

## 种子盐引发对转基因抗虫棉耐盐性的影响

林 君, 孙玉强, 吕有军, 祝水金\*

(浙江大学农业与生物技术学院农学系, 杭州 310029)

**摘要:**以 2 个转基因抗虫陆地棉品种为材料, 以其遗传背景品种为对照, 研究种子引发对转基因抗虫棉在 NaCl 胁迫条件下的种子萌发和田间出苗的影响。结果表明, 0.5% 的 NaCl 处理显著地降低陆地棉种子发芽势和发芽率, 其中转基因抗虫棉品种(中棉所 41 和浙 905)的种子萌发和田间出苗率差于遗传背景亲本(中棉所 23)。种子盐引发处理可以有效地缓解 NaCl 的胁迫作用, 显著地提高种子的发芽势、发芽率和田间出苗率, 显著地提高棉花种子的耐盐性。种子盐引发处理对转基因抗虫棉品种的效果优于非转基因抗虫棉的背景品种。引发剂种类对于其耐盐性的影响有一定的差异, 以  $K_2SO_4$  的效果更好, 且引发剂的浓度与引发时间之间存在着一定的互作效应, 高浓度引发剂的处理时间宜短, 而低浓度引发剂的处理时间应适当延长。

**关键词:**盐胁迫; 陆地棉; 种子引发; 萌发

**中图分类号:** S562      **文献标识码:** A

**文章编号:** 1002-7807(2006)06-0338-04

## Studies on the Effects of the Salinity Priming on the NaCl Tolerance of Transgenic Insect Resistant Cotton (*Gossypium hirsutum* L.)

LIN Jun, SUN Yu-qiang, LI You-jun, ZHU Shui-jin\*

(Agronomy Department, College of Biotechnology and Agriculture, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310029, China)

**Abstract:** The effect of seed priming with salts on the seed germination and seedling emergence of the transgenic insect resistant cotton stressed by NaCl was studied in this paper, using two extending transgenic insect resistant cotton cultivars, CCRI 41 and Z-905, as the materials and their genetic background cultivar, CCRI 23, as check. The results indicated that it was harmful for the seed germination and field emergence of the upland cotton seeds when they were treated by 0.5% NaCl, especially for the transgenic insect resistant cotton cultivars whose germination percentage and field emergence was much lower than that of their genetic background check. However, priming treatment with a certain concentration salts could alleviate the harmful of the NaCl stress significantly. After the treatment of seed priming, the germination percentage and seedling emergence on the condition of 0.5% NaCl stress increased significantly, and the seed tolerance to the salt stress enhanced greatly. There were some differences in the effect of the seed priming treatments on the seed germination and field emergence, stressed by NaCl, between the transgenic insect resistant cotton and their genetic background one. The formers, with weak tolerance against NaCl stress, had a better effect than that of their genetic background one without exogenous insect resistant genes. There were some differences among the kinds of the priming agents, and  $K_2SO_4$  was the best one in this experiment. In addition, there were some interaction between the concentration of the priming agents and the treatment

**收稿日期:** 2006-02-20      **作者简介:** 林君(1974-), 女, 硕士; \* 通讯作者, shjzhu@zju.edu.cn

**基金项目:** 国家 973 计划(2004CB117305)和国家自然科学基金(30471108)

time. The treatment time should be longer for the priming agents with lower concentration than that with higher concentration.

**Key words:** salinity stress; transgenic insect resistant cotton; seed priming; seed germination

土壤盐渍化是农业生产主要障碍之一。我国现有盐渍土面积约为  $2.7 \times 10^7 \text{ hm}^2$ , 并以每年  $2000 \sim 4000 \text{ hm}^2$  的速度扩展, 土壤盐渍化已对我国的农业生产造成了巨大的经济损失<sup>[1]</sup>。棉花 (*Gossypium hirsutum* L.) 是较耐盐的植物之一, 是盐渍地区耐盐先锋作物<sup>[2]</sup>, 但土壤盐分过高对棉花生产仍有严重为害<sup>[3]</sup>。棉花在不同生育期的耐盐能力是有差异的, 其中萌发出苗和幼苗阶段是棉花耐盐能力最弱的时期<sup>[4]</sup>。土壤含盐量大于 0.2% 时表现出苗困难, 大于 0.4% 时幼苗不能出土, 大于 0.6% 时很难发芽<sup>[5-7]</sup>。

