



DPC 与 DTA-6 复配对转基因抗虫棉苗期生长发育的调控

田晓莉, 谭伟明, 李召虎, 王保民, 何钟佩, 段留生*

(中国农业大学农学与生物技术学院作物化学控制研究中心, 北京 100094)

摘要: 无论浸种还是叶面喷施, 与单独使用 DPC 相比, DPC 与 DTA-6 复配在促进转基因抗虫棉幼苗根长和侧根原基增加的同时, 显著减弱了 DPC 对地上部生长的延缓作用, 中棉所 30 下胚轴长度较对照仅缩短 3% 左右, 中棉所 30、新棉 99B 和 sGK321 的苗期叶面积均相当于对照的 93%~94%, 这可能与复配调节剂处理后转基因抗虫棉幼苗各部位的 IAA 浓度较 DPC 单独处理明显提高有关。DPC 与 DTA-6 复配还可显著增加转基因抗虫棉苗期功能叶叶绿体的基粒类囊体垛叠程度, 提高光合作用。

关键词: DPC; DTA-6; 复配; 抗虫棉; 生长发育

中图分类号: S562.01 **文献标识码:** A

文章编号: 1002-7807(2006)01-0003-05

The Effects of Mixture of DPC and DTA-6 on Seedlings of Insect-resistant Transgenic Cotton

TIAN Xiao-li, TAN Wei-ming, LI Zhao-hu, WANG Bao-min, HE Zhong-pei, DUAN Liu-sheng*

(Center of Crop Chemical Control, College of Agriculture & Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: Most insect-resistant transgenic cotton developed slowly in North China Plain, which made it susceptible to plant growth retardant DPC. The objective of this research was to verify the effects of mixture of DPC and plant growth accelerant DTA-6 (diethyl aminoethyl hexanoate) on seedling development of insect-resistant transgenic cotton and to offer data for developing new plant growth regulator fitting to it. Compared with single application of DPC, the mixture of DPC and DTA-6 not only increased the root length and the number of lateral root primordia of insect-resistant transgenic cotton, but also significantly diminished the inhibition of up-ground part caused by DPC. For example, the hypocotyls length of CCRI 30 decreased about 3% only, and the leaf area of seedlings of CCRI 30, DP99B and sGK321 was all equivalent to 93%~94% of respective control. These results were attributed to the increase of IAA concentration. in top, cotyledon and hypocotyls of insect-resistant transgenic cotton. Furthermore, the mixture of DPC and DTA-6 increased the number of granamellae in chloroplast and enhanced the photosynthetic rate of functional leaf of insect-resistant transgenic cotton. Obviously, the mixture of DPC and DTA-6 retained the function of enhancing root development of DPC, which was in favor of adversity-resistance and preventing premature senescence. At the same time, DTA-6 counteracted the inhibition of up-ground part caused by DPC in great extent, which was in favor of seedling rapid growth of insect-resistant transgenic cotton.

Key words: DPC; DTA-6; mixture; insect-resistant transgenic cotton; growth and development

收稿日期: 2005-05-15 **作者简介:** 田晓莉(1968-), 女, 副教授; * 通讯作者

基金项目: 国家 863 计划(2001AA246062, 2003AA246060), 农业结构调整重大专项(04-07-01A), 天津市与中国农大合作项目(04030)

自1997年开始商品化生产以来,转基因抗虫棉在我国持续快速发展,2004年已占棉花播种面积的55.4%,其中在黄河流域棉区已基本普及^[1]。由于外源基因、受体材料和转化、选育等方面的影响,早期获得的抗虫棉大都具有前期生长势弱的特点^[2-4]。虽然近几年育成的一些抗虫棉品种的长势已明显加强,但仍有较多品种的前期生长势偏弱^[5-6]。如将常规棉的缩节胺(DPC)系统化控技术照搬到抗虫棉,很可能会进一步延缓抗虫棉的前期生长势。如能选择合适的植物生长促进剂与延缓剂DPC复配,利用不同有效成分之间的互补作用,协同促进转基因抗虫棉前期根系和地上部的生长,具有重要的现实意义。

2-N,N-二乙氨基乙基己酸酯(简称DTA-6)是一类新型、广谱性植物生长促进剂,在低浓度(1~40 mg·L⁻¹)下对多种植物具有调节和促进生长的作用^[7-13]。本试验将DTA-6与DPC复配后处理转基因抗虫棉的种子或幼苗,研究了复配剂对抗虫棉苗期生长发育的影响。

