

瓜实蝇耐低温相关生理指标的测定*

黄娜娜^{1,2**} 代鹏² 符悦冠² 金涛^{2***} 黄求应^{1***}

(1. 华中农业大学湖北省昆虫资源利用与害虫可持续治理重点实验室, 武汉 430070; 2. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所, 农业部热带农林有害生物入侵监测与控制重点开放实验室, 海南省热带农业有害生物监测与控制重点实验室, 儋州 571737)

摘要 【目的】了解瓜实蝇 *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) 对低温的耐受性, 分析其不同发育阶段耐寒力差异。【方法】以不同发育阶段瓜实蝇为实验材料, 分别测定并比较了过冷却点、水分、脂肪、甘油和糖类含量的变化情况。【结果】其不同龄期的过冷却点差异显著, 5 日龄蛹的过冷却点最低, 为 -17.04°C , 1 日龄幼虫的过冷却点最高, 为 -11.82°C , 同一日龄的雌、雄成虫之间的过冷却点无显著差异; 其幼虫期和蛹期虫体的含水量随着龄期的增长而下降, 从 1 日龄幼虫 79.64% 下降到 5 日龄蛹 65.31%, 5 日龄蛹的含水量显著低于其他龄期瓜实蝇, 成虫期各龄期雌成虫含水量均显著高于雄成虫; 5 日龄幼虫脂肪含量最高, 为 32.90%, 1 日龄雄成虫和 14 日龄雄成虫脂肪含量最低, 均为 15%; 幼虫期甘油含量随着龄期的增长而下降, 从 $3.32\text{ }\mu\text{g/mg}$ 下降到 $1.12\text{ }\mu\text{g/mg}$, 而蛹期逐渐上升, 14 日龄雌成虫甘油含量最高, 为 $5.90\text{ }\mu\text{g/mg}$; 1 日龄幼虫总糖、海藻糖和糖原含量均最高, 分别为 7.51、0.94 和 $1.93\text{ }\mu\text{g/mg}$, 显著高于其他龄期瓜实蝇, 蛹期糖类含量逐渐下降, 而成虫期糖类含量随龄期增长而逐渐升高。【结论】本研究结果可为正确评估瓜实蝇的地理适应性和低温检疫处理提供依据。

关键词 瓜实蝇, 耐寒性, 过冷却点, 生理指标

Measurement of physiological indices of cold tolerance in *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett)

HUANG Na-Na^{1,2**} DAI Peng² FU Yue-Guan² JIN Tao^{2***} HUANG Qiu-Ying^{1***}

(1. Huazhong Agricultural University/Hubei Insect Resource Utilization and Sustainable Pest Management Key Laboratory, Wuhan 430070, China; 2. Environment and Plant Protection Institute, Key Laboratory of Monitoring and Control of Tropical Agricultural and Forest Invasive Alien Pests, Ministry of Agriculture/Hainan Key Laboratory for Monitoring and Control of Tropical Agricultural Pests, Chinese Academy of Tropical Agriculture Sciences, Danzhou 571737, China)

Abstract [Objectives] To investigate cold tolerance in different developmental stages of *B. cucurbitae*. [Methods] The supercooling point (SCP), and water, lipid, glycerin and carbohydrate content, of different developmental stages of *B. cucurbitae*, were measured and compared. [Results] Five day-old pupae had the lowest supercooling point of any developmental stage (-17.04°C) and 1 day-old larvae the highest (-11.82°C). However, there was no significant difference in the supercooling points of male and female adults of the same age. Water content reduced with age from 79.64% in 1 day-old larvae to 65.31% in 5 day-old pupae, which was the lowest water content recorded in all developmental stages. The water content of female adults were significantly higher than that of male adults in the same age. The fat content at 5 day-old larva was 32.90%, which was the highest among all the developmental stages. The lowest fat content were found in 1 day-old male adults (15%) and 14 day-old male adults (15%). The glycerol content in the larval stage decreased from $3.32\text{ }\mu\text{g/mg}$ to $1.12\text{ }\mu\text{g/mg}$, and it increased gradually during the pupal stage. The highest point was detected in 14 day-old female adults ($5.90\text{ }\mu\text{g/mg}$). The total sugar content, trehalose content and glycogen content in 1 day-old larva all were the highest among all the developmental stages, which were 7.51, 0.94 and $1.93\text{ }\mu\text{g/mg}$ respectively. The content of carbohydrates decreased gradually

* 资助项目 Supported projects: 入侵昆虫综合防控技术研究与示范推广 (201103026)

**第一作者 First author, E-mail: huangnana1987@126.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: Jintao337@aliyun.com; qyhuang2006@mail.hzau.edu.cn

收稿日期 Received: 2014-04-17, 接受日期 Accepted: 2014-08-22

during the pupal stage, and they increased with the growth of age in the adult stage. [Conclusion] These results would provide the basis for exactly evaluating the geography adaptability and quarantine cold treatment on *B. cucurbitae*.

