

转基因棉对高抗 Bt 棉棉铃虫生长 发育及活动频率的影响*

高聪芬, 沈晋良, 钱 燕, 陈 进

(南京农业大学 农业部病虫监测与治理重点开放实验室, 江苏 南京 210095)

[摘 要] 以敏感品系棉铃虫在苏棉 12 和玉米上的生长发育及活动频率为对照, 研究了新棉 33^B 对高抗 Bt 棉棉铃虫生长发育及活动频率的影响。结果表明, 高抗品系棉铃虫在转基因棉中后期主茎顶部嫩叶、侧枝嫩芽及嫩叶、蕾、铃上完成幼虫和蛹期的发育时间, 分别比敏感品系棉铃虫在常规棉上的发育时间长 13.4、10.7 及 7.0 d, 比敏感品系在玉米上完成发育时间长 13.2~20.6 d; 且取食转 Bt 基因棉的高抗棉铃虫幼虫死亡率和活动频率高, 蛹重减轻, 化蛹率和羽化率降低。

[关键词] 高抗 Bt 棉棉铃虫; 转基因棉; 生长发育; 活动频率

[中图分类号] S435.622+.3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2004)12-0047-05

目前, 转 Bt 基因棉的抗性治理主要采用高剂量/庇护区策略, 与转 Bt 基因棉相邻种植非转 Bt 基因作物作为保护区, 是该策略有效实施的三个重要假设条件之一。建立庇护区的目的是提供大量的敏感靶标害虫与转 Bt 基因棉田的极少数抗性个体交配, 以达到稀释抗性基因的目的^[1]。这就要求一个合适的庇护区必须具备两方面的特征: 一是可产生足够数量的敏感个体; 二是这些大量的敏感个体和转 Bt 基因作物上存活下来的靶标害虫个体, 在羽化时间上有高度的吻合性, 即可完全有效交配。有专家^[2]认为, 我国除新疆棉区外, 以家庭为单位的小片种植, 且棉花与玉米、花生、芝麻等棉铃虫其他寄主作物相间、相邻或交替种植的植棉业特点, 为棉区的转 Bt 基因棉提供了天然的庇护区, 但这类庇护区是否能达到上述要求尚缺乏足够的证据。国外研究表明, 取食转 Bt 玉米穗的烟芽夜蛾, 比取食非转 Bt 玉米穗烟芽夜蛾的成虫羽化期推迟 6~10 d^[3]; 抗性棉红铃虫在转 Bt 棉上的发育比敏感品系在非转 Bt 基因棉上的发育平均推迟 5.7 d^[4]; 草地粘虫在转 Bt 基因棉上的发育比在非转基因棉上慢 3 d^[5]。国内卢美光等^[6]研究表明, 低抗种群棉铃虫幼虫在转基因棉叶片上的发育历期比敏感种群长 15.5 d。为了进一步明确高水平抗性棉铃虫在转基因棉上的生长发育, 是否与庇护区的敏感棉铃虫一致, 本研究

采用室内以转 Bt 基因棉棉叶选育的棉铃虫高抗品系及敏感品系, 对其在转 Bt 基因棉和常规棉的不同部位及玉米上的发育进行了室内研究, 以期为基础区策略能否达到有效实施提供依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试棉花和玉米 新棉 33^B: Bt 棉, 表达 Bt 杀虫蛋白 Cry1Ac, 孟山都公司产品, 购自河北省岱字棉公司; 苏棉 12 (SM 12): 常规棉 (对照), 由江苏省太仓市原种场提供; 西玉 3 号: 常规玉米, 由南京农业大学神州种业公司提供; 供试棉花和玉米于 2003-04-20 03-06 中旬, 种植在南京农业大学校内试验田, 常规栽培管理, 整个生育期未使用任何杀虫剂防治鳞翅目害虫。

1.1.2 供试棉铃虫 HZS (敏感品系): 由华中农业大学提供, 在实验室内连续用人工饲料饲养 79 代, 不接触任何药剂 (包括 Bt 生物农药)。YSR (高抗品系): 1991 年采自河南偃师棉田, 在实验室内连续用人工饲料饲养, 1997 由孟凤霞博士用转 Bt 基因棉 (R₁₉ 株系或新棉 33^B, 表达杀虫蛋白 Cry1Ac) 筛选 67 代得到的高抗品系, 抗性倍数为 1 760 倍。

