

论 文

# 甜菜夜蛾体内代谢耐受性对转 Bt 基因棉响应的时间动态

郭建英<sup>①\*</sup>, 吴刚<sup>②</sup>, 万方浩<sup>①\*</sup>

① 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, 北京 100094;

② 武汉理工大学生物系, 武汉 430070

\* 联系人, E-mail: [guojy@mail.caas.net.cn](mailto:guojy@mail.caas.net.cn); [wanfh@mail.caas.net.cn](mailto:wanfh@mail.caas.net.cn)

收稿日期: 2009-07-02; 接受日期: 2009-07-31

国家重点基础研究发展计划(批准号: 2006CB102004)、国家自然科学基金(批准号: 30800724)、中国博士后科学基金(批准号: 200801132 和 20080430054)、国际科学基金(批准号: C/4559-1)、农业部转基因生物新品种培育重大专项(批准号: 2008ZX08012-004, 2009ZX08011-013B)资助项目

**摘要** 在室内用转 Bt 基因棉和亲本常规棉饲养甜菜夜蛾(*Spodoptera exigua* Hübner)幼虫, 测定了不同取食时间后甜菜夜蛾 4 龄幼虫体内营养物质含量和消化酶、保护酶、解毒酶活力的变化。结果表明, 分别取食 Bt 棉和常规棉, 甜菜夜蛾幼虫体内的营养物质含量和消化酶、保护酶、解毒酶活力差异显著。与取食常规棉相应时间的个体相比, 取食 Bt 棉 1, 6, 24 h 后, 幼虫体内的游离脂肪酸和葡萄糖含量显著提高; 取食 Bt 棉 1, 4, 6, 24 h 后, 幼虫体内胰蛋白酶和总超氧化物歧化酶的活力显著增高, 脂肪酶、羧酸酯酶和乙酰胆碱酯酶活力则显著降低。取食相同品种棉花, 幼虫体内营养物质含量和消化酶、保护酶、解毒酶活力受甜菜夜蛾危害时间的显著影响。取食 Bt 棉 24 h 的幼虫, 其体内游离脂肪酸和总氨基酸含量显著低于取食 1 h 的个体; 脂肪酶和胰蛋白酶活力显著低于取食 1 和 4 h 的个体, 但羧酸酯酶和乙酰胆碱酯酶活力显著高于取食 1, 4, 6 h 的个体。棉花品种和甜菜夜蛾为害时间的交互作用可显著影响甜菜夜蛾体内脂肪酶、胰蛋白酶、乙酰胆碱酯酶和总超氧化物歧化酶的活力。通过测定甜菜夜蛾体内保护酶和解毒酶活力对 Bt 棉响应的时间动态, 对于评价植食性昆虫在毒素蛋白持续选择压力下的生理反应和抗性变化具有重要参考意义。

关键词

苏云金杆菌  
甜菜夜蛾  
解毒酶  
羧酸酯酶  
乙酰胆碱酯酶

据估计, 由害虫造成的主要作物损失达 10%~20%, 是限制粮食生产的一个重要因素<sup>[1]</sup>。应用杀虫剂是防治植食性昆虫幼虫的有效方法, 但大多数杀虫剂所导致的害虫抗性及相关的环境问题会危及它们的持续使用<sup>[2]</sup>。提高植物抗虫性的转基因棉是转基因技术的成功典范之一。在过去的 10 年间, 中国 Bt 棉的种植面积迅速攀升, 目前 Bt 棉是中国大面积商业化生产的主要转基因作物<sup>[3,4]</sup>。

转 Bt 基因植物在害虫综合治理(integrated pest management, IPM)中具有巨大潜力, 其杀虫选择性较大多数杀虫剂更高, 因此可与其他生物防治方法协同应用以提升防治效果<sup>[4-6]</sup>。Bt Cry 蛋白的作用机理包括: 毒素晶体在昆虫中肠溶解、原毒素在中肠蛋白酶作用下发生蛋白水解、Cry 毒素与中肠受体结合、毒素嵌入胞膜外侧形成离子通道或微孔<sup>[7]</sup>。昆虫取食 Cry 蛋白后, 毒素蛋白与中肠上的特殊受体结合, 在敏感

昆虫中, 这种结合将破坏中肠的上皮组织, 从而引发全面的毒理效应最终导致昆虫死亡<sup>[18]</sup>。表达Cry1Ac蛋白的Bt棉对于棉田主要的鳞翅目害虫具有高效的杀虫作用<sup>[9]</sup>。大量田间实验表明, Bt棉对烟草夜蛾(*Heliothis assulta* Guenée)、棉铃虫(*Helicoverpa armigera* Hübner)和其他靶标鳞翅目害虫均具有较高的杀虫效果, 可显著降低棉田靶标鳞翅目害虫的种群密度<sup>[10~12]</sup>。尽管转Bt基因植物具有杀虫专一性和环境安全的优势, 鳞翅目昆虫对Bt毒素抗性的发展, 将严重威胁转Bt基因植物的有效应用<sup>[13,14]</sup>。

