

贮藏前补充人工饲料对七星瓢虫低温耐受力的影响

孙元星*, 郝亚楠, 李明凌

(甘肃农业大学植物保护学院/甘肃省农作物病虫害生物防治工程实验室, 兰州 730070)

摘要: 七星瓢虫是一种重要的捕食性天敌, 在生物防治中应用广泛。为了探究贮藏前补充人工饲料对该瓢虫低温耐受力的影响, 本研究通过在贮藏前对新羽化成虫饲喂人工饲料(简称 AD)及豌豆蚜(对照, 简称 AP), 以 6 °C 下不同时间后的适合度来评价两个处理的低温耐受力。结果表明: 随着贮藏时间延长, AD 成虫的存活率呈下降趋势, 在 60 d 时降至 80%, 但 AP 在整个贮藏期均具有较高存活率 (>95%) 且 AP-45 显著高于 AD-45; AD 成虫体质量损失随贮藏时间延长也显著增加, 但均低于 AP; AD-60 仍具较高生殖力(产卵量为 46.4 粒, 孵化率为 80.6%), 与 AP-60 差异不显著。结果表明人工饲料可作为七星瓢虫成虫贮藏前的一种替代食物, 将在进一步开发经济、高效的低温贮藏技术中发挥重要作用。

关键词: 低温贮藏; 七星瓢虫; 人工饲料; 生物防治

中图分类号: S476.2 文献标识码: A 文章编号: 1005-9261(2020)05-0708-06

Effect of Supplementation of Artificial Diet before Storage on Cold Tolerance of *Coccinella septempunctata*

SUN Yuanxing*, HAO Yanan, LI Mingling

(College of Plant Protection, Gansu Agricultural University/Biocontrol Engineering Laboratory of Crop Diseases and Pests of Gansu Province, Lanzhou 730070, China)

Abstract: *Coccinella septempunctata* is an important biocontrol agent and play critical roles in many biological control programs. In order to explore the effect of supplementation of artificial diet before storage on the cold tolerance of *C. septempunctata*, in this study, the newly emerged adults were fed with artificial diet (called AD) or pea aphid (served as control, and called AP) and then their post-storage fitness was measured after being stored at 6 °C for different periods. After that, the cold tolerance of the two treatments was evaluated. The results showed that the survival of AD adults decreased with prolonged storage and decreased to 80% at 60 days after storage, but AP adults had sustained high survival (>95%) during the whole storage periods, and survival of AP-45 was significantly higher than that of AD-45. The weight loss of AD adults was greatly decreased with prolonged storage, but was less than AP. AD-60 still had relatively high reproductive capabilities (number of oviposition was 46.4, and egg hatch rate was 80.6%), which were similar to those of AP-60. These results indicated that artificial diet could be used as an effective alternative pre-storage diet, and would play important roles in further developing cost-effective storage techniques.

Key words: cold storage; *Coccinella septempunctata*; artificial diet; biological control

在农业生产中, 高品质的商品化天敌是实现生物防治的重要途径, 而低温贮藏是延长天敌昆虫产品货架期最有效的方法^[1]。基于低温贮藏技术可有效保障天敌产品与田间害虫暴发的关键期同步, 以达到较好

收稿日期: 2020-02-16

基金项目: 甘肃农业大学伏羲青年英才培养计划(Gaufx-03Y05); 国家自然科学基金(31960561); 甘肃省青年科技人才托举工程项目(GKXTJ20181126)

作者简介: 孙元星, 博士, 副教授, E-mail: sunyx1988@126.com; *通信作者。

DOI: 10.16409/j.cnki.2095-039x.2020.05.006

的防治效果^[2,3];此外,该技术还可应用于室内保存天敌种群,以减少人力操作^[4,5]。自20世纪30年代起,有关天敌昆虫低温贮藏的研究就陆续开展,至今仍是研究热点^[6]。但在贮藏过程中,长时间的低温暴露通常会给天敌昆虫带来诸多不利影响,如造成存活率大幅降低^[7],因此针对不同天敌的低温贮藏技术仍需不断探索。