1.2 试验方法

1.2.1 棉铃虫幼虫在转 Bt 基因棉和常规棉上的生

* [收稿日期] 2004-03-19

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (30270889); 教育部博士点基金项目 (2000030703)

[作者简介] 高聪芬 (1970-), 女, 河北赵县人, 讲师, 博士, 主要从事植物化学保护研究。

[通讯作者] 沈晋良 (1942-), 男, 江苏无锡人, 教授, 博士生导师, 主要从事杀虫剂毒理及抗药性研究。E-mail: jishen@njau.edu.cn

长发育 因转基因棉生长前期抗虫性高,为保证抗性棉铃虫在转基因棉上能够发育至化蛹,本试验在转基因棉抗虫性开始明显下降(主茎第 10 叶后)后进行。为明确取食棉株不同部位对棉铃虫的影响,设计了幼虫取食(1)6~7 月主茎顶部嫩叶(倒三叶);(2)7~8 月上部侧枝嫩芽;(3)7~8 月嫩叶、蕾(1~2 cm)及铃(1~2 cm)共 3 组处理。从试验田摘取新棉 33^B 和苏棉 12 主茎顶部嫩叶及上部侧枝嫩芽,基部用脱脂棉保湿,放入一次性塑料杯中,分别接抗性和敏感品系初孵幼虫,每杯接 1 头,每重复 20 杯,重复 5 次,每处理 100 头,将每头编号,隔日更换新鲜叶片,并逐日记录生长发育情况至成虫羽化。在化蛹后第 3 天分雌雄并单个称蛹重,统计幼虫发育历期和蛹期。为更接近于田间棉铃虫的取食特性,嫩叶、蕾及铃组先用嫩叶喂饲 4 d,再用嫩蕾喂饲 3 d,其余时间用嫩铃,接虫和观察记录同上述。饲养控制条件为光周期 14 h :10 h(L :D)和(27±1)℃。

1.2.2 敏感品系棉铃虫在玉米上的生长发育 嫩叶-嫩粒:从试验田采回玉米心叶和花丝,放入一次性塑料杯中,每杯接 1 头敏感品系棉铃虫初孵幼虫,每重复 20 杯,重复 3 次,每处理共 60 头,单头接入一次性塑料杯中饲养,将每头编号,4 d 后换玉米芯嫩尖或嫩粒喂饲,隔日更换相应的新鲜幼嫩组织。观察记录及饲养条件同 1.2.1。

嫩穗:从试验田采回带有新鲜花丝的玉米嫩穗,同上接入试虫,有大量粪便排出时更换新的嫩穗,观察记录及饲养条件同 1.2.1。

1.2.3 高抗和敏感品系棉铃虫初孵幼虫在新棉 33^B 和苏棉 12 上的活动频率观察 2003-08,从试验田采摘新棉 33^B 和苏棉 12 的侧枝顶心(带有 1~2 个嫩蕾),插于装有清水的罐头瓶内,分别接 YSR 和 HZS 初孵幼虫 2 头,重复 8~11 次。每隔 1 h 观察 1 次棉铃虫的活动情况,连续观察 24 h。以每次观察时移动的个体百分率作图,比较棉铃虫抗性品系初孵幼虫在转 Bt 基因棉及敏感品系初孵幼虫在常规棉上的活动频率。

2 结果与分析

2.1 棉铃虫幼虫在转 Bt 基因棉和常规棉上的生长发育

对棉铃虫幼虫在转 Bt 基因棉和常规棉上生长发育的研究(表 1)表明,高抗品系(YSR)棉铃虫在新棉 33^B、苏棉 12 及敏感品系在苏棉 12 上的幼虫存活率、幼虫历期、化蛹率、蛹重及羽化率均差异显著,与 HZS 品系相比,YSR 品系幼虫存活率分别降低 40.0%~70.6%,34.0%及 19.1%,幼虫发育历期延长 8.0~14.8,10.5 及 5.7 d,平均蛹重减轻 57.7~138.5,22.9 及 36.6 mg/头,化蛹率和羽化率分别降低 50.0%~81.2%,36.0%和 23.3%及 10.0~16.1%,11.3%和 22.1%。其中,YSR 品系在新棉 33^B 主茎顶部嫩叶上完成幼虫和蛹期的发育时间,较在苏棉 12 上长 5.8 d,而 HZS 品系在新棉 33^B 上只能发育至 4 龄;YSR 品系在新棉 33^B 主茎顶部嫩叶、侧枝嫩芽和嫩叶、蕾及铃上完成幼虫和蛹期的发育时间,较 HZS 品系在苏棉 12 上分别长 13.4,10.7 及 7.0 d。

