

文章编号:1001-1498(2016)04-0571-05

# 联系性学习对金斑蝶觅食行为影响

王 华, 李承哲, 陈晓鸣\*, 姚 俊, 周成理, 石 雷

(中国林业科学研究院资源昆虫研究所, 国家林业局资源昆虫培育与利用重点实验室, 云南 昆明 650224)

**摘要:** [目的] 为明确金斑蝶的学习能力, 为营造野外蝴蝶飞舞景观提供科学依据和技术支撑。 [方法] 采用蜂蜜水加  $\alpha$ -蒎烯标志物和单纯蜂蜜水 2 组实验, 分别对金斑蝶蛹期和成虫期进行联系性学习训练。 [结果] 蛹期接触  $\alpha$ -蒎烯, 羽化后的成虫在选择 2 组物质时, 对加有  $\alpha$ -蒎烯蜂蜜水的选择率高于单纯的蜂蜜水, 分别为 66.67% 和 33.33%; 成虫通过学习训练 1~6 天后, 对加有  $\alpha$ -蒎烯蜂蜜水的选择率同样高于单纯的蜂蜜水, 分别为 80% 和 20%, 并且随着学习天数的增加, 对加有  $\alpha$ -蒎烯蜂蜜水的选择率越高。 [结论] 通过学习训练后, 金斑蝶蛹和成虫均具有较强的学习能力, 并且学习时间越长, 记忆越深刻; 通过学习训练后的金斑蝶成虫在初次和以后多次对加有  $\alpha$ -蒎烯蜂蜜水的选择没有显著区别, 可能与金斑蝶的饥饿状况相关。

**关键词:** 金斑蝶; 学习行为; 觅食选择

中图分类号: S899

文献标识码: A

## The Associative Learning Effect on Foraging Behavior of the Butterfly *Danaus chrysippus*

WANG Hua, LI Cheng-zhe, CHEN Xiao-ming, YAO Jun, ZHOU Cheng-li, SHI Lei

(Research Institute of Resources Insects, Chinese Academy of Forestry, Key Laboratory of Breeding and Utilization of Resource Insect, State Forestry Administration, Kunming 650224, Yunnan, China)

**Abstract:** [Objective] To determine the learning ability of *Danaus chrysippus* (Linnaeus, 1758), [Method] Two kinds of solutions were used to study the associative learning in pupal and adult stage. One is the solution of  $\alpha$ -pinene mixed with honey, the other is pure honey solution. [Result] The adults, treated with  $\alpha$ -pinene solution in the pupal stage, showed higher selection ratio (66.67%) on mixture solution than pure honey solution (33.33%); By learning from 1 to 6 days, the adults exhibited the same behavior that they prefer mixed solution to the pure honey solution, the selection rate were 80% and 20% respectively. It is found that the longer the duration of learning, the higher the selection rate of mixed solution. [Conclusion] The pupa and adult of *D. chrysippus* gained stronger learning ability after training, and the longer the butterfly learns, the more profound memory it will gain; Yet, there was no significant difference in adult selection of mixture solution between the first and the following times, which might be related to whether the *D. chrysippus* was hungry.

**Keywords:** *Danaus chrysippus*; learning behavior; forage selection

大多数昆虫在觅食过程中都会涉及到学习行为<sup>[1-2]</sup>, 学习行为会使昆虫在应对空间和时间上的蜜源植物格局变化时, 做出更加灵活的反应<sup>[3]</sup>。联

系性学习是昆虫中比较常见的一种学习类型, 这种学习类型在寄生蜂搜寻寄主时尤为常见, 在许多蝴蝶中也得到证实<sup>[3-5]</sup>。蝴蝶为了更有效率的进行觅

收稿日期: 2016-03-21

基金项目: 林业公益性行业科研专项项目, “开放式蝴蝶景观构建关键技术研究及应用”(201504305)

