

李青峰, 赵雪妃, 陈俊山, 等. 保存环境对柞蚕蛹海藻糖含量的影响及其机理研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2024, 55(6): 761-768.

LI Qingfeng, ZHAO Xuefei, CHEN Junshan, et al. Study on the effect of preservation environments on the trehalose content of *Antheraea pernyi* pupae and related mechanisms[J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2024, 55(6): 761-768.

保存环境对柞蚕蛹海藻糖含量的影响 及其机理研究

李青峰¹, 赵雪妃², 陈俊山¹, 赵贺¹, 仝振祥¹, 李宏¹, 谌苗苗¹,
宋策¹, 李喜升¹, 钟亮¹

(1. 辽宁省蚕业科学研究所, 辽宁凤城 118100;

2. 沈阳农业大学生物科学技术学院/辽宁省昆虫资源工程技术研究中心, 沈阳 110161)

摘要:海藻糖作为柞蚕体内的血糖, 能够与蛋白质形成稳定复合物, 越冬期保护机体蛋白质免受损伤, 并参与营养储存与代谢过程, 对柞蚕滞育-越冬生理进程具有重要意义。测定了柞蚕蛹解除滞育后海藻糖含量、相关酶活力及基因表达量, 比较不同保存温度对柞蚕越冬蛹海藻糖含量的影响, 旨在通过改变环境条件, 增加育种选择压, 获得海藻糖含量更高的育种材料。结果表明:“J”材料在低温保存的海藻糖含量高于常规保存, 表明“J”的海藻糖受温度变化影响更大, 而“D”材料变化不明显, 雄蛹海藻糖含量大于雌蛹; 海藻糖酶活性在低温保存环境高于常规保存环境, “D”材料在不同保存环境下表现出雄蛹海藻糖酶活力大于雌蛹的规律。“J”材料正好相反, 不同保存环境下表现出雌蛹大于雄蛹的规律; *ApTreh1A*, *ApTreh1B* 和 *ApTreh2* 和 *ApTPS* 这4种基因表达量测定结果显示, 低温保存环境下, 只有“D”材料的雄蛹体内 *ApTreh1A* 的表达量和雌蛹的 *ApTreh1B* 较其他处理有差异, 其他基因差异不显著, 但“D”相对表达量更高。试验结果证明改变保存温度能够影响海藻糖等物质的含量, 达到提高育种选择压的目的, 有利于筛选海藻糖含量高的柞蚕材料及亲本组配形式, 为柞蚕新品种选育提供技术辅助。

关键词:柞蚕; 海藻糖; 酶活力; 表达量

中图分类号: S558.1

文章编号: 1000-1700(2024)06-0761-08

文献标识码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Study on the Effect of Preservation Environments on the Trehalose Content of *Antheraea pernyi* Pupae and Related Mechanisms

LI Qingfeng¹, ZHAO Xuefei², CHEN Junshan¹, ZHAO He¹, TONG Zhenxiang¹, LI Hong¹,
CHEN Miaomiao¹, SONG Ce¹, LI Xisheng¹, ZHONG Liang¹

(1. Sericultural Research Institute of Liaoning Province, Fengcheng Liaoning 118100, China; 2. College of Bioscience and Biotechnology/Liaoning Engineering and Technology Resource Center for Insect Resource, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China)

Abstract: Trehalose, as the blood sugar in tussah (*Antheraea pernyi*), can form a stable complex with protein, protect the body protein from damage during the overwintering period, and participate in nutrient storage and metabolism, which is of great significance for the physiological process of diapause and overwintering of Tussah. In this study, we measured trehalose content, related enzyme activity, and gene expression of tussah silkworm pupae after the termination of diapause,

收稿日期: 2024-01-29

基金项目: 辽宁省农业科学院院长基金项目(2022MS0404); 现代农业产业技术体系建设专项项目(CARS-18); 辽宁省农业科学院学科建设项目(2022DD175629); 辽宁省应用基础研究计划项目(2022JH2/101300153); 辽宁省兴辽英才计划项目(XLYC2005011); 国家桑蚕改良中心辽宁柞蚕分中心项目(LNZC20160400731)

