

棉铃虫和烟青虫的种间杂交

王琛柱 董钧锋

(中国科学院动物研究所, 农业虫鼠害综合治理研究国家重点实验室, 北京 100080. Email: czwang@panda.ioz.ac.cn)

摘要 成功地对棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner) 与烟青虫 *H. assulta* Guenee 进行正反杂交并获得子一代; 子一代与棉铃虫回交, 均获得回交后代. 当雌性棉铃虫与雄性烟青虫杂交时, 子一代只有雄性, 没有雌性, 根据霍尔丹定律, 可以证实棉铃虫和烟青虫决定性别的性染色体类型为 ZW 型, 雌性为杂合性别; 该杂种还表现有杂交优势, 蛹的重量显著大于亲本的雄性蛹重, 与棉铃虫雌性回交后, 造成子代雌雄性比失调, 为 1 : 4, 因此它可能在遗传防治棉铃虫上有一定的应用价值.

关键词 棉铃虫 烟青虫 种间杂交

铃夜蛾属(*Helicoverpa*)的棉铃虫 *H. armigera* (Hübner) 和烟青虫 *H. assulta* Guenee 是我国农作物上的重要害虫^[1], 两者有着相似的形态和取食习性, 但其寄主范围却有很大差异. 棉铃虫是典型的多食性昆虫, 其寄主至少有 60 种作物, 包括棉花、玉米、小麦、大豆、烟草、番茄等以及 67 种野生植物, 涉及锦葵科、茄科、禾本科、豆科等 30 余科; 烟青虫是一种寡食性昆虫, 其寄主范围与棉铃虫相比要狭窄得多, 主要以茄科的某些植物为食, 农作物中主要危害烟草和辣椒^[2]. 这两种害虫在我国常年发生, 特别是棉铃虫的危害极为严重, 仅在 1992 年大爆发就造成我国当年皮棉损失达 30% 以上^[3], 因此亟待寻找有效的防治方法. 研究两种昆虫的种间杂交, 对于了解铃夜蛾属昆虫食性的遗传、发现新的防治途径有重要的理论和实践意义.

遗传防治是防治害虫的重要措施之一, 是通过室内繁殖不育的雄虫并在田间定期释放而

达到防治害虫的目的. 人们曾利用辐射不育雄虫, 对旋丽蝇(*Cochliomyia hominivorax*)进行了成功的控制, 此外遗传防治法还应用于对其他许多害虫的防治, 如地中海实蝇(*Ceratitis capitata*)、采采蝇(*Glossina palpalis* 和 *G. morsitans*)、蚊虫(*Anopheles albimanus*)以及苹蠹蛾(*Cydia pomonella*)等^[4]. 早在 1960 年, Knippling^[5]就提出利用近缘种之间杂交, 可获得用于对害虫遗传防治的不育雄虫. 有人曾将烟芽夜蛾 *Heliothis virescens* (F)雄性与 *H. subflexa* (Guenee)雌性进行杂交, 获得了雄性不育的杂种和回交代^[6]; 经在美国 Virgin 岛屿的 St. Croix 进行释放回交昆虫实验, 发现不育因子可融入田间种群, 并认为这种方法用于遗传防治烟芽夜蛾是可行的^[7]. 为获得新的不育雄性, 有人曾尝试将美洲棉铃虫 *Helicoverpa zea* (Boddie)与我国的棉铃虫杂交, 但均告失败, 结果只获得可育的后代^[8]. 那么, 棉铃虫与烟青虫间能否进行种间杂交? 若能杂交可否产生不育的后代? 王念慈等人^[9]曾对这两种昆虫做杂交实验, 结果显示两者不能杂交, 但从其试验设计看, 供试昆虫数量偏少, 除此而外, 国内外尚未见报道. 本文将报道我们对上述两个问题的研究结果.

