

不同 Bt 棉种植年代棉铃虫种群的波动性不对称

李 娜¹, 翟保平^{1*}, 吴孔明²

(1. 南京农业大学昆虫学系, 南京 210095; 2. 中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100094)

摘要:波动性不对称(Fluctuating asymmetry, FA)是指相对于生物两侧对称发育的一种细微的随机偏离,通常用来指示生物在外界环境压力下发育的稳定性程度。2002 年在我国北方棉区 13 个具有 1~5a 转 Bt 基因棉种植史的市、县采集了棉铃虫上灯蛾,测定了各点成虫后足腿节的波动性不对称 (Fluctuating asymmetry, FA)。结果表明, 12 个采集地的棉铃虫后足腿节均表现出 FA; 相关性分析发现,各采集点的 FA 值与 Bt 棉的种植年代间存在着显著的负相关关系($r = -0.77$),显示出棉铃虫自然种群对 Bt 棉的适应性随着 Bt 棉种植时间延长而渐增的趋势。讨论了棉铃虫对 Bt 棉的适应以及 FA 作为棉铃虫田间种群对 Bt 棉早期抗性监测指标的可能性。

关键词:棉铃虫; Bt 棉种植史; 波动性不对称

Fluctuating asymmetry of *Helicoverpa armigera* (Hübner) in field populations with different levels of exposure to Bt-transgenic cotton

LI Na¹, ZHAI Bao-Ping^{1*}, WU Kong-Ming² (1. Department of Entomology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(7): 1566~1569.

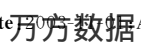
Abstract: Organisms are subject to three types of morphological asymmetry: Directional asymmetry, Antisymmetry and Fluctuating asymmetry, but only the latter is related to the environmental stress acting upon individuals during their developmental. Fluctuating asymmetry (FA), small random differences between left and right, with a low level of heritability, has been widely used as a measure of developmental stability. In this study, we test the levels of FA in populations of cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*, CB) exposed to different stress levels of Bt-transgenic cotton. In 2002, thirteen field populations of CB moth were collected in light traps from four provinces in northern China, where transgenic Bt-cotton had been planted for one to five years. FA of the hind femurs of the light trap catches in response to the stress of Bt cotton was estimated. The results show that twelve of the field populations demonstrated FA, and that there was a tendency for the level of FA to decrease as the period over which Bt-cotton had been grown increased. Pearson's correlation coefficient weighted between levels of FA and history of Bt-cotton growing was -0.77 , with this coefficient being highly significant. This trend means that the adaptation of field populations of CB to Bt cotton will increase with increasing exposure to Bt-cotton. The feasibility of FA as an indicator for monitoring the appearance of CB resistance to Bt-cotton is discussed.

Key words: *Helicoverpa armigera*; history of Bt-transgenic cotton growing; fluctuating asymmetry

文章编号:1000-0933(2004)07-1566-04 中图分类号:Q968.1 文献标识码:A

波动性不对称(Fluctuating asymmetry, FA)是指相对于生物两侧对称发育的一种细微的随机偏离,其特征是这种两侧偏差的频次分布呈均数为零的正态分布。在自然界还存在着另外两种不对称形式,它们是,单向不对称(Directional asymmetry,

基金项目:国家自然科学基金资助项目 (30170613)
收稿日期:2003-11-01;修订日期:2004-04-16
作者简介:李娜(1979~),女,陕西西安人,硕士,主要从事昆虫生态学研究, E-mail: insectfans@sina.com
* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: bpzhai@njau.edu.cn
致谢:在本研究供试虫源的采集过程中,得到了山东省植保站多位同仁的帮助,在此谨致谢忱!
Foundation item: the National Natural Science Foundation of China (No. 30170613)
Received date: 2003-11-01 Accepted date: 2004-04-16
Biography: LI Na, Master, mainly engaged in insect ecology and pest forecasting. E-mail: insectfans@sina.com



DA)和双向不对称(Antisymmetry, AS)。单向不对称(DA)是指种内个体固定的一侧发育超常(如人类的偏手性),其两侧偏差呈均数非零的钟型分布(均数偏向发育超常的一侧)。双向不对称(AS)是指种内个体某一侧发育超常,但出现在哪一侧是随机的(如某些海蟹的巨螯),其两侧偏差呈均数为零的低峰态分布或双峰分布^[1~3]。

