研究论文

松毛虫赤眼蜂滞育预蛹与非滞育预蛹代谢组学分析*

贺冰心[1**] 郑美鑫[1] 黄 海[2***] 张 雪[1***] 张俊杰[1***]

（1. 吉林省农业害虫生物防治国际科技合作重点实验室，吉林农业大学生物防治研究所生物防治技术工程研究中心，长春 130118；2. 梧州学院食品与制药工程学院，梧州 543002）

摘 要 **【目的】** 通过比较松毛虫赤眼蜂 *Trichogramma dendrolimi* 滞育预蛹（Diapause prepupa, Dre）与非滞育预蛹（Non-diapause prepupa，NDre）间的代谢差异，找出差异代谢物及差异代谢通路，为松毛虫赤眼蜂滞育的机制奠定理论基础。**【方法】** 采用液相色谱-质谱技术进行代谢组学分析，通过 PCA（Principal components analysis）、PLS-DA（Partial least squares discriminant analysis）、OPLS-DA（Orthogonal partial least squares discriminant analysis）进行模型分析及检验，通过 *t* 检验 *P* 值、VIP 值、差异倍数比较出两组间差异代谢物，通过 KEGG 富集分析筛选出差异代谢物的显著富集通路。**【结果】** 在松毛虫赤眼蜂滞育预蛹和非滞育预蛹中共筛选出 1 072 种差异代谢物，其中 674 种在滞育期间显著上升，398 种显著下降，差异最显著的物质主要包括磷脂、溶血磷脂、氨基酸及其衍生物、碳水化合物等。KEGG 通路富集分析显示多种氨基酸的合成、代谢及羧酸循环通路变化显著，说明松毛虫赤眼蜂在滞育期间能量物质发生了显著的含量变化和相互转化，从而提高了耐寒性。**【结论】** 初步探究了滞育松毛虫赤眼蜂与非滞育松毛虫赤眼蜂的代谢差异，为松毛虫赤眼蜂滞育期间的代谢调控机制及途径提供理论依据。

关键词 松毛虫赤眼蜂；滞育；代谢组；液相色谱-质谱；耐寒性

Metabonomic analysis of diapausing and non-diapausing *Trichogramma dendrolimus* prepupae

HE Bing-Xin[1**] ZHENG Mei-Xin[1] HUANG Hai[2***] ZHANG Xue[1***] ZHANG Jun-Jie[1***]

(1. Jilin Province International Cooperation Key Laboratory for Biological Control of Agricultural Pests, Biological Control Technology Engineering Research Center, Institute of Biological Control, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China; 2. Food and Pharmaceutical Engineering College, Wuzhou University, Wuzhou 543002, China)

Abstract **[Objectives]** To compare metabolic differences between diapausing (Dpre) and non-diapausing *Trichogramma dendrolimi* prepupae (NDpre) in order to better understand the diapause mechanism of this species. **[Methods]** Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS) was used for metabonomic analysis. PCA, PLS-DA and OPLS-DA were used for model analysis and statistical tests. Differences in metabolites between treatment groups were compared using the *P*-value in t-tests, VIP-values and fold change. Significant enrichment pathways of differential metabolites were screened using KEGG enrichment analysis. **[Results]** A total of 1 072 differential metabolites were identified. Among these, 674 significantly increased, and 398 significantly decreased, during diapause. These were mainly phospholipids, lysophosphatides, amino acids and their derivatives, and carbohydrates. KEGG pathway enrichment analysis indicated that there were significant changes in the synthesis and metabolism of various amino acids, and in the tricarboxylic acid cycle pathway, indicating significant

*资助项目 Supported projects：吉林省科技发展计划项目（20200301024RQ）；（20210508018RQ）；国家青年科学基金（32102291）

**第一作者 First author，E-mail：hebingxin076@163.com

***共同通讯作者 Co-corresponding authors，E-mail：915654829@qq.com；zhangxue871013@163.com；junjiezh@126.com

收稿日期 Received：2022-05-02；接受日期 Accepted：2022-05-30

changes in, and mutual transformation of, energy-storing substances that improve cold tolerance during diapause. **[Conclusions]** A preliminarily investigation of metabolic differences between diapausing and non-diapausing *T. dendrolimi* prepupae sheds light on the metabolic regulation mechanisms and pathways regulating diapause in this species.

Key words *Trichogramma dendrolimi*; metabonomics; diapause; liquid chromatography-mass spectrometry; cold tolerance

松毛虫赤眼蜂 *Trichogramma dendrolimi* 隶属膜翅目 Hymenoptera，细腰亚目 Apoctita，小蜂总科 Chalcidoidea，赤眼蜂科 Trichogrammatidae，赤眼蜂属 *Trichogramm*，是我国应用范围最广泛、防治效果最好的卵寄生性天敌昆虫之一，可寄生多种农林害虫卵，如亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis*、二化螟 *Chilo suppressalis*、棉铃虫 *Chilo suppressalis*、稻纵卷叶螟 *Cnaphalocrocis medinalis* 等(刘树生和施祖华，1996；Wang *et al.*，2014；Zang *et al.*，2021)。赤眼蜂在田间的释放时间对控制害虫起着至关重要的作用，需要在害虫爆发之前生产大量赤眼蜂，在害虫卵期释放到田中以达到防控害虫的作用。因此赤眼蜂的储存和产品货架期就成为了工厂化生产中至关重要的问题（Greenberg *et al.*，1996)。人工调控滞育是目前松毛虫赤眼蜂工厂化生产中使用的主要储存方法，应用滞育技术可以延长赤眼蜂的产品货架期，增大生产量，高效利用设备及场地，同时有研究表明滞育技术还可以有效提高赤眼蜂产品质量，改善因蜂种连续繁育导致的种群退化等问题（Smith，1996；张俊杰等，2015)。目前国内外对于赤眼蜂滞育的研究主要集中在寄主选择、繁育技术、诱导及解除条件等方面，但对滞育的调控机制尚未进行系统研究（张俊杰等，2018)。

代谢组学（Metabolomics) 是系统生物学中新发展起来的一门学科，可对生物体内多种代谢路径的内源性小分子底物进行定性和定量分析，以差异代谢物为核心揭示生物系统面对疾病、遗传和环境干扰的表型反应（Dettmer *et al.*，2010；Hayward *et al.*，2014)。目前已对多种昆虫滞育的代谢组学进行研究，滞育麦红吸浆虫 *Sitodiplosis mosellana* 体内的海藻糖、甘油、脯氨酸、丙氨酸含量较非滞育虫体显著升高(Huang *et al.*，2022)；在柑橘大实蝇 *Bactrocera minax* 滞育期间，多种参与三羧酸循环的物质发生显著变化，如柠檬酸、葡萄糖、脯氨酸等（王佳等，2019)；滞育白纹伊蚊 *Aedes albopictus* 产生的代谢物中，有 84.7%的滞育专属特征代谢物都属于“脂质和类脂分子”（Batz and Armbruster，2018)，这些在昆虫滞育和非滞育阶段间存在显著差异的代谢物，可能在滞育中起到提供能源、抵御低温的作用。液相色谱-质谱（Liquid chromatography-mass spectrometry，LC-MS）具有高通量、高分辨率、高稳定度和高灵敏度的优点，是近年来应用最广泛且效果最好的代谢组学研究技术之一（许国旺等，2007)。本研究以松毛虫赤眼蜂为对象，通过 LC-MC 技术分析滞育预蛹（Diapause prepupa，Dpre）与非滞育预蛹（Non-diapause prepupa，NDpre）代谢产物的差异，为松毛虫赤眼蜂滞育机制的研究提供一定的基础性研究数据。

