



赵冬晓, 刘标. 棉铃虫对转 Bt 基因棉花的行为反应 [J]. 环境昆虫学报, 2017, 39 (1): 152–159.

棉铃虫对转 Bt 基因棉花的行为反应

赵冬晓^{1,2}, 刘 标^{1*}

(1. 环境保护部南京环境科学研究所, 南京 210042; 2. 南京大学生命科学学院, 南京 210023)

摘要: 棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner) 是转 Bt 基因棉花 (Bt 棉) 最重要的靶标害虫之一。害虫对 Bt 棉的抗性问题 Bt 棉产业持续健康发展的最主要威胁。规避行为可以减少害虫与 Bt 棉的接触而降低生理抗性选择压力。在本研究中, 通过比较棉铃虫对 Bt 棉与常规棉的行为反应评估了棉铃虫对 Bt 棉的行为规避能力。产卵选择结果显示, 棉铃虫成虫在 Bt 棉上的落卵量显著低于常规棉。幼虫实验结果显示, 棉铃虫初孵幼虫在 Bt 棉植株上的居留时间显著短于在常规棉上的居留时间。无选择条件下, 1 龄幼虫在对 Bt 棉叶的取食空洞数以及总取食量均显著低于常规棉叶。综合以上的结果, 认为棉铃虫对 Bt 棉具有一定的行为规避能力, 这可能是延缓棉铃虫对 Bt 棉产生抗性的因素之一。本研究能够帮助有效地预测靶标害虫对 Bt 作物的抗性风险。

关键词: 棉铃虫; Bt 棉; 产卵; 取食; 规避

中图分类号: Q968.1; S433

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2017) 01-0152-08

Behavioral responses of *Helicoverpa armigera* (Hübner) larvae to transgenic Bt cotton

ZHAO Dong-Xiao^{1,2}, LIU Biao^{1*} (1. Nanjing Institute of Environmental Sciences, Ministry of Environmental Protection, Nanjing 210042, China; 2. College of Life Science, Nanjing University, Nanjing 210023, China)

Abstract: *Helicoverpa armigera* (Hübner) is one of the most important target pests of transgenic Bt cotton. The evolution of resistance by pests is the main threat to the continued success of Bt cotton. Behavioral avoidance might lead to reduce exposure to Bt cotton and minimize selection for physiological resistance. In this study, we determined if behavioral avoidance against Bt cotton present in *H. armigera* by comparing its behavioral responses to Bt and non-Bt cottons. The oviposition choice experiment showed that the number of eggs on Bt cotton plants were significantly lower than on non-Bt cotton plants. The results of larvae test indicated that the residence time of *H. armigera* neonates on Bt cotton plants was much shorter than that on conventional cotton plants. Under no-choice conditions, both the number of consumed holes and the total consumed leaf area of first instars on Bt leaves were significantly less than those of first instars on non-Bt leaves. According to the results, we conclude that *H. armigera* larvae exhibit behavioral avoidance to Bt cotton, providing important insights into one possible mechanism underlying the durability of Bt cotton resistance. This study may be useful for improving strategies predicting the risk of pest resistance to Bt crops.

Key words: *Helicoverpa armigera*; Bt cotton; oviposition; feeding; avoidance

基金项目: 转基因生物新品种培育重大专项之“自然生态风险监测与控制技术”重大课题 (2016ZX08012-005); 公益性环保科研专项课题 (201509044); 中国博士后科学基金 (2015M571664)

作者简介: 赵冬晓, 女, 1985 年生, 博士研究生, 研究方向为转基因生物安全, E-mail: dxnau@126.com

* 通信作者 Author for correspondence, E-mail: liubiao@nies.org

收稿日期 Received: 2016-01-05; 接受日期 Accepted: 2016-04-15

棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner) 属鳞翅目 Lepidoptera 夜蛾科 Noctuidae 铃夜蛾属 *Helicoverpa*, 是棉田危害最严重的害虫之一。在中国、美国、澳大利亚、印度以及南非等国广泛种植的转 Bt 基因棉花 (Bt 棉) 有效的控制了棉铃虫的危害与种群扩张, 是目前应用最普遍、最成功的转 Bt 基因抗虫作物之一 (Huang *et al.*, 2001; Zilberman, 2003; Qaim and Wu, 2008; Carpenter, 2010)。然而, 长期大面积种植 Bt 棉增加了棉铃虫对 Bt 棉产生抗性的风险 (Gould, 1998; Bates *et al.*, 2005; Tabashnik *et al.*, 2005)。多年的抗性监测数据表明, 尽管棉铃虫种群中抗性基因频率随 Bt 棉种植时间的延长而有所上升, 但目前未见大田 Bt 棉抗棉铃虫失败的报道 (Zhang *et al.*, 2011; Downes and Mahon, 2012; Tabashnik *et al.*, 2012; Tabashnik *et al.*, 2013)。庇护所策略的实施一直被认为是棉铃虫对 Bt 棉的抗性还没有普遍形成的主要原因 (Brévault *et al.*, 2012; Gryspeirt and Grégoire, 2012; Jin *et al.*, 2015)。在我国, 特有的小规模、多样化种植结构使得与棉花同期种植的玉米、大豆、花生、芝麻等非 Bt 寄主作物为棉铃虫提供了天然庇护所 (Wu *et al.*, 2002; Wu and Guo, 2005), 成为延缓我国棉铃虫对 Bt 棉生理抗性发展的重要环境因子 (Jin *et al.*, 2015)。

