

欧洲黑杨转 Bt 毒蛋白基因植株大田抗虫性测定*

胡建军¹⁾ 刘庆一²⁾ 王克胜¹⁾ 张宝恩²⁾ 田颖川³⁾ 韩一凡¹⁾

(1) 中国林业科学研究院林业研究所, 100091, 北京; 2) 新疆维吾尔自治区玛纳斯平原林场, 832206, 新疆玛纳斯;
3) 中国科学院微生物研究所, 100080, 北京; 第一作者 29 岁, 男, 助理研究员)

关键词 欧洲黑杨; Bt 毒蛋白基因; 大田抗虫评估; 抗虫育种
分类号 S722.36

近几年, 基因工程发展很快, 通过基因工程已获得了各种各样的转基因植物, 如抗虫转基因农作物的棉花 (*Gossypium hirsutum* L.)、水稻 (*Oryza sativa* L.)、马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.)、玉米 (*Zea mays* L.)、小麦 (*Triticum aestivum* Linn)、烟草 (*Nicotiana tabacum* L.) 等。转苏云金芽孢杆菌 (*Bacillus thuringiensis* Berliner) 毒蛋白基因棉花、烟草通过了棉铃虫 (*Heliothis armigera* (Hübner)) 和烟青虫 (*Heliothis assulta* (Guenée)) 等室内生物毒力测定和大田试验, 获得了抗虫效果比较好的转基因植物并在大田推广应用^[1~7]。在林木上, 杨树 (*Populus* spp.)、欧洲落叶松 (*Larix decidua* Mill.)、白云杉 (*Picea glauca* (Moench) Voss.)、核桃 (*Juglans regia* L.) 等也已获得转 Bt 毒蛋白基因植株^[8]。1991 年, 中国林科院林研所同中科院微生物所在我国首次获得了欧洲黑杨 (*P. nigra* L.) 转 Bt 毒蛋白基因植株, 对舞毒蛾 (*Lymantria dispar* (Linnaeus)) 和杨尺蠖 (*Apocheima cinerarius* Erschoff) 的抗虫率达 50% ~ 100%^[8]。迄今为止, 仅有转基因杨树叶片离体饲喂害虫进行抗虫性测定的报道^[9], 尚未有在大田自然感虫条件下转基因植株抗虫性评估的报道, 本文在大田抗虫试验的基础上, 进行了转 Bt 毒蛋白基因欧洲黑杨大田抗虫评估。

1 研究地区概况

玛纳斯平原林场位于新疆维吾尔自治区北部, 地处天山北麓, 准噶尔盆地南缘, 43°13' N, 86°37' E, 海拔 470 m。该地夏季炎热、干旱, 冬季寒冷、多雪。林地土壤类型为沙壤土, 适合许多杨树品种生长。近几年, 杨树食叶害虫十分猖獗, 主要是杨尺蠖和杨梦尼夜蛾 (*Orthosia incerta* (Hufnagel)), 每年春季, 当地的杨树、白榆 (*Ulmus pumila* L.) 的树冠叶片几乎全部被吃光。由于害虫大面积暴发, 尽管投入的防治经费、人力、物力逐年增加, 甚至更新设备, 但收效较小。

2 材料和方法

2.1 试验材料

1994 年春季, 在新疆玛纳斯平原林场建立欧洲黑杨转基因试验林, 面积约 1 hm², 株行距

* 本文为 1990~1992 年国家自然科学基金项目“欧洲黑杨抗虫转基因研究”的部分内容。
1997-09-25 收稿。

3 m × 4 m。共 17 个系号, 其中包括 14 个转 Bt 基因欧洲黑杨系号、2 个未转化的欧洲黑杨和健杨(*P. × euramericana* (Dode) Guineir cv. 'Robusta') 为对照。分布在 6 个区组中, 区组 1 与 2, 3 与 4, 5 与 6 的系号相同, 每个区组的系号重复 6 次, 单株小区, 各系号随机排列。对该林场农田防护林主要树种欧洲黑杨和健杨食叶虫害情况也进行了调查。

2.2 研究方法

2.2.1 虫口密度调查 在 1997 年 4 月 29 日害虫危害高峰期, 从对照(Ck₂、Ck₃) 和 12、153、172、192 号转基因植株的标准株上取同一方位处 1 m 长枝, 调查杨尺蠖虫口密度。

