

异色瓢虫成虫冷驯化反应及体内 几种酶活力的相关变化

赵 静¹, 陈珍珍¹, 曲建军³, 张 帆^{2,*}, 印象初¹, 许永玉^{1,*}

(1. 山东农业大学植物保护学院, 山东泰安 271018; 2. 北京市农林科学院植物保护环境保护研究所, 北京 100089;

3. 蓬莱市园林管理处, 山东蓬莱 265600)

摘要: 为明确冷驯化反应对异色瓢虫 *Harmonia axyridis* (Pallas) 实验种群成虫耐寒性及其生殖能力的影响, 本研究测定了成虫低温存活率、过冷却点(supercooling point, SCP)、体内含水量及雌虫繁殖能力等。结果表明: 冷驯化(在 5°C 下诱导 3 d, 5 d)后, 成虫再在 -5°C 下暴露 3 d 的存活率由对照(预先未进行冷驯化)的 46% 分别提高至 60% 和 67%, 而诱导 10 d 后的存活率(51%)反而下降。冷驯化效应在其成虫转移至饲养条件下 7 d 后就消失。随着低温诱导时间的延长过冷却点及体内含水量均呈现下降趋势, 短时间(5, 10 d)的诱导不能使成虫的 SCP 明显降低, 但可以使含水量极显著下降。冷驯化后异色瓢虫雌虫产卵前期延长; 虽然冷驯化对雌虫首次产卵量没有影响, 但是随着诱导时间的延长连续观察 72 h 内单头雌虫累计产卵量却降低。冷驯化过程中成虫体内几种酶活力的检测结果表明: 两种细胞保护酶超氧化物歧化酶(SOD)与过氧化氢酶(CAT)活性升高, 与新陈代谢有关的乳酸脱氢酶(LDH)及 Na⁺, K⁺-ATP 酶活性却降低。结果显示, 低温胁迫前异色瓢虫成虫经过不同时间的诱导后有可能提高其低温抵抗能力, 而且冷驯化诱导成虫耐寒性增加是一种复杂的生理生化过程, 这一过程对其生存和繁殖具有重要的适应意义。

关键词: 异色瓢虫; 耐寒性; 冷驯化; 存活率; 过冷却点; 繁殖力; 酶活力

中图分类号: Q966 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2010)02-0147-07

Responses of *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae) adults to cold acclimation and the related changes of activities of several enzymes in their bodies

ZHAO Jing¹, CHEN Zhen-Zhen¹, QU Jian-Jun³, ZHANG Fan^{2,*}, YIN Xiang-Chu¹, XU Yong-Yu^{1,*}

(1. College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China; 2. Institute of Plant and Environment Protection, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Science, Beijing 100097, China; 3. Penglai Department of Garden and Forest Management, Penglai, Shandong 265600, China)

Abstract: In order to clarify the effects of cold acclimation on cold tolerance of adult *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae), we investigated the survival rate, supercooling point (SCP), water content and reproduction capability of adults under low temperature in the laboratory condition. Adults of *H. axyridis* were cold acclimated at 5°C successively for 1, 3, 5 and 10 d prior to cold stress. The results showed that the survival rate of the adults exposed to -5°C for 3 d was improved from 46% of the control (without prior cold stress) to 60% and 67% when adults were acclimated for 3 d and 5 d, respectively, but decreased to 51% after the cold acclimation for 10 d. Returning of the adults to 25°C caused a loss of cold acclimation within 7 d. The SCP and the water content decreased as the duration of cold acclimation prolonged. Short-term (5, 10 d) exposure to 5°C did not decrease the SCP even though it significantly decreased water content in the body. The pre-oviposition period of the female was delayed after acclimation. Acclimation significantly decreased the fecundity within 72 h, but did not affect the number of eggs laid in the first cluster. The effects of cold acclimation on several enzyme activities were examined, and the results showed that superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities increased whereas lactate dehydrogenase (LDH) and Na⁺, K⁺-ATPase activities decreased after cold acclimation. These results

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2008BADA5B02); 山东省利用全球环境基金赠款科研项目(TF090802)

作者简介: 赵静, 女, 1984年生, 山东肥城人, 博士研究生, 研究方向为昆虫生理生态研究, E-mail: 20020806@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: xuyy@sdau.edu.cn; zf6131@263.net

收稿日期 Received: 2009-09-24; 接受日期 Accepted: 2010-01-19

indicate that cold acclimation is a complex physiological and biochemical process, which is very important to the survival and reproduction of *H. axyridis*.