然而, 在分析预测庇护所作物对延缓靶标害虫生理抗性的作用时, 研究者们并没有考虑到 Bt 棉的种植可能对靶标害虫寄主选择行为带来的影响 (Zalucki *et al.*, 2012)。据报道, 害虫对有毒物质的行为规避能力可以削弱毒物对其产生的选择压力, 从而延缓生理抗性的演化 (Suiter and Gould, 1994; Jallow and Hoy, 2005)。在这种情况下, 首先需要回答的问题是靶标害虫能否识别 Bt 蛋白以及能否通过改变行为方式来减少与 Bt 蛋白的接触。余月书等 (2003) 采用 H 型嗅觉仪研究发现, 趋向常规棉叶的棉铃虫 2 龄幼虫数量显著高于趋向 Bt 棉叶的幼虫数, 证明了棉铃虫幼虫对 Bt 棉叶的识别能力。取食选择研究表明, 棉铃虫幼虫能规避含有 Bt 蛋白的饲料而取食不含 Bt 蛋白的饲料 (Ashfaq *et al.*, 2001; Singh *et al.*, 2008)。棉铃虫幼虫甚至能够在含不同浓度 Bt 蛋白的饲料中选择取食 Bt 蛋白浓度较低的饲料 (Singh *et al.*, 2008)。这些报道为研究棉铃虫对 Bt 棉的规避行为提供了重要的线索。

对于鳞翅目昆虫来说, 初孵幼虫承担着能否

在植株上“定居”的重要使命, 其低龄幼虫对寄主植物的基因型以及植物产生的次生性物质最敏感 (Dix *et al.*, 1996; Zalucki *et al.*, 1999; Zalucki *et al.*, 2001), 是研究对寄主植物行为反应的最好材料 (Zalucki *et al.*, 2002)。成虫承担着种群维持和延续的重要使命, 雌性成虫规避环境中的有害物质产卵能够大大降低其后代受害的可能性 (Jallow and Joy, 2005)。在本研究中检测了棉铃虫成虫对 Bt 棉与其亲本常规棉的产卵选择性, 探索了棉铃虫低龄幼虫在 Bt 棉上的觅食取食行为, 并从棉铃虫对 Bt 棉抗性演化的角度对研究结果进行了分析讨论。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 棉花

供试棉花品种是来自于中国农科院棉花研究所的转 Bt 基因抗虫棉中 30 (Bt 棉) 及其亲本常规棉中 16 (CK 棉)。两种棉花分别于温室内栽培, 待棉花生长至 7 叶期, 挑选株高相似的棉花开展实验。

1.1.2 棉铃虫

2014 年 7 月从江苏盐城棉花种植区随机采集二代棉铃虫卵, 在室内用人工饲料饲养一代。饲养条件为温度 $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, 光周期为 15 L:9 D, 相对湿度为 75%。

1.2 检测棉花中的 Bt 蛋白

为了避免因棉花混种引起的实验误差, 用 Cry1Ab/Cry1Ac 试剂盒 (EnviroLogix, Portland, USA) 对实验中所用到的棉苗进行了 Bt 蛋白检测, 具体步骤如下:

(1) 样品的采集与处理: 选取七叶期从顶端数第一片完全初展开的顶叶, 用 1.5 mL 离心管盖扣下一片圆形棉叶, 盖上盖子后将离心管置于液氮中, 然后用研磨棒将所取叶片研磨均匀, 随后加入 250 μL 蛋白提取液 (试剂盒中自带)。(2) 点样: 依次点入 Cry1Ab/Cry1Ac 标准 (4 ng/mL, 2 ng/mL, 0.5 ng/mL)、阳性对照、空白对照以及待测样品, 50 μL 每孔, 每孔两次重复。(3) 室温下放置 15 min, 可以在摇床上进行。(4) 加 Enzyme Conjugate (酶交连物), 50 μL /孔。(5) 室温下放置 1–2 h, 可在摇床上进行。(6) 洗板, 250 μL 的洗脱液 (试剂盒中自带) 洗涤后快速甩

板, 6–7 次, 2 min/次, 洗涤后要在吸水纸上轻磕。(7) 加 Substrate (显色底物), 100 μL /孔。(8) 室温放置 30 min, 在摇床上使其充分反应。(9) 加终止液 100 μL /孔, 以终止显色反应。(10) 450 nm 处测量其 OD 值。

本研究中所用的 Bt 棉均为 OD 值为“overflow”的个体, CK 棉为 OD 值与阴性对照 OD 值的比值小于 1.5 的个体。

1.3 棉铃虫成虫对 Bt 棉和 CK 棉的产卵选择性

在温室罩笼 (2 m $\times$ 2 m $\times$ 2 m) 内检验了棉铃虫成虫对 Bt 棉与 CK 棉的产卵选择性。罩笼内放入事先已检测过 Bt 蛋白的现蕾期 Bt 棉和 CK 棉各 8 株, 按 4 $\times$ 4 格式摆放, Bt 棉与 CK 棉各占两列。傍晚向笼内释放羽化 24–48 h、未交配过的雌虫 8 头、雄虫 10 头。放虫后的第 2 天起, 连续 3 d 统计每株棉花上的卵量。实验同时设置 3 个重复罩笼, 每个罩笼内 Bt 棉和 CK 棉放置的位置各不相同, 以排除两种棉花放置方位对棉铃虫产卵选择可能带来的影响。

