

Ni^{2+} 对不同发育阶段斜纹夜蛾虫体 血淋巴能量物质的影响

孙虹霞^{1,2}, 夏 婧³, 唐文成², 张古忍^{2,*}, 党 志¹

(1. 华南理工大学环境科学与工程学院, 广州 510006; 2. 中山大学有害生物控制与资源利用国家重点实验室/昆虫学研究所, 广州 510275;
3. 遵义医学院珠海校区免疫学与病原生物学教研室, 珠海 519041)

摘要:研究了饲料中不同浓度的 Ni^{2+} (1—40mg/kg) 对连续 3 个世代斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* Fabricius 6 龄末幼虫、蛹和成虫血淋巴中能量物质总糖、蛋白质和脂肪含量及血淋巴中热量值的影响。结果表明, Ni^{2+} 胁迫 1 个世代, 6 龄末幼虫、蛹和成虫血淋巴中的总糖含量均低于对照, 而血淋巴中的蛋白质含量则在低浓度 Ni^{2+} 胁迫下增高, 在高浓度 Ni^{2+} 胁迫下降低; 只有受 1—20mg/kg Ni^{2+} 胁迫的 6 龄末幼虫血淋巴的脂肪含量高于对照, 而蛹和成虫血淋巴中的脂肪含量及热量值均低于对照。在 Ni^{2+} 胁迫的第 2、3 代, 6 龄末幼虫、蛹和成虫血淋巴中的总糖、蛋白含量和热量值与饲料中 Ni^{2+} 浓度的反应关系均表现为低浓度 Ni^{2+} 胁迫增加而高浓度 Ni^{2+} 胁迫降低的趋势; 然而, 血淋巴中的脂肪含量随饲料中 Ni^{2+} 浓度的增加而降低。因此, 重金属 Ni^{2+} 对 *S. litura* 能量物质的影响与虫体内能量物质的种类和虫体的发育阶段有一定的关联。

关键词: Ni^{2+} ; 斜纹夜蛾; 总糖; 蛋白质; 脂肪; 热量值

Effects of dietary nickel on the energy reserves in the hemolymph of different developmental stages of *Spodoptera litura* Fabricius

SUN Hongxia^{1,2}, XIA Qiang³, TANG Wencheng², ZHANG Guren^{2,*}, DANG Zhi¹

1 School of Environmental Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China

2 State Key Laboratory for Biological Control & Institute of Entomology, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China

3 Zhuhai Campus, Zunyi Medical College, Zhuhai, Guangdong 519041, China

Abstract: Effects of dietary nickel on total sugars, protein and total lipids in the hemolymph of the 6th instar larvae, pupae and adults of *Spodoptera litura* Fabricius were investigated by exposing *S. litura* larvae to the artificial diets amended with different concentrations of nickel for 3 generations. It was indicated that 1 generation exposure lowered the total sugars in the hemolymph of the 6th instar larvae, pupae and adults in comparison with those in control. Proteins in the hemolymph of different developmental stages of *S. litura* increased at low levels of nickel, but decreased at high levels of nickel. Higher concentrations of total lipids were only occurred in the 6th instar larvae of the 1st generation exposed to 1—20 mg/kg nickel comparing to that in control. Total lipids and calorie in the pupae and adults were lower than those in control in the 1st generation. Dose-dependent responses of total sugars, protein and calorie in hemolymph of the 6th instar larvae, pupae and adults in the 2nd and 3rd generations were characterized as stimulation at low levels of nickel, and inhibition at high levels of nickel. However, total lipids in hemolymph of the 6th instar larvae, pupae and adults in the 2nd and 3rd generations were all lower than those in control. Hence, effects of dietary nickel on the energy substances in the hemolymph of *S. litura* were correlated with the type of energy materials and the developmental stages of *S. litura*.

基金项目: 国家重点基础研究发展规划资助项目 (2006CB102001); 国家自然科学基金资助项目 (30771458); 教育部博士点专项基金资助项目 (20070558029); 广东省基础研究团队资助项目 (E039254); 珠海市科技计划资助项目 (PC20061049); 遵义医学院博士启动基金资助项目

收稿日期: 2009-04-20; **修订日期:** 2009-06-08

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhanggr@mail.sysu.edu.cn

Key Words: nickel; *Spodoptera litura*; total sugars; protein; total lipids; caloric value

重金属胁迫常导致生物体代谢完整性和稳定性的下降,并影响生物体正常生理代谢的能量供应^[1]。研究表明,能量物质代谢的前导子,如碳水化合物、蛋白质和脂肪含量的改变不仅可反映生物体抵御重金属胁迫的能力,更有效的预测重金属对其产生的慢性毒理效应^[2],是生物体能量需求变化的关键性参数。

重金属胁迫对昆虫能量物质——总糖、蛋白质和脂肪的影响已在鳞翅目、鞘翅目和双翅目等中有所报道^[2-6]。然而,对昆虫胁迫的重金属主要集中在 Cu、Zn、Cd 和 Pb 等常见元素中;且相比于其它陆生和水生生物,重金属对其影响的研究主要集中在昆虫的特定发育阶段,少见对不同发育阶段虫体能量物质影响的报道。再者,不同生物体对能量物质的利用常存在一定的差异。如在重金属的急性毒理下,鱼类常可利用糖原作为主要的应急能量^[7],并可通过调节脂肪和蛋白质的含量保持糖原的稳定性^[8];欧洲玉黍螺 *Littorina littorea* (L.) 则首先利用糖原和蛋白质,脂肪是其能量的存储库^[9]。因此,研究重金属胁迫对不同发育阶段昆虫能量物质影响可进一步丰富生物体防御重金属多样性的内容。