Key words: *Harmonia axyridis*; cold tolerance; cold acclimation; survival rate; supercooling point (SCP); fecundity; enzyme activity

在温带地区,低温是影响昆虫越冬存活的重要环境因子。有些时候,昆虫死亡并不是因为遭遇极端温度,而是在不利环境条件来临之前有机体对外界环境的适应性不够或者是在生理上没有作出相应的准备。昆虫对温度的适应性策略是多样的,其中冷驯化是增强其耐寒能力的重要机制,这一过程可能是昆虫应对不良环境的适应性进化(王宪辉等, 2003)。自然界中,昆虫越冬前都要经历一个温度渐变的过程,在某种程度上就是受到自然界的驯化(即气候驯化),使其耐寒性增加度过冬季低温环境(Leather *et al.*, 1993)。这种驯化过程也是昆虫越冬策略之一(Danks, 1996; Goto *et al.*, 1998)。对于所有昆虫来说,这种能够增强低温抵抗能力的机制可以通过低温诱导不同时间来触发,例如在果蝇 *Drosophila* 中,通过较长时间(几天或几周)的驯化(acclimation)甚至通过短时间(几个小时甚至几十分钟)的冷激(hardening)均可以提高幼虫和成虫的耐寒性(Hoffmann and Watson, 1993; Hoffman *et al.*, 2003)。研究表明,昆虫在低温胁迫前经历适度的冷驯化可以提高其低温存活率,降低致死温度,延长半致死时间 LT_{50} (在特定温度下导致 50% 的个体死亡的时间),降低过冷却点(supercooling point, SCP)等(Fields *et al.*, 1998; Renault *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2006; Ma *et al.*, 2006)。而且,这种积极的效应是一种较普遍的现象,并不局限在某一特殊种类的昆虫或者某一昆虫的特定发育阶段。任何一种昆虫对生态因子的耐受限度都不是固定不变的,可以借助冷驯化过程在一定程度上调整其对温度的耐受范围。

异色瓢虫 *Harmonia axyridis* (Pallas, 1773) 属鞘翅目(Coleoptera)瓢虫科(Coccinellidae),对蚜虫、叶螨、介壳虫等重要害虫具有很强的捕食能力,是一种重要的生防天敌(Koch, 2003; 王甦等, 2007)。在自然条件下,10月下旬该虫以成虫越冬。冬季低温会造成成虫大量死亡,影响着春季其在田间的分布、种群数量和发生动态。与其他昆虫一样,在长期进化中形成了多种多样的越冬策略。异色瓢虫越冬成虫耐寒性高于夏季成虫,在某种程度上就是冬季种群受到自然界气候驯化的原因。室内对其夏季成虫在 5℃ 下进行不同时间驯化后其存活率明显提高,与越

冬成虫存活率相接近(赵静等, 2008)。为明确冷驯化反应对异色瓢虫成虫的生存和生殖的影响,本研究调查了其实验种群成虫的低温存活率、过冷却点、体内含水量以及繁殖能力,以期阐明影响其成虫越冬存活的关键因素及成虫的人工低温贮存提供理论依据。另外,本研究还测定了冷驯化过程中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、乳酸脱氢酶(LDH)及 Na^+ , K^+ -ATP 酶活性的变化动态,以进一步探讨冷驯化的生理生化机制。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

异色瓢虫成虫于 2008 年 5 月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释放到人工气候室(温度 $T = 25 \pm 1^\circ\text{C}$, 相对湿度 $RH = 60\% \pm 5\%$, 光周期 $L:D = 16:8$) 养虫笼(35 cm × 40 cm × 50 cm)内饲喂豆蚜 *Aphis craccivora* Koch, 寄主植物为蚕豆 *Vicia faba* L.。待成虫产卵后,将适量新鲜卵块转移至另一养虫笼内,幼虫孵化后继续饲喂豆蚜至成虫羽化。饲养期间为降低幼虫自残行为的发生,每两天更换一次蚕豆苗以提供充足的蚜虫。室内扩繁 2 代供试,由于性别与年龄均能影响到成虫的耐寒性,所以随机选取羽化 10 d 左右的成虫(♀:♂ = 1:1)进行试验。

1.2 异色瓢虫成虫的冷驯化反应

挑选健康成虫(♀:♂ = 1:1; 个体大小均一)单头置于试管内,并用纱布封口。首先将成虫在 5℃ 下进行不同时间(1, 3, 5, 10 d)的诱导,再将其持续暴露在 -5℃ 下 3 d,然后将成虫转移至饲养条件下($T = 25 \pm 1^\circ\text{C}$, $RH = 60\% \pm 5\%$, 光周期 $L:D = 16:8$)恢复 24 h,以能行走协调的作为成虫存活的标准检查试虫存活数。在低温处理过程中成虫处于冷昏迷状态不能进行取食,所以无需饲喂蚜虫。直接暴露在 -5℃ 下 3 d 未进行冷驯化的作为对照。每个处理重复 3 次,每重复 10 头试虫。

冷驯化效应持续时间的测定:将成虫在 5℃ 下诱导 5 d 后,转移至饲养条件下 1, 2, 5, 7 d 并饲喂充足的蚜虫,然后再将其暴露在 -5℃ 下 3 d 检查试虫存活数。每个处理重复 3 次,每重复 10 头