不同的鳞翅目害虫对Bt毒素的敏感性也存在较大差异, 一些鳞翅目昆虫取食表达Cry1Ac毒素的Bt棉花后仍可存活<sup>[15,16]</sup>。大量的非鳞翅目植食性昆虫则不受Cry1Ac毒素的影响。甜菜夜蛾(*Spodoptera exigua* Hübner)是中国多种农作物的重要害虫, 造成巨大的经济损失, 它也是重要的棉花害虫, 但不是目前中国商品化生产的Bt棉的靶标害虫。中国于2001年将甜菜夜蛾列入重要的潜在爆发害虫名单中<sup>[17]</sup>。过去化学防治控制甜菜夜蛾的失败, 促使研究人员在害虫综合治理(IPM)中寻求其他有效防治措施(如转基因植物和天敌)。然而, 转Bt基因植物对非靶标生物的影响在农业生态系统中显得日益重要<sup>[5]</sup>。由于有报道鳞翅目若干科的昆虫在田间对Bt毒素产生抗性, 甜菜夜蛾对Bt毒素的抗性发展也受到关注<sup>[13]</sup>。郭同斌等人<sup>[18]</sup>报道取食转Bt基因杨树的杨小舟蛾(*Micromelalopha troglodyta* Graeser)幼虫的羧酸酯酶活力显著降低, 表明转基因杨树主要通过抑制杨小舟蛾幼虫中肠的羧酸酯酶活力, 干扰其代谢导致幼虫死亡。Bt棉的控害效果取决于其Cry基因表达合成的杀虫蛋白量<sup>[19]</sup>, Bt棉中杀虫蛋白表达量的时间差异可能导致植食性昆虫控制效率的不足和害虫抗性的演变<sup>[20]</sup>。至今, 有关甜菜夜蛾体内酶活力对Bt响应的时间动态的研究尚少, 相关研究十分必要。

本研究在室内用转Bt基因棉(cv. GK-12)和亲本常规棉(cv. 泗棉3号)饲养甜菜夜蛾幼虫, 测定不同取食时间后甜菜夜蛾幼虫体内营养物质(蛋白质、总氨基酸、游离脂肪酸和葡萄糖)含量、消化酶(脂肪酶、胰蛋白酶和淀粉酶)、保护酶和解毒酶(羧酸酯酶、乙酰胆碱酯酶和总超氧化物歧化酶)活力的变化。本研究旨在:(1)定量研究甜菜夜蛾对Bt毒素代谢响应的

时间动态; (2)评价棉花品种和甜菜夜蛾为害时间(1, 4, 6, 24 h)对甜菜夜蛾营养物质含量和消化酶、保护酶和解毒酶活力影响的交互作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 棉花品种与生长条件

两个品种棉花, 转Bt基因棉(cv. GK-12)和其亲本常规棉(cv. 泗棉3号), 均单株种植于塑料花盆(直径10 cm, 高13 cm), 每品种80盆, 并置于室温(28±1)℃, 相对湿度70%~80%的温室内, 随机放置, 并每周重新随机摆放1次以减小位置影响。定期浇水, 整个实验过程中未施用化肥和杀虫剂。

### 1.2 供试虫源

甜菜夜蛾卵块由中国科学院动物研究所昆虫生理学实验室提供, 卵孵化后置于人工气候箱(型号: PRX-500D-30, 中国宁波海曙赛福实验仪器厂)内, 箱内相对湿度75%±5%, 温度(28±0.5)℃, 光周期14L:10D, 由39支26 W的荧光灯提供30000 Lux的有效光强。初孵幼虫饲喂采用李广宏等人<sup>[21]</sup>所述人工饲料和方法进行喂养。

### 1.3 甜菜夜蛾为害实验处理

实验于上述温度和湿度条件的温室内进行。在棉花七叶期(播种35~40天后), 随机从上述人工气候箱中随机挑取用人工饲料饲养至4龄的甜菜夜蛾幼虫, 接种在棉株自地面向上的第4片真叶上, 每株接虫1头, 然后置于细孔纱网罩(边长60 cm)内以防止昆虫出入。各棉花品种设置4种不同为害时间(即1, 4, 6, 24 h)的处理, 每处理设5盆, 重复4次, 因此各棉花品种的各处理总计观测20头甜菜夜蛾。在幼虫为害上述设定时间后, 收集幼虫测定其体内的营养物质含量和酶活力。

### 1.4 甜菜夜蛾体内营养物质和酶活力的测定

对上述幼虫进行生物化学测定以检测其对Bt棉的生理代谢反应。测定指标包括分别取食Bt棉和常规棉, 甜菜夜蛾体内的4种营养物质(蛋白质、总氨基酸、游离脂肪酸和葡萄糖)的含量、3种消化酶(脂肪酶、胰蛋白酶和淀粉酶)和3种保护酶和解毒酶(羧酸酯酶、乙酰胆碱酯酶和总超氧化物歧化酶)的活力。

羧酸酯酶活力采用 van Asperen<sup>[22]</sup>方法测定。营养成分含量和酶活力的测定方法参照试剂盒(中国江苏省南京建成生物制剂有限公司)说明书进行。酶活相关的蛋白质浓度测定采用牛血清白蛋白(中国江苏省南京建成生物制剂有限公司)和Bradford<sup>[23]</sup>方法测定。

## 1.5 数据分析

采用单因素方差分析(one-way ANOVA)比较不同为害时间对甜菜夜蛾体内营养物质含量和酶活力的影响。采用双因素方差分析(two-way ANOVA)分析棉花品种和为害时间的影响及其交互作用。处理间的显著性差异采用LSD检验。以上数据分析用统计软件SAS6.12<sup>[24]</sup>进行。

