

利用人工气候箱大量饲养烟青虫研究

余源婵¹, 于晓飞², 张越¹, 商胜华³, 王小彦⁴, 杨茂发^{1,2*}

(1. 贵州大学昆虫研究所/贵州山地农业病虫害重点实验室, 贵州贵阳 550025; 2. 贵州大学烟草学院, 贵州贵阳 550025; 3. 贵州省烟草科学研究所, 贵州贵阳 550081; 4. 贵州省烟草公司遵义市公司, 贵州遵义 563000)

摘要 为能更加有效地提高烟青虫室内人工饲养效率, 满足试验用虫需要, 在已报道的烟青虫饲养方法基础上, 对烟青虫卵的收集方法及初孵幼虫转移方法加以改进。就利用人工气候箱及自主配制饲料对烟青虫进行室内人工饲养改进的具体方法细则进行介绍, 探究一种适合烟青虫小空间大量饲养的方法, 以期对烟青虫相关的研究提供足够供试虫体。**关键词** 人工气候箱; 饲养方法; 改进; 烟青虫**中图分类号** S433.4 **文献标识码** A**文章编号** 0517-6611(2019)20-0148-03**doi**: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.20.039

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Study on the Large-amount Rearing of *Helicoverpa assulta* (Guenée)**YU Yuan-chan¹, YU Xiao-fei², ZHANG Yue¹ et al** (1. Institute of Entomology of Guizhou University/Provincial Key Laboratory for Agricultural Pest Management of Mountainous Regions, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025; 2. College of Tobacco Sciences, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025)**Abstract** To improve the efficiency of tobacco budworm rearing in laboratory and satisfy the requirement of laboratory, based on the reported method for rearing tobacco budworm, those methods of collecting tobacco eggs and transferring hatching larvae were simplified and improved. This paper described the way of indoor rearing of tobacco budworms by climate chamber and prepared feed, and explored a method suitable for large-amount rearing of tobacco budworms in small space. The study will provide sufficient supply for experimental research related to tobacco budworm.**Key words** Artificial climate chamber; Feeding methods; Improvement; Tobacco budworm

烟青虫 [*Helicoverpa assulta* (Guenée)] 属鳞翅目 (Lepidoptera) 夜蛾科 (Noctuidae) 铃夜蛾属 (*Helicoverpa*), 在田间主要危害辣椒和烟草, 是一种重要的寡食性农业害虫。研究表明, 在长江中下游各烟区每年因该虫造成的烟草产量损失达 5%~10%, 大发生年份可超过 15%^[1], 危害辣椒造成的损失高达 20%~30%^[2]。早期由于农药的滥用, 导致虫体产生抗性, 近年来随着人们生活水平的提高, 人们开始注重农产品的食用安全, 提倡“农药零增长”, 加之全球气候变暖, 使得烟青虫危害加重^[3-4]。为降低烟青虫的危害, 亟需对其生物学特性、生态及生物药效评估、诱导剂效果评估等方面进行持续深入研究^[5-9]。此外, 烟青虫和棉铃虫 [*Helicoverpa armigera* (Hübner)] 是同属近缘姐妹种, 两者可进行种间杂交, 是用来研究鳞翅目昆虫遗传和子一代不育机理的理想试验材料^[10-11]。随着对烟青虫和棉铃虫两者生态、毒理和遗传等研究的深入, 随时需要提供大量生理状态一致的标准试虫。目前烟青虫和棉铃虫室内人工继代饲养技术已经实现, 且处于不断改进之中^[12], 其饲养方法渐趋于低成本和高效繁虫。然而烟青虫和棉铃虫种群扩繁过程中, 成虫散产虫卵的生物学特性使得

卵粒收集困难, 卵布上初孵幼虫转移困难等问题严重影响供试虫体的扩繁^[13]。因此, 笔者探究了烟青虫室内大量饲养的方法, 旨在为进一步研究烟青虫和棉铃虫提供参考。

