

低温胁迫对沙葱萤叶甲幼虫过冷却能力及生长发育的影响*

李 浩^{1**} 周晓榕¹ 庞保平^{1***} 张卓然² 常 静¹ 单艳敏²

(1. 内蒙古农业大学草原昆虫研究中心, 呼和浩特 010019; 2. 内蒙古草原工作站, 呼和浩特 010020)

摘 要 【目的】低温是影响昆虫生长发育和存活的关键因子之一。通过研究低温胁迫对沙葱萤叶甲 *Galeruca daurica* Joannis 幼虫过冷却能力及生长发育的影响, 为进一步预测其种群动态及分布范围奠定必要的基础。【方法】在室内, 沙葱萤叶甲 1 龄幼虫经不同的低温处理后, 测定其过冷却点及后期幼虫和蛹的发育历期及存活率。【结果】快速冷驯化对 1 龄幼虫的过冷却点存在极显著的影响, 其中在 -10℃ 下处理 2 h 后的过冷却点显著低于对照, 而在 -6℃ 下处理 2 h 后与对照无显著性差异。经低温处理存活的 1 龄幼虫在 25℃ 下继续饲养至蜕皮为 2 龄幼虫, 测得的过冷却点与对照均无显著差异。1 龄幼虫经历不同低温处理后, 1 龄和 2 龄幼虫发育历期和幼虫总发育历期与对照相比均显著延长; 蛹期与对照相比差异不显著; 短时低温处理 (2 h) 对 3 龄幼虫发育历期无显著影响, 而较低温度 (-5℃) 的长时间 (2~6 d) 处理却显著缩短了 3 龄幼虫发育历期, 但 0℃ 处理对 3 龄幼虫发育历期影响不显著。低温处理对后期 1 龄和 2 龄幼虫死亡率存在显著的影响, 但对 3 龄幼虫和蛹的死亡率影响不显著。通常在低温处理时间相同的情况下, 胁迫温度越低, 对后期幼虫发育历期和死亡率影响越大; 在处理温度相同的情况下, 胁迫时间越长, 对后期幼虫发育历期和死亡率影响越大。【结论】低温胁迫可以显著地提高沙葱萤叶甲幼虫的过冷却能力, 但却延长了后期幼虫的发育历期及降低了其存活率, 胁迫温度越低、时间越长, 影响程度越大。

关键词 沙葱萤叶甲, 低温胁迫, 发育历期, 存活

Effects of low temperature stress on the supercooling capacity and development of *Galeruca daurica* Joannis larvae (Coleoptera: Chrysomelidae)

LI Hao^{1**} ZHOU Xiao-Rong¹ PANG Bao-Ping^{1***} ZHANG Zhuo-Ran²
CHANG Jing¹ SHAN Yan-Ming²

(1. Research Centre for Grassland Entomology, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China; 2. Inner Mongolia Grassland Station, Hohhot 010020, China)

Abstract [Objectives] Low temperature is one of key factors affecting the growth, development and survivorship of insects. We investigated the effects of low temperature stress on the supercooling capacity and development of *Galeruca daurica* Joannis larvae in order to build an indispensable foundation for further forecasting its population dynamics and distribution. [Methods] We measured the supercooling points (SCPs), developmental duration and survival rates of larvae and pupae after first instar larvae had been subjected to different low temperature treatments in the laboratory. [Results] Rapid cold hardening significantly influenced the SCPs of first instar larvae. The SCP of larvae exposed to -10℃ for 2 h was significantly lower than that of control larvae, whereas the SCP of larvae exposed to -6℃ for 2 h was not. The SCPs of second instar larvae that had been subjected to low temperature treatment as first instars were not significantly different from

* 资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金 (31360441); 国家公益性行业 (农业) 科研专项 (201003079)

**第一作者 First author, E-mail: 553135343@qq.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: pangbp@imau.edu.cn

收稿日期 Received: 2014-07-02, 接受日期 Accepted: 2014-10-23

those of the control. The developmental durations of the first and second instar larvae, and the overall larval developmental period, were significantly longer than those of the controls if first instar larvae had been subjected to low temperature. Cold treatment of the first instar, however, had no significant effect on the duration of the pupal stage. Short (2 h) low temperature (-5°C) treatments did not significantly affect the developmental duration of third instar larvae but longer (2-6 d) low temperature treatments did. Longer exposure to 0°C did not affect developmental duration. Low temperature treatment significantly affected the death rates of first and second instars, but not of third instars and pupae. Generally, the lower the temperature and the longer the period of exposure, the longer the developmental duration and the higher the death rate of successive instars and pupae. **[Conclusion]** Low temperature stress can significantly enhance the supercooling capacity of *G. daurica* larvae but also prolongs development and reduces the survival rates of successive instars. The longer the period of exposure and the lower the temperature, the stronger the effect.