## 2 结果

### 2.1 Bt 棉对甜菜夜蛾幼虫体内营养成分的影响

(1) 蛋白质和总氨基酸。棉花品种显著影响甜菜夜蛾 4 龄幼虫体内蛋白质( $P<0.001$ )和总氨基酸( $P<0.01$ )的含量; 棉花品种和甜菜夜蛾为害时间具有交互作用, 可显著影响幼虫体内的蛋白质( $P<0.05$ )和总氨基酸含量( $P<0.01$ )(表 1)。

取食 Bt 棉 6( $P<0.01$ )和 24 h( $P<0.001$ )的甜菜夜蛾 4 龄幼虫, 体内蛋白质含量显著低于取食常规棉相同时间的个体; 取食 Bt 棉 1 h 的幼虫, 体内蛋白质含量显著低于取食 Bt 棉 4, 6 和 24 h 的个体( $F=3.74$ ,  $df=3$ ,

12,  $P=0.0415$ )(图 1(A))。取食 Bt 棉 6( $P<0.01$ )和 24 h( $P<0.001$ )的幼虫, 体内总氨基酸含量显著低于取食常规棉相同时间的个体; 取食 Bt 棉 1 和 4 h 的幼虫, 体内总氨基酸含量显著低于取食 Bt 棉 6 和 24 h 的总氨基酸含量( $F=15.84$ ,  $df=3, 12, P=0.0002$ )(图 1(B))。

(2) 游离脂肪酸和葡萄糖。棉花品种显著影响甜菜夜蛾 4 龄幼虫体内游离脂肪酸( $P<0.001$ )和葡萄糖( $P<0.001$ )的含量; 甜菜夜蛾为害时间显著影响幼虫体内游离脂肪酸含量( $P<0.05$ )(表 1)。取食 Bt 棉 6( $P<0.01$ )和 24 h( $P<0.001$ )的幼虫, 体内游离脂肪酸含量显著低于取食常规棉相同时间的个体(图 1(C))。取食 Bt 棉 1, 6 和 24 h 的幼虫, 体内葡萄糖含量( $P<0.01$ )均显著低于取食常规棉相同时间的个体(图 1(D))。

### 2.2 Bt 棉对甜菜夜蛾幼虫体内消化酶的影响

(1) 脂肪酶。棉花品种显著影响甜菜夜蛾 4 龄幼虫体内脂肪酶的活力( $P<0.001$ ); 棉花品种和甜菜夜蛾为害时间具有交互作用, 显著影响幼虫体内脂肪酶活力( $P<0.01$ )(表 1)。取食 Bt 棉 24 h 的幼虫, 体内脂肪酶活力显著低于取食 Bt 棉 1, 4 和 6 h 的个体( $F=6.13$ ,  $df=3, 12, P=0.009$ )。取食 Bt 棉 1( $P<0.01$ ), 4( $P<0.01$ ), 6( $P<0.001$ )和 24 h( $P<0.001$ )的幼虫, 体内脂肪酶活力均显著低于取食常规棉相同时间的个体(图 2(A))。

表 1 棉花品种和甜菜夜蛾为害时间及其交互作用对甜菜夜蛾 4 龄幼虫体内营养物质含量和酶活力的影响

测定指标	棉花品种 <sup>a)</sup>	为害时间/h <sup>b)</sup>	棉花品种×为害时间
蛋白质	0.0001***	0.4961	0.0218*
总氨基酸	0.0072**	0.066	0.0026**
游离脂肪酸	0.0001***	0.0344*	0.1657
葡萄糖	0.0001***	0.9551	0.3166
脂肪酶	0.0001***	0.9595	0.0019**
胰蛋白酶	0.0001***	0.0001***	0.0001***
淀粉酶	0.5619	0.9711	0.8659
羧酸酯酶 <sup>§</sup> CarE	0.0001***	0.0036**	0.1061
乙酰胆碱酯酶 <sup>&amp;</sup> AC hE	0.0001***	0.7183	0.0018**
总超氧化物歧化酶 <sup>§</sup> T-SOD	0.0001***	0.0925	0.0004***

a) 棉花品种: GK-12 和泗棉 3 号; b) 为害时间: 1, 4, 6 和 24 h, § CarE-Carboxylesterase; & AC hE-Acetylcholinesterase; § T-SOD-Total superoxide dismutase. \*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$  和 \*\*\*  $P<0.001$

(2) 胰蛋白酶. 棉花品种显著影响甜菜夜蛾 4 龄幼虫体内胰蛋白酶的活力( $P<0.001$ ); 棉花品种和甜菜夜蛾为害时间具有交互作用, 显著影响幼虫体内胰蛋白酶活力( $P<0.001$ )(表 1). 取食 Bt 棉( $F=85.52, df=3,12, P=0.0001$ )和常规棉( $F=12.19, df=3,12, P=0.0006$ )24 h 的幼虫, 体内胰蛋白酶活力均显著低于取食相同品种棉花 1, 4 和 6 h 的个体. 取食 Bt 棉 1, 4, 6 和 24 h 的幼虫, 体内脂肪酶活力较取食常规棉相同时间的个体显著提高( $P<0.001$ )(图 2(B)).

(3) 淀粉酶. 棉花品种、甜菜夜蛾为害时间及其交互作用对甜菜夜蛾 4 龄幼虫体内的淀粉酶活力均无显著影响( $P>0.05$ )(表 1). 在相同棉花品种的不同为害时间(1, 4, 6 和 24 h), 幼虫体内的淀粉酶活力无显著差异; 在不同棉花品种(Bt 棉 vs 常规棉)的相同为害时间, 幼虫体内的淀粉酶活力也无显著差异( $P>0.05$ )(图 2(C)).

