

外源哌啶酸对丽蝇蛹集金小蜂生长发育及耐寒性的影响

高飞^{1,2}, 李玉艳^{2*}, 王曼姿², 于梦芹², 谢应强¹,
刘梦姚², 张洪志², 张礼生^{2*}, 艾洪木^{1*}

(1. 福建农林大学植物保护学院, 闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室, 福州 350002;

2. 中国农业科学院植物保护研究所, 中美合作生物防治实验室, 北京 100193)

摘要 本研究以丽蝇蛹集金小蜂及其寄主红尾肉蝇为研究对象, 评价了寄主饲料中添加哌啶酸对金小蜂生长发育和耐寒性的影响。结果表明, 寄主饲料中添加哌啶酸的最适浓度为 2%, 无论金小蜂幼虫滞育与否, 添加哌啶酸均能一定程度上降低金小蜂的鲜重、干重、含水量、水合量及过冷却点, 其中对鲜重、含水量及水合量的影响显著。添加哌啶酸也能显著缩短非滞育金小蜂成蜂的寿命, 降低其繁殖力, 但对其发育历期和性比无显著影响。添加哌啶酸还能显著提高金小蜂幼虫的耐寒性, 其中对滞育幼虫的耐寒性提高最显著。本研究结果证明哌啶酸对金小蜂的生长发育具有一定抑制作用, 但可显著提高其耐寒性, 这为深入研究哌啶酸的功能机制及促进金小蜂的利用提供了理论参考。

关键词 丽蝇蛹集金小蜂; 哌啶酸; 滞育; 生长发育; 耐寒性

中图分类号: S 476.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2019059

Effects of exogenous pipecolic acid on the development and cold tolerance of *Nasonia vitripennis*

GAO Fei^{1,2}, LI Yuyan^{2*}, WANG Manzi², YU Mengqin², XIE Yingqiang¹,
LIU Mengyao², ZHANG Hongzhi², ZHANG Lisheng^{2*}, AI Hongmu^{1*}

(1. State Key Laboratory of Ecological Pest Control for Fujian and Taiwan Crops, College of Plant Protection, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2. Sino-American Biological Control Laboratory, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract In this study, we used the ectoparasitoid wasp *Nasonia vitripennis* and its host *Sarcophaga crassipalpis* to determine the effect of pipecolic acid added in host diet on the development and cold tolerance of *N. vitripennis*. The results showed that the optimum concentration of pipecolic acid added to the host diet was 2%. Pipecolic acid added in host diet could reduce the fresh mass, dry mass, water mass, hydration and supercooling points of the parasitoid larvae during diapausing or non-diapausing status. The fresh mass, hydration and supercooling point were significantly affected by exogenous pipecolic acid. Adding pipecolic acid in the host diet could significantly shorten the longevity of non-diapausing adults and reduce their fecundity, but no obvious effects on the developmental period and sex ratio were found. Cold tolerance of the parasitoid larvae were distinctly enhanced by adding pipecolic acid to the host diet, and the most significant effect was observed in the diapausing larvae. The results demonstrated that exogenous pipecolic acid had a negative effect on the development of *N. vitripennis*, but it could significantly elevate the cold tolerance of *N. vitripennis*, which provides a theoretical reference for further study of the functional mechanism of pipecolic acid and improves the use of *N. vitripennis* in the biological control program.

Key words *Nasonia vitripennis*; pipecolic acid; diapause; development; cold tolerance

寄生蜂是一类重要的寄生性天敌昆虫, 其种类多, 数量大, 繁殖力强, 在国内外农林害虫的生物防

收稿日期: 2019-02-02 修订日期: 2019-03-18

基金项目: 国家自然科学基金青年基金(31601689); 国家重点研发计划(2017YFD0201000, 2017YFE0104900); 中国博士后科学基金(2016M590162)

* 通信作者 E-mail: 李玉艳 lyy129@126.com; 张礼生 zhangleesheng@163.com; 艾洪木 aihongmu@163.com

治中已得到广泛应用,并取得了显著效果。丽蝇蛹集金小蜂 *Nasonia vitripennis* 属于膜翅目 Hymenoptera 金小蜂科 Pteromalidae,可以蛹外寄生丽蝇科 Caliphoridae 和麻蝇科 Sarcophagidae 等许多双翅目 Diptera 害虫,在防治卫生害虫及牲畜害虫方面具有极大潜能。近 70 多年来该蜂已经成为研究寄生蜂遗传学、生态学、发育学和行为学等的优良模式昆虫,在寄生蜂的多个研究领域中具有重要作用。丽蝇蛹集金小蜂能以末龄幼虫滞育,其滞育受母代经历的短光照和低温影响,研究该蜂的滞育不仅有助于揭示昆虫滞育的内在机制,也可解决天敌昆虫实际应用中的贮存、运输和适时防治等问题^[1-3]。

