

温度对柑橘大实蝇滞育蛹能量结构与代谢的影响*

周志雄** 夏振洲 袁江江 王在凌 李传仁***

(长江大学昆虫研究所, 荆州 434025)

摘 要 【目的】为从生理生化水平上探讨越冬温度对柑橘大实蝇 *Bactrocera minax* (Enderlein) 滞育蛹的调控生理机制。【方法】测定了不同恒温条件下柑橘大实蝇越冬蛹滞育期虫体粗脂肪和糖类物质含量的变化动态。【结果】低温(12℃)越冬促进了虫体粗脂肪的积累, 随温度升高, 粗脂肪含量逐渐减少; 总糖含量随越冬温度升高, 趋于倒“U”型变化; 虫体海藻糖含量先升后降(24℃除外), 随温度上升, 海藻糖含量最高值时期逐渐提前, 且最大值逐渐降低; 虫体糖原含量变化趋势各不相同, 随温度升高, 糖原含量最高值时期逐渐接近滞育解除期, 越冬温度升高促进了柑橘大实蝇越冬蛹滞育期后期糖原的积累。此外, 16℃下越冬, 同时期各物质的含量均低于其它处理, 说明在16℃下越冬加快了虫体能量物质的代谢或转换。【结论】不同恒温越冬, 柑橘大实蝇越冬滞育期能量代谢方式不同, 表明越冬温度与越冬蛹的能量代谢特点存在密切的关系。本研究结果对深入了解柑橘大实蝇越冬蛹能量代谢生理机制具有一定的参考价值。

关键词 柑橘大实蝇; 滞育; 越冬温度; 能量代谢

Effect of temperature on the energy metabolism and related enzyme activity of the Chinese citrus fruit fly, *Bactrocera minax* (Enderlein), during diapause

ZHOU Zhi-Xiong** XIA Zhen-Zhou YUAN Jiang-Jiang WANG Zai-Ling LI Chuan-Ren***

(Institute of Entomology, Yangtze University, Jingzhou 434025, China)

Abstract [Objectives] To understand the physiological and biochemical mechanisms regulating the overwintering temperature of diapausing pupae of the Chinese citrus fruit fly, *Bactrocera minax*. [Methods] Crude fat, total carbohydrate, trehalose and glycogen content of diapausing pupae at different overwintering temperatures were measured and compared. [Results] A low overwintering temperature (12℃) promoted the accumulation of crude fat, which gradually decreased with temperature. The trend in total carbohydrate content tended to follow an inverted “U” shape with increasing temperature. Similarly, the trend in trehalose content was of the “up-down” type (except at 24℃). Higher overwintering temperatures gradually advanced the peak of trehalose content but also gradually decreased the maximum trehalose content of diapausing pupae. The trend in glycogen content was different; higher overwintering temperatures caused glycogen content to peak closer to the period of diapause termination and also promoted the accumulation of glycogen in the late diapause period. In addition, levels of all substances measured were lowest at 16℃, indicating that overwintering at this temperature accelerated the metabolism, or conversion, of energy-related substances in pupae. [Conclusion] These results suggest that different overwintering temperatures change the energy metabolism of pupae, and that overwintering temperature is closely related to the energy metabolism characteristics of diapausing pupa. The results of this study aid understanding the physiological mechanisms of energy metabolism in the Chinese citrus fruit fly.

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金面上项目(31572010)

**第一作者 First author, E-mail: zhouzhixiong0227@163.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: 13986706558@163.com

收稿日期 Received: 2019-04-02; 接受日期 Accepted: 2019-04-26

Key words *Bactrocera minax*; diapause; overwintering temperature; energy metabolism

滞育是昆虫长期适应不良自然环境而获得的一种生存本能 (Tauber *et al.*, 1986), 在滞育期昆虫代谢速率极低, 无形态变化, 也不存在器官发育和组织分化, 但其生理过程仍在进行, 如神经分泌、脂类代谢及糖类代谢等 (Dubois *et al.*, 1956; Haykawa and Chino, 1981; Moreau *et al.*, 1986)。这种特殊的生理代谢机制使得昆虫在极端环境条件下能够成功存活 (Mansingh, 1971; Storey and Storey, 1988; Denlinger, 1991), 因此, 揭示能量物质与滞育的相关性也可作为滞育后昆虫发生量与发生期预测预报的一种依据。

昆虫在滞育期, 主要以消耗自身滞育前储存的能量物质来度过漫长的滞育期, 且消耗代谢减慢 (Hahn and Denlinger, 2007, 2011)。滞育前期储存的物质主要有脂类、碳水化合物和氨基酸等 (丁惠梅等, 2011)。一般情况下, 滞育昆虫在滞育前储存的脂类物质是应对能量缺乏时期的主要营养物质 (Arrese and Soulages, 2010; Hahn and Denlinger, 2011; 郭婷婷等, 2013; 李丹等, 2014; 刘瑶, 2014; Ren *et al.*, 2016), 为生命活动提供营养能量来源和水分, 并且与糖、醇等物质之间相互转化。滞育期间昆虫储存的碳水化合物有海藻糖、糖原、甘油、山梨醇等物质, 主要有两个方面的作用, 一方面为滞育期间昆虫提供能量、维持滞育期间的呼吸代谢, 另一方面作为越冬冷冻保护物质, 保证滞育昆虫在低温下的存活 (任小云等, 2016)。由此可见, 滞育昆虫储存的内源物质对昆虫滞育期及滞育结束后发育有着极其重要的作用。

