

蝗虫微孢子虫病对东亚飞蝗聚集行为的影响

石旺鹏, 张 龙, 闫跃英, 严毓骅

(中国农业大学植物保护学院, 北京 100094)

摘要:采用行为生测法和触角电位法研究了感染蝗虫微孢子虫病的东亚飞蝗对其聚集信息素粗提物的行为反应。在第 3 龄时部分蝗虫每头接种 10^6 个蝗虫微孢子虫, 与健虫同一条件下饲养。用二氯甲烷从健康蝗虫的粪便、体表或卵囊中抽提聚集信息素, 粗提物经纯化和浓缩后保存于冰柜中待用。结果表明, 感病飞蝗对其信息素的感受能力下降, 聚集行为反应减弱。行为生物测定发现, 微孢子虫病对第 4 龄雌性蝗虫和第 5 龄蝗虫的聚集行为有明显的抑制作用, 而对第 4 龄雄蝗的影响较小; 总的看来, 信息素粗提物对感病雄蝗和高龄蝗虫的作用分别高于对感病雌蝗和低龄蝗虫的作用。触角电位(EAG)测定表明, 感染了微孢子虫病的东亚飞蝗蝗蛹和成虫, 对其信息素粗提物的敏感性降低, 且对不同来源的聚集信息素的电生理反应不同, 其中对从雄性成熟蝗虫、第 4 龄蝗蛹及第 5 龄病虫的粪便中抽提制备的信息素粗提物、第 4 龄蝗蛹粪便挥发物、第 4 龄蝗蛹活虫体表挥发物的电生理反应显著下降; 但对第 5 龄雌蝗和第 5 龄散居型蝗虫的粪便抽提物的电生理活性, 病健虫无明显差异。此研究结果证明, 施用微孢子虫治蝗时, 微孢子虫对蝗虫的聚集行为有明显的影响, 为微孢子虫的控害机理提供了新的证据。

关键词:东亚飞蝗; 蝗虫微孢子虫; 聚集信息素; 聚集行为

Effect of *Nosema locustae* on aggregation behavior of oriental migratory locust (*Locusta migratoria manilensis*)

SHI Wang-Peng, ZHANG Long, YAN Yue-Ying, YAN Yu-Hua (Institute of Plant Protection, China Agricultural University, Beijing 100094, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2003, 23(9): 1924~1928.

Abstract: The aggregation behavior of oriental migratory locusts (*Locusta migratoria manilensis*) infected by *Nosema locustae* was studied using a behavior bioassay and an electroantennograph (EAG). Third instar laboratory reared locusts were inoculated with *Nosema locustae* at a dose of 10^6 spores/individual. Pheromones were extracted from the feces and body of healthy locusts using dichloromethane. These crude extracts were purified and concentrated and then stored in a deep freeze until use. Locusts infected with *Nosema locustae* had a reduced sensitivity to the crude pheromone extracts and had decreased aggregation ability. The behavior bioassay demonstrated a significant reduction in aggregation behavior of the fourth instar females and fifth instars of both sexes. Overall, the effect of the crude extracts on aggregation of

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30100121)

收稿日期: 2002-01-16; 修订日期: 2003-07-03

作者简介: 石旺鹏(1968~), 男, 安徽安庆人, 博士, 副教授, 从事化学生态学和生物防治的教学和研究。E-mail: wpshi@cau.edu.cn

承蒙北京大学生命科学学院生物物理系吴才宏教授对本研究的指导和帮助, 在此诚挚感谢。

Foundation item: The National Natural Science Foundation of China (No. 30100121)

Received date: 2002-01-16; **Accepted date:** 2003-07-03

Biography: SHI Wang-Peng, Ph. D., Associate professor, Research field: chemical ecology of entomology and biological control of pest insect.

infected locusts is greater with males than females and is greater with older instars than younger instars.

Analysis of EAG demonstrated a decrease in the electronic physiological activity of the infected adults. The reduction was particularly evident in infected females that had a significantly reduced EAG response to the feces of adult males and to the volatiles from eggs and the body of adult males. Infected adult males had a reduced response only to the feces of adult males. Infected locusts had a general reduced EAG response to the crude extracts from nymphs. Infected adults and 5th instar nymphs had a reduced response to the feces and body volatiles of the 4th instars and to the feces extracts of healthy 4th and infected 5th instars. But there was no marked difference in EAG response to the feces extracts from 5th instar females and 5th instar solitary locusts. These experiments demonstrate that when it is used to control locusts, *Nosema locustae* has significant behavioral effects. The conclusions are new evidences controlling locusts using *Nosema locustae*.