本研究团队前期的研究发现滞育可以显著提高金小蜂的耐寒性,并利用代谢组学阐明了金小蜂滞育的生理机制。结果发现哌啶酸(pipelicolic acid,简称 PA)在金小蜂滞育幼虫中极显著积累,其表达量是非滞育幼虫的 160 倍,且含量随着滞育期延长显著增加^[4-5]。哌啶酸是一种重要的刚性环状非蛋白质氨基酸,是一种与赖氨酸代谢有关的亚胺酸^[6-7]。该氨基酸在动物、植物和微生物的生长发育、逆境胁迫反应等过程中具有许多重要作用,它可以启动植物系统获得抗逆性和防御反应^[8-9],能在植物、微生物等的低温、干旱及高盐胁迫中作为渗透保护剂,能诱导神经细胞的程序性凋亡,还具有抑制某些昆虫取食和生长发育的功能^[10-11]。但哌啶酸在昆虫中的生物功能及代谢调控机制等尚不明确。我们推测哌啶酸可能作为低温保护物质提高滞育金小蜂的耐寒性,也可能作为重要的信号分子参与调控滞育金小蜂的生长发育抑制等。因此,本研究在前期研究基础上,通过向寄主蝇蛹的饲料中添加外源哌啶酸,评价了哌啶酸对丽蝇蛹集金小蜂生长发育及耐寒性的影响,为深入研究哌啶酸的功能奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

丽蝇蛹集金小蜂及其寄主红尾肉蝇 *Sarcophaga crassipalpis*(文中以麻蝇代称)种群由美国俄亥俄州立大学 David L. Denlinger 教授提供,并在本实验室内连代饲养建立稳定试验种群。寄主麻蝇的饲养方法参考文献^[2]。在 25℃、光周期 L//D=15 h//9 h 条件下以新鲜猪肝饲养麻蝇,选取化蛹后 4 d 的麻

蝇蛹作为丽蝇蛹集金小蜂的供试寄主。

参照李玉艳^[2]的方法饲养丽蝇蛹集金小蜂。在 25℃、光周期 L//D=14 h//10 h 条件下,将羽化 24 h 内的 10 对成蜂与寄主麻蝇蛹按照 1:1 的比例置于试管内任其产卵寄生,24 h 后除去成蜂,并将被寄生后的麻蝇蛹继续饲养在上述条件下,取产卵后第 7 天的末龄幼虫作为供试非滞育金小蜂虫源;滞育金小蜂的饲养方法为:将 25℃、光周期 L//D=14 h//10 h 条件下羽化 24 h 内的成蜂置于 10℃、全黑暗条件下饲养,取第 20 天的金小蜂与麻蝇蛹按照 1:1 的比例接入试管中,然后将其置于 25℃、L//D=14 h//10 h 的条件下任其产卵寄生,24 h 后除去成蜂,寄生过的麻蝇蛹继续在该条件下饲养,产卵后 17 d 的滞育幼虫作为供试虫源。

为评价寄主饲料中添加哌啶酸对金小蜂生长发育和耐寒性的影响,分别用常规饲料(nd)和添加哌啶酸的饲料(nd+PA)饲喂麻蝇,并以两种饲喂条件下得到的麻蝇为寄主分别饲养得到非滞育金小蜂(ND)和滞育金小蜂(D)。在各项指标的测定中,非滞育金小蜂幼虫在产卵后第 7 天进行评价,滞育金小蜂幼虫在产卵后第 17 天(滞育 10 d)进行评价。

1.2 试验方法

1.2.1 麻蝇饲料中添加哌啶酸最适浓度的筛选

正常饲养的麻蝇以磨碎搅拌均匀的猪肝为常规饲料。通过向麻蝇的常规饲料中添加不同浓度(添加浓度范围 1%~10%)的哌啶酸(L-pipelicolic acid,北京蕾创生物科技公司),按照 1 g 饲料:2 头麻蝇幼虫的比例饲养,分别测试不同浓度哌啶酸对寄主麻蝇的蛹重(鲜重)、化蛹率和成虫羽化率的影响,筛选出最适添加浓度。每个处理 30 头幼虫,重复 3 次。适于寄主饲养的饲料添加浓度评估标准为:添加哌啶酸的饲料饲养的麻蝇发育正常,能成功化蛹且蛹重达到或接近正常蛹的重量。

1.2.2 金小蜂的体重和水含量测定

金小蜂幼虫的鲜重(FM)使用电子天平(Sartorius)测量并记录,每个重复 30 头幼虫,各重复 3 次。将称过鲜重的幼虫置于 60℃ 烘箱(DGG-9140A)中烘干 3 d 至恒重,称量并记录干重(DM)。含水量以水含量(H)表示,根据重量计算得到,即水含量=(鲜重-干重)/干重^[2]。

