

毛健夜蛾幼虫假死行为诱导因子研究*

朱 敏^{1**} 王 敏¹ 陈丽琼¹ 盛丽星¹ 陈元生² 涂小云^{1***}

(1. 江西师范大学生命科学学院, 南昌 330022; 2. 江西环境工程职业学院, 赣州 341000)

摘 要 【目的】 探明毛健夜蛾 *Brithys crini* Fabricius 幼虫另类假死行为的规律和特点。【方法】 在实验室条件下观察毛健夜蛾幼虫体重、连续刺激、作用力的大小、背景声音和背景 LED 光色对假死发生率和假死持续时间的影响。【结果】 (1) 假死持续时间有随幼虫体重增加而延长的趋势, 但相关性不显著。(2) 假死持续时间有随刺激次数增加而缩短的趋势, 与刺激次数呈显著性负相关; 前 10 次刺激的平均假死持续时间 (85.6 s) 显著长于后 10 次 (67.3 s)。(3) 2、5 和 10 N 力处理组间假死持续时间 (分别为 82.3、97.4 和 78.3 s) 无显著差异, 但三者均显著短于 6 N 力处理组的假死持续时间 (157.0 s)。(4) 风声处理组假死持续时间 (65.6 s) 显著短于鸟鸣声和蛙叫声处理组 (分别为 144.8 s 和 134.1 s)。(5) 不同颜色背景 LED 光源处理下, 假死持续时间有显著差异性, 红色闪光、红色、黄色、绿色、白色和蓝色处理组假死持续时间分别为 54.7、64.3、82.7、90.6、96.9、112.3 s。各处理假死发生率没有显著性差异。【结论】 毛健夜蛾幼虫假死行为可因内外环境因素不同而异。

关键词 毛健夜蛾, 假死, 内部因素, 外部因素

Factors that induce *Brithys crini* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae) larvae to play dead

ZHU Min^{1**} WANG Min¹ CHEN Li-Qiong¹
SHENG Li-Xing¹ CHEN Yuan-Sheng² TU Xiao-Yun^{1***}

(1. College of Life Sciences, Jiangxi Normal University, Nanchang 330022, China;

2. Jiangxi Environmental Engineering Vocational College, Ganzhou 341000, China)

Abstract 【Objectives】 To understand what induces larvae of *Brithys crini* Fabricius to play dead. 【Methods】 The effects of internal and external factors on the frequency and the duration of playing dead were observed. 【Results】 (1) The duration of feigned death increased with larval body weight but this trend was not statistically significant. (2) Duration decreased significantly with the number of repeated stimuli. The duration from the 1st to the 10th stimulus (85.6 s) was longer than that from the 11th to the 20th stimulus (67.3 s). (3) The duration of feigned death following mechanical stimulation of 2, 5 and 10 Newtons (N) (82.3, 97.4 and 78.3 s, respectively) was shorter than that after receiving a stimulus of 6 N (157.0 s). The relationship between duration and applied force could be described by a parabolic equation. (4) The duration following exposure to the sound of wind (65.6 s) was shorter than that following exposure to bird and frog calls (144.8 s and 134.1 s, respectively). (5) There was a significant difference in duration following exposure to different LED sources. Durations of feigned death following red flashing, red, yellow, green, white and blue LED treatments were 54.7, 64.3, 82.7, 90.6, 96.9 and 112.3 s, respectively. The difference in the frequency of feigned death was insignificant among all treatments. 【Conclusion】 The larvae of *B. crini* are induced to play dead by both internal and external factors.