1.4 初孵幼虫在 Bt 棉株和 CK 棉株上的居留时间比较

选取 7–8 叶期的 Bt 棉株和 CK 棉株各 3 株, 株高平均为 (27.58 $\pm$ 2.12) cm 以排除植株高度差异过大对实验的影响。将孵化 24 h 内的初孵幼虫接到棉株顶端处于同一水平面的 2–3 片叶片上, 每隔 2 h 统计棉株上剩余的虫数, 以计算初孵幼虫在 Bt 棉和 CK 棉株上的居留曲线。实验设 3 个接虫密度, 分别为 15 头/株、25 头/株、35 头/株, 每个密度设置 3 个重复。为了排除初孵幼虫取食 Bt 棉叶死亡造成的实验误差, 统计了接虫后 12 h 内植株上虫数的动态变化情况。用 SPSS 17.0 软件, 在 Kaplan Meier 中进行 log-rank 检验, 分析初孵幼虫在 Bt 棉和 CK 棉株上的居留曲线差异是否显著。

1.5 1 龄幼虫对 Bt 棉叶和 CK 棉叶的取食量比较

鉴于 1 龄幼虫取食量相对较大, 对 Bt 蛋白敏感性高, 对 1 龄幼虫喂食 Bt 棉与 CK 棉两种棉叶。将处于植株相同位置的 Bt 棉与 CK 棉的叶片取下, 剪成 2 cm $\times$ 2 cm 的正方形, 置于培养皿中央。1 龄幼虫饥饿处理 4 h 后单头置于装有叶片的培养皿内, 盖上盖子。Bt 组和 CK 组均设置 15 个重复, 实验重复 3 次。由于低龄幼虫的趋光性较强, 实验中所有培养皿用遮光布包好, 以排除光照的影响。

每隔 4 h 对取食过的叶片与正方形坐标纸 (1 cm $\times$ 1 cm) 置于同一平面上进行拍照记录 1 次, 所得照片用 Photoshop 软件处理。用“磁性套索”或者“魔棒”工具选取被取食的小孔, 然后打开菜单中“图像”, 选取“直方图”选项, 记录显示参数中的“像素”数值。用软件中“多边形套索”工具选取坐标纸区域, 记录选区“像素”数值, 作为计算系数。

取食孔面积 (cm^2) = 取食孔像素点数/坐标纸像素点数。

1.6 数据统计与分析

用 SPSS 21.0 软件对数据进行分析, 均值的多重比较用 Turkey 氏检验, 棉铃虫幼虫分别在 Bt 棉与 CK 棉上所得到的两独立样本均数之间的差异比较采用 t 检验。在进行 ANOVA 分析前, 对取食面积、取食孔数以及平均取食孔面积进行自然对数 (ln) 转换, 从而保证数据为正态分布以及等方差。棉铃虫初孵幼虫的居留曲线比较则通过 SPSS 软件的 Kaplan-Meier 方法以及 log-rank test 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 棉铃虫成虫对 Bt 棉与 CK 棉的产卵选择

在温室内, 对雌雄配对后前 3 d 的产卵量进行了连续统计 (图 1)。第 1、2、3 天在 Bt 棉上的平均卵量分别为 (2.57 $\pm$ 0.89)、(4.00 $\pm$ 1.69)、(6.42 $\pm$ 2.17); CK 棉上的平均卵量分别为 (9.25 $\pm$ 1.25)、(20.08 $\pm$ 3.69)、(27.75 $\pm$ 4.96)。统计分析发现, 每一天的 CK 棉上的卵量均显著高于 Bt 棉上的卵量 ($P < 0.001$, T-test)。

2.2 棉铃虫初孵幼虫在 Bt 棉株和 CK 棉株上的居留时间比较

为了探索 Bt 蛋白的表达对初孵幼虫在棉株上居留时间的影响, 在 15 头/株、25 头/株、35 头/株 3 个密度下分别统计了 7–8 叶期 Bt 棉株和 CK 棉株上初孵幼虫的居留时间。统计分析结果显示, 当密度为 15 头/株时, 初孵幼虫在 Bt 棉株上的平均居留时间为 (6.00 $\pm$ 0.49) h, 而在 CK 棉株的时间为 (8.40 $\pm$ 0.59) h ($\chi^2 = 13.504$, $P < 0.001$) (图 2 A); 当密度为 25 头/株时, 在 Bt 棉株上的平均居留时间为 (5.7 $\pm$ 0.49) h, 在 CK 棉株上的平均居留时间为 (8.15 $\pm$ 0.44) h ($\chi^2 = 11.858$, $P = 0.001$) (图 2B); 当密度为 35 头/株

