

实夜蛾亚科的种间杂交研究进展

徐 广 郭予元

(中国农业科学院植物保护研究所 北京 100094)

Research progresses on interspecific hybridization of Heliothinae. XU Guang, GUO Yu-Yuan.

Abstract This paper reviewed the interspecific hybridization of Heliothinae. It deals with the species with interspecific matings of Heliothinae, the sterility in hybrids from interspecific crosses between *Heliothis virescens* and *Heliothis subflexa*, the possible mechanism of sterility, the relationship of hybrids with other insects and the potential genetic control.

Key words Heliothinae, interspecific hybridization, sterility

摘 要 本文综述了实夜蛾亚科的种间杂交研究进展,包括已进行种间杂交的种类, *Heliothis virescens* 和 *Heliothis subflexa* 杂交后的回交雄虫不育现象、机理、杂种后代与其它生物的关系,以及在遗传防治上的应用。

关键词 实夜蛾亚科, 种间杂交, 不育

实夜蛾亚科 Heliothinae 主要由实夜蛾属 *Heliothis* 铃夜蛾属、*Helicoverpa* 和嗜寄蛾属 *Schinia* 3 个属组成^[1], 该亚科有许多重要的世界性农业害虫。种间杂交不仅可以研究实夜蛾亚科昆虫的系统学、遗传学和进化, 而且对遗传防治具有重要意义。

1 实夜蛾亚科的种间杂交

目前已经进行过的种间杂交的实夜蛾亚科昆虫有: 澳洲棉铃虫 *Helicoverpa punctigera* × 美洲棉铃虫 *H. zea*^[1]; 澳洲棉铃虫 × 棉铃虫 *H. armigera*^[1]; 棉铃虫 × 美洲棉铃虫^[1-3]; 烟青虫 *H. assulta* × 美洲棉铃虫^[4], 棉铃虫 × 烟青虫^[31] 以及烟芽夜蛾 *Heliothis virescens* × *H. subflexa*^[5]。

种间杂交的情况可以分为 3 类。(1) 种间交配无后代。目前已研究过的有澳洲棉铃虫 × 美洲棉铃虫和澳洲棉铃虫 × 棉铃虫^[1], 它们是可以交配的, 但没有发现雌虫产下可育的卵。(2) 种间交配能产生后代, 并且后代回交可育。已经将采自斐济^[1]、俄罗斯^[2] 和中国^[3] 的棉铃虫分别与采自智利和美国的美洲棉铃虫杂交, 虽然交配成功率相对较低, 但都可以产生后代, 并且

回交后代是可育的。还发现采自巴基斯坦的烟青虫与采自美国的美洲棉铃虫也有回交后代^[4]。这种生殖隔离的不严格性及其对物种划分的影响还有待于深入研究。(3) 种间交配能产生后代, 后代回交不完全可育。烟芽夜蛾雄虫与 *Heliothis subflexa* 雌虫交配后, F₁ 雄虫不育, 而雌虫可育。F₁ 杂种雌虫与烟芽夜蛾雄虫回交后又会产生不育雄虫和可育雌虫, 子代会把这种雄性不育的特征遗传下去^[5](图 1)。对这种种间杂交所产生的不育特性有较深入的研究, 并且已用于烟芽夜蛾的遗传防治。理论上还应该存在另一种种间杂交的情况, 即种间交配能产生后代, 但无法回交。

2 *H. subflexa* 和烟芽夜蛾的杂交及应用

2.1 回交雄虫不育现象

Laster 将 *H. subflexa* 雌虫与烟芽夜蛾雄虫杂交后^[5], 发现产生的杂种雄虫是不育的, 而雌虫是可育的。这些可育的杂种雌虫与烟芽夜蛾雄虫回交后产生可育的雌虫与不育的雄虫,

* 该研究得到国家“973 项目”的资助。

收稿日期: 1999-06-28

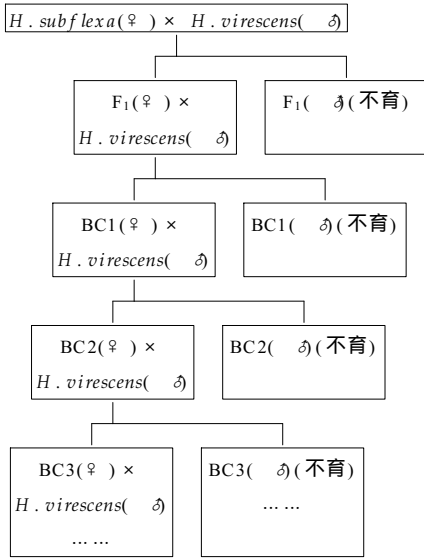


图1 *H. subflexa*(♀)和烟芽夜蛾 *H. virescens*(♂) 杂交及回交示意图

并且子代会把这种雄性不育的特征遗传下去,超过127代的杂种和回交种雄虫都是不育的^[6],他由此提出假说认为可利用这种雄虫的不育特性进行烟芽夜蛾的遗传防治,在实践中也对此进行了实验^[7]。