作者简介: 王 华(1991—), 女, 云南大理人, 硕士研究生, 主要研究方向: 蝴蝶行为学。

\* 通讯作者: 陈晓鸣, 研究员, 博士生导师。

食,必须具备识别有蜜花的学习能力,花的信号(如颜色和气味)通常会促进蝴蝶的这种识别和学习过程<sup>[6-7]</sup>,当花的信号与食物奖励结合后,天性偏好很容易发生转变<sup>[8-9]</sup>,如燕尾蝶(*Battus philenor* Linnaeus)和荨麻蛱蝶(*Aglais urticae* Linnaeus)均具备这种特性<sup>[3-4]</sup>。也有研究表明很多昆虫在蛹期就具有气味学习能力,如蚜茧蜂(*Aphidius rhopalosiphii* De Stefani-Perez)在蛹发育后期对外界植物挥发物的变化十分敏感,并且在羽化后会对成虫的行为选择产生影响<sup>[7]</sup>。

金斑蝶(*Danaus chrysippus* Linnaeus)隶属于鳞翅目(Lepidoptera)斑蝶科(Danaidae)斑蝶属(*Danaus*),主要分布于中国、欧洲南部、非洲、亚洲西部、南亚,东南亚至澳大利亚一带<sup>[10]</sup>。成虫以橙黄色为底色,翅末端有黑色及白色斑纹,颜色十分鲜艳,是供给蝴蝶生态园的主要品种之一,也是营造园内蝴蝶飞舞景观的重要角色。目前对金斑蝶的研究主要集中在多态性<sup>[11]</sup>、生物学特性<sup>[12]</sup>、性信息素<sup>[13]</sup>、强心甘<sup>[14]</sup>、蜜源与寄主植物挥发物等方面<sup>[15]</sup>,也有国内学者研究了不同气味和不同颜色对金斑蝶的引诱作用<sup>[16]</sup>,但有关金斑蝶对花香气味的学习行为鲜见报道。张雯雯研究发现,金斑蝶蜜源植物和寄主植物中同时含有的挥发物 $\alpha$ -萜烯对金斑蝶的引诱效果较好<sup>[15]</sup>,在前人的研究基础上,本文选择 $\alpha$ -萜烯作为金斑蝶的学习物质,基于联系性学习行为机制,研究了金斑蝶蛹期以及成虫期的学习效果,旨在弄清金斑蝶蛹期和成虫期的学习能力,通过对金斑蝶学习能力的研究,为营造野外蝴蝶飞舞景观提供科学依据和技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试昆虫

金斑蝶(*Danaus chrysippus* Linnaeus),来自云南省元江县人工饲养种群,幼虫用牛角瓜(*Calotropis gigantean* Linnaeus)饲喂,饲养条件为L:D=13:11,温度 $26 \pm 2^\circ\text{C}$ ,湿度50%~70%,羽化后的成虫转移到中国林业科学研究院资源昆虫研究所的人工气候室内饲养。

### 1.2 实验方法

1.2.1 蛹期学习训练 蛹期学习训练试验在人工气候室的干燥器内进行,室内条件为L:D=14:10,温度 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ ,湿度50%~70%。首先把棉球浸在1% $\alpha$ -萜烯水悬液中,然后将棉球拿出并放置在干燥

器底部,中间隔板的滤纸上放蛹,设置未用 $\alpha$ -萜烯进行学习训练的金斑蝶蛹作为对照。数量为80只(不分雌雄),每天学习2次,每次2h。蛹羽化后,均饥饿1天,第二天进行行为测试。

1.2.2 蛹期行为测试 蛹期行为测试试验在中国林业科学研究院资源昆虫研究所人工气候室内进行,人工气候室光照L:D=14:10,温度 $30^\circ\text{C}$ ,湿度50%~70%,网笼内悬挂2块大小相同的红布(45cm $\times$ 40cm),一块红布喷10mL5% $\alpha$ -萜烯和10%蜂蜜的混合溶液,另一块只喷10mL10%蜂蜜水作为对照。放飞雌雄蝴蝶数量为15只,记录金斑蝶对两个处理的访问次数。为排除位置对其影响,1次调查后,调换左右两块红布的位置,再调查1次。

1.2.3 成虫期学习训练 试验在人工气候室进行,金斑蝶蛹的羽化条件为L:D=14:10,温度 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ ,湿度50%~70%,数量为200只,不分雌雄。进行学习训练试验时,将羽化后的成虫转移至另一个房间,光照L:D=14:10,温度 $27 \pm 2^\circ\text{C}$ ,湿度50%~70%,成虫数量为60只(雌雄均有),喷洒0.5% $\alpha$ -萜烯+蜂蜜水的混合溶液,供其取食,每天训练3次,早(08:00)、中(12:00)、晚(18:00)各1次,分别训练1~6天,开始行为测试前使蝴蝶饥饿1天。