1 材料和方法

试验 I: 复配调节剂对抗虫棉子叶期根系和下胚轴发育的影响 试验于2001年3-5月在中国农业大学科学园温室进行,供试品种为中棉所30。温室光强在600 μmol·(cm²·s)⁻¹左右,光照时间为12 h·d⁻¹,温度维持在(30±2)℃。选用外观形态一致的饱满种子,30℃下浸种12 h后,采用垂直板发芽法^[13]培养。浸种处理设置如表1,每处理重复3次。7 d后,根系生长至4~7 cm左右,测量棉花幼苗的下胚轴长和根长,然后用整体染色透明法观察侧根原基的发生情况^[14]。

试验 II: 复配调节剂对抗虫棉幼苗地上部各部位 IAA 含量和苗期光合作用的影响,供试品种为中棉所30,新棉99B,石远321和sGK321。试验在光照培养室用盆栽培养方法进行,室内光强为400~600 μmol·(cm²·s)⁻¹左右,温度维持在(30±2)℃左右。盆高21 cm,直径19 cm,每盆装土约3 kg。盆栽用土为中国农业大学科学园试验地耕层土,每公斤土掺入有机肥10 g,生长期间浇3次 Hongland 营养液。2002年12月31日播种,子叶展开后进行喷施处理。处理设置如表1,每处理重复3盆,每盆5株。处理后5~7 d,调节剂表现出形态效应后,每盆选部分生长一致的幼苗,将其分为子叶、顶芽和下胚轴,放入液氮中

速冻30 min,然后转移至-40℃低温冰箱保存。用ELISA法测定样品中的IAA含量^[14]。余下的棉花幼苗继续培养至8~10片叶,再进行一次处理,处理设置同上,但DPC的浓度提高到50 mg·L⁻¹,植株表现出明显的形态效应后,进行测量和取样。

用ΔTAREA METER测定整株叶面积,用BAU光合测定仪测定倒4叶的光合速率,并用电镜(JEM-100CX(II))观察其叶绿体超微结构。

表1 浸种和叶面喷施处理设置

Table 1 Approach for soaking and spraying with plant growth regulators in cotton mg·L⁻¹

序 号	浸种处理			叶面喷施处理		
	DTA-6 浓度	DPC 浓度	简 称	DTA-6 浓度	DPC 浓度	简 称
1	0	0	0	0	0	0
2	10	0	10	0	10	0+
3	10	150	10+	20	0	20
4	20	0	20	20	10	20+
5	20	150	20+			
6	40	0	40			

2 结果与分析

2.1 复配调节剂对抗虫棉子叶期根系和下胚轴发育的影响

从图1可以看出,DTA-6单独使用显著促进

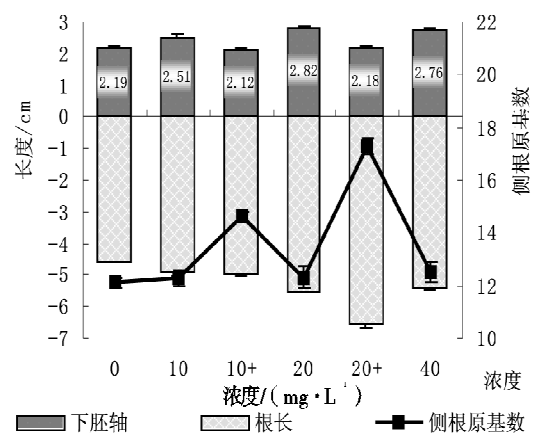


图1 DPC与DTA-6复配对中棉所30下胚轴长、根长和侧根原基数的影响

Fig. 1 Effects of mixture of DPC and DTA-6 on length of hypocotyls and root and number of lateral root primordia

