

非选择性除草剂 Basta 对荞麦和莜麦种子萌发的影响

郝建平¹, 陈占宽², 裴雁曦¹, 张吉萍¹

(1 山西大学 生命科学系, 山西 太原 030006; 2 河南省农业科学院实验中心, 河南 郑州 450002)

摘要: 应用植物组织培养技术, 研究了不同浓度的除草剂 Basta 对单子叶植物莜麦和双子叶植物荞麦种子萌发和生长的作用; 应用高温高压灭菌法和过滤灭菌法对 Basta 进行了处理, 比较了二者之间的灭菌效果。结果表明, 当培养基中 Basta 的浓度超过 $4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 可有效杀灭荞麦的种苗, 而对莜麦种苗的有效作用浓度为 $6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上。高温高压灭菌不会造成 Basta 的分解和杀灭效果的减弱。

关键词: 除草剂; 荞麦; 莜麦; 种胚; 组织培养

中图分类号: S517.053 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000- 7091(2001)02- 0136- 05

荞麦和莜麦都是具有很高营养价值、药用价值和独特食用风味的粮食作物, 且种植地主要分布于高寒山区, 因而其研究和开发具有特殊的意义和价值。植物基因工程技术是获得高产、优质和抗逆性强的作物品种的一条十分有效的途径^[1]。在转基因植物研究中, 由 Bar 基因提供的除草剂抗性是常用的选择标记之一, 合子胚是转化常用的外植体材料, 对于一些难以分化或植株再生频率不高的植物种类尤为重要^[2]。在前期工作中, 我们已进行了荞麦和莜麦的组织培养并获得了再生植株^[3,4]。在本试验中, 我们应用组织培养方法, 对除草剂 Basta 在抑制荞麦和莜麦种胚萌发过程中的作用浓度进行了筛选, 以期为基因工程技术在两种作物中的实际应用提供依据。

1 材料和方法

供试荞麦 (*Fagopyrum esculentum*) 品种为牡丹甜荞; 供试莜麦 (*Avena nuda*) 品种为 8343- 7- 1。试验用除草剂 Basta 为德国 Hoech 公司专利、日产化学工业株式会社生产的 phosphinothricin。Basta 经过滤法或高温高压法灭菌(下文中分别以 f 和 t 表示)。基本培养基为 MS, 添加其中的 Basta 浓度分别为 0 (对照), 2, 4, 6, 8, 10 (单位为 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 下同), 对应的培养基以 M₀、M₂、M₄、M₆、M₈ 和 M₁₀ 表示, 莜麦种子用 10% H₂O₂ 水溶液进行表面消毒, 无菌水冲洗后播于培养基中。荞麦种子经 10% H₂O₂ 水溶液处理后, 再用无菌水冲洗并浸泡其中 12 h, 然后移入培养基中。接种 15 d 和 30 d 时统计、拍照。

收稿日期: 1999- 09- 15

基金项目: 山西省自然科学基金资助项目(961020)

