

## 单、双价转基因抗虫棉对棉铃虫适合度及其抗药性的影响

张洋,张帅,崔金杰\*

(中国农业科学院棉花研究所,河南 安阳 455000)

**摘要:**室内以分别用转双价基因棉中棉所 41(Cry1Ac+CpTI)、转单价基因棉中棉所 44(Cry1Ac)和常规棉中棉所 49(CK)连续筛选 16 代的 AYBC、AYBT 和 AYCK 棉铃虫种群为材料,分别继续用上述材料再连续筛选 10 代,研究抗虫棉对棉铃虫适合度及其抗药性的影响。试验结果表明:经室内连续筛选 26 代后,与 AYCK 对照种群相比,AYBC 和 AYBT 种群的幼虫发育历期明显延长,蛹重、产卵量、卵孵化率均明显降低,蛹历期和雌虫百分率差异不显著;与 AYBT 种群相比,AYBC 种群的幼虫发育历期明显延长,产卵量显著降低,蛹重、蛹历期、雌虫百分率和卵孵化率差异不显著。17-26 代,AYBC 种群与 AYBT 种群同一筛选代数间对 Cry1Ac 毒素的抗性倍数差异不显著,并且随着筛选代数的增加,AYBC 和 AYBT 种群的抗性倍数都有所增加。

**关键词:**棉铃虫;转基因抗虫棉;适合度

**中图分类号:**S435.622 **文献标识码:**A

**文章编号:**1002-7807(2011)01-0044-08

## Effects of Univalent Transgenic Cotton CCRI 41 and Bivalent Transgenic Cotton CCRI 44 on Fitness and Resistance to Cry1Ac of *Helicoverpa armigera*

ZHANG Yang, ZHANG Shuai, CUI Jin-jie\*

(Cotton Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Anyang, Henan 455000, China)

**Abstract:** The *Helicoverpa armigera* populations AYBC, AYBT and AYCK were fed 16 generations by transgenic cotton CCRI 41, CCRI 44 and non-transgenic cotton CCRI 49, respectively. After 26 generations of selection, compared with the control population AYCK, the larval development periods of the AYBC and AYBT populations delayed; pupal weight, fecundity and egg hatching rate reduced. Compared with the AYBT population, the larval development period of AYBC population delayed, fecundity reduced. During 17<sup>th</sup>-26<sup>th</sup> generations, the resistance ratios to Cry1Ac for each generation had no difference between AYBC and AYBT populations. And with generation increasing, the resistance ratios to Cry1Ac in AYBC and AYBT populations also increased.

**Key words:** *Helicoverpa armigera*; transgenic cotton; fitness

生物适合度是指一种生物在所处的环境中能够生存并把它特性遗传给下一代的相对能力<sup>[1]</sup>,这种能力一般包括生活力和繁殖力。有研究表明,与敏感种群相比,抗性种群的幼虫发育历期和成虫繁殖能力都有所下降<sup>[2-4]</sup>,抗性个体这种适合度劣势被称作适合度代价(fitness cost)。目前,许多报道都证实了适合度代价与 Bt 抗性相关,主要表现在抗性个体的生长发育、繁殖能力等生物学特性受到了不利的影

响。本研究在室内使用双价棉、单价棉和非转基因棉作为筛选材料对棉铃虫室内种群进行了连续筛选,研究了转基因抗虫棉对不同种群棉铃虫生长发育、繁殖等生物学特性的影响,比较分析了筛选种群间适合度参数间的差异,明确了 3 个棉铃虫种群经过连续 26 代的抗性筛选后适合度的变化趋势。同时,通过对双价筛选种群与单价筛选种群的比较,明确了外源基因 *CpTI* 的导入对棉铃虫抗性发展和种群适合度的影响。本研究旨在明确转基因抗虫

**收稿日期:**2010-06-25 **作者简介:**张洋(1985-),男,硕士研究生;\*通讯作者,cuijinjie@126.com

**基金项目:**“十一五”国家科技支撑计划项目(2006BAD08A07-4);转基因生物新品种培育重大专项(2008ZX08012-004, 2008ZX08011-002);公益性行业(农业)科研专项(nyhyzx07-005);公益性行业科研专项经费项目(200803011-2);国家棉花产业技术体系

棉的抗性风险、抗性发展动态和抗性机理,为棉铃虫的抗性治理提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

**1.1.1 供试昆虫。**AYBC 种群为室内用转双价基因 (*Cry1Ac+CpTI*) 棉种子粉进行连续抗性筛选 16 代的棉铃虫种群;AYBT 种群为室内用转 Bt 基因 (*Cry1Ac*) 棉种子粉进行连续抗性筛选 16 代的棉铃虫种群;AYCK 种群为室内用常规棉种子粉连续饲养 16 代的棉铃虫对照种群。

