

大豆食心虫幼虫结茧次数的影响因素 及其对低温环境适应性的影响

夏婷婷 徐 伟 李 旋 崔 娟 史树森*

(吉林农业大学植物保护学院, 长春 130118)

摘要: 为明确大豆食心虫 *Leguminivora glycinivorella* 幼虫结茧次数及其相关因子以及结茧次数对其低温环境适应性的影响, 通过人工剥茧扰动间隔持续观察法测定大豆食心虫越冬幼虫结茧次数, 分析结茧次数与体重、茧重的关系, 同时测定不同结茧次数虫体的过冷却点、结冰点及虫体海藻糖含量和虫茧蛋白氨基酸组成, 并在自然环境条件下检测其越冬存活率。结果显示, 大豆食心虫越冬幼虫有很强的结茧能力, 其平均结茧次数为 9.86 次。幼虫体重影响其结茧次数, 结茧次数与其体重呈显著负相关 ($y=14.8231-0.5456x$, $R^2=0.9223$); 性别对其结茧次数无显著影响。虫茧蛋白由 16 种氨基酸组成, 各氨基酸组分含量与结茧次数均呈直线负相关。随着结茧次数增加, 越冬幼虫过冷却点和冰点值均有所升高, 结茧 1 次的过冷却点平均值为 -18.19°C , 显著低于结茧 3 次和 5 次的过冷却点; 越冬幼虫体内海藻糖相对含量随结茧次数增加呈下降趋势; 幼虫越冬存活率与结茧次数呈显著负相关, 结茧 1 次、结茧 2 次和结茧 3 次的越冬存活率分别为 66.05%、36.05% 和 13.60%, 三者之间差异显著。表明大豆食心虫越冬幼虫随着结茧次数的增加其对低温环境适应性显著降低。

关键词: 大豆食心虫; 越冬幼虫; 结茧次数; 环境适应性; 越冬存活率

Influence factors of cocooning time of soybean pod borer *Leguminivora glycinivorella* larvae and its effects on adaptive capacity in cold environments

Xia Tingting Xu Wei Li Xuan Cui Juan Shi Shusen*

(College of Plant Protection, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, Jilin Province, China)

Abstract: To clarify the cocooning time of soybean pod borer *Leguminivora glycinivorella* larvae and its adaptive capacity in cold environments, the larvae cocooning times were determined with the continuous observation method of stripping artificially cocoons interval and the relationships between the cocooning time and weight of the body and cocoon were analyzed. The supercooling point, freezing point, trehalose content of larvae and amino acid composition of cocoons protein were measured at different cocooning times. The results showed that the larvae had strong ability to re-cocooning, the average cocooning time was 9.86. A significant negative correlation between the cocooning time and body weight accorded with equation $y=14.8231-0.5456x$ ($R^2=0.9223$), but sex had no significant effect on the cocooning time. The cocoon protein was composed of 16 kinds of amino acids, and the content of each amino acid was negatively correlated with the cocooning time. With the cocooning time increasing the supercooling point and freezing point both increased, and the supercooling point of cocooning for one time was -18.19°C which was significantly lower than that of larvae cocooning for three times and five

基金项目: 国家现代农业(大豆)产业技术体系(CARS-04), 国家重点研发计划(2018YFD0201004)

* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: sss-63@263.net

收稿日期: 2018-05-16

times. The relative content of trehalose of larvae showed a downward trend. The overwintering survival rate was negatively correlated with the cocooning times, the overwintering survival rate of larvae with cocooning for one time, two times, three times was 66.05%, 36.05% and 13.60%, there were significant differences among them. In conclusion the cold tolerance of overwintering larvae of *L. glycinivorella* significantly reduced with the cocooning time increased.

Key words: *Leguminivora glycinivorella*; overwintering larvae; cocooning ability; environmental adaptability; survival rate of overwintering

大豆食心虫 *Leguminivora glycinivorella* 隶属于鳞翅目小卷叶蛾科(刘友樵和白九维, 1977), 俗称大豆蛀荚虫(赵桂云等, 2006; 胡代花等, 2014), 是我国北方大豆产区最重要的蛀荚害虫, 严重年份虫食率高达 30%~60%, 是造成大豆产量和品质降低的主要原因(高月波等, 2005; 刘洋等, 2005)。目前, 在生产上防控大豆食心虫仍以化学药剂防治为主(程媛等, 2016), 而利用白僵菌等生物防治有望代替化学药剂防治(张武等, 2014; 温玄烨等, 2015), 但因其存在成本高、相关技术尚不成熟等问题, 在生产上尚未被推广应用。在生产上适时进行农耕作业和加强田间管理也是绿色防控农业害虫的有效措施之一, 这些农业措施可能会破坏害虫的生存环境(Yang et al., 2009; Zhang et al., 2011; Hu et al., 2012)。

越冬耐寒是生活在温带和寒带昆虫抵御不良环境、完成生活史和繁衍后代的一种生存对策(冯宇倩等, 2014)。大豆食心虫属专性滞育害虫, 以老熟幼虫在土中结茧越冬(徐庆丰等, 1965), 入土结茧越冬是大豆食心虫完成其生活史及适应环境低温的重要环节(王连霞, 2011; 秦昊东等, 2015)。茧的有无和茧重对以结茧越冬的害虫能否安全越冬有显著影响, 如王鹏等(2011)研究结果发现桃小食心虫 *Carpocapsa sasakii* 结茧幼虫的越冬存活率显著高于未结茧幼虫, 刘丹竹(2017)认为虫茧是否完整会影响大豆食心虫越冬幼虫对低温等逆境环境的适应能力。幼虫吐丝结茧的主要成分是蛋白质(刘凤云等, 2008), 而茧丝蛋白的含量与茧重有关。越冬前昆虫会贮存大量营养物质以应对低温环境, 且在越冬过程中靠代谢消耗体内脂肪等来维持其生存(Colinet et al., 2007)。过冷却点是昆虫抗寒性的一个重要指标, 昆虫营养状态通过影响其体内的生理生化代谢而改变过冷却点, 从而改变其耐寒性(Somme & Zachariassen, 1981; 张洪刚等, 2010)。如 Andreadis et al. (2014)研究结果表明昆虫通过维持虫体的过冷却状态来提高其耐寒性; 陈豪等(2010)发现在温、寒带地区生存的昆虫往往通过虫体体液过冷却的方式