1.2.3 金小蜂的发育历期测定

取 1 对刚羽化的金小蜂置于玻璃管饲养,接入

3 头麻蝇蛹供其寄生,24 h 后取出麻蝇蛹,5 d 后解剖已被寄生的麻蝇蛹,每天定时观察金小蜂的发育情况,每处理记录 90~100 头。

1.2.4 金小蜂成蜂的寿命测定

取刚羽化的雌蜂和雄蜂各 20 头饲养在玻璃管中,不提供水和食物,每天定时统计金小蜂的死亡情况,并将死亡个体清除。试验重复 3 次。

1.2.5 金小蜂的繁殖能力和性比测定

每处理取 1 对刚羽化的雌蜂和雄蜂置于玻璃管饲养,之后每日更换新鲜的麻蝇蛹供其寄生,并统计被寄生麻蝇蛹的出蜂数量及雌雄比例。每处理重复 20 次。性比=雌蜂数/雄蜂数。

1.2.6 金小蜂的耐寒性测定

1.2.6.1 过冷却点测定

参照 Li 等^[4]的研究方法,利用 SUN-II 型智能昆虫过冷却点测定仪测定正常发育金小蜂幼虫和滞育金小蜂幼虫的过冷却点,每组测量 30 头幼虫。

1.2.6.2 耐低温能力测定

将金小蜂幼虫放入 1.5 mL 离心管并用封口膜封口,置于温度设置为-20℃的超低温制冷水浴循环器(Thermo SC150-A 25B,乙二醇作制冷剂)内,非滞育幼虫分别处理 2、4、6、8、10、12、24 h,滞育幼虫分别处理 1、2、3、5、7、10 d,然后将其转移至 25℃下恢复 24 h,检查并记录幼虫存活状况,计算 50% 个体存活的时间,即半数致死时间 LT₅₀,每个处理 30 头幼虫,重复 3 次。

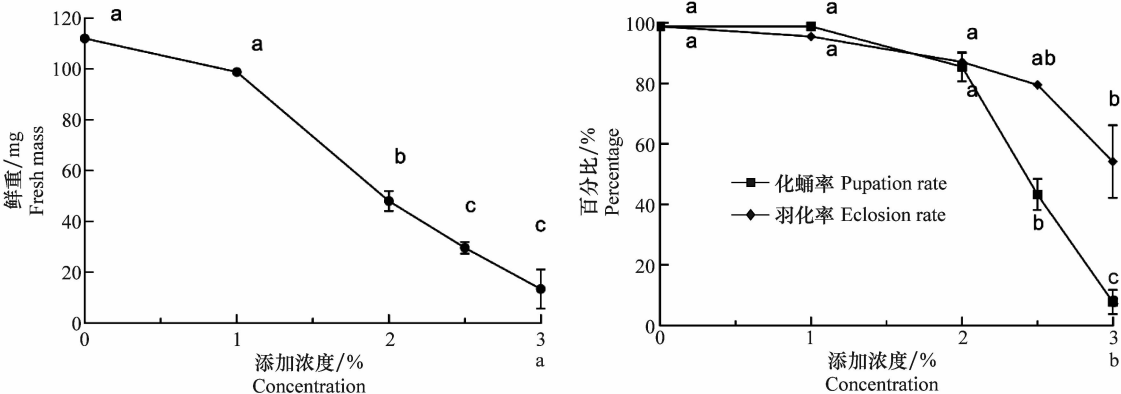
1.3 数据分析

采用统计分析软件 GraphPad Prism 7 对试验所得数据进行统计分析,试验结果以平均值±标准误差表示。麻蝇的蛹鲜重、化蛹率及羽化率的比较采用单因素方差分析法,差异显著性检验采用 Tukey post-hoc 检验法。金小蜂非滞育和滞育幼虫的鲜重、干重、含水量、水合量和过冷却点采用双因素方差分析法,差异显著性检验采用 Tukey post-hoc 检验法。非滞育金小蜂成蜂的寿命、繁殖力、性比、发育历期的差异显著性比较采用 t 检验法。利用剂量-抑制反应模型计算滞育和非滞育金小蜂幼虫的半数致死时间(LT₅₀),并采用 Extra sum of square F test 检验法进行差异显著性比较。

2 结果与分析

2.1 麻蝇饲料中添加哌啶酸的最适浓度

为确定哌啶酸最适添加量,分别测定了添加不同浓度哌啶酸对麻蝇生长发育的影响(图 1),添加浓度为 1% 时,对麻蝇的鲜重、化蛹率和羽化率无显著影响;添加浓度 2% 的哌啶酸,麻蝇鲜重显著降低,但对其化蛹率和羽化率无显著影响;添加浓度>2% 时,麻蝇的鲜重、化蛹率和羽化率都显著降低。由此,我们筛选出哌啶酸添加的最适浓度为 2%,尽管此浓度下麻蝇的鲜重显著降低,但属于麻蝇耐受范围内,可最大化地检测传递给下一营养级的效应。



