

# 转蜘蛛杀虫肽与 Bt 毒蛋白 C 肽基因小黑杨 对杨扇舟蛾的抗性

范海娟, 胡春祥\*, 王志英, 刘桂丰

(东北林业大学林学院 哈尔滨 150040)

**摘要:** 为评价转蜘蛛杀虫肽与 Bt 毒蛋白 C 肽融合蛋白基因小黑杨对杨扇舟蛾 *Clostera anachoreta* (Fabricius) 的抗性, 采用苗木套笼饲喂法和石蜡切片法, 对取食转基因小黑杨的杨扇舟蛾幼虫的发育、死亡情况和中肠结构进行了研究。结果表明, 杨扇舟蛾幼虫分别取食 TT3(转基因无性系 3)、TT1(转基因无性系 1) 和 CK(非转基因对照) 小黑杨后总历期依次为 35.63 天、30.39 天和 28.74 天, 幼虫化蛹率依次为 12.1%、29.3% 和 44.3%, 平均蛹重依次为 0.1077 g、0.1714 g 和 0.1893 g。转基因小黑杨能明显延长杨扇舟蛾幼虫的发育历期, 降低化蛹率和蛹重。同时, 转基因小黑杨有抑制幼虫蜕皮、增加其死亡率和致蛹畸形的作用, 且能破坏幼虫中肠, 使中肠细胞排列松散、肠腔食物减少、中肠变形, 其破坏作用随时间延长而加剧。一般来讲, TT3 对杨扇舟蛾的各种影响作用均大于 TT1。

**关键词:** 小黑杨; 蜘蛛杀虫肽; Bt; 杨扇舟蛾; 抗性

中图分类号: Q965.9 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2006)05-0780-06

## Resistance of transgenic Xiaohai poplars with fusion protein gene of the spider insecticidal peptide and Bt-toxin C-peptide to *Clostera anachoreta* (Fabricius) (Lepidoptera: Notodontidae)

FAN Hai-Juan, HU Chun-Xiang\*, WANG Zhi-Ying, LIU Gui-Feng (College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

**Abstract:** For evaluating the resistance of transgenic Xiaohai poplar with fusion protein gene of the spider insecticidal peptide and Bt-toxin C-peptide to *Clostera anachoreta* (Fabricius), the development and death of *C. anachoreta* larvae feeding on different transgenic Xiaohai poplars (the 1st transgenic clone, TT1; the 3rd transgenic clone, TT3) or their non-transgenic control (CK) and the histological change in their midguts were investigated in the laboratory through the cage feeding method and paraffin method. The results indicated that for the larvae fed respectively on TT3, TT1 and CK, the total duration of 5 instars were 35.63 d, 30.39 d and 28.74 d, respectively; the percentages of pupation were 12.1%, 29.3% and 44.3%, respectively; and the mean weights of pupae were 0.1077 g, 0.1714 g and 0.1893 g, respectively. Feeding on the transgenic plantlets prolonged the larval developmental duration and decreased the pupation rate and pupal weight. At the same time, feeding on transgenic plantlets restrained the ecdyses of larvae, increased their mortality, and resulted in deformation of pupae. Histological examination showed that the midguts of larvae feeding on transgenic plantlets were somewhat damaged, for example, losing cellular arrangement and decreasing food in midguts and distorting structure, and the damage was more serious with the extension of time. Generally speaking, various effects of TT3 on *C. anachoreta* were stronger than those of TT1.

**Key words:** *Populus simonii* × *P. nigra*; spider insecticidal peptide; Bt; *Clostera anachoreta*; resistance

小黑杨 (*Populus simonii* × *P. nigra*) 是人工培育的优良单株, 具有抗寒、抗旱、耐瘠薄、耐盐碱、速生

等优良特性, 是三北地区重要的绿化树种和造纸、民用建筑的优质原料(周以良等, 1986)。但由于各种

基金项目: 黑龙江省重点基金项目(ZJN04-0101); 黑龙江省攻关项目(GC04B204, GC05B112)

作者简介: 范海娟, 女, 1978年10月生, 河南开封人, 硕士研究生, 研究方向为森林害虫综合治理, E-mail: fanhaijuan2003@163.com

