

不同体色茶翅蝽成虫外部形态结构变化的几何形态学分析*

潘鹏亮^{1,2**} 张方梅^{1,2} 洪 枫^{1,2} 郭世保^{1,2} 周 洲^{1,2}
乔 利^{1,2} 尹 健^{1,2} 耿书宝^{1,2***}

(1. 信阳农林学院农学院, 信阳 464000; 2. 信阳生态研究院, 信阳 464000)

摘 要 【目的】自然界中有不同体色的茶翅蝽 *Halyomorpha halys*, 本文利用几何形态学方法对不同体色和不同性别茶翅蝽成虫外部形态差异进行分析, 明确其体色分化是否存在形态学上的差异。【方法】利用平板扫描仪获取茶翅蝽前胸背板、前翅和后翅图像; 通过 tpsDig 软件进行标记点和半标记点的获取; 在 MorphoJ 中进行普氏拟合 (Procrustes fit) 后, 得到几何中心大小 (Centroid size) 和普氏坐标 (Procrustes coordinates), 并在 SPSS 中用于各部位大小变化的分析; 对不同体色类型和性别等数据合并后, 进行形状变化分析; 最后通过普氏坐标与几何中心大小进行回归分析, 其产生的残差用于评估移除异速生长的形状差异, 并进行交叉判别分析。【结果】在几何中心大小方面, 不同体色茶翅蝽雌性前胸背板 ($P_{\text{标记点}}=0.005$, $P_{\text{半标记点}}=0.003$) 和后翅 ($P_{\text{标记点}}=0.045$)、雄性前胸背板 ($P_{\text{标记点}}=0.042$) 差异显著, 相同体色不同性别茶翅蝽前胸背板 ($P_{\text{浅色体型}}<0.050$, $P_{\text{深色体型}}<0.001$)、前翅 ($P_{\text{深色体型}}=0.020$) 和后翅 ($P_{\text{两种体色类型}}<0.050$) 差异显著。在平均形状变化上, 深色体型雌雄间前胸背板差异显著 ($P<0.050$), 交叉判别正确率分别为 90% 和 80%; 雌性在不同体色上差异显著 ($P<0.050$), 利用前胸背板标记点和半标记点, 以及前翅标记点判别正确率分别超过 90% 和 76%。以体色和性别作为独立处理时, 利用前胸背板进行交叉判别, 雌性正确率大于 90%, 利用前翅标记点时深色雌性正确率最高达到 100%, 深色雄性最高为 91.67%。去除异速生长后, 标记点方法除了后翅外, 其它部位判别正确率均有提高。【结论】利用几何形态学方法可以明确茶翅蝽体色变化与局部形态变化关系, 可以用于种内不同性别间差异分析。

关键词 茶翅蝽; 体色; 形态变化; 标记点; 半标记点

Geometric analysis of morphological variation between different body color biotypes of *Halyomorpha halys*

PAN Peng-Liang^{1,2**} ZHANG Fang-Mei^{1,2} HONG Feng^{1,2} GUO Shi-Bao^{1,2}
ZHOU Zhou^{1,2} QIAO Li^{1,2} YIN Jian^{1,2} GENG Shu-Bao^{1,2***}

(1. School of Agronomy, Xinyang Agriculture and Forestry University, Xinyang 464000, China;

2. Xinyang Academy of Ecological Research, Xinyang 464000, China)

Abstract [Aim] To use geometric morphometry to determine whether there are differences in morphology between the different color biotypes of *Halyomorpha halys* adults. [Methods] A flatbed scanner (Microtek MRS-9600TFU2L) was used to capture images of the pronotum, forewing, and hindwing of adult *H. halys*. Data on landmarks and semi-landmarks were obtained by digitizing these and using the draw curves function in tpsDig2. After Procrustes fit in MorphoJ, centroid size and Procrustes coordinates were calculated and imported into SPSS for estimating size variation. After collating the data from different body-color types and genders, shape variation was analyzed using MorphoJ software. Finally, regression was

*资助项目 Supported projects: 河南省中央引导地方科技发展基金项目 (Z20221341063); 河南省高等学校重点科研项目 (19A210021, 24B210012); 信阳生态研究院开放基金 (2023XYQN08); 信阳农林学院科技创新团队 (KJCXTD202001, XNKJTD-007)

**第一作者 First author, E-mail: 2014180001@xyafu.edu.cn

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: shubaogeng@163.com

收稿日期 Received: 2024-02-02, 接受日期 Accepted: 2024-04-11

performed on the procrustes coordinates and centroid size. The residuals were used to assess differences in shape independent of size, and for a cross-validation test. **[Results]** Dark and light-colored biotypes differed significantly in the size of the pronotum ($P_{\text{landmark}}=0.005$, $P_{\text{semi-landmark}}=0.003$) and hindwings ($P_{\text{landmark}}=0.045$) of females and in the pronotum ($P_{\text{landmark}}=0.042$) of males. There was also significant sexual size dimorphism in the pronotum ($P_{\text{light-color}}<0.050$, $P_{\text{dark-color}}<0.001$), forewings ($P_{\text{dark-color}}=0.020$) and hindwings ($P_{\text{both color}}<0.050$) within the same biotype. There was sexual dimorphism in the shape of the pronotum ($P<0.050$) in the dark-colored biotype. Cross-validation indicated that 90% of males and 80% of females were correctly classified. Female morphology differed significantly between biotypes ($P<0.050$). Landmarks and semi-landmarks on the pronotum correctly classified > 90% of specimens, whereas those from the forewings correctly classified > 76%. When biotype and sex were analyzed as independent factors, cross-validation of pronotum data indicated that > 90% of all females had been correctly classified. Data from forewing landmarks correctly classified 100% of females, and 91.67% of males from the dark-color biotype. Controlling for allometric effects further improved the results, except for hindwing data. **[Conclusion]** Geometric morphometrics can be used to determine the relationship between body-color biotype and local morphological variation in *H. halys*, which, in turn, can be used to analyze sexual dimorphism in size and shape in this species.

Key words *Halyomorpha halys*; body color; morphological variation; landmarks; semi-landmarks

茶翅蝽 *Halyomorpha halys* 主要危害果树和蔬菜, 寄主植物有 100 多种, 其中最喜食蔷薇科和豆科植物。近年来, 已发展为农林业的主要害虫, 同时作为入侵害虫已受到全世界的关注 (Fornasiero *et al.*, 2023)。一些害虫体色多变, 如烟蚜 *Myzus persicae* 有红色型、绿色型和褐色型, 它们对烟草适应性上有差异 (何应琴等, 2017), 在形态上也有一定的区别 (王茂涛和张孝羲, 1991)。茶翅蝽体色变化也较大, 从棕褐色、半金绿色到全金绿色不等, 腹面颜色有黄色或橙红色 (卜文俊和刘国卿, 2018), 但不同体色间是否存在形态差异暂不明确。关于昆虫体色的演化和分化很早就受到人们的注意, 也产生了不同的体色分化机理观点, 并利用试验手段证明了体色分化的实践意义 (程茂高等, 2005; 程文达等, 2023)。昆虫体色的分化是否会在体形上或某一部位产生显著的相应结构变化, 在解释其生态适应性或生态优势等方面具有重要意义。

在形态比较, 尤其是具有细微差异生物个体的比较方面, 几何形态学得到广泛应用 (Arriaza *et al.*, 2023; Escobar-Ramírez and Manríquez, 2023; Shui *et al.*, 2023)。近年来几何形态学在昆虫分类、系统发育、昆虫自动鉴定等领域应用广泛 (闫宝荣和花保祯, 2010; 杨红珍等, 2013; 秦仕明等, 2023), 在半翅目昆虫中主要集中于分类、系统发育、空间结构等方面 (李荣荣等, 2016, 2019), 但未见几何形态学应用于同一种类不同

体色昆虫外部形态变化的例子。因此, 本文拟利用该技术对两种体色差异较大的茶翅蝽成虫进行外部形态比较研究, 以明确体色的变化是否与体形变化有密切联系。

1 材料与方法

1.1 标本收集与整理

利用佳多高空诱控灯 (JDGK-2, 佳多科工贸股份有限公司), 在信阳农林学院校园内收集茶翅蝽成虫标本, 在室内分拣后, 按体色深浅进行分类, 最终选择背部颜色最深和最浅的两组做为研究对象 (图 1)。其中, 浅色体型雄虫 (图 1: A) 16 头, 浅色体型雌虫 (图 1: B) 30 头, 深色体型雄虫 (图 1: C) 30 头, 深色体型雌虫 (图 1: D) 30 头, 共 106 头标本。

1.2 图像获取

利用中晶平台扫描仪 (Microtek MRS-9600TFU2L, 上海中晶科技有限公司) 对茶翅蝽背面进行图像采集, 为消除图像阴影, 使用平面光源 [HHXC1002, 10 W (45×0.2 W/LED 模块) 松下电子机器 (北京) 有限公司] 进行补光。扫描仪工作模式为正片, 24 位彩色, 分辨率为 2 400 dpi, 图像保存为 jpg 格式。背面图像采集后, 使用镊子和剪刀摘除前翅和后翅, 并把翅平展在载玻片上。由于后翅有折叠, 在处理时需要借助水的张力使其充分舒展, 在此借鉴了

