



师正浩. 温度对不同滞育期大豆食心虫体内激素的影响[J]. 黑龙江农业科学, 2023(7):52-58.

温度对不同滞育期大豆食心虫体内激素的影响

师正浩

(黑龙江省农业科学院 植物保护研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:为探究大豆食心虫未滞育-滞育-滞育解除过程中虫体内激素的变化,进而揭示大豆食心虫滞育机理,分析了经 4, 10, 15, 20 和 25 ℃ 及室外自然温度处理后的大豆食心虫滞育前及不同滞育阶段其体内调节滞育的激素,包括蜕皮激素、保幼激素、促前胸腺激素,以及催化蜕皮激素合成酶-细胞色素 P450 的表达动态变化。结果表明,自然状态下进入滞育的大豆食心虫体内蜕皮激素、保幼激素、促前胸腺激素、细胞色素 P450 含量与未滞育阶段相比差异显著($P < 0.05$),分别下降了 $23.22 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $73.83 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $120.12 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $4.74 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$;不同温度诱导进入滞育 30 d 后,10 ℃ 处理组虫体内蜕皮激素、保幼激素、促前胸腺激素、细胞色素 P450 含量均显著高于其他温度处理组,含量分别为 $253.22 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $210.72 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $319.85 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $12.53 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。不同滞育诱导温度处理组在滞育初期(11 月)、滞育中期(2 月)、滞育后期(6 月)虫体内的蜕皮激素、保幼激素、细胞色素 P450 含量均表现出先下降后升高的趋势,且在 2 月份均达到最低值,表明 2 月可能是大豆食心虫由滞育向滞育解除的转折关键期。

关键词:大豆食心虫;温度;滞育;激素

大豆食心虫(*Leguminirora glycinioorella*)属于鳞翅目卷蛾科,是大豆主要害虫之一,严重影响大豆的质量和产量^[1-2]。大豆食心虫为专性滞育昆虫^[3],以老熟幼虫入土、结茧、进入滞育状态越冬,滞育期长达 270~300 d^[4]。温度作为影响昆虫滞育的重要环境因素之一,在昆虫滞育的诱导、维持及解除环节中均起到重要作用^[5-7]。滞育大豆食心虫为应对冬季低温环境,其过冷却点(Supercooling Point, SCP)、结冰点(Freezing Point, FP)均随温度降低而下降^[8];大豆食心虫滞育前后其体内糖类、脂类及蛋白质含量变化明显^[9];其体内的海藻糖酶(Trehalase, THL)、山梨醇脱氢酶(Sorbitol dehydrogenase, SH)、丙酮酸激酶(Pyruvate Kinase, PK)、过氧化物酶(Peroxidase, POD)等代谢及保护酶的活性随温度的变化差异显著^[10]。大豆食心虫通过降低代谢保证滞育期间和滞育解除后生长发育所需的能量,使得昆虫能顺利越冬^[11-12]。此外,光周期同样对大豆食心虫的滞育起到调控作用,不同光周期处理对滞育的影响不同。在温度 25 ℃,湿度 80%的条件下,每天光照

时间 16 h 以上的幼虫个体不产生滞育;15 h 以下则全部进入滞育^[13];Yoshimura^[14]发现大豆食心虫滞育进入 1 月份时,滞育强度减弱,没有光周期反应。同时,由长日照引起的夏季滞育,随着从长日照到短日照的光周期转变而终止。

大豆食心虫的滞育除受到温度、光周期等外界因素的影响^[15-16],还可能受到其体内激素的调控。大豆食心虫为幼虫滞育型昆虫,幼虫滞育型昆虫的滞育主要受到蜕皮激素(Ecdysone, ECD)、保幼激素(Juvenile Hormone, JH)、促前胸腺激素(Prothymotropic Hormone, PTTH)的共同调节^[17-18]。已有研究表明蜕皮激素和保幼激素在昆虫整个滞育过程中均发挥了重要的调控作用^[19-20],例如豆天蛾(*Clanis bilineata tsingtauca* Mell)滞育形成过程中,ECD 大量增加,JH 合成减少,且豆天蛾滞育状态的变化会引起体内滞育相关激素水平发生变化^[21]。PTTH 在神经内分泌系统中通过调节下游激素 ECD 的合成与分泌和 JH 共同调节昆虫滞育阶段的发育^[22]。细胞色素 P450(Cytochrome P450)则通过催化 ECD 的生物合成,间接参与了昆虫滞育的调控^[23-24]。在昆虫滞育的过程中各类激素通常相互协调形成网络,发挥调节作用^[25]。而目前有关温度对滞育期大豆食心虫体内激素水平诱导调节的研究还未见相关报道。

收稿日期:2023-04-04

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-04);国家重点研发计划项目(2017YFD0201000);黑龙江省自然科学基金项目(C2018011)。