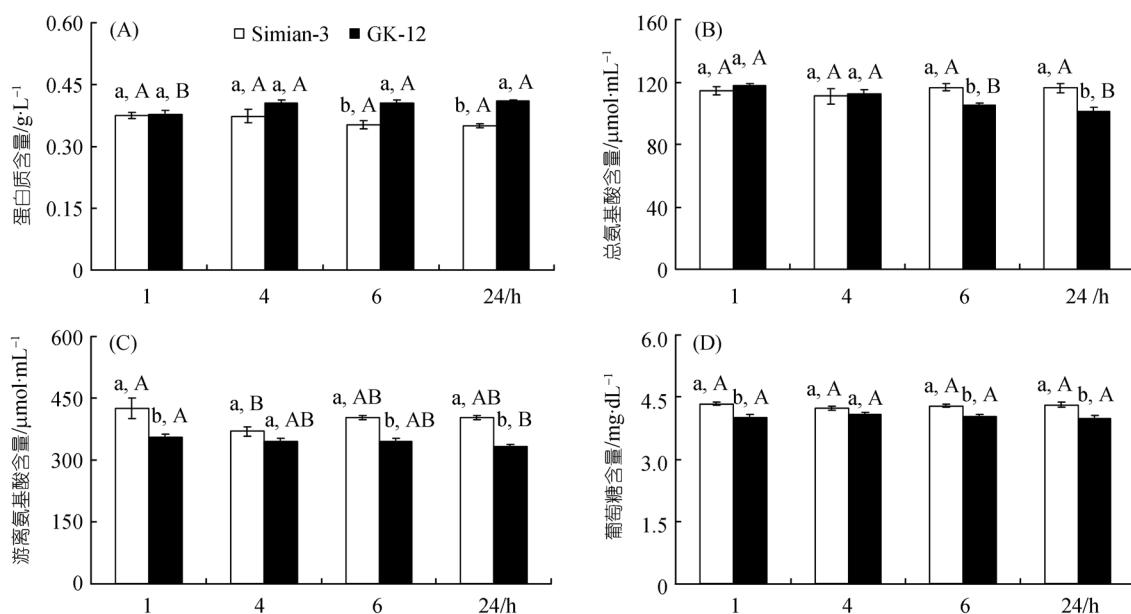
### 2.3 Bt 棉对甜菜夜蛾幼虫体内保护酶和解毒酶的影响

(1) 乙酰胆碱酯酶. 棉花品种显著影响甜菜夜蛾 4 龄幼虫体内乙酰胆碱酯酶的活力( $P<0.001$ ); 棉花品

种和甜菜夜蛾为害时间具有交互作用, 显著影响甜菜夜蛾体内乙酰胆碱酯酶活力( $P<0.01$ )(表 1). 取食 Bt 棉 24 h 的幼虫, 体内乙酰胆碱酯酶活力显著高于取食 Bt 棉 1, 4 和 6 h 的个体( $F=7.58, df=3,12, P=0.0042$ ). 取食 Bt 棉 1, 4, 6 和 24 h 的幼虫, 体内乙酰胆碱酯酶活力显著低于取食常规棉相同时间的个体( $P<0.001$ )(图 3(A)).

(2) 羧酸酯酶. 棉花品种显著影响甜菜夜蛾 4 龄幼虫体内羧酸酯酶的活力( $P<0.001$ ); 甜菜夜蛾为害时间也显著影响幼虫体内羧酸酯酶的活力( $P<0.01$ )(表 1). 取食 Bt 棉( $F=6.14, df=3,12, P=0.009$ )和常规棉( $F=3.74, df=3,12, P=0.0416$ )24 h 的幼虫, 体内羧酸酯酶活力显著高于取食相同品种棉花 1, 4 和 6 h 的个体; 取食 Bt 棉 1, 4, 6 和 24 h 的幼虫, 体内羧酸酯酶活力显著低于取食常规棉相同时间的个体( $P<0.001$ )(图 3(B)).

(3) 总超氧化物歧化酶. 棉花品种显著影响甜菜夜蛾 4 龄幼虫体内总超氧化物酶的活力( $P<0.001$ ); 棉花品种和甜菜夜蛾为害时间具有交互作用, 显著影响幼虫体内总超氧化物酶活力( $P<0.001$ )(表 1). 取食 Bt 棉( $F=33.29, df=3,12, P=0.0001$ )24 h 的幼虫, 体内



**图 1 取食 Bt 棉(cv. GK-12)和常规棉(cv. 泗棉 3 号)不同时间(1, 4, 6 和 24 h)甜菜夜蛾 4 龄幼虫体内营养物质的含量**  
 (A) 蛋白质; (B) 总氨基酸; (C) 游离脂肪酸; (D) 葡萄糖. 不同小写字母表示不同棉花品种之间差异显著( $P<0.05$ ), 不同大写字母表示不同为害时间之间差异显著( $P<0.05$ )

总超氧化物酶活力较取食 Bt 棉 1, 4 和 6 h 的个体显著降低; 取食 Bt 棉 1( $P<0.001$ ), 4( $P<0.001$ ), 6( $P<0.001$ ) 和 24 h( $P<0.001$ ) 的幼虫, 体内总超氧化物酶活力显著高于取食常规棉相同时间的个体(图 3(C))。