柑橘大实蝇 *Bactrocera minax* (Enderlein) 是我国西南和华中地区危害柑橘的主要害虫, 其年生活史相对简单, 一年发生一代, 9月下旬至11月上旬老熟幼虫从落地蛆果中爬出出土化蛹, 以“0”级蛹在土壤中专性滞育越冬, 翌年春季羽化, 成虫于5月下旬至7月上旬间产卵于柑橘幼果中, 幼虫于8月中旬开始孵化, 并取食柑橘果实造成危害 (范京安等, 1994; 汪兴鉴和罗禄怡,

1995; 鲁红学等, 1997)。有研究表明, 温度和土壤湿度是影响柑橘大实蝇成虫羽化出土的主要因子 (罗禄怡和陈长风, 1987), 但未见从生理生化水平上探讨温度对滞育蛹能量代谢的影响。因此, 本研究拟通过测定不同越冬温度下, 柑橘大实蝇体内生化物质含量的变化动态, 从生理生化角度出发, 以期揭示越冬温度对柑橘大实蝇滞育蛹能量代谢特点影响, 旨在为柑橘大实蝇成虫发生量的预测预报及防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

2016年10月初, 从湖北松滋市温州蜜柑园采集柑橘落果, 在实验室剥出落果中柑橘大实蝇幼虫。在采集供试虫源之前, 先将河沙烘干, 然后添加蒸馏水将河沙湿度调至15%, 再将湿河沙盛于直径20 cm花盆中; 将柑橘大实蝇幼虫置于室内装有湿河沙的花盆中自然化蛹, 每隔2 d检视花盆中柑橘大实蝇的化蛹进度并捡出蛹, 以前后2次捡出的蛹为同期蛹。

1.2 试验处理

选取体型相近的同期蛹800头, 随机分成4组, 按50头/盆分别置于12、16、20、24℃光照培养箱中饲养, 并保持花盆中河沙湿度在15%-20%之间。依次收集化蛹10、30、70、110 d的“0”级蛹样品各4×5头, 用液氮冷冻后置于-80℃冰箱保存待测, 但鉴于柑橘大实蝇蛹在24℃条件下的“0”级蛹期仅持续50 d左右, 故该处理仅收集化蛹10、30、50 d的样品。

1.3 所用试剂与器材

主要试剂: 三氯乙酸、蒽酮、葡萄糖、浓硫酸、无水乙醇、氢氧化钾、石英砂等, 以上均为分析醇 (AR)。蒽酮试剂现配现用, 用棕色瓶装。

主要仪器: 分析天平、紫外分光光度计、高速离心机、烘箱、电热恒温水浴锅。

1.4 测定方法

每个处理 5 头蛹, 4 次重复。用蒸馏水冲洗干净, 吸水纸吸干后称重。总糖、海藻糖和糖原含量的测定采用蒽酮硫酸法, 具体操作参考件均祥等 (2004) 及丁惠梅等 (2011) 的方法, 用紫外分光光度计于 620 nm 下测定吸光值; 粗脂肪含量测定参照 Colineta 等 (2007) 的测定方法。

1.5 数据处理

所有试验数据均采用 SPSS (SPSS Inc., Chicago, USA) 数据处理系统进行分析。柑橘大实蝇越冬蛹滞育期各指标含量之间的差异进行单因素方差分析, 平均数差异均采用 Tukey 法多重比较。图表采用 Sigmaplot12.0 和 EXCEL 软件进行制作。

2 结果与分析

2.1 温度对柑橘大实蝇越冬蛹粗脂肪含量动态的影响

不同越冬温度条件下, 在滞育期柑橘大实蝇虫体粗脂肪含量变化不同 (图 1)。低温 12℃ 时, 虫体粗脂肪含量呈现逐渐增加的趋势, 在 110 d 时粗脂肪含量最高为 $(232.68 \pm 18.64) \mu\text{g}/\text{mg}$, 显著高于前期。随越冬温度升高, 滞育期虫体粗脂肪含量逐渐减少, 且在 110 d (16℃ 和 20℃) 和 50 d (24℃) 时显著最低, 分别为 $(115.30 \pm 9.92) \mu\text{g}/\text{mg}$ 、 $(121.93 \pm 5.14) \mu\text{g}/\text{mg}$ 和 $(102.63 \pm 5.45) \mu\text{g}/\text{mg}$ 。结果表明, 低温越冬, 滞育期虫体粗脂肪逐渐积累; 高温条件下, 虫体粗脂肪逐渐消耗, 但高温 (24℃) 促使虫体含水量上升。

