

一种深色型粘虫成虫体色突变体的遗传分析*

李 栋 张云慧 李祥瑞 程登发^{**}

(中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害生物学国家重点实验室 100193)

摘要 【目的】在粘虫 *Mythimna separata* (Walker) 常规饲养种群和室外监测中发现一种成虫体色突变体, 本文主要研究其遗传模式及进行表型观察。【方法】用杂交实验的方法对该突变体进行观察研究。【结果】与正常型相比, 该突变体的腹、翅颜色等形态特征与正常型有显著的不同; 卵、幼虫的颜色与正常型的没有明显的区别; 蛹的颜色前期没什么区别, 临近羽化时表现为颜色较深。正常型与突变体正反交 F_1 代均为正常型, F_2 代正常型和突变体分离比例为 3.24 : 1, 回交比例为 1.18 : 1, F_2 代突变体自交, 后代全为突变体。【结论】该突变体的遗传符合孟德尔的遗传规律, 属于常染色体上单基因控制的隐性遗传性状。本项研究结果可以为粘虫的遗传防治、进化上的环境适应性及内在分子机制研究提供参考。

关键词 粘虫, 体色突变体, 遗传分析

Genetic analysis of a *Mythimna separata* (Walker) body color mutant

LI Dong ZHANG Yun-Hui LI Xiang-Rui CHENG Deng-Fa^{**}

(Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract [Objectives] Body color mutants of *Mythimna separata* (Walker) were found in a laboratory colony and in the wild and their phenotypes observed. [Methods] A hybridization experiment was used to analyze the genetic basis of this mutation. [Results] Compared with normal moths, the adult body of mutants, especially the abdomen and wings, were darker in color. There were no obvious differences in the appearance of eggs, larvae and early pupae, but immediately before eclosion, mutant pupae were darker in color than normal pupae. The results of the hybridization experiment show that the proportion of the normal type in F_1 progeny of reciprocal crosses between normal and mutant parents was 100%, whereas the ratio of F_2 segregation between normal and mutant types was 3.24 : 1. The ratio in backcrosses was 1.18 : 1. In addition, progenies of self-crossed F_2 mutants were exclusively of mutant type. [Conclusion] The results of the hybridization experiment are consistent with Mendelian, monogenic autosomal recessive inheritance. These results shed light on the molecular mechanism determining moth body color differentiation at both the genetic and environmental levels and contribute to the theoretical basis for the prediction and integrated management of *M. separata*.

Key words *Mythimna separata*, body color mutant, genetic analysis

粘虫 *Mythimna separata* (Walker) 为鳞翅目, 夜蛾科昆虫, 在国内除新疆未见发生危害外, 遍布其它各省, 因其群聚性、迁飞性、杂食性、暴食性的危害特点, 成为全国性重要农业害虫。在 20 世纪 80 年代之前, 粘虫是我国粮食作物上的

重要害虫, 随着种植结构的调整, 大大压低粘虫越冬种群密度, 致使江淮 1 代粘虫发生区已不再是重要小麦害虫(李光博, 1993)。随着全球气候变化, 耕作制度变迁, 进入 21 世纪粘虫发生危害呈上升趋势, 2002 年 3 代粘虫在华北地区局部

* 资助项目: 公益性行业专项(201403031); 现代农业产业技术体系(CARS-3)

**通讯作者, E-mail: dfcheng@ippcaas.cn

收稿日期: 2014-07-10, 接受日期: 2014-07-16

危害严重(潘蕾和翟保平, 2009)。2012年3代粘虫在华北、东北地区再次大面积暴发, 给我国的夏粮生产带来了严重的威胁(张云慧等, 2012)。由于粘虫发生为害的面积广, 造成直接的经济损失严重, 明确新的环境条件下, 粘虫的发生为害规律及相关的生物学、生态习性, 对于指导农业生产和有效防控具有重要的意义。

