饵料蛋白质含量对德国小蠊雄成虫氧化应激及尿酸分解的影响*

张碧尧** 陈建华 骆显玫 王国红***

（福建师范大学生命科学学院，细胞逆境响应与代谢调控福建省高校重点实验室，福州 350108）

摘 要 **【目的】**本研究旨在探索饵料蛋白质含量对德国小蠊 *Blattella germanica* 雄成虫氧化应激及尿酸分解通路的影响，为德国小蠊新型饵剂的开发提供理论基础。**【方法】** 设置蛋白质含量为 5%、25%、45%和 65%的饵料饲喂德国小蠊后，采用紫外分光光度法测定不同蛋白质含饵料对德国小蠊超氧化物歧化酶（Superoxide dismutase，SOD）活性和丙二醛含量的影响；利用 RT-PCR 测定尿酸氧化酶、尿囊素酶、尿囊酸酶、脲酶以及谷氨酰胺合成酶基因的相对表达量。**【结果】** 取食添加 45%蛋白质饵料的德国小蠊雄成虫体内 SOD 活性显著高于取食添加 5%、25%和 65%蛋白质饵料（P<0.05），但取食添加 5%、25%和 65%蛋白质饵料的德国小蠊雄成虫体内 SOD 活性差异不显著（P>0.05）。取食添加 65%蛋白质饵料的德国小蠊存活率最低，SOD 活性和尿酸氧化酶基因表达量最低，而体内丙二醛含量及尿囊素酶、尿囊酸酶、脲酶和谷氨酰胺合成酶基因表达量最高。**【结论】** 高蛋白下德国小蠊仍储存尿酸，过高尿酸可导致德国小蠊抗氧化能力下降，存活率降低。

关键词 德国小蠊；蛋白质含量；抗氧化；尿酸分解通路

Effects of dietary protein content on oxidative stress and uric acid decomposition in *Blattella germanica* (Blattaria: Blattellidae)

ZHANG Bi-Yao** CHEN Jian-Hua LUO Xian-Mei WANG Guo-Hong***

(College of Life Sciences, Fujian Normal University, Provincial University Key Laboratory of Cellular Stress Response and Metabolic Regulation, College of Life Sciences, Fuzhou 350108, China)

Abstract **[Objectives]** To investigate effects of diet protein content on oxidative stress and uric acid decomposition pathways in the German cockroach (*Blattella germanica)*, thereby providing a theoretical basis for the development of novel cockroach baits. **[Methods]** German cockroaches were randomly assigned to one of four treatment groups which were fed diets with a protein content of either 5%, 25%, 45% or 65%. Ultraviolet spectrophotometry was then used to determine the superoxide dismutase activity and malondialdehyde content of each treatment group. In addition, RT-PCR was used to determine the gene expression levels of the urate oxidase, allantoinase, allantoidase, urease, and glutamine synthesis enzyme, genes. **[Results]** Superoxide dismutase activity in adult males fed the 45% protein diet was significantly higher than that of those fed the 5%, 25% and 65% protein diets, but was not significantly different to that of larvae fed the 5%, 25% and 65% protein diets（P<0.05）. There was no significant difference in SOD activity between male and female cockroaches（P>0.05）. Cockroaches fed the 65% protein diet had the lowest survival rate, the lowest SOD activity and urate oxidase gene expression, but the highest *in vivo* malondialdehyde content and allantoidase, urease and glutamine synthase gene expression. **[Conclusion]** German cockroaches store uric acid under high protein conditions, which can reduce their antioxidant capacity and survival rate.

Key words *Blattella germanica*, protein content, uric acid decomposition, antioxidant

*资助项目 Supported projects：福建省科技计划项目（2020N0009）

**第一作者 First author，E-mail：183189349@qq.com

***通讯作者 Corresponding author，E-mail：guohongw@fjnu.edu.cn

收稿日期 Received：2021-10-28；接受日期 Accepted：2022-04-25

昆虫的生长发育及寿命与食物中氮含量关系紧密，大部分研究表明昆虫生长发育与其食物中氮含量呈正相关（Fischer and Fidler，2000，郭文卿等，2013）。一般而言，在取食低氮食物时，有些昆虫的生长发育变缓，如天幕毛虫蛾 *Malacosoma disstria*（Despland and Nosewprthy，2006）。然而，一些研究表明寄主植物氮含量对温室白粉虱 *Trialeurodes vaporariorum* 的若虫存活率和虫体大小，以及烟粉虱 *Bemisia tabaci* 的生长发育无显著影响（Blua and Toscano，1994；Bethke *et al.*，2010），此外，Casey 和 Raupp（1999）的研究结果表明，植物氮含量的升高对杜鹃冠网蝽 *Stephanitis pyrioides* 存活率、生长发育和性成熟无显著影响。在取食氮含量高的寄主时，昆虫的发育历期缩短、存活率提高、虫体增大、相对生长速率加快，卵存活率、蛹蜕皮大小和雌虫胫骨长度及产卵频率显著提高（Jauset *et al.*，2000；卢毅等，2014）。然而部分研究表明昆虫取食高氮食物对其生理指标存在不利影响，如在灰花蠊 *Nauphoeta cinerea*、灰翅夜蛾 *Spodoptera eridania* 和德国小蠊 *Blattella germanica* (L.)中均有报道虫体内脂肪含量随着饲料蛋白质含量升高而下降（Karowe and Martin，1989；Raubenheimer and Jones，2006；South *et al.*，2011）。高蛋白饮食还会导致烟草天蛾 *Manduca sexta* 体内血淋巴中海藻糖含量的下降（Thompson and Redak，2000）。摄入高蛋白后昆虫的代谢活动增加，从而使昆虫发生氧化应激反应。车娜克（2007）的研究表明果蝇体内抗氧化酶活性随着高蛋白饮食时间延长呈下降趋势。