Key words *Brithys crini*, death-feigning, internal factor, external factor

*资助项目 Supported projects: 江西师范大学大学生学术课题资助项目

**第一作者 First author, E-mail: 761717930@qq.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: txy1036@163.com

收稿日期 Received: 2015-11-28; 接受日期 Accepted: 2016-03-25

假死行为在昆虫纲中十分普遍,当昆虫受到外部刺激(如遭到攻击或受惊扰)时,身体蜷缩,静止不动或从原停留处落下,呈现“死亡”之状的行为被称作假死(Thanatosis, death-feigning)。在一些情况下,假死行为能提高物种的存活率,具有明显的适应性价值;人们则可利用害虫假死行为进行人工捕捉害虫,施行人工防治(唐廷树, 1999)。根据昆虫假死行为的功能实现方式的不同,可分为3种类型:逃避搜捕型假死、伪装死亡型假死和抑制进食型假死(孟凡明和梁醒财, 2009)。前期研究结果表明毛健夜蛾 *Brithys crini* 幼虫具有逃避搜捕型假死行为(于停留处落下后一段时间内,幼虫蜷缩不动,进入假死状态)(涂小云等, 2013),之后研究工作中观察到毛健夜蛾幼虫还有另类假死行为——伪装死亡型假死,即受到刺激之后肢体僵直不动。为此,在实验条件下比较了毛健夜蛾幼虫内部因素(体重)和外部因素(连续刺激、撞击力大小、背景声音和背景光色)对毛健夜蛾幼虫假死的影响,旨在探明该虫伪装死亡型假死的规律和特点,为该害虫的综合防治提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

采集野外葱莲 *Zephyranthes candida* 上的毛健夜蛾 *Brithys crini* 幼虫,幼虫于室内用葱莲饲养,1 d 后供试验用。

1.2 实验方法

1.2.1 假死行为判断和记录 幼虫置于白色塑料盒(长 32 mm,宽 21 mm,高 11 mm)内中心处,于长侧面正中钻一小孔用于固定弹簧测力计(育才教学设备有限公司),将弹簧测力计拉至实验需力的大小后松开,撞击塑料盒,盒内幼虫肢体僵直不动,则判断为假死,假死率 = (假死幼虫数 / 供试幼虫数) × 100%;若幼虫肢体任何部位开始活动,则判断为觉醒。对假死状态幼虫立即用秒表记录假死持续时间(假死开始至觉醒的时间)。

1.2.2 不同体重幼虫假死行为观察 单只幼虫用电子秤(余姚市纪铭称重校验设备有限公司)称重后置于白色塑料盒内中心处,用 5 N 的力撞击塑料盒,对假死状态幼虫立即用秒表记录时间。每只幼虫仅测试一次,共测试 150 只幼虫。

1.2.3 连续刺激后幼虫假死行为观察 单只幼虫置于白色塑料盒内中心处,用 5 N 的力撞击塑料盒,对假死状态幼虫立即用秒表记录时间,假死结束后立即施予下一个刺激,每只幼虫均连续刺激 20 次,共测试 30 只幼虫。

1.2.4 不同大小的力刺激下幼虫假死行为观察 10 只幼虫置于白色塑料盒内中心处,用不同大小力撞击塑料盒,对假死状态幼虫立即用秒表记录时间。力的大小设 2、4、5、6、8 和 10 N 共 6 个处理,每处理重复 3 次。

1.2.5 不同背景声音下幼虫假死行为观察 10 只幼虫后置于白色塑料盒内中心处,用 5 N 力撞击塑料盒,对假死状态幼虫立即用秒表记录时间。背景声音设风声、鸟鸣声和蛙叫声共 3 个处理,声音强度均为 50 dB,每处理重复 3 次。

1.2.6 不同背景光色下幼虫假死行为观察 10 只幼虫后置于白色塑料盒内中心处,用 5 N 力撞击塑料盒,对假死状态幼虫立即用秒表记录时间。背景光色设 LED(杭州拓亚光电科技有限公司)红光、黄光、蓝光、绿光、白光(波段分别为 620~625、580~585、465~467、520~523、460~465 nm)和红色闪光共 6 个处理,光照强度均为 100 lx,每处理重复 3 次。

上述各实验温度均为 25℃ 除实验 1.2.6 外,实验均在自然光(500~700 lx)下进行;除实验 1.2.2 外,单只幼虫体重均控制在 0.8~1.2 g 范围内。

1.3 数据统计处理

假死发生率和假死持续时间差异分析均采用 SPSS 13.0 软件。

2 结果与分析

2.1 幼虫体重对假死的影响

150 只测试幼虫[体重范围 0.061~1.734 g,平均体重为 (0.838 ± 0.445) g]在 5 N 力处理之

下均发生假死行为,假死发生率为 100.0%。假死持续时间平均为 (113.3 ± 122.2) s,最短的为 5.0 s (体重为 0.221 g),其次为 8.1 s (体重为 0.061 g);假死持续时间最长的为 585.6 s (体重为 1.734 g),其次为 582.7 s (体重为 0.901 g)。假死持续时间有随幼虫体重增加而延长的趋势,但相关性不显著(图 1)。

