

稻纵卷叶螟人工饲料配方的优化研究*

王业成 张树坤 任秀贝 苏建亚**

(南京农业大学植物保护学院 农作物生物灾害综合治理教育部重点实验室 南京 210095)

摘要 应用二次正交旋转组合设计对稻纵卷叶螟 *Cnaphalocrocis medinalis* Guenée 人工饲料的配方进行了优化, 以化蛹率为目标函数建立了二次回归模型, 结果表明稻叶粉、麦胚粉、玉米粉、干酪素、酵母对稻纵卷叶螟幼虫发育与化蛹率影响较大, 大豆粉的影响不明显。通过统计寻优获得的优化配方为: 每 135 g 人工饲料中, 稻叶粉 3 g、麦胚粉 8 g、玉米粉 4 g、干酪素 4 g、酵母粉 4 g。在温度 27℃, 相对湿度 80% 左右, 光照 L:D = 16:8 的条件下, 使用该优化配方饲养稻纵卷叶螟, 25.6% 的供试初孵幼虫能完成幼虫发育并化蛹, 幼虫期平均 26.9 d, 蛹重 16~22 mg。与以前的研究结果比较, 化蛹率与蛹重均有显著提高, 而幼虫历期略短。

关键词 稻纵卷叶螟, 人工饲料, 二次正交旋转组合设计, 配方优化

Optimization an artificial diet for the rice leaf-folder, *Cnaphalocrocis medinalis*

WANG Ye-Cheng ZHANG Shu-Kun REN Xiu-Bei SU Jian-Ya**

(Key Laboratory of Integrated Management of Crop Disease and Pests, Ministry of Education, College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract An artificial diet for the rice leaf-folder, *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) was optimized using an experimental design of quadratic orthogonal rotational combinations. An optimal diet recipe was obtained from a quadratic regression model taking the pupation rate of the rice leaf-folder as the dependent variable. The results show that proportions of rice leaf powder, wheat germ powder, corn powder, casein and yeast in the artificial diet affected the rate of pupation rate of rice leaf-folder larvae. The optimal proportions of these components were: rice leaf powder 3 g, wheat germ powder 8 g, corn powder 4 g, casein 4 g and yeast 4 g in 135 g of diet. When rice leaf-folder larvae were reared on this optimum diet at 27℃, 80% RH and a 16L:8D photoperiod, 25.6% of the tested neonate larvae could complete larval development and pupate in about 26.9 days. Pupal weight was about 16–22 mg. Rates of pupation and pupal weight were obviously higher, and the duration of the larval period slightly shorter, than previously reported in other studies.

Key words rice leaf-folder, *Cnaphalocrocis medinalis*, artificial diet, design of quadratic orthogonal rotational combination

稻纵卷叶螟 *Cnaphalocrocis medinalis* Guenée 是我国水稻上的重要害虫之一, 其幼虫取食叶肉和卷叶, 影响光合作用, 严重影响水稻的产量和品质(刘宇等, 2008; 王凤英等, 2009)。众所周知稻纵卷叶螟很难在室内进行大规模饲养, 这一难题严重制约了对稻纵卷叶螟开展深入细致的室内研究工作, 使得我们对它的迁飞与滞留机制、抗药性状况以及为害的生理机制等的了解不够深入, 也

限制了防治药剂与抗性品种的筛选, 给生产上稻纵卷叶螟防治技术的研发带来困难。尽管如此, 人们还是克服重重困难通过培育水稻的方式, 以分蘖期水稻饲养幼虫进行试验, 开展了一些研究工作, 如迁飞规律(全国稻纵卷叶螟研究协作组, 1981)、生物学(许璐等, 2007)、发生规律(顾海南和张孝羲, 1987)、发生条件(吴进才, 1985; 但建国和陈常铭, 1990)、预测预报与防治技术(张润杰和