作者简介:师正浩(1994—),男,硕士,研究实习员,从事昆虫生理与生态研究。E-mail:253373812@qq.com。

为此,本试验研究了大豆食心虫滞育前、后,经不同诱导滞育温度处理后和滞育期不同阶段其体内蜕皮激素、保幼激素、促前胸腺激素和细胞色素 P450 的含量动态变化趋势,以期明确不同温度对大豆食心虫滞育不同阶段体内调节滞育的激素的影响,了解大豆食心虫此时的滞育深度以及进入滞育及解除时期,为大豆食心虫的准确预报和田间大豆食心虫的防治提供科学依据。

表 1 供试试剂盒

试剂盒名称	试剂盒型号	生产公司
昆虫蜕皮激素(ECD)ELISA 试剂盒	MB-3366A	江苏酶标生物科技有限公司
昆虫保幼激素(JH)ELISA 试剂盒	MB-4940A	江苏酶标生物科技有限公司
昆虫促前胸腺激素(PTTH)ELISA 试剂盒	MB-8651A	江苏酶标生物科技有限公司
昆虫细胞色素 P450(CYP450)ELISA 试剂盒	MB-4718A	江苏酶标生物科技有限公司

1.2 方法

1.2.1 供试昆虫的采集 将豆荚取回放入编织袋,利用大豆食心虫老熟幼虫在豆荚边缘穿孔脱荚、入土结茧越冬的特点,待老熟幼虫脱荚时,在编织袋底部将其采集,每日检查并收集一次,连续采集 5 d。此方法可确保供试昆虫龄期及状态一致。

1.2.2 未滞育大豆食心虫的处理 将采集好的大豆食心虫老熟幼虫分别放入 1.5 mL EP 管中,液氮速冷后置于-80 ℃冰箱保存。试验时,取出存有大豆食心虫的 EP 管置于冰上,按照 500 μL·头⁻¹向 EP 管中加入 PBS 缓冲液并在冰浴中手工将样品匀浆充分(每份样品匀浆 2 min),随后将样品放入高速低温冷冻离心机,在 4 ℃,8 500 r·min⁻¹条件下离心 10 min,仔细收集上清。分装待测,其余冷冻备用,每个处理重复 5 次。

1.2.3 不同温度处理及自然条件下进入滞育的大豆食心虫处理 试验设 4,10,15,20 和 25 ℃,5 个温度处理组和 1 个室外自然条件处理的对照组,各处理组及对照组均准备试虫 100 头。将未滞育大豆食心虫置于装有灭菌土壤的养虫盒中,每盒 50 头,共 12 盒,处理组分别将养虫盒放置于上述 5 个温度、相对湿度为 65%±5%,光周期为光照:黑暗=12 h:12 h 的恒温培养箱中诱导进入滞育,对照组养虫盒放置在土壤深度 15 cm 的室外环境中等待滞育。

上述各温度处理组和室外对照组分别于 11 月 1 日(进入滞育 30 d 后)、2 月 1 日、6 月 1 日分别取虫 5 头,后将滞育幼虫从土茧中拨出,进行后续试验。

1 材料与方法

1.1 材料

试验所需的大豆食心虫均为 2021 年 9 月下旬于哈尔滨一块未施用农药的大豆田采集。

供试试剂盒型号及生产公司详见表 1。

仪器设备包括:常温高速离心机(Sigma)、高速低温冷冻离心机(Eppendorf)、多功能酶标仪(INFINITE-200 PRO,瑞士 TECAN 公司)。

1.2.4 滞育的判断 参考李新畅等^[8]对大豆食心虫滞育的判断标准,将刚从豆荚钻出、活动能力较强且尚未入土结茧的老熟幼虫视为未滞育大豆食心虫。老熟幼虫结茧后 18 d 仍未化蛹的个体即可判断为滞育幼虫,本试验中所用幼虫个体均结茧并停止发育。老熟幼虫入土结茧后即认为滞育开始。

1.2.5 试验设计 设置 4,10,15,20 和 25 ℃,5 个温度处理组和 1 个室外自然条件(养虫盒放置在土壤深度 15 cm 的室外环境中等待滞育)处理的对照组。此前的研究已经证明在此温度区间诱导下大豆食心虫均可进入滞育,并且发现滞育大豆食心虫在 11 月、2 月、6 月体内酶类呈现出明显变化趋势,据此本试验分别于滞育初期(11 月)、滞育中期(2 月)、滞育解除(6 月)取虫进行分析^[9-10]。11 月土壤温度为 0~6 ℃,2 月土壤温度为-4~0 ℃,6 月土壤温度为 20~25 ℃。

分析不同温度诱导滞育前后与不同温度条件下滞育不同阶段下 3 种激素及 CYP450 的含量:

(1)室外自然条件下未滞育与进入滞育 30 d 后大豆食心虫体内 ECD、JH、PTTH 及 CYP450 表达的变化;

(2)不同温度诱导及室外自然条件下对滞育初期(11 月 1 日)大豆食心虫体内 3 种激素及 CYP450 表达的变化;

(3)不同温度诱导及室外自然条件进入滞育的大豆食心虫分别在滞育初期(11 月 1 日)-滞育中期(2 月 1 日)-滞育解除(6 月 1 日)3 个阶段虫体内上述 3 种激素及 CYP450 表达的变化。进一

步分析大豆食心虫在未滞育-滞育-滞育解除过程中温度对激素及激素合成酶的影响。

1.2.6 测定项目及方法 3 种激素及 CYP450 含量的测定参见江苏酶标生物科技有限公司所产的试剂盒使用说明。

ECD 含量测定:应用双抗体夹心法测定样品中 ECD 的水平。在 ECD 捕获抗体包被微孔板中加入样品,再与 HPR 酶标记的抗体相结合,形成抗体-抗原-酶标抗体复合物,经显色后用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光值(OD 值),通过标准曲线计算样品中昆虫 ECD 含量。JH、PTTH 和 CYP450 含量的测定:原理同上。

1.2.7 数据分析 试验数据采用 SPSS 23.0 和 Excel 2010 进行数据分析及作图,滞育前后大豆食心虫体内激素变化通过独立样本 *t*-检验,滞育

后各温度处理组激素变化通过 Duncan's 新复极差法进行显著性检验($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 大豆食心虫体内激素及 CYP450 含量变化

由表 2 可知,自然条件下未进入滞育(9 月 25 日)与滞育 30 d(11 月 1 日)的大豆食心虫相比,ECD、JH、PTTH、CYP450 含量均差异显著。其中,ECD 含量由 $229.28\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 降至 $206.06\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$;JH 含量由 $211.45\text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 降至 $137.62\text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$;PTTH 含量由 $440.86\text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 降至 $320.74\text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$;CYP450 含量由 $11.36\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 降至 $6.62\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。进入滞育后 ECD、JH、PTTH、CYP450 含量相较未滞育时分别下降了 10.13%、34.92%、27.25% 和 41.73%。

表 2 自然条件下未滞育与滞育 30 d 大豆食心虫体内激素及 CYP450 含量变化

滞育状态	ECD/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	JH/ ($\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	PTTH/ ($\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	CYP450/ ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)
未滞育	$229.28\pm6.45\text{ a}$	$211.45\pm7.00\text{ a}$	$440.86\pm3.04\text{ a}$	$11.36\pm0.99\text{ a}$
滞育 30 d	$206.06\pm0.57\text{ b}$	$137.62\pm8.32\text{ b}$	$320.74\pm2.65\text{ b}$	$6.62\pm0.33\text{ b}$

注:表中不同小写字母表示在 $P<0.05$ 水平差异显著。

2.2 滞育初期滞育诱导温度对大豆食心虫体内激素及 CYP450 含量的影响

2.2.1 ECD 含量 由图 1A 可知,大豆食心虫经 5 个滞育诱导温度诱导进入滞育初期(11 月),其体内 ECD 含量为 $169.26\sim253.22\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,其中 10℃处理组的 ECD 含量显著高于室外对照组,为室外对照组的 1.07 倍。其余 4 个处理组的 ECD 含量均显著低于室外对照组,4、15、20 和 25℃处理组含量分别为室外对照组的 83%、85%、72%和 74%。4℃与 15℃处理间、20℃和 25℃处理间的差异不显著,其余各温度处理组间均有显著性差异。5 种不同温度处理组与室外对照组均差异显著,说明不同温度诱导大豆食心虫进入滞育过程中其体内 ECD 含量受影响较大。

2.2.2 JH 含量 由图 1B 可知,大豆食心虫滞育初期其体内的 JH 含量为 $166.98\sim210.72\text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$,10℃处理组 JH 含量显著高于其他温度处理组及对照组,4℃与 15℃处理及对照间 JH 含量差异不显著;20℃与 25℃处理间 JH 含量显著低于对照组和其他温度处理组。4℃与 15℃处理间、20℃与 25℃处理间无显著差异。说明相对低温(4、10 和 15℃)处理组大豆食心虫体内 JH 含量比相对