1　材料与方法

1.1　供试昆虫

松毛虫赤眼蜂：采自吉林省蛟河市（N43°12′，E127°56′），饲养于吉林农业大学农业现代化综合技术研究所。以柞蚕卵为寄主，在温度（26±1）℃、相对湿度 70%±5%、光周期 16L∶8D 的条件下繁育 5 代以上用于后续实验。

柞蚕卵：采购自吉林省永吉县，在（25±1）℃条件下发育至出蛾后剖腹取卵，用 0.1%新洁尔灭溶液消毒 10 min 后晾干使用。

1.2　样品准备

滞育松毛虫赤眼蜂：以柞蚕卵为寄主，在（26 ± 1）℃、相对湿度 70%±5%、全黑暗条件下接蜂 8 h 后去除母蜂，在温度（26±1）℃、相对湿度 70%±5%、光周期 16L∶8D 条件下继续发育至幼虫中后期。随后置于温度（12±1）℃、相对湿度 70%±5%、全黑暗条件下诱导 30 d 至

稳定滞育状态 [转入正常条件下（同 2.1.1）6-7 d 后仍停留在预蛹期不再继续发育的个体视为已进入滞育状态] 后放入 - 80 ℃冰箱保存。

非滞育松毛虫赤眼蜂：同 1.1，繁育至预蛹期取样，样品置于 - 80 ℃冰箱保存。

1.3 试剂及仪器

试剂：甲醇、甲酸、水、乙腈、L-2-氯苯丙氨酸和 LysoPC17：0（均为上海生工生物工程股份有限公司）。

仪器：全自动样品快速研磨仪（上海净信实业发展有限公司），超声波清洗机（宁波新芝生物科技有限公司），台式高速冷冻离心机（上海卢湘仪离心机仪器有限公司），液相色谱质谱联用仪（AB Sciex），色谱柱（Waters 186003540, 2.1 mm×150 mm）。

1.4 实验方法

1.4.1 样本处理 称取 30 mg 样本，加入甲醇水溶液 [CH_3OH：H_2O (V：V) = 4：1] 400 μL 和用甲醇配制的 0.3 mg/mL L-2-氯苯丙氨酸、0.01 mg/mL Lyso PC17：0 各 20 μL；向配置好的溶液中加入 2 个小钢珠，置于 - 20 ℃预冷 2 min，60 Hz 研磨 2 min；冰水浴中超声提取 10 min 后置于 - 20 ℃静置 20 min；4 ℃，13 000 r/min 离心 10 min 后取 300 μL 上清液挥干，用 400 μL 甲醇-水（V：V=1：4）复溶，涡旋振荡 30 s，超声 2 min；4 ℃，13 000 r/min 再次离心 10 min 后取 150 μL 上清液，用 0.22 μmol·L^{-1} 有机相针孔过滤器过滤，转移到 LC 进样小瓶，- 80 ℃下保存，用于 LC-MS 分析。质控样本（Quality control, QC）由所有样本的提取液等体积混合制备而成，每个 QC 体积与样本相同。每组样品重复 10 次。

1.4.2 液相色谱-质谱分析条件 （1）色谱条件：色谱柱：100 mm × 2.1 mm，1.8 μmol·L^{-1}；柱温：45 ℃；流动相：A-水（含 0.1%甲酸），B-乙腈（含 0.1%甲酸）；流速：0.4 mL/min；进样体积：5 μL。洗脱梯度如表 1。

（2）质谱条件：样品质谱信号采集分别采用正负离子扫描模式，质谱参数如表 2。

表 1 洗脱梯度

Table 1 Elution gradient

时间（min） Time (min)	流动相 A（%） Mobile phase A (%)	流动相 B（%） Mobile phase B (%)
0	95	5
2	80	20
4	75	25
9	40	60
14	0	100
16	0	100
16.1	95	5
18.1	95	5

表 2 质谱参数

Table 2 Mass spectrum parameters

质谱参数 Mass spectrum parameters	正离子 Positive ion	负离子 Negative ion
雾化气 Nebulizer gas (GS1, PSI)	55	55
辅助气 Auxiliary gas (GS2, PSI)	55	55
气帘气 Curtain gas (CUR, PSI)	35	35
雾化温度 Ion source temperature (℃)	550	550
源喷射电压 Ion spray voltage (V)	5 500	4 500
裂解电压 Declustering potential (DP, V)	80	- 80
质量扫描范围 Mass scan range (TOF MS scan)	70-1 000	70-1 000
碰撞能 Collision energy (TOF MS scan, eV)	10	- 10
质量扫描范围 Mass scan range (Product ion scan)	50-1 000	50-1 000
碰撞能 Collision energy (Product ion scan, eV)	30	30
接口加热器温度 Interface heater temperature (℃)	550	550

1.5 数据分析

基于非靶向代谢组学，结合代谢组学数据处理软件 Progenesis QI，对原始数据进行标准化预处理，并对原始数据进行定性及相对定量分析。通过无监督的主成分分析（Principal components analysis, PCA）来观察各样本之间的总体分布和整个分析过程的稳定性，然后用有监督的偏最小

二乘法分析（Partial least squares discriminant analysis, PLS-DA）及正交偏最小二乘法分析（Orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA）来区分各组间代谢轮廓的总体差异，找到组间的差异代谢物。通过 VIP 值，*t* 检验的 *P* 值以及差异倍数（fold change, FC）来比较两组间差异代谢物。通过皮尔森相关系数对两组间差异代谢物进行相关性分析。通过差异代谢物的 KEGG ID 进行通路富集分析，并应用超几何检验筛选出两组间差异代谢物的显著富集通路。

2　结果与分析

2.1　差异模型分析

通过主成分（PCA）分析松毛虫赤眼蜂滞育组与非滞育组在预蛹时期的代谢谱差异，两组样本分离度较好，都在 95%置信区间内，说明滞育组与非滞育组间存在显著差异（图 1：A）。

