

异色瓢虫不同色斑型成虫的耐寒性研究*

赵 静^{1, 2**} 肖 达³ 李晓莉¹ 许永玉^{2***} 王 甦^{3***}

(1. 潍坊科技学院, 寿光 262700; 2. 山东农业大学植物保护学院, 泰安 271018;

3. 北京市农林科学院植物保护环境保护研究所, 北京 100089)

摘 要 【目的】研究异色瓢虫 *Harmonia axyridi* 不同色斑型成虫的耐寒能力, 以明确其色斑型比例所呈现的季节性变化的适应意义。【方法】本文测定了异色瓢虫实验种群和自然种群不同色斑型成虫的过冷却点 (Supercooling point, SCP) 及低温存活率。【结果】同一发育温度下异色瓢虫实验种群不同色斑型成虫的 SCP 和低温存活率均没有显著性差异 ($P>0.05$), 但是低温暴露中饲养在 25°C 下成虫的存活率下降更为剧烈。异色瓢虫自然种群黑底型与黄底型成虫的 SCP 呈现出明显的季节性变化, 其 SCP 在 7 月份最高, 分别为 - 8.2°C 和 - 7.5°C; 在 1 月份达到最低, 分别为 - 16.8°C 和 - 18.2°C。越冬开始 (11 月) 黑底型成虫的 SCP 低于黄底型成虫的, 整个越冬期间黄底型成虫的 SCP 一直低于黑底型成虫的, 但是异色瓢虫黑底型与黄底型越冬成虫的低温存活率却没有显著性差异 ($P>0.05$)。【结论】越冬期间异色瓢虫黄底型成虫的 SCP 低于黑底型的, 这样可以通过体液过冷却的方式来避免结冰造成的伤害, 以增强其越冬种群的耐寒能力, 这也可能是越冬期间异色瓢虫黄底型成虫数量显著上升的一个原因。

关键词 异色瓢虫, 色斑型, 过冷却点, 低温存活能力, 越冬策略

Cold tolerance of different adult elytral color morphs in *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae)

ZHAO Jing^{1, 2**} XIAO Da³ LI Xiao-Li¹ XU Yong-Yu^{2***} WANG Su^{3***}

(1. College of Weifang Science & technology, Shouguang, Shandong 262700, China; 2. College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China; 3. Institute of Plant and Environment Protection, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Science, Beijing 100089, China)

Abstract [Objectives] To investigate the adaptive significance of seasonal changes in different adult elytral color morphs of *Harmonia axyridis* (Pallas). [Methods] We measured the supercooling point (SCP) and cold survival rate of different elytral color morphs. [Results] There was no significant difference in the SCP and cold survival rate of melanistic and non-melanistic adults from experimental populations reared at the same temperature ($P > 0.05$). However, the survival rate of adults reared at 25°C decreased more severely with duration of cold-exposure. In addition, the SCP of melanistic and non-melanistic adults from natural populations displayed obvious seasonal variation. SCPs were highest in July (- 8.2°C and - 7.5°C, respectively) and lowest in January (- 16.8°C and - 18.2°C, respectively). At the beginning of overwintering, the SCP of melanistic adults was lower than that of non-melanistic adults, but the SCP of non-melanistic adults was lower than that of overwintering melanistic adults. However, there was no significant difference in survival rate between melanistic and non-melanistic overwintering adults. [Conclusion] The SCP of non-melanistic adults was lower than melanistic adults during overwintering which could help to prevent freezing damage through body fluids supercooling and enhance the cold tolerance of overwintering adults. This was one of the important reasons that the proportion of non-melanistic adults markedly increased during overwintering.

