

凹唇壁蜂滞育后阶段过冷却能力及生化物质动态变化*

刘 丽^{1,3**} 李丽莉¹ 李 超¹ 欧阳芳² 于 毅¹
郑 礼¹ 叶保华³ 门兴元^{1***} 张思聪^{1***}

(1. 山东省农业科学院植物保护研究所, 山东省植物病毒学重点实验室, 济南 250100;

2. 中国科学院动物研究所, 北京 100101; 3. 山东农业大学植物保护学院, 泰安 271018)

摘 要 【目的】凹唇壁蜂 *Osmia excavata* Alfken 是我国北方果树的主要授粉昆虫, 发挥着重要的传粉增产生态服务功能。掌握其滞育后阶段抗寒性特点, 并从生理生化水平上探讨耐寒机制, 对于凹唇壁蜂的保护与利用具有重要意义。【方法】本文系统测定了滞育后阶段及出蛻后凹唇壁蜂雌蜂、雄蜂的过冷却点、冰点, 自由水、脂肪、蛋白质、海藻糖含量, 过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD)、乙酰胆碱酯酶 (AChE) 的活性。【结果】凹唇壁蜂雌蜂、雄蜂的抗寒性差异不大, 滞育后阶段过冷却点和冰点在出蛻前逐渐升高、出蛻后降低。其中, 出蛻日凹唇壁蜂雌蜂、雄蜂的过冷却点、冰点最高 (抗寒性最低), 分别为 -12.35 °C、-9.98 °C 和 -12.63 °C、-8.91 °C。在滞育后阶段雄蜂脂肪含量显著高于雌蜂, 雌蜂的蛋白质含量显著高于雄蜂, 出蛻后雄蜂的脂肪含量均迅速下降, 雌蜂的蛋白含量迅速下降。出蛻前, 雄蜂的超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、乙酰胆碱酯酶活性高于雌蜂; 出蛻后, 雌蜂的酶活显著升高。在滞育后阶段, 凹唇壁蜂雌蜂、雄蜂体内的海藻糖均呈显著降低趋势, 出蛻日雌蜂的海藻糖含量比蛻后 190 d 下降了 64.5%。【结论】滞育后阶段凹唇壁蜂有较强的抗寒性。在出蛻前抗寒性逐渐降低, 出蛻后抗寒性升高。海藻糖代谢可能是凹唇壁蜂滞育后阶段能量消耗的重要途径。雄蜂的个体较小, 但是有比雌蜂功能更强的抗氧化系统。

关键词 凹唇壁蜂, 滞育后阶段, 过冷却点, 冰点, 生化物质

The super-cooling ability and biochemical substances of post-diapause *Osmia excavata* Alfken

LIU Li^{1,3**} LI Li-Li¹ LI Chao¹ OUYANG Fang² YU Yi¹ ZHENG Li¹
YE Bao-Hua³ MEN Xing-Yuan^{1***} ZHANG Si-Cong^{1***}

(1. Institute of Plant Protection, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Shandong Provincial Key Laboratory of Plant Virology, Jinan 250100, China; 2. Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

3. College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China)

Abstract [Objectives] *Osmia excavata* Alfken is the major pollinator of fruit trees in north China where it provides the key ecological services of pollination and promoting fruit yield. Clarifying the cold-resistance of the post-diapause stage, and the physiological and biochemical mechanisms of cold-resistance, are important for the conservation and utilization of this species. [Methods] We systematically measured the super-cooling and freezing points, water content, fat content, protein content, trehalose levels, and the activity of catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and acetylcholin esterase (AChE), in post-diapause and post-eclosion female and male *O. excavata*. [Results] There was no significant difference in cold resistance between the sexes. Supercooling and freezing points gradually increased, then decreased, after eclosion in post-diapause

*资助项目 Supported projects: 山东省现代农业产业技术体系蜂产业创新团队

**第一作者 First author, E-mail: 18706381696@163.com

***共同通讯作者 Co-corresponding authors, E-mail: menxy2000@hotmail.com; 334679618@qq.com

收稿日期 Received: 2018-10-21, 接受日期 Accepted: 2018-11-12

individuals. The supercooling and freezing points of females and males were highest after eclosion; -12.35°C , -9.98°C and -12.63°C , -8.91°C , respectively. Post-diapause males had significantly more fat than females but females had significantly more protein than males. The fat content of males and the protein content of females decreased rapidly after eclosion. Before eclosion, the activity of superoxide dismutase, catalase and acetylcholinesterase were higher in males than in females. However, enzyme activity in females increased significantly after eclosion. Trehalose levels in both sexes decreased significantly post-diapause and trehalose levels in males on the day after eclosion were 64.5% lower than those on the 190th day after cocooning. [Conclusion] Post-diapause *O. excavata* have strong cold-resistance. Cold resistance decreases gradually before eclosion but increases after eclosion. Trehalose metabolism may be an important energy consumption pathway in post-diapause *O. excavata*. Males are smaller, but have stronger antioxidant systems, than females.

Key words *Osmia excavata* Alfken, post-diapause stage, super-cooling point, freezing point, biochemical substances

在自然界中, 80%的植物依靠昆虫来传粉结实。壁蜂(*Osmia*)属于蜜蜂总科(Apoidea)切叶蜂科(Megachilidae), 是重要的传粉昆虫。凹唇壁蜂 *Osmia excavata* Alfken 是我国目前应用最为广泛的壁蜂种类, 其具有耐低温、访花速度快、工作时间长、授粉效率高的特点, 被广泛应用于北方果树授粉, 不仅大大提高了苹果、梨、樱桃等果树的坐果率和果实品质, 而且替代了人工授粉, 降低了水果生产成本, 发挥着重要的授粉生态服务功能(魏永平等, 2001; 刘畅和王贵平, 2012)。

