

# 双抗虫基因三倍体毛白杨对舞毒蛾幼虫的抗性研究

袁 胜 亮, 张 娜, 周 国 娜

(河北农业大学, 河北 保定 071000)

**摘 要:**用室内群体饲养舞毒蛾幼虫的方法,对 15 个双抗基因三倍体毛白杨株系进行饲虫试验。结果表明:校正死亡率划分了高抗、中抗、低抗虫植株,舞毒蛾校正死亡率在 95 以上为高抗株系;40~75 为中抗株系,30 以下为低抗株系。舞毒蛾的发育历期、蜕皮指数和毒效反映的规律相一致。

**关键词:**双抗虫基因;三倍体毛白杨;舞毒蛾;发育历期;蜕皮指数

**中图分类号:**S 792.117 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)02-0141-03

虫害是造成农、林业减产的重要原因之一。随着生物技术发展,特别是 80 年代成熟起来的植物基因工程为防治害虫提供了一条新的途径<sup>[1]</sup>。三倍体毛白杨(Triploid hybrids of *Populus tomentosa*)是我国目前应用广泛的纸浆林工业用材树种及园林绿化树种。尽管其抗虫性强于二倍体毛白杨,但依然受到一些鳞翅目食叶害虫的危害。Mc Comn 首次报道了获得 1 株有杀虫效果的杨树转 Bt 基因植物<sup>[2]</sup>。田颖川等<sup>[3]</sup>对 *Bt CryIAc* 基因部分片段的核苷酸序列进行了改造,与慈姑蛋白酶抑制剂(API)基因构建了具有不同杀虫机制的双抗虫基因,成功转化了 741 毛白杨,获得双抗虫基因植株。为提高三倍体毛白杨抗虫性,用转化 741 杨的双抗虫基因转化三倍体毛白杨,获得了一批对杨扇舟蛾等鳞翅目害虫具有抗性的三倍体毛白杨株系<sup>[4-7]</sup>。为了鉴定其抗虫性,需要对双抗虫基因三倍体毛白杨进行抗虫性鉴定,为双抗虫基因三倍体毛白杨的研究和推广提供理论依据<sup>[8-10]</sup>。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 植物材料 供试植物材料为 15 个转双抗基因三倍体毛白杨株系,普通三倍体毛白杨作对照,由河北农

表 1 转双抗基因三倍体毛白各系号毒杀舞毒蛾的幼虫死亡率和校正死亡率

系号	CK	19	41	38	26	24	25	27	21	47	39	37	6	31	11	33
试虫数量	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
死亡率/%	9	30	26	27	32	27	47	60	53	66	55	72	97	100	100	100
校正死亡率/%	9.00	22.22	17.78	18.89	25.27	19.78	39.77	54.55	47.78	62.64	50.00	68.89	96.67	100	100	100

**第一作者简介:**袁胜亮(1979-),男,河北武邑人,在读博士,林业工程师,研究方向为昆虫生态学。E-mail: yuanshengliang@126.com。

**责任作者:**周国娜(1976-),女,河北冀州人,博士,讲师,研究方向为昆虫生态学。

**基金项目:**河北省科技支撑计划资助项目(11225527);河北省林业局科技计划资助项目(0614318,0612316)。

**收稿日期:**2011-09-29

业大学林学院苗圃提供。

1.1.2 舞毒蛾虫卵 采自秦皇岛,室内常温常压孵化。

### 1.2 试验方法

随机挑取刚孵化的舞毒蛾幼虫,用毛笔轻轻地移入清洁、干燥,高为 12 cm、直径 8.5 cm 的养虫缸内(20 头/缸),用封口膜封口。采摘同一部位的双抗基因三倍体毛白杨株系和对照系三倍体毛白杨的叶子饲养舞毒蛾幼虫,共 16 个处理。每处理 5 次重复<sup>[11-12]</sup>。每天定期更换新鲜的树叶(2 片)。

### 1.3 项目测定

记录幼虫的死亡数、鉴别虫龄及观察发育状态,计算死亡率、定期死亡率、蜕皮指数、毒力<sup>[13-15]</sup>。计算公式:死亡率(%)=(龄初头数-龄末头数)/龄初头数×100;校正死亡率(%)=(参试昆虫死亡率-对照昆虫死亡率)/(1-对照昆虫死亡率)×100;毒效=对照蜕皮指数/处理蜕皮指数-1;蜕皮指数=(1 龄×头数+……+末龄×头数)/总头数。

