ZW, 2015. Relationship between hemolymph composition and cold tolerance in *Thitarodes pui* larvae. *Acta Ecologica Sinica*, 35(18): 6208–6215. [易杰群, 张古忍, 郭晨林，闵强，邹志文, 2015. 蒲氏钩蝠蛾幼虫血淋巴物质与其耐寒性. 生态学报, 35(18): 6208–6215.]

Yu CH, Huang Y, Lin RH, Jiang H, Wang WT, Pei L, 2013. Comparative tests of soluble trehalase activitie. *Plant Protection*, 39(4): 5–9. [于彩虹, 黄莹, 林荣华, 姜辉, 王文涛, 裴力, 2013. 五种昆虫可溶性海藻糖酶活性比较. 植物保护, 39(4): 5–9.]

Yu LY, Wei Y, Chen XM, Ding YJ, Hu YW, Tang B, Wang SG, 2019. Effects of heavy metal cadmium on the trehalose metabolism in *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) larvae. *Acta Entomologica Sinica*, 62(11): 1250–1259. [俞玲园, 魏莹, 陈旭敏, 丁艳娟, 胡耀文, 唐斌, 王世贵, 2019. 重金属镉胁迫对白纹伊蚊幼虫海藻糖代谢的影响. 昆虫学报, 62(11): 1250–1259.]

Zera AJ, Sall J, Otto K, 1999. Biochemical aspects of flight and flightlessness in *Gryllus*: Flight fuels, enzyme activities and electrophoretic profiles of flight muscles from flight-capable and flightless morphs. *Journal of Insect Physiology*, 45(3): 275–285.

Zhang Q, Tu YQ, Liu H, Zhang DL, Zhang H, Zhang WJ, Qin YS, 2016. Effects of temperature stress on antioxidant enzymes in *Hepialus xiaojinensis* (Lepidoptera: Hepialidae) larva. *Journal of Environmental Entomology*, 38(1): 49–55. [张青, 涂永勤, 刘怀, 张德利, 张航, 张文娟, 覃语思, 2016. 温度胁迫对小金蝠蛾幼虫抗氧化酶活性的影响. 环境昆虫学报, 38(1): 49–55.]

Zhang R, Ma J, 2013. Insect supercooling point and its influence factors. *Tianjin Agricultural Sciences*, 19(11): 76–84. [张瑞, 马纪, 2013. 昆虫过冷却点的影响因素概述. 天津农业科学, 19(11): 76–84.]

Zhang XX, Junaid Iqbal, Du YZ, 2021. Advances in research on the rapid cold hardening of insects. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 58(2): 256–264. [张小香, JUNAID Iqbal, 杜予州, 2021. 昆虫快速冷耐受的研究进展. 应用昆虫学报, 58(2): 256–264.]

Zhao LN, Yang MM, Shen QD, Liu XJ, Shi ZK, Wang SG, Tang B, 2016. Functional characterization of three trehalase genes regulating the chitin metabolism pathway in rice brown planthopper using RNA interference. *Scientific Reports*, 6: 27841.

Zhu F, Li H, Wang Y, Wang XP, Zhou XM, Huang W, Lei CL, 2008. Change of trehalose, glycogen and polyol contents of the diapausing larvae of *Mylabris phalerata* (Pallas) (Coleoptera: Meloidae) at different diapausing stages. *Acta Entomologica Sinica*, 51(1): 9–13. [朱芬, 李红, 王永, 王小平, 周兴苗, 黄文, 雷朝亮, 2008. 大斑芫菁滞育幼虫在滞育不同阶段体内糖类和醇类含量的变化. 昆虫学报, 51(1): 9–13.]

Zhu JY, Huang JH, Shi M, Chen XX, 2018. Advances in research on the trehalose metabolism in insects. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 55(2): 145–152. [朱江燕, 黄健华, 时敏, 陈学新, 2018. 昆虫海藻糖代谢及其影响因素的研究进展. 应用昆虫学报, 55(2): 145–152.]

Zhu YH, Li Q, Yang G, Bai MTZ, Kuang JK, Jiang CX, Wang HJ, Yang QF, 2016. Influence of low temperature and photoperiod on the substances in *Locusta migratoria tibetensis*. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 27(2): 629–633. [朱昱翰, 李庆, 杨刚, 白马吞珠, 匡健康, 蒋春先, 王海建, 杨群芳, 2016. 低温和光周期对西藏飞蝗体内物质的影响. 应用生态学报, 27(2): 629–633.]