**1.1.2 棉花品种。**转 *Cry1Ac+CpTI* 棉品种为中棉所 41, 转 *Cry1Ac* 基因棉品种为中棉所 44, 常规棉品种为中棉所 49, 以上品种均由中棉所科贸公司提供。

**1.1.3 供试试剂。***Cry1Ac* 毒素为 *Cry1Ac* 型 Bt ICP 20% 的 MVP II 水剂 (Mycogen 公司生产); 种子中 Bt 杀虫蛋白测定试剂盒为 Enviroligix 公司的 Qualiplate™ Kit for *Cry1Ab/Cry1Ac*; 其它试剂均为市售分析纯。

**1.1.4 试验主要仪器。**酶标仪, 美国 Bio-Tek 公司; 恒温光照培养箱, 南京恒裕; 样品研磨机, 德国 Ika 公司。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 供试昆虫饲养方法。**按表 1 所示的组分和用量制备正常人工饲料。在此基础上添加一定剂量的种子粉制备抗性种群的筛选饲料。经测定, 中棉所 41 种子中 *Cry1Ac* 蛋白含量为  $1018 \pm 159 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ , 中棉所 44 种子中 Bt 毒蛋白含量为  $1203 \pm 190 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ , 根据应加入 *Cry1Ac* 蛋白含量换算成

表 1 人工饲料配方

成分 Component	用量 Amount
玉米粉:黄豆粉:小麦粉(2:1:1) Powder of corn, soybean and wheat(2:1:1)	800 g
10% 甲醛 10% Formaldehyde	10 mL
36% 乙酸 36% Acetic acid	60 mL
苯甲酸钠 Sodium benzoate	8 g
琼脂条 Agar	35 g
维生素 C Ascorbic acid	10 g
干酵母 Yeast	80 g
纯水 Water	2000 mL

相应种子粉的含量。各代种子粉的加入量(表 2)根据筛选种群的死亡率进行适当调节,控制种群的死亡率 50% 左右。

表 2 筛选各代种子粉加入量

Table 2 Weight of seed powder in each generation

筛选代数 Selected generation	种子粉加入量 Weight of seed powder /g		
	AYBC 种群 AYBC population	AYBT 种群 AYBT population	AYCK 种群 AYCK population
17	200	300	200
18	200	300	200
19	200	300	200
20	250	350	250
21	300	350	300
22	350	350	350
23	350	350	350
24	350	350	350
25	350	350	350
26	350	400	350

每一代棉铃虫初孵幼虫分别作如下 3 个处理:处理一为抗性筛选。根据上一代毒力测定数据,采用杀死种群 50% 个体的处理剂量,换算成相应种子粉的质量加入到融化的人工饲料中(表 1, 表 2),混合均匀,作为筛选抗性种群的饲料。每个种群接 2 龄初幼虫 3000 头。处理二为抗性测定。将每个筛选种群的初孵幼虫在正常饲料上饲养至 2 龄初,进行  $LC_{50}$  毒力测定。处理三为适合度调查。每一代每个筛选种群选取 100 头 2 龄初幼虫,接入加有饲料的试管内,每管 1 头并逐一加以编号,饲养饲料与抗性筛选饲料相同。观察记录各筛选种群适合度变化情况。

棉铃虫饲养条件:幼虫在 20 mm×100 mm 试管中单头饲养,试管用棉塞塞紧;成虫在产卵笼中用 10% 的蜂蜜水补充营养。饲养环境温度控制在  $(27 \pm 1)^\circ\text{C}$ , 相对湿度控制在 60%~85% 之间,光周期 14:10(L:D)。

**1.2.2 毒力测定。**将 *Cry1Ac* 毒素配置成  $500 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的母液,用无菌水配制 7 个不同浓度梯度备用(表 3)。为了更准确地拟合浓度-死亡率曲线,AYBT 种群使用 1<sup>#</sup>-5<sup>#</sup> 浓度,AYBC 种群使用 2<sup>#</sup>-6<sup>#</sup> 浓度,对照 AYCK 种群使用 3<sup>#</sup>-7<sup>#</sup> 浓度,以清水作为空白对照。

按表 1 所示的组分和用量配制人工饲料,将仍处于液体状态的饲料倒入 24 孔培养板小孔中,每孔倒入饲料量不超过小孔深度的 2/3,饲料凝固后,清除孔壁粘附的饲料。然后在 24 孔培养

表3 Cry1Ac 蛋白浓度设置  
Table 3 Concentration of Cry1Ac toxin

编号 number	Cry1Ac 浓度 Concentration of Cry1Ac/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
1	50.00000
2	25.00000
3	12.50000
4	6.25000
5	3.12500
6	1.56250
7	0.78125

板小孔中分别加入 100  $\mu\text{L}$  Cry1Ac 毒素溶液,每个浓度的 Cry1Ac 毒素溶液处理一个 24 孔板,重复 3 次。待毒素溶液被完全吸收后,放在 4℃冰箱中保存备用。

