



灰飞虱翅型及翅发育基因对长、短翅定向选择的响应

王汝琳, 刘向东*

(南京农业大学植物保护学院昆虫学系, 南京 210095)

摘要:【目的】稻飞虱翅型调控的分子机理已较为清楚,但是在长、短翅品系不断纯化过程中翅型及翅发育基因表达水平的变化规律还不明确,因此本研究旨在阐明灰飞虱 *Laodelphax striatellus* 长、短翅品系的翅长、翅重及翅发育基因对翅型定向选择的响应,以期为明确灰飞虱翅型的遗传进化规律提供参考。【方法】在恒定条件下对灰飞虱长、短翅型分别进行 14 和 13 个连续代次的定向选择,建立长翅型和短翅型品系;测定各选择代次中两品系的长翅和短翅率、翅长和翅重;并采用 qPCR 方法测定翅发育基因 *InR1*, *InR2* 和 *FoxO* 的相对表达水平;通过比较长、短翅型品系的翅型指标和基因表达水平在各选择代次间的差异来表征翅型及翅发育基因的选择响应。【结果】长翅型和短翅型分别进行连续 14 和 13 代的定向选择,灰飞虱长翅型品系的长翅率以及短翅型品系的短翅率在各选择代次间均显著上升,均已保持在 95% 左右。随着选择代次的增多,长翅型品系的翅长不断增长,短翅型品系的翅长不断缩短,长、短翅型品系的翅重均呈变轻趋势。长翅型品系 3 龄若虫的 *InR1* 和 *InR2* 相对表达水平随选择代次的增多而下降,但 *FoxO* 相对表达水平不随选择代次变化;短翅型品系 *InR1*, *InR2* 和 *FoxO* 在 3 龄若虫中的相对表达水平随选择代次增多呈现上升趋势;这 3 个基因在成虫中的相对表达水平对长和短翅型的选择响应不明显。【结论】灰飞虱翅型对定向选择有明显的响应,选择翅型的比率显著上升并保持在高水平;长翅型品系经定向选择后翅变长、变薄,短翅型品系的翅则变短、变轻;多世代定向选择长翅型抑制了若虫的翅发育基因 *InR1* 和 *InR2* 的表达,而短翅型的多世代定向选择则激活了其表达,从而促进翅型纯系的形成与保持。研究结果预示灰飞虱种群能向长、短翅型纯系两个方向进化。

关键词: 灰飞虱;翅多型性;定向选择;翅长;翅重;胰岛素受体;基因表达水平

中图分类号: Q968 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2023)02-0200-09

Responses of wing morph and wing development genes to directional selection for the long- and short-winged morphs in *Laodelphax striatellus* (Hemiptera: Delphacidae)

WANG Ru-Lin, LIU Xiang-Dong* (Department of Entomology, College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: 【Aim】The molecular mechanism of the wing morph regulation of rice planthopper is clear, but the change rules of wing morph and expression levels of wing development genes during the continuous selection for the long- and short-winged strains remain obscure. This study aims to explore the responses of wing length, wing weight and wing development genes of the long- and short-winged strains of the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus* to the directional selection, so as to clarify the genetic rule and evolution of its wing morph. 【Methods】The long- and short-winged morphs of *L. striatellus* were successively selected for 14 and 13 generations, respectively, under the constant conditions, and the

long- and short-winged strains were established. The rates of long- and short-winged individuals, wing length and wing weight of the two strains were measured in each selection generation, and the relative expression levels of the wing development genes *InR1*, *InR2* and *FoxO* were examined using the qPCR method. The selection responses of the wing morph and wing development genes were characterized by comparing the differences in the wing morph indicators and gene expression levels between the long- and short-winged strains in each selection generation. 【Results】 Through the directional selection of long- and short-winged strains of *L. striatellus* for 14 and 13 consecutive generations, respectively, the rate of long-winged individuals in the long-winged strain and the rate of short-winged individuals in the short-winged strain significantly increased, and both could remain about 95%. With the increase of the selection generations, the wing length of the long-winged strain became longer whereas that of the short-winged strain became shorter, and both the wing weights of the long- and short-winged strains became lighter. The relative expression levels of *InR1* and *InR2* in the 3rd instar nymphs of the long-winged strain decreased with the increase of selection generations, whereas that of *FoxO* had no change. However, the relative expression levels of *InR1*, *InR2* and *FoxO* in the 3rd instar nymphs of the short-winged strain increased with the increase of selection generations. The expression levels of these three genes in adults had no obvious responses to the selection for the long- and short-winged morphs. 【Conclusion】 *L. striatellus* has obvious responses to the directional selection for wing morphs, and the rate of the selected wing morph increases significantly and remains a high level. The wings of the long-winged strain become longer and thinner whereas the wings of the short-winged strain become shorter and lighter after directional selection. The multi-generational directional selection inhibits the expression of two wing development genes *InR1* and *InR2* of the long-winged strain, while activates the expression of them of the short-winged strain, thereby promoting the formation and maintenance of the pure-bred lineages of long- and short-winged morphs. These results indicate that the *L. striatellus* population may evolve towards the pure-bred lineages of long-winged and short-winged morphs.

Key words: *Laodelphax striatellus*; wing polymorphism; directional selection; wing length; wing weight; insulin receptor; gene expression level

灰飞虱 *Laodelphax striatellus* 是水稻上的重要害虫,它通过口针摄取植物汁液和传播病毒病而引起水稻产量的损失 (Sōgawa, 1982; 李志强和孙富余, 2021)。灰飞虱种群存在长翅型和短翅型个体。翅型分化是昆虫对环境变化的响应,也是昆虫适应环境的一种策略。长翅型可以进行长距离飞行,有利于昆虫离开不利的栖息地并寻找新的生存资源,短翅型不能飞行,物质积累与能量分配偏向于繁殖,有利于种群的迅速繁衍壮大 (Roff, 1986; Roff and Fairbairn, 1991; 曾杨等, 2021)。翅型分化增强了稻飞虱种群的适应力,从而加大了对其进行监测和防控的难度。充分理解稻飞虱翅型调控机理和翅型进化趋势,将有利于准确预测种群未来发展态势,从而为及时、有效的防控提供指导。