Key words *Galeruca daurica*, low temperature stress, developmental duration, survivorship

昆虫是变温动物,调节体温的能力有限,低温是影响昆虫生长发育和存活的关键因子,严格制约着昆虫种群的延续。因此,昆虫抗寒性对其种群发展和扩散具有重要的意义(Bale and Hayward, 2010)。抗寒性是有机体暴露于长期或短期低温下的存活能力,与有机体特定的发育阶段、环境的季节性变化、遗传因素及营养状况和暴露低温的时间长短有关(Lee, 1989)。低温驯化或冷驯化是指将昆虫暴露于亚致死低温一段时间可有效地提高其在致死低温下存活率的过程和现象。根据低温暴露时间和强度的不同,冷驯化可分为快速冷驯化(Rapid cold hardening)和长时冷驯化(Cold acclimation),前者温度较低,时间较短(几小时至几十分钟),后者温度温和,时间较长(几天至几个月)(Lee, 1989)。冷驯化作为一种提高昆虫抗寒能力的有效途径,在昆虫对低温适应中具有重要作用,已成为当前昆虫抗寒性研究的热点(Hoffmann *et al.*, 2003)。然而,冷驯化在提高昆虫致死低温下存活率的同时,可能对昆虫的适合度产生影响,如延缓发育速率(Powell and Bale, 2004; Košťál *et al.*, 2007; Le Bourg, 2007),降低食物搜索效率(Kristensen *et al.*, 2008)、产卵量(Coulsen and Bale, 1992; Bubli *et al.*, 2002)和孵化率(Coulsen and Bale, 1992)以及改变后代性比(Marshall and Sinclair, 2010; MacAlpine *et al.*, 2011)。因此,深入研究冷驯化对昆虫适合度的影响,有助于全面合理地评价冷驯化的作用(岳雷等, 2013)。

沙葱萤叶甲 *Galeruca daurica* Joannis 属鞘翅目,叶甲科,萤叶甲亚科,主要以幼虫为害沙葱、多根葱、野韭等百合科葱属牧草的叶部,严重时啃食茎部,将牧草地上部分啃食一光。据历史记载,该虫在国外主要分布于蒙古国、俄罗斯(西伯利亚)、朝鲜和韩国,在我国内蒙古、新疆和甘肃也有记录(杨星科等, 2010)。该虫从2009年开始在内蒙古草原上突然大面积爆发成灾,呈现逐年加重的趋势,发生范围从2009年锡林郭勒盟的4个旗县,已迅速扩大到2014年锡林郭勒盟、呼伦贝尔市、乌兰察布市、巴彦淖尔市、阿拉善盟以及鄂尔多斯市6个盟市的13个旗县。在内蒙古草原,该虫一年发生1代,以卵在牛粪、石块等下越冬,翌年最早于4月上中旬开始孵化,而此时发生地的极端最低温度可达 -10°C 。因此,沙葱萤叶甲幼虫抗寒性强弱可能是影响早春幼虫存活的主要因素之一。我们前期的研究表明,沙葱萤叶甲1龄、2龄及3龄幼虫的过冷却点分别为 -14.6°C 、 -13.3°C 和 -12.6°C ,低温胁迫2 h后的半致死温度分别为 -10.1°C 、 -9.1°C 和 -8.5°C (李浩等, 2014)。在此基础上,我们进一步研究了低温胁迫对沙葱萤叶甲幼虫过冷却能力及生长发育的影响,以期进一步揭示其成灾机制及预测其扩散分布范围及种群动态。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