天敌昆虫在贮藏时的生理状态如龄期、营养状况等可显著影响其低温耐受能力^[8,9]。贮藏前补充营养是调节昆虫低温耐受力的一个重要途径,但不同食物会造成机体抗寒物质、抗氧化剂及能量贮备量的不同^[10,11]。此外,一些昆虫低温贮藏前的营养需求可能与日常饲养存在差异^[12]。因此需要对天敌的贮藏前食物进行筛选。研究表明,应用人工饲料有利于促进昆虫的规模化饲养和工厂化生产,是实现有效生物防治的重要途径^[13-15],但其营养组成较自然猎物具有较大差异^[16]。前期研究表明,异色瓢虫成虫在贮藏前取食人工饲料较取食蚜虫具有更好的低温耐受力^[17],但在其他瓢虫中的研究仍十分有限。

七星瓢虫 *Coccinella septempunctata* Linnaeus 属鞘翅目 Coleoptera、瓢虫科 Coccinellidae。该瓢虫在我国各省均有分布,对半翅目、鞘翅目、鳞翅目等重要农林害虫都有很强的捕食能力,作为一种重要捕食性天敌在生物防治中具有广泛应用^[18,19]。目前,有关七星瓢虫低温贮藏的研究多见于卵期,其卵在 11 °C 条件下能够保存 10 d 左右^[20,21]。在自然条件下,该瓢虫主要以成虫在干燥、温暖的枯枝落叶下、杂草基部等处越冬^[18],同时前期研究也表明瓢虫成虫期是耐寒能力最强的阶段^[22]。因此,开展室内饲养七星瓢虫成虫的低温贮藏技术研究对充分应用该瓢虫进行生物防治具有重要意义。前期,仅有少量有关休眠成虫低温贮藏的报道^[23],缺乏对室内饲养种群的研究。

本试验通过在贮藏前对七星瓢虫成虫饲喂人工饲料与天然猎物,比较贮藏不同时间后的适合度,拟初步明确贮藏前补充人工饲料对七星瓢虫成虫低温贮藏效率的影响,以期开发高效的七星瓢虫成虫低温贮藏技术奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* (Harris) 为实验室长期饲养在蚕豆上的种群。七星瓢虫成虫采自甘肃农业大学苜蓿试验地并带回实验室用豌豆蚜进行持续饲养。为了提供低温贮藏试验所需虫源,将两对成虫饲养在直径为 9 cm 的培养皿内,每天提供充足的豌豆蚜并提供一蚕豆叶片作为产卵介质。上述所有供试昆虫均饲养在 (25±1) °C, RH (60±10) %, 光周期 16L: 8D 的养虫室内。

每天观察七星瓢虫的产卵情况,将卵转移至直径为 3 cm 的培养皿内,并提供一浸透水的棉球保湿。将新孵化的幼虫转移到饲养豌豆蚜种群的养虫笼内 (60 cm×60 cm×45 cm, 每笼 50 头) 饲养,并及时补充蚜虫。待幼虫发育至 4 龄末期,将幼虫从笼内取出继续饲养在直径为 9 cm 的培养皿内 (5 头/皿) 直至化蛹。所得新羽化成虫用于进行低温贮藏试验。

1.2 低温贮藏

将七星瓢虫新羽化成虫按 5 头/皿的密度饲养在直径为 9 cm 的培养皿内,分为两组: A 组用人工饲料 (AD) 进行饲喂 (人工饲料主要成分见表 1,参照 Sun 等^[24]的方法进行配置); B 组用豌豆蚜进行饲喂 (简称 AP), 作对照。AD 组每 2 d 更换一次人工饲料, AP 组每天提供充足豌豆蚜。