第一作者: 李青峰(1972-), 男, 副研究员, 从事柞蚕品种选育研究, E-mail: fclqf@163.com

通信作者: 钟亮(1987-), 男, 硕士, 副研究员, 从事柞蚕品种选育研究, E-mail: zhongliang870730@163.com

and compared the effects of different preservation temperatures on trehalose content of tussah overwintering pupae, aiming to increase the selection pressure of breeding by changing the environmental conditions, and to obtain breeding materials with higher trehalose content. The results showed that the trehalose content of "J" material in a low-temperature preservation environment was higher than that of conventional material, which indicated that the trehalose content of "J" material was more affected by temperature change. In contrast, the change of "D" material was not obvious, the trehalose content of male pupae was higher than that of female pupae. Both materials showed higher trehalase activity in the cold environment than in the conventional environment. The "D" material showed that trehalase activity in male pupa was higher than that in female pupa under different preservation environments. On the contrary, the "J" material showed that female pupae were larger than male pupae under different preservation conditions. The expression of four genes, *ApTreh1A*, *ApTreh1B*, *ApTreh2*, and *ApTPS*, showed that the expression of *ApTreh1A* in male pupae and *ApTreh1B* in female pupae of "D" material in comparison with other treatments under the cold environment. The differences of other genes were insignificant, but the relative expression of "D" was higher. In conclusion, changing the preservation temperature could affect the content of trehalose and other substances, and achieve the purpose of improving the breeding selection pressure which is conducive to screening the materials with high trehalose content and the form of parental combinations, and providing technical assistance for the breeding of new varieties of tussah.

Key words: *Antheraea pernyi*; trehalose; enzyme activity; expression level

柞蚕(*Antheraea pernyi*)是鳞翅目大蚕蛾科经济昆虫。柞蚕以蛹的形式进行滞育,可分为一化性和二化性,通常以北纬35°为分界^[1]。二化性柞蚕在秋季随着光照、温度等条件的改变进入滞育阶段,这个阶段柞蚕机体的各项生理指标均向着有力生存的方向发展。但进入冬季后又随着气温等条件改变终止滞育,进入柞蚕蛹越冬阶段。因此,育种人员会在这个时间将柞蚕茧置于-2~2℃的环境中,抑制滞育蛹发育,同时将未解除滞育蛹继续解除滞育^[2]。

昆虫滞育发生前,通过提前贮存营养物质和降低代谢这两种方式保证滞育期间的能量需求和滞育解除后生长发育所需的能量来源^[2-3]。柞蚕也不例外,柞蚕蛹在滞育起始时,会出现呼吸速率急剧下降;而滞育终止时则显著升高的现象^[4]。二化性柞蚕化蛹时脂肪体糖原含量呈“U型”的变化趋势,血淋巴中海藻糖含量在化蛹后逐渐增加,而后缓慢下降^[5]。因此,海藻糖等物质的变化能够反映柞蚕从滞育到越冬过程机体的营养和能量代谢行为。

海藻糖是昆虫通过葡萄糖在脂肪体内半缩醛羟基结合而形成,存在于血淋巴及其他组织中,在昆虫生长、发育、蜕皮等正常生理活动中起着重要的作用^[6-7]。作为逆境下合成最多的二糖,海藻糖能够保证在不利条件下维持细胞和蛋白质的稳定性,可以作为生物体蛋白质的稳定剂^[8]。因此,越冬储藏期海藻糖能够对柞蚕蛹体内蛋白质起到相应的保护,避免蛋白质遭受损伤,保证柞蚕生理过程稳步有序进行。

海藻糖酶(trehalase, Tre)是昆虫体内降解海藻糖的酶类,能够通过调节昆虫体内海藻糖及其他糖类物质的浓度变化达到抗低温、干燥和农药等逆境胁迫的作用^[9]。海藻糖酶基因主要以两种形式存在,根据特性分为可溶型海藻糖酶(soluble trehalase, Treh1 或 TrehS)和膜结合型海藻糖酶(membrane-bound trehalase, Treh2 或 TrehM), Tre1 存在于细胞质中, Tre2 存在于细胞膜上^[10]。在海藻糖的浓度动态平衡过程中,不仅需要海藻糖酶的作用,同时也有海藻糖合成酶(trehalose-6-phosphatesynthase, TPS)的影响^[11]。TPS是生物体5种海藻糖合成途径中最主要的TPS/TPP途径的核心关键酶^[12-13]。该途径由尿苷二磷酸葡萄糖与6-磷酸葡萄糖在TPS的催化作用下合成6-磷酸海藻糖,然后在海藻糖-6-磷酸磷酸酯酶(trehalose-6-phosphate phosphatase, TPP)的催化作用下发生去磷酸化生成海藻糖^[14]。因此,测定柞蚕海藻糖酶活力及相关基因的表达量能够反映柞蚕滞育到越冬过程中海藻糖浓度的变化。

海藻糖是柞蚕蛹越冬过程重要的稳定剂,维持机体生理活性,保证细胞与蛋白长时间保存的稳定性,有利于柞蚕蛹发挥优质蛋白源的效用。为了更好发挥柞蚕特点,本研究通过改变蛹越冬期保存温度,增大育种选择压,以海藻糖含量、相关酶活力及基因表达量为指标,筛选海藻糖含量更多的育种材料,初探保存温度对柞蚕蛹海藻糖等物质的影响及相关机理,为柞蚕新品种选育提供备选材料及选育手段。

