

害虫的饲养与操作技术专题

棉铃虫饲养技术与流程*

秦启联**

(农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室, 中国科学院动物研究所, 北京 100101)

摘 要 本文介绍了一套简便、实用的棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 常规人工饲养技术及饲养流程。1~3 龄幼虫用养虫罐群体饲养, 4 龄至化蛹用 24 孔养虫盒单头饲养。成虫饲喂 10% 蜂蜜水, 在成虫产卵笼中把卵产在脱脂纱布上。饲养过程中应重点关注成虫所处空间的湿度、卵和蛹表面的消毒, 以及饲养器具和材料的消毒和灭菌、饲养环境光周期等技术要点。本文还对人工饲养过程中的一些关键问题进行了讨论。

关键词 棉铃虫, 人工饲养, 技术流程

Rearing the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* in the laboratory

QIN Qi-Lian**

(State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101)

Abstract A simplified and practical method of rearing the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* under laboratory conditions is introduced. Neonate to 3rd instar larvae were collectively reared in a specially-designed plastic jug and higher instars were individually maintained in a 24-grid plastic box in which they were allowed to pupate. Several technical issues that influenced the efficiency of the rearing were identified. These were; relative humidity (RH), which affects both copulation and oviposition, the surface disinfection of the eggs and pupae, sterilization or disinfection of all apparatus and materials used in rearing, and photoperiod. Problems encountered during the rearing process are discussed.

Key words *Helicoverpa armigera*, artificial rearing, workflow

棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 是重大的农业害虫, 大量的研究工作离不开棉铃虫的人工饲养。笔者在前人大量研究工作的基础上 (Vanderzant *et al.*, 1968; 吴坤君, 1985; 杨益众等, 1997; 范贤林等, 1998; 范贤林等, 2003), 结合多年昆虫规模化养殖研发的实践和体会, 总结出一套简便、实用的棉铃虫饲养技术流程, 介绍给读者。

1 饲养器具

棉铃虫饲养器具主要分为成虫产卵笼、养虫

罐和 24 孔养虫盒 3 种 (图 1)。

成虫产卵笼采用养虫室常用罩笼, 可以根据实验室的具体情况确定, 没有特殊的设计要求。我们实验室使用的成虫产卵笼大小为 25 cm×25 cm×25 cm, 用窗纱缝制, 其中一面安装拉链, 便于拆卸、清洗, 一面的中部缝制棉布套管 (12 cm), 便于喂食、取卵等操作 (图 1 : A)。

养虫罐是用 PVC 压制的塑料罐, 大小为 10 cm, 高 7.5 cm, 加盖配套的罐盖, 可以高压灭菌, 重复使用。养虫罐用于饲养低龄幼虫, 是获得外观设计专利的产品 (秦启联等, 2004a) (图

* 资助项目 Supported projects: 国家高技术研究发展计划 (863) 课题 (2011AA10A204)

**通讯作者 Corresponding author, E-mail: qinql@ioz.ac.cn

收稿日期 Received: 2014-12-07, 接受日期 Accepted: 2014-12-20

1 : B)。24 孔养虫盒也是 PVC 压制成型, 养虫盒外部大小为 12.5 cm×8.5 cm×2.5 cm, 内部有 24 个 2 cm×2 cm×2.5 cm 的小格, 加盖配套的盒盖 (秦启联等, 2004b) (图 1 : C), 每格饲养 1 头棉铃虫高龄幼虫直至化蛹。

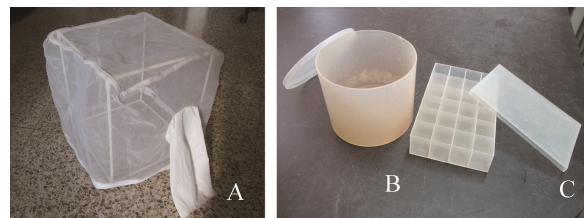


图 1 成虫产卵笼 (A), 养虫罐 (B), 24 孔养虫盒 (C)
Fig. 1 The cage for *Helicoverpa armigera* oviposition (A) the jug for culture of the larvae (B) and the 24-gridded box for culture of larvae (C)