2012年5—6月从内蒙古锡林浩特市农业部

锡林郭勒草原有害生物科学观测实验站采集沙葱萤叶甲幼虫和成虫,带回呼和浩特市内蒙古农业大学昆虫实验室内进行饲养,整个饲养过程均以野韭为食。成虫于9月初开始陆续产卵,将同一天产出的卵放入同一培养皿中,做好标记,置于室外自然变温条件下。2013年2月末,卵陆续孵化为幼虫作为供试虫源。

1.2 实验方法

将孵化 2 d 的 1 龄幼虫分别放入 -6 和 -10 低温培养箱 (LRH-100CB 型,上海一恒仪器公司)中处理 2 h,之后在 25 下恢复 24 h,测定存活的 1 龄幼虫的过冷却点。饲养剩余存活的 1 龄幼虫,蜕皮至 2 龄幼虫 2 d 后测定其过冷却点。具体测定方法见李浩等 (2014)。

低温胁迫实验设置以下 4 组处理:(1) 对照组 (CK): 饲养在 25 下;(2) 处理 1 组: -6 和 -12 处理 2 h;(3) 处理 2 组: 在 -5 下处理 2 d 和 6 d;(4) 处理 3 组: 在 0 下处理 2 d 和 6 d。幼虫为孵化 2~3 d 的 1 龄幼虫,重复 4~6 次,每个重复 20~30 头。低温暴露结束后转移到 25 条件下,24 h 后观察存活情况,计算存活率。选取存活下来的 1 龄幼虫在 25 条件下继续饲养,观察并记录其蜕皮、化蛹、羽化时间及存活情况。

1.3 统计分析

利用统计软件 DPS9.5 对所得数据进行统计分析。不同低温处理对沙葱萤叶甲幼虫过冷却点、发育历期和存活率的影响采用 ANOVA 法及 LSD 法进行比较。

2 结果与分析

2.1 短时低温胁迫对沙葱萤叶甲幼虫过冷却点的影响

由图 1 可知,短时低温胁迫对 1 龄幼虫的过冷却点存在极显著的影响 ($F_{2,150}=8.22$, $P=0.0004$), 其中在 -10 下处理 2 h 后的过冷却点显著低于对照,而在 -6 下处理 2 h 后与对照无显著性差异。经低温胁迫存活的 1 龄幼

虫在 25 下继续饲养至蜕皮为 2 龄幼虫,测得的过冷却点与对照均无显著差异 ($F_{2,106}=1.27$, $P=0.2859>0.05$)。说明低温胁迫对沙葱萤叶甲幼虫过冷却能力的影响与低温强度有关,温度越低,影响越大,同时对过冷却能力的提高具有一定的时效性。

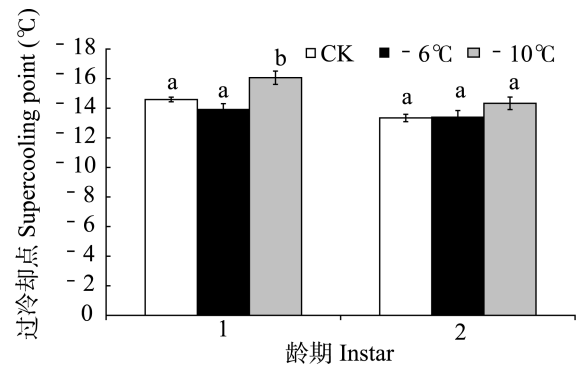


图 1 低温胁迫对沙葱萤叶甲 1 龄和 2 龄幼虫过冷却点的影响

Fig. 1 Effects of low temperature stress to 1st instar larvae on supercooling points of 1st and 2nd instar larvae of *Galeruca daurica*