* 资助项目: 公益性行业(农业)科研专项(200903051)。

** 通讯作者, E-mail: sjy@njau.edu.cn

收稿日期: 2013-04-21, 接受日期: 2013-04-30

古德祥,1989)、抗药性(林秀秀等,2012)等,以往的研究一般都是直接从田间采集试虫或在室内用水稻饲养(高中文等,2008;Zheng *et al.*,2011),但由于养虫空间的限制,饲养的规模多不大,研究的深度与广度受影响。研究人员一直希望建立稻纵卷叶螟的室内大规模饲养技术,并进行了许多尝试,如采用水稻小苗法(Fujiyoshi *et al.*,1980)、玉米苗法(Shono and Hirano,1989;Park *et al.*,2006,廖怀建等,2012),这些方法使室内饲养水平有了较大地提高,但仍不能满足实验室的研究需求,人们希望建立完全基于人工饲料的稻纵卷叶螟室内饲养技术,早在1987年国际水稻研究所就进行过探索(Khan,1987),10多年前日本学者尝试在一种商业化饲料(Insecta F-II)中添加30%稻叶粉,用于饲养稻纵卷叶螟取得一定效果(Ohmura *et al.*,2000;Tsuda *et al.*,2005),文献中列出了该商业化饲料的组成成份,但未透露各组分比例。近年我国也开展了稻纵卷叶螟人工饲料的研究(雷妍圆,2007;柯名娟等,2011;李传明等,2011),但结果仍不十分理想,主要表现在幼虫存活率低,尤其是低龄幼虫死亡率高,化蛹率低,蛹重偏轻等,需要对人工饲料的配方进行优化。本研究在分析前人研究的基础上,对人工饲料中的主要组分,包括稻叶粉、麦胚粉、玉米粉、干酪素、酵母粉

以及大豆粉,通过二次旋转正交组合的设计方式进行了优化研究。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

稻纵卷叶螟成虫采自于江苏省农业科学院的稻田中,一般在早上6:00左右以及下午5:00后天黑前进行。用自制的尼龙笼捕捉稻纵卷叶螟的成虫,带回室内放入养虫笼中,笼内放分蘖期水稻供稻纵卷叶螟成虫产卵,在养虫笼的顶部及侧面每日早晚刷10%糖水为成虫提供补充营养。每日早上将已产卵水稻移出,并替换新的水稻供交卵,以获取日龄一致的卵。带卵的水稻放在27℃条件下饲养,每日早晚各喷水1次保湿。4 d后卵即出现黑点,孵化时间主要在早上日出后,每日8:00—11:00从水稻上挑取当日孵化的初孵幼虫供试(Zheng *et al.*,2011)。

1.2 供试饲料

稻叶粉由水稻分蘖期-孕穗期的新鲜叶片经烘干后用小型植物粉碎机粉碎得到,大豆粉购自超市经130℃条件下烘烤3 h后备用,其他饲料成份均为市购。饲料的基本成分见表1,韦氏盐和范氏维生素的配方参考文献(Cohen,2004)。

表 1 稻纵卷叶螟饲料的基本成分
Table 1 Components of diet for *Cnaphalocrocis medinalis*

组分 Components	份量 Contents (g)	组分 Components	份量 Contents (g)	组分 Components	份量 Contents (mg)
稻叶粉	3.0	琼脂	2.3	链霉素	40.0
麦胚粉	8.0	砂糖	6.0	韦氏盐	20.0
玉米粉	4.0	抗坏血酸	0.25	纳他霉素	13.4
干酪素	3.0	胆固醇	0.04	范氏维生素	3.0
大豆粉	3.0	尼泊金甲酯	0.10	亚麻油	0.3 mL
酵母	4.0	山梨酸	0.10	蒸馏水	100 mL

1.3 人工饲料的配制方法

称取琼脂、稻叶粉、麦胚粉、玉米粉、干酪素、大豆粉以及砂糖放入250 mL烧杯中,加水100 mL后用高速匀质机粉碎搅拌均匀,浸泡30 min后用微波炉加热使琼脂完全溶解并混匀,冷却到55℃

后加入表1中其他组分,完全混匀后倒入9 cm培养皿内,冷却后备用。

1.4 试验方法

将备好的人工饲料切成片状放入指形管中,每指形管中接入稻纵卷叶螟初孵幼虫5头,用棉

塞封口后置于温度为 27℃、湿度 80%、光周期 L:D = 16:8 的培养箱内培养。前期每 5 d 记录管中幼虫的存活情况,20 d 后每日观察幼虫化蛹情况。每 5 d 更换一次人工饲料,接近化蛹前在管中放入折叠纸片供化蛹。每个饲料组合重复 4 次,每重复 3 个指形管,每种饲料组合使用 60 头初孵幼虫。