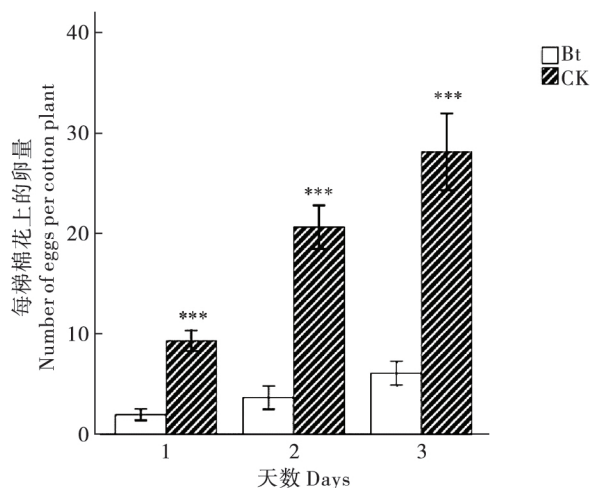


图1 选择条件下, 棉铃虫成虫在 Bt 棉与 CK 棉植株上的产卵量

Fig. 1 Oviposition of *Helicoverpa armigera* adults on Bt and non-Bt cotton plants under choice conditions

注: ***, 差异显著 ($P < 0.001$, T 检验)。Note: ***, Significant difference at $P < 0.001$ (T -test).

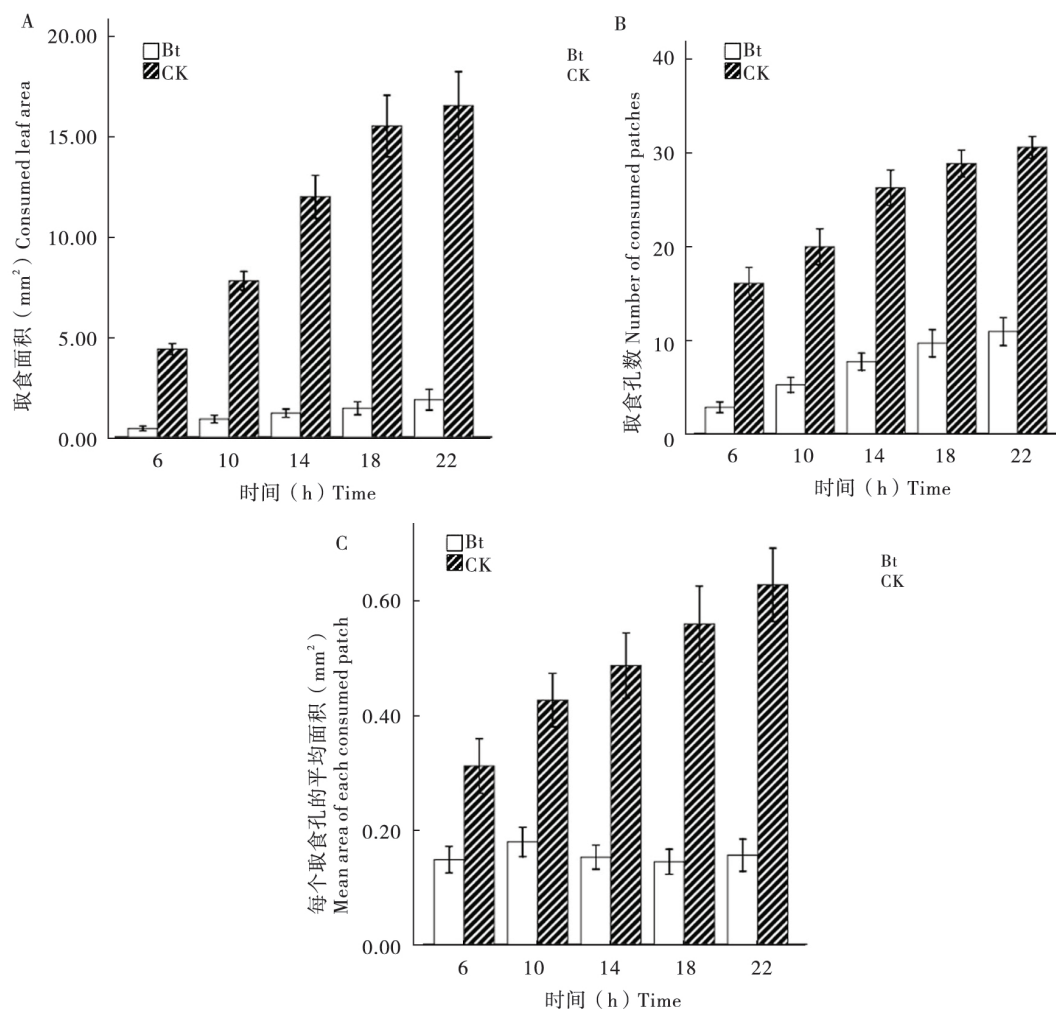


图2 3个虫密度下棉铃虫初孵幼虫在 Bt 棉株与 CK 棉株上的居留曲线

Fig. 2 Residence curves of *Helicoverpa armigera* neonates on Bt and CK cotton plants under three initial neonate densities
注: A, 15 头/株; B, 25 头/株; C, 35 头/株。Note: A, 15 per plant; B, 25 per plant; C, 35 per plant.

