温度胁迫下烟粉虱 MED 隐种与亚洲Ⅱ3 隐种三个抗寒基因表达模式的分析

申晓娜[1,2]， 吕志创[2]， 李有志[1]， 刘万学[2]， 万方浩[2*]

(1. 湖南农业大学植物保护学院，长沙 410128；2. 中国农业科学院植物保护研究所，植物病虫害生物学国家重点研究室，北京 100193)

摘要 烟粉虱 *Bemisia tabaci* 具有强的温度耐受性，但烟粉虱入侵种 MED 隐种与本地种亚洲Ⅱ3 隐种在我国的地理分布上存在巨大的差异。因此本研究以烟粉虱 MED 隐种和亚洲Ⅱ3 隐种为研究对象，采用 qRT-PCR 技术分别检测两种烟粉虱 3 个抗寒基因(erythrocyte binding protein，trehalase，dopadecarboxylase)在 5 个梯度温度胁迫下 mRNA 水平上的相对表达量，分析其在高低温胁迫过程中表达量的变化，探索抗寒基因在烟粉虱 MED 隐种成功入侵并广泛分布于各气候区域中所起的作用。研究结果表明这两种烟粉虱隐种体内，3 个抗寒基因均显著受低温诱导。但相对于 AsiaⅡ3 隐种，低温胁迫下烟粉虱 MED 隐种体内的 3 种抗寒基因能更快速地做出响应，且基因上调或下调的量也相对较多。

关键词 烟粉虱； 温度胁迫； 抗寒基因； qRT-PCR； 定量表达

中图分类号： S 433.3 **文献标识码**： A **DOI**： 10.16688/j.zwbh.2017189

Comparative analysis of the expression patterns of three cold-resistant gene in MED and Asia Ⅱ3 cryptic species of *Bemisia tabaci* under temperature stress

SHEN Xiaona[1,2]， LÜ Zhichuang[2]， LI Youzhi[1]， LIU Wanxue[2]， WAN Fanghao[2]

(1. *College of Plant Protection*, *Hunan Agricultural University*, *Changsha* 410128, *China*; 2. *State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests*, *Institute of Plant Protection*, *Chinese Academy of Agricultural Sciences*, *Beijing* 100193, *China*)

Abstract *Bemisia tabaci* has strong temperature tolerance (heat resistance and cold resistance). However, there were significant differences in the distribution of invasive species (MED cryptic species) and native species (Asia Ⅱ 3 cryptic species) in China. Therefore, in this study, we used qRT-PCR to detect the mRNA relative expression level of 3 important cold-resistant genes encoding the erythrocyte binding protein, trehalase and dopadecarboxylase in the two *B. tabaci* cryptic species under the stress of five gradient temperatures. The purpose of the study is to explore the roles of cold-resistant genes in the successful invasion of *B. tabaci* MED cryptic species and widespread distribution in different climatic regions by analyzing the change of the relative expression level. The results of qPCR test showed that three cold-resistant genes were significantly induced by low temperature in the two *B. tabaci* cryptic species. Compared with the Asia Ⅱ 3 cryptic species, *B. tabaci* MED could make adjustments to adapt to the low-temperature environment more quickly, and the adjustment level was also relatively higher. Therefore, we speculate that it may be one of the important mechanisms that makes MED cryptic species invade into a wide range of cold regions and adapt quickly to survive.

Key words *Bemisia tabaci*; temperature stress; cold-resistance gene; qRT-PCR; quantitative expression

烟粉虱 *Bemisia tabaci* (Gennadius)属半翅目 Hemiptera，粉虱科 Aleyrodidae，是一个包含 36 个以上隐种的物种复合体[1-4]，其中烟粉虱 MED (Mediterranean)(Q 型)隐种起源于地中海，入侵性

收稿日期： 2017-05-23 **修订日期**： 2017-06-29
基金项目： 国家自然科学基金(31672088)；国家重点研发计划(2016YFC1200603)；中以合作项目(2015dfg32300)；国家公益性行业(农业)科研专项(201303019)
* 通信作者 E-mail：wanfanghao@caas.cn

强,随着世界范围内的贸易往来,该隐种借助花卉及其他经济作物的苗木迅速扩散,在世界各地广泛传播并暴发成灾。2003 年,在中国云南昆明首次发现烟粉虱 MED 隐种[5],现几乎分布于全国各个省市[3],包括位于我国东北严寒地区的诸多省市。而亚洲Ⅱ3 隐种在我国自然分布的区域要相对小很多,目前仍然仅分布在广东、台湾、浙江、湖南、湖北[6-7],且没有向其他地域扩散的趋势。因此,我们推测烟粉虱的抗寒能力是导致它们分布不同的重要原因之一,本研究通过测定抗寒基因在温度胁迫下表达量的差异来探索抗寒能力对入侵种和本地种烟粉虱分布的影响。