Key words *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett), cold tolerance, supercooling point, physiological index

瓜实蝇 *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett), 属双翅目 Diptera, 实蝇科 Tephritidae, 又名瓜蝇、黄瓜实蝇、瓜蛆, 广泛分布于热带、亚热带地区, 是危害蔬菜、水果的重要害虫。瓜实蝇的寄主有 120 多种, 主要为害葫芦科和茄科植物, 如甜瓜、南瓜、辣椒、苦瓜、西瓜、无花果、番石榴、桃、菜豆和番茄等, 对葫芦科瓜类的危害尤为严重 (Nishicla and Bess, 1950; 陈海东, 1995)。雌成虫以产卵器刺入果实表皮内产卵, 幼虫孵化后即在果内蛀食, 受害的瓜果先局部变黄, 而后全部腐烂变臭, 造成大量落果, 即使不腐烂, 刺伤处凝结着流胶, 畸形下陷, 果皮硬实, 严重影响瓜果的品质和产量。因其寄主范围广, 繁殖力强, 危害严重, 世界上很多国家和地区都将瓜实蝇列为重要的检疫对象 (李人柯, 1997), 也是我国进境植物检疫性有害生物之一 (农业部, 2007)。

在我国, 瓜实蝇多分布于江苏、福建、海南、广东、广西、贵州、云南、四川、台湾等地区 (张全胜, 2002a, 2002b)。孔令斌等 (2008) 对瓜实蝇在我国的潜在地理分布区预测得出, 其适生区涉及 $18.1^{\circ}\sim 34.77^{\circ}\text{N}$ 、 $97.5^{\circ}\sim 122.6^{\circ}\text{E}$ 范围内的 19 省 (市、自治区), 其中包括江西、湖南、重庆、上海以及浙江、安徽、湖北、陕西、河南和甘肃局部地区均为其中低度适生区。这一预测结果预示着: 瓜实蝇对我国北部许多地区具有很高的入侵风险。由于瓜实蝇的寄主范围相当广, 因此该虫能否向北扩散、繁衍主要取决于其对冬季的低温环境的耐受性。冬季低温作为限制瓜实蝇在中国地理分布的重要气候因子, 研究瓜实蝇的耐寒性对预测预报和综合防治该类害虫有十分重要的意义。在许多昆虫耐寒性的研究中, 过冷却点常作为界定其耐寒能力强弱的重要指标之一 (景晓红和康乐, 2004)。而生化物质作为昆虫生命活动中重要的能源物质和代谢产物, 与昆

虫的耐寒能力密切相关 (鞠珍等, 2009; 王鹏等, 2011; 徐丽荣等, 2012)。目前有关瓜实蝇卵期耐寒性的比较在国外已有报道, 但其不同发育阶段生理指标的测定尚未见记载。鉴于此, 本文通过测定瓜实蝇不同发育阶段的过冷却点、虫体水分、脂肪、甘油和糖类含量的变化, 以揭示其体内生化物质与瓜实蝇耐寒能力的相关性, 为瓜实蝇的耐寒性评价及其生态与地理适应性、以及低温检疫除害处理等提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

瓜实蝇采集于海南万宁苦瓜田, 将收集到的带虫果实带回实验室培养, 待其入土化蛹后, 收集羽化的成虫, 9~15 d 后, 放入新鲜南瓜块让其产卵、繁殖。室内饲养条件为 $(26\pm 0.5)^{\circ}\text{C}$, $\text{RH}=75\%\pm 5\%$, 光周期 14L: 10D。继代繁育后, 选虫体大小和日龄相等的 1 日龄、3 日龄和 5 日龄幼虫, 1 日龄、3 日龄和 5 日龄蛹以及 1 日龄、3 日龄、7 日龄、14 日龄雌、雄成虫分别进行试验。

1.2 试验方法

1.2.1 过冷却点的测定 参照秦玉川和杨建才 (2000) 的方法, 采用快速冷冻的超低温冰箱结合四路过冷却点仪进行测定。测定时将待测虫体放入大小适当的一次性移液器枪头中, 将热敏探头伸入与虫体接触, 并用隔热材料如棉花包好后放入低温冰箱 ($-30^{\circ}\text{C}\sim -20^{\circ}\text{C}$) 中进行测定。虫体降温速率在 $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 左右。当虫体内体液结冰时, 由于潜热释放使记录仪所记录的曲线上有一个较大的回折, 根据回折点读出过冷却点值。一个处理完成后用冰水混合物校正热敏探头。各虫态测定均重复 3 次, 每重复 10 头。

1.2.2 含水量和脂肪含量的测定 分别选取新鲜虫体,除 1 日龄幼虫取 100 头外,其他各龄幼虫、蛹及成虫分别选取 30 头称重 (Fresh weigh, FW),在 60℃烘箱中烘干 24 h,冷却后分别称取各样品重量 (Dry weight, DW),重复 3 次。计算个体含水量: $[(FW-DW)/FW] \times 100\%$ 。