时, 在 Bt 棉株上的平均居留时间为 (6.83 ± 0.37) h, 在 CK 棉株上的平均居留时间为 (9.11 ± 0.26) h ($\chi^2 = 13.988$, $P < 0.001$) (图 2C)。综上, 在 3 种密度下, Bt 棉株与 CK 棉株上的幼虫居留曲线均具有显著差异, 且居留曲线之间的差异与植株上的幼虫密度无关 (two-way ANOVA, $P = 0.061$)。

2.3 棉铃虫 1 龄幼虫在 Bt 棉叶与 CK 棉叶上的取食行为比较

连续测定了 5 次即 5 个时刻的取食叶面积与取食孔数, 并计算出每个观察时刻的取食孔的平均面积, 分别对 Bt 棉叶与 CK 棉叶的这 3 个指标进行了比较。从取食叶面积来看, 在 22 h 以内, 对两种棉叶的取食面积均出现了显著的增加 ($P < 0.05$, Tukey HSD test)。其中, 幼虫在 CK 棉叶上的取食面积从 6 h 的 (4.38 ± 0.28) mm² 增加到了 22 h 的 (16.52 ± 1.69) mm²; 在 Bt 棉叶上, 取食面积从 6 h 的 (0.43 ± 0.11) mm² 增加到了 22 h 的

(1.86 ± 0.52) mm^2 。在每一个时刻均出现了 Bt 棉叶取食量显著低于 CK 棉叶的现象 ($P < 0.001$, T -test) (图 3A)。取食孔数与取食面积随时间的变化规律相似, 在 22 h 内, CK 棉叶与 Bt 棉叶的取食孔数均显著增加 ($P < 0.05$, Tukey HSD test)。从 6 h 到 22 h, 幼虫在 CK 棉叶与 Bt 棉叶上的取食孔数分别从 (16.00 ± 1.70) 和 (2.80 ± 0.57) 增加到了 (30.50 ± 1.15) 和 (10.88 ± 1.49)。每一个时刻 Bt 棉叶上的取食孔数均显著低于 CK 棉叶

($P < 0.001$, T -test) (图 3B)。分析两种棉叶上每个时刻的平均孔面积发现, 除最初的 2 h 外, 其余时刻 CK 棉叶的平均孔面积均高于 Bt 棉叶 ($P < 0.001$)。但是两种棉叶的平均孔面积随时间的变化规律完全不同。CK 棉叶的平均孔面积随时间的延长而显著增加 ($P < 0.001$, Tukey HSD test), 而 Bt 棉叶的平均孔面积在整个观察期内始终保持在一个相对稳定的水平上, 没有出现显著的增加或减少 (图 3C; $P = 0.418$, Tukey HSD test)。