德国小蠊 *Blattella germanica* (L.)，隶属蜚蠊目 Blattaria 蜚蠊科 Bladerdae 小蠊属 *Blattella*，是一类威胁人类健康的重要城市害虫（Nasirian，2017）。目前对于德国小蠊的研究主要集中在德国小蠊的药物筛选及抗药性机制，对德国小蠊饮食营养研究较少（周明浩，2015；王国红等，2018）。国外有少量研究探索了蛋白质和碳水化合物对德国小蠊生长发育、寿命、生殖力以及若虫体内生理指标的影响（Hamilton and Schal，1988；Raubenheimer and Jones，2006；South *et al.*，2011；Mullins，2015）。德国小蠊产生的尿酸在尿酸氧化酶（Urate oxidase）的作用下被氧化成尿囊素，并进一步在尿囊素酶（Allantoinase）的作用下被水解形成尿囊酸；随后，尿囊酸在尿囊酸酶（Allantoicase）的作用下，水解成尿素；尿素进入脂肪体中的含菌细胞，并在含菌细胞释放的脲酶（Urease）作用下形成氨；氨进一步与谷氨酸通过谷氨酰胺合成酶（Glutamine synthetase）形成无毒的谷氨酰胺（Patiño-Navarrete *et al.*，2014）。因此，我们推测 65%蛋白质下德国小蠊仍储存尿酸，而过高的尿酸导致机体处于氧化应激状态。目前关于饵料蛋白含量对德国小蠊雄成虫生理影响及尿酸代谢通路的研究鲜有报道。为此，本研究设置添加不同含量蛋白质的饵料，研究不同蛋白质含量的饵料对德国小蠊抗氧化能力，并测定尿酸分解通路中尿酸氧化酶、尿囊素酶、尿囊酸酶、谷氨酰胺合成酶和脲酶 5 个基因的表达量水平，为德国小蠊新型饵剂的开发提供理论基础。

1　材料与方法

1.1　试虫饲养与饵料配置

按张碧尧等（2019）的方法饲养德国小蠊，饵料配方详见 Hamilton 等（1990），配制方法详见张碧尧等（2019）。

1.2　试验试剂与仪器

TransZol Up Plus RNA Kit 购自北京全式金生物技术有限公司、Hifair® Ⅱ 1st Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR（gDNA digester plus）购自上海翊圣生物科技有限公司、Regular Agarose G-10 购自西班牙 biowest 进口分装、FastStart Universal SYBR® Green Master（Rox）购自美国 Roche Diagnostics 公司、Dream Taq Green PCR Master Mix（2×）均购自美国 Applied Biosystems 公司。

普通 PCR 仪（Gene Company Limited 基因有限公司）、实时荧光定量 PCR 仪（7300 型，美国 Applied Biosystems 公司）、JS-680B 自动凝胶成像仪（上海培清科技有限公司）、电泳仪（北京市六一仪器厂）和 Thermo 超微量分光光度计（美国 Applied Biosystems 公司）。

1.3 存活率的测定

由于雌虫主要用于繁殖且本实验处理时间长，雌虫在无雄虫时，容易产生不受精卵荚，难以保证样本一致性，因此本文选择雄性作为研究对象以排除潜在的性别偏见。将 10 头刚羽化的德国小蠊雄成虫放入预先盛有 1 g 供试饵料的试验盒中（240 mm × 140 mm × 95 mm），1 g 饵料中分别添加 5%、25%、45%和 65%蛋白质，以下分别称为 5%、25%、45%和 65%蛋白质组。为防止德国小蠊逃逸，试验盒上缘涂有凡士林：液体石蜡为 1∶2 的混合物。试验前将试虫饥饿 24 h（只提供水），每个处理重复 3 次。每天定时记录德国小蠊存活数，直至 65%蛋白质组的成虫全部死亡。试验置于温度为（26 ± 1）℃，光周期为 12L∶12D 的光照培养箱中进行。

存活率 = 存活数/总虫数 × 100%。

1.4 酶分析样品制备

将取食 21 d 不同蛋白质饵料的德国小蠊雄成虫经饥饿处理 24 h 后，除去翅、足和头后称重，按单头整虫质量（g）与提取液（mL）的比例为 1∶10 混合，冰浴匀浆，置于 8 000 g，4 ℃离心 10 min，取上清待测；每个处理重复 5 次。

