北京林业大学学报
JOURNAL OF BEIJING FORESTRY UNIVERSITY

松墨天牛4龄越冬幼虫响应低温胁迫的生理适应机制

刘佳奇 赵立娟 刘磊 黄瑞芬 韩有志 张志伟 崔绍朋 高瑞贺

Physiological adaptation mechanism of 4-age wintering larvae of *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae) in response to low temperature stress

Liu Jiaqi, Zhao Lijuan, Liu Lei, Huang Ruifen, Han Youzhi, Zhang Zhiwei, Cui Shaopeng, Gao Ruihe

引用本文:
刘佳奇, 赵立娟, 刘磊, 黄瑞芬, 韩有志, 张志伟, 崔绍朋, 高瑞贺. 松墨天牛4龄越冬幼虫响应低温胁迫的生理适应机制[J]. 北京林业大学学报, 2024, 46(4):74–83. doi: 10.12171/j.1000–1522.20220438
Liu Jiaqi, Zhao Lijuan, Liu Lei, Huang Ruifen, Han Youzhi, Zhang Zhiwei, Cui Shaopeng, Gao Ruihe. Physiological adaptation mechanism of 4–age wintering larvae of *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae) in response to low temperature stress[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2024, 46(4):74–83. doi: 10.12171/j.1000–1522.20220438

在线阅读 View online: https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20220438

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

松材线虫病木内天牛蛀道蛹室的优势长喙壳真菌分析

Dominantly ophiostomatoid fungus inhabiting tunnels and pupal chambers of *Monochamus alternatus* in pines infected by *Bursaphelenchus xylophilus*

北京林业大学学报, 2019, 41(6): 102–110. https://doi.org/10.13332/j.1000–1522.20180157

松壳黄酮提取工艺及其抗氧化活性

Extraction technology of flavonoids from pine shell and its antioxidant activity

北京林业大学学报, 2020, 42(8): 141–149. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20190452

胡杨异形叶抗氧化能力的比较

Comparative study on antioxidant capacity of heteromorphic leaves of *Populus euphratica*

北京林业大学学报, 2019, 41(8): 76–83. https://doi.org/10.13332/j.1000–1522.20190134

松栎柱锈菌春孢子总黄酮提取及抗氧化活性

Extraction of total flavonoids from *Cronartium orientale* aeciospores by response surface methodology and its antioxidant activity in vitro

北京林业大学学报, 2017, 39(3): 38–47. https://doi.org/10.13332/j.1000–1522.20160269

用茉莉酸甲酯局部喷施长白落叶松苗对落叶松毛虫体内防御酶的影响

Effects of partially spraying *Larix olgensis* seedlings with exogenous methyl jasmonate on the defensive enzyme activities of *Dendrolimus superans* larvae

北京林业大学学报, 2017, 39(2): 58–63. https://doi.org/10.13332/j.1000–1522.20160291

3种内吸性杀虫剂对光肩星天牛幼虫的林间防治效果

Field control efficiencies of three systemic insecticides on *Anoplophora glabripennis* larvae

北京林业大学学报, 2017, 39(7): 62–68. https://doi.org/10.13332/j.1000–1522.20170033

DOI:10.12171/j.1000−1522.20220438

松墨天牛 4 龄越冬幼虫响应低温胁迫的生理适应机制

刘佳奇[1,2] 赵立娟[1,2] 刘 磊[1,2] 黄瑞芬[3] 韩有志[1] 张志伟[1,2]
崔绍朋[1,2] 高瑞贺[1,2]

（1. 山西农业大学林学院，山西 太谷 030800；2. 山西省林业危险性有害生物检验鉴定中心，山西 太谷 030800；
3. 国家林业和草原局生物灾害防控中心，辽宁 沈阳 110034）

摘要：【目的】明确松墨天牛 4 龄越冬幼虫响应低温胁迫的生理适应机制，为松墨天牛的科学防治提供理论依据。**【方法】**于 2021 年 3 月中旬于江西省德兴市采集松墨天牛 4 龄越冬幼虫，设置 25 ℃（对照）、4 、0 、−5 、−10 、−15 和 −20 ℃ 7 个温度梯度和 30 min、1 h 和 3 h 共 3 个时间梯度，分别测定虫体耐寒能力、耐寒物质含量、抗氧化酶活性以及低温胁迫对中肠损伤情况。**【结果】**(1)在过冷却点((−9.27 ± 0.90)℃)附近，50% 致死时间约为 1.9 h(114.97 min)，99% 致死时间约为 2.8 d(4 061.86 min)，在低于过冷却点(−15 ℃)的低温胁迫下，50% 和 99% 致死时间约为−10 ℃ 低温处理下的 1/4。(2)在低温胁迫处理后，4 龄越冬幼虫虫体含水率变化不显著，脂肪含量和糖原质量浓度在 0 ℃ 处理 3 h 后显著下降($P < 0.05$)，山梨醇质量浓度在−5 ℃ 处理 1 h 后显著上升($P < 0.05$)，在−20 ℃ 处理 1 h 后显著下降($P < 0.05$)。(3)低温胁迫处理后，抗氧化酶(SOD、POD、CAT)活性均呈显著上升趋势($P < 0.05$)。(4)松墨天牛 4 龄越冬幼虫中肠在−15 ℃ 处理 3 h 后中肠内壁分解，细胞之间出现空泡，−20 ℃ 处理 3 h 后中肠细胞破裂，细胞内容物逸散并充满整个肠腔，空泡消失。**【结论】**本文明确了松墨天牛 4 龄越冬幼虫响应低温胁迫的氧化应激生理反应，可丰富、完善松墨天牛耐寒机理研究。

关键词：松墨天牛；越冬幼虫；耐寒物质；抗氧化酶系

中图分类号：S763.7 **文献标志码：**A **文章编号：**1000−1522(2024)04−0074−10

引文格式：刘佳奇，赵立娟，刘磊，等. 松墨天牛 4 龄越冬幼虫响应低温胁迫的生理适应机制 [J]. 北京林业大学学报，2024，46(4)：74−83. Liu Jiaqi, Zhao Lijuan, Liu Lei, et al. Physiological adaptation mechanism of 4-age wintering larvae of *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae) in response to low temperature stress[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2024, 46(4): 74−83.

Physiological adaptation mechanism of 4-age wintering larvae of *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae) in response to low temperature stress

Liu Jiaqi[1,2] Zhao Lijuan[1,2] Liu Lei[1,2] Huang Ruifen[3] Han Youzhi[1] Zhang Zhiwei[1,2]
Cui Shaopeng[1,2] Gao Ruihe[1,2]

(1. College of Forestry, Shanxi Agricultural University, Taigu 030800, Shanxi, China;
2. Shanxi Dangerous Forest Pest Inspection and Identification Center, Taigu 030800, Shanxi, China;
3. Biological Disaster Prevention and Control Center of National Forestry and Grassland Administration, Shenyang 110034, Liaoning, China)

Abstract: [**Objective**] This paper aims to determine the physiological adaptation mechanism of the 4-age wintering larva of *M. alternatus* to low temperature stress. [**Method**] The 4-age wintering larva of *M. alternatus* were collected from Dexing, Jiangxi Province of eastern China in mid-March of the 2021, and seven temperature gradients of 25 ℃ (control), 4, 0, −5, −10, −15 and −20 ℃ and three time gradients of

收稿日期：2022−11−01 **修回日期：**2023−06−01

基金项目：山西省应用基础研究计划青年科技研究基金项目(20210302124062)，山西省回国留学人员资助项目(2023-087)，山西省高等学校科技创新项目(2021L128)，山西省研究生创新项目(2021Y326)，中央高校基本科研业务费专项(BFUKF202119)。

第一作者：刘佳奇。主要研究方向：林业外来有害生物防控。Email：ljq1871826510@163.com 地址：030800 山西省晋中市太谷区铭贤南路 1 号山西农业大学林学院。

