应用昆虫学报 *Chinese Journal of Applied Entomology* 2015, 52(2): 419–427. DOI: 10.7679/j.issn.2095–1353.2015.046

低温和变温诱导对飞蝗胚胎发育的影响*

马国兰[1, 2**] 徐玲玲[2] 唐国文[1***] 陈 兵[2***]

（1. 云南农业大学植物保护学院，昆明 650201；2. 中国科学院动物研究所农业虫害鼠害综合治理国家重点实验室，北京 100101）

摘 要 **【目的】** 飞蝗 *Locusta migratoria* (Linnaeus)是我国乃至全世界广泛发生的重要农业害虫，其种群暴发会给农作物造成重大为害和减产。飞蝗种群发生动态受低温及变温的影响，但低温和变温如何作用于胚胎发育和是否诱导胚胎滞育的发生，目前尚不清楚。**【方法】** 本文在对飞蝗胚胎发育特点观察鉴定的基础上，研究了胚胎发育中期恒定低温诱导、诱导后恢复、发育中期变温诱导及发育早期低温诱导等条件对胚胎发育进程的影响。**【结果】** 研究发现，胚胎发育起点温度下非致死温度 7.5℃处理促使胚胎发育历期变异增加，而 25~30℃高温下胚胎发育整齐。7.5℃处理时间长短对胚胎发育影响不明显，但该低温培育时间长短影响后期常温下的胚胎发育，即 7.5℃下长期低温可能促进 25℃或 30℃下的胚胎的发育。25℃以下变温温度影响胚胎发育进展，但影响胚胎发育的限制因子主要是发育起点以上温度。**【结论】** 因此，温度作为单一环境因子，其特定的低温和变温处理不仅没有诱导胚胎滞育的发生，反而促进后期胚胎在常温下的发育。本研究结果对揭示温度变化对个体发育和种群动态影响及预测飞蝗种群发生有重要的指导意义。

关键词 飞蝗，低温诱导，变温，滞育，胚胎发育

Effects of low and changing temperatures on embryonic development in the migratory locust

MA Guo-Lan[1, 2**] XU Ling-Ling[2] TANG Guo-Wen[1***] CHEN Bing[2***]

(1. Plant Protection College, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 2. State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract **[Objectives]** The migratory locust *Locusta migratoria* (Linnaeus) is one of the most important agricultural pest in the world, including China. Outbreaks of this pest have caused great damage and crop loss. The population dynamics of the migratory locust are affected by low temperature and temperature fluctuation. However, the mechanism underlying these effects, i.e., how temperature factors affect embryonic development and whether they induce embryonic diapause, remain poorly understood. **[Methods]** In this paper, we first investigated the characteristics of embryos at different developmental stages. We then examined the effects on embryonic development of low temperature induction, with or without recovery, temperature fluctuation, and exposure to low temperature at an early stage of development. **[Results]** The results show that, in contrast to the effects of exposure to 25-30℃, exposure to non-lethal low temperature 7.5℃ resulted in increased variation in the developmental duration of embryonic stages. The duration of exposure at 7.5℃ didn't influence embryonic development at the time of exposure, but did post-exposure. In other words, low temperature induction facilitated embryonic development at 25℃ or 30℃ after induction. Fluctuation of temperature below 25℃ influenced embryo development. However, the key limiting factor for embryo development was that temperature remained above the threshold for normal developmental. **[Conclusions]** Low and changing temperatures do not induce the occurrence of diapause. Temperature treatments promote embryonic development post-treatment. These results have important implications for the role of temperature changes in organismal development, population dynamics and outbreak prediction.

* 资助项目 Supported projects：国家自然科学基金(31172148)；科技部 973 项目(2012CB114103)

**第一作者 First author，E-mail：maguolan_yndl@sina.com

***通讯作者 Corresponding author，E-mail：guowen03@163.com; chenbing@ioz.ac.cn

收稿日期 Received：2014-01-13，接受日期 Accepted：2014-03-12

Key words *Locusta migratoria* (Linnaeus), low temperature induction, changing temperatures, diapause, embryonic development

飞蝗 *Locusta migratoria* (Linnaeus)是世界性的农业害虫（Uvarov，1966），在我国分布面积广泛，经常性暴发为害，对农业生产和人民生活造成了严重的影响。中国对蝗灾的记载已有 2 700 多年的历史（郭郛等，1991）。自公元前 707 年到 1955 年，有超过 800 次飞蝗在我国暴发成灾的报道（马世骏，1958）。因此，了解飞蝗种群动态发生机制对于有效控制蝗灾显得尤为重要。

飞蝗属于不完全变态昆虫，经历卵、若虫（蝗蝻）和成虫三个阶段。卵由成虫产入土中孵化或越冬。飞蝗的世代周期的长短和年发生代数受蝗卵的发育速度影响很大。第二年种群密度受蝗卵能否成功越冬和滞育的影响。胚胎滞育是飞蝗越冬的重要条件（Tanaka，1994a）。诱导昆虫进入滞育的因素有温度、光周期、适度环境因子等，这些因子及其相互作用如何影响胚胎发育与胚胎滞育一直是该领域研究的热点问题（郭郛等，1991；Denlinger and David，2002）。