来抵抗环境低温。体内海藻糖含量在昆虫抗寒性上也有重要作用, 如刘兆良等(2017)报道越冬前后日本龟蜡蚧 *Ceroplastes japonicus* 对低温的耐受性主要与海藻糖有关。大豆食心虫幼虫结茧后受到扰动或感觉环境不适时, 它们会从已结茧中脱出寻找合适场所再次结茧, 而大豆食心虫幼虫越冬前再次结茧对体内能量物质消耗、茧重及其对低温环境的适应性等是否有影响, 至今尚不清楚。

为明确大豆食心虫越冬幼虫结茧次数对其低温环境适应性的影响, 通过人工剥茧扰动间隔持续观察法测定大豆食心虫越冬幼虫最多结茧次数, 分析幼虫性别、体重对其可结茧次数的影响, 以及结茧次数与其体重、茧重的关系, 同时通过测定不同结茧次数虫体的过冷却点、结冰点及虫体海藻糖含量、虫茧蛋白, 进一步分析大豆食心虫越冬幼虫结茧次数对其适应低温环境能力的影响, 并通过在自然环境条件下检测其越冬存活率来加以验证, 以期科学利用农耕活动——秋翻整地有效控制大豆食心虫越冬虫源基数, 进而为科学预测和防控大豆食心虫的发生与为害提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试虫源: 分别于 2016 年 9 月下旬—10 月上旬和 2017 年 9 月下旬—10 月上旬将吉林农业大学大豆区域技术创新中心试验田收获的大豆植株置于晒场, 人工捡拾晒场上脱荚而出的大豆食心虫幼虫, 将幼虫置于盛有土壤基质的 50 mL 指形管中, 备用, 上半部扎有通气孔。采集虫源的大豆田整个生育期均不喷洒任何杀虫剂。

土壤基质: 复合营养土, 天运肥业有限公司, 过 20 目筛后, 加适量水使其含水量为 15%~20%, 拌匀装入自封袋于 80~100℃烘箱内灭菌, 备用。

试剂及仪器: *O*-甲基羟胺盐酸盐, 烟台奥东化学材料有限公司; 纯度均为 99% 以上的赤藓糖、谷氨酸、脯氨酸、赖氨酸、组氨酸、天冬氨酸、丙氨酸、苏

氨酸、丝氨酸、酪氨酸、甘氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、精氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸标准品,美国Sigma-Aldrich公司;其它试剂均为国产分析纯。RXZ型人工气候箱,宁波东南仪器有限公司;SZ51型奥林巴斯体视显微镜,日本奥林巴斯公司;SUN-V型智能昆虫过冷却点测定仪,北京鹏程电子科技有限公司;ZXFD-A5250曲线控制十段编程鼓风干燥箱,郑州南北仪器设备有限公司;DW-FL90型超低温冷冻储存箱,中科美菱低温科技股份有限公司;S433D型全自动氨基酸分析仪、ClarityAmino数据处理工作站,德国Sykam公司;7890A/5975C气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS)联用仪、DB-5色谱柱(长30 m、内径0.25 mm、膜厚0.15 μm),美国Agilent公司;5414D高速常温离心机、德国Eppendorf公司;TC-8G试管浓缩仪、安捷来国际股份(香港)有限公司。

1.2 方法

1.2.1 大豆食心虫幼虫结茧次数的测定

采用人工剥茧扰动间隔持续观察法测定大豆食心虫越冬幼虫结茧次数。将初次结茧的5龄老熟幼虫从茧中剥出,放入装有5 mL灭菌土壤基质的10 mL塑料离心管中,管上半部扎有通气孔,每管1头,编号后置于光照16 D:8 L、相对湿度70%、温度19℃人工气候箱中培养,令其重新结茧,每隔2 d将结茧的幼虫再次从茧中剥出。重复上述过程直至幼虫不再结茧为止,共调查137头幼虫。

1.2.2 性别和体重对大豆食心虫结茧次数的影响

将初次结茧的5龄老熟幼虫从茧中剥出,根据雄性幼虫腹部第7~8节背面有1对紫红色小斑的特征将脱荚幼虫区分雌雄,称量体重并单头装入1.5 mL离心管中,编号记录后备用;再将雌、雄幼虫按大(>14 mg)、中(9~11 mg)、小(<6 mg)分别装入装有5 mL灭菌土壤基质的10 mL塑料离心管中,管上半部扎有通气孔,每管1头,编号后置于光照16 D:8 L、相对湿度70%、温度19℃人工气候箱中培养,令其重新结茧,每隔2 d将结茧的幼虫再次从茧中剥出。重复上述过程直至幼虫不再结茧为止,每12头为1组处理,各3次重复,观察记录不同性别及不同体重幼虫的结茧次数。

1.2.3 结茧次数对大豆食心虫体重和茧重的影响

随机取初次结茧的5龄老熟幼虫,将其从茧中剥出,放入装有5 mL灭菌土壤基质的10 mL塑料离心管中,管上半部扎有通气孔,每管1头,编号后置于光照16 D:8 L、相对湿度70%、温度19℃人工气

候箱中培养,令其重新结茧,每隔4 d将结茧的幼虫再次从茧中剥出称重并记录。重复上述过程直至幼虫不再结茧为止,每12头为1组处理,3次重复。每次剥出幼虫后的虫茧放入10 mL离心管中,加入20%肥皂液浸泡1 h,用清水冲洗2次,于显微镜下用小毛笔刷去其茧上残留的杂质,将干净的虫茧置于室温下阴干后称其重量,将称量后的虫茧室温保存,备用。

