外源基因导入对棉花烟粉虱种群的影响*

顾爱祥[1] 周福才[1**] 杨益众[1] 周桂生[2] 李传明[1,3] 胡其靖[1] 任 佳[1] 史建华[1]

(1. 扬州大学园艺与植物保护学院 扬州 225009; 2. 扬州大学江苏省作物遗传生理重点实验室 扬州 225009; 3. 江苏里下河地区农业科学研究所 扬州 225007)

摘 要 以转基因棉花和对应的常规棉花亲本为材料,探讨外源基因导入对棉花烟粉虱 *Bemisia tabaci* (Gennadius)种群的影响。结果表明,在转基因棉花 GK12、33B、SGK 上,烟粉虱从卵发育到成虫羽化的历期分别为 15.56、15.35 和 15.25 d,较对应的常规棉亲本 SM3(19.38 d)、33(20.81 d)、SY321(18.76 d)分别短 24.55%、26.23%、18.71%;GK12 和 33B 棉花上烟粉虱的存活率(69.16%)分别较对应的常规棉亲本 SM3(54.76%)和 33(64.91%)高 26.29% 和 12.81%,而 SGK(63.21%)上烟粉虱的存活率与对应的常规棉亲本 SY321(62.61%)之间差异不显著;烟粉虱在 GK12(84.00)和 33B(77.25)上的产卵量分别较 SM3(62.25)、33(70.00)高 34.93% 和 10.35%,但 SGK 和 SY321 之间差异不显著;在转基因棉花 GK12、33B、SGK 上,烟粉虱的雌雄性比分别比对应的常规棉亲本高 26.71%、46.23% 和 19.17%。结果表明,外源基因导入后,有助于烟粉虱的发育,提高了烟粉虱的产卵量和雌雄性比,从而促进了烟粉虱种群的上升。

关键词 烟粉虱,转基因棉花,生长发育,繁殖

Effects of the expression of foreign insect-resistant genes in cotton plants on *Bemisia tabaci*

GU Ai-Xiang[1] ZHOU Fu-Cai[1**] YANG Yi-Zhong[1] ZHOU Gui-Sheng[2]
LI Chuan-Ming[1,3] HU Qi-Jing[1] REN Jia[1] SHI Jian-Hua[1]

(1. School of Horticulture and Plant Protection, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China;
2. Jiangsu Provincial Key Lab of Crop Genetics & Physiology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China;
3. Jiangsu Lixiahe Institute of Agriculture Science, Yangzhou 225007, China)

Abstract The effects of expression of foreign insect-resistant genes in cotton plants on *Bemisia tabaci* (Gennadius) were studied. Developmental durations (from egg to adult) of *B. tabaci* on three different varieties of transgenic Bt cotton plants, GK12, 33B and SGK, were 15.56, 15.35, and 15.25 d, respectively. These were respectively 24.55%, 26.23% and 18.71% shorter than those on the conventional parental cotton varieties SM3, 33 and SY321. The survival rates of *B. tabaci* on the transgenic Bt cotton varieties GK12 and 33B were 69.16% and 73.23% respectively, which were 26.29% and 12.81% higher than those on the parental varieties of these plants SM3 and 33 (54.76% and 64.91%). There was no significant difference in the survival rate of *B. tabaci* on the transgenic Bt cotton variety GK12 (63.21%) and its parental variety SY321 (62.61%). The fecundity of *B. tabaci* on the transgenic Bt cotton varieties GK12 and 33B was 84.00% and 77.25%, which was 34.93% and 10.35% higher than that on the parental varieties SM3 (62.25%) and 33 (70.00%). There was no significant difference in the fecundity of *B. tabaci* on SGK and SY321. The percentage of female *B. tabaci* on the transgenic Bt cotton plants GK12, 33B and SGK was 26.71%, 46.23% and 19.17% higher, respectively, to that on the parental varieties SM3, 33 and SGK. These results indicate that the introduction of the foreign Bt gene promoted the development of *B. tabaci* and increased oviposition and the percentage of females of this pest on cotton plants.