温度是影响飞蝗发生的重要因素。通过近两千年飞蝗暴发频次和强度与当年温度相关关系分析发现，温度因素对飞蝗发生起关键作用（马世骏，1958），特别是低温与飞蝗暴发相关（Tian *et al.*，2011）。飞蝗以卵在土壤中越冬，卵期不能通过移动行为来躲避环境的不良作用，因此与环境的关系也更为密切（钦俊德等，1956）。飞蝗种群沿着地理纬度梯度表现出生理特征的递变规律，如飞蝗卵的耐寒性由南向北逐渐增强，且与当地气温的递变规律相一致（Jing and Kang，2003；Wang and Kang，2005）。此外，受温度和光周期影响的卵胚胎滞育特征也存在地理变异规律（Tanaka，1994b；Tanaka and Zhu，2008），这些结果反映了飞蝗对温度特别是低温的适应。

昆虫是变温动物，保持和调节体温的能力不强，环境温度的高低变化直接对体温的高低变化起作用。昆虫的体温随着环境温度的变化而变化，同时行为和体内的生理代谢过程也发生相应改变和调整（Gullan and Cranstan，2009）。因此温度对昆虫发育过程的影响是非常重要的。随着全球气候变化影响，极端温度出现更加频繁（Tauber *et al.*，1986）。了解温度变化对飞蝗胚胎发育的影响对预测飞蝗种群发生动态具有重要意义。但迄今低温和变温如何作用于胚胎发育及怎样影响诱导胚胎滞育的发生，尚存在争议。前人已对飞蝗形态学、生理学和生态学等展开了深入的研究（康乐等，1989；郭郛等，1991）。本研究通过实验室对温度的控制模拟自然界不同的低温胁迫和变温条件，探讨温度因子对胚胎发育的影响，及其对滞育发生的作用效果。

1 材料与方法

1.1 虫源

野外采集海南飞蝗种群于实验室饲养 5 代以上。饲养条件采用标准化方法和流程（Guo *et al.*，2011）。过程包括：将初孵化的 1 龄蝗蝻饲养在 60 cm×60 cm×80 cm 的金属网笼内，密度保持在 400 头左右，室温 30℃，相对湿度为 40%~60%，光周期 14L∶10D。饲养食物为麦麸和新鲜麦苗，直至饲养到成虫。每笼 50 对飞蝗成虫（雌雄比 1∶1）交配后收集蝗卵用于实验。

1.2 飞蝗卵的常温孵育

将卵块放在盛有灭菌湿沙（湿度 8%）的塑料杯中，再在卵块上铺约 1 cm 厚的湿沙，用塑料薄膜覆盖在恒温培养箱（温度 30℃）内孵化。低温处理的卵先在恒温培养箱（温度 30℃）保存 6 d，然后再转到不同低温处理条件下孵育。