1.5 二次正交旋转组合的试验设计及数据分析

选取稻叶粉、麦胚粉、玉米粉、干酪素、酵母粉、大豆粉为试验的参试因子,以化蛹概率为目标函数,参试因子的水平及编码见表 2,人工饲料中其它组分的含量见表 1。二次正交旋转组合的试

验设计参考莫美华和庞雄飞(2007)的方法进行。人工饲料组分影响模型的建立,是根据系统分析的观点采用六因子(1/2 实施)二次正交旋转回归组合设计表(表 3)。每一参试因子的水平编码为 -2, -1, 0, 1, 2, 因子的取值采用线性变换。整个试验共设 36 个饲料配方组合,包括中心点(即编码 0 水平)的 10 个重复。中心点的重复变异作为试验误差用于结果的统计分析。

数据分析采用 DPS 软件进行,计算得出各参试因子与化蛹概率的关系模型。并用 DPS 软件对关系模型的回归方程和回归系数进行显著性检验,以 $P < 0.05$ 为显著性标准。

表 2 试验因素水平编码
Table 2 Encode factor and level (g/100 mL water)

水平 x_i	稻叶粉 x_1	麦胚粉 x_2	玉米粉 x_3	干酪素 x_4	酵母 x_5	大豆粉 x_6
-2	0.0	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0
-1	1.5	6.0	2.0	1.5	2.0	1.5
0	3.0	8.0	4.0	3.0	4.0	3.0
1	4.5	10.0	6.0	4.5	6.0	4.5
2	6.0	12.0	8.0	6.0	8.0	6.0

注: x_1 : 稻叶粉; x_2 : 麦胚粉; x_3 : 玉米粉; x_4 : 干酪素; x_5 : 酵母; x_6 : 大豆粉,下表及下图同。
 x_1 : rice leaf powder; x_2 : wheat germ; x_3 : corn powder; x_4 : casein; x_5 : dry yeast; x_6 : soybean powder. The same for the following tables and figures.

2 结果与分析

2.1 二次正交旋转组合设计模型的建立及显著性分析

参试因子按照表 3 的设计,其余基本成分按表 1 添加,对结果进行统计分析,最终建立了以化蛹概率为目标函数的六元二次回归方程,为:

$$Y = 0.2357 - 0.0129x_1 - 0.0046x_2 + 0.0074x_3 + 0.0104x_4 - 0.0013x_5 + 0.0023x_6 - 0.0412x_1^2 - 0.0387x_2^2 - 0.0412x_3^2 - 0.0462x_4^2 - 0.0437x_5^2 - 0.0137x_6^2 - 0.0078x_1x_2 - 0.0006x_1x_3 + 0.0009x_1x_4 + 0.0006x_1x_5 - 0.0078x_1x_6 - 0.0106x_2x_3 - 0.0078x_2x_4 - 0.0144x_2x_5 + 0.0009x_2x_6 + 0.0219x_3x_4 + 0.0003x_3x_5 - 0.0041x_3x_6 + 0.0056x_4x_5 - 0.0078x_4x_6 + 0.0053x_5x_6。$$

对二次回归模型的显著性检验结果表明:失

拟性检验 $F_1 = 9.253$,显著性水平 P 值为 0.0160,已经达到了 0.05 的显著性水平。依据各项回归平方和的显著性检验结果,剔除 $P \geq 0.05$ 的不显著项后重新得到回归方程,为:

$$Y = 0.2357 - 0.0412x_1^2 - 0.0387x_2^2 - 0.0412x_3^2 - 0.0462x_4^2 - 0.0437x_5^2。$$

稻纵卷叶螟的化蛹概率与稻叶粉、麦胚粉、玉米粉、干酪素、酵母、大豆粉的相关系数 $R^2 = 0.8355$,表明该数学模型 6 个因素对化蛹率的影响占 83.55%,其他因素对稻纵卷叶螟化蛹率的影响占 16.45%。说明稻纵卷叶螟的化蛹率受这 6 个因素的影响比较大,同时还受到其他因素的影响。

2.2 效应分析

2.2.1 主效应因素分析 六因素回归系数的绝对值分别为稻叶粉 0.0129、麦胚粉 0.0046、玉米粉 0.0074、干酪素 0.0104、酵母 0.0013、大豆粉