成虫在 25 °C 下饲喂 4 d 后转移至温度为 15 °C 的培养箱中继续饲喂 2 d, 进行低温适应。饲喂结束后,

表 1 人工饲料主要成分及含量

Table 1 Ingredients and their contents in the artificial diet

主要成分 Main components		添加剂 Additives	
猪肝匀浆 pork liver homogenate	10.0 g	橄榄油+亚麻籽油 olive oil + lin-seed oil (1:1.4, v:v)	1.9 mL
酵母粉 yeast extract	1.0 g	山梨酸钾 potassium sorbate	17 mg
蔗糖 sucrose	2.0 g		
蜂蜜 honey	1.0 g		

用万分之一电子天平(AE224C, 上海舜宇恒平科学仪器有限公司)对单头成虫进行称重并装入直径为 3 cm 的培养皿内, 将饲料处理、成虫体质量及日期等信息记录在培养皿盖上。将同一处理的 5 个培养皿叠放在一起, 用封口膜缠牢后放入 6 °C 的冰箱内(全黑暗), 分别贮藏 15、30、45 及 60 d。上述共计 8 个低温贮藏处理, 分别记作: AD-15, AD-30, AD-45, AD-60, AP-15, AP-30, AP-45, AP-60, 每一处理累计贮藏成虫 20~29 头。此外, 在贮藏 30 d 时, 将成虫转移至 15 °C 的培养箱中间断恢复 1 h。

1.3 贮藏后的适合度测定

各处理贮藏结束后, 将成虫转移至室温使其恢复活力, 统计成虫的存活情况。挑选出存活的成虫, 并再次进行称重, 统计成虫在贮藏期的体质量损失。将 AD-60 与 AP-60 的存活成虫分别进行配对, 用豌豆蚜继续饲养, 观察产卵情况。待产卵开始后, 将每天所产卵转移至一直径为 3 cm 的培养皿内并加一浸透水的棉球保湿, 统计孵化的幼虫数。该部分试验共统计 4 对成虫在 10 d 内的产卵情况, 计算产卵前期及卵孵化率。卵孵化率(%) = 孵化幼虫数/产卵量 × 100。

1.4 数据统计与分析

采用 SAS 9.1 软件进行数据分析。其中, 七星瓢虫成虫贮藏后的存活率采用 2 × 2 联表进行分析。成虫体质量损失采用双因素方差分析(贮藏前营养与贮藏时间为两个因素)。如果贮藏前营养与贮藏时间存在显著交互效应, 则某一因素在另一因素不同水平上的差异继续采用单因素方差分析进行比较, 采用 Tukey HSD 法进行多重比较。产卵前期、产卵量及卵孵化率在 AP-60 与 AD-60 间的差异采用独立样本 *t* 检验进行分析。

