

转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因水稻对大螟幼虫的取食、生长及存活的影响*

郭文娟 陆驰宇 熊应强 马鹤娟 李绍勤**

(华中农业大学植物科学技术学院 湖北省昆虫资源利用与害虫可持续治理重点实验室 武汉 430070)

摘要 本文采用活体生测的方法测定了转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因水稻对大螟 *Sesamia inferens* (Walker) 幼虫的取食、生长以及存活的影响。结果表明,以转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因水稻为食的大螟 3 龄和 5 龄幼虫的累计取食量和相对摄食率与对照相比都显著的减少。取食转 Bt 水稻后,大螟 3 龄和 5 龄幼虫体重均出现负增长。随着取食转基因水稻时间的延长,大螟 3 龄幼虫的校正死亡率可以达到 100%, 5 龄幼虫的校正死亡率达到 85%。

关键词 转基因水稻, 大螟, 取食, 生长, 存活

Food consumption, growth and survival of *Sesamia inferens* larvae on *cry1Ab/cry1Ac*-transformed gene Bt rice

GUO Wen-Juan LU Chi-Yu XIONG Ying-Qiang MA He-Juan LI Shao-Qin**

(Hubei Insect Resource Utilization and Sustainable Pest Management Key Laboratory, College of Plant Science and Technology, Huzhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract The food consumption, growth and survival of *Sesamia inferens* (Walker) larvae on *cry1Ab/cry1Ac*-transformed rice were measured by in vitro bioassay. The results show that both the cumulative and relative food consumption rates of 3rd and 5th instar larvae feeding on Bt rice were significantly reduced compared to those of larvae fed on the control variety. The net growth of both 3rd and 5th instar larvae fed on Bt rice was negative. The corrected mortality of 3rd instar larvae mostly reached 100%, and that of 5th instar larvae 85%, with increased time after feeding on Bt rice.

Key words transgenic rice, *Sesamia inferens*, consumption, growth, survival

大螟 *Sesamia inferens* (Walker) 是中国水稻主栽区一种重要的鳞翅目害虫。20 世纪 90 年代以来,随着杂交稻面积的推广,以及大量高毒化学农药的误用和滥用,大螟种群呈现逐步上升势头(傅强和黄诚文,2005)。张夕林(2011)也曾报道近年来沿江地区的大螟危害逐年加重,可能是由于忽视了对大螟的防治所引起。目前,防治螟虫主要依靠化学农药,但害虫抗药性上升的问题十分突出(高玉林等,2006)。黄诚华等(2006)研究表明,大螟对新型农药氟氯氰的适应能力明显高于二化螟,在有效防治二化螟的同时,可引起大螟种群数量的上升,这给大螟的防治带来了一定困难。Han 等(2008)在中国南方种植转 *Cry1Ac + CpTI* 双价

基因的水稻,对大螟种群动态进行研究发现,转基因和非转基因水稻上大螟幼虫的种群密度差别很大,非转基因水稻田间幼虫种群密度显著高于转基因稻田。我们近几年对水稻田间病虫害调查的结果也表明,大螟的为害情况日趋严重。

转基因水稻是利用非水稻来源的高效杀虫蛋白基因培育而成,对鳞翅目害虫具有很强的杀虫效果,其中对二化螟和三化螟的杀虫效果可以达到 100% (Wünn *et al.*, 1996)。目前有关转 Bt 水稻对于螟虫的作用效果主要集中在对二化螟、三化螟及稻纵卷叶螟等水稻害虫的研究 (Wang *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2005; 蔡万伦等, 2008), 以及转 Bt 水稻对田间生物群落的生态安全性评价

* 资助项目:转基因专项(2009ZX08013-017B)。

**通讯作者, E-mail: lishaoqin@mail.hzau.edu.cn

收稿日期:2011-12-20, 接受日期:2012-03-27

(Bernal *et al.* , 2002; 刘忠诚等, 2003; 刘雨芳等, 2006)。但是其对大螟的作用效果报道甚少。

本文采用活体取食生测的方法对大螟不同龄期幼虫取食转基因水稻后的取食率、生长率及存活率的影响进行研究,旨在明确汕优 63Bt 水稻对大螟的作用效果,为转基因水稻的评价提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