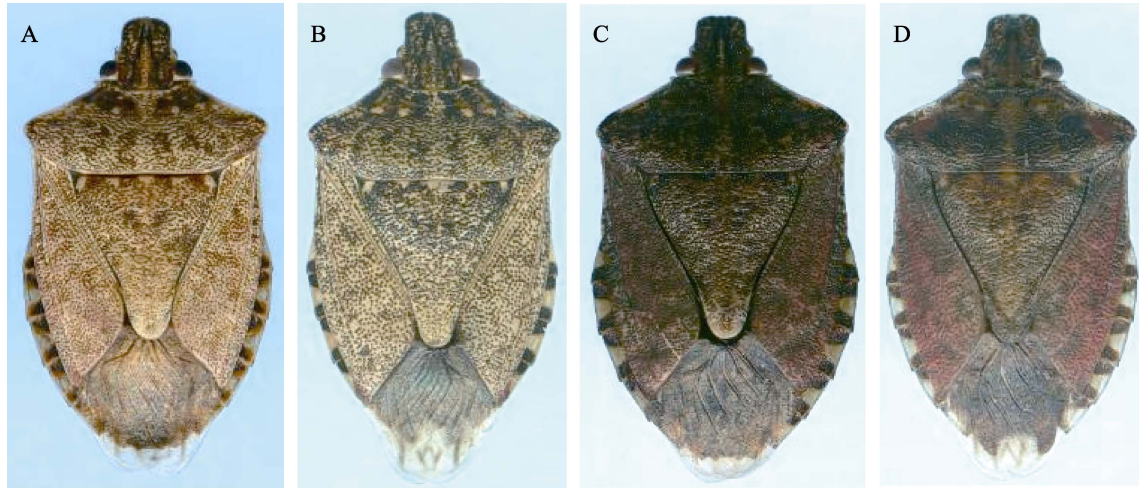


图 1 茶翅蟥不同体色类型

Fig. 1 Different body-color biotypes of *Halyomorpha halys*

A. 浅色雌性; B. 浅色雄性; C. 深色雌性; D. 深色雄性。

A. Light-color biotype female; B. Light-color biotype male; C. Dark-color biotype female; D. Dark-color biotype male.

蝴蝶翅标本制作的方法(潘鹏亮等, 2008), 改用载玻片从水中捞取茶翅蟥前翅和后翅, 之后用扫描背面图像的方法进行前翅和后翅图像的采集。

1.3 数据收集与整理

本试验主要收集了不同体色茶翅蟥成虫前胸背板、前翅和后翅 3 个部位的标记点和半标记点数据。使用 tpsUtil 软件的“Build tps file from images”功能分别生成不同体色类型不同部位图片信息的 tps 文件。利用 tpsDig2 读取该 tps 文件后, 分别对前胸背板、前翅和后翅进行标记点获取(使用菜单 Modes-digitize landmarks, 或快捷按钮 ) , 对前胸背板外部轮廓和前翅膜区进行半标记点获取(使用曲线跟踪函数, 即菜单 Modes-draw curves 或快捷按钮 ) , 在 Options 菜单中勾选 Close curves)。其中, 标记点位置分布于各轮廓结构的顶点、突出点、翅脉交叉点或端点等; 前胸背板共 16 个、前翅 10 个、后翅 19 个(图 2: B, D, E)。前胸背板从左顶角开始顺时针至侧缘前端, 按距离分布 150 个半标记点(图 2: A)。前翅膜区从前缘膜片起始位置开始, 沿膜区轮廓按距离分布 60 个半标记点(图 2: C)。在数据收集过程中, 如遇到颜色过深无

法准确识别轮廓时, 可以通过软件自带的图像增强功能(使用菜单 Options-image tools: Enhance 或快捷按钮 ) 提高亮度, 以减少误差。

由于通过曲线跟踪函数获得的半标记点不考虑位置的同源性, 这些点为相应位置的对应点, 该函数添加了 MorphoJ 无法读取的控制行, 需要在文本编辑程序中把控制行中的相关信息进行批量替换。如前胸背板轮廓 150 个半标记点信息“LM=0, CURVES=1, POINT=150”替换为“LM=150”, 前翅膜区 60 个半标记点信息“LM=0, CURVES=1, POINT=60”替换为“LM=60”, 之后再导入 MorphoJ 进行数据分析。

1.4 数据分析

通过上述数据整理后的 tps 文件导入 MorphoJ, 对每一数据集进行异常值检测, 排除异常值, 并添加分类器。由于本文主要研究不同体色、不同性别间外部形态的差异, 因此使用体色类型和性别作为分类器。数据分析参考相关文献(Sontigun *et al.*, 2017), 各数据集先进行普氏拟合(New procrustes fit), 得到平均形状(Average shape)、几何中心大小(Centroid size)和普氏坐标(Procrustes coordinates)。

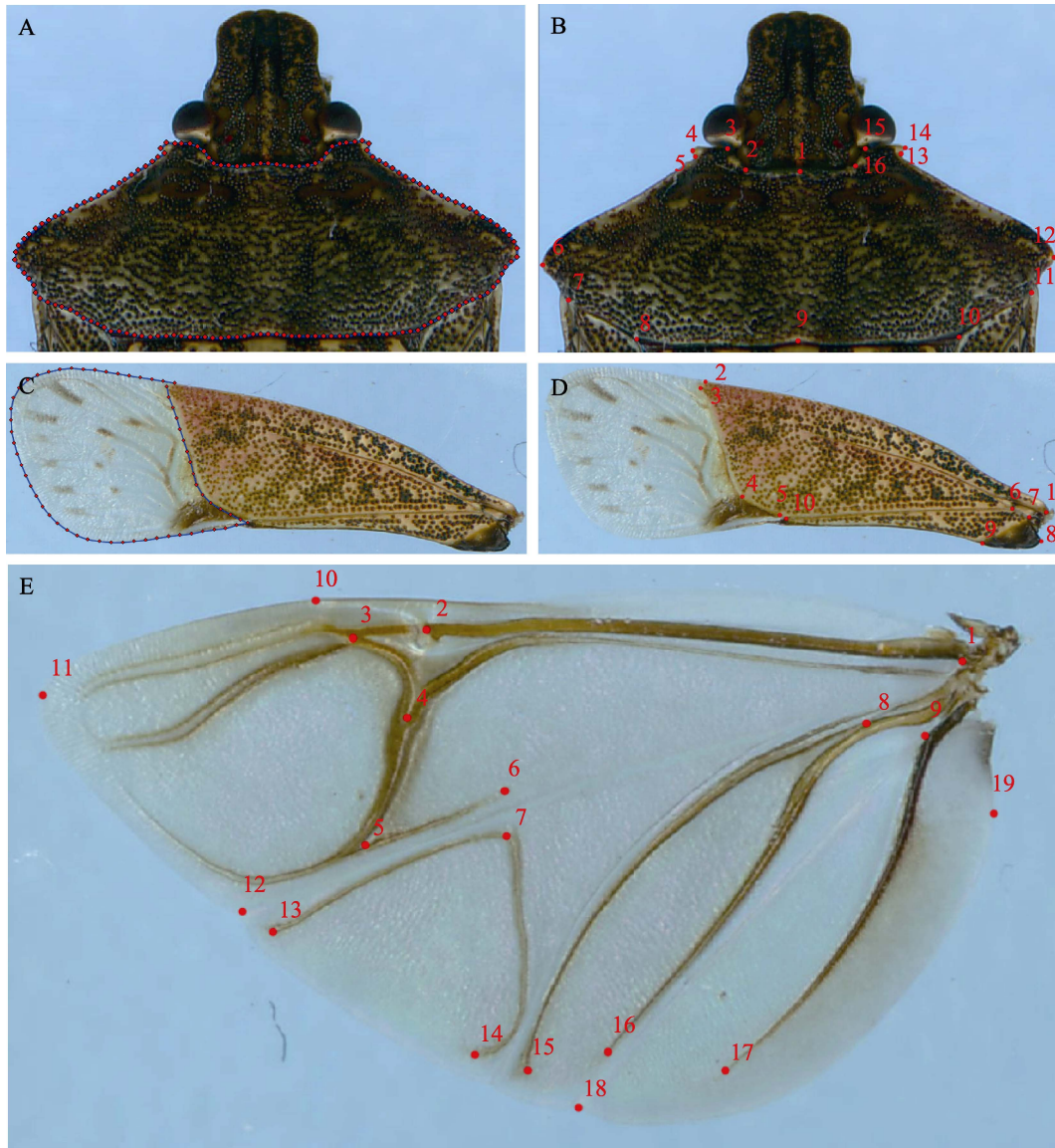


图2 茶翅蟥成虫前胸背板和前后翅标记点与半标记点位置
Fig. 2 Locations of landmarks and semi-landmarks from pronotum and wings of *Halyomorpha halys* adults

- A. 前胸背板 150 个半标记点; B. 前胸背板 16 个标记点; C. 前翅 60 个半标记点;
D. 前翅 10 个标记点; E. 后翅 19 个标记点。LM: 标记点; SLM: 半标记点。图 3 同。
A. Pronotum with 150 SLM; B. Pronotum with 16 LM; C. Forewing with 60 SLM;
D. Forewing with 10 LM; E. Hindwing with 19 LM. LM: Landmarks; SLM: Semi-landmarks. The same for Fig. 3.