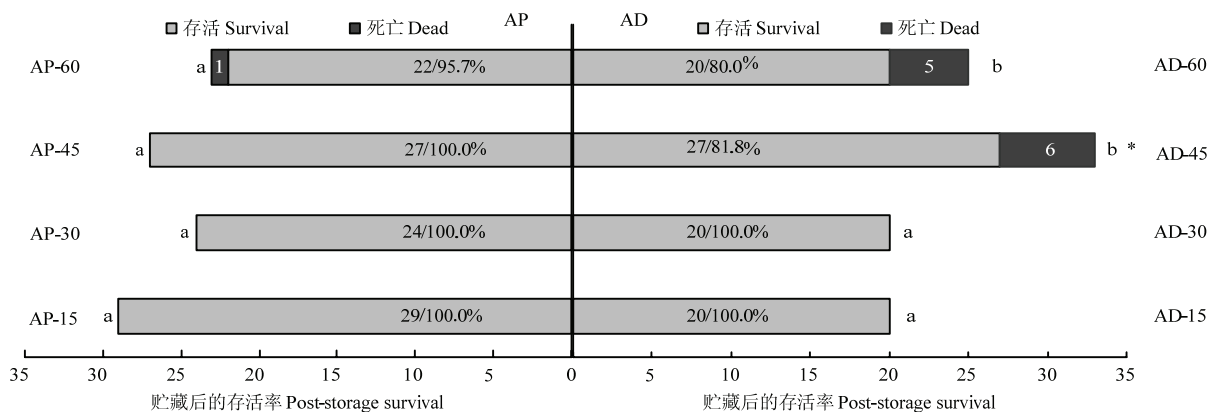
2 结果与分析

2.1 存活率

处理 AD 的成虫存活率在不同贮藏时间具有显著差异($\chi^2=8.59, p=0.0352$)。其中, AD-15 与 AD-30 的存活率均为 100.0%, 显著高于 AD-45 ($\chi^2=4.10, p=0.0429$) 及 AD-60 ($\chi^2=4.50, p=0.0339$), 而 AD-45 与 AD-60 间无显著差异($\chi^2=0.03, p=0.8611$)。在贮藏前用蚜虫进行饲喂后, AP-15、AP-30 与 AP-45 的存活率均为 100.0%, 与 AP-60 (95.7%) 无显著差异($\chi^2=3.51, p=0.3192$), 但 AP-45 的存活率显著高于 AD-45 ($\chi^2=5.45, p=0.0195$) (图 1)。

2.2 体质量损失

低温贮藏后, 七星瓢虫成虫的体质量损失在 AP 与 AD 两个处理间具有显著差异($F_{1,188}=117.51, p<$



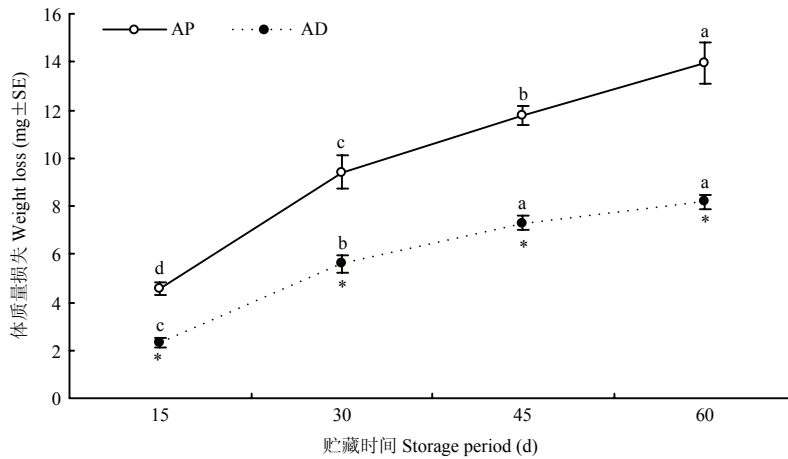
注: 不同字母表示不同贮藏时间之间具有显著差异; *表示在同一贮藏时间下, 处理 AP 与 AD 间具有显著差异; 柱形图灰色填充部分的数值/百分数代表存活头数/存活率, 黑色填充部分的数值代表死亡头数。

Note: Different letters indicated significant differences among different storage periods; * Indicates a significant difference between treatments AP and AD. Number/percentage in gray filled part of the histogram indicates survival number/survival rate, and the number in dark filled part indicates dead number.

图 1 七星瓢虫成虫经历低温贮藏后的存活率

Fig. 1 Survival of *Coccinella septempunctata* adults after cold storage

0.0001)，在不同贮藏时间之间也具有显著差异 ($F_{3,188}=91.97, p<0.0001$)，同时两个因素间具有显著的交互效应 ($F_{3,188}=12.65, p<0.0001$)。AP 处理成虫随贮藏时间延长，体质量损失显著增加 ($F_{3,101}=51.94, p<0.0001$)；AD-45 与 AD-60 的体质量损失无显著差异，且均显著高于 AD-30 与 AD-15 ($F_{3,86}=66.59, p<0.0001$)。经历不同时间的低温贮藏后，AD 成虫的体质量损失均显著低于 AP ($F_{1,41-53}=19.44\sim 74.08, p<0.0001$) (图 2)。



注：不同字母表示贮藏时间之间具有显著差异；*表示在同一贮藏时间下，处理 AP 与 AD 间具有显著差异。

Note: Different letters indicated significant differences among different storage periods; * Indicates a significant difference between treatments AP and AD.