将采自美国密西西比州、德克萨斯州^[8]、St. Croix (西印度群岛中美属维尔京群岛的最大岛屿)^[9]、波多黎哥^[10]和阿根廷^[11]的烟芽夜蛾雄虫与 *H. subflexa* 雌虫都能杂交,并得到与图1相同的结果。但用于回交的雄虫对不同品系雌虫的选择性是有明显差异的。对用于回交的杂种与亲本的一些基本生物学性状进行的研究表明, F_1 代雌虫杂种的蛹重要显著大于雄虫蛹重且发育变慢,而烟芽夜蛾雌虫与 *H. subflexa* 雄虫的杂交 F_1 代则表现出相反的发育趋势^[5]。

Proshold 和 LaChance 的研究表明^[9], *H. subflexa* 雌虫与烟芽夜蛾雄虫相对较容易交配,4次试验中平均有44%的杂种雌虫进入了滞育,但进入滞育的性别和比例似乎在不同试验间是有变化的。杂种雌虫不易回交,回交后产的卵很少,而卵的孵化率很高,回交得到的后代是可育的。*H. subflexa* 雄虫与烟芽夜蛾雌虫相对不容易交配,原因是没有交配或雄虫没有传递正常的精子。交配产生的杂种雌虫不进入滞

育,较容易回交。杂种生物学性状有趣的改变值得进一步研究。

2.2 回交雄虫不育的机理

Goodpasture 等利用光学显微镜^[12,13]、LaChance^[14]利用电子显微镜发现 *H. subflexa* × 烟芽夜蛾 F_1 代及其雌性后代与雄性烟芽夜蛾回交得到的不育雄性回交种存在异常的精子发生,这些异常包括:个体精细胞的变化、精子束内精细胞结构的异常和精子束结构内总体敏感性的变化。烟芽夜蛾中有0~2.2%的精子束是有缺陷的, F_1 中的比例为75.9%~100%,而在用于回交的杂种中比例为25.4%~100%。没有或有极少的精子束,精子尾部异常是回交种雄虫不育的原因,异常的精子通常是双尾,有的甚至是4尾^[4,15]。LaChance 报道了一种鉴定不育回交种雄虫的细胞学方法^[16]。与正常雄虫紧密的精子束相比,不育的回交种雄虫精子束的尾部有一个隆起区域,精细胞间通常分离,精子束缺乏结构且不正常。Roehrdanz 根据 m tDNA 母性遗传的特点,利用 PCR-RFLP 分子方法检测了回交种后代不育基因的扩散^[17]。

最初 Proshold 和 LaChance 认为染色体的不联会可能是导致回交种雄虫不育的原因^[9],因为不育雄虫通常有20~28个二价染色体,其它染色体是非配对的(正常情况下有31对染色体)。但深入的研究表明用染色体不联会来解释回交雄虫是不全面的。首先,当 F_1 代杂种和回交种雌虫与 *H. subflexa* 雄虫交配后,雄虫不育性可在3~4代内部分恢复。其次,尽管 *H. subflexa* 染色体分离并与烟芽夜蛾同源染色体替换,但回交代雄虫的精子仍不能存活^[13,14]。这表明母性遗传的细胞质不育因素在精细胞的发育调节中起了重要作用^[18]。但对于细胞质不育因素导致雄虫不育的精确机制仍存在争议。一个机制认为不育是由于回交雄虫精子线粒体与母性遗传的细胞质不亲合。另一种机制认为不育是由于母性遗传的微生物与细胞核中父性遗传物质相互作用造成的不亲合性^[19]。

LaChance 等为了检测是否是母性细胞质遗传的微生物造成了图1所示的 *H. subflexa*

× 烟芽夜蛾雄性杂种不育,他们在人工饲料中加入了不同的抗生素,结果发现这并不影响杂种的形成^[20],通过幼虫体内注射抗病毒因子、热激以及极端温度饲养,发现雄性回交种的不育并不受这些因素影响,不育是很稳定的。他们认为细胞质中的微生物并不是影响回交不育的因素^[21]。更深入的研究表明^[18],精子中的线粒体的功能紊乱在分子水平表现为:(1)回交不育雄虫睾丸的线粒体转录物稳定状态的水平比烟芽夜蛾降低了3倍;(2)编码线粒体蛋白质的转录物在回交不育雄虫的睾丸中没有多聚腺苷化。线粒体 RNA 机制的异常可能直接导致了雄性回交种不育。

