

转双 *Bt* 基因欧美杨 107 杨基因表达及抗虫性解析

任亚超^{1,2} 周星鲁^{1,2} 董研^{1,2} 张军^{1,2} 王进茂^{1,2} 杨敏生^{1,2*}

(1. 河北农业大学林学院 保定 071000; 2. 河北省林木种质资源与森林保护重点实验室 保定 071000)

摘要: 获得转双 *Bt* 基因欧美杨 107 杨高抗株系, 明确 T-DNA 整合对基因表达的影响以及 *Bt* 毒素对光肩星天牛幼虫生长发育的调控机制。以欧美杨 107 杨组培苗为受体材料, 通过农杆菌介导法将构建在同一植物表达载体上的 *Cry1Ac* 和 *Cry3A* 基因同时转化 107 杨, 并对转基因株系进行分子检测及抗虫性检测, 以鉴定外源基因的整合、表达情况及抗虫效果; 对 6 个转基因株系及非转基因对照 (CK) 饲喂的光肩星天牛幼虫进行转录组测序, 鉴定天牛幼虫参与响应 *Bt* 毒素作用的候选基因及相关途径; 以处于中间试验阶段的 6 个转双 *Bt* 基因 107 株系为材料, 进行生长及生理指标测定, 利用 NGS 测序技术研究 T-DNA 的整合特征, 基于 RNA-seq 及 WGCNA 分析探究 T-DNA 插入对 107 杨基因表达的影响。经卡那霉素筛选及 PCR 检测获得 16 个转双 *Bt* 基因 107 杨株系; 双 *Bt* 基因在转录和翻译水平均得到表达, 且 *Cry3A* 毒蛋白含量远高于 *Cry1Ac* 毒蛋白, 不同株系间存在一定差异; 转基因株系对测试昆虫的抗虫性存在一定差异, 部分株系对美国白蛾和杨小舟蛾 1 龄幼虫、柳蓝叶甲 1 龄、2 龄幼虫及成虫均具有高抗虫性 (校正死亡率达 100%); 6 个转基因株系对光肩星天牛幼虫的生长发育具有一定的抑制作用, 取食转基因株系的幼虫的平均重量及中肠纤维素酶活性均低于对照, 不同处理间存在一定差异; 光肩星天牛幼虫取食 *Bt* 毒素后, 体内与 *Bt* 原毒素激活、消化酶、结合受体、解毒酶系及保护酶等相关的基因表达发生显著变化; 与对照相比, 6 个转基因株系生长未表现出显著差异; 但是在抗虫性增强的同时, 产生了与 *Bt* 基因整合位点有关的影响; 6 个转基因株系共检测到 15 个插入位点, T-DNA 优先插入到杨树基因组富含 AT 碱基区; 受 *Bt* 基因影响最大的代谢途径是淀粉和蔗糖代谢、戊糖和葡萄糖醛酸相互转化; 相较于插入位置和拷贝数, 外源 *Bt* 基因的表达对 107 杨基因表达影响较大, 其中 *Cry1Ac* 毒蛋白起主要作用。本研究获得了对靶标昆虫具有高抗虫性的转双 *Bt* 基因 107 杨, 确定了光肩星天牛幼虫响应毒素处理的候选基因及潜在途径, 明确了外源 *Bt* 基因的表达对 107 杨基因表达影响较大。