1.3 低温和变温诱导的实验设计

低温和变温诱导的实验设计见图 1。

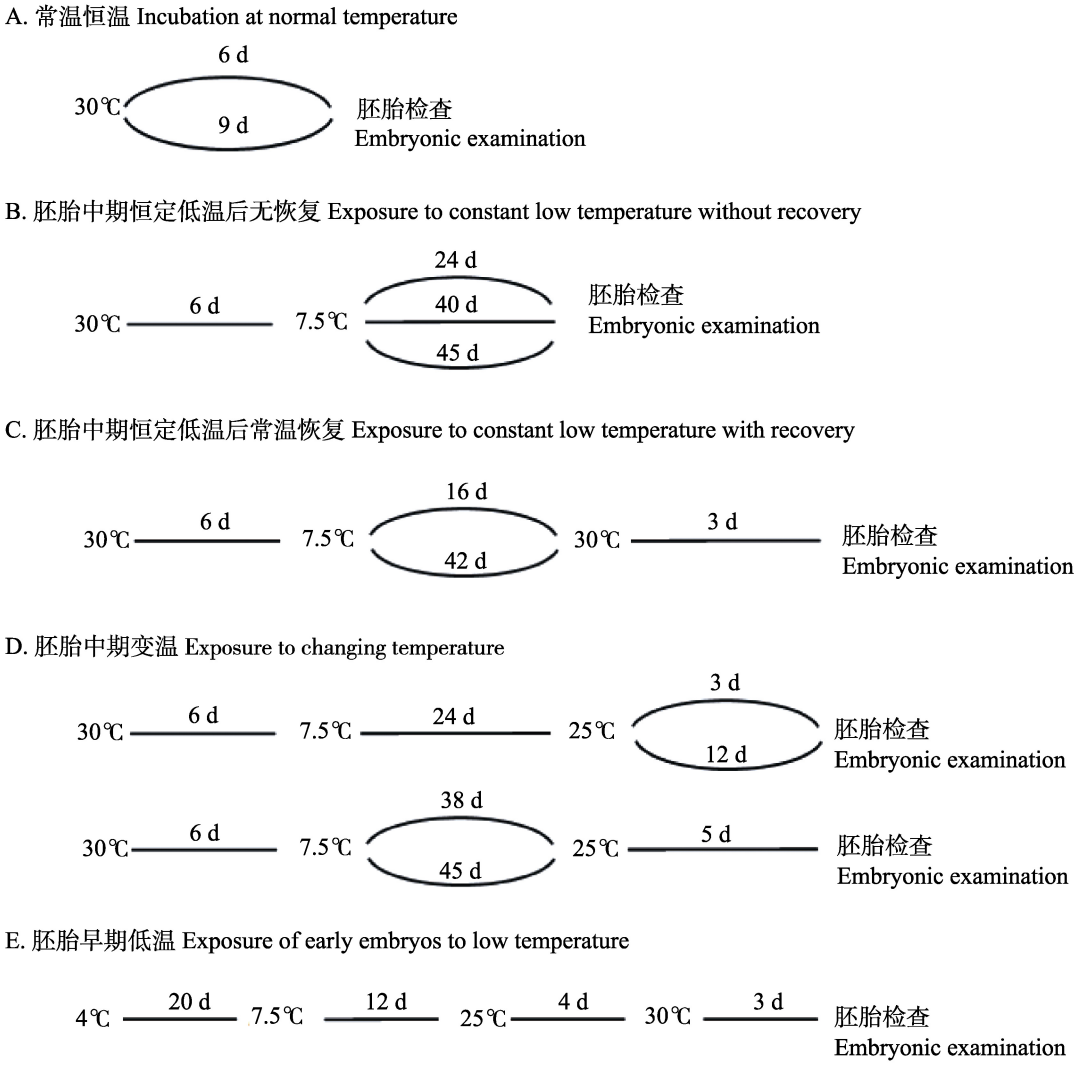

图 1　对飞蝗胚胎进行 5 种不同的低温和变温处理

Fig. 1　Five different temperature treatments to the locust embryos

A.常温恒温处理。作为本研究的对照，观察常温 30℃下培养 6 d 和 9 d 后胚胎的发育。B.胚胎中期恒定低温处理后无恢复孵育 6 d 后在 7.5℃处理不同时间（24 d、40 d、45 d）后观察胚胎发育。C.胚胎中期低温处理后常温恢复。卵在常温孵育 6 d 后，低温 7.5℃进行两个不同时间处理：16 d 和 42 d，然后 30℃培养 3 d 后检查胚胎发育。D.胚胎中期变温处理。卵经过 30℃、7.5℃和 25℃孵育不同时间，然后进行胚胎发育检查。其中，对 7.5℃和 25℃进行不同时间处理。E.胚胎早期低温诱导对胚胎发育的影响。对刚产下 1 d 的卵经过 4℃、7.5℃、25℃和 30℃的连续处理后观察胚胎发育。

A. Incubation at normal temperature; B. Exposure to constant low temperature without recovery; C. Exposure to constant low temperature with recovery; D. Exposure to changing temperatures; E. Exposure of early embryos to low temperature.

1.4　常温条件下对飞蝗的胚胎发育观察

野外采集成虫所产的卵标注为 F_1 代，在实验室饲养 5 代以上用于实验。每个供试的卵块都是随机从中抽取的发育一致的卵块，以保证不同处理结果的可比性。测定卵块 30℃孵育时（即自然条件下）胚胎发育：产卵后将卵块不经低温处理在 30℃孵育。产卵后第 6 天和第 9 天取出观察，观察方法见 1.8，该处理为本研究的对照（图 1）。每个处理选取 10 个卵块，每个卵块选

取 10 粒，即总共 100 粒卵。对这 100 粒卵的发育阶段进行统计分析。

1.5 中期低温诱导蝗卵及对飞蝗胚胎发育的观察

低温驯化实验取材于 30℃下产下的蝗卵，蝗卵产下 1 d 后，选取 10 枚卵块，从每个卵块中平均抽取大约 10 粒卵，共约 100 粒卵（图 1）。

1.5.1 恒定低温后无恢复及对飞蝗胚胎发育的观察 对飞蝗卵粒进行恒定低温处理，处理过程如下：先放在 30℃培养箱培养 6 d，然后转至 7.5 ℃的恒温箱恒温进行 24 d、40 d 和 45 d 3 个不同时间的驯化，经不同时间处理后，在体视镜下观察记录胚胎发育状况，观察方法见 1.8（图 1）。

1.5.2 恒定低温后常温恢复及对飞蝗胚胎发育的观察 对飞蝗卵粒进行恒定低温后常温恢复处理：蝗卵先放在 30℃培养箱培养 6 d，然后转至 7.5℃的恒温箱进行 16 d 和 42 d2 个不同时间的恒温驯化，再转至 30℃恢复 3 d 后观察记录胚胎发育状况，观察方法见 1.8（图 1）。

1.6 中期变温诱导对胚胎发育的观察

对卵粒进行中期变温处理，实验设计两种处理过程，处理 1：先在 30℃培养箱培养 6 d，然后转至 7.5℃的恒温箱恒温驯化 24 d，再转至 25 ℃的培养箱中继续培养，处理 3 d 或 8 d，处理好后观察胚胎的发育情况并记录。处理 2：先在 30℃培养箱培养 6 d，转入 7.5℃的恒温箱分别发育 39 d 或 45 d，然后转至 25℃培养箱中恢复 5 d。经不同时间处理后，观察记录胚胎发育状况，观察方法见 1.8（图 1）。

1.7 胚胎早期低温诱导对胚胎发育的观察

对卵粒发育早期进行低温处理，处理过程如下：先放在 30℃培养箱培养 6 d，后转至 4℃恒温箱恒温驯化 20 d，然后转入 7.5℃的恒温箱恒温驯化 12 d，再转至 25℃的培养箱中继续培养 4 d，最后转至 30℃恢复 3 d 后观察记录胚胎发育状况，观察方法见 1.8。该处理设置了低于发育起点温度的 4℃，观察其对蝗卵发育的影响（图 1）。每个处理选取 10 个卵块，每个卵块选取 10 粒，即总共 100 粒卵。

1.8 观察方法

将不同处理条件下的卵粒取出，用毛刷轻轻剥离并混合，共检查约 100 粒卵。用浓度为 5% 的新配制的次氯酸钠溶液浸泡蝗卵 3~5 min，至卵粒呈亮黄色，以除去卵外层的角质层，以利于观察卵的发育阶段。将蝗卵放在实体显微镜（Leica Application Suite M205C, 软件系统 Version 3.3.0）下观察胚胎发育并拍照记录，对各发育阶段的胚胎形态进行分期。胚胎分期根据 Van Horn（1966）的蝗虫胚胎分期标准，将胚胎发育分为 1~27 期。