目前, 许多地区凹唇壁蜂种群出现了数量下降的问题, 我们前期的研究显示饲养过程中的自然死亡是限制山东省凹唇壁蜂的主要因子, 意味着我们对凹唇壁蜂的生物学, 尤其是环境因子对其种群影响及其生态适应性等方面尚不清楚(曹衍斌等, 2017)。壁蜂一年发生一代, 一年中有 300 多天在巢管内生活, 以卵、幼虫、蛹、成虫在巢管内越冬, 因此掌握壁蜂在巢管中的生长发育及其对环境的适应性是科学饲养壁蜂和发挥其传粉增生态服务功能的重要基础, 也是国内外壁蜂研究的热点问题(Kemp and Bosch, 2005)。壁蜂以成虫越冬, 越冬过程包括滞育和滞育后两个阶段。壁蜂成虫滞育阶段, 过冷却点降低(Krunić and Stanisavljević, 2006), 有助于壁蜂度过冬季严寒, 红壁蜂从 11 月开始滞育, 滞育期持续 100 多天(Dmochowska *et al.*, 2013)。壁蜂滞育后阶段, 恢复发育, 其发育受到温度变化抑制, 可以在低温下保存很长一段时间, 人们可以利用该特点控制释放壁蜂的时间

(Boschet *et al.*, 2010)。因此, 了解壁蜂滞育后阶段的温度适应性及其生理生化特点, 有利于合理调控其发育、出巢时间, 充分发挥其授粉增产功能。目前, 凹唇壁蜂的生物学研究相对较少。研究显示, 滞育的凹唇壁蜂必须经过冬天的长时间低温作用和早春的长光照感应才能完全解除(周伟儒, 2002), 而凹唇壁蜂在解除冬滞育后阶段的生物学以及对低温的适应性尚没有研究。为此, 我们系统测定了凹唇壁蜂滞育后阶段的抗寒性动态变化以及其体内含水量、脂肪、蛋白质、海藻糖、酶类等生理生化指标变化, 探讨了凹唇壁蜂滞育后阶段耐寒机理, 旨在明确壁蜂越冬生物学特点, 为科学管理壁蜂, 发挥其生态服务功能提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

凹唇壁蜂采自烟台栖霞苹果园, 在山东省农业科学院植物保护研究所的实验室饲养, 壁蜂滞育解除后, 从结茧后 190 d, 开始测定壁蜂的抗寒性和生理生化指标。

1.2 实验方法

1.2.1 测定过冷却点和结冰点 使用 SUN-II 智能昆虫过冷却点测定仪测定凹唇壁蜂的过冷却点和结冰点。每 7 d 测定一次雌蜂、雄蜂的过冷却点和结冰点。取个体大小均匀一致的凹唇壁蜂雌蜂、雄蜂, 用剪刀剖开蜂茧后, 立即将热敏电阻的测温探头固定于凹唇壁蜂成虫腹部, 置于冰

箱 - 42 ℃ 条件下, 读取温度变化曲线, 记录虫体的过冷却值和结冰值。每次分别测定 60 头雌蜂、60 头雄蜂。

1.2.2 测定含水量、脂肪、蛋白质、海藻糖 雌蜂和雄蜂分别测定 20 头。

含水量测定方法:将单头凹唇壁蜂在电子天平上称取鲜重(Fresh weight, FW), 然后在 60 ℃ 恒温烘箱中烘干 48 h 至恒重, 称得干重(Dry weight, DW), 计算虫体含水量。计算公式如下: 虫体自由水含量(%) = $[(FW - DW)/FW] \times 100$ 。

脂肪含量测定方法(Colineta *et al.*, 2007): 将单头凹唇壁蜂在电子天平上称取鲜重(Fresh weight, FW), 然后在 60 ℃ 恒温烘箱中烘干恒重, 测量干重(Dry weight, DW), 置于研磨器中加入 2 mL 氯仿与甲醇的混合液(氯仿: 甲醇 = 2: 1), 研磨至匀浆。将匀浆在转速 2 600 r/min 下离心 10 min, 移去上清液。向残渣中加入 2 mL 氯仿与甲醇的混合液, 重复离心 1 次。剩余残渣在 60 ℃ 的恒温烘箱中烘烤 72 h 至恒重(Constant dry weight, CDW)。计算脂肪含量。计算公式如下: 脂肪含量 = $[(DW - CDW)/FW] \times 100$ 。

蛋白质含量测定方法:采用考马斯亮蓝法测定蛋白质含量。购置苏州科铭生物技术有限公司的考马斯亮蓝法测蛋白含量测定试剂盒, 按照测定程序, 先用电子天平测定单头凹唇壁蜂的重量, 在研磨器中加入凹唇壁蜂和酶提取液(两者重量比 1: 10)冰浴匀浆, 然后在 4 ℃、8 000 r/min 下离心 10 min, 取上清液, 用酶标仪测定 595 nm 下的吸光值, 计算蛋白质含量。

海藻糖含量测定方法:采用蒽酮比色法测定海藻糖含量。购置苏州科铭生物技术有限公司的海藻糖含量试剂盒, 按照测定程序, 先用电子天平测定单头凹唇壁蜂的重量, 在研磨器中加入凹唇壁蜂和提取液(两者重量比 1: 10)冰浴匀浆, 室温静置 45 min, 振荡 3-5 次, 冷却后, 在 25 ℃、8 000 r/min 下离心 10 min, 取上清液, 用酶标仪测定 620 nm 下的吸光值, 计算海藻糖含量。

1.2.3 测定体内酶活性 过氧化氢酶(CAT)活性测定方法: 购置苏州科铭生物技术有限公司的过氧化氢酶试剂盒, 按照测定程序, 先用电子天

平测定单头凹唇壁蜂的重量, 在研磨器中加入凹唇壁蜂和提取液(两者重量比 1: 10)进行冰浴匀浆, 在 4 ℃、8 000 r/min 下离心 10 min, 取上清液, 置冰上待测。用分光光度计测定 240 nm 下的吸光值, 计算过氧化氢酶活性。