2.2 低温胁迫对沙葱萤叶甲幼虫发育历期的影响

从表 1 可知,沙葱萤叶甲 1 龄幼虫经历不同低温处理后,1 龄和 2 龄幼虫发育历期和幼虫总发育历期与对照相比均显著延长 (1 龄: $F_{(6,291)}=103.97$, $P<0.0001$; 2 龄: $F_{(6,245)}=3.25$, $P=0.0047<0.01$; 幼虫总历期: $F_{(6,189)}=30.42$, $P<0.0001$); 蛹历期与对照相比差异不显著 ($F_{(6,182)}=0.60$, $P=0.7323>0.05$); 低温胁迫对 3 龄幼虫发育历期有显著影响 ($F_{(6,190)}=4.88$, $P=0.0001$), 短时低温胁迫 (2 h) 对 3 龄幼虫发育历期无显著影响,而较长时间 (2~6 d) 和较低温度 (-5) 处理却显著缩短了 3 龄幼虫发育历期,但 0 处理对 3 龄幼虫发育历期影响不显著。从表 1 还可以看出,在低温胁迫时间相同的情况下,胁迫温度越低,影响越大;在低温胁迫温度相同的情况下,时间越长,影响越大。例如,在低温处理 2 d 或 6 d 的情况下, -5 处理的幼虫总历期显著长于 0 处理;在 -5 或 0

处理的情况下,处理 6 d 的幼虫总历期显著长于 2 d 处理。

2.3 低温胁迫对沙葱萤叶甲幼虫死亡率的影响

1 龄幼虫经低温胁迫后存活幼虫的后期死亡率见表 2。低温胁迫对后期 1 龄和 2 龄幼虫死亡率存在显著的影响(1 龄: $F_{(6,14)}=3.91$, $P=0.0167<0.05$; 2 龄: $F_{(6,14)}=3.97$, $P=0.0173<0.05$),但对 3 龄幼虫和蛹的死亡率影响不显著(3 龄: $F_{(6,14)}=0.94$, $P=0.4949>0.05$;蛹: $F_{(6,14)}=0.69$, $P=0.6641>0.05$)。从表 2 还可以看出,通常低温胁迫时间相同的情况下,胁迫温度越低,对后续 1 龄幼虫死亡率影响越大;低温胁迫温度相同,时间越长,后续 1 龄幼虫死亡率影响越大。

例如,在低温处理 2 d 的情况下,5 处理的后续幼虫死亡率显著高于 0 处理;在 0 处理的情况下,处理 6 d 的后续 1 龄和 2 龄幼虫死亡率显著高于 2 d 处理。

3 讨论

多数研究表明,一定范围内的低温暴露可以提高昆虫的抗寒性(McDonald *et al.*, 1997;Kelty and Lee, 2001;Teets *et al.*, 2008),但其效果常因昆虫种群、发育阶段、滞育状态、冷驯化方式和途径等不同而有显著差异(岳雷等, 2013)。本研究表明,沙葱萤叶甲 1 龄幼虫在 -6℃ 下处理 2 h 后,其过冷却点与对照差异不显著,而在

表 1 沙葱萤叶甲幼虫经低温胁迫后发育历期的比较 (d)
Table 1 Comparison of developmental durations of *Galeruca daurica* larvae suffered from low temperature stress (d)

低温处理 Cold treatment		1 龄幼虫 1st larva	2 龄幼虫 2nd larva	3 龄幼虫 3rd larva	1~3 龄幼虫 1st-3rd larva	蛹 Pupa
对照组 Control	25	5.78 ± 0.30e	6.34 ± 0.20c	14.21 ± 0.40ab	26.93±0.47d	7.03 ± 0.12a
处理 1 组 Treatment I	- 6 /2 h	6.79 ± 0.24d	7.62 ± 0.18ab	14.79 ± 0.43a	28.68±0.45c	7.06 ± 0.04a
	- 12 /2 h	8.24 ± 0.34c	7.88 ± 0.61a	15.00 ± 0.48a	29.67±0.95c	6.93 ± 0.07a
处理 2 组 Treatment II	- 5 /2 d	8.94 ± 0.35c	7.62 ± 0.32ab	12.91 ± 0.46c	29.86±0.81c	6.95 ± 0.11a
	- 5 /6 d	14.36 ± 0.49a	7.67 ± 0.44a	12.83 ± 0.44c	35.50±0.66a	6.89 ± 0.16a
处理 3 组 Treatment III	0 /2 d	7.25 ± 0.16d	6.77 ± 0.30bc	13.27 ± 0.23bc	26.89±0.42d	7.00 ± 0.03a
	0 /6 d	13.23 ± 0.31b	7.59 ± 0.29ab	13.22 ± 0.29bc	33.26±0.49b	6.92 ± 0.06a

表中数据为平均值 ± 标准误,同列数据后标有不同字母表示差异显著 ($P<0.05$, One-way ANOVA, LSD 多重比较),下表同。
Data are mean±SE, and followed by different letters in the same column indicate significant difference ($P<0.05$, One-way ANOVA, LSD multiple range test). The same below.