### 3 讨论

2006 年, 全球转基因作物的种植面积超过 1 亿公顷, 其中, 转Bt基因棉的种植面积为 1340 万公顷, 约占全部转基因作物面积的 13%<sup>[3]</sup>。在中国, Bt棉的种植面积由 1998 年的 6.3 万公顷增至 2006 年的 350 万公顷, 约占中国棉花种植总面积的 60%<sup>[3,25]</sup>。Bt棉能有效控制鳞翅目害虫的发生, 减少杀虫剂的喷施,

有助于保护有益节肢动物种群, 对棉农和生态环境均很有益<sup>[26,27]</sup>。目前, 针对Bt毒素对植食性昆虫发育和繁殖影响的报道较多。例如, Dutton 等人<sup>[28]</sup>报道转 Bt 基因玉米可延长斜纹夜蛾(*Spodoptera littoralis* (Boisduval))幼虫的发育历期, 增加其死亡率。Liu 等人<sup>[29]</sup>发现用含Cry1Ac蛋白的饲料饲喂棉铃虫幼虫, 幼虫发育历期显著延长, 化蛹率和蛹重显著降低。Liu 等人<sup>[30]</sup>发现与取食常规棉的棉蚜(*Aphis gossypii* Glover)相比, 取食转Bt+CpTI基因棉的棉蚜, 产卵期缩短, 生活史增长, 存活率降低, 第一代和第二代的死亡高峰期提前。

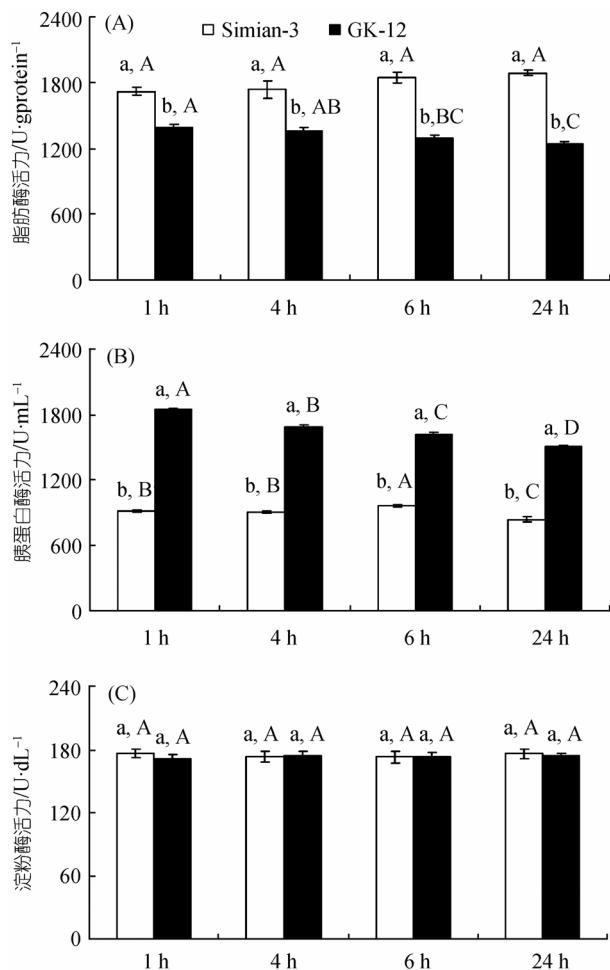


图 2 取食 Bt 棉(cv. GK-12)和常规棉(cv. 泗棉 3 号)不同时间(1, 4, 6 和 24 h)甜菜夜蛾 4 龄幼虫体内消化酶的活力  
(A) 脂肪酶; (B) 胰蛋白酶; (C) 淀粉酶。不同小写字母示不同棉花品种之间差异显著( $P<0.05$ ), 不同大写字母示不同为害时间之间差异显著( $P<0.05$ )

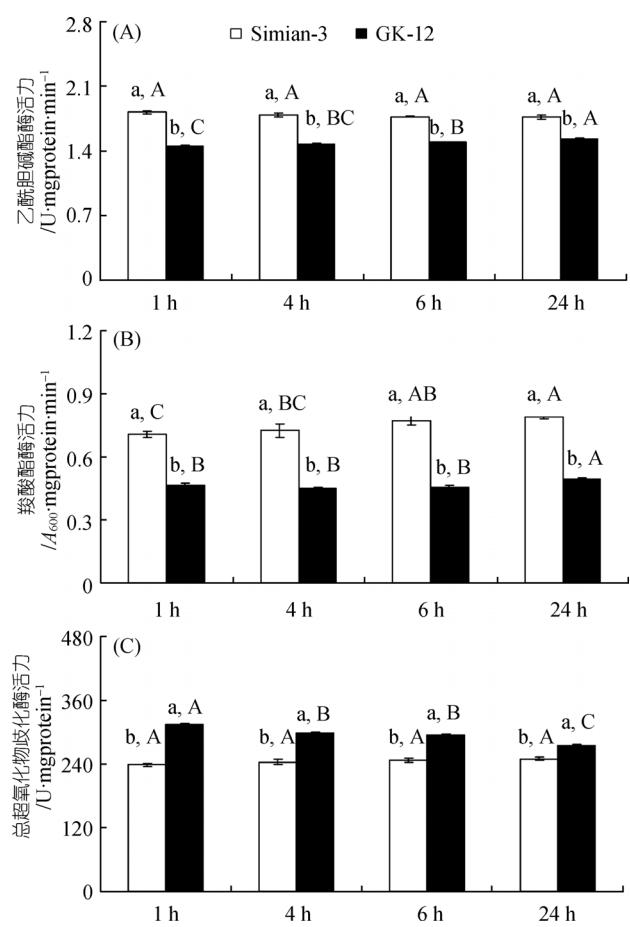


图 3 取食 Bt 棉(cv. GK-12)和常规棉(cv. 泗棉 3 号)不同时间(1, 4, 6 和 24 h)甜菜夜蛾 4 龄幼虫体内保护酶和解毒酶的活力  
(A) 乙酰胆碱酯酶; (B) 羧酸酯酶; (C) 总超氧化物歧化酶。不同小写字母示不同棉花品种之间差异显著( $P<0.05$ ), 不同大写字母示不同为害时间之间差异显著( $P<0.05$ )