1.2.4 成虫期行为测试 测试试验在中国林业科学研究院资源昆虫研究所温室大棚(6m $\times$ 4m $\times$ 4m)内进行,网室透光良好,光照均匀。在网室内平行悬挂12条假花藤(每条花藤9朵花),花藤底部距离地面40cm,相邻花藤间距为50cm,两条为1组,分别命名为组1~6,在组1、3和5的花藤上先喷洒9mL(每朵花1mL)10%蜂蜜水,再喷施9mL(每朵花1mL)5%的 $\alpha$ -萜烯,在组2、4和6的花藤上喷洒18mL(每朵花2mL)10%蜂蜜水作为对照。在气温适于金斑蝶活动时放飞,由于金斑蝶在饲养过程中,会出现少量的死亡现象,因此每次放飞成虫的数量都有所不同,范围在15~60只(不分雌雄),记录金斑蝶在3个时间段(开始时、开始后5min、开始后10min)对不同处理的访花次数。金斑蝶访花行为判断标准:金斑蝶着落在假花上,并伸出喙管取食,记为1次访花。为排除位置对其影响,1次调查后,调换花藤位置,再调查。

### 1.3 数据分析和处理

采用SPSS17.0统计分析软件对数据进行独立样本T检验,比较不同处理间的差异。多个独立样本的比较采用单因素方差分析,当方差齐性时用

LSD 法进行多重比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 金斑蝶蛹期气味经历对成虫觅食选择的影响

金斑蝶在蛹期未经历气味学习,羽化后的成虫对  $\alpha$ -萹烯 + 蜂蜜水和蜂蜜水的选择差异不大,取食百分数分别为 55.56% 和 44.44%。蛹期经历气味学习后,对标志物的趋性增强,取食  $\alpha$ -萹烯 + 蜂蜜水的百分数上升为 66.67%,然而对蜂蜜水的选择百分数下降为 33.33% (图 1),说明金斑蝶成虫对蛹期气味经历具有一定的记忆能力,并且这种记忆能力会对羽化后成虫的觅食选择产生一定影响。

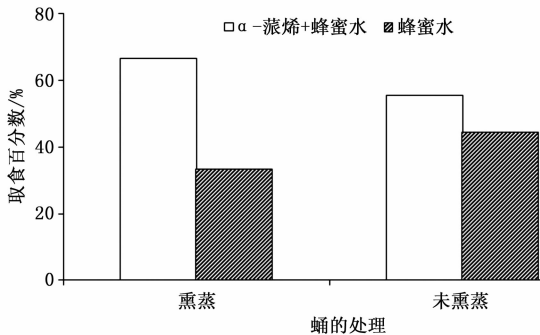


图 1 蛹期气味经历对成虫觅食选择的影响

### 2.2 金斑蝶成虫学习训练后对觅食选择的影响

金斑蝶成虫在 5 天学习期间,随着学习时间的增加,对  $\alpha$ -萹烯 + 蜂蜜水的取食百分率逐渐增加,然而对蜂蜜水的取食百分率却逐渐降低。取食  $\alpha$ -萹烯 + 蜂蜜水的平均百分数极显著高于蜂蜜水 ( $P < 0.01$ ),分别为 80% 和 20% (图 2)。金斑蝶成虫在不同学习时间后的学习效果不同。其中,学习 1 ~ 2 天后,金斑蝶成虫表现出一定的学习效果,取食  $\alpha$ -萹烯 + 蜂蜜水的百分数高于蜂蜜水,但学习 1 天和 2 天后,对标志物的选择比较区别不大,说明学习 1 ~ 2 天的成虫对标志物的记忆影响不大。学习 3 ~ 5 天后,成虫的学习效果好于 1 ~ 2 天,对标志物的选择明显增加,对蜂蜜水的选择明显减少,取食  $\alpha$ -萹烯 + 蜂蜜水的百分数明显高于蜂蜜水,但学习 3 天、4 天和 5 天后,对标志物的选择比较同样没有较大区别,说明学习 3 ~ 5 天成虫对标志物的记忆影响不大,但与学习 1 ~ 2 天相比,对标志物的记忆更加深刻,表现出更强的学习效果。学习 5 天后,已没有金斑蝶去取食蜂蜜水。说明金斑蝶成虫通过对标志物的学习后,对觅食的选择产生较大影响;学习时间越长,金斑蝶对标志物的记忆力越深刻,进而表