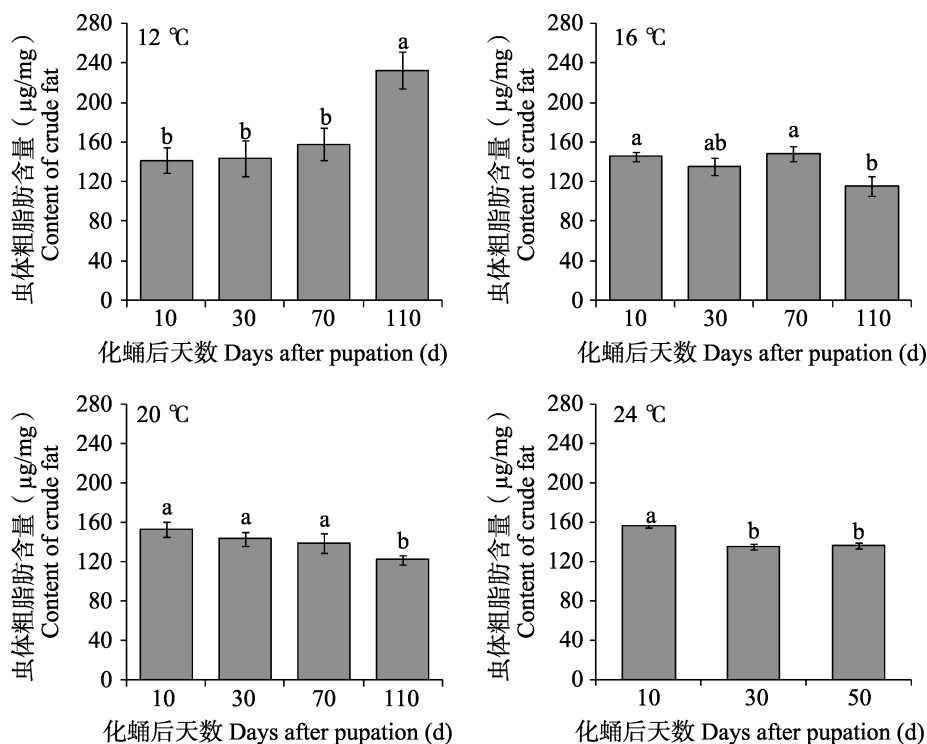


图 1 滞育期柑橘大实蝇虫体粗脂肪含量

Fig. 1 The content of crude fat of *Bactrocera minax* during diapause period under different temperature

柱上标有不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。下同。

Histograms with different lowercase letters indicate significant difference at 0.05 level. The same below.

2.2 温度对柑橘大实蝇越冬蛹糖类物质含量动态的影响

不同越冬温度对柑橘大实蝇滞育期虫体总

糖含量变化趋势的影响如图 2 所示。12℃ 条件下, 虫体总糖含量呈现出降-升-降的变化趋势, 在 70 d 时, 虫体总糖含量最高为 $(12.97 \pm 1.67) \mu\text{g}/\text{mg}$;

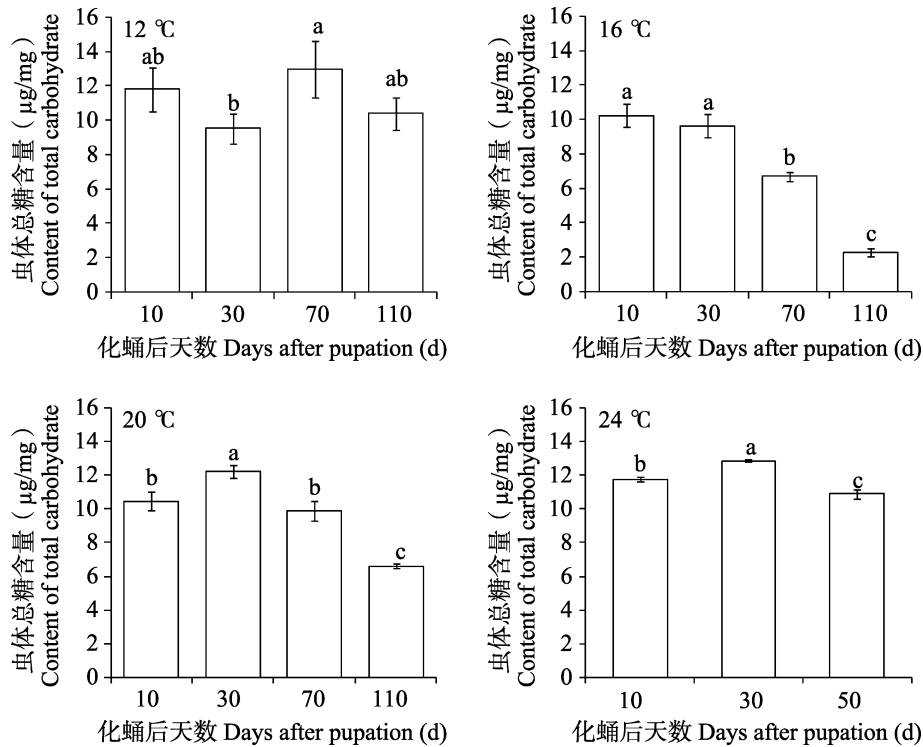


图2 滞育期柑橘大实蝇虫体总糖含量

Fig. 2 The content of total carbohydrate of *Bactrocera minax* during diapause period under different temperature

16 ℃时, 虫体总糖含量呈现逐渐下降的变化趋势, 最高和最低含量分别为 $(10.25 \pm 0.7) \mu\text{g/mg}$ 和 $(2.28 \pm 0.22) \mu\text{g/mg}$; 在 20 ℃和 24 ℃下, 虫体总糖含量呈现倒“U”型的变化模式, 在 30 d 时含量均显著高于其它时期, 分别为 $(12.19 \pm 0.36) \mu\text{g/mg}$ 和 $(12.87 \pm 0.05) \mu\text{g/mg}$ 。结果表明, 不同越冬温度下, 柑橘大实蝇虫体总糖含量变化趋势不同, 随滞育期越冬温度升高, 变化趋势趋于相似。