2.2 连续刺激对假死的影响

30 只测试幼虫分别经 5 N 力连续处理 20 次,第 10、11 和 13 次各有 1 只幼虫未假死,第 14~第 17 和 19 次各有 2 只幼虫未假死,各次间假死发生率差异不显著性 ($\chi^2 = 22.880$, $df = 19$, $P = 0.243$)。第 1~第 20 次刺激后平均假死持续时间分别为 (69.5 ± 57.8) (107.6 ± 97.6) (81.8 ± 74.0) (80.0 ± 53.0) (85.6 ± 79.3) (86.4 ± 78.0) (73.2 ± 48.6) (93.2 ± 78.7) ($97.1 \pm$

80.2) (83.2 ± 57.6) (70.2 ± 48.0) (68.2 ± 50.3) (79.8 ± 68.3) (62.8 ± 50.6) (68.7 ± 47.7) (75.8 ± 69.4) (70.0 ± 71.1) (60.4 ± 5.0) (53.1 ± 55.5) (63.9 ± 56.0) s,各次刺激之间假死持续时间差异不显著 ($F = 1.248$, $df = 19$, 580 , $P = 0.213$),平均假死持续时间有随刺激次数增加而缩短的趋势,与刺激次数呈显著性负相关(图 2)。前 10 次平均假死持续时间 (85.6 ± 11.3) s 与后 10 次 (67.3 ± 7.7) s 有极显著差异 ($t = 3.708$, $df = 9$, $P = 0.004 < 0.01$)。

进一步分析相邻两次假死持续时间相关性可知,第 1/第 2 至第 19/第 20 的假死持续时间相关系数 r 均大于 0.5,伴随概率 P 均小于 0.01,表明前后两次测得的假死持续时间关联性很高,30 只测试幼虫的假死持续时间从第 1 次至第 20 次变化趋势基本一致;配对样本 t -检验结果显示,第 2 次假死持续时间显著长于第一次 ($t = -$

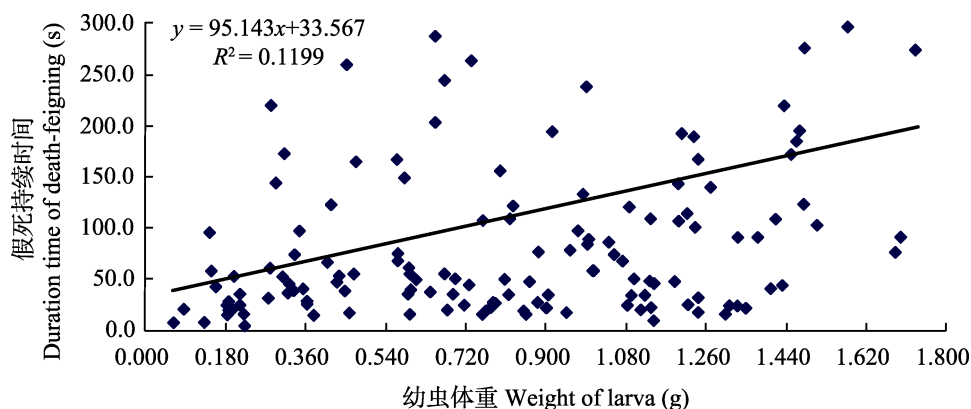


图 1 幼虫体重对假死持续时间的影响

Fig. 1 Influence of larval weight on duration time of death-feigning in *Brithys crini*

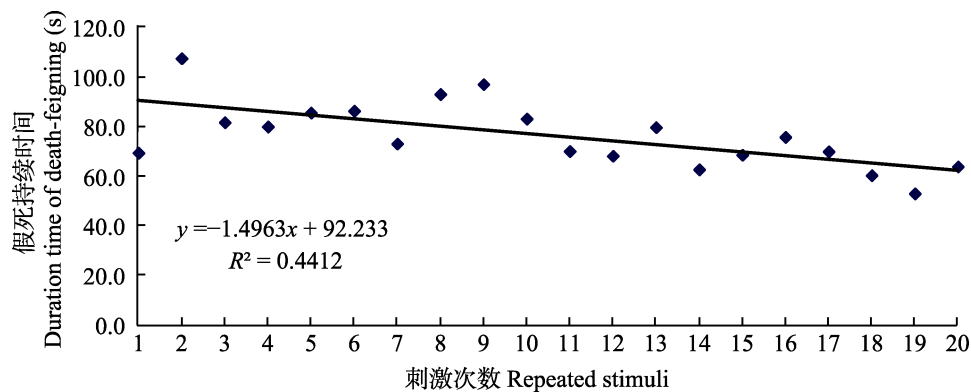


图 2 刺激次数对假死持续时间的影响

Fig. 2 Influence of repeated stimuli on duration time of death-feigning in *Brithys crini*