灰飞虱的翅型存在明显的筛选响应和遗传效应 (Mahmud, 1980; Mori and Nakasuji, 1990; 彭娟等, 2012)。灰飞虱种群在恒定条件下进行翅型筛选 7 代,清楚

代时,长翅品系中的雌虫长翅率达到 80%,而短翅品系中的雌虫长翅率不到 30%。在第 7 代之后,长翅品系中的雌虫长翅率保持在 80% ~ 95% 之间,短翅品系中的雌虫长翅率保持在 5% ~ 30% 之间,而不筛选种群的翅型始终存在较大波动 (Mori and Nakasuji, 1990)。彭娟等 (2012) 也发现在灰飞虱长翅品系中随着筛选代次的增加,雌虫的短翅率下降,并在 5% ~ 25% 之间波动,雄虫的短翅率由第 1 代的 1.25% 下降到第 3 代的 0%。人工定向选择可以提高灰飞虱种群中特定翅型个体的比率,并且这种提高具有遗传性,由此说明灰飞虱种群具有形成长翅型和短翅型纯系的潜力。但在翅型定向选择或纯系形成过程中,灰飞虱的迁飞潜力 (如翅长和翅重) 及翅发育调控基因 (如胰岛素受体基因) 等是否会发生相应的变化,以利于种群在迁飞或滞留能力上的不断加强而向迁飞型或滞留型两方向进化,这还不

调节稻飞虱翅型的主要信号通路有胰岛素信号通路及其下游的 FoxO 转录因子等 (Xu *et al.*, 2015; Lin *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2021)。胰岛素信号通路对昆虫组织或器官的形态发育具有关键作用,可通过影响特定分子通路进而影响表型 (Marshall *et al.*, 2012)。目前已经明确稻飞虱体内的两胰岛素受体基因 *InR1* 和 *InR2* 通过调节转录因子 *FoxO* 的活性,在控制长翅和短翅发育中起着相反的作用;*InR1* 激活导致若虫发育为长翅型,*InR2* 激活则可抑制 *InR1* 的活性并激活下游转录因子 *FoxO*,从而导致若虫发育为短翅型 (Xu *et al.*, 2015)。此外 *InR1* 与 *InR2* 的活性受到环境条件影响,不同的环境条件会产生不同的信号分子从而激活相应的受体,在飞虱若虫的最后一个龄期,长、短翅型受到 *InR1* 和 *InR2* 的活性调控可逆,以便在翅型上及时应对环境的变化 (Zhang *et al.*, 2019)。采用 RNAi 技术已阐明了稻飞虱翅型调控的分子机理并确定了两个胰岛素受体调控稻飞虱翅型的通路 (Xu *et al.*, 2015),但在筛选纯系或近纯系的各代次中翅型调控基因的表达水平与翅型比率变化间的关系还不清楚。因此,本研究通过连续代次定向选择灰飞虱的长、短翅型品系,测定各选择代次中的翅型比率、翅形态特征及翅发育基因的表达水平,从而揭示灰飞虱翅型与基因表达水平间的关系,以丰富我们对稻飞虱种群翅型分化与进化的理解。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

灰飞虱采自江苏南京稻田,在室内用武运7号水稻品种的稻苗进行饲养 (彭娟等, 2012)。饲养条件: 温度 (25 ± 1) °C, 相对湿度 75% ± 10%, 光周期 14L: 10D。

1.2 翅型品系的定向选择

采用 Zhang 等 (2023) 方法进行灰飞虱长翅型和短翅型的定向选择,并建立相应的长翅型和短翅型品系。长翅型品系建立时每一代均选用长翅型的雌、雄成虫配对,短翅型品系建立时每一代均选用短翅型的雌、雄成虫进行配对。每对雌、雄成虫置于种有 15 株 8.5 cm 高稻苗的塑料杯 (上口径 9.35 cm、底部直径 5.90 cm、高 9.75 cm) 中进行交配产卵。卵孵化后将初孵若虫吸入新稻苗杯中,每杯苗接 15 头若虫。每品系每选择代次的若虫设置 24 ~ 30 杯,调查每杯中羽化成虫的翅型和性别,得到长、短翅

率。灰飞虱短翅型和长翅型品系分别连续选择 13 和 14 代。

1.3 翅长和翅重的测量

在各选择代次中,每个品系取雌、雄成虫各 5 ~ 18 头成虫。用镊子剖下前、后翅,在解剖镜下用 Motic Images Plus 3.0 ML 测量软件分别进行翅长的测定 (图 1),并以左、右翅翅长的平均值作为所测前、后翅的翅长。将每代成虫剖下的前、后翅放入小离心管中,使用精细天平 XP6 (1 μg, Mettler Toledo AG, Greifensee, 瑞典) 称取重量,重复测量 3 次,以其平均值记为翅重。

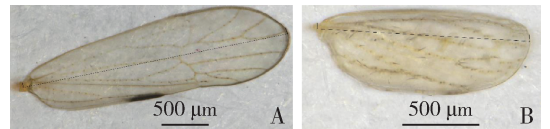


图 1 灰飞虱长翅型 (A) 和短翅型 (B) 成虫前翅翅长测定
Fig. 1 Measurement of forewing length of the long-winged (A) and short-winged (B) adults of *Laodelphax striatellus*

1.4 翅发育基因的表达水平测定

在长、短翅型定向选择各代次中,分别收集蜕皮后 24 h 内的 3 龄若虫和羽化后 24 h 内的雌、雄成虫进行翅发育基因 *InR1*, *InR2* 和 *FoxO* 相对表达水平的测定。3 龄若虫每个生物学重复收取 30 头,成虫每个生物学重复收取 15 头,每品系每选择代次分别进行 3 个生物学重复样本的测定。参照 Zhang 等 (2023) 方法进行 RNA 提取和定量 PCR。采用 Trizol 法提取样品总 RNA,使用 PrimeScript™ RT Reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time) 试剂盒 (TaKaRa, 大连) 合成 cDNA 作为模板。选取 18S rRNA 基因和 *RPL9* 作为内参基因 (Zhang *et al.*, 2023),利用荧光定量 PCR 的 SYBR Premix Ex Taq™ (Perfect Real Time) 试剂盒 (TaKaRa, 大连),在 ABI7500 荧光定量 PCR 仪 (Applied Biosystems, 加利福尼亚, 美国) 上进行基因相对表达水平的测定。各基因定量 PCR 引物如表 1 所示。PCR 反应体系 (20 μL): SYBR 酶 10 μL, ddH₂O 6.8 μL, 荧光染料 0.4 μL, 10 μmol/L 上下游引物各 0.4 μL, cDNA 模板 2 μL。反应程序: 95 °C 预变性 30 s; 95 °C 变性 5 s, 60 °C 延伸 34 s, 40 个循环。每样品进行 3 次技术重复。各基因相对表达水平采用 2^{-ΔΔC_t} 法进行计算 (Livak and Schmittgen, 2001)。