作者简介: 郝建平(1959-), 男, 副教授, 理学硕士, 主要从事植物细胞工程方面的研究。

2 结果与分析

2.1 Basta 对莠麦种子萌发和生长的影响

如表 1 所示, 在 11 种处理中, 莠麦种子的萌发率为 69% ~ 89%, 各处理间没有明显差

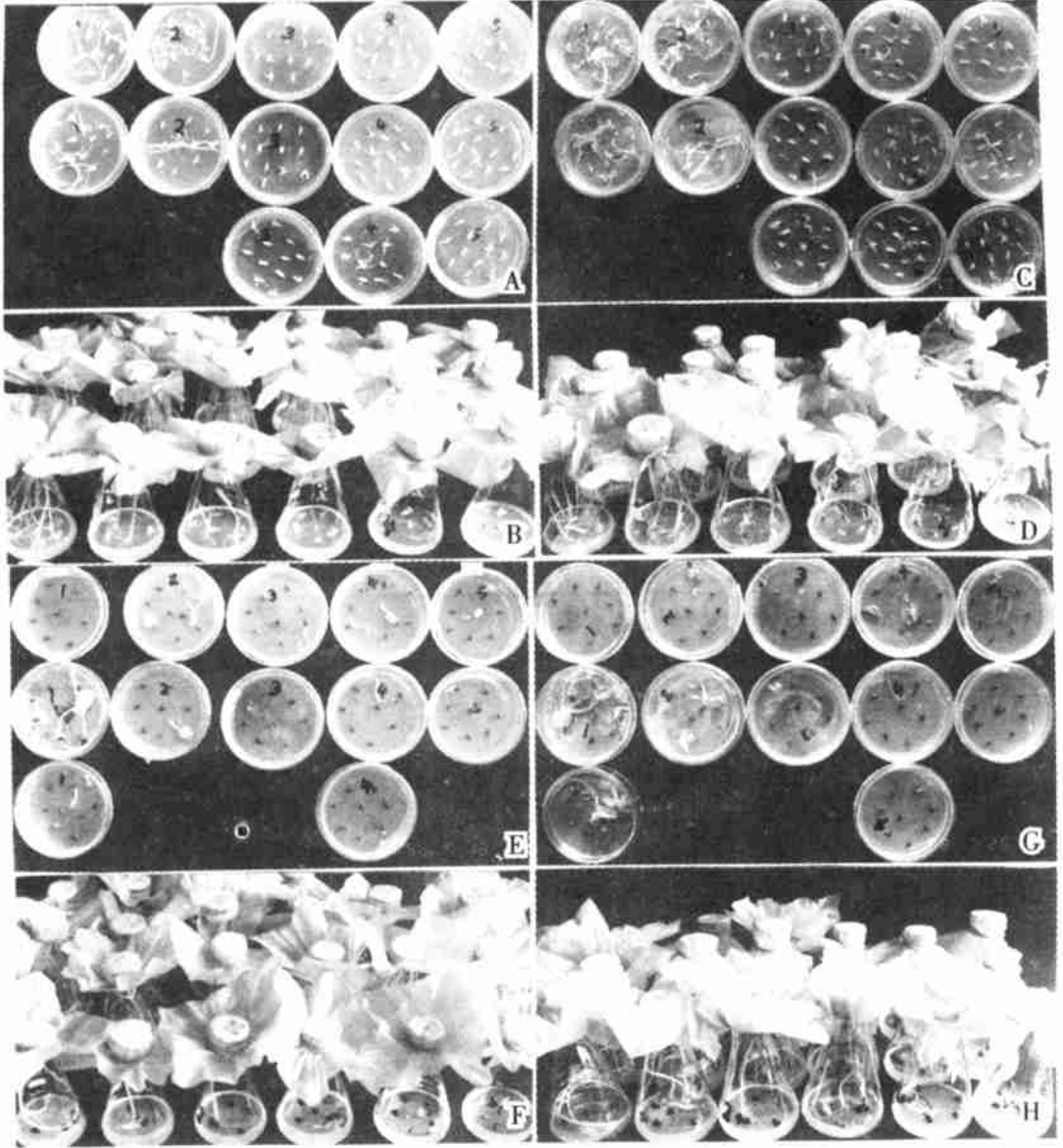
表 1 莠麦种子的萌发及生长状况

培养基	接种数	萌发数	萌发率 (%)	生长状况(接种 30 d)
M ₀	18	16	88. 9	种子正常萌发形成小植株
M _{2f}	24	20	83. 3	其中 11 粒长成小植株, 但株高较 M ₀ 短, 且叶片开始自上而下枯死
M _{2t}	24	19	79. 2	其中 16 粒长成小植株, 状况同 M _{2f}
M _{4f}	24	20	83. 3	其中 12 粒长成小植株, 株高不及 M ₂ , 叶片枯死程度也较 M ₂ 重
M _{4t}	18	15	83. 3	萌发种子中 12 粒第 1 片真叶刚出胚芽鞘, 即停止生长而枯死; 其余 3 粒长成小植株, 株高不及 M ₂ , 且开始枯死
M _{6f}	36	30	83. 3	只有 4 粒刚刚露出真叶, 5 粒长出根系, 真叶自上而下枯死
M _{6t}	24	18	75. 0	4 粒刚刚露出真叶, 4 粒长出根系, 真叶自上而下枯死
M _{8f}	35	29	82. 9	5 粒刚刚露出真叶, 8 粒长出根系, 全部枯死
M _{8t}	18	13	72. 2	无真叶、无根系长出, 全部枯死
M _{10f}	36	25	69. 4	7 粒长成具 1 片真叶的苗, 但均不正常, 由叶尖或胚芽鞘处开始枯死
M _{10t}	25	18	72. 0	3 粒刚刚露出真叶, 2 粒长出根系, 均由叶尖或胚芽鞘端开始枯死

表 2 荞麦种子的萌发及生长状况

培养基	接种数	萌发数	萌发率 (%)	生长状况 (接种 30 d)
M ₀	18	5	27. 8	种子正常萌发形成小植株, 下胚轴细长, 有真叶长出
M _{2f}	28	6	21. 4	种子发育形成小植株, 上、下胚轴均较 M ₀ 短粗
M _{2t}	24	7	29. 2	同 M _{2f}
M _{4f}	16	3	18. 8	下胚轴短粗, 根系少而短; 2 株已枯死, 无真叶
