

NaCl 浸种对转 Bt 基因玉米与受体品种 萌发及幼苗生长形态的影响

陈小文 祁 鑫 王海永 郭玉海 董学会

(中国农业大学 农学与生物技术学院 北京 100193)

摘要: 控制条件下用不同浓度 NaCl 溶液浸种研究转 Bt 抗虫基因玉米与其亲本种子萌发与幼苗生长状态, 结果表明相同处理下, 转 Bt 基因玉米的生长势优于受体亲本郑 58, 二者在发芽率上差异不显著。50、100 mmol/L NaCl 对玉米的发芽、幼苗生长具有一定的促进作用, 400 mmol/L NaCl 降低玉米种子的活力, 降低发芽率, 抑制了幼苗的生长。外源 Bt 基因的导入对玉米耐盐性没有明显影响。

关键词: 发芽率; 盐胁迫; 耐盐性; 转 Bt 基因玉米; 株高; 根长

中图分类号: S513 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2011) 增刊-0117-04

Effects of NaCl Pretreatment on Seed Germination and Physiological Ecology Characteristics of Transgenic Corn with Bt Gene and Its' Recipient Parent

CHEN Xiao-wen, QI Xin, WANG Hai-yong, GUO Yu-hai, DONG Xue-hui

(College of Agricultural and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: We studied the influence on seed germination and seedling growth of transgenic corn with Bt gene and its receptor Zheng 58 by seeds soaked with different concentrations of NaCl solution and the results showed that under the same treatment, seedling physiological ecology of transgenic corn with Bt gene seemed superior to their recipient parents Zheng 58, but there was no significant differences in the germination rate. When treated with 50 mmol/L or 100 mmol/L NaCl, maize germination and seedling growth showed a certain role in promoting, while the vigor of maize seeds and germination rate reduced under treatment of 400 mmol/L NaCl, the growth of seedlings was also inhibited. Introduction of exogenous gene Bt of maize had no significant effect on the Salt tolerance.

Key words: Germination; Salinity stress; Salt tolerance; Bt corn; Seedling height; Root length

玉米螟是具有巨大危害潜力的世界性害虫, 我国每年因其造成的玉米产量损失达到玉米总产的 5% 左右。随着转基因技术的发展, 国内外学者在抗虫转基因玉米方面的研究开发已取得显著进展, 并在抗虫方面取得成效^[1-3], 但转基因品种的推广也存在很大的争议问题, 例如生存能力竞争、对靶标生物和非靶标生物的影响及对土壤环境的影响等^[4-8]。目前国内外对转抗虫基因玉米的生存力竞争性评价一般局限于转基因玉米与杂草及当地主推品种之间的竞争, 而忽略了逆境条件下的生存能力竞争。

土壤盐渍化是农业生产主要问题之一。世界上

受盐害影响的土地超过 8 亿 hm^2 , 超过世界总地面积的 6%, 现有的 2.3 亿 hm^2 灌溉田中有 4.5 千万 hm^2 (约 20%) 受盐影响^[9]。当土壤饱和溶液的导电率达到或超过 4 dS/m 则认为土壤盐化, 这将导致很多作物严重减产^[10], 已有研究报道, 转 Bt 基因抗虫棉耐盐性较差^[11, 12], 转 Bt 基因玉米在盐胁迫下生存力竞争性如何还少有研究。因此, 本研究在控制条件下用不同浓度 NaCl 溶液处理转 Bt 基因玉米及其受体亲本种子, 通过测定两种玉米种子在萌发过程中发芽势、发芽率及株高、根长等指标, 比较了两种玉米的耐盐性差异, 以期转抗虫基因玉米逆境生存力竞争方面提供参考依据。

收稿日期: 2011-02-20

基金项目: 本研究由新品种培育重大专项(2010ZX08011)