昆虫抗寒性物质包括两类,即小分子的物质和抗冻蛋白(antifreeze proteins, AFPs)。目前已知的小分子抗寒性物质有甘油、山梨醇、甘露醇、五碳多元醇(可能是阿拉伯糖醇或核酸醇)、海藻糖、葡萄糖、果糖以及某些昆虫体内的氨基酸和脂肪酸。不同昆虫积累的物质种类和含量是不同的,但大多数昆虫都由几种抗寒物质构成一个物质系统[8]。其中海藻糖作为昆虫的血糖,具有对热、冷、营养缺乏、缺水、氧化试剂等多种不良刺激的耐受性[9-10],能够保护生物膜的完整性和维持生物活性,从而保护细胞免受冻伤[11]。Ueno 等[12]研究发现果蝇在遇到寒冷环境时,代谢率会提高,并且多巴胺含量有变化,表明多巴胺对果蝇行为变化的影响具有温度敏感性。而 erythrocyte binding protein 富含多种氨基酸,可作为氨基酸的代表对昆虫抗寒性进行研究。此外在异色瓢虫体内也对这些小分子物质进行了初步的研究,研究结果表明这三种物质确实在异色瓢虫抵御寒冷环境中起到作用[13]。

为了更好地理解烟粉虱的温度抗逆能力,本试验从微观层面找到烟粉虱这三个具有代表性的抗寒关键基因,采用 qRT-PCR 技术分别检测烟粉虱 MED 隐种和亚洲Ⅱ3 隐种两个种型体内 3 个重要抗寒基因在短时高低温胁迫下 mRNA 水平上的相对表达量,有研究显示在低于−5℃和高于 45℃的温度胁迫条件下,两种烟粉虱存活率开始显著降低,即在−5～45℃的温度胁迫下这两种烟粉虱均能正常存活,尚未达到其极端致死温度[14],因此本试验选择 0、12、35、40℃4 个温度梯度对其进行胁迫处理,26℃下做相同处理作为对照。分析其在抵御温度胁迫时所起的作用,以及对比两种烟粉虱体内表达量的差异,探索烟粉虱 MED 隐种成功入侵的原因。期望为进一步研究烟粉虱的温度适应机制和制定可持续控制烟粉虱危害的方法提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　供试昆虫

采用的烟粉虱 MED 隐种为中国农业科学院植物保护研究所生物入侵研究室饲养种群,亚洲Ⅱ3 隐种为 2016 年在广东偶然采得,带回室内于番茄苗上饲养并通过 COI 的方法鉴定其生物型为亚洲Ⅱ3 隐种,并在室内饲养种群,均以番茄 *Lycopersicum esculentum* Mill('中杂九号')为寄主植物饲养,无用药史,温室饲养温度为(26±1)℃,相对湿度 60%～80%,光周期为 L//D=16 h//8 h。

1.2　仪器及试剂

1.2.1　主要仪器

Implen 超微量紫外可见分光光度计(NanoPhotometer TM P-Class)、高低温控温设备(K6-CC-NR,德国 Huber)、台式低温离心机(艾本德)、实时荧光定量 PCR 仪(7500 型)(美国 ABI 公司)、普通 PCR 仪、电泳仪、琼脂糖凝胶电泳成像系统均为美国 Bio-Rad 公司的产品。

1.2.2　主要试剂

实时荧光定量 PCR 试剂和耗材盒购自美国 Bio-RAD 公司、RNA 提取试剂 Trizol Regent 购自 Invitrogen 公司;反转录试剂盒(Super Script First-Strand Synthesis System)、TransStartTaq DNA Polymerase 及 PCR 相关试剂(dNTPs mix、10×TransStartTaq Buffer)、引物合成与产物测序由上海生工生物工程技术服务有限公司完成。

1.3　试验方法

1.3.1　低温胁迫处理

每个隐种各取 200 头成虫于 1.5 mL 离心管中,置于低温(0、12℃)和高温(35、40℃)环境中分别进行胁迫处理 1、3、5 h,室温 26℃作为对照,每个处理做 3 个生物学重复。处理结束后立即液氮冷冻 5 min,于−80℃保存。

1.3.2　抗寒基因的引物设计与合成

选择 *EF1-α*、*β-tub* 两个基因作为内参基因,其在烟粉虱体内表达稳定,特异性强[13],且研究证明选择一个内参基因易使表达分析出现较大误差,选择两个内参基因进行相对定量试验可获得更为准