Key words *Bemisia tabaci*, transgenic cotton, growth and development, reproduction

---

* 资助项目:转基因生物安全监测技术(2011ZX08012-004)、国家自然科学基金(30771272)和江苏省自然科学基金(07KJB210134)。
** 通讯作者,E-mail:fczhou@yzu.edu.cn
收稿日期:2012-02-19,接受日期:2012-03-30

20 世纪 90 年代以来,转 Bt 基因棉花因其对棉铃虫等鳞翅目害虫有较好的控制效果而得到大规模的推广应用,种植面积不断扩大(郭三堆和崔洪志,1998;张龙娃等,2005),对我国的棉花生产产生了积极作用。然而,大量的研究虽然已经证实,转 Bt 基因棉花中的 Bt 毒蛋白对棉田刺吸式口器害虫无明显的直接作用(Sims,1995;Head *et al.*,1999),但田间调查研究发现,与常规棉花相比,转基因棉花上许多刺吸式口器害虫都有一定程度的增加,有些增加量高达 50% 以上(邓曙东等,2003)。烟粉虱在转 Bt 基因棉花上的种群密度也高于常规品种棉花(吴孔明等,2001;邓曙东等,2003;王风延等,2003;周福才等,2005)。随着人们对转基因生物安全性的关注,转基因棉花对环境的影响也引起了众多昆虫学家、生态学家的关注。人们从不同的侧面研究转基因棉花对非靶标害虫的影响。本文应用 3 种转基因棉花,通过与其对应的常规棉亲本的比较研究,探讨转基因棉花对田间烟粉虱种群的影响,以期为转基因棉田的生物安全性评价提供基础信息。

1　材料与方法

1.1　供试材料

供试棉花为转基因棉花 GK12(泗棉 3 号的转 Bt 基因棉花),33B(33 的转 Bt 基因棉花)、SGK(石远的转 Bt + *CpTI* 基因棉花),及对应的常规棉亲本泗棉 3 号(SM3)、33、石远(SY321)。棉花盆栽,常规管理。供试虫源为实验室饲养的烟粉虱,饲养寄主为番茄。

1.2　试验方法

1.2.1　烟粉虱发育速率和存活率观察　取盆栽的 3 种转基因棉花和 3 种常规棉花各 10 盆,统一选用 8 叶期棉花上第 5 ~ 6 叶 1 片,分别接烟粉虱成虫 10 对,放入人工气候箱中,24 h 后移去成虫,在解剖镜下每叶标记卵 30 ~ 40 粒,每天观察 1 次发育进度。卵孵化后,标记刚固定的 1 龄若虫 20 头,每日观察 1 次各虫的发育和死亡情况。试验温度为(28 ± 0.5)℃。

1.2.2　烟粉虱产卵量观察　取同期羽化的成虫 10 对,配对后接到笼罩的棉花叶片上,棉花叶柄插在湿润的花泥中,每叶接成虫 1 对。观察时,轻轻趋走成虫,取出叶片,在解剖镜下统计卵量,同时换新叶片让烟粉虱继续产卵。每 2 d 观察 1 次雌虫的产卵量,至成虫死亡为止。试验温度为(28 ± 0.5)℃。

1.3　数据处理

烟粉虱的产卵效应参照文献(An and Ren,2007)的方法计算。产卵效应:$O = m/\ln V$,其中:m 为平均产卵量,v 为方差。

应用威布尔频数分布理论模型(weibull frequency distribution)(黄明度和谭文捷,1987)对烟粉虱若虫阶段特定年龄存活率曲线方程进行拟合。威布尔频数分布理论模型:$S(t) = \exp[-(t/b)^c]$。式中 $S(t)$ 为年龄 t 时的死亡率,b 为尺度参数,c 为形状参数,当 $c > 1$ 时,死亡率是年龄的增函数;当 $c = 1$ 时,死亡率为一常量;当 $c < 1$ 时,死亡率是年龄的降函数。拟合后采用 Log-Rank test 分析种群存活率曲线间的差异性。