1 材料与方 法

1.1 供试昆虫处理及取样

供试二化性柞蚕材料为“D”和“J”,均由辽宁省蚕业科学研究所选育。材料“D”为前期经过蛹期海藻糖含量、氨基酸成分组成与含量测定筛选出优良育种材料,“J”为以营养食味为创新点,具有优良经济性状育种材料。分别取2种柞蚕材料100粒(50雌、50雄)越冬蛹,一半置于-2~2℃的保种库,命名为“D”CK、“J”CK,另一半置于冬季自然环境(平均温度-8℃),进行柞蚕越冬蛹低温保存处理,命名为“D”和“J”。经历长时间保存的柞蚕蛹会消耗体内各类营养物质,能够反映出不同柞蚕材料的营养水平。春季柞蚕蛹羽化加温前期随机选取经历不同环境保存的2种柞蚕材料,分别取15只雌、雄蛹脂肪体及血淋巴组织,5只为1组混合,共计3组,以液氮速冻,于-80℃冰箱储存用于后续研究,剩余蛹加温羽化,用于交配、继代。

1.2 海藻糖含量测定

在加温羽化前分别测定冬季经历不同保存环境的2种柞蚕材料的雌蛹和雄蛹血淋巴中海藻糖含量。海藻糖含量依照试剂盒说明书进行测定(酶联生物,上海),每份样品进行3个生物学重复。

1.3 海藻糖酶活力测定

以1.1节得到的脂肪体为材料,按照海藻糖酶试剂盒(酶联生物,上海),测定不同保存环境下柞蚕雌蛹、雄蛹的海藻糖酶活力变化,每份样品进行3个生物学重复。

1.4 海藻糖相关基因表达量测定

本研究所需海藻糖相关基因序列及引物参考王德意等^[15-16]获得的柞蚕 *ApTreh1A*、*ApTreh1B*、*ApTreh2*、*ApTPS* 基因(GenBank 登录号分别为: KU977455, KU977456 和 KU977457, KU977454)。实时荧光定量PCR引物见表1。利用NanoDrop 2000微量分光光度计(Thermo Fisher Scientific, 美国)测定RNA纯度及浓度。取D260nm/D280nm为1.80~2.00的样品,合成cDNA。以 β -Actin作为内参基因^[17]。利用SYBR Premix Ex Tap实时定量试剂盒(TAKARA, 日本)进行荧光定量PCR检测。反应体系为: SYBR Premix Ex Taq II 5 μ L, cDNA模板1 μ L, 10 μ mol·L⁻¹上、下游引物各0.2 μ L, ddH₂O 3.6 μ L。反应程序: 95℃预变性30 s; 95℃变性5 s, 60℃退火30 s, 72℃延伸30 s, 共40个循环。基因相对表达量采用2^{- Δ CT}法进行计算,每份样品进行3次生物学重复。

表1 引物信息

Table 1 Primer information

引物 Primers	引物序列 Primer sequences	目的基因 Target gene
Treh1 A-F	CGTAGCGGAACAATGGAGGAG	<i>ApTreh1A</i>
Treh1 A-R	TGCGTGCTTCTTGAGGAATCTT	
Treh1 B-F	TTACGAAGATTACACGACCTCAGC	<i>ApTreh1B</i>
Treh1 B-R	ATTACCTACCGATTCATTGCCG	
Treh2-F	TGGAGATGATGAACAGGACGG	<i>ApTreh2</i>
Treh2 R	TCTGATGCCCACTGATGAAACA	
TPS-F	GTTTTGGACTGGAGCGAGAG	<i>ApTPS</i>
TPS-R	GAGGAAGCGATGCGGAATG	
Actin-F	ACCAACTGGGACGACATGGAGAAA	<i>Apβ-Actin</i>
Actin-R	RTCTCTCTGTTGGCCTTTGGGTTGA	

1.5 数据分析

利用Graph Pad Prism 9软件的analyze模块中的One-way ANOVA进行平均数的多重比较及差异显著性分析($p < 0.05$),并绘图。

2 结果与分析

2.1 不同保存环境海藻糖含量变化

由图1可知,方差分析后不同环境下2种柞蚕材料蛹期海藻糖含量表现出显著性变化 $F(7, 16) =$

4.726, ($p < 0.05$), 说明不同保存环境对2种材料的海藻糖合成和代谢产生一定影响。通过多重比较发现, “J”雌蛹在2种环境存在显著差异($p = 0.0453$)。“J”材料间的海藻糖含量在低温环境更高, 对于环境变化的表现更强烈, 而“D”材料变化不明显, 不同环境没有引起海藻糖含量明显变化, 表现更稳定。此外, 不同的保存环境下2种柞蚕材料均表现出雄性海藻糖含量大于雌性的规律, 说明柞蚕雄蛹和雌蛹在海藻糖合成与代谢过程可能存在差异。