确、可信度更高的试验结果。根据本实验室前期烟粉虱转录组分析得到的数据，确定 erythrocyte binding protein、trehalase、dopadecarboxylase 3个基因为潜在的抗寒关键基因，利用 Primer Premier 5.0 设计，Oligo 软件分析定量引物，具体见表 1，引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

表 1 烟粉虱 3 个抗寒基因和 2 个内参基因的引物序列

Table 1 The primer sequences of 3 cold-resistant genes and 2 reference genes in *Bemisia tabaci*

基因名称 Gene name	引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence (5′-3′)	产物长度/bp Amplicon size
Erythrocyte binding protein	E-F	GGTCTGTTTCAACTGTGGAT	116
	E-R	TCAGGTGGGTGTGCTTCTTC	
Trehalase	Tre-F	GGTGAGGGTTGCAGAGGAG	126
	Tre-R	ATGTGGAAAAGGCAGGTGA	
Dopa	Dopa-F	CAGACAAGGGTGACAAATGGGA	
decarboxylase	Dopa-R	TACTGGGGTAAGAACTAGCGGC	131
EF1-α	EF1-α-F	TAGCCTTGTGCCAATTTCCG	110
	EF1-α-R	CCTTCAGCATTACCGTCC	
β-tub	β-tub-F	TGTCAGGAGTAACGACGTGTTTG	167
	β-tub-R	TTCGGGAACGGTAAGTGCTC	

1.3.3 总 RNA 的提取及 cDNA 第一链的合成

将胁迫处理过的 200 头烟粉虱成虫提取总 RNA，采用 Trizol(Invitrogen，USA)一步法进行提取，采用紫外比色和 1%琼脂糖凝胶电泳鉴定 RNA 的纯度和完整度。根据荧光定量标准曲线结果确定将其定量为 1 000 ng(反转录后可通过分光光度计检测 cDNA 浓度微调其含量至 1 000 ng)，采用 Super Script First-Strand Synthesis System 试剂盒进行反转录合成第一链 cDNA，并于−20℃保存备用。

1.3.4 实时荧光定量 PCR

实时荧光定量 PCR 试验体系：Mix 10 μL，染料0.4 μL，引物 F(10 pmol)0.4 μL，引物 R(10 pmol) 0.4 μL，cDNA 模板 1 μL，补充 DEPC 水至 20 μL。反应程序：94℃ 50 s；94℃ 5 s，60℃ 30 s，40 个循环，绘制 65～95℃熔解曲线。除生物学重复外，每个胁迫处理得到的 cDNA 模板做 3 个技术重复以减小试验误差。

1.3.5 数据统计分析

通过定量 PCR 测定出 5 个基因(包含内参)的 CT 值，取 3 个技术重复 CT 值的平均值进行数据统计分析(数值相差在 0.5 以内可用，3 个数值中有 2 个或 3 个接近，数值可用，否则重做)。使用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法进行计算，$2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算公式[16]：$2^{-\Delta\Delta CT}=2^{-[(CT\text{ 对照组}-CT\text{对照组(内参)})-(CT\text{ 待测组}-CT\text{待测组(内参)})]}$。

采用 SPSS13.0 软件(SPSS Inc.，USA)进行数据分析，One-way ANOVA 进行数据差异性分析，显著性检验水平均为 $P\leqslant 0.05$。

2 结果

2.1 高低温胁迫下抗寒基因表达分析

对前期转录组筛选获得的 3 个重要抗寒基因进行实时荧光定量 PCR，各隐种对照组测定的基因表达量定为 1，分析处理组的相对表达量。根据方差分析结果制作柱形图，比较高低温胁迫过程中两个隐种体内同一基因的表达变化趋势，分析两个隐种之间，同一基因在相同胁迫处理下表达的差异。

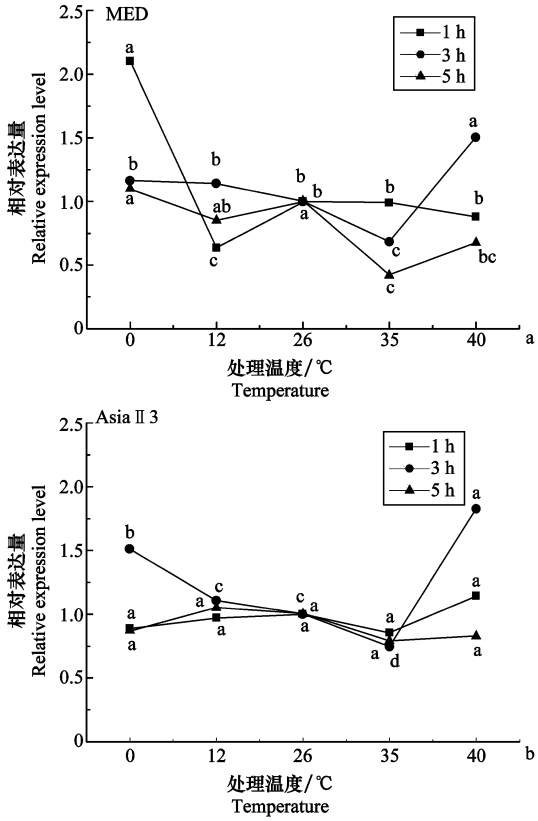
2.1.1 Erythrocyte binding protein 基因表达分析