转基因棉花和对应的常规棉亲本之间发育历期、存活率、产卵量等参数的差异显著性用成对数据的 t 测验检验。显著性检验水平均为 $P \leqslant 0.05$。

2　结果与分析

2.1　转基因棉花对烟粉虱发育历期的影响

在转基因棉花上,烟粉虱卵和若虫的发育历期明显较对应的常规棉亲本短(表 1)。在 GK12、33B、SGK 上,烟粉虱从卵发育到成虫羽化分别为 15.56、15.35 和 15.25 d,较对应的常规棉亲本 SM3(19.38 d)、33(20.81 d)、SY321(18.76 d)分别短 24.55%、26.23%、18.71%,2 类品种之间差异显著($T_{GK12/SM3} = 3.27$, $df = 3$, $P = 0.005$; $T_{33B/33} = 2.62$, $df = 3$, $P = 0.015$; $T_{SGK/SY321} = 3.40$, $df = 3$, $P = 0.004$)。

2.2　转基因棉花对烟粉虱存活率的影响

在不同类型的转基因棉花上,烟粉虱的存活率表现不完全一致(表 2),在转单个 Bt 基因的 GK12 和 33B 棉花上,烟粉虱的存活率分别为 69.16% 和 73.23%,分别较对应的常规棉亲本 SM3(54.76%)和 33(64.91%)高 26.29% 和 12.81%,两者差异显著($T_{GK12/SM3} = 3.25$, $df = 3$, $P = 0.004$; $T_{33B/33} = 2.99$, $df = 3$, $P = 0.001$)。但在转 Bt + *CpTI* 双价基因的 SGK 棉花(63.21%)上烟粉虱的存活率与对应的常规棉亲本 SY321(62.61%)之间没有明显的差异。

表 1 不同品种棉花上烟粉虱的发育历期

Table 1 The developmental duration of *Bemisia tabaci* feeding on different cotton varieties

品种 Variety	发育历期 Developmental duration (d)						
	卵 Egg	1 龄 1st instar nymph	2 龄 2nd instar nymph	3 龄 3rd instar nymph	4 龄 4th instar nymph	蛹 Pupa	卵 ~ 蛹期 Duration from egg to pupa
GK12	4.12 ± 0.57	2.69 ± 0.25	3.00 ± 0.40	1.75 ± 0.25	1.50 ± 0.28	2.50 ± 0.28b	15.56 ± 1.19
SM3	4.75 ± 0.25	3.50 ± 0.28*	3.88 ± 0.40	2.50 ± 0.28	2.00 ± 0.40*	2.75 ± 0.25	19.38 ± 0.28*
33B	4.50 ± 0.28	2.75 ± 0.47	3.10 ± 0.40	1.50 ± 0.28	1.50 ± 0.28	2.00 ± 0.40	15.35 ± 1.65
33	5.24 ± 0.25*	4.74 ± 0.47*	4.08 ± 0.40	2.25 ± 0.47	2.00 ± 0.40*	2.50 ± 0.27*	20.81 ± 0.47*
SGK	4.00 ± 0.40	2.64 ± 0.47	3.11 ± 0.40	2.00 ± 0.40	1.25 ± 0.25	2.25 ± 0.25	15.25 ± 1.18
SY321	4.76 ± 0.47*	3.25 ± 0.47*	4.25 ± 0.47	2.25 ± 0.47*	1.75 ± 0.25	2.50 ± 0.28	18.76 ± 0.85*

注:表中数据为平均值 ± SE;* 表示转基因棉花与其对应的常规棉亲本之间经 *t* 测验差异显著($P < 0.05$)。下表同。

Data in the table are mean ± SE; and followed by asterisk indicate significantly different at 0.05 level by *t*-test between the transgenic cotton and their corresponding conventional cotton parent. The same below.

