

核型多角体病毒感染对棉铃虫幼虫 同类相残行为的影响^{*}

李静雯^{**} 褚艳娜 王 琮 刘小侠 张青文^{***}

(中国农业大学农学与生物技术学院 北京 100193)

摘 要 在室内研究核型多角体病毒(HaSNPV)感染对棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner) 幼虫同类相残行为的影响。结果显示:感病棉铃虫随感病程度的加重,越容易被健康棉铃虫残食,而自然死亡的感病棉铃虫、冻死的感病棉铃虫和冻死的健康棉铃虫三者被健康棉铃虫残食的百分率无显著差异。表明感病棉铃虫和病虫尸体更易于被健康棉铃虫残食,是由于棉铃虫体力减弱而失去反击能力,不是由于病毒本身的影响。以健康棉铃虫、感病棉铃虫为残食者,冻死的病虫为被残食者,相残率无显著差异,表明病毒并未改变棉铃虫残食同类的天性。残食病虫的健康棉铃虫的化蛹率和羽化率均低于正常的健康棉铃虫,残食者为相残行为付出了很高的代价。

关键词 核型多角体病毒, 自相残杀, 棉铃虫

Effects of nuclear polyhedrosis virus on cannibalism in *Helicoverpa armigera*

LI Jing-Wen^{**} CHU Yan-Na WANG Qiong LIU Xiao-Xia ZHANG Qing-Wen^{***}

(College of Agriculture and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract The effects of nuclear polyhedrosis virus infection on cannibalism in *Helicoverpa armigera* (Hübner) was evaluated under laboratory conditions. The number of infected larvae preyed on by healthy larvae increased with the progress of the disease. There was no significant difference in the percentage of dead infected larvae, frozen infected larvae and frozen healthy larvae that were preyed on by healthy larvae. This suggests that infected larvae and dead infected larvae are more likely to be cannibalized simply because they become less vigorous and less capable of defending themselves than healthy larvae. There was no significant difference in the frequency of cannibalism of frozen infected larvae by healthy larvae and infected larvae. This suggests that the tendency towards cannibalism is not altered by infection. Cannibalism is potentially costly. The pupation and eclosion rate of healthy larvae that ate infected larvae was lower than that of those that had not cannibalized infected larvae.

Key words HaSNPV, cannibalism, cotton bollworm

同类相残(cannibalism)是指动物杀死并取食同种其他个体的行为(Mafra-Neto and Jolivet, 1996; Schausberger, 2003),是物种的重要生物学特征,在动物界广泛存在,具有重要的生态学和进化生物学意义。Barber (1936)对棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner) 幼虫的同类相残行为进行了首次报道。影响棉铃虫幼虫同类相残的因素主要

有:种群密度、食物条件、龄期等。当棉铃虫幼虫密度增加时,卵被取食的几率增加(Sigsgaard *et al.*, 2002)。在不利的寄主作物环境下,同类相残在棉铃虫低龄期即可降低其种群数量(李哲等, 2006)。高龄幼虫残食同类的频率要显著高于低龄幼虫,并且,幼虫喜欢残食低龄的而不是和它同龄的幼虫。

* 资助项目:转基因生物新品种培育科技重大专项(2011ZX0811-002)。

**E-mail: lijingwen7799@163.com

***通讯作者, E-mail: zhangqingwen@263.net

收稿日期:2012-02-27, 接受日期:2012-04-15

棉铃虫是一种重要的经济害虫,主要危害棉花、玉米和番茄等作物。棉铃虫残食感染核型多角体病毒的棉铃虫会增加从被残食者处感染疾病的可能性,是病毒在棉铃虫种群中横向传播的途径之一。本试验设计在不易发生同类相残的条件下,测定棉铃虫残食病虫的概率和残食病虫对棉铃虫化蛹和羽化的影响,以及感染病毒的棉铃虫是否还具有残食同类的行为。

1 材料与方法

1.1 试虫

棉铃虫为作者所在实验室室内长期饲养的品系。饲养条件为:温度(25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$,相对湿度 70% $\pm$ 10%,光周期 L:D = 16:8。用人工饲料喂养,3 龄后单头饲养。

