

# 转双抗虫基因741杨对杨扇舟蛾幼虫生长发育的抑制规律

张炬红<sup>1</sup>,高宝嘉<sup>2</sup>,刘军侠<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>吉林大学植物科学学院,长春 130062;<sup>2</sup>河北农业大学,河北保定 071001)

**摘要:**用转基因741杨叶片饲养杨扇舟蛾幼虫,观察记录幼虫的死亡、蜕皮情况以及各龄幼虫的体重,研究转基因741杨对靶标害虫生长发育的抑制规律。研究表明:取食转基因741杨后杨扇舟蛾幼虫的生长发育不良,表现为发育进度减慢、发育历期延长、体重增长速率降低。且对不同龄期开始饲养的幼虫和取食不同世代的幼虫抑制作用不同,从低龄开始饲养的幼虫生长发育受到的抑制作用强于从高龄开始饲养的幼虫。对取食2代的幼虫抑制作用强于取食1代的幼虫,转基因741杨对杨扇舟蛾幼虫生长发育的抑制作用具有持续性。

**关键词:**转基因741杨;杨扇舟蛾;生长发育;抑制规律

中图分类号:S763.3 文献标识码:A 论文编号:2009-0583

## The Inhibiting Law of Transgenic Hybrid Poplar 741 with Two Insect-resistant Genes on the Development of *Clostera Anachoreta* (Fabricius) Larva

Zhang Juhong<sup>1</sup>, Gao Baojia<sup>2</sup>, Liu Junxia<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>College of Plant Sciences, Jilin University, Changchun 130062;

<sup>2</sup>Agriculture University of Hebei, Baoding Hebei 071001)

**Abstract:** The larva of *Clostera anachoreta* were fed on transgenic 741 poplars, and their death, ecdysis and weight of every instar were observed and recorded in order to research the inhibiting law of transgenic 741 poplars on the development of the target pest. The results indicated that the development of *Clostera anachoreta* larva was in badness after they fed on transgenic 741 poplar representing development rate lowered, development period prolonged, and the weight increasing rate reduced. The inhibiting effect was different on the larva fed on transgenic 741 poplars beginning from different instars and for different generations. The inhibiting effect on the larva fed on from the lower instars and for two generations was stronger than that from the higher instars and for one generation. The inhibiting effect of transgenic 741 poplars on the development of *Clostera anachoreta* larva takes on durative.

**Key words:** transgenic 741 poplars, *Clostera anachoreta*, development, inhibiting law

## 0 引言

杨扇舟蛾是杨树上的重要害虫,幼虫吐丝结苞为害叶片,在适宜条件下猖獗成灾,造成整树树叶干枯,严重影响杨树的正常生长。近年来,随着植物抗虫基

因工程研究及应用的快速发展,在杨树抗虫基因工程育种方面国内外已经做了大量工作,人们构建、改建了多种基因并将其成功转入杨树<sup>[1-16]</sup>。转基因741杨是通过植物基因工程技术,将两种不同杀虫机制的基

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目“转基因毛白杨抗虫效应及生态环境风险评价”(30070626),河北省自然科学基金资助项目“转基因毛白杨在环境释放中抗虫效应及遗传变异性研究”(302312)。