鉴于此,本文以植食性昆虫斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* Fabricius 6 龄末幼虫、蛹和成虫为研究对象,探讨了连续 3 代不同浓度 Ni^{2+} 的胁迫对不同发育阶段 *S. litura* 血淋巴总糖、蛋白质、脂肪含量及热量值——总卡路里的影响,以明确特定发育阶段虫体对能量物质的利用与已报道昆虫和其它生物的异同,及不同发育阶段虫体对能量物质需求的变化和是否存在一定的阶段特异性。研究结果可对深入了解 Ni^{2+} 胁迫对不同发育阶段 *S. litura* 生理功能和新陈代谢的影响提供一定的基础。

1 材料和方法

1.1 斜纹夜蛾幼虫的饲养和 Ni^{2+} 的胁迫处理

斜纹夜蛾系中山大学昆虫学研究所养虫室人工饲料饲养^[10]。在人工饲料中添加不同浓度的 Ni^{2+} ,并以此连续 3 代饲喂斜纹夜蛾幼虫。以第 1 代幼虫化蛹后,羽化成虫所产的卵作为第 2 代虫源,第 3 代依此类推,每天更换饲料并连续胁迫 3 代。

根据 Garrido 等^[11]的报道,当蔬菜中的 Ni^{2+} 含量达到 10—30mg/kg 时,就会对蔬菜产生毒害作用。将 NiCl_2 添加在人工饲料中,使 Ni^{2+} 浓度分别为 1、5、10、20mg/kg 和 40mg/kg。以不添加 NiCl_2 饲料饲养的斜纹夜蛾为对照。

所有的昆虫均饲养在 $(26 \pm 1)^\circ\text{C}$, 16 L:8 D, RH $(75 \pm 5)\%$ 条件下。

1.2 血淋巴中能量物质的测定

1.2.1 实验材料的收集

观察幼虫的生长情况,分别取 6 龄末、化蛹第 1 天雌雄蛹和羽化第 1 天的雌雄成虫各 15 头备用。将幼虫冰上麻醉,酒精棉球消毒虫体后,毛细管自腹足取血淋巴,雌雄蛹自胸腹部交界处,成虫自头胸交界处取血淋巴。不同发育阶段虫体内的血淋巴直接放入置于冰上的预先加有苯基硫脲的 Eppendorf 管中,混匀后, 4°C 下 $10\,000 \times g$ 离心 5min,然后置 -80°C 冰箱中备用。

1.2.2 总糖含量的测定

血淋巴总糖含量的测定依照冯慧^[12]的方法。步骤如下,在一定量的血淋巴上清液中加入碘基水杨酸溶液至终浓度为 10%, $15\,000 \text{ r/min}$ 离心 10 min 除去蛋白质沉淀,取上清,然后加入生理盐水稀释上清,其中 6 龄末幼虫上清的稀释倍数为 60,蛹和成虫期的稀释倍数均为 100,并保持最终稀释液的量为 1 mL。稀释后的溶液中加入 0.2% 蒽酮浓硫酸试剂 5 mL,在沸水浴中加热 10 min,冷却后使用紫外/可见分光光度 (Bio-rad) 于 620 nm 处进行比色测定。以 0.01% 的葡萄糖制作标准曲线。

1.2.3 可溶性蛋白浓度的测定

可溶性蛋白的测定依据 Bradford^[13]的方法进行测定。取 1.2.1 中的血淋巴上清液,生理盐水稀释后(其中 6 龄末幼虫血淋巴上清液稀释 33 倍,而蛹和成虫期上清液稀释 100 倍),加入考马斯亮蓝-G 染色 3—5

min, 而后使用紫外/可见分光光度计(Bio-rad)测定样品的 OD_{590} , 并以 1 mg/mL 牛血清蛋白为标准蛋白制定标准曲线。

1.2.4 脂肪含量的测定

血淋巴中的脂肪含量采用含磷香草醛酸法^[14]测定。分别取 6 龄末幼虫血淋巴 5 μL 和蛹、成虫血淋巴 3 μL , 蒸馏水补足至 100 μL 后, 加入 0.5 mL 氯仿于室温静止 10 min; 然后加入 0.5 mL 的浓 H_2SO_4 , 沸水中加热 10 min, 冷却至室温。最后加入 1 mL 含磷香草醛溶液(在 14 mol/L 的磷酸中加入 13 mmol/L 香草醛), 混匀后, 在室温下置 30 min, 使用紫外/可见分光光度计(Bio-rad)测定 OD_{547} 值。以胆固醇(含 2.5 mg/mL 甲醇)制作标准曲线。

1.2.5 热量值的计算

不同发育阶段虫体血淋巴中的热量值计算依照 Graney 和 Giesy^[15]的方法进行, 假定糖的热量值为 $4.3 \times 4.183\text{J/mg}$, 蛋白的热量值为 $4.1 \times 4.183\text{J/mg}$, 脂肪的热量值为 $9.5 \times 4.183\text{J/mg}$, 则血淋巴中的热量值(J/mL) = $(4.3 \times \text{总糖含量} + 4.1 \times \text{蛋白含量} + 9.5 \times \text{脂肪含量}) \times 4.183$ 。