2.655, $df = 29$, $P = 0.01$), 但第 3 次又显著短于第 2 次 ($t = 2.110$, $df = 29$, $P = 0.04$), 其他相邻两次间差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.3 力的大小对假死的影响

测试幼虫在 2、4、5、6、8 和 10 N 力处理下假死发生率没有显著性差异 (表 1), 其中在 2 和 10 N 力处理下各有 1 只幼虫没有发生假死, 其他均发生假死行为。2、5 和 10 N 力处理组间假死持续时间 (分别为 82.3、97.4 和 78.3 s) 无显著差异, 但三者均显著短于 6 N 力处理组的假死持续时间 (157.0 s), 而 4 N 和 8 N 力处理假死持续时间 (分别为 129.8 s 和 128.5 s) 均与其他组无显著差异性。进一步分析假死持续时间与力大小关系表明二者呈抛物线关系, 且具有显著相关性 ($y = -3.411x^2 + 41.325x + 10.434$, $R^2 = 0.634$)。

2.4 背景声音对假死的影响

将幼虫置于不同背景声音下经 5 N 处理后, 幼虫假死发生率没有差别, 均为 100.0%。但假死持续时间有显著差异性 (表 2), 风声处理组假死持续时间仅为 65.6 s, 显著短于鸟鸣声和蛙叫声处理组 (分别为 144.8 s 和 134.1 s)。

2.5 背景光色对假死的影响

将幼虫置于 6 种不同 LED 光源下经 5 N 处理后, 幼虫假死发生率没有差别, 均为 100.0%, 但假死持续时间有显著差异性 (表 3)。红色闪光处理组假死持续时间仅为 54.7 s, 显著短于白色 (96.9 s) 和蓝色 (112.3 s) LED 光源处理组; 蓝色处理组显著长于红色闪光和红色 (64.3 s) 处理组; 黄色 (82.7 s) 和绿色 (90.6 s) 处理组与其他各处理组均无显著性差异。

表 1 不同大小的力处理下假死发生率和假死持续时间

Table 1 Frequency and duration time of death-feigning in *Brithys crini* larva in different applied force

撞击力 Applied force (N)	假死发生率 Frequency (%)	假死持续时间 Duration time (s)
2	96.7 ± 5.8 a	82.3 ± 73.6 a (29)
4	100.0 ± 0.0 a	129.8 ± 101.8 ab (30)
5	100.0 ± 0.0 a	97.4 ± 107.5 a (30)
6	100.0 ± 0.0 a	157.0 ± 121.2 b (30)
8	100.0 ± 0.0 a	128.5 ± 93.8 ab (30)
10	96.7 ± 5.8 a	78.3 ± 72.1 a (29)
ANOVA	$F = 0.800$, $df = 5, 12$, $P = 0.571$	$F = 3.054$, $df = 5, 172$, $P = 0.011$

括号中为观察样本数, 表中发生率和持续时间为平均值±标准差, 同一列数据后不同字母表示差异显著 (Duncan's 多重比较, $P < 0.05$)。下表同。
The number of samples observed is in parentheses. Data in the table are mean ± SD, and followed by the different letters in the same column are significantly different by Duncan's multiple range test and one-way analysis of variance (ANOVA, $P < 0.05$). The same below.

表 2 不同背景声音下假死发生率和假死持续时间

Table 2 Frequency and duration time of death-feigning in *Brithys crini* larva in different background sounds

背景声音 Background sound	假死发生率 Frequency (%)	假死持续时间 Duration time (s)
风声 Sound of wind	100.0 ± 0.0 a	65.6 ± 47.6 a (30)
鸟鸣声 Twitter of bird	100.0 ± 0.0 a	144.8 ± 88.5 b (30)
蛙叫声 Croaking of frog	100.0 ± 0.0 a	134.1 ± 76.2 b (30)
ANOVA	—	$F = 10.462$, $df = 2, 87$, $P = 0.000$

表 3 不同颜色 LED 光源下假死发生率和假死持续时间
Table 3 Frequency and duration time of death-feigning in *Brithys crini* larva in different LED sources