1 人工气候箱及条件设置

人工气候箱至少 2 台 (容积: 380L; 型号: RXZ-380A (多段)); 厂家: 宁波江南仪器厂, 温度为 (26±1) °C, 光周期为 L16:D8, 相对湿度 60%~80%。人工气候箱定期用 75% 的乙醇擦拭 (紫外光照射 30 min) 消毒熏蒸后使用 (每 30 d 1 次)。

2 饲养设备及用具

①收集卵: 医用脱脂纱布 (遵义联盟医用器材有限公司); ②饲养低龄幼虫: 19.2 cm×13.0 cm×7.1 cm 容积为 1.5 L 食品保鲜塑料盒 (图 1A、B)、200 目尼龙纱网块、84 消毒液; ③饲养 3 龄幼虫和高龄幼虫: 环保连体食品原盒 (型号 P2-50ML) (图 1C); ④饲养蛹: 培养皿、无菌棉花、75% 乙醇; ⑤饲养成虫: 羽化展翅笼 (图 1D、E)、培养皿、含蜂蜜水的棉花球、交配杯 (图 1F)。

3 饲养过程

3.1 饲养器具的清洗和消毒 将培养皿、低龄幼虫饲养盒等养虫器具置于盆中, 加 84 消毒液浸泡 2 h 后戴手套用试管刷刷洗干净, 清水漂洗 2 次后倒置晾干, 喷 75% 乙醇消毒液进一步消毒, 自然风干后隔离放置于干净环境中储存备用。

3.2 饲料的准备 配制步骤: 饲料配方参照董钧锋等^[12]的方法略作修改, 分别称取麦胚、大豆粉、蔗糖、酵母粉、尼泊金、山梨酸、抗坏血酸、亚油酸 (滴)、维生素 C、维生素 B (片)、氯化钠、琼脂、蒸馏水、烟叶等成分, 各成分配比: 麦胚粉 40.0 g, 大豆粉 20.0 g, 蔗糖 5.0 g, 酵母粉提取物 12.0 g, 尼泊金 1.0 g, 山梨酸 0.4 g, 亚油酸 2.0 滴, 抗坏血酸 1.7 g, 维生

基金项目 中国烟草总公司贵州省公司重大科技专项“贵州烟草主要病虫害绿色防控技术的研究与应用” (201603, 201752010040001); 贵州省烟草公司遵义市公司技术研发类项目“烟草关键夜蛾类害虫灯诱技术研究与应用” (201705); 贵州省高层次创新型人才 (“百”层次) 培养项目 (黔科合人才 [2016]4022 号); 贵州省烟草公司遵义市公司项目“烟草关键夜蛾类害虫灯诱技术研究与应用” (遵烟计 [2017]8 号)。

作者简介 余源婵 (1994—), 女, 贵州思南人, 硕士研究生, 研究方向: 农业昆虫与害虫防治。* 通信作者, 教授, 博士, 从事昆虫系统分类及农林害虫综合治理研究。