**第一作者简介:**张炬红,女,1977年出生,博士,讲师,主要从事转基因植物生态风险评价和生物安全的研究。通信地址:130062 吉林省长春市西安大路5333号,吉林大学植物科学学院,E-mail:zhjqhd@126.com。

**通讯作者:**高宝嘉,男,1958年出生,河北深州市人,博士,教授,从事有害生物控制和生态学的教学与研究工作。

**收稿日期:**2009-03-20,修回日期:2009-04-18。

因(BtCryIAc+API)转入741杨培育出的优良抗虫树种<sup>[17-18]</sup>。抗虫性鉴定结果表明,转基因741杨对杨扇舟蛾幼虫有一定的抗虫性,表现出对低龄幼虫的毒杀作用和高龄幼虫生长发育的抑制作用<sup>[9]</sup>。但在以往的研究中,其抗虫性鉴定一般是应用昆虫死亡率、蜕皮指数、毒力等指标来简单反映转入基因的表达效果<sup>[5-7,18]</sup>,以及对不同种类靶标害虫抗性的比较<sup>[19-21]</sup>,缺乏转基因741杨对靶标害虫抗性规律的深入研究。笔者通过蜕皮指数、发育进度、发育速率、体重增长速率等指标系统揭示了转基因741杨对靶标害虫杨扇舟蛾同一龄期、不同龄期和不同世代幼虫生长发育的抑制作用规律,为其安全性评价和合理利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

植物材料:转基因741杨Pb11、Pb29和Pb12三个系号以及对照非转基因741杨,均由河北农业大学林业资源与工程学院生物技术实验室提供。

供试虫源:杨扇舟蛾卵块,采自衡水深州,在室内常温常压80%湿度下孵化。

### 1.2 试验方法

采用群体饲养和单体饲养的方法。

群体饲养:待杨扇舟蛾卵块孵化后,随机地从中挑选幼虫,用毛笔轻移到清洁干净的高为12 cm,直径8.5 cm的罐头瓶中,每瓶内放20~30头,放入新鲜的杨树叶片,然后用带通气孔塑料薄膜扎紧瓶口。每2天换一次新鲜叶片,观察和记录幼虫的死亡和蜕皮情况。

单体饲养:将刚蜕皮的3龄幼虫称重,用毛笔轻移到罐头瓶中,每瓶中放1头,用新鲜的杨树叶片饲养。每2天换1次新鲜叶片。观察幼虫的死亡及蜕皮情况,并标明日期。对刚蜕皮的幼虫称重。将幼虫一直饲养到化蛹,记录蛹重和羽化情况。

采用上述方法记录了分别从2,3,4龄开始饲养的幼虫蜕皮日期、各龄发育历期及体重,研究转基因741杨对从不同龄期开始饲养的幼虫生长发育抑制规律。

采用同样的方法用转基因741杨叶片连续饲养杨扇舟蛾幼虫两代,测定转基因741杨对不同世代杨扇舟蛾幼虫生长发育的抑制规律。用转基因741杨的Pb29和Pb17连续饲养杨扇舟蛾第3代和第4代幼虫,同时以第3代取食Pb29和Pb17而第4代取食CK和3,4代均取食CK的幼虫为对照。

### 1.3 计算方法

蜕皮指数 = (1×1龄的总虫数 + 2×2龄的总虫

数 + ……n×n龄的总头数) / 总虫数

$n$ 龄体重增长速率 = [  $n$ 龄幼虫平均体重 - ( $n-1$ )龄幼虫平均体重 ] / 龄期

$n$ 龄期发育速率 = 1 /  $n$ 龄期发育历期

$n$ 龄发育进度 =  $n$ 龄存活幼虫数 / 总的存活幼虫数

## 2 结果与分析

### 2.1 转基因741杨对从同一龄期开始饲养的杨扇舟蛾幼虫生长发育的抑制规律

2.1.1 对发育进度的影响 因741杨对存活的杨扇舟蛾幼虫发育进度有抑制作用(图1~3)。从图1~3可以看出不同系号转基因741杨对杨扇舟蛾幼虫发育进度的影响程度,在饲养第8天时,取食Pb11和Pb29叶片的杨扇舟蛾,仍有20%以上的幼虫处于1龄,取食Pb12的幼虫,已没有1龄幼虫,有10%左右进入2龄,而取食CK的幼虫,已全部进入3龄和4龄,且4龄所占比例大于3龄。在饲养10天时,取食CK的幼虫已全部进入3龄以上,而取食转基因741杨的幼虫,还存在1龄幼虫,其中,取食Pb11的幼虫虫龄最低,1龄幼虫所占的比例最大,仅有1.54%进入了4龄,取食Pb12幼虫的虫龄最高,70%以上的幼虫已进入4龄。饲养18天时,各转基因741杨系号对杨扇舟蛾幼虫发育进度的抑制规律与饲养8天和10天时一致。