但是 PCR 扩增的 16S rDNA 分析表明,雄性不育回交种中的微生物源于 *H. subflexa*,而核基因组主要源于烟芽夜蛾。Miller 和 Miller 发现雄性不育回交种中大量存在一种细菌 *Enterococcus*^[22],而该细菌在 2 个亲本中的密度却很低。将该细菌注射到烟芽夜蛾幼虫体内,会使 90% 配对饲养的雄虫不育。他们认为 *Enterococcus* 可能直接导致不育,但胚胎表面消毒可能消灭了一种正常生育所需的微生物。Degrugiller 和 Newman 检测了几种实夜蛾亚科昆虫回交得到的杂种^[4],发现它们的精细胞中存在一种类病毒粒子(VLPs),VLPs 的存在和精子的异常变形存在中度至高度的相关性(53%~98%)。

2.3 杂种后代和其它生物的关系

Sheck 和 Gould 对 *H. subflexa* 与烟芽夜蛾及其杂种产卵嗜好性进行了遗传分析^[23]。在棉花、大豆、烟草和茄科酸浆属 *Physalis angulata* 4 种植物中,*H. subflexa* 最嗜好 *Physalis angulata*,烟芽夜蛾最嗜好烟草,而它们的正交和反交杂种都最嗜好烟草。

Tillman 和 Laster(1995)研究了茧蜂 *Microplitis croceipes* 对烟芽夜蛾、*H. subflexa* 及其杂种、回交种的寄生情况,没有发现寄生蜂的生物学性状有什么改变^[24]。

2.4 遗传防治

Laster 等估计^[25],要利用回交不育雄虫控

制密西西比三角洲的烟芽夜蛾种群,需要在 6~10 周内每天释放 5 百万头用于回交的杂种,估计每年的花费要 430 多万美元,相对于常规防治还是有经济效益的。Makela 和 Huettel 建立了利用回交不育雄虫遗传防治烟芽夜蛾的模型^[26],对回交不育雄虫的释放具有一定意义。

为了进行大规模释放,Hartley 等研究了利用多室的幼虫饲养容器饲养实夜蛾雄性不育杂种和收获蛹的方法,以该方法在 4 年内产生了 1000 多万头用于回交的蛹^[27]。King 等也报道了大规模饲养不育的用于回交的杂种的程序化方法,利用该方法在 1978~1982 年间共繁殖了 1000 多万头用于回交的杂种和烟芽夜蛾的蛹,在 1980 年的遗传防治计划中连续 117 天中平均每天释放 48831 头蛹^[28]。

1976 年,人们在 *Isabeia* 岛释放了数千头用于回交的成虫,通过 3 周的观察发现,用于回交的雌虫可以被当地的烟芽夜蛾雄虫吸引,用于回交的雌虫和当地烟芽夜蛾雄虫的交配会将雄性不育特性引入当地种群。在几次释放中,通过鉴定野生烟芽夜蛾种群中不育雌虫的增加、野生雄虫传递正常精子百分率的增加和对种群的控制作用而确定了室内种群与野生种群的交流情况^[29]。Proshold 等在 *St. Croix* 的 *Virgin* 岛上(218km²)4 次释放用于回交的杂种,试图控制烟芽夜蛾的当地种群^[29,30],他们研究了杂种的行为及其与当地种群的互作,以及不育特性混入当地种群的情况。释放的雌虫在开始飞行、取食和交配的时间上略早于当地的烟芽夜蛾种群,但在产卵时间和产卵地点的选择上没有差异。释放的回交雄虫和当地雄虫的活动节律是一致的。以蛹作为释放虫态时,当地种群和羽化的回交种群是随机交配的。以成虫为释放虫态时,杂种种群内交的比例比预料的高得多,这显然是由于释放成虫的不均等扩散造成的。作者认为应当以蛹为释放虫态。在点释放时,92% 交配过的当地种群雌虫是可育的,全岛释放中仅有 25% 的当地雌虫是可育的,不育雄虫的比例从 20% 上升到了 88%。不育特性被成功地引入了当地烟芽夜蛾种群,并抑制了种群增