表 2 经低温胁迫后沙葱萤叶甲幼虫后期死亡率的比较 (%)
Table 2 Comparison of successive mortality of *Galeruca daurica* larvae suffered from low temperature stress

低温处理 Cold treatment		1 龄幼虫 1st larva	2 龄幼虫 2nd larva	3 龄幼虫 3rd larva	蛹 Pupa
对照组 Control	25	3.73 ± 5.66b	17.61 ± 1.74bc	0.00 ± 0.00a	0.00 ± 0.00a
处理 1 组 Treatment I	- 6 /2 h	9.62 ± 4.62b	23.77 ± 1.89ab	3.49 ± 5.39a	0.88 ± 5.37a
	- 12 /2 h	28.06 ± 3.04a	36.64 ± 2.48a	0.00 ± 0.00a	2.37 ± 8.85a
处理 2 组 Treatment II	- 5 /2 d	19.38 ± 5.94a	26.58 ± 5.42ab	0.95 ± 5.59a	0.00 ± 0.00a
	- 5 /6 d	27.30 ± 3.91a	29.98 ± 3.39ab	0.00 ± 0.00a	0.00 ± 0.00a
处理 3 组 Treatment III	0 /2 d	2.61 ± 4.68b	10.68 ± 2.10c	0.67 ± 4.68a	0.00 ± 0.00a
	0 /6 d	20.24 ± 4.60a	26.30 ± 2.18ab	1.44 ± 6.90a	1.44 ± 6.90a

-10℃ 下处理 2 h, 其过冷却点显著降低。说明 -6℃ 下的快速冷驯化并不能提高其过冷却能力, 而 -10℃ 的快速冷驯化显著提高了其过冷却能力。其他研究者也获得了类似的结果, 如冯从经等 (2007) 研究表明, 0℃ 低温诱导比 5℃ 低温诱导更能提高亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* 幼虫的抗寒性。另外, 经低温处理过的沙葱萤叶甲 1 龄幼虫发育成 2 龄的过冷却点与对照相比无显著差异, 说明冷驯化效果具有一定的时效性, 增强的过冷却能力或抗寒性在正常的饲养温度下会很快减弱甚至消失。这与其他研究者的结果相同 (Coulson and Bale, 1990, 1991; Fields *et al.*, 1998; Wang and Kang, 2003)。

冷驯化可以提高昆虫的抗寒抗力, 然而可能对昆虫的生存、繁殖以及后代的适合度产生一定不利的影响 (Rako and Hoffmann, 2006)。本研究表明, 沙葱萤叶甲 1 龄幼虫经历低温胁迫后, 1 龄和 2 龄幼虫的发育历期显著延长, 导致整个幼虫期显著延长, 且处理的温度越低、时间越长, 影响越大。对后期 3 龄幼虫发育历期的影响, 随着处理方式的不同, 影响不同。快速的低温胁迫 (-6~-12℃/2 h) 使 3 龄幼虫的发育历期延长, 但未达到显著水平; 而较长时间的低温胁迫 (-5~0℃/2~6 d) 导致 3 龄幼虫的发育历期缩短。赵静等 (2012) 也获得了类似的结果: 异色瓢虫 *Harmonia axyridis* 成虫冷驯化后, 其后代卵的发育历期延长, 而幼虫和蛹的发育历期缩短。但也有研究表明冷驯化对后代发育历期影响不大, 如 Rako 和 Hoffmann (2006) 发现低温处理对黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 的后代发育历期没有明显影响。

大多数昆虫种类都属于不耐结冰种类, 其死亡原因是冷伤害 (Chill injury) 造成, 并非结冰致死 (景晓红和康乐, 2004)。目前普遍认为冷伤害是引起越冬昆虫死亡的主要原因 (Hodkova and Hodek, 2004; Košťál *et al.*, 2004; Renault *et al.*, 2004)。冷伤害的本质很复杂, 温度直接影响各种生理学过程和生物学结构, 通过改变生理特性而影响其耐寒性 (Košťál *et al.*, 2007)。