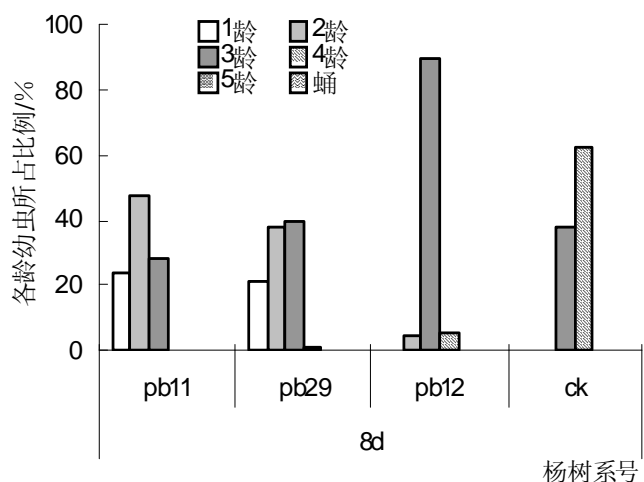


图1 饲养8天的杨扇舟蛾幼虫发育进度

2.1.2 对发育历期的影响 转基因741杨对存活的杨扇舟蛾幼虫发育进度有影响,进而影响到幼虫的发育历期,使幼虫的发育历期延长(图4)。从图4可以看出取食CK的杨扇舟蛾幼虫3、4、5龄的发育历期均低于取食转基因741杨各系号叶片的各龄幼虫,取食转基因741杨叶片5龄幼虫的历期都大于10天,而取食CK叶片的幼虫,5龄历期小于8天。