责任作者：高瑞贺，副教授。主要研究方向：林业外来有害生物防控。Email：gaoruihe1989@163.com 地址：同上。

本刊网址：http://j.bjfu.edu.cn；http://journal.bjfu.edu.cn

30 min, 1 h and 3 h were set, the cold tolerance, content of cold-resistant substances, activity of antioxidant enzymes and the damage of midgut under low temperature stress were determined. [**Result**] (1) Near the supercooling point (−9.27 ± 0.90) ℃, the 50% lethal time was about 1.9 h (114.97 min), and the 99% lethal time was about 2.8 d (4 061.86 min). Under low temperature stress below the supercooling point (−15 ℃), the lethal time of 50% and 99% was about 1/4 of that under low temperature treatment of −10 ℃. (2) After low temperature stress treatment, the water content of the 4-age wintering larvae did not change significantly, the fat content and glycogen mass concentration were significantly decreased after 3 h at 0 ℃ ($P < 0.05$), and the sorbitol mass concentration was significantly increased after 1 h at −5 ℃ ($P < 0.05$), and significantly decreased after 1 h at −20 ℃ ($P < 0.05$). (3) After low temperature stress treatment, the activities of antioxidant enzymes (SOD, POD, CAT) were significantly increased ($P < 0.05$). (4) The midgut of the 4-age wintering larvae of *M. alternatus* was decomposed after −15 ℃ treatment for 3 h, and vacuoles appeared between cells. After −20 ℃ treatment for 3 h, the midgut cells were ruptured, and the cell vacuoles escaped and filled the whole intestinal cavity, and the vacuoles disappeared. [**Conclusion**] This study clarified the physiological response of oxidative stress of the fourth instar overwintering larvae to low temperature stress, which could enrich and improve the study on cold tolerance mechanism of *M. alternatus*.

Key words: *Monochamus alternatus*; wintering larvae; cold resistant substances; antioxidant enzyme system

松墨天牛(*Monochamus alternatus*)，又名松褐天牛、松天牛，属鞘翅目(Coleoptera)、天牛科(Cerambycidae)、沟胫天牛亚科(Lamiinae)、墨天牛属(*Monochamus*)。它是我国松科(Pinaceae)树种的主要蛀干害虫，并且也是国际公认的重大森林植物检疫对象——松材线虫(*Bursaphelenchus xylophilus*)的重要媒介昆虫之一。在松材线虫的扩散和侵染的过程中，松墨天牛起着携带、传播和协助病原侵入寄主的关键性作用[1]。传统观点认为，松墨天牛在我国主要分布于广西、江苏、江西、浙江、湖南、台湾、四川、河北、云南、广东、福建、西藏、山东、香港、安徽、河南、贵州、湖北、陕西 19 个省(自治区、特别行政区)[2−3]。然而，近年来松墨天牛开始向我国北方扩散。自 2004 年 8 月吉林通化市首次记录松墨天牛以来[4]，2016 年大连市松材线虫病疫情期间发现了大量松墨天牛[5]，2018 年山西又首次出现了松墨天牛野外种群。当松墨天牛突破其原有分布区域，在我国更北部地区定殖后，其越冬虫态必然要适应冬季更为寒冷的温度，这也表明松墨天牛越冬虫态具有较强的耐寒能力。

昆虫抗寒性是昆虫生态学研究的热点领域。昆虫在生长发育过程中经历着复杂的生态环境变化，其生理功能、基本行为甚至进化途径都受温度的控制和影响，而冬季低温环境是其生存的直接障碍[6]。在长期对寒冷气候适应的过程中，昆虫逐渐进化出两种耐寒策略——耐受型和躲避型，前者可以忍受细胞结冰而继续存活，后者只能在过冷却点以上存活[7]。昆虫耐寒能力的高低直接影响其生殖、扩散、分布及在下一季节的发生动态，决定其种群生存和发展[8−10]，Jikumaru 等[11]发现低温也会导致松墨天牛传播松材线虫的效率降低。此外，昆虫具有能够在短时间内快速适应低温胁迫的能力[12−13]。西花蓟马(*Frankliniella occidentalis*)[14]、枣椰扁潜甲(*Wallacea dactyliferae*)[15]等在低温驯化后，低温存活率均显著提高。

在低温胁迫等逆境环境下，昆虫体内会发生氧化应激反应，即昆虫受到胁迫时体内会产生大量活性氧(ROS)[16]。昆虫体内也有一套抗氧化系统来清除过量的活性氧，使其保持在较低水平，达成动态平衡的关系[17]。在这一抗氧化系统中，超氧化物歧化酶(SOD)可以清除 O_2^-，同时产生有害的 H_2O_2，过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)则可以分解 H_2O_2，Fridovich 将其称为保护酶系统[18]。耐寒物质的合成也是昆虫抵御寒冷胁迫的重要途径——提高细胞液浓度，从而降低冰点[12]，脂质、糖类、山梨醇、海藻糖等均是重要的耐寒物质。此外，低温胁迫处理后，昆虫中肠出现结构松散、细胞坏死等病理变化[19]。在高温处理下，小金蝠蛾(*Hepialus xiaojinensis*)的超氧化物歧化酶(SOD)活性维持在较高水平，而其过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽硫转移酶(GSTs)和丙二醛(MDA)活性均显著上升[20]。对于华山松大小蠹(*Dendroctonus armandi*)，其越冬幼虫的 POD活性在 10 月到次年 1 月显著上升[21]。Fields 等[22]研究发现海藻糖在谷象(*Sitophilus granaries*)冷驯化中起到了重要作用。红尾肉蝇(*Sarcophaga crassipalpis*)在经历快速冷驯化后，山梨醇和甘油含量有所增加[23]；而黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)在快速冷驯化后，其葡萄

糖和海藻糖含量也有所增加[24]。家蚕(*Bombyx mori*)在 4 ℃ 低温连续处理 20 h 后中肠细胞结构松散，内壁褶沟变浅，并出现组织坏死的情况[19]。

松墨天牛越冬幼虫能够度过北方寒冷的冬季并建立稳定种群，说明其有着强大的耐寒能力。由于松墨天牛不断向北扩散，对松墨天牛在新增分布区的基础研究也在持续进行，如发生情况[5]、空间分布格局[25−26]等。研究表明，越冬幼虫在松墨天牛整个生活史中的耐寒性最强[27]，人为冷驯化后和冬季采集的越冬幼虫耐寒性也较适宜温度下生活的幼虫大幅增强[28−29]。松墨天牛越冬幼虫体内的脂肪、糖原等耐寒物质在越冬期间均发挥重要作用[30−31]。分子生物学的发展使得松墨天牛温度胁迫机制的研究得以深入。在热休克蛋白 70(HSP70s)家族中，部分基因在松墨天牛温度胁迫中起重要作用。研究发现，热休克蛋白基因在 3 龄幼虫体内经低温胁迫处理后的表达量会上升，但对高温胁迫更加敏感[32]。李慧等[33]研究发现，*MaltHSP*21.20 可能在松墨天牛幼虫的滞育越冬过程中发挥重要作用。此外，Zhang 等[34]发现 miRNAs 基因中的 miR-31-5p 通过促进蛔虫苷的产生，有效增强了松墨天牛的耐寒性。同时，*MaltHSP*70-2 可能与其他 *HSP* 基因相互作用，共同在松墨天牛成虫的耐热性中发挥作用[35]。尽管如此，目前关于松墨天牛抗氧化应激反应的系统研究尚未开展。

本研究以松墨天牛 4 龄越冬幼虫为试验对象，在一系列低温胁迫下分别处理不同时间，以检测低温胁迫对松墨天牛 4 龄越冬幼虫响应低温胁迫的氧化应激生理反应的影响，具体包括虫体耐寒能力(如低温存活率)、耐寒物质含量(如含水率、脂肪、糖原、山梨醇)以及血淋巴抗氧化酶活性(如过氧化物酶 POD、超氧化物歧化酶 SOD、过氧化氢酶 CAT)的变化。此外，通过组织切片法研究了松墨天牛 4 龄幼虫在低温胁迫下中肠发生的病理变化。本研究旨在为明确松墨天牛 4 龄越冬幼虫响应寒冷胁迫的耐寒机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2021 年 3 月中旬于江西省德兴市采集松墨天牛 4 龄越冬幼虫。使用液压劈木机劈开木段，用镊子取出幼虫后放入带孔的 5 mL 离心管中带回实验室，随机编号，测量基本形态指标后放入 10 mL 离心管中饲养。幼虫鉴定采用形态鉴定和分子鉴定两种方法。