\* 通讯作者 Author for correspondence, Tel.: 0451-82190386; E-mail: hcx386@163.com

收稿日期 Received: 2005-12-28; 接受日期 Accepted: 2006-06-28

害虫的危害,其材积生长、木材质量、木材利用率大大降低,严重影响了其经济、生态和社会效益的发挥。杨扇舟蛾 *Clostera anachoreta* (Fabricius) 是其主要害虫之一,大发生时可将杨树叶片吃光,只剩下残枝秃梗,影响材质生长,降低绿化效果,并常导致杨树蛀干害虫的发生,造成树木死亡(张宝祯等, 1997)。

为防治杨树害虫,人们曾采用多种办法,其中化学防治居多。化学药剂的广泛应用给环境带来巨大压力,也不利于生态平衡,而转基因技术能够有效克服这些缺点(张峰等 2002; Dunaevsky *et al.*, 2005),因而成为学者们研究的热点。后来,有学者发现昆虫易对单一杀虫蛋白产生耐受性,并认为防止害虫产生耐受性的最有效的方法是联合使用两种或两种以上不同杀虫机制的抗虫基因(Tian *et al.*, 2000; 范贤林等 2001; 张继红等 2004; 张冰玉等 2005)。

本实验中转基因小黑杨所携带的就是同时具有两种不同杀虫机制的基因:蜘蛛杀虫肽与 Bt 毒蛋白 C 肽基因。目前该两种基因已被成功转入棉花、白桦、小黑杨(郑树松等 2002; 薛珍 2004; 常玉广, 2004),但抗虫性试验还处于起步阶段,仅见白桦和小黑杨对舞毒蛾抗性的相关报道。转基因白桦能延长舞毒蛾幼虫发育历期、抑制体重增长、减少取食量、并能杀灭幼虫(薛珍 2004); 转基因小黑杨对舞毒蛾幼虫平均体重、校正死亡率具有显著的影响(姜静等 2004)。作者以转入该两种基因的单倍体小黑杨和杨扇舟蛾为对象,通过测定幼虫的发育及死亡情况来研究转基因植株对杨扇舟蛾的毒性。

## 1 材料与方法

### 1.1 转基因单倍体小黑杨

转入蜘蛛杀虫肽与 Bt 毒蛋白 C 肽基因的单倍体小黑杨 TT1(转基因无性系 1)和 TT3(转基因无性系 3)及其对照 CK(未转基因的单倍体小黑杨植株)均由东北林业大学林木遗传育种实验室提供。

### 1.2 试虫

表 1 取食不同小黑杨的杨扇舟蛾各龄幼虫发育历期

Table 1 The developmental stages of *Clostera anachoreta* larvae fed on different Xiaohei poplars

材料 Poplars	各龄幼虫平均发育历期 Average developmental stage of larvae (d)				
	1 龄 1st instar	2 龄 2nd instar	3 龄 3th instar	4 龄 4th instar	5 龄 5th instar
TT3	4.92 ± 0.02 A	6.18 ± 0.04 A	5.42 ± 0.06 A	8.11 ± 0.03 A	11.00 ± 0.04 A
TT1	4.24 ± 0.03 B	4.74 ± 0.02 B	5.32 ± 0.04 B	7.09 ± 0.02 B	9.00 ± 0.03 B
CK	4.03 ± 0.02 C	4.20 ± 0.04 C	5.11 ± 0.02 C	6.60 ± 0.02 C	8.80 ± 0.06 C

注 Notes: 表中数据为平均值 ± 标准差 (n = 4), 同列数据后不同字母表示在 0.01 水平差异显著。下同。Data in the table are mean ± SD (n = 4), and these in the same column with the different letters are significantly different at 0.01 level. The same below.