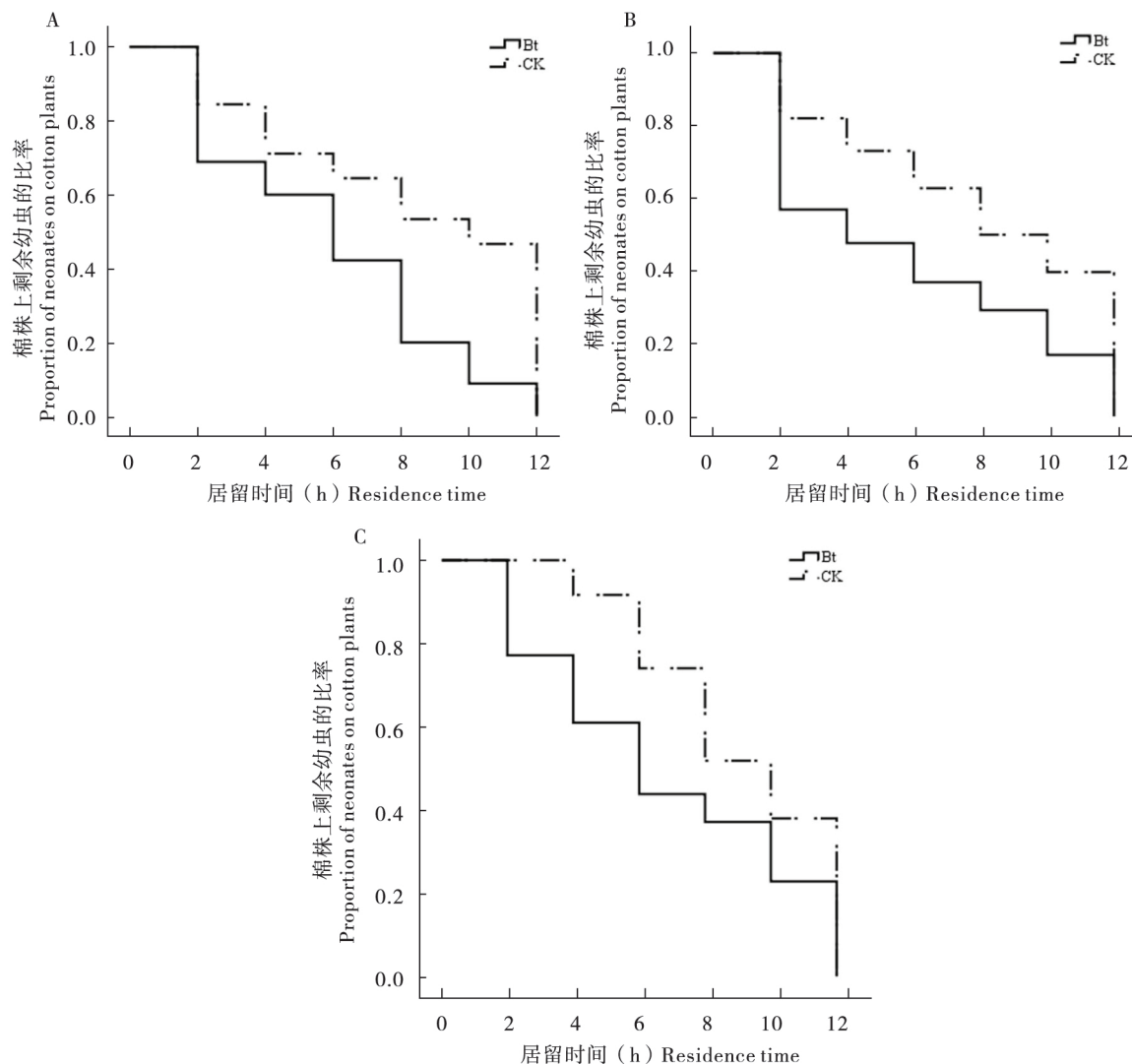


图 3 1 龄幼虫在 Bt 棉叶与 CK 棉叶上的取食行为

Fig. 3 Feeding behavior of 1st instar larval of *Helicoverpa armigera* on Bt and CK cotton leaves

注: A, 取食孔洞的总面积; B, 取食孔数; C, 取食孔洞的平均面积。Note: A, total consumed leaf area; B, number of consumed patches on leaves; C, mean area of each consumed patch.

3 结论与讨论

雌虫的产卵位置即是幼虫的孵化位置, 是初

孵幼虫需要面对的首个生存环境。由于初孵幼虫的活动能力非常有限, 此位置也将是其最初生长发育的场所 (Renwick and Chew, 1994; Scoble, 1995; Patricelli *et al.*, 2011)。所以, 雌虫产卵选

择对后代的长期生存率具有重要的影响。本研究发现棉铃虫成虫能够规避 Bt 棉而显著偏好在常规棉上产卵。Jongsma 等 (2010) 利用模型预测结果显示, 靶标害虫规避 Bt 作物产卵将显著延缓靶标害虫对 Bt 作物生理抗性的进化。具体说来, 如果在同一个种群中, 存活下来的个体均为具有规避 Bt 作物产卵的成虫后代, 那么诱导产生这种规避行为能力的选择压力将逐代增强。进一步分析, 如果规避产卵行为的产生早于生理抗性, 那么生理抗性选择压力将非常微弱, 进而延缓生理抗性的演化速率。

根据鳞翅目幼虫的觅食原则, 如果幼虫在搜寻过程中发现适宜之地, 它将选择“定居”在此地取食。反之, 如果取食寄主具有含有毒素等不适宜条件, 幼虫将继续前行搜寻适宜的取食之地 (Khan *et al.*, 1996; Harris *et al.*, 1997; Foster and Howard, 1999; Parker and Luttrell, 1999; Zalucki *et al.*, 2002)。Parker 等 (1999) 报道, 大田条件下烟蚜夜蛾的初孵幼虫在抗虫棉株上比在常规棉株上更加活跃。Yang 等 (2008) 通过对植株上棉铃虫初孵幼虫的定位, 发现 Bt 棉上的棉铃虫初孵幼虫规避 Bt 蛋白表达量高的顶端嫩叶而偏好居留在 Bt 蛋白表达量相对较低的中下部老叶。Zhang 等 (2004) 发现棉铃虫 5 龄幼虫在抗虫棉叶以及棉铃上的运动时间显著高于其在常规棉叶上的运动时间。在本研究中也发现了类似的现象。不同密度下, 棉铃虫初孵幼虫在 Bt 棉株与常规棉株的逃离曲线比较显示, 在 Bt 棉植株上的居留时间显著低于在常规棉上的居留时间。这说明 Bt 棉促进了棉铃虫初孵幼虫的运动, 且是以离开 Bt 棉株的方向运动。由此本研究推测, 在非选择条件下, 棉铃虫初孵幼虫仍对 Bt 棉具有抗拒能力。

前人研究表明, 同等时间内, 棉铃虫幼虫对 Bt 棉叶的消耗量显著低于对常规棉叶的消耗 (Zhang *et al.*, 2004; Men *et al.*, 2005)。在此基础上, 本研究对棉铃虫幼虫对 Bt 棉叶与常规棉叶的取食过程进行了时空跟踪观察分析。取食孔数的增加可以说明幼虫通过移动位置来增加取食量, 而孔平均面积的变化代表幼虫是否会在同一个位置持续取食, 或者是否会再次回到原先的位置继续取食。结合实验结果可推测, 对于常规棉叶上的幼虫来说, 通过增加取食位置以及对同一位置持续或多次取食两种方式双管齐下来完成取食行为。而对于 Bt 棉叶上的幼虫来说, 随着时间的推

移, 其取食孔数持续增加, 而孔平均面积却没有显著的变化。这说明, 幼虫取食 Bt 棉叶时在不断的更换取食位置, 且对尝试过的位置不持续或反复取食。换言之, 1 龄幼虫对 Bt 棉叶的具有“浅尝辄止”的拒食行为。综合这部分结果, 可推测, 棉铃虫 1 龄幼虫在常规棉叶上能够稳定在不同的位置持续或反复取食, 而在 Bt 棉上却一直处于搜寻适宜取食之路。