图 2 七星瓢虫成虫经历低温贮藏后的体质量损失

Fig. 2 The weight loss of *Coccinella septempunctata* adults after cold storage

2.3 生殖力

AP-60 与 AD-60 的产卵前期相同，均为 5.3 d ($t=0, p=1.0000$)；两个处理的日平均产卵量分别为 53.4 与 46.4 粒，无显著差异 ($t=0.87, p=0.4197$)，卵孵化率分别为 70.5%与 80.6%，也无显著差异 ($t=-1.02, p=0.3486$) (表 2)。

表 2 七星瓢虫成虫经历低温贮藏后的生殖力

Table 2 Reproductive capabilities of *Coccinella septempunctata* adults after cold storage

处理 Treatment	产卵前期 Pre-oviposition period (d)	产卵量 (粒) Number of oviposition	孵化率 Egg hatch rate (%)
AP-60	5.3 ± 0.3	53.4 ± 7.3	70.5 ± 9.6
AD-60	5.3 ± 0.5	46.4 ± 3.4	80.6 ± 2.3

注：数据为平均值 ± 标准误。

Note: data were presented as mean ± SE.

3 讨论

研究表明，3~6 °C 是捕食性瓢虫低温贮藏的常用温度^[25]，而捕食性天敌超过 2 周的贮藏潜能是实现大量饲养与生物防治的一个至关重要的因素^[26]。在本研究中，室内饲养的七星瓢虫成虫可在 6 °C 下贮藏 60 d 左右，低温贮藏后的成虫仍具有较高的存活率及生殖力。因此，本研究结果有利于推进七星瓢虫在生物防治中的应用。

本研究发现贮藏前的食物类型对七星瓢虫成虫贮藏后的存活率具有一定影响。在贮藏 45 与 60 d 时，AP 处理的存活率均高于 AD，且 AP-45 显著高于 AD-45。在贮藏过程中，昆虫的低温耐受力主要受体内抗寒物质及营养储备的影响^[9]。因此，在贮藏前饲喂人工饲料可能造成成虫的营养构成不同，从而使 AD 在贮藏后期因营养缺乏或抗寒物质急剧减少而出现相对较高的死亡率。此外，在贮藏过程中，AP 的体质量

量损失显著高于 AD, 表明取食蚜虫个体在贮藏期具有较快的代谢速率, 能提供生命所需的营养需求。人工饲料与豌豆蚜含水量及营养组成不同可能是造成贮藏期代谢速率不同的重要原因, 今后对 AP 与 AD 处理在贮藏过程中的营养变化进行深入分析将有利于明确七星瓢虫在低温贮藏过程中的营养与抗寒物质需求。在相似贮藏条件下, 室内饲养异色瓢虫成虫 AD 处理的体质量损失也显著低于 AP 处理, 但贮藏后的存活率却高于 AP^[17]。上述结果表明, 不同瓢虫在低温贮藏期的营养需求可能存在较大差异。此外, 通过对两种瓢虫进行比较发现, 经历长时间低温贮藏(60 d)后, AP 与 AD 处理的七星瓢虫成虫的存活率(分别为 95.7%与 80.0%)均高于异色瓢虫(51.7%~73.7%)^[17]。这可能是由于七星瓢虫较异色瓢虫具有更强的低温耐受力。研究表明七星瓢虫的过冷却点为-15 °C~-21 °C左右^[27], 而异色瓢虫的过冷却点一般为-10 °C~-15 °C^[28]。

长时间低温贮藏通常会对天敌昆虫的适合度产生不利影响。在本研究中, 七星瓢虫成虫存活率在贮藏后期(≥45 d)呈下降趋势, 特别是人工饲料处理 AD-45 与 AD-60 的存活率显著低于 AD-15 与 AD-30。此外, 随着贮藏时间延长, 七星瓢虫成虫的体质量损失也显著升高。上述结果表明低温贮藏中的存活率下降可能是由营养消耗所致, 同时冷伤害的积累也是重要因素^[10]。尽管如此, 七星瓢虫成虫在低温贮藏 60 d 后仍具有较高的存活率(>80.0%), 但七星瓢虫卵在最适条件下(11 °C)贮藏 10 d 后的孵化率仅为 50.67%^[20], 表明应用成虫进行长期低温贮藏具有明显优势。