多项研究表明昆虫体色的突变是为了更好的适应环境的变化, 自然选择的结果形成了生物与环境相适应的现象, 已经记载的黑化昆虫中以鳞翅目最多。何丽华等(2010)在棉铃虫实验室常规饲养种群中发现新的体色突变体表现型。蚜虫体色变化的生态遗传学机制国内外的研究工作也一直在进行(赵惠燕等, 1993; 杜桂林等, 2007)。对粘虫黑化的大量研究表明, 黑化粘虫蛾虽然在形态与正常型有明显的区别(刘红兵, 2002), 但黑化粘虫的幼虫发育较快, 蛹重大, 成虫的繁殖能力强等。粘虫黑化是成虫体色突变的一个典型, 但是随着环境的不断变化黑化基因型也会演化成不同的基因型(刘红兵等, 2002; 刘红兵和罗礼智, 2004)。除了黑化, 对粘虫具有显著表型特征且能稳定遗传突变体的研究很少报道。在实验室常规饲养粘虫种群和野外监测点采集的虫源中, 我们发现一种新的体色突变体表现型。其正常型的成虫体色为浅褐色, 突变体表现为明显的深的红褐色, 与黑化粘虫存在很大区别。本文通过杂交实验(孔繁玲和韩立新, 1993)的方法对这种成虫体色的突变体进行初步分析, 为粘虫遗传防治的研究及开展粘虫成虫体色突变体的生态学特性及内在分子机制等研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验虫源

1.1.1 虫源 正常型粘虫是2013年6月在北京市延庆县探照灯诱虫器诱捕的正常型成虫产卵产生的后代, 并在实验室进行多代饲养。突变体是2013年7月河北承德玉米田采集的幼虫, 通过室内饲养产生的后代有正常型和突变体; 正常

型和突变体都在同样的实验条件下隔离实验, 取虫卵作为试验虫源。

1.1.2 两种型的划分 将普通粘虫称为正常型, 体色为浅黄褐色, 前后翅、腹部、足都表现为浅的褐色; 突变体体色表现为颜色较深的红褐色, 前后翅、腹部、足都表现为泛红的红褐色, 肉眼很容易区分。

1.2 试验条件和方法

1.2.1 试验条件 正常型和突变体均在室内正常的饲养条件((23 ± 1) °C, 光周期 L12:D12)下饲养。幼虫用人工饲料喂养置于长指型的玻璃管(2.5 cm×10 cm)里饲养。成虫羽化后配对置于两头盖有双层纱布的圆柱体塑料罩(10 cm×20 cm)中用5%蜂蜜水饲喂。

1.2.2 粘虫表型的观察 在实验的过程中, 分别将正常型与突变体粘虫的成虫、蛹、幼虫和卵用肉眼观察表型, 并作详细的对比, 以寻找其形态特征特别是体色方面的差异(林昌善, 1990)。成虫的形态特征描述以《中国经济昆虫志》(朱弘复和陈一心等, 1964)中的粘虫描述中使用的术语为依据。有必要的时候保存活体和拍照记录, 以便反复验证, 力求描述的详细与准确。

1.3 遗传模式的确定

1.3.1 正常型的雌雄和突变体的雌雄分别配对杂交的F₁代观察 将粘虫正常型的雌雄成虫与突变体的雌雄成虫排列组合成4组, 单蛾配对, 将所产生的卵孵化后的幼虫饲养至成虫, 分别调查成虫的体色情况。

1.3.2 F₁代自交后的F₂代观察 将F₁代成虫自交, 羽化后调查F₂代成虫体色的表现和分离比例。统计成虫的雌雄及体色分离比例, 判定控制该突变性状的基因数和遗传特性。根据形状分离比的实际比例和理论比例之间的差异程度, 计算符合度或适合度(戴君惕和王身立, 1989)。