在 24 孔培养板中每孔接入 1 头 2 龄初幼虫,然后置于恒温光照培养箱中  $26\pm 1$  °C 避光饲养,5 d 后检查幼虫死亡率。

**1.2.3 种群适合度测定。**每天观察记录 3 个棉铃虫种群幼虫的存活情况和生长发育进度,化蛹后第 3 天称量蛹重。成虫羽化后,每个棉铃虫种群选择 5 对成虫释放到交配笼中(直径 14 cm、高 15 cm)交配,用 10% 蜂蜜水饲养成虫,每个种群重复 3 次。每天更换产卵用纱布,记载产卵数量。每个种群挑取落卵量最高的纱布放置在直径为 9 cm 的培养皿中,用封口膜密封置于培养箱中遮光孵化,统计可孵化卵的数量,计算孵化率。

表4 23–26 代棉铃虫筛选种群适合度均值

Table 4 The average of fitness parameters in selected *Helicoverpa armigera* populations during 23–26 generations

筛选种群 Selected population	幼虫历期 Larval development periods/d	蛹重 Pupal weight /mg	蛹历期 Pupal development period /d	雌虫比率 Female ratio /%	产卵量 / 粒 Fecundity/eggs	孵化率 Egg hatching rate /%
AYCK	20.6 $\pm$ 1.4 cB	325.3 $\pm$ 38.0 aA	11.2 $\pm$ 1.1 a	53.3 $\pm$ 3.9 a	295.0 $\pm$ 17.5 aA	74.2 $\pm$ 6.3 aA
AYBT	27.4 $\pm$ 2.1 bA	256.1 $\pm$ 31.4 bAB	11.2 $\pm$ 1.3 a	48.6 $\pm$ 3.5 ab	176.3 $\pm$ 17.5 bB	51.6 $\pm$ 4.7 bB
AYBC	31.2 $\pm$ 2.1 aA	245.3 $\pm$ 24.9 bB	11.3 $\pm$ 0.9 a	45.8 $\pm$ 2.8 b	141.8 $\pm$ 14.8 cB	44.5 $\pm$ 5.3 bB

注:不同小写字母表示 0.05 的显著水平,不同大写字母表示 0.01 的显著水平。

Notes: Different lowercase letters show significantly different at  $P=0.05$ , different uppercase letters show significantly different at  $P=0.01$ .

与 AYBT 种群相比,AYBC 种群棉铃虫幼虫发育历期延长 3.8 d,产卵量减少 24.5 粒,差异均显著;蛹重减轻 10.8 mg,蛹历期延长 0.1 d,雌虫比率降低 2.8 个百分点,卵孵化率降低 7.1 个百分点,但是差异并不显著(表 4)。

以上结果表明,转双价基因棉和转单价基因

**1.2.4 计算与统计方法。**抗性倍数为筛选种群的  $LC_{50}$  与敏感种群  $LC_{50}$  的比值。筛选种群的适合度数据用 SAS 软件进行方差分析、多重比较(Duncan 法)和相关性分析。毒力测定的数据采用 PoloPlus 软件计算  $LC_{50}$ 、置信区间,并拟合毒力回归曲线。

## 2 结果与分析

### 2.1 筛选种群适合度变化

**2.1.1 筛选材料对适合度的影响。**棉铃虫取食转双价基因棉、转单价基因棉筛选材料后,其适合度发生了较大的变化,3 个种群经过 23–26 代连续 4 代筛选,各适合度参数均值结果见表 4。与常规对照 AYCK 种群相比,棉铃虫 AYBC 种群和 AYBT 种群的幼虫发育历期均明显延长,分别延长了 10.6 d 和 6.8 d,且差异达到极显著水平。AYBC 和 AYBT 种群的蛹重明显减轻,其中 AYBC 种群减少 80.0 mg,差异达到极显著水平;AYBT 种群减少 69.2 mg,差异显著。AYBC 种群和 AYBT 种群的蛹发育历期差异不显著;AYBC 种群的雌虫比率显著降低(降 7.5 个百分点),AYBT 种群的差异不显著;AYBT 和 AYBC 种群的成虫产卵量分别减少 119 和 153 粒,差异均达极显著水平;AYBC 和 AYBT 种群的卵孵化率显著降低,分别降低 29.7 个百分点和 22.6 个百分点。

棉明显地抑制了棉铃虫幼虫的生长发育进度,降低了棉铃虫成虫的生殖力。主要表现在幼虫的发育历期延长,蛹重减轻,产卵量减少,卵孵化率降低。与单价棉相比,转双价(*Bt+CpTI*)棉对棉铃虫幼虫的发育历期和成虫产卵量有更强的抑制作用。

**2.1.2 适合度的变化趋势。**23-26 代各筛选种群的筛选剂量维持在 350 g, 各筛选种群的适合度变化情况如表 5 所示。

AYBC 种群的幼虫发育历期、蛹重和蛹发育历期虽然在筛选代数间有显著差异,但是相关性不显著;这说明随着筛选代数的增加,三者均无明显变化趋势。雌虫比率在筛选代数间没有明显