2.2 不同保存环境海藻糖酶活力变化

不同保存环境下2种柞蚕材料蛹期海藻糖酶活力没有表现出显著性差异 $F(7, 16) = 0.8694$, ($p > 0.05$)。改变2种材料越冬蛹保存环境, “D”材料表现出雄蛹海藻糖酶活力大于雌蛹的规律。“J”材料正好相反, 不同环境雌蛹海藻糖酶活力大于雄蛹(图2)。不同保存环境“D”材料海藻糖酶活力变化幅度较大, 应激反应更强烈。2种材料的整体海藻糖酶活力在低温保存环境高于常规保存环境, 说明低温条件下激发了柞蚕的海藻糖酶活力, 抵抗不利的环境因素。

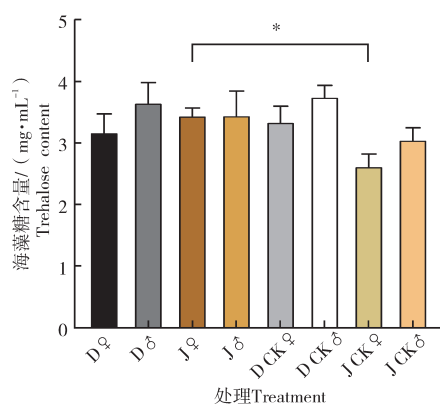


图1 不同处理柞蚕蛹海藻糖含量

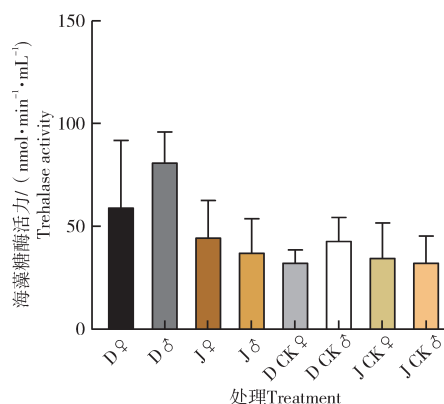


图2 不同处理血淋巴海藻糖酶活力

Figure 1 Trehalose content of *Antheraea pernyi* pupae in different treatments Figure 2 Trehalase activity of hemolymph in different treatments

2.3 不同保存环境海藻糖相关基因的表达变化

基于柞蚕海藻糖相关基因的研究成果, 本研究测定了 *ApTreh1A*, *ApTreh1B* 和 *ApTreh2* 和 *ApTPS* 这4种基因在不同环境柞蚕脂肪体中表达量。鉴于雌雄个体的差异, 将2种材料的雌、雄蛹分别进行表达量比较。*ApTreh1A* 基因在不同保存条件2种材料间的雄蛹呈现极显著差异 $F(3,4) = 272.8$, ($p < 0.0001$)。表现为“D”与“J”、“D”CK、“J”CK均达到极显著水平, 而其余3个处理的雄蛹之间没有显著差异(图3)。说明在低温保存环境下, “D”材料的雄蛹体内 *ApTreh1A* 的表达量因环境的改变表现为高表达, 以抵御不良生存条件, 而“J”雌性 *ApTreh1A* 基因则没有因环境改变, 表达量发生明显变化。*ApTreh1A* 基因在不同保存条件2种材料间的雌蛹没有表现显著差异 $F(3,4) = 5.002$, ($p > 0.05$)。但在低温保存环境下“D”材料雌蛹整体表达量更高。综合雄蛹和雌蛹结果, “D”材料在低温环境下 *ApTreh1A* 表达量高于“J”, 并高于2种材料常规保存的表达量结果。

ApTreh1B 基因在不同保存条件2种材料间的雌蛹表现出极显著差异 $F(3,4) = 25.81$, ($p = 0.0045$), 表现为“D”与“J”、“J”CK分别达到显著水平、和极显著水平, “D”CK与“J”CK达到显著水平(图4)。说明低温环境促进了“D”材料雌蛹的 *ApTreh1B* 的高表达, 不同的保存环境“D”材料雌蛹的 *ApTreh1B* 均高于“J”, 说明“D”材料雌蛹 *ApTreh1B* 基因对于环境的变化表现更敏感。*ApTreh1B* 基因在不同保存条件2种材料间的雄蛹没有表现显著差异 $F(3,4) = 2.226$, ($p > 0.05$)。“D”雄蛹在2种环境表现和“D”雌蛹一样的规律, 均高于“J”材料。综合雄、雌蛹的结果, 表明“D”材料在不同保存环境下 *ApTreh1B* 表达量更高, 对于环境的应激能力更强。

ApTreh2 基因在2种环境下雌蛹和雄蛹中表达量 $F(3,4) = 0.07390$ 、 $F(3,4) = 4.393$, ($p > 0.05$)均没有显著差异(图5)。不同的保存环境2种材料的 *ApTreh2* 基因均没有呈现出差异, 说明环境的改变对于柞