1.5 超氧化物歧化酶活性和丙二醛含量测定

超氧化物歧化酶（Superoxide dismutase，SOD）活性和丙二醛（Malondialdehyde，MDA）含量均采用苏州科铭生物技术有限公司所生产的试剂盒（编号分别为 SOD-2-Y 和 MDA-2-Y）测定。

1.6 总 RNA 的提取

将刚羽化的德国小蠊雄成虫单独饲养于试验盒中（直径 50 mm，高 250 mm）。分别用蛋白质含量为 5%、25%、45%和 65%的饵料连续饲喂 21 d 后饥饿 24 h，除去头、足和翅，利用液氮将身体剩余组织研磨，根据 TransZol Up Plus RNA Kit 提取总 RNA，每个处理组各 5 个样本。

1.7 反转录合成 cDNA 第一链

按 Hifair® Ⅱ 1st Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR（gDNA digester plus）说明书构建反应体系 1 和体系 2，具体步骤如下：

（1）反应体系 1：5 × g DNA digester Buffer 2 μL；g DNA digester 1 μL；总 RNA 2 ng；加 RNase free ddH_2O 至 10 μL。

（2）混匀，42 ℃离心 2 min，取出后置于冰上备用；

（3）反应体系 2：体系 1 10 μL；2 × Hifair® Ⅱ SuperMix plus 10 μL；

（4）混匀，离心。将其置于 PCR 仪中，25 ℃（5 min）→42 ℃（30 min）→85 ℃（5 min）→ - 20 ℃保存备用。

1.8 实时荧光定量 PCR

尿酸氧化酶、尿囊素酶、尿囊酸酶、谷氨酰胺合成酶和脲酶的引物序列见表 1（Patiño-Navarrete *et al.*，2014）。反应体系：SYBR® Premix Ex TaqT（2 ×）10 μL，PCR 上、下游引物（10 μmol·L^{-1}）各 0.6 μL，cDNA 模板 1 μL，水加至 20 μL。反应参数为：95 ℃，30 s 1 个循环；95 ℃ 30 s，55 ℃ 30 s，72 ℃ 30 s 40 个循环；95 ℃ 15 s，55 ℃ 1 min，95 ℃ 15 s，60 ℃ 15 s 绘制溶解曲线。每个样品设置 3 个复孔。采用 Ct 比较法（$2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法）对实验结果进行相对定量比较。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物序列，扩增片段长度及退火温度

Table 1 Real-time PCR primer sequences, amplified fragment length and annealing temperature

引物 Primer	引物序列 5′-3′ Primer sequence 5′-3′	片段长度（bp） Fragment length (bp)	退火温度（℃） Annealing temperature (℃)
Urate oxidase-f	5′-AAATCATTGGTGGGCTTCGTGGTC-3′	98	55
Urate oxidase -r	5′-TCACGTCTGGCAACGTTCTGTACT-3′		
Allantoinase-f	5′-TCTGACAGCAGAAACCTGTCACCA-3′	125	55

续表 1 (Table 1 continued)

引物 Primer	引物序列 5′-3′ Primer sequence 5′-3′	片段长度（bp） Fragment length (bp)	退火温度（℃） Annealing temperature (℃)
Allantoinase-r	5′-GCTGCCCAAAGACGTTCCTTGTTT-3′		
Allantoicase-f	5′-GGAATTATGCACCTCGCTTCTCTC-3′	88	55
Allantoicase-r	5′-CACTCCCTATTCTACTGTTCCGAC-3′		
Glutamine synthetase-f	5′-TACAAAGATCCATTCAGGCCA-3′	100	55
Glutamine synthetase-r	5′-CACGTATGCCTTTGATTTGTGG-3′		
Actin-f	5′-GCTCCAGAGGAACACCCAAT-3′	182	55
Actin-r	5′-GTCACCAGAGTCCAGCACAA-3′		
Elongation factor EF-Tu-f	5′-AAGGAAGAAGGAGGACGACACACT-3′	159	55
Elongation factor EF-Tu-r	5′-TAGGCTGATGCAATTCCACCTCCA-3′		
Urease-f	5′-GTCCAGCAACTGGAACTATAGCCA-3′	165	55
Urease-r	5′-CCTCCTGCACCTGCTTCTATTTGT-3′		

1.9　数据的处理与分析

实验数据以平均值 ± 标准误表示，采用 SPSS 22.0 软件对数据进行单因素方差(One-way ANOVA ）分析和 Dancan's 多重比较，$P < 0.05$ 表示差异显著。

2　结果与分析

2.1　不同蛋白质含量饵料对德国小蠊雄成虫存活率的影响

随着饲喂时间的延长德国小蠊雄成虫存活率随着饵料中蛋白质含量的升高呈下降趋势，65%蛋白质组在 25 d 时，存活率只有 20%，36 d 时全部死亡。21 d 后 65%蛋白质组存活率显著降低($P<0.05$),因此之后实验处理时间均处理 21 d。45%蛋白组德国小蠊在 21 d 时存活率可达 80%，但在 35 d 时存活率下降到 50%，与 5%和 25%蛋白质组差异显著（图 1）。