此外, 害虫抗性及耐受性是害虫综合治理(IPM)和抗性综合治理(integrated resistance management, IRM)策略中要应对的问题<sup>[27]</sup>。自转Bt基因作物的首次商业化释放以来, 人们就关注其对环境的潜在影响。特别是生长季节植物组织中Bt蛋白的持续表达, 可能引起靶标害虫抗性和耐受性的演变, 及对非靶标生物产生潜在的生态和经济影响<sup>[20,31,32]</sup>。多数植食性昆虫受其寄主植物(如表达Cry1Ac毒素的棉花)生理及营养状态的影响<sup>[33]</sup>。一些害虫在杀虫蛋白的持续选择压力下已对Bt毒素产生抗性<sup>[2,34]</sup>, 如植食性昆虫红铃虫(*Pectinophora gossypiella* (Saunders))和烟芽叶蛾(*Heliothis virescens* (Fabricius))<sup>[35,36]</sup>。Chen等人<sup>[37]</sup>报道, 取食Bt棉的棉铃虫的种群动态指标(population-trend index, I)较取食常规棉的对照显著降低。取食含Bt毒素的饲料, 小菜蛾(*Plutella xylostella* (L.))的产卵量下降, 幼虫存活率降低<sup>[38,39]</sup>。Carriere等人<sup>[40]</sup>发现具有Cry1Ac抗性的红铃虫的越冬适合度下降。也有其他昆虫在Bt蛋白的连续选择压力下对Bt产生抗性的报道<sup>[2,34]</sup>。然而, 不同种类鳞翅目害虫对Bt毒素的敏感性不同。以往研究多侧重于Bt毒素对非靶标植食性昆虫的直接不利影响<sup>[15,16,41]</sup>。甜菜夜蛾是Bt棉的非靶标害虫, 也是中国重要的经济害虫。鉴于有些鳞翅目昆虫对Bt毒素产生了抗性<sup>[13]</sup>, 人们担忧甜菜夜蛾对Bt毒素也会产生抗性。目前多数研究针对Bt毒素对甜菜夜蛾的影响<sup>[42-44]</sup>, 包括Cry1C毒素的影响<sup>[45,46]</sup>。室内实验表明, 甜菜夜蛾可对Cry1C产生高达500倍以上的抗性<sup>[45]</sup>。

Bt棉可能影响鳞翅目昆虫体内一些酶的活力。乙酰胆酰酯酶(acetylcholinesterase, AChE)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和羧酸酯酶(carboxylesterase, CarE)是鳞翅目昆虫体内重要的保护酶和解毒酶。超氧化物歧化酶在平衡鳞翅目昆虫

的氧化和抗氧化作用中起重要作用, 可保护昆虫细胞免受有害环境的伤害。乙酰胆酰酯酶直接调节昆虫神经系统的功能, 在不利环境条件下, 昆虫体内乙酰胆酰酯酶的活力降低。本实验中, 取食Bt棉1, 4, 6和24 h的甜菜夜蛾4龄幼虫, 体内的乙酰胆酰酯酶活力分别比取食常规棉相同时间的个体降低25.3%, 21.4%, 18.6%和15.3%, 超氧化物歧化酶的活力则分别增加31.5%, 22.3%, 8.6%和10.2%。表明在持续选择压力下, 甜菜夜蛾可对Bt毒素产生显著的耐受性。推测, Bt蛋白的连续选择压力可引起甜菜夜蛾体内解毒酶活力的变化, 以利用其在Bt棉上存活, 因此可能导致甜菜夜蛾对Bt毒素逐渐产生抗性和耐受性<sup>[6]</sup>。

本研究发现, 棉花品种显著影响甜菜夜蛾体内除淀粉酶以外的消化酶(脂肪酶和胰蛋白酶)、保护酶和解毒酶的活力。可见, 表达Cry1Ac蛋白的Bt棉可显著影响甜菜夜蛾体内消化酶、保护酶和解毒酶的活力, 其作用与Bt棉对靶标害虫的影响相似<sup>[8]</sup>。甜菜夜蛾为害时间仅显著影响其体内胰蛋白酶和羧酸酯酶的活力, 表明棉花品种的差别对甜菜夜蛾体内酶活力的影响远远大于甜菜夜蛾为害时间的影响。棉花品种和甜菜夜蛾为害时间具有交互作用, 可显著影响甜菜夜蛾体内乙酰胆酰酯酶和超氧化物歧化酶的活力, 但对羧酸酯酶无影响, 表明甜菜夜蛾体内的保护酶和解毒酶在其不同为害时间内对Bt棉的敏感度存在差异。