1.3 数据统计

不同发育阶段斜纹夜蛾虫体血淋巴中的可溶性蛋白、总糖、脂肪含量以及总的卡路里值经 $\log_{10}(x+1)$ 转换后, 进行单因素方差分析(SAS8.1)^[16], 以阐明对照与受 Ni^{2+} 胁迫的不同处理间虫体血淋巴中能量物质差异的显著性。

2 结果和分析

2.1 Ni^{2+} 胁迫对斜纹夜蛾 6 龄末幼虫血淋巴能量物质的影响

6 龄末幼虫、雌雄蛹和成虫血淋巴中能量物质的变化如图 1 所示。结果表明, 除受 10mg/kg Ni^{2+} 胁迫的第 1 代幼虫外, 第 1 代幼虫、雌雄蛹和成虫血淋巴中的总糖含量均低于对照。第 2、3 代各发育阶段虫体血淋巴中的总糖含量则在低浓度 Ni^{2+} (1—10 mg/kg) 胁迫下高于, 在高浓度 Ni^{2+} (20—40 mg/kg) 胁迫下低于对照虫体血淋巴中的总糖含量。

统计分析表明, 受各浓度 Ni^{2+} 胁迫的第 1 代幼虫和雄成虫血淋巴中的总糖含量均与对照存在显著差异; 只有受 5、20mg/kg 和 40mg/kg Ni^{2+} 胁迫的第 1 代雌雄蛹和雌虫血淋巴中的总糖含量显著低于对照。受 10mg/kg Ni^{2+} 胁迫的第 2 代及受 1—10mg/kg Ni^{2+} 胁迫的第 3 代各发育阶段虫体血淋巴中的总糖含量均显著高于对照; 受 40mg/kg Ni^{2+} 胁迫的第 2、3 代幼虫、蛹和成虫血淋巴中的总糖含量则显著低于对照。

连续 3 代各发育阶段虫体血淋巴中的蛋白质含量与饲料中 Ni^{2+} 的浓度-反应关系见图 2。第 1、2 和 3 代幼虫血淋巴中的蛋白含量分别在受 1、5 mg/kg 和 10 mg/kg Ni^{2+} 胁迫的处理中出现最大值, 低于此浓度处理中的含量均随饲料中 Ni^{2+} 含量的增加而降低; 第 2 代各浓度 Ni^{2+} 胁迫幼虫血淋巴中的蛋白质含量均显著高于对照。此外, 各处理幼虫血淋巴中的蛋白含量都与对照存在显著差异(除第 3 代受 20 mg/kg Ni^{2+} 胁迫的处理外)。

连续 3 代雌雄蛹和成虫血淋巴中的蛋白质含量在低浓度 Ni^{2+} 胁迫下高于而在高浓度 Ni^{2+} 胁迫下低于对照虫体中的含量(除受 40mg/kg Ni^{2+} 胁迫的第 1 代雌蛹和雌成虫外)。然而, 受 1—5mg/kg Ni^{2+} 胁迫的第 1、2 代幼虫所化雌雄蛹和羽化雌成虫血淋巴中的蛋白质含量与对照均不存在显著差异; 且受 1—10mg/kg Ni^{2+} 胁迫的第 3 代幼虫所化雄蛹和羽化雌虫血淋巴中的蛋白质含量也与对照不存在显著差异。在高浓度 Ni^{2+} (20—40mg/kg) 胁迫下, 第 2、3 代雌雄蛹和雄成虫血淋巴中的蛋白质含量都显著低于对照。

图 3 为连续 3 代受不同浓度 Ni^{2+} 胁迫的 6 龄幼虫、蛹和成虫血淋巴中脂肪含量的变化情况。结果显示, 只有受 1—20mg/kg Ni^{2+} 胁迫第 1 代幼虫血淋巴中的脂肪含量高于对照。第 2、3 代幼虫及连续 3 代雌雄蛹和成虫血淋巴中的脂肪含量均显著低于对照虫体中的含量, 并随饲料中 Ni^{2+} 浓度的增加而减少(除第 1 代受 20 mg/kg Ni^{2+} 胁迫的雄成虫外)。