每个点对应的数据为平均值±标准误(n=90), 不同字母代表差异显著(P<0.05)
Values are means ± SE (n=90). Different letters indicate significant difference (P<0.05)

图 1 寄主饲料添加哌啶酸对麻蝇蛹鲜重(a)、化蛹率和羽化率(b)的影响

Fig. 1 Fresh mass of pupa (a), pupation and eclosion rate (b) of *Sarcophaga crassipalpis* reared on diets added with piperidine acid

2.2 寄主饲料添加哌啶酸对金小蜂生长发育的影响

寄主饲料添加哌啶酸对丽蝇蛹集金小蜂的生长发育具有显著影响(表 1)。非滞育和滞育金小蜂的鲜重、干重、含水量、水合量都有一定程度的降低,其中添加哌啶酸可显著降低非滞育金小蜂的水合量及

滞育金小蜂的鲜重和含水量,但对其他指标无显著影响。滞育金小蜂幼虫的鲜重、干重和含水量均显著高于非滞育金小蜂幼虫,但水合量显著降低。相比其他 3 个处理组,饲养在添加哌啶酸寄主上的滞育金小蜂的水合量最低(表 1)。

表 1 寄主饲料中添加哌啶酸对丽蝇蛹集金小蜂鲜重、干重、含水量及水合量的影响($n=90$)¹⁾

食料 Diet	鲜重/mg FM		干重/mg DM		含水量/mg WM		水合量/mg water • mg ⁻¹ DM Hydration	
	非滞育金小蜂 ND	滞育金小蜂 D	非滞育金小蜂 ND	滞育金小蜂 D	非滞育金小蜂 ND	滞育金小蜂 D	非滞育金小蜂 ND	滞育金小蜂 D
正常麻蝇蛹 nd	1.94±0.03	3.11±0.09*	0.66±0.02	1.39±0.04*	1.29±0.02	1.72±0.05*	1.95±0.04	1.24±0.01*
添加哌啶酸麻蝇蛹 nd+PA	1.71±0.02	2.58±0.19*#	0.62±0.01	1.18±0.11*	1.10±0.01	1.41±0.09*#	1.79±0.02#	1.20±0.05*
双因素方差分析结果 Two-way ANOVA								
金小蜂滞育状态 <i>Nasonia</i> diapause status	$F_{1,8}=87.91, P<0.000\ 1$		$F_{1,8}=114.3, P<0.000\ 1$		$F_{1,8}=54.61, P<0.000\ 1$		$F_{1,8}=384.0, P<0.000\ 1$	
寄主饲料 Host diet	$F_{1,8}=12.08, P=0.008\ 4$		$F_{1,8}=4.363, P=0.070\ 2$		$F_{1,8}=24.93, P=0.0011$		$F_{1,8}=9.783, P=0.014\ 1$	
相互作用 Interaction	$F_{1,8}=1.846, P=0.2114$		$F_{1,8}=1.897, P=0.2058$		$F_{1,8}=1.631, P=0.2373$		$F_{1,8}=3.879, P=0.0844$	

1) D:滞育,ND:非滞育,nd:常规饲料,nd+PA:常规饲料+哌啶酸。下同。*表示非滞育金小蜂与滞育金小蜂相比具有显著差异($P<0.05$)。#表示常规饲养的寄主饲养的金小蜂与添加 2%哌啶酸喂饲的寄主饲养的金小蜂相比具有显著差异($P<0.05$)。
D:Diapause, ND:Non-diapause,nd:Normal diet,nd+PA:Normal diet+pipecolic acid. The same below. * indicates significant differences between non-diapausing and diapausing *N. vitripennis* in the same row (Tukey's *post-hoc* test, $P<0.05$). # indicates significant differences between *N. vitripennis* reared on hosts fed with or without 2% PA in the same column ($P<0.05$).

表 2 寄主饲料中添加哌啶酸对非滞育金小蜂寿命($n=60$)、繁殖力和性比($n=20$)的影响¹⁾

饲养方式 Rearing method	寿命/d Longevity		繁殖力/头 Fecundity			性比 (F/M) Sex ratio
	雌性 Female	雄性 Male	F ₁ 代总数 Total F ₁	雌性 Female	雄性 Male	
常规饲养的金小蜂 ND+nd	6.02±0.57	6.00±0.86	311.40±141.10	252.30±142.80	59.13±61.19	8.25±5.87
饲喂哌啶酸的金小蜂 ND+nd+PA	5.37±0.49**	5.25±0.63**	175.30±70.85**	151.60±70.01**	23.70±22.38**	8.81±4.90

1) **表示常规饲养的寄主饲养的金小蜂与添加 2%哌啶酸喂饲的寄主饲养的金小蜂相比具有极显著差异 $P<0.01$ 。
** indicates significant differences between *N. vitripennis* reared on hosts fed with or without 2% PA in the same column ($P<0.01$).

