

## 盐分胁迫对转基因抗虫棉及亲本生长发育的影响\*

李伟强 杨艳敏 李存桢 毛任钊 刘小京\*\*

(中国科学院遗传与发育生物学研究所农业资源研究中心 石家庄 050021)

**摘要** 盆栽试验研究了不同盐分水平下转基因抗虫棉及其亲本的耐盐性。结果表明,随盐分的提高,转基因抗虫棉及其亲本表现出类似规律,叶片水势及叶绿素含量降低,光合作用在一定范围内有所升高而后下降,植株高度与干物质积累有不同程度下降等。相同盐分水平下“石远 321”双价抗虫棉(简称“双抗 321”)及亲本普通“石远 321”(简称“普 321”)、“国抗 1 号”和亲本“泗棉 3 号”的表现均为转基因抗虫棉比其亲本有较低的叶片水势,较高的叶片叶绿素含量、植株高度、干物质积累及光合速率等,而对于“中棉 30”(抗虫棉)及其亲本“中棉 16”则表现相反。

**关键词** 盐分 Bt 抗虫棉 亲本 生长发育

**Effect of salt stress on growth and development of Bt transgenic cotton mutants and their parent cultivars.** LI Wei-Qiang, YANG Yan-Min, LI Cun-Zhen, MAO Ren-Zhao, LIU Xiao-Jing (Center for Agricultural Resources Research, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Shijiazhuang 050021, China), *CJEA*, 2007,15(5):108~111

**Abstract** The growth and development of Bt transgenic cottons and their parent cultivars in different levels of salinity were studied in sand-culture. Results show that with increase in salt stress, leaf water potential, chlorophyll content, plant height, and dry matter accumulation of both Bt transgenic cottons and their parent cultivars decrease. Photosynthesis initially increases, but then decreases with increase in salt stress. Under constant salinity stress Bt transgenic cotton, “Bt 321” and “Guokang 1”, responds stronger to salt stress than their parent cultivars, “Shiyuan 321” and “Simian 3”, as evident in leaf water potential, chlorophyll content, plant height, dry matter accumulation, and the like. However, in comparison with “CCRI30” and “CCRI16”, Bt transgenic cotton shows low tolerance to salinity.

**Key words** Salt stress, Bt transgenic cotton mutant, Parent cultivar, Growth and development

(Received Oct.19,2005; revised Jan.28,2006)

近年来随着棉铃虫发生的日益严重,抗虫棉种植得到普及<sup>[1,2]</sup>,关于抗虫棉抗虫性、抗病性、产量构成、品质等方面的研究比较多<sup>[3~6]</sup>。但由于目前获得的转基因抗虫棉大多为转 Bt 基因,且均多为单一基因,获得的外源 Bt 基因仅为少数几个品种,其种质基础十分单薄,若大面积推广使用,一旦形成逆境就会造成毁灭性的损失<sup>[6]</sup>。我国有超过 15% 的棉区分布在盐碱地上<sup>[7,8]</sup>,研究抗虫棉的耐盐性有十分重要的实践意义。另一方面,由于外源基因的插入具有一定的随意性<sup>[9]</sup>,必将打破棉花本身内部固有的基因连锁群,对其各性状产生各种各样的影响<sup>[6]</sup>。故研究 Bt 基因的导入是否对棉花的耐盐性有修饰作用对保证抗虫棉在盐碱地区的发展具有重要意义。

棉花是比较耐盐的作物之一<sup>[10]</sup>,转 Bt 基因抗虫棉耐盐性较差<sup>[11,12]</sup>。但由于试验采用的对照是普通棉而不是这种抗虫棉的亲本,故试验结果需进一步探讨。本文试图通过对几对抗虫棉及其亲本的耐盐性比较,探讨外源 Bt 基因的导入对棉花耐盐性的影响,以更好地利用抗虫棉。

### 1 试验材料与方法

供试棉花品种为“石远 321”双价抗虫棉及其亲本普通“石远 321”(由石家庄市农业科学院提供)、“国抗 1 号”及其亲本“泗棉 3 号”(由中国农业科学院棉花研究所提供)、“中棉 30”(抗虫棉)及其亲本“中棉 16”、“33B”和“99B”。