的差异,与筛选代数间亦无明显相关性,这说明随着筛选代数的增加,雌虫比率无明显变化趋势。成虫产卵量有逐代增加的趋势,其与筛选代数间呈显著正相关( $r=1.00, P<0.01$ )。卵孵化率上升趋势明显,其与筛选代数间呈显著正相关( $r=0.95, P<0.05$ )。这说明随着筛选代数的增加,AYBC 种群成虫的产卵量和卵孵化率不断回升。

表 5 各棉铃虫筛选种群 23-26 代的适合度参数变化

Table 5 Trends of fitness parameters within selected populations of *Helicoverpa armigera*

筛选种群 Selected population	筛选代数 Selected generation	幼虫历期 Larval development periods /d	蛹重 Pupal weight /mg	蛹历期 Pupal development period /d	雌虫比率 Female ratio /%	产卵量 / 粒 Fecundity /eggs	孵化率 Egg hatching rate/%
AYCK	23	20.9±1.8 a	294.3±37.8 cC	10.6±0.8 cB	53.7±2.3 a	295±27 a	69.4±4.1 a
	24	20.4±1.4 b	292.9±35.6 cC	11.0±1.4 bB	54.2±1.1 a	281±21 a	74.3±9.7 a
	25	20.6±1.3 ab	339.0±37.1 bB	11.8±1.1 aA	51.5±6.0 a	300±10 a	77.0±6.8 a
	26	20.6±1.1 ab	374.8±41.5 aA	11.5±1.1 aA	53.9±6.1 a	304±12 a	76.1±4.4 a
相关性分析 Correlation analysis		-0.44	0.94*	0.85	-0.61	0.59	0.87
AYBT	23	28.7±2.9 bB	259.5±28.1 aA	10.8±1.1 bB	47.3±3.2 a	132±13 bB	44.3±3.9 b
	24	29.6±1.7 aA	229.7±26.7 bB	11.0±1.8 bB	49.9±1.0 a	189±19 aA	49.2±4.3 ab
	25	23.6±1.4 dD	267.9±34.0 aA	11.1±1.2 bB	48.0±4.3 a	179±13 aAB	57.8±5.2 a
	26	27.8±2.2 cC	267.1±36.9 aA	12.0±1.0 aA	49.2±5.6 a	205±25 aA	55.2±5.4 a
相关性分析 Correlation analysis		-0.42	0.79	0.90*	-0.32	0.86	0.88*
AYBC	23	32.0±2.0 bB	231.8±32.6 cB	11.9±1.1 aA	42.7±1.5 a	112±12 cB	38.6±8.3 b
	24	33.8±1.3 aA	227.2±22.5 cB	10.8±0.6 cC	45.5±1.0 a	129±17 bcAB	40.1±6.3 ab
	25	28.2±2.1 dD	265.3±22.8 aA	11.0±1.0 cBC	46.1±5.5 a	154±11 abAB	49.0±3.4 ab
	26	30.9±3.1 cC	257.0±21.8 bA	11.4±0.9 bAB	48.8±3.4 a	172±19 aA	50.4±3.2 a
相关性分析 Correlation analysis		-0.49	0.44	-0.35	0.48	1.00**	0.95*

注:不同小写字母,\*表示 0.05 的显著水平,不同大写字母,\*\*表示 0.01 的显著水平。

Notes: Different lowecase letters, \* show significantly different at  $P=0.05$ , different uppercase letters, \*\* show significantly different at  $P=0.01$ .

AYBT 种群的幼虫发育历期在筛选代数间具有显著差异,但是相关性不显著。蛹重虽有上升趋势,但差异不显著,与筛选代数间也无明显相关性。蛹历期 26 代与 23-25 代差异显著,与筛选代数间有显著相关性。雌虫比率在筛选代数间没有明显的差异,亦无明显相关性。产卵量虽有明显的上升趋势,但是与筛选代数的相关性并不显著( $P>0.05$ ),这可能是样本数偏少导致误差偏大所致。卵孵化率有明显上升趋势,且与筛选代数间呈显著正相关( $r=0.95, P<0.05$ )。

虽然 23 代与 24 代 AYCK 种群的幼虫发育历期有显著差异,25-26 代蛹历期与 23 代和 24

代有显著差异,但是两者与筛选代数的相关性不显著。雌虫比率、产卵量和孵化率在筛选代数间均无显著差异,相关性也不显著。蛹重随筛选代数增加明显增加,且呈显著正相关( $r=0.94, P<0.05$ )。

以上结果表明,与对照相比,AYBC 和 AYBT 种群的幼虫发育历期延长,蛹重减轻,且并未随着筛选代数的增加而出现适应性的变化;而 AYBC、AYBT 种群的卵孵化率和 AYBC 种群的产卵量则随着筛选代数的增加有所回升。