M _{4t}	24	4	16. 7	其中 3 株状况同 M _{4f} , 1 株下胚轴细长且枯死; 4 株子叶均未与果皮脱离
M _{6f}	24	3	12. 5	2 株状况同 M _{4f} , 但根极短而少; 1 株下胚轴稍长; 3 株子叶均未脱离果皮且枯死
M _{6t}	24	4	16. 7	3 株状况同 M _{4f} , 1 株下胚轴和根系稍长; 果皮均未脱离, 2 株已枯死
M _{8f}	24	6	25. 0	其中 3 粒种子刚萌发即死亡; 其余 3 株均枯死, 其中 2 株状况同 M _{4f} , 1 株根系和下胚轴较长, 果皮未脱离
M _{8t}	18	5	27. 8	2 粒种子刚萌发即死亡; 其余 3 株状况同 M _{4f} , 根极少, 果皮未脱离, 均枯死
M _{10f}	16	3	18. 8	状况同 M _{4f} , 根极少而短, 果皮未脱离, 均枯死。
M _{10t}	24	4	16. 7	同 M _{10f}

异。播种 15 d 时观察, 种子萌发、生长的程度差异较大, 但无论是真叶还是胚芽鞘和根系, 均未发生枯斑和死亡(图 1- A, B)。播种 30 d 时观察, 在添加 Basta 的培养基中, 均不同程度地发生了叶片失绿、胚芽鞘变枯而导致死亡, 其中在 M₆, M₈, M₁₀中表现的杀死性和对种子萌发生长的抑制性明显优于 M₂ 和 M₄。试验结果也表明 Basta 无论是经过滤灭菌还是经高温、高压灭菌, 对除草剂的作用没有明显影响(图 1- C, D)。



A, B, C, D 为莜麦种子; E, F, G, H 为荞麦种子

A, E. 培养 15 d, Basta 经过滤灭菌, 添加量由左向右依次为 2, 4, 6, 8, 10(单位 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 下同); B, F. 培养 15 d, Basta 经高温高压灭菌, 添加量依次为 0, 2, 4, 6, 8, 10; C, G. 培养 30 d, Basta 经过滤灭菌, 添加量依次为 2, 4, 6, 8, 10; D, H. 培养 30 d, Basta 经高温高压灭菌, 添加量依次为 0, 2, 4, 6, 8, 10。