2004 年 7 月于东北林业大学哈尔滨试验林场采集杨扇舟蛾老熟幼虫,以 CK 喂养至化蛹,待羽化后将成虫分别接于套笼的 CK、TT1 和 TT3 植株上,令其交尾、产卵、卵自然孵化。

### 1.3 苗木套笼饲喂方法

将 TT1、TT3 和 CK 植株的叶片用脱脂棉或纱布蘸蒸馏水擦净,晾干后将洗净的 60 目虫网套上,下端扎紧,接初孵杨扇舟蛾幼虫,扎紧上端的入口。每笼 35 头,设 4 个重复,每天观察一次幼虫行为变化和发育、死亡情况。

### 1.4 幼虫中肠结构变化的观察

按苗木套笼饲喂方法接杨扇舟蛾 1 龄幼虫, TT1、TT3 和 CK 处理各设 2 个重复,每个重复 30 头。从幼虫第一次取食叶子开始计时,每 24 h(因受实验条件的限制取材的间隔时间未能严格控制在 24 h)取一次幼虫放入 Bouin 氏固定液中固定,用苏木精-伊红法染色,制成连续石蜡切片(刘世新, 2004; 薛珍 2004),显微摄影,以研究外源基因表达的杀虫蛋白的杀虫作用。

### 1.5 实验数据处理

根据苗木套笼饲喂时的记录计算杨扇舟蛾发育历期和死亡率,并对幼虫的发育历期、死亡率、蜕皮指数进行单因素方差分析(用 Excel 2000 处理)和最小显著差数法(LSD 法)多重比较(陈华豪等, 1992),死亡率百分数经反正弦转换后进行相应统计分析。蜕皮指数 = (1 龄 × 头数 + ... + n 龄 × 头数) / 总头数。

## 2 结果

### 2.1 转基因小黑杨对杨扇舟蛾幼虫各龄期历期的影响

取食 TT3 小黑杨的幼虫各龄发育历期明显长于取食 TT1 和 CK 小黑杨的幼虫相应值,取食 TT1 小黑杨的幼虫各龄发育历期明显长于取食 CK 小黑杨的幼虫相应值,说明转基因小黑杨能明显延长各龄幼虫的发育,TT3 的延缓发育作用大于 TT1(表 1)。

## 2.2 转基因小黑杨对杨扇舟蛾幼虫死亡率的影响

转基因小黑杨具有增加杨扇舟蛾幼虫死亡率的作用,TT3的作用强于TT1,且二者的差距在实验初期表现明显(表2)。

表2 取食不同小黑杨的杨扇舟蛾幼虫平均累计死亡率(%)

材料 Poplars	取食时间 Feeding time (d)		
	5	10	15
TT3	35.83 ± 1.41 A	40.89 ± 1.35 A	41.71 ± 2.13 A
TT1	32.30 ± 1.48 B	33.65 ± 0.89 B	37.96 ± 2.11 A
CK	27.04 ± 1.96 C	28.53 ± 1.60 C	28.54 ± 1.60 B

## 2.3 转基因小黑杨对杨扇舟蛾幼虫蜕皮指数的影响

转基因小黑杨在12天、18天时具有明显抑制幼虫蜕皮的作用,此后抑制作用减弱,TT3的作用明显强于TT1(表3)。

表3 取食不同小黑杨的杨扇舟蛾幼虫蜕皮指数

材料 Poplars	取食时间 Feeding time (d)		
	12	18	24
CK	2.965 ± 0.083 A	3.579 ± 0.002 A	4.200 ± 0.061 A
TT1	2.784 ± 0.080 B	3.245 ± 0.001 B	4.120 ± 0.002 A
TT3	2.308 ± 0.019 C	3.002 ± 0.018 C	4.094 ± 0.083 A

## 2.4 转基因小黑杨对杨扇舟蛾幼虫化蛹的影响

在实验中取食CK、TT1和TT3小黑杨的幼虫均有部分化蛹,其化蛹率依次为44.3%、29.3%和12.1%,平均蛹重依次为0.1893 g、0.1714 g和0.1077 g,可见转基因小黑杨TT1和TT3对幼虫的化蛹率、蛹重均有影响,TT3对杨扇舟蛾的影响作用强于TT1。从蛹的个体大小、形态上也体现出这一点。取食对照的蛹比取食处理的蛹大且浑圆饱满,处理蛹多数小而瘦弱(图版I:A,从左到右依次为CK、TT1、TT3)。另外,在实验中还发现取食转基因小黑杨TT3的幼虫出现畸形蛹,而取食对照小黑杨的幼虫无畸形蛹出现。畸形蛹个体小,发育不全,外表皱缩,可见未发育好的足、翅(图版I:B,C)。在取食转基因小黑杨的幼虫中,有的幼虫不能化蛹或化蛹一半即死亡。

