

油菜抗除草剂不育系的抗性效应研究

高建芹, 浦惠明, 陈新军, 张洁夫

(江苏省农业科学院经济作物研究所, 江苏 南京 210014)

摘要: 为探明转育获得的抗除草剂不育系的抗性效应, 苗期用不同浓度草甘膦处理抗草甘膦油菜不育系 TA6 TA7。结果表明: 随着喷药浓度增加, 对叶片、茎秆和根的生长表现为不同程度的抑制作用, 其中对叶片生长的影响较早且最严重, 对茎秆生长的影响较迟, 程度相对较轻, 对根部生长的抑制作用最小, 表现为先抑后扬, 但随着时间的推移, 影响程度逐渐减轻, 至喷药 60 d 后, 油菜苗生长基本恢复正常。花期育性调查和套袋自交结果表明, 抗性不育系喷施草甘膦除草剂后, 育性未受任何影响, TA6 TA7 的不育率和不育度均表现正常。

关键词: 草甘膦; 油菜; 干物质积累; 育性

中图分类号: S565.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2006)06-0022-04

Studies on Resistant in Male Sterile Line of Glyphosate resistant Rape

GAO Jian qin, PU Hui ming, CHEN Xin jun, ZHANG Jie fu

(Institute of Industrial Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: Effects of different glyphosate concentration in glyphosate resistant Rape TA6 and TA7 were studied. The results showed: As glyphosate concentration were enhanced, the restrain to leaf, stem and root were different. The restrain to leaf was highest and showed early. On the contrary, the restrain to stem was lowest and showed lately. Effect of different glyphosate concentration became smaller and smaller with growing stages 60 days later, there were no effects to rape. There was no influence on fertility of sterile line.

Key words: Glyphosate; Rape; Accumulation of dry matter; Fertility

草甘膦是美国孟山都(Monsanto)公司开发的有机磷除草剂, 因其杀草的广谱、高效、低毒、易分解、低残留和对环境相对安全等优点在全球 100 多个国家得到广泛应用^[1]。1988 年孟山都公司利用生物技术进行抗草甘膦大豆新品种选育, 1995 年已获得抗草甘膦大豆新品种。目前, 国外利用生物技术和多种育种方法已在烟草、棉花、番茄、马铃薯、油菜等多种作物中获得抗草甘膦品种^[2~4], 取得了良好的经济效益和社会效益。近年来, 我国通过引进抗除草剂基因或品种, 正在转导和转育抗除草剂油菜, 但对抗草甘膦不育系的抗性效应还未见公开报道。本试验通过对 2 个抗草甘膦油菜不育系不同浓度草甘膦处理, 探明除草剂对抗性不育系在干物质积累、养分吸收、育性等方面的影响, 旨在为抗草甘膦油菜的大面积生产应用提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试材料 TA6, TA7 为我院转育的抗草甘膦不育系。1999 年我院从加拿大引进抗草甘膦油菜品系 Q3, 该品系具有抗草甘膦的 *CP4* 基因和草甘膦氧化酶基因 *gox*。抗性遗传试验结果表明, *CP4* + *gox* 双价基因的草甘膦抗性表现为受 1 对显性基因控制, 抗性性状在杂种后代中的分离符合典型的孟德尔遗传规律。利用常规的杂交、回交等育种手段, 将 Q3 抗草甘膦性状导入 MICMS 双低不育系宁 A6 和宁 A7 的保持系, 回交获得抗除草剂不育系 TA6, TA7。草甘膦除草剂为美国孟山都公司生产 41% 农达水剂。

1.2 试验方法

试验于 2003—2004 年度在江苏省农业科学院

收稿日期: 2006-02-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(30070152)

作者简介: 高建芹(1974—), 女, 江苏淮安人, 助理研究员, 学士, 主要从事油菜遗传育种研究及品质分析。

经济作物研究所油菜隔离区进行, 育苗移栽, 大田移栽密度为 12 万株/hm², 每个材料设 5 个处理, 小区面积 6.67 m², 移栽活棵后(12 月 1 日)分别喷施有效浓度为 0(ck), 1 000, 2 000, 3 000 和 4 000 mg/kg 的草甘膦溶液 525 kg/hm²。喷药 15、30、45 和 60 d 后分别取样, 测定根、茎、叶干物质重及地上部分氮含量等项目。每个处理随机取苗 3~5 株。