表 3 二次正交旋转组合试验结构矩阵及结果

Table 3 Experiment scheme of quadratic-orthogonal-rotation-combination design

实验号 Experiment No.	参试因子 Factors						化蛹概率 Pupation rate
	x_1	x_2	x_3	x_4	x_5	x_6	
1	1	1	1	1	1	1	0.01
2	1	1	1	-1	-1	-1	0.01
3	1	1	-1	1	-1	1	0.00
4	1	1	-1	-1	1	-1	0.00
5	1	-1	1	1	-1	-1	0.09
6	1	-1	1	-1	1	1	0.00
7	1	-1	-1	1	1	-1	0.03
8	1	-1	-1	-1	-1	1	0.00
9	-1	1	1	1	-1	-1	0.10
10	-1	1	1	-1	1	1	0.02
11	-1	1	-1	1	1	-1	0.02
12	-1	1	-1	-1	-1	1	0.12
13	-1	-1	1	1	1	1	0.11
14	-1	-1	1	-1	-1	-1	0.00
15	-1	-1	-1	1	-1	1	0.00
16	-1	-1	-1	-1	1	-1	0.00
17	-2	0	0	0	0	0	0.05
18	2	0	0	0	0	0	0.01
19	0	-2	0	0	0	0	0.08
20	0	2	0	0	0	0	0.00
21	0	0	-2	0	0	0	0.00
22	0	0	2	0	0	0	0.06
23	0	0	0	-2	0	0	0.00
24	0	0	0	2	0	0	0.02
25	0	0	0	0	-2	0	0.00
26	0	0	0	0	2	0	0.04
27	0	0	0	0	0	-2	0.12
28	0	0	0	0	0	2	0.16
29	0	0	0	0	0	0	0.21
30	0	0	0	0	0	0	0.22
31	0	0	0	0	0	0	0.34
32	0	0	0	0	0	0	0.37
33	0	0	0	0	0	0	0.23
34	0	0	0	0	0	0	0.21
35	0	0	0	0	0	0	0.24
36	0	0	0	0	0	0	0.23

0.0023,可知对化蛹率影响的从大到小分别为:稻叶粉、干酪素、玉米粉、麦胚粉、大豆粉、酵母。

利用 DPS 分析结果,得到单因子效应分析(其他因子零水平)结果,由单因子效应分析结果可得到各因子与化蛹率的关系图(图 1)。由图 1 可知,稻叶粉、麦胚粉、玉米粉、干酪素、酵母 5 种因子分别与化蛹率的关系均为开口向下的近似

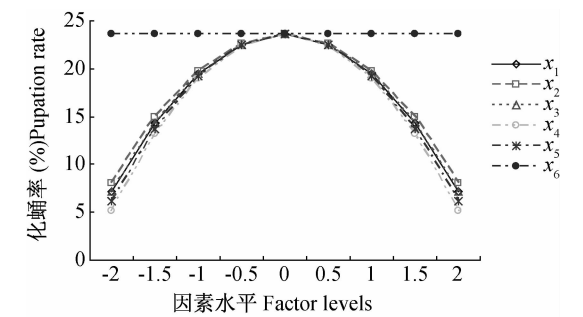


图 1 试验因子的主效应分析
Fig.1 Main effects of test factors

于抛物线曲线,且变化趋势基本相同。说明这 5 个因素对化蛹率的影响均存在一定的合理范围,高于或低于这个范围对稻纵卷叶螟的化蛹均有不利影响。在低水平到 -0.5 水平时化蛹率呈上升趋势,-0.5 到 0.5 水平之间化蛹率基本趋于稳定,而高与 0.5 水平时化蛹率开始下降。但对于大豆粉来说,在 -2 到 2 的水平之间,化蛹率基本没发生变化,说明在这一因子对化蛹率的影响不大。

2.2.2 各因素交互效应分析 根据回归方程,可得到各因素之间交互效应的关系(如表 4)。分析可得稻叶粉(x_1)与干酪素(x_4)、稻叶粉(x_1)与酵母(x_5)、麦胚粉(x_2)与大豆粉(x_6)、玉米粉(x_3)与干酪素(x_4)、玉米粉(x_3)与酵母(x_5)、干酪素(x_4)与酵母(x_5)、酵母(x_5)与大豆粉(x_6)之间的相互作用对化蛹的影响为正效应,即为协同作用,其余均为负效应。其中,玉米粉(x_3)与干酪素(x_4)之间的相互作用对化蛹的影响最为显著。