1.3.3 F₁代与突变体的回交得到RF₁代观察 将F₁代雌雄成虫与突变体雌雄成虫进行回交, 羽化后调查回交后代RF₁代成虫的体色表现种类和比例。

1.3.4 F₂代的突变体自交后观察 将F₂代的突变体成虫选出单蛾配对，继代饲养观察后代的体色表现型及分离比例。验证F₂代突变体的基因型及该突变体的分离规律。

2 结果与分析

2.1 粘虫表型观察

通过肉眼观察，粘虫突变体的卵和幼虫在整个生育期的表型和正常型没什么区别。单头饲养的条件下，突变体的蛹大小、重量比正常型的略大，蛹的颜色在刚化蛹时区别不大，羽化前期，突变体颜色较正常型的深（图1）；突变体的成虫的体色包括翅、腹部、足较正常型的深，泛红，差异显著（图2）。

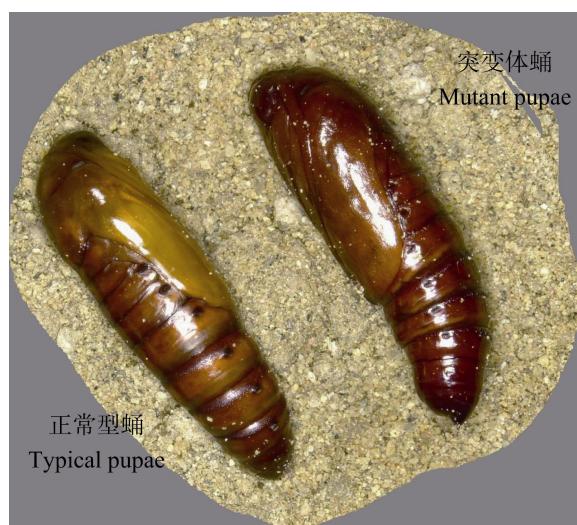


图1 突变体和正常型羽化前蛹体色比较
Fig. 1 Comparison of typical form and mutant type

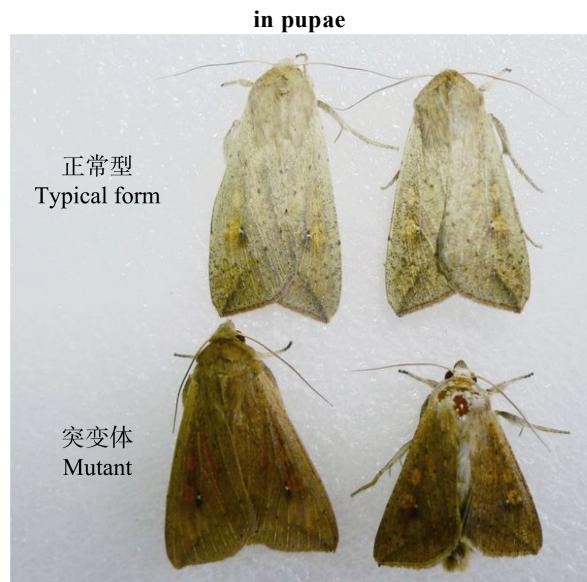


图2 正常型和突变体粘虫成虫体色比较
Fig. 2 Comparison of phenotype of typical form and mutant in *Mythimna separata*

2.2 正常型和突变体成虫系列杂交试验结果

在相同的环境条件下，正常型和突变体的雌雄成虫杂交（正常型♀×突变体♂，正常型♂×突变体♀），所产生的后代即F₁代的所有成虫的性状表现是相同的，只表现出正常型的表现型；正常型和正常型配对的成虫所产生的后代成虫体色也大部分都是正常型，说明亲本正常型的纯合度较高；突变体之间的配对产生的后代成虫的性状表现仍然是突变体。但是F₁代自交所产生的F₂代中，出现了性状分离，正常型和突变体的比例和基因分离定律的理论值基本一致（表1）。据此通过卡方 χ^2 检验，理论值和实际值符合孟德