注:数据采用SPSS进行统计分析

下胚轴和根的伸长,20 mg·L⁻¹ DTA-6处理使中棉所30的下胚轴和根长分别增加28.8%和21.0%,但DTA-6并不能促进侧根原基数的增

加。大量研究已经表明, DPC 单独处理一方面显著促进根系的发育, 另一方面显著延缓地上部的伸长生长^[15-16]。本试验中, DTA-6 与 DPC 复配处理(10+、20+)的下胚轴长度与对照(0)差异不显著, 提示 DTA-6 缓解了 DPC 对抗虫棉地上部伸长的抑制作用; 复配处理在根长和侧根原基分化方面表现出了明显的增效作用, 如 20+ 的根长较 20 和 0 分别增加 18.81% 和 43.76%, 10+ 和 20+ 的侧根原基数较单用 DTA-6 处理增加 18.70%~40.65%。

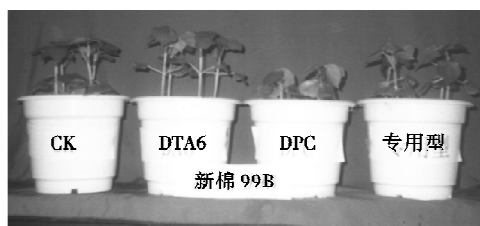


图 2 DPC 与 DTA-6 复配对抗虫棉幼苗地上部的调控

Fig. 2 Effects of mixture of DPC and DTA-6 on growth of seedling of transgenic insect-resistant cotton

2.2.2 对抗虫棉幼苗地上部各部位 IAA 浓度的影响。由图 3 可以看出, 抗虫棉 sGK321 的顶芽、子叶和下胚轴中的 IAA 浓度均低于常规棉石远 321, 三个部位分别降低了 31.35%、9.48% 和 19.80%。sGK321 单用 DTA-6 处理(20), 各部位 IAA 浓度较对照显著提高, 其中顶芽和下胚轴中分别提高了 34.40% 和 35.17%; 单用 DPC 处理(0+), 顶芽中 IAA 的浓度较对照降低了 27.60%, 子叶和下胚轴中也明显下降; 复配调节剂处理(20+)后, 各部位的 IAA 浓度虽略有下降, 但与对照差异不大。

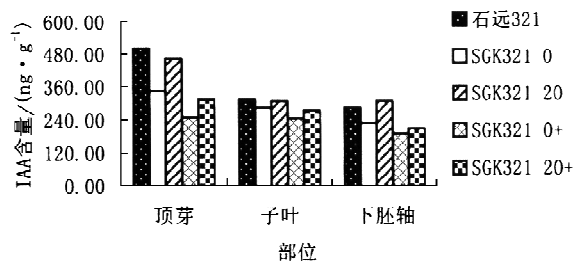


图 3 复配调节剂对 sGK321 幼苗 IAA 浓度的影响

Fig. 3 Effects of mixture of DPC and DTA-6 on IAA concentration, in seedlings of sGK321

另外两个抗虫棉品种中棉所 30 和新棉 99B 经各调节剂处理后幼苗 IAA 浓度的变化趋势与 sGK321 相同, 但单用 DPC 处理, 两品种顶芽中 IAA 的浓度降低幅度更大, 分别达到了 31.25% (中棉所 30) 和 33.76% (新棉 99B), 表明 DPC 对这两个品种的延缓作用可能更加明显。

2.2 复配调节剂对抗虫棉幼苗地上部的调控及对各部位 IAA 含量的影响

2.2.1 对抗虫棉幼苗地上部的调控。图 2 表明, sGK321 和新棉 99B 两个品种单用 20 mg · L⁻¹ DTA-6 处理后, 幼苗的生长势明显加强; 单用 10 mg · L⁻¹ DPC 处理, 幼苗植株明显矮化, 叶色浓绿; 而复配调节剂(20+)较好地融合了二者的优势, 幼苗生长健壮, 株高接近对照(CK), 叶色较为浓绿。

2.3 复配调节剂对抗虫棉苗期叶面积和光合作用的影响

2.3.1 对抗虫棉苗期叶面积的影响。由图 4 可以看出, 常规棉石远 321 蕾期单株叶面积为 325.5 cm², 较抗虫棉品种 sGK321、新棉 99B 和中棉所 30 分别增加 14.21%、32.45% 和 49.66%。单用 DPC 处理(0+), sGK321、新棉 99B 和中棉所 30 的单株叶面积分别减少了 14.39%、15.31% 和 25.34%; 单用 DTA-6 处理(20), 三个品种的单株叶面积分别增加了 7.96%、2.64% 和 5.00%; 复配调节剂(20+)使上述三个品种的单株叶面积略