高温处理组(20 和 25℃)含量高。

2.2.3 PTTH 含量 由图 1C 可知,大豆食心虫经滞育初期其体内的 PTTH 含量为 $193.87\sim320.74\text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。4、15、20 和 25℃处理组大豆食心虫 PTTH 含量均显著低于室外对照组,分别是室外对照组的 89%、91%、79%和 60%,而 10℃处理组与室外对照组无显著性差异。随着处理温度升高,PTTH 含量变化趋势为升高后逐渐降低,其中 25℃处理组 PTTH 含量最低,为 $193.87\text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$,10℃处理组和室外对照组含量较高,分别为 319.85 和 $320.74\text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。说明在滞育初期低温和高温处理对大豆食心虫 PTTH 表达产生作用不同。

2.2.4 CYP450 含量 由图 1D 可知,大豆食心虫滞育初期其体内的 CYP450 含量为 $8.74\sim12.53\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。25℃诱导处理组 CYP450 含量最低,为 $8.74\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$,是室外对照组的 65%,显著低于室外对照组和 4、10 和 15℃处理组。10℃诱导处理组含量最高,为 $12.53\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$,与其他温度处理组差异显著,分别是 4、15、20 和 25℃处理组的 1.18 倍、1.32 倍、1.38 倍和 1.44 倍,与室外对照组无显著差异($P>0.05$)。说明不同

温度诱导对各处理组间的细胞色素 P450 含量有影响,10 ℃ 处理组含量显著高于其他温度处理组。

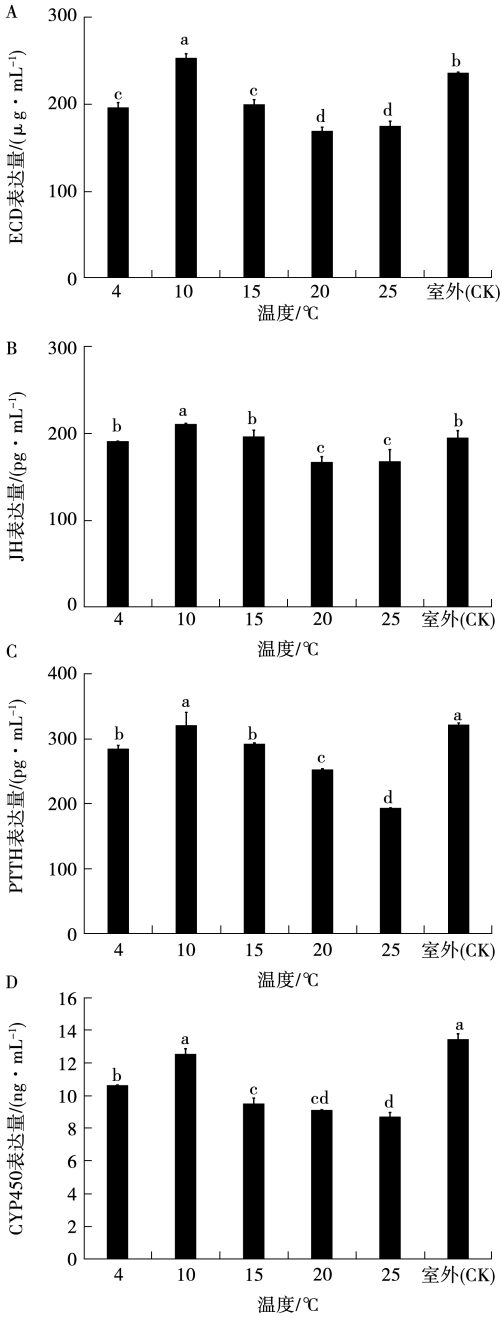


图1 不同滞育诱导温度对大豆食心虫体内激素及 CYP450 含量的影响

注:不同小写字母表示在 $P<0.05$ 水平差异显著。下同。

2.3 滞育不同阶段大豆食心虫体内激素和 CYP450 的含量变化

2.3.1 ECD 含量 由图 2 可知,4,10,15,20 和 25 ℃ 各处理组及室外对照组 ECD 含量为 138.67~

253.22 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。滞育初期(11 月)各温度处理组均与室外对照组虫体内的 ECD 含量差异显著,分别是室外对照组的 83%、107%、85%、72% 和 74%。滞育中期(2 月)10 ℃ 处理组与室外对照组虫体内的 ECD 含量差异显著,是室外对照组的 84%;其他 4 个温度处理组与室外对照组含量无显著性差异($P>0.05$)。滞育后期(6 月)除 25 ℃ 处理组外,其他温度处理组与室外对照组含量均差异显著,4,10,15 和 20 ℃ 处理组含量分别是室外对照组的 90%、89%、95% 和 88%。

11 月、2 月、6 月这 3 个滞育阶段大豆食心虫体内 ECD 含量随着滞育时间的增长呈现先降低后升高的趋势,所有温度处理组在滞育初期-滞育中期-滞育后期 3 个阶段的大豆食心虫体内 ECD 含量变化均差异显著。10 ℃ 处理组大豆食心虫体内 ECD 含量在 3 个滞育阶段与室外对照组含量均差异显著。大豆食心虫经不同温度诱导进入滞育后,体内的 ECD 含量在滞育中期(2 月)均显著低于滞育初期及滞育后期,并达到最低值。