表 4 各因素交互效应分析
Table 4 The mutual effects between experimental factors

交互效应 Mutual effects	x_1	x_2	x_3	x_4	x_5
x_1	-0.0078	-0.0006	+0.0009	+0.0006	-0.0078
x_2		-0.0106	-0.0078	-0.0144	+0.0009
x_3			+0.0219	+0.0003	-0.0041
x_4				+0.0056	-0.0078
x_5					+0.0053

2.2.3 化蛹率最佳的因素组合 由 DPS 数据处理系统对实验数据分析结果,得到化蛹率最高时六因素最佳配比,即:稻叶粉 3 g,麦胚粉 8 g,玉米粉 4 g,干酪素 3 g,酵母粉 4 g,大豆粉 0 g。在此最佳配比条件下,得出的化蛹率平均为 25.6% ± 5.5%,最高化蛹率可达 37%,蛹重 16 ~ 22 mg,幼虫历期 25 ~ 29 d,平均 26.9 d。

3 讨论

稻纵卷叶螟的研究一直受制于室内饲养技术,由于饲养困难使得针对该种昆虫的室内研究总是难以深入开展。由于昆虫人工饲料组成成分众多、组分复杂,对于稻纵卷叶螟为何不能通过人

工饲料进行饲养的原因难以知晓。对于这种多因子混料的研究,二次正交旋转组合试验设计则是经常采用的试验与统计分析技术(唐启义和冯明光,1997),莫美华和庞雄飞(2007)就曾利用该技术对小菜蛾人工饲料进行过优化,取得了较好的效果。

本研究中,以昆虫人工饲料中经常选用的营养成分分麦胚粉、玉米粉、大豆粉、干酪素、酵母粉以及稻叶粉作为参试因子,通过二次正交旋转组合设计和模型模拟进行优化,使得饲料组分的营养成分和配比都满足稻纵卷叶螟幼虫生长发育的需要。以稻纵卷叶螟化蛹率为评价的目标函数,结果表明,在优化分析的 6 个因子中,对幼虫存活与

化蛹影响较大的依次为稻叶粉、干酪素、玉米粉、麦胚粉、酵母粉。而大豆粉的添加与否(0~6 g)对幼虫存活与化蛹的影响并不大,郭文卿等(2012)也曾报道人工饲料中氮含量对初孵幼虫的取食选择影响不显著,说明稻纵卷叶螟人工饲料中其他饲料组分提供的蛋白量足够稻纵卷叶螟幼虫发育与正常化蛹,无需通过添加大豆粉增加蛋白量。

优化得到的配方使 25.6% 的初孵幼虫能完成幼虫发育形成正常的蛹,蛹重在 16~22 mg 之间,幼虫历期 25~29 d,平均 26.9 d。幼虫存活与化蛹率均高于柯名娟等(2011)与李传明等(2011)报道的试验结果,但仍低于用玉米苗饲养的结果(廖怀建等,2012)。蛹重则显著高于柯名娟等(17.17 mg)与李传明等(9 mg)报道的结果,略高于日本学者 Tsuda 等(2005)用人工饲料饲养的结果,幼虫历期略短于他人的研究结果。虽然我们优化后的配方饲养稻纵卷叶螟幼虫得到的平均化蛹率仍不高,但部分重复试验中最高化蛹率达到 37%,说明该配方仍有很大的优化空间,尤其是怎样提高稻纵卷叶螟低龄幼虫的存活率。

参考文献 (References)