各部位大小用几何中心大小进行评估, 大小差异用其几何中心大小数据在 SPSS 中进行非参数检验, 即进行曼-惠特尼 U 检验 (Mann-Whitney U -test), 在 SPSS v22.0 中进行。对同一体色雌雄或不同体色同一性别数据合并后, 进行各部位形状变化分析, 重新进行普氏拟合, 以性别或体

色类型作为分类器进行典型变量分析 (Canonical variate analysis, CVA), 平均形状中成对差异显著性的统计分析使用马氏距离和普氏距离排列检验 (10 000 次), 判别函数分析 (Discriminant function analysis, DFA) 用于评估判别的准确度。对不同体色不同性别的数据进行合并后, 分别以

体色类型和性别作为分类器, 进行典型变量分析、排列检验和判别函数分析, 形状变化的分析均在 MorphoJ v1.08.01 中进行。

为评估异速生长的影响, 不同体色类型和性别通过上述分析产生的普氏坐标与几何中心大小进行回归分析, 计算异速生长占总变异的百分比。通过普氏坐标对几何中心大小回归产生的残差评估移除异速生长的形状差异, 回归分析中的残差用于判别函数分析中基于马氏距离的交叉验证。

2 结果与分析

2.1 不同类型茶翅蜡各部位几何中心大小变化

通过茶翅蜡前胸背板、前翅和后翅进行标记点和半标记点所提取的形状特征, 计算其形状的几何中心大小并进行分析, 结果表明不同体色雌性前胸背板标记点 ($P=0.005$) 和半标记点 ($P=0.003$) 几何中心大小差异极显著, 后翅标记点 ($P=0.045$) 差异显著, 但前翅标记点 ($P=0.136$) 和半标记点 ($P=0.054$) 差异不显著。雄性除在前胸背板标记点 ($P=0.042$) 上有显著差异外, 在其他参数上均未达到显著水平 ($P>0.05$)。在性别对大小的影响方面, 同一色型不同性别在大小上具有显著差异, Mann-Whitney U 检验中 P 值均小于 0.001。以色列型为分类器, 在茶翅蜡雌雄混合样本中, 各参数大小无显著差异 (Mann-Whitney U 检验, P 值范围为 0.502-0.790, 均大于 0.05) (图 3)。因此, 同一体色不同性别间存在大小差异, 雌性前胸背板和后翅标记点组成的形状大小有差异, 前胸背板半标记点组成的形状大小也有差异; 雄性仅前胸背板标记点在不同体色间有差异。然而, 在混合样本中所测部位大小差异不显著。

2.2 不同类型茶翅蜡各部位形状变化

2.2.1 同一体色不同性别茶翅蜡间的形状变化
典型变量分析表明, 茶翅蜡浅色体型雌雄间在前胸背板形状上差异显著 ($P=0.0137$), 马氏距离

为 4.5037, 普氏距离达到极显著 ($P=0.0083$)。深色体型雌雄间在前胸背板 ($P<0.0001$) 和前翅 ($P=0.0009$) 标记点形状上达到极显著差异; 在前翅半标记点形状上差异也达到显著水平 ($P=0.0200$) (表 1)。通过判别函数进行排列检验结果表明, 深色体型雌雄间在前胸背板标记点形状上的正确率最高, 分别达到 90% 和 80%, 但同一部位使用半标记点其正确率有所下降 (表 2)。

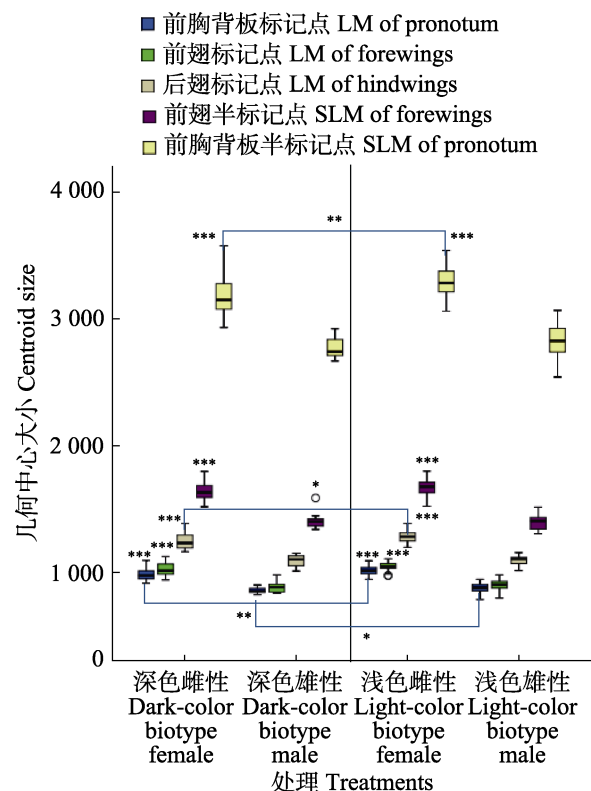


图 3 茶翅蜡成虫各部位几何中心大小在体色间或性别间的比较

Fig. 3 Comparison of centroid sizes among biotypes or genders from different segments of *Halyomorpha halys* adults

图中箱框上标注星号表示同一体色雌雄间差异水平, 跨列横线附近的星号表示同一性别不同体色茶翅蜡间差异水平 (* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, 曼-惠特尼 U 检验)。

Asterisks marked above the boxes indicate statistically significant difference between males and females within the same biotype; asterisks closed to the lines linked two boxes indicate statistically significant difference between biotypes in the same gender (* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, Mann-Whitney U -test).

表 1 同一体色茶翅蟥成虫雌雄各部位形状典型变量分析结果
Table 1 Results of canonical variate analysis of different segments from each biotype of *Halyomorpha halys* adults

体色类型 Biotypes	性别 Genders	标记点 Landmarks				半标记点 Semi-landmarks			
		前胸背板 Pronotum		前翅 Forewing		后翅 Hindwing		前翅 Forewing	
		雌性 Female	雄性 Male	雌性 Female	雄性 Male	雌性 Female	雄性 Male	雌性 Female	雄性 Male
浅色 Light-color	雌性 Female	0.018 4**		0.007 5		0.025 2**		0.008 5	0.032 5***
	雄性 Male	4.503 7*	1.419 0		9.793 6		2.904 2	4.386 9	
深色 Dark-color	雌性 Female	0.021 7***		0.015 0**		0.023 6**		0.023 3**	0.015 2*
	雄性 Male	5.078 2***	3.144 5**		5.890 4		5.024 3*	4.023 0	

加粗字体为马氏距离，非加粗字体为普氏距离，标有星号表示差异显著（利用 MophoJ 进行典型变量分析：* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ，*** $P<0.0001$ ）。表 3 和表 5-表 10 同。
Bold data mean Mahalanobis distances and normal data mean Procrustes distances. Data with asterisk indicate significant difference (Canonical variate analysis was done in MophoJ: * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.0001$). The same for Table 3 and Table 5-Table 10.

表 2 同一体色茶翅蟥成虫雌雄排列检验正确率
Table 2 Percentage of correctly classified specimens between sexes from each biotype of *Halyomorpha halys* adults

体色类型 Biotypes	性别 Genders	标记点 Landmarks				半标记点 Semi-landmarks			
		前胸背板 Pronotum		前翅 Forewings		后翅 Hindwings		前翅 Forewings	
		雌性 Female	雄性 Male	雌性 Female	雄性 Male	雌性 Female	雄性 Male	雌性 Female	雄性 Male
浅色 Light-color	雌性 Female	66.67% (20/30)		50.00% (13/26)		58.33% (14/24)		68.97% (20/29)	89.66% (26/29)
	雄性 Male	62.50% (10/16)		50.00% (7/14)		66.67% (8/12)		40.00% (6/15)	75.00% (12/16)
深色 Dark-color	雌性 Female	90.00% (27/30)		76.47% (13/17)		59.09% (13/22)		50.00% (15/30)	80.00% (24/30)
	雄性 Male	80.00% (24/30)		70.83% (17/24)		52.38% (11/21)		44.83% (13/29)	70.00% (21/30)

括号中的数字为正确归类的标本量/标本总量，百分数为正确分类比例。表 4 同。
Data in brackets mean the correctly classified specimens to total specimens. The percentages represent the proportion of classification. The same for Table 4.