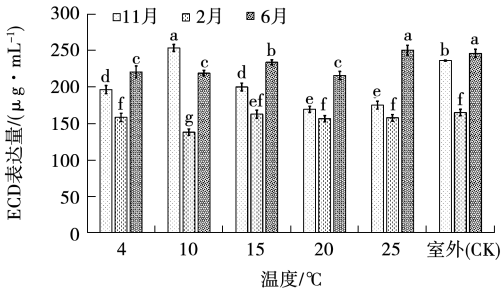


图2 不同温度下滞育大豆食心虫不同阶段体内蜕皮激素(ECD)含量变化

2.3.2 JH 含量 由图 3 可知,各处理组 JH 含量为 122.72~244.11 $\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。滞育初期(11 月)10,20 和 25 ℃ 处理组与室外对照组 JH 含量均有显著差异,含量分别是室外对照组的 108%、86% 和 86%。滞育中期(2 月)10 ℃ 处理组与室外对照组虫体内的 JH 含量差异显著,是室外对照组的 81%。另外 4 个温度处理组与室外对照组无显著差异。滞育后期(6 月)除 20 ℃ 处理组外,其余 4 个温度诱导处理组与室外对照组均差异显著,4,10,15 和 25 ℃ 处理组含量分别是室外对照组的 104%、107%、104% 和 107%。

11 月、2 月、6 月 3 个滞育阶段的大豆食心虫体内 JH 含量随着滞育时间的增长呈先降低后升高的趋势。各个温度处理组大豆食心虫体内 JH 含量在 3 个滞育阶段间均差异显著。大豆食心虫

经不同温度诱导(4, 10, 15, 20 和 25 °C)进入滞育后体内 JH 含量在滞育中期(2 月)达到最低值。

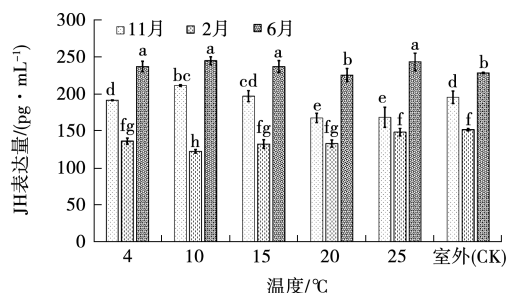


图3 不同温度下滞育大豆食心虫不同阶段体内保幼激素(JH)含量

2.3.3 PTTH 含量 由图4可知,各温度处理组大豆食心虫体内 PTTH 含量为 193.20 ~ 479.33 $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。滞育初期(11 月)4, 15, 20 和 25 °C 处理组与室外对照组虫体内 PTTH 含量差异显著,10 °C 处理组 PTTH 含量与室外对照组无显著差异;随着滞育深度增加,滞育中期(2 月)各温度处理组与室外对照组大豆食心虫体内 PTTH 含量均表现出显著差异,4, 10, 15, 20 和 25 °C 处理组含量分别是室外对照组的 168%、138%、121%、125%和 112%;4 °C 处理组 PTTH 含量显著高于其他温度处理组。滞育后期(6 月)4, 10 和 15 °C 处理组与室外对照组大豆食心虫 PTTH 含量差异显著,分别是室外对照组的 90%、125%和 118%。

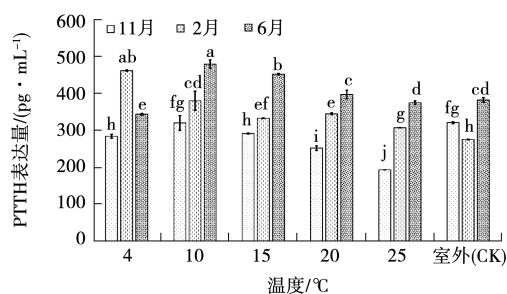


图4 不同温度下滞育大豆食心虫不同阶段体内促前胸腺激素(PTTH)含量

在 11 月、2 月、6 月 3 个滞育阶段中 4 °C 处理组 PTTH 含量均表现出先升高后降低的趋势,10, 15, 20 和 25 °C 处理组的含量呈现持续增加的趋势。其中 10 °C 处理组在滞育初期和滞育后期 PTTH 含量均为最高,分别为 319.85 和 479.33 $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.3.4 CYP450 含量 由图5可知,各温度处理组在 11 月、2 月、6 月 3 个不同滞育阶段的 CYP450 含量为 5.41 ~ 13.95 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。滞育初期(11 月)除 10 °C 处理组外,其他温度处理组与室外对照组大豆食心虫体内 CYP450 含量均差异显著,4, 15,