测完干重后,将烘干的虫体 (DW) 研磨。取适量虫粉,加氯仿和甲醇混合液 (氯仿: 甲醇 = 2: 1) 匀浆。12 000 r/min 离心 10 min 去上清,重复离心 1 次。残渣置于 60℃烘箱烘烤 48 h 至恒重 (Lean dry weight, LDW)。虫体脂肪含量和脂肪重分别按下式计算: $[(DW-LDW)/DW] \times 100$ 和 $DW-LDW$,重复 3 次 (Folch *et al.*, 1959)。

1.2.3 虫体甘油的测定 测定方法参照件均样 (2002) 的方法,并作一定的改进:取同发育时期的瓜实蝇虫体 10 头,蒸馏水冲洗、吸干称重后,匀浆器中加入 1 mL 蒸馏水匀浆,4 mL 蒸馏水 4 次冲洗玻棒。5 000 r/min 离心 10 min,取上清液,沉淀加 5 mL 蒸馏水再离心一次,合并上清液。每管中加入氧化剂 2 mL 和显色剂 2 mL 充分混和后,60℃水浴 15 min,在紫外分光光度计上 420 nm 波长下进行比色分析,每个处理重复 3 次。

1.2.4 虫体糖类含量测定 虫体总糖提取和比色分析:取发育进度一致的瓜实蝇虫体 10 头,蒸馏水冲洗、吸干并称重后,放入匀浆器中加入蒸馏水 1 mL 研磨匀浆,4 mL 10%三氯乙酸溶液冲洗匀浆器,5 000 r/min 离心 5 min,取上清液,用 2 mL 10%三氯乙酸溶液溶解沉淀,反复离心 2 次。上清液加 10%三氯乙酸溶液补足 10 mL。测定时取 0.1 mL 样品液经蒽酮法测定其总糖含量。重复 3 次。

虫体海藻糖和糖原提取和比色:取发育进度一致的瓜实蝇虫体 10 头,蒸馏水冲洗、吸干并称重后,放入匀浆器中加 10%三氯乙酸溶液 1 mL 匀浆,4 mL 10%三氯乙酸溶液冲洗匀浆器,5 000 r/min 离心 10 min,用 1 mL 10%三氯乙酸溶液溶解沉淀,反复离心 2 次。上清液加入无水乙醇 4 mL 后放置 4℃冰箱中 24 h。测定时取放

置 24 h 的上清液 1 mL,10 000 r/min 离心 15 min,上清液加入 1 mL 0.15 mol/L H_2SO_4 溶液,沸水浴水解 15 min,冷却后缓慢加入 30% KOH 溶液 1 mL,振荡混合后沸水浴 15 min,冷却后即得到海藻糖测定样品。离心管中剩余的沉淀加入 1 mL 蒸馏水,待沉淀充分溶解后即为待测糖原样品。经蒽酮法后 620 nm 下比色。重复 3 次。

1.3 数据处理与分析

用 SPSS17.0 软件对试验数据进行方差分析、多重比较和相关回归分析,其中组间均值差异用 Duncan's 新复极差法分析 ($P=0.05$)。

2 结果与分析

2.1 瓜实蝇不同发育阶段的过冷却点

结果如表 1,瓜实蝇过冷却点以 5 日龄蛹最低 - 17.04℃,其次是 3 日龄蛹 - 16.97℃,1 日龄幼虫最高 - 11.82℃。结冰点仍以 5 日龄蛹最低 - 14.51℃,其次是 3 日龄蛹 - 14.50℃,1 日龄幼虫最高 - 6.83℃。测定结果表明,其不同发育阶段的耐寒能力差异显著。幼虫中以 5 日龄幼虫耐寒力最高,1 日龄幼虫耐寒力最低;蛹耐寒能力最强,与其他发育阶段相比耐寒力差异显著;成虫耐寒能力较强,不同发育阶段的雌、雄成虫耐寒力无显著差异。

2.2 瓜实蝇不同发育阶段的含水量和脂肪含量

瓜实蝇不同发育阶段虫体含水量结果如表 2 所示,幼虫期虫体含水量较高,随着龄期的增长含水量降低,从 1 日龄幼虫的 79.64%下降到 5 日龄的 74.52%;蛹期虫体含水量最低,5 日龄蛹含水量达到最低,为 65.31%;成虫期含水量较蛹期高,除 1 日龄雌成虫外,随着龄期增长,含水量逐渐上升,14 日龄成虫含水量最高,雌、雄成虫含水量分别为 77.28%和 73.59%;同日龄雌成虫含水量均显著高于雄成虫。

从表 2 中可以看出,5 日龄幼虫和 1 日龄蛹虫体脂肪含量最高,分别为 32.90%和 32.30%,显著高于其他日龄瓜实蝇;幼虫期随着日龄增

表 1 瓜实蝇不同发育阶段的过冷却点和冰点
Table 1 Supercooling points and freezing points at different stages of *Bactrocera cucurbitae*