1.2 喂毒方法

棉铃虫单粒包埋核型多角体病毒(*Helicoverpa armigera* single nucleocapsid nucleopolyhedrovirus, HaSNPV)从济源白云实业有限公司购买,为病毒原粉(5×10^{11} PIB/g)。用 ddH_2O 将 HaSNPV 干粉逐级稀释成浓度为 10^7 PIB/mL 的病毒悬液。棉铃虫饲料切成重量约为 1 g 的小块,每块加 10 μL 病毒悬液,对照加等量灭菌水。选取 2 龄末幼虫在指形管中(直径 2 cm,高 8.5 cm)单头饥饿处理 24 h 后,每管放 1 块带毒饲料,记为接毒 0 h。接毒 48 h 后棉铃虫为 4 龄初,选择吃完带毒饲料的棉铃虫为试验对象,将它们随机分成两组,其中一组进行 4 龄同类相残的试验。另一组添加足量无毒饲料继续喂养,在接毒 96 h 后,棉铃虫为 5 龄初,进行 5 龄同类相残试验。

1.3 棉铃虫同类相残的百分率

经喂毒而自然死亡的棉铃虫,连同指形管置于 -20°C 冰冻至尸体僵硬(文中简称为“自然死亡的病虫”),备用。将接毒 48 和 96 h 的棉铃虫、同时期的健康棉铃虫置于 -20°C 冰冻 3 h(文中分别简称为“冻死的病虫”、“冻死的健虫”),备用。接毒 48 和 96 h 的棉铃虫,文中称“感病棉铃虫”。

分别对接毒 48 h 的 4 龄棉铃虫和 96 h 的 5 龄棉铃虫做如下处理:(A)健康棉铃虫 + 健康棉铃虫;(B)健康棉铃虫 + 感病棉铃虫;(C)健康棉铃虫 + 自然死亡的病虫;(D)健康棉铃虫 + 冻死的健虫;(E)健康棉铃虫 + 冻死的病虫;(F)感病棉

铃虫 + 感病棉铃虫;(G)感病棉铃虫 + 冻死的病虫。棉铃虫两两配对(A、B、F 组选择虫体大小相同的配对),放入内径 8.5 cm 的培养皿,皿中放充足的无毒饲料。B 组用涂改液轻轻涂抹健康棉铃虫左侧腹足、感病棉铃虫右侧腹足,以便区分。记录各处理发生同类相残的个体(本试验规定:当残食者取食掉等于或超过相当于被残食者头部长度的部分,认为发生了同类相残),连续记录 2 d,计算相残百分率(相残百分率 = 发生自相残杀的血数/总血数)。将发生同类相残的个体继续喂养,统计残食者的化蛹率和羽化率(化蛹率 = 残食者的化蛹个数/残食者总数;羽化率 = 残食者的羽化个数/残食者总数)。20 对为 1 次重复,每处理重复 3 次。

1.4 数据统计分析

2 个处理组间的同类相残百分率的比较,采用 t 检验。3 个处理组间的同类相残百分率、残食者的化蛹率和羽化率经反正弦转换 $\text{ARSIN}(\text{SQRT}(x))$ 后进行 one-way ANOVA 方差分析,采用邓肯多重比较法。统计分析借助 SPSS16.0 软件完成。

2 结果与分析

2.1 棉铃虫同类相残的百分率

以健康棉铃虫为残食者,健康棉铃虫、感病前期和感病末期棉铃虫为被残食者,比较棉铃虫同类相残的百分率(图 1)。结果表明,5 龄棉铃虫,随感病程度加重,同类相残的百分率显著升高,处理组 C 健康棉铃虫 + 自然死亡的病虫发生同类相残的百分率最高,为 55.0%,处理组 B(健康棉铃虫 + 感病棉铃虫)发生相残的百分率为 10.7%,处理组 A(健康棉铃虫 + 健康棉铃虫)发生相残的百分率仅为 1.7%,处理间有显著差异($F = 39.35$, $df = 2$, $P < 0.001$)。4 龄棉铃虫也有类似的趋势($F = 25.80$, $df = 2$, $P = 0.001$)。