偏最小二乘法分析（PLS-DA）加入分组变量，可弥补 PCA 方法的不足。通过分析得出，两组样本分离度较好，且都在 95%置信区间内，X 轴方向积累解释率（R2X）（cum）为 0.749；Y 轴方向积累解释率（R2Y）（cum）和积累预测率（Q2）（cum）分别为 0.997 和 0.994，均接近 1，说明滞育组与非滞育组间存在显著差异且此模型建立良好（图 1：B）。正交偏最小二乘法分析（OPLS-DA）能够在 PLS-DA 的基础上进行修正，滤除与分类信息无关的噪音，提高模型的解析能力和有效性，最大化地凸显模型内部不同组别之间的差异。通过分析得出，滞育组与非滞育组都在 95%置信区间内，且存在显著差异，R2X（cum）、R2Y（cum）和 Q2（cum）分别为 0.749、0.997、0.993（图 1：C）。为防止模型过拟合，采用 7 次循环交互验证（7-fold cross validation）和 200 次响应排序检验（Response permutation testing，RPT）的方法来考察模型的质量。OPLS-DA 模型排序检验图中，Q2 在 R2 之下，且 Q2 的回归直线与 Y 轴交于负半轴（Q2<0，为 - 0.532），说明模型稳定可靠（图 2）。

2.2　滞育差异代谢物筛选

通过 *t* 检验（Student's *t*-test）和差异倍数分析（Fold change analysis）可比较出滞育组和非滞育组间的差异代谢产物。利用火山图中的 *P* 值和差异表达倍数[log2 fold change, log2(FC)]对差异代谢产物的整体分布情况进行可视化，可看出在滞育期间有 13 388 个代谢物显著上调，13 700 个显著下调（*P*<0.05）；另有 1 264 个代谢物无显著异（图 3）。

根据 OPLS-DA 模型第一主成分的 VIP 值>1

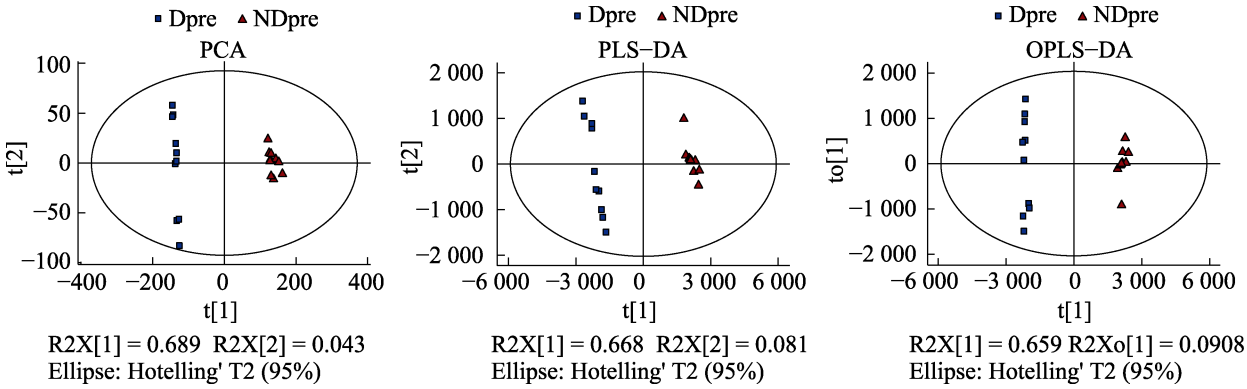

图 1　不同分析方法得分图

Fig. 1　Score plots of different analysis methods

A. PCA 得分图；B. PLS-DA 得分图；C. OPLS-DA 得分图。

A. PCA score plot; B. PLS-DA score plot; C. OPLS-DA score plot.

Dpre: 滞育预蛹 Diapause prepupa；NDpre:非滞育预蛹 Non-diapause prepupa.

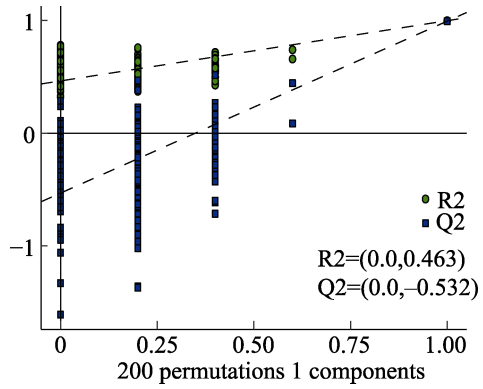

图 2　OPLS-DA 排序检验图

Fig. 2　The validation plots of OPLS-DA

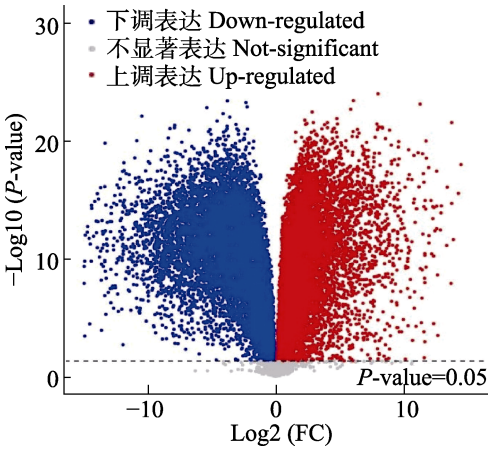

图 3　差异代谢物火山图

Fig. 3　Volcano map of differential metabolites

每个圆点代表一个差异代谢产物，红色代表在实验组中显著上调的差异代谢产物，蓝色代表显著下调的差异代谢产物，灰色代表不显著的差异代谢产物。

Each dot represents a differential metabolite, red represents the differential metabolite significantly up-regulated in the experimental group, blue represents the differential metabolite significantly down-regulated, and gray represents the non-differential metabolite.

及 *t* 检验中 $P<0.05$ 为标准共筛选出 1 072 种差异代谢物，为了更直观地展现样本间的关系和代谢物在滞育和非滞育之间的表达差异，进行了层次聚集分析。横向聚类代表样品，纵向聚类代表代谢物，聚类分支长短代表相似性。其中有 674 种代谢物在滞育期间上调表达，398 种下调表达。滞育组与非滞育组相比，脂类物质、有机氧化合物、有机环杂化合物、有机酸、苯环型化合物、苯丙烷和聚酮等为主要差异代谢物，其中脂类物质主要包括甘油磷脂、溶血磷脂、鞘磷脂、脂肪酸、类固醇、甘油糖脂等；有机氧化合物主要包括碳水化合物、酒精和多元醇等；有机杂环化合物主要包括呋喃、喹啉、吡啶、噻唑、嘧啶、吲哚等；有机酸类物质包括氨基酸、多肽、羧酸、羟基酸等（图 4）。根据 VIP 值，从高到低排列出前 50 种代谢物，显著上调表达的大多为磷脂，如 PE[18∶1(9Z)/0∶0]、溶血磷脂，如 LysoPC[18∶1(9Z)]、脂肪酸，如 Gamma-linolenyl carnitine 等脂类物质和缬氨酸，如 L-Valine、脯氨酸，如 D-Proline、异亮氨酸，如 L-Isoleucine 等氨基酸类物质；显著下调表达的均为脂类物质，其中几乎均为磷脂类，如 PS[18∶3(9Z, 12Z,15Z)/ 21∶0]、LysoPE(16∶0/0∶0)（图 5）。并使用皮尔森相关系数（Pearson correlation coefficient）分析差异表达前 50 的代谢物相关性（图 6）。