图 3 表示滞育期柑橘大实蝇虫体海藻糖含量变化趋势, 海藻糖含量占总糖含量 50% 以上, 因此, 糖类物质代谢以海藻糖为主。在 12 ℃条件下, 虫体海藻糖含量一直维持在较高水平, 在 70 d 时最高为 $(10.08 \pm 0.24) \mu\text{g/mg}$, 各采样点时期含量无显著差异; 16 ℃和 20 ℃条件下, 虫体海藻糖含量呈现倒“U”型的变化趋势, 均在 30 d 时含量达到最高, 分别为 $(8.67 \pm 0.79) \mu\text{g/mg}$ 和 $(8.06 \pm 0.93) \mu\text{g/mg}$; 在 24 ℃下, 虫体海藻糖含量在滞育期逐渐减少, 10 d 和 50 d 分别达到最高和最低, 为 $(7.30 \pm 0.39) \mu\text{g/mg}$ 和 $(4.69 \pm$

$0.30) \mu\text{g/mg}$ 。结果表明, 随滞育期温度上升, 虫体海藻糖含量最高点时期逐渐提前, 且随温度升高, 虫体海藻糖含量最大值逐渐降低。由此看出, 越冬温度上升加速了柑橘大实蝇海藻糖的代谢。

从图 4 中可以看出, 在滞育期柑橘大实蝇虫体糖原含量保持在较低的水平, 尤其在 16 ℃条件下虫体海藻糖含量在 $(0.04 \pm 0.01) \sim (0.15 \pm 0.02) \mu\text{g/mg}$ 之间, 滞育期糖原含量呈现降-升-降的变化趋势, 在 30 d 和 70 d 时分别达到最低和最高值; 12 ℃时, 前期糖原含量维持不变, 30 d 后逐渐减少, 30 d 之前的含量显著高于 30 d 之后; 20 ℃条件下, 在滞育期糖原含量逐渐上升, 110 d 时达到最高值 $(0.81 \pm 0.05) \mu\text{g/mg}$; 在 24

℃下, 滞育期虫体糖原含量呈现倒“U”型变化趋势, 30 d 时含量最高为 $(0.92 \pm 0.01) \mu\text{g/mg}$ 。不同越冬温度下, 糖原代谢与海藻糖不同, 随温度升高, 糖原含量最高值时期更接近滞育解除期。结果表明, 越冬温度升高促进了柑橘大实蝇越冬蛹滞育后期糖原的积累, 可能为滞育解除期能量需求做准备。