以健康棉铃虫为残食者,自然死亡的病虫、冻死的健虫、冻死的病虫为被残食者,比较棉铃虫同类相残的百分率(图 2)。对于 4 龄棉铃虫,3 个处理组间棉铃虫同类相残的百分率均无显著差异($F = 3.02$, $df = 2$, $P = 0.124$)。对于 5 龄棉铃虫,处理组 D(健康棉铃虫 + 冻死的健虫)同类相残的百分率显著高于 E 组(健康棉铃虫 + 冻死的病虫),且 D、E 组同类相残的百分率均与 C 组(健康棉铃

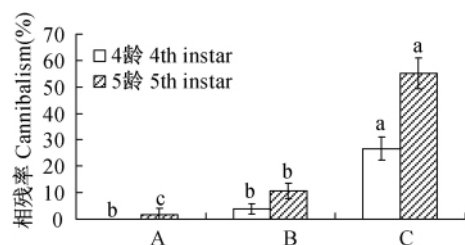


图1 棉铃虫同类相残的百分率

Fig. 1 Percentage of cannibalism of *Helicoverpa armigera* larvae

A: 健康棉铃虫 + 健康棉铃虫; B: 健康棉铃虫 + 感病棉铃虫; C: 健康棉铃虫 + 自然死亡的病虫。
A: healthy larvae + healthy larvae; B: healthy larvae + infected larvae; C: healthy larvae + natural dead infected larvae.

图中数据为平均值 ± 标准误, 同龄不同处理间采用 Duncan 多重比较进行方差分析, 标有相同字母者表示差异不显著 ($P > 0.05$), 图2同。

Date in the figure are mean ± SE. Histograms followed by the same letters are not significantly different at 0.05 level in the same instar by Duncan's multiple range test. The same for Fig. 2.

虫 + 自然死亡的病虫) 无显著差异 ($F = 8.00$, $df = 2$, $P = 0.02$)。

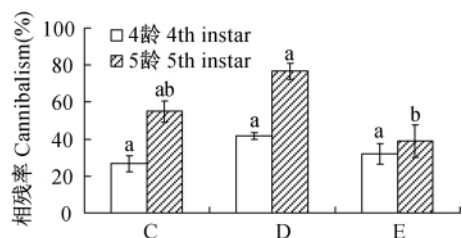


图2 棉铃虫同类相残的百分率

Fig. 2 Percentage of cannibalism of *Helicoverpa armigera* larvae

C: 健康棉铃虫 + 自然死亡的病虫; D: 健康棉铃虫 + 冻死的健虫; E: 健康棉铃虫 + 冻死的病虫。
C: healthy larvae + natural dead infected larvae; D: healthy larvae + frozen healthy larvae; E: healthy larvae + frozen infected larvae.

以感病棉铃虫为残食者, 感病棉铃虫、冻死的病虫为被残食者, 比较棉铃虫同类相残的百分率 (图3)。对于4龄棉铃虫, 平均36.7%的冻死的病虫被配对的感病棉铃虫残食, 显著高于F组 (感

病棉铃虫 + 感病棉铃虫) ($t = 6.01$, $df = 2$, $P = 0.004$)。对于5龄棉铃虫, 平均46.7%的冻死的病虫被配对的感病棉铃虫残食, 显著高于F组 ($t = 6.25$, $df = 2$, $P = 0.003$)。

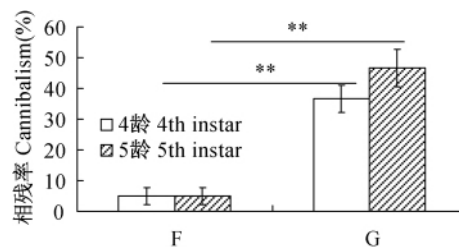


图3 棉铃虫同类相残的百分率

Fig. 3 Percentage of cannibalism of *Helicoverpa armigera* larvae

F: 感病棉铃虫 + 感病棉铃虫;

G: 感病棉铃虫 + 冻死的病虫。

F: infected larvae + infected larvae;

G: infected larvae + frozen infected larvae.

图中数据为平均值 ± 标准误, 经 t 检验测定, **表示差异极显著。

Date in the figure are mean ± SE. ** indicates significantly different at 0.01 level by t test.