2.1.1.1 不同温度胁迫下 Erythrocyte binding protein 基因相对表达量的变化趋势

低温胁迫 5 h 内，两个隐种体内 erythrocyte binding protein 基因的表达均发生上调(图 1a，1b)；在高温胁迫 5 h 内，两个隐种体内 erythrocyte binding protein 基因的表达趋势基本一致，均先上调后下调(35℃胁迫处理下，仅入侵种 MED 隐种发生了显著的变化，如图 1a，1b)。

2.1.1.2 相同胁迫条件下烟粉虱两个隐种体内 Erythrocyte binding protein 基因相对表达量的对比分析

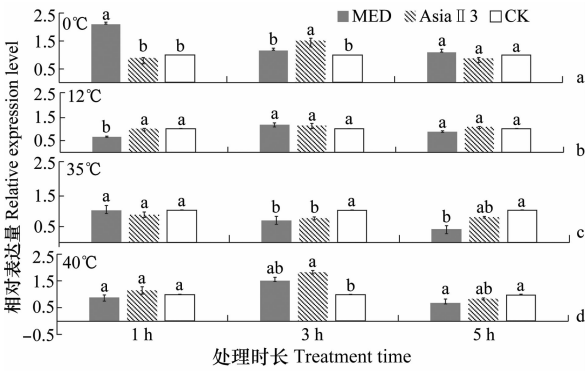
由 2.1.1.1 结果可知低温胁迫下两个隐种体内 erythrocyte binding protein 基因的表达均发生上调，但通过两者的对比分析，我们发现在烟粉虱 MED 隐种体内，erythrocyte binding protein 基因仅在胁迫 1 h 时就发生了显著的上调，而亚洲Ⅱ3 隐种在胁迫 3 h 时才出现了上调，且上调的相对表达量低于烟粉虱 MED 隐种 1 h 时的表达量，如图 2a，2b；高温胁迫下则无此现象发生，如图 2c，2d。



不同小写字母表示$P<0.05$水平上差异显著(Duncan氏新复极差法检验)。下同
Different lowercase letters indicate significant difference at $P<0.05$ level (Duncan's new multiple range test). The same below

图 1　烟粉虱 MED 和亚洲Ⅱ3 隐种 erythrocyte binding protein 基因在不同温度胁迫下相对表达量的变化趋势

Fig. 1　Variation trend of relative expression level of erythrocyte binding protein genes in the two *Bemisia tabaci* cryptic species in response to thermal stress



柱子上不同小写字母表示$P<0.05$水平上差异显著(Duncan氏新复极差法检验)。CK(MED/亚洲Ⅱ3)为两个隐种对照组分别测定的基因相对表达量,均定为1。下同
Different lowercase letters indicate significant difference at $P<0.05$ (Duncan's new multiple range test). CK (MED/Asia Ⅱ 3): The relative gene expression level in the control group of the two *Bemisia tabaci* cryptic species (designated as 1). The same below

图 2　烟粉虱 MED 和亚洲Ⅱ3 隐种 erythrocyte binding protein 基因在不同温度胁迫下的相对表达量

Fig. 2　Relative expression level of erythrocyte binding protein genes in the two *Bemisia tabaci* cryptic species in response to thermal stress

2.1.2　Trehalase 基因表达分析

2.1.2.1　不同温度胁迫下 trehalase 基因相对表达量的变化趋势

低温胁迫 5 h 内,两个隐种体内 trehalase 基因表达均下调,如图 3a,3b;在高温胁迫 5 h 内,两个种群体内 trehalase 基因的表达趋势基本一致,均发生一定的下调,如图 3a,3b。