## 2.2 筛选种群抗性发展

在抗性筛选过程中,使用抗性倍数法测定了

17-26代棉铃虫对Cry1Ac毒素的抗性发展水平。经过26代筛选,棉铃虫种群对Cry1Ac杀虫蛋白的抗性仍处于较低的水平,AYBC种群对Cry1Ac的抗性倍数为5.6,AYBT种群对Cry1Ac的抗性倍数为11.4(表6)。比较17-26代AYBC和AYBT种群 $LC_{50}$ 的95%置信限,除17代和26

代外,其余各代(18-25代)两种群 $LC_{50}$ 的95%置信限均重叠,即两种群的 $LC_{50}$ 值的差异不显著,两个种群同一代的抗性倍数差异不显著。这说明双价棉与单价棉在抗性筛选过程中(17-26代)对筛选种群的抗性诱导作用相同,即双价棉与单价棉对非抗性个体的作用效果没有明显差异。

表6 各代棉铃虫抗性发展动态

Table 6 Developments of resistance to Cry1Ac in the selected populations of *Helicoverpa armigera*

筛选代数 Selected generation	AYBC 种群				AYBT 种群			
	斜率 Slope	$LC_{50}$ /( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	95%置信限 Confidence limits /( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	抗性倍数 Resistance level	斜率 Slope	$LC_{50}$ /( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	95%置信限 Confidence limits /( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	抗性倍数 Resistance level
17	1.123±0.404	0.495	0.104~0.845	3.7	1.440±0.424	1.225	1.116~1.668	9.2
18	1.509±0.423	0.328	0.134~0.480	2.5	2.510±0.441	0.451	0.336~0.559	3.4
19	2.871±0.556	0.524	0.374~0.672	3.9	2.930±0.706	0.358	0.211~0.474	2.7
20	2.395±0.358	0.524	0.183~0.841	3.9	1.705±0.382	0.560	0.329~0.773	4.2
21	2.021±0.255	0.967	1.504~4.409	7.3	1.716±0.319	1.463	1.403~2.948	11.0
22	2.266±0.259	0.342	0.192~0.512	2.6	0.294±0.614	0.463	1.697~0.321	3.5
23	2.005±0.205	0.772	0.559~1.047	5.8	2.687±0.297	0.931	0.686~1.307	7.0
24	1.546±0.182	0.682	0.456~0.977	5.1	2.471±0.339	0.678	0.338~1.092	5.1
25	2.556±0.362	0.451	0.190~0.688	3.4	2.702±0.372	0.602	0.460~0.746	4.5
26	1.725±0.334	0.749	0.473~1.035	5.6	1.660±0.438	1.521	1.058~3.021	11.4

注:敏感基线水平为 $0.133\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

Note: The base-line for *Helicoverpa armigera* to Cry1Ac is  $0.133\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

结合2008年孙志新<sup>[9]</sup>对AYBT和AYBC种群8-16代的测定结果,两种群的抗性倍数变化如图1所示。在抗性筛选过程中,AYBT和AY-

BC种群对Cry1Ac的抗性倍数并不稳定,起伏波动的幅度比较大(17-26代)。

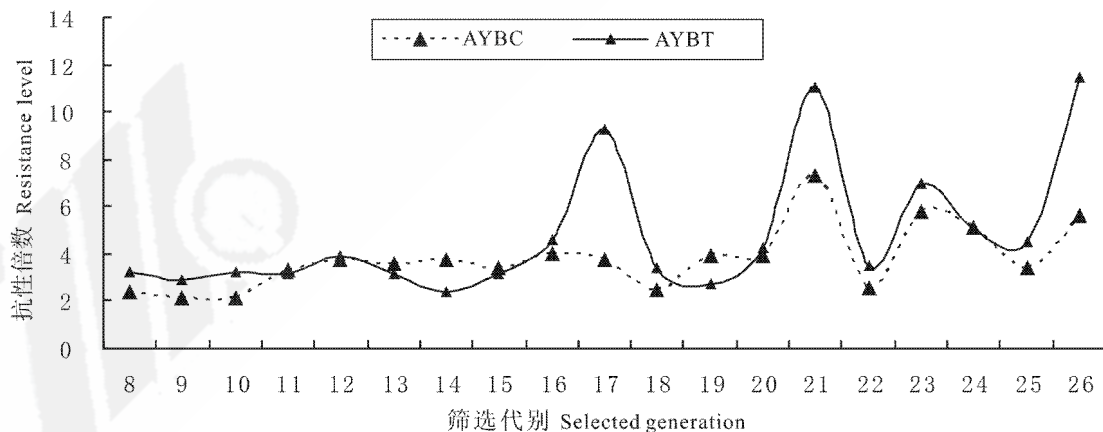


图1 棉铃虫筛选种群各代相对抗性倍数变化

Fig.1 Cry1Ac resistance level in the selected populations of *Helicoverpa armigera*