作者简介: 陈小文(1983-), 女, 江苏连云港人, 在读博士, 主要从事作物生理学研究。

通讯作者: 董学会(1965-), 男, 吉林人, 副教授, 博士, 主要从事植物生长发育的化学调控和种子生物学等方面研究。

1 材料和方法

1.1 供试材料

转 Bt 基因玉米及其亲本受体(遗传背景相关亲本郑 58 自交系)均由国家玉米改良中心提供。转 Bt 基因玉米及其受体种子百粒重分别为 32.06 g 和 31.77 g。

1.2 材料处理

选饱满、大小基本一致的玉米种子用 1% 的 NaClO 消毒 15 min,蒸馏水漂洗 3~5 遍。将漂洗完的种子分别浸泡在装有蒸馏水(空白对照)和不同浓度 NaCl(50,100,200,400 mmol/L)的溶液中,浸种 24 h 后进行卷纸萌发试验,3 次重复。在 25℃ 的发芽箱中 12 h/12 h 光暗交替培养,光照强度 $\geq 56.6 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。每天检查纸床湿度,及时补充水分以防纸床干燥。培养第 4 天开始统计发芽情况,此后每天计数一次直至发芽结束(7 d)。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 发芽势及发芽率的测定 发芽处理 4 d 后调查发芽势,处理 7 d 后调查发芽率,正常幼苗、不正常幼苗及死种子数量。发芽势、发芽率指标的计算参考高荣歧等^[13]方法。

种子活力指标计算如下:

发芽率(%) = 发芽的种子数 \times 100 / 供试种子数

发芽势(%) = 规定时间内发芽的种子数 \times

100 / 供试种子数

发芽指数(GI) = $\sum (G_t/D_t)$

式中 G_t 为每天发芽数; D_t 为与 G_t 对应的天数

1.3.2 观察幼苗的生长形态并测量苗高、根长(种子根)。

1.4 数据分析

用 Microsoft Excel 和 SPSS17.0 处理系统分析数据。

2 结果与分析

2.1 盐分胁迫对转 Bt 基因抗虫玉米及其亲本种子发芽的影响

不同浓度 NaCl 浸种对玉米种子发芽势、发芽率的影响见表 1。蒸馏水浸种条件下,转基因玉米与受体郑 58 的发芽势分别为 86.7% 和 88.9%,低盐浓度处理能提高两个品种玉米的发芽势,50 mmol/L NaCl 浸种后两个品种的发芽势分别达到 93.3% 和 91.1%,是对照发芽势的 1.08 倍和 1.02 倍,尤其郑 58 在 100 mmol/L NaCl 浸种后发芽势达到 95.6%,比对照高出 6.5%。当 NaCl 浓度超过 100 mmol/L 时,种子的发芽势均较对照有所降低,当 NaCl 浓度达到 400 mmol/L 时,转基因玉米与受体郑 58 的发芽势均显著降低,分别为 77.8% 和 73.3%,较对照低 10% 以上。

表 1 不同浓度 NaCl 浸种对玉米种子活力的影响

Tab.1 Effects of different concentrations of NaCl on seed vigor of maize

品种 Varieties	NaCl 处理/(mmol/L) NaCl concentration	发芽势/% Germinative energy	发芽率/% Germinative rate	发芽指数 Germinative index
亲本郑 58 Zheng58	0	88.9 \pm 3.8	93.3 \pm 6.7	3.43 \pm 0.16
	50	91.1 \pm 7.7	97.8 \pm 3.8	3.62 \pm 0.15
	100	95.6 \pm 3.8	97.8 \pm 3.8	3.64 \pm 0.13
	200	86.7 \pm 13.3	95.5 \pm 7.7	3.50 \pm 0.31
	400	77.8 \pm 13.9	84.4 \pm 15.4	3.08 \pm 0.52
转 Bt 基因玉米 Bt corn	0	86.7 \pm 0.0	91.1 \pm 3.8	3.38 \pm 0.12
	50	93.3 \pm 6.7	97.8 \pm 3.8	3.62 \pm 0.18
	100	86.7 \pm 6.7	100 \pm 0	3.62 \pm 0.07
	200	84.4 \pm 10.2	91.1 \pm 10.2	3.44 \pm 0.23
	400	73.3 \pm 6.7	84.4 \pm 7.7	3.07 \pm 0.26