2.2.2 同一性别不同体色茶翅蝽间的形状变化

通过典型变量分析, 雌性茶翅蝽前胸背板 ($P<0.000\ 1$)、前翅 ($P=0.000\ 4$)、后翅 ($P=0.000\ 6$) 标记点在不同体色类型间形状差异显著, 马氏距离分别为 5.341 9、3.355 5 和 9.877 1, 普氏距离达也达到极显著 ($P<0.01$) 差异, 但半标记点形状差异不显著 ($P>0.05$)。雄性在不同体色茶翅蝽间差异不显著 ($P>0.05$) (表 3)。通过判别函数进行排列检验结果表明, 雌性茶翅蝽在不同体色间其前胸背板标记点和半标记点, 以及前翅标记点几何形状的判别正确率较高, 深色体型达到 90% 以上, 而浅色体型相应部位达到 76% 以上 (表 4)。

2.2.3 茶翅蝽前胸背板标记点形状变化 前胸背板标记点组成的形状以色型和性别为分类器, 进行典型变量分析, 前两个变量 CV1 和 CV2 分别占总变异的 70.237% 和 19.742%, 累计占比 89.979%。从图 4 可以看出, 不同体色雌性茶翅蝽之间, 以及深体色雌雄间能够完全分离, 但不同体色雄性和浅体色雌雄间重合度较大。从第一个变量变形网格可以看出, 标记点 8、1、10、11、12、2、14 和 13 形状变化较大, 第二个变量在标记点 8、12、11、9、10、3、4、5、15 和 1 较明显。通过成对比较, 深体色雌性与各处理差异达到极显著 ($P<0.01$), 浅体色雌雄间差异也显著 ($P<0.05$), 其马氏距离范围为 2.633 3-5.474 7。而各处理普氏距离均达到显著及以上差异 ($P<0.05$), 其普氏距离范围为 0.014 3-0.029 8 (表 5)。交叉验证判别分析表明, 深色雌性在各对处理比较中均有较高的判别正确率 (90% 以上) (图 5)。

2.2.4 茶翅蝽前翅标记点形状变化 在前翅标记点形状典型变量分析中, 前两个变量 CV1 和 CV2 分别占总变异的 54.633% 和 37.234%, 累计占比 91.867%。从图 6 可以看出, 不同体色和不同性别茶翅蝽之间均有一定程度的重合。从第一个变量变形网格可以看出, 标记点 6、1、4、10、9、5 和 3 形状变化较大, 第二个变量在标记点 5 和 4 较明显。通过成对比较, 深体色雌性与各处

理差异达到极显著 ($P<0.01$), 深体色雄性与各处理差异也显著 ($P<0.05$), 其马氏距离范围为 1.959 9-2.956 0。而浅体色雌雄间差异不显著 ($P>0.05$) (表 6)。交叉验证判别分析表明, 雌性深体色与浅体色对比中, 深体色正确率达到 100%, 在雄性对比中, 深色雄性的正确率为 91.67% (图 7)。

2.2.5 茶翅蝽后翅标记点形状变化 典型变量分析结果表明, 后翅标记点形状前两个变量 CV1 和 CV2 分别占 52.860% 和 25.718%, 累计占总变异的 78.578%。从图 8 中可以看出, 深色雌性与浅色雌性和浅色雄性间能够完全分离, 但其他处理间有一定程度的重合度。从第一个变量变形网格可以看出, 标记点 17、6、1、19 和 16 形状变化较大, 第二个变量在标记点 11、6、7、15、16、17、19、1、18、4 和 13 较明显。通过成对比较, 雌性深体色与浅体色间差异达到极显著 ($P<0.01$), 马氏距离为 4.683 1, 深体色雄性与浅体色雌雄间差异也显著 ($P<0.05$), 马氏距离为 4.358 6。各处理普氏距离均达到显著差异 ($P<0.05$), 其普氏距离范围为 0.017 5-0.037 9 (表 7)。交叉验证判别分析表明, 各对处理比较中判别正确率均不高 (最高仅 79.17%) (图 9)。

2.2.6 茶翅蝽前胸背板半标记点形状变化 典型变量分析结果表明, 前胸背板半标记点分析中, CV1 和 CV2 分别占总变异的 45.283% 和 33.592%, 累计占 78.875%。从图 10 可以看出, 各体色雌性与雄性, 以及雌性不同体色间均出现完全分离, 不同体色雄性间有较大程度的重合度。从第一个变量变形网格可以看出, 半标记点在前胸背板前缘顶角、后缘右侧和右侧缘处形状变化较大, 第二个变量在各缘线上有较明显的形状变化。通过成对比较, 各处理间差异均未达到显著 ($P>0.05$), 而马氏距离几乎都达到显著 (除雄性不同体色 $P>0.05$) (表 8)。交叉验证判别分析表明, 各对处理比较中判别正确率较高的为深色体型雌性与浅色体型雌性和雄性, 正确率最低为 79.31%, 最高为 100% (图 11)。

表 3 同性别不同体色茶翅蜡成虫各部位形状典型变量分析结果
Table 3 Results of canonical variate analysis of different segments between biotypes from each gender of *Halyomorpha halys* adults

性别 Genders	体色类型 Biotypes	标记点 Landmarks				半标记点 Semi-landmarks			
		前胸背板 Pronotum		前翅 Forewings		后翅 Hindwings		前翅 Forewings	
		浅色 Light-color	深色 Dark-color	浅色 Light-color	深色 dark-color	浅色 Light-color	深色 Dark-color	浅色 Light-color	深色 Dark-color
雌性 Female	浅色 Light-color		0.029 8***		0.014 6**		0.024 4***		0.008 4
	深色 Dark-color	5.351 9***		3.355 5**		9.877 1**		3.633 0	4.263 5
雄性 Male	浅色 Light-color		0.014 3*		0.014 3*		0.025 1**		0.011 4
	深色 Dark-color	3.237 6		3.237 6		15.029 3		2.402 9	3.038 9

表 4 同性别不同体色茶翅蜡成虫排列检验正确率
Table 4 Percentage of correctly classified specimens between biotypes from each gender of *Halyomorpha halys* adults

性别 Gender	体色 类型 Biotypes	标记点 Landmarks				半标记点 Semi-landmarks			
		前胸背板 Pronotum		前翅 Forewings		后翅 Hindwings		前翅 Forewings	
		浅色 Light-color	深色 Dark-color	浅色 Light-color	深色 Dark-color	浅色 Light-color	深色 Dark-color	浅色 Light-color	深色 Dark-color
雌性 Female	浅色 Light-color	83.33% (25/30)	90.00% (27/30)	76.92% (20/26)	100.00% (17/17)	79.17% (19/24)	72.72% (19/24)	31.03% (9/29)	79.31% (23/29)
	深色 Dark-color	90.00% (27/30)	50.00% (8/16)	100.00% (17/17)	50.00% (8/16)	72.72% (19/24)	58.33% (7/12)	36.67% (11/30)	93.33% (28/30)
雄性 Male	浅色 Light-color	50.00% (8/16)	50.00% (15/30)	50.00% (8/16)	50.00% (15/30)	58.33% (7/12)	66.67% (14/21)	53.33% (8/15)	62.50% (10/16)
	深色 Dark-color	50.00% (15/30)		50.00% (15/30)		66.67% (14/21)		62.07% (18/29)	63.33% (19/30)

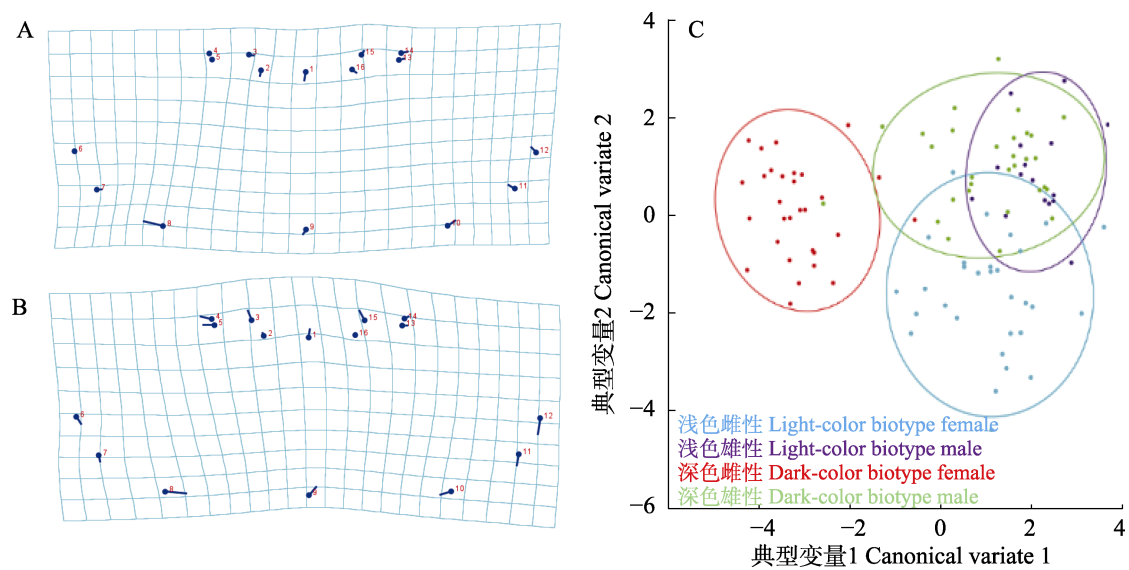


图 4 茶翅蜡成虫前胸背板标记点形状变形网格和变量得分散点图
Fig. 4 Transformation grids of the shape changes and scatter plot of canonical variate scores for pronotum landmarks of *Halyomorpha halys* adults

A. 典型变量 1; B. 典型变量 2; C. 变量得分散点图。
A. Canonical variate 1; B. Canonical variate 2; C. Scatter plot from canonical variate scores.