虫期 Stages	过冷却点 (°C) Supercooling points	冰点 (°C) Freezing points
1 日龄幼虫 1 day-old larva	- 11.82±0.42 a	- 6.83±0.43 a
3 日龄幼虫 3 day-old larva	- 13.55±0.39 b	- 8.24±0.24 b
5 日龄幼虫 5 day-old larva	- 15.25±0.49 c	- 11.67±0.27 c
1 日龄蛹 1 day-old pupa	- 15.31±0.44 cd	- 12.79±0.72 cd
3 日龄蛹 3 day-old pupa	- 16.97±0.11 e	- 14.50±0.44 e
5 日龄蛹 5 day-old pupa	- 17.04±0.04 e	- 14.51±0.29 e
1 日龄雌成虫 1 day-old female adult	- 15.17±0.11 c	- 12.61±0.28 cd
3 日龄雌成虫 3 day-old female adult	- 15.83±0.04 cde	- 12.80±0.40 cd
5 日龄雌成虫 5 day-old female adult	- 16.09±0.14 cde	- 13.00±0.35 cd
14 日龄雌成虫 14 day-old female adult	- 16.30±0.16 cde	- 13.21±0.21 de
1 日龄雄成虫 1 day-old male adult	- 15.83±0.19 cde	- 13.12±0.41 d
3 日龄雄成虫 3 day-old male adult	- 15.94±0.36 cde	- 13.00±0.18 cd
5 日龄雄成虫 5 day-old male adult	- 16.11±0.51 cde	- 13.17±0.43 d
14 日龄雄成虫 14 day-old male adult	- 16.47±0.95 cde	- 13.24±0.71 de

表中数据为平均值±标准误, 同列数据后标记不同小写字母表示其在 5%水平下 One Way ANOVA, Duncan's 多重比较差异显著。下表同。The data in the table are mean±SE, and followed by different letters in the same column indicate significant differences ($P<0.05$, Duncan's multiple range test). The same below.

表 2 瓜实蝇不同发育阶段的水分和脂肪含量
Table 2 Water contents and fat contents at different stages of *Bactrocera cucurbitae*

虫期 Stages	含水量 (%) Water contents	脂肪含量 (%) Fat contents
1 日龄幼虫 1 day-old larva	79.64±0.07 a	19.33±0.33 bcde
3 日龄幼虫 3 day-old larva	78.22±0.28 ab	25.20±0.31 b
5 日龄幼虫 5 day-old larva	74.52±0.37 de	32.90±1.39 a
1 日龄蛹 1 day-old pupa	68.59±0.13 f	32.30±1.78 a
3 日龄蛹 3 day-old pupa	65.70±0.48 h	24.80±4.41 bc
5 日龄蛹 5 day-old pupa	65.31±0.32 h	22.37±1.04 bcd
1 日龄雌成虫 1 day-old female adult	76.03±0.38 cd	16.00±1.86 de
3 日龄雌成虫 3 day-old female adult	71.06±0.45 f	16.60±1.21 de
5 日龄雌成虫 5 day-old female adult	76.79±0.22 bc	20.40±0.92 bcde
14 日龄雌成虫 14 day-old female adult	77.28±0.36 bc	18.40±0.64 de
1 日龄雄成虫 1 day-old male adult	70.21±1.05 fg	15.00±3.74 e
3 日龄雄成虫 3 day-old male adult	70.26±0.38 fg	16.80±1.42 de
5 日龄雄成虫 5 day-old male adult	70.43±0.96 fg	18.73±1.79 cde
14 日龄雄成虫 14 day-old male adult	73.59±0.28 e	15.00±1.21 e

长, 脂肪含量逐渐上升, 各龄期间脂肪含量差异显著; 而蛹期虫体脂肪含量随龄期的增长而下降, 且各日龄虫体脂肪含量存在显著差异; 1 日龄雄成虫和 14 日龄雄成虫脂肪含量最低, 均为 15%; 5 日龄雌成虫脂肪含量为 20.40%, 显著高于其他日龄雌成虫; 雄成虫不同发育阶段虫体脂肪含量差异显著, 除 3 日龄成虫外, 同日龄雄成虫脂肪含量均显著低于雌成虫。这说明不同发育阶段瓜实蝇虫体脂肪物质的积累不同。而脂肪含量在 5 日龄幼虫达到最高, 表明瓜实蝇老熟幼虫开始储备脂肪, 作抗寒准备。

2.3 瓜实蝇不同发育阶段甘油含量

瓜实蝇不同发育阶段虫体甘油含量结果如表 3 所示, 5 日龄幼虫甘油含量最低, 显著低于其他日龄瓜实蝇, 幼虫期虫体甘油含量以 1 日龄幼虫最高, 为 3.32 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 5 日龄幼虫甘油含量