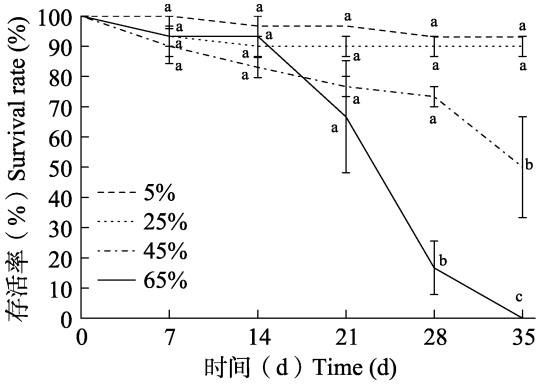

图 1　取食不同蛋白质含量的饵料对德国小蠊雄成虫存活率的影响

Fig. 1　Effects of protein contents on survival rate of *Blattella germanica* adult male

图中标有不同小写字母表示同一时间不同蛋白质含量间存在显著差异（$P < 0.05$，Duncan's 多重检验）。Data are mean ± SE. Different lowercase letters indicate significant differences between different protein groups at the same time at 0.05 level by Duncan's multiple range test.

2.2　不同蛋白质含量饵料对德国小蠊雄成虫抗氧化能力的影响

取食不同蛋白质含量的饵料后，德国小蠊雄成虫体内 SOD 活性差异显著（F=13.12；df=3,8；P=0.002）（图 2：A）。德国小蠊体内 SOD 活性随着饵料中蛋白质含量增高呈先上升后下降的趋势，取食添加 45%的蛋白质饵料的德国小蠊雄成虫体内 SOD 活性显著高于取食添加 5%、25%和 65%蛋白质饵料的，且取食添加 5%、25%和 65%蛋白质饵料的德国小蠊雄成虫体内 SOD 活性差异不显著（F=13.12；df=3,8；P=0.002）（图 2：A）。德国小蠊体内 MDA 含量与 SOD 活性呈相反趋势，取食添加 65%蛋白质饵料的德国小蠊雄成虫体内 MDA 含量显著高于取食添加 25%、5%和 45%蛋白质饵料组的（F=25.42；df=3,8；

P=0.001），45%蛋白质组虫体内 MDA 含量最低，5%与 25%蛋白质组虫体内 MDA 含量无显著差异（*P*>0.05）（图 2：B）。

2.3 不同蛋白质含量饵料对德国小蠊雄成虫尿酸分解通路基因相对表达量的影响

由图 3（A）可知，随着饵料蛋白含量的升高，德国小蠊尿酸氧化酶基因的表达呈下调趋势，在添加 5%、25%和 45%蛋白质饵料对德国小蠊雄成虫尿酸氧化酶基因的表达无显著差异（*P*>0.05），而取食添加 65%蛋白质饵料的德国小蠊雄成虫尿酸氧化酶基因的表达显著下调（*F*=6.58；*df*=3,8；*P*=0.015）。

随着饵料中添加蛋白质含量的升高，德国小

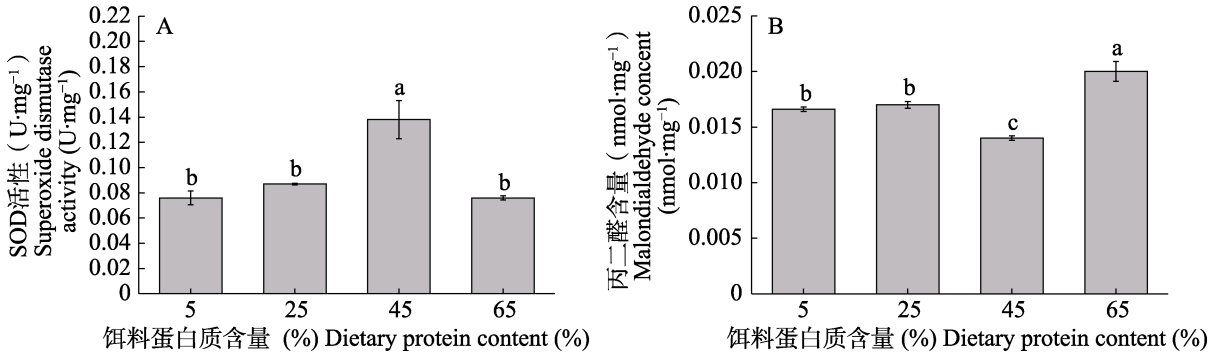

图 2 不同蛋白质含量的饵料对德国小蠊雄成虫抗氧化能力的影响

Fig. 2 Effects of feeds with different contents for the antioxidant capacity of *Blattella germanica* adult male

A. SOD 酶活性；B. 丙二醛含量。柱上标有不同小写字母表示不同蛋白质含量间存在显著差异（*P* < 0.05，Duncan's 多重检验）。图 3 同。

A. The activity of SOD; B. The content of MDA. Histograms with different lowercase letters indicate significant differences between different protein levels (*P* < 0.05, Duncan's multiple range test). The same as Fig. 3.