通过测定虫茧蛋白氨基酸含量来明确大豆食心虫幼虫结茧次数对茧重的影响。取上述制备的干茧,每个处理称取虫茧样品30 mg置于水解管中,加入6 mol/L盐酸溶液10 mL、100 μL 巯基乙醇、200 μL 正亮氨酸内标,混匀,密封水解管,将其置于 $110\pm 1^\circ\text{C}$ 中水解22~24 h。开管后取0.3~0.5 mL水解液放入试管浓缩仪中,60℃抽真空,蒸发至干,用样品稀释液将其稀释到3 mL,振荡混匀,14 000 r/min离心15 min,取0.5 mL上清液置于样品瓶中利用塞卡姆S433D型全自动氨基酸分析仪进行分离和检测,使用ClarityAmino数据处理工作站按各个氨基酸与标准样品的峰面积比值进行定量计算。

1.2.4 大豆食心虫幼虫过冷却点和冰点的测定

参考李浩等(2014)热电偶法,采用SUN-V型智能昆虫过冷却点测定仪测定不同结茧次数大豆食心虫幼虫的过冷却点和冰点。取初次结茧的5龄老熟幼虫,将其从茧中剥出,放入装有5 mL灭菌土壤基质的10 mL塑料离心管种,管上半部扎有通气孔,每管1头,编号后置于19℃人工气候箱中培养,令其重新结茧,每隔2 d将结茧的幼虫再次从茧中剥出。重复上述过程直至幼虫结茧5次为止,取部分结茧达1、3和5次时剥出的幼虫不再继续放回管中结茧,每10头为1组,3次重复,分别测定其过冷却点和冰点,然后再将测定后的虫体-60℃冷冻保存,用于虫体内海藻糖含量的测定。

1.2.5 大豆食心虫幼虫体内海藻糖含量的测定

取1.2.4中不同结茧次数大豆食心虫幼虫用蒸馏水冲洗、吸干并称重,放入微量研磨器中加入以100 μg 赤藓糖为内标的80%乙醇溶液2 mL匀浆,以3 000 r/min离心15 min,移出上清液置于2 mL进样瓶中,-20℃冰箱内冷冻保存备用;分析前将样液在40℃条件下用氮气吹干,分别加入40 mg/mL二甲基酰胺25 μL 和23 mg/mL含羟胺盐酸盐吡啶溶液25 μL ,70℃水浴15 min,反应混合物中加入浓度为40 mg/mL二甲基酰胺75 μL 和纯三甲基硅烷基咪唑30 μL ,80℃水浴15 min完成硅烷化反应,立刻冰浴

停止反应。用150 μL 异辛烷萃取衍生物,取1 μL 萃取液注入色谱柱中进行气相色谱-质谱分析。氮气作为载气,进样温度280℃,升温程序:120℃保持3 min,以120℃/min 升高至280℃,保留40 min。质谱离子源温度200℃,电离能70 eV,扫描范围30~300 amu。检测器为氢离子焰,各组分通过NIST库中的图谱,结合标准化合物保留时间,进行海藻糖含量测定(Liu et al.,2007;欧阳芳和戈峰,2014)。分别测定结茧次数1、3、5次时大豆食心虫幼虫体内海藻糖的相对含量,每10头为1组,重复3次。

1.2.6 大豆食心虫越冬幼虫存活率的调查

为了解不同结茧次数大豆食心虫幼虫的自然越冬存活率,于2017年10月分别将结茧1、2、3次的大豆食心虫幼虫虫茧,放入40目尼龙网袋中,置于吉林农业大学大豆区域技术创新中心试验田5 cm 自然土层中越冬,每20头为1组,重复3次,翌年4月末初取出并剥茧检查记录其存活情况。

1.3 数据分析
试验数据利用Excel 2010及DPS 13.50软件进行统计分析,采用Duncan氏新复极差法和t检验法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 大豆食心虫越冬幼虫的结茧次数
大豆食心虫越冬幼虫可多次再结茧,其中最多可结茧17.00次,但频次很小,仅为0.73%;50.00%幼虫结茧次数超过11.00次;平均结茧次数为9.86次。从整体看,结茧次数集中在10.00~13.00次,频次为50.36%(图1)。

2.2 体重及性别对大豆食心虫结茧次数的影响
大豆食心虫幼虫体重对其结茧次数有影响。大、中、小体重大豆食心虫幼虫的平均结茧次数分别为9.83、10.75和9.33次,前两者之间差异不显著,后两者之间差异显著($P<0.05$,表1)。

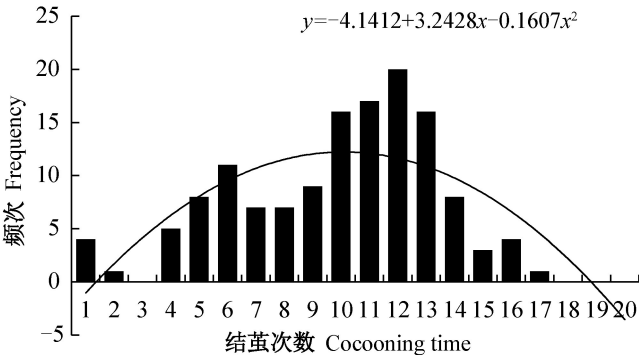


图1 大豆食心虫老熟幼虫结茧次数的频次分布
Fig. 1 Frequency distribution of cocooning times of *Leguminivora glycinivorella* mature larvae

表1 大豆食心虫幼虫体重对结茧次数的影响
Table 1 Effect of body weight of *Leguminivora glycinivorella* larvae on cocooning time