1.9 统计检验

发育期频次为特定发育期卵粒数占总供试卵粒数的比例。对不同处理的发育历期差异检验用 SPSS17.0 分析，采用非参数检验中的两独立样本的 Mann-Whitney U test，$P<0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 飞蝗胚胎发育特征描述

飞蝗胚胎发育特征与沙漠蝗 *Schistocerca nitens* 非常类似，可以分为 27 个发育阶段。其中与胚胎发育、滞育和存活有关的关键时期是胚胎翻转阶段，发生在 19 期至 22 期。胚胎滞育发生后不能完成胚转。这里详细介绍 4 个与胚转相关的关键阶段，即胚转开始阶段 18 期、胚转中 21 期、胚转结束阶段 23 期及发育后期（图 2）。

胚转前(18 期)：复眼边缘开始有红色色素沉积，所有的胫跗关节向头部拉伸，使得胫节和跗节平行。

胚转中(21 期)：前中胸节翻转，并在背部可见。

胚转后(23 期)：整个腹部翻转，胚转完成。胚胎现在大约是卵的 2/3 长，上唇的后唇须、唇叶可见。

发育后期(27 期)：外表皮色素沉积完成，所有腿部的胫骨和跗骨上都有刺状突起。

2.2 正常温度条件下飞蝗的胚胎发育

飞蝗卵块在 30℃孵育 6 d 或者 9 d 时胚胎的发育状况如图 3。两个时间点分别检查了 100 粒

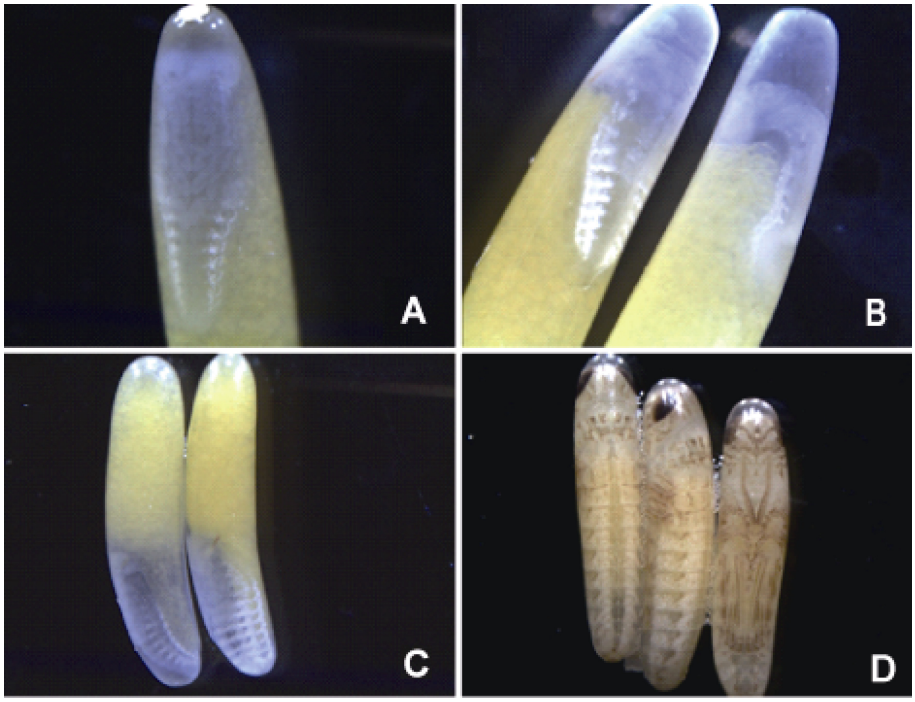

图 2　4 个关键胚胎发育期

Fig. 2　Four key embryonic developmental stages

A. 胚转前（18 期）； B. 胚转中（21 期）； C. 胚转后（23 期）； D. 孵化前（27 期）。

A. Pre-embryo revolution (stage 18th); B. Embryo revolution (stage 21st); C. Post-embryo revolution (stage 23rd); D. Pre-hatchling (stage 27th).

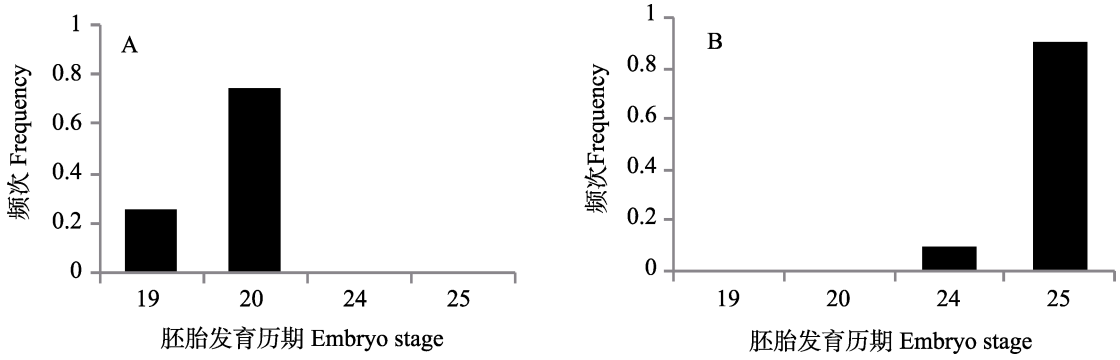

图 3　飞蝗卵在正常温度条件(30℃)下分别孵育 6 d(A)和 9 d(B)后的胚胎发育历期

Fig. 3　Embryonic development at normal temperature (30℃) of incubation for 6 days (A) and 9 days (B)

频次（Y 轴）表示某个发育历期（X 轴所示）的卵占所有检测卵的比例。

Frequency in the Y axis indicates the proportion of embryos at specific stage in all embryos examined.