2 人工饲料及其配制方法

昆虫人工饲养的核心技术之一是人工饲料的配方及其配制方法。用营养全面、适口性好的人工饲料饲喂昆虫, 可以获得健康、发育速度快、整齐度高的群体, 对科学实验和生物测定等科研活动非常重要, 同时也是以规模化昆虫养殖为主体的杆状病毒生物农药产业化生产的基础。

2.1 人工饲料配方

Wu 和 Gong (1997) 报道了一种以麦胚粉和番茄酱为主的棉铃虫人工饲料, 可以获得较好的饲养效果 (表 1)。

2.2 人工饲料配制方法

根据表 1 的配方, 将 11.0 g 琼脂放入 750 mL 蒸馏水 (也可是自来水) 中, 微波炉加热至沸腾, 使琼脂全部溶解。按照表 1 成分的重量, 将麦胚粉、番茄酱、酵母粉、对羟基苯甲酸甲酯、山梨酸一次性加入琼脂热水溶液中, 充分搅匀。随后加入 2.6 g 抗坏血酸和 1.0 mL 亚油酸, 搅匀, 趁热倒入 1 000 mL 保鲜盒, 冷却后放入冰箱冷藏室备用。

3 饲养方法和流程

3.1 饲养条件

在棉铃虫饲养量不大的情况下 (成虫低于 500 头/批次), 各个虫态的棉铃虫可以在相同饲养条件下饲养, 即温度 26℃, 相对湿度不低于 70%, 光周期 L : D=14 : 10。如果饲养量很大, 建议成虫和幼虫分开饲养, 同时提高成虫室相对湿度 (70%~90%), 降低幼虫室湿度 (40%~70%),

表 1 棉铃虫人工饲料配方 (Wu and Gong, 1997)
Table 1 Composition of the proposed diet for *Helicoverpa armigera* (Wu and Gong, 1997)

成分 Ingredient	重量 (g) Weight (g)	成分 Ingredient	重量 (g) Weight (g)
麦胚粉 Wheat germ	94.0	山梨酸 Sorbic acid	0.8
番茄酱 Canned tomato paste	45.0	抗坏血酸 Ascorbic acid	2.6
酵母粉 Yeast	35.0	琼脂 Agar	11.0
对羟基苯甲酸甲酯 Methyl parahydrobenzoate	1.6	亚油酸 Linoleic acid	1.0 (mL)
蒸馏水 Distilled water	750 (mL)		

温度和光周期不变。

3.2 成虫饲养

棉铃虫化蛹 2 d, 蛹体壁充分硬化后, 用平头镊将蛹从 24 孔养虫盒中取出 (见本文 3.6), 用 4% 甲醛溶液 (10% 福尔马林溶液) 浸泡 30 min, 进行体表消毒。消毒后的棉铃虫蛹用自来水冲洗干净, 室温晾干。然后放入 26℃, 70% 相对湿度, 光周期 L:D=14:10 的养虫室 (或光照培养箱)。待蛹头胸部变黑将要羽化时 (26℃ 下, 约化蛹后第 5 天), 放入成虫产卵笼, 每笼 100~500 头, 置于同样条件下。

成虫羽化后, 在产卵笼中放入加了浸透 10% 蜂蜜水纸巾 (或脱脂棉) 的塑料培养皿 (10 cm), 供成虫取食, 并及时更换蜂蜜水纸巾, 保证蜂蜜水充足、新鲜。

3.3 卵的收集

在本文描述的饲养条件下, 棉铃虫成虫产卵

前期 3 d。羽化第 3 天的黄昏, 在产卵笼内挂入灭菌的脱脂纱布, 纱布的大小根据笼内成虫数量和产卵量灵活调整。上午收集产卵的纱布, 用 4% 甲醛溶液浸泡 30 min 卵表消毒, 自来水漂洗干净, 在通风干燥处晾干, 放入塑料自封袋中, 封上袋口, 放在上述饲养条件下。