试虫。

1.3 冷驯化对异色瓢虫成虫 SCP 和体内含水量的影响

将试虫在 5℃ 下进行不同时间(1, 3, 5, 10, 30 d)诱导后测定其 SCP 及含水量。

SCP 测定方法: 采用热电偶方法进行测定, 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℃/min 的速率降温。虫体的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℃/min 的非线性速率降温, 读出成虫 SCP 值。经过不同处理后分别选取健康雌雄成虫 32 ~ 48 头进行测定。

含水量测定方法: 将测定完 SCP 的成虫在电子天平上称量单头鲜重(fresh mass, FM), 然后置于 60℃ 恒温培养箱中干燥 48 h 后称量单头虫体干重(dry mass, DM), 则体内含水率 = (FM - DM)/FM × 100。

1.4 冷驯化对异色瓢虫繁殖能力的影响

将同一时间羽化的成虫(记录羽化时间)按照唇基前端颜色(黑色为雌虫, 白色为雄虫)区分雌雄后分别转移至饲养条件下单头饲养。挑选羽化 10 d 后的健康成虫在 5℃ 下进行不同时间(1, 3, 5, 10 d)诱导, 雌雄配对后在马灯罩内饲养至交配产卵, 记录雌虫产卵开始时间, 并记录雌虫首次产卵量。每天供给充足的蚜虫, 记录每头雌虫首次产卵后 72 h 内的累积产卵量。每处理 10 头试虫, 重复 3 次。计算不同处理异色瓢虫雌虫产卵前期(产卵时刻 - 成虫羽化时刻)、首次产卵量及每头雌虫 72 h 内累积产卵量。

1.5 冷驯化对异色瓢虫成虫体内几种相关酶活力的影响

挑选健康成虫(♀:♂ = 1:1; 个体大小均一)单头置于试管内, 并用纱布封口。将成虫于 5℃ 下进行不同时间(1, 3, 5, 10 d)的低温诱导, 每处理 10 头成虫, 重复 3 次。饲养温度 25℃ 下的酶活力作为对照。酶活性测定参照 Jing 等(2005)方法。

1.5.1 酶提取: 不同处理后准确称量 10 头成虫, 按重量体积比 1:9 加预冷的生理盐水在冰浴中用玻璃匀浆器匀浆, 制备 10% 组织匀浆, 取 0.4 ~ 0.5 mL 于 1.5 mL 离心管中 1 000 r/5 min 离心, 用于检测 Na⁺, K⁺-ATP 酶, 剩余组织匀浆于 1.5 mL 离心管中 3 000 r/15 min 离心, 用于检测 CAT, LDH 及 SOD。

离心后转移上清, 弃沉淀, 再用预冷生理盐水按 1:9 稀释成 1% 组织匀浆, -20℃ 保存备用。

1.5.2 酶活性测定: 考马斯亮蓝法测定虫体内的蛋白质含量。所用仪器为可见分光光度计 UV-2450, 595 nm, 1 cm 光径测吸光度。

采用黄嘌呤氧化酶法测定 SOD 活力, 以每毫克组织蛋白在 1 mL 反应液中 SOD 抑制率达 50% 时所对应的 SOD 量为一个 SOD 活力单位。

采用紫外分光光度法测定 CAT 活力, 以每克组织蛋白中 CAT 酶每秒钟分解吸光度为 0.5 ~ 0.55 的底物中的过氧化氢相对量为一个 CAT 酶活力单位。

采用定磷法测定 ATP 酶活力, 以每小时每毫克组织蛋白的 ATP 酶分解产生 1 μmol 无机磷的量为一个活力单位。

采用 2, 4 - 二硝基苯肼法测定 LDH 活力, 以每克组织蛋白 37℃ 与基质作用 15 min, 在反应体系中产生 1 μmol 丙酮酸为一个活力单位。

以上酶活力测定所用试剂均购买于南京建成生物工程公司。

1.3 数据处理与分析

利用统计软件 SPSS16.0 for Windows 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差。对不同处理间的差异进行单因素方差分析(One-Way ANOVA)和 Duncan 氏多重比较($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 异色瓢虫成虫的冷驯化效应

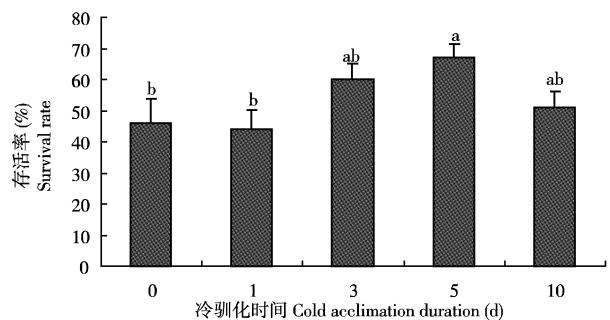


图 1 冷驯化对异色瓢虫成虫低温存活率的影响

Fig. 1 Effects of cold acclimation on the survival rate of *Harmonia axyridis* adults under low temperature

图中各数据均为平均值 ± 标准误差; 柱上标记相同小写字母表示其在 0.05 水平下 One-way ANOVA, Duncan 氏多重比较无显著差异。下同。The data in the figure are mean ± SE. The same letters above bars mean no significant difference at 0.05 level detected by One-way ANOVA/Duncan's multiple range test. The same for the following figures.