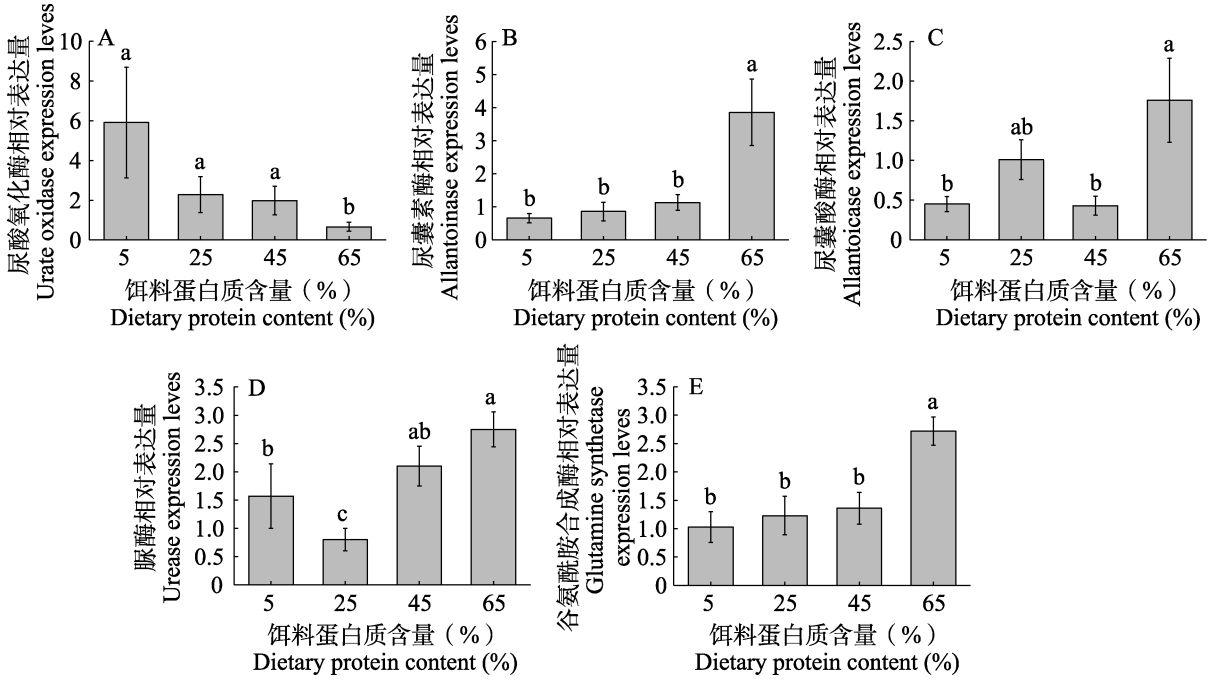

图 3 不同蛋白质含量饵料的德国小蠊雄成虫尿酸分解通路基因 mRNA 表达

Fig. 3 Effects of different protein contens on the expression of uric acid breakdown pathway gene mRNA in *Blattella germanica* adult male

A. 尿酸氧化酶; B. 尿囊素酶; C. 尿囊酸酶; D. 脲酶; E. 谷氨酰胺合成酶。

A. Urate oxidase; B. Allantoinase; C. Allantoicase; D. Urease; E. Glutamine synthetase.

蠊雄成虫尿囊素酶、尿囊酸酶、脲酶和谷氨酰胺基因表达水平呈上调趋势,且取食添加 65%蛋白质饵料的德国小蠊雄成虫的尿囊素酶显著高于其它 3 个处理组（F=7.81；df=3,8；P=0.009），且其它 3 组的尿囊素酶基因表达无显著性影响（P>0.05）。

随着饵料中添加蛋白质含量的升高，德国小蠊雄成虫尿囊酸酶基因的表达具有上调趋势。65%蛋白质组尿囊酸酶基因表达量最高，显著高于 5%和 45%蛋白质组（F=7.14；df=3，8；P=0.012），但与 25%蛋白质组差异不显著。5%、25%和 45%蛋白质组间尿囊酸酶基因的表达无显著性差异（P>0.05）（图 3：B-E）。

随着饵料中添加蛋白质含量的升高，德国小蠊雄成虫脲酶基因的表达具有上调趋势。65%蛋白质组脲酶基因的表达量显著高于 25%蛋白质组（F=13.77；df=3，8；P=0.02），但与 45%蛋白质组无显著性差异（P>0.05），且其它三组间的脲酶基因表达差异不显著（P>0.05）。

随着饵料中添加蛋白质含量的升高，德国小蠊雄成虫谷氨酰胺合成酶基因的表达具有上调趋势。65%蛋白质组谷氨酰胺合成酶基因的表达水平显著上调（F=7.14；df=3,8；P=0.12），且其它三组间的谷氨酰胺合成酶基因表达差异不显著（P>0.05）。