表 2 不同类型棉花上烟粉虱的存活率

Table 2 The survival rate of *Bemisia tabaci* feeding on different cotton varieties

品种 Variety	不同虫龄的存活率 Survival rate (%)						
	卵 Egg	1 龄 1st nymph	2 龄 2nd nymph	3 龄 3rd nymph	4 龄 4th nymph	蛹 Pupa	卵 ~ 蛹期 Duration from egg to pupa
GK12	90.16 ± 5.77*	85.00 ± 5.22*	95.00 ± 5.01*	95.00 ± 5.00	100.00 ± 0.00*	100.00 ± 0.00	69.16 ± 6.97*
SM3	85.34 ± 5.00	75.00 ± 9.57	90.01 ± 5.77	100.00 ± 0.00	95.00 ± 6.43	100.00 ± 0.00	54.76 ± 11.49
33B	90.64 ± 5.27	92.00 ± 5.77	94.32 ± 8.43	96.00 ± 5.00	98.65 ± 10.45*	100.00 ± 0.00	73.23 ± 9.12*
33	89.32 ± 5.47	90.00 ± 5.77	90.14 ± 5.78	95.00 ± 5.00	96.14 ± 8.93	100.00 ± 0.00	64.91 ± 10.21
SGK	92.03 ± 5.34	88.97 ± 6.46	90.32 ± 7.66	90.00 ± 2.43*	95.00 ± 6.43	100.00 ± 0.00	63.21 ± 8.60
SY321	90.22 ± 6.98	91.12 ± 8.77	95.32 ± 11.23	85.00 ± 5.00	94.00 ± 5.99	100.00 ± 0.00	62.61 ± 14.42

从烟粉虱若虫存活动态看,6 个品种棉花上烟粉虱若虫存活率的变化趋势基本一致,若虫在孵化后 2 ~ 4 d 死亡率较高,10 d 左右种群存活率趋于稳定(图 1)。应用威布尔频数分布理论模型拟合若虫期存活率曲线方程,发现死亡率是年龄的降函数,说明烟粉虱取食 6 种食料后,低龄幼虫期的死亡率均较高。Log-Rank test 检验结果表明,3 对棉花品种上烟粉虱若虫的生存曲线差异均不显著,其若虫期种群动态的变化趋势基本一致。

2.3 转基因棉花对烟粉虱产卵的影响

在不同类型的转基因棉花上,烟粉虱的产卵量表现也不完全一致(表 3),在转单个 Bt 基因的 GK12 和 33B 棉花上,烟粉虱的产卵量分别为 84.00 粒/雌和 77.25 粒/雌,分别较对应的常规棉亲本 SM3(62.25 粒/雌)和 33(70.00 粒/雌)高 34.93% 和 10.35%,两者差异显著(($T_{GK12/SM3}$ = 2.22, $df = 3$, P = 0.002; $T_{33B/33}$ = 3.03, $df = 3$, P = 0.012)。但在转 Bt + *CpTI* 双价基因的 SGK 棉花(65.25 粒/雌)上烟粉虱的存活率与对应的常规棉亲本 SY321(60.75 粒/雌)之间没有明显的差异。

在 3 种转基因棉花上,烟粉虱的产卵效应均大于对应的常规棉亲本,3 种转基因棉花上烟粉虱产卵效应分别比对应的常规棉亲本高 25.77%、24.69%、9.93%。3 种转基因棉花上烟粉虱的雌雄性比也明显较对应的常规棉亲本高 26.71%、46.23% 和 19.17%(表 3)。