## 2.5 转基因小黑杨对杨扇舟蛾幼虫中肠结构的影响

取食CK小黑杨的幼虫中肠细胞排列规则、紧密,细胞核明显(图版I:D)。取食TT3小黑杨70 h

后幼虫中肠细胞排列变得松散,整个环形中肠结构出现裂缝,有的细胞顶部膨胀,向肠腔突出,并有碎裂的残屑脱落到肠腔内,而且肠腔内几乎没有食物残渣(图版I:E)。取食TT1小黑杨74 h后的幼虫也有类似情况(图版I:F)。但从幼虫中肠细胞的碎裂、中肠的变形程度以及肠腔内容物的多少上看,取食TT3的幼虫比取食TT1的幼虫受损严重。随着取食时间的延长,幼虫中肠组织受损加重。取食TT3小黑杨220 h的幼虫中肠细胞形状变得不规则,并有脱落的细胞残屑(图版I:G)。取食TT1小黑杨264 h的幼虫中肠某些部位细胞消失,使中肠产生缺口(图版I:H)。随取食时间延长,幼虫中肠变形严重、缺口更大。取食TT1小黑杨378 h的幼虫中肠肠壁细胞的环形结构有的部位产生较大缺口,仅留下肠壁细胞外围的环肌(图版I:I),有的部位中肠细胞呈团状(图版I:J)。取食TT1小黑杨576 h的幼虫中肠细胞折叠堆积在一起,在中肠上形成多个向外围突出的褶皱(图版I:K)。幼虫取食TT3小黑杨408 h后其中肠结构严重变形,已无法分辨出单个的肠壁细胞,而且肠壁细胞完全与环肌分离,肠腔内已无任何食物,仅余一点细胞残屑(图版I:L)。

## 3 讨论

本实验结果表明,转基因小黑杨可延长杨扇舟蛾幼虫发育历期、抑制其蜕皮并增加其死亡率,还有降低蛹重、致蛹畸形的作用;在所测试的2个转基因无性系中,TT3对幼虫发育的影响作用大于TT1。姜静等(2004)用转基因小黑杨饲喂2龄舞毒蛾得到类似的结果:即抑制幼虫平均体重的增长,并使校正死亡率在14天时达到63.2%~78.9%。说明可以增加供试害虫种类、采用多个抗性评价指标来更全面地反映抗虫基因对昆虫的抑制作用。

本实验还观察到取食未转基因的单倍体小黑杨(CK)的杨扇舟蛾幼虫中肠细胞排列规则、紧密,而取食转基因小黑杨的幼虫中肠则有不同程度的损伤或变形。从取食转基因小黑杨的幼虫中肠细胞的碎裂、脱落程度、整个中肠的变形程度以及肠腔内容物的多少上判断,取食TT3的幼虫比取食TT1的幼虫受损严重。尽管供试幼虫存在个体上的差异,通过观察仍可发现转基因小黑杨对幼虫中肠破坏作用的规律性:即随着时间的延长,取食同一转基因无性

系小黑杨的幼虫中肠细胞排列的紧密程度、细胞形状的规则性在下降,变形和解体程度在增加,幼虫肠腔内容物含量在减少。可见转基因小黑杨所表达的杀虫蛋白具有一定的破坏幼虫中肠结构、降低其食物摄取量和营养吸收能力,进而杀死幼虫的作用。这与转入 Bt 基因的抗虫植物能破坏幼虫中肠结构、降低其营养吸收能力、最终杀死幼虫的报道相吻合(束春娥等,1996;Du,1996;McKillip,1997;Dorsch,1998;Garczynski,1999)。

围食膜是保护昆虫中肠的天然屏障,如被破坏就增大了中肠上皮细胞受侵害的机率,缩短了昆虫的死亡时间(张小霞等,2006)。用转基因白桦饲喂的舞毒蛾的围食膜也有受破坏的现象(薛珍,2004),但在本实验中尚未发现杨扇舟蛾幼虫的围食膜遭破坏,这可能与寄主植物、昆虫种类、昆虫发育阶段和镜检材料的制备等的差异有关。如果供试昆虫对寄主植物敏感、处理时间长且镜检材料的制备得当可能就更易观察到围食膜被破坏的现象。