综合以上的研究结果, 尽管棉花是棉铃虫的最适寄主之一, 但是 Bt 抗虫基因的导入使得棉花不但没有更加吸引棉铃虫, 反而使棉铃虫产生了远离、规避的行为, 偏好寄主转变为陷阱作物“sink crop” (Zalucki *et al.*, 2012)。在环境中的自然或人工毒素的诱导下, 昆虫进化出的抗性包括使其能够承受高浓度毒素的生理抗性和使其主动规避毒素的行为抗性 (Jallow and Joy, 2005)。对于抗性的研究, 大多数集中在昆虫取食含有毒素的食物而引起的生理抗性上, 而对行为抗性的研究相对较少 (Kongmee *et al.*, 2004)。行为抗性使昆虫通过减少与毒素的接触而削弱毒素的选择压力, 从而延缓生理抗性的演化速率 (Suiter and Gould, 1994; Jallow and Hoy, 2005)。由此可以推断, 对 Bt 棉的规避行为能够在一定程度上削减 Bt 棉对棉铃虫幼虫的选择压力, 这也成为延缓棉铃虫对 Bt 棉生理抗性演化的主要原因之一。本研究为棉铃虫等重要的靶标害虫对 Bt 棉的行为抗性提供了重要的线索依据, 也证明了棉铃虫对 Bt 棉的抗性问题是涉及生理与行为两个方面的复杂过程。

害虫的有效防治应该服从于多变的环境带来的自然选择与进化方向 (Hendry *et al.*, 2011; Thrall *et al.*, 2011)。棉铃虫在大田条件下可产卵、取食的寄主范围非常广泛, 仅江苏省内调查已发现其寄主分属 24 个科, 包括 60 种栽培植物以及 34 种野生植物 (柏立新等, 1997)。然而, Bt 棉大面积推广种植 20 年后的今天, 棉花是否仍为棉铃虫的首选或偏好寄主仍无系统的研究和明确的定论。因此, 进一步系统地开展棉铃虫对 Bt 棉以及非 Bt 寄主作物的选择行为研究有助于全面认识棉铃虫对 Bt 棉的抗性风险问题。行为与生理方面的结论有机结合, 将对合理的抗性预测与管理、全面掌握棉铃虫与 Bt 棉的协同进化关系具有重要的指导意义, 对于保障我国 Bt 棉产业的持续健康发展也具有极其重要的意义。

参考文献 (References)