筛选种群的抗性倍数与筛选代数的相关曲线(图2)显示:AYBC和AYBT种群的抗性倍数与筛选代数均呈显著正相关。这表明,随着筛选代数的增加,两种群的抗性倍数有上升趋势。

AYBC种群和AYBT种群抗性倍数的相关曲线(图3)所示,两种群的抗性倍数呈显著正相

关( $r=0.763, P=0.0001$ ),这表明两种群有相同的抗性发展趋势。

以上结果表明,经过26代的筛选,棉铃虫虽然还没有对Cry1Ac毒素产生抗性,但耐受性有所升高。双价棉与单价棉对棉铃虫的抗性选择作用差异不显著。

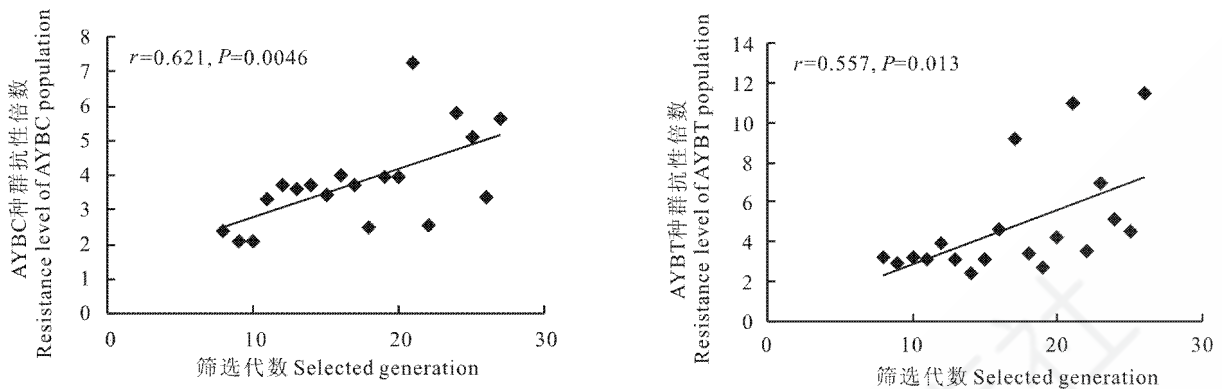
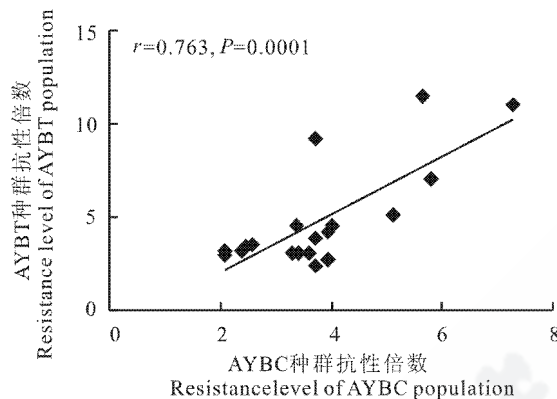


图 2 筛选代数与抗性倍数的相关性

Fig. 2 Correlation between resistance level to Cry1Ac of *Helicoverpa armigera* and selected generations图 3 AYBC 种群与 AYBT 种群间抗性倍数的相关性  
Fig. 3 Correlation of Cry1Ac resistance level between AYBC population 与 AYBT population of *Helicoverpa armigera*

### 3 讨论

昆虫对 Bt 抗性的发展会受到诸多因素的影响,如抗性遗传方式、抗性基因频率以及相对适合度等<sup>[7]</sup>。无论是基于何种形式的抗性,抗性昆虫与敏感昆虫的适合度必然存在一些差异,这些差异主要表现在形态指标、生理反应、行为特性和生物学特性等方面。这些与抗性相关的适合度参数是抗性风险评估的重要依据,也是了解抗性演化及解决抗性问题的基础。2000 年 Oppert 等<sup>[8]</sup>的研究证实,印度谷螟的 Bt 抗性种群中幼虫发育历期延长,种群存活率也明显下降。2008 年 Liang 等<sup>[9]</sup>研究表明,抗性棉铃虫的相对适合度随其对 Bt 毒蛋白抗性倍数的增加而减小,主要体现在幼虫发育历期延长、幼虫体重和蛹重明显减轻,成虫产卵量和卵孵化率明显降低。杨峰山等<sup>[10]</sup>的研究表明,小菜蛾的 2 个 Bt 抗性种群的产卵量和卵孵化率显著下降,雌雄比例降低,雌虫数量减