1.5 数据分析

表 1 qPCR 所用引物
Table 1 Primers used in qPCR

基因 Genes	引物 Primers	引物序列(5'-3') Primer sequences
18S rRNA	18s-F	GCGGCATGCTACTGGCAACATAC
	18s-R	GATAGGCTTGTCTCTGACAGAGC
RPL9	RPL9-F	TGTGACCACCGAAAACAACTCT
	RPL9-R	TCGTCCTTCTGCTTTGTCGAGT
InR1	InR1-F	ACACTGCATCAATGCCTCAGAA
	InR1-R	GTGCGTGACATTACCGTTAGGA
InR2	InR2-F	CATTGGTGTCATGGAAGCTG
	InR2-R	TGATTCCAAATATGCCATGC
FoxO	FoxO-F	ACGTCCAAGTTCGAGAAGCG
	FoxO-R	ACTTGAAAGCCAGGCAGAGG

择代次间的差异显著性采用单因素方差分析方法进行分析, 平均值间的差异显著性采用 Tukey 氏法进行检验。所有统计分析均在 SPSS 21.0 中进行。由于每对前后翅的重量太轻, 为了减小称量误差, 在各选择代次中将全部翅合并称重后计算出每头成虫的

平均翅重, 因此测定出的翅重无法进行统计分析, 仅进行变化趋势描述。数据均为平均值 \pm 标准误。

2 结果

2.1 灰飞虱翅型的选择响应

对灰飞虱翅型进行定向选择, 结果表明, 长翅型的定向选择提高了种群中的长翅率 ($F_{13, 454} = 5.540$, $P < 0.001$) (图 2: A), 长翅型连续定向选择 8 代, 长翅率从第 1 代的 $76.30\% \pm 3.38\%$ 上升至 $98.94\% \pm 0.61\%$, 后续第 9-14 代选择中长翅率在 $92\% \sim 96\%$ 之间 (图 2: A)。短翅型的定向选择提升了种群中的短翅率 ($F_{12, 474} = 17.538$, $P < 0.001$) (图 2: B), 短翅型连续定向选择 10 代, 种群中的短翅率从第 1 代的 $67.02\% \pm 4.20\%$ 上升至第 10 代的 $97.51\% \pm 1.24\%$, 后续第 11-13 代选择中短翅率仍保持在 95% 左右 (图 2: B)。这些结果表明灰飞虱长、短翅型存在强烈的定向选择响应。

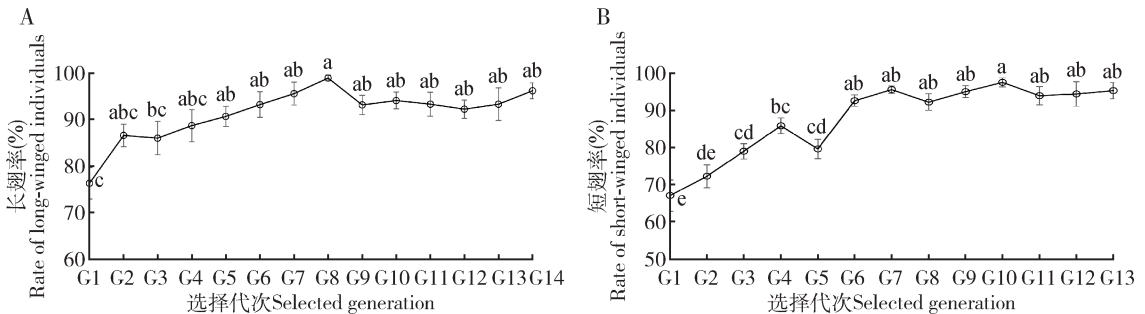


图 2 灰飞虱长翅型(A)和短翅型(B)品系在翅型定向选择中的长翅率和短翅率

Fig. 2 Rates of long- and short-winged individuals in the long-winged (A) and short-winged (B) strains of *Laodelphax striatellus* during the directional selection for a wing morph

G1 - G14: 分别为第 1 - 14 代 1st - 14th generation, respectively. 下图同。The same for the following figures. 图中数据为平均值 \pm 标准误; 折线上不同字母表示经 Tukey 氏 HSD 事后检测比较各选择代次间差异显著 ($P < 0.05$)。Data in the figure are mean \pm SE. Different letters above the broken line mean significant difference between generations at $P < 0.05$ level using Tukey's HSD *post hoc* test.

2.2 灰飞虱翅长的选择响应

灰飞虱长翅型品系的定向选择引起成虫翅长的明显增长 (图 3: A), 长翅型雄虫的前翅翅长 ($F_{9, 118} = 31.412$, $P < 0.001$) 和后翅翅长 ($F_{9, 108} = 24.334$, $P < 0.001$)、长翅型雌虫的前翅翅长 ($F_{9, 90} = 19.805$, $P < 0.001$) 和后翅翅长 ($F_{9, 79} = 14.050$, $P < 0.001$) 均随选择代次的增多而增长 (图 3: A)。短翅型雄虫的前翅翅长随选择代次的增多而缩短 ($F_{7, 55} = 58.946$, $P < 0.001$), 短翅型雌虫的前翅翅长在前 6 代定向选择中变长, 但在第 7 和 9 代次选择后变短 ($F_{7, 65} = 60.447$, $P < 0.001$)。总体

呈缩短趋势 (图 3: B)。灰飞虱翅型定向选择导致成虫翅长发生显著变化。

2.3 灰飞虱翅重的选择响应

对灰飞虱长翅型进行定向选择, 其长翅型雄虫和长翅型雌虫的前后翅总翅重随选择代次的增多呈下降趋势, 并且在前 9 代选择中波动较大 (图 4: A)。对灰飞虱的短翅型进行定向选择, 其短翅型雄虫和短翅型雌虫的前翅重随选择代次的增多呈下降趋势, 并且短翅型雌虫的翅重在选择的第 6 代时波动很大 (图 4: B)。结果表明, 灰飞虱翅重在翅型定向选择中呈减轻趋势。