由图 1 可知, 异色瓢虫成虫未进行冷驯化直接暴露在 -5°C 下 3 d 其存活率为 46%。在 5°C 下诱导 3 d 后, 其存活率由升高至 60%, 诱导 5 d 的效果最好, 其存活率达到 67%, 显著高于未进行冷驯化的 ($F = 5.852$, $df = 1$, $P < 0.05$), 但是诱导 3 d 与 5 d 的成虫存活率差异不明显 ($F = 1.192$, $df = 1$, $P > 0.05$)。随着诱导时间的延长其成虫低温存活率升高, 但是诱导时间并非越长越好, 驯化 10 d 后的存活率 (51%) 反而下降, 但是仍略高于未进行冷驯化的。

适度的冷驯化可以不同程度地提高异色瓢虫成虫的低温存活率 (图 1), 但是这种效应并不是长时间存在的 (图 2)。在 5°C 下诱导 5 d 后, 将成虫转移至饲养温度 (25°C) 下 1 d 再置于 -5°C 下 3 d, 其存活率仍保持在 68%, 但是转移至饲养温度下 2 d 和 5 d 后再进行低温处理, 其存活率就分别下降至 53% 和 48%。转移至饲养温度下 7 d, 其存活率下降至 41%, 比未进行驯化的 (46%) 还要低。

2.2 冷驯化对异色瓢虫成虫 SCP 和体内含水量的影响

在 5°C 下对异色瓢虫成虫进行不同时间 (1, 3, 5, 30 d) 的诱导后测定 SCP 及体内含水量, 结果表明: 随着低温诱导时间的延长其 SCP 缓慢降低 (图 3: A), 短时间 (1, 3, 5, 10 d) 的诱导并不能使成

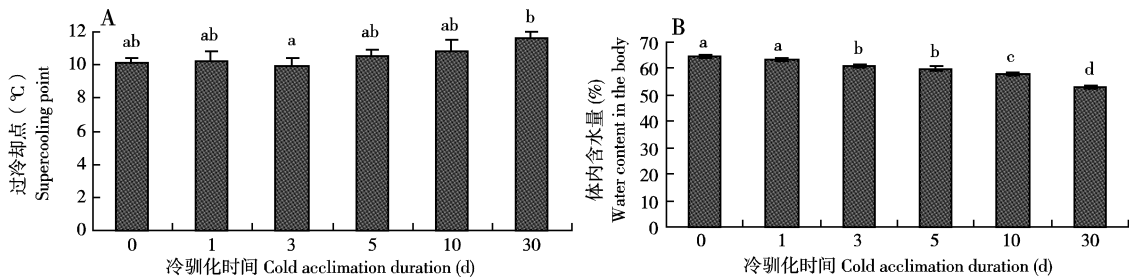


图 3 冷驯化对异色瓢虫成虫过冷却点 (A) 及体内含水量 (B) 的影响

Fig. 3 Effects of cold acclimation on supercooling point (A) and water content in the body (B) of *Harmonia axyridis* adults

2.3 冷驯化对异色瓢虫繁殖能力的影响

异色瓢虫雌虫在 5°C 下进行不同时间的诱导后其产卵前期延长 (图 4: A), 诱导 1, 3, 5 d 后, 雌虫产卵前期延长至 14.3, 15.9, 17.6 d, 但是与未驯化的 (12.2 d) 相比并无明显差异 ($F = 2.359$, $df = 3$, $P > 0.05$); 而诱导 10 d 后其产卵前期延长至 19.8 d, 明显长于未驯化的 ($F = 10.616$, $df = 1$, $P < 0.05$)。虽然冷驯化对雌虫首次产卵量没有明显影响 ($F = 1.793$, $df = 4$, $P > 0.05$) (图 5: B), 但是随着诱导时间的延长, 连续观察

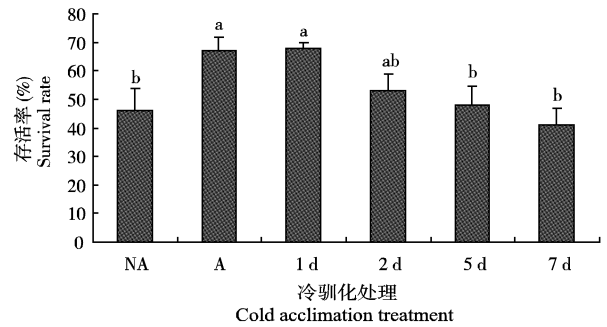


图 2 异色瓢虫成虫不同驯化处理后的低温存活率

Fig. 2 Survival rate of *Harmonia axyridis* adults after different acclimation treatments under low temperature

NA: 未进行冷驯化 (Not acclimated); A: 5°C 下驯化 5 d (Acclimated at 5°C for 5 d); 1 d, 2 d, 5 d, 7 d: 将成虫在 5°C 下驯化 5 d 后, 再转移至 25°C 下 1, 2, 5, 7 d (Insects successively exposed to 5°C for 5 d to acclimate them, and then returned to 25°C for 1, 2, 5 and 7 d, respectively, before being placed at -5°C to test the survival rate.)