少,平均寿命变短。Alyokhin 等<sup>[11]</sup>发现马铃薯甲虫的 Cry3A 抗性种群的雄蛾交配次数、雌蛾产卵率、卵孵化率等均低于敏感种群。本研究的结果也表明棉铃虫在经转单价基因棉筛选 26 代后,AYBT 种群适合度发生了明显的变化,主要表现在幼虫发育历期延长、蛹重减轻、产卵量和卵孵化率降低。

目前,国内多数有关抗虫棉对棉铃虫适合度影响的研究仅着眼于转单价基因棉花,而本文还研究了转双价基因棉花对棉铃虫适合度的影响。结果表明,转 *Bt+CpTI* 棉对棉铃虫适合度的影响与转 *Bt* 棉相似,但双价棉对棉铃虫幼虫的发育和成虫产卵量有更强的抑制作用。Coustau 等<sup>[12]</sup>曾报道抗性个体的适合度变化可能只是昆虫适应逆境的生理学或生物学特性的变化,也可能是在药剂的选择下昆虫产生了抗性突变。本研究发现,与对照相比,AYBC 和 AYBT 种群的幼虫发育历期延长,蛹重下降,且并没有随着筛选代数的增加而有所缓和。这一结果可能说明,幼虫发育历期的延长和蛹重的减少不是昆虫适应逆境的生理学变化,而是由基于基因水平上的变异造成的。AYBC 和 AYBT 种群的卵孵化率和产卵量随着筛选代数的增加而有所回升,这一结果说明两种群中产卵量和卵孵化率的降低可能只是昆虫适应逆境的生理学变化。本研究结果可能初步验证了 Coustau 的观点,有待后续试验进一步证实。

此外,2 个种群经过长达 26 代的筛选后,棉铃虫对 Cry1Ac 毒素产生了一定耐受性,AYBC 种群和 AYBT 种群抗性倍数分别为 5.63 和 14.44。但是在筛选的 17-26 代,两种群的  $LC_{50}$

差异并不显著,即同一代中两个种群的抗性倍数差异并不显著。这说明对于敏感或者耐受性较低的棉铃虫,单价棉与双价棉对其作用效果相同。与单价棉相比,双价棉延缓抗性发展的优势可能更多地体现在对 Cry1Ac 高耐受性或者是抗性个体上。芮昌辉等<sup>[13]</sup>的研究结果表明,转双价基因棉对 Cry1Ac 产生 16 倍抗性的棉铃虫的控制效果高于单价棉。高聪芬等<sup>[14]</sup>的研究结果也表明转双价基因棉无论是对抗性棉铃虫还是敏感棉铃虫的抗虫性都显著或稍高于单价棉。

研究棉铃虫抗性与其适合度间相互关系的最终目的是为制定抗性治理策略提供科学依据,并指导抗性治理的实施。近年来,抗虫棉的抗性风险备受国内外关注。刘凤沂等<sup>[15]</sup>曾报道,2005 河北邱县棉铃虫对 Bt 棉的抗性等位基因频率与 1999 年相比上升了近 10 个百分点,棉铃虫种群抗性明显上升。张洋等<sup>[16]</sup>研究结果表明,河南安阳地区棉铃虫种群对 Cry1Ac 毒素的耐受性有逐年升高的趋势。在国外,印度于 2002 年开始抗虫棉商品化种植,2010 年报道棉红铃虫对 Bt 抗虫棉产生了抗性<sup>[17]</sup>。而我国由于小农户分散种植模式的限制,庇护所策略难以实施,这就使得转双价基因棉的推广种植显得尤为重要。但是目前有关棉铃虫对双价棉抗性的研究还很少,尤其是在抗性筛选方面鲜有报道。因此,对转双价基因棉环境安全和抗性治理的研究有非常重要的意义。