表 1 棉铃虫幼虫在转 Bt 基因棉和常规棉上的生长发育

Table 1 The development of *H. amigera* larvae fed on the transgenic Bt cotton and non-transgenic cotton

处理 Treatment	试虫 Insect strain	棉花品系 Cotton strain	幼虫存活率/ % Survival rate of larvae		幼虫期/ d Larval stage in days	化蛹率/ % Pupation rate	蛹期/ d Pupal stage in days	蛹重/ mg Pupal weight	羽化率/ % Emergence rate	成虫寿命/ d Moth stage in days
			1~3 龄 1 st to 3 rd	4~6 龄 4 th to 6 th						
主茎顶部嫩叶 Terminal leaf on the main stem	HZS	SM12	100.0 ± 0.0 a	90.0 ± 1.2 a	14.4 ± 2.3 a	90.0 ± 1.2 a	10.0 ± 0.8 a	273.3 ± 32.8a	60.0 ± 0.9 a	7.1 ± 1.1 a
		YSR	50.0 ± 3.2 b	50.0 ± 3.2 b	22.4 ± 2.3 c	40.0 ± 1.2 c	9.6 ± 0.8 a	215.6 ± 35.4 c	50.0 ± 0.9 c	7.7 ± 2.6 a
		33 ^B	45.0 ± 2.4 b	19.4 ± 1.5 b	29.2 ± 2.4 b	8.8 ± 1.0 b	8.6 ± 0.8 a	134.8 ± 37.5 b	43.9 ± 0.8 b	8.9 ± 3.8 a
侧枝嫩芽 Terminal bud of lateral branch	HZS	SM12	86.7 ± 1.6 a	40.0 ± 1.2 a	22.9 ± 4.5 a	40.0 ± 2.0 a	9.8 ± 0.5 a	178.7 ± 47.4 a	13.3 ± 0.8 a	6.9 ± 2.1 a
		33 ^B	46.0 ± 0.7 b	6.0 ± 0.2 b	33.4 ± 2.6 b	4.0 ± 1.0 b	10.0 ± 1.0 a	155.8 ± 30.2 a	2.0 ± 1.7 b	7.0 ± 1.7 a
嫩叶、蕾及铃 Tender leaf ,bud ,boll	HZS	SM12	84.2 ± 2.7 a	31.6 ± 2.3 a	21.4 ± 2.3 a	31.6 ± 2.3 a	8.7 ± 1.3 a	182.5 ± 39.9 a	26.3 ± 1.8 a	6.4 ± 1.9 a
		33 ^B	43.8 ± 1.3 b	12.5 ± 1.6 b	27.1 ± 2.6 b	8.3 ± 2.7 b	10.0 ± 1.0 a	145.9 ± 58.3 a	4.2 ± 3.6 b	6.5 ± 2.1 a

注:同列比较,不同小写字母者表示差异显著(P<0.05),下表同。

Note:Different small letters in the same column represent the significant difference level of 95% (P<0.05),it is the same in the following table.

2.2 敏感品系棉铃虫在玉米不同幼嫩组织上的生长发育

对敏感品系 (HZS) 棉铃虫幼虫在玉米嫩叶-嫩粒和嫩穗上生长发育的观察结果表明,敏感品系幼虫在玉米嫩叶-嫩粒和嫩穗上发育的各项生物学特

性无显著差异 (表 2), 但其在玉米上完成幼虫和蛹期的发育时间 (23.9 和 22.8 d), 明显较高抗品系幼虫在新棉 33^B 中后期主茎顶部嫩叶、侧枝嫩头和嫩叶、蕾及铃上完成幼虫和蛹期所需时间 (37.8 d, 43.4 d 和 37.1 d) 短。