现出逐渐增强的学习效果。

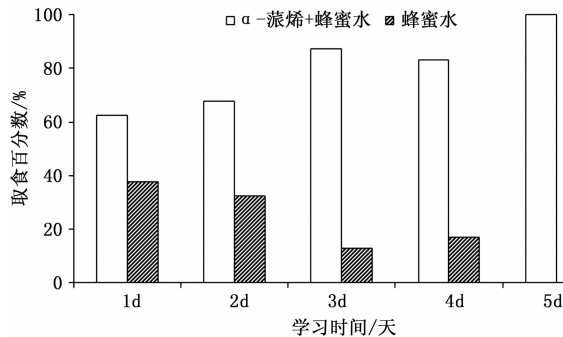
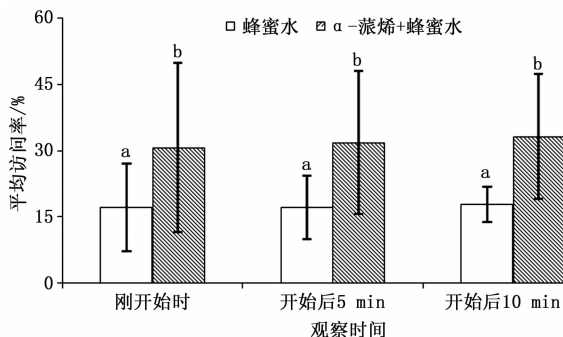


图 2 金斑蝶成虫学习后对觅食选择的影响

### 2.3 金斑蝶成虫学习后放飞在不同时间段对标志物的趋性

通过学习金斑蝶成虫,在不同时间段,对标志物的平均访问率均显著高于无标志物的蜂蜜水,说明学习对金斑蝶成虫觅食产生深刻的影响 (图 3)。



注:柱上不同字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

图 3 放飞后金斑蝶在不同时间对觅食的选择

金斑蝶成虫学习 1 ~ 6 天后,在 10 min 的不同时间内,对标志物的趋性均高于蜂蜜水,但学习不同时间后,对标志物的趋性与观察时间均无明显相关性。金斑蝶成虫学习 4 天时的效果最好,极显著高于其它学习时间 ( $P < 0.01$ ),4 天之后的学习效果下降,学习 5 ~ 6 天后的金斑蝶成虫对标志物的选择低于前 4 天,是因为羽化 5 天后的金斑蝶成虫进入交配期,访花次数减少 (图 4)。在 60 min 的不同时间内,对标志物的趋性都高于蜂蜜水,不同时间段对标志物的趋性没有显著区别,可能不同时间段的访花次数与金斑蝶的取食量和饥饿有关系 (图 5)。在观察 1 h 后,仍然有部分金斑蝶在假花上取食或围绕假花飞舞,并且大多数着落在喷施标志物的假花上,说明金斑蝶经历学习后,对标志物的记忆深刻,表现在对该气味的偏爱持续时间较长。