不同处理对种子发芽率的影响与发芽势的表现基本一致,表现为 50,100 mmol/L NaCl 浸种后两个品种的发芽率高于对照。各处理的发芽在第 6 天基本完成,最终发芽率两个品种没有明显差距,分别是 50,100 mmol/L NaCl 浸种后发芽率均为 97.8%,对照和 200 mmol/L NaCl 浸种后转基因的发芽率均为 91.1%,郑 58 的发芽率为 93.3%。略高于转基因品种,但 400 mmol/L NaCl 浸种后转基因玉米的发芽

率较郑 58 高出 4.4%。

2.2 盐分胁迫对转 Bt 基因抗虫玉米及其亲本形态的影响

从图 1 可以看出,同一处理条件下转基因玉米幼苗的长势优于亲本受体郑 58。对照与低浓度 NaCl(50,100 mmol/L)浸种后的种子在发芽结束后幼苗均长到一叶一心苗,随浸种浓度的增加,幼苗生长从形态上表现出受抑制,尤其 400 mmol/L NaCl

处理的幼苗在发芽结束后一叶还未展开,说明高浓度 NaCl 浸种抑制了幼苗的生长。不同浓度处理对幼苗根系的生长在形态上没有明显差别。

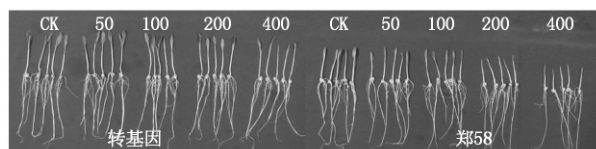


图1 盐分处理对抗虫玉米及其亲本形态发育的影响

Fig.1 Effect of different concentrations of NaCl on seedling morphology of transgenic maize and its' recipient parent

2.3 盐分胁迫对转 Bt 基因抗虫玉米及其亲本株高和根长的影响

图2的结果显示相同的处理条件下,转基因品种的株高都显著高于对应的亲本,不同盐处理后,转基因玉米与其受体郑58株高变化表现一致,均为低浓度 NaCl (50, 100 mmol/L) 浸种促进植株生长,高浓度抑制。50 mmol/L NaCl 浸种后的转基因幼苗及受体幼苗株高分别为 10.69 cm 和 6.44 cm,高于相应对照株高(转基因 9.97 cm,郑58 5.95 cm)。400 mmol/L NaCl 浸种后的转基因幼苗株高明显受到抑制,仅为 7.57 cm,与相应的对照相比少 24 个百分点,而此浓度浸种对受体郑58的幼苗株高影响并不显著,仅比对照株高小 0.81 cm。

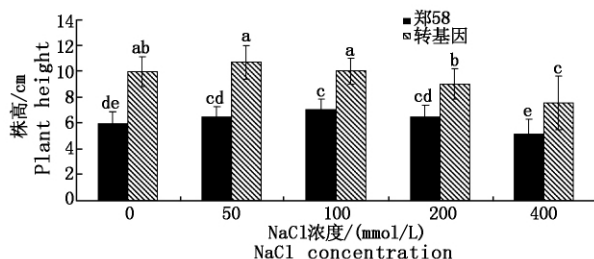


图2 不同 NaCl 处理对转基因玉米及其受体品种株高的影响

Fig.2 Effect on maize height of transgenic maize and its' recipient parent by different treatments of NaCl