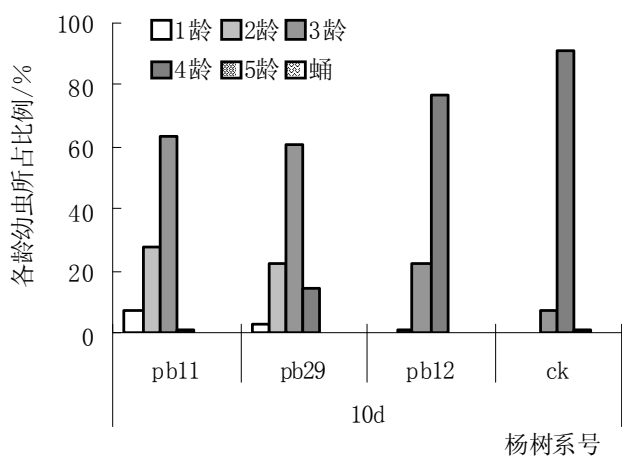


图2 饲养10天的杨扇舟蛾幼虫发育进度

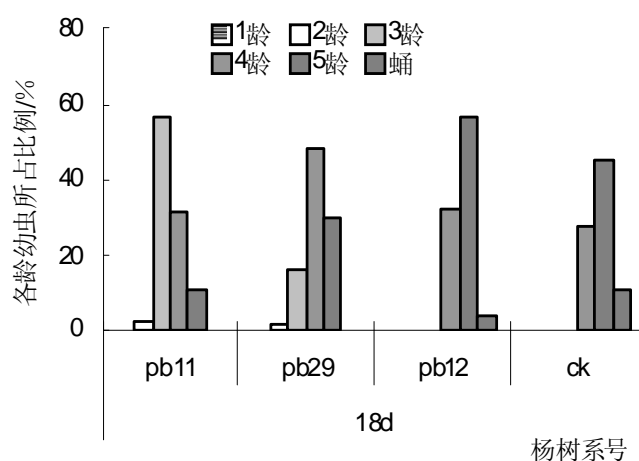


图3 饲养18天的杨扇舟蛾幼虫发育进度

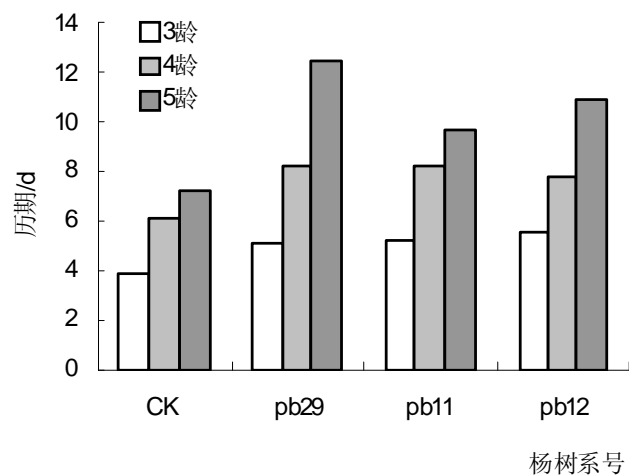


图4 杨扇舟蛾幼虫各龄发育历期

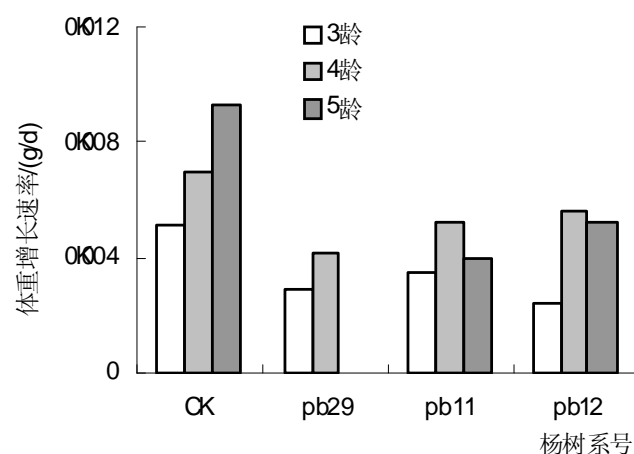


图5 不同龄期杨扇舟蛾幼虫的体重增长速率

2.1.3 对体重增长速率的影响 从体重增长速率来看(图5),用转基因741杨饲养的杨扇舟蛾幼虫体重增长速率明显低于用CK饲养的幼虫。从图5可以看出:用CK饲养的杨扇舟蛾5龄幼虫平均体重增长速率已超过0.008 g/天,而用转基因741杨叶片饲养的幼虫平均体重增长速率均低于0.008 g/天,转基因741杨对3,4龄幼虫体重增长速率的影响与对5龄的相同。

2.2 转基因741杨对从不同龄期开始饲养的幼虫生长发育的抑制规律

转基因741杨对从不同龄期开始连续取食的杨扇舟蛾幼虫生长发育有抑制作用,影响其发育速率和体重增长速率(表1)。从表1可以看出,从2,3,4龄开始取食转基因741杨的各龄幼虫发育速率和体重增加速率均低于取食CK的各龄幼虫。从2龄开始用Pb11、Pb29、和Pb12饲养的幼虫,2龄的发育速率分别比取食CK的幼虫降低0.1768,0.1318和0.1562,而3龄幼虫的发育速率分别降低0.0634,0.0656,0.0473,4龄幼虫降低的发育速率均低于2龄幼虫。

表1 从不同龄期开始饲养的杨扇舟蛾幼虫各龄生长发育受抑制情况

杨树系号	发育速率/天			体重增长速率/(g/天)		
	2龄	3龄	4龄	2龄	3龄	4龄
Pb29	0.2103	0.1957	0.1111	0.0017	0.0041	0.0053
Pb11	0.2553	0.1935	0.1250	0.0014	0.0034	0.0023
Pb12	0.2309	0.2118	0.1364	0.0016	0.0024	0.0056
CK	0.3871	0.2591	0.1905	0.0019	0.0051	0.0103