表1 4组杂交试验及F₁代自交后代的成虫体色

Table 1 Body color in four hybrid progenies and self-crossed progenies of F₁

区组 Groups	正常型 Typical form	突变体 Mutant	实际比值 Real ratio	理论比值 Theoretical ratio	$\chi^2_{Yn=1Y}$
正常型×正常型	147	0	1:0	1:0	0
突变体×突变体	0	126	0:1	0:1	0
正常型♀×突变体♂	185	0	1:0	1:0	0
正常型♂×突变体♀	142	0	1:0	1:0	0
F ₁ 代自交 (F ₂ 代)	149	46	3.24:1	3:1	0.125

$\chi^2_{0.05} = 3.84$ 。实际比值与理论比值均指正常型与突变体个数的比值，下表同。

$\chi^2_{0.05} = 3.84$. Both the actual ratio and theoretical ratio are the number of mutant to typical form. The same below.

尔分离定律，初步断定出该突变体的基因型是纯合子，属于常染色体上的隐性基因控制。

2.3 F₂代突变体自交后代及F₁代与突变体回交的BF₁代体色结果

在相同的室内环境条件下，将F₁代的成虫与突变体单头配对进行回交实验。结果表明（表2），F₁代性状表现不受亲本组合方式的影响，回交的后代正常型和突变体成虫体色分离比例为1.18:1，排除了该突变体基因型存在性染色体上的可能性，并经过 χ^2 检验证实后代的成虫体色分离符合1:1的单基因控制的基因分离定律；F₂代突变体的自交，后代的表现型全部为突变体，没有产生基因分离，说明该成虫体色突变体的基因型属于纯合子，是常染色体上单基因控制的隐性遗传。

3 讨论

实验室中相同条件下，正常型和突变体粘虫同时养殖一代，观察到这两型的卵、幼虫的大小和颜色都没有明显的区别；蛹的体色和刚化蛹时没有明显区别，但羽化前期突变体的蛹的颜色较正常型的深；突变体成虫的体色包括翅、腹部、足的颜色较正常型有着明显的区别。虽然正常型和突变体在体色上有着显著的差异，但是它们之间能够相互的杂交产生可育的正常后代，这说明它们仍属于同一个种，突变体是正常型的基因发生突变后产生的新基因型。单从表型观察可以区别正常型和突变体，另外突变体成虫、幼虫在种群行为、生态及生理特征等都有着很大的差异。目前本实验室已经发现了突变体成虫的残翅率较高，其他方面

的实验如温湿度、取食、产卵量、吊飞实验等也有一定的差异，进一步的数据还在整理中，这对研究粘虫迁飞型和居留型、迁飞行为特征对早期预警具有重要意义。

本研究中粘虫成虫体色的突变体在实验室中饲养能够多代稳定的遗传。除此之外，在北京延庆的雷达监测点探照灯诱虫器也能诱集到该突变体，但数量不多，以此推断该突变体在自然种群中出现的频率不高。另外突变体自交的后代成虫的表现型全部是突变体色，结合一系列的分析推断，该突变体基因型是由常染色体上的隐性单基因控制。这与之前报道的粘虫的黑化现象的遗传模式类似，但也不完全相同。粘虫的黑化只是在室内一代出现，而本研究中的突变体在相同继代饲养中都能出现，与大多数的黑化个体的遗传模式并不一致（Kettlewell，1961；Majerus，1998）。成虫体色在表现型上也与粘虫的黑化型有着明显区别，是否为同一突变体仍有待进一步的研究。这表明，粘虫的体色可能是由一个环节、多链条参与的复杂的调控网络决定。昆虫体色的黑化现象比较普遍，如棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 蛹黑化型突变体（马伟华，2005），果黑腹蝇 *Drosophila melanogaster* 的黑条体突变型（钱远槐等，1998，2004），桑蚕暗化蛾突变体（杨明观等，2000）等。值得一提的是，在黑化现象出现的昆虫中，鳞翅目昆虫出现黑化现象最为普遍。对于鳞翅目昆虫的黑化现象，江幸福和罗礼智等对黑化现象形成的原因、分类、遗传调控、生理特性及分子生物学特点等方面做出了系统的研究（罗礼智等，1995；江幸福和罗礼智，2007），但对于出现成虫体色突变体的机制目前还不明确。