体重 Body weight	结茧次数 Cocooning time		
	最大值 Maximum	最小值 Minimum	平均值 Average
大(>14 mg) Big	15	5	9.83±0.42 ab
中(9~11 mg) Medium	16	4	10.75±0.63 a
小(<6 mg) Small	15	4	9.33±1.45 b

表中数据为平均数±标准差。同列不同字母表示经Duncan氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SD. Different letters in the same column indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

大豆食心虫雌、雄性幼虫的平均结茧次数分别为9.67和9.33次,前者略高于后者,但两者之间差异不显著,表明性别对大豆食心虫幼虫结茧次数无显著影响(表2)。

2.3 结茧次数对大豆食心虫幼虫体重和茧重的影响
随着大豆食心虫幼虫结茧次数的增加,其体重

随之显著减少($P<0.05$,图2-A);回归分析结果显示,结茧次数与大豆食心虫幼虫体重呈直线关系,即 $y=14.8231-0.5456x(R^2=0.9223)$ 。随着大豆食心虫幼虫结茧次数的增加,其虫茧重随之减少;回归分析结果显示,结茧次数与茧重呈幂函数关系,即 $y=0.8143x^{-0.2824}(R^2=0.9542)$ 。大豆食心虫结茧1、3、5和

7次,其茧重分别为0.81、0.57、0.56和0.45 mg,前者使其茧重显著降低($P<0.05$,图2-B)。显著高于后三者($P<0.05$),表明结茧2次以上即可

表2 大豆食心虫幼虫性别对结茧次数的影响

Table 2 Effect of sex of *Leguminivora glycinivorella* larvae on cocooning time

性别 Gender	结茧次数 Cocooning time		
	最大值 Maximum	最小值 Minimum	平均值 Average
雌 Female	15	5	9.67±0.58 Aa
雄 Male	13	3	9.33±2.08 Aa

表中数据为平均数±标准差。同列不同大小写字母表示经 t 检验法检验在 $P<0.01$ 和 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SD. Different uppercase and lowercase letters in the same column indicate significant difference at $P<0.01$ or $P<0.05$ level by t test.

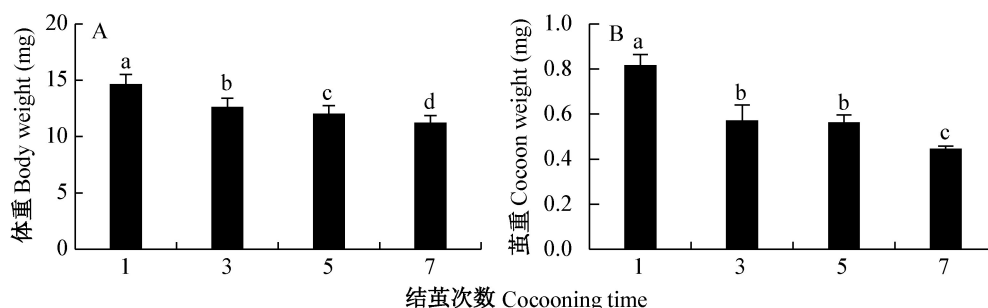


图2 结茧次数对大豆食心虫幼虫体重(A)和茧重(B)的影响

Fig. 2 Effects of the cocooning time on the body weight (A) and cocoon weight (B) of *Leguminivora glycinivorella* larvae

图中数据为平均数±标准误。不同小写字母表示经Duncan氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SE. Different lowercase letters indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

大豆食心虫老熟幼虫虫茧蛋白由16种氨基酸组成,其中谷氨酸和脯氨酸分别占氨基酸总量36%、22%,总比例超过50%,异亮氨酸、精氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸和蛋氨酸总比例不超过5%。大豆食心虫幼虫结茧次数与虫茧蛋白氨基酸各组分含量均呈负线性相关,其中甘氨酸、异亮氨酸与结茧次数呈极显著负线性相关, P 值分别为0.0043和0.0027;天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、脯氨酸、亮氨酸、酪氨酸、组氨酸、赖氨酸与结茧次数呈显著负线性相关;仅缬氨酸与结茧次数呈负线性相关但未达到显著水平(表3),表明随着结茧次数增加茧重逐渐降低。

2.4 结茧次数对大豆食心虫生理生化指标的影响

2.4.1 对大豆食心虫幼虫过冷却点和冰点的影响

随着大豆食心虫幼虫结茧次数的增加,幼虫过冷却点和冰点值均有所升高。当结茧1、3、5次时,大豆食心虫幼虫的过冷却点分别为-18.19、-14.21和-14.12℃,前者显著低于后两者($P<0.05$),但后两者之间差异不显著;当结茧1、3、5次时,大豆食心虫幼虫冰点分别为-14.81、-10.96和-10.47℃,前者显著低于后两者($P<0.05$),但后两者之间差异不显著(图3-A),表明随着大豆食心虫幼虫结茧次数的增加,越冬幼虫对低温环境的适应能力减弱。

2.4.2 对大豆食心虫体内海藻糖含量的影响

随着大豆食心虫幼虫结茧次数的增加,其体内海藻糖含量逐渐降低。当大豆食心虫幼虫结茧1、3和5次时,其体内海藻糖相对含量分别为61.92%、45.36%和43.20%,前者显著高于后两者($P<0.05$),但后两者之间差异不显著(图3-B)。

2.5 结茧次数对大豆食心虫幼虫越冬存活率的影响

随着大豆食心虫幼虫结茧次数的增加,其越冬存活率显著降低($P<0.05$)。当大豆食心虫幼虫结茧1、2、3次是,越冬幼虫存活率分别为66.05%、36.05%和13.60%,三者之间差异显著($P<0.05$,图4)。结茧3次,其越冬幼虫存活率仅为13.60%,是结茧1次存活率的20.59%。表明越冬前增加大豆食心虫幼虫结茧次数可显著降低其对环境低温的适应能力,有效降低其越冬幼虫存活率。