虫的 SCP 显著下降 ($F = 0.562$, $df = 4$, $P > 0.05$)。长时间的驯化 (30 d) 可以使其 SCP 由 -10.1°C (未驯化) 下降至 -11.6°C 。随着低温诱导时间的延长其体内含水量也呈现下降趋势 (图 3: B)。在 5°C 下诱导 5 d 和 10 d 后, 含水量就由 64% (未驯化) 分别下降至 60% 和 58%。与 SCP 不同的是短时间的低温诱导就能使成虫的含水量极显著下降 ($F = 23.529$, $df = 4$, $P < 0.01$)。长时间的驯化 (30 d) 使其含水量下降至 53%。

72 h 内单头雌虫累计产卵量则呈现下降趋势 (图 4: C)。在 5°C 下诱导 5 d 和 10 d 后, 72 h 内单头雌虫产卵量由 89 粒 (未驯化) 分别下降至 60 粒和 49 粒, 明显低于未驯化的 ($F = 10.011$, $df = 2$, $P < 0.05$)。

2.4 冷驯化对体内几种相关酶活性的影响

异色瓢虫成虫在 5°C 下诱导不同时间后, 两种保护酶 CAT, SOD 表现出相似的变化趋势, 均随着驯化时间的延长其活性先升高后降低 (图 5: A, B)。诱导 3 d 后, CAT, SOD 活性均明显高于未驯

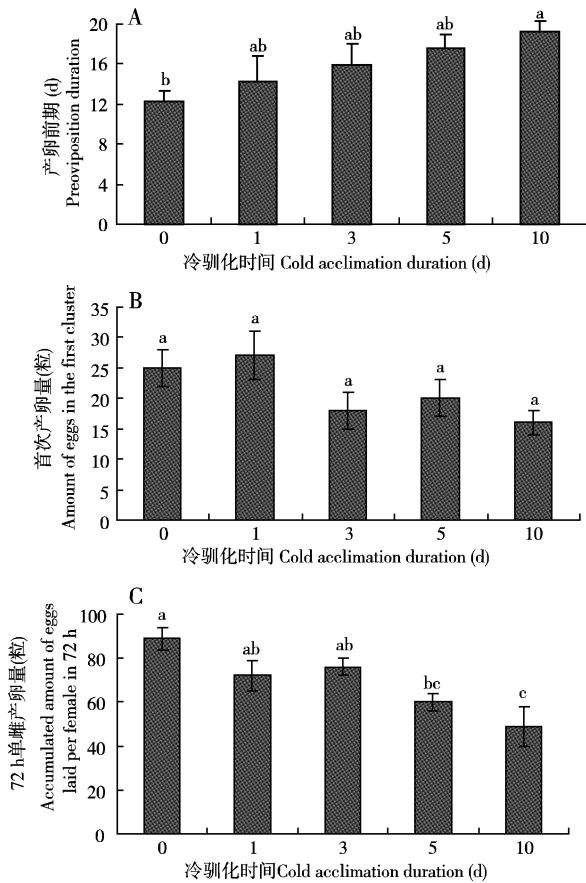


图4 冷驯化对异色瓢虫雌虫产卵前期(A)、首次产卵量(B)和72 h 累积产卵量(C)的影响

Fig. 4 Effects of cold acclimation on the pre-oviposition duration (A), the amount of eggs laid in the first cluster (B) and the accumulated amount of eggs laid in 72 h (C) by female *Harmonia axyridis*