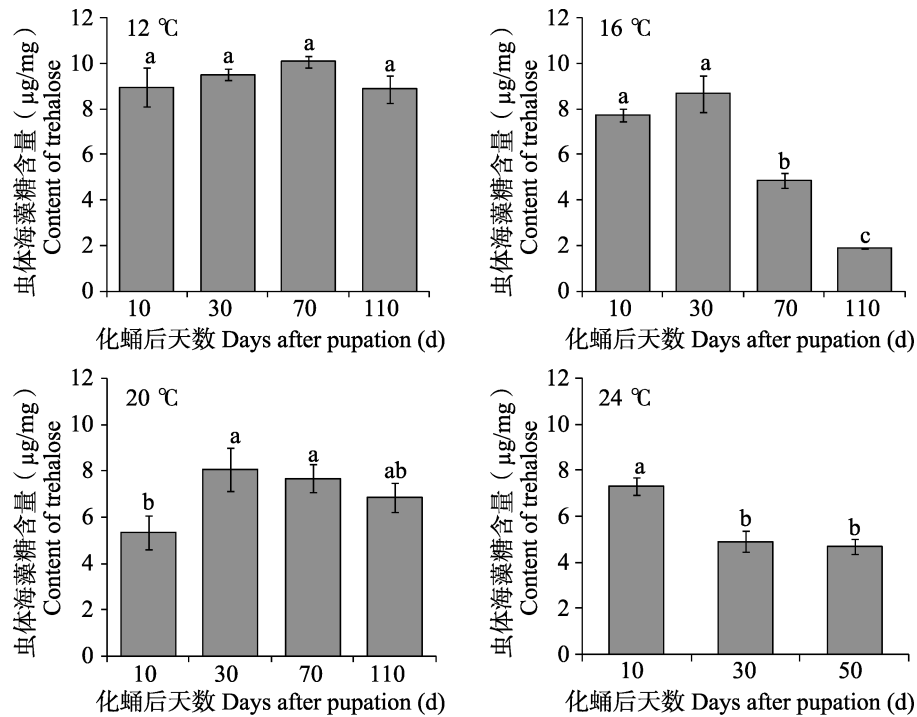


图3 滞育期柑橘大实蝇虫体海藻糖含量

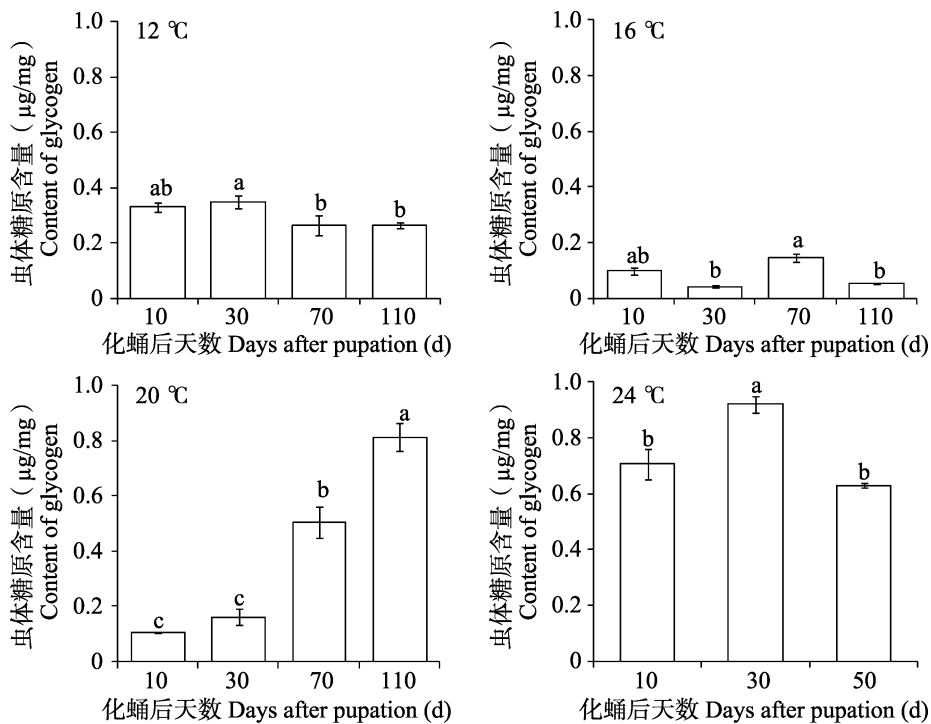
Fig. 3 The content of trehalose of *Bactrocera minax* during diapause period under different temperature

图4 滞育期柑橘大实蝇虫体糖原含量

Fig. 4 The content of glycogen of *Bactrocera minax* during diapause period under different temperature

2.3 温度对柑橘大实蝇越冬蛹能量代谢的影响

不同越冬温度下,同时期虫体能量物质含量

比较如表1所示。不同温度处理10 d时,粗脂肪含量随温度逐渐升高,24 °C下含量最高为 (155.59 ± 0.92) μg/mg,总糖含量无显著变化,

海藻糖与糖原含量变化趋势相似,随温度升高呈现“U”型变化;处理 30 d,虫体粗脂肪含量无显著差异,总糖含量逐渐升高,24 下最高为(12.87±0.05) μg/mg,海藻糖含量逐渐减少,24 条件下海藻糖含量显著低于其它温度,糖原含量随温度上升依然呈现“U”型变化;处理 70 d 后,虫体粗脂肪含量无显著变化,总糖、海藻糖和糖原含量均随温度升高呈现“U”变化,16 条件下含量最低;处理 110 d 后,12 条件下虫体粗脂肪、总糖和海藻糖含量均显著高于

其它处理,20 处理下糖原含量最高,同时 16 处理下,能量物质含量均显著最低。结果表明,不同温度处理下,越冬初期(10 d)低温促进粗脂肪的积累,高温(除 24 之外)加快了海藻糖与糖原的消耗;越冬中期(30 d),高温促进了虫体总糖的积累和加快了海藻糖的消耗;越冬后期(70 d 和 110 d),低温促进粗脂肪的积累,高温和低温促进了总糖、海藻糖和糖原的积累,中等温度(16)加快了总糖、海藻糖和糖原的消耗。

表 1 滞育期不同温度下柑橘大实蝇越冬蛹能量物质含量
Table 1 Content of energy substance of *Bactrocera minax* during diapause period under different temperature

化蛹后天数 Days after pupation (d)	温度 Temperature (°C)	粗脂肪 Crude fat (μg/mg)	总糖 Total carbohydrate (μg/mg)	海藻糖 Trehalose (μg/mg)	糖原 Glycogen (μg/mg)
10	12	135.63±4.79b	11.80±1.27a	8.96±0.86a	0.33±0.02b
	16	145.64±4.86ab	10.25±0.70a	7.75±0.28ab	0.10±0.01c
	20	153.14±8.02a	10.42±0.55a	5.32±0.75c	0.11±0.01c
	24	155.59±0.92a	11.76±0.14a	7.30±0.38b	0.71±0.05a
30	12	134.83±5.00a	9.52±0.85b	9.52±0.27a	0.35±0.03b
	16	134.43±8.79a	9.63±0.67b	8.67±0.79a	0.04±0.004d
	20	140.25±4.79a	12.19±0.36a	8.06±0.93a	0.16±0.03c
	24	134.83±2.70a	12.87±0.05a	4.91±0.46b	0.92±0.03a
70	12	150.08±5.46a	12.97±2.36a	10.06±1.43a	0.26±0.04b
	16	148.60±7.81a	6.71±0.27b	4.87±0.32b	0.15±0.02b
	20	143.63±3.27a	9.85±0.58ab	7.67±0.59a	0.51±0.06a
110	12	224.6±11.36a	10.39±0.95a	8.88±0.59a	0.26±0.01b
	16	115.30±9.92b	2.28±0.22c	1.90±0.01c	0.052±0.001c
	20	121.93±5.14b	6.58±0.13b	6.83±0.61b	0.81±0.05a

表中数据为平均值±标准差,同时期同一成分不同温度下进行差异比较,不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。
Data are mean±SD, different comparison of different components under different temperatures at the same time, and different lowercase letters indicate significant difference at 0.05 level.