超氧化物歧化酶(SOD)活性测定:购置苏州科铭生物技术有限公司的超氧化物歧化酶试剂盒, 按照测定程序, 先用电子天平测定单头凹唇壁蜂的重量, 在研磨器中加入凹唇壁蜂和提取液(两者重量比 1: 10)进行冰浴匀浆, 在 4 ℃、8 000 r/min 下离心 10 min, 取上清液, 置冰上待测。用酶标仪测定 560 nm 下的吸光值, 计算超氧化物歧化酶活性。

乙酰胆碱酯酶(AchE)活性测定:购置苏州科铭生物技术有限公司的乙酰胆碱酯酶试剂盒, 按照测定程序, 先用电子天平测定单头凹唇壁蜂的重量, 在研磨器中加入凹唇壁蜂和提取液(两者重量比 1: 10)进行冰浴匀浆, 在 4 ℃、8 000 r/min 下离心 10 min, 取上清液。用分光光度计测定 412 nm 下的吸光值, 计算乙酰胆碱酯酶活性。

1.3 数据处理

采用 SPSS19.0 对试验数据进行单因素方差分析, 用 LSD 法进行显著性差异比较。采用 Pearson 相关分析。使用 Excel 2007 绘制图表。

2 结果与分析

2.1 雌、雄凹唇壁蜂过冷却点(SCP)和结冰点(FP)的变化动态

2.1.1 过冷却点(SCP)的变化动态 滞育后阶段凹唇壁蜂雌蜂、雄蜂的过冷却点呈现出相似性变化趋势。在出茧前, 过冷却点升高, 出茧后下降(图 1)。雌蜂、雄蜂出茧日的过冷却点均达到最高, 分别为 - 12.35 ℃ 和 - 12.63 ℃, 均显著高于出茧前和出茧后(雌蜂 $F = 9.707$, $df = 4$, $P < 0.01$; 雄蜂 $F = 5.113$, $df = 4$, $P < 0.01$)。

在茧后的 204 d 雌蜂的过冷却点显著高于雄蜂($F = 0.453$, $df = 1$, $P < 0.01$), 其他日期雌蜂和雄蜂的过冷却点均没有显著性差异。

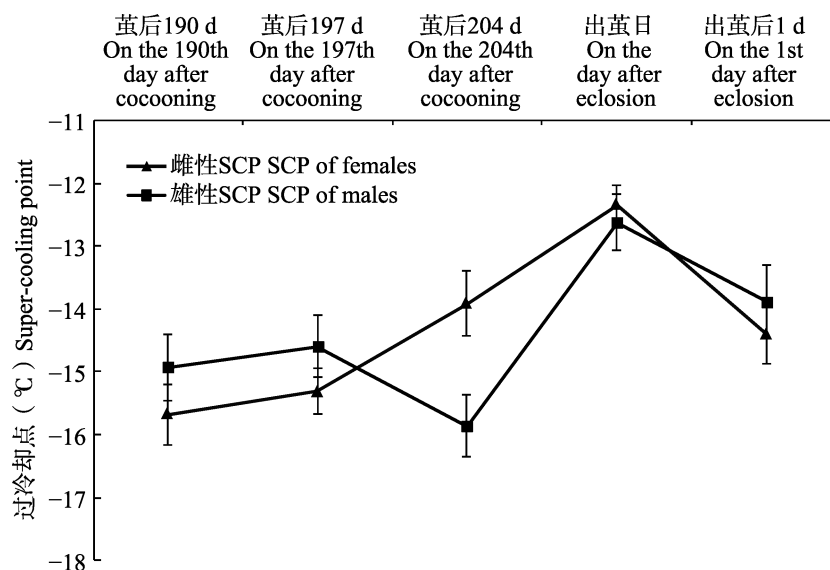


图 1 凹唇壁蜂滞育后阶段过冷却点的变化动态

Fig. 1 The dynamics of super-cooling point of *Osmia excavata* in the post-diapause stage

2.1.2 冰点 (FP) 的变化动态 雌蜂、雄蜂的冰点也呈现出相似性变化趋势, 出茧前呈先上升后下降再上升的波动变化, 出茧后冰点下降 (图 2), 总体变化趋势同过冷却点相似。雌蜂在出茧日的冰点达到最高, 为 -9.98°C , 显著高于茧后 190 d 和出茧后 1 d ($F = 7.628$, $df = 4$, $P < 0.01$); 雄蜂在出茧日的冰点也达到最高, 为 -8.91°C 。雄蜂茧后 190 d, 茧后 204 d 的冰点均显著低于其他日期 ($F = 13.326$, $df = 4$, $P < 0.01$)。

在茧后 197 d 和出茧后 1 d, 雄蜂的冰点显著高于雌蜂 ($F = 1.287$, $df = 1$, $P < 0.01$; $F = 0.357$, $df = 1$, $P < 0.01$)。其他日期雌蜂和雄蜂的冰点均没有显著差异。