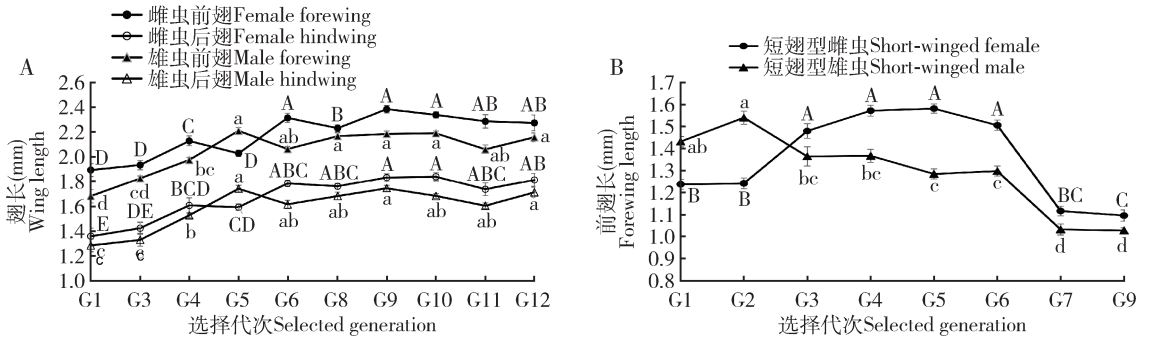


图3 灰飞虱长翅型(A)和短翅型(B)品系定向选择中的成虫翅长变化

Fig. 3 Changes in the wing length of adults in the long-winged (A) and short-winged (B) strains of *Laodelphax striatellus* during the directional selection

图中数据为平均值 ± 标准误;折线上不同大写和小写字母分别表示经 Tukey 氏 HSD 事后检测比较雌虫和雄虫翅长在各选择代次间差异显著 ($P < 0.05$)。Data in the figure are mean ± SE. Different uppercase and lowercase letters above the broken line mean significant difference in the wing lengths of females and males, respectively, between generations at $P < 0.05$ level using Tukey's HSD *post hoc* test.

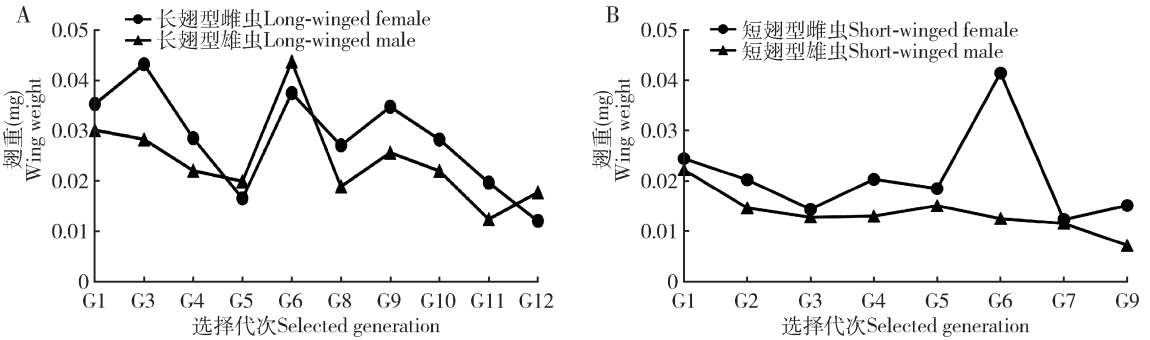


图4 灰飞虱长翅型(A)和短翅型(B)品系定向选择中的翅重量变化趋势

Fig. 4 Change trends in the wing weight of the long-winged (A) and short-winged (B) strains of *Laodelphax striatellus* during the directional selection

2.4 灰飞虱翅发育基因对定向选择的响应

2.4.1 短翅型的定向选择:对短翅型进行定向选择,各选择代次中蜕皮后 24 h 内的 3 龄若虫的 *InR1* 相对表达水平随选择代次的增多而上升 ($F_{4,9} = 12.064, P = 0.001$) (图 5: A); 3 龄若虫的 *InR2* 相对表达水平在定向选择过程中也呈现上升趋势 ($F_{4,8} = 8.781, P = 0.005$) (图 5: B); 3 龄若虫的 *FoxO* 相对表达水平在定向选择第 2 - 10 代中上升 ($F_{4,10} = 20.189, P < 0.001$),但选择第 12 代次时又降回到第 2 和 3 代次的水平(图 5: C)。这些结果表明,在灰飞虱短翅型定向选择过程中,3 龄若虫翅发育基因的表达水平呈上升趋势。

短翅型定向选择 12 代次中,短翅型雌虫的 *InR1* ($F_{4,9} = 9.652, P = 0.003$) (图 6: A) 和 *FoxO* ($F_{4,9} = 5.655, P = 0.015$) (图 6: C) 的相对表达水平在第 2 - 10 代次筛选中上升,但在第 12 代次时又回落到第 2 代时的水平;短翅雌虫的 *InR2* 相对表达水平在各选择代次中也有类似表现,但尚未达到显

著水平 ($F_{4,10} = 2.306, P = 0.129$) (图 6: B)。

短翅型定向选择中,短翅型雄虫的 *InR1* 的相对表达水平呈上升趋势 ($F_{4,10} = 26.427, P < 0.001$) (图 7: A),但 *InR2* ($F_{4,10} = 2.657, P = 0.096$) 和 *FoxO* ($F_{4,9} = 2.114, P = 0.161$) 的相对表达水平在各选择代次中没有显著变化(图 7: B, C)。短翅型定向选择对雌、雄成虫中翅发育基因的表达水平有影响,但随选择代次增多无统一变化规律。

2.4.2 长翅型的定向选择:在长翅型定向选择 14 代中,3 龄若虫的 *InR1* ($F_{5,12} = 21.148, P < 0.001$) (图 8: A) 和 *InR2* ($F_{5,12} = 101.998, P < 0.001$) (图 8: B) 的相对表达水平不断下降,但 *FoxO* 的相对表达水平在各选择代次间差异不显著 ($F_{5,11} = 1.399, P = 0.298$) (图 8: C)。长翅型的连续筛选抑制了灰飞虱 3 龄若虫 *InR1* 和 *InR2* 的表达。