1 材料与方法

(i) 供试昆虫和实验条件. 棉铃虫和烟青虫分别采自河南安阳棉田和河南许昌烟田, 在室内饲养繁殖多代. 养虫室内温度为(27±1)℃, 光周期为 15L:9D. 成虫在顶面覆纱布的铁网笼(40 cm×25 cm×18 cm)内配对饲养, 每笼约 20 对左右, 饲以 10%的蜂蜜水以补充营养, 蜂蜜水每日更换. 虫卵在带盖玻璃缸中孵化, 初孵幼虫转移到装有人工饲料的 25 mL 玻璃管内饲养, 每管 3 头. 幼虫人工饲料按常规方法配制^[10], 组分有熟大豆粉 105 g, 酵母粉 32 g, 麦胚粉 50 g, 抗坏血酸 3.3 g, 尼泊金 2 g, 山梨酸 1 g, 琼脂 14.5 g, 蒸馏水 640 mL. 幼虫进入 3 龄后, 挑选生长一致的幼虫转管, 每管 1 头, 至化蛹. 蛹置于盛有潮湿土壤(用前灭菌)的罐内至羽化. 用上述方法, 饲养发育虫态基本一致的棉铃虫和烟青虫各千头待用.

(ii) 试验方法. 实验的杂交组合方案见图 1. 在蛹期区分棉铃虫和烟青虫雌雄, 并分别隔离饲养, 至羽化. 新羽化的棉铃虫雌雄蛾分别与烟青虫的雄雌蛾组合配对, 棉铃虫雌与烟青虫雄的组合用蛾 73 对, 烟青虫雌与棉铃虫雄的组合用蛾 55 对, 同时设棉铃虫和烟青虫的自交系各 30 对作为对照. 在成虫产卵期, 逐日收集笼顶纱布上当日所产卵粒, 并去除笼边孵化后可能爬入纱布的所有幼虫, 单独盛于用黑布封口的玻璃缸中. 卵孵化后, 将幼虫接入装有人工饲料的玻璃管, 并统计在产卵高峰期所收卵的孵化率. 笼内成虫死亡后, 及时解剖雌成虫, 根据精包的有无判断雌虫交尾受精情况. 子代幼虫全部化蛹后, 各重复随机抽取 20 头区分雌雄并记录性比; 雌雄蛹随机各取 10 头, 称量蛹重. 设 3 次重复.

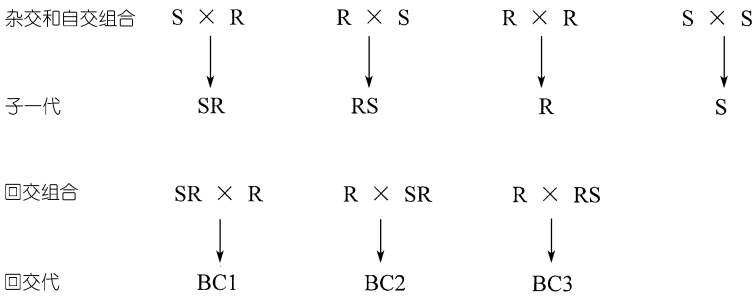


图 1 棉铃虫(R)和烟青虫(S)杂交及其子一代(SR, RS)回交的设计方案

用上述正反交试验中获得的子一代(RS, SR)分别与棉铃虫的雌或雄蛾回交(图 1), 3 种回交方式各用蛾 15 对. 同上述方法获取后代性比和雌雄蛹重, 设 3 次重复.

获得的数据用方差分析(ANOVA)的方法进行统计分析, 并用 Duncan 的新复极差法($P = 0.05$)检验差异显著性.

2 结果与分析

棉铃虫和烟青虫雌性成虫无论交配与否均会产卵, 不过, 未交配者所产的卵未受精, 不能孵化, 而交配者所产的卵为受精卵, 能正常发育. 在杂交组合雌性烟青虫与雄性棉铃虫、雌性棉铃虫与雄性烟青虫的笼内, 子代卵孵化率分别为 8.18%和 6.13%, 说明均有受精卵产生, 但受精率很低, 经解剖检查, 雌虫交配率分别为 7.14%和 8.82%; 棉铃虫自交系和烟青虫自交系 85%以上的子代卵为可孵化的受精卵. 4 种交配组合子代性比和雌雄蛹重量见表 1. 亲本棉铃虫(P1)和烟青虫(P2)的性比均接近 1 : 1, 两种昆虫雌性蛹重无显著差异, 但棉铃虫雄性蛹重显著大于烟青虫; 杂交子一代的性比有两种情况, 当雌性烟青虫与雄性棉铃虫杂交, 后代(SR)的性比亦为 1 : 1, 雌雄蛹重接近于其母本烟青虫的蛹重, 当雌性棉铃虫与雄性烟青虫杂交, 子一代(RS)全部为雄性, 没有雌性, 而且雄性蛹的重量显著大于亲本雄性, 表现出明显的杂交优势; 回交子代中, 烟青虫雌性与棉铃虫雄性杂交的子一代(SR)与棉铃虫回交产生的后代(BC1 和 BC2), 性比亦近于 1 : 1, 而棉铃虫雌性与烟青虫雄性杂交的子一代(RS)与棉铃虫回交, 其后代(BC3)雌雄性比为 1 : 4, 而回交后代雌雄蛹重均与棉铃虫的相当.