1.2 试验方法

经前期试验测定，松墨天牛 4 龄越冬幼虫在室温下的的平均过冷却点为(−9.27 ± 0.90)℃，最低为−11 ℃，最高为−8 ℃；其结冰点为(−3.67 ± 0.30)℃，最低为−4 ℃，最高为−3 ℃。以松墨天牛 4 龄越冬幼虫为试验对象，以室温(25 ℃)为对照，设置 4、0、−5、−10、−15 和−20 ℃ 6 个试验组，每组 6 个重复，每个重复 1 头幼虫，分别处理 30 min、1 h 和 3 h。

1.2.1 松墨天牛 4 龄越冬幼虫耐寒能力及抗氧化酶系活性测定

松墨天牛 4 龄越冬幼虫过冷却点和结冰点测定使用过冷却点仪测定，共测定 3 个重复，每个重复 2 头幼虫；含水率、脂肪含量测定参考董亚新等[36]的方法，糖原质量浓度、山梨醇含量、过氧化物酶(POD)活性、超氧化物歧化酶(SOD)活性和过氧化氢酶(CAT)活性测定使用索莱宝公司的试剂盒。

1.2.2 松墨天牛 4 龄越冬幼虫低温胁迫对肠道损伤情况

以 25 ℃ 为对照组，将松墨天牛 4 龄越冬幼虫分别置于−15、−20 ℃ 低温处理 3 h 后解剖出消化道，每组 3 个重复，每个重复 1 头幼虫，石蜡切片制作使用苏木精−伊红染色法[37]染色，置于显微镜下观察中肠受损情况并拍照。

1.2.3 数据分析与作图

使用 Excel 2019 和 SPSS 24 软件进行数据处理和描述统计；使用 SPSS 24 对耐寒物质含量和抗氧化酶系活性数据进行单变量方差分析，作图均使用 Graph Pad 6.0 完成，石蜡切片照片使用显微镜拍摄。

2 结果与分析

2.1 松墨天牛 4 龄越冬幼虫耐寒能力测定

2.1.1 松墨天牛 4 龄越冬幼虫低温存活率

由图 1 可知，松墨天牛 4 龄越冬幼虫在室温(25 ℃)、4 和 0 ℃ 处理下存活率为 100%；在−5 ℃ 处理 30 min 和 1 h 时，存活率为 80%；在−5 ℃ 处理 3 h 以及−15 ℃ 处理 30 min 时，幼虫存活存活率为 50%；在−15 ℃ 处理 3 h 以及−20 ℃ 处理 30 min、1 h

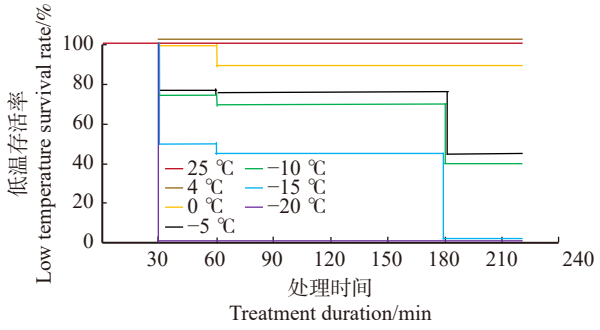


图 1 松墨天牛 4 龄越冬幼虫低温存活率曲线

Fig. 1 Low temperature survival rate curves of the 4-age wintering larvae of *Monochamus alternatus*

和 3 h 时，幼虫存活率为 0%。

2.1.2　松墨天牛 4 龄越冬幼虫低温致死时间

使用 Probit 模型分析松墨天牛 4 龄越冬幼虫不同低温胁迫下的致死时间，由表 1 可知，随着处理温度降低，致死时间呈逐渐降低的趋势。在−10 ℃ 处理后，50%、90% 和 99% 致死时间分别约为 1.9 h（114.97 min）、13.7 h（819.27 min）和 2.8 d（4 061.86 min），在−15 ℃ 处理后则分别为 27.75 min、3.3 h（197.76 min）和 16.3 h（980.48 min），50%、90% 和 99% 致死率均减少了 3 倍多，说明松墨天牛 4 龄越冬幼虫在低于过冷却点的温度下无法长时间存活。

2.2　低温胁迫对松墨天牛 4 龄越冬幼虫耐寒物质的影响

2.2.1　低温胁迫对松墨天牛 4 龄越冬幼虫含水率的影响

不同低温胁迫下处理 30 min 与 1 h，各试验组含水率较对照组有所降低但不显著；经过 3 h 低温胁迫处理，−10 与−20 ℃ 处理较对照组有所上升但仍不显著，在−10 ℃ 处理下最高（73%），在 0 ℃ 处理下最低（65%）（图 2）。

2.2.2　低温胁迫对松墨天牛 4 龄越冬幼虫脂肪含量的影响

经过 30 min 低温胁迫处理，−15 ℃ 处理脂肪含量较对照组显著上升至 15%（$P < 0.05$），−20 ℃ 处理较对照组显著下降至 5%（$P < 0.05$）。低温胁迫处理 1 h 后，0 ℃ 与−15 ℃ 处理脂肪含量较对照组显著下降（$P < 0.05$），其中 0 ℃ 处理下降至最低，为 6%，−10 ℃ 处理上升至最高，为 10%。继续处理至 3 h，0 ℃ 和−5 ℃ 的脂肪含量较对照组显著减少（$P < 0.05$），其中 0 ℃ 处理下降至最低，为 5%（见图 3）。

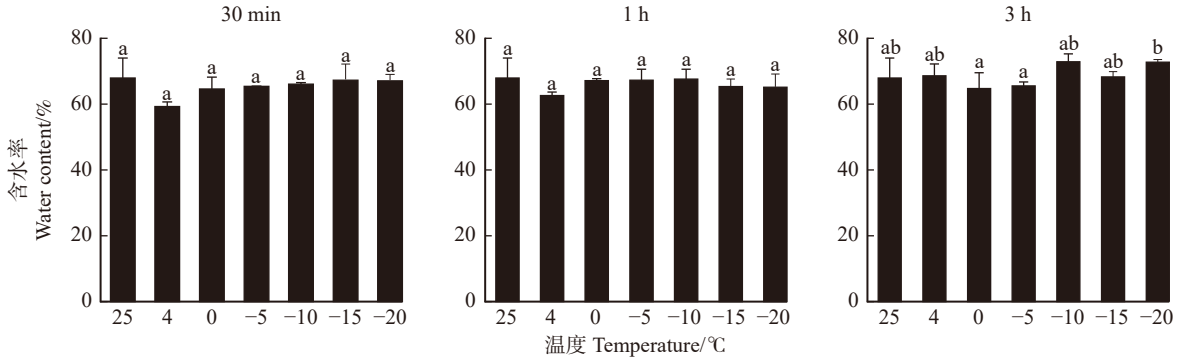
2.2.3　低温胁迫对松墨天牛 4 龄越冬幼虫糖原质量浓度的影响

低温胁迫处理 30 min 时，各试验组糖原质量浓度较对照组均有所降低，但不显著；低温胁迫处理 1 h

表 1　松墨天牛 4 龄越冬幼虫低温处理下 50%、90%、99% 致死时间

Tab. 1　50%, 90%, 99% leathal time of the 4-age wintering larvae of *M. alternatus* under low temperature treatment　　min

项目 Item	25 ℃	4 ℃	0 ℃	−5 ℃	−10 ℃	−15 ℃	−20 ℃
50%致死时间 50% of the leathal time	15 796.96	20 896.21	920.23	136.77	114.97	27.75	0.32
90%致死时间 90% of the leathal time	112 571.00	148 908.70	6 557.64	974.60	819.27	197.76	2.29
99%致死时间 99% of the leathal time	558 113.00	738 271.30	32 511.98	4 831.96	4 061.86	980.48	11.35



不同小写字母表示不同温度之间差异显著。下同。Different lowercase letters indicate significant differences between different temperatures. The same below.