图 1 莜麦和荞麦种子在附加 Basta 的培养基中的萌发和生长状况

2.2 Basta 对荞麦种子萌发和生长的影响

播种 15 d 时观察, 对照生长正常, 下胚轴伸的很长。对照与处理之间、处理与处理之间种子的萌发率无明显差别。胚轴和子叶生长发育的程度与培养基中 Basta 的浓度有关。在 M_2 中, 由于 Basta 的量相对较少, 种子仍能萌发成苗, 但幼苗的上、下胚轴均比对照短, 子叶与果皮脱离的时间也比对照晚。 M_4 中的下胚轴又较 M_2 中短, 大部分子叶未与果皮脱离。在 M_6 , M_8 , M_{10} 中, 除下胚轴更加粗短(M_6 中 1 株例外) 外, 所有萌发种子的子叶均未脱离果皮(图 1- E, F)。播种 30 d 时观察, 生长发育的程度无大的变化, 但在 M_4 , M_6 , M_8 和 M_{10} 中的幼苗均已枯死或接近枯死。Basta 高温高压灭菌和抽滤灭菌对荞麦种子萌发率和生长状况的影响也无显著差异(图 1- G, H)。

3 讨论

Basta 是一种高效、广谱的非选择性除草剂, 所以它对单子叶植物莜麦和双子叶植物荞麦均具杀生作用。Basta 对两种作物种苗的最适作用浓度是不同的, 对荞麦的有效作用浓度在 $4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上, 对莜麦的有效作用浓度在 $6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上。荞麦和莜麦之间这种对 Basta 的耐受性的差异可能与其种子结构有关。Basta 的作用机理是破坏叶绿体和抑制谷氨酰胺合成酶的活性, 从而抑制光合作用和导致氮的积累而使植株死亡。荞麦种子中有 2 片宽大而折叠的片状子叶, 而莜麦种子中的幼叶极小且又受到胚芽鞘的保护。种子结构上的差异致使莜麦种子对 Basta 的耐受性高于荞麦种子。

Basta 应用于植物组织培养, 其灭菌是必需的一个环节。经灭菌后的 Basta, 既不能因化合物的分解而影响其效能, 又要求彻底除菌。高温高压灭菌和过滤灭菌都能满足这 2 个条件, 但前者更简便, 且易操作。因此, 组织培养中若采用 Basta 作添加剂, 采用高温高压法直接灭菌即可。

参考文献:

- [1] 陈章良. 植物基因工程的研究及发展趋势[A]. 魏建昆. 农业高新技术论[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 1992. 8- 18.
- [2] 贾士荣. 转基因植物概述[A]. 农业生物技术进展与展望[M]. 北京: 中国科学技术大学出版社, 1993. 17- 24.
- [3] Hao Jianping, Pei Yanxi, Qu Yunbo. Study on peroxidase activity and its isoenzymes in callus differentiation of common buckwheat[J]. Bulletin of Botanical Research, 2000, 20(4): 416- 419.
- [4] 周小梅, 郝建平, 李绍清. 莜麦组织培养及再生植株[J]. 山西大学学报, 1994, 17(4): 419- 423.

Effect of Herbicide Basta on Mature Embryo of Buckwheat and Naked Oats

HAO Jian-ping¹, CHEN Zhan-kuan², PEI Yan-xi¹, ZHANG Ji-ping¹

(1 Department of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China;

2 Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: Seeds of buckwheat and naked oats were sterilized and implanted on MS media in which concentration of herbicide Basta was 0, 2, 4, 6, 8 and 10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ respectively. After seeds of buckwheat germinated into seedlings, cotyledon gradually lost green and died on media supplemented with Basta 4 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ or more. Germination and growth of naked oats seeds were inhibited when concentration of Basta was over 6 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ in medium. High temperature and pressure method and filter method were effective to sterilization of Basta and there were no obvious differences between them in inhibition effect.

Key words: Herbicide; Buckwheat; Naked oats; Mature embryo; Tissue culture