表 3 瓜实蝇不同发育阶段的甘油含量
Table 3 Glycerol contents at different stages of *Bactrocera cucurbitae*

虫期 Stages	虫体甘油含量 ($\mu\text{g}/\text{mg}$) Glycerol contents
1 日龄幼虫 1 day-old larva	3.32 $\pm$ 0.30 bc
3 日龄幼虫 3 day-old larva	1.81 $\pm$ 0.40 ef
5 日龄幼虫 5 day-old larva	1.12 $\pm$ 0.40 g
1 日龄蛹 1 day-old pupa	1.53 $\pm$ 0.50 ef
3 日龄蛹 3 day-old pupa	1.76 $\pm$ 0.70 ef
5 日龄蛹 5 day-old pupa	2.16 $\pm$ 0.01 de
1 日龄雌成虫 1 day-old female adult	2.89 $\pm$ 0.72 cd
3 日龄雌成虫 3 day-old female adult	4.15 $\pm$ 0.82 b
5 日龄雌成虫 5 day-old female adult	5.82 $\pm$ 0.12 a
14 日龄雌成虫 14 day-old female adult	5.90 $\pm$ 0.06 a
1 日龄雄成虫 1 day-old male adult	2.46 $\pm$ 0.07 cde
3 日龄雄成虫 3 day-old male adult	4.11 $\pm$ 0.11 b
5 日龄雄成虫 5 day-old male adult	5.37 $\pm$ 0.35 a
14 日龄雄成虫 14 day-old male adult	5.66 $\pm$ 0.33 a

最低, 为 1.12 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 各龄期间甘油含量差异显著; 蛹期随着龄期增长, 甘油含量上升, 5 日龄蛹甘油含量最高, 为 2.16 $\mu\text{g}/\text{mg}$; 成虫期虫体甘油含量随龄期增长而上升, 14 日龄雌成虫甘油含量最高, 为 5.90 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 除 1 日龄雌、雄成虫外, 不同发育阶段雌、雄成虫间甘油含量无显著差异。表明甘油是瓜实蝇提高抗寒能力的重要物质, 随着龄期的增长而累积。

2.4 瓜实蝇不同发育阶段虫体糖类含量

瓜实蝇不同发育阶段虫体糖类含量结果如表 4 所示, 1 日龄幼虫总糖、海藻糖和糖原含量均最高, 分别为 7.51、0.94 和 1.93 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 显著高于其他日龄瓜实蝇, 5 日龄幼虫糖类含量最低, 分别为 2.19、0.33 和 0.59 $\mu\text{g}/\text{mg}$; 蛹期随着龄期增长, 糖类物质含量下降, 5 日龄蛹糖类物质含量最低, 其中糖原含量为 0.49 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 显著低于其他日龄瓜实蝇; 成虫期虫体总糖含量随龄期增长而上升, 1 日龄成虫总糖含量最低, 雌、雄成虫分别为 1.83 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 和 1.69 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 除 3 日龄成虫外, 同日龄雌、雄成虫间总糖含量存在显著差异; 成虫期虫体海藻糖含量随龄期增长而升高, 5 日龄雄成虫达到最高, 为 52 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 到 14 日龄雌成虫略下降到 51 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 1 日龄和 3 日龄雌、雄成虫间海藻糖含量无显著差异, 5 日龄和 14 日龄雄成虫海藻糖含量显著高于同期雌成虫; 成虫期虫体糖原含量除 1 日龄雌成虫外, 不同发育阶段雌、雄成虫糖原含量无显著差异。

3 讨论

3.1 过冷却点与瓜实蝇耐寒性

过冷却点是评价昆虫抗寒能力的重要指标, 对于同一昆虫, 过冷却点越低, 其低温下存活率越高 (Lee and Denlinger, 1985; Nedved *et al.*, 1995; Hodkova and Hodek, 1997; 魏永平等, 2001)。本文测得瓜实蝇过冷却点大小依次为蛹 < 成虫 < 幼虫, 同一发育阶段的过冷却点有显著的变化, 雌、雄成虫在不同发育阶段的过冷却点无显著性差异, 且同日龄雌、雄成虫之间过冷却

点无显著差异。这一结果与侯柏华和张瑞杰(2007)对不同发育阶段桔小实蝇 *Bactrocera dorsalis* 过冷却点的测定结果相似。本文测得瓜实蝇蛹的过冷却点最低, 幼虫过冷却点高于成虫, 均表明同种昆虫不同虫态的过冷却点存在显著差异。造成这种差异的主要原因与虫体在不同发育时期的营养结构、体内化学物质组成和虫体结构有一定关系 (Kostal *et al.*, 2001; 景晓红和康乐, 2003; Worland *et al.*, 2006)。同一日龄的雌、雄成虫之间的过冷却点无显著性差异, 估计这与雌雄虫之间的生理适应性有关。本文研究结果显示瓜实蝇有比较低的过冷却点, 表明该虫具有向北部地区扩散的可能性。