2.2 滞育后阶段雌、雄凹唇壁蜂体内生化物质的变化动态

2.2.1 含水量的变化动态 雌蜂、雄蜂的含水量呈现出相似性变化趋势, 先上升后下降, 出茧后上升 (图 3)。其中雌蜂在茧后 204 d 的含水量

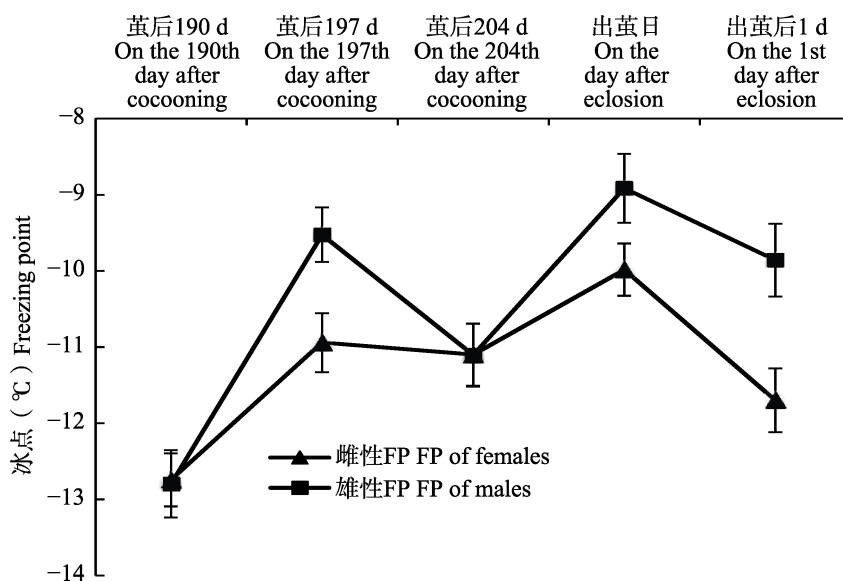


图 2 凹唇壁蜂滞育后阶段冰点的变化动态

Fig. 2 The dynamics of freezing point of *Osmia excavata* in the post-diapause stage

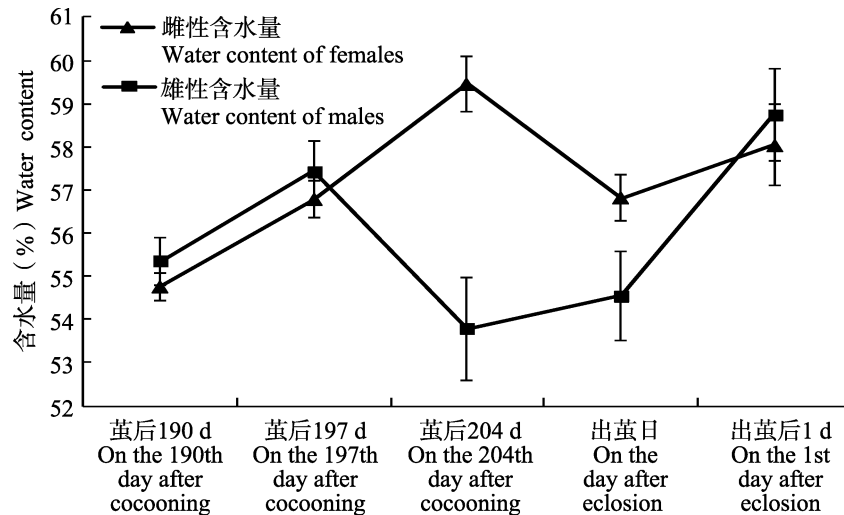


图3 凹唇壁蜂滞育后阶段含水量的变化动态

Fig. 3 The dynamics of water content of *Osmia excavata* in the post-diapause stage

达到最高 ($F = 7.595$, $df = 4$, $P < 0.01$), 显著高于其他日期; 雄蜂在茧后 204 d 的含水量达到最低 ($F = 4.744$, $df = 4$, $P < 0.01$).

在茧后的 204 d, 雌蜂的含水量显著高于雄蜂 ($F = 3.794$, $df = 1$, $P < 0.01$), 其他日期雌蜂和雄蜂的含水量均没有显著性差异。

2.2.2 脂肪含量的变化动态 雌蜂体内总脂肪含量在滞育后阶段各时间无显著性变化 ($F = 0.574$, $df = 4$, $P = 0.683$)。雄蜂在茧后 204 d、出茧日的脂肪含量显著高于茧后 190 d、197 d 及出茧后 1 d 的脂肪含量, 其中出茧后 1 d 脂肪含量

最低 ($F = 6.721$, $df = 4$, $P < 0.01$)。

除了茧后 197 d, 雌蜂和雄蜂的脂肪含量没有显著差异 ($F = 0.030$, $df = 1$, $P = 0.865$) 外, 在茧后的 190 d、204 d、出茧日、出茧后 1 d, 雌蜂的脂肪含量显著高于雄蜂 ($F = 0.335$, $df = 1$, $P < 0.01$; $F = 0.323$, $df = 1$, $P = 0.027$; $F = 0.913$, $df = 1$, $P < 0.01$; $F = 3.918$, $df = 1$, $P < 0.01$)。

2.2.3 蛋白质含量的变化动态 雌蜂、雄蜂的蛋白质含量呈现出不同的变化趋势。雌蜂在茧后 204 d 的蛋白质含量最高, 显著高于其他日期 ($F = 13.387$, $df = 4$, $P < 0.01$), 随后不断下降。

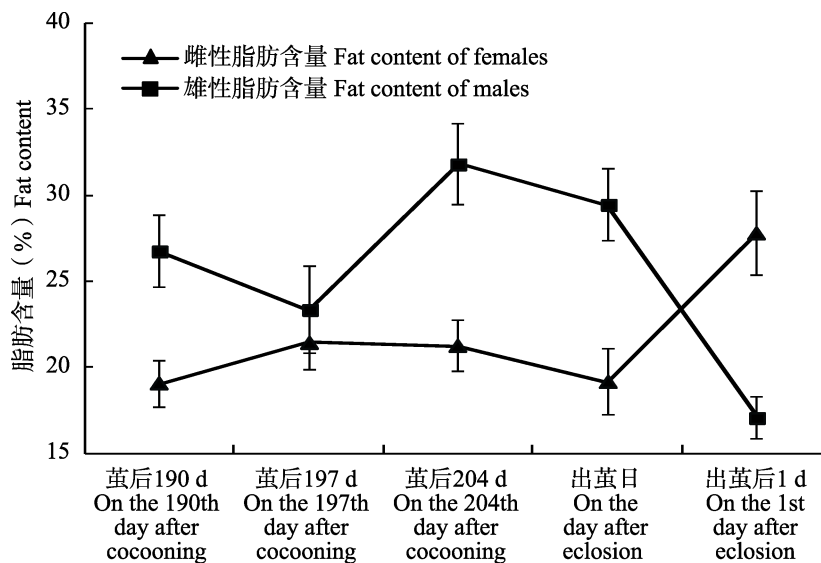


图4 凹唇壁蜂滞育后阶段脂肪含量的变化动态

Fig. 4 The dynamics of fat content of *Osmia excavata* in the post-diapause stage