光源 Sources	假死发生率 Frequency (%)	假死持续时间 Duration time (s)
红色 Red light	100.0 ± 0.0 a	64.3 ± 54.3 ab (30)
黄色 Yellow light	100.0 ± 0.0 a	82.7 ± 56.7 abc (30)
蓝色 Blue light	100.0 ± 0.0 a	112.3 ± 90.5 c (30)
绿色 Green light	100.0 ± 0.0 a	90.6 ± 58.4 abc (30)
白色 White light	100.0 ± 0.0 a	96.9 ± 78.9 bc (30)
红色闪光 Red flash light	100.0 ± 0.0 a	54.7 ± 40.0 a (30)
ANOVA	—	$F = 3.176, df = 5, 174, P = 0.009$

3 结论与讨论

昆虫假死行为是否发生及发生后持续时间长短与内部因素和外部因素有密切关系,内部因素如龄期等;外部影响因素如光温、背景颜色等(孟凡明和梁醒财, 2009)。研究结果表明,在测试的体重范围内,5 N 的力所致毛健夜蛾幼虫伪装死亡型假死发生率与体重无关,假死持续时间则有随体重增加而延长的趋势,但相关性不显著(图 1)。已有资料表明,甘薯小象甲 *Cylas formicarius* 成虫假死持续时间与体重亦呈正相关,但因性别不同而异,雄虫相关性显著,而雌虫相关性不显著(Kuriwada *et al.*, 2011)。

象甲 *Tychius picirostris* 连续多次假死试验的结果表明,前 10 次假死持续时间平均值明显高于后 10 次(孟凡明和梁醒财, 2009)。本研究结果与此十分类似,即前 10 次刺激后的假死持续时间(85.6 s)极显著高于后 10 次(67.3 s),且假死持续时间与刺激次数呈显著性负相关(图 2)。研究结果还表明前后两次测得的假死持续时间关联性很高,30 只测试幼虫的假死持续时间从第 1 次至第 20 次变化趋势基本一致,变幅较大的出现在第 2 次和第 3 次,其他相邻两次间差异不显著,这可能是毛健夜蛾幼虫对“撞击塑料盒”这种非伤害性刺激习惯化的结果。

首次报道了力的大小对假死的影响,在实验用力范围内,各处理组假死发生率没有显著差异,但假死持续时间有显著性差异,2、5 和 10 N

力处理组间假死持续时间均显著短于 6 N 力处理组(表 1),且假死持续时间与力大小关系表明二者呈抛物线关系。假死持续时间越长越有利于害虫的捕捉,因此,本研究结果提示人们在利用害虫假死行为进行人工捕捉时,振落害虫的用力并非越大越好。然而,大的作用力(如 10 N)处理组假死持续时间缩短的原因却值得深入研究。

本研究结果还表明,不同背景声音对毛健夜蛾幼虫经 5 N 力处理后的假死发生率没有影响,但假死持续时间却有差异,表现为两种昆虫天敌(鸟和蛙)声音背景下的假死持续时间显著长于风声(表 2)。资料表明,昆虫的听器主要有听觉毛、江氏器和鼓膜听器 3 种类型(王珊等, 2010),而鳞翅目蝶类幼虫胸部有听觉毛(那杰等, 2011),毛健夜蛾幼虫是否也有听觉毛等则有待于进一步深入研究。

资料显示,侧单眼是完全变态类昆虫幼虫仅有的感光器官,与复眼一样,它们可以感知颜色、形状、距离等等(刘红霞和彩万志, 2007),这可能是环境中的光因子如光周期(Miyatake, 2001)和闪光(Metspalu *et al.*, 2002)影响昆虫假死行为的根本原因。已有研究表明,LED 光源对昆虫多种行为有影响(冯国凤等, 2015),而 LED 光源对昆虫假死行为的影响却未见报道。本研究首次证实毛健夜蛾幼虫假死持续时间因 LED 光源颜色不同而异,且差异显著(表 3); 6 种 LED 光源背景下毛健夜蛾幼虫假死发生率没有差异,这类似于丽蝇蛹集金小蜂 *Nasonia*

vitripennis 在不同背景颜色下假死行为 (King and Leach, 2006), 但与不同颜色背景下毛健夜蛾幼虫逃避搜捕型假死行为不同 (涂小云等, 2013)。