2.3　滞育差异代谢通路

对松毛虫赤眼蜂非滞育和滞育预蛹的差异代谢物进行 KEGG 富集分析，共注释到 116 种代谢物，富集到 74 条通路。其中，有 7 条代谢通路在滞育和非滞育间存在极显著差异（$P<0.01$），包括氨酰-tRNA 的生物合成（Aminoacyl-tRNA biosynthesis），含差异代谢物 9 种、氨基酸的生物合成（Biosynthesis of amino acids），含差异代谢物 14 种、ABC 转运子（ABC transporters），含差异代谢物 12 种、半乳糖代谢（Galactose metabolism），含差异代谢物 6 种、苯丙氨酸，酪氨酸和色氨酸生物合成（Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis），含差异代谢物 5 种、色氨酸代谢（Tryptophan metabolism），含差异代谢物 8 种、缬氨酸，亮氨酸和异亮氨酸生物合成（Valine, leucine and isoleucine biosynthesis），含差异代谢物 4 种。7 条代谢通路在滞育和非滞育样本间存在显著差异（$P<0.05$），包括泛酸盐和辅酶 A 生物合成（Pantothenate and CoA biosynthesis），含差异代谢物 4 种、碳代谢（Carbon metabolism），含差异代谢物 9 种、2-氧代羧酸代谢（2-Oxocarboxylic acid metabolism），含差异代谢物 10 种、组氨酸代谢（Histidine metabolism），

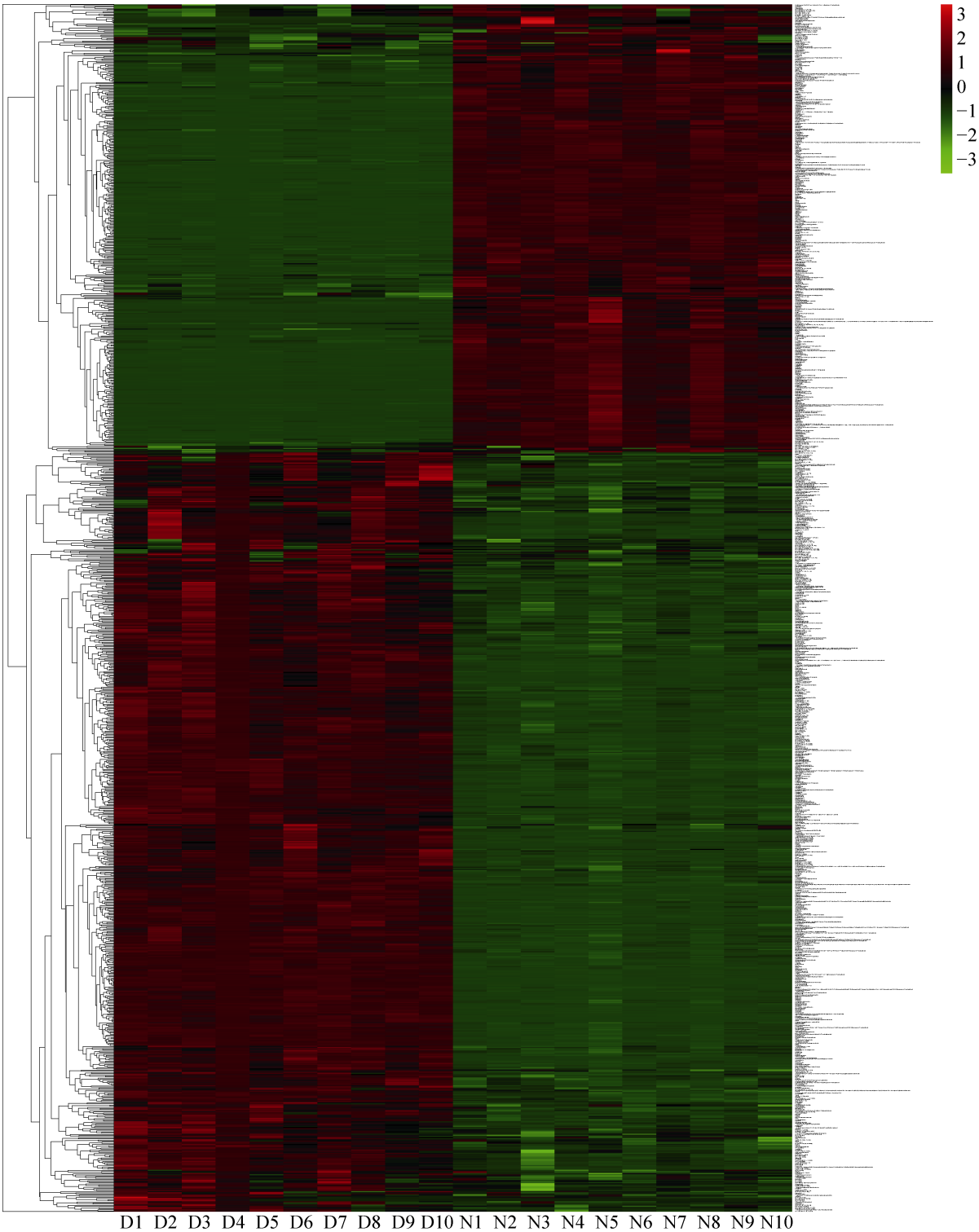

图 4　差异代谢物聚类分析图

Fig. 4　Heatmap of differential metabolites

横坐标表示样本名称，纵坐标表示差异代谢物。颜色从绿到红表示代谢物的表达丰度从低到高，即越红表示差异代谢物的表达丰度越高。D1-D10：滞育组；N1-N10：非滞育组。

The abscissa represents the sample name, and the ordinate represents the differential metabolites. Color from green to red indicates the expression abundance of metabolites from low to high, that is, the more red indicates the higher expression abundance of differential metabolites. D1-D10: Diapause group; N1-N10: Non-diapause group.