Key words: *Locusta migratoria manilensis*; *Nosema locustae*; pheromone; aggregation behavior

文章编号:1000-0933(2003)09-1924-05 中图分类号:Q968,S433.2 文献标识码:A

东亚飞蝗具有群集远距离迁飞特性。研究表明,沙漠蝗的群集主要受化学信息调控^[1]。昆虫学家和化学家们对影响沙漠蝗和非洲飞蝗行为的化合物进行了广泛的研究,他们发现虫体等自然挥发出来的信息化合物对群居或散居型蝗虫存在明显的调控其聚集行为的作用^[2],而化学信息的释放与接受是受多方面因素的影响,其中疾病也是重要因素之一^[3]。

蝗虫微孢子虫(*Nosema locustae*)是蝗虫等直翅目昆虫(Orthoptera)的专性寄生的单细胞原生动物,其在调节蝗虫种群密度方面具有显著作用^[4]。在运用蝗虫微孢子虫治理高密度蝗蝻群的过程中发现,微孢子虫在降低蝗蝻群虫口密度的同时,也使存活蝗虫中的生态型的比例发生变化,蝗虫团伙减小,朝散居型转变^[5]。研究感病飞蝗对其聚集信息素的行为反应,从而探讨蝗虫微孢子虫病在阻止飞蝗群集中的作用,对指导和协调生物治蝗有重要意义。

1 材料和方法

1.1 试验材料

蝗虫微孢子虫浓缩液(3.0×10^6 孢子/ml,中国农业大学蝗虫微孢子虫中试厂生产),自行研制的行为生测仪,电子监视装置,触角电位测试系统等。

1.2 试验方法

1.2.1 蝗蝻饲养 收集飞蝗卵块,在人工气候箱内孵化,然后分笼($d=15\text{cm}$, $h=46\text{cm}$)用鲜麦苗饲养(饲养条件: $T=30 \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$, $RH=50\% \sim 70\%$, 24h 光照,每笼 50~100 头)。

1.2.2 蝗蝻接种 在飞蝗 3 龄期接种蝗虫微孢子虫。给饥饿了 12~24h 的蝗蝻喂食带有 10^6 个孢子的嫩叶片,待叶片吃完后,再喂食干净的麦苗,放在铁纱笼中饲养,饲养温湿,光照与健虫一致。

1.2.3 信息素的制备 每天收集当天蝗虫粪便并用铝薄包装密封,放入冰柜中。使用时准确称取等量的不同龄期的蝗虫粪便,加入等量的二氯甲烷重蒸液,放入冰箱中浸提,然后,放在振荡器上恒定振荡数小时;将提取液离心,过滤,得虫粪信息化合物提取液;加入少量的干燥剂,放入冰柜中过夜;再过滤、纯化等,得信息素制备液,经减压浓缩仪浓缩,吹干溶剂后,放入低温冰柜中保存待用。挥发物采用吸附浓缩法收集、洗涤、纯化和浓缩后备用。

1.2.4 行为测定 采用全封闭式行为生测室,东、西、南、北方位设有四支 40W 日光灯均匀照明,排气扇 24h 运行,保证室内空气流通,行为生测室条件基本与饲养室条件一致。通过无油空气压缩机提供恒定的、干净的气流(1000ml/min),使气流均匀吹向飞蝗触角,通过自动监测装置,记录其行为反应。

根据 Obeng-Ofori 的原理和方法^[6],设计了全玻璃自动行为生测仪(长×宽×高=60cm×60cm×30cm),生测仪分为数格成等大的两气味室,一室通以携带有聚集信息素物质的气流作诱源,另一室通以经活性炭净化后的含有二氯甲烷的空气流作对照,顶部用松下摄像机跟踪观察。用引虫笼(长×宽×高=

15cm×5cm×5cm)引入试虫,通气一定时间后,记录试虫在两室内的分布数量及个体滞留时间,一直在引虫笼中的个体视为无反应。单头测试,分成 5 组,每组 20 头,每次计时 10 min。