3 讨论

大豆食心虫以老熟幼虫在土中结茧越冬是完成其生活史的重要环节。除大豆食心虫外,如桃小食心虫(王鹏等,2011)、梨小食心虫 *Grapholita molesta* (马爱红等,2016)、李小食心虫 *G. funebrana* (姚渝丽等,1995)等许多果树食心虫亦以老熟幼虫在土中结

虫越冬。越冬幼虫结茧及虫茧在幼虫越冬过程中适应低温环境时起重要作用,如王鹏等(2011)研究比较了桃小食心虫结茧幼虫与未结茧幼虫的越冬存活率,结果显示,有虫茧的幼虫存活率显著高于无虫茧的幼虫;刘丹竹(2017)研究了虫茧是否完整对大豆食心虫越冬幼虫适应逆境环境能力的影响,明确了破损虫茧可显著降低其越冬幼虫对低温、淹水等逆境环境的适应能力。大豆食心虫越冬幼虫结茧后遇到环境扰动时,它们通常会表现出脱茧再结茧的习

性(康芝仙等,1985;王越辉等,2013)。针对此习性,本研究开展了相关研究,结果表明大豆食心虫越冬幼虫结茧后对扰动有较强的适应能力,其结茧次数与幼虫体重有关而与性别无关,其幼虫生长发育阶段营养积累不足将影响其结茧次数;随着结茧次数的增加,大豆食心虫幼虫体重和结茧茧重则显著降低,虫茧蛋白的氨基酸组分亦随之降低,表明越冬幼虫的结茧过程显著消耗了其体内的营养物质,并且降低了虫茧对幼虫的保护作用。

表3 大豆食心虫幼虫虫茧蛋白氨基酸组分含量与结茧次数的相关性

Table 3 Relativity between protein amino acid composition of cocoons and cocooning time of <i>Leguminivora glycinivorella</i> larvae				
氨基酸 Amino acid	线性回归方程 Regression equation	R	F	P
天冬氨酸 Aspartic acid	$y_1=1.9490-0.1110x$	-0.9871	76.0555	0.0129
苏氨酸 Threonine	$y_2=1.5215-0.1585x$	-0.9854	66.8589	0.0146
丝氨酸 Serine	$y_3=1.3215-0.1285x$	-0.9840	60.9871	0.0160
谷氨酸 Glutamic acid	$y_4=13.6595-1.6055x$	-0.9872	76.4609	0.0128
脯氨酸 Proline	$y_5=8.1245-0.9605x$	-0.9842	61.7852	0.0158
甘氨酸 Glycine	$y_6=0.8970-0.0730x$	-0.9957	231.6959	0.0043
丙氨酸 Alanine	$y_7=1.5080-0.1620x$	-0.8938	7.9455	0.1062
缬氨酸 Valine	$y_8=0.7705-0.0395x$	-0.4664	0.5559	0.5336
蛋氨酸 Methionine	$y_9=0.2025-0.0125x$	-0.8550	5.4348	0.1450
异亮氨酸 Isoleucine	$y_{10}=0.4225-0.0375x$	-0.9973	375.0011	0.0027
亮氨酸 Leucine	$y_{11}=0.3010-0.0140x$	-0.9778	43.5556	0.0222
酪氨酸 Tyrosine	$y_{12}=0.9960-0.0940x$	-0.9584	22.5408	0.0416
苯丙氨酸 Phenylalanine	$y_{13}=0.1940-0.0060x$	-0.9487	18.0000	0.0513
组氨酸 Histidine	$y_{14}=2.1745-0.2005x$	-0.9813	52.0898	0.0187
赖氨酸 Lysine	$y_{15}=2.6170-0.3080x$	-0.9826	56.1159	0.0174
精氨酸 Arginine	$y_{16}=0.3980-0.0220x$	-0.8908	7.6825	0.1092

x: 结茧次数; $y_1\sim y_{16}$: 天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、组氨酸、赖氨酸、精氨酸组分含量。x: Cocooning time; $y_1\sim y_{16}$: content of aspartic acid, threonine, serine, glutamic acid, proline, glycine, alanine, valine, methionine, isoleucine, leucine, tyrosine, phenylalanine, histidine, lysine, arginine, respectively.

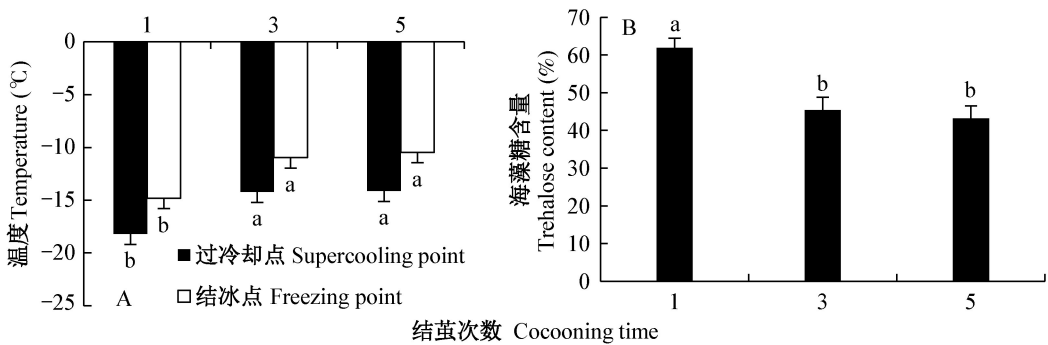


图3 结茧次数对大豆食心虫幼虫过冷却点和结冰点(A)和体内海藻糖(B)的影响

Fig. 3 Effects of the cocooning time on the supercooling point and freezing point (A) and trehalose content (B) of *Leguminivora glycinivorella* larvae

图中数据为平均数+标准误。同色柱不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean+SE. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