3 讨论

3.1 越冬温度与柑橘大实蝇越冬蛹粗脂肪含量

脂质作为昆虫长期储存的高能成分,常在滞育开始前积累,随着滞育时间的增加和滞育期间的代谢需求,转化为其它物质,以此保证昆虫在滞育期间的存活。多数情况下,温度影响滞育昆虫的脂肪代谢(丁慧梅等,2011)。Downer 和

Matthews (1976) 研究证实在一些昆虫中,脂肪消耗速率与温度有密切的关系,温度高,脂肪消耗速率高,反之则低。本研究结果表明,随滞育时间的延长,低温(12)促进了虫体粗脂肪的积累,随越冬温度升高,滞育期越冬蛹逐渐消耗虫体脂肪,表明在柑橘大实蝇滞育期,脂肪可能是其主要的抗寒物质。随滞育期温度的升高(20 与 24 的持续恒温均高于柑橘大实蝇

越冬期所经历的环境温度),一方面,虫体粗脂肪可能转化成其它代谢需求物质来保障昆虫个体完成越冬滞育期;另一方面,持续高温可能使柑橘大实蝇在采样后期(110 d)已进入滞育解除期,脂质的转换是为个体滞育后的生长发育和组织分化提供能量需求。

3.2 越冬温度与柑橘大实蝇越冬蛹糖类物质含量

目前,滞育昆虫糖类研究集中在总糖、海藻糖和糖原含量的变化,部分研究针对葡萄糖、果糖等小分子糖。本文研究结果表明,不同越冬温度下,柑橘大实蝇越冬蛹虫体总糖含量变化不同,随滞育期越冬温度升高,变化趋势趋于相似,呈现倒“U”型变化,说明随温度升高,在短期内,虫体总糖含量会有显著的上升,此过程的出现可能是越冬蛹在高温刺激下迅速产生总糖积累,为高温胁迫后期虫体的能量需求做准备。

海藻糖是大多数昆虫的血糖,是昆虫糖分转运的主要形式(王荫长,2001),本文测定结果中,海藻糖含量达到总糖含量的50%及以上,说明海藻糖是柑橘大实蝇虫体内主要的糖类物质。同时,海藻糖作为越冬昆虫的抗冻保护物质存在(秦加敏等,2015),虫体内海藻糖含量会随着温度的变化而变化。本文研究结果表明,在不同越冬温度下,虫体海藻糖含量变化出现不同变化趋势。在12、16、20℃条件下,虫体海藻糖含量呈现倒“U”型变化,此结果与滞育昆虫红色种子象甲 *Smicronyx fulvus*、赤松毛虫 *Dendrolimus spectabilis* 和螟虫 *Enosima leucotaeniella* 滞育期海藻糖含量变化趋势一致(Rojas et al., 1991; Goto et al., 1993, 韩瑞东等, 2005),亦与自然条件下柑橘大实蝇滞育期虫体海藻糖含量变化趋势一致(王佳等, 2018),但高温(24℃)条件下越冬,虫体海藻糖含量随化蛹后天数延长逐渐显著降低。因此,推测海藻糖在柑橘大实蝇滞育期也承担抗寒作用,但可能主要还是作为营养物质来维持滞育蛹的生命活动。同时,海藻糖在滞育期后期的减少可能为昆虫几丁质的合成做准备,从而保证越冬蛹正常的发育变态(Chen et al., 2010; Shukla et al.,

2015; Xiong et al., 2016; Yang et al., 2017; Zhao et al., 2016)。

相对于海藻糖,不同温度下,滞育期柑橘大实蝇越冬蛹糖原含量保持在一个较低的水平,而海藻糖的积累主要由糖原分解代谢而产生。相关研究表明糖原代谢分解有糖-醇积累和海藻糖积累两种类型(Hayakawa and Chino, 1982)。本文研究结果显示,在不同越冬条件下,糖原含量的变化趋势各不相同,且变化的幅度远小于海藻糖,同时,相同时间段内变化趋势也不尽相同,此结果表明,柑橘大实蝇越冬蛹体内糖原在海藻糖积累的过程中所占成分较低,即糖原非海藻糖积累的主要来源,柑橘大实蝇越冬蛹体内糖原代谢非海藻糖积累型,而是否符合糖-醇积累型,有待进一步验证。