1.2.5 EAG 测试 在一根离体触角末梢套上一支吸满蝗虫生理盐水的玻璃毛细管,内插入一根氯化银电极作为信号引出端,触角基部置于另一支吸满蝗虫生理盐水的玻璃毛细管内,再插入另一根氯化银电极作为信号输入端,触角电位信号经直流前置放大器放大后,在双线示波器屏幕上显示出来,同时记录仪记录产生的电位差,可以了解昆虫对该样品的反应。操作时取不同来源的制备液 30ul 滴在 15mm×7mm 的滤纸上,吹干后将滤纸放在一端磨口的特制的玻璃管内,磨口端接气流系统,出口对准触角,相距 2cm 左右,气体流量为每分钟 100ml。刺激时间长短(300ms)由电磁阀控制,刺激间隔通以新鲜气流,以除去触角周围的气味分子。在测试前,将试虫饥饿 2~12h,然后挑选生理状态正常一致的试虫(12 根有效触角)作为测试,每测试一批次后,通气 3 min,排除剩余气味,再进行下一次测试。以二氯甲烷为对照气体。

1.2.6 行为指标 聚集指数(aggregation index 简称 AI)是根据发生反应的个体在不同气味区内的分布比例来说明试虫在气味区内的聚集程度。引诱率(attractant percent 简称 AP)是根据被引诱到诱源区内的个体数占总试虫的比率来反映诱源物质对试虫的引诱效果。反应率(reaction percent 简称 RP)对信息素发生反应的个体所占的比例。滞留时间(retention time 简称 RT,单位秒)是根据发生反应的个体在诱源区内停留时间长短来反映诱源物质对试虫的近距离滞留作用^[7]。

2 结果与分析

2.1 病虫对 5 龄健虫粪便中信息素粗提物的行为反应

行为生测后发现,蝗虫微孢子虫病对第 5 龄蝗蛹的聚集行为有显著的抑制作用,其病虫的聚集指数、聚集率、反应率和在信息区内的滞留时间均显著比健虫低;而对第 4 龄蝗蛹聚集行为的影响,存在性别差异,其中对第 4 龄雄性蝗蛹的影响不明显,但对第 4 龄雌性蝗蛹的影响明显(如表 1 所示)。

表 1 病虫对 5 龄虫粪信息素粗提物的聚集反应

指标 Index	测试蝗虫 Test locusts							
	♀ 4 龄 4th instar(♀)		♂ 4 龄 4th instar(♂)		♀ 5 龄 5th instar(♀)		♂ 5 龄 5th instar(♂)	
	病 Infected	健 Health	病 Infected	健 Health	病 Infected	健 Health	病 Infected	健 Health
AI	0.20b	0.58a	0.61a	0.63a	0.45b	0.73a	0.49b	0.76a
AP	7.7b	41.0a	56.3a	56.9a	25.0b	55.0a	44.0b	65.0a
RP	23.1b	61.0a	66.7a	68.5a	33.3b	68.1a	57.8b	75.0a
RT	217.7a	228.0a	326.5a	302.8a	313.6b	354.6a	321.3b	358.5a

* 对病虫与健虫的聚集行为指标进行差异性比较,字母不同表示差异显著 The different letters indicate significantly different at 5% level by Duncan's multiple range test between infected and health locusts;下表同 the same below

2.2 病虫对成蝗信息素粗提物的电生理反应

电生理测定后认为,病虫对不同来源的信息素粗提物的电生理活性不同,其中对雄性成蝗的粪便中抽提出的聚集信息素比较敏感,但敏感性显著比同龄期的健康蝗虫低;此外,研究还发现,微孢子虫病显著降低了雌性成蝗对从雌性成蝗粪便中抽提出的信息素的活性,而对第 5 龄蝗蛹和雄性成蝗的影响不明显;雄性成蝗对雌性成蝗体表挥发物的电生理反应,病虫和健虫无显著差异,而第 5 龄蝗蛹和雌性成蝗病虫的反应则显著低于健虫的反应幅值;雄性成蝗体表挥发物和卵囊挥发物对蝗虫的电生理活性,除雌性成熟蝗虫外,病健虫之间均无显著差异(如表 2 所示)。蝗虫对二氯甲烷没有电生理活性。