收稿日期 2019-05-21

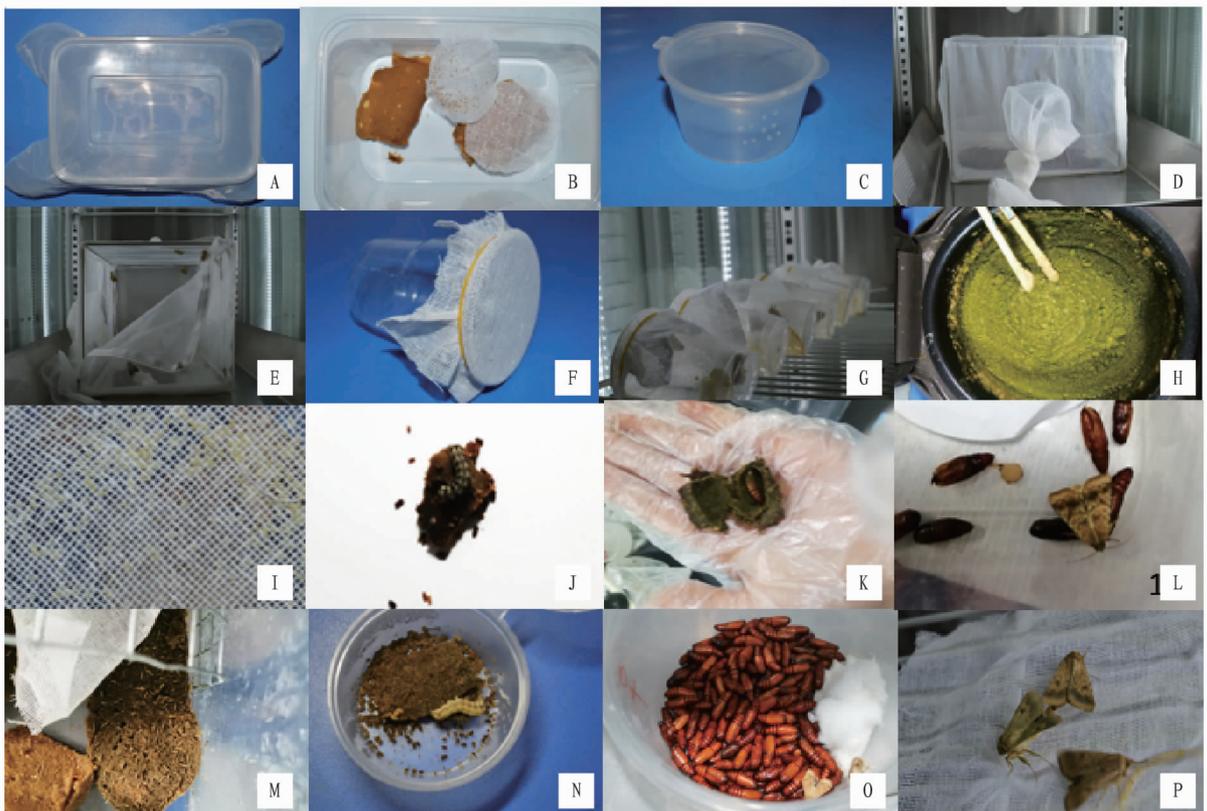
素 C 2.0 g, 维生素 B 10.0 片, 琼脂粉 5.0 g, 氯化钠 0.1 g, 蒸馏水 300.0 mL, 烟粉 15.0 g。将 300 mL 蒸馏水和 5 g 琼脂粉倒入电饭煲中加热至沸腾后加入预先称量好的麦芽粉、大豆粉、蔗糖, 待煮沸 10 min 后保温搅拌 2 min。之后加入其余组分(酵母粉、尼泊金、山梨酸、抗坏血酸、亚油酸(滴)、维生素 C、维生素 B(片)、氯化钠、烟粉)搅拌继续加热 5 min 即可(图 1H)。将高温煮熟的饲料倒入饲料盒中, 待其冷却后盖上盒盖, 放入 4 °C 冰箱备用。(部分原材料的加工, 烟叶放入 60 °C 的烘箱中, 待其完全干燥后取出, 用小型多功能粉碎机(璐枫 LF-600A 型)对干燥烟叶进行粉碎, 制成烟粉待用; 麦胚粉为小麦催芽淘洗干净后烘干粉碎而成, 大豆粉为市售大豆粉。)

3.3 虫源的引入 于烟青虫发生期前往贵州省遵义市凤冈县进化镇烟草基地采集烟青虫幼虫带回实验室投喂人工饲料进行饲养(图 1J)。成虫饲以 25% 的蜂蜜水, 在人工气候箱中建立试验种群。烟青虫幼虫鉴定参照文献[14]的方法。