图 2　低温胁迫对松墨天牛 4 龄越冬幼虫含水率的影响

Fig. 2　Effects of low temperature stress on water content of the 4-age wintering larvae of *M. alternatus*

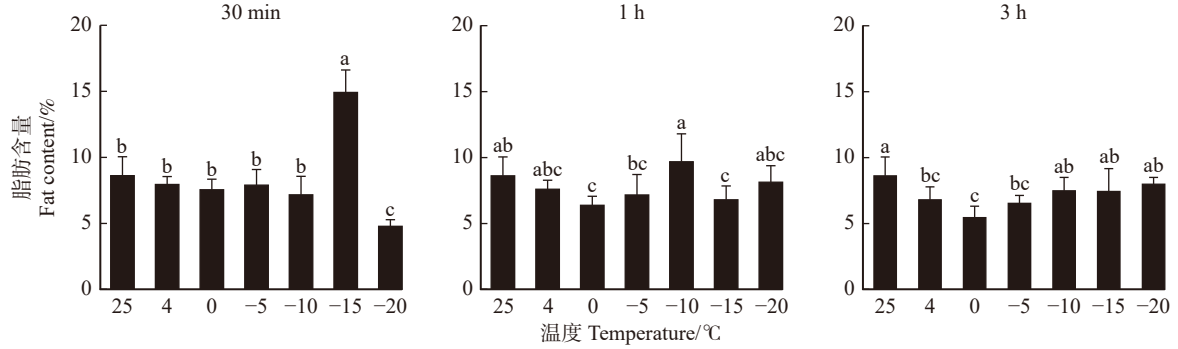


图 3　低温胁迫对松墨天牛 4 龄越冬幼虫脂肪含量的影响

Fig. 3　Effects of low temperature stress on fat content of the 4-age wintering larvae of *M. alternatus*

后，0、−5 和−20 ℃ 处理较对照组均显著上升（$P<0.05$），其中−5 ℃ 处理后最高，为（1.25 ± 0.31）mg/mL；处理 3 h 后，只有 0 ℃ 处理较对照组显著上升（$P<0.05$），为（1.38 ± 0.39）mg/mL（见图 4）。

2.2.4 低温胁迫对松墨天牛 4 龄越冬幼虫山梨醇质量浓度的影响

低温胁迫处理 30 min 时，0 ℃ 处理山梨醇质量浓度较对照组显著上升至（1.10 ± 0.14）mg/mL（$P<0.05$），−10 ℃ 处理较对照显著下降至（0.56 ± 0.05）mg/mL（$P<0.05$）；处理 1 h 后，−5 ℃ 处理较对照组显著上升至（0.98 ± 0.18）mg/mL（$P<0.05$），−20 ℃ 处理较对照组显著下降至（0.50 ± 0.03）mg/mL（$P<0.05$）；继续低温胁迫 3 h 后，0 与−5 ℃ 处理较对照组显著下降（$P<0.05$）（图 5）。

2.3 低温胁迫对松墨天牛 4 龄越冬幼虫抗氧化酶系的影响

2.3.1 低温胁迫对松墨天牛 4 龄越冬幼虫 SOD 活性的影响

低温胁迫处理 30 min 与 1 h，各试验组 SOD 活性变化与对照组均无显著差异，低温胁迫处理 3 h 后，−20 ℃ 处理较对照显著上升（$P<0.05$），为（148.92 ± 0.73）U/（mg·min）（图 6）。

2.3.2 低温胁迫对松墨天牛 4 龄越冬幼虫 POD 活性的影响

低温胁迫处理 30 min 和 1 h，POD 活性在−20 ℃ 处理后较对照组显著上升（$P<0.05$）；低温胁迫处理

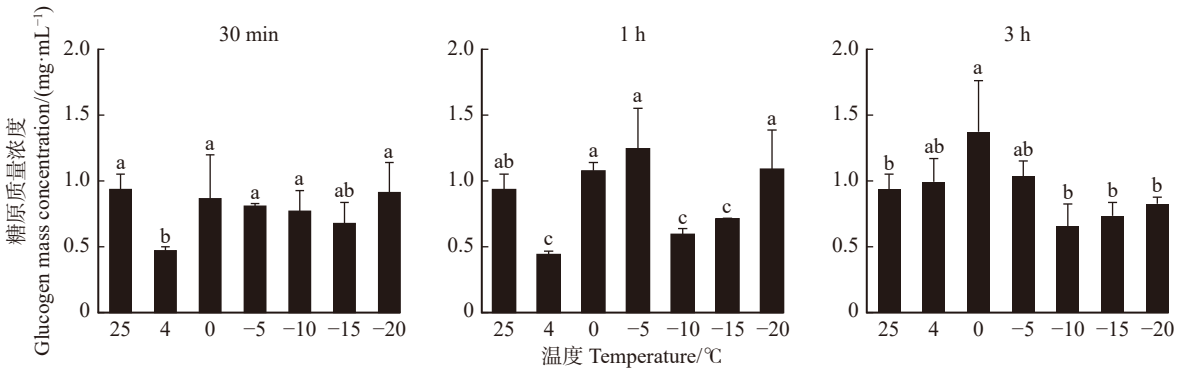


图 4 低温胁迫对松墨天牛 4 龄越冬幼虫糖原质量浓度的影响

Fig. 4 Effects of low temperature stress on glucogen mass concentration of the 4-age wintering larvae of *M. alternatus*

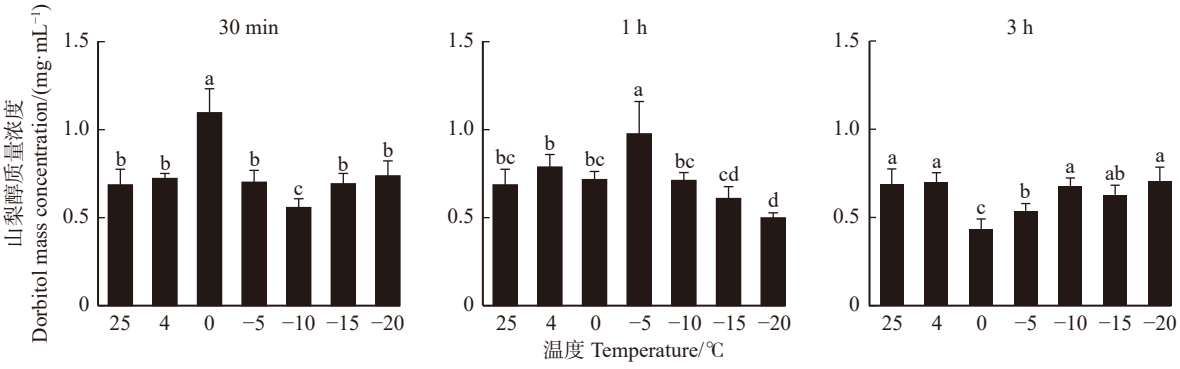


图 5 低温胁迫对松墨天牛 4 龄越冬幼虫山梨醇质量浓度的影响

Fig. 5 Effects of low temperature stress on dorbitol mass concentration of the 4-age wintering larvae of *M. alternatus*

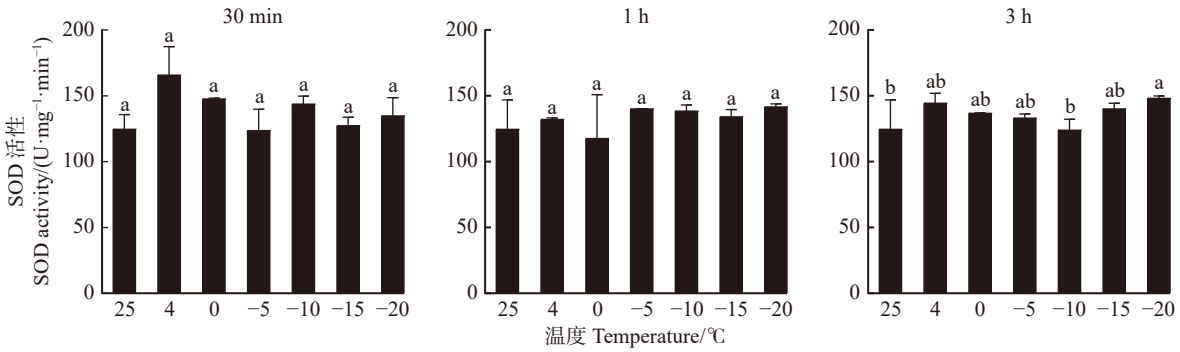


图 6 低温胁迫对松墨天牛 4 龄越冬幼虫 SOD 活性的影响

Fig. 6 Effects of low temperature stress on SOD activity of the 4-age wintering larvae of *M. alternatus*