3　讨论

饵料中蛋白质含量是影响昆虫生长发育、寿命和繁殖的关键因素，蛋白质含量的增加会促进昆虫的生长发育和存活，但是过量蛋白质反而会带来代谢负担（Brunner *et al.*, 2014；Roger *et al.*, 2016）。已有研究表明，昆虫存活率可随饵料蛋白质含量的增加而缩短（Pirk *et al.*，2010；Dussutour *et al.*，2012；Rho and Lee，2016）。本研究中德国小蠊雄成虫存活率也呈现出随着饵料蛋白质含量的升高而缩短趋势，推测这可能与消除含氮废物的代谢过程有关。

SOD 是最重要的 ROS 抗氧化酶防御系统，特别是超氧阴离子分解为氧和过氧化氢的过程，SOD 可防止羟基自由基的产生（Zhang *et al.*, 2015）。MDA 是膜脂质过氧化作用的产物，是生物体膜系统受损伤的重要指标之一(Rael *et al.*，2004；Meng *et al.*，2009)。本研究表明，饵料蛋白质含量显著影响德国小蠊 SOD 活性和 MDA 含量。德国小蠊体内的 SOD 活性随着饵料中蛋白质含量的升高呈先升高后降低的趋势。车娜克（2007）的研究表明，黑腹果蝇 SOD 活性随着饵料蛋白质含量的升高而下降。此类现象也在其它动物中也有发现，例如鲤幼鱼（孙金辉等，2017）、拉萨裸裂尻鱼、云纹石斑鱼幼鱼（张晨捷等，2016；徐兆利等，2019）体内 SOD 活性也随饲料蛋白质含量的升高呈先升高后下降的趋势。但是 MDA 含量却随饵料蛋白质含量升高呈先下降后升高趋势。造成这一差异的原因可能是德国小蠊为了应对高蛋白质含量饵料引起的氧化损伤，从而激活线粒体产生更高的 SOD 活性以清除过多的超氧阴离子，从而清除过量的脂质过氧化的产物 MDA。然而，当蛋白质含量超过机体对蛋白质的耐受后，体内 SOD 活性降低，清除自由基能力下降，导致 MDA 含量升高。本研究结果发现德国小蠊在 45%蛋白组的 SOD 活性最高，而 65%蛋白组的 SOD 活性最低，45%蛋白组的 MDA 含量最低，65%蛋白组的 MDA 含量显著增加。这表明德国小蠊]可以承受的最高饵料蛋白质含量是 45%，超过 45%蛋白质含量后，机体 SOD 活性降低，MDA 含量增高。推测德国小蠊因摄入过量的蛋白质而产生过量的尿酸，且德国小蠊仍在储存尿酸从而引起氧化应激反应（张碧尧等，2019）。

尿酸氧化酶、尿囊素酶、尿囊酸酶、脲酶和谷氨酰胺合成酶是德国小蠊尿酸分解通路的重要酶（Patiño-Navarrete *et al.*，2014）。当尿酸分解通路异常时，将引发尿酸排泄失败从而对机体产生毒害作用。本研究表明随着饵料蛋白含量的升高，尿酸氧化酶表达具有下调趋势。Patiño-Navarrete 等（2014）的研究发现在 0%和 5%蛋白饵料中德国小蠊尿酸氧化酶基因表达显著上调，而在 50%蛋白质饵料中德国小蠊尿酸氧化酶下调，这与本文的结果一致。本研究中尿酸氧化酶基因表达随饵料蛋白质增加而降低。这表明德

国小蠊处取食低蛋白的饵料时，尿酸被分解重新利用，而取食高蛋白的饵料时，过多的氮以尿酸形式储存在体内（Cochran，1985；López- Sánchez *et al.*，2009；Sabree *et al.*，2009）。张碧尧等（2019）的研究也表明长期取食含 65%蛋白质饵料的德国小蠊血淋巴中尿酸含量显著增多。尿酸的增高会引起代谢性疾病和机体氧化应激反应等（Botell *et al.*，1985）。Botell 等（1985）在果蝇饲料中添加尿酸后发现果蝇生长发育停止、存活率降低，且尿囊素酶、尿囊酸酶、脲酶以及谷氨酰胺合成酶的表达均有上调趋势。Patiño-Navarrete 等（2014）的研究结果表明蛋白质含量的改变不会导致其它尿酸分解基因表达发生显著变化，并推测酸分解途径以组成型方式表达，并且可能存在其他水平的通路调节。

综上所述，随着饲料中蛋白含量的提高，德国小蠊的存活率和抗氧化能力下降，在 65%蛋白质下德国小蠊仍在储存尿酸。而尿酸堆积过多，破坏了德国小蠊体内已建立的稳态环境，最终导致德国小蠊出现生理毒性。本研究通过生物学测定、生理指标分析和基因表达量检测等方法，探究了不同蛋白质水平饵料对德国小蠊雄成虫氧化应激及尿酸分解通路的影响，研究结果可为进一步解析德国小蠊对不同水平蛋白质的适应机制奠定基础。

参考文献 (References)

Bethke JA, Redak RA, Schuch UK, 2010. Melon aphid performance on chrysanthemum as mediated by cultivar, and differential levels of fertilization and irrigation. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 88(1): 41–47.