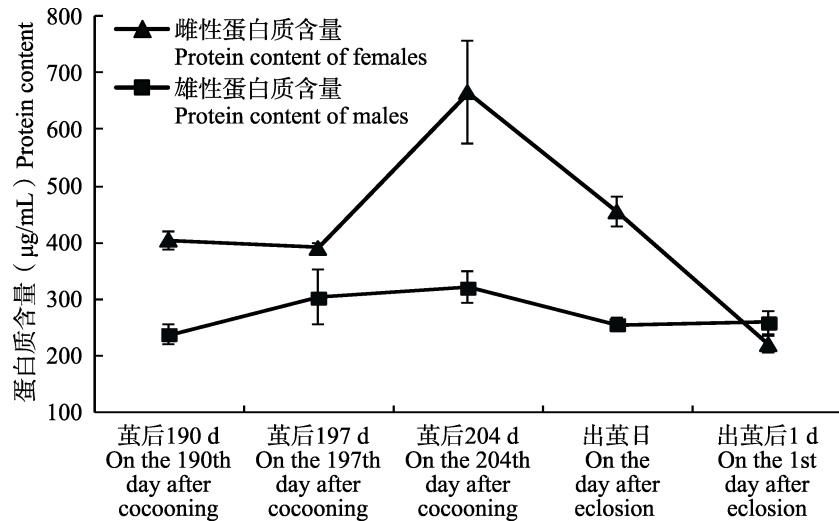


图 5 凹唇壁蜂滞育后阶段蛋白质含量的变化动态

Fig. 5 The dynamics of protein content of *Osmia excavata* in the post-diapause stage

雄蜂蛋白质含量在滞育后阶段无显著性变化 ($F = 1.608$, $df = 4$, $P = 0.189$).

在茧后 190 d、茧后 204 d、出茧日雌蜂的蛋白质含量显著高于雄蜂 ($F = 0.114$, $df = 1$, $P < 0.01$; $F = 11.130$, $df = 1$, $P < 0.01$; $F = 9.634$, $df = 1$, $P < 0.01$), 其他日期雌蜂和雄蜂的蛋白质含量均没有显著性差异。

2.2.4 海藻糖含量的变化动态 雌蜂、雄蜂的海藻糖含量呈现出相似性变化趋势。在出茧前, 海藻糖含量下降, 出茧日上升, 随后下降(图 6)。其中雌蜂在茧后 190 d 的海藻糖含量显著高于其

他日期 ($F = 36.505$, $df = 4$, $P < 0.01$)。雄蜂在茧后 197 d 的海藻糖含量显著高于其他日期 ($F = 31.859$, $df = 4$, $P < 0.01$)。

在出茧后的 190 d 雌蜂的海藻糖含量显著高于雄蜂 ($F = 3.588$, $df = 1$, $P < 0.01$), 其他日期雌蜂和雄蜂的海藻糖含量均没有显著性差异。

2.3 滞育后阶段雌、雄凹唇壁蜂体内酶类活性的变化动态

2.3.1 超氧化物歧化酶(SOD)活性的变化动态

雌蜂、雄蜂的超氧化物歧化酶活性呈现出相

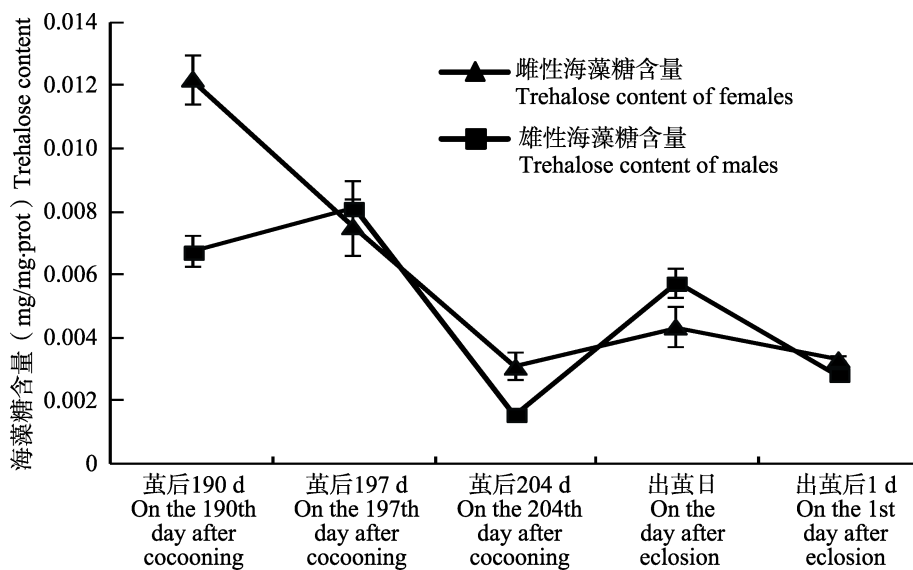


图 6 凹唇壁蜂滞育后阶段海藻糖含量的变化动态

Fig. 6 The dynamics of trehalose content of *Osmia excavata* in the post-diapause stage

似性变化趋势。在出茧前,超氧化物歧化酶活性逐渐下降,出茧后上升(图6)。雌蜂在出茧后1 d的超氧化物歧化酶活性显著高于其他各时间点($F = 2.888, df = 4, P = 0.028$),雄性个体在滞育后阶段超氧化物歧化酶活性变化无显著差异($F = 0.157, df = 4, P = 0.959$)。