3 h 后，−10、−15 和−20 ℃ 处理较对照组均显著上升（$P < 0.05$），呈随温度降低而上升的趋势（图 7）。

2.3.3　低温胁迫对松墨天牛 4 龄越冬幼虫 CAT 活性的影响

低温胁迫处理 30 min，CAT 活性在−15 ℃ 时较对照组显著提高（$P < 0.05$），达（1 152.87 ± 120.03）U/（mg·min）；胁迫 1 h 后，−10 ℃ 处理活性较对照组显著上升（$P < 0.05$），为（606.4 ± 113.09）U/（mg·min）；胁迫 3 h 后，−5 ℃ 处理较对照组显著下降（$P < 0.05$），−10、−15、−20 ℃ 处理较对照组显著上升（$P < 0.05$），在−20 ℃ 时上升至最高，为（720.29 ± 1.46）U/（mg·min）（图 8）。

2.4　低温胁迫对松墨天牛 4 龄越冬幼虫中肠组织的影响

中肠作为天牛幼虫消化食物的主要器官，在幼虫遭受寒冷胁迫时，其受损情况直接影响到幼虫能否存活。松墨天牛 4 龄越冬幼虫中肠在受到低温胁迫时，其外形始终是椭圆形，无明显变化。健康幼虫中肠（如图 9a、b）的中肠外壁紧贴中肠环肌，中肠环肌结构紧密，围食膜褶皱明显；−15 ℃ 处理 3 h（如图 9c、d）后，幼虫中肠的外壁碎裂，与中肠环肌之间出现空泡，中肠环肌结构松散，出现较多空泡，围食膜结构破碎消失；−20 ℃ 处理 3 h（如图 9e、f）后，中肠外壁破碎，中肠环肌及围食膜溶解，出现空泡，细胞核分布散乱。

3　讨　　论

外界环境温度变化会显著影响昆虫的生长发育、代谢与繁殖等生命过程[38]。当环境温度下降时，昆虫体内会发生一系列物质变化来抵御寒冷胁迫[39]，不同的昆虫也演化出了不同的耐寒调节机制：光肩星天牛（*Anoplophora glabripennis*）[40]通过糖原—低分子糖醇含量的调控抵御低温胁迫，红缘天牛（*Asias halodendri*）[41]通过调节血淋巴中氨基酸浓度越冬，青杨脊虎天牛（*Xylotrechus rusticus*）[42]的耐寒调节机制则是糖原、脂肪—甘油、抗冻功能蛋白的相互转化。

Probit 模型分析显示，松墨天牛 4 龄幼虫在−10 ℃ 的半数致死时间和 99% 致死时间分别为 114.97 和 4 061.86 min。当温度下降到−15 ℃ 时，其半数致死时间和 99% 致死时间分别缩短到 27.75 和 980.48 min，较−10 ℃ 缩短了约 3 倍。由此可见，温度降低到过冷却点以下时，松墨天牛的存活时间就会大大缩短。这也验证了松墨天牛采用的是避免结冰的耐寒策略[43]。

研究表明，松墨天牛越冬幼虫在越冬期间的不同月份中，其含水率不断升高[31]。在对光肩星天牛[40]、红缘天牛[41]、赤松毛虫（*Dendrolimus spectabilis*）[44]、

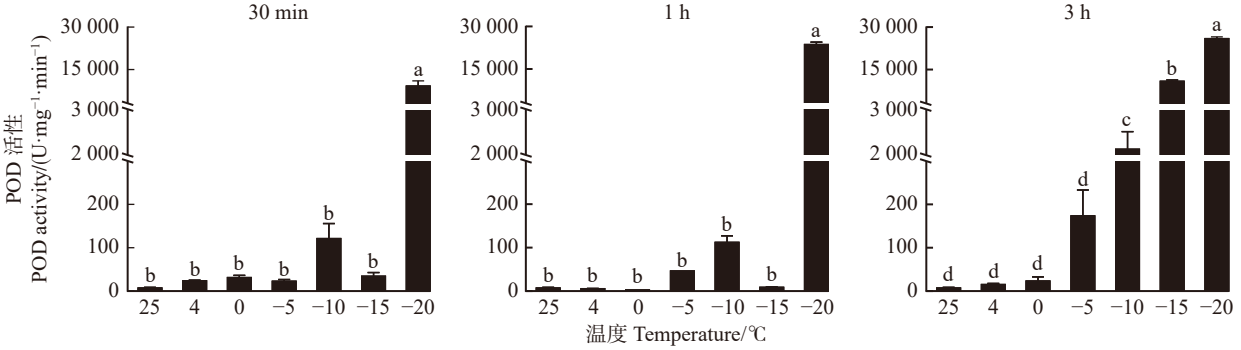


图 7　低温胁迫对松墨天牛 4 龄越冬幼虫 POD 活性的影响

Fig. 7　Effects of low temperature stress on POD activity of the 4-age wintering larvae of *M. alternatus*

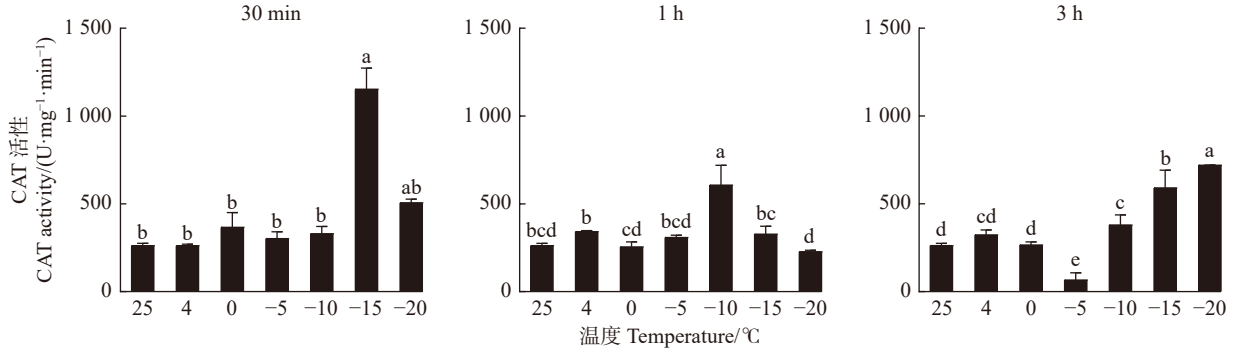
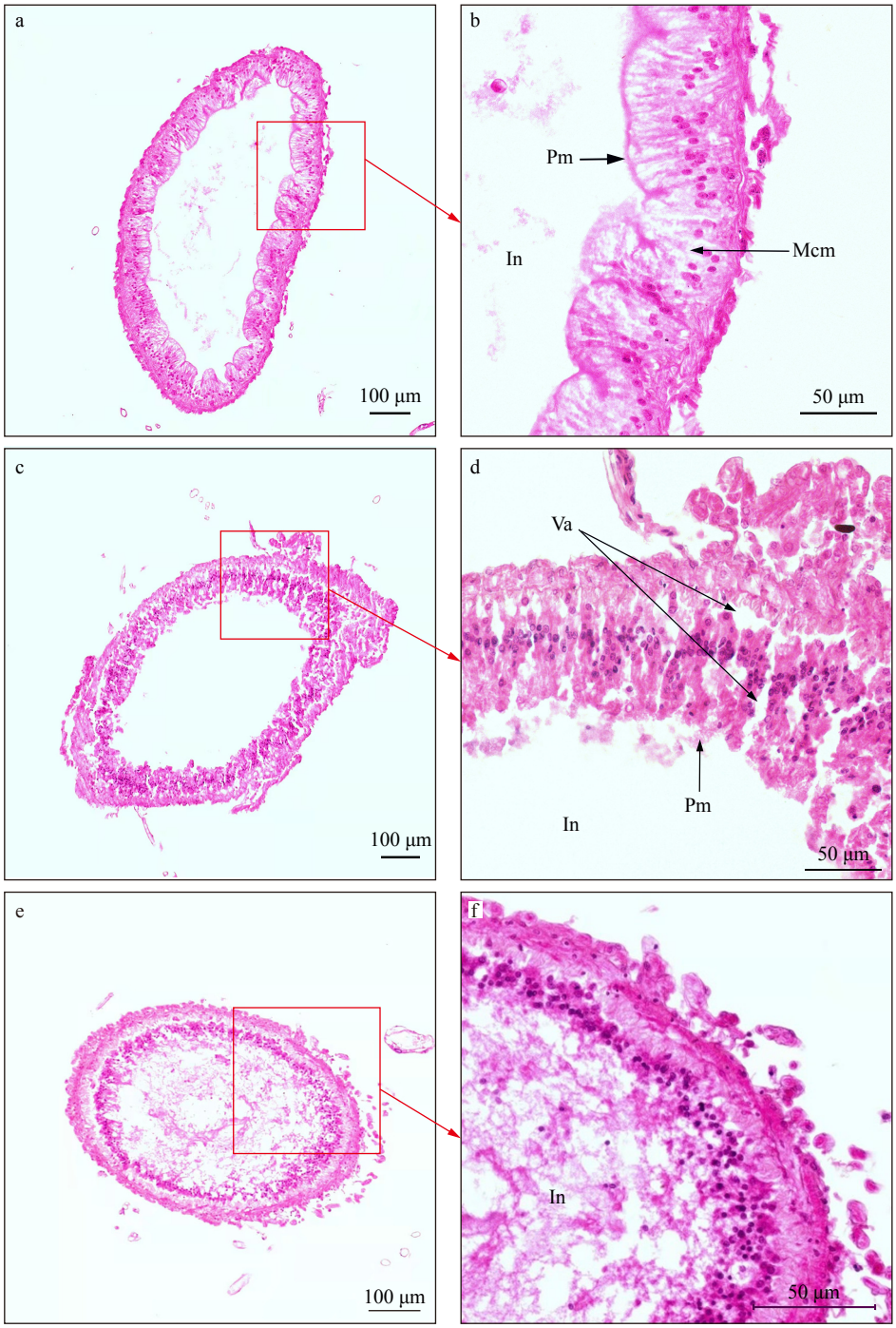