## 2 结果与分析

### 2.1 舞毒蛾幼虫校正死亡率

由表 1 可知,用 CK 饲养的舞毒蛾校正死亡率最低

为 9%;舞毒蛾校正死亡率在 30%以下为 19、41、38、26 和 24 号,暂定为低抗株系;校正死亡率在 40%~75%的是 25、27、21、47、39 和 37 号,暂定为中抗株系;舞毒蛾校正死亡率在 95%以上是 6、31、11 和 33 号,定为高抗株系。

### 2.2 转双抗基因三倍体毛白杨对舞毒蛾幼虫发育的影响

由表 2 可知,转双抗基因三倍体毛白杨与对照相比,中抗株系和高抗株系植株的叶片饲虫的结果显示明

显影响存活舞毒蛾的发育龄期,从1龄进入2龄期,取食中抗株系推迟2~4 d,取食高抗株系推迟2~8 d;2龄进入3龄中抗株系和高抗株系与CK基本一致,47号、39号、11号和33号推迟2 d,37号则提前2 d;3龄进入4龄期中抗株系中25号、27号和39号推迟2 d,47号和37号提前4 d,高抗株系中6号比CK提前2 d;4龄进入5龄期27号提前2 d,21号推迟2 d,39号推迟4 d。甚至有些株系使存活舞毒蛾不能达到末端,不生长,不蜕皮,延续22 d死亡。用中抗株系饲养的舞毒蛾定期死亡率较高其延续时间略长。用高抗株系饲养的舞毒蛾的定期死亡率最高且延续时间较长,在整个饲虫过程中每天都有大量舞毒蛾死亡。

表2 舞毒蛾幼虫的发育状态

植株类型	植株系号	舞毒蛾发育龄期所需天数/d						V龄幼虫占 饲虫数的 比率/%
		i→ii	ii→iii	iii→iv	iv→v	v→vi	vi→	
低抗株系	CK	8	10	6	4	4	2	98.00
	19	8	8	6	6	4	2	100.00
	41	8	8	6	4	4	2	98.00
	38	8	0	6	4	4	2	83.33
	26	12	10	6	4	2	2	83.33
	24	12	12	6	4	2	2	80.00
	25	10	10	8				78.00
	27	10	10	8	2			65.50
	21	10	10	6	6			47.00
	47	12	12	2				50.00
中抗株系	39	10	12	8	8	2		42.50
	37	12	8	2	4			40.00
	6	10	10	4				10.00
	31	14	10					0
	11	16	12					0
高抗株系	33	16	12					0

### 2.3 双抗基因三倍体毛白杨对舞毒蛾幼虫的毒效作用

根据舞毒蛾蜕皮指数计算毒效,也能反映用双抗基因杨树叶片饲养后,对尚存活舞毒蛾生长发育延迟的滞后效应,毒效数值越高说明对舞毒蛾的毒害越大<sup>[3]</sup>,转基因三倍体毛白杨的抗性就越高。由表3可知,高抗株系6、31、11和33号毒效高于9.44,中抗株系25、27、21、47、39和37号毒效在0.76~1.09之间,低抗株系19、41、

表3 转双抗基因杨树叶片的毒效测定

植株类型	植株系号	试充数量	蜕皮指数	毒效
低抗株系	CK	100	5.37	0
	19	100	4.63	0.17
	41	100	4.56	0.19
	38	100	4.59	0.18
	26	100	4.30	0.26
	24	100	4.59	0.18
	25	100	3.08	0.76
	27	100	3.05	0.78
	21	100	2.86	0.90
	47	100	2.60	1.09
中抗株系	39	100	2.97	0.83
	37	100	2.75	0.95
	6	100	0.19	27.58
	31	100	0.30	17.10
	11	100	0.52	9.44
高抗株系	33	100	0.45	11.07