#### 参考文献:

- [1] 唐振华. 昆虫抗药性及其治理[M]. 北京:农业出版社,1993: 389.  
TANG Zhen-hua. Insecticide resistance and management[M]. Beijing: Agriculture Press, 1993: 389.
- [2] 唐振华,韩罗珍,张朝远. 抗马拉硫磷淡色库蚊不同基因型的自然内禀增长率及其对抗性演化的影响[J]. 昆虫学报,1990,33(4):385-392.  
TANG Zhen-hua, Han Luo-zhen, Zhang Chao-yuan. Influence of the intrinsic rate of natural increase for different malathion-resistant genotypes on the evolution of resistance in *Culex pipiens pallens*[J]. Acta Entomologica Sinica, 1990, 33(4): 385-392.
- [3] 孟香清,芮昌辉,赵建周,等. 抗三氟氯氰菊酯棉铃虫种群相对适合度研究[J]. 植物保护,1998,24(6):12-14.  
MENG Xiang-qing, Rui Chang-hui, Zhao Jian-zhou, et al. Relative fitness of resistance to cyhalothrin in *Helicoverpa armigera* Hübner[J]. Plant Protection, 1998, 24(6): 12-14.
- [4] 吴益东,沈晋良,谭福杰,等. 棉铃虫对氰戊菊酯抗性种群和敏感种群的相对适合度[J]. 昆虫学报,1996,39(3):233-237.  
WU Yi-dong, Shen Jin-liang, Tan Fu-jie, et al. Relative fitness of fenvalerate resistant and susceptible strains of *Helicoverpa armigera* (Hübner)[J]. Acta Entomologica Sinica, 1996, 39(3): 233-237.
- [5] 郭芳,梁革梅,曹广春,等. 昆虫对 Bt 抗性的适合度代价及其与抗性治理策略的关系[J]. 环境昆虫学报,2009,31(2):162-167.  
GUO Fang, Liang Ge-mei, Cao Guang-chun, et al. The fitness costs of insect resistance to *Bacillus thuringiensis* and their relationship with resistance management strategy[J]. Journal of Environmental Entomology, 2009, 31(2): 162-167.
- [6] 孙志新. 棉铃虫对双价(Bt+CpTI)抗虫棉抗性筛选及抗性机理的初步研究[D]. 北京:中国农业科学院,2008.  
SUN Zhi-xin. Studies on the resistance screening and mechanisms of transgenic Cry1Ac plus CpTI cotton to *Helicoverpa armigera* (Hübner)[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2008.
- [7] GASSMANN A J, Carrière Y, Tabashnik B E. Fitness costs of insect resistance to *Bacillus thuringiensis*[J]. Annual Review of Entomology, 2009, 54: 147-163.
- [8] OPPERT B, Kramer K J, Beeman R W, et al. Proteins-mediated insect resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins[J]. Journal of Biological Chemistry, 1997, 272(38): 23473-23476.
- [9] LIANG G M, Wu K M, Yu H K, et al. Changes of inheritance mode and fitness in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) along with its resistance evolution to Cry1Ac toxin [J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2008, 97(2): 142-149.
- [10] 杨峰山,吴青君,徐宝云,等. 小菜蛾对 Bt 毒素 Cry1Ac 和 Bt 制剂抗性的选育及其抗性种群的生物学适应性[J]. 昆虫学报,2006,49(1):64-69.  
YANG Feng-shan, Wu Qing-jun, Xu Bao-yun, et al. Resistance selection of *Plutella xylostella* by Cry1Ac toxin and Bt formulation and biological fitness of the resistant populations[J]. Acta Entomologica Sinica, 2006, 49(1): 64-69.
- [11] AKHURST R J, James W, Bird L J, et al. Resistance to the Cry1Ac delta-endotoxin of *Bacillus thuringiensis* in the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae)[J]. Journal of Economic Entomology, 2003, 96(4):1290-1299.
- [12] COUSTAU C, Chevillon C, French C R. Resistance to xenobiotics and parasites: can we count the cost?[J]. Trends in Ecology & Evolution, 2000, 15(9): 378-383.
- [13] 芮昌辉,范贤林,郭三堆,等. 转双价基因(Bt+CpTI)抗虫棉对棉铃虫的杀虫活性及抑制生长作用[J]. 棉花学报,2001,13(6):337-341.

- RUI Chang-hui, Fan Xian-lin, Guo San-dui, et al. Control efficacy of transgenic cotton expressing *Bt* & *CpTI* genes to cotton worm[J]. Cotton Science, 2001, 13(6): 337-341.
- [14] 高聪芬,沈晋良,须志平,等. 转双价基因棉对高抗 *Bt* 棉棉铃虫的抗虫性[J]. 南京农业大学学报, 2004, 27(4):41-44.  
GAO Cong-fen, Shen Jin-liang, Xu Zhi-ping, et al. Resistance of dual-toxin transgenic cotton to high level resistant strain of *Helicoverpa armigera* (Hübner) to *Bt* cotton[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2004, 27(4): 41-44.
- [15] 刘凤沂,须志平,沈晋良. 棉铃虫种群对 *Bt* 棉抗性位点基因频率分析[J]. 棉花学报, 2008, 20(6):470-472.  
LIU Feng-yi, Xu Zhi-ping, Shen Jin-liang. Analysis of frequency of resistance allele to *Bt* cotton in field cotton boll worm populations[J]. Cotton Science, 2008, 20(6): 470-472.
- [16] 张 洋,张 帅,崔金杰. 黄河流域田间棉铃虫对转 *Bt* 基因棉抗性监测[J]. 棉花学报, 2010, 22(4):297-303.  
ZHANG Yang, Zhang Shuai, Cui Jin-jie. Frequency of *Bt* resistance allele in *Helicoverpa armigera* populations from the Yellow River Cotton-farming Region of China[J]. Cotton Science, 2010, 22(4): 297-303.
- [17] DINESH C, Sharma. *Bt* cotton has failed admits Monsanto [EB/OL]. [2010-03-06]. <http://indiatoday.intoday.in/site/Story/86939/India/Bt+cotton+has+failed+admits>. ●

中国棉花杂志  
China Cotton Magazine House