除受 1mg/kg 和 40mg/kg Ni^{2+} 胁迫的第 1 代幼虫、受 1—5 mg/kg Ni^{2+} 胁迫的第 1 代雄虫、及受 1mg/kg

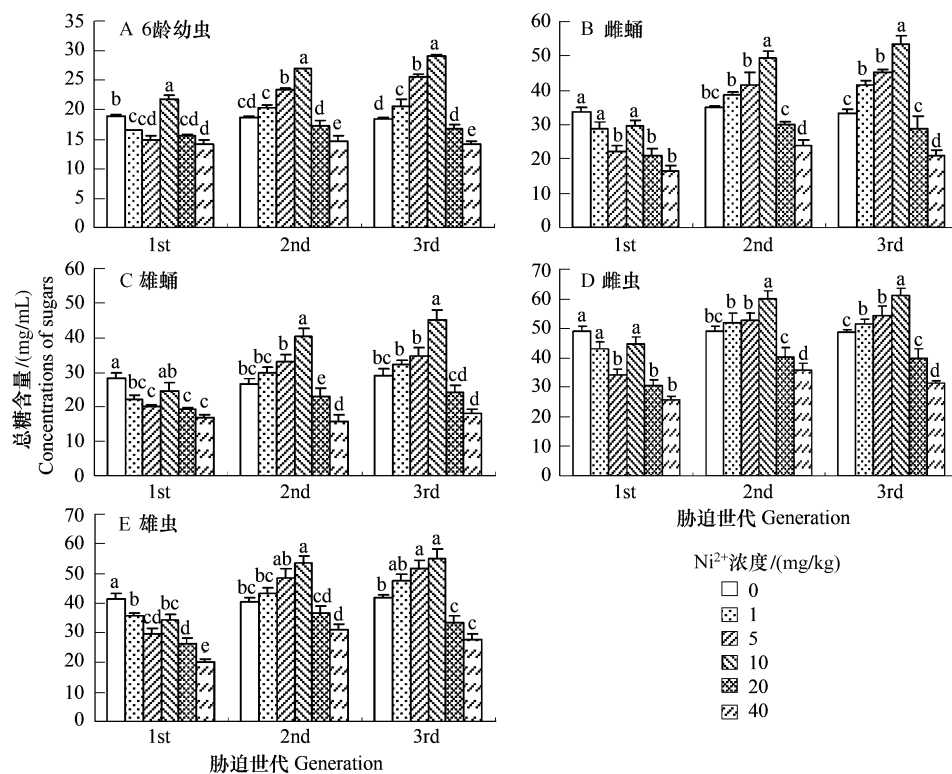


图1 取食含不同浓度 Ni^{2+} 饲料的斜纹夜蛾幼虫、蛹和成虫血淋巴的总糖含量 (平均值 $\pm$ 标准误)

Fig. 1 The content of total sugars in hemolymph of the larvae, pupa and adult of *S. litura* whose larvae were exposed to different concentrations of nickel for 3 generations (Mean $\pm$ SE)

同一世代柱形图上不同的小写字母表示同一世代虫体血淋巴中的总糖含量在不同处理间存在显著差异

Ni^{2+} 胁迫的第3代雄成虫外,各处理幼虫、雌雄蛹和成虫血淋巴中的脂肪含量都显著低于对照虫体中的含量。

不同浓度 Ni^{2+} 胁迫对不同发育阶段 *S. litura* 血淋巴热量值的影响如图4所示。受1—20 mg/kg Ni^{2+} 胁迫的第1代幼虫血淋巴中的热量值均显著高于对照;而第1代雌雄蛹和成虫血淋巴中的热量值低于对照中的含量。受5—40 mg/kg Ni^{2+} 胁迫雌蛹中的含量以及受20—40 mg/kg Ni^{2+} 胁迫的雄蛹血淋巴中的值与对照虫体中的数值存在显著差异;而第1代雌雄成虫血淋巴中的热量值都与对照存在显著差异。

第2、3代幼虫血淋巴中的热量值在低浓度 Ni^{2+} (1—10 mg/kg) 胁迫增加,在高浓度 Ni^{2+} (20—40 mg/kg) 的胁迫降低,且各处理虫体血淋巴中的热量值均与对照虫体间存在显著差异。第2、3代雄性蛹和成虫,及第3代雌性蛹和成虫血淋巴中热量值与饲料中的 Ni^{2+} 也存在类似的浓度-反应关系,但1—10 mg/kg Ni^{2+} 胁迫未对第2代各发育阶段虫体及第3代成虫血淋巴中的热量值产生显著影响;20—40 mg/kg Ni^{2+} 的胁迫则显著降低了蛹和成虫血淋巴中的热量值。

3 讨论

结果表明, Ni^{2+} 胁迫下1个世代,6龄末幼虫、蛹和成虫血淋巴中的总糖含量均低于对照;受低浓度 Ni^{2+} 胁迫虫体的蛋白,及受1—20 mg/kg Ni^{2+} 胁迫虫体的脂肪含量均高于对照虫体。在 Ni^{2+} 胁迫的第2、3代,6龄末幼虫、蛹和成虫血淋巴中的糖、蛋白含量和热量值均在低浓度 Ni^{2+} 胁迫下增加,而在高浓度 Ni^{2+} 胁迫下降低,而脂肪含量随饲料中 Ni^{2+} 浓度的增加而降低。

第1代幼虫在抵御 Ni^{2+} 胁迫过程中可能消耗了血淋巴中的总糖,蛋白质和脂肪含量均较对照有所增加。总糖含量的减少是生物体对毒物胁迫的一种反应机制,如摇蚊 *Chironomus riparius*^[17]、*L. littorea*、虹鳟鱼 *Oncorhynchus mykiss* 肝脏中的糖原含量^[18]、蟾胡子鲇 *Clarias batrachus* L.^[19]、牡蛎 *Lamellidens corrianus*^[20] 和大