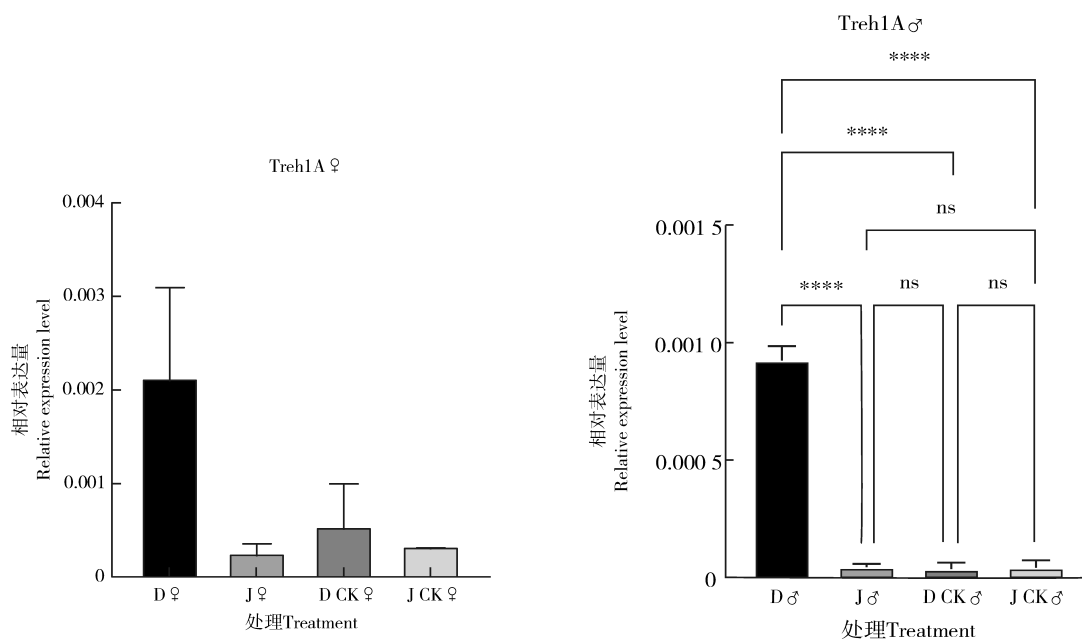


图3 不同处理血淋巴*ApTreh1A*表达量

Figure 3 Expression of *ApTreh1A* of hemolymph in different treatments

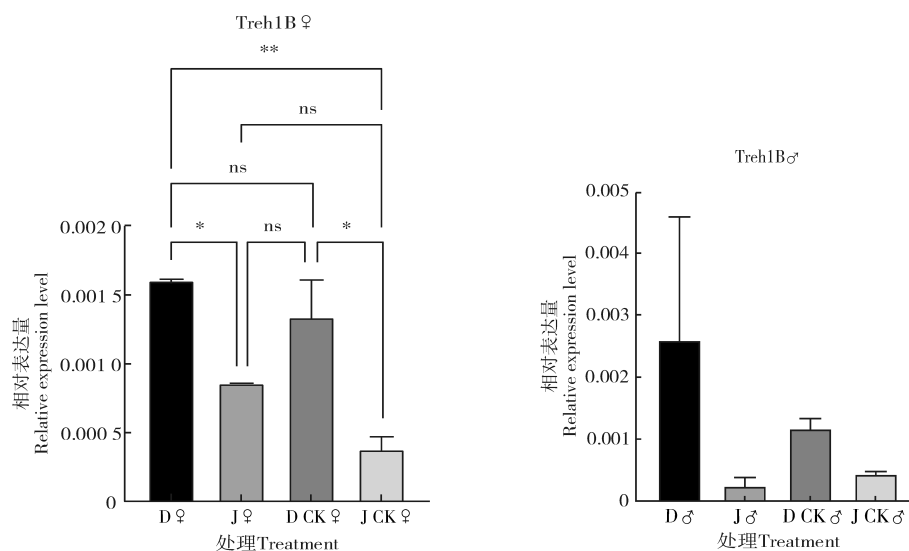


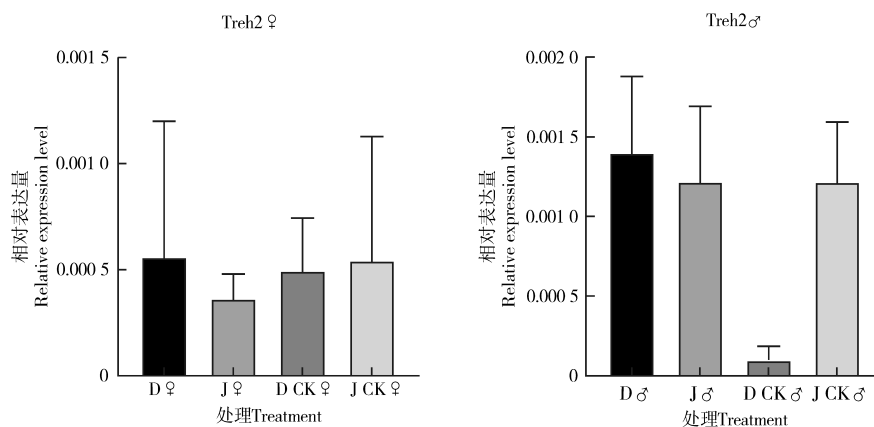
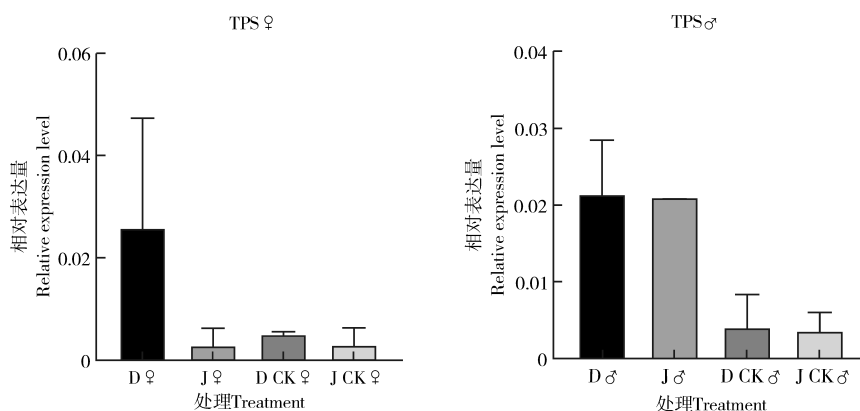
图4 不同处理血淋巴*ApTreh1B*表达量

Figure 4 Expression of *ApTreh1B* of hemolymph in different treatments

蚕蛹脂肪体中*ApTreh2*基因影响较小。

*ApTPS*基因在不同保存条件2种材料的雌蛹间没有显著差异 $F(3,4)=1.944, (p>0.05)$, 由图6可知, “D”材料在不同环境下表达量变化趋势更明显, “J”在不同滞育环境下变化趋势较小, 从*ApTPS*表达量变化趋势推测“D”材料雌蛹在不良环境下的应激反应更强烈。

*ApTPS*基因在不同保存条件2种材料的雄蛹间没有显著差异 $F(3,4)=10.02, (p>0.05)$, 由图6可知, “D”与“J”雄蛹在低温冷凉环境的表达量均高于常规保存环境, 说明2种材料雄蛹在不利环境下均能表达更多的*TPS*基因, 进行机体自身的防御反应。综合雄蛹和雌蛹结果, “D”材料的脂肪体中*TPS*基因表达量高于“J”, 反映出“D”材料在逆境下对于海藻糖的调控能力更强。