害虫抗性治理(IRM)策略的制定和实施是保障Bt植物长期使用的关键<sup>[47]</sup>。本研究例证了Bt棉对甜菜夜蛾营养成份和酶活力的直接影响, 以期明确甜菜夜蛾对Bt棉响应的时间动态。通过测定甜菜夜蛾体内保护酶和解酶酶的活力对Bt棉响应的时间动态, 对于评价植食性昆虫在毒素蛋白持续选择压力下的生理反应和抗性变化具有重要参考意义。

## 参考文献

- 1 Ferry N, Edwards M G, Gatehouse J, et al. Transgenic plants for insect pest control: a forward looking scientific perspective. *Transgenic Res*, 2006, 15: 13—19[DOI]
- 2 Mascarenhas V J, Graves J B, Leonard B R, et al. Susceptibility of field populations of beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to commercial and experimental insecticides. *J Econ Entomol*, 1998, 91: 827—833
- 3 James C. Global status of commercialized biotech/GM crops: 2006. ISAAA Briefs, No. 35. Ithaca, NY. 2006
- 4 Zhang S Y, Li D M, Cui J, et al. Effects of Bt-toxin *Cry1Ac* on *Propylaca japonica* Thunberg (Col., Coccinellidae) by feeding on Bt-treated Bt-resistant *Helicoverpa armigera* (Hübner)(Lep., Noctuidae) larvae. *J Appl Entomol*, 2006, 130: 206—212[DOI]

- 5 Blumberg D, Navon A, Goldenberg S K S, et al. Interactions among *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae), its larval endoparasitoid *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae), and *Bacillus thuringiensis*. *J Econ Entomol*, 1997, 90: 1181—1186
- 6 Wu G, Marvin K H, Guo J Y, et al. Response of multiple generations of beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner), feeding on transgenic Bt cotton. *J Appl Entomol*, 2008, 133: 90—100[\[DOI\]](#)
- 7 Schnepp E, Crickmore N, van Rie J, et al. Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biol Rev*, 1998, 62: 775—806
- 8 Kranthi K R, Naidu S, Dhawad C S, et al. Temporal and intra-plant variability of Cry1Ac expression in Bt-cotton and its influence on the survival of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *Curr Sci*, 2005, 89: 291—298
- 9 Ma X M, Liu X X, Zhang Q W, et al. Assessment of cotton aphids, *Aphis gossypii*, and their natural enemies on aphid-resistant and aphid-susceptible wheat varieties in a wheat-cotton relay intercropping system. *Entomol Exp Appl*, 2006, 121: 235—241[\[DOI\]](#)
- 10 Shelton A, Zhao J Z, Roush R. Economic, ecological, foodsafety, and social consequences of the development of Bt transgenic plants. *Annu Rev Entomol*, 2002, 47: 845—881[\[DOI\]](#)
- 11 Chirkowski R L, Turnipseed S G, Sullivan M J, et al. Field and laboratory evaluations of transgenic cottons expressing one and two *Bacillus thuringiensis* var *kurstaki* Berliner proteins for management of Noctuid (Lepidoptera) pests. *J Econ Entomol*, 2003, 96: 755—762[\[DOI\]](#)
- 12 Wu K M, Guo Y Y, Lv N, et al. Efficacy of transgenic cotton containing a Cry1Ac gene from *Bacillus thuringiensis* against *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in northeren China. *J Econ Entomol*, 2003, 96: 1322—1328[\[DOI\]](#)
- 13 Tabashnik B E. Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annu Rev Entomol*, 1994, 39: 47—49[\[DOI\]](#)
- 14 Dingha B N, Moar W, Apple A G. Effects of *Bacillus thuringiensis* Cry1C toxin on the metabolic rate of Cry1C resistant and susceptible *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Physiol Entomol*, 2004, 29: 409—418[\[DOI\]](#)
- 15 Adamczyk J J Jr, Holloway J W, Church G E, et al. Larval survival and development of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) on normal and transgenic cotton expressing the *Bacillus thuringiensis* Cry1A(c)-endotoxin. *J Econ Entomol*, 1998, 91: 539—545
- 16 Stewart S D, Adamczyk J J, Knighten K S, et al. Impact of Bt cotton expressing one or two insecticidal proteins of *Bacillus thuringiensis* Berliner on growth and survival of noctuid (Lepidoptera) larvae. *J Econ Entomol*, 2001, 94: 752—760[\[DOI\]](#)
- 17 Shi H, Zhang L F, Hua B Z, et al. Insecticidal activity of residual Bt protein at the second trophic level. *Chinese Sci Bull*, 2006, 51(8): 946—951[\[DOI\]](#)
- 18 郭同斌, 嵇保中, 诸葛强, 等. 转基因杨树对杨小舟蛾幼虫解毒酶活性的影响. *林业科学*, 2007, 43: 59—63
- 19 Gutierrez A P, Adamczyk J J, Ponsard S, et al. Physiologically based demographics of Bt cotton-pest interactions . Temporal refuges, natural enemy interactions. *Ecological Model*, 2006, 191: 360—382[\[DOI\]](#)
- 20 Dong H Z, Li W J. Variability of endotoxin expression in Bt transgenic cotton. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 2007, 193: 21—29[\[DOI\]](#)
- 21 李广宏, 陈其津, 庞义. 甜菜夜蛾人工饲料的研究. *中山大学学报*, 1998, 37(4): 1—5
- 22 van Asperen K. A study of house fly esterase by means of a sensitive colourimetric method. *J Insect Physiol*, 1962, 8: 401—416[\[DOI\]](#)
- 23 Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein binding. *Anal Biochem*, 1976, 72: 248—254[\[DOI\]](#)
- 24 SAS Institute Inc. SAS/STAT Software: Changes and Enhancements through Release 6.12, Cary, NC: SAS Institute Inc. 1996
- 25 James C. Global review of commercialized transgenic crops: 1998. ISAAA Briefs, No. 8. Ithaca, NY. 1998
- 26 Pray C, Ma D M, Huang J K, et al. Impact of Bt cotton in China. *World Development*, 2001, 29: 813—825[\[DOI\]](#)
- 27 Wu K M, Guo Y Y. The evolution of cotton pest management practices in China. *Annu Rev Entomol*, 2005, 50: 31—52[\[DOI\]](#)
- 28 Dutton A, Romeis J, Bigler F. Effects of Bt maize expressing *Cry1Ab* and Bt spray on *Spodoptera littoralis*. *Entomol Exp Appl*, 2005, 114: 161—169[\[DOI\]](#)
- 29 Liu X X, Zhang Q W, Z hao J Z, et al. Effects of t he Cry1Ac toxin of *Bacillus thuringiensis* on *Microplitis mediator*, a parasitoid of t he cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *Entomol Exp Appl*, 2005b, 114: 205—213[\[DOI\]](#)
- 30 Liu X D, Z hai B P, Zhang X X, et al. Impact of transgenic cotton plants on a non-target pest, *Aphis gossypii* Glover. *Ecol Entomol*, 2005a, 30: 307—315[\[DOI\]](#)
- 31 Dutton A, Klein H, Romeis J, et al. Uptake of Bt-toxin by herbivores feeding on transgenic maize and consequences for the predator *Chrysoperla carnea*. *Ecol Entomol*, 2002, 27: 441—447[\[DOI\]](#)
- 32 Wu K M, Guo Y Y, Lv N, et al. Resistance monitoring of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to *Bacillus thuringiensis*