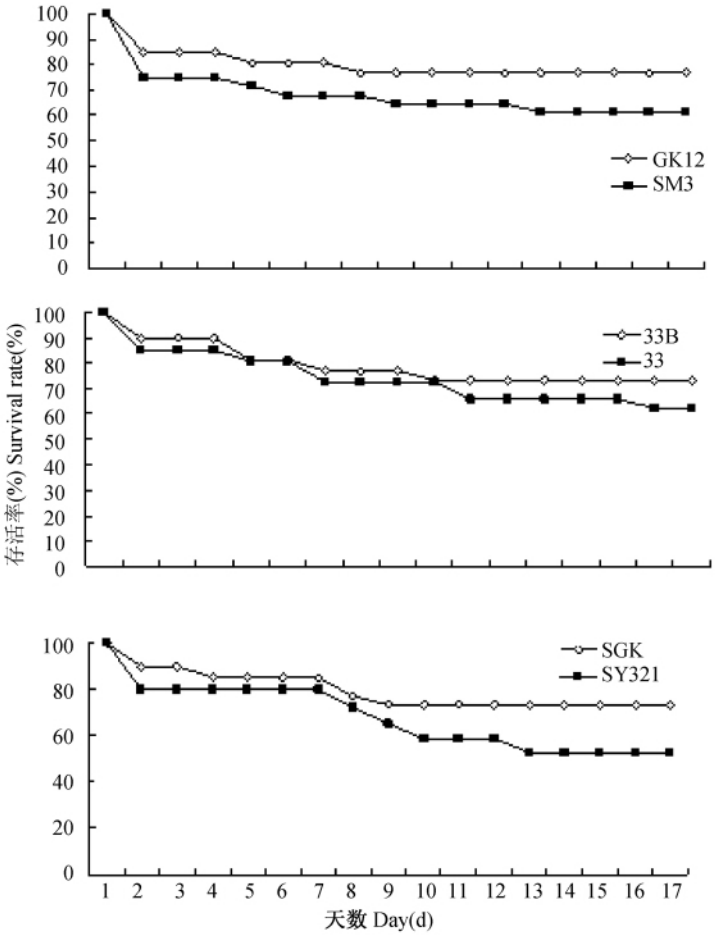

图 1　室内条件下取食不同类型棉花上烟粉虱若虫存活率曲线

Fig. 1　The survival curve of *Bemisia tabaci* nymph feeding on different cotton varieties in the laboratory

表 3　不同品种棉花对烟粉虱种群的产卵效应

Table 3　The spawning effect of *Bemisia tabaci* population feeding on different cotton varieties

品种 Variety	产卵量 Fecundity	产卵效应 Spawning effect	雌雄性比 ♀/♂
GK12	84.00 ± 7.49*	19.13	1.428
SM3	62.25 ± 10.85	15.21	1.127
33B	77.25 ± 4.30*	17.93	1.512
33	70.00 ± 5.70	14.38	1.034
SGK	65.25 ± 4.36	18.15	1.349
SY321	60.75 ± 3.14	16.51	1.132

2.4　烟粉虱种群的生命参数构建

将 6 个品种棉花上烟粉虱的生命参数组建成实验种群生命表(表 4)。从表 4 可以看出,取食转基因棉花的烟粉虱比对应的常规棉亲本具有更高的种群增殖潜力,与对应的常规棉亲本 SM3、33、SY321 相比,在 GK12、33B、SGK 棉花上,烟粉虱的内禀增长率 r_m 分别高 17.07%、6.83% 和 6.49%;净增值率 R_0 分别高 35.79%、12.63% 和 13.91%;种群加倍时间 T_d 分别短 17.09%、6.85% 和 6.51%。

表 4 烟粉虱实验种群生命表

Table 4 The life table of *Bemisia tabaci* experimental population

品种 Variety	生命表参数 Parameters of life table				
	内禀增长率 r_m	净增值率 R_0	平均周期时间 T	周限增长率 λ	种群加倍时间 T_d
GK12	0.1735	49.6200	22.5012	1.1895	3.9944
SM3	0.1482	36.5400	24.2731	1.1598	4.6753
33B	0.1719	45.4500	22.2023	1.1876	4.0320
33	0.1609	40.3500	22.9837	1.1745	4.3082
SGK	0.1738	38.5500	21.0077	1.1899	3.9870
SY321	0.1632	33.8400	21.5747	1.1773	4.2462

3 结论与讨论

外源基因导入植物后，可以影响植物的生理活动，使植物营养代谢发生改变，如在转基因棉花中糖类、氨基酸和缩合单宁的含量与亲本对照棉之间存在着明显的差异。植物营养代谢的改变，可以导致植物叶片维管束汁液中营养物质和抗生物质的绝对含量和相对含量发生改变，而这种改变打破了烟粉虱等刺吸式口器害虫食量中营养物质的平衡，最终影响害虫的生长发育和繁殖。张永军等(2001)研究发现，虽然外源 Bt 杀虫蛋白的表达不影响棉花原有的棉酚合成代谢，但是导入 Bt 基因后棉花体内的总酚含量显著低于对照，而这些物质是棉花抗朱砂叶螨的重要的次生代谢物质。目前，虽然还没有直接的证据证明转基因棉花对烟粉虱会产生直接的影响，但是大量的研究表明，外源基因导入后引起棉花生理代谢的改变(田晓莉，1999；田晓莉等，2000)，由此引起烟粉虱生境、食料中营养物质和抗生物质的变化(周福才等，2008)。本研究发现，在转基因棉花上烟粉虱种群上升的重要原因之一是有更快的发育速率、更高的存活率、更高的产卵量和更高的雌雄性比，而这些变化可能与外源基因导入棉花后引起棉花生理代谢的改变有关。