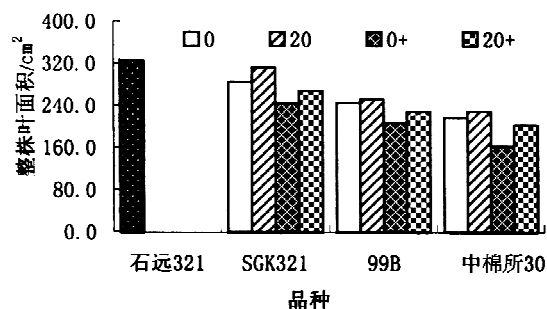


图 4 复配调节剂对抗虫棉苗期叶面积的影响

Fig. 4 Effects of mixture of DPC and DTA-6 on leaf area of transgenic insect-resistant cotton

有降低, 分别为相应对照(0)的 94.14%、93.06% 和 93.10%, 在很大程度上弥补了 DPC 对抗虫棉叶面积的减少作用。

2.3.2 对抗虫棉苗期功能叶光合速率的影响。

图5结果表明,常规棉石远321倒4叶的光合速率较抗虫棉品种sGK321、新棉99B和中棉所30分别提高31.4%、22.4%和50.0%,且差异达到极显著水平。单用DTA-6处理(20),三个品种倒4叶的光合速率分别增加了22.63%、67.37%和

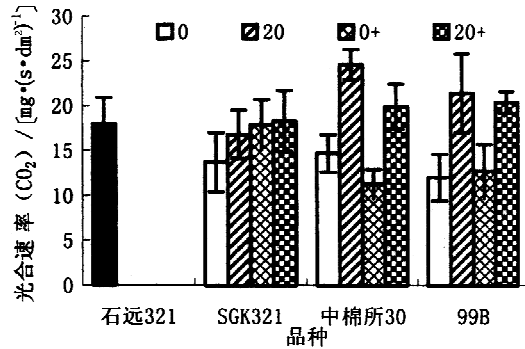


图5 调节剂处理对抗虫棉苗期功能叶(以倒4叶为例)光合能力的影响

Fig. 5 Effects of mixture of DPC and DTA-6 on photosynthesis of seedlings of transgenic insect-resistant cotton 78.33%,其中生长势较弱的新棉99B和中棉所30

的提高幅度较大;单用DPC处理(0+)对几个抗虫棉品种的光合速率影响不一致,增减幅度也不大;复配调节剂(20+)处理后,三个品种功能叶的光合速率分别提高了33.6%、35.4%和70.0%。

2.3.3 对抗虫棉苗期功能叶叶绿体解剖结构的影响。调节剂处理后抗虫棉光合速率显著提高,提示叶片的叶绿体解剖结构可能发生较大的变化。图6表明,常规棉石远321叶绿体基粒片层分化完全,基粒排列有序,基粒含片层较多,而抗虫棉sGK321在叶绿体超微结构方面明显不同于石远321,叶绿体呈长条状或长椭圆形,光合膜系统简单,片层分化不完全,基粒结构不明显,依稀可见每个基粒只堆叠2~4个类囊体片层,基质电子致密度高,与基粒片层较难区分。

DTA-6单独处理(20)或与DPC复配后处理(20+),sGK321叶片细胞的超微结构变化明显,叶绿体基粒片层分化比较完全,基粒排列有序,每个基粒含片层2~7个。