取地上部烘干样研磨, Buchi K 435 消化, K 370 蒸馏滴定, 进行氮含量测定。

于初花期、盛花期、终花期各处理分别取 50 朵花进行育性鉴定。育性鉴定标准分为 3 级: I 级为不育, 花丝短, 花药短, 花药瘦秕、白色, 无花粉; II 级为半不育, 花丝稍伸长, 花药部分可育, 有少量花粉; III 级为可育, 花丝长度接近或同于正常花, 花药发育正常, 花粉丰富。初花期各处理随机取 3 株套袋自交, 每株套袋 150 个蕾, 观察自交结实情况。

2 结果与分析

2.1 不同草甘膦浓度处理对 TA6、TA7 干物质积累的影响

2 个抗草甘膦不育系施用草甘膦除草剂后均未发现药害症状, 表明 TA6 和 TA7 对草甘膦有较强抗性, 但随着喷药浓度增加, 对油菜生长有轻微抑制作用, 株高相应变矮, 叶片、叶面积变小, 菜苗生长不同程度地受到抑制。喷药 14 d 后, 各处理就表现出受抑症状, 叶片生长明显减缓, TA6 未经除草剂处理的植株叶片干物质日积累强度达到 30.66 mg/(株·d), 1 000 mg/kg 溶液处理的植株为 23.33 mg/(株·d), 2 000 mg/kg 溶液处理的植株为 10.66 mg/(株·d), 3 000 mg/kg 溶液处理的植株为 3.31 mg/(株·d), 4 000 mg/kg 溶液处理的植株仅为 2.0 mg/(株·d),

叶片干物质日积累强度分别为对照的 76.09%, 34.76%, 9.83% 和 6.52%。茎秆生长也开始受抑, TA6 未经除草剂处理的植株茎的干物质日积累强度为 3.44 mg/(株·d), 1 000 mg/kg 溶液处理的植株为 3.34 mg/(株·d), 3 000 mg/kg 溶液处理的植株为 3.00 mg/(株·d), 4 000 mg/kg 溶液处理的植株仅为 2.0 mg/(株·d), 茎干物质日积累强度分别为对照的 97.09%, 87.21% 和 58.14%。喷药后 16~30 d, 叶片干物质日积累开始回升, 而茎的干物质日积累降至低谷, 喷药 30 d 后, 茎的干物质日积累才开始回升, 不同材料间趋势一致(表 1、2)。而草甘膦除草剂对抗性不育系地下部根影响与地上部相反, 喷药 15 d 内, 根部生长仅受轻微影响, 15 d 后根部生长不仅没有受到抑制, 干物质积累反而加快。如喷药后 16~30 d, TA6 对照的根干物质日积累量为 18.67 mg/(株·d), 而 1 000 mg/kg 溶液处理的植株为 22.00 mg/(株·d), 2 000 mg/kg 溶液处理的植株为 26.00 mg/(株·d), 4 000 mg/kg 溶液处理的植株仅为 23.33 mg/(株·d), 日积累强分别为对照的 117.84%, 139.26% 和 124.67%, 不同材料间趋势一致(表 3)。由此可见, 抗草甘膦不育系施用草甘膦除草剂后, 植株地上部生长会受到抑制, 首先影响的是叶片生长, 其次为茎的生长, 且影响程度随施药浓度增加而加剧, 而对地下部根的生长影响较小。随着时间推移, 叶片、茎的生长先后逐步恢复, 到返青抽薹期恢复至正常生长。而草甘膦对抗性油菜根的影响先抑后扬, 有利于越冬油菜根的生长。另外, 草甘膦对抗性油菜的抑制作用与使用生长调节剂多效唑的作用类似, 表现为株高矮化、叶色加深、叶片变厚, 且有利于油菜抗寒越冬和春后返青生长, 值得进一步研究。

表 1 不同草甘膦浓度对植株叶片干物质积累强度的影响

Tab. 1 Affection of different glyphosate concentract on dry matter accumulation of the leaves in plant