卵。结果显示，6 d 时胚胎发育集中在胚转之前，平均发育历期为 19.8 期（图 3：A）。发育到 9 d 时，大部分胚胎已经完成胚转，将近 90%集中在 25 期，平均发育历期为 24.9 期（图 3：B）。而且在常温恒温下胚胎发育整齐，只分布在相邻两个历期。

2.3　中期恒定低温对飞蝗胚胎的发育影响

2.3.1　胚胎中期恒定低温后无恢复对胚胎发育的影响　为了研究非致死低温诱导对胚胎发育的影响，设计了飞蝗卵块在 30℃孵育 6 d，然后转至 7.5℃的恒温箱培养 24 d、40 d 和 45 d 3 个处理。从图 4 可以看出，飞蝗胚胎在 30℃发育 6d

后转入 7.5℃的恒温箱，胚胎的发育速度明显减缓（相比图 3：B）。在 7.5℃的恒温箱发育 24 d、40 d 和 45 d 后的平均历期分别为 21.2 期、21.8 期和 21.3 期。差异显著性分析发现，这 3 个历期处理对胚胎发育影响不显著，长时间低温诱导导致发育阶段明显分散。表明发育起点温度下的非致死低温诱导，非常明显地抑制了飞蝗的胚胎发育。

2.3.2 胚胎中期恒定低温后常温恢复对胚胎发育的影响 进一步研究了低温对胚胎发育的抑制能否在常温恢复后被解除。实验设计把飞蝗卵块放在 7.5℃的恒温箱分别驯化 16 d 和 42 d 后，再转至 30℃发育 3 d。从图 5 可以看出， 7.5℃处理 16 d 后，飞蝗胚胎的平均发育历期为 25.8 期（图 5：A），处理 42 d 的胚胎平均发育到 26.7 期（图 5：B），两者差异极显著（$P<0.01$）。而且与不经过低温诱导的胚胎（图 3：B）相比，发育显著变快（$P<0.01$）。以上结果说明，在 7.5℃培育时间的长短影响后期胚胎发育，但是 7.5℃低温处理不仅没有诱导胚胎滞育的发生，反而促进后期胚胎在常温下的发育。

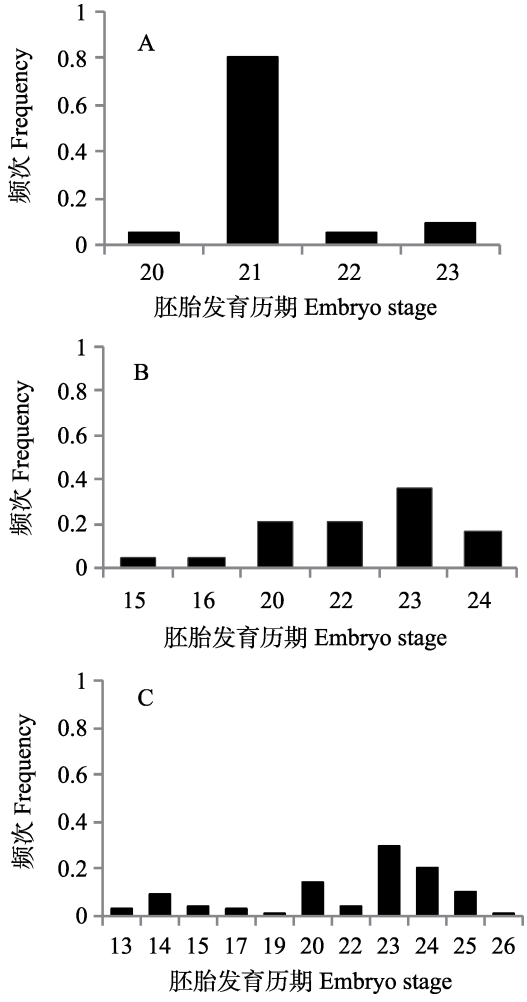

图 4 胚胎中期 7.5℃低温诱导对胚胎发育的影响

Fig. 4 Effect of low temperature (7.5℃) induction on embryonic development

分别低温诱导 24 d（A）、40 d（B）和 45 d（C）后检查飞蝗胚胎发育历期。

Embryos were incubated at 7.5℃ for 24 days (A), 40 days (B)and 45 days (C), respectively before embryo examination.