3.2 含水量、脂肪含量与瓜实蝇耐寒性

虫体含水量变化与耐寒能力有一定关系已经在很多昆虫中证实 (Worland, 1996; 常志刚等, 2008)。本文测得, 瓜实蝇不同发育阶段虫体的含水量变化存在显著差异, 幼虫期到蛹期随着龄期增长含水量呈下降趋势, 成虫期含水量有所升高, 幼虫的含水量显著高于蛹和成虫, 瓜实蝇发育过程中体内水分含量与过冷却能力的变化一致。研究发现桑尺蠖 *Phthonandria atrilineata* 幼虫、桃小食心虫 *Carposina niponensis* 幼虫在越冬过程中体内水分含量呈下降趋势 (孙绪良等, 2002; 王鹏等, 2011)。这均说明昆虫可通过降低含水量来增强自身的抗寒性。

脂质作为昆虫长期贮存的高能成分, 遭遇低温胁迫即可转化为脂肪酸和甘油等耐寒性物质。从本文对瓜实蝇不同发育阶段脂肪含量测定的结果中可看出, 幼虫随着龄期增长脂肪含量从 19.33% 上升到 32.90%, 是个累积的过程, 蛹期到成虫期脂肪含量开始逐渐下降。在大多数昆虫越冬生理生化机制的研究都可以发现, 在昆虫滞育越冬过程中, 其体内水分和脂肪等物质都会出现一定的变化规律, 其含量变化影响着昆虫的耐寒性。如赤松毛虫 *Dendrolimus spectabilis* 越冬

幼虫进入越冬滞育状态后体内游离脂肪含量减少 (孙绪良和韩瑞东, 2003)。桃小食心虫幼虫体内总脂肪含量在越冬开始时达到最高, 越冬期间逐渐降低, 该作者认为可能部分脂肪转化为其他耐寒物质 (王鹏等, 2011)。本研究中, 瓜实蝇发育过程中 5 日龄幼虫脂肪含量达到最高, 蛹期开始逐渐下降, 表明其很可能并非以脂肪作为直接抗寒物质, 而是把体内的脂肪转化为其他物质来增强其抗寒能力。

3.3 甘油、糖类含量与瓜实蝇耐寒性

越冬期间许多昆虫体内聚集低分子量的糖(醇)等小分子抗寒物质, 如甘油、山梨醇、甘露醇、五碳多元醇(阿拉伯糖醇或核糖醇)、海藻糖、葡萄糖、果糖以及氨基酸和脂肪酸类物质 (Lee and Denlinger, 1991; Li *et al.*, 2000)。这些物质的变化可以增加昆虫体内束缚水的含量, 或直接与酶及其他的蛋白质相互作用起到增强昆虫抗寒的作用 (Lee and Denlinger, 1991)。本研究中, 瓜实蝇不同发育阶段虫体甘油、总糖等糖类含量变化差异显著。甘油含量在幼虫期随龄期增长而下降, 蛹期到成虫期随龄期的增长逐渐升高, 幼虫到蛹虫体的总糖、海藻糖和糖原含量均呈下降趋势, 成虫随着龄期的增长总糖、海藻糖和糖原含量逐渐升高。在越冬过程中, 多种昆虫体内甘油、海藻糖和糖原等含量是逐渐降低的, 也是衡量越冬虫抗寒能力的一个重要指标。如越冬过程中松阿扁叶蜂 *Acantholyda posticalis* 幼虫、桑螟 *Diaphania pyralis* 幼虫体内甘油均含量明显增加 (陈永杰等, 2005; 梁中贵等, 2005), 桃小食心虫幼虫在整个越冬过程中总糖和糖原含量逐渐下降 (王鹏等, 2011)。本文中, 甘油和糖类含量的变化均呈现出先减少后增加的趋势, 这可能是因为前期生长发育需要大量的营养物质消耗, 甘油和糖类可能是其能量物质的主要来源, 进入成虫期后, 糖含量明显升高。表明瓜实蝇发育过程中体内的脂肪和甘油、海藻糖等是可以相互转化的。

表 4 不同发育阶段瓜实蝇的糖类含量
Table 4 Contents of carbohydrates at different stages of *Bactrocera cucurbitae*