昆虫体内解毒酶活性的变化可能与抗虫基因作用的发挥有关。当小菜蛾 *Plutella xylostella* 对阿维菌素抗性增强时其体内羧酸酯酶、谷胱甘肽转移酶的活性增大(李腾武等,2000);寄主植物的改变引起棉蚜的某些品系对药剂抗性下降时,其乙酰胆碱酯酶和羧酸酯酶活力也较低(王开运等,2001);取食转 Bt 基因欧洲黑杨的美国白蛾幼虫中肠多功能氧化酶、酯酶、羧酸酯酶的活性受到明显抑制(Ding *et al.*,2001)。可见在解毒酶活性强时昆虫一般会对药剂或杀虫基因有较强抗性。从昆虫体内解毒酶的活性变化入手可能有助于发现转入蜘蛛杀虫肽与 Bt 毒蛋白 C 肽基因单倍体小黑杨的抗虫机理,从而更好地评价其在害虫防治中的作用。

**致谢** 东北林业大学林学院姜静教授、金永岩老师在实验过程中给予指导并提供了实验场所,在此表示诚挚的谢意。

## 参 考 文 献 (References)

Chang YG, 2004. Studies on Insect Resistant Gene Transformation of *Populus simonii* × *P. nigra* Pollen Plantlets. Harbin: MSc Dissertation, Northeast Forestry University. 32–36. [常玉广,2004.小黑杨花粉植株转抗虫基因的研究.哈尔滨:东北林业大学硕士学位论文.32–36]

Chen HH, Ding ST, Cai XR, Hong W, Zhang ZY, Gao YQ, 1992. Multiple comparison. In: Chen HH ed. Practical Statistics for Forestry. 2nd ed. Dalian: Dalian Marine College Press. 145–147. [陈华豪,

丁思统,蔡贤如,洪伟,张忠义,高聿清,1992.多重比较.见:陈华豪主编.林业应用数理统计.第2版.大连:大连海运学院出版社.145–147]

Ding SY, Li HY, Li XF, Zhang ZY, 2001. Effects of two kinds of transgenic poplar on protective enzymes system in the midgut of larvae of American white moth. *Journal of Forestry Research*, 12(2):119–122.

Dorsch JA, 1998. Isolation and Characterization of the Insecticidal Toxin Binding Site from the Receptor BT-R(1) of *Manduca sexta*. PhD Dissertation, University of Wyoming. 5–32.

Du C, 1996. *Bacillus thuringiensis* Insecticidal Toxins: Biochemical and Physiological Properties. PhD Dissertation, the University of Nebraska-Lincoln. 25–32.

Dunaevsky YE, Elpidina EN, Vinokurov KS, Belozersky MA, 2005. Protease inhibitors in improvement of plant resistance to pathogens and insects. *Molecular Biology*, 39(4):608–613.

Fan XL, Rui CH, Xu CR, Meng XQ, Guo SD, Zhao JZ, 2001. Resistance of transgenic cottons expressing Bt and CpTI insecticidal protein genes to *Helicoverpa armigera*. *Acta Entomol. Sin.*, 44(4):582–585. [范贤林,芮昌辉,许崇任,孟香清,郭三堆,赵建周,2001.转双基因抗虫棉对棉铃虫的抗性.昆虫学报,44(4):582–585]

Garczynski SF, 1999. Detection and Characterization of CryIAc Binding Molecules in Brush Border Membrane Vesicles Isolated from the Midguts of *Manduca sexta* Larvae. PhD Dissertation, University of Georgia. 2–12.