2.4 变温处理对飞蝗胚胎发育的影响

本实验设计了 30℃-7.5℃-25℃的变温处理。其中两处理比较了在 25℃孵育不同时间的

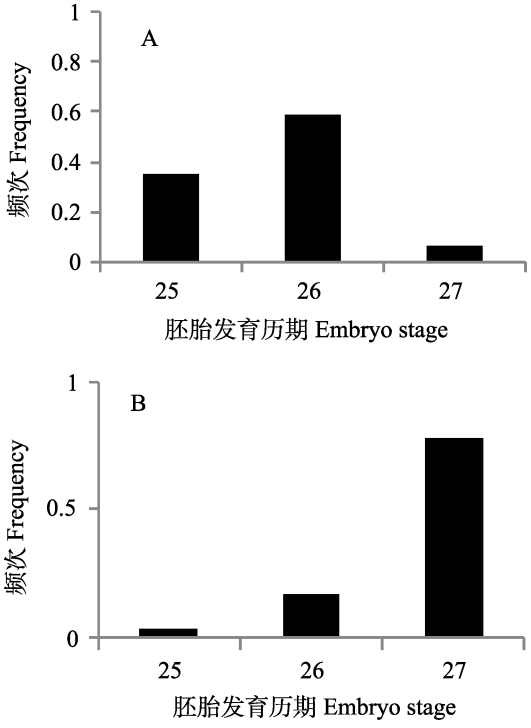

图 5 胚胎中期恒定 7.5℃低温后常温孵育对飞蝗胚胎发育的影响

Fig. 5 Embryo development after recovery from low temperature exposure at 7.5℃

在 30℃发育 6 d 的胚胎转移到 7.5℃孵育不同时间，然后恢复到 30℃发育 3 d。A. 7.5℃处理 16 d；B. 7.5℃处理 42 d。

The embryos were incubated at 7.5℃ for different days before recovery at 30℃. A. 16 days at 7.5℃; B. 42 days at 7.5℃.

效应。在 25℃下发育 3 d 和 12 d 的胚胎平均历期分别为 23.8 期（图 6：A）和 25.5 期（图 6：B），差异极显著（P<0.01）。与未经 25℃孵育的胚胎相比（平均历期 21.2 期，图 4：A），发育显著加快（P<0.01）。由此可见 7.5℃下长期低温处理后 25℃仍能较快恢复飞蝗胚胎的发育。

同时研究了另一变温条件，即在 7.5℃处理不同时间对胚胎发育的影响。飞蝗胚胎在 30℃发育 6 d 后转入 7.5℃的恒温箱分别发育 39 d 和 45 d，然后在 25℃恢复 5 d，平均发育历期分别为 24.4 期（图 6：C）和 24.5 期（图 6：D），胚胎发育无显著差异，但与 30℃下恢复后发育进度相比仍有显著差异（P<0.001）（图 5：B）。由上可知，25℃以下变温温度影响胚胎发育进展，但影响胚胎发育的限制因子是发育起点以上温度，该范围变温也不会诱导滞育的发生。

2.5　早期低温对胚胎发育的影响

将刚产 1~2 d 的卵块放入 4℃培养箱 20 d，然后转入 7.5℃的培养箱孵育 12 d，再转入 25℃培养箱孵育 4 d，最后转入 30℃的恒温箱孵育 3 d。观察发现胚胎平均发育期为 24.4 期（图 7）。表明早期胚胎低温处理没有在后期明显抑制胚胎发育，也不能诱导滞育的发生。

3　讨论

昆虫的胚胎发育自卵裂、胚盘、胚带、胚层及胚膜的形成，至胚胎的分节、附肢的形成、体壁形成及背合等是以复杂的过程，可划分为若干阶段（崔双双和朱道弘，2011）。直翅目的多个物种胚胎发育形态已经有报道（Van Horn，1966；Bentley *et al.*，1979）。这些研究将蝗虫胚胎发育

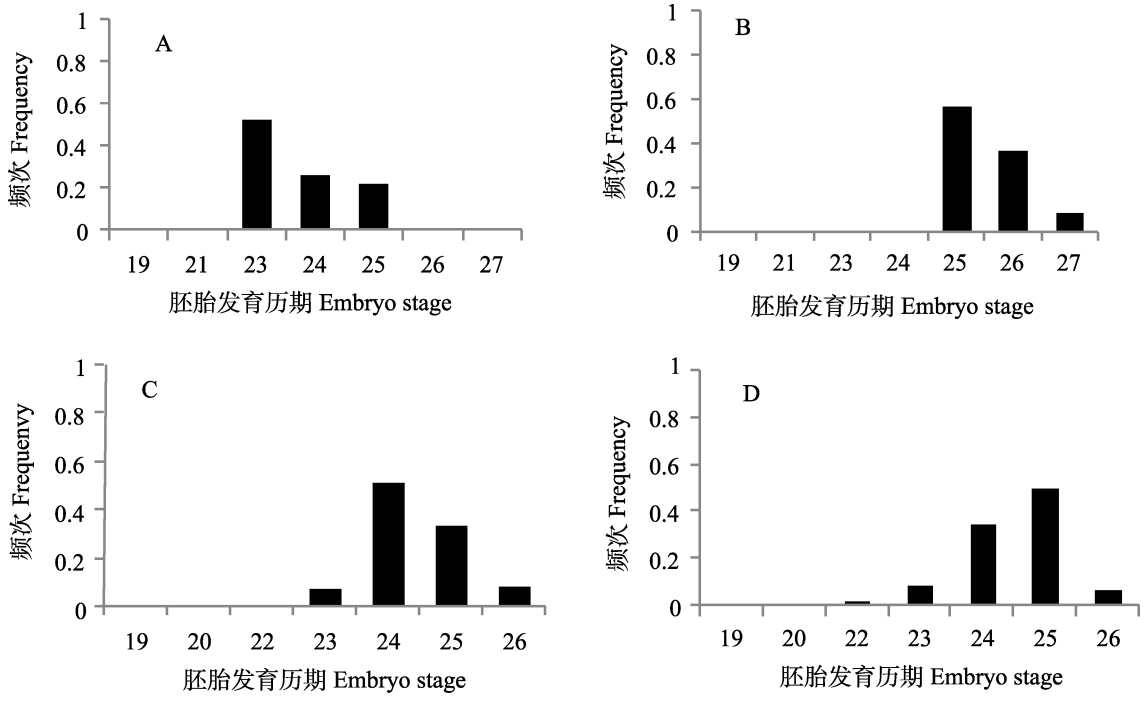

图 6　胚胎中期变温处理对胚胎发育的影响

Fig. 6　Effect of changing temperatures on embryo development

A. 30℃孵育 6 d 后，7.5℃处理 24 d，然后 25℃孵育 3 d；B. 30℃孵育 6 d 后，7.5℃处理 24 d，然后 25℃孵育 12 d；C. 30℃孵育 6 d 后，7.5℃处理 39 d，然后 25℃下发育 5 d；D. 30℃孵育 6 d 后，7.5℃处理 45 d，然后 25℃下发育 5 d。