随着转基因抗虫棉在我国主要产棉区的迅速推广, 转基因抗虫棉的耐碱问题已被广泛关注, 如何提高转基因抗虫棉的耐盐能力已成为我国棉花生产的重要课题之一。利用常规育种以及生物技术方法筛选耐盐种质系或品种是最经济有效的方法。然而, 由于缺乏高抗盐的种质资源等原因, 棉花耐盐品种的育种虽已取得了较大的进展, 但还未育成真正的耐盐品种, 耐盐棉花育种仍不能满足棉花生产发展的需求<sup>[8]</sup>。因此, 目前的主要措施是通过栽培技术措施来提高棉花植株的耐盐能力。种子引发技术是一项控制种子缓慢吸水 and 后期回干的技术。用引发剂处理种子不仅能提高其出苗速率, 使出苗率高而整齐, 还能提高植物幼苗的耐盐性<sup>[9-11]</sup>。然而, 种子引发对于转基因抗虫棉品种耐盐能力的影响还少见报道。本文采用控制条件下研究转基因抗虫棉引发处理对于盐胁迫的反应, 研究提高转基因抗虫棉田间耐盐性的方法与措施, 为盐碱地转基因棉花生产提供有益的借鉴。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

参试品种有中棉所 41、浙 905 和中棉所 23。其中中棉所 41 是通过花粉管通道技术转化的双价转基因抗虫棉品种 (Bt+CpTI), 由中国农业科学院棉花研究所提供; 浙 905 来源于杂交组合 {中棉 19 × [(中 8 × 争 31) × (250 × 兰 5)]}, 是通过回交转育而成的单价转基因抗虫棉品种 (Bt), 由浙江大学提供; 中棉所 23 是采用混选-混交法育

成, 来源于混交组合 5658 × 5254 × 4067 × 冀 8, 为高产优质非转基因棉品种, 是中棉所 41 和浙 905 的遗传背景亲本, 本试验用作对照品种, 由中国农业科学院棉花研究所提供。

### 1.2 试验方法

种子引发处理: 将上述 3 个品种硫酸脱绒种子进行以下种子引发处理: (1) 不同浓度的盐引发剂 ( $\text{CaCl}_2$ 、 $\text{K}_2\text{SO}_4$  和  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) 处理, 盐浓度分别为 0.10%、0.50%、1.00%; (2) 不同时间的引发处理: 6 h、12 h 和 24 h。引发处理后的种子在室温下回干备用。

发芽试验: 引发处理后的种子置含 0.5% NaCl 溶液的沙床中在发芽箱中 (30℃) 进行发芽试验, 采用正交试验设计, 每处理重复 3 次, 每重复 50 粒种子。以清水处理为对照, 3 d 统计发芽势, 12 d 统计发芽率。

田间出苗试验: 不同引发处理的种子于 2005 年 5 月 10 日在浙江杭州本校人工盐池内进行田间出苗试验。试验前测定盐池土壤含盐量, 再添加食用盐, 调至各区土壤含盐量均匀达到 0.5%。以不施盐相邻盐池 (土壤含盐量低于 0.02%) 为对照, 每处理播种子 200 粒, 重复 3 次。播种 15 d 后统计田间出苗情况和出苗率。

数据处理: 采用浙江大学唐启义 DPS 统计软件进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 NaCl 对转基因抗虫棉种子萌发和出苗的影响

尽管棉花是较耐盐的作物, 但 0.5% NaCl 处理对于其种子萌发具有极显著的抑制作用, 表现为发芽慢且发芽率低 (表 1)。与清水对照相比, NaCl 处理的发芽势降低 20.3%~33.8%, 其中中棉所 23 降低 20.3%, 中棉所 41 降低 33.8%; 发芽率降低 17.6%~31.2%, 其中中棉所 23 降低 17.6%, 中棉所 41 降低 31.2%, 差异均达极显著水平。NaCl 处理后对于各品种田间出苗也有显著的影响。与各自的对照相比, 中棉所 41、浙 905 和中棉所 23 在 0.5% 盐池中的出苗率分别下降 23.5%、38.3% 和 39.8%, 差异均达极显著水

平。品种之间的耐盐程度有显著的差异,其中2个转基因抗虫棉品种的耐盐性显著差于其遗传背景材料中棉所23。由于参试的棉花品种的遗传

背景基本相同,品种间的耐盐性差异可能与外源抗虫基因的导入有一定的关系。

表1 0.5% NaCl处理对转基因抗虫棉种子萌发和出苗的影响

Table 1 The effect of the 0.5% NaCl on the germination and emergence of the transgenic cotton seeds

品种	发芽势/ %			发芽率/ %			田间出苗率/ %		
	CK	处理	±CK	CK	处理	±CK	CK	处理	±CK
中棉所 41	89.3	55.5	-33.8**	96.7	65.5	-31.2**	95.3	45.5	-49.8**
浙 905	87.3	60.3	-27.0**	95.5	70.0	-25.5**	93.0	54.7	-38.3**
中棉所 23	86.0	65.7	-20.3**	93.3	75.7	-17.6**	92.5	59.0	-33.5**