表 1 棉铃虫(R)和烟青虫(S)及其子一代(SR, RS)和回交子一代(BC1, BC2, BC3)的雌性比例和雌雄蛹重^{a)}

交配组合(雌×雄)	雌性比($\bar{x} \pm SE$) (雌/(雌+雄))	雌性蛹重($\bar{x} \pm SE$)/mg	雄性蛹重($\bar{x} \pm SE$)/mg
R×R = P1	0.48±0.06 a	0.303 2±0.005 4 ab	0.302 5±0.005 9 b
S×S = P2	0.43±0.06 a	0.288 3±0.006 1 ab	0.282 0±0.008 6 c
S×R = SR	0.53±0.06 a	0.284 1±0.006 2 b	0.277 9±0.006 0 c
R×S = RS	0 ^{b)} c		0.356 9±0.007 2 a
SR×R = BC1	0.44±0.06 a	0.305 7±0.008 0 a	0.297 7±0.007 3 bc
R×SR = BC2	0.44±0.04 a	0.297 4±0.006 6 ab	0.308 3±0.006 5 b
R×RS = BC3	0.20±0.04 b	0.307 4±0.006 8 a	0.305 8±0.006 3 b

a) 雌性比 $n = 3$, 蛹重 $n = 30$, 经 Duncan 的新复极差法检验($P = 0.05$), 同列内具有相同字母的表示相互间差异不显著
b) 在获得的共 261 头杂交子一代(RS)中, 无一头为雌性

3 讨论

在铃夜蛾属和实夜蛾属(*Heliothis*)内, 已研究的同属昆虫种间杂交结果有下列几类: (i) 可以交配, 但没有后代, *Helicoverpa punctigera* 分别与美洲棉铃虫和棉铃虫杂交均未发现有卵孵化^[11]; (ii) 有杂种子一代, 雌性可育, 雄性不育, *H. subflexa* 雌性与烟芽夜蛾雄性杂交就是这样, 子一代雌性与烟芽夜蛾雄性回交后代中还会保持雄性不育性状^[6]; (iii) 有杂种子一代并回交可育, 棉铃虫与美洲棉铃虫均可产生杂种子一代, 并且回交后代可育, 尽管杂交成功率很低^[8,11,12]. 本研究结果表明, 棉铃虫和烟青虫可以杂交并能产生可育的后代, 属上述第 3 类, 但有其独特之处, 当棉铃虫雌性与烟青虫雄性杂交, 子一代只有雄性, 而该杂种与棉铃虫雌性回交, 后代可育, 但雌雄性比失调, 为 1 : 4. 根据霍尔丹定律, 种间杂交, 子一代缺一性别, 或该性别个体稀少或不育, 那么这一性别是杂合性别^[13]. 棉铃虫雌性与烟青虫雄性杂交, 子一代缺少雌性, 根据这一定律, 可知决定它们性别的性染色体类型为 ZW 型, 雌性为杂合性别,

这与鳞翅目昆虫的实际情况是相符合的。然而, *H. subflexa* 雌性与烟芽夜蛾雄性杂交, 结果子代雄性不育, 按照霍尔丹定律, 雄性应为杂合性别, 而事实上雄性为纯合性别。可见, 也存在与霍尔丹定律相矛盾的情况。从已有的研究看, 性染色体的减数分裂驱动(meiotic drive)是性比失调的重要因素, 这种情况下遵循霍尔丹定律^[14], 但一些细胞质因子也能改变昆虫的性比或决定性别^[15]。因此, 棉铃虫雌性与烟青虫雄性杂交后代缺少雌性, 可能是基于性染色体的减数分裂驱动导致的; 而 *H. subflexa* 雌性与烟芽夜蛾雄性杂交后代雄性不育, 可能是由 *H. subflexa* 母性遗传的线粒体在杂交代和回交代的精细胞中缺乏所造成^[16], 也有人认为是由于虫体内母性遗传的病毒样颗粒与细胞核内父性遗传物质间的互作所引起的^[17]。