假死发生率和假死持续时间这 2 个参数的差异不仅存在于各大类群之间, 即使在各个种群内部, 甚至某一个体的多次试验结果之间都有明显不同 (孟凡明和梁醒财, 2009)。本实验中各处理组假死发生率没有显著性差异, 但个体间假死持续时间差异十分明显, 连续刺激实验中最短的假死持续时间仅有 2.1 s, 而幼虫体重对假死影响实验中假死持续时间长达 585.6 s。

已有研究表明, 昆虫 (如赤拟谷盗 *Tribolium castaneum*) 假死持续时间与脑内多巴胺水平有关, 假死持续时间越短的个体脑内多巴胺水平越高 (Miyatake *et al.*, 2008)。而本研究中的诸多因素对假死持续时间有显著影响, 这是否也与毛健夜蛾幼虫脑内多巴胺水平有关, 则值得进一步深入研究。

实验中还观察到某一个体觉醒后如触及周围其他个体时, 将促使其他个体觉醒, 在今后研究昆虫假死行为时应加以注意。

参考文献 (References)

- Feng GF, Feng XH, Deng QW, Gou LC, Kang HR, Zhu YL, Fu L, Xia F, Li XN, Tu XY, 2015. Effects of LED sources on the behavior of adult *Plagioder versicolora*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 52(4): 983–992. [冯国凤, 冯兴海, 邓倩文, 苟璐琛, 康浩然, 朱云龙, 付莉, 夏飞, 李晓娜, 涂小云, 2015. LED 光源对柳圆叶甲成虫行为的影响. 应用昆虫学报, 52(4): 983–992.]
- King BH, Leach HR, 2006. Variation in propensity to exhibit thanatosis in *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Journal of Insect Behavior*, 9(2): 241–249.
- Kuriwada T, Kumano N, Shiromoto K, Haraguchi D, 2011. Age-dependent investment in death-feigning behaviour in the sweet potato weevil *Cylas formicarius*. *Physiological Entomology*, 36(2): 149–154.
- Liu HX, Cai WZ, 2007. The structure and function of simple eyes of insects. *Chinese Bulletin of Entomology*, 44(4): 603–607. [刘红霞, 彩万志, 2007. 昆虫单眼的结构和功能. 昆虫知识, 44(4): 603–607.]
- Meng FM, Liang XC, 2009. Research history and current situations of feigning death in insects. *Chinese Bulletin of Entomology*, 46(6): 985–991. [孟凡明, 梁醒财, 2009. 昆虫假死行为研究历史及现状. 昆虫知识, 46(6): 985–991.]
- Metspalu L, Kuusik A, Hiiesaar K, Tartes U, 2002. Tonic immobility in adult Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* evoked by mechanical and optical stimuli. *European Journal of Entomology*, 99(2): 215–219.
- Miyatake T, 2001. Diurnal periodicity of death-feigning in *Cylas formicarius*. *Journal of Insect Behavior*, 14(4): 421–431.
- Na J, Che F, Wang YT, Na YP, Zhou TQ, 2011. Chordotonal organ and its audio reception molecular mechanism in insects. *Progress in Modern Biomedicine*, 11(5): 935–937. [那杰, 车菲, 王月婷, 那宇鹏, 周同庆, 2011. 昆虫弦音器及其声音感受分子机制. 现代生物医学进展, 11(5): 935–937.]
- Miyatake T, Tabuchi K, Sasaki K, Okada K, Katayama K, Moriya S, 2008. Pleiotropic antipredator strategies, fleeing and feigning death, correlated with dopamine levels in *Tribolium castaneum*. *Animal Behaviour*, 75(1): 113–121.
- Tang TS, 1999. Occurrence and control of *Abraxas flavisnuata* Warren. *Chinese Bulletin of Entomology*, 36(5): 298–300. [唐廷树, 1999. 马尾松点尺蛾的发生及防治. 昆虫知识, 36(5): 298–300.]
- Tu XY, Wang GH, Chen YS, Hu ZL, 2013. Thanatosis of larvae of *Brithys crini* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Fujian Normal University (Natural Science Edition)*, 29(5): 112–116. [涂小云, 王国红, 陈元生, 胡章龙, 2013. 毛健夜蛾幼虫假死行为. 福建师范大学学报(自然科学版), 29(5): 112–116.]
- Wang S, Na YH, Leng X, Na J, 2010. Insect auditory organs. *Chinese Bulletin of Entomology*, 47(4): 652–656. [王珊, 那宇鹤, 冷雪, 那杰, 2010. 昆虫的听觉器官. 昆虫知识, 47(4): 652–656.]