我们前期的研究表明, 沙葱萤叶甲幼虫为不耐寒类型, 其致死温度远高于其过冷却点 (李浩等, 2014)。在本实验中, 其 1 龄幼虫经不同低温处理后, 存活的幼虫继续在 25℃ 下饲养, 与不经过低温处理的对照相比, 后期 1 龄和 2 龄幼虫死亡率均有增加。其原因可能是低温对昆虫造成的冷伤害并不是随着低温的消失而立即恢复的, 冷伤害的恢复需要一定的时间。当经低温胁迫的 1 龄幼虫发育至 3 龄及蛹时, 其死亡率与未经低温胁迫的对照相比无显著差异, 说明低温胁迫造成的伤害是可逆的 (Lavy and Verhoef, 1998)。

综上所述, 低温胁迫对昆虫的影响是非常复杂的。本文研究表明低温胁迫可以提高沙葱萤叶甲幼虫的过冷却能力, 但是否提高了其在致死低温下的存活率即抗寒性, 还有待于进一步研究。另一方面, 沙葱萤叶甲幼虫经历了早春的低温以后, 气温会逐渐升高。因此, 低温胁迫 (早春低温) 对其后续生长发育、存活和繁殖影响的研究, 对揭示沙葱萤叶甲成灾机制及预测其种群动态更为重要。本文研究表明, 低温胁迫延缓了后期幼虫的发育速率及降低了存活率, 但是否影响了成虫的繁殖能力及其子代的生长发育也有待于进一步研究。因为低温胁迫效应可在昆虫世代间传递 (Rako and Hoffmann, 2006; 赵静等, 2012)。

参考文献 (References)

- Bale JS, Hayward SAL, 2010. Insect overwintering in a changing climate. *J. Exp. Biol.*, 213(6): 980-994.
- Bubli OA, Riihimaa A, Norry FM, Loeschke V, 2002. Variation in resistance and acclimation to low-temperature stress among three geographical strains of *Drosophila melanogaster*. *J. Therm. Biol.*, 27(5): 237-344.
- Coulson SJ, Bale JS, 1990. Characterisation and limitations of the rapid cold-hardening response in the housefly *Musca domestica* (Diptera: muscidae). *J. Insect Physiol.*, 36(3): 207-211.
- Coulson SJ, Bale JS, 1991. Anoxia induces rapid cold-hardening response in the housefly *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *J. Insect Physiol.*, 37(7): 497-501.
- Coulson SC, Bale JS, 1992. Effect of rapid cold hardening on reproduction and survival of offspring in the housefly *Musca domestica*. *J. Insect Physiol.*, 38(6): 421-424.
- Feng CJ, Lu WJ, Dong QA, Chen J, Fu WJ, 2007. Effect of low