材料 Material	处理 (mg/kg) Treatment	1~15 d		16~30 d		31~45 d		45~60 d	
		强度	与对照相比	强度	与对照相比	强度	与对照相比	强度	与对照相比
		(mg/(株·d)) Intensity	(%) Compare with ck	(mg/(株·d)) Intensity	(%) Compare with ck	(mg/(株·d)) Intensity	(%) Compare with ck	(mg/(株·d)) Intensity	(%) Compare with ck
TA6	0(ck)	30.66	100.00	16.67	100.00	35.33	100.00	64.00	100.00
	1 000	23.33	76.09	12.67	75.98	28.00	79.25	59.33	92.71
	2 000	10.66	34.76	7.33	43.99	24.00	67.93	56.00	87.50
	3 000	3.31	9.83	7.33	43.99	21.33	60.38	44.66	69.79
	4 000	2.00	6.52	6.00	35.99	16.00	45.28	34.00	53.35
TA7	0(ck)	40.00	100.00	16.00	100.00	37.33	100.00	71.33	100.00
	1 000	21.33	53.33	11.33	70.83	30.00	80.36	67.33	94.40
	2 000	12.67	31.67	9.33	58.33	28.00	75.00	62.00	86.91
	3 000	4.67	11.67	5.33	33.31	17.33	46.43	58.76	82.24
	4 000	2.67	6.67	4.66	29.16	16.00	42.86	47.33	66.36

表 2 不同草甘膦浓度对植株茎秆干物质积累强度的影响

Tab. 2 Affection of different glyphosate concertract on dry matter accumulation of the stems in plant

材 料 Material	处理 (mg/ kg) Treatment	1 ~ 15 d		16 ~ 30 d		31 ~ 45 d		45 ~ 60 d	
		强度	与对照相比	强度	与对照相比	强度	与对照相比	强度	与对照相比
		(mg/(株·d)) Intensity	(%) Compare with ck	(mg/(株·d)) Intensity	(%) Compare with ck	(mg/(株·d)) Intensity	(%) Compare with ck	(mg/(株·d)) Intensity	(%) Compare with ck
TA6	0(ck)	3. 44	100. 00	6. 66	100. 00	21. 34	100. 00	28. 67	100. 00
	1 000	3. 34	97. 09	6. 00	90. 09	18. 67	87. 48	26. 00	96. 76
	2 000	3. 44	100. 00	5. 67	85. 14	15. 33	71. 84	26. 66	92. 99
	3 000	3. 00	87. 21	2. 67	40. 09	13. 33	62. 46	26. 00	96. 67
	4 000	2. 00	58. 14	1. 33	19. 97	13. 33	62. 46	34. 66	120. 51
TA7	0(ck)	4. 67	100. 00	8. 00	100. 00	14. 00	100. 00	32. 67	100. 00
	1 000	3. 33	73. 31	6. 73	84. 13	12. 66	90. 42	32. 33	98. 96
	2 000	4. 00	85. 65	6. 67	83. 38	12. 00	85. 71	32. 00	97. 94
	3 000	4. 33	92. 72	6. 67	83. 38	18. 00	128. 57	33. 33	102. 02
	4 000	2. 00	42. 86	6. 00	75. 00	14. 66	104. 71	29. 34	89. 81

表 3 不同草甘膦浓度对植株根积累强度影响

Tab. 3 Affection of different glyphosate concertract on dry matter accumulation of the roots in plant