Key words *Harmonia axyridis*, elytral color morphs, SCP, cold survival ability, overwintering strategy

* 资助项目 Supported projects: 山东省高等学校科技计划项目 (J13LF54); 北京市农林科学院博士后科研基金; 潍坊科技学院博士基金(W13K016)

**第一作者 First author, E-mail: zhjlovely@163.com

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

收稿日期 Received: 2014-04-16, 接受日期 Accepted: 2014-08-24

异色瓢虫 *Harmonia axyridis* (Pallas) 属鞘翅目 (Coleoptera) 瓢虫科 (Coccinellidae), 是一种重要的捕食性天敌昆虫 (Koch, 2003; 王甦等, 2007)。在其众多生物学现象中, 鞘翅色斑型变化一直为分类学家和遗传学家所关注 (张思宇等, 2008; 虞国跃, 2010)。异色瓢虫鞘翅颜色变化丰富, 形成各种各样的色斑, 亚洲许多地区的色斑种类都在数十种以上。其成虫色斑通常是由黑色 (黑底型, Melanic) 或者淡黄色 (又称非黑底型, Non-melanic) 作为底色, 镶嵌以黑色或者红色圆点状色块 (Dobzhansky, 1933)。这些色斑遗传由一系列复等位基因所控制, 并且表现为镶嵌显性遗传 (Tan and Li, 1934; Tan, 1946)。根据现有调查发现, 中国异色瓢虫种类大多有 200 余种, 其中以黄底型为主。据报道北京地区异色瓢虫色斑类型达 50 种 (吴钜文, 1987) 长白山地区异色瓢虫色斑类型达 176 种, 其中黄底型 164 个 (袁荣才等, 1994); 山西省异色瓢虫色斑类型达 76 种, 其中黄底型占 66 个而黑底型为 10 个 (荆英等, 2001); 黑龙江帽儿山地区异色瓢虫色斑类型达 126 种 (刘建武, 2006); 山东泰安地区异色瓢虫色斑类型多达 150 种 (宫庆涛等, 2013)。

异色瓢虫色斑变异在不同地区之间颇为明显, 在原产地亚洲中部及东部地区以黑底型为主; 在其引入北美地区则以黄底型为主 (Heimpel and Lundgren, 2000; Seo and Youn, 2000)。而且同一地区在不同季节异色瓢虫色斑型比例也有显著差异。在中国北部, 夏季色斑型以黑底型为主, 而在秋季黄底型成虫数量显著上升, 其比例呈现出季节性变化 (Wang *et al.*, 2009)。自然界中, 异色瓢虫以成虫滞育越冬, 越冬期间聚集行为尤为显著, 一般几百甚至上千头聚集在向阳山洞的枯枝落叶或者屋檐下越冬。在整个越冬期间, 异色瓢虫黄底型成虫比例显著高于黑底型, 在一个昆虫种群中极端耐寒的个体对于种群的发展是非常重要的, 那么黄底型成虫的低温抵抗力是否高于黑底型成虫? 因此我们测定了异色瓢虫不同色斑型成虫的过冷却点 (Supercooling point, SCP) 及其低温存活能力,

以探讨其色斑型比例所呈现的季节性变化的适应意义。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

实验种群的饲养: 异色瓢虫采集自山东省泰安市郊区桃园内 (36°15'N, 116°59'E), 采回后挑选健康成虫引入到人工气候室内饲养。具体饲养方法如下: 将成虫置入养虫笼 [金属框架+尼龙网 (120 目), 35 cm × 40 cm × 50 cm] 内集中饲养, 每笼约 25 头, 在笼内放置有足量豆蚜 *Aphis curviness* Koch 的蚕豆苗, 且每 48 h 更换一次。待雌雄成虫交配产卵后, 取出带有卵块的蚕豆叶片移入洁净的玻璃培养皿 (D=9.0 cm) 中, 孵化后转移至另一养虫笼内继续饲养豆蚜至成虫。饲养期间为降低幼虫自残行为的发生, 每 48 h 更换一次蚕豆苗以提供充足的蚜虫。将同一时间羽化的成虫转移至相同养虫笼内饲养 (25 头/笼)。人工气候室环境条件参数分别为温度 (18±1) °C 和 (25±1) °C, 相对湿度 65%±5%, 光周期 16L: 8D。室内瓢虫种群均饲养 2 代以上用于试验。随机选取羽化 10 d 的成虫 (♀: ♂=1: 1) 进行试验。