表 3 寄主饲料中添加哌啶酸对非滞育金小蜂发育历期($n=90\sim100$)的影响

饲养方式 Rearing method	发育历期/d Developmental period		
	卵至排便 Egg to defecation	蛹期 Pupa	卵至羽化 Egg to adult emergence
常规饲养 ND+nd	7.44±0.54	7.44±0.54	14.89±1.07
饲喂哌啶酸 ND+nd+PA	7.50±0.56	7.45±0.80	14.92±0.99

寄主饲料添加哌啶酸可显著影响正常发育丽蝇蛹集金小蜂的寿命、繁殖能力,雌性和雄性成蜂的寿命均显著缩短;F₁代的成蜂总数、雌蜂数及雄蜂数也显著下降,分别只占对照组的 56%、60%和 40%;F₁代的雌性性比虽稍有升高,但与对照组差异不显著(表 2)。寄主饲料添加哌啶酸对金小蜂幼虫期、

蛹期及整个世代的发育历期均无显著影响(表 3)。
2.3 寄主饲料添加哌啶酸对金小蜂耐寒性的影响
研究表明,寄主饲料添加哌啶酸可降低金小蜂的过冷却点(表 4),其中滞育幼虫的过冷却点下降幅度明显,说明滞育幼虫通过取食添加哌啶酸的蝇蛹可提高其过冷却能力,有助于提高自身耐寒

性,但过冷却点不能单独作为评价耐寒性的指标,只有与耐寒能力评价相结合才有参考意义^[12],因此我们又测定了添加哌啶酸对金小蜂耐低温能力的影响,综合评估其耐寒性。将非滞育金小蜂幼虫置于-20℃处理 24 h 后,正常麻蝇蛹和添加哌啶酸麻蝇蛹饲养的金小蜂幼虫的存活率分别为 62%±1%和 67%±2%;滞育金小蜂幼虫置于-20℃处理10 d后,正常麻蝇蛹和添加哌啶酸麻蝇蛹饲养的金小蜂的存活率分别为 68%±1%和 82%±1%。且由图 2 可知,-20℃下正常饲养的非滞育金小蜂的半数致死时间(LT₅₀=46.6 h)短于饲养在添加哌啶酸寄主上的非滞育金小蜂的半数致死时间(LT₅₀=72.2 h),虽然二者之间差异不显著($P=0.366, F_{(2, 38)}=1.032$),但说明外源添加哌啶酸对提高非滞育金小蜂的耐寒性有一定作用(图 2a)。就滞育金小蜂而言,寄主饲料添加哌啶酸可显著提高滞育幼虫的耐寒性($P=0.015, F_{(2, 35)}=4.784$),添加哌啶酸处理组的半数致死时间

(LT₅₀=905.6 h)是对照组(LT₅₀=572.5 h)的 1.6 倍,低温下的存活时间显著延长(图 2b)。

表 4 寄主饲料中添加哌啶酸对丽蝇蛹集金小蜂过冷却点($n=30$)的影响¹⁾

Table 4 Supercooling points ($n=30$) of *Nasonia vitripennis* reared on hosts fed with pipercolic acid

食料 Diet	过冷却点/℃($n=30$) SCP	
	非滞育金小蜂 ND	滞育金小蜂 D
正常麻蝇蛹 nd	-21.4±0.4	-23.1±0.1*
添加哌啶酸麻蝇蛹 nd+PA	-21.5±0.3	-25.2±0.8*
双因素方差分析结果 Two-way ANOVA		
金小蜂滞育状态 <i>Nasonia</i> diapause status	$F_{1,83}=20.48, P<0.0001$	
寄主饲料 Host diet	$F_{1,83}=3.105, P=0.0817$	
相互作用 Interaction	$F_{1,83}=2.99, P=0.0875$	

1) * 表示非滞育金小蜂与滞育金小蜂的 SCP 具有显著差异($P<0.05$).
* indicates significant differences between the SCP of non-diapausing and diapausing *Nasonia vitripennis* (Tukey's post-hoc test, $P<0.05$).