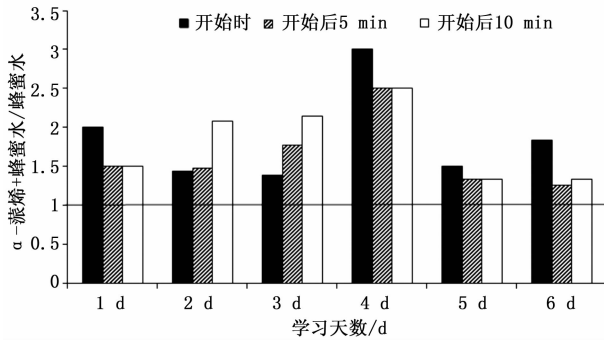


图4 学习不同时间金斑蝶放飞后对觅食的选择

注:图中横线是访问蜂蜜水的基准线,此线是为了说明金斑蝶对标志物+蜂蜜水的选择明显高于单纯蜂蜜水,下同。

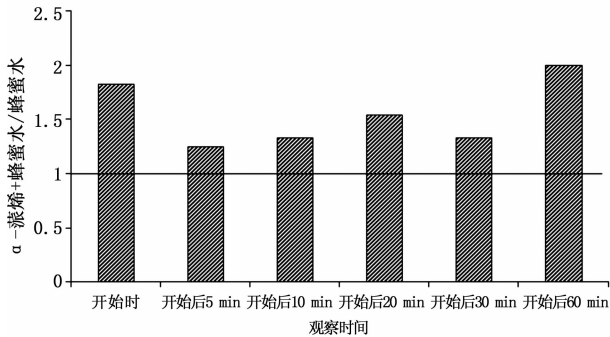


图5 金斑蝶成虫对标志物访问随观察时间的变化

### 3 结果与讨论

蝴蝶觅食时,蜜源植物的花香挥发物是指示蝴蝶访花的重要引诱物质,特定的花香挥发物会激发蝴蝶的感觉反应、定向和觅食行为<sup>[7,17]</sup>。蝴蝶羽化后的访花行为是经过长期进化形成,在生长发育过程中,自然界不断地给予蝴蝶刺激,环境中的信息会对蝴蝶的觅食行为产生一定影响,当所偏爱蜜源植物的花蜜不足时,能够转变喜好去取食其它蜜源植物<sup>[18]</sup>。为适应环境变化,蝴蝶必须具备准确定位蜜源的学习能力,而花香气味是蝴蝶学习联想花蜜的重要线索<sup>[19]</sup>,蝴蝶对不同蜜源奖励的敏感性,会影响对花香气味的反应方式,这种机制可以促使蝴蝶选择提供指示花蜜存在的嗅觉信号的显花植物<sup>[20]</sup>。对花香气味的联系性学习能力在访花蝴蝶中普遍存在<sup>[7,21]</sup>,金斑蝶同样具有这种特性,采用标志物对其进行学习训练,可以使金斑蝶野外放飞后,在觅食过程中选择有标志物的食物,形成彩蝶飞舞的景观。

本研究中,通过对金斑蝶蛹期和成虫期学习行为的研究,发现金斑蝶蛹期和成虫对气味经历具有一定的记忆能力,并且蛹期的记忆能力会对羽化后成

虫的觅食选择产生一定影响。金斑蝶成虫通过联系性学习后,对标志物的访问逐渐增多,对蜂蜜水的访问逐渐减少,说明金斑蝶成虫对标志物的记忆力会随着学习时间的增加而增强。金斑蝶学习1~2天对 $\alpha$ -蒎烯+蜂蜜水和蜂蜜水的访问率低于学习2天后的金斑蝶,这可能与金斑蝶在羽化后的前两天访花行为较少的生物学特征有关,学习5~6天的金斑蝶访花行为低于学习3~4天的金斑蝶,这可能是由于羽化5~6天的金斑蝶已经进入成虫交配期,更多的飞行是为了求偶和交配,处于求偶交配期的金斑蝶可能对性信息素的敏感性增强,同时伴随着对与觅食有关的化合物的敏感性降低。金斑蝶放飞后在不同时间段,对标志物的访问率均显著高于无标志物的蜂蜜水,但在不同时间段对标志物的访问与学习训练天数无明显相关性,这可能与金斑蝶的饥饿状况和取食欲望相关。学习不同天数后的金斑蝶,在多数情况下,初始时的访花数量最多,可能因为饥饿程度较高的金斑蝶在放飞时会立即取食,致使开始时的数量最多,而饥饿程度低的蝴蝶在放飞时不会立即取食,而是在网室内飞行或停息,几分钟后才会取食,从而造成金斑蝶学习2天和3天时,于放飞后10 min的访花数量最多。

### 4 结论

通过学习训练后,金斑蝶蛹和成虫均具有较强的学习能力。成虫对蛹期气味经历具有一定的记忆能力,并且这种记忆能力会对羽化后成虫的觅食选择产生一定影响。金斑蝶成虫通过对标志物的联系性学习后,对觅食的选择产生较大影响,学习时间越长,金斑蝶对标志物的记忆力越深刻,进而表现出逐渐增强的学习效果。通过学习训练后的金斑蝶成虫在初次和以后多次对加有 $\alpha$ -蒎烯蜂蜜水的选择没有显著区别,可能与金斑蝶的饥饿状况有关。