表 2 敏感品系棉铃虫在玉米不同幼嫩组织上的生长发育

处理 Treat	幼虫期/ d Larval stage in days	化蛹率/ % Pupation rate	蛹期/ d Pupal stage in days	蛹重/ mg Pupa weight	羽化率/ % Emergence rate	成虫寿命/ d Moth stage in days
嫩叶-嫩粒 Tender leaf/ granule	14.6 ±3.7 a	17.9 ±2.2 a	9.3 ±1.3 a	208.6 ±57.8 a	7.1 ±2.6 a	11.5 ±1.7 a
嫩穗 Tender ear	12.5 ±1.5 a	17.5 ±2.5 a	10.3 ±1.4 a	223.4 ±53.2 a	5.2 ±1.8 a	14.8 ±2.7 a

2.3 高抗和敏感品系棉铃虫初孵幼虫在转 Bt 基因棉和常规棉上的活动频率

高抗品系 (YSR) 棉铃虫初孵幼虫在新棉 33^B 及敏感品系 (HZS) 初孵幼虫在苏棉 12 上的活动频率有明显差异, 前者的活动频率明显高于后者 (图 1), 即表现出明显的不安状态。这一结果与 Core 等^[7]

和邓曙东等^[8]报道的棉铃虫在转基因棉上的田间活动规律一致。由于抗性棉铃虫个体活动频繁, 其相对取食时间减少, 减轻了对棉株的为害程度。同时由于其在转基因棉上的频繁活动, 可能增加了暴露于捕食性天敌和寄生性天敌的机会, 减低了转基因棉田抗性棉铃虫的成活率。

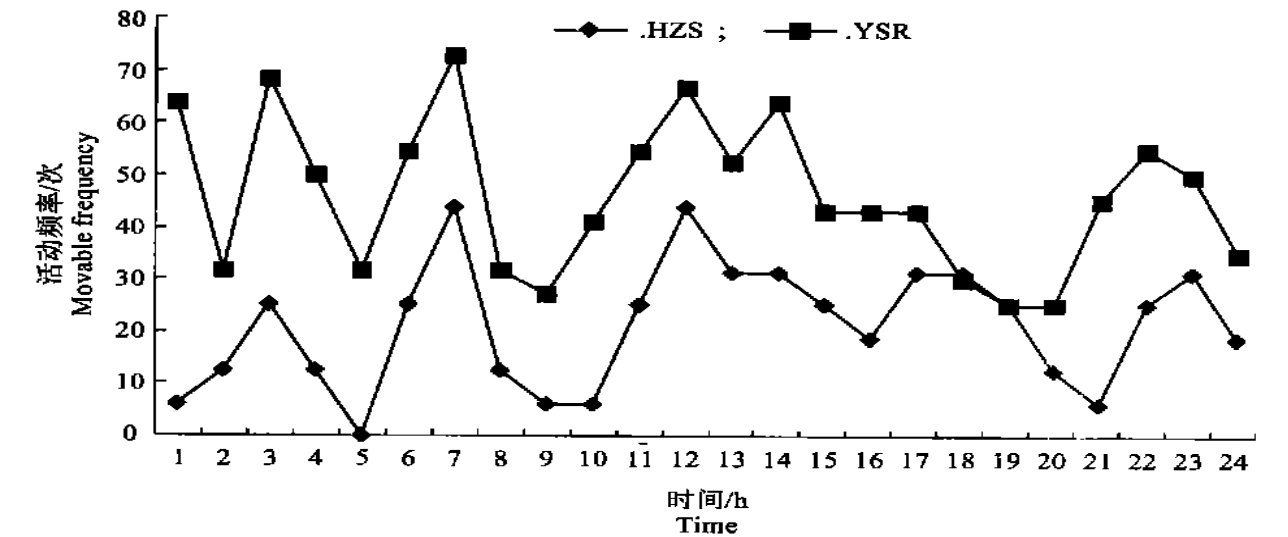


图 1 高抗和敏感品系棉铃虫初孵幼虫在转 Bt 基因棉和常规棉上的活动频率

Fig. 1 Activity frequency of resistant neonate of *H. armigera* on transgenic Bt cotton and susceptible neonate on non-transgenic cotton