播种前催芽,选取发芽一致的种子播于盆内(内装洗净的河砂),播种深度 3cm,每盆播种 15 粒,定苗 10

\* 中国科学院“十五”农业项目(NK 十五-A-03)、国家重点基础研究发展计划(973)项目(2005CB121106)资助

\*\* 通讯作者

收稿日期:2005-10-19 改回日期:2006-01-28

株。播种后每天浇灌 1/2 浓度的 Hoaland 营养液。出苗后 40d 开始 NaCl 处理,设 CK(对照,不加 NaCl 的 Hoagland 营养液)、0.4%(加 0.4% NaCl 的 Hoagland 营养液)、0.6%(加 0.6% NaCl 的 Hoagland 营养液)3 个处理,重复 3 次。NaCl 溶液用 1/2 浓度的 Hoaland 营养液配制,每天递增 15mmol/L 至终浓度,每处理同一天到最终浓度。沙基培养器为直径 25cm、高 30cm 的塑料桶,装 24kg 洗净的干砂子,每天浇 1L 相应浓度的 1/2 浓度的 Hoaland 溶液,约 400mL 溶液从底部流出,从而将存留于砂子中的绝大部分 NaCl 带出,以保持砂中相对恒定的 NaCl 浓度。植株高大、气温较高、光照充足时每天 8:00 和 18:00 浇 2 次以保持砂中相对恒定的 NaCl 浓度。

NaCl 处理至终浓度后 30d,把砂子连同根一同小心浸入盛有自来水的盆中,迅速冲洗掉根表面砂子并用蒸馏水将叶及根表面冲洗 3 次,用吸水纸吸干,分别把根、茎、叶分开,测定株高、叶片数、各器官干鲜重。光合作用强度(美国 LI-COR 公司,LI-6400 光合作用测定系统)和叶绿素(日本 Minolta 公司,SPAD-502 Chlorophyll Meter)在收获前测定。数据分析采用 Excell 2000。

## 2 结果与分析

### 2.1 盐分胁迫对抗虫棉及其亲本生长的影响

由表 1 可知,随盐浓度的提高,抗虫棉及其亲本的株高、株高增长量均有不同程度下降,但不同品种间存在差异。抗虫棉及其亲本在耐盐性方面表现不同,“国抗 1 号”和“双抗 321”均比其亲本有较高的生长量,但“中棉 30”却表现不同,其生长量低于其亲本“中棉 16”。抗虫棉“33B”和“99B”生长量仅高于“中棉 30”。此外,0.6% 水平盐分胁迫下,从株高上看,除“普 321”外,其他品种均受到盐分胁迫的影响。盐分胁迫对抗虫棉及其亲本落叶数量的影响与株高相似(表 2)。

表 1 盐分胁迫对棉花株高、株高增长量及干物质积累的影响

Tab.1 The effects of salt stress on the height, increased height and dry matter of cottons