注: \*、\*\* 分别表示5%和1%的显著水平,下同。

## 2.2 盐引发对转基因抗虫棉耐盐性的影响

参试品种种子经3种不同盐引发剂的引发

后,在0.5% NaCl溶液下进行种子发芽试验和盐池出苗试验,结果见表2和表3。

表2 盐引发对转基因抗虫棉种子耐盐性(发芽试验)的影响

Table 2 The effect of salinity priming on the germination of the transgenic cotton stressed by NaCl

品种	对照		CaCl <sub>2</sub>		K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	
	发芽势/ %	发芽率/ %	发芽势/ %	发芽率/ %	发芽势/ %	发芽率/ %	发芽势/ %	发芽率/ %
中棉所 41	55.5	65.5	77.7	83.7	80.7	90.0	75.5	81.7
浙 905	60.3	70.0	76.5	84.5	80.0	89.5	74.3	80.3
中棉所 23	65.7	75.7	72.3	84.0	78.7	88.3	71.7	77.7
平均	60.5	70.4	75.5	84.1	79.8	89.3	73.8	79.9

总的来看,三种盐引发处理对NaCl胁迫均有显著的缓解作用,且效果和趋势也基本相同。其中CaCl<sub>2</sub>引发的种子,在0.5%盐胁迫下的平均发芽势和发芽率分别达75.5%和84.1%,比未引发对照分别高15.0个百分点和13.7个百分点;K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>引发的种子平均发芽势和发芽率分别达79.8%和89.3%,比对照高19.3个百分点和18.9个百分点;Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>引发种子的平均发芽势和发芽率分别为73.8%和79.9%,比对照高13.3个百分点和9.5个百分点。经统计分析,除

Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>引发种子的平均发芽率较对照差异达到显著水平外,其余盐引发种子的发芽势与发芽率与对照的差异均达到极显著水平。田间出苗试验结果表明,三种引发剂(CaCl<sub>2</sub>、K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>和Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)引发的种子,在0.5%盐胁迫下的平均出苗率分别达74.9%、84.6%和75.3%,分别比未引发的对照增加21.8个百分点、31.5个百分点和22.2个百分点,差异均达极显著水平。由此可见,经盐引发的棉花种子,其耐盐性有了显著的提高。

表3 盐引发对转基因抗虫棉种子耐盐性(田间出苗率)的影响

Table 3 The effect of salinity priming on the seed emergence of the transgenic cotton stressed by NaCl %

品种	CaCl <sub>2</sub>			K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>			Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		
	对照(CK)	处理(T)	差异(D)	对照(CK)	处理(T)	差异(D)	对照(CK)	处理(T)	差异(D)
中棉所 41	45.5	74.3	28.8**	45.5	80.6	35.1**	45.5	73.4	27.9**
浙 905	54.7	76.4	21.7**	54.7	88.1	33.4**	54.7	77.1	22.4**
中棉所 23	59.0	74.1	15.1*	59.0	85.1	26.1**	59.0	75.5	16.5*
平均	53.1	74.9	21.8**	53.1	84.6	31.5**	53.1	75.3	22.2**

从不同类型的陆地棉品种来看,非转基因棉品种中棉所23对NaCl的耐性较高,在0.5%的NaCl浓度下其发芽势分别为65.7%和75.7%,分别比中棉所41(转双价基因近等基因系)高10.2个百分点和10.2个百分点,差异达显著水平;分别比浙905(单价基因近等基因系)高5.4

个百分点和5.7个百分点,差异未达显著水平。然而,盐引发处理后,转基因抗虫棉品种的发芽势和发芽率得到显著的提高,而非转基因遗传背景材料的发芽势和发芽率虽也得到一定的提高,但提高幅度却不如转基因抗虫棉品种(表2和表3)。由此可见,盐引发处理对于转基因抗虫棉的

耐盐性提高具有更好的效果。

### 2.3 引发剂及处理方法对棉花耐盐性的影响

比较三种盐引发剂的效果可以发现,三种盐引发剂处理对于棉花种子在 0.5% 盐胁迫下的发芽势、发芽率和田间出苗率均有明显的促进作用,但  $K_2SO_4$  引发剂处理的效果更好。统计分析结果表明,三种盐引发剂处理后的种子发芽势和发芽率结果无显著差异,但  $K_2SO_4$  引发剂处理种子的田间耐盐性却显著优于其余两种盐引发剂。