2.2.2 叶片损失率调查 1997 年 5 月 13 ~ 14 日害虫危害刚结束, 在转基因试验林的每株树上, 分上、中、下 3 个部位和东、南、西、北 4 个方位摘取叶片, 除上西和上北两部位各取 10 片叶子外, 其它 10 个部位各取 8 片, 总共 100 片叶子。按叶子全部被吃光, 叶子 1/2 被吃光, 叶子 1/4 被吃光, 叶子上仅有小洞被吃, 叶子无危害 5 个等级进行统计, 并按系号取平均值; 同时, 以目测法对周围的健杨林带、欧洲黑杨林带的叶片损失率进行了估测。

2.2.3 虫蛹调查 1997 年 5 月 16 ~ 17 日杨尺蠖和杨梦尼夜蛾全部下树化蛹, 分别在转基因林地、欧洲黑杨林地和健杨林地调查虫蛹数。在树干基部设样方, 面积为 1 m × 1 m, 每个林地取 30 个样方。因害虫大部分在表土层中化蛹, 所以挖土深度定为 20 cm。

3 结果与分析

3.1 转基因植株虫口密度

转基因植株 12、153、172、192 系号枝条的虫口密度分别为 2.3, 4.0, 3.0, 2.7 头 · m⁻¹, 均比对照(Ck₂、Ck₃) 的虫口密度分别为 8.7, 8.0 头 · m⁻¹) 少, 这说明转基因植株对害虫具有抑制作用, 能降低害虫虫口密度。

3.2 转基因林分的叶片损失率与其它林分的比较

由表 1 可知, 转基因试验林分中转基因植株叶片平均损失率(叶片全部吃光) 为 5% ~ 19%, 健杨和两个未转化欧洲黑杨对照(Ck₂、Ck₃) 的叶片损失率(叶片全部吃光) 分别为 15%、11% 和 7%, 远低于周围健杨和欧洲黑杨林带的叶片损失率(80% 和 90%), 说明转基因植株具有明显控制害虫危害的能力, 降低了林分中害虫的虫口密度。由此可认为非转基因植株受害虫危害较轻是因为转基因植株对害虫的毒杀和抑制作用, 虫口密度降低而造成的, 在某种程度上非转基因植株得到了转基因植株的保护。

由于整个林分叶片平均损失率(叶片完全吃光) 为 10%, 远低于失叶量为 40% 的防治指标^[10], 不需要进行化学防治, 减少了防治费用, 在生产上具有推广应用价值。

3.3 不同林分土壤中虫蛹数的比较

通过对不同林地土壤中的虫蛹数调查, 转基因试验林、健杨林带和欧洲黑杨林带土壤中的虫蛹数分别为 18 头 · m⁻², 88 头 · m⁻², 73 头 · m⁻², 健杨林带和欧洲黑杨林带土壤中的虫蛹数分别为转基因试验林土壤中虫蛹数的 4.9 倍和 4.1 倍。据玛纳斯平原林场多年病虫害防治预测、预报经验, 土壤中的虫蛹数达到 36 头 · m⁻², 预计第 2 年害虫将要大发生, 需采取措施进行防治。该块转基因林地土壤中的虫蛹数为 18 个 · m⁻², 远低于防治指标, 故可不进行防治, 降低了防治费用。

表 1 转基因植株叶片损失率统计

%

编号	系号	株数	叶片全部吃光	叶片 1/2 吃光	叶片 1/4 吃光	叶片小于 1/4 吃光	叶片无危害
1	健杨	23	15	14	21	26	24
2	Ck ₂	17	11	15	21	28	25
3	Ck ₃	12	7	12	19	30	32
4	12	12	12	14	22	31	22
5	153	12	14	17	23	30	16
6	192	6	5	13	22	31	29
7	172	16	11	16	23	27	22
8	13	11	9	14	21	27	29
9	139	11	9	11	20	30	30
10	162	12	9	15	21	29	26
11	197	11	7	13	20	30	29
12	208	10	13	16	24	27	20
13	209	10	11	14	21	29	25
14	222	6	6	12	20	36	26
15	254	12	19	19	21	22	18
16	110	11	8	13	18	27	35
17	141	11	7	12	19	30	32
合 计		203	171	239	358	490	442
平 均		—	10	14	21	29	26
健杨林带		—	80	—	—	—	—
欧洲黑杨林带		—	90	—	—	—	—