2.2 残食者的化蛹率和羽化率

对残食者化蛹率和羽化率的统计结果见表1, 从表1可以看出: 残食冻死健康棉铃虫和自然死亡病虫的健康棉铃虫、残食冻死病虫的感病棉铃虫的化蛹率均显著低于正常的健康棉铃虫, 其中, 残食自然死亡病虫的健康棉铃虫的化蛹率比残食冻死健虫的健康棉铃虫低39.6%, 处理间有显著差异 ($F = 74.3$, $df = 4$, $P < 0.001$)。残食冻死病虫和自然死亡病虫的健康棉铃虫、残食冻死病虫的感病棉铃虫的羽化率均显著低于残食冻死健虫的健康棉铃虫和正常的健康棉铃虫, 其中, 残食自然死亡病虫的健康棉铃虫的羽化率仅为1.9%, 处理间有显著差异 ($F = 131.5$, $df = 4$, $P < 0.001$)。

3 讨论

从本试验结果来看, 以健康棉铃虫为残食者, 不同感病程度的棉铃虫为被残食者, 同类相残的百分率随感病程度的加重, 呈显著上升的趋势; 以健康棉铃虫为残食者, 自然死亡的病虫、冻死的健虫、冻死的病虫为被残食者, 3个处理都显示出较

表 1 残食者的化蛹率和羽化率
Table 1 Pupation and eclosion rate of cannibals

处理 Treatment	化蛹率 Pupation rate (%)	羽化率 Eclosion rate (%)
正常的健康棉铃虫 Healthy larvae (n = 45)	100.0 ± 0.0 a	95.6 ± 2.2 a
残食冻死健虫的健康棉铃虫 Healthy larvae eaten frozen healthy larvae (n = 71)	94.4 ± 1.22 b	91.5 ± 0.3 a
残食冻死病虫的健康棉铃虫 Healthy larvae eaten frozen infected larvae (n = 41)	86.6 ± 7.0 b	66.0 ± 4.9 b
残食自然死亡病虫的健康棉铃虫 Healthy larvae eaten natural dead infected larvae (n = 49)	54.8 ± 2.6 c	1.9 ± 1.9 c
残食冻死病虫的染病棉铃虫 Infected larvae eaten frozen infected larvae (n = 50)	0.0 ± 0.0 d	0.0 ± 0.0 c

注:表中数据为平均值 ± 标准误,同列不同处理采用 Duncan 多重比较进行方差分析,相同字母者表示差异不显著 ($P \geq 0.05$)。

Data in the table are mean ± SE, and followed by the same letters in the same column are not significantly different at 0.05 level by Duncan's multiple range test.

高的相残率。这表明感病棉铃虫和自然死亡的病虫更易于被健康棉铃虫残食的原因是随病程的推进,棉铃虫体力减弱,逐渐失去反击能力,而不是受病毒本身的影响。

在处理组 F (感病棉铃虫 + 冻死的病虫) 中,同类相残的百分率也很高,这表明病毒并未改变棉铃虫残食同类的天性,只要有弱者存在,感病棉铃虫依然可能残食同类。

影响棉铃虫幼虫同类相残的因素主要有:种群密度、食物条件、龄期等。本试验设计了一个不易发生同类相残行为的条件(饲料充足、虫口密度小、配对的 2 头活虫同龄且虫体大小一致),但当以 3 种死虫为被残食者时,同类相残的百分率较高,平均约 45%。同类相残可以使残食者获得在营养和竞争力方面的重要优势(Breden and Wade, 1985; Barros-Bellanda and Zucoloto, 2005; Getto, 2005),但是同时可能从被残食者处感染疾病(Dhandapani *et al.*, 1993; Boots, 1998; Chapman *et al.*, 1999a, 1999b)。本试验中,残食自然死亡病虫的健康棉铃虫的化蛹率和羽化率比正常的健康棉铃虫降低 45.2% 和 83.7%,可见残食者为同类相残的行为付出了很高的代价。从进化角度来看,既然同类相残会带来较高的生存代价,那么较高的同类相残的概率似乎并不合常理。

在田间,核多角体病毒可以借助风、雨、天敌等实现水平传播。感病幼虫常爬向植物顶端,死

亡后尸体液化,依靠风雨向植物和土壤释放大包涵体;健康幼虫取食摄入这些病毒包涵体就会被感染(Entwistle *et al.*, 1985)。核多角体病毒对紫外线敏感,喷在植物叶面上的斜纹夜蛾多角体,在阳光直射下,经 2 d 感染力降低 50%,经 9 d 几乎全部丧失感染力(黄冠辉和丁翠, 1975),所以当天气晴朗时,通过病虫尸体液化释放病毒而水平传播的途径可能受限,此时同类相残可能会成为病毒水平传播的辅助途径。但是,田间发生同类相残的概率、残食病虫的棉铃虫羽化为成虫的产卵习性等尚不清楚,因此同类相残对病毒水平传播的贡献,有待进一步研究。

参考文献 (References)

Barber GW, 1936. The cannibalistic habits of the corn ear worm. Technical Bulletin No. 499. US Department of Agriculture, DC. 1—18.