七星瓢虫成虫经历低温贮藏后取食豌豆蚜仍具有较高的生殖力, AD-60 与 AP-60 的日均产卵量分别为 46.4 与 53.4 粒, 且具有较高孵化率(>70%)。孙毅等^[29]利用烟蚜饲养七星瓢虫, 日均产卵量为 75.9 粒, 孵化率为 81.72%; 而肖达等^[9]用豌豆修尾蚜饲养后的日均产卵量约为 50.4 粒, 孵化率为 80.0%左右。上述结果表明, 长时间低温贮藏对七星瓢虫的生殖力影响较小。在实际应用中, 释放低温贮藏后的七星瓢虫成虫进行生物防治具有巨大潜力, 有利于在田间快速建立种群, 达到对害虫持续控制的目的。

综上所述, 七星瓢虫成虫在贮藏前取食人工饲料的耐低温能力没有取食豌豆蚜的强, 但仍可至少贮藏 60 d 左右。因此, 人工饲料作为一种方便易得的食物可在蚜虫不足时作为替代食物用于在贮藏前进行营养补充, 该技术将有效提高产品的货架期及降低生产成本。

参 考 文 献

- [1] Rathee M, Ram P. Impact of cold storage on the performance of entomophagous insects: an overview[J]. *Phytoparasitica*, 2018, 46: 421-449.
- [2] Costa V H D, Soares M A, Junior S L, et al. Egg storage of *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) predators at low temperatures[J]. *Revista Arvore*, 2016, 40(5): 877-884.
- [3] Riddick E W, Wu Z. Potential long-term storage of the predatory mite *Phytoseiulus persimilis*[J]. *Biocontrol*, 2010, 55: 639-644.
- [4] Rathee M, Ram P, Mehra S. Response of *Aenasius bambawalei* Hayat (Hymenoptera: Encyrtidae) adults to low temperature storage in relation to key biological parameters[J]. *Journal of Biological Control*, 2015, 29(1): 119-121.
- [5] Singhamuni S A A, Hemachandra K S, Sirisena U G A I. Potential for mass rearing of the egg parasitoids, *Trichogramma chilonis* and *Tricogramma achaeae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on *Corcyra cephalonica* eggs[J]. *Tropical Agricultural Research*, 2015, 27(1): 1-12.
- [6] 沈祖乐, 李翌菡, 周雅婷, 等. 天敌昆虫低温贮藏研究进展[J]. *热带作物学报*, 2017, 2: 191-197.
- [7] Sun Y X, Tong C, Liu T X. Influence of larval rearing temperature on the quality of cold-stored *Oomyzus sokolowskii* Kurdjumov (Hymenoptera: Eulophidae)[J]. *Journal of Applied Entomology*, 2017, 141(3): 172-180.
- [8] Bowler K, Terblanche J S. Insect thermal tolerance: what is the role of ontogeny, ageing and senescence?[J]. *Biological Reviews*, 2008, 83(3): 339-355.
- [9] Jenö K, Brokordt K. Nutritional status affects the capacity of the snail *Concholepas concholepas* to synthesize Hsp70 when exposed to stressors associated with tidal regimes in the intertidal zone[J]. *Marine Biology*, 2014, 161: 1039-1049.
- [10] Colinet H, Boivin G. Insect parasitoids cold storage: a comprehensive review of factors of variability and consequences[J]. *Biological Control*, 2011, 58(2): 83-95.
- [11] Liu Z D, Gong P Y, Wu K J, et al. Effects of larval host plants on over-wintering preparedness and survival of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae)[J]. *Journal of Insect Physiology*, 2007, 53(10): 1016-1026.
- [12] Coudron T A, Ellersieck M R, Shelby K S. Influence of diet on long-term cold storage of the predator *Podisus maculiventris* (Say) (Heteroptera:

- Pentatomidae[J]. *Biological Control*, 2007, 42(2): 186-195.
- [13] 程英, 鄧军锐, 周宇航, 等. 非昆虫源人工饲料饲养的七星瓢虫对豆蚜的捕食功能[J]. *中国生物防治学报*, 2018, 34(2): 209-213.
- [14] 曾凡荣. 昆虫人工饲料研究[J]. *中国生物防治学报*, 2018, 34(2): 184-197.
- [15] Zou D Y, Wu H H, Coudron T A, *et al.* A meridic diet for continuous rearing of *Arma chinensis* (Hemiptera: Pentatomidae: Asopinae)[J]. *Biological Control*, 2013, 67(3): 491-497.
- [16] Sun Y X, Hao Y N, Riddick E W, *et al.* Factitious prey and artificial diets for predatory lady beetles: current situation, obstacles, and approaches for improvement: a review[J]. *Biocontrol Science and Technology*, 2017, 27(5): 601-619.
- [17] Sun Y X, Hao Y N, Liu C Z, *et al.* Artificial diet is fruitful pre-storage nutrition for long-term cold storage of laboratory-reared *Harmonia axyridis* (Pallas) adults[J]. *Biological Control*, 2019, 139: 104075.
- [18] 程英, 李忠英, 李凤良. 七星瓢虫的研究进展[J]. *贵州农业科学*, 2006, 34(5): 117-119.
- [19] 肖达, 郭晓军, 张帆, 等. 环境颜色对七星瓢虫产卵的影响[J]. *中国生物防治学报*, 2017, 33(1): 44-48.
- [20] 肖达, 杜晓艳, 陈旭, 等. 七星瓢虫卵的低温贮藏条件研究[J]. *环境昆虫学报*, 2019, 41(2): 288-293.
- [21] Hamalainen M, Markkula M. Cool storage of *Coccinella septempunctata* and *Adalia bipunctata* (Col.: Coccinellidae) eggs for use in the biological control in greenhouses[J]. *Annales Agriculturae Fenniae*, 1977, 16: 132-136.
- [23] Hodek I, Ruzicka Z, Sehnal F. Termination of diapause by juvenoids in two species of ladybirds (Coccinellidae)[J]. *Experientia*, 1973, 29: 1146-1147.
- [23] Hamalainen M. Storing dormant *Coccinella septempunctata* and *Adalia bipunctata* (Col.: Coccinellidae) adults in the laboratory[J]. *Annales Agriculturae Fenniae*, 1977, 16: 184-187.
- [24] Sun Y X, Hao Y N, Liu T X. A β -carotene-amended artificial diet increases larval survival and be applicable in mass rearing of *Harmonia axyridis*[J]. *Biological Control*, 2018, 123: 105-110.
- [25] Ruan C C, Du W M, Wang X M, *et al.* Effect of long-term cold storage on the fitness of pre-wintering *Harmonia axyridis* (Pallas)[J]. *Biocontrol*, 2012, 57: 95-102.
- [26] Osman, M Z, Selman B J. Storage of *Chrysoperla carnea* Steph. (Neuroptera: Chrysopidae) eggs and pupae[J]. *Journal of Applied Entomology*, 1993, 115(1-5): 420-424.
- [27] Nedved O. Comparison of cold hardiness in two ladybird beetles (Coleoptera: Coccinellidae) with contrasting hibernation behavior[J]. *European Journal of Entomology*, 1993, 90: 465-470.
- [28] 邬梦静, 徐青叶, 刘雅, 等. 异色瓢虫低温胁迫下过冷却点变化及抗寒基因表达分析[J]. *中国农业科学*, 2016, 49(4): 677-685.
- [29] 孙毅, 万方浩, 姬金红, 等. 利用人工卵赤眼蜂蛹规模化饲养七星瓢虫的可行性研究[J]. *植物保护学报*, 2001, 28(2): 139-145.