3.4 低龄幼虫的饲养

根据棉铃虫幼虫取食特点, 以及高龄幼虫自残、老熟幼虫化蛹的习性, 将整个幼虫饲养过程分为低龄幼虫 (1~3 龄) 和高龄幼虫 (4 龄至化蛹) 两个饲养阶段。

低龄幼虫用洗净高压灭菌的养虫罐 (图 1: B) 饲养。自封袋中的棉铃虫卵约 3 d 孵化, 待大部分虫卵孵化后 (始见孵化后约 6 h), 打开袋口, 将自封袋中和纱布上的初孵幼虫直接抖入养虫罐中 (图 2: A)。养虫罐预先放入 50 g 切成 0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm 的饲料碎块, 根据经验和

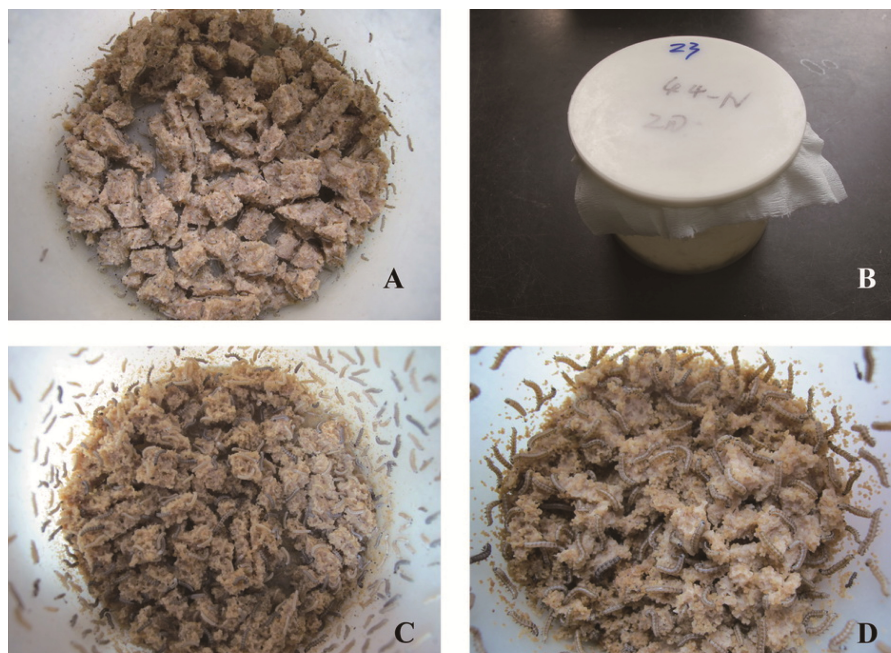


图 2 用养虫罐饲养棉铃虫低龄幼虫

Fig. 2 Lower instar larvae of *Helicoverpa armigera* reared in the plastic jugs

A. 养虫罐中的 1 龄幼虫; B. 加盖后的养虫罐; C. 养虫罐中的 2 龄幼虫; D. 养虫罐中的 3 龄末期幼虫, 此时需要分装进 24 孔养虫盒中继续饲养。

A. First instar larvae; B. The plastic jug with its cover; C. Second instar larvae; D. Later 3rd instar larvae (pharate 4th instar), larvae in this stage should be individually reared in the 24-gridded box.

目测估计,每罐需放入初孵幼虫 100~200 头。罐口加上一层灭菌的纸巾,盖上罐盖(图 2:B)。

3.5 高龄幼虫的饲养

养虫罐中的棉铃虫长到 3 龄末期时(孵化后约 6 d),需要分装到 24 孔养虫盒中,单头分开饲养。分装前,将人工饲料切成 4 g 左右的小块,大小以便于放入养虫盒小格中为宜。然后将 3 龄末期的幼虫挑入养虫盒,每小格 1 头(图 3:A),每盒饲养 24 头。盖上盒盖,同样条件下饲养。