雄性个体的超氧化物歧化酶活性在出茧前高于雌性个体,在出茧后雌、雄蜂没有差异。

2.3.2 过氧化氢酶(CAT)活性的变化动态 雌蜂、雄蜂的过氧化氢酶的活性在治愈后阶段没有

显著性变化(雌蜂, $F = 0.328, df = 4, P = 0.858$; $F = 0.832, df = 4, P = 0.512$)(图8)。

在茧后190、197、204 d、出茧后1 d,雄蜂的过氧化氢酶活性显著高于雌蜂($F = 5.039, df = 1, P = 0.038$; $F = 9.584, df = 1, P < 0.01$; $F = 19.268, df = 1, P < 0.01$; $F = 18.223, df = 1, P < 0.01$)。

2.3.3 乙酰胆碱酯酶(AchE)活性的变化动态

雌蜂、雄蜂的乙酰胆碱酯酶活性呈现出不同的变化趋势。其中,雌蜂在出茧前和出茧日乙酰

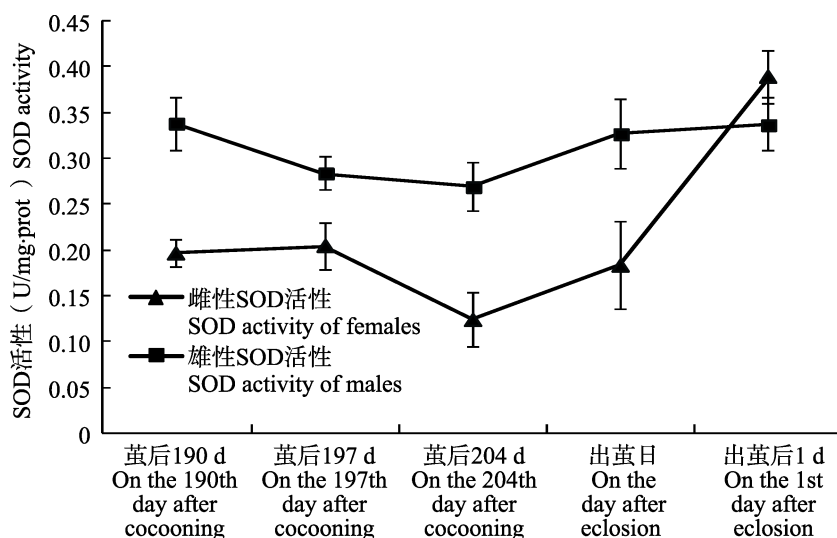


图7 凹唇壁蜂滞育后阶段超氧化物歧化酶(SOD)活性的变化动态

Fig. 7 The dynamics of SOD activity of *Osmia excavata* in the post-diapause stage

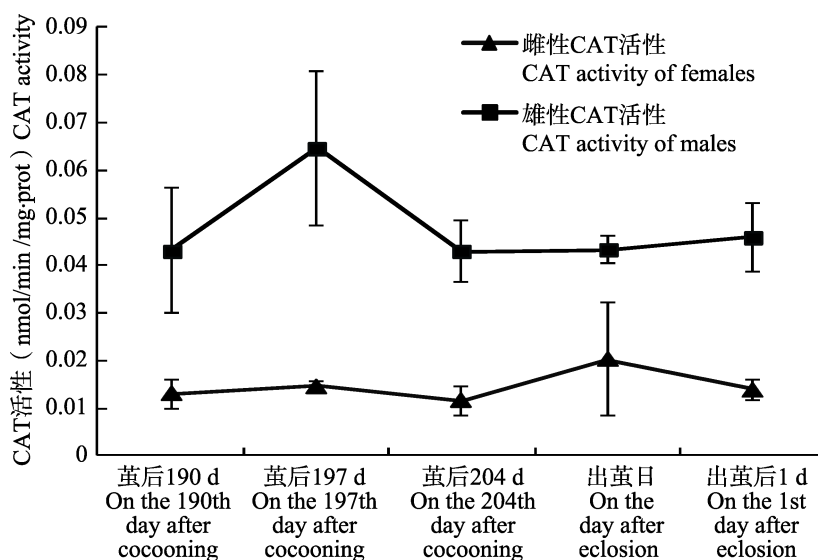


图8 凹唇壁蜂滞育后阶段过氧化氢酶(CAT)活性的变化动态

Fig. 8 The dynamic s of CAT activity of *Osmia excavata* in the post-diapause stage

胆碱酯酶活性没有显著性差异, 在出茧后 1 d 的乙酰胆碱酯酶活性明显提高, 并显著高于其他日期 ($F = 3.942$, $df = 4$, $P < 0.01$)。雄蜂的乙酰胆碱酯酶活性在茧后 190 d 显著高于其他日期 ($F = 3.159$, $df = 4$, $P = 0.023$), 随后下降, 之后各个日期之间没有显著性差异。