棉铃虫与烟青虫正反杂交所得的子代, 经与棉铃虫回交证实, 均有生育能力, 未能获得雄性不育后代。不过, 棉铃虫雌性与烟青虫雄性杂交的子一代雄性, 与棉铃虫雌性回交后, 能引起后代的性比失调, 并且从实验中发现, 它在个体上具有很强的杂种优势, 除蛹的重量比亲本显著大外, 成虫亦十分活跃, 因此, 这一雄性杂种在棉铃虫防治上可能有一定的应用价值。不过, 该杂种能否达到田间释放应用的要求, 尚需从多方面进一步研究探讨, 如提高种间杂交率, 降低用于室内大量繁殖杂种的成本, 明确杂种在寻找配偶及交配过程中与野生雄虫的竞争力等。

致谢 张继红博士和尹丽红硕士在实验中给予帮助和方便, 王立霞女士帮助饲养虫种, 谨此表示谢意。本工作为国家自然科学基金资助项目(批准号: 39670492)和中国科学院创新工程重要方向项目(KSCX2-1-02)的一部分。

参 考 文 献

- 1 陈一心. 中国动物志. 昆虫纲. 第16卷: 鳞翅目, 夜蛾科. 北京: 科学出版社, 1999. 145~146
- 2 Fit G P. The ecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. *Ann Rev Entomol*, 1989, 34: 17~52
- 3 郭予元. 棉铃虫迁飞规律及其与寄主植物的互作关系研究进展概况. *昆虫学报*, 1997, 40(增刊): 1~4
- 4 Hoy M A. *Insect Molecular Genetics: An Introduction to Principles and Applications*. New York: Academic Press, 1994. 267~300
- 5 Knipling E F. Use of insects for their own destruction. *J Econ Entomol*, 1960, 53: 415~420
- 6 Laster M L. Interspecific hybridization of *Heliothis virescens* and *H. subflexa*. *Environ Entomol*, 1972, 1: 682~687
- 7 Proshold F I. Release of backcross insects on St. Croix, U. S. Virgin islands, to suppress the tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae): Infusion of sterility into a native population. *J Econ Entomol*, 1983, 76: 1353~1359
- 8 Laster M L, Sheng C F. Search for hybrid sterility for *Helicoverpa zea* in crosses between the north American *H. zea* and *H. armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from China. *J Econ Entomol*, 1995, 88(5): 1288~1291
- 9 王念慈, 李照会. 棉铃虫与烟青虫生物学研究. *山东农业大学学报*, 1984, 1-2: 1~12
- 10 吴坤君. 棉铃虫的紫云英-麦胚人工饲料. *昆虫学报*, 1985, 28(1): 22~29
- 11 Hardwick D F. The corn earworm complex. *Mem Entomol Soc Can*, 1965, 40: 9~20
- 12 Laster M L, Hardee D D. Interbreeding compatibility between north American *Helicoverpa zea* and *Heliothis armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from Russia. *J Econ Entomol*, 1995, 88(1): 77~80
- 13 Haldane J B S. Sex ratio and unisexual sterility in hybrid animals. *J Genet*, 1922, 12: 101~109
- 14 Hurst L D, Pomiankowski A. Causes of sex ratio bias may account for unisexual sterility in hybrids: A new explanation of Haldane's rule and related phenomena. *Genetics*, 1991, 128: 841~858
- 15 Hurst L D. The incidences, mechanisms and evolution of cytoplasmic sex ratio distorters in animals. *Biol Rev*, 1993, 68: 121~193
- 16 Miller S G, Huettel M D, Davis M B, et al. Male sterility in *Heliothis virescens* × *H. subflexa* backcross hybrids. Evidence of abnormal mitochondrial transcripts in testes. *Mol Gen Genet*, 1986, 203: 451~461
- 17 Krueger C M, Degrugiller M E, Narang S K. Size difference among 16S rRNA genes from endosymbiotic bacteria found in testes of *Heliothis virescens*, *H. subflexa* (Lepidoptera: Noctuidae), and backcross sterile male moths. *Fla Entomol*, 1993, 76: 382~383

(2000-04-11 收稿, 2000-06-29 收修改稿)