3.4 幼虫的饲养 烟青虫高、低龄幼虫均用上述饲料进行喂养, 3 龄以前用 19.2 cm×13.0 cm×7.1 cm 容积为 1.5 L 食品保

鲜塑料盒进行集体饲养, 每天检查饲料取食情况, 并加入新鲜饲料。待虫体长至 3 龄大小后进行单头饲养, 饲养容器为事先已进行扎孔处理的环保连体食品圆盒(型号 P2-50ML), 每盒一头, 根据虫体生长情况酌情加入饲料, 饲料 2 d 一换。待虫体进入高龄幼虫后, 加入足量饲料块, 以供其制作土室进行化蛹(图 1K)。操作过程中应注意全程配戴一次性消毒手套, 在更换饲料过程中, 如发现虫盒内的虫感染死亡, 直接将该虫盒移除, 幼虫期 13 d 左右。高龄幼虫饲养盒为一次性用品, 若以其他饲养器具代替应注重消毒。

3.5 蛹的收集和处理 待虫体化蛹 3 d 后, 将虫盒中的蛹收集起来, 区分雌雄蛹, 随后分装入培养皿中进行消毒处理。虫蛹消毒过程: 将虫蛹放入装有 75% 消毒乙醇的培养皿中消毒 2 min 后用无菌蒸馏水漂洗虫蛹 2 次, 用棉花吸去虫蛹表面多余水分后, 将虫蛹转至提前做好相应标识的干净大型塑料圆形盒中, 盒中放有保湿棉花团(图 1O); 正常管理烟青虫雌蛹(饲养环境同幼虫), 雄蛹转至温度 28 °C、湿度 60%~80%、光周期 L16:D8 的人工气候室中高温处理 2 d 后取出, 与雌蛹同放于羽化展翅笼中待其羽化。蛹期约为 7 d。



注: A. 低龄幼虫饲养盒; B. 初孵幼虫转移图示; C. 3 龄幼虫和高龄幼虫饲养圆盒; D、E. 虫蛹羽化笼; F. 成虫交配杯; G. 成虫交配杯放置图示; H. 制作饲料图示; I. 烟青虫卵; J. 取食饲料的烟青虫幼虫; K. 烟青虫蛹; L. 羽化的烟青虫雌性成虫; M. 棉铃虫低龄幼虫; N. 取食饲料的棉铃虫幼虫; O. 棉铃虫蛹; P. 正在交配的棉铃虫雌雄成虫

Note: A. Young larva rearing box; B. Transferring of initial hatching larva; C. 3rd instar larvae and old larva rearing boxes; D, E. Worm feathering cage; F. Adult mating cup; G. Placement of adult mating cup; H. Feed making; I. Egg; J. Feeding of larvae; K. Larva; L. Feathered female adult; M. Young larvae of cotton bollworm; N. Feeding of cotton bollworm larva; O. Pupae of cotton bollworm; P. Mating of cotton bollworm adults

图 1 烟青虫和棉铃虫室内人工饲养

Fig.1 The rearing of *H. assulta* and *H. armigera*

3.6 成虫的羽化和产卵 观察羽化笼中虫蛹体色转为深褐色, 在笼中提前放置 25% 蜂蜜水棉花团, 以备新羽化的成

虫取食(刚羽化成虫见图1L)。将羽化1 d后的成虫以雌雄比1:2/2:1个体比放入交配杯中,杯中同置蜂蜜水棉花球供成虫取食,杯口用胶圈纱布扎口,注意杯口纱布保湿,倒置交配杯,杯口朝向气候箱灯管方向(图1G)。(成虫成活时间6 d左右)。

3.7 卵的收集、管理及初孵幼虫收集 自成虫放入交配杯中第2天后每天更换交配杯纱布收集虫卵(图1I),将卵布块用75%乙醇浸泡1 min消毒后用蒸馏水漂洗干净放置气候箱晾干,次日收集放入干净的虫盒中,待虫卵渐变为褐色时,取出1~2块卵布块放入初孵幼虫饲养盒,盒中事先放置适量新鲜饲料块,将卵布块有卵一面覆饲料块上即可(图1B),以便虫体孵化后爬行取食(卵期约3 d)。