虫期 Stages	总糖含量 (μg/mg) Total sugar contents	海藻糖含量 (μg/mg) Trehalose contents	糖原含量 (μg/mg) Glycogen contents
1日龄幼虫 1 day-old larva	7.51±0.49 a	0.94±0.07 a	1.93±0.19 a
3日龄幼虫 3 day-old larva	2.80±0.16 d	0.35±0.02 de	1.22±0.01 b
5日龄幼虫 5 day-old larva	2.19±0.16 def	0.33±0.01 de	0.59±0.05 de
1日龄蛹 1 day-old pupa	2.71±0.04 de	0.38±0.01 cde	0.86±0.02 c
3日龄蛹 3 day-old pupa	2.61±0.15 def	0.71±0.12 b	0.80±0.70 cd
5日龄蛹 5 day-old pupa	2.46±0.26 def	0.36±0.04 de	0.49±0.04 e
1日龄雌成虫 1 day-old female adult	1.83±0.07 ef	0.31±0.01 e	0.80±0.03 cd
3日龄雌成虫 3 day-old female adult	4.43±0.54 c	0.44±0.01 cde	0.83±0.11 c
5日龄雌成虫 5 day-old female adult	6.09±0.57 b	0.45±0.04 cde	0.96±0.03 c
14日龄雌成虫 14 day-old female adult	6.09±0.37 b	0.45±0.01 cd	0.96±0.05 c
1日龄雄成虫 1 day-old male adult	1.69±0.07 f	0.32±0.01 e	0.91±0.06 c
3日龄雄成虫 3 day-old male adult	3.69±0.14 c	0.43±0.02 cde	0.87±0.03 c
5日龄雄成虫 5 day-old male adult	4.29±0.26 c	0.52±0.01 c	1.00±0.01 c
14日龄雄成虫 14 day-old male adult	4.29±0.09 c	0.51±0.00 c	0.98±0.01 c

参考文献 (References)

- Chang ZG, Li ZY, Gao SZ, Wang HS, 2008. Relation between variation of water, protein, fat in vivo of overwintering *Apis mellifera carica* and cold-hardiness *Journal of Bee*, (1): 6–7. [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.]
- Chen HD, Liang GQ, Yang PJ, 1995. On the seasonal population dynamics of melon and oriental-fruit flies and pumpkin fly in Guangzhou area. *Acta Phytophylacica Sinica*, 22(4): 348–354. [陈海东, 梁广勤, 杨平均, 1995. 瓜实蝇、桔小实蝇、南瓜实蝇在广州地区的种群动态. 植物保护学报, 22(4): 348–354.]
- Chen YJ, Sun XG, Zhang WG, Mu ZG, Guo GZ, 2005. Relation between variation of water, fat, glycerol in vivo of over-wintering *Diaphania pyloalis* Walker larvae and cold-hardiness. *Acta Sericologica Sinica*, 31(1): 22–25. [陈永杰, 孙绪良, 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.]
- 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.
- Hodkova M, Hodek I, 1997. Temperature regulation of supercooling and gut nucleation in relation to diapause of *Parkers apterus* (L.) (Heteroptera). *Cryobiology*, 34(1): 70–79.
- Hou BH, Zhang RJ, 2007. Supercooling capacity of the Oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae). *Entomologica Sinica*, 50(6): 638–643. [侯柏华, 张润杰, 2007. 桔小实蝇不同发育阶段过冷却点的测定. 昆虫学报, 50(6): 638–643.]
- Jing XH, Kang L, 2003. Seasonal changes in the supercooling point of overwintering eggs of *Locusta migratoria*. *Entomological Knowledge*, 40(4): 326–328. [景晓红, 康乐, 2003. 飞蝗越冬卵过冷却点的季节性变化及生态学意义. 昆虫知识, 40(4): 326–328.]
- 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.]
- Ju Z, Li MG, Diao ZE, Xu YY, 2009. Super-cooling ability and its relations to body's water and fat contents of overwintering *Hyphantria cunea* (Lepidoptera: Arcidae) pupae. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 20(11): 2763–2767. [鞠珍, 李明贵, 刁志娥, 许永玉, 2009. 美国白蛾越冬蛹的过冷却能力、体内水分及脂肪含量. 应用生态学报, 20(11): 2763–2767.]
- Kong LB, Lin W, Li ZH, Wan FH, Wang ZL, Huang GS, 2008. Predication of potential geographic distribution of melon fruit fly