20 和 25 °C 处理组含量分别是室外对照组的 79%、71%、68%和 65%。进入滞育中期(2 月)后,各温度处理组与滞育初期相比均显著下降,各温度处理组与室外对照组无显著差异。进入滞育后期各温度处理组相比滞育中期,虫体内 CYP450 的含量均显著上升;4, 20 和 25 °C 处理组 CYP450 的含量显著低于室外对照组。

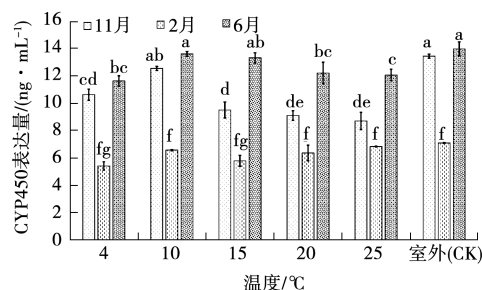


图5 不同温度下滞育大豆食心虫不同阶段体内细胞色素 P450(CYP450)含量

总体上各温度处理组在 3 个滞育时期呈现先下降后上升的变化趋势,在滞育中期(2 月)大豆食心虫体内的 CYP450 含量达到最低值。25 °C 处理组在滞育初期和滞育后期大豆食心虫体内的 CYP450 含量均为各温度处理组中最低,含量分别为 8.72 和 12.05 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$;在滞育初期和滞育后期室外对照组虫体内的 CYP450 含量均高于所有温度诱导处理组,含量分别为 13.43 和 13.95 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。说明不同滞育阶段各温度处理组虫体内的 CYP450 含量在滞育初期(11 月)-滞育中期(2 月)-滞育后期(6 月)均表现出显著变化差异,3 个阶段呈现出先下降后上升的趋势,其中在滞育中期(2 月)达到最低。

3 讨论

本研究发现滞育初期的大豆食心虫体内 ECD、JH、PTTH、CYP450 的含量均显著低于未滞育期,说明进入滞育后大豆食心虫的内分泌及代谢水平降低。ECD、JH 和 PTTH 的含量降低,表明这 3 种激素参与了进入滞育的调控。已有研究表明,保幼激素缺乏是导致昆虫滞育的重要原因^[26-27],本研究结果也印证了这一观点。并且大豆食心虫进入滞育后 PTTH 含量显著低于未滞育期 PTTH 含量,这与 Xu 等^[28]发现棉铃虫滞育蛹中 PTTH mRNA 表达含量显著低于未滞育期蛹的结果一致。

滞育初期不同温度处理的大豆食心虫体内 ECD、JH、PTTH、CYP450 含量均在 10 °C 处理下达到最高,显著高于其他温度处理组,10 °C 可能是这 4 种物质含量随温度变化的转折温度,并且

10℃条件下可能有利于对4种物质的合成。何超^[29]在研究梨小食心虫滞育诱导、解除中发现低温对梨小食心虫的滞育解除有重要作用,滞育幼虫需要在一定低温条件下,经历一定的时期,才能解除滞育,且10℃比4℃更有利于滞育的解除。本研究发现进入滞育初期(11月)随着处理温度升高,ECD含量并非与温度呈线性关系,而表现为波动变化趋势。各温度处理组中ECD和JH的表达并未呈现出“此消彼长”的趋势,而是二者既互相协调又相互拮抗共同调节昆虫滞育,这与赵娜^[30]对意大利蝗卵滞育过程中蜕皮激素和保幼激素的变化结果一致;PTTH作为ECD的上游调控激素,被认为是蛹滞育发生的关键,PTTH的缺乏会抑制ECD的释放^[18],在4,10,15,20和25℃这5个温度下两者变化趋势相似,随着温度升高表现出先上升后下降的趋势。较高温度(20和25℃)对PTTH的表达存在明显的抑制作用。除温度外,光周期、土壤湿度等其他因素可能也对其含量存在影响。CYP450的表达随处理温度升高呈现上升-下降-上升的趋势,CYP450作为ECD合成过程中的催化酶^[31],其变化趋势与ECD含量变化趋势基本一致。

在整个滞育过程中,各处理组大豆食心虫体内ECD、JH、CYP450含量变化趋势均呈现出先显著降低后显著升高,并均在滞育中期(2月)降至最低值,因此推测2月为大豆食心虫的滞育转折关键期。此时,各处理组虫体内物质合成开始加快,是大豆食心虫由深度滞育转向滞育解除的转折期,这与李东坡等^[10]研究的温度对大豆食心虫滞育期体内酶活影响的结果一致。本研究中,滞育后期(6月)相比于滞育中期(2月)ECD、JH、CYP450含量显著上升,这一结果表明大豆食心虫在滞育过程中ECD保持较低滴度,在滞育解除期需要较高滴度,这与李永丽等^[32]发现桃小食心虫在滞育过程中ECD的变化规律一致;Denlinger^[33]研究同样表明,保幼激素滴度在生殖滞育期间持续维持在一个较低水平,滞育解除后又逐渐恢复含量。这说明保幼激素在大豆食心虫的滞育进入和滞育解除中都发挥着重要的作用,同样印证了本研究中JH在不同滞育阶段的变化规律。