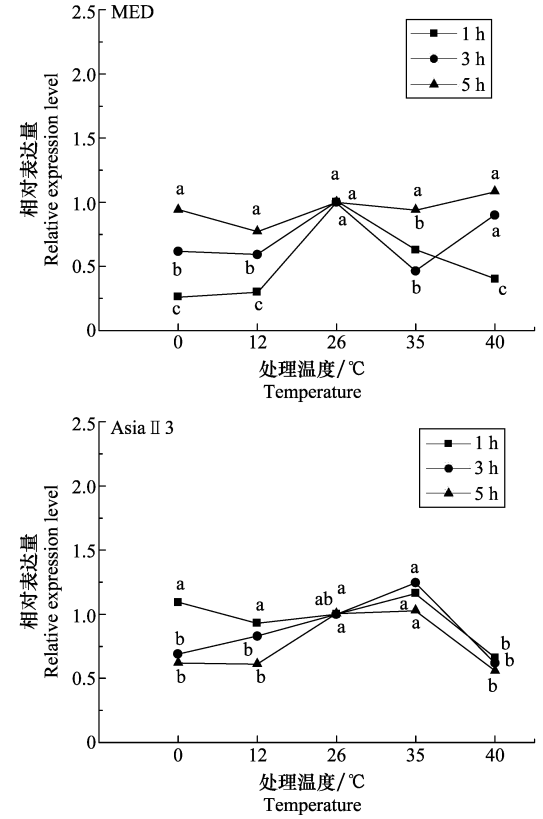


图 3　烟粉虱 MED 和亚洲Ⅱ3 隐种 trehalase 基因在不同温度胁迫下相对表达量的变化趋势

Fig. 3　Variation trend of relative expression level of trehalase genes in the two *Bemisia tabaci* cryptic species in response to thermal stress

2.1.2.2　相同胁迫条件下烟粉虱两个隐种体内 trehalase 基因相对表达量的对比分析

与 erythrocyte binding protein 基因相同的是烟粉虱 MED 隐种体内的 trehalase 基因在胁迫 1 h 时发生了显著的下调,而亚洲Ⅱ3 隐种在胁迫 3 h 时才出现了下调,且下调的相对表达量低于烟粉虱 MED 隐种 1 h 时的表达量,如图 4a,图 4b;高温胁迫下则无此现象发生,如图 4c,4d。

2.1.3　Dopa decarboxylase 基因表达分析

2.1.3.1　不同温度胁迫下 Dopa decarboxylase 基因相对表达量的变化趋势

低温胁迫 5 h 内,两个隐种体内 dopa decarbox-

ylase 基因的表达均先上调后再发生下调(图 5a,5b)。在高温胁迫 5 h 内,两个隐种体内 dopa decarboxylase 基因的表达趋势也基本保持一致,均发生一定的上调(5a,5b)。

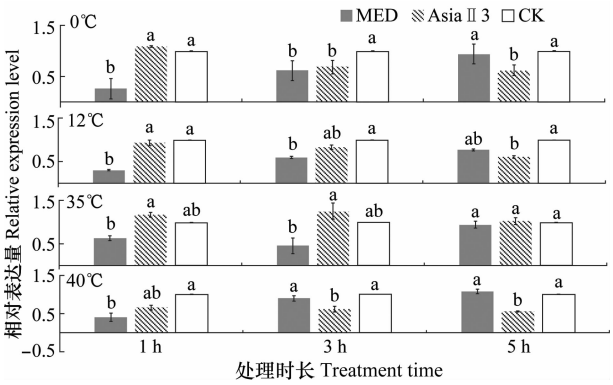


图 4 烟粉虱 MED 和亚洲Ⅱ3 隐种 trehalase 基因在不同温度胁迫下的相对表达量

Fig. 4 Relative expression level of trehalase genes in the two *Bemisia tabaci* cryptic species in response to thermal stress