自然种群的采集: 夏季成虫 (2007-7) 采集自山东农业大学南校区作物田或园林苗圃 (36°15'N, 116°59'E); 越冬成虫 (2007-11, 2007-12, 2008-1, 2008-2) 采集自泰安市天外村山 (36°12'N, 117°06'E) 的向阳屋檐下, 将采集到的成虫置于玻璃瓶中加入枯枝落叶并用纱布封口保存在室外。

试验用瓢虫的选取: 异色瓢虫成虫羽化待鞘翅硬化色斑稳定后, 按照鞘翅底色将成虫色斑型大致分为黑底型 (Melanic) 和非黑底型 (Non-melanic)。鞘翅底色为暗黑色的成虫为黑底型变种; 鞘翅底色为暗黄色、橙色或红色的异色瓢虫划归为非黑底型 (主要是黄底型)。

1.2 过冷却点测定

采用热电偶方法进行 SCP 测定, 仪器主要由低温恒温槽 (DCW-3506 型, 宁波市海曙天恒

仪器厂)和数据采集器(Temp32型,中国农业科学院农业气象研究所)组成。测定时将热敏电阻的测温探头固定在虫体两鞘翅下,然后置于低温槽内,槽内以 $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率降温。虫体温度变化经数据采集器采集后输入计算机,自动记录测试数据,并绘出温度变化曲线图。虫体温度随着环境温度以 $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的非线性速率降温,读出成虫的SCP值。

实验种群不同色斑型成虫的SCP测定:选取两种发育温度(18°C 和 25°C)下的黄底型与黑底型成虫(♀:♂=1:1;个体大小均一)各32~48头进行SCP测定。

自然种群不同色斑型成虫的SCP测定:将采集到的夏季成虫(2007-7)与越冬成虫(2007-11, 2007-12, 2008-1, 2008-2)分别选取两种色斑型成虫(♀:♂=1:1;个体大小均一)各32~48头进行测定,获得SCP。

1.3 低温存活能力测定

实验种群不同色斑型成虫的低温存活能力测定:挑选两种发育温度(18°C 和 25°C)下的黄底型与黑底型成虫(♀:♂=1:1;体型大小均一)移入塑料培养皿中($D=9\text{ cm}$;皿口覆盖封口膜并用解剖针扎取若干通气孔),暴露在 -5°C 下1、3、5、7和9 d。低温暴露过程中成虫处于冷昏迷状态不能取食,所以无需饲喂蚜虫。低温处理结束后将成虫转移至饲养条件下恢复24 h,以能行走协调的作为存活标准检查成虫存活数。每处理重复3次,每重复20头试虫。

自然种群不同色斑型成虫的低温存活能力测定:挑选采集的健康成虫(2007-11, ♀:♂=1:1;个体大小均一)移入塑料培养皿中($D=9\text{ cm}$,皿口覆盖封口膜并用解剖针扎取若干通气孔),暴露在 -10°C 下1、3、5和10 d。低温处理结束后检查试虫存活数(方法同上)。每处理重复3次,每重复30头成虫。

1.4 数据分析

利用统计软件SPSS17.0对各实验内容所得数据进行统计分析,获得平均值及标准误。对不同处理间的差异进行单因素方差分析(One-way

ANOVA)和Duncan's多重比较($P < 0.05$)或者独立样本 t -检验分析。

2 结果与分析

由图1可以看出:饲养在 18°C 下黄底型与黑底型成虫的SCP分别为 -7.7°C 和 -8.6°C ;饲养在 25°C 下黄底型与黑底型成虫的SCP分别为 -10.2°C 和 -9.1°C 。同一温度下不同色斑型成虫的SCP均没有显著性差异($P > 0.05$)。