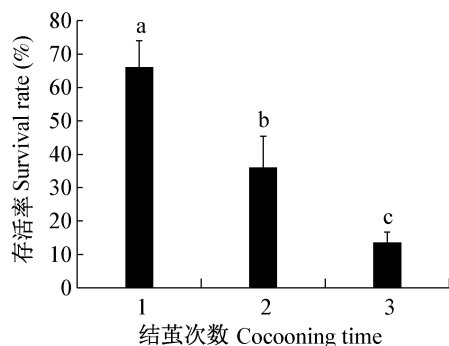


图4 结茧次数对大豆食心虫越冬幼虫存活率的影响

Fig. 4 Effect of the cocooning time on the survival rate of *Le-guminivora glycinivorella* overwintering larvae

图中数据为平均数+标准误。不同字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P < 0.05$ 水平差异显著。Data are mean+SE. Different letters indicate significant difference at $P < 0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

昆虫对低温环境的适应性通常以过冷却点和冰点作为生理评价指标。刘玉娟等(2014)以过冷却点和结冰点为指标对越冬期二点委夜蛾 *Athetis lepigone* 的耐寒性进行了研究;胡志凤等(2016)以过冷却点和结冰点为指标对东北地区亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* 滞育幼虫的抗寒性进行了分析;宋鹏翔(2014)通过测定大豆食心虫不同地理种群越冬幼虫的过冷却点和结冰点,分析了不同地理种群越冬幼虫对低温环境适应性的差异;刘丹竹(2017)通过测定大豆食心虫幼虫不同越冬时期虫体的过冷却点和结冰点,分析了大豆食心虫越冬幼虫在整个越冬过程中对低温环境适应性的动态变化。本研究通过测定大豆食心虫越冬幼虫受环境扰动后不同结茧次数时的过冷却点和冰点,分析评价不同结茧次数虫体对低温环境的适应性,表明大豆食心虫越冬幼虫结茧可显著影响其对低温环境的适应性。昆虫过冷却点和冰点的高低与体内糖类小分子物质含量有关,如王鹏等(2011)和徐伟等(2018)研究结果表明桃小食心虫和大豆食心虫越冬幼虫体内的海藻糖含量与其低温环境适应性密切相关;王娟(2017)认为华山松大小蠹 *Dendroctonus armandi* 越冬幼虫体内海藻糖含量与虫体的过冷却点显著负相关。本试验结果表明大豆食心虫越冬幼虫不同结茧次数可显著影响其体内海藻糖含量,改变虫体的过冷却点和冰点,进而影响其对低温环境的适应性。本田间试验结果显示,不同结茧次数越冬幼虫在自然环境越冬的存活率随着结茧次数的增加而显著降低,此结

果进一步证实环境扰动可迫使大豆食心虫越冬幼虫增加结茧次数,进而可有效降低其对低温环境的适应性,提高其死亡率。

本研究仅就结茧次数对大豆食心虫越冬幼虫体内海藻糖含量的影响进行了分析探讨,而对越冬幼虫体内其它与低温适应性有关的内含物成分指标并未涉及,相关低温环境适应性机制及遗传基因调控等问题有待进一步研究。

参考文献 (References)

- Andreadis SS, Spanoudis CG, Athanassiou CG, Savopoulou-Soultani M. 2014. Factors influencing supercooling capacity of the koinobiont endoparasitoid *Venturia canescens* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Pest Management Science*, 70(5): 814-818
- Chen H, Liang GM, Zou LY, Guo F, Wu KM, Guo YY. 2010. Research progresses in the cold hardiness of insects. *Plant Protection*, 36(2): 18-24 (in Chinese) [陈豪, 梁革梅, 邹朗云, 郭芳, 吴孔明, 郭予元. 2010. 昆虫抗寒性的研究进展. *植物保护*, 36(2): 18-24]
- Cheng Y, Han LL, Yu HC, Wang H, Yang X, Wang KQ, Zhang WL, Zhao KJ. 2016. Using sex pheromones in combination with *Trichogramma* spp. and a chemical insecticide to control the soybean pod borer, *Leguminivora glycinivorella* (Mats.) Obraztsov. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 53(4): 752-758 (in Chinese) [程媛, 韩岚岚, 于洪春, 王红, 杨啸, 王克勤, 张文霖, 赵奎军. 2016. 性诱剂、赤眼蜂和化学药剂协同防治大豆食心虫的研究. *应用昆虫学报*, 53(4): 752-758]
- Colinet H, Vernon P, Hance T. 2007. Does thermal-related plasticity in size and fat reserves influence supercooling abilities and cold-tolerance in *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Aphidiinae) mummies? *Journal of Thermal Biology*, 32(7/8): 374-382
- Feng YQ, Wang JL, Zong SX. 2014. Review of insects overwintering stages and cold-resistance strategies. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 30(9): 22-25 (in Chinese) [冯宇倩, 王锦林, 宗世祥. 2014. 昆虫越冬虫态及耐寒策略概述. *中国农学通报*, 30(9): 22-25]
- Gao YB, Lu ZZ, Sun YJ, Kong QQ. 2005. Studies on forecasting the occurrence of soybean moth (*Leguminivora glycinivorella*) and its application. *Journal of Agricultural Sciences*, 30(3): 18-20, 37 (in Chinese) [高月波, 卢宗志, 孙雅杰, 孔庆琴. 2005. 大豆食心虫预测预报的研究与应用. *吉林农业科学*, 30(3): 18-20, 37]
- Hu DH, He J, Zhou YW, Feng JT, Zhang X. 2012. Synthesis and field evaluation of the sex pheromone analogues to soybean pod borer *Leguminivora glycinivorella*. *Molecules*, 17(10): 12140-12150
- Hu DH, Yang XW, Feng JT, Zhang X. 2014. Advances in the research and application of sex pheromone of soybean podborer, *Leguminivora glycinivorella* (Matsumura). *Chinese Journal of Pesticide*