Barros-Bellanda HCH, Zucoloto FS, 2005. Egg cannibalism in *Ascia monuste* in the field; opportunistic, preferential and very frequent. *J. Ethol.*, 23 (2) :133—138.

Boots M, 1998. Cannibalism and the stage-dependent transmission of a viral pathogen of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*. *Ecol. Entomol.*, 23 (2) :118—122.

Breden F, Wade MJ, 1985. The effect of group size and cannibalism rate on larval growth and survivorship in *Plagiodera versicolora*. *Entomography*, 3 :455—463.

Chapman JW, Williams T, Escribano A, Caballero P, Cave RD,

- Goulson D, 1999a. Age-related cannibalism and horizontal transmission of a nuclear polyhedrosis virus in larval *Spodoptera frugiperda*. *Ecol. Entomol.*, 24 (3) :268—275.
- Chapman JW, Williams T, Escribano A, Caballero P, Cave RD, Goulson D, 1999b. Fitness consequences of cannibalism in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *Behav. Ecol.*, 10 (3) :298—303.
- Dhandapani N, Jayaraj S, Rabindra RJ, 1993. Cannibalism on nuclear polyhedrosis-virus infected larvae by *Heliothis armigera* (Hübner) and its effect on viral-infection. *Insect Sci. Appl.*, 14 (4) :427—430.
- Entwistle PF, Evans HF, Harrap KA, Robertson JS, 1985. Control of European pine sawfly *Neodiprion sertifer* (Geoffr.) with its nuclear polyhedrosis virus in Scotland// Site characteristics and population dynamics of lepidopteran and hymenopteran forest pests. Proceedings of a IUFRO conference, Dornoch, Scotland, 1—7 Sep. 1980. Research and Development Paper, Forestry Commission, UK No 135.
- 36—46.
- Getto Ph, Diekmann O, de Roos AM, 2005. On the (dis) advantages of cannibalism. *J. Mathem. Biol.*, 51 (6) : 695—712.
- Mafra-Neto A, Jolivet P, 1996. Cannibalism in leaf beetles// Jolivet P, Cox ML (eds.). *Chrysomelidae Biology* Vol. 2 Ecological Studies. SPB Academic Publishing Amsterdam. 195—211.
- Schausberger P, 2003. Cannibalism among phytoseiid mites: a review. *Exp. Appl. Acarol.*, 29 (3/4) :173—191.
- Sigsgaard L, Greenstone MH, Duffield SJ, 2002. Egg cannibalism in *Helicoverpa armigera* on sorghum and pigeonpea. *Biol. Control*, 47 (2) :151—165.
- 黄冠辉, 丁翠. 1975. 斜纹夜蛾核多角体病毒病的研究. 昆虫学报, 18 (1) :17—24.
- 李哲, 李典谟, 龚治, 谢宝瑜, 2006. 体重与寄主植物对棉铃虫同类相残行为的影响. 昆虫知识, 43 (5) :617—620.

加昆虫的适应性 (Roff, 1992; Stearns, 1992), 因此, 发育历期间接的影响昆虫的繁殖率和适应性。

昆虫是变温动物, 在各种环境因子中, 温度对其生长发育的影响很大。在适宜生长的温度范围内, 低温会使发育历期延长, 从而导致体型增大; 相反, 高温使发育历期缩短, 从而导致体型变小 (Roff, 1980, 1983; Stearns and Koella, 1986)。分别在 15、20、25 和 27℃ 下生活的灰蝶 *Lycaena tityrus*, 幼虫期随着温度的升高逐渐缩短, 导致蛹及成虫的重量相应变小 (Fischer and Fiedler, 2000)。在灰蝶属的其它种类中, 都有相似的试验结果 (Fischer and Fiedler, 2002; Isabell *et al.*, 2008)。

棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner) 属鳞翅目夜蛾科, 在中国分布广泛并且经常猖獗成灾, 它对环境的高度适应性以及惊人的繁殖力是成灾的主要原因。研究表明温度对其生长发育有显著的影响, Andrea 和 Ján (2006) 在 3 个温度下 (20、25 和 30℃) 进行了实验, 棉铃虫的卵期、幼虫期、蛹期以及总发育历期都随着温度的升高而逐渐缩短, 发育速率也随着温度的升高而加快。但其发育历期和发育速率对棉铃虫的体型会有何影响呢? 另外, 作者发现在同样的条件下, 棉铃虫的雌虫总是较雄虫先羽化 (即发育历期的性二型性); 李国清等 (1998) 也报道过这种现象, 但没有进行过系统观察。那么这样的差异是由什么引起的呢? 为此, 作者对 20、22 和 25℃ 对棉铃虫的生长发育影响进行了比较研究。希望能对这些有趣的发育问题找到答案, 并且为棉铃虫的防治及预测预报工作提供有用的基础资料。

1 材料与方法

1.1 虫源

供试棉铃虫采自海南乐东 (18° 47' N, 108° 89' E) 的玉米地, 在室内 (25 ± 1)℃, L:D = 16:8 条件下繁殖 2 代后供试验用。成虫羽化后放入四周围有纱布的养虫笼中交配和产卵, 用 10% 蜂蜜水为成虫补充营养。幼虫孵化后即转入盛有人工饲料 (Wu and Gong, 1997) 的 24 孔培养板中饲养, 3 龄之前每孔接初孵幼虫 5 头左右, 3 龄后改为单头饲养至 5 龄, 然后转入盖有玻璃的 21 孔透明制冰格中饲养直至成虫羽化。

1.2 实验设计

实验分别在 25、22 和 20℃ 3 个温度, 配合光照 L:D = 16:8 的条件下进行, 幼虫的饲养方法如 1.1 所述, 化蛹后第 2 天称量蛹的重量 (称重用电子天平为 AR1140/C 型, 上海民桥精密科学仪器有限公司生产, 下同), 分别记录每头幼虫的化蛹时间和羽化时间, 发育速率的计算方法参照 Nylin (1992)。

发育速率 = $[\ln(\text{蛹重}) - \ln(\text{初孵幼虫重})] / \text{幼虫期}$ 。

此公式所计算的发育速率代表每天平均增加的重量, 为获得初孵幼虫的重量, 将 100 头刚刚孵化的幼虫为一组进行称重, 然后再求出每头初孵幼虫的重量, 重复 4 次, 得出初孵幼虫的体重为 (0.056 ± 0.004) mg。

1.3 数据处理

数据分析采用 SPSS13.0 统计软件, 用 one-way ANOVA 进行方差分析, 结果用平均值 ± 标准差 (mean ± SD) 表示, 线性回归用 Linear-regression, 雌雄羽化的差异比较采用 Log-linear。

2 结果与分析

2.1 温度对发育历期与蛹重的影响

从表 1 可以看出, 棉铃虫的发育历期受温度的影响很大, 总发育历期随着温度的升高显著缩短, 25℃ 下的总发育历期比 20℃ 缩短了近 20 d (雌虫缩短 19.5 d; 雄虫缩短 19.7 d)。雌雄蛹重均随温度的升高而稍有减轻, 但没有显著差异, 发育速率则随温度的上升而加快。

从图 1 可以看出, 在各个条件下, 蛹重随着幼虫期的延长而增加, 除了 20℃ 的雄蛹重与幼虫期显示了一个弱的正相关性外 ($P > 0.05$), 其它各个条件下的蛹重与发育历期都有着显著的正相关性 ($P < 0.01$)。

从图 2 可以看出, 随着温度的升高, 雌雄蛹重的比值增加, 即性体型的二型性随着温度的升高而减小, 但这显然是由于雄虫蛹重的变化引起的, 因为雌虫的蛹重在各个温度下几乎没有差异。

2.2 成虫羽化的雌性先熟

通过图 3 可知, 在各个温度下均显示出雌性先羽化现象, 雌虫的羽化高峰比雄虫提前 1 ~ 2 d, 统计分析表明各个温度下雌雄的羽化存在显著的