4 注意事项

(1)因烟青虫高龄幼虫具有自相残杀的习性,待其长至3龄后需分开单头饲养直至其化蛹,避免其相互撕咬感染致死。

(2)用75%的消毒乙醇喷施后的养虫器具要自然风干后才可用于养虫。

(3)利用温度控制虫体生长发育,保证试验虫龄、虫质、虫体近似均匀一致,同时利于饲养管理,减少工作量。

(4)保持饲养环境卫生,防治病原菌侵入或其他捕食性天敌(如蜘蛛)出现影响饲虫。

(5)一旦发现虫体感染死亡立刻隔离处理病虫盒。

(6)替换饲料注意戴好卫生手套,以免手上细菌污染饲料。

(7)冬季应在温暖的环境内进行虫管饲料更换,避免虫体受低温影响出现滞育或感染病毒死亡。

5 小结与讨论

上述烟青虫人工饲养方法与前人研究相比,存在诸多改进之处。如与李咏军等^[15]饲养方法相比,由分层多格饲养高龄幼虫改为利用连体环保食品圆盒单盒单头饲养,贵州大学昆虫研究所利用前人方法饲养后发现,幼虫存在串格后相互撕咬感染死亡现象。在成虫产卵环节中,保持产卵杯口纱

布湿润,将产卵杯倒置,杯口朝向气候箱灯管方向,这样可利用成虫趋光性吸引雌虫在近光处的湿润纱布上产卵,便于收集虫卵。此外,初孵幼虫的转移方法也有所改进,由传统的毛笔挑转、抖落改为食物诱导转移,具有简便易行的特点,同时,大大降低了对虫体的损伤。然而该饲养方法也存在一些弊端,如幼虫饲料的清理换新过程较为耗时等。利用该方法饲养棉铃虫发现,棉铃虫对上述烟青虫配方饲料有明显取食趋性,可利用该饲料成功饲养棉铃虫直至其羽化产卵(图1M~P),2~3龄供试幼虫量可高达2 000头,空间可供1 000头高龄幼虫化蛹,羽化成虫数完全可以保证虫体种群继代饲养。