外源基因导入对植物产生的影响是多方面的，不同基因的导入对植物产生的效应也不完全相同(郭三堆和崔洪志，1999；姜涛等，2009)。本研究发现，导入 Bt 和 *CpTI* 双价基因的 SGK 棉花对烟粉虱的存活率、产卵量的影响不明显，而仅导入一个 Bt 基因的 GK12、33B 2 个品种的棉花对烟粉虱的存活率、产卵量影响明显，这是否是由于 SGK 棉花体内 2 个基因之间对棉花某些功能的表达产生了一定的拮抗作用？这一问题还有待进一步的研究。

参考文献(References)

An XC, Ren SX, 2007. The assessing system of host performance for herbivore populations. *Environm. Entomol.*, 36(4): 694—699.

Head G, Brown CR, Groth ME, 1999. *Cry1Ab* protein levels in phytophagous insects feeding on transgenic corn: implications for secondary exposure risk assessment. *Entomol. Exp. Appl.*, 99(1): 37—45.

Sims SR, 1995. *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* [CryIA(c)] protein expressed in transgenic cotton: Effects on beneficial insects and other non-target insects. *Southw. Entomol.*, 20(4): 493—500.

邓曙东，徐静，张青文，周世文，徐冠军，2003. 转 Bt 基因棉对非靶标害虫及害虫天敌种群动态的影响. 昆虫学报，46(1): 1—5.

郭三堆，崔洪志，1998. 中国转基因抗虫棉研究又取得新进展. 中国农业科学，31(6): 11.

郭三堆，崔洪志，1999. 双价抗虫转基因棉花研究. 中国农业科学，32(3): 1—4.

黄明度，谭文捷，1987. 介绍威布尔频数分布作为模拟昆虫存活率曲线的模型. 昆虫天敌，9(1): 50—53.

姜涛，褚栋，姜德锋，周洪旭，刘国霞，陶云荔，2009. 转 Bt + *CpTI* 基因棉对烟粉虱种群动态影响及其几丁质酶和 β-1,3-葡聚糖酶活性变化. 山东农业科学，9: 42—47.

田晓莉，1999. 转 Bt 基因抗虫棉产量构成和源库关系研究. 博士学位论文. 北京：中国农业大学.

田晓莉，杨培珠，王保民，何忠佩. 2000. 转 Bt 基因抗虫棉中棉所 30 的碳、氮代谢特征. 棉花学报，11(4): 172—175.

王风延，李瑞花，周兰英，于佃平，李军，李照会，2003. 转 Bt 基因抗虫棉田昆虫种群动态及综合防治研究. 莱阳农学院学报，20(1):16—20.

吴孔明,徐广,郭予元. 2001. 华北北部地区棉田烟粉虱成虫季节性动态. 植物保护,27(2):14—15.

张龙娃，柏立新，韩召军，束春娥，董双林，2005 . 转 Bt 基因棉田害虫和天敌组成及优势种类时序动态. 棉花学报，17(4):222—226.

张永军，2001. 外源 Bt 杀虫蛋白与棉花抗虫次生物的互作关系及转 Bt 基因棉花诱导抗虫性的研究. 博士学位论文. 北京:中国农业科学院.

周福才，杜予州，任顺祥，陈后庆，王勇，李瑛，秦洁洋，戴率善，2005. 江苏棉田烟粉虱的种群动态及控制. 扬州大学学报(农业与生命科学版)，26(1):89—93.

周福才，任顺祥，陈德华，李传明，2008. 外源 Bt 基因导入对棉花叶片维管束汁液的生化物质含量及烟粉虱种群增殖的影响. 中国生态农业学报,16 (6):508—512.