- temperature treatment on larvae of the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis* (Guenee) (Lepidoptera: Pyralidae). *Acta Entom. Sin.*, 50(1): 1–6. [冯从经, 吕文静, 董秋安, 陈俊, 符文俊, 2007. 低温处理对亚洲玉米螟幼虫抗寒性的诱导效应. 昆虫学报, 50(1): 1–6.]
- 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.
- Hodkova M, Hodek I, 2004. Photoperiod, diapause and coldhardiness. *European Journal of Entomology*, 101(3): 445–458
- Hoffmann AA, Sorensen JG, Loeschke V, 2003. Adaptation of *Drosophila* to temperature extremes: bringing together quantitative and molecular approaches. *J. Therm. Biol.*, 28(3): 175–216.
- Jing XH, Kang L, 2004. Overview and evaluation of research methodology for insect cold hardiness. *Entom. Knowl.*, 40(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, 40(1): 7–10.]
- Kelty JD, Lee RE, 2001. Rapid cold-hardening of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) during ecologically based thermoperiodic cycles. *J. Exp. Biol.*, 204(9): 1659–1666.
- Košťál 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 *Pyrhocoris apterus*. *J. Exp. Biol.*, 207(9): 1509–1521.
- Košťál V, Renault D, Mehrabianova, A, Bastl J, 2007. Insect cold tolerance and repair of chill-injury at fluctuating thermal regimes: role of ion homeostasis. *Comp. Biochem. Physiol. Part A*, 147(1): 231–238.
- Kristensen TN, Hoffmann AA, Overgaard J, Sørensen EG, Hallas R, Loeschke V, 2008. Costs and benefits of cold acclimation in field-released *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105(1): 216–221.
- Lavy D, Verhoef HA, 1998. Modelling the time-temperature relationship in cold injury and effect of high-temperature interruptions on survival in a chill-sensitive collembolan. *Func. Ecol.*, 12(5): 816–824.
- Le Bourg É, 2007. Hormetic effects of repeated exposures to cold at young age on longevity, aging and resistance to heat or cold shocks in *Drosophila melanogaster*. *Biogerontology*, 8(4): 431–444.
- Lee RE, 1989. Insect cold hardiness: to freeze or not to freeze. *Bioscience*, 39(5): 308–313.
- Li H, Zhou XR, Pang BP, Chang J, 2014. Supercooling capacity and cold hardiness of *Galeruca daurica* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Acta Entom. Sin.*, 57(2): 212–217. [李浩, 周晓榕, 庞保平, 常静, 2014. 沙葱萤叶甲的过冷却能力与抗寒性. 昆虫学报, 57(2): 212–217.]
- MacAlpine JLP, Marshall KE, Sinclair BJ, 2011. The effects of CO₂ and chronic cold exposure on fecundity of female *Drosophila melanogaster*. *J. Insect Physiol.*, 57(1): 35–37.
- McDonald JR, Bale JS, Walters KFA, 1997. Rapid cold hardening in the western flower thrips *Frankliniella occidentalis*. *J. Insect Physiol.*, 43(8): 759–766.
- Marshall KE, Sinclair BJ, 2010. Repeated stress exposure results in a survival-reproduction trade-off in *Drosophila melanogaster*. *Proc. Royal Soc. B*, 277(1683): 963–969.
- Powell SJ, Bale JS, 2004. Cold shock injury and ecological costs of rapid cold hardening in the grain aphid *Sitobion avenae* (Hemiptera: Aphididae). *J. Insect Physiol.*, 50(4): 277–284.
- Rako L, Hoffmann AA, 2006. Complexity of the cold acclimation response in *Drosophila melanogaster*. *J. Insect Physiol.*, 52(1): 94–104.
- Renault D, Nedvĕd O, Hervant, Vernon P, 2004. The importance of fluctuating thermal regimes for repairing chill injuries in the tropical beetle *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) during exposure to low temperature. *Physiol. Entomol.*, 29(2): 139–145.
- Teets NM, Elnitsky MA, Benoit JB, Joshua B, Lopez-Martinez G, Denlinger DL, Lee RE, 2008. Rapid cold-hardening in larvae of the Antarctic midge *Belgica antarctica*: cellular cold-sensing and a role for calcium. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 63(6): R1938–R1946.
- Wang X, Kang L, 2003. Rapid cold hardening in young hoppers of the migratory locust *Locusta migratoria* L. (Orthoptera: Acrididae). *CryoLetters*, 24(5): 331–340.
- Yang XK, Huang DC, Ge SQ, Bai M, Zhang RZ, 2010. One million mu of meadow in Inner Mongolia suffer from the harm of breaking out of *Galeruca daurica* (Joannis). *Chin. Bull. Entomol.*, 47(4): 812. [杨星科, 黄顶成, 葛斯琴, 白明, 张润志, 2010. 内蒙古百万亩草场遭受沙葱萤叶甲暴发危害. 昆虫知识, 47(4): 812.]
- Yue L, Guo JY, Zhou ZS, Wan FH, 2013. Effects of cold acclimatization on insect cold hardiness and fitness. *Chin. J. Biol. Contr.*, 29(2): 286–293. [岳雷, 郭建英, 周忠实, 万方浩, 2013. 冷驯化对昆虫耐寒性及其适合度的影响. 中国生物防治学报, 29(2): 286–293.]
- Zhao J, Chen ZZ, Zheng FQ, Zhang F, Yin XC, Xu YY, 2012. Effects of cold acclimation on developmental characteristics and fitness of *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) offspring. *Acta Entom. Sin.*, 55(7): 810–815. [赵静, 陈珍珍, 郑方强, 张帆, 印象初, 许永玉, 2012. 冷驯化对异色瓢虫后代生长发育及适合度的影响. 昆虫学报, 55(7): 810–815.]