表 5 茶翅蜡成虫前胸背板标记点典型变量分析结果
Table 5 Results of canonical variate analysis with data of pronotum landmarks of *Halyomorpha halys* adults

	深色雌性 Dark-color female	深色雄性 Dark-color male	浅色雌性 Light-color female	浅色雄性 Light-color male
深色雌性 Dark-color female		0.021 7***	0.029 8***	0.022 3**
深色雄性 Dark-color male	4.443 4***		0.018 8***	0.014 3*
浅色雌性 Light-color female	4.580 4***	2.756 4**		0.018 4**
浅色雄性 Light-color male	5.474 7***	2.633 3	3.156 6*	

2.2.7 茶翅蜡前翅膜区半标记点形状变化 典型变量分析结果表明,前翅膜区轮廓半标记点分析中,CV1 和 CV2 分别占总变异的 66.111%和 23.653%,累计占 89.764%。从图 12 可以看出,各体色雌性与雄性,以及雌性不同体色间均出现完全分离,但不同体色雄性间在两个变异方向上有较大程度的重合度。从第一个变量变形网格可以看出,半标记点在前翅膜区后内角处形状变化较大,第二个变量除在前翅膜区后内角处外,在前缘和外缘也较明显。通过成对比较,只有两种体色雄性间的差异达到极显著 ($P<0.01$),马氏距离为 5.495 3 (表 9)。交叉验证判别分析表明,各对处理比较中判别正确率均不高 (最高仅 72.41%) (图 13)。

2.3 异速生长的影响

茶翅蜡不同体色前胸背板、前翅和后翅标记点形状中,由异速生长产生变异的预测值分别为 4.692 8%、1.899 9%和 6.138 5%,其中前胸背板 ($P=0.000\ 2$) 和后翅 ($P<0.000\ 1$) 标记点形状在不同体色中有极显著差异,而前翅 ($P=0.135\ 9$) 差异不显著,半标记点轮廓也存在极显著差异 ($P<0.000\ 1$)。同一体色不同性别间由异速生长引起的变异预测值范围为 2.623 2%-6.314 5%,其中,浅色型前胸背板 ($P=0.013\ 8$) 和后翅 ($P=0.046\ 9$)、深色型前胸背板 ($P=0.041\ 6$) 在不同性别间有显著差异,两种体色雌雄、深色型后翅无显著差异 ($P>0.05$)。半标记点前翅轮廓

在不同体色雌雄间均有极显著差异 ($P<0.01$) (表 10)。

去除异速生长因素后,与表 2 结果进行对比,

除后翅标记点形状在判别浅色型茶翅蜡雌雄样本时正确率有下降外,其余由标记点产生的形状在不同体色茶翅蜡雌雄判别中均有不同程度的

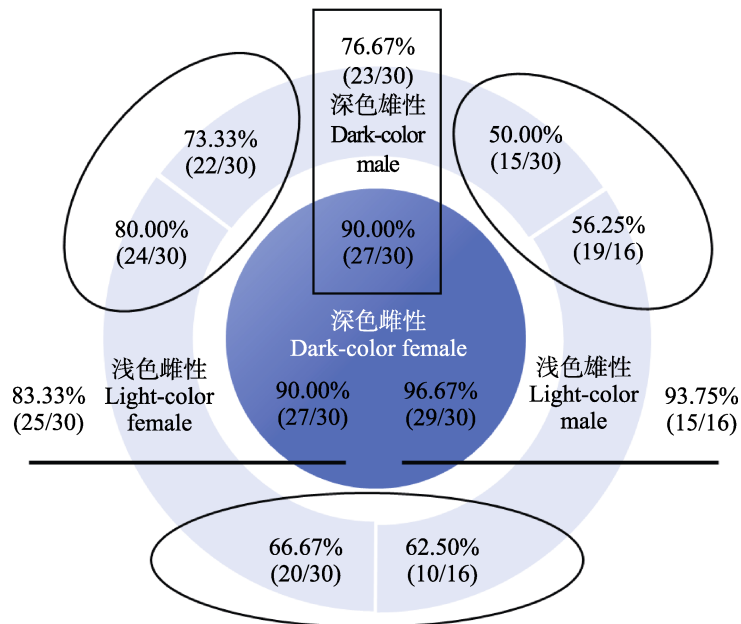


图 5 前胸背板标记点形状在茶翅蜡成虫各处理中的排列检验正确率

Fig. 5 Percentage of correctly classified specimens with data from pronotum landmarks of *Halyomorpha halys* adults in all treatments

括号中的数字为正确归类的标本量/总数量,百分数为正确分类比例。图 7、图 9、图 11 和图 13 相同。
Data in brackets mean the correctly classified specimens to total specimens. The percentages represent the proportion of classification. The same for Fig. 7, Fig. 9, Fig. 11 and Fig. 13.

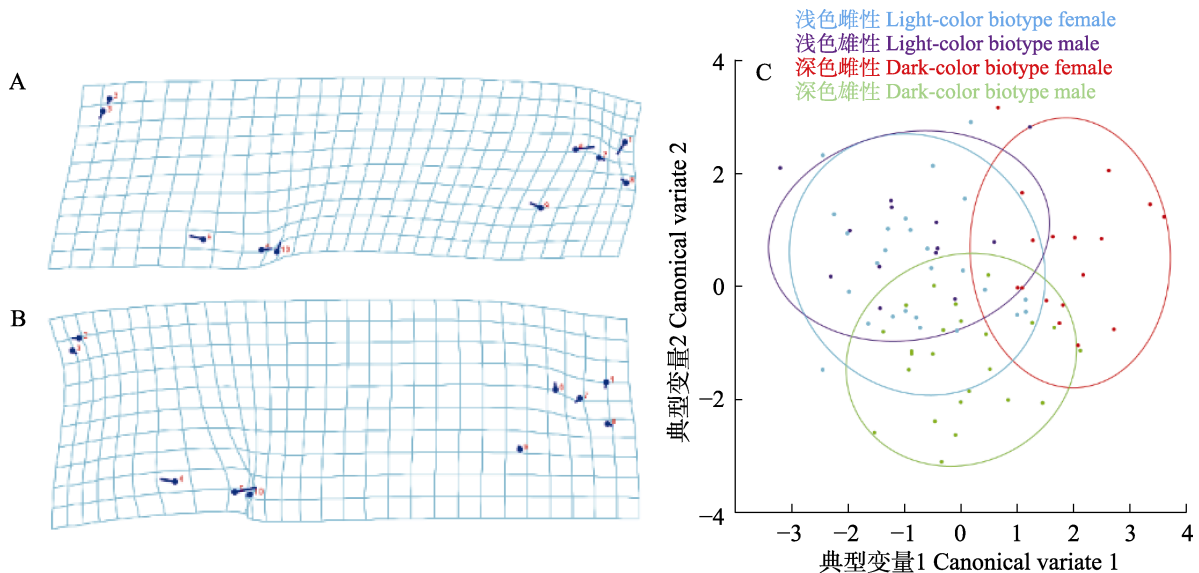


图 6 茶翅蜡成虫前翅标记点形状变形网格和变量得分散点图

Fig. 6 Transformation grids of the shape changes and scatter plot of canonical variate scores for forewing landmarks of *Halyomorpha halys* adults

A. 典型变量 1; B. 典型变量 2; C. 变量得分散点图。

A. Canonical variate 1; B. Canonical variate 2; C. Scatter plot from canonical variate scores.

表 6 茶翅蟥成虫前翅标记点形状典型变量分析结果

Table 6 Results of canonical variate analysis of forewing landmarks of *Halyomorpha halys* adults

	深色雌性 Dark-color female	深色雄性 Dark-color male	浅色雌性 Light-color female	浅色雄性 Light-color male
深色雌性 Dark-color female		0.015 0**	0.014 6**	0.013 7*
深色雄性 Dark-color male	2.707 8**		0.007 1	0.009 7
浅色雌性 Light-color female	2.753 6***	1.959 9*		0.007 5
浅色雄性 Light-color male	2.956 0**	2.455 0**	1.304 5	