在茧后 190 d, 雄蜂的乙酰胆碱酯酶活性显著高于雌蜂的乙酰胆碱酯酶活性 ($F = 23.197$, $df =$

1, $P < 0.01$)。出茧后 1 d 雌蜂的乙酰胆碱酯酶活性显著高于雄蜂 ($F = 27.018$, $df = 1$, $P < 0.01$)。

2.4 过冷却点、冰点与体内生物物质的相关性分析

相关性分析结果显示, 滞育后阶段凹唇壁蜂的雌蜂、雄蜂的过冷却点、冰点与体内生物物质、酶活性均没有显著的相关性 (表 1)。

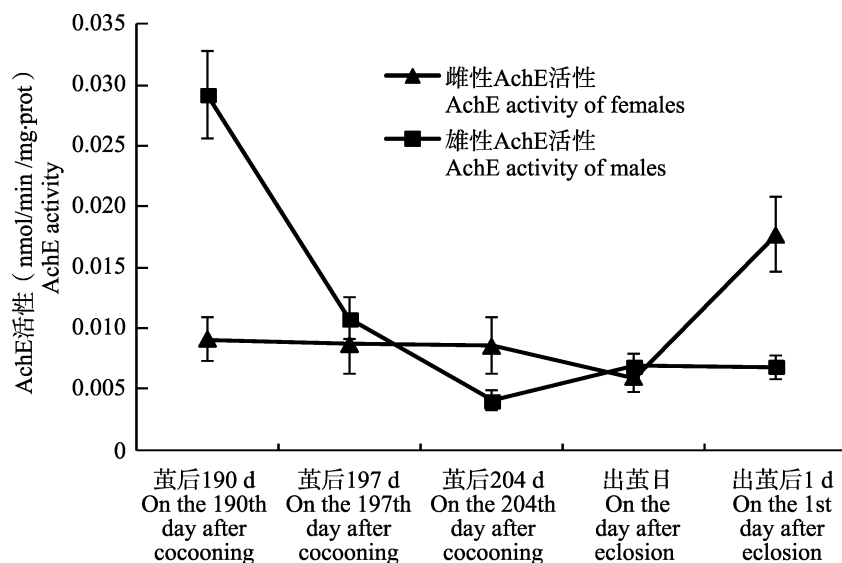


图 9 凹唇壁蜂滞育后阶段乙酰胆碱酯酶 (AchE) 活性的变化动态

Fig. 9 The dynamics of AchE activity of *Osmia excavata* in the post-diapause stage

表 1 凹唇壁蜂过冷却点、冰点与体内生化物质、酶活性的相关性

Table 1 Correlations between SCP, FP and biochemical substances, enzymes activity

生化物质 Biochemical substances		雌性 SCP SCP of females	雌性 FP FP of females	雄性 SCP SCP of males	雄性 FP FP of males
含水量	Person correlation	0.415	0.421	0.217	0.291
Water content	Sig. (two-tailed)	0.487	0.481	0.726	0.635
脂肪含量	Person correlation	- 0.102	- 0.150	- 0.248	- 0.226
Fat content	Sig. (two-tailed)	0.870	0.810	0.688	0.714
蛋白质含量	Person correlation	0.296	0.355	- 0.565	0.201
Protein content	Sig. (two-tailed)	0.629	0.557	0.321	0.746
海藻糖含量	Person correlation	- 0.702	- 0.648	0.283	0.056
Trehalose content	Sig. (two-tailed)	0.186	0.237	0.645	0.929
SOD 活性	Person correlation	- 0.147	- 0.262	0.603	- 0.104
SOD activity	Sig. (two-tailed)	0.814	0.670	0.281	0.868
CAT 活性	Person correlation	0.700	0.698	- 0.052	0.378
CAT activity	Sig. (two-tailed)	0.188	0.190	0.933	0.530
AchE 活性	Person correlation	- 0.285	- 0.429	- 0.181	- 0.753
AchE activity	Sig. (two-tailed)	0.643	0.471	0.771	0.142

3 讨论

凹唇壁蜂是我国重要的资源昆虫,掌握其滞育后的温度适应性是了解其生物学和合理饲养管理的关键。魏永平等(2001)测定了3月下旬凹唇壁蜂滞育后期雌雄蜂平均过冷却点(-18.40°C)和冰点(-11.78°C),与其相比,我们测定的过冷却点略高、结冰点差异不大。但是我们的测定结果显示,滞育后期凹唇壁蜂抗寒性是动态的,滞育后阶段过冷却点和冰点在出茧前逐渐升高、出茧后下降,反映了凹唇壁蜂在滞育后阶段抗寒性降低和出茧后抗寒性升高的过程。尤其是出茧日雌蜂、雄蜂过冷却点、结冰点显著升高,达到整个滞育后阶段的最高,也意味着此时凹唇壁蜂的抗寒性最低。这可能与凹唇壁蜂从一个相对静止状态向活跃状态转变时,相对虚弱有关。我们观察也发现了刚破茧而出的凹唇壁蜂活动僵硬、缓慢,对环境温度胁迫敏感的现象。总的来说,凹唇壁蜂雌蜂、雄蜂的抗寒性差异不大,整个滞育后阶段的过冷却点和结冰点均在 -8°C 以下,显示了其具有较强的抗寒能力。人们也正是利用其滞育后阶段的抗寒性强的特点,将滞育后阶段的凹唇壁蜂茧储存于 $0-5^{\circ}\text{C}$ 的低温环境中,延缓其出茧,根据花期授粉需要将壁蜂蜂茧取出使用。

在凹唇壁蜂的滞育后阶段,与抗寒性一样,其体内的生化物质也是动态变化的,雌雄蜂间有不同的特点。凹唇壁蜂在滞育后阶段体内含水量均先增加后降低,尤其是雌蜂在出茧日体内含水量显著降低,这可能与壁蜂出茧后的排泄行为有关。凹唇壁蜂出茧后,随着代谢旺盛、生化反应活跃,体内自由水含量随之增加。脂类是昆虫滞育越冬的主要能量物质(Hahn and Delinger, 2007), Dmochowska 等(2013)测定了红壁蜂 *O. rufa* 的脂肪含量为20%多,我们发现滞育后阶段凹唇壁蜂雌蜂的脂肪含量也为20%,相对稳定,而雄蜂脂肪含量显著高于雌蜂,雄蜂出茧后脂肪含量均迅速下降。与脂肪含量相反,雌蜂的蛋白质含量显著高于雄蜂,出茧后雌蜂的蛋白含

量迅速下降。以上结果显示了凹唇壁蜂雌雄蜂的差异,这可能与上一代雌蜂采集花粉团的大小和质量密切相关,为雌蜂后代准备的花粉团往往大于雄蜂,因此雌蜂得到的营养更多,长的个体更大(Bosch and Vicens, 2006; Radmacher and Strohm, 2010; Sedivy *et al.*, 2011)。