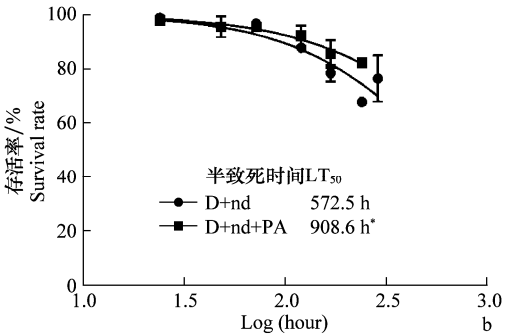
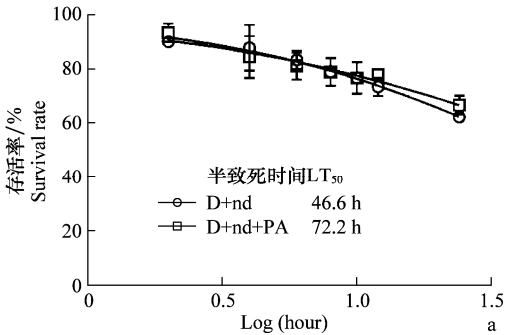


图 2 饲养在正常寄主和添加 2%哌啶酸寄主上的非滞育金小蜂(a)和滞育金小蜂(b)在低温(-20℃)下的存活率
Fig. 2 Survival rate of non-diapausing (a) and diapausing *Nasonia vitripennis* (b) reared on hosts fed with or without 2% PA at -20℃

3 结论与讨论

本研究结果表明,寄主饲料中添加哌啶酸可显著影响丽蝇蛹集金小蜂的生长发育和耐寒性。无论金小蜂是否滞育,添加哌啶酸对金小蜂的生长发育都有一定的抑制作用,幼虫的鲜重、干重和含水量以及成蜂的寿命和繁殖力等均有不同程度的下降。并且麻蝇在取食添加哌啶酸的饲料后,其重量、化蛹率和羽化率均随着哌啶酸添加量的增加而逐渐下降,这说明哌啶酸可抑制昆虫的生长发育。已有研究发现,适量浓度的赖氨酸可以促进锯谷盗 *Oryzaeph-*

lus surinamensis 的生长发育,但浓度过高时存活数量和生长速率都会受到抑制,且研究过程中对相关化合物进行测试,发现哌啶酸参与了虫体的生长发育^[13]。此外,也有研究发现哌啶酸对昆虫的取食和存活具有抑制作用^[14-15]。推测哌啶酸经饲喂进入金小蜂体内后对其相关的生理生化功能产生抑制,实际应用中可以通过给金小蜂饲喂蜂蜜水和适当冷藏(6周内)来延长金小蜂的寿命和提高其繁殖能力^[16-18]。虽然寄主饲料添加哌啶酸会抑制金小蜂的生长发育,但能显著提高其耐寒性,其中对滞育幼虫的提高作用更显著。研究中发现寄主饲料中添加哌啶酸

降低了金小蜂的水合量,昆虫在低温环境下生存时,全身大部分水在细胞间冻结^[19],水合量的降低可以减少组织内部因结冰造成的机械损伤,有助于耐寒性的提高^[2]。此外,添加哌啶酸降低了金小蜂的过冷却点、提高了金小蜂的耐低温能力,说明哌啶酸可能作为低温保护物质在金小蜂体内发挥作用,提高了其耐寒性,我们的结果也再次验证了耐寒性提高的三重营养传递效应^[5],即通过向寄主饲料中添加低温保护物质,可以提高第三营养级寄生性昆虫(或者捕食性昆虫)的耐寒性。此外,已有研究发现高浓度的脯氨酸和精氨酸也可以提高果蝇 *Chymomyza costata* 和黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 的耐寒性^[20-22]。氨基酸作为近些年新发现的与昆虫耐寒性相关的低温保护剂^[8],主要机制有两个,一是通过与大分子或大分子的水化层直接作用来稳定大分子,二是通过物理缓冲防止蛋白质凝聚^[23-25]。哌啶酸是植物系统性抗性获得的关键调节剂^[11, 25],能在植物、微生物的低温、干旱和高盐胁迫中作渗透保护剂^[10-11]。可见,哌啶酸在提高动植物和微生物的抗逆性中具有重要作用,有必要深入开展其功能机制研究,明确哌啶酸的生物功能,并揭示其代谢调控机制。

我们的研究结果也表明滞育可显著提高金小蜂幼虫的体重和耐寒性,降低其水合量,这一结果与前人研究基本一致^[5, 26]。不同的是,本研究中金小蜂幼虫在-20℃条件下存活时间显著延长,与前人研究结果相比,相同处理温度下的存活时间延长了数十倍,这可能与试验中所用仪器、低温处理剂及装置不同有关。

在本研究中,虽然添加外源哌啶酸对丽蝇蛹集金小蜂的生长发育有不利影响,但在其耐受范围内显著提高了金小蜂的耐寒性,尤其是滞育幼虫在取食添加哌啶酸的寄主后,其耐寒性极显著增强。金小蜂自身滞育和寄主饲料添加哌啶酸作为提高金小蜂耐寒性的两种重要方法,其操作简单、方便易行,为促进天敌昆虫的规模化生产和应用提供了方法指导,在天敌昆虫应用过程中,可以通过添加哌啶酸和诱导滞育相结合的方式大规模饲养和贮存寄生蜂等天敌昆虫,延长天敌昆虫的货架期,增强其耐寒性,促进天敌产品的释放应用,提高其防治效果。后续研究中,我们将从分子水平上继续探索哌啶酸在滞育金小蜂体内的积累和作用机制,为昆虫中哌啶酸