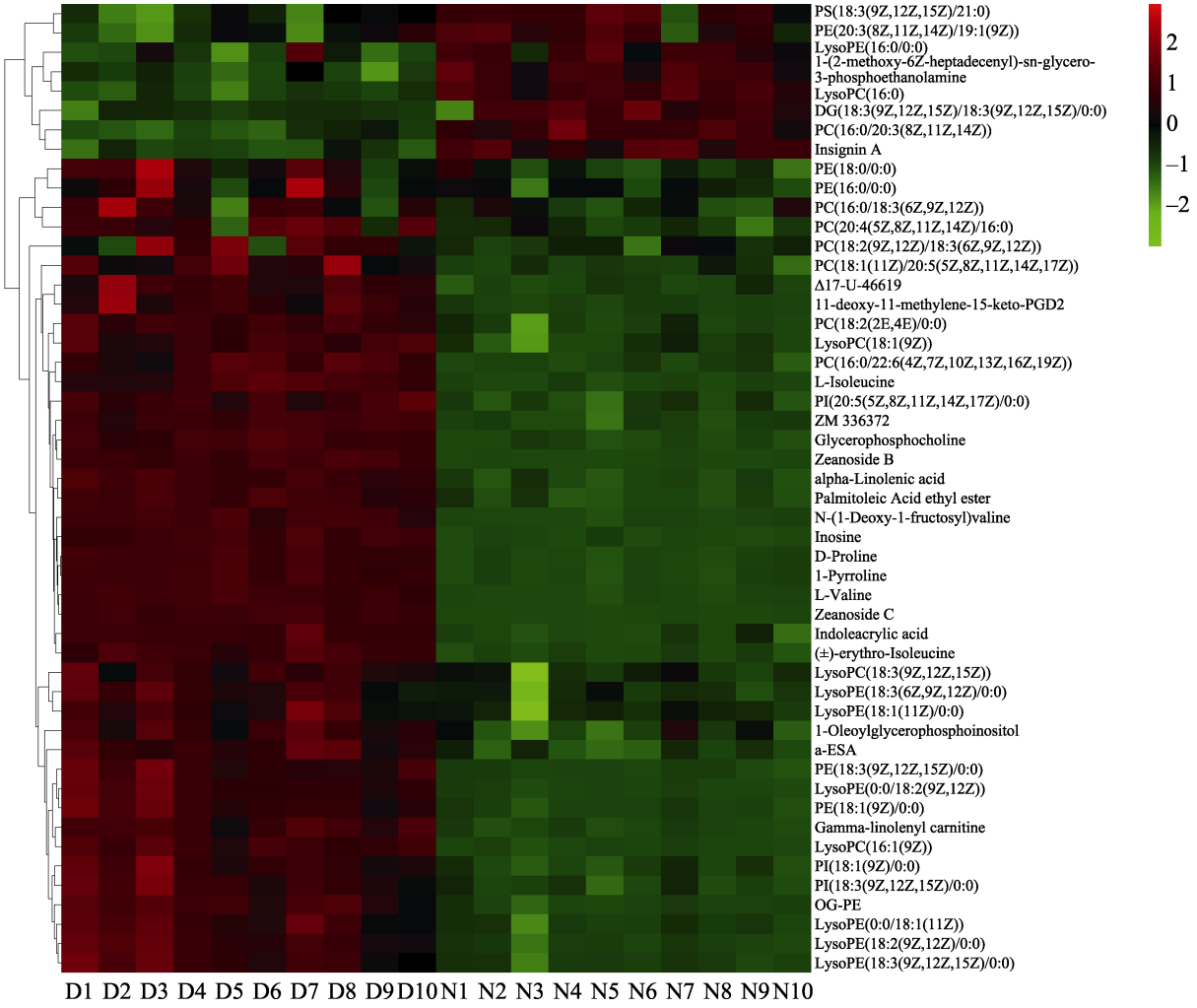

图 5　Top 50 差异代谢物聚类分析图

Fig. 5　Top 50 heatmap of differential metabolites

含差异代谢物 5 种、三羧酸循环（TCA cycle），含差异代谢物 3 种、神经活性配体受体互作（Neuroactive ligand-receptor interaction），含差异代谢物 5 种、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路（AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications），含差异代谢物 2 种（图 7，图 8）。

3　讨论

本研究发现松毛虫赤眼蜂在滞育和非滞育状态下的代谢图谱存在差异，差异代谢产物主要包括溶血磷脂、甘油磷脂、脂肪酸、氨基酸、碳水化合物等，KEGG 通路富集分析显示多种氨基酸的合成、代谢及三羧酸循环等通路存在显著差异，这些物质的含量变化和相互转化可能是松毛虫赤眼蜂在滞育过程中抵御低温的原因。

磷脂可促进昆虫体内脂类代谢，同时是细胞膜的组成成分之一，能与膜蛋白结合，控制细胞新陈代谢、能量转换、细胞修复及信息传导（Nagao and Yanagida，2002）。本研究中，滞育松毛虫赤眼蜂体内的一些 PI（Phosphatidyl inositol，磷脂酰肌醇）、PC（Phosphatidyl choline，磷脂酰胆碱，又名卵磷脂）、PE（Phosphatidyl ethanolamine，磷脂酰乙醇胺，又名脑磷脂）、PS（Phosphatidyl serine，磷脂酰丝氨酸）、PA（Phosphatidic acid，磷脂酸）均显著高于非滞育组。在对家蚕 *Bombyx mori* 的研究中也发现，其体内的磷脂含量与耐寒性成正比（吴大洋，1989）。

磷脂含量增加可能在松毛虫赤眼蜂滞育过程中影响脂类物质的代谢、转化和细胞间的能量传递，从而增强虫体的耐寒性。溶血磷脂是将磷脂水解而产生的化合物，极性强于磷脂，当大量的溶血磷脂与细胞膜接触时可以增强膜的流动性（Birgbauer and Chun，2006）。松毛虫赤眼蜂体内一些溶血磷脂，如 LPI（Lysophosphatidyl inositol，溶血磷脂酰肌醇）、LPC（Lysophosphatidyl choline，溶血卵磷脂）、LPE（Lysophosphatidyl ethanolamine，溶血脑磷脂）、LPA（Lysophosphatidic Acid，溶血磷脂酸）在滞育期间显著上调，这与茶足柄瘤蚜茧蜂 *Lysiphlebus teataceipes* 的研究结果相似，因此推测溶血磷脂的增加可能会增强松毛虫赤眼蜂体内细胞膜的流动性，从而更好的适应低温环境（刘敏，2020）。通过调节磷脂中不饱和脂肪酸的比例也可以调节膜与膜蛋白的