图 8　低温胁迫对松墨天牛 4 龄越冬幼虫 CAT 活性的影响

Fig. 8　Effects of low temperature stress on CAT activity of the 4-age wintering larvae of *M. alternatus*



a、b 为对照组；c、d 为−15 ℃ 处理 3 h；e、f 为−20 ℃ 处理 3 h。Mcm. 中肠环肌；Pm. 围食膜；Va. 空泡；In. 肠腔。a and b, control group; c and d, treating at −15 ℃ for 3 h; e and f, treating at −20 ℃ for 3 h. Mcm, midgut circle muscle; Pm, peritrophic; Va, vacuole; In, intestinal.

图 9 低温胁迫对松墨天牛 4 龄越冬幼虫中肠组织的影响

Fig. 9 Effects of low temperature stress on midgut tissue of the 4-age wintering larvae of *M. alternatus*

西藏飞蝗(*Locusta migratoria*)[45]等昆虫耐寒性的研究中发现，越冬幼虫均通过消耗脂肪和糖原的方式越冬，松墨天牛 4 龄幼虫冷驯化(4 ℃)7 d 后脂肪含量有所下降[31]。西藏飞蝗[45]和玉树蝠蛾(*Hepialus yushuensis*)幼虫[46]在低温胁迫一段时间后，山梨醇含量有所上升。在本研究中，松墨天牛 4 龄越冬幼虫含水率在 30 min 和 1 h 处理下随温度降低而降低，处理时间为 3 h 时，其含水率呈上升趋势。由此可以推测，松墨天牛 4 龄幼虫在开始受到低温胁迫时通过降低含水率防止结冰，当胁迫时间超过 3 h 后，含水率随温度降低而上升。松墨天牛 4 龄越冬幼虫在不同暴露时间下，脂肪含量均有所降低，且在 −20 ℃ 处理 30 min 后较对照组显著下降($P < 0.05$)，0 ℃ 处理 3 h 后较对照组显著下降($P < 0.05$)。说明松墨天牛 4 龄越冬幼虫会通过降低脂肪含量的方式应对低温胁迫。糖原含量在 30 min 和 1 h 处理后均有所上升，且在−5 ℃ 处理 1 h 后较对照组显著上升($P < 0.05$)，在处理 3 h 后下降，说明松墨天牛 4 龄

越冬幼虫在受到低温胁迫会产生糖原，在胁迫 3 h 后消耗糖原。山梨醇含量在 0 ℃ 下处理 30 min 和 −5 ℃ 下处理 1 h 后均显著上升（$P < 0.05$），在−10 ℃ 处理 30 min，−20 ℃ 处理 1 h 后均显著下降，可以推测松墨天牛 4 龄越冬幼虫在 0 和−5 ℃ 胁迫会大量累积山梨醇，当温度下降至−10 和−20 ℃ 就会逐渐消耗。

抗氧化系统是清除活性氧以防止其造成后续损伤的关键[47]。本研究重点探讨了抗氧化酶 SOD、CAT 和 POD 活性在其受到低温胁迫处理后的活性变化，以证明这 3 种抗氧化酶在松墨天牛 4 龄越冬幼虫在寒冷胁迫中起的重要作用。有研究表明，茶淡黄刺蛾（*Darna trima*）在−5 ℃ 低温胁迫 2 h 后，SOD、POD 和 CAT 活性均显著上升，后随时间增加又逐渐降低[48]；琥珀蚕（*Antheraea assamensis*）SOD 和 CAT 活性在 4 ℃ 处理 3 h 后上升至最高，后随时间增加呈下降趋势[49]，均可说明抗氧化酶活性在受到短时低温胁迫时显著上升，随着胁迫时间增加又逐渐下降。在本研究中，松墨天牛 4 龄越冬幼虫在受到低温胁迫后，其 SOD 活性在−5、−10、−15 和 −20 ℃ 处理下，随处理时间增加而下降，在同一处理时长下，其活性随温度下降而有所上升，且 SOD 活性在低温胁迫后均较对照组有所上升，在−20 ℃ 胁迫处理 3 h 后显著上升（$P < 0.05$），这一结果说明松墨天牛 4 龄越冬幼虫 SOD 活性在短时（3 h 以内）低温胁迫下较对照组有所上升，与上述研究结果一致。POD 活性在−10 和−15 ℃ 胁迫下处理 3 h 后较对照组显著上升（$P < 0.05$），在−20 ℃ 胁迫下，处理 30 min、1 h 和 3 h 时均较对照组显著上升（$P < 0.05$）。这一结果说明松墨天牛 4 龄越冬幼虫 POD 活性在低温胁迫初始阶段（低温胁迫 4 ℃ 到−15 ℃ 且处理时间为 30 min 和 1 h）变化不大，当温度降至−20 ℃，或在−10 和−15 ℃ 处理时间达到 3 h 时，才显著上升。CAT 活性在−10 ℃ 胁迫处理 30 min 和−15 ℃ 胁迫处理 1 h 后均较对照组显著上升（$P < 0.05$），处理 3 h 时，在−10、−15 和−20 ℃ 胁迫下均较对照组显著上升（$P < 0.05$）。以上结果表明，松墨天牛 4 龄越冬幼虫体内 SOD、POD 和 CAT 活性对低温胁迫的敏感度有所差异，分别为 CAT 对低温胁迫最敏感，其次是 POD，SOD 对低温胁迫的敏感性最弱。

昆虫受到温度低于过冷却点的低温胁迫时，细胞结构就会因细胞液结冰被冰晶破坏，失去活性[50]。本研究将松墨天牛 4 龄幼虫分别在−15 与−20 ℃ 下处理 3 h，制成石蜡切片以便观察，观察其中肠受损情况。发现松墨天牛 4 龄越冬幼虫在受到−15 ℃ 低温胁迫 3 h 后，其中肠外观上变化不大，但其内部结构受损伤较严重，具体表现为中肠外壁破碎，外表皮与中肠环肌之间出现空泡，中肠环肌结构出现松散、空泡甚至细胞结构破裂，围食膜溶解并消失；在−20 ℃ 处理 3 h 后，观察到中肠的细胞结构完全消失，细胞核散乱分布，细胞内容物逸散至中肠内部，空泡消失。