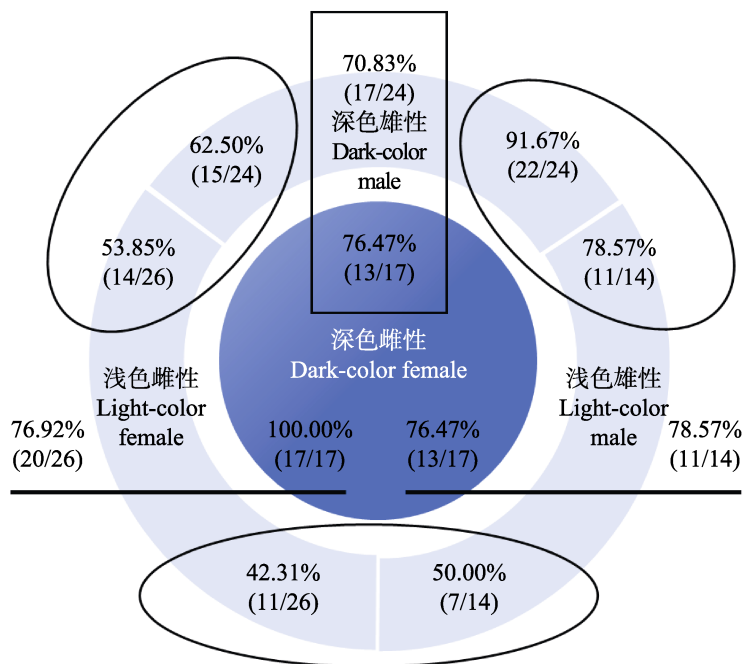


图 7 前翅标记点形状在茶翅蟥成虫各处理中的排列检验正确率

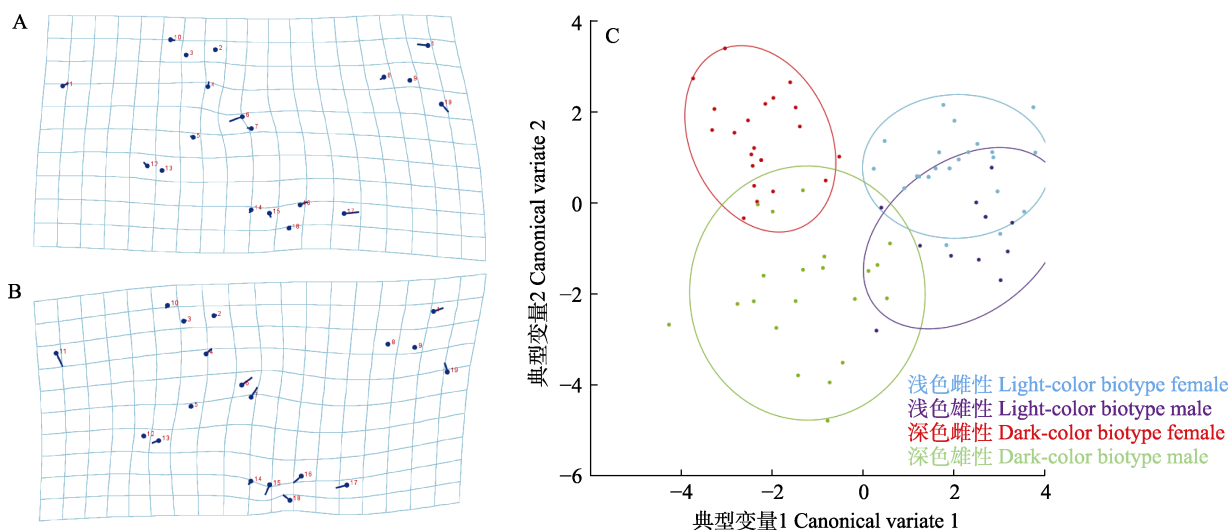
Fig. 7 Percentage of correctly classified specimens with data from forewing landmarks of *Halyomorpha halys* adults in all treatments

图 8 茶翅蟥成虫后翅标记点形状变形网格和变量得分散点图

Fig. 8 Transformation grids of the shape changes and scatter plot of canonical variate scores for hindwing landmarks of *Halyomorpha halys* adults

表 7 茶翅蟥成虫后翅标记点形状典型变量分析结果

Table 7 Results of canonical variate analysis of hindwing landmarks of *Halyomorpha halys* adults

	深色雌性 Dark-color female	深色雄性 Dark-color male	浅色雌性 Light-color female	浅色雄性 Light-color male
深色雌性 Dark-color female		0.023 6**	0.024 4**	0.037 9***
深色雄性 Dark-color male	3.749 7		0.017 5*	0.025 0**
浅色雌性 Light-color female	4.683 1***	4.358 6*		0.025 2**
浅色雄性 Light-color male	5.355 4	4.847 5	3.985 4	

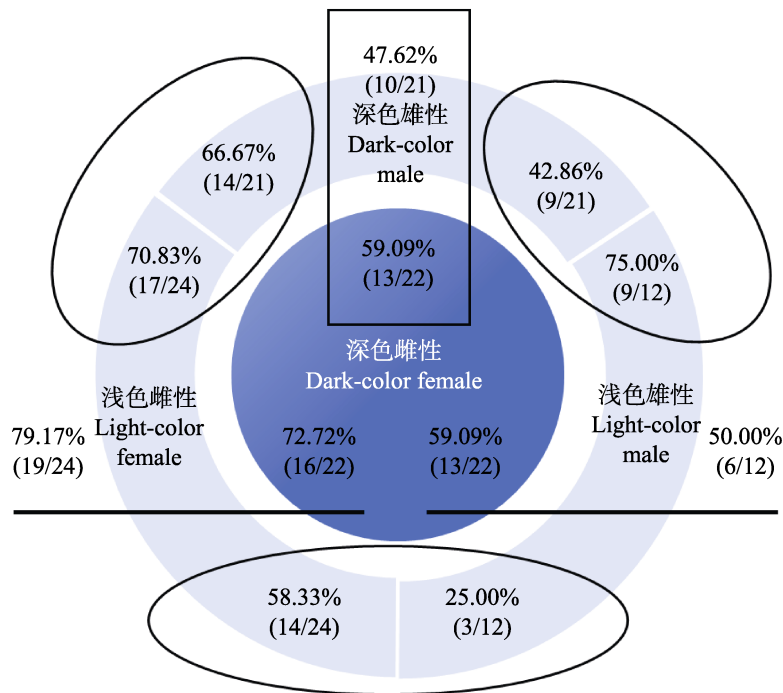


图 9 后翅标记点形状在茶翅蟥成虫各处理中的排列检验正确率

Fig. 9 Percentage of correctly classified specimens with data from pronotum landmarks of *Halyomorpha halys* adults in all treatments

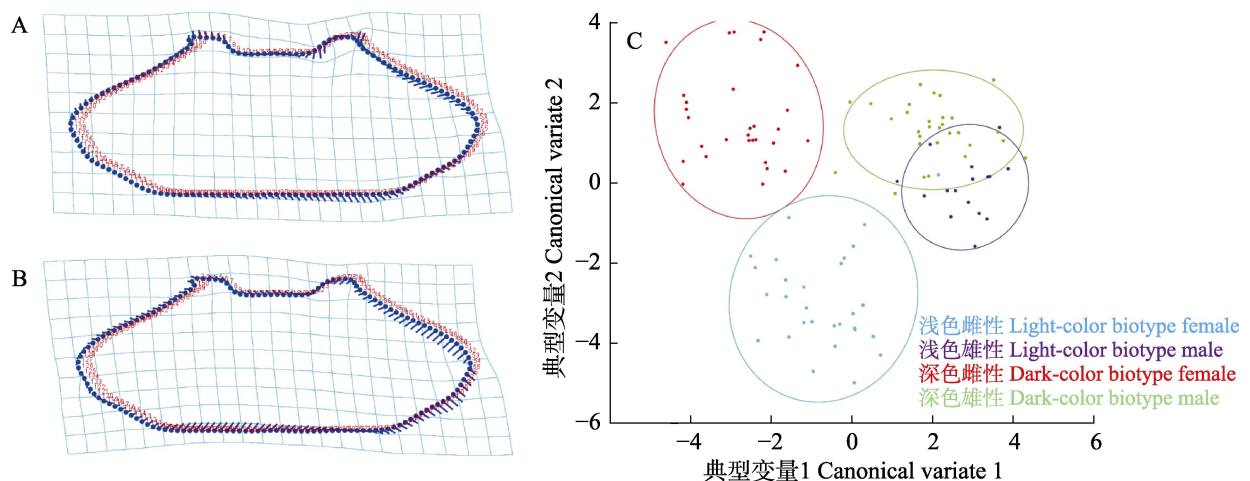


图 10 茶翅蟥成虫前胸背板半标记点形状变形网格和变量得分散点图

Fig. 10 Transformation grids of the shape changes and scatter plot of canonical variate scores for pronotum semi-landmarks of *Halyomorpha halys* adults

表 8 茶翅蟥成虫前胸背板半标记点典型变量分析结果

Table 8 Results of canonical variate analysis with data of pronotum semi-landmarks of *Halyomorpha halys* adults

	深色雌性 Dark-color female	深色雄性 Dark-color male	浅色雌性 Light-color female	浅色雄性 Light-color male
深色雌性 Dark-color female		0.015 2*	0.023 3**	0.024 5**
深色雄性 Dark-color male	5.297 6		0.027 1***	0.012 7
浅色雌性 Light-color female	5.068 2	5.139 0		0.032 5***
浅色雄性 Light-color male	6.352 2	4.845 8	5.672 0	