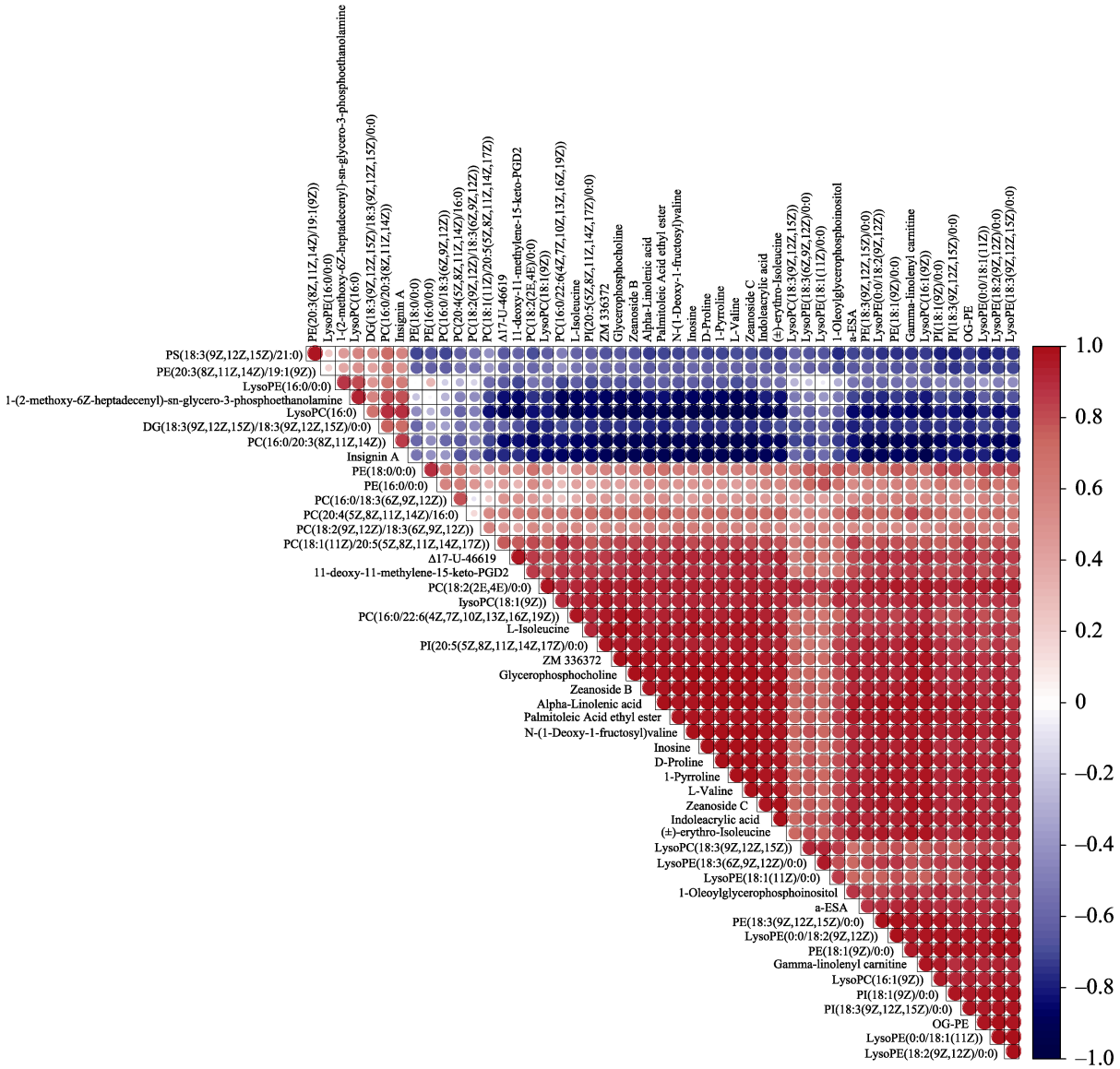

图 6　Top 50 差异代谢物相关性分析图

Fig. 6　Top 50 correlation analysis of differential metabolites

红色圆点代表正相关，蓝色圆点代表负相关。圆点越大代表相关性的绝对值越趋近 1，反之越小，空白部分代表 $P>0.05$。

Red dots represent positive correlation, blue dots represent negative correlation. The larger the dot is, the closer the absolute value of correlation is to 1; otherwise, the smaller the dot is, the blank part represents $P>0.05$.

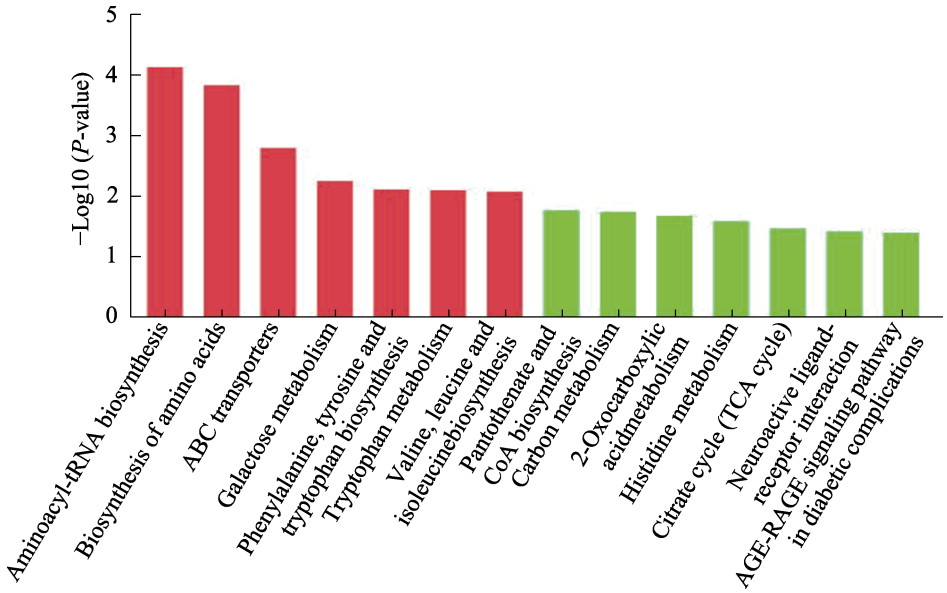

图 7　代谢通路富集图

Fig. 7　Enrichment map of metabolic pathways

红色代表 $P < 0.01$，绿色代表 $P < 0.05$，均具有显著差异。

Red represents $P < 0.01$, green represents $P < 0.05$, both have significant differences.

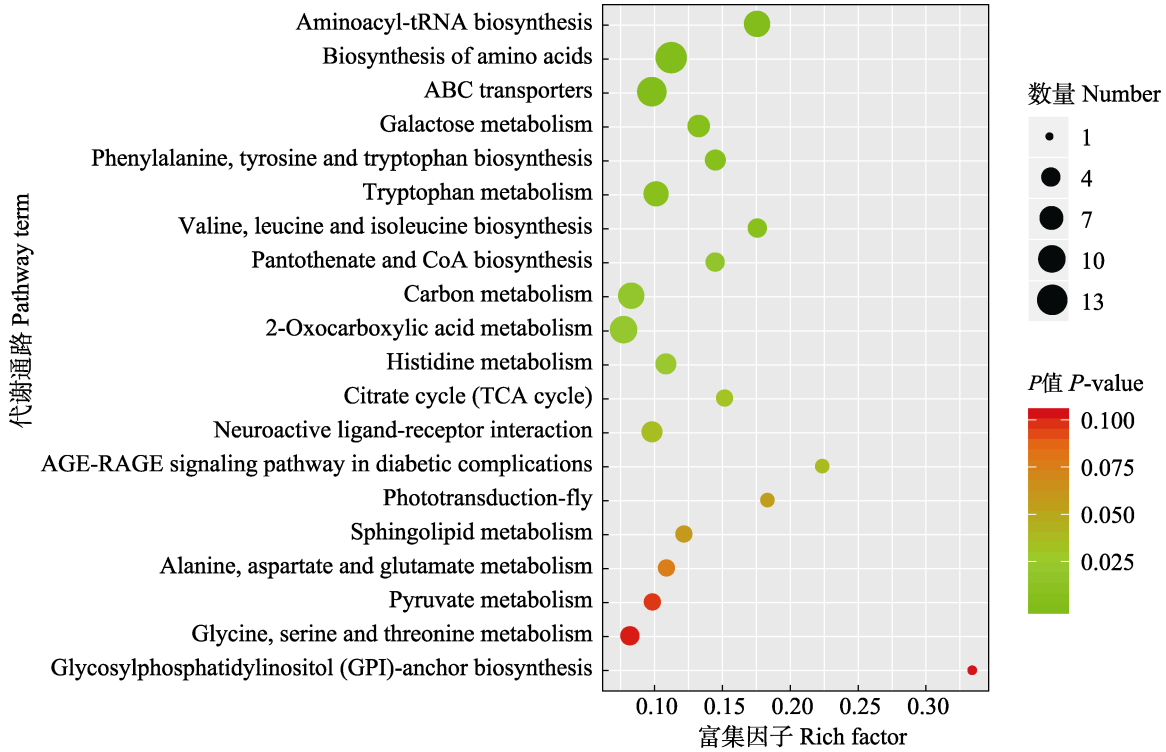

图 8　代谢通路富集图

Fig. 8　Enrichment map of metabolic pathways

Rich factor：显著差异代谢物个数/该通路中的总代谢物个数。富集因子越大，则说明富集程度越大；颜色由红到绿表示 *P* 值逐渐降低；圆点越大，说明富集到该通路上的代谢物数目越多。