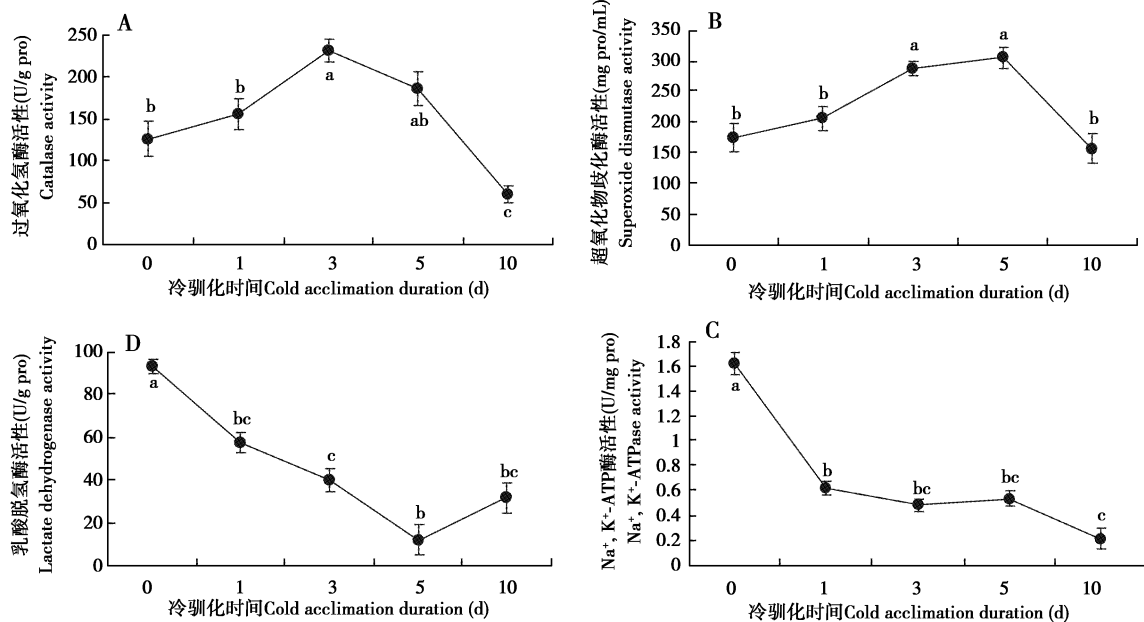


图5 冷驯化对异色瓢虫成虫体内过氧化氢酶(A)、超氧化物歧化酶(B)、乳酸脱氢酶(C)及ATP酶(D)的影响

Fig. 5 The effects of cold acclimation on CAT (A), SOD (B), LDH (C) and Na⁺, K⁺-ATPase (D) activities in *Harmonia axyridis* adults

化的($F = 14.574$, $df = 2$, $P < 0.01$; $F = 11.476$, $df = 2$, $P < 0.05$)。不同的是驯化5 d后CAT活性就开始下降;而SOD的活性仍然高于未进行驯化的,诱导10 d时其活性才低于未进行驯化的。与新陈代谢有关的两种酶LDH, ATP酶活性变化趋势基本相似(图5: C, D),除LDH活性在驯化10 d时突然升高外,两种酶在驯化1 d时均明显降低($F = 37.062$, $df = 1$, $P < 0.05$; $F = 90.494$, $df = 1$, $P < 0.05$),然后随着诱导时间的延长其活性持续降低。

3 讨论

3.1 冷驯化与耐寒性的关系

东亚飞蝗 *Locusta migratoria* 的卵在0℃和5℃下无论进行长时间(10 d)还是短时间(2 d)的驯化,或是模拟自然界温周期驯化都能够明显提高其存活率,其中模拟自然界温周期驯化效果最好(Wang *et al.*, 2006)。Jing和Kang(2003)还对东亚飞蝗不同地理种群的卵在0℃和5℃下的驯化进行了研究,结果发现能明显提高每个地理种群的耐寒性。这与本实验的研究结果一致(图1)。此外,Fields等(1998)研究结果表明:在5℃,10℃和15℃下分别对谷象 *Sitophilus granarius* 和锈赤扁谷盗 *Cryptolestes ferrugineus* 成虫驯化14 d,其中谷象在0℃下的LT₅₀由12 d延长至40 d;锈赤扁谷盗在-10℃下的LT₅₀由1.4 d延长至24 d。大量研究表明:冷驯化

过程特别是在 0℃ 和 5℃ 下的驯化已经多次被证实能显著提高昆虫的耐寒性 (Broufas and Koveos, 2001)。

Ma 等 (2006) 研究发现松褐天牛 *Monochamus alternatus* 秋季和越冬种群幼虫在 5℃ 下经过短时间 (6 h, 1 d, 4 d) 的驯化就能使秋季种群幼虫的 SCP 明显降低。但是短时间的驯化并不能使异色瓢虫成虫实验种群 SCP 明显降低, 必须经历长时间的驯化 (30 d) (图 3: A)。同样的长时间的驯化 (120 d) 可以使东亚飞蝗夏季种群卵的 SCP 显著降低约 3℃ (Jing and Kang, 2004)。冷驯化过程中 SCP 是否降低可能与昆虫种类或者与昆虫自身不同的抵抗低温伤害机制有关, SCP 与低温诱导是否有遗传特性尚需研究。短时间 (5, 10 d) 的冷驯化就能使异色瓢虫成虫的含水量明显下降 (图 3: B), 但是锈赤扁谷盗成虫体内含水量却一直保持稳定 (Fields *et al.*, 1998)。

冷驯化能够增强其耐寒性的现象具有明显的生态适应和进化意义 (王宪辉等, 2003)。自然界中这种驯化过程也是昆虫越冬策略之一 (Danks, 1996; Goto *et al.*, 1998)。室内对夏季种群进行低温诱导能显著增强其耐寒性也充分说明了冷驯化在昆虫越冬中的重要作用。对不同的昆虫种类来说, 驯化效果最佳的温度和时间是不同的。虽然适度的冷驯化可以不同程度地提高昆虫的耐寒性, 但是这种效应并非是长时间存在的。低温诱导后如果立即将昆虫转移到较高的温度下经历一定的时间, 这种效应就会消失 (图 2)。这与 Fields 等 (1998) 研究结果一致。