FA 是由非遗传的发育扰动(developmental disturbance, 或 developmental noise)所引发的两侧偏离,即发育稳定性(developmental stability)和发育扰动相互作用的结果^[4]。由于其具有极低的遗传力^[5, 6],故可用来指示环境压力(如化学农药、抗虫品种和环境污染等)对生物种群的作用^[7~9]。而 DA 和 AS 两种方向性不对称是在正常的发育程序控制下相应于选择或基因漂移引发的,即其变异中至少有一部分是可遗传的,因此,对称性的变化不能完全反映出发育扰动所造成的影响,故不适用于作环境压力指标^[10]。

随着转 Bt 基因棉在我国北方棉区的大面积种植,从根本上改变了棉铃虫以往的生存环境,且在棉花的整个生育期中,Bt 毒蛋白在棉花的各组织器官中均持续表达^[11],其良好的抗虫性对棉铃虫种群的生长发育起到了极大的扰动作用。作者曾以 Bt 棉叶饲喂棉铃虫室内种群,发现其成虫的多种对称性状都表现出了明显的 FA,同时与以常规棉饲喂的棉铃虫种群所表现出的 FA 值相比较,发现所选择测量的大部分特征的 FA 值均显著的高于对照种群,表明 FA 是棉铃虫室内种群对 Bt 棉选择压力的一个敏感的指示参数^[12]。因此,若用 FA 这一指标判别棉铃虫种群在转基因作物上的发育稳定性,可望更灵敏地反映出棉铃虫的抗性进化。那么,田间棉铃虫自然种群在 Bt 棉压力下有何反应? FA 是否也可作为其对 Bt 棉适应程度的指标?为此,测定了具有不同 Bt 棉种植史的地区的棉铃虫上灯蛾的 FA,以期对 Bt 棉生态风险的监测和预测提供一种简便易行的指示参数。

1 材料与方法

1.1 虫源地的选择

2002 年上半年在我国北方棉区选取有 1~5a Bt 棉种植史的 4 省 13 个县、市作为本试验的虫源地:河南省的郸城、新乡、安阳、民权,河北省的辛集、大成、抚宁、饶阳、任丘,山东省的汶上和巨野,以及江苏省的阜宁和丰县。

1.2 试虫的收集

棉铃虫成虫采用黑光灯诱集,由以上各虫源地的植保站工作人员每日收集,并装入信封中风干保存,同时记录代次与地点。当年 8 月份统一收集后由非参试人员按地点与代次随机编号供对称性测试用。

1.3 后足腿节长度的测量

在带有计算机成像系统(CG200 V4.0)的数码解剖镜(SMZ-143)下,使用 MICROSCOPE1 测量软件测量各点棉铃虫成虫后足腿节长度(雌、雄虫均测),重复 3 次,测量精度为 0.001mm。所有测量均在不知其背景的情况下进行。

1.4 FA 的统计

根据 Palmer 提出的统计方法,使用双因子方差分析(体侧、个体)中两因素互作方差的显著性进行对称性检测,若差异显著($P<0.05$)即对称性状左右间存在差异;再以 Kolmogorov-Smirnov 检验对左右差值的分布进行正态性检验,若差异不显著($P<W$ 的值 >0.05)则此分布为正态分布,从而排除 AS 的可能;然后对左右差值进行 t 测验,用以检测对称性状左右间差值的均数是否为零,差异显著($P>|T|$ 的值 <0.05)为 DA,差异不显著则为 FA^[2]。以上所有检验均在 SAS6.12 统计软件中完成^[13]。

1.5 FA 值的计算

利用文献^[2]的方法计算棉铃虫与异色瓢虫各对称性状的 FA 值: $FA=var(R-L)$,其中 L 为性状左侧的长度, R 为性状右侧的长度, var 为方差函数,即样本方差。

2 结果与分析

2.1 不同世代间棉铃虫上灯蛾个体差异的比较

民权、辛集、安阳和丰县 4 点所收集到的上灯蛾为田间不同发生代的成虫,为分析不同世代的上灯蛾在个体大小及特征的不对称程度上是否存在差异,比较了这 4 个采集点代际之间棉铃虫上灯蛾的后足腿节长度及其两侧之差,结果表明(表 1),除辛集外,各点不同代次间个体的后足腿节长度均差异显著,说明不同世代的上灯蛾在个体大小上存在显著