Rich factor respresents the number of distinct metabolites/the number of total metabolites in the pathway. The greater the enrichment factor, the greater the enrichment degree. The color from red to green indicates that *P*-value gradually decreased. The larger the dot, the more metabolites enriched in the pathway.

结合，不饱和度的增加可以引起膜物理性质的变化，从而补偿了细胞膜内部因寒冷而改变的碳氢化合物（Teets and Denlinger，2013；Hayward *et al.*，2014）。滞育松毛虫赤眼蜂体内的油酸和亚油酸含量显著升高，与麻蝇 *Sarcophaga crassipalpis* 和欧洲玉米螟 *Ostrinia nubilalis* 的研究结果相似，这类不饱和脂肪酸的增加可能会增强细胞膜与膜蛋白的结合，从而提高昆虫的抗逆性（Michaud and Denlinger，2006；Vukašinović *et al.*，2015）。

脯氨酸是昆虫用于抵御低温的重要的物质，在对丽蝇蛹集金小蜂 *Nasonia vitripennis*（李玉艳，2015）、伞裙追寄蝇 *Exorista civilis*（张博，2021）的研究中均发现虫体内的脯氨酸含量在滞育过程中显著升高，通过在中华蜜蜂 *Apis cerana*（王晓瑜，2019）和黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*（Koštál *et al.*，2012）的饲料中添加脯氨酸也可提高其在低温下的存活率，这证明脯氨酸与昆虫的耐寒性息息相关。本研究中，脯氨酸也在滞育松毛虫赤眼蜂体内显著升高，说明脯氨酸在其滞育过程中同样起到了一种低温保护剂的作用。哌啶酸是由赖氨酸分解而成的一种环形非蛋白质氨基酸，存在于动物的神经组织中，是一种重要的抑制性神经递质。近年来发现哌啶酸在丽蝇蛹集金小蜂和芽茧蜂 *Praon volucre*（Colinet *et al.*，2012）的滞育中升高，在滞育松毛虫赤眼蜂中也存在这种现象，推测哌啶酸可能是一种抗寒物质，但其在昆虫滞育中的作用机理还有待研究。

缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸同属支链氨基酸，可快速氧化并为生物体提供能量（史仍飞和袁海平，2003）。缬氨酸和色氨酸可以影响虫体表皮的疏水性，维持滞育昆虫表皮的正常水分（Hidalgo *et al.*，2014）。滞育松毛虫赤眼蜂体内的色氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸含量增高，而酪氨酸、天冬氨酸的含量降低，这一现象同样也在丽蝇蛹集金小蜂中存在，这些代谢物参与多种氨基酸的合成、代谢以及三羧酸循环。三羧酸循环可为碳水化合物和氨基酸代谢提供能量和底物，其中间代谢物柠檬酸、异柠檬酸和苹果酸在松毛虫赤眼蜂滞育期间存在显著变化，这可能与滞育期间昆虫的代谢速率降低，三羧酸循环受到抑制有关（Lu *et al.*，2014）。水苏糖属于 α-低聚半乳糖，是昆虫体内的一种糖原，可调节肠道微生物，增强肠道有益菌，还可以提高虫体免疫力（Wu *et al.*，2014；赵歆昀等，2018）。水苏糖在滞育松毛虫赤眼蜂体内的含量升高，推测其在滞育中起到调节免疫力、增强抗性的作用。此外，本研究中多种糖类和多元醇物质在松毛虫赤眼蜂滞育期间上调表达，这些碳水化合物可在昆虫滞育期间起到为虫体提供能量、维持生存的作用（任小云等，2016）。

人工低温诱导滞育是工厂化生产中长期储存赤眼蜂的主要技术，但赤眼蜂进入滞育后需要在更低的温度下解除滞育，而人工解除滞育时间长达 70 余天，为赤眼蜂的生产带来了极大的不便利性，因此深入探究赤眼蜂的滞育机制，对人工调控赤眼蜂滞育及缩短解除滞育的时间具有很高的研究价值。本研究通过液相色谱-质谱技术分析松毛虫赤眼蜂的滞育关联代谢物及代谢通路变化，研究得出在松毛虫赤眼蜂滞育期间的差异代谢物及其作用通路，初步揭示了松毛虫赤眼蜂的滞育机制，为进一步改善赤眼蜂生产技术提供科学依据。今后可继续探索其代谢机制，并结合转录组学和蛋白质组学对松毛虫赤眼蜂滞育的机制进行联合分析。

参考文献 (References)

Batz ZA, Armbruster PA, 2018. Diapause-associated changes in the lipid and metabolite profiles of the Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus*. *Journal of Experimental Biology*, 221(24): jeb189480.

Birgbauer E, Chun J, 2006. New developments in the biological functions of lysophospholipids. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 63(23): 2695–2701.

Colinet H, Renault D, Charoy-Guével B, Com E, 2012. Metabolic and proteomic profiling of diapause in the aphid parasitoid *Praon volucre*. *PLoS ONE*, 7(2): e32606.

Dettmer K, Aronov PA, Hammock BD, 2010. Mass spectrometry-based metabolomics. *Mass Spectrometry Reviews*, 26(1): 51–78.

Greenberg SM, Nordlund DA, King EG, 1996. Mass production of *Trichogramma* spp.: Experiences in the former Soviet Union, China, the United State and Western Europe. *Biocontrol News & Information*, 17(3): 51–60.

Hayward SAL, Manso B, Cossins AR, 2014. Molecular basis of chill resistance adaptations in poikilothermic animals. *The Journal of Experimental Biology*, 217(1): 6–15.

Hidalgo K, Mouline K, Mamai W, Foucreau N, Dabiré KR, Bouchereau A, Simard F, Renault D, 2014. Novel insights into the metabolic and biochemical underpinnings assisting dry-season survival in female malaria mosquitoes of the *Anopheles gambiae* complex. *Journal of Insect Physiology*, 70: 102–116.