3 讨论

转 Bt 基因棉田和底护区内棉铃虫生长发育的不一致性, 将影响到高剂量、底护区策略的实施。谭声江等^[9]用 PCR 指纹谱法研究表明, 棉铃虫 Bt 棉种群与普通棉花、玉米和蓖麻种群间基因交流频繁, 而与芝麻、花生种群间基因交流存在一定障碍, 即芝麻、花生不适于作为转 Bt 基因棉的底护区。但普通棉花、玉米和蓖麻能否起到延缓棉铃虫抗性的作用, 一方面在于能否产生足够数量的敏感个体, 另一方

面这些敏感个体的发育是否与转 Bt 基因棉田存活的抗性个体一致, 这二者均将影响转 Bt 基因棉在我国的使用寿命。本研究证实, 抗性品系棉铃虫在转 Bt 基因棉上能完成生长发育, 但比在常规棉上慢; 敏感棉铃虫在玉米上的发育比抗性棉铃虫在转基因棉上的发育快 13.2~20.6 d, 与孙洪武等^[10]和李巧丝等^[11]报道的取食小麦、玉米、高粱的棉铃虫比取食棉花的棉铃虫发育快的结果一致。另有研究^[12,14]表明, 取食烟草、花生、辣椒的棉铃虫发育较慢。此外, 本实验室研究发现, 羽化期相差 1~2 d

的棉铃虫成虫有效交配率高,相差 4 d 的成虫已不能有效交配。这种生长发育不一致的广泛性,将影响到底护区内的敏感个体与转基因棉田的抗性个体的正常随机交配,从而减弱底护区应起的稀释抗性基因的效果,直接影响底护区策略的有效实施。茹李军等^[15]也认为,用高剂量、底护区策略来延缓棉铃虫抗性在我国北方棉区很难实现,但这一结果还需进一步进行田间试验验证。

本研究发现,转 Bt 基因棉中后期嫩叶、蕾及铃

对抗性棉铃虫生长发育的影响小于顶部嫩叶,这与本实验室测得的嫩蕾毒蛋白含量比主茎叶片低是一致的。常规棉嫩叶、蕾及铃对敏感棉铃虫幼虫存活率、幼虫历期、化蛹率及蛹重的影响明显大于顶部嫩叶,这可能是嫩蕾和嫩铃中的其他次生物质对棉铃虫的影响所致,这一结果在一定程度上解释了本实验室和 Gore 等^[16]的转 Bt 基因棉嫩蕾毒蛋白含量低而抗虫性高的研究结果。

[参考文献]

- [1] Alstad D N, Andow D A. Implementing management of insect resistance to transgenic crops[J]. Ag Biotech News & Information, 1996, 8: 177 - 181.
- [2] 贾士荣, 郭三堆, 安道昌. 转基因棉花[M]. 北京: 科学出版社, 2001. 174.
- [3] Storer N P, John W V D, George G K. Life history traits of *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) on non-Bt and Bt transgenic corn hybrids in eastern north Carolina[J]. J Econ Entomol, 2001, 94(5): 1268 - 1279.
- [4] Liu Y B, Tabashnik B E, Dennehy T J, et al. Development time and resistance to Bt crops[J]. Nature, 1999, 400: 519.
- [5] Adamczyk J J J, Hardee D D, Adams L C, et al. Correlating differences in larval survival and development of *Bollworm* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Fall armyworm* (Lepidoptera: Noctuidae) to differential expression of Cry1A(c) δ -Endotoxin in various plant parts among commercial cultivars of transgenic *Bacillus thuringiensis* cotton[J]. J Econ Entomol, 2001, 94(1): 284 - 290.
- [6] 卢美光, 芮昌辉, 颜庆辉. Bt 汰选棉铃虫对转基因棉花的适应性研究[J]. 农业生物技术学报, 2001, 9(3): 258 - 260.
- [7] Gore J, Leonard B R, Church G E, et al. Behavior of *Bollworm* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae on genetically engineered cotton[J]. J Econ Entomol, 2002, 95(4): 763 - 769.
- [8] 邓曙东, 徐 静, 张青文, 等. 湖北棉区转 Bt 基因棉对棉铃虫的控制作用[J]. 昆虫学报, 2003, 46(5): 584 - 590.
- [9] 谭声江, 陈晓峰, 李典谟, 等. 其他寄主作物能作为 Bt 感性棉铃虫的底护所吗? [J]. 科学通报, 2001, 46(13): 1101 - 1104.
- [10] 孙洪武, 孙以文, 柏立新. 棉铃虫取食棉花和玉米对其生长发育和繁殖的影响[J]. 中国棉花, 2000, 27(1): 9 - 10.
- [11] 李巧丝, 高宗仁, 王文夕, 等. 不同寄主对棉铃虫生长发育及种群动态的影响[J]. 华北农学报, 1999, 14(1): 102 - 105.
- [12] 侯茂林, 盛承发. 食物对棉铃虫生长发育及繁殖的影响[J]. 昆虫学报, 2000, 43(2): 168 - 174.
- [13] 阮永明, 吴坤君. 不同食料植物对棉铃虫生长发育和繁殖的影响[J]. 昆虫学报, 2001, 44(2): 205 - 212.
- [14] 褚茗莉, 许国庆, 田本志, 等. 不同寄主对棉铃虫发育的影响[J]. 辽宁农业科学, 1997, (3): 35 - 38.
- [15] 茹李军, 赵建周, 芮昌辉. 华北地区棉铃虫对转 Bt 基因抗虫棉抗性适应的模拟模型[J]. 昆虫学报, 2002, 45(2): 153 - 159.
- [16] Gore J, Leonard B R, Adamczyk J J. *Bollworm* (Lepidoptera: Noctuidae) survival on 'Bollgard' and 'Bollgard II' cotton flower bud and flower components[J]. J Econ Entomol, 2001, 94(6): 1445 - 1451.