### 参考文献:

- [1] Papaj D R, Prokopy R J. Ecological and evolutionary aspects of learning in phytophagous insects[J]. Annual review of entomology, 1989, 34(1): 315-350.
- [2] 李月红, 刘树生. 植食性昆虫的学习行为[J]. 昆虫学报, 2004, 47(1): 106-116.
- [3] Weiss M R. Innate colour preferences and flexible colour learning in the *Pipitina swallowtail* [J]. Animal Behaviour, 1997, 53(5): 1043-1052.
- [4] Andersson S. Foraging responses in the butterflies *Inachis io*, *Aglaia urticae* (Nymphalidae), and *Gonepteryx rhamni* (Pieridae) to floral

- scents[J]. *Chemoecology*, 2003, 13(1): 1–11.
- [5] Honda K, Ômura H, Hayashi N. Identification of floral volatiles from *Ligustrum japonicum* that stimulate flower-visiting by cabbage butterfly, *Pieris rapae*[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1998, 24(12): 2167–2180.
- [6] Kandori I, Yamaki T, Okuyama S, *et al.* Interspecific and intersexual learning rate differences in four butterfly species[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2009, 212(23): 3810–3816.
- [7] Van Emden H F, Eletherianos I, Rose J, *et al.* Aphid parasitoids detect that an alien plant was present nearby during their development[J]. *Physiological entomology*, 2002, 27(3): 199–205.
- [8] Goulson D, Cory J S. Flower constancy and learning in foraging preferences of the green-veined white butterfly *Pieris napi*[J]. *Ecological Entomology*, 1993, 18(4): 315–320.
- [9] Weiss M R. Associative colour learning in a nymphalid butterfly[J]. *Ecological Entomology*, 1995, 20(3): 298–301.
- [10] 陈晓鸣,石 雷,周成理,等. 中国观赏蝴蝶[M]. 北京:中国林业出版社,2008: 107–107.
- [11] Gordon I J. Polymorphism of the tropical butterfly *Danaus chrysippus* (L.) in Africa[J]. *Heredity*, 1984, 53(3): 583–593.
- [12] 王文明. 中华虎凤蝶和金斑蝶在燕山地区的生物学特性研究[D]. 南昌:南昌大学, 2011, 27–47.
- [13] Boppré M, Petty R L, Schneider D, *et al.* Behaviorally mediated contacts between scent organs; Another prerequisite for pheromone production in *Danaus chrysippus* males (Lepidoptera)[J]. *Journal of comparative physiology*, 1978, 126(2): 97–103.
- [14] Brower L P, Edmunds M, Moffitt C M. Cardenolide content and palatability of a population of *Danaus chrysippus* butterflies from West Africa[J]. *Journal of Entomology Series A, General Entomology*, 1975, 49(2): 183–196.
- [15] 张雯雯. 蝴蝶蜜源及寄主植物挥发物成分的研究[D]. 北京:中国林业科学研究院, 2011, 60–60.
- [16] Tang Y C, Zhou C L, Chen X M, *et al.* Visual and olfactory responses of seven butterfly species during foraging[J]. *Journal of insect behavior*, 2013, 26(3): 387–401.
- [17] Raguso R A, Pichersky E. Floral volatiles from *Clarkia breweri* and *C. concinna* (Onagraceae): Recent evolution of floral scent and moth pollination[J]. *Plant Systematics and Evolution*, 1995, 194(1–2): 55–67.
- [18] Andersson S, Dobson H E M. Behavioral foraging responses by the butterfly *Heliconius melpomene* to *Lantana camara* floral scent[J]. *Journal of chemical ecology*, 2003, 29(10): 2303–2318.
- [19] Endler J A, Basolo A L. Sensory ecology, receiver biases and sexual selection[J]. *Trends in ecology & evolution*, 1998, 13(10): 415–420.
- [20] Wright G A, Schiestl F P. The evolution of floral scent: the influence of olfactory learning by insect pollinators on the honest signaling of floral rewards[J]. *Functional Ecology*, 2009, 23(5): 841–851.
- [21] Kandori I, Ohsaki N. The learning abilities of the white cabbage butterfly *Pieris rapae* foraging for flowers[J]. *Researches on population ecology*, 1996, 38(1): 111–117.

(责任编辑:张 玲)