38、26和24号毒效很低,在0.17~0.26之间。毒效结果与校正死亡率相对应。

### 3 结论与讨论

根据饲虫试验中舞毒蛾校正死亡率,可将这15个株系分为3类:一类是低抗株系,舞毒蛾校正死亡率在30%以下;二类是中抗株系,舞毒蛾的校正死亡率在40%~75%;三类是高抗株系,舞毒蛾的校正死亡率在95%以上。对舞毒蛾的发育历期、蜕皮指数和毒效进行统计分析,结果与暂定的高、中、低抗虫株系的抗性相一致,基本确定了这15个株系的抗性。

低抗株系可判断为基因转入后未表达或表达量小,中抗株系中抗虫基因产物表达水平较高,可能在舞毒蛾体内抗虫蛋白积累到一定水平才能使舞毒蛾致死,可见中抗植株也是被选择研究和推广的植株。高抗株系饲养的舞毒蛾定期死亡率最高,而且延续时间较长,说明基因表达产物水平高。根据蜕皮指数和毒效,说明叶片毒性对尚存活舞毒蛾生长发育的延迟性滞后效应,数值越高毒性越大。该试验除根据蜕皮指数计算毒效外,还研究了上述3类双抗虫基因三倍体毛白杨饲养过程中尚存活舞毒蛾各发育龄期推迟的程度,对照和低抗的植株尚存活舞毒蛾进入各发育龄期所需的时间相近;而高抗和中抗植株的尚存活舞毒蛾进入各发育龄期均推迟,有的舞毒蛾甚至不能达到末龄就死亡了,但那些存活下来的舞毒蛾虽然影响到了正常的生长发育,但这些舞毒蛾能否正常地羽化,产卵并孵化及抗虫基因三倍体毛白杨下一代的抗虫性有待进一步研究。

### 参考文献

- [1] 朱新生,朱义贤. 抗虫植物基因工程研究进展[J]. 植物学报,1997,39(3):92-98.
- [2] 李志兰,杨敏生,王进茂,等. 杨树基因工程育种进展[J]. 河北农业大学学报,2002,25:145-148.
- [3] 田颖川,李太元,莽克强,等. 抗虫转基因欧洲黑杨的培育[J]. 生物工程学报,1993,9(4):5-11.
- [4] 王永芳,高宝嘉,郑均宝,等. 转基因741杨对桑天牛的抗性鉴定[J]. 河北农业大学学报,2002,25(2):53-56.
- [5] 郑均宝,梁海永,高宝嘉,等. 转双抗虫基因741毛白杨的选择及抗性[J]. 林业科学,2000,36(2):13-19.
- [6] 周冬生,王学林,吴振廷,等. 转BT基因抗棉铃虫拒食作用及其机理研究[J]. 昆虫知识,2001,38(6):437-440.
- [7] 李立,杨敏生,梁海永,等. 转双抗虫基因三倍体毛白杨抗性分析[J]. 河北农业大学学报,2009,32(2):76-78.
- [8] 魏建荣,李淑梅,陈丛梅,等. 转Bt基因健杨R-94对膜肩网蝽和2种潜叶蛾的抗性[J]. 林业科学,2008,44(2):163-167.
- [9] 张冰玉,苏晓华,李义良,等. 转双价抗蛀干害虫基因杨树的获得及其抗性鉴定[J]. 林业科学研究,2005,18(3):364-368.
- [10] 张冰玉,苏晓华,李义良,等. 转抗鞘翅目害虫基因银腺杨的获得及其抗性的初步研究[J]. 北京林业大学学报,2006,28(2):102-105.
- [11] 郭同斌,嵇保中,诸葛强,等. 转Bt基因杨树(N-80106)对杨小舟蛾抗性研究[J]. 南京林业大学学报,2004,28(6):5-9.
- [12] 卞大明,魏宪举,温宇光,等. Bt毒蛋白转基因欧洲黑杨抗食叶害虫毒力测试[J]. 吉林林业科技,1999(5):15-62.