| 项 目<br>Item | 处 理<br>Treatment | 品 种 Cultivar        |                    |                          |                 |                 |                 |            |            |
|-------------|------------------|---------------------|--------------------|--------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------|------------|
|             |                  | 国抗 1 号<br>Guokang 1 | 泗棉 3 号<br>Simian 3 | 双抗 321<br>Shuangkang 321 | 普 321<br>Pu 321 | 中棉 16<br>CCRI16 | 中棉 30<br>CCRI30 | 33B<br>33B | 99B<br>99B |
| 株高/cm       | CK               | 19.44±1.3           | 19.78±1.5          | 22.39±1.8                | 20.00±3.9       | 23.33±1.8       | 17.00±0.9       | 19.17±1.8  | 21.00±1.2  |
|             | 0.40%            | 17.61±2.0           | 15.67±1.3          | 20.67±1.7                | 16.67±1.4       | 19.83±2.2       | 15.44±1.3       | 16.28±1.5  | 18.11±3.8  |
|             | 0.60%            | 17.56±1.3           | 14.00±1.0          | 18.44±1.0                | 18.28±2.4       | 15.72±1.8       | 13.22±0.7       | 13.78±0.9  | 14.28±1.1  |
| 株高增长/cm     | CK               | 12.1±1.1            | 10.9±1.4           | 11.8±1.4                 | 9.8±1.9         | 15.0±1.0        | 9.3±0.9         | 11.4±0.6   | 12.0±0.7   |
|             | 0.40%            | 9.3±1.1             | 7.4±1.1            | 12.2±1.3                 | 10.4±0.9        | 12.3±1.1        | 8.7±0.9         | 8.4±1.0    | 10.8±1.3   |
|             | 0.60%            | 9.2±1.3             | 7.5±1.8            | 8.5±1.5                  | 9.3±1.2         | 8.9±0.9         | 6.9±0.8         | 6.9±0.6    | 7.4±1.0    |
| 叶片/g        | CK               | 9.80±0.87           | 7.37±1.45          | 10.11±1.1                | 5.83±0.14       | 11.00±1.0       | 6.66±0.64       | 9.64±0.00  | 8.36±0.54  |
|             | 0.40%            | 10.02±1.4           | 8.14±0.42          | 5.94±1.07                | 3.49±0.51       | 8.53±0.05       | 6.21±0.69       | 6.03±0.26  | 8.77±0.64  |
|             | 0.60%            | 9.78±1.30           | 8.14±0.20          | 4.36±0.23                | 3.20±0.01       | 7.59±1.69       | 3.89±0.25       | 3.09±1.01  | 4.05±0.44  |
| 茎/g         | CK               | 9.71±0.84           | 9.94±2.77          | 6.00±1.84                | 4.90±1.77       | 17.00±1.1       | 9.99±1.24       | 11.95±0.9  | 9.79±0.09  |
|             | 0.40%            | 9.94±1.27           | 8.71±0.09          | 5.21±1.23                | 3.68±0.33       | 9.68±0.00       | 5.89±0.84       | 5.61±0.12  | 9.33±2.08  |
|             | 0.60%            | 9.44±1.61           | 9.04±1.20          | 5.62±0.68                | 3.84±0.54       | 7.18±0.05       | 5.20±0.52       | 3.76±0.87  | 5.23±1.20  |
| 根/g         | CK               | 16.57±1.3           | 12.87±3.3          | 13.8±0.78                | 7.61±0.15       | 15.43±3.3       | 9.82±0.27       | 12.50±0.08 | 13.9±2.64  |
|             | 0.40%            | 8.24±0.40           | 9.04±0.16          | 3.09±0.66                | 3.46±0.12       | 6.21±0.25       | 3.57±0.19       | 3.96±0.59  | 7.22±0.31  |
|             | 0.60%            | 5.25±1.38           | 5.55±0.05          | 2.52±1.54                | 3.21±0.11       | 4.74±0.33       | 3.50±0.44       | 4.16±0.91  | 5.24±0.61  |
| 冠/根         | CK               | 1.18                | 1.34               | 1.17                     | 1.41            | 1.81            | 1.70            | 1.73       | 1.30       |
|             | 0.40%            | 2.42                | 1.86               | 3.61                     | 2.07            | 2.93            | 3.39            | 2.94       | 2.51       |
|             | 0.60%            | 3.66                | 3.10               | 3.95                     | 2.19            | 3.12            | 2.60            | 1.65       | 1.77       |

表 2 盐分胁迫对棉花落叶数目的影响\*

Tab.2 The effects of salt stress on number of defoliation of cotton

| 处 理<br>Treatment | 国抗 1 号<br>Guokang 1 | 泗棉 3 号<br>Simian 3 | 双抗 321<br>Shuangkang 321 | 普 321<br>Pu 321 | 中棉 16<br>CCRI16 | 中棉 30<br>CCRI30 | 33B<br>33B | 99B<br>99B |
|------------------|---------------------|--------------------|--------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------|------------|
| CK               | 1.44a               | 1.67a              | 0.56a                    | 3.85a           | 1.78a           | 1.67a           | 1.22a      | 0.78a      |
| 0.40%            | 3.33b               | 2.89b              | 1.44a                    | 2.11a           | 3.44b           | 3.89ab          | 2.22b      | 1.89a      |
| 0.60%            | 4.44bc              | 3.78ab             | 3.33b                    | 3.22a           | 3.78b           | 5.89b           | 4.33c      | 3.56b      |