长。雌虫多次交配对试验结果显然是有影响的。Martin 等在波多黎哥田间释放了用于回交的杂种^[10], 并研究了回交种的行为。将回交种雌虫和雄虫一起释放时会有非随机交配。即使回交种雌虫与回交种雄虫交配过, 回交种雌虫也会被野生雄虫吸引, 这意味着不育因素可以溶于田间种群中。释放的杂种雄虫显然无法与野生雄虫竞争野生雌虫, 但释放 2 或 3 天后, 释放雄虫的竞争能力会增强。基因组在自然条件下融合后, 环境因素和品系等因素造成的交配不同步性会消失。

虽然从理论上讲利用回交不育雄虫能够根本灭绝烟芽夜蛾种群, 但实际结果并非如此。这里面可能的原因很多, 其中释放连续用于回交的杂种数量、杂种与野生种群的交配竞争力、野生种群遗传结构的变异、雌虫的多次交配特性、种群的迁飞情况等诸多因素都可能影响到田间的实验结果。这种遗传防治不同于传统的辐射不育遗传防治, 因为它可将不育特性引入野生种群。在今后的研究中, 需要进一步深入研究其不育机理、降低释放成本、明确释放种群和野生种群的基因交流情况, 利用基因工程技术改造释放种群, 为成功的遗传防治奠定基础。

参 考 文 献

- Hardwick D. F. *Mem. Entomol. Soc. Can.*, 1965, **40**: 14~ 19.
- Laster M. L., Hardee D. D. *J. Econ. Entomol.*, 1995, **88**: 70~ 80.
- Laster M. L., Sheng C. F. *J. Econ. Entomol.*, 1995, **88**: 1288~ 1291.
- Degrugillier M. E., Newman S. M. *J. Invertebr. Pathol.*, 1993, **61**: 147~ 155.
- Laster M. L. *Environ. Entomol.*, 1972, **1**: 682~ 687.
- King E. G., Hartley G. G., Martin D. F. *et al. J. Econ. Entomol.*, 1985, **78**: 1166~ 1172.
- Proshold D. I., Laster M. L., Martin D. F. *et al.* In: *Proceedings of The International Workshop on Heliothis Management*. Pantancheru, A. P., India. 1981. 329~ 339.
- Laster M. L., Martin D. F., Pair S. D. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 1997, **70**: 293~ 295.
- Proshold F. I., LaChance L. E. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 1974, **67**: 445~ 449.
- Martin D. F., Laster M. L., Proshold F. I. *et al. Environ. Entomol.*, 1984, **13**: 701~ 707.
- Laster, M. L., King E. G., Furr R. E. *Environ. Entomol.*, 1988, **17**: 1016~ 1018.
- Goodpaster C., LaChance L. E., Richard R. D. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 1980, **73**: 397~ 403.
- Goodpaster C., Richard R. D., Martin D. *et al. Ann. Entomol. Soc. Am.*, 1980, **73**: 529~ 532.
- LaChance L. E. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 1984, **77**: 93~ 101.
- Richard R. D., LaChance L. E., Proshold F. I. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 1975, **68**: 35~ 39.
- LaChance L. E. *J. Econ. Entomol.*, 1987, **80**: 1348~ 1350.
- Roehardanz R. L. *J. Econ. Entomol.*, 1994, **87**: 676~ 679.
- Miller S. G., Huettel M. D., Davis M. B. *et al. Mol. Gen. Genet.*, 1986, **203**: 451~ 461.
- Hoy M. A. *Insect molecular genetics*. New York: AP Press, 1994.
- LaChance L. E., Kappenko C. R. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 1981, **74**: 493~ 497.
- LaChance L. E., Kappenko C. R. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 1983, **76**: 104~ 109.
- Miller S. G., Miller R. D. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 1996, **89**: 420~ 427.
- Sheck A. L., Gould F. *Environ. Entomol.*, 1995, **24**: 341~ 347.
- Tillman P. G., Laster M. L. *Environ. Entomol.*, 1995, **24**: 409~ 411.
- Laster M. L., Martin D. F., Parvin D. W. *Agric. For. Exp. Stn. Tech. Bull.*, 1977, 82.
- Makela M. E., Huettel M. D. *Theor. Appl. Genet.*, 1979, **54**: 225~ 233.
- Hartley G. G., King E. G., Brewer F. D. *et al. J. Econ. Entomol.*, 1982, **75**: 7~ 10.
- King E. G., Hartley G. G., Martin D. F. *et al. J. Econ. Entomol.*, 1985, **78**: 1166~ 1172.
- Proshold F. I. *J. Econ. Entomol.*, 1983, **76**: 1353~ 1359.
- Proshold F. I., Raulston J. R., Martin D. F. *et al. J. Econ. Entomol.*, 1983, **76**: 626~ 631.
- 王琛柱, 董钧锋. *科学通报*, 2000, **45**(20): 2209~ 2212.