2.3 病虫对蝗蛹信息素粗提物的电生理反应

从表中(如表 3 所示)蝗虫对不同来源的信息素粗提物的电位差值可以看出,感染了微孢子虫病的和健康的第 5 龄蝗蛹及成熟蝗虫对从第 5 龄散居型蝗蛹粪便中制备的信息粗提物以及第 5 龄雌性蝗蛹粪便挥发物的电生理反应没有明显差异;而感病蝗蛹和成蝗对其它 4 种测试的信息素粗提物的电位差显著低于未感病的蝗虫数据

表 2 病虫对成蝗信息素粗提物的电生理反应(mv)

Table 2 EAG of the infected locusts to the crude extracts of the adults' pheromone

试虫		雌成蝗粪粗提物	雌成蝗体挥发物	雄成蝗粪粗提物	雄成蝗体挥发	卵囊挥发物
Test locusts		Feces extracts of adults(♀)	Body volatiles of adults(♀)	Feces extracts of adults(♂)	Body volatiles adults(♂)	Egg pods volatiles of locusts
♂ 5 龄	病 Infected	0.19a	0.11b	1.1b	0.11a	0
5th instar ♂	健 Health	0.21a	0.25a	1.68a	0.18a	0
♀ 5 龄	病 Infected	0.19a	0.043b	0.62b	0.11a	0.052
5th instar ♀	健 Health	0.22a	0.15a	1.3a	0.13a	0
♀ 成虫	病 Infected	0.41b	0.18b	0.51b	0.09b	—
adults ♀	健 Health	0.63a	0.29a	1.3a	0.18a	0.11
♂ 成虫	病 Infected	0.42a	0.16a	0.66b	0.20a	—
adults ♂	健 Health	0.32a	0.17a	0.72a	0.11a	0.08

* 表中数据为 12 根飞蝗的触角电位差值的平均值 Figure in table is the mean of EAG of 12 repeats;下表同 The same below

表 3 病虫对蝗蛹信息素粗提物的电生理反应(mv)

Table 3 EAG of the infected locusts to the crude extracts of the nymphs' pheromone

试虫		4 龄蛹粪粗提物	4 龄蛹粪挥发物	4 龄活体挥发物	5 龄雌粪挥发物	5 龄散居型粪提物	5 龄病虫粪粗提物
Test locusts		Feces extracts of 4th instar	Feces volatiles of 4th instar	Body volatiles of 4th instar	Feces volatiles of 5th instar ♀	Feces extracts of 5th instar solitary	Feces extracts of 5th instar infected
♀ 5 龄	病 Infected	0.12b	0.052b	0.059b	0.11a	0.10a	0.51b
5th instar females	健 Health	0.18a	0.17a	0.13a	0.16a	0.13a	0.93a
♂ 5 龄	病 Infected	0.13b	0.087b	0.1b	0.18a	0.18a	0.62b
5th instar males	健 Health	0.22a	0.11a	0.18a	0.18a	0.13a	0.99a
♀ 成虫	病 Infected	0.23b	0.08b	0.10b	0.08a	0.15a	0.19b
adults females	健 Health	0.53a	0.24a	0.18a	0.08a	0.14a	0.36a
♂ 成虫	病 Infected	0.27b	0.08b	0.08b	0.08a	0.18a	0.28b
adults males	健 Health	0.61a	0.18a	0.22a	0.11a	0.21a	0.60a

3 小结与讨论

3.1 研究结果表明,蝗虫微孢子虫病对第 5 龄蝗蛹和第 4 龄雌性蝗蛹的聚集行为有明显的抑制作用。研究还发现,信息素粗提物对雄性病虫的聚集作用较强,引诱率、反应率及滞留时间均较高于雌性蝗虫。可能是因为雄性蝗蛹发育较快,个体较小,抵抗力较强,因此行动能力比雌性蝗虫强,增强了雄虫的聚集行为能力^[8]。这与国外对沙漠蝗及非洲飞蝗聚集行为的研究结果基本上一致^[2]。

研究已经证明,高龄蝗虫所产生的信息素对低龄或同龄蝗虫的聚集作用较强^[8],另一方面,同时也在第 3 龄接种蝗虫微孢子虫,接种剂量也一致时,随着虫龄的增加,微孢子虫在蝗虫体内增殖的数量越多,消耗的能量物质也越多,对蝗虫的行为能力影响也越大,因此对第 5 龄蝗虫的聚集行为影响较明显^[9,10]。