图5 不同处理血淋巴*ApTreh2*表达量Figure 5 Expression of *ApTreh2* of hemolymph in different treatments图6 不同处理血淋巴*ApTPS*表达量Figure 6 Expression of *ApTPS* of hemolymph in different treatments

3 讨论与结论

海藻糖最早在麦角菌[*Claviceps purpurea* (Fr.)Tul.]中被发现,随后在细菌、真菌、昆虫和植物中陆续得到^[18]。海藻糖被称为昆虫“血糖”,在体内发挥重要的作用。海藻糖可以储存能源参与昆虫的能量代谢,可以为体壁的形成提供结构物质,也可以参与昆虫的生长过程中的物质调控等。当昆虫遭受温度、饥饿、氧化、营养匮乏等极端逆环境时,海藻糖可以作为应激代谢产物,维持机体的稳定^[19-20]。因此,研究海藻糖含量对于柞蚕在不同环境下的营养、能力消耗以及生存状态具有重要意义。本研究通过测定不同保存环境的柞蚕越冬蛹海藻糖含量,发现低温环境海藻糖含量相对更高,说明通过改变保存环境,达到增加育种选择压的目的。此外研究发现昆虫性别在营养成分组成上有一定差异^[21-23]。本研究将2种材料的雌、雄蛹分别讨论,测定不同材料雌雄蛹间海藻糖等物质含量,减少性别差异对结果的影响,同时为品种选育过程中亲本组配方式提供方案。