- Science, 16(3): 235–244 (in Chinese) [胡代花, 杨晓伟, 冯俊涛, 张兴. 2014. 大豆食心虫性信息素的研究及应用进展. 农药学报, 16(3): 235–244]
- Hu ZF, Zhang TS, Xing Y, Zhang TJ, Dong H, Cong B. 2016. Cold hardiness dynamics of overwintering *Ostrinia furnacalis* larvae in northeastern China. Journal of Plant Protection, 43(5): 722–730 (in Chinese) [胡志凤, 张统书, 邢月, 张天竞, 董辉, 丛斌. 2016. 东北地区亚洲玉米螟越冬幼虫抗寒性时间动态. 植物保护学报, 43(5): 722–730]
- Kang ZX, Hu Q, Wu SX, Lu X. 1985. Study on occurrence regularity and chemical control of *Grapholita funebrana*. Journal of Jilin Agricultural University, 7(2): 15–22 (in Chinese) [康芝仙, 胡奇, 吴寿兴, 鲁新. 1985. 李小食心虫发生规律及药剂防治的研究. 吉林农业大学学报, 7(2): 15–22]
- Li H, Zhou XR, Pang BP, Chang J. 2014. Supercooling capacity and cold hardiness of *Galeruca daurica* (Coleoptera: Chrysomelidae). Acta Entomologica Sinica, 57(2): 212–217 (in Chinese) [李浩, 周晓榕, 庞保平, 常静. 2014. 沙葱萤叶甲的过冷却能力与抗寒性. 昆虫学报, 57(2): 212–217]
- Liu DZ. 2017. The research of *Leguminivora glycinivorella* (Mats.) larvae over wintering environmental adaptation. Master Thesis. Changchun: Jilin Agricultural University (in Chinese) [刘丹竹. 2017. 大豆食心虫越冬幼虫环境适应性研究. 硕士学位论文. 长春: 吉林农业大学]
- Liu FY, Huang XM, Qi L, Li SY, Li YJ, Li J. 2008. Determination and analysis of amino acid content in the silk of *Dictyopoea japonica*. Science of Sericulture, 34(3): 548–551 (in Chinese) [刘凤云, 黄先敏, 戚俐, 李树英, 李亚洁, 李军. 2008. 栗蚕茧丝蛋白的氨基酸组成与含量测定. 蚕业科学, 34(3): 548–551]
- Liu Y, Wang JA, Zhao KJ. 2005. Study on the inheritance law of soybean resistance to pod borer. Journal of Northeast Agricultural University, 36(2): 138–141 (in Chinese) [刘洋, 王继安, 赵奎军. 2005. 大豆抗食心虫性遗传研究. 东北农业大学学报, 36(2): 138–141]
- Liu YJ, Zhang TT, Bai SX, He KL, Wang ZY. 2014. Changes of cold hardiness of the overwintering larvae of *Athens lepigone* (Lepidoptera: Noctuidae) at different overwintering stages. Acta Entomologica Sinica, 57(3): 379–384 (in Chinese) [刘玉娟, 张天涛, 白树雄, 何康来, 王振营. 2014. 越冬期不同阶段二点委夜蛾越冬幼虫耐寒性变化. 昆虫学报, 57(3): 379–384]
- Liu YQ, Bai JW. 1977. China economic insects, volume 11, Lepidoptera, Tortricidae. Beijing: Science Press, pp. 45–46 (in Chinese) [刘友樵, 白九维. 1977. 中国经济昆虫志 第十一册: 鳞翅目 卷蛾科一. 北京: 科学出版社, pp. 45–46]
- Liu ZD, Gong PY, Wu KJ, Wei W, Sun JH, Li DM. 2007. Effects of larval host plants on over-wintering preparedness and survival of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Journal of Insect Physiology, 53(10): 1016–1026
- Liu ZL, Yuan ZL, Luo L. 2017. Changes in the cold hardiness and contents of the related biochemical substances in female adults of *Ceroplastes japonicus* (Hemiptera: Coccoidea) before and after overwintering. Acta Entomologica Sinica, 60(1): 120–126 (in Chinese) [刘兆良, 袁忠林, 罗兰. 2017. 日本龟蜡蚧雌成虫越冬前后耐寒性及相关生化物质含量的变化. 昆虫学报, 60(1): 120–126]
- Ma AH, Li WL, Lu ZY, Ran HF, Liu WX, Sun HP, Li JC. 2016. The occurrence dynamics and damage characteristics and integrated control of oriental fruit moth in peach orchard. Journal of Hebei Agricultural Sciences, 20(4): 27–29 (in Chinese) [马爱红, 李文林, 路子云, 冉红凡, 刘文旭, 孙海鹏, 李建成. 2016. 桃树梨小食心虫发生危害及综合防治. 河北农业科学, 20(4): 27–29]
- Ouyang F, Ge F. 2014. Methodology of measuring and analyzing insect cold hardiness. Chinese Journal of Applied Entomology, 51(6): 1646–1652 (in Chinese) [欧阳芳, 戈峰. 2014. 昆虫抗冻耐寒能力的测定与分析方法. 应用昆虫学报, 51(6): 1646–1652]
- Qin HD, Gao Y, Xu W, Cui J, Shi SS. 2015. Effect of soil humidity on overwintering behavior of soybean pod borer (*Leguminivora glycinivorella*) larvae. Soybean Science, 34(6): 1024–1028 (in Chinese) [秦昊东, 高宇, 徐伟, 崔娟, 史树森. 2015. 土壤湿度对大豆食心虫越冬行为的影响. 大豆科学, 34(6): 1024–1028]
- Somme L, Zachariassen KE. 1981. Adaptations to low temperature in high altitude insects from Mount Kenya. Ecological Entomology, 6(2): 199–204
- Song PX. 2014. Study on the population differentiation of *Leguminivora glycinivorella* Matsumura and the adaption of larvae to low temperature. Master Thesis. Changchun: Jilin Agricultural University (in Chinese) [宋鹏翔. 2014. 大豆食心虫地理种群分化及其越冬幼虫对低温环境适应性研究. 硕士学位论文. 长春: 吉林农业大学]
- Wang J. 2017. Biochemical and molecular mechanism of Chinese white pine beetle larvae (*Dendroctonus armandi*) to cold tolerance. Ph. D Thesis. Yangling: Northwest A&F University (in Chinese) [王娟. 2017. 华山松大小蠹幼虫耐寒生化与分子机制. 博士学位论文. 杨凌: 西北农林科技大学]
- Wang LX. 2011. Occurrence and biological control of soybean pod borer technology. Heilongjiang Agricultural Sciences, (2): 59–60 (in Chinese) [王连霞. 2011. 大豆食心虫发生规律及生物防治技术. 黑龙江农业科学, (2): 59–60]
- Wang P, Yu Y, Men XY, Zhang SC, Zhang AS, Xu YY, Li LL. 2011. Dynamics of cold-resistant substances in overwintering cocooned and non-cocooned larvae of the peach fruit moth, *Carposina niponensis* Walsingham (Lepidoptera: Carposinidae). Acta Entomologica Sinica, 54(3): 279–285 (in Chinese) [王鹏, 于毅, 门兴元, 张思聪, 张安盛, 许永玉, 李丽莉. 2011. 越冬过程中桃小食心虫结茧和裸露幼虫体内耐寒性物质动态变化. 昆虫学报, 54(3): 279–285]
- Wang YH, Ma ZS, Jia YY, Li HS. 2013. Research advance in biological characteristics of oriental fruit moth (*Grapholita molesta*). Acta Agriculturae Jiangxi, 25(12): 75–77 (in Chinese) [王越辉,