4 小结与讨论

在 1995 ~ 1997 年, 位于新疆北部的试验林区杨尺蠖和杨梦尼夜蛾连续大发生, 给当地农田防护林和用材林造成了重大危害和经济损失。但欧洲黑杨转基因植株对杨尺蠖和杨梦尼夜蛾表现出较强的抗虫性, 害虫虫口密度降低, 叶片损失率和土壤中的虫蛹数均低于防治指标, 试验林中的虫害未造成严重损失。

在大田抗虫试验中, 可采用叶片损失率、幼虫虫口密度和单位面积一定土壤深度内的虫蛹数作为评价转基因植株的抗虫性指标。

转基因植株的利用应从提供木材产量、保护环境和防治虫害出发, 转基因杨树的叶子含有毒蛋白, 对害虫具有毒杀作用, 可将转基因植株与其它树种搭配种植, 保护其它树种免遭害虫的严重危害。有关具体搭配比例及栽培模式还有待进一步的研究。

参 考 文 献

- 1 林良斌, 官春云. Bt 毒蛋白与植物抗虫基因工程. 生物工程进展, 1997, 7(2): 51 ~ 55.
- 2 崔洪志. 我国抗虫转基因棉花研究取得重大进展. 中国农业科学, 1996, 29(1): 93.
- 3 Michael P H, Frank G Z, Lloyd T W, et al. Field evaluation of transgenic tobacco containing genes encoding *Bacillus thuringiensis* d-Endotoxin or cowpea trypsin inhibitor: efficacy against *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol., 1992, 85(6): 2516 ~ 2522.
- 4 王武刚, 姜幸幸, 杨雪梅, 等. 转基因棉花对棉铃虫抗性鉴定利用研究初报. 中国农业科学, 1997, 30(1): 7 ~ 12.

- 5 吴中心. 抗虫基因烟草 Nc89 纯合品系的获得及大田抗虫试验. 中国烟草学报, 1995, 2(4): 29~33.
- 6 郭三堆. 植物 Bt 抗虫基因工程研究进展. 中国农业科学, 1995, 28(5): 8~13.
- 7 周兆澜, 朱祯. 植物抗虫基因工程研究进展. 生物工程进展, 1994, 14(4): 18~24.
- 8 田颖川, 李太元, 莽克强, 等. 抗虫转基因欧洲黑杨的培育. 生物工程学报, 1993, 9(4): 291~297.
- 9 Karl W K, David D E, Brent H M, et al. Field evaluation of transgenic poplar expressing a *Bacillus thuringiensis* cryIA (a) d-Endotoxin gene against forest tent caterpillar (Lepidoptera: Lasiocampidae) and gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) following winter dormancy. Environ. Entomol., 1995, 24(5): 1358~1364.
- 10 薛贤清编著. 森林害虫预测预报. 北京: 中国林业出版社, 1991. 89~90.

Field Test on Insect-resistance of Transgenic plants (*Populus nigra*) Transformed with Bt Toxin Gene

Hu Jianjun¹⁾ Liu Qingyi²⁾ Wang Kesheng¹⁾
Zhang Baoen²⁾ Tian Yingchuan³⁾ Han Yifan¹⁾

(1) The Research Institute of Forestry, CAF, 100091, Beijing, China; 2) Manas Plain Farm, 832206, Manas, Xinjiang, China; 3) The Institute of Microbiology, the Chinese Academy of Science, 100080, Beijing, China)

Abstract Based on the rate of damaged leaves of transgenic plantation, larvae and pupae density in the soil, the resistance of transgenic *Populus nigra* to *Apocheima cinerarius* and *Orthosia incerta* is evaluated. The rate of damaged leaves of transgenic stand is 10%, lower than the 40% of protection and control index. The rates of damaged leaves of both *P. nigra* controls (Ck₂ and Ck₃) and non-transgenic plants (*P. × euramericana* (Dode) Guineir cv. 'Robusta') in the transgenic plantation are lower than those plants of the around stands, respectively. Meanwhile, the less damage of the non-transgenic plants benefits from the decrease of the larvae caused by the transgenic plants. As a result, the pupae per square meter in the transgenic plantation soil is 18, much lower than 88 and 73 pupae of *P. × euramericana* (Dode) Guineir cv. 'Robusta' and *P. nigra* stands around.

Key words *Populus nigra*; Bt toxin gene; field evaluation of insect-resistance; insect-resistance breeding