材 料 Material	处理 (mg/ kg) Treatment	1 ~ 15 d		16 ~ 30 d		31 ~ 45 d		45 ~ 60 d	
		强度	与对照相比	强度	与对照相比	强度	与对照相比	强度	与对照相比
		(mg/(株·d)) Intensity	(%) Compare with ck	(mg/(株·d)) Intensity	(%) Compare with ck	(mg/(株·d)) Intensity	(%) Compare with ck	(mg/(株·d)) Intensity	(%) Compare with ck
TA6	0(ck)	14. 00	100. 00	18. 67	100. 00	28. 66	100. 00	10. 66	100. 00
	1 000	12. 00	85. 71	22. 00	117. 84	18. 00	62. 80	9. 33	92. 74
	2 000	12. 00	85. 71	26. 00	139. 26	21. 33	74. 43	9. 33	92. 74
	3 000	16. 00	114. 28	16. 67	89. 26	33. 33	116. 31	8. 00	79. 52
	4 000	11. 33	80. 95	23. 33	124. 67	34. 00	118. 63	16. 67	179. 75
TA7	0(ck)	18. 00	100. 00	15. 33	100. 00	30. 00	100. 00	4. 00	100. 00
	1 000	8. 66	48. 15	14. 00	91. 32	29. 33	97. 78	5. 33	133. 25
	2 000	10. 71	59. 26	14. 67	95. 69	19. 30	64. 44	3. 33	83. 25
	3 000	6. 67	37. 03	16. 00	104. 37	30. 66	102. 22	9. 33	233. 25
	4 000	6. 67	37. 03	20. 00	130. 46	38. 67	128. 89	6. 00	150. 00

表 4 不同浓度草甘膦对植株地上部氮素积累强度的影响

Tab. 4 Affection of different glyphosate concertract on N accumulation of the part of plant on ground

材 料 Material	处理 (mg/ kg) Treatment	1 ~ 15 d		16 ~ 30 d		31 ~ 45 d		45 ~ 60 d	
		强度	与对照相比	强度	与对照相比	强度	与对照相比	强度	与对照相比
		(mg/(株·d)) Intensity	(%) Compare with ck	(mg/(株·d)) Intensity	(%) Compare with ck	(mg/(株·d)) Intensity	(%) Compare with ck	(mg/(株·d)) Intensity	(%) Compare with ck
TA6	0(ck)	2. 60	100. 00	0. 73	100. 00	2. 67	100. 00	4. 80	100. 00
	1 000	2. 20	84. 62	0. 67	91. 32	2. 40	89. 89	4. 53	94. 44
	2 000	1. 07	41. 15	0. 33	45. 66	2. 07	77. 40	4. 46	93. 06
	3 000	0. 60	23. 08	0. 20	27. 40	1. 87	69. 91	4. 13	86. 61
	4 000	0. 07	2. 54	0. 40	54. 79	1. 80	67. 42	4. 00	83. 33
TA7	0(ck)	2. 20	100. 00	1. 13	100. 00	3. 60	100. 00	5. 40	100. 00
	1 000	1. 87	84. 85	1. 10	88. 50	3. 07	85. 19	5. 00	92. 59
	2 000	1. 13	51. 36	0. 60	53. 10	2. 87	79. 63	4. 93	91. 35
	3 000	0. 60	27. 27	0. 53	47. 20	2. 60	72. 22	4. 73	87. 65
	4 000	0. 40	18. 18	0. 47	41. 29	2. 60	72. 22	4. 60	85. 18

2.2 不同草甘膦浓度处理对 TA6、TA7 氮积累量的影响

草甘膦除草剂对抗性不育系 TA6、TA7 地上部的氮积累量有明显影响,随着处理浓度的增加,TA6、TA7 氮积累量依次减少,不同取样时期的测定结果高度一致。喷药 1 ~ 15 d 内油菜苗地上部的氮

素日积累量下降最多,TA6 对照的氮素日积累量为 2. 60 mg/(株·d),而 1 000 mg/kg 处理的小区油菜苗地上部氮素日积累量下降为 2. 20 mg/(株·d),2 000 mg/kg 处理的小区油菜苗地上部氮素日积累量下降到 1. 07 mg/(株·d),3 000 mg/kg 和 4 000 mg/kg 处理的小区油菜苗地上部氮素日积累量仅为 0. 60 和

0.07 mg/(株·d)。随着时间推移, 氮积累量逐渐增加, 喷药后 60 d, 各浓度处理的地上部氮营养积累强度已基本恢复正常, 其抑制程度 TA6 仅为 0.556%~16.67%, TA7 仅为 7.41%~14.82%(表 4)。不同处理浓度对 TA6, TA7 油菜苗地上部氮素积累量的变化趋势高度一致, 氮素日积累强度的变化趋势与油菜苗茎、叶干物质积累量的变化趋势高度相关。