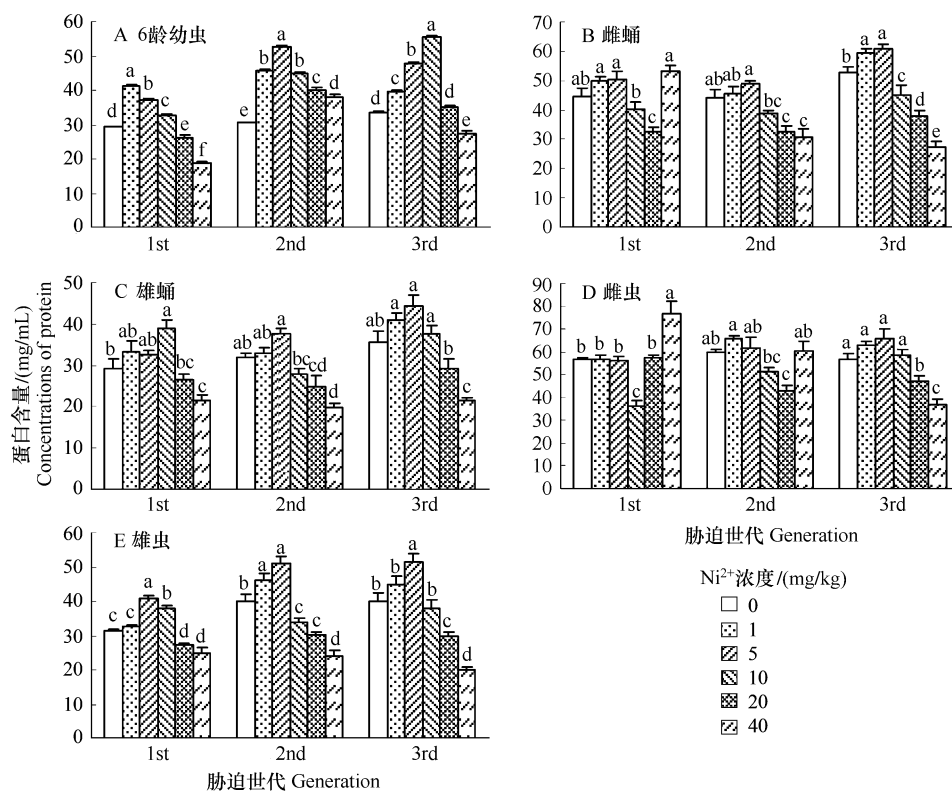


图2 取食含不同浓度 Ni^{2+} 饲料的斜纹夜蛾幼虫、蛹和成虫血淋巴的蛋白质含量 (平均值 $\pm$ 标准误)

Fig. 2 The content of total proteins in hemolymph of the larvae, pupa and adult of *S. litura* whose larvae were exposed to different concentrations of nickel for 3 generations (Mean $\pm$ SE)

同一世代柱形图上不同的小写字母表示同一世代虫体血淋巴中的蛋白质含量在不同处理间存在显著差异

西洋鲑 *Salmo salar*^[21] 体内的总糖含量在重金属胁迫下都有所下降。然而,第1代幼虫所化蛹和羽化的成虫则主要消耗了体内的总糖和脂肪,体现了 *S. litura* 不同发育阶段虫体利用能源物质的差异性。

受低浓度 Ni^{2+} 胁迫的第2、3代幼虫、蛹和成虫则主要利用了血淋巴中的脂肪,总糖和蛋白质的含量都有所增加,类似结果在摇纹体内也有所报道^[17]。通常,脂肪是昆虫体内的重要能量物质,并可作为能量储备物以保持糖和蛋白水平的稳定。然而,多数重金属的胁迫均可影响生物体内脂肪水平的变化,如Cd胁迫可降低紫蓝丽盾蝽 *Chrysocoris stoll*^[22]、棕尾别麻蝇 *B. peregrina*^[23] 和舞毒蛾幼虫 *Lymantria dispar*^[3,24] 体内的脂肪含量。同时,脂肪含量的减少可能意味着脂肪的代谢物为蛋白质和总糖的合成提供了底物分子物质。

受高浓度 Ni^{2+} 胁迫的第2、3代幼虫除消耗脂肪外,还利用了总糖作为主要的能源物质,只有蛋白质的含量高于对照;而受高浓度 Ni^{2+} 胁迫的第2、3代蛹和成虫血淋巴中的总糖、蛋白质和脂肪都低于对照虫体中的含量。前期研究表明, Ni^{2+} 可在 *S. litura* 6龄末幼虫、蛹和成虫体内积累,但蛹和成虫体内的 Ni^{2+} 显著低于幼虫体内的 Ni^{2+} 浓度,过量的 Ni^{2+} 可随化蛹所蜕皮排出体外^[25]。因此,在排泄过量 Ni^{2+} 的过程中,除利用总糖和脂肪外,储存的蛋白质可能也发挥了重要的作用。类似的,伸展摇纹 *Chironomus tentans*^[26]、黑瘤姬蜂 *Pimpla turionellae*^[27]、紫蓝丽盾蝽 *C. stoll*^[22] 和棕尾别麻蝇 *Boettcherisca peregrina*^[23] 体内的蛋白含量也在高浓度重金属胁迫中有所下降。研究证实,重金属如Pb可通过与蛋白质的非特异性作用机制,或者通过转变细胞膜上蛋白的-SH基或其它基团而改变其结构或功能,从而影响其在生物体内的含量^[28];而 Ni^{2+} 胁迫对 *S. litura* 血淋巴中蛋白影响的机制是否和Pb的作用机理存在类似性,有待深入研究。

多数生物可通过降低体内的卡路里值来调节毒物的胁迫作用^[2,15],如印度对虾 *Penaeus indicus* 和多数甲壳动物^[29-30] 体内的热量值在受重金属的胁迫下均有所下降。受 Ni^{2+} 胁迫的第1代6龄幼虫血淋巴中的热量