Effect of transgenic cotton on the development and activity frequency of high resistant strain of *Helicoverpa armigera* (Hübner) to Bt cotton

GAO Cong-fen, SHEN Jin-liang, QIAN Yan, CHEN Jin

(Key Laboratory of Monitoring and Management of Plant Diseases and Insects, Ministry of Agriculture,
Nanjing Agriculture University, Nanjing, Jiangsu 210095, China)

Abstract: In Contrast with the development of susceptible strain of *Helicoverpa armigera* (Hübner) fed on SM12 and corn, the development and movable frequency of resistant strain fed on 33^B were studied. The results showed the larval and pupal stages of resistant strain fed on the terminal leaf, terminal bud of lateral branch and tender leaf/ bud/ boll of Bt cotton (33^B) were longer than those of susceptible strain fed on SM12, the development of resistant strain fed on 33^B was delayed for 13.4 d, 10.7 d and 7.0 d than the susceptible strain

fed on non-transgenic cotton, respectively; and 13.2 - 20.6 d than the susceptible strain fed on corn organ, respectively. Transgenic cotton was also found to cause a higher mortality and activity frequency of the bollworm larvae, lighter weight of pupae and lower pupation rate and emergence rate. The efficiency of high-dose/ refugy strategy was also discussed in this paper.

Key words: high level resistant strain of *H. armigera* (Hübner); transgenic cotton; development; activity frequency

(上接第 46 页)

Effects of bagging and shading on growth and quality of cucumber fruit

MENG Huan-wen, CHENG Zhi-hui, YANG Yu-mei, ZHANG Zhong-xin,
CHENG Xiao-jin, HUANG Hua-ning, LIU Tao

(College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Experiment was conducted to investigate the effects of bagging (female flower) with different material bags on the micro-environment, fruit growth and fruit quality in cucumber cv. Jinyou No. 3. The results showed that the temperature was increased but light intensity decreased by different level corresponding with the treatments. The black plastic film bagging increased temperature most and the paper bags decreased the light intensity most. Compared to the control, all the bagging treatments lowered the fruit setting rate, and the black plastic film bagging treatment decreased it most. However, all the bagging treatments, except the black plastic film bagging, enhanced the set fruit growth and the market fruit weight. On the other hand, bagging decreased the contents of soluble protein, soluble sugar, free amino acids and vitamin C of the fruit, and chlorophyll content in the fruit skin. The paper bagging treatments produced the lightest color of fruit. However, bagged fruit appeared clean and free from the pollutants of pesticides, fungicides, and dust on the surface. Therefore, it showed better sensory quality, but is less tasty.

Key words: cucumber; fruit bagging; micro-environment; fruit growth; quality