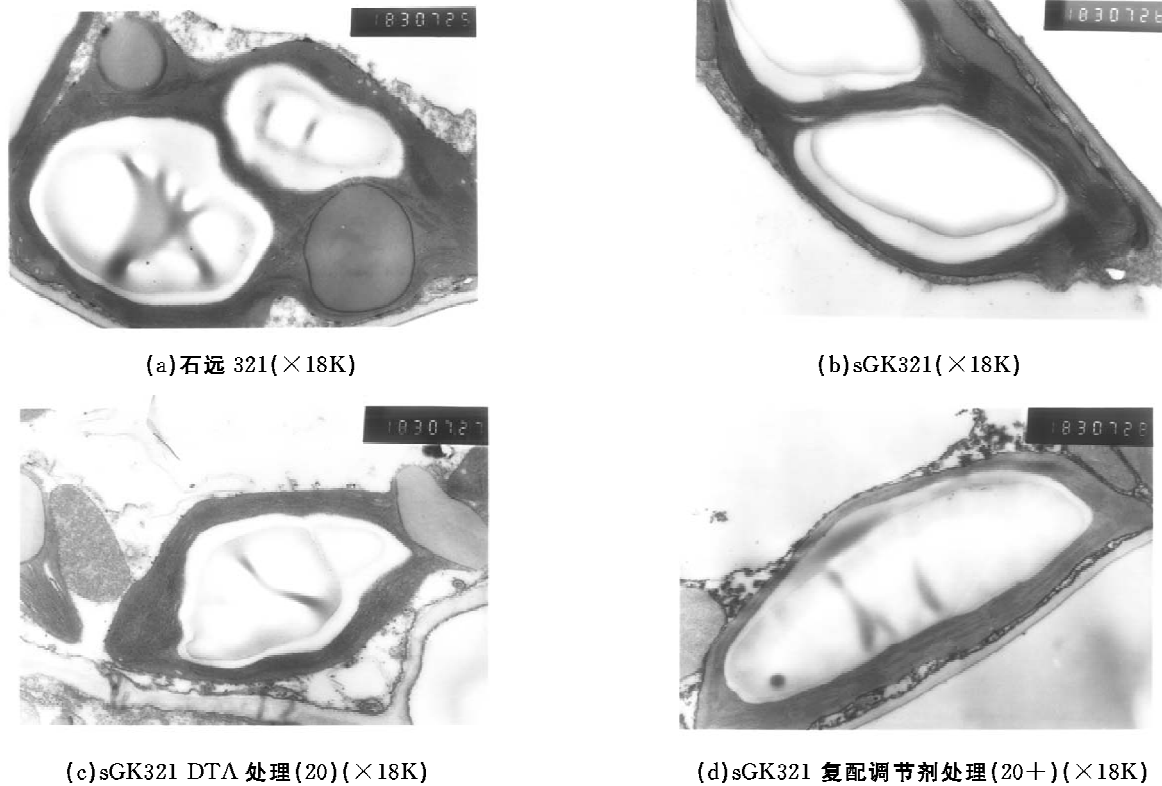


图6 石远321及sGK321各处理叶绿体超微结构

Fig. 6 Ultrastructure of chloroplast of Shiyuan 321 and sGK321 and effects of mixture of DPC and DTA-6 on it of sGK321

3 讨论

虽然有报道认为DTA-6抑制小麦和水稻幼苗的伸长生长^[11-12],但多数研究认为DTA-6具有促

进植物伸长生长的作用^[7-10,13]。本结果表明,DTA-6对抗虫棉幼苗地上部的生长有促进作用,如10~40 mg·L⁻¹浸种处理使中棉所30的下胚轴伸长了14.6%~28.8%,20 mg·L⁻¹喷施子叶对新棉99B

和 sGK321 的幼苗生长有促进。

DPC 能延缓棉株地上部的生长,同时促进根系的伸长和侧根原基的增加^[15-16]。本研究将 DTA-6 与 DPC 复配后处理棉花种子或幼苗,证实复配剂在促进转基因抗虫棉根系发育的同时,也可以消除或缓解单用 DPC 对抗虫棉地上部生长的抑制作用。如复配剂浸种处理后,中棉所 30 的侧根原基数较对照增加约 20% 以上,而下胚轴长度与对照相当;处理子叶也可见到幼苗高度与对照无明显差别;苗期叶面积也较 DPC 单独处理明显增加,与对照相比的降低幅度不到 10%。

有研究认为^[17],顶芽和子叶中 IAA 浓度低,可能是造成抗虫棉前期生长势较弱的内在原因。本文发现,抗虫棉 sGK321 的顶芽、子叶和下胚轴中的 IAA 浓度与常规棉石远 321 相比,分别低 31.35%、9.48% 和 19.80%;单用 DPC 处理, sGK321 顶芽中 IAA 的浓度较对照降低了 27.60%,而用复配调节剂处理,各部位的 IAA 浓度虽略有下降,但与对照差异不大。可见,抗虫棉幼苗各部位 IAA 浓度与其长势可能确实存在一定的关系。