表2 F₂代突变体自交后代及F₁代与突变体回交的RF₁代体色
Table 2 Body color in self-crossed progenies of F₂ mutant and the RF₁, hybrid F₁ with the mutant

区组 Group	正常型 Typical form	突变体 Mutant	实际比值 Real ratio	理论比值 Theoretical ratio	$\chi^2_{Yn=1Y}$
F ₁ 代×突变体回交产生RF ₁ 代	93	79	1.18:1	1:1	0.571

F ₂ 代的突变体自交	0	128	0 : 1	0
------------------------	---	-----	-------	---

粘虫具有远距离迁飞的特性，虫源地的环境条件如环境条件、作物种类、耕作条件等的变化都有可能导致基因突变形成新的种群。另外，由于控制粘虫体色的基因是复杂的，多基因控制，可能是粘虫的黑化型在不断的基因交流中演化出新的基因突变型，从而表现出突变体。随着分子生物学技术的提高和对昆虫突变体的研究范围的扩大，有必要开展对粘虫的体色突变及黑化现象的生态学特性及内在分子机制等方面进一步研究，以便对粘虫的有效防控提供技术指导。

参考文献 (References)

- Kettlewell HBD, 1961. The phenomenon of industrial melanism. *Annu. Rev. Entomol.*, 6: 245–262.
- Majerus MEN, 1998. Melanism: Evolution in Action. Oxford: Oxford University Press. 1–212.
- 戴君惕, 王身立编著, 1989. 遗传分析方法. 长沙: 湖南科技出版社. 7–44. [Dai YJ, Wang LS, 1989. The analysis method of genetic. Changsha: Hunan Technology Press. 7-44]
- 杜桂林, 李克斌, 尹妓, 刘辉, 曹雅, 2007. 影响麦长管蚜体色变化的主导因素. 昆虫知识, 44(3): 353–357. [Du GL, Li KB, Yin J, Liu H, Cao Y, 2007. The dominant ecological factors in color change of Macrosiphum avenae. *Chinese Bulletin of Entomology*, 44(3): 353-357.]
- 何丽华, 牛宝龙, 刘岩, 沈卫锋, 翁宏飘, 陈金娥, 孟智启, 2010. 一种棉铃虫成虫体色突变体的遗传分析. 核农学报, 24(1): 192–194. [He LH, Niu BL, Liu Y, Shen WF, Weng HB, Chen JE, Meng ZQ, 2010. Genetic analysis of a moth body colour mutant in helicoverpa armigera. *Acta Agriculturae Nucleatae Sinica*, 24(1): 192-194.]
- 江幸福, 罗礼智, 2007. 昆虫黑化现象. 昆虫学报, 50(11): 1173 – 1180. [Jiang XF, Luo LZ, 2007. Melanism in insects: a review. *Acta Entomologica Sinica*, 50(11): 1173-1180.]
- 孔繁玲, 韩立新编译, 1993. 群体遗传学导论. 北京: 北京农业大学出版社. 23 – 41. [Kong FL, Han LX, et al, 1993. The introduction of population genetics, Beijing: Beijing Agricultural University Press]
- 李光博, 1993. 我国粘虫研究概况及主要进展. 植物保护, 19(4): 2–4. [Li GB, 1993. The research condition and main progress of armyworm in China. *Plant Protection*, 19(4): 2-4]
- 林昌善主编, 1990. 粘虫生理生态学. 北京: 北京大学出版社. 16 – 331. [Lin SC, 1990. Physiological ecology of armyworm. Beijing; Beijing University Press].
- 刘红兵, 2002. 黑化粘虫的形态特征及其生存对策和适应能力的变异. 博士学位论文. 北京:中国农业科学院. [Liu HB, 2002. Strategy and adaptive capacity in the melanic form of oriental armyworm, *mythimna separata* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae). Ph. D. Dissertation. Beijing : Chinese Academy of Agricultural Sciences.]
- 刘红兵, 罗礼智, 2004. 黑化粘虫的形态特征及其遗传模式. 昆虫学报, 47(3): 287 – 292. [Liu HB, Luo LZ, 2004. Morphological characteristics and inheritance of the melanic form of the oriental armyworm, *mythimna separata* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Entomologica Sinica*, 47(3): 287-292.]
- 罗礼智, 李光博, 曹雅忠, 胡毅, 1995. 粘虫幼虫密度对成虫飞行与生殖的影响. 昆虫学报, 38(1): 38–45. [Luo LZ, Li GB, Cao YZ, Hu Y, 1995. The influence of larval rearing density on flight capacity and fecundity of adult oriental armyworm. *Acta Entomologica Sinica*, 38(1): 38-45]
- 马伟华, 2005. 棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hbner) 蛾蛹黑型突变体体色遗传规律及黑化相关酶研究. 硕士学位论文. 武汉: 华中农业大学. [Ma WH, 2005. Study on genetic regulation and correlation enzyme of the black phenotype mutants of moth and pupa of helicoverpa armigera (Hübner). Master Degree Thesis. Wuhan: Huazhong Agricultural University.]
- 潘蕾, 翟保平, 2009. 2002 年我国华北三代黏虫大发生的虫源分析. 生态学报, 29(11): 6248–6256. [Pan L, Zhai BP, 2009. Analysis of source population and immigration process of *mythimna separata* (Walker) caused an outbreak in north China in 2002. *Acta Ecologica Sinica*, 29(11): 6248-6256.]
- 钱远槐, 张普, 薛小桥, 谢爱华, 2004. 黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)黑条体突变型的发现与初步研究. 湖北大学学报(自然科学版), 16(3): 12–31. [Qian YH, Zhang P, Xue XQ, Xie AH, 2004. Preliminary study and discovery of black streak body mutant of *Drosophila melanogaster*. Hubei University Press (Natural Science Edition), 16(3): 12-31.]
- 钱远槐, 张普, 曾庆韬, 1998. 本地黑腹果蝇新品系的发现、选育和利用. 湖北大学学报(自然科学版), 20(1): 84–186. [Qian YH, Zhang P, Zeng QT, 1998. Discovery, Selectivity Breeding and Use of New-Strains in Local *Drosophila melanogaster*. Hubei University Press (Natural Science Edition) , 20(1): 84-186]
- 杨明观, 陈玉银, 江丽军, 2000. 桑蚕暗化蛾突变体及其在生产上的应用前景. 蚕桑通报, 32(4): 9–21. [Yang MG, Chen YY, Jiang LJ, 2000. Discovery of melanism mutation in silkworm