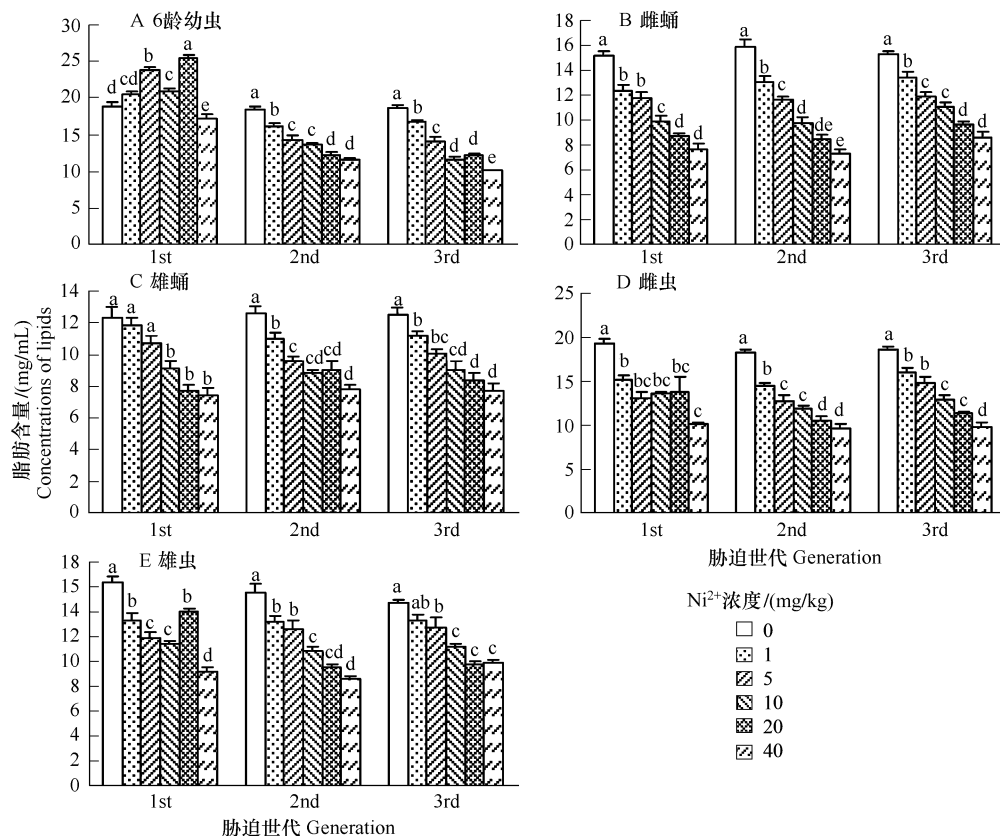


图3 取食含不同浓度 Ni^{2+} 饲料的斜纹夜蛾幼虫、蛹和成虫血淋巴的脂肪含量(平均值 $\pm$ 标准误)

Fig. 3 The content of total lipids in hemolymph of the larvae, pupa and adult of *S. litura* whose larvae were exposed to different concentrations of nickel for 3 generations (Mean $\pm$ SE)

同一世代柱形图上不同的小写字母表示同一世代虫体血淋巴中的脂肪含量在不同处理间存在显著差异

值均高于对照,但蛹和成虫血淋巴中的热量值则低于对照。排泄过量 Ni^{2+} 过程中的能量消耗可能是幼虫和对照热量值的差异性与蛹和成虫不同的原因之一。第2、3代6龄幼虫、蛹和成虫血淋巴中的热量值虽然都在低浓度 Ni^{2+} 胁迫下升高,在高浓度 Ni^{2+} 胁迫下降低,但受低浓度胁迫的雌雄蛹和雌成虫血淋巴的热量值和对照都不存在显著差异,此结果与前期的报道^[25],即受低浓度 Ni^{2+} 胁迫幼虫所化蛹和羽化成虫体内 Ni^{2+} 显著低于幼虫体内 Ni^{2+} 浓度,且与对照不存在显著差异存在一致性。

目前,重金属胁迫对水生生物生物体内糖原、蛋白和脂肪合成代谢酶的影响已有研究成果,如鱼类 *Channa punctatus* 中,天冬氨酸转氨酶(aspartate transaminase, AST),丙氨酸转氨酶(alanine transaminase, ALT),乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH),苹果酸脱氢酶(malate dehydrogenase, MDH)活性在重金属胁迫下均有所增加^[31]。在 *Perca fluviatilis* 的血浆和肝脏中,糖原合成的关键酶如磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK),苹果酸脱氢酶 MDH,谷草转氨酶 AST 和分解酶丙酮酸激酶(pyruvate kinase, PyK)活性在重金属胁迫下也会增高,且 PyK 和 AST 活性在污染最为严重地带收集的鱼类中最高,而 *P. fluviatilis* 体内的脂类代谢相关酶如葡萄糖-6-磷酸酶(glucose-6-phosphate dehydrogenase, G-6-PDH)的活性也有所下降,表明利用脂类的效率有所增加^[32]。然而,此类研究在昆虫中还未见报道。

重金属 Ni^{2+} 胁迫对 *S. litura* 血淋巴的总糖、蛋白质、脂肪含量和热量值产生了影响,且影响程度与能量物质的种类、虫体的发育阶段、 Ni^{2+} 胁迫时间的长短等都有一定的关联。然而, Ni^{2+} 胁迫对 *S. litura* 能量物质的影响是通过哪些物质代谢实现有待深入研究。