表 1 棉铃虫不同世代上灯蛾后足腿节长度及其对称性的比较*
Table 1 Comparison of the length and symmetry of the hind femur of light trap catches of *Helicoverpa armigera* between different generations

采集点 Location	虫源代次 Generation	样本数 Sample size	后足腿节的长度 (mm) Mean±SE	左右腿节长度差值 (mm) Mean±SE
			Length of hind femur (mm) (LHF)	Difference of LHF between the 2 sides
民权	1st	23	3.464±0.113a	0.020±0.016a
Minquan	2nd	19	3.262±0.204b	0.019±0.012a
辛集	1st	68	3.552±0.150a	0.026±0.021a
Xinji	2nd	44	3.445±0.127a	0.019±0.016a
安阳	1st	33	3.526±0.120a	0.017±0.017a
Anyang	2nd	36	3.136±0.176c	0.027±0.020a
	3rd	6	3.445±0.225b	0.034±0.036a
丰县	2nd	40	3.303±0.190b	0.026±0.032a
Fengxian	3rd	67	3.169±0.131c	0.028±0.022a
	4th	87	3.425±0.215a	0.032±0.031a

* 表中均数后有不同字母表示差异显著 (LSD 检验, $p<0.05$)
The different letters behind the mean show significant difference at $p<0.05$ (LSD test)

差异;但其左右腿节长度的差值均无显著差异,说明,田间不同世代上灯蛾的左右腿节长度的差值间不存在差异,因此在下面的 FA 统计中,这几个试点的各世代样本将混起来进行分析。

2.2 各点棉铃虫后足腿节的 FA 统计

分析结果表明(表 2),除辛集外,其它各点的棉铃虫后足腿节均表现出 FA。对各点 FA 值进行比较后可以发现,1a Bt 棉种植史的田间上灯蛾的 FA 值显著高于有多年种植史的 FA 值。将各点的 Bt 棉种植年代与 FA 值作相关性分析,发现具有显著的负相关关系($r=-0.77$)。即随着 Bt 棉种植时间的延长,棉铃虫上灯蛾的 FA 逐渐减小(图 1)。

表 2 棉铃虫上灯蛾后足腿节的 FA 统计*
Table 2 FA statistics of hind femur of the light trap catches of *Helicoverpa armigera*

采集点 Location	Bt 棉种 植史 ⁽¹⁾	虫源代次 Generation	样本数 Sample size	对称性检验 $P>F$ Significant test for asymmetry	正态性检验 $P<w$ Normal distribution test	零均数检验 $P> T' t$ -test for zero mean	FA 值 FA= $var(R-L)$
郸城+抚宁 Dancheng&. Funing	1	2	29	0.0001	0.5360	0.9089	0.002877
汶上 Wenshang	2	2	32	0.0001	0.1466	0.3924	0.001723
丰县 Fengxian	3	2,3,4	194 ⁽²⁾	0.0001	0.0627	0.4805	0.001682
民权 Mingquan	3	1,2	42 ⁽²⁾	0.0001	0.8302	0.9248	0.000579
任丘 Renqiu	4	3	221	0.0001	0.4361	0.1071	0.001321
饶阳 Raoyang	4	2	165	0.0001	0.3103	0.0601	0.000763
安阳 Anyang	4	1,2,3	75 ⁽²⁾	0.0001	0.3574	0.1368	0.000841
阜宁 Funing	4	2	23	0.0001	0.3565	0.1613	0.001199
大成 Dacheng	4	3	38	0.0001	0.9290	0.9120	0.001050
巨野 Juye	5	1	84	0.0001	0.0722	0.9784	0.000888
新乡 Xinxiang	5	3	173	0.0001	0.1671	0.6525	0.000621
辛集 Xinji	5	1,2	112 ⁽²⁾	0.0001	0.4712	0.0011	

① 若为非正态分布 ($P<W$ 的值 <0.05) 或非零均数 ($P>|T|$ 的值 <0.05), 则排除所测得的不对称为 FA 的可能 The asymmetry will not be FA if ($P<W$) <0.05 or ($P>|T|$) <0.05 , Years of Bt-cotton growing; (2) 此样本数为各代的总和 The sample size here is the sum of different generations