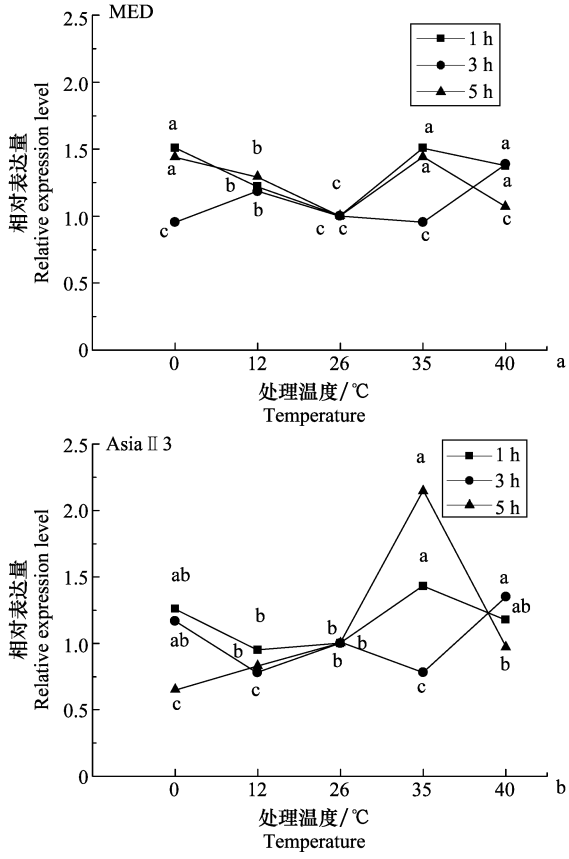


图 5 烟粉虱 MED 和亚洲Ⅱ3 隐种 dopa decarboxylase 基因在不同温度胁迫下相对表达量的变化趋势

Fig. 5 Variation trend of relative expression level of dopa decarboxylase genes in the two *Bemisia tabaci* cryptic species in response to thermal stress

2.1.3.2 相同胁迫条件下烟粉虱两个隐种 dopa decarboxylase 体内相对表达量的对比分析

与前两者不同的是低温胁迫 5 h 内,dopa decarboxylase 基因发生上调的时间基本一致,再发生下调时间与 erythrocyte binding protein、trehalase 基因的规律是一致的,即烟粉虱 MED 种群体内 dopa decarboxylase 基因在 3 h 就开始下调,而亚洲Ⅱ3 隐种则需在 5 h 才开始下调;而且相对于本地种(亚洲Ⅱ3 隐种),入侵种(烟粉虱 MED 隐种)能更快速地做出调节来适应低温环境,如图 6a,6b;高温胁迫下则无此现象发生,如图 6c,6d。

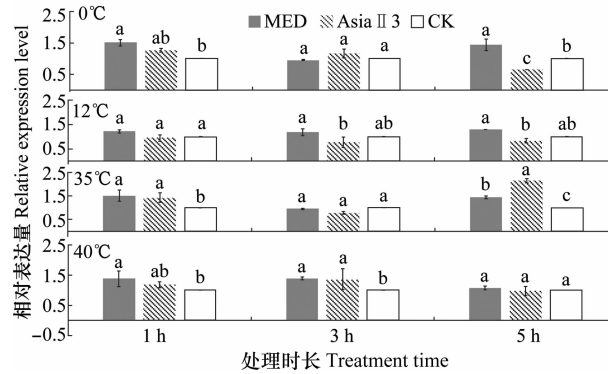


图 6 烟粉虱 MED 和亚洲Ⅱ3 隐种 dopa decarboxylase 基因在不同温度胁迫下的相对表达量

Fig. 6 Relative expression level of dopa decarboxylase genes in the two *Bemisia tabaci* cryptic species in response to thermal stress

3 讨论

低温胁迫是对昆虫耐寒性的检验,昆虫耐寒性是对低温环境长期适应中通过本身的遗传变异和自然选择获得的一种适应性。短时低温胁迫是指昆虫在较短时间内承受突然降温带来的冲击,并对其产生反应,短时低温胁迫并不是极端寒冷下的耐寒能力,而是在 0℃左右开始被激发,这与季节性低温胁迫及长期低温胁迫完全不同。短时低温胁迫时,细胞膜和细胞器最先受到损害,低温使其膜结构改变,流动性变差,失去渗透性,并导致离子的重新组合[17],还会损伤线粒体的功能。在昆虫生长发育的各个时期,均有短时低温胁迫的发生,此方面的报道最早来自红尾肉蝇 *Sarcophaga crassipalpis*、榆叶甲 *Xanthogaleruca luteola*、乳草蝽 *Oncopeltus fasciatus*[18-19],目前已经对弹尾目[20]、鞘翅目[21]、双翅目[22-23]、半翅目[24]、缨翅目[25]以及蜱螨亚纲[26-37]进行了研究。例如在鳞翅目

的幼虫至成虫均有短时低温胁迫的发生,甚至是卵期,且不同昆虫种类及发育阶段条件下快速低温胁迫产生的效应是不同的。而短时高温胁迫也能协助了解基因在环境胁迫下的变化,从而更完整地掌握许多与温度调控相关基因的调控机制。