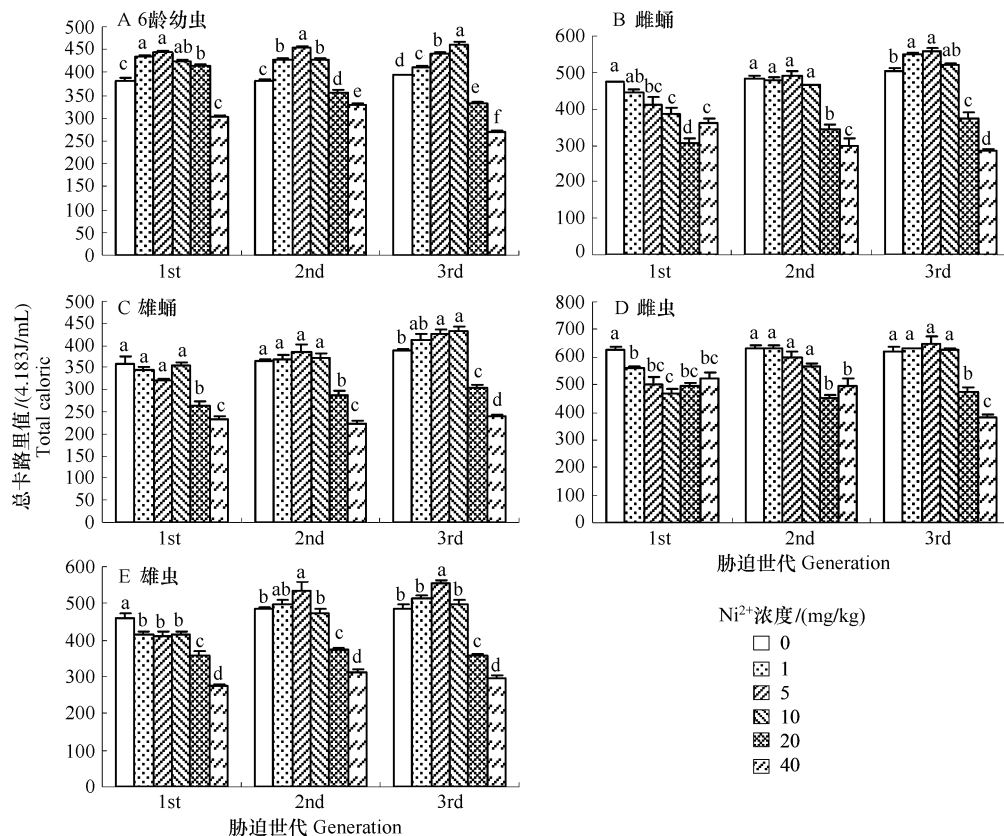


图4 取食含不同浓度 Ni^{2+} 饲料的斜纹夜蛾幼虫、蛹和成虫血淋巴的热量值(平均值 $\pm$ 标准误)

Fig. 4 Total caloric values in hemolymph of the larvae, pupa and adult of *S. litura* whose larvae were exposed to different concentrations of nickel for 3 generations (Mean $\pm$ SE)

同一世代柱形图上不同的小写字母表示同一世代虫体血淋巴中的热量值在不同处理间存在显著差异

References:

- [1] De Coen W M I, Janssen C R. The missing biomarker link: Relationships between effects on the cellular energy allocation biomarker of toxicant-stressed *Daphnia magna* and corresponding population characteristics. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2003, 22: 1632-1641.
- [2] Chinni S, Yallapragada P R. Energy levels of *Penaeus indicus* postlarvae on exposure to lead. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2002, 52: 173-179.
- [3] Gintentreiter S, Ortel J, Nopp H J. Effects of different dietary levels of cadmium, lead, copper and zinc on the vitality of the forest pest insect *Lymantria dispar* L. (Lymantriidae: Lepidoptera). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 1993, 25: 62-66.
- [4] Ortel J. Effects of metals on the total lipid content in the gypsy moth (*Lymantria dispar*, Lymantriidae, Lepid) and its hemolymph. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1995, 55: 216-221.
- [5] Schmidt G H, Ibrahim N M M, Abdallah M D. Long-term effects of heavy metals in food on developmental stages of *Aiolopus thalassinus* (Saltatoria: Acrididae). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 1992, 23: 375-382.
- [6] Shin B S, Choi R N, Lee C U. Effects of cadmium on total lipid content and fatty acids of the greater wax moth, *Galleria mellonella*. *Korean Journal of Ecology*, 2001, 24: 349-352.
- [7] Vijayan M M, Moon T W. Acute handling stress alters hepatic glycogen metabolism in food-deprived-rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1992, 49: 2260-2266.
- [8] Sheridan M A, Mommsen T P. Effects of nutritional state on in vivo lipid and carbohydrate metabolism of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *General and Comparative Endocrinology*, 1991, 81: 473-483.
- [9] De Wolf, Lukambuzi L, Van den Broeck H, Smolders R. Spatio-temporal variation in energy content of the periwinkle *Littorina littorea*, along a pollution gradient in the western Scheldt estuary, The Netherlands. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2007, 344: 78-87.
- [10] Chen Q J, Li G H, Pang Y. A simple artificial diet for mass rearing of some noctuid species. *Chinese Bulletin of Entomology*, 2000, 37 (6): 325-327.