2.3 转基因741杨对取食不同世代杨扇舟蛾幼虫生长发育的抑制作用

从蜕皮指数这一指标可以看出,转基因741杨对取食不同世代的杨扇舟蛾幼虫生长发育有抑制作用,使幼虫龄期延长,生长发育缓慢(表2)。从表2可以看出,两代都取食转基因741杨叶片的杨扇舟蛾幼虫的蜕皮指数均低于只1代取食的幼虫,低于2代均取食CK的幼虫。在饲养16天时,两代均取食Pb29的幼虫和第三代取食Pb29而第四代取食CK的幼虫,与两代均取食CK的幼虫相比蜕皮指数分别下降2.0320和1.6074。同时,取食Pb29的第3代幼虫蜕皮指数低

表2 取食转基因741杨不同世代的杨扇舟蛾幼虫蜕皮指数

饲养代数	饲养天数/天	杨树系号				
		Pb29	CK1	Pb17	CK2	CK
3代	4	1.8571	--	1.9574	--	2.000
4代		1.0714	1.000	1.5614	1.9545	2.000
3代	8	3.0417	--	3.1444	--	3.4839
4代		1.9643	2.000	2.0357	2.9545	3.2793
3代	12	3.8429	--	4.2706	--	4.6702
4代		2.6957	2.6875	2.9259	3.8095	4.7025
3代	16	4.5091	--	5.1234	--	5.1412
4代		3.0667	3.3913	3.4615	4.200	5.0987

注: CK1: 第3代用pb29饲养, 第4代用CK饲养; CK2: 第3代用pb17饲养, 第4代用CK饲养; CK: 2代均用CK饲养的幼虫。

于第3代取食Pb29, 而第4代取食CK的幼虫。

### 3 结论与讨论

(1) 研究表明, 从1龄开始取食转基因741杨的杨扇舟蛾幼虫, 各龄幼虫的发育进度和体重增长速率低于取食CK的幼虫, 而发育历期大于取食CK的幼虫, 表明转基因741杨对存活下来的杨扇舟蛾幼虫生长发育有抑制作用, 导致幼虫发育进度减慢、发育历期延长, 体重增长速率降低, 生长发育不良。

(2) 转基因741杨对从不同龄期开始饲养的幼虫, 生长发育抑制作用不同。对从低龄开始饲养的幼虫抑制作用强于从高龄开始饲养的幼虫。低龄幼虫对其抗性弱, 生长发育受到抑制作用较强, 而高龄幼虫随着生长发育抵御外界不良环境能力加强, 其生长发育的抑制作用减弱。因此在转基因741杨的推广使用过程中, 应加强对高龄幼虫的防治和控制, 尤其是在转基因741杨和非转基因741杨混栽区域。

(3) 转基因741杨对取食不同世代的杨扇舟蛾幼虫抑制作用不同。对2代均取食的幼虫抑制作用强于仅1代取食的幼虫, 第3代取食Pb29或Pb17而第4代取食CK的幼虫生长发育受到的抑制作用强于取食Pb29或Pb17的第3代幼虫。表明随着取食代数的增加转基因741杨的抑制作用加强, 且该抑制作用具有持续或累加效应, 可以从当代持续到下一代, 且抑制效果明显。但是在该研究中只研究了对取食2代杨扇舟蛾幼虫生长发育的抑制作用, 而杨扇舟蛾在中国北方一年发生3~4代, 而南方更多。随着杨扇舟蛾幼虫取食代数的增加, 时间的延长是否存在对转基因741杨的适应性还需要进一步研究。转基因741杨对靶标害虫的抗性监测是一个长期的过程, 需要对其进行全面的、长期的监测和调查。