Jiang J, Chang YG, Dong JX, Wang ZY, Liu GF, 2004. Study on two insecticidal transgenic genes in *Populus simonii* × *P. nigra*. *Plant Physiology Communications*, 40(6):669–672. [姜静,常玉广,董京祥,王志英,刘桂丰,2004.小黑杨转双价抗虫基因的研究.植物生理学通讯,40(6):669–672]

Li TW, Gao XW, Zheng BZ, Xu XL, 2000. Study on resistance selection by avermectins and its effect on activities of detoxification enzymes in *Plutella xylostella* (L.). *Acta Entomol. Sin.*, 43(Suppl.):38–43. [李腾武,高希武,郑炳宗,许向丽,2000.阿维菌素对小菜蛾的抗性选育及其对解毒酶活性的影响.昆虫学报,43(Suppl.):38–43]

Liu SX, 2004. Olefin cutting, common dyeing methods. In: Liu SX ed. Practical Histological Technology. Beijing: Science Press. 55–69, 74–85. [刘世新,2004.石蜡切片,常用的染色方法.见:刘世新主编.实用生物组织学技术.北京:科学出版社.55–69,74–85]

McKillip JL, 1997. Biological Control of Orchard Pests Using Insect-Specific Bacteria. PhD Dissertation, Washington State University. 4–10.

Shu CE, Liu XJ, Bai LX, Sun YW, Sun HW, Huang JQ, Ni WC, Zhang ZL, 1996. Toxicological activities of Bt transgenic cotton plants on the cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*). *Acta Gossypii Sinica*, 8(4):219–222. [束春娥,刘贤金,柏立新,孙以文,孙洪武,黄骏麒,倪万潮,张震林,1996. Bt 转基因棉花抗棉铃虫毒性机理研究.棉花学报,8(4):219–222]

Tian YC, Zheng JB, Yu HM, Liang HY, Li CQ, Wang JM, 2000. Studies of transgenic hybrid poplar 741 carrying two insect-resistant genes. *Acta Botanica Sinica*, 42(3):263–268.

Wang KY, Jiang XY, Yi MQ, Lu BQ, 2001. Effects of feeding on different

- host plants on resistance to insecticides in the progeny of the cotton aphid. *Acta Entomol. Sin.*, 44(4): 469 - 475. [王开运, 姜兴印, 仪美芹, 吕宝乾, 2001. 取食不同寄主植物对棉蚜后代抗药性的影响. *昆虫学报*, 44(4): 469 - 475]
- Xue Z, 2004. The Toxicity and Toxicity Mechanism of Transgenic *Betula platyphylla* with Bt + Spider Peptide Gene. Harbin: MSc Dissertation, Northeast Forestry University. 20 - 25, 29 - 42. [薛珍, 2004. 转 Bt C 肽 + 蜘蛛杀虫肽基因白桦的杀虫性及杀虫机理的研究. 哈尔滨: 东北林业大学硕士学位论文. 20 - 25, 29 - 42]
- Zhang BY, Su XH, Li YL, Zhang YA, Qu LJ, Wang YZ, Tian YC, 2005. Transformation of poplar (*Populus alba* × *P. glandulosa* cv. '84K') with binary insect resistant genes and analysis of insect resistance. *Forest Research*, 18(3): 364 - 368. [张冰玉, 苏晓华, 李义良, 张永安, 曲良建, 王玉珠, 田颖川, 2005. 转双价抗蛀干害虫基因杨树的获得及其抗性鉴定. *林业科学研究*, 18(3): 364 - 368]
- Zhang BZ, Liu GX, Wei BR, Wang HM, Yu KJ, Xu ZL, 1997. Control and biological characteristic of *Clostera anachoreta* (Fabricius). *Forest Science and Technology*, (6): 30 - 31. [张宝祯, 刘桂祥, 魏本荣, 王恒明, 于奎江, 许子路, 1997. 杨扇舟蛾生物学特性研究及防治. *林业科技通讯*, (6): 30 - 31]
- Zhang F, Yang WC, Wang ZP, 2002. Applied prospect and study progress of transgenic poplar. *Journal of Shandong Forestry Science and Technology*, (4): 36 - 38. [张峰, 杨维春, 王振平, 2002. 转基因杨树的研究进展及应用前景. *山东林业科技*, (4): 36 - 38]
- Zhang JH, Wang CZ, Guo SD, 2004. Effects of CpTI-Bt transgenic cotton and Bt transgenic cotton on survival, growth and nutrition utilization of *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Acta Entomol. Sin.*, 47(2): 146 - 151. [张继红, 王琛柱, 郭三堆, 2004. 转 CpTI-Bt 基因棉和转 Bt 基因棉对棉铃虫幼虫存活、生长及营养利用的影响. *昆虫学报*, 47(2): 146 - 151]
- Zhang XX, Liang ZP, Peng HY, Zhang ZX, Tang XC, Li G, Zhao SL, Xiao YZ, Zhang WJ, 2006. Effect of Congo red on peritrophic membrane of *Helicoverpa armigera* (Hübner) and its viral-enhancing activity. *Acta Entomol. Sin.*, 49(1): 45 - 49. [张小霞, 梁振普, 彭辉银, 张忠信, 汤显春, 李罡, 赵淑玲, 肖宇宙, 张万菊, 2006. 刚果红对棉铃虫中肠围食膜的影响及其病毒增效作用. *昆虫学报*, 49(1): 45 - 49]
- Zheng SS, An CC, Li QR, Chen ZL, 2002. Study of transferring fusion protein gene of the spider insecticidal peptide and Bt-toxin C-peptide into cotton. *Cotton Science*, 14(6): 348 - 351. [郑树松, 安成才, 李启任, 陈章良, 2002. 蜘蛛杀虫肽与 Bt-Toxin C 肽融合蛋白基因转入棉花的研究. *棉花学报*, 14(6): 348 - 351]
- Zhou YL, Dong SL, Nie SQ, 1986. Ligneous Flora of Heilongjiang. Harbin: Heilongjiang Science Press. 118 - 120. [周以良, 董世林, 聂绍荃, 1986. 黑龙江树木志. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社. 118 - 120]