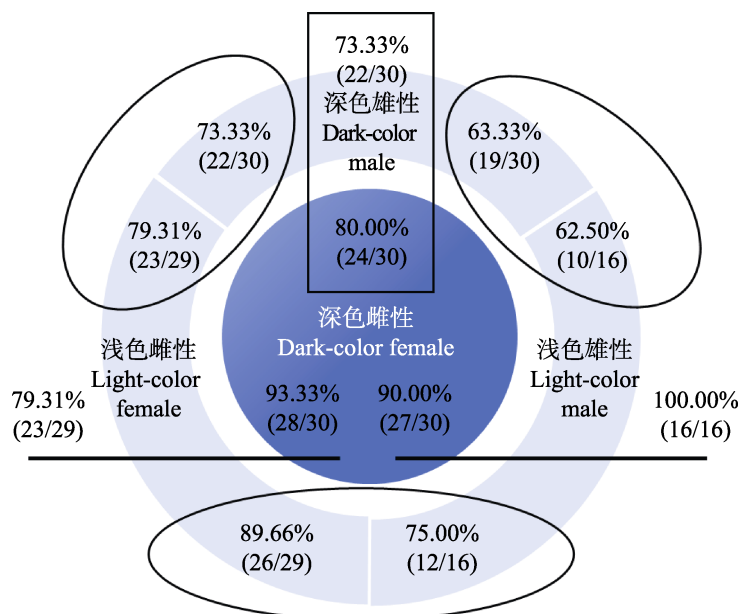


图 11 前胸背板半标记点形状在茶翅蟥成虫各处理中的排列检验正确率

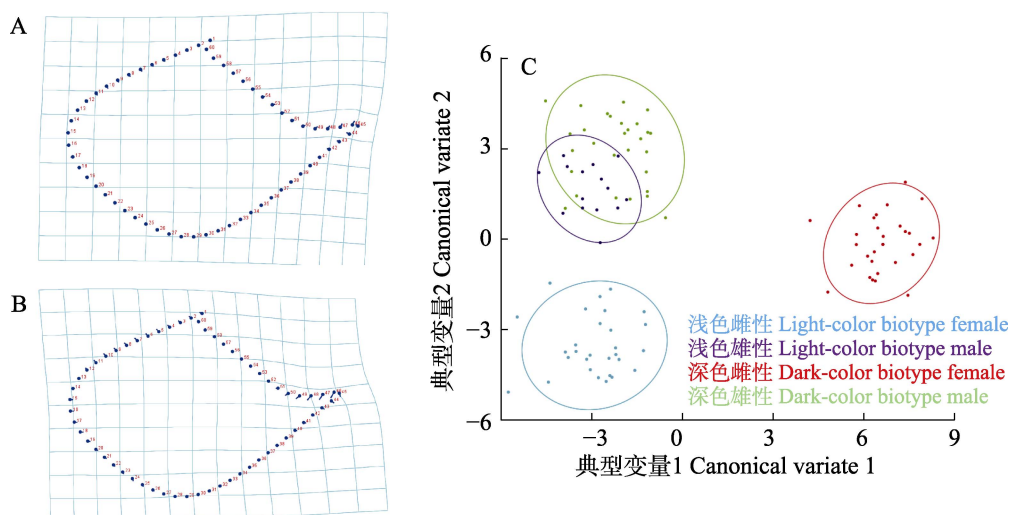
Fig. 11 Percentage of correctly classified specimens with data from pronotum semi-landmarks of *Halyomorpha halys* adults in all treatments

图 12 茶翅蟥成虫前翅半标记点形状变形网格和变量得分散点图

Fig. 12 Transformation grids of the shape changes and scatter plot of canonical variate scores for forewing semi-landmarks of *Halyomorpha halys* adults

表 9 茶翅蜡前翅半标记点形状典型变量分析结果

Table 9 Results of canonical variate analysis of forewing semi-landmarks of *Halyomorpha halys* adults

	深色雌性 Dark-color female	深色雄性 Dark-color male	浅色雌性 Light-color female	浅色雄性 Light-color male
深色雌性 Dark-color female		0.023 3***	0.008 4	0.014 0
深色雄性 Dark-color male	9.491 6		0.016 1**	0.011 4
浅色雌性 Light-color female	10.078 9	6.609 3		0.008 5
浅色雄性 Light-color male	10.430 5	5.495 3**	6.614 4	

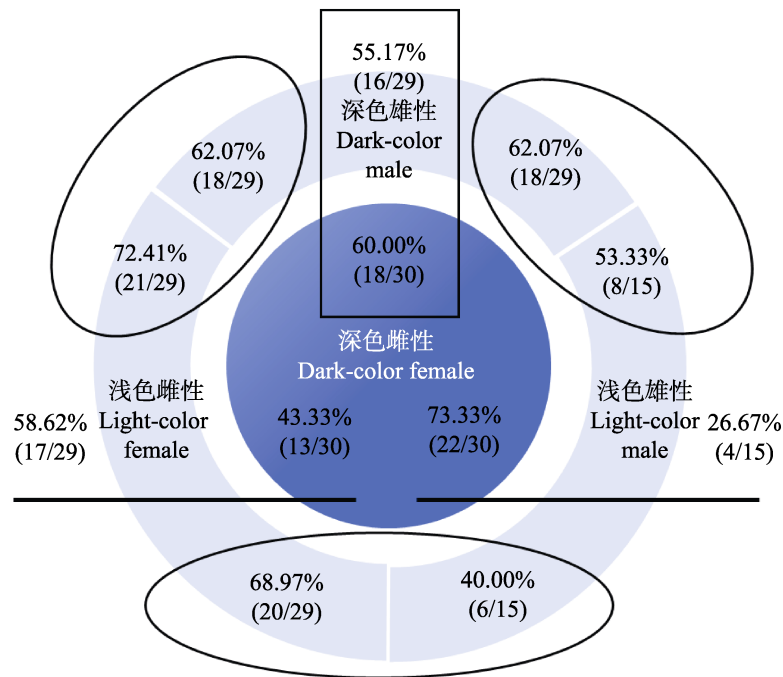


图 13 前翅半标记点形状在茶翅蜡成虫各处理中的排列检验结果

Fig. 13 Percentage of correctly classified specimens with data from forewing semi-landmarks of *Halyomorpha halys* adults in all treatments

提高。然而，由半标记点产生的形状在去除异速生长因素后，对雌雄样本的判别正确率均下降。

3 结论与讨论

本研究通过监测迁飞性害虫常用工具即高空灯进行标本收集，标本暂存在 75% 的乙醇溶液中，在后期处理时，尤其是对体色类型进行分类时，以背腹颜色综合表现为主，选择颜色差异较大的标本作为试验材料，对明显存在因其他因素导致的左右不对称的标本进行排除（Nattero *et al.*, 2017）。在对茶翅蜡不同部位进行处理时，尤其是对前后翅处理时只选择左侧翅膀，未使用右翅进行替换，导致在实际的数据分析中样本量

有差异，这也是考虑到大多数昆虫在自然生长过程中可能存在左右不对称性（Chang *et al.*, 2007），以减少试验误差。

有研究表明，在对大小和形状的几何分析中使用不同密度的半标记点方法可能会导致不同的分析结果（Shui *et al.*, 2023），但用某些部位的特征在物种或不同性别个体区分时是可行的（Howell *et al.*, 2022; Manríquez and Escobar-Ramírez, 2023; Tey *et al.*, 2024）。本研究中对茶翅蜡前胸背板进行半标记点分析结果不及标记点方法，从半标记点轮廓变化来看，前胸背板在不同处理中左右变异程度不同，反映出前胸背板极可能存在不对称性问题。

表 10 移除茶翅蜡成虫各部位异速生长因素后各处理回归分析预测值和判别正确率
Table 10 The predicted values from within-group regression and the correct rates of discrimination after removing allometric effects of segments of *Halymorphia halys* adults

标记点类型 Landmark types	部位 Segments	体色间 Between biotypes			性别间 Between genders		
		预测值 (%) Predicted value (%)	<i>P</i>	正确率 (%) Rate of discrimination (%)	预测值 (%) Predicted value (%)	<i>P</i>	正确率 (%) Rate of discrimination (%)
标记点 Landmarks	前胸背板 Pronotum	4.692 8	0.000 2	76.67 (46/60)	3.758 3	0.041 6	雌性 Female 96.67 (29/30)
							雄性 Male 83.33 (25/30)
	前翅 Forewings	1.899 9	0.135 9	78.05 (32/44)	3.729 5	0.159 3	雌性 Female 80.00 (24/30)
							雄性 Male 68.75 (11/16)
	后翅 Hindwings	6.138 5	<0.000 1	79.07 (34/43)	4.075 9	0.064 4	雌性 Female 88.24 (15/17)
							雄性 Male 95.83 (23/24)
	前翅 Forewings	12.161 4	<0.000 1	47.46 (28/59)	7.842 5	0.003 6	雌性 Female 84.62 (22/26)
							雄性 Male 92.86 (13/14)
半标记点 Semi-landmarks	前胸背板 Pronotum	11.155 9	<0.000 1	36.67 (22/60)	4.599 9	0.054 8	雌性 Female 81.82 (18/22)
							雄性 Male 61.90 (13/31)
	前翅 Forewings	10.830 0	34.09 (15/44)	86.11 (31/36)	5.212 5	0.046 9	雌性 Female 58.33 (14/24)
							雄性 Male 58.33 (7/12)
	后翅 Hindwings	11.155 9	<0.000 1	33.33 (15/45)	1.856 7	0.451 3	雌性 Female 50.00 (15/30)
							雄性 Male 41.38 (12/29)
	前胸背板 Pronotum	11.155 9	<0.000 1	36.67 (22/60)	4.599 9	0.054 8	雌性 Female 44.83 (13/29)
							雄性 Male 40.00 (6/15)
	前翅 Forewings	11.155 9	<0.000 1	36.67 (22/60)	4.599 9	0.054 8	雌性 Female 36.67 (11/30)
							雄性 Male 40.00 (12/30)
	后翅 Hindwings	11.155 9	<0.000 1	33.33 (15/45)	1.856 7	0.451 3	雌性 Female 41.38 (12/29)
							雄性 Male 31.25 (5/16)

加粗字体数据为深色体类型判别正确率, 正常字体为浅色体类型判别正确率; 括号内的数据为正确判别样本数量/样本总数量。Bold data show the accuracy rate for dark-color biotype of *H. halys* adults, and normal data for light-color biotype of *H. halys* adults. The data in brackets is the correctly identified specimens to total specimens.