由图2可以看出:低温暴露中两种发育温度下黑底型与黄底型成虫的存活率均随着暴露时间的延长而降低,而且饲养在 25°C 下成虫存活率下降更为剧烈。此外,饲养在 18°C 下成虫的存活率高于 25°C 下的,但是两种发育温度下不同色斑型成虫的存活率却没有明显差异($P > 0.05$)。

由图3可以看出:异色瓢虫黑底型与黄底型成虫的SCP呈现出明显的季节性变化,在7月

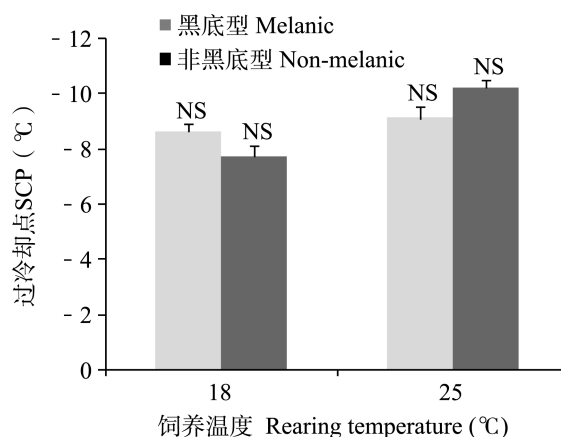


图1 两种发育温度(18°C 和 25°C)下不同色斑型成虫的过冷却点

Fig. 1 SCP of melanic and non-melanic adults in *Harmonia axyridis* reared at 18°C and 25°C

图中数据为平均值±标准误,同一温度下不同色斑型成虫的SCP差异显著性分析采用SPSS 17.0独立样本 t -检验进行分析,不同色系柱上NS表示在0.05水平下无显著性差异($P > 0.05$)。

Data in the figure are mean±SE. Significant difference of SCP between melanic and non-melanic adults are compared with t -test by SPSS 17.0. The NS at the top of columns in different style means no significant difference at 0.05 level ($P > 0.05$).

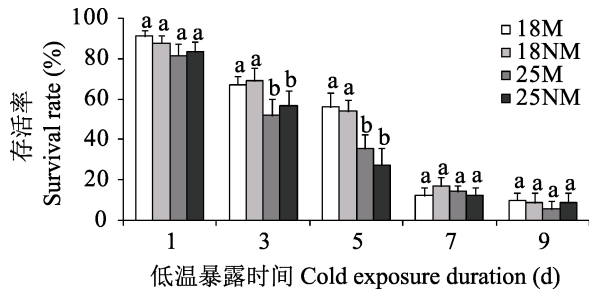


图2 两种发育温度(18℃和25℃)下不同色斑型成虫的低温存活率

Fig. 2 Cold survival rates of melanic and non-melanic adults in *Harmonia axyridis* reared at 18°C and 25°C

图中18M和18NM分别指饲养在18℃下的异色瓢虫黑底型与非黑底型成虫;25M和25NM分别指饲养在25℃下的异色瓢虫黑底型与非黑底型成虫。图中各数据均为平均值±标准误,不同色系柱顶相同小写字母表示其经One-way ANOVA, Duncan's多重比较在0.05水平下无显著差异($P>0.05$)。下图同。

18M and 18NM represent the melanic and non-melanic adults in *H. axyridis* reared at 18°C; 25M and 25NM represent the melanic and non-melanic adults in *H. axyridis* reared at 25°C. The data in the figure are mean ± SE. Histograms with the same letters indicate no significant difference at 0.05 level ($P>0.05$) by One-way ANOVA / Duncan's multiple range test. The same below.