- 马之胜, 贾云云, 李海山. 2013. 梨小食心虫生物学特性的研究进展. 江西农业学报, 25(12): 75-77]
- Wen XY, Song LW, Xu J, Zang LS, Ruan CC, Shi SS. 2015. Parasitic activity of three indigenous *Trichogramma* species to different density eggs of *Leguminivora glycinivorella* and their intraspecific interferences on parasitism. Journal of Plant Protection, 42(4): 626-631 (in Chinese) [温玄烨, 宋丽威, 许晶, 臧连生, 阮长春, 史树森. 2015. 三种赤眼蜂对不同密度大豆食心虫卵的寄生反应及其自身密度的干扰效应. 植物保护学报, 42(4): 626-631]
- Xu QF, Guo SG, Han YM, Feng Z, Zhang R, Li YZ. 1965. A study on the soy bean pod borer (*Leguminivora glycinivorella* (Mats.) Obraztsov). Acta Entomologica Sinica, 14(5): 461-479 (in Chinese) [徐庆丰, 郭守桂, 韩玉梅, 冯真, 张荣, 李义忠. 1965. 大豆食心虫 *Leguminivora glycinivorella*(Mats.)Obraztsov 的研究. 昆虫学报, 14(5): 461-479]
- Xu W, Qin HD, Gao Y, Bi R, Cui J, Shi SS. 2018. Analysis of supercooling point and low-molecular weight compounds in overwintering soybean pod borer *Leguminivora glycinivorella* larvae. Journal of Plant Protection, 45(4): 697-704 (in Chinese) [徐伟, 秦昊东, 高宇, 毕锐, 崔娟, 史树森. 2018. 大豆食心虫越冬幼虫过冷却点及其体内小分子内含物分析. 植物保护学报, 45(4): 697-704]
- Yang S, Yang SY, Zhang CP, Wei JN, Kuang RP. 2009. Population dynamics of *Myzus persicae* on tobacco in Yunnan Province, China, before and after augmentative releases of *Aphidius gifuensis*. Biocontrol Science and Technology, 19(2): 219-228
- Yao YL, Kang ZX, Xu W, Sun KM. 1995. Climate ecological prevention and cure of *Gropholitha funebrana*. Journal of Jilin Agricultural University, 17(S1): 36-39 (in Chinese) [姚渝丽, 康芝仙, 徐伟, 孙克敏. 1995. 李小食心虫的气候生态防治. 吉林农业大学学报, 17(S1): 36-39]
- Zhang HG, Lu X, He KL, Wang ZY. 2010. Cold hardiness and the strategies of *Ostrinia furnacalis* survival at supercooled temperature. Journal of Plant Protection, 37(5): 398-402 (in Chinese) [张洪刚, 鲁新, 何康来, 王振营. 2010. 亚洲玉米螟抗寒及低温生存对策. 植物保护学报, 37(5): 398-402]
- Zhang T, Feng J, Cai C, Zhang X. 2011. Synthesis and field test of three candidates for soybean pod borer's sex pheromone. Natural Product Communications, 6(9): 1323-1326
- Zhang W, Hong F, Wu JY, Li BH, Li YJ, Xiang P. 2014. Heihe soybean borer occurrence and prevention. China Plant Protection, 34(10): 38-40 (in Chinese) [张武, 洪峰, 吴俊彦, 李宝华, 李艳杰, 项鹏. 2014. 黑河地区大豆食心虫发生规律及其防治. 中国植保导刊, 34(10): 38-40]
- Zhao GY, Li WB, Han YP, Teng WL, Su FF, Wang JA. 2006. Analysis of resistance characteristics of soybean pod borer in F_2 generation of crosses. Soybean Science, 25(1): 38-41 (in Chinese) [赵桂云, 李文滨, 韩英鹏, 滕卫丽, 宿飞飞, 王继安. 2006. 杂交 F_2 代大豆食心虫抗性性状分析. 大豆科学, 25(1): 38-41]

(责任编辑:张俊芳)