在长翅型定向选择中,长翅型雌虫 *InR1* 的相对表达水平随选择代次不断下降 ($F_{5,12} = 8.702, P = 0.001$) (图 9: A),长翅型雌虫的 *InR2* 的相对表达

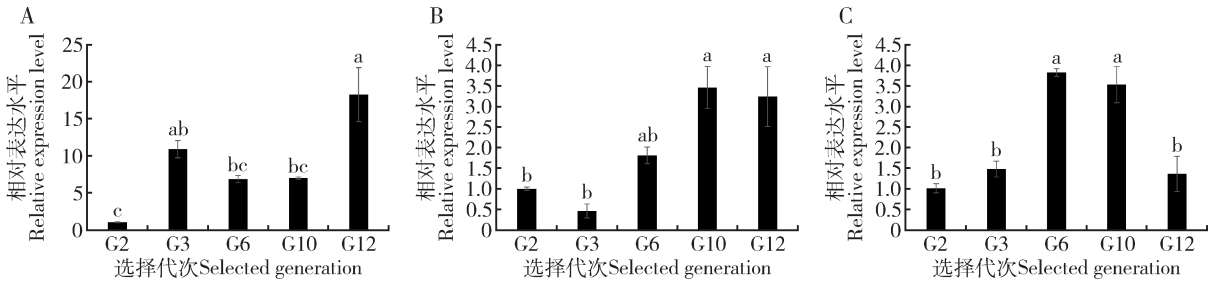


图 5 灰飞虱短翅型定向选择中 3 龄若虫 *InR1* (A), *InR2* (B) 和 *FoxO* (C) 的相对表达水平

Fig. 5 Relative expression levels of *InR1* (A), *InR2* (B) and *FoxO* (C) in the 3rd instar nymphs from the short-winged strain of *Laodelphax striatellus* during the directional selection

图中数据为平均值 \pm 标准误; 柱上不同字母表示经 Tukey 氏 HSD 事后检验比较各代次间差异显著 ($P < 0.05$)。图 6-10 同。Data in the figure are mean \pm SE. Different letters above bars mean significant difference between generations at $P < 0.05$ level using Tukey's HSD *post hoc* test. The same for Figs. 6-10.

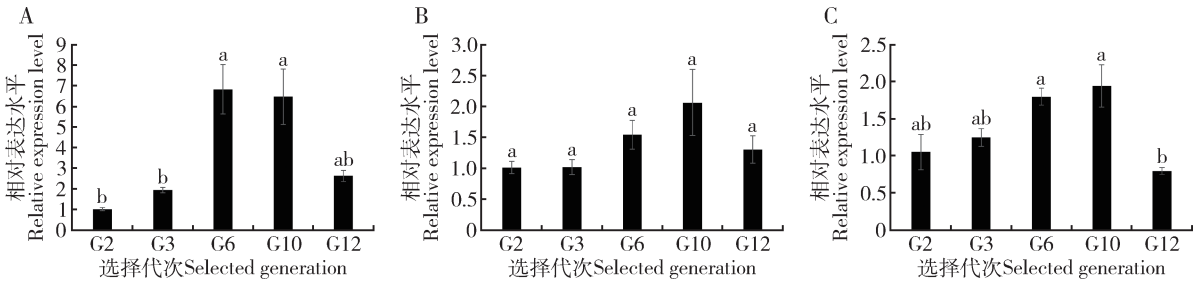


图 6 灰飞虱短翅型定向选择中雌成虫 *InR1* (A), *InR2* (B) 和 *FoxO* (C) 的相对表达水平

Fig. 6 Relative expression levels of *InR1* (A), *InR2* (B) and *FoxO* (C) in female adults from the short-winged strain of *Laodelphax striatellus* during the directional selection

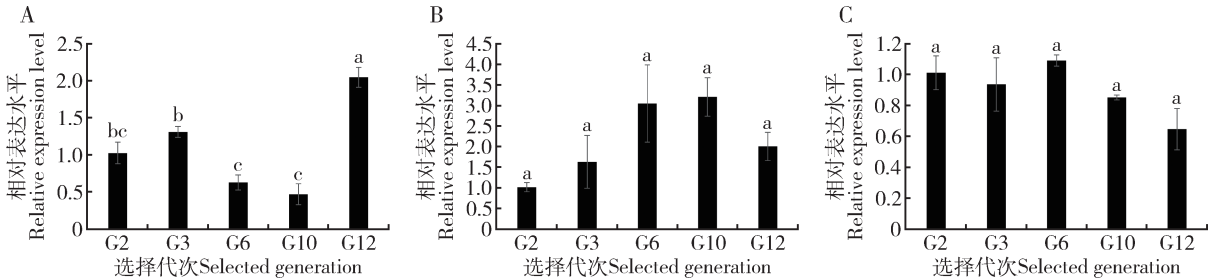


图 7 灰飞虱短翅型定向选择中雄成虫 *InR1* (A), *InR2* (B) 和 *FoxO* (C) 的相对表达水平

Fig. 7 Relative expression levels of *InR1* (A), *InR2* (B) and *FoxO* (C) in male adults from the short-winged strain of *Laodelphax striatellus* during the directional selection

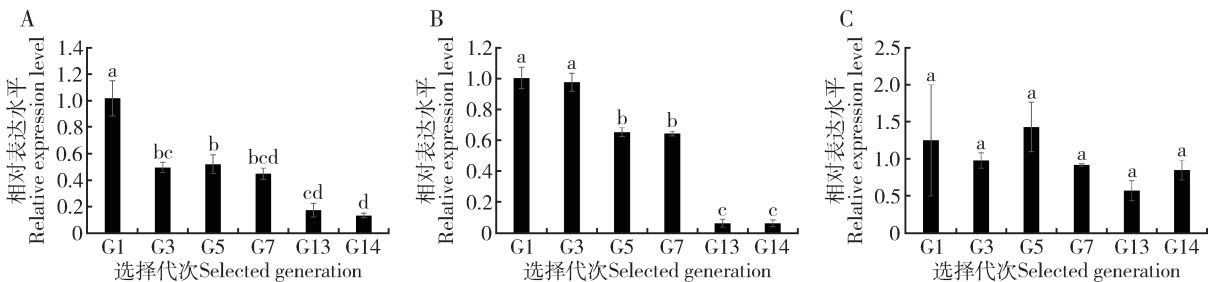


图 8 灰飞虱长翅型定向选择中 3 龄若虫 *InR1* (A), *InR2* (B) 和 *FoxO* (C) 的相对表达水平

Fig. 8 Relative expression levels of *InR1* (A), *InR2* (B) and *FoxO* (C) in the 3rd instar nymphs from the long-winged strain of *Laodelphax striatellus* during the directional selection