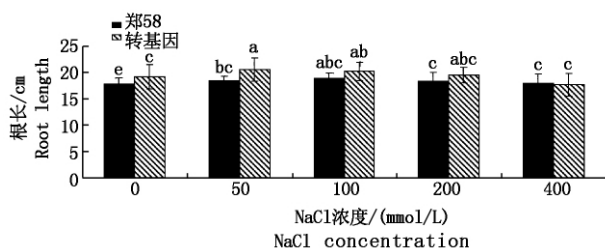


图3 不同盐浓度对玉米根长的影响

Fig.3 Effect of different treatments of NaCl on maize root length of transgenic maize and its' recipient parent

从图3可以看出,转基因品种的根长高于受体亲本根系长度,根系的生长差异与株高的差异表现一致,低浓度促进根系伸长,高浓度抑制,其中 50 mmol/L NaCl 浸种明显增加了转基因幼苗的根长,

根长达到 20.56 cm。随处理盐浓度的增加,两种玉米的根系长度差距缩小,400 mmol/L NaCl 浸种后的转基因幼苗根长(17.68 cm)甚至略低于相应对照根长(17.88 cm)。

3 讨论

盐胁迫通过影响种子的吸水膨胀,改变植物细胞中水与离子的热力学平衡导致高渗胁迫和离子毒害,从而降低种子的发芽率、限制植物生长,盐浓度越大,毒害作用越强^[14-16]。作物种子萌发时期的耐盐性研究在常规品种红小豆、燕麦、大豆、玉米等已有相关报道^[17-20],盐胁迫影响幼苗的生长,且浓度与种子发芽率呈一定负相关。本研究表明不同的盐浓度对玉米种子的处理效应不同,低浓度(50, 100 mmol/L) NaCl 浸种促进玉米的发芽及幼苗生长,与梁云媚等^[21]研究结果相同,当 NaCl 浓度继续增加时发芽率、发芽势及幼苗的生长受到抑制。

外源基因随机导入植物基因组中,对转基因植株的性状和遗传稳定性有一定的影响^[22],外源 Bt 基因的导入使得转基因作物在抗虫方面有较好的效果,但赵俊兴等^[23]发现与非抗虫棉相比,转基因抗虫棉黄萎病和红叶茎枯病明显加重,同时转 Bt 基因抗虫棉的耐盐性较差^[11, 12, 24, 25],尽管后来李伟强等^[26]的研究指出部分转 Bt 基因抗虫棉的抗盐性高于其亲本,但对转抗虫基因作物在逆境下的生存竞争能力还需做进一步研究。本研究结果表明,转 Bt 基因玉米在发芽率及幼苗长势上略优于其亲本,但在对盐胁迫的响应上与其亲本表现基本一致,除 400 mmol/L NaCl 浸种使得幼苗的株高和根长与对照形成显著差异外,其他各处理浓度对种子的发芽势、发芽率及幼苗生长均无显著影响。因此,外源基因的导入并没有影响种子的耐盐性,转 Bt 基因玉米在盐胁迫下的生存竞争能力并没有因为外源 Bt 基因的导入而有所降低。

参考文献:

- [1] Koziel M G, Beland G L, Bowman C. Field performance of elite transgenic maize plant expressing an insecticidal protein derived from *Bacillus thuringiensis* [J]. *Bio Technology*, 1993, 11: 194-200.
- [2] Wu X, Rogers Leonard B, Zhu Y C et al. Susceptibility of CryIAb resistant and-susceptible sugarcane borer (*Lepidoptera: Crambidae*) to four *Bacillus thuringiensis* toxins [J]. *J Invertebr Pathol* 2009, 100(1): 29-34.
- [3] 张红伟, 张红梅, 郑祖平, 等. Bt 转基因玉米的获得及其对玉米螟的抗性分析 [J]. *西北植物学报*, 2004, 24