3 龄末期的棉铃虫处于皮层溶离期(Apolysis),已经停止取食,大部分幼虫离开饲料,在养虫罐内壁静伏,等待蜕皮。此时虫体大小合适,便于挑选整齐度高的群体。分装后 5 d 左右,幼虫进入 5 龄老熟阶段,在残余饲料和粪便中制作蛹室,准备化蛹(图 3:C)。

3.6 蛹的收集

一般在棉铃虫幼虫全部化蛹后的第 2 天,打

开养虫盒盖,用平头镊拨开蛹室,取出虫蛹。最后统一用 4%甲醛溶液消毒、自来水清洗后,用于羽化产卵,完成整个饲养流程。

3.7 常规生物测定虫龄的选择

实验室人工饲养棉铃虫除了特定的科学实验和研究外,大量是用来进行生物测定。因而获得大量便于处理的,特别是生理状态一致的试虫,对生物测定的顺利进行、获得可靠的数据、减小试验误差、提供参照性强的试验结果非常重要。除了有具体的测定要求外,笔者根据多年的经验积累,认为有两个虫态非常适合常规的生物测定试验。(1)初孵幼虫。初孵的幼虫还没开始取食,生理状态一致,没有饲养过程,获取容易。缺点是虫体过小,不方便处理,处理过程中虫体受损后不易发觉。(2)2 龄末期幼虫。本饲养方法中,棉铃虫幼虫达到 2 龄末期时(处于皮层溶离期,即 2 龄旧表皮与其下的真皮层出现一定程



图 3 高龄棉铃虫幼虫在 24 孔养虫盒中饲养直至化蛹

Fig. 3 Fourth and 5th instars larvae reared in the 24-gridded box, in which the larvae pupate

A. 分装进养虫盒后 1 d, 4 龄幼虫; B. 分装后 3 d, 5 龄幼虫; C. 分装后 5 d, 5 龄老熟预蛹幼虫; D. 分装后 8 d, 幼虫在蛹室中化蛹, 图中见到的蛹是蛹室建造不完整的个体, 其它个体在蛹室内, 不可见。

A. Fourth instar larvae, 1 day after putting them into the box; B. Fifth instar larvae that have settled down in the box for 3 days; C. Fifth instar prepupal larvae that had settled down in the box for 5 days; D. The larvae pupate in their pupa cells, 8 days after putting them into the box.

度的分离, 3 龄新表皮正在形成, 处于等待蜕皮进入新龄期的时期), 处于禁食状态, 大部分爬到养虫罐内壁等待蜕皮。此时还没有单头分装到 24 看孔养虫盒, 每罐中有 100~200 头生理状态非常接近的、离开饲料的幼虫, 容易辨认和挑选, 而且旧表皮相对比较结实, 处理时不易被碰破, 是常规生物测定理想的虫态。

4 注意事项和要求

4.1 养虫器具的灭菌

长期饲养棉铃虫, 难免会有各种病原物的污染, 特别是棉铃虫核型多角体病毒 (*Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus, HaNPV), 对棉铃虫的人工饲养会造成非常严重的不良后果。因而在可能的情况下, 所有接触虫体的器具和材料都要进行高压灭菌。本文介绍的养虫罐和 24 孔养虫盒在使用前, 都要清洗干净后经过常规高压灭菌 (121°C , 20~25min)。成虫产卵笼因材质原因不能高压灭菌时, 可以用 5% 的次氯酸钠溶液浸泡 2 h 以上, 清洗晾干后使用。

4.2 蛹和卵的消毒

在棉铃虫的 4 个虫态中, 蛹和卵是适合消毒的 2 个虫态。用 4% 甲醛溶液浸泡 30 min, 即可达到灭活核型多角体病毒和其它多种病原物的目的, 对虫体的活性也不会产生不利影响, 非常适合实验室对昆虫活体进行消毒处理。

4.3 成虫补充营养

棉铃虫属夜蛾科昆虫, 产卵前必须补充花蜜等营养物质, 有明显的产卵前期, 取食对产卵量和寿命非常重要 (侯茂林和盛承发, 2000)。成虫羽化后, 要及时提供 10%~15% 的蜂蜜水, 特别是在夜间, 蜂蜜水要供应充足, 保证其取食充分。