- based on CLIMEX and DIVA-GIS. *Acta Phytophylacica Sinica*, 35(2): 149–154. [孔令斌, 林伟, 李志红, 万方浩, 王之岭, 黄冠胜, 2008. 基于 CLIMEX 和 DIVA-GIS 的瓜实蝇潜在地理分布预测. 植物保护学报, 35(2): 149–154.]
- Kostal V, Slachta M, Simek P, 2001. Cryoprotective role of polyols independent of the increase in supercooling capacity in diapausing adults of *Pyrrohocoris apterus* (Heteroptera: Insecta). *Comp. Biochem. Physiol. B*, 130(3): 365–374.
- Lee RJ, Denlinger DL, 1985. Cold tolerance in diapausing and non-diapausing stages of the flesh fly, *Sarcophaga crassipalpis*. *Physiol. Entomol.*, 10(3): 309–315.
- Lee RJ, Denlinger DL, 1991. Insects at Low Temperature. New York: Chapman and Hall. 17–46.
- Li RK, 1997. Study on the harm and control of melon fruit fly. *China Vegetables*, (3): 26–27. [李人柯, 1997. 瓜实蝇的为害与防治. 中国蔬菜, (3): 26–27.]
- Li YP, Gong H, Park HY, 2000. Biochemistry and physiological overwintering in the mature larvae of the pine needle gall midge, *Ccodiplosis japonensis*. *Insect Science*, 7: 135–141.
- Liang ZG, Zhang WG, Liu XH, Meng QY, Sun XG, 2005. Cold-hardiness analysis of over-wintering larva of *Acantholyda posticalis*. *Entomological Knowledge*, 42(6): 695–699. [梁中贵, 张卫光, 刘学辉, 孟庆英, 孙绪良, 2005. 松阿扁叶蜂越冬幼虫体内抗寒物质分析. 昆虫知识, 42(6): 695–699.]
- Ministry of Agriculture, 2007. The quarantine pest list of entry plant in the people's republic of China. The Ministry of agriculture Bulletin No. 862. [农业部, 2007. 《中华人民共和国进境植物检疫性有害生物名录》. 农业部公告第 862 号.]
- Nedved O, Hodkova M, Brunnhofer V, Hodek I, 1995. Simultaneous measurement of low temperature survival and supercooling in a sample of insects. *CryoLetter*, 16(2): 108–113.
- Nishicla T, Bess HA, 1950. Applied ecology in melon fly control. *J. Econ. Entomol.*, 43(6): 877–883.
- Qin YC, Yang JC, 2000. A new simple method to test insect super-cooling point. *Entomological Knowledge*, 37(4): 236–238. [秦玉川, 杨建才, 2000. 一种便携式测定昆虫过冷却点的方法. 昆虫知识, 37(4): 236–238.]
- Sun XG, Guo HL, Li ST, Wang XH, 2002. Study on cold hardiness of overwintering larvae, *Phthonandria atrilineata* Butler. *Acta Sericologica Sinica*, 26(3): 129–133. [孙绪良, 郭慧玲, 李恕廷, 王兴华, 2002. 桑尺蠖越冬幼虫的耐寒性研究. 蚕业科学, 26(3): 129–133.]
- Sun Xg, Han RD, 2003. Studies on cold-resistance of the overwinter larva of *dendrolimus spectabilis* in Shandong. *Journal of Shandong Agricultural University* (Natural Science), 34(3): 315–320. [孙绪良, 韩瑞东, 2003. 赤松毛虫越冬幼虫抗寒性研究. 山东农业大学学报(自然科学版), 34(3): 315–320.]
- Wang P, Yu Y, Men XY, Zhang SC, Zhang AS, Xu YY, Li LL, 2011. Dynamics of cold-resisitant substances in overwintering co-cooned and non-cocooned larvae of the peach fruit moth, *Carposina niponensis* Walsingham (Lepidoptera: Carposinidae). *Acta Entomologica Sinica*, 54(3): 279–285. [王鹏, 于毅, 门兴元, 张思聪, 张安盛, 许永玉, 李丽莉, 2011. 越冬过程中桃小食心虫结茧和裸露幼虫体内耐寒性物质动态变化. 昆虫学报, 54(3): 279–285.]
- Wei YP, Yuan F, Zhang YL, 2001. The resistance and reproductive potential of *Osmia excavata* Alfken. *Entomological Knowledge*, 38(2): 122–124. [魏永平, 袁锋, 张雅林, 2001. 凹唇壁蜂的耐寒性及生殖潜力研究. 昆虫知识, 38(2): 122–124.]
- Worland MR, 1996. The relationship between water content and cold tolerance in the Arctic collembolan *Onychiurus arcticus* (Collembola: Onychiuridae). *European Journal of Entomology*, 93: 341–348.
- Worland MR, Leinaas HP, Ghown SL, 2006. Supercooling point frequency distribution in Collembola are affected by moulting. *Func. Ecol.*, 20(2): 323–329.
- Wu JX, 2002. Relationship between diapause and changes of chemical substances in the wheat blossom midge, *Sitoidiplosis mosellana* (Diptera: Cecidomyiidae). Doctoral Dissertation. Yangling: Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry. [作均祥, 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.]
- Xu LR, He KL, Wang ZY, 2012. Studies on variation in cold hardiness in relation to the *in vivo* water, lipid, and sugar content of *Conogethes punctiferalis* (Guen é e) larvae living on three different host plant species. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 49(1): 197–204. [徐丽荣, 何康来, 王振营, 2012. 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. 应用昆虫学报, 49(1): 197–204.]
- Zhang QS, 2002a. Biolocical character observation and control recommendations of melon fruit fly. *Plant Protection Technology and Extension*, 22(3): 14–15. [张全胜, 2002a. 瓜实蝇生物学特性观察及其防治建议. 植保技术与推广, 22(3): 14–15.]
- Zhang QS, 2002b. Biolocical character and control of melon fruit fly. *China Vegetables*, (3): 37–38. [张全胜, 2002b. 瓜实蝇生物学特性及其防治. 中国蔬菜, (3): 37–38.]