份最高,分别为-8.2℃和-7.5℃;在1月份达到最低,分别为-16.8℃和-18.2℃。越冬种群两种色斑型成虫的SCP显著低于夏季种群($P<0.05$)。夏季种群黑底型成虫的SCP低于黄底型成虫的,但二者之间没有显著性差异($P>0.05$);越冬开始(11月)黑底型成虫的SCP低于黄底型成虫的,而整个越冬期间黄底型成虫的SCP一直低于黑底型成虫的。

由图4可知:异色瓢虫黑底型与黄底型越冬成虫暴露在-10℃下其存活率均随着暴露时间的延长而降低。低温暴露中(3d和5d)黄底型成虫的存活率高于黑底型成虫,但是整个低温暴露过程中异色瓢虫黑底型与黄底型越冬成虫的存活率没有显著性差异($P>0.05$)。

3 讨论

昆虫的过冷却是指体液温度下降到冰点以下而不结冰的现象。在许多昆虫耐寒性的研究

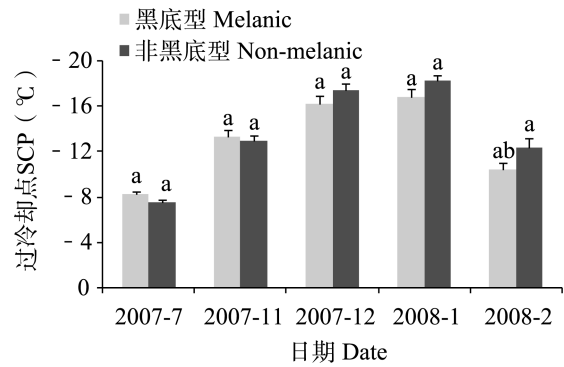


图3 异色瓢虫不同色斑型夏季与越冬成虫的过冷却点
Fig. 3 The SCP of melanic and non-melanic adults in *Harmonia axyridis* from summer and over-wintering population

图中各数据均为平均值±标准误。异色瓢虫不同色斑型越冬成虫的过冷却点差异显著性分析采用SPSS 17.0独立样本t-检验进行分析,不同色系柱上相同小写字母表示在0.05水平下无显著性差异。图4同。

The data are mean ± SE. Significant difference of SCP between melanic and non-melanic adults from over-wintering population were compared with *t*-tests level by SPSS 17.0. The same letters at the top of columns in different style mean no significant differences at 0.05 level. The same as Fig. 4.

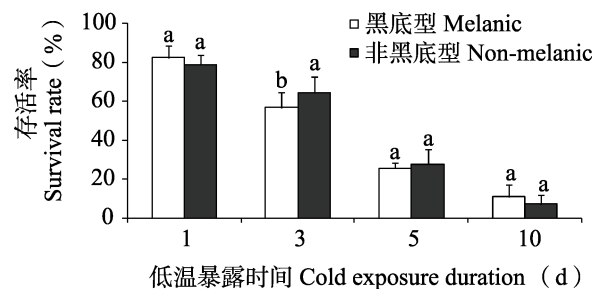


图4 异色瓢虫不同色斑型越冬成虫的低温存活率
Fig. 4 Cold survival rate of melanic and non-melanic adults in *Harmonia axyridis* from over-wintering population

中,过冷却点(SCP)常作为衡量耐寒性强弱的重要指标(Colinet *et al.*, 2006)。赵静等(2008)研究表明异色瓢虫的SCP呈现明显的季节性变化,越冬期间SCP显著降低,因此过冷却方式是其低温下存活的重要越冬适应策略。本研究中异色瓢虫自然种群黄底型和黑底型成虫的SCP呈现出明显的季节性变化,整个越冬期间黄底型成虫的SCP低于黑底型的(图3),这样可以通过体液过冷却的方式来避免结冰造成的伤

害。研究表明 SCP 以上的亚致死温度就可导致不耐结冰昆虫的大量死亡, 因此 SCP 不能作为昆虫耐寒性的唯一指标(景晓红和康乐 2002), 耐寒性强弱最终还是取决于其低温存活能力(景晓红和康乐, 2004)。异色瓢虫黑底型与黄底型越冬成虫的低温存活率均没有明显的差异(图 4), 这可能是由于试验用成虫是在越冬开始(11 月)采集的, 随着寒冷冬季的到来, 异色瓢虫不同色斑型成虫的低温存活率出现明显的差别还是很有可能的。