海藻糖作为昆虫血糖的主要成分,在其能量代谢和抗逆方面发挥着重要作用(于彩虹等, 2008)。昆虫的成虫活动,例如飞行过程中海藻糖的含量会迅速下降,表明海藻糖可作为葡萄糖的来源提供能量(Elben *et al.*, 2003)。我们发现,在滞育后阶段,凹唇壁蜂雌蜂、雄蜂体内的海藻糖均呈显著降低趋势,例如出茧日雌蜂的海藻糖含量比茧后190 d下降了64.5%,表明海藻糖代谢可能是凹唇壁蜂滞育后阶段能量消耗的重要途径。有研究显示,延长壁蜂的滞育后时间不仅导致储存的能量物质过度消耗,而且会使抗氧化系统的功能部分损失,可能会对壁蜂的存活和繁殖产生不利影响(Bosch and Blas, 1994; Bosch and Kemp, 2003, 2004; Dmochowska *et al.*, 2013)。从我们测定的相关酶活性的测定结果来看,滞育后阶段雄蜂的超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、乙酰胆碱酯酶活性高于雌蜂,显示雄蜂的个体较小,但是有比雌蜂功能更强的抗氧化系统,在越冬耐寒过程中的细胞损伤修复能力优于雌蜂。在出茧前,超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的活性比较稳定,仅雄蜂的乙酰胆碱酯酶在滞育后迅速降低。出茧后,雌蜂的酶活显著升高。

总之,凹唇壁蜂是我国北方优异的传粉昆虫资源,发挥着非常重要的传粉增产生态服务功能,其滞育后阶段抗寒性较强,雌蜂、雄蜂的生化物质含量、酶活均存在比较大的差异,其生物学和生态学意义值得深入研究。

参考文献 (References)

- Bosch J, Blas M, 1994. Effect of over-wintering and incubation temperatures on adult emergence in *Osmia cornuta* Latr (Hymenoptera, Megachilidae). *Apidologie*, 25(3): 265–277.
- Bosch J, Kemp WP, 2003. Effect of wintering duration and temperature on survival and emergence time in males of the

- orchard polli-nator *Osmia lignaria* (Hymenoptera: Megachilidae). *Environmental Entomology*, 32(4): 711–716.
- Bosch J, Kemp WP, 2004. Effect of pre-wintering and wintering temperature regimes on weight loss, survival, and emergence time in the mason bee *Osmia cornuta* (Hymenoptera: Megachilidae). *Apidologie*, 35(5): 469–479.
- Bosch J, Sgolastra F, Kemp WP, 2010. Timing of eclosion affects diapause development, fat body consumption and longevity in *Osmia lignaria*, a univoltine, adult-wintering solitary bee. *Journal of Insect Physiology*, 56(12): 1949–1957.
- Bosch J, Vicens N, 2006. Relationship between body size, provisioning rate, longevity and reproductive success in females of the solitary bee *Osmia cornuta*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 60(1): 26–33.
- Cao YB, Zhou XH, Ye BH, Li LL, Lu ZB, Xu H, Li WQ, Yu Y, Men XY, 2017. Restriction factors to *Osmia excavata* Alfken populations in apple orchards of Shandong Province. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 54(4): 652–659. [曹衍斌, 周仙红, 叶保华, 李丽莉, 卢增斌, 徐衡, 李文强, 于毅, 门兴元, 2012. 山东苹果园凹唇壁蜂种群的制约因子分析. 应用昆虫学报, 54(4): 652–659.]
- Colineta H, Vernonb P, Hance T, 2007. Does thermal-related plasticity in size and fat reserves influence super-cooling abilities and cold-tolerance in *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Aphidiinae) mummies. *Journal of Thermal Biology*, 32 (27): 374–382 .
- Dmochowska K, Giejdasz K, Fliszkiewicz M, Żółtowska K, 2013. Prolonged postdiapause: Influence on some indicators of carbohydrate and lipid metabolism of the red mason bee, *Osmia rufa*. *Journal of Insect Science*, Available online: <http://www.insectscience.org/13.77>.
- Elbein AD, Pastuszak I, Pan YB, Carroll D, 2003. New insights on trehalose: a multifunctional molecule. *Glycobiology*, 13(4): 17–27.
- Hahn DA, Denlinger DL, 2007. Meeting the energetic demands of insect diapause: nutrient storage and utilization. *Journal of Insect Physiology*, 53(8): 760–773.
- Kemp WP, Bosch J, 2005. Effect of temperature on *Osmia lignaria* (Hymenoptera: Megachilidae) prepupa–adult development, survival, and emergence. *Journal of Economic Entomology*, 98(6): 1917–1923.
- Krunic MD, Stanisavljevic LZ, 2006. Super-cooling points and diapauses termination in overwintering adults of orchard bees *Osmia cornuta* and *O. rufa* (Hymenoptera: Megachilidae). *Bulletin of Entomological Research*, 96: 323–326.
- Liu C, Wang GP, 2012. The application technology of *Osmia excavata* Alfken in cold field orchard. *Forest By-product and Speciality in China*, (4): 46–47. [刘畅, 王贵平, 2012. 凹唇壁蜂在寒地果园的应用技术. 中国林副特产, (4): 46–47.]
- Radmacher S, Strohm E, 2010. Factors affecting offspring body size in the solitary bee *Osmia bicornis* (Hymenoptera, Megachilidae). *Apidologie*, 41 (2): 169–177.
- Sedivy C, Muller A, Dorn S, 2011. Closely related pollen generalist bees differ in their ability to develop on the same pollen diet: evidence for physiological adaptations to digest pollen. *Functional Ecology*, 25(3): 718–725.
- Wei YP, Yuan F, Zhang YL, 2001. Study on the cold resistance and reproductive potential of *Osmia*. *Chinese Bulletin of Entomology*, 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.]
- Yu CH, Lu D, Lin RH, Wang Xj, Jiang H, Zhao F, 2008. Trehalose—the blood sugar in insects. *Chinese Bulletin of Entomology*, 45(5): 832–837. [于彩虹, 卢丹, 林荣华, 王晓军, 姜辉, 赵飞, 2008. 海藻糖——昆虫的血糖. 昆虫知识, 45(5): 832–837.]
- Zhou WR, 2002. New Technology of *Osmia* Pollination to Fruit Tree. Beijing: The Jindun Publishing House. 25–28. [周伟儒, 2002. 果树壁蜂授粉新技术. 北京: 金盾出版社. 25–28.]