水平在选择的第 5 和 7 代时最高,且显著高于其他选择代次的($F_{5,12} = 675.672$, $P < 0.001$),呈现先上升后回落到第 1 代水平的趋势(图 9: B);长翅型雌虫的 *FoxO* 相对表达水平在各选择代次中没有显著变化($F_{5,10} = 2.959$, $P = 0.068$)(图 9: C)。

长翅型定向选择中,长翅型雄虫的 *InR1* 相对表达水平在第 1-7 代中呈现下降趋势,但第 13 代时

又突然上升到起始水平,第 14 代时下降($F_{5,12} = 5.779$, $P = 0.006$)(图 10: A);长翅型雄虫的 *InR2* 相对表达水平在各选择代次间差异不显著($F_{5,12} = 1.943$, $P = 0.160$)(图 10: B);长翅型雄虫的 *FoxO* 相对表达水平在各选择代次间呈下降趋势($F_{5,10} = 7.790$, $P = 0.003$)(图 10: C)。

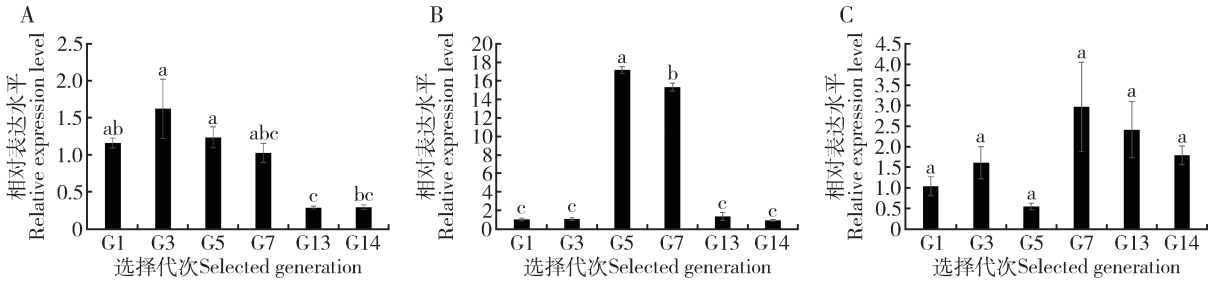


图 9 灰飞虱长翅型定向选择中雌虫 *InR1* (A), *InR2* (B) 和 *FoxO* (C) 的相对表达水平
Fig. 9 Relative expression levels of *InR1* (A), *InR2* (B) and *FoxO* (C) in female adults from the long-winged strain of *Laodelphax striatellus* during the directional selection

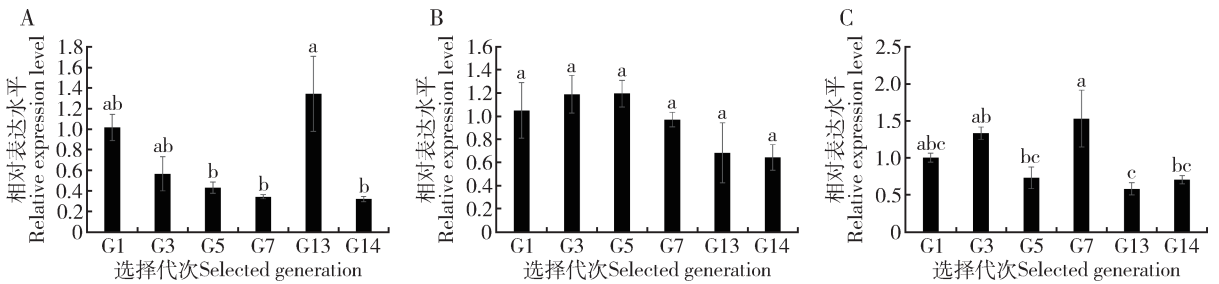


图 10 灰飞虱长翅型定向选择中雄虫 *InR1* (A), *InR2* (B) 和 *FoxO* (C) 的相对表达水平
Fig. 10 Relative expression levels of *InR1* (A), *InR2* (B) and *FoxO* (C) in male adults from the long-winged strain of *Laodelphax striatellus* during the directional selection

3 讨论

昆虫的翅多型性受遗传与外界环境条件的共同影响。人工连续代次的选择可引起种群中各翅型个体比率分布的显著变化。通过改变温度可得到无翅或近似无翅的二星瓢虫 *Adalia bipunctata*, 再通过人工反向选择多代可得到没有任何翅组织的无翅表型个体(Lommen *et al.*, 2019)。弱飞行能力的异色瓢虫 *Harmonia axyridis* 的纯系也可通过人工筛选得到, 并且纯系的行走能力也降低(Nakayama *et al.*, 2010)。本研究对灰飞虱的长、短翅型分别进行连续代次定向选择, 目标翅型表现出明显的选择响应, 长翅型选择后代的长翅率和短翅型选择后代的短翅率显著上升, 并均能保持较高水平(图 2)。该结果

表明灰飞虱翅型具有明显的遗传调控基础(Mahmud, 1980; Mori and Nakasuji, 1990; 彭娟等, 2012)。在选择过程中, 灰飞虱长翅型品系的翅显著变长和变轻(图 3, 4)。长而薄的翅有利于飞行(Altizer and Davis, 2010; Sacchi and Hardersen, 2013)。灰飞虱长翅型品系不仅在翅型占比上明显表现出向适合迁飞的长翅型方向发展, 而且在翅的质量上也在不断向提高飞行能力上发展。另一方面, 灰飞虱的短翅型品系定向选择后代趋于 100% 短翅型, 并且前翅不断缩短、质量变轻(图 3, 4), 这表明短翅型品系的前翅呈退化趋势, 与不需飞行的滞留特性更为匹配。前人的研究已发现, 灰飞虱长、短翅型近纯系的繁殖力和对高、低温度的适应力没有显著差异(田新新等, 2019)。由此说明, 翅型趋于纯化后的长、短翅型种群的适合度差异较小, 结合