2.3 不同浓度草甘膦处理对 TA6, TA7 育性的影响
对初花期、盛花期和终花期各处理的育性调查结果表明, 抗性不育系喷施草甘膦除草剂后, TA6 和 TA7 的不育率 and 不育度均未受到影响。各花期所有处理采样的花朵均表现为花瓣窄小, 雌蕊正常, 雄蕊长度仅为正常品种的 1/3, 雌蕊/雄蕊均大于 2/1, 花药短小、白色, 呈三角形, 完全不育, 无花粉。各浓度处理的套袋自交结果也表明, 所有套袋花蕾结籽粒为 0, 2 个抗性不育材料表现一致。

3 结果与讨论

草甘膦是 1974 年美国孟山都(Monsanto)公司登记的有机磷除草剂, 是一种非选择性的广谱、高效除草剂, 它的作用机理是特异性地抑制植物和细菌中莽草酸羟基乙烯转移酶(EPSPS)的活性, 当草甘膦与该酶结合时, 阻断了芳香族氨基酸(苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸)的生物合成, 从而导致植物死亡^[3~7]。向文胜^[8]认为, 将 EPSP 合成酶基因导入油菜、玉米等植物时, 虽获得表达, 产量却减少。TA6, TA7 是获得稳定遗传的不育系, 根据浦惠明等的研究, 油菜田用 1 200~1 500 mg/kg 就达到较好的除草效果^[9], 而该浓度对抗草甘膦油菜 TA6, TA7 是高度安全的。本研究结果表明, 抗草甘膦不育系 TA6 和 TA7 在 1 000~2 000 mg/kg 草甘膦浓度下, 油菜苗生长受到抑制, 主要表现为叶片变小, 叶色加深, 株高矮化, 对叶片生长的抑制作用明显大于对茎的生长的抑制作用, 且与地上部氮营养吸收的变化相一

致, 这是由草甘膦的杀草机理所决定的。在生产上, 抗性油菜使用草甘膦应尽可能避免将除草剂喷施到叶片上, 以减少除草剂对油菜苗生长的影响。

抗草甘膦性油菜使用草甘膦除草剂后, 对油菜苗生长的抑制作用与使用生长调节剂多效唑的作用类似, 表现为株高矮化, 叶色加深, 叶片变厚, 且有利于根部的干物质积累, 这对油菜抗寒越冬和春后返青生长十分有利。田间观察表明, 使用草甘膦除草剂的小区油菜苗的抗寒性明显好于对照, 春后返青也较早, 这除了上述原因外, 可能还与使用草甘膦除草剂的小区无杂草为害、肥料供应相对充足有关。

参考文献:

- [1] 任不凡. 草甘膦及其研究进展[J]. 农药, 1998, 37(7): 1—3.
- [2] 陈虎保, 朱惠香. 广谱高效低毒除草剂与抗除草剂作物新品种[A]. 植物细胞工程与育种[M]. 北京: 北京工业出版社, 1990: 403—406.
- [3] Jaworski E G. Mode of action of N-phosphono-Methylglycine: inhibition of aromatic amino acid biosynthesis[J]. J Agric Food Chem, 1972, (20): 1195—1198.
- [4] Roisch U, Lingens F. Einfluss von N-(phosphono-methyl)-glycin auf das Wachstum und auf die Enzyme der Aromaten-biosynthese von *Escherichia coli*. Hoppe-Seyler's Z[J]. Physiol Chem, 1980, (361): 1049—1058.
- [5] Gresshoff P M. A *rabidopsis thaliana* inhibition by glyphosate[J]. Aust J plant physiol 1979, (6): 177—185.
- [6] Amrhein N, Schab J, Steinrücken H C. The mode of action of the herbicide glyphosate[J]. Naturwissenschaften, 1980, (67): 356—357.
- [7] Steinrücken H C, Amrhein N. The herbicide glyphosate is a potent inhibitor of 5-enolpyruvylshikimic acid-3-phosphate synthase. Biochem[J]. Biophys Res Commun, 1980, (94): 1207—1212.
- [8] 向文胜. 抗除草剂草甘膦转基因作物[J]. 东北农业大学学报, 1998, 29(1): 92—98.
- [9] 浦惠明, 高建芹. 草甘膦在抗除草剂油菜田的应用初报[J]. 杂草科学, 2002, (2): 16—17.