烟粉虱 MED 隐种是世界上危害最大的入侵物种之一,在入侵过程中对中国以及其他多个国家和地区的许多农作物造成毁灭性危害。一项在中国和澳大利亚完成的研究揭示,这一害虫的交配行为能帮助其入侵土著烟粉虱种群的领地,将危害性不大的土著烟粉虱灭绝并予以取代[28]。所以了解入侵机制对害虫管理很重要,因为这能帮助研究人员就外来害虫入侵以及取代土著近缘生物的范围和速度作出准确预警。近几年来,在我国东北逐渐发现烟粉虱 MED 隐种的危害,说明该物种正在适应更低的气温逐渐向我国北部严寒地区入侵,而我国本地种亚洲Ⅱ3 隐种,目前仍仅存在于浙江、广州一带[6-7],没有向其他地区扩散的趋势,因此,研究烟粉虱耐寒机制对研究其入侵机制至关重要,研究两个隐种之间的差异表达对探索烟粉虱 MED 隐种如何成功入侵有很大的帮助。在抵御外界逆境时,热激蛋白、TRP 等基因[29-30]会通过调节昆虫体内某种物质含量从而抵御多种逆境,因此本研究也通过短时高温胁迫来了解这 3 种基因在短时高温下表达量的变化趋势,从而帮助我们完整地了解 3 种抗寒基因在调控温度适应机制时所产生的具体作用。

前期研究发现热激蛋白(heat-shock proteins,HSPs)在抗寒过程中发挥着重要的功能,除了热激蛋白对抗寒过程具有调控作用外,本研究发现一些激素类物质合成和降解的基因也在烟粉虱抗寒过程中发挥着作用,如 dopa decarboxylase、trehalase 和 erythrocyte binding protein。海藻糖作为昆虫的血糖,具有对热、冷、营养缺乏、缺水、氧化试剂等多种不良刺激的耐受性[9-10],能够保护生物膜的完整性和维持生物活性,从而保护细胞免受冻伤[11]。本试验发现烟粉虱入侵种和本地种的海藻糖酶基因一直在调控整个高低温胁迫过程(图 3),表明海藻糖酶基因能够通过控制烟粉虱的海藻糖含量来调控其抗逆过程。Ueno 等[12]研究发现果蝇在遇到寒冷环境时,代谢率会提高,并且多巴胺含量有变化,表明多巴胺对果蝇行为变化的影响具有温度敏感性。本试验中,多巴脱酸酶基因明显表达调控烟粉虱入侵种整个抗寒过程(图 4),这说明多巴胺确实在烟粉虱 MED 隐种抵御寒冷环境中起到一定的作用。此外,本研究发现 erythrocyte binding protein 基因在烟粉虱两个隐种的整个抗逆过程中也发挥了重要的作用。对比抗寒基因在两个隐种体内表达的异同,发现短时低温胁迫下,两个隐种体内的三个抗寒基因均受低温诱导,相对于本地种(亚洲Ⅱ3 隐种),入侵种(烟粉虱 MED 隐种)能更快地对低温环境做出响应,推测其能调控相关抗寒物质含量来抵御低温环境,进一步推测这可能是其能快速适应不同气候环境的重要机制之一。而在短时高温胁迫下,抗寒基因在两个隐种体内发挥了相似的作用,即能受高温诱导做出响应,推测其能适当调控高温带来的损伤。

参考文献

[1] PERRING T M. The *Bemisia tabaci* species complex [J]. Crop Protection, 2001, 20(9):725 - 737.

[2] BARRO P D, DINSDALE A. *Bemisia tabaci*: A statement of species status [C] // Abstract of the International *Bemisia* Workshop, 2009:1 - 19.

[3] HU Jian, BARRO P D, ZHAO Hua, et al. An extensive field survey combined with a phylogenetic analysis reveals rapid and widespread invasion of two alien whiteflies in China [J]. PLoS ONE, 2011, 6(1):e16061.

[4] 刘树生. 烟粉虱是一个物种复合体[J]. 中国生物防治学报, 2012, 28(4):466.

[5] 褚栋, 张友军, 丛斌, 等. 云南 Q 型烟粉虱种群的鉴定[J]. 应用昆虫学报, 2005, 42(1):54 - 56.

[6] LI Zhengxi. Molecular phylogenetic analysis reveals at least five genetic races of *Bemisia tabaci*, in China [J]. Phytoparasitica, 2006, 34(5):431 - 440.

[7] 刘银泉,刘树生. 烟粉虱的分类地位及在中国的分布[J]. 生物安全学报,2012, 21(4):247 - 255.

[8] 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.

[9] ELBEIN A D, PAN Y T, PASTUSZAK I, et al. New insights on trehalose: a multifunctional molecule [J]. Glycobiology, 2003, 13(4): 17R-27R.

[10] ARGÜELLES J C. Physiological roles of trehalose in bacteria and yeasts: acomparative analysis [J]. Archives of Microbiology, 2000, 174(4): 217 - 224.

[11] 周洁. 海藻糖对酵母抗冻能力的影响[D]. 无锡:江南大学,2005.

[12] UENO T, TOMITA J, KUME S, et al. Dopamine modulates metabolic rate and temperature sensitivity in *Drosophila melanogaster* [J]. PLoS ONE, 2012, 7(2): e31513.