本研究连续监测翅型比率、翅长和翅重的结果, 我们可推测灰飞虱种群有向长翅迁飞型和短翅滞留型两个方向进化的潜力, 连续选择后两种翅型品系都在加强各自特性, 并且伴随着基因表达水平的较稳定变化。

人工选择改变了灰飞虱翅发育基因的表达水平。本研究发现灰飞虱翅型调控基因 *InR1*, *InR2* 和 *FoxO* 的相对表达水平均随选择代次的增多而变化(图 5-10)。褐飞虱若虫沉默 *InR1* 后会发育成短翅型, 沉默 *InR2* 则发育成长翅型; 若虫的 *FoxO* 被沉默后发育成长翅型, 激活则发育成短翅型, *FoxO* 对稻飞虱翅型起直接决定作用(Xu *et al.*, 2015)。本研究发现, 在长翅型和短翅型的连续代次定向选择中, *FoxO* 的表达水平在选择中会发生变化, 但是最终又会恢复到前 3 代选择的水平, 表现出表达水平的变化并不影响翅型(图 5, 6, 10), 这一结果表明, *FoxO* 在决定翅型长短时很可能存在表达水平的阈值效应, 而不是简单地激活和抑制的开关式调控翅长。另外, 在翅型选择过程中, 3 龄若虫的 *InR1* 和 *InR2* 表达水平在短翅型选择中随选择代次的增多呈上升趋势, 即被激活, 而在长翅型选择中呈下降趋势, 即被抑制; 在翅型连续代次选择中 *InR1* 和 *InR2* 表现出以相反的表达水平变化模式来调控灰飞虱长、短翅型的纯化(图 5, 8)。由此推测两胰岛素受体基因在调控灰飞虱翅型分化中也可能是通过表达水平的阈值效应来实现的。在长翅型选择中 *InR2* 表达不断被抑制时, 虽然 *InR1* 也表现出受抑, 但其受抑后很可能仍处于高活性阈值范围, 因此仍能抑制 *FoxO*, 从而产生长翅型。而在短翅型定向选择中, *InR2* 表达水平不断上升, *InR1* 虽然也上升但仍在控制短翅的低活性阈值范围内, 因此仍调控产生短翅型。*InR1*, *InR2* 和 *FoxO* 除通过开关模式调控稻飞虱翅型外(Xu *et al.*, 2015), 是否存在阈值效应的调控模式, 这还需要进一步研究。

由于成虫期灰飞虱的翅型已完全形成, 控制翅型的基因表达水平随选择代次的变化规律也就不再稳定, 表现出在各选择代次间存在升高后降低或降低后又升高的多种趋势, 这很可能是 *InR1*, *InR2* 和 *FoxO* 在成虫期与灰飞虱其他生理生化过程有关所致。翅型选择引起了灰飞虱翅发育基因表达水平的变化, 定向选择达到了对翅发育基因的干扰(表达下调)或激活(表达上调)的相似效果。若虫期基因表达水平对选择的明显响应为长、短翅型纯系的产生提供了分子基础。翅发育基因在表达水平上对定向

选择产生的响应是翅型纯系建立的遗传基础, 这也暗示灰飞虱自然种群中很可能存在极少数翅型纯系个体。种群中长、短翅纯系个体比率的变化会影响灰飞虱种群在不同环境条件下的数量发展与空间扩张, 从而影响种群监测的准确性和防控的有效性, 这也可能是引起灰飞虱种群暴发成灾的原因之一。

灰飞虱不仅有较强的耐寒力(蔡邦华等, 1964; 刘向东等, 2007; 安志芳等, 2011; Hou *et al.*, 2016), 而且有较强的迁飞力(Otuka *et al.*, 2010; 贺媛等, 2012)。自然种群中灰飞虱短翅个体比率较低(蔡邦华等, 1964), 这说明灰飞虱种群的迁飞扩散能力较强。灰飞虱长翅型和短翅型近纯系对外界环境条件的变化不再敏感(安志芳等, 2014), 并且与短翅型纯系相比, 长翅型纯系没有明显的繁殖力降低代价(田新新等, 2019)。因此, 在自然条件下灰飞虱长翅型比短翅型更易保持而高比率存在。虽然人工选择实验结果表现出灰飞虱种群有分别向长翅型和短翅型纯系两方面发展的潜力, 但是在自然条件下保持长翅型对种群更有利, 因此田间灰飞虱种群中长翅型比率高。

参考文献 (References)

- Altizer S, Davis AK, 2010. Populations of monarch butterflies with different migratory behaviors show divergence in wing morphology. *Evolution*, 64(4): 1018-1028.
- An ZF, Yu JL, Peng J, Zhang C, Liu XD, 2014. Differentiation of wing forms in pure macropterous and brachypterous lineages is less subject to photoperiod in rice planthoppers (Hemiptera: Delphacidae). *Acta Entomol. Sin.*, 57(11): 1306-1314. [安志芳, 于居龙, 彭娟, 张超, 刘向东, 2014. 稻飞虱翅型纯系后代个体的翅型分化对光周期变化不敏感. 昆虫学报, 57(11): 1306-1314]
- An ZF, Zhang AM, Liu XD, 2011. Effect of low temperature shock on the development and fecundity of *Laodelphax striatellus* (Fallén). *Chin. J. Appl. Entomol.*, 48(5): 1309-1313. [安志芳, 张爱民, 刘向东, 2011. 低温胁迫对灰飞虱种群生长发育与繁殖的影响. 应用昆虫学报, 48(5): 1309-1313]
- He Y, Zhu YB, Hou YY, Yao ST, Lu ZJ, Jin ZH, Zhang XX, Zhai BP, 2012. Fluctuation and migration of spring population of small brown planthopper (*Laodelphax striatellus*) on wheat in Jiangsu and Zhejiang Provinces. *Chin. J. Rice Sci.*, 26(1): 109-117. [贺媛, 朱宇波, 侯洋吻, 姚士桐, 陆志杰, 金周浩, 张孝羲, 翟保平, 2012. 江浙麦区灰飞虱春季种群的发生消长和迁飞动态. 中国水稻科学, 26(1): 109-117]
- Hou YY, Xu LZ, Wu Y, Wang P, Shi JJ, Zhai BP, 2016. Geographic variation of diapause and sensitive stages of photoperiodic response in *Laodelphax striatellus* Fallén (Hemiptera: Delphacidae). *J. Insect Sci.*, 16(1): 13.