异色瓢虫鞘翅色斑的频率可随季节的变化而变化(Wang *et al.*, 2011), 庚镇城和谈家桢(1980)认为这种变异现象可能与保护色有关。后续研究发现这种色斑型的季节性变化与非随机性交配选择有关, 夏季雌虫倾向于选择黑底型雄虫交配, 而在秋季黄底型雄虫较受雌虫欢迎(Wang *et al.*, 2009)。本研究表明在整个越冬期间黄底型成虫的 SCP 低于黑底型的, 这样可以增强异色瓢虫整个越冬种群的耐寒能力, 这也可能是越冬期间异色瓢虫黄底型成虫数量显著上升的一个原因。导致瓢虫鞘翅色斑多样的环境因素是多方面的(唐斌等, 2012), 还可能与天敌及不同色斑型成虫在不同环境条件下的活力等有关, 目前尚无满意的答案。所有这些因素最终主要是为了适应环境变化, 保持其种群的兴旺。

参考文献 (References)

- Colinet H, Renault D, Hance T, Vernon P, 2006. The impact of fluctuating thermal regimes on the survival of a cold-exposed parasitic wasp, *Aphidius colemani*. *Physiological Entomology*, 31: 234–240.
- Dobzhansky T, 1933. Geographic variation in ladybeetles. *The American Naturalist*, 67: 97–126.
- Geng ZC, Tan JZ, 1980. Several genetic problems of *Harmonia axyridis*. *Journal of nature*, 3: 512–518. [庚镇城, 谈家桢, 1980. 异色瓢虫的几个遗传学问题. 自然杂志, 3: 512–518.]
- Gong QT, Zhang KP, Wu HB, Li SH, Dou LZ, Sun RH, 2013. Investigation on color variations of *Harmonia axyridis* (Pallas) in Taian City. *Journal of Shandong Agricultural Sciences*, 45(11): 95–99, 102. [宫庆涛, 张坤鹏, 武海斌, 李素红, 窦立志, 孙瑞红, 2013. 泰安市异色瓢虫色斑类型调查与研究. 山东农业科学, 45(11): 95–99, 102.]
- Heimpel GE, Lundgren JG, 2000. Sex ratios of commercially reared biological control agents. *Biological Control*, 19: 77–93.
- Jing XH, Kang L, 2002. Research progress in insect cold hardiness. *Acta Ecologica Sinica*, 22(12): 2202–2207. [景晓红, 康乐, 2002. 昆虫耐寒性研究. 生态学报, 22(12): 2202–2207.]
- Jing XH, Kang L, 2004. Overview and evaluation of research methodology for insect cold hardiness. *Entomological Knowledge*, 41(1): 7–10. [景晓红, 康乐, 2004. 昆虫耐寒性的测定与评价方法. 昆虫知识, 41(1): 7–10.]
- Jing Y, Zhang YJ, Ma RY, 2001. Studies on the type of spot in the wings of *Harmonia axyridis* (Pallas) in Shanxi Province. *Journal of Shanxi Agriculture University*, 21(3): 230–232. [荆英, 张永杰, 马瑞艳, 2001. 山西省异色瓢虫色斑类型考察. 山西农业大学学报, 21(3): 230–232.]
- Koch RL, 2003. The multicolored Asian lady beetle, *Harmonia axyridis*: a review of its biology, uses in biological control, and non-target impacts. *Journal of Insect Science*, 3: 1–16.
- Liu JW, 2006. The research on morphological variety of different phenotype *Harmonia axyridis* (Pallas) in area of Maoershan. Master Degree Dissertation. Haerbin: Northeast Forestry University. [刘建武, 2006. 帽儿山地区不同色斑类型异色瓢虫形态多样性研究. 硕士论文. 哈尔滨, 东北林业大学.]
- Seo MJ, Youn YN, 2000. The Asian ladybird, *Harmonia axyridis*, as biological control agents. I. predacious behavior and feeding ability. *Korean Journal of Applied Entomology*, 39: 59–71.
- Tan CC, 1946. Mosaic dominance in the inheritance of color patterns in the lady-bird beetle, *Harmonia axyridis*. *Genetics*, 31: 195–210.
- Tan CC, Li JC, 1934. Inheritance of the elytral colour patterns in the lady-bird beetle, *Harmonia axyridis*. *American Naturalist*, 68: 252–265.
- Tang B, Zhu J, Guo HS, Fang D, Chen QD, Zheng XX, Wang SG, Zhang F, Wang S, 2012. Studies of the diversity of multiple elytral color morphs of *Harmonia axyridis* (Pallas). *Journal of Hangzhou Normal University*, 11(2): 132–136. [唐斌, 诸洁, 郭红双, 方丹, 沈祺达, 郑笑笑, 王世贵, 张帆, 王甦, 2012. 异色瓢虫鞘翅色斑变异多样性研究进展. 杭州师范大学学报, 11(2): 132–136.]
- Wang S, Michaud JP, Tan XL, Zhang F, Guo XJ, 2011. The aggregation behavior of *Harmonia axyridis* in its native range in Northeast China. *Biocontrol*, 56(2): 193–206.