3 讨论

目前,我国北方棉区的 Bt 棉种植面积几乎已达到 100%。由于转 Bt 基因棉在其整个生长期内对棉铃虫都存在一定的杀虫效果,其选择压力能持续很长时间。同时,由于目前所推广种植的转 Bt 基因棉大多数为单一基因品种,棉铃虫对转 Bt 基因棉也较其它化学农药更易产生抗性^[14]。室内研究表明,棉铃虫对 Bt 棉的早期抗性最早出现在连续 12 代的汰选后^①。何丹军等的研究表明,河北邱县转 Bt 基因棉种植 1a 后,棉铃虫自然种群中抗性等位基因的频率已达 5.8×10^{-3} 以上^[15]。陆萍利用 F2 代单雌系检测法连续 3a 检测了河北威县棉铃虫对转 Bt 基因棉的抗性等位基因频率,发现抗性基因频率有逐年递增的趋势^②。通过对 Bt 棉田间二三代残虫量及成铃被害率的调查也发现,棉铃虫的发生量随着 Bt 棉的连年种植,有随之加重的趋势^[16]。以上情况都说明,随着 Bt 棉种植面积的增加,种植年代的延长,棉铃虫对 Bt 棉抗性的适应能力有逐步加强的趋势,最终可能会导致抗性的出现。

棉铃虫室内种群在转 Bt 基因棉压力下的 FA 测定表明,FA 可以灵敏地反映棉铃虫种群所受到的这种环境压力^[12]。但对田间种群而言,FA 是目标害虫对外界各种环境压力的综合反映,而且上灯的棉铃虫蛾中还包括来自 Bt 棉田外其它寄主作物(如蔬菜)上的个体,虫源复杂。尽管如此,本研究中棉铃虫上灯蛾后足腿节的 FA 值随着 Bt 棉种植年代的增加而逐渐降低(图 1),呈显著的负相关关系。这说明,随着 Bt 棉的连年种植,田间棉铃虫种群已有逐步适应转 Bt 基因棉的趋势,这与其他研究报道相一致,也与取食 Bt 棉的室内种群的 FA 变化趋势相一致(图 2);而 FA 能如此敏感地反映出这一趋势,表明这一简单易行的方法可望用于 Bt 棉种植区棉铃虫早期抗性的监测。由于田间自然条件复杂,能够影响棉铃虫种群 FA 的因素众多,故还需要对此进行更深入的研究。

① 沈晋良. 为开发转 Bt 基因棉花具有产生抗性风险的紧急报告. 南京农业大学简报, 1998, 19(30): 1~2.
② 陆萍. 棉铃虫对转 Bt 基因棉的抗性等位基因频率监测及其方法研究. 南京农业大学硕士学位论文, 2003.

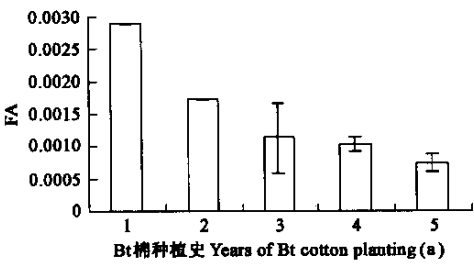


图 1 Bt 棉种植年代与棉铃虫后足腿节的 FA 值

Fig. 1 The history of Bt-cotton growing and the FA of hind femur *Helicoverpa armigera*

图中 3、4、5 年的 FA 值为各点的平均值 the FA of 3~5 year is mean of the value at different locations

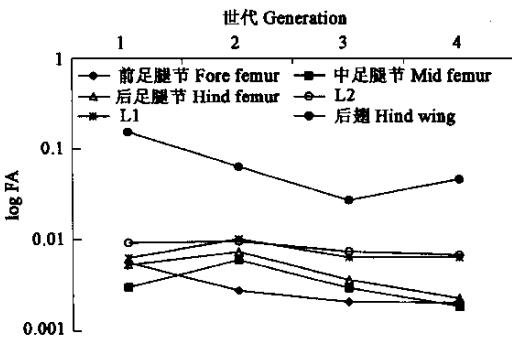


图 2 Bt 棉压力下室内棉铃虫种群不同世代的 FA 值的变化(L1 和 L2 分别为前翅翅脉,见文献[12])

Fig. 2 The evolution trend of FA demonstrated by a lab population of *Helicoverpa armigera* feeding on Bt cotton (L1 and L2 are nervures of the fore wing of the moth,see Ref. 12)

References :

[1] Leary R F, Allendorf F W. Fluctuating asymmetry as an indicator of stress: implications for conservation biology. *Trends Ecol. Evol.* , 1989, **4**: 214~217.