# 砂生槐种子害虫危害损失率及防治指标研究

王文娟<sup>1</sup>, 唐小琴<sup>1</sup>, 孟长军<sup>2</sup>, 巩文峰<sup>1</sup>

(1. 西藏农牧学院, 西藏 林芝 860000; 2. 西安文理学院 生命科学系, 陕西 西安 710065)

**摘 要:**采用人工罩笼、定量接虫的方法, 分别研究了砂生槐 2 种种子害虫的虫口密度与砂生槐种子产量损失之间的关系及其防治指标。结果表明: 随着接虫量的增加, 虫食率和虫荚率也随之增加, 产量则随之下降, 砂生槐种子产量损失率(Y)与豆荚螟和刺槐种子小蜂虫量(X)的关系分别为  $Y=6.2864+8.6907X$ ,  $Y=5.1611+8.4325X$ , 相关系数  $r$  分别为 0.9792 和 0.9830, 显示了砂生槐种子产量损失率和 2 种害虫的虫量相关性极显著。同时得到豆荚螟和刺槐小蜂单种群防治指标分别为 0.1140 对/株和 0.2509 对/株。

**关键词:**砂生槐种子; 豆荚螟; 刺槐小蜂; 产量损失; 防治指标

**中图分类号:**S 793.9 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2012)02-0143-03

砂生槐(*Sophora moorcroftiana* (Benth.) Baker) 是一种广泛分布于西藏雅鲁藏布江河谷、山坡、沙地上的豆科槐属多年生矮灌木, 是干暖河谷灌丛的代表植物, 为西藏特有植物种<sup>[1-2]</sup>。具有极强的抗旱、耐瘠薄、抗风沙等生态适应性和很好的防风固沙, 保持水土的功能, 在维护高原生态方面起着重要的作用<sup>[3-4]</sup>。砂生槐的种

子还是藏医常用的药物之一<sup>[5]</sup>, 主治湿热黄疸、白喉等症。并且苦参碱含量极高, 被认为是继苦参、苦豆子之后, 又一种极具有开发利用价值的苦参碱植物资源<sup>[6]</sup>。近些年由于气候变化以及人为因素的影响, 种实害虫已成为西藏砂生槐种子产业化道路上的主要障碍<sup>[7]</sup>。而关于砂生槐种子害虫防治指标的研究和应用国内外尚未见报道, 为了减少盲目用药, 保护天敌, 提高砂生槐种子害虫的综合防治水平和防治效益, 摸清砂生槐种子害虫危害的损失情况, 制定合理的防治指标是实行科学用药和综合防治的关键措施之一<sup>[8]</sup>。因此在 2008~2009 年对其造成的危害损失和防治指标进行了研究。

**第一作者简介:**王文娟(1979-), 女, 辽宁本溪人, 博士, 讲师, 现从事草原保护方面的研究工作。E-mail: wangwenjuan\_2001@163.com。

**基金项目:**211 工程师资队伍建设资助项目(SZRC-211-09); 西藏自治区地区基金资助项目。

**收稿日期:**2011-09-29

[13] 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.

[14] 方杰, 赵博光, 杨振德. 美洲黑杨不同无性系对分月扇舟蛾幼虫的抗

性[J]. 昆虫知识, 2008, 45(1): 88-91.

[15] 甄志先, 李静, 梁海永, 等. 转 BtCry3A 基因杨树毒蛋白表达及对桑天牛抗性的研究[J]. 蚕业科学, 2007, 33(4): 538-542.

## Study on the *Lymantria dispar* Linnacus Insect Resistance of the Transgenic Triploid Hybrids of *Populus tomentosa* Carrying Two-resistant Genes

YUAN Sheng-liang, ZHANG Na, ZHOU Guo-na  
(Hebei Agricultural University, Baoding, Hebei 071000)

**Abstract:** With group feeding method in laboratory, the resistance of 15 clones of two-resistant genes triploid hybrids of *Populus tomentosa* on *Lymantria dispar* Linnacus was measured. The results showed that the tested plants were divided into third groups, high resistant, middle resistant and low resistant according to mortality, the mortality of instar larvae killed by high resistant clones was over 95, and the mortality of the larvae killed by middle resistant clones was between 40 and 75, the mortality was under 30 when feed with the low resistant clones. Analyzed and compared the developmental periods, molting calendar index and toxic effect of *Lymantria dispar* Linnacus feed with the three kinds of transgenic Triploid hybrids of *Populus tomentosa*, the results showed that the conclusion in the correction mortality was consistent with the rules reflects of development period, molting calendar index and toxic effect on *Lymantria dispar* Linnacus.

**Key words:** two-resistant genes; triploid hybrids of *Populus tomentosa*; *Lymantria dispar* Linnacus; developmental periods; molting calendar index