本实验在华中农业大学进行,所用虫源均来自湖北省鄂州市华容区常规水稻田。实验室饲养至成虫后,雌雄配对,任其在水稻叶鞘内产卵。收集卵块,放入 25℃、RH75%、光照 L:D = 16:8 的人工气候箱中待其孵化。孵化后以新鲜稻秆饲养,建立实验室种群。

1.2 供试水稻

本文所选转基因水稻品种是由华中农业大学选育的汕优 63Bt 水稻,是以汕优 63 为父本的高抗鳞翅目害虫的转 *cry1Ab/cry1Ac* 双价基因水稻品种,其具有生产性状好、杀虫效率高的特点。目前已经获得在湖北省进行生产应用的安全许可。对照水稻选用其亲本汕优 63 (SY63)。上述水稻品种由华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室提供。

1.3 试验方法

选取部位相同、粗细一致的分蘖期 SY63Bt 水稻稻秆一段称重后放入 18 mm × 180 mm 的试管

中,试管底部用湿的棉球保湿,端部用 200 目纱网封住后用橡皮筋绑住。处理时,每管接入饥饿 2 h 的大螟 3 龄(或 5 龄)幼虫 1 头,接入前幼虫称重,放入 25℃、RH75%、光照 L:D = 16:8 的人工气候箱中。取食 24 h 后移出剩下的水稻稻秆烘干并且称重,幼虫亦称重,共处理 20 头幼虫。连续处理,直至大部分幼虫死亡。以 SY63 做对照,进行同样处理,同时设置空白对照组,以校正稻秆的失水率。参照陈志辉(1987)的方法计算相对摄食速率(RCR)和相对生长速率(RGR)。

1.4 数据分析

采用 MS EXCEL 和 SAS (The SAS System for Windows V9.1) 软件对实验数据进行单因素方差分析。重复数据计算其平均值和标准误(SE)。

2 结果与分析

2.1 转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因水稻对大螟幼虫食物消耗和体重增加的影响

转 *cry1Ab/cry1Ac* 水稻对大螟幼虫的累计取食量、相对摄食率(RCR)和相对增长率(RGR)的影响如表 1 所示。当 3 龄幼虫以 *cry1Ab/cry1Ac* 水稻为食时,累计取食量 ($F = 50.93$; $df = 1, 39$; $P < 0.01$)、相对摄食率 RCR ($F = 27.23$; $df = 1, 39$; $P < 0.01$) 和相对增长率 RGR ($F = 58.20$; $df = 1, 39$; $P < 0.01$) 都极显著减少。与对照相比,累计取食量减少了 80.60%,相对摄食率 RCR 减少了 61.13%,相对增长率减少了 136.27%。而当 5 龄幼虫以 *cry1Ab/cry1Ac* 水稻为食时,累计取食量 (F

表 1 转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因水稻对大螟幼虫的累计取食量、相对摄食率 (RCR) 和相对增长率 (RGR) 的影响
Table 1 Effect of transgenic *cry1Ab/cry1Ac* rice on cumulative food consumption, relative consumption rate (RCR) and relative growth rate (RGR) of *Sesamia inferens* larvae

龄期 Instar	类型 Genotype	累计取食量 Cumulative food consumption (g/larvae)	相对摄食率 (RCR)	相对增长率 (RGR)
3 龄 3rd instar	Bt rice	0.026 ± 0.009b	0.199 ± 0.040b	-0.037 ± 0.008b
	CK	0.134 ± 0.0120a	0.512 ± 0.044a	0.102 ± 0.016a
5 龄 5th instar	Bt rice	0.057 ± 0.012b	0.120 ± 0.017b	-0.022 ± 0.005b
	CK	0.180 ± 0.026a	0.258 ± 0.029a	0.042 ± 0.007a

注:累计取食量在 3 龄幼虫为试验起 3 d 进食量之和,在 5 龄幼虫为试验起 5 d 进食量之和。表中数据为平均值 ± SE,同行数据后标有不同小写字母表示在 0.05 水平上显著差异。

Total food consumption for 3rd instar larvae means total food consumed during the previous three days after the test, and for 5th instar larvae during the previous five days after the test. Data are mean ± SE, and followed by different letters in the same row indicate significantly different at the 0.05 level.