\* 同列数据后不同小写字母表示差异达 5% 水平,相同字母表示差异不显著。

2.2 盐分胁迫对抗虫棉及其亲本干物质积累的影响

盐分胁迫对棉花生长的最终影响反映在干物质积累上。由表 1 可知,随盐分浓度的升高,棉花根、茎、叶干物质积累大体表现出相同趋势,即随盐分浓度的升高,干物质积累量减少。但不同抗虫棉及其亲本表现有所不同,“中棉 16”的干物质积累量明显高于“中棉 30”,而“国抗 1 号”和“双抗 321”的生物量均高于其亲本生物量<sup>[13,14]</sup>。但盐分对棉花不同器官生物量的影响不同,以“33B”和“99B”为例,对“33B”而言 0.6% 盐分胁迫下,根、茎、叶生物量均比对照减少 2/3 左右;而对“99B”而言 0.6% 盐分胁迫下,根、茎、叶生物量比对照分别减少 62%、47% 和 52%。

实际上,盐分对地上部分干重的影响远远小于对根系干重的影响,由表 1 可知,一定范围内棉花冠/根比随盐分浓度的升高而升高,说明盐分对棉花的伤害首先体现在对根的伤害上。但“中棉 30”、“33B”和“99B”等品种,随盐分的进一步升高,冠/根比值下降。

2.3 盐分胁迫对抗虫棉及其亲本棉叶几种生理指标的影响

盐分胁迫对棉叶叶绿素有明显影响。随盐分浓度的升高,棉叶叶绿素含量明显降低(图 1)。从整体来看,抗虫棉亲本叶绿素含量普遍高于抗虫棉。光合作用测定结果也有类似规律,但光合作用的最大值出现在盐分含量在 0.4% 处理水平上(图 2),而并非对照。叶水势的测定结果表明,随盐分浓度的升高,各品种叶水势普遍下降(图 3),表明叶片含水量随盐分浓度的升高而升高,这与前人的研究结果类似<sup>[8]</sup>。