功能机制的深入研究提供理论参考。

参考文献

- [1] WERREN J H, LOEHLIN D W. The parasitoid wasp *Nasonia*: an emerging model system with haploid male genetics [J/OL]. Cold Spring Harbor Protocols, 2009,10: pdb.emo134.
- [2] 李玉艳. 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[D]. 北京: 中国农业科学院, 2015.
- [3] 张礼生, 陈红印, 王孟卿, 等. 寄生蜂的滞育研究进展[J]. 中国生物防治学报, 2014,30(2): 149-164.
- [4] LI Yuyan, ZHANG Lisheng, ZHANG Qirui, et al. Host diapause status and host diets augmented with cryoprotectants enhance cold hardiness in the parasitoid *Nasonia vitripennis* [J]. Journal of Insect Physiology, 2014, 70: 8-14.
- [5] LI Yuyan, ZHANG Lisheng, CHEN Hongyin, et al. Shifts in metabolomic profiles of the parasitoid *Nasonia vitripennis* associated with elevated cold tolerance induced by the parasitoid's diapause, host diapause and host diet augmented with proline [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2015, 63: 34-46.
- [6] GIACOBINI E, NOMURA Y, SCHMIDT-GLENEWINKEL T. Pipecolic acid: Origin, biosynthesis and metabolism in the brain [J]. Cellular and Molecular Biology, 1980, 26(2): 135-146.
- [7] 李振东, 樊君, 张宗伟. 哌啶酸及其衍生物合成的研究进展[J]. 化学通报, 2006, 69(7): 560.
- [8] BERNSDORFF F, DÖRING A C, GRUNER K, et al. Pipecolic acid orchestrates plant systemic acquired resistance and defense priming via salicylic acid-dependent and -independent pathways [J]. The Plant Cell, 2016, 28(1): 102-129.
- [9] NÁVAROVÁ H, BERNSDORFF F, DÖRING A C, et al. Pipecolic acid, an endogenous mediator of defense amplification and priming, is a critical regulator of inducible plant immunity [J]. The Plant Cell, 2012, 24(12): 5123-5141.
- [10] VRANOVA V, LOJKOVA L, REJSEK K, et al. Significance of the natural occurrence of L-versus D-pipecolic acid: a review [J]. Chirality, 2013, 25(12): 823-831.
- [11] ZEIER J. New insights into the regulation of plant immunity by amino acid metabolic pathways [J]. Plant, Cell & Environment, 2013, 36(12): 2085-2103.
- [12] OVERGAARD J, MACMILLAN H A. The integrative physiology of insect chill tolerance [J]. Annual Review of Physiology, 2017, 79: 187-208.
- [13] DAVIS G R F. Lysine requirements of larvae of *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera, Silvanidae) [J]. Journal of Insect Physiology, 1961, 6(2): 122-125.
- [14] EVANS C S, BELL E A. Non-protein amino acids of Acacia species and their effect on the feeding of the acridids *Anacridium melanorhodon* and *Locusta migratoria* [J]. Phytochemistry, 1979, 18(11): 1807-1810.

[13] 王鹏,于毅,许永玉,等. 寄主植物对桃小食心虫越冬幼虫耐寒性物质的影响[J]. 应用生态学报,2014,25(5):1513-1517.

[14] 任璐,陆永跃,曾玲,等. 寄主对桔小实蝇耐寒性的影响[J]. 昆虫学报,2006(3):447-453.

[15] 张智,郑乔,张云慧,等. 草地贪夜蛾室内种群抗寒能力测定[J]. 植物保护,2019,45(6):43-49.

[16] 王世英,朱启旋,谭煜婷,等. 草地贪夜蛾室内人工饲料群体饲养技术[J]. 环境昆虫学报,2019,41(4):742-747.

[17] 吕飞,刘玉升,张秀波,等. 鳞翅目昆虫人工饲料的研究现状[J]. 华东昆虫学报,2007(2):149-155.

[18] 段云,巩中军,李慧玲,等. 黏虫幼虫和蛹过冷却点及结冰点的测定[J]. 植物保护,2016,42(4):147-150.

[19] 赵琦,张云慧,韩二宾,等. 旋幽夜蛾各虫态的过冷却点测定[J]. 植物保护,2011,37(2):63-66.

[20] 韩兰芝,翟保平,张孝羲,等. 甜菜夜蛾的抗寒力研究[J]. 植物保护学报,2005,32(2):169-173.