3.2 蝗虫微孢子虫病明显降低了蝗虫对从成熟雄性蝗虫粪便中抽提出的信息素、雌性成蝗体挥发物以及蝗蛹粪便和体表的信息素粗提物的电生理活性。病虫对信息素粗提物的电生理反应随信息素的来源不同,差异比较大,感染微孢子虫病的蝗虫对其粪便中信息素粗提物的电生理反应的减弱较为明显。研究发现,蝗虫粪便中所含的聚集信息素的活性较高,尤其是未交配的雄性成蝗^[7,11];但是,由于蝗虫微孢子虫主要侵染蝗虫的脂肪体,破坏蝗虫的脑神经系统,严重影响蝗虫的生长发育和体内代谢,因此,可能也会影响到嗅觉感器的形成和功能的完善,从而影响了蝗虫对聚集信息素的反应。

morphometrics of the desert locust *Schistocerca gregaria* (Forsk.) (Orthoptera: Acrididae). *Journal Insect Physiology*,1995,**42**:771~776.

[2] Niassy A,Torto B, Njagi P G N, *et al.* Intra-and inter specific aggregation responses of *Locusta migratoria* and *Schistocerca gregaria* and a comparison of their pheromone emissions. *J. Chem. Ecol.* ,1999,**25**:1029~1042.

[3] Hassanali A, Magzoub B O. Insights for the management of different locust species from new findings on the chemical ecology of the desert locust. *Insect Sci. Applic.* ,1999,**19**:369~376.

[4] Zhang L, Yan Y H. New strategy on sustainable management of locusts. *Acta Ento. Sinica* , 2000,**43**(suppl.) : 180~185.

[5] Shi W P, Yan Y H, Zhu E L, *et al.* Sustainable management of oriental migratory locust dwelling in abandoned land ecosystem in Hainan province. *Acta Phytophylacica Sinica* , 2001,**28**(3):207~212.

[6] Obeng-Ofori D, Torto B . Fecal volates as part of the aggregation pheromone complex of the desert locust, *Schistocerca gregaria* (Forsk.) (Orthoptera: Acrididae). *J. Chem. Ecol.* , 1994,**20**(8): 2077~2087.

[7] Bouaichi A,Roessingh P, Simpson S J. An analysis of the behavioural effects of crowding and re-isolation on solitary-reared adult desert locusts (*Schistocerca gregaria*) and their offspring. *Physiological Entomology*,1995, **20**:199~208.

[8] Shi W P, Zhang L, Yan Y H, *et al.* Aggregation effects of fecal volatile of locusts on nymphs. *J. China Agricultural University*, 2000, **5**(5): 51~57

[9] Torto B, Hassanali A . Aggregation pheromone system of nymphal gregarious desert locust, *Schistocerca gregaria* (Forsk.). *Journal of Chemical Ecology*,1996,**22**:2273~2282.

[10] Zhang L, Yan Y H, Shi W P, *et al.* Controlling oriental migratory locusts combinatorial using *Nosema locustae* and Cascade. *J. Bio. Controlling Insect-pest* , 1999,**15**: 57~59.

[11] Anotn S, Hansson B S. Antennal lobe interneurons in the desert locust *Schistocerca gregaria* (Forsk.) : Processing of aggregation pheromones in adult males and females. *Journal of Comparative Neurology*,1996,**370**: 85~96.

参考文献：

[4] 张龙,严毓骅.持续治理飞蝗灾害的新对策.昆虫学报,2000,**43**(增刊):180~185.

[5] 石旺鹏,严毓骅,朱恩林,等.海南省撩荒地生态系统飞蝗的持续控制研究.植物保护学报, 2001,**28**(3):207~212.

[8] 石旺鹏,张龙,严毓骅,等.蝗虫粪便挥发物对蝗蚴聚集作用的影响.中国农业大学学报,2000,**5**(5):51~57.

[10] 张龙,严毓骅,石旺鹏,等.协调应用蝗虫微孢子虫与卡死克防治东亚飞蝗.中国生物防治,1999,**15**:57~59.