4.4 低龄幼虫饲养密度

本文介绍的棉铃虫饲养技术中, 养虫罐内的低龄幼虫密度不宜过低。人工饲料的防腐和保鲜主要靠饲料中添加的防腐剂和抗氧化剂。低龄幼虫取食量小, 在维持一定群体密度的情况下, 保

证饲料块外表层能够被及时取食, 有效缩短了其暴露在空气中的时间, 避免了幼虫取食到因暴露空气而表面氧化的不新鲜饲料, 一定程度上提高了饲料的适口性, 减少了不同个体因取食新鲜程度不同饲料的差异性, 提高了群体的整齐度。

4.5 成虫产卵的湿度

成虫产卵需要较高的湿度, 相对湿度一般要在 70% 以上。因此成虫产卵笼应放置在湿度较高的空间。如果湿度不够, 每天黄昏时应向笼内喷水或在笼外覆盖湿毛巾, 毛巾的下端浸在水中, 提高局部空间湿度。

4.6 野外虫种的驯化

在有些情况下, 需要从野外采集棉铃虫用于实验。因野外或田间环境复杂, 采回的虫种有可能携带棉铃虫病原物, 因此不能直接放入常规养虫室或培养箱同其它实验室种群混养, 必须要在其它地方隔离饲养至少 2 代以上, 没有发现问题后才能引入养虫室, 成为实验室种群。

5 讨论

本文主要为读者提供一套实用化的棉铃虫饲养技术, 为科研工作提供实验材料, 对其中的原理不做过多的阐述。从饲养效果上, 本文做以下经验性的讨论, 便于读者理解本饲养方法中的几个关键技术节点, 提高读者对昆虫饲养的感性认识。

5.1 幼虫饲养空间

用于低龄幼虫饲养的养虫罐 (图 1:B) 具有合适的空间 (10 cm, 高 7.5 cm), 处于皮层溶离期的幼虫可以及时离开饲料, 到养虫罐内壁比较干燥处度过生理上较为危险的蜕皮期, 既可以安静地完成蜕皮过程, 又避免了其它虫体的干扰和撕咬, 所获个体状态均一、健壮。低龄幼虫生长需要较高的湿度, 在养虫罐和罐盖之间加盖一层纸巾, 既可以防逃, 更重要的是在保证一定通气量的同时, 将罐内和罐外空间隔离, 使罐内保持较高的湿度 (相对湿度大于 80%), 较少受外部湿

度的影响, 营造出适宜低龄幼虫生长的环境。实际上, 养虫罐外的相对湿度较小(低于 70%), 罐内可以达到比较理想的湿度, 有利于幼虫的生长。

24 孔养虫盒中的小格设计成 2 cm×2 cm×2.5 cm 的小方格, 最大限度满足高龄幼虫的生长和化蛹所需要的空间, 同时又能有效节约空间, 便于操作和棉铃虫大规模饲养。在 24 孔养虫盒中, 棉铃虫的化蛹率一般都在 80%以上。

5.2 虫种退化问题

普遍认为, 室内长期饲养棉铃虫会出现虫种退化的现象, 笔者认为, 虫种是否会退化的问题还有待商榷。交流发现, 一些实验室长期饲养的棉铃虫出现种群衰退, 甚至出现饲养难以为继的现象, 大多同操作不慎而引入棉铃虫病原物有关, 特别是专性寄生物微孢子 *Nosema* sp., 能够垂直传播, 在种群中逐代积累, 不断弱化种群, 对实验室人工饲养昆虫危害甚大。如果在虫体中发现微孢子, 应立即丢弃现有种群, 养虫空间和器具彻底消毒后, 引入新的种群。笔者经过长期的实践, 在具有一定初始种群规模(大于 100 头)的情况下, 还没有发现种群明显衰退的现象。