3.2 冷驯化对繁殖能力的影响

冷驯化在诱导昆虫耐寒性提高的同时不可避免的会对适合度的其他方面产生影响。黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 经历冷驯化后成虫的求偶行为会受到影 响 (Shreve *et al.*, 2004)。家蝇 *Musca domestica* 的蛹经过冷驯化后, 成虫羽化后寿命缩短 (王宪辉等, 2003)。冷驯化虽然能提高异色瓢虫成虫的低温存活率, 但是雌虫产卵前期却延长 (图 4: A)。冷驯化后黑腹果蝇雌虫卵巢中成熟卵母细胞的数量比未冷驯化的减半 (Rako and Hoffmann 2006)。虽然冷驯化对异色瓢虫雌虫首次产卵量没有影响, 但是随着低温诱导时间的延长, 连续观察 72 h 内单头雌虫累计产卵量却降低 (图 4: B, C), 这也可能是由于异色瓢虫卵巢中成熟卵母细胞数量减少的原因。冷驯化过程对昆虫来说收益和代价兼

有, 在提高低温存活能力的同时, 对其生殖能力在某种程度上又会造成不利影响。进一步研究冷驯化对生存和生殖的影响, 如何使二者之间的关系达到最优化, 这是非常重要的。

昆虫亲代经历冷驯化后, 这种可塑性反应会延伸到下一代, 而且还会影响后代的适合度, 但是这方面的研究较少 (Magiafoglou and Hoffmann, 2003)。黑腹果蝇亲代经低温诱导后, 卵的孵化率及幼虫的存活率均降低 (Watson and Hoffmann, 1996), 但是对后代发育历期及个体大小没有影响 (Rako and Hoffmann, 2006)。冷驯化对异色瓢虫后代发育存在怎样的影响尚需进一步研究。

3.3 冷驯化的生理生化机制

低温伤害使昆虫体内积累大量有毒代谢废物 (乳酸、含氮废物、自由基等) (Rojas and Leopold, 1996), 当其浓度超过阈值时, 就会造成新陈代谢紊乱。SOD 与 CAT 能够清除细胞内的活性氧、羟自由基及其他过氧化物, 以免对细胞造成毒害 (李周直等, 1994)。冷驯化后异色瓢虫成虫体内 CAT, SOD 活性均不同程度地先升高后降低 (图 5: A, B), 这可能是为保护细胞免受损伤在生理上作出的适应改变。SOD 和 CAT 的最适比例与氧自由基和羟自由基的浓度有关 (Privalle and Fridovich, 1989), 二者相互协调, 在异色瓢虫成虫体内共同构成防御体系。LDH 是糖酵解途径的关键酶之一。如果其活性升高会直接影响到体内能量代谢, 就会有更多的能量用于新陈代谢。异色瓢虫成虫在冷驯化过程中 LDH 活性降低 (图 5: C), 这样就预示着体内抗冻保护物质的合成可能增加, 有利于其增强耐寒性。Na⁺, K⁺-ATP 酶有促进离子运输的重要功能, 低温诱导使离子在细胞内外平衡, 启动相关的生理生化反应。冷驯化过程中异色瓢虫成虫体内 Na⁺, K⁺-ATP 酶活性明显降低 (图 5: D), 这样会影响离子的运输。异色瓢虫成虫在较温和的温度下进行适度的冷驯化可以使其体内酶系统做出适应性改变, 避免由于温度剧烈降低导致的伤害。

除了涉及到酶系统的改变外, 大量研究发现冷驯化能够诱导抗冻保护剂 (如甘油、海藻糖、多元醇等) 的积累 (Kostal *et al.*, 2001; Slachta *et al.*, 2002); 诱导胞外液体结冰的冰核剂以及阻止冰晶形成的抗冻蛋白 (如热激蛋白 hsp20.5, hsp70 和 hsp90) 的出现 (Wang *et al.*, 2006; 冯从经等, 2007) 等; 还能使体内含水量明显下降。冷驯化诱导耐寒性增加是一种复杂的生理生化过程。这些抗冻保护

物质与体内一系列相关的酶系统是如何作用来增强昆虫的耐寒性尚需进一步研究。

参 考 文 献 (References)