本试验结果表明,在低温(12℃)和高温(20℃和24℃)条件下越冬,虫体糖类物质含量基本显著高于同时期在16℃下越冬个体的含量,且在16℃下,随滞育期的延长,虫体糖类物质含量基本呈现逐渐下降的趋势,由此可以看出,在16℃下越冬,越冬个体的能量消耗显著高于其它温度,出现这种代谢特点,一方面,16℃可能是柑橘大实蝇蛹发育的最适温度(柯勇, 2013),此条件下,越冬个体发育进度与食物发生同步,完成个体发育周期;另一方面,低温可能延迟了个体发育,其滞育解除期可能在采样期110d之后,滞育期甚至更长,其代谢特征显著延迟,同样,高温胁迫可能促进了个体越冬发育,显著缩短了滞育期,代谢特征提前发生,但同时以增加个体越冬死亡率和减少羽化后成虫的寿命为代价,以致明显破坏了柑橘大实蝇世代的延续。

参考文献 (References)

- Arrese EL, Soulages JL, 2010. Insect fat body: energy, metabolism, and regulation. *Annual Review of Entomology*, 55(1): 207–225.
- Chen J, Tang B, Chen HX, Yao Q, Huang XF, Chen J, Zhang DW, Zhang WQ, 2010. Different functions of the insect soluble and membrane-bound trehalase genes in chitin biosynthesis revealed by RNA interference. *PLoS ONE*, 5(4): e10133.

- 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(7): 374–382.
- Denlinger DL, 1991. Relationship between cold hardiness and diapause//Lee RE Jr, Denlinger DL (eds.). *Insects at Low Temperature*. New York: Chapman and Hall. 174–198.
- Ding HM, 2011. Study on dynamic changes of biochemical in dices of the peach fruit moth (*Carposina sasakii* Matsumura) during diapause period. Master dissertation. Beijing: Beijing Forestry University. [丁惠梅, 2011. 桃小食心虫滞育期间生化指标含量的动态变化. 硕士学位论文. 北京: 北京林业大学.]
- Ding HM, Ma G, Wu SN, 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.]
- Downer RGH, Matthews JR, 1976. Pattern of lipid distribution and utilization in insects. *American Zoologist*, 16(4): 733–745.
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3): 350–356.
- Fan JA, Zhao XQ, Zhu J, 1994. Study on cold tolerance and diapause of *Tetradacus citri* Chen. *Journal of Southwest Agricultural University*, 16(6): 530–534. [范京安, 赵学谦, 朱军, 1994. 柑桔大实蝇 (*Tetradacus citri* Chen) 耐寒特性及滞育特性研究. 西南农业大学学报, 16(6): 530–534.]
- Goto M, Takahashi K, Suzuki C, 1993. Ecological study on the barnyard grass stem borer, *Enosima leucotaeniella* (Ragonot) (Lepidoptera: Pyralidae). Seasonal changes of carbohydrate contents in overwintering larvae. *Applied Entomology Zoology*, 28(4): 417–421.
- Guo TT, Ling F, Zhang SY, Yu Y, Li LL, Xu YY, 2013. The super-cooling ability and biochemical substances in diapausing and non-diapausing larvae of *Grapholitha molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 50(6): 1514–1518. [郭婷婷, 凌飞, 张顺益, 于毅, 李丽莉, 许永玉, 2013. 梨小食心虫滞育与非滞育幼虫过冷却能力与体内主要生化物质含量. 应用昆虫学报, 50(6): 1514–1518.]
- Hahn DA, Denlinger DL, 2007. Meeting the energetic demands of insect diapause: nutrient storage and utilization. *Journal of Insect Physiology*, 53(8): 760–773.
- Hahn DA, Denlinger DL, 2011. Energetics of insect diapause. *Annual Review of Entomology*, 56: 103–121.
- Han RD, Sun XG, Xu YY, Zhang WG, 2005. The biochemical mechanism of cold-hardiness in overwintering larva of *Dendrolimus spectabilis* Butler (Lepidoptera: Lasiocampidae). *Acta Ecologica Sinica*, 5(6): 1352–1356. [韩瑞东, 孙绪良, 许永玉, 等. 赤松毛虫越冬幼虫生物物质变化与抗寒性的关系. 生态学报, 5(6): 1352–1356.]
- Haykawa Y, Chino H, 1981. Temperature-dependent interconversion between glycogen and trehalose in diapausing pupae of *Philosamia cyntha ricini* and *pryeri*. *Insect Biochemistry*, 11(1): 43–47.
- Haykawa Y, Chino H, 1982. Phosphofructokinase as a possible key enzyme regulating glycerol or trehalose accumulation in diapausing insects. *Insect Biochemistry*, 12(6): 639–642.
- Ke Y, 2013. Study on the overwintering bionomics of *Bactrocera minax* (Enderlein). Master dissertation. Jingzhou: Yangtze University. [柯勇, 2013. 柑桔大实蝇的越冬生物学研究. 硕士学位论文. 荆州: 长江大学.]
- Li D, Long ZR, Wang Y, Wu JX, Xu Y, Cheng WN, 2014. Changes of total lipid and triglyceride contents in pre-diapause, diapause and post-diapause larvae and pupae of *Sitodiplosis mosellana* (Diptera: Cecidomyiidae). *Acta Entomologica Sinica*, 57(5): 509–514. [李丹, 龙治任, 王越, 仵均祥, 许烨, 成为宁, 2014. 麦红吸浆虫滞育发生和解除过程中总脂和甘油三酯含量变化. 昆虫学报, 57(5): 509–514.]
- Liu Y, 2014. Studies on differential expression of diapause related proteins in the female ladybird, *Coccinella septempunctata* L. Master dissertation. Beijing: Chinese Academy of Agricultural. [刘遥, 2014. 七星瓢虫雌成虫滞育相关蛋白差异表达的研究. 硕士学位论文. 北京: 中国农业科学院.]
- Lu HX, He KP, Yuan HF, Mou BZ, 1997. Study on the biological characteristics of *Bactrocera minax*. *Journal of Hubei Agricultural College*, 17(3): 169–173. [鲁红学, 何开平, 阮华芳, 牟本忠, 1997. 柑桔大实蝇生物学特性的研究. 湖北农学院学报, 17(3): 169–173.]
- Luo LY, Chen CF, 1987. The biological property of *Bactrocera minax* (Enderlein) pupa. *Chinese Citrus*, (4): 9–10. [罗禄怡, 陈长凤, 1987. 柑桔大实蝇蛹的生物学特性. 中国柑桔, (4): 9–10.]
- Mansingh A, 1971. Physiological classification of dormancies in insects. *Canadian Entomologist*, 103(3): 983–1009.
- Moreau R, Gourdoux L, Bahjou A, Lavenseau L, 1986. Variations of trealosaemia and of trehalase activity during direct development and diapause of *Pieris brassicae*. *Review Applied Entomology*, 74(1): 3823.
- Qin JM, Luo SD, He SY, Wu J, 2015. Researching in characters and functions of trehalose and trehalase in insects. *Journal of*