5.3 光周期

棉铃虫属夜蛾, 同时又是短光周期滞育昆虫, 因此明显的长光周期节律是必须的。在 26℃ 下, 幼虫需要保持 L:D=14:10 光周期, 或每日长于 14 h 的光照时长, 否则部分蛹会进入滞育, 不能羽化。成虫交配、产卵等生命活动多在黄昏和夜晚进行, 光、暗期明显的昼夜节律有利于成虫在暗期集中产卵, 提高群体的整齐度。如果需要成虫 24 h 均匀产卵, 可以将成虫放在全暗的环境下, 理论上可以得到单位时间落卵量相对恒定的结果。

5.4 对昆虫人工饲养的思考

众所周知, 昆虫是种类最多、适应性最强、多样性最广的动物类群, 人工饲养昆虫时应充分考虑到其对环境适应的可塑性。笔者认为, 实验室用人工饲料成功饲养一种昆虫, 有以下几点可以重点考虑:(1) 饲料要营养全面, 可以满足所

饲养昆虫的全部生长发育的需求;(2) 饲料要能诱使昆虫取食, 即应含有刺激昆虫趋向并取食的化学信号;(3) 温湿度要在昆虫天然生境的幅度范围内;(4) 昆虫生长空间及其产生的微环境要符合昆虫的生活习性;(5) 光照和光周期可能对成虫交配、产卵等活动非常重要。因为篇幅的关系, 本文就以上观点不做展开阐述。

参考文献 (References)

- Fan XL, Lu MG, Meng XQ, Rui CH, 2003. An improved rearing technique for *Helicoverpa armigera*. *Entomological Knowledge*, 40(1): 85–87. [范贤林, 卢美光, 孟香清, 芮昌辉, 2003. 棉铃虫室内饲养技术的改进. *昆虫知识*, 40(1): 85–87.]
- Fan XL, Rui LJ, Wei C, 1998. A new type gridding box for rearing of *Helicoverpa armigera* and its application. *Plant Protection*, 24(4): 41–42. [范贤林, 茹李军, 魏岑, 1998. 一种新型棉铃虫饲养盒的设计与应用. *植物保护*, 24(4): 41–42.]
- Hou ML, Sheng CF, 2000. Effects of adult feeding on reproduction of the cotton bollworm female moth. *Acta Ecologica Sinica*, 20(4): 601–605. [侯茂林, 盛承发, 2000. 成虫取食对棉铃虫雌蛾繁殖的影响. *生态学报*, 20(4): 601–605.]
- Qin QL, Miao L, Li X, Cheng QQ, Ding Cui, 2004a. A jug for insect rearing. Design Patent of the People's Republic of China. ZL200430000811.9. [秦启联, 苗麟, 李瑄, 程清泉, 丁翠, 2004a. 养虫罐. 中华人民共和国外观设计专利, ZL200430000811.9.]
- Qin QL, Li X, Miao L, Cheng QQ, Ding C, 2004b. A box for insect rearing. Design Patent of the People's Republic of China. ZL200430000812.3. [秦启联, 李瑄, 苗麟, 程清泉, 丁翠, 2004b. 养虫盘. 中华人民共和国外观设计专利, ZL200430000812.3.]
- Vanderzant ES, 1968. Development, signification, and application of artificial diets for insects. *Annual Review of Entomology*, 61: 120–125.
- Wu KJ, 1985. A lucerne-wheat germ diet for rearing the cotton bollworm, *Heliothis armigera* (Hübner). *Acta Entomologica Sinica*, 28(1): 22–29. [吴坤君, 1985. 棉铃虫的紫云英-麦胚人工饲料. *昆虫学报*, 28(1): 22–29.]
- Wu KJ, Gong PY, 1997. A new and practical artificial diet for the cotton bollworm. *Entomologia Sinica*, 4(3): 277–282.
- Yang YZ, Dai ZY, Huang DL, Wang CA, Wang QL, 1997. Empirical experiences in *Helicoverpa armigera* rearing. *Entomological Knowledge*, 34(6): 351–352. [杨益众, 戴志一, 黄东林, 王春安, 王庆林, 1997. 棉铃虫饲养中的几点经验体会. *昆虫知识*, 34(6): 351–352.]