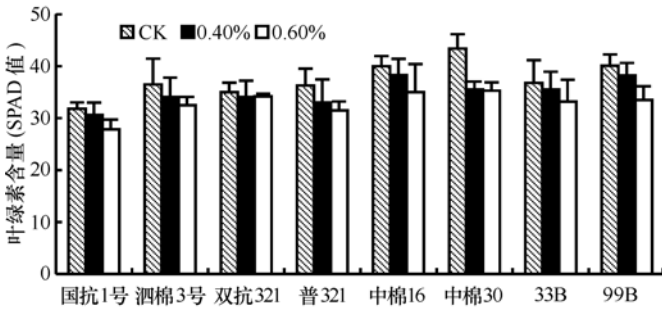


图 1 盐分胁迫对棉花叶片叶绿素含量的影响

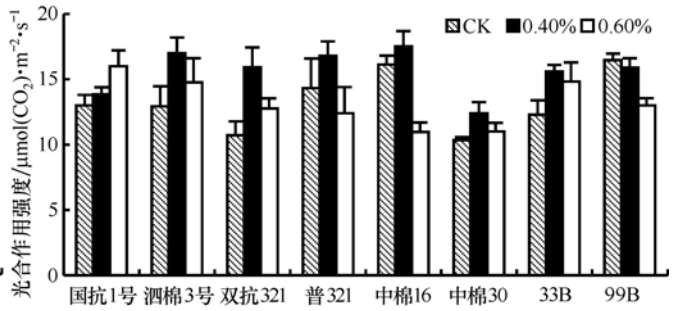


图 2 盐分胁迫对棉花叶片光合作用强度的影响

Fig.1 Effect of salt stress on the chlorophyll content of cotton leaf

Fig.2 Effect of salt stress on the photosynthesis of cotton leaf

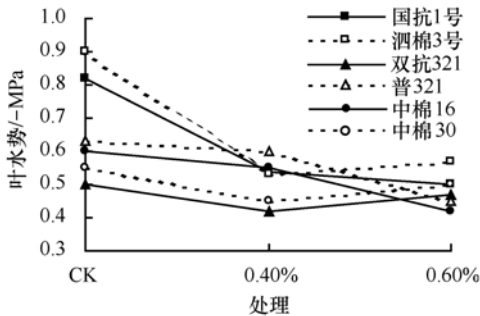


图 3 盐分胁迫对棉花叶水势的影响

Fig.3 Effect of salt stress on the leaf water potential of cottons

有学者认为,盐分胁迫下棉花蒸腾下降,组织内充水性提高,其原因是细胞的吸取力和渗透压加大,使叶片内难以代换的水增多<sup>[15]</sup>。从抗虫棉及其亲本对比结果看,盐分胁迫下“国抗 1 号”/“泗棉 3 号”叶片叶水势变化较大,而其他品种的棉花叶水势在盐分胁迫下变化不大,且抗虫棉与亲本在叶水势方面的差异不明显。

2.4 盐分胁迫对抗虫棉及其亲本生殖生长的影响

从单株棉花蕾量的调查结果看(表 3),对于“33B”和“99B”而言,0.4% 盐分胁迫后其单株棉花蕾量高于对照和 0.6% 盐分处理,而对于“国抗 1 号”、“泗棉 3 号”、“双抗 321”、“普 321”等而言,随盐分浓度的升高,其单株棉花蕾量均有所提高。“中棉 16”的单株棉花蕾量则相反,随盐分浓度的升高,其单株棉花蕾量下降。

表 3 盐分胁迫对棉花蕾数的影响

Tab.3 The effects of salt stress on number of cotton buds

| 处 理<br>Treatment | 品 种 Cultivar        |                    |                          |                 |                 |                 |      |      |
|------------------|---------------------|--------------------|--------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------|------|
|                  | 国抗 1 号<br>Guokang 1 | 泗棉 3 号<br>Simian 3 | 双抗 321<br>Shuangkang 321 | 普 321<br>Pu 321 | 中棉 16<br>CCR116 | 中棉 30<br>CCR130 | 33B  | 99B  |
| CK               | 0.33                | 0.11               | 0.11                     | 0.33            | 2.33            | 0.00            | 0.00 | 0.33 |
| 0.40%            | 0.33                | 0.11               | 0.23                     | 0.45            | 1.44            | 0.00            | 0.78 | 1.44 |
| 0.60%            | 1.00                | 0.33               | 0.44                     | 0.59            | 0.33            | 0.00            | 0.00 | 0.44 |

3 小结与讨论

田晓莉等<sup>[16]</sup>研究表明,转 Bt 基因抗虫棉“中棉 30”的光合叶面积及根系活力均低于“中棉 16”,源器官的功能较为低下。本试验同样说明了这个问题,即:“中棉 16”的光合作用强度、耐盐性、叶绿素含量、株高、干物质的积累等各项生长指标及生理指标均

优于“中棉 30”。对其他抗虫棉而言,其结果有所不同,“国抗 1 号”/“泗棉 3 号”、“双抗 321”/“普 321”两对抗虫棉及亲本,转 Bt 基因抗虫棉的抗盐性高于其亲本,主要表现在抗虫棉比其亲本有更高的生长发育优势,

如:株高、干物质积累、叶绿素含量、光合作用强度、生殖生长等方面。故 Bt 基因导入棉花体内后产生的修饰作用在不同品种棉花上的表现各不相同。可以推断,在不同品种棉花上,Bt 基因被导入的位置有所不同<sup>[9,17]</sup>,同时,由于 Bt 基因可稳定遗传<sup>[18,19]</sup>,Bt 抗虫基因与耐盐基因之间是否存在连锁或其他关系尚待进一步研究。转基因作物在生长进程中表现复杂,需对抗虫棉的生态安全性做进一步研究。