= 16.53; $df = 1, 39$; $P < 0.01$)、相对摄食率 RCR ($F = 16.50$; $df = 1, 39$; $P < 0.01$) 和相对增长率 ($F = 48.80$; $df = 1, 39$; $P < 0.01$) 也都极显著减少。与对照相比,累计取食量减少了 68.33%,相对摄食率 RCR 减少了 53.49%,相对增长率减少了 152.38%。

转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因水稻对大螟 3 龄幼虫的日食物消耗量动态变化的影响如图 1 所示,当 3 龄幼虫以 *cry1Ab/cry1Ac* 水稻为食时,第 1 天、第 2 天和第 3 天的日食物消耗量均低于对照,且差异极显著。

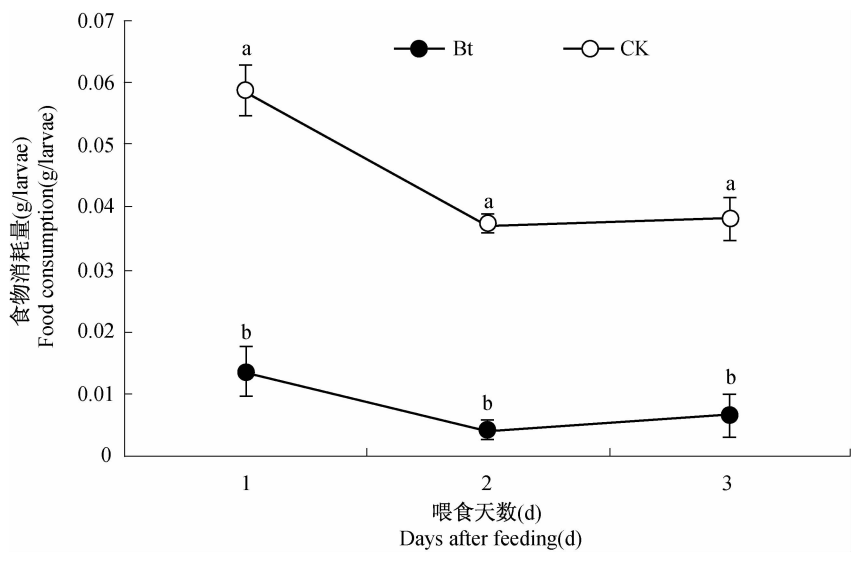


图 1 转 *cry1Ab/cry1Ac* 水稻对大螟 3 龄幼虫的日食物消耗量的影响
Fig.1 Effect of transgenic *cry1Ab/cry1Ac* rice on the dynamics in daily food consumption of 3rd instar larvae of *Sesamia inferens*

注:图中数据为平均值±标准误,图中不同字母表示在 0.05 水平上存在显著差异,下同。
The data in the figure are mean ± SE, and those with different letters are significantly different at the 0.05 level. The same below.

转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因水稻对大螟 5 龄幼虫的日食物消耗量动态变化的影响如图 2 所示,当 5 龄幼虫以 *cry1Ab/cry1Ac* 基因水稻为食时,第 1 天、第 3 天和第 4 天的日食物消耗量都显著低于对照,其余时间与对照差异不显著。

转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因水稻对大螟幼虫体重净增长的影响如图 3 所示,3 龄和 5 龄幼虫以转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因水稻为食时都出现体重负增长,而对照却是显著的正增长。

2.2 转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因水稻对大螟幼虫存活的影响

转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因水稻对大螟幼虫存活的影响如图 4,转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因水稻对 3 龄和 5 龄幼虫都表现出了高毒性,幼虫的校正死亡率从取食转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因水稻开始就出现了显著

增长,到试验结束时,大螟 3 龄幼虫的校正死亡率基本可以达到 100%,5 龄幼虫的校正死亡率达到 85%。

3 讨论

Ye 等(2001)对转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因水稻田间 4 种鳞翅目害虫为害情况进行调查发现转 Bt 水稻对靶标害虫幼虫呈现出高致死作用;韩兰芝等(2009)研究表明转 Bt 水稻苗期和分蘖期离体茎秆对大螟初孵幼虫致死作用可达到 100%。但是由于大螟是多食性昆虫,幼虫在 2~3 龄后会转株为害,转株为害的大螟高龄幼虫是否能被 Bt 毒蛋白所控制,为防止大螟对 Bt 产生抗性而采用的庇护所策略是否有效,尚不明确。本文通过转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因水稻对大螟 3 龄和 5 龄幼虫的作用效果,使得这些问题得以解释。