- bombyx mori and the possibility of its practical utilization.
Bulletin of Sericulture, 32(4): 9-21.]
- 张云慧, 张智, 姜玉英, 曾娟, 高月波, 程登发, 2012. 2012 年三代黏虫大发生原因初步分析. *植物保护*, 38(5): 1-8. [Zhang YH, Zhang Z, Jiang YY, Zeng J, Gao YB, Cheng DF, 2012. Preliminary analysis of the outbreak of the third-generation army worm *mythimna separata* in China in 2012. *Plant Protection*, 38(5): 1-8.]
- 赵惠燕, 张改生, 汪世泽, 王玉梅, 巴桑普赤, 1993. 棉蚜体色变化的生态遗传学研究. *昆虫学报*, 36(3): 282-289. [Zhao HY, Zhang GS, Wang SZ, Wang YM, Basang PC, 1993. An eco-genetical study of body colour in cotton aphids. *Acta Entomologica Sinica*, 36(3): 282-289].
- 朱弘复, 陈一新, 1964. 中国经济昆虫志, 第三册, 鳞翅目, 夜蛾科(一). 北京: 科学出版社. 68-69. [Zhu HF, Chen YX, 1964. The economic important insect of China, Volume 3, Lepidoptera: Noctuidae (1). Beijing: Science Press. 68-69]