4 结论

大豆食心虫在自然条件下进入滞育前与进入滞育后(30 d)体内ECD、JH、PTTH及CYP450含量均变化显著。在10℃诱导下进入滞育的大豆食心虫体内ECD、JH、PTTH及CYP450含量均高于其他温度处理组。在不同温度诱导下滞育

的大豆食心虫体内ECD、JH及CYP450含量在滞育前期(11月)、滞育中期(2月)、滞育后期(6月)均表现出先降低后升高的趋势;在3个不同滞育阶段中,不同温度诱导下的各处理组ECD、JH及CYP450在滞育中期(2月)含量均最小,说明2月为大豆食心虫从滞育转向滞育解除的转折时期。本研究可为大豆食心虫的预测预报及阐明温度-激素-滞育间的关系提供科学依据。

参考文献:

- [1] 刘洋,王继安,赵奎军.大豆抗食心虫性遗传研究[J].东北农业大学学报,2005,36(2):138-141.
- [2] 徐庆丰,郭守桂,韩玉梅,等.大豆食心虫 *Leguminivora glycinivorella* (Mats.) Obraztsov 的研究[J].昆虫学报,1965(5):461-479.
- [3] TAUBER M J, TAUBER C A, MASAKI S. Seasonal adaptations of insects[M]. Oxford, United Kingdom: Oxford University Press, 1986.
- [4] 高月波,卢宗志,孙雅杰,等.大豆食心虫预测预报的研究与应用[J].吉林农业科学,2005(3):18-20,37.
- [5] 程丽媛,张艳,陈珍珍,等.光周期和温度对大草蛉滞育解除及滞育后发育和繁殖的影响[J].昆虫学,2017,60(3):318-327.
- [6] 徐忠宝,刘爱萍,徐林波,等.草地螟阿格姬蜂的滞育诱导和滞育茧的低温贮藏[J].昆虫学报,2013,56(10):1160-1165.
- [7] 王伟.七星瓢虫滞育调控的温光周期效应及滞育后生物学研究[D].北京:中国农业科学院,2012.
- [8] 李新畅,崔娟,唐佳威,等.大豆食心虫滞育与非滞育幼虫过冷却能力及其体内主要生化物质含量比较[J].昆虫学报,2019,62(9):1009-1016.
- [9] 程媛,韩岚岚,赵奎军,等.寄主植物与温度对大豆食心虫滞育期间糖类和脂质含量的影响[J].应用昆虫学报,2016,53(4):716-722.
- [10] 李东坡,韩岚岚,张旭霞,等.大豆食心虫滞育期间体内代谢酶对温度诱导的响应[J].大豆科学,2018,37(3):415-423.
- [11] HAHN D A, DENLINGER D L. Energetics of insect diapause[J]. Annual Review of Entomology, 2011, 56: 103-121.
- [12] ROJAS R R, CHARLET L D, LEOPOLD R A. Biochemistry and physiology of overwintering in the mature larvae of the sunflower stem weevil, *Cylindrocopturus adspersus* (Coleoptera: Curculionidae) in the Northern Great Plains[J]. Journal of Insect Physiology, 1991, 37(7): 2489-496.
- [13] 杜俊岭,赵晓丽.光照对大豆食心虫滞育影响的初步研究[J].植物保护,1993(1):17-18.
- [14] YOSHIMURA H, TABUCHI K, UESUGI R, et al. Effect of photoperiod on winter and summer diapause of the soybean pod borer *Leguminivora glycinivorella* (Lepidoptera: Tortricidae) [J]. Journal of Asia-Pacific Entomology, 2021, 24: 246-253.
- [15] TAUBER M J, TAUBER C A. Seasonal regulation of dormancy in *Chrysopa carnea* (Neuroptera) [J]. Journal of Insect Physiology, 1973, 19(7): 1455-1463.
- [16] 陶娟,谢立群.论诱导昆虫滞育的环境因素[J].南方农业,2012,6(1):79-82.