- [11] Garrido S, Campo G M C, Esteller M V, Vaca R, Lugo J. Heavy metals in soil treated with sewage sludge composting, their effects on yield and uptake of broad bean seeds (*Vicia faba* L.). *Water, Air, and Soil Pollution*, 2005, 166: 303-319.
- [12] Feng H. Biochemical analysis method of entomology. Beijing: Agricultural Press, 1989: 8-15.
- [13] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principal of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72: 248-254.
- [14] NaKamatsu Y, Tanaka T. Venom of ectoparasitoid, *Euplectrus* sp. near *plathypenae* (Hymenoptera: Eulophidae) regulates the physiological state of *Pseudaletia separata* (Lepidoptera: Noctuidae) host as a food resource. *Journal of Insect Physiology*, 2003, 49: 149-159.
- [15] Graney R I, Giesy J P J. Effects of long-term exposure to pentachlorophenol on the free amino acids pool and energy reserves of the freshwater amphipod *Gammarus pseudolimnaeus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1986, 12: 233-251.
- [16] SAS Institute Inc. SAS/STAT User's Guide. Ver. 6, 4th ed. Vol 1 and 2. SAS Institute Inc, Cary, NC, 1989.
- [17] Bentivegna C S. Advancing monosaccharides as biomarkers; Part II. effects of starvation and cadmium in *Chironomus riparius* as detected by fluorophore-assisted carbohydrate-electrophoresis. *Aquatic Toxicology*, 2002, 61: 111-126.
- [18] Ricard A C, Daniel C, Andersen P, Hontela A. Effects of subchronic exposure to cadmium chloride on endocrine and metabolic functions in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 1998, 34: 377-381.
- [19] Begum G, Vijayaraghavans S. Carbohydrate metabolism in hepatic tissue of freshwater catfish *Claris batrachus* L. during dimethoate exposure. *Food and Chemical Toxicology*, 1995, 33: 423-426.
- [20] Rajalekshmi P, Mohandas A. Effects of heavy metals on tissue glycogen levels in the freshwater mussel *Lamellidens corrianus* Lea. *Science of the Total Environment (Supplement Part I)*, 1993: 617-630.
- [21] Soengas J L, Agra-Lago M J, Carballo B, Andrés M D, Veira J A R. Effects of an acute exposure to sublethal concentrations of cadmium on liver carbohydrate metabolism of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1996, 57: 625-631.
- [22] Isalam A, Roy S. Effects of CdCl₂ on the quantitative variations of carbohydrate, protein, amino acid and cholesterol in *Chrysocoris stoll* wolf (Insecta; Hemiptera). *Current Science*, 1983, 52: 215-217.
- [23] Wu G X, Ye G Y, Hu C, Cheng J A. 2006. Accumulation of cadmium and its effects on growth, development and hemolymph biochemical compositions in *Boettcherisca peregrina* larvae (Diptera: Sarcophagidae). *Insect Science*, 13: 31-39.
- [24] Bischof C. Effects of heavy metal stress on carbohydrate and lipid concentrations in the haemolymph and total body tissue of parasitized *Lymantria dispar* L. larvae (Lepidoptera). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1995, 112C: 87-92.
- [25] Sun H X, Shu Y H, Tang W C, Wang Q, Zhou Q, Zhang G R. Nickel accumulation and its effects on the survival rate of *Spodoptera litura* Fabricius under continuous nickel stress. *Chinese Science Bulletin*, 2007, 52: 1957-1963.
- [26] Rathore R S, Sanghui P K, Swarup H. Toxicity of cadmium chloride and lead nitrate to *Chironomus tentans* larvae. *Environmental Pollution*, 1979, 18: 173-177.
- [27] Ortel J. Effects of lead and cadmium on chemical composition and total water content of the pupal parasitoid, *Pimpla turionella*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 1991, 59: 93-100.
- [28] Torreblanca A, Diaz-Mayans J, Del Ramo J, Núñez A. Oxygen uptake and gill morphological alterations in *Procambarus clarkii* (Girard) after sublethal exposure to lead. *Comparative Biochemistry and Physiology C*, 1987, 86: 219-224.
- [29] Radhakrishnaiah K, Brusappa B. Effects of cadmium on the carbohydrate metabolism of the freshwater field crab, *Oziotelphusa senex*. *Journal of Environmental Biology*, 1996, 17: 17-21.
- [30] Torreblanca A, Del Ramo J, Diaz-Mayans J. Effects of cadmium on the biochemical composition of the freshwater crayfish *Procambarus clarkii* (Girard, 1852). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1991, 47: 933-938.
- [31] Sastry KV, Sachdeva S, Rathee P. Chronic toxic effects of cadmium and copper, and their combination on some enzymological and biochemical parameters in *Channa punctatus*. *Journal of Environmental Biology*, 1997, 18: 291-303.
- [32] Levesque H M, Moon T W, Campbell P G C, Hontela A. Seasonal variation in carbohydrate and lipid metabolism of yellow perch (*Perca flavescens*) chronically exposed to metals in the field. *Aquatic Toxicology*, 2002, 60: 257-267.

参考文献:

- [10] 陈其津, 李广宏, 庞义. 饲养 5 种夜蛾科昆虫的一种简易人工饲料. *昆虫知识*, 2000, 37 (6): 325-327.
- [12] 冯慧. 昆虫生物化学分析法. 北京: 农业出版社, 1989: 8-15.