海藻糖酶是降解海藻糖的唯一酶类,它能够将细胞内外的海藻糖分解成为葡萄糖,为昆虫的生存提供能量,并能够通过调节昆虫体内海藻糖及其他糖类物质的浓度变化达到抗低温等逆境胁迫的作用^[14,24]。本研究发现2种材料在不同保存环境下海藻糖酶活力并没有表现出显著差异,但均在低温冷凉滞育环境的酶活力更高。因此,当保存温度降低,柞蚕体内海藻糖酶活力会发生改变,利用海藻糖和糖原的在体内的“镜像”转化关系^[5],调节柞蚕体内海藻糖的浓度,达到抵御低温环境的作用。除此之外,2种材料表现出了雌、雄蛹之间海藻糖酶活力不同的趋势,“D”材料两个环境雌性高于雄性,“J”材料相反。因此,可以在育种上可以利用这一现象,利用杂种优势,设置亲本组配方式,将“D”材料的雌性与“J”材料的雄性进行杂交,发挥各自海藻糖酶活力高,获得更高的逆环境抵御能力。

本研究对海藻糖相关基因 *ApTreh1A*, *ApTreh1B*, *ApTreh2* 和 *ApTPS* 这4种基因的表达量进行了测定。对 *ApTreh1A* 和 *ApTreh1B* 基因在脂肪体的表达量测定,得到了“D”材料在的低温环境下雌蛹 *ApTreh1A*, 雄蛹 *ApTreh1B* 基因表达量和其他材料之间有显著差异,说明 *ApTreh1* 基因对维持不同环境下柞蚕脂肪体细胞内海藻糖浓度动态平衡相较于其他基因效果更好。此外在雌、雄蛹之间 *ApTreh1* 基因作用的区段并不相同,推测这一现象是海藻糖酶在雌雄蛹间酶活力有差异的原因之一。Treh1 是一种胞质酶,游离于细胞质之中,负责内源性海藻糖的分解,主要存在于循环系统和消化系统中,如血淋巴、中肠和马氏管中^[25]。Treh2 是膜结合型海藻糖酶,其为跨膜蛋白,主要降解食物中的海藻糖,从而为昆虫的生理运动行为提供能量^[26-27]。通过 RNAi 等技术在赤拟古盗 (*Tribolium castaneum*) 等昆虫已经证明 *Treh1*、*Treh2* 基因之间有细微分工,作用效果与组织不同^[28-30]。本研究中 *ApTreh1A*、*ApTreh1B* 和 *ApTreh2* 同样表现出作用效果不同的现象。推测柞蚕在化蛹期前取食柞叶,以满足化蛹滞育与越冬期间的能力供应,化蛹后从食物中获得的糖类少,*ApTreh2* 的作用减少。综合4个基因在不同保存环境的表达量变化趋势,证明“D”材料更符合海藻糖含量高的育种材料。

本研究改变柞蚕蛹保存环境温度,发现低温保存环境海藻糖含量低于常规保存环境,说明低温增加了海藻糖的消耗,同时海藻糖酶活力和基因表达量的增加,维持机体海藻糖和糖原的浓度平衡,满足机体的生存需要。通过比较2种材料海藻糖及相关酶活力与基因表达量,“D”更适宜作为海藻糖含量高的育种材料,这与“D”材料的背景特性相一致。相关试验结果证明保存环境变化会导致柞蚕越冬蛹营养的消耗及体内海藻糖浓度改变,增加育种选择压,达到选育目的,为柞蚕品种选育提供了思路和材料,促进柞蚕品种更新换代,满足柞蚕的市场需求,推动产业提质增效发展。

参考文献:

- [1] 秦利,王学英,李健男,等.中国柞蚕学[M].北京:中国科学文化出版社,2003.
- [2] HAHN D A, DENLINGER D L. Meeting the energetic demands of insect diapause: nutrient storage and utilization. [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2007, 53(8): 760-773.
- [3] HAHN D A, DENLINGER D L. Energetics of insect diapause [J]. *Annual Review of Entomology*, 2011, 56: 103-121.
- [4] 张义成,王彦文,陆明贤,等.温度和光周期对柞蚕滞育蛹和非滞育蛹呼吸强度的影响[J]. *沈阳农业大学学报*, 1994, 25(2): 168-171.
- [5] 陆明贤,杨长松,滕秀银,等.柞蚕蛹脂肪体和血淋巴中糖类含量动态的温度和光周期效应[J]. *昆虫学报*, 1992, 35(1): 1-7.
- [6] THOMPSON S N. Trehalose—the insect ‘blood’ sugar [M]// *Advances in Insect Physiology*. Amsterdam: Elsevier, 2003: 205-285.
- [7] WYATT G R. The biochemistry of sugars and polysaccharides in insects [M]// *Advances in Insect Physiology*. Amsterdam: Elsevier, 1967: 287-360.
- [8] 王羽,云雪艳,张晓燕,等.海藻糖对蛋白质的抗逆保护及其在食品领域中的应用[J]. *食品科技*, 2015, 40(10): 229-232.
- [9] 唐斌,魏苹,陈洁,等.昆虫海藻糖酶的基因特性及功能研究进展[J]. *昆虫学报*, 2012, 55(11): 1315-1321.
- [10] 唐斌,张露,熊旭萍,等.海藻糖代谢及其调控昆虫几丁质合成研究进展[J]. *中国农业科学*, 2018, 51(4): 697-707.
- [11] CHUNG J S. A trehalose 6-phosphate synthase gene of the hemocytes of the blue crab, *Callinectes sapidus*: Cloning, the expression, its enzyme activity and relationship to hemolymph trehalose levels [J]. *Saline Systems*, 2008, 4: 18.
- [12] GUO Q, HAO Y J, LI Y, et al. Gene cloning, characterization and expression and enzymatic activities related to trehalose metabolism during diapause of the onion maggot *Delia antiqua* (Diptera: Anthomyiidae) [J]. *Gene*, 2015, 565(1): 106-115.
- [13] TANG B, WANG S, WANG S G, et al. Invertebrate trehalose-6-phosphate synthase gene: Genetic architecture, biochemistry, physiological function, and potential applications [J]. *Frontiers in Physiology*, 2018, 9: 30.
- [14] 王佳,樊欢,熊克才,等.柑橘大实蝇滞育和非滞育蛹体内海藻糖含量的调控[J]. *昆虫学报* 2018, 61(9): 1010-1018.
- [15] 王德意,汝玉涛,王勇,等.柞蚕蛹滞育和滞育解除过程中海藻糖酶基因表达模式及酶活力分析[J]. *昆虫学报*, 2018, 61(7): 784-794.
- [16] 黄伶,孙良振,王勇,等.柞蚕蛹解除滞育过程中海藻糖合成酶基因的表达变化[J]. *昆虫学报*, 2016, 59(9): 938-947.

- [17] 湛苗苗,冀万杰,钟 亮,等.不同柞蚕品种的热应激反应差异及2个热激蛋白基因的表达特征[J].蚕业科学,2019,45(1):67-74.
- [18] ELBEIN A D,PAN Y T,PASTUSZAK I,et al.New insights on trehalose:A multifunctional molecule[J].Glycobiology,2003,13(4):17R-27R.
- [19] 蒋志洋,韩 清,王金娥,等.海藻糖合成酶结构及其抑制剂的研究进展[J].农药学学报,2021,23(2):209-225.
- [20] GARG A,OWENS T,SETTER,et al.Trehalose accumulation in rice,maize,and wheat plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses[J].In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animd,2010(S):204.
- [21] HASAN M M,UDDIN M J,FARUQUE M O,et al.The sex specific differences on nutritional composition of adult wild field cricket,*Brachytrupes portentosus* (Lichtenstein AAH,1796) in Bangladesh[J].Journal of Insects as Food and Feed,2023,9(8):1089-1096.
- [22] ADEMOLU K O,SIMBIAT E S,CONCILIA I I,et al.Gender variations in nutritive value of adult variegated grasshopper,*Zonocerus variegatus* (L)(Orthoptera:Pygomorphidae)[J].Journal of the Kansas Entomological Society,2017,90(2):117-121.
- [23] KULMA M,KOUŘIMSKÁL,PLACHÝ V,et al.Effect of sex on the nutritional value of house cricket,*Acheta domestica* L[J].Food Chemistry,2019,272:267-272.
- [24] YANG M M,ZHAO L N,SHEN Q D,et al.Knockdown of two trehalose-6-phosphate synthases severely affects chitin metabolism gene expression in the brown planthopper *Nilaparvata lugens*[J].Pest Management Science,2017,73(1):206-216.
- [25] TAKIGUCHI M,NIIMI T,SU Z H,et al.Trehalase from male accessory gland of an insect,*Tenebrio molitor*.cDNA sequencing and developmental profile of the gene expression[J].Biochemical Journal,1992,288(1):19-22.
- [26] MITSUMASU K,AZUMA M,NIIMI T,et al.Membrane-penetrating trehalase from silkworm *Bombyx mori*.Molecular cloning and localization in larval midgut[J].Insect Molecular Biology,2005,14(5):501-508.
- [27] 唐 斌.甜菜夜蛾(*Spodoptera exigua*)几丁质合成通路中重要基因的特性与转录调控初步研究[D].广州:中山大学,2008.
- [28] 褚亚平.氟铃脲对斜纹夜蛾海藻糖酶活性及基因表达的影响[D].泰安:山东农业大学,2013.
- [29] TANG B,WEI P,ZHAO L,et al.Knockdown of five trehalase genes using RNA interference regulates the gene expression of the chitin biosynthesis pathway in *Tribolium castaneum*[J].BMC Biotechnology,2016,16(1):67.
- [30] 魏 苹.赤拟谷盗海藻糖酶基因调控几丁质合成及能量代谢的功能研究[D].杭州:杭州师范大学,2013.

[责任编辑 亓 国]