4　结　　论

本文的创新点在于系统研究了松墨天牛 4 龄越冬幼虫响应低温胁迫的耐寒物质变化与抗氧化应激反应，明确了耐寒物质与抗氧化酶在松墨天牛 4 龄越冬幼虫受到低温胁迫时的重要作用，提出了脂肪、糖原、低分子糖醇——抗氧化酶系的耐寒调节机制。温度下降至过冷却点以下（−15 ℃）时，松墨天牛越冬幼虫的半数死亡率和 99% 死亡率的死亡时间缩短至−10 ℃ 低温胁迫处理的 1/4 左右。松墨天牛越冬幼虫受低温胁迫后，会通过调节体内耐寒物质含量的方式避免体液结冰。在本研究中，松墨天牛越冬幼虫在受到低温胁迫时，通过消耗脂肪抵御低温胁迫，同时积累糖原和山梨醇，随着低温胁迫的持续，脂肪含量持续下降，糖原和山梨醇含量也逐渐消耗。松墨天牛越冬幼虫血淋巴中 SOD、POD、CAT 活性在低温胁迫处理下均显著上升，其对低温胁迫的敏感度排序由高到低依次为 CAT > POD > SOD。通过对松墨天牛越冬幼虫中肠组织的石蜡切片病理观察发现，在低温胁迫处理后中肠组织结构已完全破坏，完全丧失功能。

参　考　文　献

［1］ 杨宝君, 潘宏阳, 汤坚, 等. 松材线虫病 [M]. 北京: 中国林业出版社, 2003: 48.
Yang B J, Pan H Y, Tang J, et al. *Bursaphelenchus xylophilus*[M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 2003: 48.

［2］ 张执中, 田恒燕, 黄旭昌, 等. 森林昆虫学 [M]. 北京: 农业出版社, 1959: 324.
Zhang Z Z, Tian H Y, Huang X C, et al. Forest entomology[M]. Beijing: Agricultural Press, 1959: 324.

［3］ 华立中. 中国天牛科昆虫名录 [M]. 广州: 中山大学出版社, 1982: 96.
Hua L Z. The checklist of cerambycidae in China[M]. Guangzhou: Sun Yat-Sen University Press, 1982: 96.

［4］ 王志明, 皮忠庆, 候彬. 吉林省发现松墨天牛[J]. 中国森林病虫, 2006, 25(3): 35.
Wang Z M, Pi Z Q, Hou B. Discovery of *Monochamus alternatus* in Jilin Province[J]. Forest Pest and Disease, 2006, 25(3): 35.

［5］ 姜生伟, 吴昊, 李德斌, 等. 我国东北地区松材线虫灾害特征分析[J]. 中国森林病虫, 2022, 41(4): 9−15.
Jiang S W, Wu H, Li D B, et al. Analysis on disaster characteristics of pine wood nematode in Northeast China[J]. Forest Pest and Disease, 2022, 41(4): 9−15.

[6] Overgaard J, Gerber L, Andersen M K. Osmoregulatory capacity at low temperature is critical for insect cold tolerance[J]. Current Opinion in Insect Science, 2021, 47: 38−45.

[7] Cubillos C, Cáceres J C, Villablanca C, et al. Cold tolerance mechanisms of two arthropods from the Andean Range of Central Chile: *Agathemera crassa* (Insecta: Agathemeridae) and *Euathlus condorito* (Arachnida: Theraphosidae)[J]. Journal of Thermal Biology, 2018, 74: 133−139.

[8] Cdonald J R, Head J, Bale J S, et al. Cold tolerance, overwintering and establishment potential of *Thrips palmi*[J]. Physiological Entomology, 2000, 25(6): 159−166.

[9] 景晓红, 康乐. 昆虫耐寒性研究[J]. 生态学报, 2002, 22(12): 2202−2207.
Jing X H, Kang L. Research progress in insect cold hardines[J]. Acta Ecologica Sinica, 2002, 22(12): 2202−2207.

[10] Sinclair B J, Alvarado L E C, Ferguson L V. An invitation to measure insect cold tolerance: methods, approaches, and workflow[J]. Journal of Thermal Biology, 2015, 53: 180−197.

[11] Jikumaru S, Togashi K. Temperature effects on the transmission of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nemata: Aphelenchoididae) by *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae)[J]. Journal of Nematology, 2000, 32(1): 110.

[12] Salt R W. Principles of insect cold-hardiness[J]. Annual Review of Entomology, 1961, 6(1): 55−74.

[13] Teets N M, Denlinger D L. Physiological mechanisms of seasonal and rapid cold-hardening in insects[J]. Physiological Entomology, 2013, 38(2): 105−116.

[14] 李鸿波. 入侵害虫西花蓟马对温度胁迫的响应 [D]. 扬州: 扬州大学, 2013.
Li H B. Response to thermal steress in westernflower therips, *Frankliniella occidetalls*[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2013.

[15] 吴江林. 棕榈科植物入侵害虫枣椰扁潜甲对环境温度的适应性 [D]. 福州: 福建农林大学, 2019.
Wu J L. Adaptability to environmental temperature of invasive insect pest *Wallacea dactyliferae* on the palmaes[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2019.

[16] Rahman I, MacNee W. Regulation of redox glutathione levels and gene transcription in lung inflammation: therapeutic approaches[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2000, 28(9): 1405−1420.

[17] 刘井兰, 于建飞, 吴进才, 等. 昆虫活性氧代谢[J]. 昆虫知识, 2006, 43(6): 752−756.
Liu J L, Yu J F, Wu J C, et al. Active oxygen metabolism in insects[J]. Chinese Bulletin of Entomology, 2006, 43(6): 752−756.

[18] Fridovich I. Oxygen is toxic[J]. Bioscience, 1977, 27(7): 462−466.

[19] 张耀洲, 钱元骏. 关于高低温处理蚕对家蚕浓核病毒 (DNV) 敏感机制的研究[J]. 江苏蚕业, 1990(4): 1−4.
Zhang Y Z, Qian Y J. The study of sensitivity mechanism of silkworm to densovirus (DNV) under high and low temperature treatment[J]. Jiangsu Sericulture, 1990(4): 1−4.

[20] 张青, 涂永勤, 刘怀, 等. 温度胁迫对小金蝠蛾幼虫抗氧化酶活性的影响[J]. 环境昆虫学报, 2016, 38(1): 47−53.
Zhang Q, Tu Y Q, Liu H, et al. Effects of temperature stress on antioxidant enzymes in *Hepialus xiaojinensis* (Lepidoptera: Hepialidae) larva[J]. Journal of Environmental Entomology, 2016, 38(1): 47−53.

[21] 王娟. 华山松大小蠹幼虫耐寒生化与分子机制 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017.
Wang J. Biochemicaland molecular mechanism of Chinese white pine beetlelarvae (*Dendroctonus armandi*) to cold tolerance[D]. Yangling: Northwest Agricultural and Forest University, 2017.

[22] Fields P G, Fleurat-Lessard F, Lavenseau L, et al. The effect of cold acclimation and deacclimation on cold tolerance, trehalose and free amino acid levels in *Sitophilus granarius* and *Cryptolestes ferrugineus* (Coleoptera)[J]. Journal of Insect Physiology, 1998, 44(10): 955−965.

[23] Michaud M R, Denlinger D L. Shifts in the carbohydrate, polyol, and amino acid pools during rapid cold-hardening and diapause-associated cold-hardening in flesh flies (*Sarcophaga crassipalpis*): a metabolomic comparison[J]. Journal of Comparative Physiology, 2007, 177(7): 753−763.

[24] Overgaard J, Malmendal A, Sørensen J G, et al. Metabolomic profiling of rapid cold hardening and cold shock in *Drosophila melanogaster*[J]. Journal of Insect Physiology, 2007, 53(12): 1218−1232.