Huang QT, Ma Q, Li FX, Zhu-Salzman K, Cheng WN, 2022. Metabolomics reveals changes in metabolite profiles among pre-diapause, diapause and post-diapause larvae of *Sitodiplosis mosellana* (Diptera: Cecidomyiidae). *Insects*, 13(4): 339.

Koštál V, Šimek P, Zahradníčková H, Cimlová J, Štětina T, 2012. Conversion of the chill susceptible fruit fly larva (*Drosophila melanogaster*) to a freeze tolerant organism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(9): 3270–3274.

Li YY, 2015. Effects of diapause and nutritional transfer on cold tolerance of *Nasonia vitripennis* and its molecular mechanism. Doctoral dissertation. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences. [李玉艳, 2015. 滞育诱导和营养传递对丽蝇蛹集金小蜂耐寒性的影响及其分子机制. 博士学位论文. 北京: 中国农业科学院.]

Liu M, 2020. Exploring molecular mechanism of diapause on *Lysiphlebus teataceipes* Cresson. Master dissertation. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences. [刘敏, 2020. 茶足柄瘤蚜茧蜂滞育分子机制的研究. 硕士学位论文. 北京: 中国农业科学院.]

Liu SS, Shi ZH, 1996, Recent developments in research and utilization of *Trichogramma* spp. *Chinese Journal of Biological Control*, 12(2): 78–84. [刘树生, 施祖华, 1996. 赤眼蜂研究和应用进展. 中国生物防治, 12(2): 78–84.]

Lu YX, Zhang Q, Xu WH, 2014. Global metabolomic analyses of the hemolymph and brain during the initiation, maintenance, and termination of pupal diapause in the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *PLoS ONE*, 9(6): e99948.

Michaud MR, Denlinger DL, 2006. Oleic acid is elevated in cell membranes during rapid cold-hardening and pupal diapause in the flesh fly, *Sarcophaga crassipalpis*. *Journal of Insect Physiology*, 52(10): 1073–1082.

Nagao K, Yanagida T, 2002. Physiological functions of phospholipids. *Oleoscience Journal of Japan Oil Chemists Society*, 2(3): 129–135.

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.]

Shi RF, Yuan HP, 2003. Biochemistry and nutrition of branched chain amino acids. *Journal of Shanghai Physical Education Institute*, 27(5): 65–67. [史仍飞, 袁海平, 2003. 支链氨基酸代谢与运动. 上海体育学院学报, 27(5): 65–67.]

Smith SM, 1996. Biological control with *Trichogramma*: advances, Successes, and potential of their use. *Annual Review of Entomology*, 41(1): 375–406.

Teets NM, Denlinger DL, 2013. Physiological mechanisms of seasonal and rapid cold-hardening in insects. *Physiological Entomology*, 38(2): 105–116.

Vukašinović EL, Pond DW, Worland MR, Kojić D, Purać J, Popović ZD, Grubor-Lajšić G, 2015. Diapause induces remodeling of the fatty acid composition of membrane and storage lipids in overwintering larvae of *Ostrinia nubilalis*, Hübn. (Lepidoptera: Crambidae). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 184: 36–43.

Wang J, Wang P, Fan H, Liu YH, 2019. Comparison of metabolic profile between diapause-destined and non-diapause-destined pupae of *Bactrocera minax*. *Scientia Agricultura Sinica*, 52(6): 1021–1031. [王佳, 王攀, 樊欢, 刘映红, 2019. 柑橘大实蝇滞育型与非滞育型蛹的代谢谱比较. 中国农业科学, 52(6): 1021–1031.]

Wang XY, 2019. Effects of proline on physiological indexes of cold tolerance in *Apis cerana cerana* Fabricius and transcriptome analysis. Master dissertation. Xian: Shaanxi Normal University. [王晓瑜, 2019. 脯氨酸对中华蜜蜂耐寒生理指标的影响及转录组分析. 硕士学位论文. 西安: 陕西师范大学.]

Wang ZY, He KL, Zhang F, Lu X, Babendreier D, 2014. Mass rearing and release of *Trichogramma* for biological control of insect pests of corn in China. *Biological Control*, 68(1): 136–144.

Wu DY, 1989. The impact of different temperature for cold storage on the phosphglycerides content of the silkworm eggs. *Journal of Southwest Agricultural University*, 11(5): 516–518. [吴大洋, 1989. 不同冷藏温度对家蚕卵磷脂量的影响. 西南农业大学学报, 11(5): 516–518.]

Wu XY, Chao ZM, Wang C, Sun W, 2014. Extraction and absolute crystal structure of stachyose. *Chinese Journal of Structural Chemistry*, 33(1): 65–70.

Xu GW, Lu X, Yang SL, 2007. Rencent advances in metabonomics. *Acta Academiae Medicinae Sinicae*, 29(6): 701–711. [许国旺, 路鑫, 杨胜利, 2007. 代谢组学研究进展. 中国医学科学院学报, 29(6): 701–711.]

Zang LS, Wang S, Zhang F, Desneux N, 2021. Biological control with *Trichogramma* in China: History, present status and perspectives. *Annual Review of Entomology*, 66(1): 463–484.

Zhang B, 2021. Transcriptomic and metabolomic analysis of diapause in *Exorista civilis*. Master dissertation. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences. [张博, 2021. 伞裙追寄蝇滞育的转录组学和代谢组学分析. 硕士学位论文. 北京: 中国农业科学院.]

Zhang JJ, Ruan CC, Zang LS, Shao XW, Shi SS, 2015. Technological improvements for mass production of *Trichogramma* and current status of their applications for biological control on agricultural pests in China. *Chinese Journal of Biological Control*, 31(5): 638–646. [张俊杰, 阮长春, 臧连生, 邵玺文, 史树森, 2015. 我国赤眼蜂工厂化繁育技术改进及防治农业害虫应用现状. 中国生物防治学报, 31(5): 638–646.]

Zhang JJ, Zhang X, Du WM, Ruan CC, Zang LS, Ren BZ, 2018. Effects of inducing initial stage, temperature and period on diapause induction and diapause termination in *Trichogramma dendrolimi*. *Journal of Plant Protection*, 45(6): 290–298. [张俊杰, 张雪, 杜文梅, 阮长春, 臧连生, 任炳忠, 2018. 诱导始期、温度和历期对松毛虫赤眼蜂滞育诱导及解除滞育的影响. 植物保护学报, 45(6): 290–298.]

Zhao XY, Liu JZ, Yang GQ, 2018. Physicochemical property of stachyose and its application in animal production. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 30(8): 2938–2944. [赵歆昀, 刘吉喆, 杨桂芹, 2018. 水苏糖的理化特性及其在动物生产上的应用. 动物营养学报, 30(8): 2938–2944.]

****

封面介绍

长尾管蚜蝇 *Eristalis tenax* (Linnaeus)

长尾管蚜蝇分布广泛，是双翅目（Diptera）食蚜蝇科（Syrphidae）昆虫。本期封面照片于 2013 年 10 月 3 日拍摄于河北省乐亭县，物种学名由中国农业大学杨定教授和王亮博士鉴定。

（张润志，中国科学院动物研究所）