A. Embryos exposed to 30℃ for 6 days, 7.5℃ for 24 days, followed by 25℃ for 3 days; B. Embryos exposed to 30℃ for 6 days, 7.5℃ for 24 days, followed by 25℃ for 12 days; C. Embryos exposed to 30℃ for 6 days, 7.5℃ for 39 days, followed by 25℃ for 5 days; D. Embryos exposed to 30℃ for 6 days, 7.5℃ for 45 days, followed by 25℃ for 5 days.

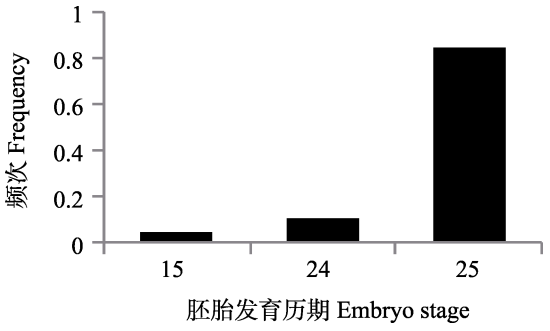

图 7 胚胎早期低温对飞蝗胚胎发育的影响

Fig. 7 Effect of low temperature at early stages on embryo development

30℃下刚产 1~2 d 的卵块放在 4℃的培养箱保存 20 d，然后转入 7.5℃的培养箱孵育 12 d，再转入 25℃培养箱孵育 4 d，最后转入 30℃的恒温箱孵育 3 d。

Embryos exposed to 30℃ for 6 days, 7.5℃ for 12 days, followed by 25℃ for 4 days, recovery at 30℃ for 3 days.

分为 27 期，而钦俊德等（1954）观察了在 30℃下的蝗卵在 14 d 内每天的发育情况，并将整个过程分为 18 期。本研究发现飞蝗胚胎在 30℃的发育完全可以区分为 27 期，与其他两种直翅目的发育接近，说明直翅目的胚胎发生特征非常保守。由于胚转过程是胚胎发育重要的环节，与胚胎滞育等密切关联，因此本文对胚转前、中、后的 4 个发育阶段进行了细致描述和清晰特征呈现，这为将来蝗虫胚胎发育研究和滞育研究提供很好的参考。

在胚胎发育特征鉴定的基础上研究了不同诱导条件，即胚胎发育中期恒定低温诱导、诱导后恢复、发育中期变温诱导、发育早期低温诱导等，对胚胎发育进程的影响。这是首次模拟自然条件对不同温度条件下的飞蝗胚胎发育进行系统分析。结果发现，7.5℃处理时间长短对胚胎发育影响不明显，但该低温培育时间长短影响后期常温下的胚胎发育。因此，低温驯化不仅抑制了胚胎的发育，而且对后期常温下的发育产生长远影响。有趣的是，7.5℃下长期低温后，25℃或 30℃孵育能较快恢复飞蝗胚胎的发育，甚至能促进在常温下的发育。这可能是生物体适应环境变化的一种应激反应，即通过低温驯化后，细胞对常温或者高温的反应更敏感（Chen and Kang，2005），能迅速启动正常的细胞反应和代谢功能，并调整和加快特定生理机制的发生，以尽快适应环境的变化。

昆虫的滞育受多种环境因子的影响，如温度、光周期、湿度，甚至食物的获得等（Denlinger and David，2002）。李瑞军（1999）研究发现，光周期也是飞蝗胚胎滞育的诱导因素之一。飞蝗在短光照下以产滞育卵为主。而低温条件可能有利于短光照下滞育的产生，即低温和短光照可以相互作用，促进滞育的发生。此外，种群或者品系的遗传背景也决定个体发生滞育的难易。例如，飞蝗不同地理种群，特别是我国南北种群（Li *et al*.，1998；Tanaka and Zhu，2008）滞育发生分化，北方种群更容易进入滞育。分析本研究中飞蝗卵在设定的温度如 4℃低温处理后，经 7.5℃-25℃-30℃升温处理仍能正常发育，低温没有诱导滞育的发生。这可能由于本实验室品系来自海南种群，该种群个体不滞育，而且该种群经过长期室内驯化，与滞育发生相关的遗传可能与北方野外种群不同，导致对温度这个诱导因子敏感性的降低。本研究发现温度作为单一环境因子不能有效诱导飞蝗滞育的发生，而可能需要与其他因子如光周期配合才能发挥作用。

本研究揭示了低温和变温诱导影响飞蝗胚胎发育的一般规律，并发现了适度低温驯化对胚胎正常条件下发育的促进作用。这种温度变化对胚胎的作用甚至可能通过母性效应影响下一代（Wang *et al*.，2012）。研究结果对揭示温度变化对个体发育和种群动态影响有重要的指导意义，并可用于飞蝗种群发生趋势的预测。

参考文献 (References)

Bentley D, Keshishian H, Shankland M, Raymond AT, 1979. Quantitative staging of embryonic development of the grasshopper, *Schistocerca nitens*. *J. Embryol. Exp. Morph*., 54: 47–74.

Chen B, Kang L, 2005. Insect population differentiation in response to environmental thermal stress. *Prog. Nat. Sci.*, 15(4): 289–296.