从引发剂浓度和时间来看,本试验所设的 3 个浓度都能有效地提高棉花种子在盐胁迫条件下的发芽势、发芽率和田间出苗率,所有处理的发芽势、发芽率和田间出苗率均显著高于未处理的对照。然而,处理时间和引发剂的浓度对于棉花种子耐盐性的影响有一定的差异。一般而言,低浓度(0.10%)的引发剂处理 24 h 的效果最好,其次是处理 12 h;而中等浓度(0.5%)的引发剂以处理 12 h 的效果最佳,其次是处理 24 h;而高浓度的引发剂则以处理 6 h 的效果最好。三种不同的盐引发剂具有相同的趋势。不同引发剂、处理浓度和处理时间之间存在一定的互作效应,但未达到显著水平。

## 3 结论与讨论

棉花是耐盐性较强的经济作物之一,但棉花在盐胁迫条件下仍会受到较大的影响<sup>[9-11]</sup>。本研究表明,外源抗虫基因的导入使棉花品种的耐盐性下降,其中导入 Bt 基因的浙 905 的耐盐性与对照的差异未达显著水平,而转 Bt+CpTI 双价抗虫基因的中棉所 41 的耐盐性与对照的差异达到显著水平。由于本试验采用的两个转基因抗虫棉品种的遗传背景品种均为中棉所 23,即其遗传基础基本相同,互为近等基因系。理论上讲,三个参试品种的耐盐性差异是与其外源抗虫基因有关。然而,外源抗虫基因导致转基因抗虫棉耐盐性的下降原因还有待进一步的研究。

有关种子引发对植物耐盐性影响方面已有许多报道,大多研究结果均表明种子引发可提高植物的耐盐性<sup>[12-14]</sup>。本研究表明,盐引发可有效地缓解盐胁迫对棉花种子发芽和田间出苗的影响,大幅提高盐胁迫条件下的种子发芽率和田间出苗率。不同引发剂、不同引发剂浓度和处理时间对于参试品种的种子在盐胁迫条件下的种子萌

发和田间出苗均显著优于对照。在引发剂的选择上,本试验所设计的三种引发剂均有效,其中  $K_2SO_4$  的效果优于其余两种引发剂。值得提出的是,本试验中盐引发处理对转基因抗虫棉的耐盐性提高效果显著优于其遗传背景亲本,这是否具有普遍意义还有待进一步研究。

### 参考文献:

- [1] 江苏省农学会. 江苏棉作科学[M]. 南京:江苏科学出版社,1992.
- [2] 中国农业科学院棉花研究所. 中国棉花栽培学[M]. 北京:中国农业出版社,1983.
- [3] 刘国强,鲁黎明,刘金定. 棉花种质资源耐盐性鉴定研究[J]. 作物品种资源,1993(2):21-22.
- [4] 孙小芳,刘有良,陈沁. 棉花耐盐研究进展[J]. 棉花学报,1998,10(30):18-24.
- [5] 贾玉珍,朱禧月,唐予迪,等. 棉花出苗及苗期耐盐性指标的研究[J]. 河南农业大学学报,1987,21(1):30-41.
- [6] 叶武威,刘金定. 氯化钠和食用盐对棉花种子发芽的影响[J]. 中国棉花,1994,21(3):14-15.
- [7] 周桃华. NaCl 胁迫对棉花种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 中国棉花,1995,22(4):11-12.
- [8] 李付广,李秀兰,李凤莲,等. 盐胁迫对陆地棉愈伤组织生长的影响[J]. 棉花学报,1994,6(1):37-40.
- [9] 王沛政,烟杉,高翔. 抗旱、耐盐碱、矮秆陆地棉数量性状的遗传相关及主成份分析[J]. 棉花学报,2002,14(3):154-157.
- [10] 辛承松,董合忠,唐薇,等. 棉花盐害与耐盐性的生理和分子机理研究进展[J]. 棉花学报,2005,17(5):309-313.
- [11] 吕有军,叶武威,祝水金. 陆地棉种子萌发过程中盐处理对 NaCl 胁迫的缓解作用[J]. 棉花学报,2005,17(4):256.
- [12] CAYUELA E, Perez A F, Caro M, et al. Priming of seeds with NaCl induces physiological changes in tomato plants grown under salt stress[J]. Physiologia Plantarum,1996,96:231-236.
- [13] SIVRITEPE H O, Eris A, Sivritepe N. The effect of NaCl priming on salt tolerance in melon seedlings[J]. Acta Horticulturae,1999,492:77-84.
- [14] AMZALLAG G N, Lerner H R, Poljakoff M A. Induction of increased salt tolerance in Sorghum bicolor by NaCl pretreatment[J]. Journal of Experimental Botany,1990,41:29-34. ●