- insecticidal protein in China. *J Econ Entomol*, 2002, 95: 826—831 [[DOI](#)]
- 33 Coviella C E, Trumble J T. Effects of elevated atmospheric carbon dioxide on insect-plant interactions. *Conserv Biol*, 1999, 13: 700—712 [[DOI](#)]
- 34 Tabashnik B E, Liu Y B, Dennehy T J, et al. Inheritance of resistance to Bt toxin Cry1Ac in a field-derived strain of pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae). *J Econ Entomol*, 2002, 95: 1018—1026 [[DOI](#)]
- 35 Wilson W D, Flint H M, Deaton R W, et al. Resistance of cotton lines containing a *Bacillus thuringiensis* toxin to pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae) and other insects. *J Entomol Sci*, 1992, 34: 415—425
- 36 崔金杰, 夏敬源. 一熟转 Bt 基因棉田主要害虫及其天敌的发生规律. *植物保护学报*, 2000, 27: 141—145
- 37 Chen F J, Wu G, Parajulee M N, et al. Long-term impacts of elevated carbon dioxide and transgenic Bt cotton on performance and feeding of three generations of cotton bollworm. *Entomol Exp Appl*, 2007, 124: 27—35 [[DOI](#)]
- 38 Groeters F R, Tabashnik B E, Finson N, et al. Resistance to *Bacillus thuringiensis* affects mating success of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *J Econ Entomol*, 1993, 86: 1035—1039
- 39 Groeters F R, Tabashnik B E, Finson N J, et al. Fitness costs of resistance to *Bacillus thuringiensis* in the diamondback moth (*Plutella xylostella*). *Evolution*, 1994, 48: 197—201 [[DOI](#)]
- 40 Carriere Y, Ellers-Kirk C, Patin A L, et al. Overwintering cost associated with resistance to transgenic cotton in the pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae). *J Econ Entomol*, 2001, 94: 935—941 [[DOI](#)]
- 41 张永军, 吴孔明, 郭予元. 转Bt基因棉花杀虫蛋白含量的时空表达及对棉铃虫的毒杀效果转Bt基因棉Bt毒蛋白表达量的时空变化. *植物保护学报*, 2001, 28: 1—6
- 42 Luo K, Adang M J. Removal of adsorbed toxin fragments that modify *Bacillus thuringiensis* Cry1C delta-endotoxin iodination and binding by sodium dodecyl sulfate treatment and renaturation. *Appl Environ Microb*, 1994, 60: 2905—2910
- 43 Stapel J O, Waters D J, Ruberson J R, et al. Development and behavior of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in choice tests with food substrates containing toxins of *Bacillus thuringiensis*. *Biol Control*, 1998, 11: 29—37 [[DOI](#)]
- 44 Ashfaq A, Young S Y, McNew R W. Development of *Spodoptera exigua* and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) on transgenic cotton containing Cry1Ac insecticidal protein. *J Entomol Sci*, 2000, 35: 360—372
- 45 Moar W J, Puszta-Carey M, Van Faassen H, et al. Development of *Bacillus thuringiensis* Cry1C resistance by *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Appl Environ Microb*, 1995, 61: 2086—2092
- 46 Berdegué M, Trumble J T, Moar W J. Effect of Cry1C toxin from *Bacillus thuringiensis* on larval feeding behavior of *Spodoptera exigua*. *Entomol Exp Appl*, 1996, 80: 389—401 [[DOI](#)]
- 47 Huang F N. Detection and monitoring of insect resistance to transgenic Bt crops. *Insect Sci*, 2006, 13: 73—84 [[DOI](#)]