- Wang S, Michaud JP, Zhang RZ, Zhang F, Liu S, 2009. Seasonal cycles of assortative mating and reproductive behavior in polymorphic populations of *Harmonia axyridis* in China. *Ecological Entomology*, 34(4): 483–494.
- Wang S, Zhang RZ, Zhang F, 2007. Research progress on biology and ecology of *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera: Coccinellidae). *Chinese Journal of Applied Ecology*, 18 (9): 2117–2126. [王甦, 张润志, 张帆, 2007. 异色瓢虫生物生态学研究进展. 应用生态学报, 18 (9): 2117–2126.]
- Wu JW, Wang J, Shi BC, 1987. Studies on the type of spot in the wings of *Harmonia axyridis* (Pallas) in Beijing. *Plant Protection*, 13(3): 16–18. [吴钜文, 王军, 石宝才, 1987. 北京异色瓢虫色斑类型考察. 植物保护, 13(3): 16–18.]
- Yu GY, 2010. Identification of *Harmonia axyridis* and *H. yedoensis* with notes on the former's color pattern and elytral ridge occurrence. *Chinese Bulletin of Entomology*, 47(3): 568–575. [虞国跃, 2010. 异色瓢虫与隐斑瓢虫的区别及其色斑型和横脊的频率. 昆虫知识, 47(3): 568–575.]
- Yuan RC, Zhang FM, Wen GZ, 1994. Studies on the type of spot in the wings of *Harmonia axyridis* (Pallas) on the Changbai mountains. *Journal of Jilin Agricultural Sciences*, 4(4): 45–54. [袁荣才, 张富满, 文贵柱, 1994. 长白山异色瓢虫色型的考察与研究. 吉林农业科学, 4(4): 45–54.]
- Zhang SY, Chi DF, Li H, Yu J, 2008. A comparative study on isozymes of different splash types of *Harmonia axyridis*. *Chinese Bulletin of Entomology*, 45(3): 426–431. [张思宇, 迟德富, 李鹤, 宇佳, 2008. 不同色斑型异色瓢虫的同工酶比较. 昆虫知识, 45(3): 426–431.]
- Zhao J, Yu LY, Li M, Zheng FQ, Zhang F, Xu YY, 2008. Seasonal variation in cold tolerance of the multicolored ladybeetle, *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae) adults. *Acta Entomologica Sinica*, 51(12): 1271–1278. [赵静, 于令媛, 李敏, 郑方强, 张帆, 许永玉, 2008. 异色瓢虫成虫耐寒能力的季节性变化. 昆虫学报, 51(12): 1271–1278.]