[25] 余培旺. 武夷山风景区松墨天牛种群动态的研究[J]. 武夷科学, 2008(24): 123−130.
Yu P W. Study on the Population dynamics of *Monochamus alternatus* in Wuyishan Scenery Region[J]. Wuyi Science Journal, 2008(24): 123−130.

[26] 南俊科, 杨越翔, 张玲华, 等. 松墨天牛在秦巴林区不同寄主上的危害规律[J]. 环境昆虫学报, 2021, 43(6): 1376−1388.
Nan J K, Yang Y X, Zhang L H, et al. The damage of *Monochamus alternatus* on different host pine species in Qinling-Daba Mountains[J]. Journal of Environmental Entomology, 2021, 43(6): 1376−1388.

[27] 孔维娜. 入侵种松材线虫的关键传媒−松墨天牛的耐寒性 [D]. 太谷: 山西农业大学, 2005.
Kong W N. Cold hardiness of *Monochamus alternatus*, as the key vector of invasive nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*[D]. Taigu: Shanxi Agricultural University, 2005.

[28] Ma R, Hao S, Tian J, et al. Seasonal variation in cold-hardiness of the Japanese pine sawyer *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae)[J]. Environmental Entomology, 2006, 35(4): 881−886.

[29] Tian J, Hao S G, Kong W N, et al. Cold tolerance and cold hardening strategy of the Japanese pine sawyer *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae)[J]. Insect Science, 2008, 15(4): 307−316.

[30] 时鹏. 我国不同地理种群松墨天牛的低温耐受性及其适生区分布 [D]. 北京: 北京林业大学, 2018.
Shi P. Tolerance to temperature stress of *Monochamus alternatus* and its potential suitable distributions in China[D]. Beijing: Beijing Forest University, 2018.

[31] 陈俊贤, 周娇, 魏洪义, 等. 冷驯化对松墨天牛幼虫脂代谢的影响[J]. 昆虫学报, 2021, 64(12): 1433−1443.
Chen J X, Zhou J, Wei H Y, et al. Effects of cold acclimation on

lipid metabolism in *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae) larvae[J]. Acta Entomologica Sinica, 2021, 64(12): 1433−1443.

[32] Cai Z, Chen J, Cheng J, et al. Overexpression of three heat shock proteins protects *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae) from thermal stress[J]. Journal of Insect Science, 2017, 17(6): 113.

[33] 李慧, 何玄玉, 陶蓉, 等. 松墨天牛小热激蛋白基因的克隆、表达谱及对温度胁迫的响应[J]. 昆虫学报, 2018, 61(7): 749−760.
Li H, He X Y, Tao R, et al. cDNA cloning and expression profiling of small heat shock protein genesand their response to temperature stress in *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae)[J]. Acta Entomologica Sinica, 2018, 61(7): 749−760.

[34] Zhang B, Zhao L, Ning J, et al. miR-31-5p regulates cold acclimation of the wood-boring beetle *Monochamus alternatus* via ascaroside signaling[J]. BMC Biology, 2020, 18(1): 1−17.

[35] Li H, Li S, Chen J, et al. A heat shock 70 kDa protein MaltHSP70-2 contributes to thermal resistance in *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae): quantification, localization, and functional analysis[J]. BMC Genomics, 2022, 23(1): 1−13.

[36] 董亚新, 裴佳禾, 邵钰莹, 等. 红脂大小蠹幼虫和成虫耐寒能力及耐寒物质的研究[J]. 环境昆虫学报, 2021, 43(4): 978−985.
Dong Y X, Pei J H, Shao Y Y, et al. Cold tolerance and cold tolerant substances of larva and adult of *Dendroctonus valens* LeConte[J]. Journal of Environmental Entomology, 2021, 43(4): 978−985.

[37] 邓彩萍, 闫喜中, 刘红霞, 等. 球孢白僵菌侵染光肩星天牛幼虫的扫描电镜及组织病理观察[J]. 林业科学, 2012, 48(3): 105−109.
Deng C P, Yan X Z, Liu H X, et al. Pathological observation of *Anoplophora glabripennis* larva infected by *Beauveria bassiana* by using SEM and light microscope[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2012, 48(3): 105−109.

[38] Estay S A, Lima M, Bozinovic F. The role of temperature variability on insect performance and population dynamics in a warming world[J]. Oikos, 2014, 123(2): 131−140.

[39] 史彩华, 胡静荣, 李传仁, 等. 环境胁迫下昆虫的耐寒适应机制研究进展[J]. 植物保护, 2016, 42(6): 21−28.
Shi C H, Hu J R, Li C R, et al. Research progress in the cold tolerance mechanism of insects under environmental stress[J]. Plant Protection, 2016, 42(6): 21−28.

[40] 冯宇倩. 光肩星天牛幼虫的耐寒性及其适应机制 [D]. 北京: 北京林业大学, 2017.
Feng Y Q. Cold hardiness and adaptive mechanism of the *Anoplophora glabripennis* larva[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2017.

[41] 冯宇倩, 李文博, 骆有庆, 等. 红缘天牛越冬幼虫耐寒性研究[J]. 西北农业学报, 2015, 24(12): 175−180.
Feng Y Q, Li W B, Luo Y Q, et al. Cold-hardiness of overwintering *Asias halodendri* larvae[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2015, 24(12): 175−180.

[42] 李珏闻. 青杨脊虎天牛的温度胁迫耐受性及在中国的适生分布区 [D]. 北京: 北京林业大学, 2014.
Li Y W. Tolerance to temperature stresses of grey tiger longicorn beetle (*Xylotrechus rusticus* L.) and its potential range in China[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2014.

[43] Bale J S. Insect cold hardiness: a matter of life and death[J]. European Journal of Entomology, 1996, 93(3): 369−382.

[44] 韩瑞东, 孙绪艮, 许永玉, 等. 赤松毛虫越冬幼虫生化物质变化与抗寒性的关系[J]. 生态学报, 2005, 25(6): 1352−1356.
Han R D, Sun X G, Xu Y Y, et al. The biochemical mechanism of cold-hardiness in overwintering larva of *Dendrolimus spectabilis* Butler (Lepidoptera: Lasiocampidae)[J]. Acta Ecologica Sinica, 2005, 25(6): 1352−1356.

[45] 朱昱翰, 李庆, 杨刚, 等. 低温和光周期对西藏飞蝗体内物质的影响[J]. 应用生态学报, 2016, 27(2): 629−633.
Zhu Y H, Li Q, Yang G, et al. Influence of low temperature and photoperiod on the substances in *Locusta moigratoria tibetensis*[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2016, 27(2): 629−633.

[46] 李秀璋, 刘欣, 李玉玲. 温度对玉树蝠蛾幼虫糖代谢的影响[J]. 应用昆虫学报, 2021, 58(6): 1295−1304.
Li X Z, Liu X, Li Y L. Effect of temperature on the glycometabolism of *Hepialus yushuensis* larvae[J]. Journal of Environmental Entomology, 2021, 58(6): 1295−1304.

[47] Joanisse D R, Storey K B. Oxidative stress and antioxidants in stress and recovery of cold-hardy insects[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 1998, 28(1): 23−30.

[48] 付雪莲. 茶淡黄刺蛾生物学特性及在温度胁迫下抗氧化反应研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2017.
Fu X L. Study on biological characteristics and antioxidant systems to temperature stress of *Darna trima* (Moore)[D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2017.

[49] 杨伟克, 唐芬芬, 刘增虎, 等. 高温和低温条件下琥珀蚕血淋巴 SOD 及 CAT 活性的变化[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(1): 153−155.
Yang W K, Tang F F, Liu Z H, et al. Changes in the activity of *Antheraea assamensis* hemolymph SOD and CAT under high and low temperature conditions[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2017, 45(1): 153−155.

[50] 陈豪, 梁革梅, 邹朗云, 等. 昆虫抗寒性的研究进展[J]. 植物保护, 2010, 36(2): 18−24.
Chen H, Liang G M, Zou L Y, et al. Research progresses in the cold hardiness of insects[J]. Plant Protection, 2010, 36(2): 18−24.

（责任编辑　范　娟
责任编委　张　真）