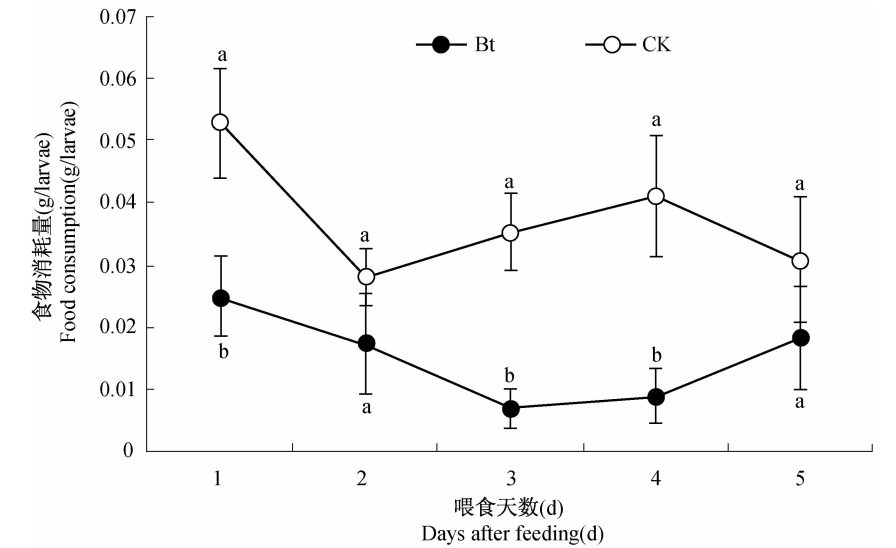


图2 转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因水稻对大螟 5 龄幼虫的日食物消耗量的影响
Fig.2 Effect of transgenic *cry1Ab/cry1Ac* rice on the dynamics in daily food consumption of 5th instar larvae of *Sesamia inferens*

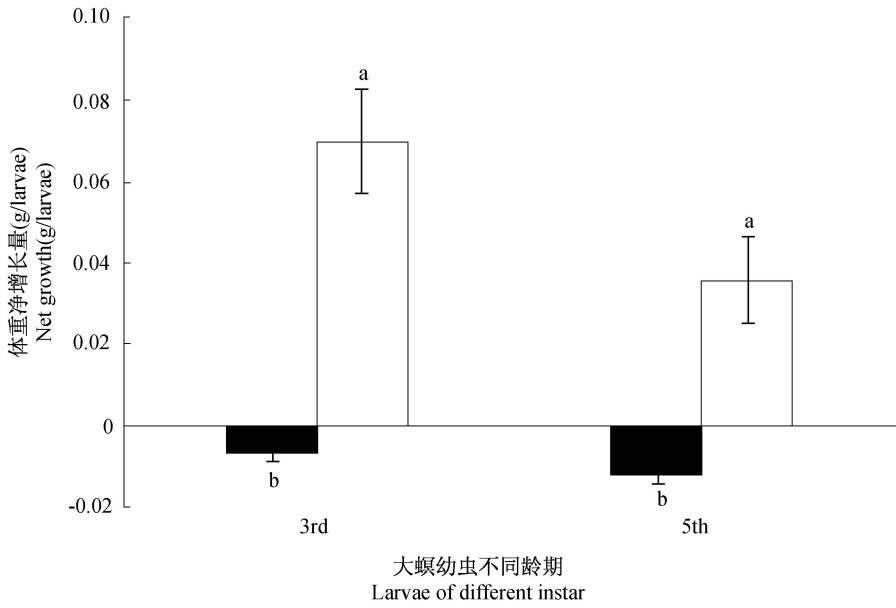


图3 转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因水稻对大螟幼虫体重净增长的影响
Fig.3 Effect of transgenic *cry1Ab/cry1Ac* rice on the net growth of body weights for 3rd instar and 5th instar larvae of *Sesamia inferens*