- mir-9a/NIUbx regulatory cascade regulates wing diphenism in brown planthoppers. *Insect Sci.*, 28(5): 1300–1313.
- Li ZQ, Sun FY, 2021. Disaster causes and control measures of the small brown planthopper and the rice stripe virus in Liaoning province. *North Rice*, 51(4): 55–59. [李志强, 孙富余, 2021. 辽宁省灰飞虱与水稻条纹叶枯病灾变原因分析及防控对策. 北方水稻, 51(4): 55–59]
- Lin XD, Yao Y, Wang B, Lavine MD, Lavine LC, 2016. FOXO links wing form polyphenism and wound healing in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 70: 24–31.
- Liu XD, Zhai BP, Hu ZQ, 2007. Effects of rice type and temperature on the population of the rice small brown planthopper, *Laodelphax striatellus*. *Chin. Bull. Entomol.*, 44(3): 348–352. [刘向东, 翟保平, 胡自强, 2007. 高温及水稻类型对灰飞虱种群的影响. 昆虫知识, 44(3): 348–352]
- Livak KJ, Schmittgen TD, 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method. *Methods*, 25(4): 402–408.
- Lommen STE, Koops KG, Cornelder BA, Jong PW, Brakefield PM, 2019. Genetics and selective breeding of variation in wing truncation in a flightless aphid control agent. *Entomol. Exp. Appl.*, 167(7): 636–645.
- Mahmud FS, 1980. Alary polymorphism in the small brown planthopper *Laodelphax striatellus* (Homoptera: Delphacidae). *Entomol. Exp. Appl.*, 28(1): 47–53.
- Marshall L, Rideout EJ, Grewal SS, 2012. Nutrient/TOR-dependent regulation of RNA polymerase III controls tissue and organismal growth in *Drosophila*. *EMBO J.*, 31(8): 1916–1930.
- Mori K, Nakasuji F, 1990. Genetic analysis of the wing-form determination of the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus* (Hemiptera: Delphacidae). *Res. Popul. Ecol.*, 32(2): 279–287.
- Nakayama S, Seko T, Takatsuki JI, Miura K, Miyatake T, 2010. Walking activity of flightless *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) as a biological control agent. *J. Econ. Entomol.*, 103(5): 1564–1568.
- Otuka A, Matsumura M, Sanada-Morimura S, Takeuchi H, Watanabe T, Ohtsu R, Inoue H, 2010. The 2008 overseas mass migration of the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus*, and subsequent outbreak of rice stripe disease in western Japan. *Appl. Entomol. Zool.*, 45(2): 259–266.
- Peng J, Zhang C, An ZF, Yu JL, Liu XD, 2012. Genetic analysis of wing-form determination in three species of rice planthoppers (Hemiptera: Delphacidae). *Acta Entomol. Sin.*, 55(8): 971–980. [彭娟, 张超, 安志芳, 于居龙, 刘向东, 2012. 三种稻飞虱翅型分化的遗传分析. 昆虫学报, 55(8): 971–980]
- Roff DA, 1986. The evolution of wing dimorphism in insects. *Evolution*, 40(5): 1009–1020.
- Roff DA, Fairbairn DJ, 1991. Wing dimorphisms and the evolution of migratory polymorphisms among the Insecta. *Amer. Zool.*, 31(1): 243–251.
- Sacchi R, Hardersen S, 2013. Wing length allometry in Odonata: Differences between families in relation to migratory behaviour. *Zoomorphology*, 132(1): 23–32.
- Sögawa K, 1982. The rice brown planthopper: Feeding physiology and host plant interactions. *Annu. Rev. Entomol.*, 27: 49–73.
- Tian XX, Zhang C, Liu XD, 2019. Difference in the adaptability of the long- and short-winged strains of *Laodelphax striatellus* (Hemiptera: Delphacidae) to high and low temperatures. *Acta Entomol. Sin.*, 62(7): 830–837. [田新新, 张超, 刘向东, 2019. 灰飞虱长、短翅型品系对高、低温的适应能力差异. 昆虫学报, 62(7): 830–837]
- Tsai PH, Hwuang FS, Feng WH, Fu YR, Dong QF, 1964. Study on *Delphacodes striatella* Fallen (Homoptera, Delphacidae) in North China. *Acta Entomol. Sin.*, 13(4): 552–571. [蔡邦华, 黄复生, 冯维熊, 傅亿荣, 董其芬, 1964. 华北稻区灰稻虱的研究. 昆虫学报, 13(4): 552–571]
- Xu HJ, Xue J, Lu B, Zhang XC, Zhuo JC, He SF, Ma XF, Jiang YQ, Fan HW, Xu JY, Ye YX, Pan PL, Li Q, Bao YY, Nijhout HF, Zhang CX, 2015. Two insulin receptors determine alternative wing morphs in planthoppers. *Nature*, 519(7544): 464–467.
- Zeng Y, Zhang B, He YY, Zhao X, Zhu DH, 2021. Differences in the accumulation and allocation of nutrients in the long-winged and short-winged male adults of *Velarifictorus aspersus* (Orthoptera: Gryllidae). *Acta Entomol. Sin.*, 64(1): 1–9. [曾杨, 张斌, 贺一原, 赵鑫, 朱道弘, 2021. 长颚斗蟋长翅和短翅型雄成虫营养物质的积累与分配差异. 昆虫学报, 64(1): 1–9]
- Zhang C, Mao MS, Liu XD, 2023. Relative contribution of genetic and environmental factors to determination of wing morphs of the brown planthopper *Nilaparvata lugens*. *Insect Sci.*, 30(1): 208–220.
- Zhang CX, Brisson JA, Xu HJ, 2019. Molecular mechanisms of wing polymorphism in insects. *Annu. Rev. Entomol.*, 64: 297–314.

(责任编辑: 赵利辉)