- Broufas GD, Koveos DS, 2001. Rapid cold hardening in the predatory mite *Euseius (Amblyseius) finlaandicus* (Acari: Phytoseiidae). *Journal of Insect Physiology*, 47: 699–708.
- Danks HV, 1996. The wider integration of studies on insect cold-hardiness. *Eur. J. Entomol.*, 93: 383–403.
- Feng CJ, Lu WJ, Dong QA, Chen J, Fu WJ, 2007. Effect of low temperature treatment on larvae of the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis* (Guenée) (Lepidoptera: Pyralidae). *Acta Entomologica Sinica*, 50 (1): 1–6. [冯从经, 吕文静, 董秋安, 陈俊, 符文俊, 2007. 低温处理对亚洲玉米螟幼虫抗寒性的诱导效应. 昆虫学报, 50 (1): 1–6]
- Fields PG, Fleurat-Lessard F, Lavenseau L, Febvay G, Peypelut L, Bonnot C, 1998. The effect of cold acclimation and deacclimation on cold tolerance, trehalose and free amino acid levels in *Sitophilus granarius* and *Cryptolestes ferrugineus* (Coleoptera). *Journal of Insect Physiology*, 44: 955–965.
- Goto M, Fuji M, Suzuki K, Sakai M, 1998. Factors affecting carbohydrate and free amino acid content in overwintering larvae of *Enosima leucotaeniella*. *J. Insect Physiol.*, 44: 87–94.
- Hoffman AA, Sørensen JG, Loescheke V, 2003. Adaptation of *Drosophila* to temperature extremes: Bringing together quantitative and molecular approaches. *Journal of Thermal Biology*, 28: 175–216.
- Hoffmann AA, Watson M, 1993. Geographical variation in the acclimation responses of *Drosophila* to temperature extremes. *American Naturalist*, 142: S93–S113.
- Jing XH, Kang L, 2003. Geographical variation in egg cold hardiness: a study on the adaptation strategies of the migratory locust *Locusta migratoria* L. *Ecological Entomology*, 28: 151–158.
- Jing XH, Kang L, 2004. Seasonal changes in the cold tolerance of eggs of the migratory locust, *Locusta migratoria* L. (Orthoptera: Acrididae). *Environ. Entomol.*, 33: 113–118.
- Jing XH, Wang XH, Kang L, 2005. Chill injury in the eggs of the migratory locust, *Locusta migratoria* (Orthoptera: Acrididae): the time-temperature relationship with high-temperature interruption. *Insect Science*, 12: 171–178.
- 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.
- Kostal V, Slachta M, Simek P, 2001. Cryoprotective role of polyols independent of the increase in supercooling capacity in diapausing adults of *Pyrrhocoris apterus* (Heteroptera: Insecta). *Comparative Biochemistry and Physiology B*, 130: 365–374.
- Leather SR, Walters KFA, Bale JS, 1993. *The Ecology of Insect Overwintering*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Li ZZ, Shen HJ, Jiang QG, Ji BZ, 1994. A study on the activities of endogenous enzymes of protective system in some insects. *Acta Entomologica Sinica*, 37(4): 399–403. [李周直, 沈惠娟, 蒋巧根, 嵇保中, 1994. 几种昆虫体内保护酶系统活力的研究. 昆虫学报, 37(4): 399–403]
- Ma RY, Hao SG, Tian J, Sun JH, Kang L, 2006. Seasonal variation in cold-hardiness of the Japanese pine sawyer *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae). *Environ. Entomol.*, 35 (4): 881–886.
- Magiafoglou A, Hoffmann AA, 2003. Cross-generation effects due to cold exposure in *Drosophila serrata*. *Functional Ecology*, 17: 664–672.
- Privalle CT, Fridovich I, 1989. Induction of superoxide dismutase in *Escherichia coli* by heat shock. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84: 2 723–2 726.
- Rako L, Hoffmann A, 2006. Complexity of the cold acclimation in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Physiology*, 52: 94–104.
- Renault D, Nedvěd O, Hervant F, Vernon P, 2004. The importance of fluctuating thermal regimes for repairing chill injuries in the tropical beetle *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) during exposure to low temperature. *Physiological Entomology*, 29: 139–145.
- Rojas RR, Leopold RA, 1996. Chilling injury in the housefly: Evidence for the role of oxidative stress between pupariation and emergence. *Cryobiology*, 33: 447–458.
- Shreve SM, Kely JD, Lee Jr RE, 2004. Preservation of reproductive behaviors during modest cooling: Rapid cold-hardening fine-tunes organismal response. *Journal of Experimental Biology*, 207: 1 797–1 802.
- Slachta M, Berková P, Vambera J, Kostál V, 2002. Physiology of the cold acclimation in non-diapausing adults of *Pyrrhocoris apterus* (Heteroptera). *European Journal of Entomology*, 99: 181–187.
- Wang HS, Zhou CS, Guo W, Kang L, 2006. Thermoperiodic acclimations enhance cold hardiness of the eggs of the migratory locust. *Cryobiology*, 53: 206–217.
- 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): 2 117–2 126. [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): 2 117–2 126]
- Wang XH, Qi XL, Kang L, 2003. Rapid cold hardening in insect and its ecological adaptation. *Progress in Natural Science*, 13 (11): 1 128–1 133. [王宪辉, 齐宪磊, 康乐, 2003. 昆虫的快速冷驯化现象及其生态适应意义. 自然科学进展, 13 (11): 1 128–1 133]
- Watson MJO, Hoffmann AA, 1996. Acclimation, cross-generation effects, and the response to selection for increased cold resistance in *Drosophila*. *Evolution*, 50: 1 182–1 192.
- 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): 1 271–1 278. [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): 1 271–1 278]

(责任编辑: 赵利辉)