本研究结果表明,转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因水稻对大螟 3 龄和 5 龄幼虫同样表现出高毒性。大螟 3 龄和 5 龄幼虫的取食量和相对增长率都有显著的影响。试验开始后,3 龄和 5 龄幼虫的累计取食量都显著低于对照水平,且取食转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因水稻后,大螟幼虫均出现体重减轻的负增长现象,而对照则是显著的正增长。这一现象与转

基因水稻对稻纵卷叶螟以及二化螟的作用效果一致 (Wang *et al.* , 2001;Li *et al.* , 2005)。

从研究结果来看,大螟 3 龄和 5 龄幼虫在取食转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因水稻时日食物消耗量的动态变化有所不同,虽然都是在取食第 1 天时表现出最大取食量,但是 3 龄幼虫的取食量随时间增加逐渐减少,且与对照相比有极显著差异,5 龄幼

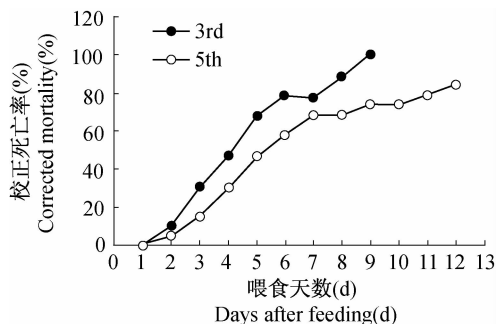


图4 转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因水稻对大螟3龄和5龄幼虫存活的影响

Fig. 4 Effect of transgenic *cry1Ab/cry1Ac* rice on the survival of 3rd instar and 5th instar larvae of *Sesamia inferens*

虫在取食的第3天食物消耗量达到最低值,随后缓慢回升,试验后期食物消耗量虽然均值低于对照,但是与对照无显著差异。这说明大螟5龄幼虫对 *cry1Ab/cry1Ac* 基因的敏感性不如3龄幼虫,3龄幼虫有可能具有区分有毒茎秆和无毒茎秆的能力,从而拒绝食用转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因的水稻茎秆,除非极度饥饿时才会食用。这一点与二化螟幼虫取食转 *cry1Ab* 基因水稻 (Wang *et al.*, 2001) 及欧洲玉米幼虫取食转 *cry1Ab* 基因玉米 (Davis and Coleman, 1997) 的表现一致,二化螟3龄幼虫在取食“克螟稻1号”时取食量由大变小,而5龄幼虫取食量虽然低于对照但是有逐渐增加的趋势;在转基因玉米上取食的欧洲玉米螟初孵幼虫取食量显著受到抑制,而高龄幼虫却可以取食一段相对较长的时间。

转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因水稻对大螟3龄和5龄幼虫表现出高毒性,特别是对于低龄幼虫,校正死亡率可以达到或接近100%。但是对于低龄和高龄幼虫的作用效果还是有所不同。大螟3龄和5龄幼虫在试验初期,其校正死亡率随着时间的推移稳定上升,3龄幼虫在试验的9d左右基本可以达到100%死亡率,但是5龄幼虫的死亡率在试验7d之后开始变得平缓,最终的校正死亡率只能达到85%左右。这与韩兰芝等 (2009) 及高玉林等 (2006) 关于转基因水稻对大螟的致死作用的报道相符,与二化螟相比,大螟的防治效果稍差,部分大螟幼虫可以在转基因水稻上完成幼虫期发育,甚至化蛹、羽化。张广林等 (2007) 检测螟虫对4种Bt毒蛋白的敏感性也得出,大螟对4种Cry蛋

白的敏感性及其种群异质性变化与二化螟的相似,但是大螟对Cry蛋白的敏感性相对较低。

转Bt水稻对大螟和二化螟的作用效果不同,二化螟相对于大螟来说,对Bt毒蛋白表现出更强的敏感性。这一结果可能导致田间螟虫结构发生变化。20世纪90年代以来,我国稻螟灾害达历史最高水平,其中二化螟灾害尤为严重 (盛承发等, 2003),但是随着转基因水稻的推广以及氟氯氰等化学农药的使用,可能使处于次要害虫地位的大螟跃居于主要害虫行列。所以在利用转基因水稻防治水稻螟虫的同时,我们也应该确保将转基因水稻潜在的生态影响降到最低。