Blua MJ, Toscano NC, 1994. *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) development and honeydew production as a function of cotton nitrogen status. *Environmental Entomology*, 23(2): 316–321.

Botella LM, Moya A, González MC, Ménsua JL, 1985. Larval stop, delayed development and survival in overcrowded cultures of *Drosophila melanogaster*: Effect of urea and uric acid. *Journal of Insect Physiology*, 31(3): 179–185.

Brunner FS, Schmid-Hempel P, Barribeau SM, 2014. Protein-poor diet reduces host-specific immune gene expression in *Bombus terrestris*. *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences*, 281(1786): 130–143.

Casey CA, Raupp MJ, 1999. Supplemental nitrogen fertilization of containerized azalea does not affect performance of *Azalea lace* bug (Heteroptera: Tingidae). *Environmental Entomology*, 28(6): 998–1003.

Che NK, 2007. The effect of feeding restriction on the lifespan and reproductive ability of male fruit fly (*Drosophila melanogaster*). Master dissertation. Xian: Shanxi Normal University. [车娜克, 2007, 摄食限制对雄果蝇 (*Drosophila melanogaster*) 寿命和生殖能力的影响. 硕士学位论文. 西安: 陕西师范大学.]

Cochran DG, 1985. Nitrogen excretion in cockroaches. *Annual Review of Entomology*, 30: 29–49.

Despland E, Nosewprthy M, 2006. How well do specialist feeders regulate nutrient intake? Evidence from a gregarious tree-feeding caterpillar. *Journal of Experimental Biology*, 209(7): 1301–1309.

Dussutour A, Simpson SJ, 2012. Ant workers die young and colonies collapse when fed a high-protein diet. *Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences*, 279(1737): 2402–2408.

Fischer FK, Fidler K, 2000. Response of the copper butterfly *Lycaena tityrus* to increased leafnitrogen in natural food plants: Evidence against the nitrogen limitation hypothesis. *Oecologia*, 124(2): 235–241.

Guo WQ, Yang YJ, Xu J, Xu HX, Zheng XS, Lv ZX, 2013. Nutritional consumption and utilization by *Cnaphalocrocis medinalis* larvae of artificial diets with different nitrogen or sugar contents. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 50(3): 629–634. [郭文卿, 杨亚军, 徐健, 徐红星, 郑许松, 吕仲贤, 2013. 稻纵卷叶螟幼虫对不同氮、糖含量人工饲料的营养消耗和利用. 应用昆虫学报, 50(3): 629–634.]

Hamilton RL, Cooper RA, Schal C, 1990. The influence of nymphal and adult dietary protein on food intake and reproduction in female brown-banded cockroaches. *Entomologia Experimentalis et Applicata*., 55(1): 23–31.

Hamilton RL, Schal C, 1988. Effects of dietary protein levels on reproduction and food consumption in the german cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 81(6): 969–976.

Jauset AM, Sarasúa MJ, Avilla J, Albajes R, 2000. Effect of nitrogen fertilization level applied to tomato on the greenhouse whitefly. *Crop Protection*, 19(4): 255–261.

Karowe DN, Martin MM, 1989. The effects of quantity and quality of diet nitrogen on the growth, efficiency of food utilization, nitrogen budget, and metabolic rate of fifth-instar *Spodoptera eridania* larvae (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Insect Physiology*, 35(9): 699–708.

López-Sánchez MJ, Alexander N, Juli P, Rafael PON, Miguel P, Amparo L, Andrés M, 2009. Evolutionary convergence and

nitrogen metabolism in *Blattabacterium* strain Bge, primary endosymbiont of the cockroach *Blattella germanica*. *PLoS Genetics*, 5(11): e1000721.

Lu Y, Li BP, Meng L, 2014. Effects of nitrogen fertilization on food utilization and developmental parameters in *Spodoptera litura* Fab. (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Nanjing Agricultural University*, 37(3): 72–76. [卢毅, 李保平, 孟玲, 2014. 氮肥对斜纹夜蛾食物利用及生长发育特征的影响. 南京农业大学学报, 37(3): 72–76.]

Meng JY, Zhang CY, Zhu F, Wang XP, Lei CL, 2009. Ultraviolet light-induced oxidative stress: Effects on antioxidant response of *Helicoverpa armigera* adults. *Journal of Insect Physiology*, 55(6): 588–592.

Mullins DE, 2015. Physiology of environmental adaptations and resource acquisition in cockroaches. *Annual Review of Entomology*, 60: 473–492.

Nasirian H, 2017. Contamination of cockroaches (Insecta: Blattaria) to medically fungi: A systematic review and meta-analysis. *Journal de Mycologie Medicale*, 27(4): 427–448.

Patiño-Navarrete R, Piulachs MD, Belles X, Moya A, Latorre A, Pereto J, 2014. The cockroach *Blattella germanica* obtains nitrogen from uric acid through a metabolic pathway shared with its bacterial rndosymbiont. *Biology Letters*, 10(7): 384–396.