- Ashfaq M, Young SY, Mcnew RW. Bollworm (Lepidoptera: Noctuidae) development and movement on *Bacillus thuringiensis*-treated cotton leaves [J]. *Journal of Entomological Science*, 2001, 36 (1): 23–33.
- Bai LX, Sun HW, Sun YW, et al. Studies on the host plant species and their fitness to cotton bollworm [J]. *Acta Phytophylacica Sinica*, 1997, 24 (1), 1–6. [柏立新, 孙洪武, 孙以文, 等. 棉铃虫寄主植物种类及其适合性程度 [J]. 植物保护, 1997, 24 (1): 1–6]
- Bates SL, Zhao JZ, Roush RT, et al. Insect resistance management in GM crops: Past, present and future [J]. *Nature Biotechnology*, 2005, 23: 57–62.
- Brévault T, Nibouche S, Achaleke J, et al. Assessing the role of non-cotton refuges in delaying *Helicoverpa armigera* resistance to Bt cotton in West Africa [J]. *Evolutionary Applications*, 2012, 5: 53–65.
- Carpenter JE. Peer-reviewed surveys indicate positive impact of commercialized GM crops [J]. *Nature Biotechnology*, 2010, 28: 319–321.
- Dix ME, Cunningham RA, King RM. Evaluating spring cankerworm (Lepidoptera: Geometridae) preference for siberian elm clones [J]. *Environmental Entomology*, 1996, 25 (1): 58–62.
- Downes S, Mahon R. Success and challenges of managing resistance in *Helicoverpa armigera* to Bt cotton in Australia [J]. *GM Crops & Food*, 2012, 3: 228–234.
- Foster SP, Howard AJ. Adult female and neonate larval plant preferences of the generalist herbivore, *Epiphyas postvittana* [J]. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 1999, 2: 53–62.
- Gould F. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: Integrating pest genetics and ecology [J]. *Annual Review of Entomology*, 1998, 43: 701–726.
- Gryspeirt A, Grégoire JC. Effectiveness of the high dose/refuge strategy for managing pest resistance to *Bacillus thuringiensis* (Bt) plants expressing one or two toxins [J]. *Toxins*, 2012, 4: 810–835.
- Harris MO, Mafle OF, Dhana S. Behavioral responses to lightbrown apple moth neonate larvae on diets containing *Bacillus thuringiensis* formulations or endotoxins [J]. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 1997, 84: 207–219.
- Hendry AP, Kinnison MT, Heino M, et al. Evolutionary principles and their practical application [J]. *Evolutionary Applications*, 2011, 4: 159–183.
- Huang F, Buschman LL, Higgins RA. Larval feeding behavior of Dipel-resistant and susceptible *Ostrinia nubilalis* on diet containing *Bacillus thuringiensis* (Dipel ES™) [J]. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 2001, 98: 141–148.
- Jallow MFA, Hoy CW. Phenotypic variation in adult behavioral response and offspring fitness in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) in response to permethrin [J]. *Journal of Economic Entomology*, 2005, 98: 2195–2202.
- Jin L, Zhang H, Lu Y, et al. Large-scale test of the natural refuge strategy for delaying insect resistance to transgenic Bt crops [J]. *Nature Biotechnology*, 2015, 33: 169–174.
- Jongsma MA, Gould F, Legros M, et al. Insect oviposition behavior affects the evolution of adaptation to Bt crops: Consequences for refuge policies [J]. *Evolutionary Ecology*, 2010, 24: 1017–1030.
- Khan ZR, Abenes MLP, Fernandez NJ. Suitability of graminaceous weed species as host plants for rice leaffolders, *Cnaphalocrocis medinalis* and *Marasmia patnalis* [J]. *Crop Protection*, 1996, 15: 121–137.
- Kongmee M, Prabaripai A, Akranakul P, et al. Behavioral responses of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) exposed to deltamethrin and possible implications for disease control [J]. *Journal of Medical Entomology*, 2004, 41: 1055–1063.
- Men X, Ge F, Yardim EN, et al. Behavioral response of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to cotton with and without expression of the CryIAc δ -Endotoxin protein of *Bacillus thuringiensis* Berliner [J]. *Journal Insect Behavior*, 2005, 18 (1): 33–50.
- Parker CDJ, Luttrell RG. Interplant movement of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in pure and mixed plantings of cotton with and without expression of the CryIAc deltaendotoxin protein of *Bacillus thuringiensis* Berliner [J]. *Journal of Economic Entomology*, 1999, 92: 837–845.
- Qaim M, Zilberman D. Yield effects of genetically modified crops in developing countries [J]. *Science*, 2003, 299: 900–902.
- Singh G, Rup PJ, Koul O. Selective feeding of *Helicoverpa armigera* (Hübner) and *Spodoptera litura* (Fabricius) on meridic diet with *Bacillus thuringiensis* toxins [J]. *Journal Insect Behavior*, 2008, 21: 407–421.
- Suiter KA, Gould F. Physiological and behavioral avoidance responses to residues of four pesticides by six spider mite populations [J]. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 1994, 71: 1–14.
- Tabashnik BE, Dennehy TJ, Carriere Y. Delayed resistance to transgenic cotton in pink bollworm [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2005, 102: 15389–15393.
- Tabashnik BE, Wu K, Wu Y. Early detection of field-evolved resistance to Bt cotton in China: Cotton bollworm and pink bollworm [J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2012, 110: 301–306.
- Tabashnik BE, Brévault T, Carrière Y. Insect resistance to Bt crops: Lessons from the first billion acres [J]. *Nature Biotechnology*, 2013, 31: 510–521.
- Thrall PH, Oakshott JG, Fitt GP, et al. Evolution in agriculture: The application of evolutionary approaches to the management of biotic interactions in agro-ecosystems [J]. *Evolutionary Applications*, 2011, 4: 200–215.
- Wu KM, Guo YY, Gao SS. Evaluation of the natural refuge function for *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) within *Bacillus thuringiensis* transgenic cotton growing areas in north China [J]. *Journal of Economic Entomology*, 2002, 95: 832–837.
- Wu KM, Guo YY. The evolution of cotton pest management practices in China [J]. *Annual Review of Entomology*, 2005, 50: 31–52.

- Wu KM, Lu YH, Feng HQ, *et al.* Suppression of cotton bollworm in multiple crops in China in areas with Bt toxin-containing cotton [J]. *Science*, 2008, 321: 1676 – 1678.
- Yu YS, Yang YZ, Yin Y, *et al.* Impacts of Bt cotton on host selection behavior of *Helicoverpa armigera* larvae [J]. *Entomological Knowledge*, 2003, 40 (5): 423 – 425. [余月书, 杨益众, 印毅, 等. Bt 棉花对棉铃虫幼虫选择行为的影响 [J]. 昆虫知识, 2003, 40 (5): 423 – 425.]
- Zalucki MP, Malcolm SB. Plant latex and first-instar monarch larval growth and survival on three North American milkweed species [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1999, 25: 1827 – 1842.
- Zalucki MP, Brower LP, Alfonso AM. Detrimental effects of latex and cardiac glycosides on survival and growth of first instar monarch butterfly larvae *Danaus plexippus* feeding on the sandhill milkweed *Asclepias humistrata* [J]. *Environmental Entomology*, 2001, 26: 212 – 224.
- Zalucki MP, Clarke AR, Malcolm SB. Ecology and behavior of first instar larval Lepidoptera [J]. *Annual Review of Entomology*, 2002, 47: 361 – 393.
- Zalucki MP, Cunningham JP, Downes S, *et al.* No evidence for change in oviposition behavior of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) after widespread adoption of transgenic insecticidal cotton [J]. *Bulletin of Entomological Research*, 2012, 102: 468 – 476.
- Zhang HN, Tian W, Zhao J, *et al.* Diverse genetic basis of field-evolved resistance to Bt cotton in cotton bollworm from China [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2012, 109: 10275 – 10280.
- Zhang JH, Wang CZ, Qin JD, *et al.* Feeding behaviour of *Helicoverpa armigera* larvae on insect-resistant transgenic cotton and non-transgenic cotton [J]. *Journal of Applied Entomology*, 2004, 128: 218 – 225.