Cui SS, Zhu DH, 2011. Embryonic development and the stages of diapause incidence in the Chinese rice grasshopper,*Oxya chinensis*. *Chinese Journal of Applied Entomology,* 48(4):

845−853.[崔双双, 朱道弘, 2011. 中华稻蝗的胚胎发育及卵滞育发生的胚胎发育阶段. 应用昆虫学报, 48(4): 845−853.]

Denlinger, David L, 2002. Regulation of diapause. *Annu. Rev. Entomol.,* 47: 93−122.

Gullan PJ, Cranston PS, 2009. The Insects: An Outline of Entomology. Fourth Edition. Willey-Blackwell West Sussex. 590.

Guo F, Chen YL, Lu BL, 1991. China's migratory locust Biology. Jinan:Shandong Science and Technology Press. 2. [郭郛, 陈永林, 卢宝廉, 1991. 中国飞蝗生物学. 济南: 山东科学技术出版社. 2.]

Guo W, Wang XH, Ma ZY, Xue L, Han JY, Yu D, Kang L, 2011. CSP and Takeout genes modulate the switch between attraction and repulsion during behavioral phase change in the migratory locust. *PLoS Genetics,* 7(2): 1001291.

Jing XH, Kang L, 2003. Geographical variation in egg cold hardiness: a study on the adaptation strategies of the migratory locust *Locusta migratoria* L. *Ecol. Entomol.*, 28(2): 151−158.

Kang L, Li HC, Chen YL,1989.Analyses of numerical character variations of geographical populations of *Locusta migratoria* phase solitaria in China. *Acta Entomologica Sinica*, 32(4): 418−426. [康乐, 李鸿昌, 陈永林, 1989. 中国散居型飞蝗地理种群数量性状变异的分析. 昆虫学报, 32(4): 418−426.]

Li BX, Chen YL, Cai HL, 1998. Effects of photoperiod on embryonic diapause and reproduction in the migratory locusts in three geographic populations. *Entomol. Sin.*, 5(4): 342−349.

Li RJ, 1999. Studies on Characters of Diapause in *Locusta migratoria manilensis*(Meyen) (Orthoptera:Acrididae). Ph.D. Dissertation. Beijing: China Agricultural University. [李瑞军, 1999. 东亚飞蝗滞育特性的研究. 博士学位论文. 北京: 中国农业大学.]

Ma SJ, 1958. The occurrence dynamics of *Locusta migratoriamanilensis* (Meyen)in China. *Acta Entomologica Sinica*, 8: 1−40. [马世骏, 1958. 东亚飞蝗(*Locusta migratoriamanilensis* (Meyen))在中国的发生动态. 昆虫学报, 8: 1−40.]

Qin JD, Guo F, Zhai QH, 1956. Studies on the locust egg.Ⅱ. developmental changes of the locust egg during incubation and their possible physiological significances. *Acta Entomologica Sinica*,1(6): 37−61. [钦俊德, 郭郛, 翟啓慧, 1956. 蝗卵的研究Ⅱ. 蝗卵在孵育时的变化及其意义. 昆虫学报, 1(6): 37−61.]

Qin JD, Zhai QH, Sha CY, 1954. Studies on the locust egg. Ⅰ.morphological changes of the embryo during egg incubation. with special reference to the developmental stages of eggs collected from the field (Acridiidae; Orthoptera). *Acta Entomologica Sinica*, 4(4): 383−398.[钦俊德,翟启慧,沙槎云, 1954b. 蝗卵的研究Ⅰ. 亚洲飞蝗蝗卵孵育期中胚胎形态变化的观察及野外蝗卵胚胎发育期的调查. 昆虫学报, 4(4): 383−398.]

Tanaka H, 1994a. Embryonic diapause and life cycle in the migratory locust, *Locusta migratoria* L. (Orthoptera: Acrididae), in Kyoto. *Appl. Entomol. Zool.*, 29(2) 179−191.

Tanaka S, Zhu DH, 2008. Geographic variation in embryonic diapause, cold-hardiness and life cycles in the migratory locust *Locusta migratoria* (Orthoptera: Acrididae) in China. *Entomol. Sci.,* 11(3): 327−339.

TanakaH, 1994b. Geographic variation of embryonic diapause in the migratory locust, *Locust migratoria* L. (Orthoptera: Acrididae), in Japan. *Japanese Journal of Entomol.*, 62(4): 629−639.

Tauber MJ, Tauber CA, Masaki S, 1986. Seasonal Adaptions of Insects. Oxford : Oxford University Press.

Tian H, Stige LC, Cazelles B, Kausrud KL, Svarverud R, Stenseth NC, Zhang ZB, 2011. Reconstruction of a 1,910-y-long locust series reveals consistent associations with climate fluctuations in China. *PNAS*,108(35): 14521−14526.

Uvarov BP, 1966. Grasshoppers and Locusts: a Handbook of General Acridology. Cambridge: Cambridge University Press. 613.

Van Horn SN, 1966. Studies on the embryogenesis of *Aulocara ellioffi* (Thomas) (Orthoptera : Acrididae). *J. Morph.*, 120(1) :83−113.

Wang HS, Ma ZY, Cui F, Wang XH, Guo W, Lin Z, Kang L, 2012. Parental phase status affects the cold hardiness of progeny eggs in locusts. *Funct. Ecol.*, 26(2): 379−389.

Wang XH, Kang L, 2005. Differences in egg thermotolerance between tropical and temperate populations of the migratory locust *Locusta migratoria* (Orthoptera:Acridiidae). *Journal of Insect Physiol.*, 51: 1277−1285.