适度的盐分胁迫(0.4%盐分胁迫)一定程度上有利于光合作用<sup>[10,14]</sup>,可使某些品种的棉花提前现蕾,促进生殖生长,该研究结果与有些学者的研究结果类似<sup>[11~13]</sup>。同时,一定浓度的盐分胁迫(0.4%盐分胁迫)还有利于提高棉花叶片的光合作用强度,尽管在此浓度下,叶片叶绿素含量并不是很高,但这部分由盐分胁迫而导致的光合作用提高部分的能量可能用于了生殖生长,因为该处理下的生物量明显低于对照。Paster<sup>[20]</sup>、李维江等<sup>[13]</sup>的试验结果也表明,中度盐分胁迫促进了棉花的生殖生长,棉花下部果枝单株成铃明显提高,尽管棉花总干物质没有变化,由于经济系数的提高,棉花子棉产量提高了 18%。如能在实践中充分利用抗虫棉的这一特点,无疑是提高盐碱地区棉花产量的一个新的行之有效途径。

此外,有些研究表明,棉花受盐分胁迫后可使冠/根比值下降<sup>[21]</sup>,本研究结果却与前人结果不同,可能是对于不同棉花品种而言,由于其耐盐能力不同,对盐分的反应不同,如“33B”和“99B”对盐分的反应不同于其他棉花品种,这也进一步说明棉花盐分胁迫后的反应是比较复杂的。

### 参 考 文 献

- 1 涂松林,施爱民.我国转基因抗虫棉研究利用现状与展望.湖北农业科学,2001(4):31~33
- 2 张天真,唐灿明.转 Bt 基因抗虫棉品种的推广利用与棉铃虫抗性的治理.科学通报,2000,45(2):119~127
- 3 刘艳珍.转 Bt 基因抗虫棉的研究与应用.辽宁农业科学,1999(6):38~40
- 4 高丽洁,薛亚杰,杨正书,等.转 Bt 基因抗虫棉的研究进展.沈阳农业大学学报,2000,31(6):600~603
- 5 吴立强,王省芬,宋春鹏,等.转基因抗棉铃虫品种与常规棉花品种的比较研究.河北农业大学学报,1999,22(1):13~15
- 6 丰 嵘,张宝红,郭香墨.外源 Bt 基因对棉花产量性状及抗虫性的影响.棉花学报,1996,8(1):10~13
- 7 刘全义,张裕繁,严根土,等.我国棉花耐旱耐碱研究的现状与前景.干旱地区农业研究,1998,16(1):117~122
- 8 郭香墨.我国专用棉育种现状与发展.棉花学报,1995,7(2):65~69
- 9 肖松华,狄佳春,刘剑光,等.转基因抗虫棉 Bt 基因的遗传连锁分析.棉花学报,2002,14(3):134~137
- 10 孙小芳,刘友良,陈 沁.棉花耐盐性研究进展.棉花学报,1998,10(3):118~124
- 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.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.棉花学报,2001,13(4):234~237
- 13 李维江,董合忠,郭庆正,等.盐分胁迫对海陆杂交棉及亲本生长发育的影响.棉花学报,1997,9(6):324~328
- 14 周桃华.NaCl 胁迫对棉子萌发及幼苗生长的影响.中国棉花,1995,22(4):11~12
- 15 罗宾 B.A.棉花生理学.上海:上海科技出版社,1983.114~128
- 16 田晓莉,杨培珠,段留生,等.转 Bt 基因抗虫棉源库关系的初步研究.棉花学报,1999,11(3):151~156
- 17 李汝忠,沈法富,王宗文,等.转 Bt 基因抗虫棉抗虫性遗传研究.棉花学报,2001,13(5):268~272
- 18 左开井,张献龙,聂以春,等.转基因抗虫棉 Bt 基因插入区碱基组成分析.遗传学报,2002,29(8):735~740
- 19 唐灿明,孙 敬,朱协飞,等.我国现有的 3 类转 Bt 基因抗虫棉品系棉铃虫抗性的遗传分析.科学通报,1999,44(19):2064~2068
- 20 Paster D., Twersky M., De Mallach Y. Salt resistance in agricultural crops. Stress Physiology in Crop Plants. New York: John Wiley and Sons, 1979.127~142
- 21 Sacchi G.A., Abruzzese A., Lucchini G., et al. Efflux and active re-absorption of glucose in roots of cotton plants grown under saline conditions. Plant and Soil, 2000, 220(1/2):1~11