- (7): 1266–1270.
- [4] David Q ,Chapela I H. Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca ,Mexico [J]. Nature 2001 414: 541–543.
- [5] 王国英. 转基因植物的安全性评价[J]. 农业生物技术学报 2001 9(3): 205–207.
- [6] Harwood J D ,Wallin W G ,Obrycki J J. Uptake of Bt endotoxins by nontarget herbivores and higher order arthropod predators: molecular evidence from a transgenic corn agroecosystem[J]. Mol Ecol 2005 14: 2815–2823.
- [7] 李文东, 叶恭银, 吴孔明, 等. 转抗虫基因棉花和玉米花粉对家蚕生长发育影响的评价[J]. 中国农业科学, 2002 35(11): 1543–1549.
- [8] Kuroda Y ,Sato Y I ,Bounphanousay C ,et al. Gene flow from cultivated rice(*Oryza sativa* L.) to wild *Oryza* species(*O. rufipogon* Griff. and *O. nivara* Sharma and Shastry) on the Vientiane plain of Laos [J]. Euphytica 2005 , 142: 75–83.
- [9] FAO. 2008. FAO Land and Plant Nutrition Management Service. <http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush>.
- [10] Rana Munns ,Mark Tester. Mechanisms of Salinity Tolerance[J]. Annu Rev Plant Biol 2008. 59: 651–681.
- [11] 李维江, 董合忠, 郭庆正, 等. 陆地棉优势杂种及其亲本对 PEG 和 NaCl 胁迫的生理反应[J]. 中国棉花, 1998 25(6): 7–8.
- [12] 李维江, 张冬梅, 唐 薇, 等. 转 Bt 基因抗虫棉和有色棉苗期耐盐性差异研究[J]. 棉花学报 2001 13(4): 234–237.
- [13] 高灿伦. 作物种子实验技术[M]. 河南: 河南科学技术出版社, 1990: 54–56.
- [14] 王淑芬, 王文成, 杜卫军, 等. 不同浓度盐胁迫对转基因饲用甜菜种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 华北农学报 2007 22(增刊): 25–28.
- [15] Boyer J S. Plant productivity and environment [J]. Science 1982 218: 443–448.
- [16] 苏 实, 练薇薇, 杨文杰, 等. 盐胁迫对番茄种子萌发和幼苗生长的效应 [J]. 华北农学报 2006 21(5): 24–27.
- [17] 于军香. 盐胁迫对红小豆萌发与生理生化特性的影响[J]. 作物杂志 2010 4: 47–48.
- [18] 李建设, 沈国伟, 任长忠, 等. 燕麦种子萌发对不同盐胁迫的反应[J]. 麦类作物学报 2009 29(6): 1043–1047.
- [19] 商 蕾, 张 洁, 张孟臣, 等. NaCl 胁迫下不同大豆品种形态学变化的研究[J]. 华北农学报 2010 25(4): 141–144.
- [20] 王丽燕, 赵可夫. 玉米幼苗对盐胁迫的生理响应[J]. 作物学报 2005 31(2): 264–266.
- [21] 梁云媚, 李 燕. 不同盐分胁迫对苜蓿种子萌发的影响 [J]. 草业科学 1998 15(6): 21–25.
- [22] 王关林, 方宏筠. 植物基因工程(第2版) [M]. 北京: 科学出版社 2002: 638–661.
- [23] 赵俊兴, 李茂辉, 陈耀峰, 等. 转基因抗虫棉农艺性状及抗病性研究[J]. 西北农业学报 2010 19(1): 96–99.
- [24] 林 君, 孙玉强, 吕有军, 等. 种子盐引发对转基因抗虫棉耐盐性的影星[J]. 棉花学报 2006. 18(6): 338–341.
- [25] 蒋玉蓉, 孙玉强, 童旭宏, 等. 种子沙引发对转基因抗虫棉耐盐性的影响[J]. 棉花学报 2008 20(3): 212–216.
- [26] 李伟强, 杨艳敏, 李存桢, 等. 盐分胁迫对转基因抗虫棉及亲本生长发育的影响[J]. 中国生态农业学报, 2007 15(5): 108–111.