### 参考文献

- [1] 陈颖, 李强, 李玲, 等. 抗虫转基因欧洲黑杨的Western印迹法分析[J]. 林业科学, 1996, 32(3): 274-276.
- [2] 陈颖, 韩一凡, 李玲, 等. 苏云金杆菌杀虫晶体蛋白基因转化美洲黑杨的研究[J]. 林业科学, 1995, 31(2): 97-103.
- [3] 郝贵霞, 朱祯, 朱之悌. 转CpTI基因毛白杨的获得[J]. 林业科学, 2000, 36(1): 116-119.
- [4] 郝贵霞, 朱祯, 朱之悌, 等. 豇豆蛋白酶抑制剂基因转化毛白杨的研究[J]. 植物学报, 1999, 41(12): 1276-1282.
- [5] 李明亮, 张辉, 胡建军, 等. 转Bt基因和蛋白酶抑制剂基因杨树抗虫性的研究[J]. 林业科学, 2000, 36(2): 93-97.
- [6] 饶红宇, 伍宁丰, 陈英, 等. 杨树NL-80106转Bt基因植株的获得及抗虫性[J]. 植物资源与环境学报, 2000, 9(2): 1-5.
- [7] 田颖川, 郑均宝, 李常青, 等. 转双抗虫基因杂种741毛白杨的研究[J]. 植物学报, 2000, 42(3): 263-268.
- [8] 王琛柱, 钦俊德. 植物蛋白酶抑制剂抗虫作用的研究进展[J]. 昆虫学报, 1997, 40(2): 212-218.
- [9] 王学聘, 卞祖娴, 张香华, 等. 欧美杨转基因植株的PCR检测[J]. 林业科学, 1997, 33(4): 380-382.
- [10] 王学聘, 韩一凡, 田颖川, 等. 抗虫转基因欧美杨的培育[J]. 林业科学, 1997, 33(1): 69-74.
- [11] Confalonieri M, Allegro G, Balestrazzi A, et al. Regeneration of *Populus nigra* transgenic plants expressing a Kunitz proteinase inhibitor (Kti<sub>3</sub>) gene [J]. *Mol. Breeding*, 1998, 4: 137-145.
- [12] Howe GT, Goldfarb B, et al. Agrobacterium-mediated transformation of hybrid poplar suspension cultures and regeneration of transformed plants [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ. Cultre*, 1994, 36: 59-71.
- [13] Kloppensten NB, et al. Transgenic populus hybrid expresses a wound-inducible potato proteinase inhibitor II-CAT fusion [J]. *Can. J. Forest. Res.*, 1991, 21: 1321-1328.
- [14] Kloppensten, NB, et al. Transformation of Populus hybrids to study and improve pest resistance [J]. *Silvae Genetica*, 1993, 42 (223): 86-90.
- [15] Leple JC, Brasileiro ACM. Transgenic poplars: expression of chimeric genes using four different constructs [J]. *Plant Cell Reports*, 1992, 11: 137-141.
- [16] McNabb HS, et al. A field trial of transgenic hybrid poplar trees: establishment and growth through the second season [J]. *Agroiculture Research Institute*, 1991: 155-159.
- [17] 田颖川, 郑均宝, 李常青, 等. 转双抗虫基因杂种741毛白杨的研究[J]. 植物学报, 2000, 42(3): 263-268.
- [18] 郑均宝, 梁海永, 田颖川, 等. 转双抗虫基因741毛白杨的选择及抗虫性[J]. 林业科学, 2000, 36(2): 13-20.
- [19] 高宝嘉, 王永芳, 王进茂, 等. 转双抗虫基因741杨的抗虫效应及其规律研究[J]. 生态学报, 2004, 24(2): 298-302.
- [20] 高宝嘉, 张炬红, 王永芳, 等. 转基因741杨抗虫性研究[J]. 河北农业大学学报, 2004, 27(3): 60-63.
- [21] 姜文虎, 刘军侠, 等. 转双抗虫基因741杨对靶标害虫发育的影响[J]. 河北林业科技, 2007, 5: 1-3.