- Environmental Entomology*, 37(1): 163–169. [秦加敏, 罗术东, 和绍禹, 吴杰, 2015. 昆虫海藻糖与海藻糖酶的特性及功能研究. *环境昆虫学报*, 37(1): 163–169.]
- Ren XY, Qi XY, An T, Han YH, Chen HY, Zhang LS, 2016. Research on the accumulation, transformation and regulation of nutrients in diapause insects. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 53(4): 685–695. [任小云, 齐晓阳, 安涛, 韩艳华, 陈红印, 张礼生, 2016. 滞育昆虫营养物质的积累、转化与调控. *应用昆虫学报*, 53(4): 685–695.]
- Ren XY, Zhang LS, Han YH, An T, Liu Y, Liu YY, Chen HY, 2016. Proteomic research on diapause-related proteins in the female ladybird, *Coccinella septempunctata* L. *Bulletin of Entomological Research*, 106(2): 168–174.
- Rojas RR, Charlet LD, Leopold RA, 1991. Biochemistry and physiology of overwintering in the mature larvae of the red sunflower seed weevil, *Smicronyx fulvus* Leconte (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Insect Physiology*, 37 (7): 489–496.
- Shukla E, Thorat LJ, Nath BB, Gaikwad SM, 2015. Insect trehalase: physiological significance and potential applications. *Glycobiology*, 25(4): 357–367.
- Storey KB, Storey JM, 1988. Freeze tolerance in animals. *Physiological Reviews*, 68(1): 27–83.
- Tauber MJ, Tauber CA, Masaki S, 1986. Seasonal Adaptations of Insects. New York: Oxford University Press. 411.
- Wang J, Fan H, Xiong KC, Liu YH, 2018. Regulation of the trehalose content in diapausing and non-diapausing pupae of the Chinese citrus fly, *Bactrocera minax* (Diptera: Tephritidae). *Acta Entomologica Sinica*, 61(9): 1010–1018. [王佳, 樊欢, 熊克才, 刘映红, 2018. 柑橘大实蝇滞育和非滞育蛹体内海藻糖含量的调控. *昆虫学报*, 61(9): 1010–1018.]
- Wang XJ, Luo LY, 1995. Research advances on *Bactrocera minax*. *Entomological Knowledge*, 32(5): 11–16. [汪兴鉴, 罗禄怡, 1995. 桔大实蝇的研究进展. *昆虫知识*, 32(5): 11–16.]
- Wang YC, 2001. *Insect Biochemistry*. Beijing: China Agricultural Science and Technology Publishing Press. 30–38. [王荫长, 2001. *昆虫生物化学*. 北京: 中国农业出版社. 30–38.]
- 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.
- Wu JX, Yuan F, Su L, 2004. Change of carbohydrate contents in larvae of the wheat midge, *Sitodiplosis mosellana* (Gehin) during mature and diapause stage. *Acta Entomologica Sinica*, 47(2): 178–183. [仵均祥, 袁锋, 苏丽. 麦红吸浆虫幼虫滞育期间糖类物质变化. *昆虫学报*, 47(2): 178–183.]
- Xiong KC, Wang J, Li JH, Deng YQ, Pu P, Fan H, Liu YH, 2016. RNA interference of a trehalose-6-phosphate synthase gene reveals its roles during larval-pupal metamorphosis in *Bactrocera minax* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Insect Physiology*, 91/92: 84–92.
- Yang M, Zhao L, Shen Q, Xie G, Wang S, Tang B, 2017. Knockdown of two trehalose-6-phosphate synthases severely affects chitin metabolism gene expression in the brown planthopper *Nilaparvata lugens*. *Pest Manag. Science*, 73(1): 206–216.
- Zhao L, Yang M, Shen Q, Liu X, Shi Z, Wang S, Tang B, 2016. Functional characterization of three trehalase genes regulating the chitin metabolism pathway in rice brown planthopper using RNA interference. *Scientific Reports*, 6(1): 27841.