- Cohen AC, 2004. Insect Diets: Science and Technology. CRC Press, Boca Raton, FL. 273–275.
- Fujiyoshi N, Noda M, Sakai H, 1980. Simple mass-rearing method of the grass leaf roller, *Cnaphalocrocis medinalis* Guenée, on young rice seedlings. *Jpn. J. Appl. Ent. Zool.*, 24(3):194–196.
- Khan ZR, 1987. Artificial diet for rearing rice leaffolder. *International Rice Research Newsletter*, 12(6):30–31.
- Ohmura H, Tsuda K, Kamiwada H, Kusigemati K, 2000. Rearing of rice leaffolder, *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) (Lepidoptera: Pyralidae), on artificial diets. *Jpn. J. Appl. Ent. Zool.*, 44(2):119–123.
- Park HH, Park CG, Park HM, Uhm KB, 2006. Rearing system for rice leaffolder, *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera: Crambidae) using corn seedlings. *Korean J. Appl. Entomol.*, 45(1):91–95.
- Shono Y, Hirano M, 1989. Improved mass-rearing of the rice leaffolder, *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) (Lepidoptera: Pyralidae) using corn seedlings. *Appl. Ent. Zool.*, 24(3):258–263.
- Tsuda K, Ohmura H, Sakamaki Y, Kamiwada H, Kusigemati K, 2005. Mass rearing of the rice leaffolder,

- Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) (Lepidoptera: Pyralidae), on an artificial diet. *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.*, 49(4):215–221.
- Zheng X, Ren X, Su J, 2011. Insecticide susceptibility of *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera: Pyralidae) in China. *J. Econ. Entomol.*, 104(2):653–658.
- 但建国, 陈常铭, 1990. 食料条件对稻纵卷叶螟生长发育和繁殖的影响. *植物保护学报*, 17(8):194–199.
- 高中文, 陶岭梅, 苏建亚, 高聪芬, 畅红, 周立邦, 沈晋良, 刘学, 杨峻, 2008. 防治稻纵卷叶螟高毒农药替代药剂的室内筛选. *中国水稻科学*, 22(6):631–636.
- 顾海南, 张孝羲, 1987. 自然条件下稻纵卷叶螟的繁殖特性. *南京农业大学学报*, (4):37–41.
- 郭文卿, 杨亚军, 徐红星, 郑许松, 吕仲贤, 2012. 稻纵卷叶螟幼虫对不同含糖人工饲料的取食选择行为. *浙江农业学报*, 24(6):1069–1073.
- 柯名娟, 徐博, 李广宏, 王方海, 2011. 稻纵卷叶螟人工饲料的研究. *中山大学学报(自然科学版)*, 50(5):100–103.
- 雷妍圆, 2007. 稻纵卷叶螟及二化螟人工饲养技术的研究. 硕士学位论文. 南宁:广西大学.
- 李传明, 徐健, 杨亚军, 祁建杭, 郑许松, 王艳, 刘琴, 吕仲贤, 2011. 人工饲料饲养稻纵卷叶螟的生长发育与繁殖. *中国水稻科学*, 25(3):321–325.
- 廖怀建, 黄建荣, 刘向东, 2012. 利用玉米苗饲养稻纵卷叶螟的方法. *应用昆虫学报*, 49(4):1078–1082.
- 林秀秀, 金道超, 陈祥盛, 2012. 稻纵卷叶螟抗药性研究进展. *湖北农业科学*, 51(3):437–440.
- 刘宇, 王建强, 冯晓东, 蒋学辉, 2008. 2007 年全国稻纵卷叶螟发生实况分析与 2008 年发生趋势预测. *中国植保导刊*, 28(7):33–35.
- 莫美华, 庞雄飞, 2007. 二次正交旋转回归设计在小菜蛾饲料配方筛选中的应用. *生态学报*, 27(7):2935–2941.
- 全国稻纵卷叶螟研究协作组, 1981. 我国稻纵卷叶螟迁飞规律研究进展. *中国农业科学*, (5):1–8.
- 唐启义, 冯光明, 1997. 实用统计分析及其计算机处理平台. 北京:中国农业出版社. 77–91.
- 王凤英, 胡高, 陈晓, 沈慧梅, 罗善煜, 辛德育, 徐盛刚, 张孝羲, 翟保平, 2009. 近年来广西南宁稻纵卷叶螟大发生原因分析. *中国水稻科学*, 23(5):537–545.
- 吴进才, 1985. 光照, 温度及食物的变化对稻纵卷叶螟迁飞的效应. *昆虫学报*, 28(4):398–405.
- 许璐, 王芳, 吴进才, 王亓翔, 2007. 稻纵卷叶螟 *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) 在不同水稻品种上的半自然种群生命表参数及对植株含糖量的影响. *生态学报*, 27(11):4547–4554.
- 张润杰, 古德祥, 1989. 以温度为基础的稻纵卷叶螟发育模拟模型. *中山大学学报(自然科学)*, (8):15–24.