参考文献

- [1] 谢立群,杨效文,张孝羲.烟青虫主要生物学特性及防治方法的研究现状[J].烟草科技,1997(2):46-47.
- [2] LEE H S, HIEU T T, AHN Y J. Oviposition-stimulating activity of (*E*)-capsaicin identified in *Capsicum annuum* fruit and related compounds towards *Helicoverpa assulta* (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. *Chemoecology*, 2006, 16(3): 153-157.
- [3] 辛海军.我国主要烟区烟青虫抗药性检测及机理研究[D].泰安:山东农业大学,2005.
- [4] 蒋辉倩.镇远县烟青虫的发生规律[J].贵州农业科学,2018,46(3):59-61.
- [5] 王崇林,谢友成,周丰,等.斜纹夜蛾与烟青虫或棉铃虫性诱芯同器安放对诱捕效果的影响[J].安徽农业科学,2018,46(21):145-148.
- [6] 张海玲.不同生物药剂对烟青虫的室内药效作用研究[J].河南农业,2018(17):17-18.
- [7] 苗昌见,李为争,汤金荣,等.棉铃虫和烟青虫对两种烟草的嗅觉和取食偏好性[J].中国烟草科学,2018,39(6):51-57.
- [8] 何念武,刘晓阳,李堆淑,等.核桃青皮不同溶剂提取物对烟青虫的防治效果研究[J].现代农业科技,2016(22):109-110,117.
- [9] 马强,袁东,王俊岩,等.应用性诱剂防治棉铃虫和烟青虫效果研究[J].现代农业科技,2017(5):102-103,110.
- [10] 汤清波,阎雪花,赵新成,等.棉铃虫和烟青虫杂交子一代幼虫的精巢和染色体观察[J].科学通报,2005,50(11):1103-1108.
- [11] 闫硕,李慧婷,朱家林,等.光对棉铃虫和烟青虫杂交的影响[J].应用昆虫学报,2016,53(5):988-995.
- [12] 董钧锋,许晓利,牛东升,等.烟青虫人工饲料的改进研究[J].应用昆虫学报,2013,50(1):261-267.
- [13] 王博琳,常耘,司升云.烟青虫初孵幼虫的高效快速收集方法[J].长江蔬菜,2016(20):83-86.
- [14] 周利琳,司升云.棉铃虫和烟青虫的识别与防治[J].长江蔬菜,2005(6):28.
- [15] 李咏军,吴孔明,罗术东.烟青虫人工大量饲养技术的研究[J].核农学报,2007,21(1):75-78.
- [3] 鲁兴萌.蚕中毒的原因分析和防范[J].桑蚕通报,2008,39(1):1-5.
- [4] 张文君,曹兵伟,李少青,等.全球农药市场概况和分析(上)[J].世界农药,2016,38(5):8-14,60.
- [5] 张燕,姜辉,杨亚哲,等.化学农药环境安全评价试验准则第11部分:家蚕急性毒性试验:GB/T 31270.11—2014[S].北京:中国标准出版社,2014.
- [6] 陈丽萍,赵学平,吴长兴,等.6种农药对家蚕的毒性与安全性评价研究[J].农药科学与管理,2006,27(3):22-24.
- [7] 马惠,王开运,刘亮,等.农药对家蚕的毒性及安全性评价研究进展[J].农药科学与管理,2005,26(5):15-17,10.
- [8] 孙海燕,陈伟国,戴建忠,等.47种杀虫剂对家蚕的毒性与安全性评价[J].中国蚕业,2015,36(3):42-47.
- [9] 赵亚洲,廖朝选,王森,等.5种杀虫剂对家蚕的急性毒性评价[J].贵州科学,2015,35(4):83-86.
- [10] 俞瑞鲜,王彦华,吴声敢,等.21种杀菌剂对家蚕的急性毒性与风险性评价[J].生态毒理学报,2011,6(6):643-648.
- [11] 杨一平,陈伟国,戴建忠,等.25种除草剂对家蚕的毒性测定[J].桑蚕通报,2015,46(4):33-36.
- [12] 陈盛德,兰玉彬,李继宇,等.航空喷施与人工喷施方式对水稻施药效果比较[J].华南农业大学学报,2017,38(4):103-109.
- [13] 娄尚易,薛新宇,顾伟,等.农用植保无人机的研究现状及趋势[J].农机化研究,2017(12):1-6,31.

(上接第144页)

分散油悬浮剂达到高风险性,表明此药剂大田施药可能会对桑园造成严重影响,需额外注意。另外作用于非耕地田的40%麦畏·草甘膦水剂和西瓜田的960 g/L精异丙甲草胺乳油对家蚕的风险系数分别为<1.500和<7.800,由于无法精确计算出风险系数,施用中也需注意其对桑园的影响。

由于桑园的特殊性,因此桑园附近农田在用药时尽量选择对家蚕低毒且低风险的药剂,以降低其对桑园的影响;同时施药期间注意风向、喷洒浓度、喷药高度等因素,避免在农田防控病虫害的同时对家蚕生长发育造成不利影响。

参考文献

- [1] 池艳艳,乔康,姜辉,等.三唑类杀菌剂对家蚕的急性毒性与安全性评价[J].蚕业科学,2014,40(2):272-276.
- [2] 沈卫德,李兵,季平,等.野桑蚕和家蚕的环境适应性比较研究[J].蚕业科学,2003,29(4):375-379.