- [17] CHIPPENDALE G M. Hormonal regulation of larval diapause [J]. Annual Review of Entomology, 1977, 22(1): 121-138.
- [18] 王满囤, 李周直. 昆虫滞育的研究进展[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2004, 28(1): 71-76.
- [19] GILBERT L I, GRANGER N A, ROE R M. The juvenile hormones: historical facts and speculations on future research directions[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2000, 30(8-9): 617-644.
- [20] STILWELL G E, NELSON C A, WELLER J, et al. E74 exhibits stage-specific hormonal regulation in the epidermis of the tobacco hornworm, *manduca sexta* [J]. Developmental Biology, 2003, 258: 76-90.
- [21] 郭明明, 陆明星, 赵雪君, 等. 豆天蛾江苏种群滞育期间营养物质及激素变化规律[J]. 西南农业学报, 2023, 36(1): 211-216.
- [22] 李胜. 整合昆虫发育生物学和果蝇遗传学来研究昆虫发育与变态[J]. 昆虫知识, 2007(3): 319-322.
- [23] SCOTT J G, LIU N N, WEN Z. Insect cytochromes P450: diversity, insecticide resistance and tolerance to plant toxins[J]. Comparative Biochemistry and Physiology. Part C, Pharmacology, Toxicology & Endocrinology, 1998, 121(1-3): 147-155.
- [24] TIJET N, HELVIG C, FEYEREISEN R. The cytochrome P450 gene superfamily in *Drosophila melanogaster*: annotation, intron organization and phylogeny [J]. Gene, 2001, 262(1-2): 189-198.
- [25] 徐晶晶, 陈斌, 郝友进, 等. 昆虫滞育相关激素调节的研究进展[J]. 重庆师范大学学报(自然科学版), 2012, 29(4): 29-33.
- [26] DENLINGER D L, YOCUM G D, RINEHART J P. Hormonal control of diapause [J]. Comprehensive Molecular Insect Science, 2004, 3: 615-650.
- [27] KOPPER B J, SHU S, CHARLTON R E, et al. Evidence for reproductive diapause in the fritillary *Speyeria idalia* (Lepidoptera: Nymphalidae) [J]. Annals of the Entomological Society of America, 2001, 94(3): 427-432.
- [28] XU W H, RINEHART J P, DENLINGER D L. Structural characterization and content analysis of prothoracicotropic hormone in the corn earworm, *Helicoverpa zea* [J]. Peptides, 2003, 24(9): 1319-1325.
- [29] 何超. 梨小食心虫滞育诱导、解除及对低温的生理适应性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2013.
- [30] 赵娜, 叶小芳, 程文玉, 等. 意大利蝗卵发育过程保幼激素和蜕皮激素含量的变化及其代谢相关基因的表达谱[J]. 昆虫学报, 2023, 66(2): 121-129.
- [31] 李凯龙, 傅强, 王渭霞, 等. 褐飞虱蜕皮激素合成相关 *Halloween* 基因的克隆及功能分析[J]. 昆虫学报, 2017, 60(10): 1129-1140.
- [32] 李永丽, 闫作炳, 尹新明, 等. 桃小食心虫发育过程中蜕皮激素滴度动态及甲氧虫酰肼干扰滞育的作用[J]. 昆虫学报, 2022, 65(7): 791-798.
- [33] DENLINGER D L, YOCUM G D, RINEHART J P. Hormonal control of diapause [M]//Insect endocrinology. Academic Press, 2012: 430-463.

Effects of Temperature on Hormones in Soybean Pod Borer (*Leguminirora glycinioorella*) at Different Diapause Stages

SHI Zhenghao

(Plant Protection Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Science, Harbin 150086, China)

Abstract: In order to explore the changes of hormones and hormone-related enzymes in soybean pod borer during the process of non-diapause-diapause-diapause removal, and further reveal the diapause mechanism of soybean pod borer, this experiment analyzed the hormones regulating diapause in soybean pod borer before diapause, after diapause at 4, 10, 15, 20 and 25 °C and at different diapause stages. Dynamic changes in the expression of ecdysone, juvenile hormone, prothymotropic hormone, and the catalytic ecdysone synthetase-cytochrome P450. The results showed that, the contents of ecdysone, juvenile hormone, prothymotropic hormone and cytochrome P450 in natural diapause were significantly different from those in non-diapause stage ($P < 0.05$), and decreased by $23.22 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $73.83 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $120.12 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $4.74 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ respectively; After 30 days of diapause induced by different temperatures, the contents of ecdysone, juvenile hormone, prothymotropic hormone and cytochrome P450 in 10 °C group were significantly higher than those in other temperature groups ($P < 0.05$), with the contents of $253.22 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $210.72 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $319.85 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $12.53 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ respectively. The contents of ecdysone, juvenile hormone and cytochrome P450 in the treatment groups with different diapause induction temperature at the early stage of diapause (November), the middle stage of diapause (February) and the late stage of diapause (June) showed a trend of first decreasing and then increasing. They all reached the lowest value in February, indicating that February may be the key period of transition from diapause to diapause.

Keywords: soybean pod borer; temperature; diapause; hormone