[21] 江幸福,罗礼智,李克斌,等. 甜菜夜蛾抗寒与越冬能力研究[J]. 生态学报,2001(10):1575-1582.

[22] 马继芳,王玉强,李立涛,等. 二点委夜蛾过冷却点测定及越冬虫态分析[J]. 河北农业科学,2011,15(9):1-3.

[23] 章士美,章志英. 夜蛾科昆虫的越冬虫态及其场所[J]. 江西农

业大学学报,1986(S3):34-37.

[24] 郭婷婷,于志浩,门兴元,等. 双委夜蛾不同虫态耐寒性及体内生化物质含量变化[J]. 昆虫学报,2016,59(12):1291-1297.

[25] 秦建洋,兰建军,张蕾,等. 劳氏黏虫幼虫和蛹过冷却点及结冰点的测定[J]. 中国植保导刊,2018,38(8):33-38.

[26] 杨燕涛. 寄主对棉铃虫(*Helicoverpa armigera* Hübner)越冬蛹抗寒能力的影响[J]. 武夷科学,2002,18:43-45.

[27] LIU Zhudong, GONG Peiyu, HECKELD G, et al. Effects of larval host plants on over-wintering physiological dynamics and survival of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. Journal of Insect Physiology, 2008, 55(1): 1-9.

[28] HUNTER M D, MCNEIL J N. Host-plant quality influences diapause and voltinism in a polyphagous insect herbivore [J]. Ecology, 1997, 78: 977-986.

[29] 王宪辉,齐宪磊,康乐. 昆虫的快速冷驯化现象及其生态适应性意义[J]. 自然科学进展,2003,13(11):1128-1133.

[30] 岳雷,郭建英,周忠实,等. 冷驯化对昆虫耐寒性及其适合度的影响[J]. 中国生物防治学报,2013,29(2):286-293.

[31] 薛冬,陈丹,范秀娟,等. 烟草潜叶蛾的过冷却点测定[J]. 环境昆虫学报,2014,36(5):860-864.

(责任编辑:田 喆)

(上接 61 页)

[15] GUPTA G, AGARWAL U, KAUR H, et al. Aphicidal effects of terpenoids present in *Citrus limon* on *Macrosiphum roseiformis* and two generalist insect predators [J]. Journal of Asia-Pacific Entomology, 2017, 20(4): 1087-1095.

[16] DAVIES I. A study of the effect of diet on the life-span of *Nasonia vitripennis* (Walk.) (Hymenoptera, Pteromalidae) [J]. Journal of Gerontology, 1975, 30(3): 294-298.

[17] 张青云,张桂筠,张文忠,等. 丽蝇蛹集金小蜂幼虫冷藏的实验研究[J]. 医学动物防制,1990(4):31-34.

[18] 张忠,史卫峰,叶恭银,等. 丽蝇蛹集金小蜂的寄生习性研究[J]. 中国媒介生物学及控制杂志,2008(6):507-509.

[19] STOREY K, STOREY J. Molecular biology of freezing tolerance [J]. Comprehensive Physiology,2013,3(3):1283-1308.

[20] KOŠTÁL V, KORBELOVÁ J, POUPARDIN R, et al. Arginine and proline applied as food additives stimulate high freeze tolerance in larvae of *Drosophila melanogaster* [J]. The Journal of Experimental Biology, 2016, 219(15): 2358-2367.

[21] KOSTAL V, SIMEK P, ZAHRADNICKOVA H, et al. Conversion of the chill susceptible fruit fly larva (*Drosophila melanogaster*) to a freeze tolerant organism [J]. Proceedings of the

National Academy of Sciences, 2012, 109(9): 3270-3274.

[22] KOSTAL V, ZAHRADNICKOVA H, SIMEK P. Hyperproline-mic larvae of the drosophilid fly, *Chymomyza costata*, survive cryopreservation in liquid nitrogen [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2011, 108(32): 13041-13046.

[23] ARAKAWA T, TIMASHEFF S N. Preferential interactions of proteins with solvent components in aqueous amino acid solutions [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1983, 224(1):169-177.

[24] CROWE J H, CROWE L M, CHAPMAN D. Preservation of membranes in anhydrobiotic organisms: the role of trehalose [J]. Science, 1984, 223(4637): 701-703.

[25] TOXOPEUS J, SINCLAIR B J. Mechanisms underlying insect freeze tolerance [J]. Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society, 2018, 93(4):1891-1914.

[26] RIVERS D B, LEE R E, DENLINGER D L. Cold hardiness of the fly pupal parasitoid *Nasonia vitripennis* is enhanced by its host *Sarcophaga crassipalpis* [J]. Journal of Insect Physiology, 2000, 46(1): 99-106.

(责任编辑:田 喆)