[2] Palmer A R. Fluctuating asymmetry analyses: a primer. In: Markow T A, ed. *Developmental Instability: Its Origins and Evolutionary Implications*. Dordrecht; Kluwer, 1994. 335~364.

[3] Polak M, Trivers R. The science of symmetry in biology. *Trends. Ecol. Evol.* , 1994, **9**: 122~124.

[4] Palmer A R, Strobeck C. Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* , 1986, **17**: 391~421.

[5] Woods R E, Hercus M J, Hoffmann A A. Estimating the heritability of fluctuating asymmetry in field *Drosophila*. *Evolution*, 1998, **52** (3): 816~824.

[6] Dongen S V, Ellen S, Christer L, *et al.* Heritability of tibia fluctuating asymmetry and developmental instability in the winter moth (*Operophtera brumatal*) (Lepidoptera: Geometridae). *Heredity*, 1999, **82**: 535~542.

[7] Clarke G M. Fluctuating asymmetry: a technique for measuring developmental stress of genetic and environmental origin. *Acta Zool. Fenn.* , 1992, **191**: 31~35.

[8] Parsons P A. Fluctuating asymmetry: a biological monitor of environmental and genomic stress. *Heredity*, 1992, **68**: 361~364.

[9] Witter M S, Swaddle J P. Fluctuating asymmetries, competition and dominance. *Proc. R. Soc. Lond.* , 1994, **B256**: 299~303.

[10] Palmer A R, Strobeck C. Fluctuating asymmetry as a measure of developmental stability: Implications of nonnormal distributions and power of statistical tests. *Acta Zool. Fenn.* , 1992, **191**: 57~72.

[11] Dong S L. Preliminary study on resistance of transgenic Bt cotton to insect pests. *Cotton Science*, 1998, **6**: 334~335.

[12] Li N, Meng L, Zhai B P, *et al.* Fluctuating asymmetry of *Helicoverpa armigera* (Hübner) and *Harmonia axyridis* (Pallas) under the stress of Bt-transgenic cotton. *Acta Entomologica Sinica*, 2004, **47**(2): 198~205.

[13] SAS Institute. *JMP® Statistics and Graphics Guide*. Version 4. Cary, NC, USA. , 2000. 634.

[14] Wei W, Qian Y Q, Ma K P. Pests resistance to transgenic Bt crops and their management strategies *Chin. J. Appl. Environ. Biol.* , 1999, **5**(2): 215~228.

[15] He D J, Shen J L, Zhou W J, *et al.* Using F₂ genetic method of iso-female lines to detect the frequency of resistance alleles to *Bacillus thuringiensis* toxin from transgenic Bt cotton in cotton bollworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Cotton Science*, 2001, **13**(2): 105~108.

[16] Guo R, Yang Y J. Population dynamics of insect pests in transgenic Bt cotton fields and the strategy of control. *World Agriculture*, 2000, (9): 31~33

参考文献:

[11] 董双林. 转基因抗虫棉的抗虫性研究简报. *棉花学报*, 1998, **6**: 334~335.

[12] 李娜, 孟玲, 翟保平, 等. 在转 Bt 基因棉压力下棉铃虫和异色瓢虫的波动性不对称. *昆虫学报*, 2004, **47**(2): 198~205.

[14] 魏伟, 钱迎倩, 马克平. 害虫对转 BT 作物的抗性及其管理对策. *应用与环境生物学报*, 1999, **5**(2): 215~228.

[15] 何丹军, 沈晋良, 周威君, 等. 应用单雌系 F₂ 代法检测棉铃虫对转 Bt 基因棉抗性位基因的频率. *棉花学报*, 2001, **13**(2): 105~108.

[16] 郭荣, 李娜等. 转基因棉田害虫发生动态及防治对策. *世界农业*, 2000, (9): 31~33.