(责任编辑: 黄玲巧)

范海娟等：转蜘蛛杀虫肽与 Bt 毒蛋白 C 肽基因小黑杨对杨扇舟蛾的抗性 图版 I  
FAN Hai-Juan *et al.* : Resistance of transgenic Xiaohei poplars with genes of the spider  
insecticidal peptide and Bt-toxin C-peptide to *Clostera anachoreta* ( Fabricius )  
( Lepidoptera : Notodontidae ) Plate I



A - C : 杨扇舟蛾蛹 Pupae of *Clostera anachoreta*. A : 从左到右依次为取食 CK、TT1、TT3 的蛹 Pupae on CK, TT1 and TT3 from the left to the right ; B : 取食 TT3 的幼虫所化畸形蛹 Deformed pupa from larva fed on TT3 ; C : 取食 TT3 的幼虫所化正常蛹和畸形蛹 Deformed pupa and normal one from larvae fed on TT3. D - L : 幼虫中肠横断面 Transects of midguts of larvae , 标尺 Scale bar = 10  $\mu$ m. D : 取食 CK 的幼虫中肠 Midgut of larva fed on CK , 箭头示中肠 Midgut at arrow ; E : 取食 TT3 70 h 后幼虫中肠 Midgut of larva fed on TT3 after 70 h , 箭头示细胞残屑 Cellular chipping at arrow ; F : 取食 TT1 74 h 后幼虫中肠 Midgut of larva fed on TT1 after 74 h , 箭头示细胞残屑 Cellular chipping at arrow ; G : 取食 TT3 220 h 后幼虫中肠 Midgut of larva fed on TT3 after 220 h , 箭头示细胞残屑 Cellular chipping at arrow ; H : 取食 TT1 264 h 后幼虫中肠 Midgut of larva fed on TT1 after 264 h , 箭头示中肠缺口 Gap in midgut at arrow ; I - J : 取食 TT1 378 h 后幼虫中肠 Midgut of larva fed on TT1 after 378 h , I 箭头示中肠缺口 Gap in midgut at arrow in I , J 箭头示聚集在一起的中肠细胞 Midgut cells gathered together at arrow in J ; K : 取食 TT1 576 h 后幼虫中肠 Midgut of larva fed on TT1 after 576 h , 箭头示聚集在一起的中肠细胞 Midgut cells gathered together at arrow ; L : 取食 TT3 408 h 后幼虫中肠 Midgut of larva fed on TT3 after 408 h , 箭头示变形的中肠 Deformed midgut at arrow .