[13] 邬梦静,徐青叶,刘雅,等. 异色瓢虫低温胁迫下过冷却点变化及抗寒基因表达分析[J]. 中国农业科学,2016,49(4):677 - 685.

[14] 马方舟. 烟粉虱 MED 隐种温度耐受性的遗传与进化特征[D]. 北京:中国农业科学院,2014.

[15] DAI T M, LÜ Z C, LIU W X, et al. Selection and validation of reference genes for qRT-PCR analysis during biological invasions: The thermal adaptability of *Bemisia tabaci* MED[J]. PLoS ONE, 2017, 12(3):e0173821.
[16] 纪冬, 辛绍杰. 实时荧光定量 PCR 的发展和数据分析[J]. 生物技术通讯, 2009, 20(4): 598 - 600.
[17] DENLINGER D L, LEE R E. Low temperature biology of insects [M]. Cambridge University Press, 2010.
[18] LEE R E, CHEN C P, DENLINGER D L. A rapid cold hardening process in insects [J]. Science, 1987, 238(4832): 1415 - 1417.
[19] CHEN C P, DENLINGER D L, LEE R E. Cold-shock injury and rapid cold hardening in the flesh fly *Sarcophaga crassipalpis* [J]. Physiological Zoology, 1987, 60(3):297 - 304.
[20] CHEN H, LIANG G, ZOU L, et al. Research progresses in the cold hardiness of insects [J]. Plant Protection, 2010, 36(2):18 - 24.
[21] WORLAND M R, CONVEY P. Rapid cold hardening in Antarctic microarthropods [J]. Functional Ecology, 2001, 15: 515 - 524.
[22] SHINTANI Y, ISHIKAWA Y. Relationship between rapid cold-hardening and cold acclimation in the eggs of the yellow-spotted longicorn beetle, *Psacothea hilaris* [J]. Journal of Insect Physiology, 2007, 53:1055 - 1062.
[23] CZAJKA M C, LEE R E. A rapid cold hardening response protecting against cold-shock injury in *Drosophila melanogaster* [J]. Journal of Experimental Biology, 1990, 148: 245 - 254.
[24] YI S X, LEE R E. Rapid cold-hardening blocks cold-induced apoptosis by inhibiting the activation of pro-caspases in the flesh fly *Sarcophaga crassipalpis* [J]. Apoptosis, 2011, 16:249 - 255.
[25] POWELL S J, BALE J S. Cold shock injury and ecological costs of rapid cold hardening in the grain aphid *Sitobion avenae* (Hemiptera: Aphididae) [J]. Journal of Insect Physiology, 2004, 50: 277 - 284.
[26] LARSEN K J, LEE R E. Cold tolerance including rapid cold-hardening and inoculative freezing of fall migrant monarch butterflies in Ohio [J]. Journal of Insect Physiology, 1994, 40 (10): 859 - 864.
[27] QIANG Chengkui, DU Yuzhou, YU Lingya, et al. Effect of rapid cold hardening on the cold tolerance of the larvae of the rice stem borer, *Chilo suppressalis* (Walker)[J]. Agricultural Sciences in China, 2008, 7(3): 321 - 328.
[28] 刘树生. 非对称交配互作驱动 B 型烟粉虱的广泛入侵及对土著烟粉虱的取代[J]. 中国基础科学, 2008, 10(2):20 - 21.
[29] 李倩. 三种粉虱瞬时感受器离子通道基因的克隆、表达及在高温胁迫中的功能验证[D]. 南宁:广西大学, 2014.
[30] DENLINGER D, RINEHART J, LI A. Heat shock proteins are critical for insect winter survival [J]. Comparative Biochemistry & Physiology Part A Molecular & Integrative Physiology, 2007, 146(4):S151 - S152.

(责任编辑: 田 喆)

图书推荐——
《菌物进化系统学》(中译本)



菌物分类学是从事微生物工作的基础。2014年至2015年，美国菌物学家D. J. 麦克劳克林和J. W. 斯帕塔福拉组织全世界71位一线研究者编著的《菌物进化系统学》(第二版)，是近20年来全世界第一部权威的真菌进化系统学专著。该书是相关人士了解菌物分类进展、查阅菌物分类鉴定命名的必备参考。中文版由秦国夫、刘小勇主译，戴玉成校对，科学出版社2018年1月份出版。全书共25章，880页，134万字，铜版彩色印刷。

定价：398元

联系人：明朗书店—李秋艳
联系电话/微信：13940061709
Qq：66305872 邮编：110031
开户行：中国光大银行沈阳皇姑支行
汇款账户：6214911900026086

科学出版社