DTA-6 与 DPC 复配还可显著增强抗虫棉幼苗的光合作用,这对加快抗虫棉的物质积累、促进抗虫棉苗期生长具有重要意义。光合作用的过程包括光能的吸收、传递、转化和碳同化等一系列复杂的过程。叶绿体基粒类囊体垛叠程度和基质浓度直接关系到作物叶绿素含量和光合性能的高低,其中基粒片层数目与光合速率关系最为密切^[18-19]。本试验中复配调节剂处理后, sGK321 叶绿体基粒片层分化比较完全,基粒排列有序,每个基粒含片层 2~7 个,明显多于对照的 2~4 个,这对复配调节剂增强抗虫棉的光合作用可以做出部分解释。

总之,复配调节剂的两种有效成分(DPC, DTA-6)起到了互补的作用:既保留了 DPC 对根系的促进效应,有利于根系发育和延缓早衰,也在某种程度上避免了单用 DPC 对地上部生长的延缓作用,有利于转基因抗虫棉的前期早发。DTA-6 和 DPC 配合使用在当前棉花生产上具有重要的实践价值。

参考文献:

[1] 毛树春. 中国棉花生产景气报告 53 期[EB/OL]. ht-

tp://www.ccppi.com.cn. 2004 年 11 月 15 日.

- [2] 田晓莉,杨培珠,王保民,等. 转 Bt 基因抗虫棉源器官的建成及其功能[J]. 棉花学报,2003,15(2):91-96.
- [3] 张宝红,丰 嵘. 棉花的抗虫性与抗虫棉[M]. 北京:中国农业科技出版社,2000.
- [4] 曾献英,李爱莲,吕双俊,等. 转 Bt 基因抗虫材料生长发育规律研究[J]. 中国棉花,1999,26(9):12-13.
- [5] 张香桂,周宝良,陈 松,等. 抗虫棉与常规棉主要农艺及经济性状比较研究[J]. 中国棉花,2004,31(5):14-16.
- [6] 吴征彬,杨业华,张 洪,等. 抗虫棉的若干性状和利用价值研究[J]. 中国农学通报,2004,20(4):26-29.
- [7] 陈敏资. 二烷基乙醇羧酸酯对紫罗兰生理活性的影响[J]. 园艺学报,1995,22(2):201-202.
- [8] 梁广坚,李芸瑛,邵 玲. DA-6 和 BR + GA3 对菠菜生长和光合速率的影响[J]. 园艺学报,1998,25(4):356-360.
- [9] 吕建洲,薛秀春,张爱莲. DA-6 对圆柏生长及生理活性的调控[J]. 植物研究,2000,20(1):153-157.
- [10] 吕建洲,张 琴. 二烷基乙醇羧酸酯对瓜菊生长及生理活性的影响[J]. 辽宁师范大学学报(自然科学版),1999,22.
- [11] 徐秋曼,陈 宏,胡义文. 二乙氨基己酸酯的柠檬酸盐浸种对小麦幼苗生长的影响[J]. 植物生理学通讯,1998,34(2):261.
- [12] 张子龙,梁 颖. DA-6 对水稻种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 西南农业大学学报,2001,23(3):219-221.
- [13] 周 天,胡勇军,王 萍,等. 新型植物生长调节剂 DA-6 与 TKE 对羊草幼苗生长的影响[J]. 吉林农业大学学报,2004,26.
- [14] 何钟佩. 作物化学控制实验指导[M]. 北京:北京农业大学出版社,1993.
- [15] 何钟佩,奚惠达,杨秉芳,等. DPC 效应的定向诱导及其在棉花丰产栽培中的应用[J]. 北京农业大学学报,1984,10(1):19-28.
- [16] 何钟佩,李召虎. 棉花幼苗侧根发生的化学诱导研究[J]. 北京农业大学学报,1991,17(增刊):13.
- [17] 郭香墨,丰 嵘,刘海涛,等. Bt 转基因抗虫棉激素动态变化研究[J]. 中国棉花,1996,23(12):9-10.
- [18] 吴源英,方志伟,马万山,等. 小麦光合速率与叶肉细胞和叶绿体形态结构的关系[J]. 主要作物生理特性、生长发育及控制技术课题研究报告,1988,2:1-8.
- [19] 左宝玉,匡廷云. 一些高等植物功能叶光合器官的结构与功能[J]. 植物学集刊,1994,7:1-16.