参考文献 (References)

- Bernal CC, Aguda RM, Cohen MB, 2002. Effect of rice lines transformed with *Bacillus thuringiensis* toxin genes on the brown planthopper and its predator *Cyrtorhinus lividipennis*. *Entomol. Exp. Appl.*, 102(1):21–28.
- Davis PM, Coleman SB, 1997. European corn borer (Lepidoptera:Pyralidae) feeding behavior and survival on transgenic corn containing CryIAb protein from *Bacillus thuringiensis*. *J. Kansas Entomol. Soc.*, 70:31–38.
- Han L, Liu P, Wu K, Peng Y, Wang F, 2008. Population dynamics of *Sesamia inferens* on transgenic rice expressing *CryIAc* and *CpTI* in southern China. *Environ. Entomol.*, 37(5):1361–1370.
- Li FF, Ye GY, Chen XX, Peng YF, 2005. Effects of transgenic Bt rice on the food consumption, growth and survival of *Chaphalocrocis medinalis* (Guenée) larvae. *Rice Sci.*, 12:202–206.
- Wang SG, Ye GY, Hu C, Shu QY, Xia YW, Illimar Altosaar, 2001. Effect of Bt rice on the food consumption, growth and survival of *Chilo Suppressalis* larvae under different temperatures. *Insect Sin.*, 8(3):218–226.
- Wünn J, Klöti A, Burkhardt PK, Ghosh Biswas GC, Launis K, Iglesias VA, Potrykus I, 1996. Transgenic indica rice breeding line IR58 expressing a synthetic *cryIA(b)* gene from *Bacillus thuringiensis* provides effective insect pest control. *Nat. Biotechnol.*, 14:171–176.
- Ye GY, Tu J, Hu C, Datta K, Datta SK, 2001. Transgenic IR72 with fused Bt gene *cry1Ab/cry1Ac* from *Bacillus thuringiensis* resistant against four lepidopteran species under field conditions. *Plant Biotechnol.*, 18(2):125–133.
- 蔡万伦,杨长举,张宏宇,华红霞,杨杉,翟小站,姚英娟,石

- 尚柏,2008. 转 Bt 水稻对三化螟自然种群的影响. 昆虫学报, 51(1):556 – 560.
- 陈志辉,1987. 昆虫营养指标的定量测量与计算. 昆虫知识, 24(5):299 – 301.
- 傅强,黄诚文,2005. 水稻病虫害诊断与防治原色图谱. 北京:金盾出版社. 80.
- 高玉林,傅强,王锋,赖凤香,罗举,彭于发,张志涛,2006. 转 *cryIAc* 和 *CpTI* 双基因抗虫水稻对二化螟和大螟的致死效应及田间螟虫构成的影响. 中国水稻科学, 20(5):543 – 548.
- 韩兰芝,侯茂林,吴孔明,彭于发,王锋,2009. 转 *cryIAc* + *CpTI* 基因水稻对大螟的致死和亚致死效应. 中国农业科学, 42(2):523 – 531.
- 黄诚华,姚洪渭,叶恭银,程家安,2006. 氟虫腈亚致死剂量处理对二化螟和大螟幼虫体内解毒酶系活力的影响. 中国水稻科学, 20(4):447 – 450.
- 刘雨芳,贺玲,汪琼,胡斯琴,刘文海,陈康贵,尤民生,2006. 转 *CryIAc/sck* 基因抗虫水稻对稻田寄生蜂群落影响的评价. 昆虫学报, 49(6):955 – 962.
- 刘志诚,叶恭银,胡萃,Swapan K DATTA,2003. 转 *cryIAb/cryIAc* 基因籼稻对稻田节肢动物群落影响. 昆虫学报, 46(4):454 – 465.
- 盛承发,王红托,盛世余,高留德,宣维健,2003. 我国稻螟灾害的现状 & 损失估计. 昆虫知识, 40(4):289 – 294.
- 张广林,韩成香,姚洪渭,叶恭银,2007. 水稻螟虫对 4 种 Bt 杀虫蛋白的敏感性测定. 植物保护, 33(6):78 – 80.
- 张夕林,2011. 沿江稻区大螟危害逐年加重. 江苏农业科技报, 8(3):1.