Pirk CWW, Boodhoo C, Human H, Nicolson SW, 2010. The importance of protein type and protein to carbohydrate ratio for survival and ovarian activation of caged honeybees (*Apis mellifera scutellata*). *Apidologie* , 41(1): 62–72.

Rael LT, Thomas GW, Craun ML, Gerald C, Raphael BO, 2004. Lipid peroxidation and the thiobarbituric acid assay: Standardization of the assay when using saturated and unsaturated fatty acids. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 37(6): 749.

Raubenheimer D, Jones SA, 2006. Nutritional imbalance in an extreme generalist omnivore: Tolerance and recovery through complementary food selection. *Animal Behaviour*, 71(6): 1253–1262.

Rho MS, Lee KP, 2016. Balanced intake of protein and carbohydrate maximizes lifetime reproductive success in the mealworm beetle, *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Insect Physiology*, (91/92): 91–99.

Roger N, Michez D, Wattiez R, Sheridan C, Vanderplanck M, 2016. Diet effects on bumblebee health. *Journal of Insect Physiology*, 2016(96): 128–133.

Sabree ZL, Srinivas K, Moran NA, 2009. Nitrogen recycling and nutritional provisioning by *Blattabacterium*, the cockroach endosymbiont. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(46): 19521–19526.

Sun JH, Fan Z, Zhang MJ, Cheng ZY, Bai DQ, Qiao XT, 2017. Effect of dietary protein level on hepatic function and antioxidant capacity of juvenile common carps (*Cyprinus carpio*). *South China Fisheries Science*, 13(3): 113–119. [孙金辉, 范泽, 张美静, 程镇燕, 白东清, 乔秀亭, 2017. 饲料蛋白水平对鲤幼鱼肝功能和抗氧化能力的影响. 南方水产科学, 13(3): 113–119.]

South SH, House CM, Moore AJ, Simpson SJ, John HJE, 2011. Male cockroaches prefer a high carbohydrate diet that makes them more attractive to females: Implications for the study of condition dependence. *Evolution*, 65(6): 1594–1606.

Thompson SN, Redak RA, 2000. Interactions of dietary protein and carbohydrate determine blood sugar level and regulate nutrient selection in the insect *Manduca sexta* L. *Biochimica et Biophysica Acta-General Subjects*, 1523(1): 91–102.

Wang GH, Zhang BY, Wang CL, Wang DS, 2018. Efficacy of different cockroach baits against the german and american cockroach, and resistance of the german cockroach to fipronil. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 55(5): 919–926. [王国红, 张碧尧, 王常禄, 王德森, 2018. 杀蟑胶饵室内药效及德国小蠊对氟虫腈抗药性研究. 应用昆虫学报, 55(5): 919–926.]

Xu ZL, Zeng BH, Yang RB, Mou ZB, Li BH, Wang WL, Zhang BB, Liu HP, 2019. Effects of dietary protein level on immune and antioxidant capacity of juvenile *Schizopygopsis younghusbandi* Regan. *Acta Zoonutrimenta Sinica*, 31(12): 5645–5654. [徐兆利, 曾本和, 杨瑞斌, 牟振波, 李宝海, 王万良, 张忭忭, 刘海平, 2019. 饲料蛋白质水平对拉萨裸裂尻鱼幼鱼免疫和抗氧化能力的影响. 动物营养学报, 31(12): 5645–5654.]

Zhang BY, Wang YR, Fan JW, Deng H, Wang WH, 2019. Effects of dietary protein level on the nutritional utilization and nitrogen metabolism of *Blattella germanica* (Blattaria: Blattellidae). *Acta Entomologica Sinica*, 62(8): 921–929. [张碧尧, 王亚茹, 范兢文, 邓惠, 王国红, 2019. 饵料蛋白质水平对德国小蠊营养效应及氮代谢的影响. 昆虫学报, 62(8): 921–929.]

Zhang CJ, Peng SM, Chen C, Gao QX, Shi ZH, 2016. Effects of dietary protein and lipid levels on immune and antioxidant function of juvenile *Epinehelus moara*. *Marine Fisheries*, 38(6): 634–644. [张晨捷, 彭士明, 陈超, 高权新, 施兆鸿, 2016. 饲料蛋白和脂肪水平对云纹石斑鱼幼鱼免疫和抗氧化性能的影响简. 海洋渔业, 38 (6): 634–644.]

Zhang S, Fu W, Ning L, Fan Z, Liu TX, 2015. Antioxidant responses of *Propylaea japonica* (Coleoptera: Coccinellidae) exposed to high temperature stress. *Journal of Insect Physiology*, 2015 (73): 47–52.

Zhou MH, 2015. Chemical control of cockroaches and living example on effect evaluation. *Chinese Journal of Hygienic Insecticides & Equipments*, 21(3): 217–222. [周明浩, 2015. 蟑螂的化学防治和效果评估实例. 中华卫生杀虫药械, 21(3): 217–222.]