翅脉在昆虫分类中占有重要地位,有研究表明利用几何形态学方法可对蜡蝉的某些属进行分类(蒋昕等, 2023),但在本研究中发现茶翅蜡前翅翅脉变化较大,无论选取翅脉交叉点还是选择翅脉端点,都无法达到标记点数量统一。因此,采用半标记点方法对前翅膜区轮廓形状进行了分析。

通过本研究,可以得出以下结论:(1)不同体色茶翅蜡雌性在前胸背板和后翅大小方面差异显著,雄性在前胸背板大小方面差异显著。同一体色不同性别间在前胸背板、前翅和后翅大小方面差异显著。(2)深色体型茶翅蜡雌雄间在前胸背板上存在显著的形状变化,交叉判别正确率分别达到 90%和 80%,但使用半标记点方法不能提高正确率。雌性茶翅蜡在不同体色类型间由标记点组成的形状上存在显著变化,利用前胸背板和前翅形状判别正确率分别超过 90%和 76%。(3)不同体色和性别作为独立处理进行分析时,前胸背板前缘和后缘在不同处理中变异明显,交叉验证判别分析中深色雌性判别正确率大于 90%。前翅标记点反映了革片和爪片的大小和形状,深色体型雌雄与其他处理均表现显著差异,交叉验证判别中深色雌性正确率最高达到 100%,深色雄性最高为 91.67%。(4)异速生长对各形状变化有不同程度的影响,去除异速生长后,除后翅标记点形状在判别浅色型茶翅蜡雌雄样本时正确率有下降外,其余均有不同程度的提高,但由半标记点产生的形状判别正确率均下降。

参考文献 (References)

- Arriaza MC, Aramendi J, Courtenay LA, Maté-González MÁ, Herranz-Rodrigo D, González-Aguilera D, Yravedra J, 2023. An evaluation of landmark-based methods to explore tooth score morphology: A case study on felids and hyenids. *Applied Sciences*, 13(6): 3864.
- Bu WJ, Liu GQ, 2018. Insect Fauna of the Qinling mountains 2 (Hemiptera/Heteroptera). Xi'an: World Publishing Xi'an Co., Ltd. 534–535. [卜文俊, 刘国卿, 2018. 秦岭昆虫志 2 (半翅目/异翅亚目). 西安: 西安世界图书出版西安有限公司. 534–535.]
- Chang XL, Zhai BP, Liu XD, Wang M, 2007. Effects of temperature stress and pesticide exposure on fluctuating asymmetry and mortality of *Copera annulata* (Selys) (Odonata: Zygoptera) larvae. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67(1): 120–127.
- Cheng MG, Qiao QM, Yuan GH, 2005. Progress of the research on body-color diversity in insects. *Chinese Bulletin of Entomology*, 42(5): 502–505. [程茂高, 乔卿梅, 原国辉, 2005. 昆虫体色分化研究进展. 昆虫知识, 42(5): 502–505.]
- Cheng WD, Xing S, Liu Y, 2023. Wallace's contributions and inspirations to contemporary research on the evolution of animal body color. *Biodiversity Science*, 31(12): 23434. [程文达, 邢爽, 刘阳, 2023. 华莱士在动物体色演化研究中的贡献和当代启示. 生物多样性, 31(12): 23434.]
- Escobar-Ramírez B, Manríquez G, 2023. Applying a geometric morphometric surface semilandmark-based approach for assessing sexual dimorphism in cranial bones. *Revista Argentina de Antropología Biológica*, 25(2): 1–14.
- Fornasiero D, Scaccini D, Lombardo V, Galli G, Pozzebon A, 2023. Effect of exclusion net timing of deployment and color on *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae) infestation in pear and apple orchards. *Crop Protection*, 172: 106331.
- He YQ, Zeng XY, Cheng Q, Yu YX, Zhang YQ, Ding W, 2017. EPG analysis of feeding behavior of green peach aphid *Myzus persicae* biotypes with different body colors. *Journal of Plant Protection*, 44(2): 298–304. [何应琴, 曾贤义, 程浅, 余永旭, 张永强, 丁伟, 2017. 不同体色生物型烟蚜的取食特性分析. 植物保护学报, 44(2): 298–304.]
- Howell BK, Winchell KM, Hagey TJ, 2022. Geometric morphometrics reveal shape differences in the toes of urban lizards. *Integrative Organismal Biology*, 4(1): 28.
- Jiang X, Adam S, Qin DZ, 2023. Geometric morphometric analysis of forewing in *Pochazia* and *Ricania* (Hemiptera: Ricaniidae). *Acta Entomologica Sinica*, 66(3): 391–398. [蒋昕, Adam Stroński, 秦道正, 2023. 宽广蜡蝉属及广翅蜡蝉属前翅几何形态学分析. 昆虫学报, 66(3): 391–398.]
- Li RR, Li M, Yan J, Zhang HF, Bai M, 2019. Intraspecific variation in *Eysarcoris aeneus* revealed by geometric morphometrics (Hemiptera: Pentatomidae). *Acta Entomologica Sinica*, 62(9): 1081–1089. [李荣荣, 李敏, 闫江, 张虎芳, 白明, 2019. 基于几何形态学的北二星蜡种内形态差异分析(半翅目: 蜡科) (英文). 昆虫学报, 62(9): 1081–1089.]
- Li RR, Li SC, Zhang HF, 2016. Geometric morphometrics and its advances in Hemiptera. *Journal of Shanxi Agricultural Univeristy (Natural Science Edition)*, 36(4): 235–241. [李荣荣,

- 李生才, 张虎芳, 2016. 几何形态测量学及其在半翅目中的研究进展. 山西农业大学学报(自然科学版), 36(4): 235–241.]
- Manríquez G, Escobar-Ramírez B, 2023. Applying a geometric morphometric surface semilandmark-based approach for assessing sexual dimorphism in cranial bones. *Revista Argentina de Antropología Biológica*, 25(2): 68.
- Nattero J, Cecere MC, Gürtler RE, 2017. Temporal variations of fluctuating asymmetry in wing size and shape of *Triatoma infestans* populations from northwest Argentina. *Infection, Genetics and Evolution*, 56: 133–142.
- Pan PL, Shen ZR, Yang HZ, Gao LW, Zhang JW, Xie M, 2008. Digital character extraction and primary analysis of venation of three *Parnassian* butterflies (Lepidoptera, Papilionidae). *Zoological Systematics*, 33(3): 566–571. [潘鹏亮, 沈佐锐, 杨红珍, 高灵旺, 张建伟, 谢敏, 2008. 三种绢蝶翅脉数字化特征的提取及初步分析. 动物分类学报, 33(3): 566–571.]
- Qin SM, Zhang JS, Feng KL, Li WL, 2023. Geometric morphometric analysis of the wing of eight Chinese species in the subgenus *Neohomoneura* (Diptera: Lauxaniidae: *Homoneura*). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 60(3): 922–933. [秦仕明, 张建设, 冯科力, 李文亮, 2023. 八种中国新同脉缟蝇亚属翅的几何形态学分析. 应用昆虫学报, 60(3): 922–933.]
- Shui WY, Profico A, O'Higgins P, 2023. A comparison of semilandmarking approaches in the analysis of size and shape. *Animals*, 13(7): 1179.
- Sontigun N, Sukontason KL, Zajac BK, Zehner R, Sukontason K, Wannasan A, Amendt J, 2017. Wing morphometrics as a tool in species identification of forensically important blow flies of Thailand. *Parasites & Vectors*, 10(1): 229.
- Tey SN, Syed Mohamed AMF, Marizan Nor M, 2024. A morphometric approach to morphology analysis of palatal rugae in sibling groups. *Journal of Forensic Sciences*, 69(1): 189–198.
- Wang MT, Zhang XY, 1991. Study on the colorific biotypes of green peach aphid. *Journal of Plant Protection*, 18(4): 351–355. [王茂涛, 张孝羲, 1991. 桃蚜体色生物型的研究. 植物保护学报, 18(4): 351–355.]
- Yan BR, Hua BZ, 2010. Geometric morphometrics and its application in the systematics and phylogenetics of insects. *Entomotaxonomia*, 32(4): 313–320. [闫宝荣, 花保祯, 2010. 几何形态测量学及其在昆虫分类学和系统发育中的应用. 昆虫分类学报, 32(4): 313–320.]
- Yang HZ, Cai XN, Li XT, Shen ZR, 2013. Application of geometric morphometrics in insect identification. *Sichuan Journal of Zoology*, 32(3): 464–469. [杨红珍, 蔡小娜, 李湘涛, 沈佐锐, 2013. 几何形态计量学在昆虫自动鉴定中的应用与展望. 四川动物, 32(3): 464–469.]