

转 Bt 基因抗虫棉叶片光合生产特征的探讨

王永慧, 杨朝华, 张祥, 张丽, 王书红, 王进友, 陈德华*

(扬州大学江苏省作物遗传生理重点开放实验室, 扬州 225009)

摘要: 2003—2004 年在江苏高肥力棉田, 对 9 个转 Bt 基因棉花品种(系)的生长发育特点及其光合生产特征进行了研究。结果表明, 中棉所 29 等 3 个转 Bt 基因杂交种在盛蕾期至盛铃期表现为叶绿素和可溶性糖含量高, 净光合速率强, 生殖器官干物质高, 成铃强度大, 蔗糖转化酶活性较高, 光合生产表现为全生育期旺盛型; 常规转 Bt 基因抗虫棉 GK19 和 GK99088 盛花前叶绿素含量、净光合速率和可溶性糖含量等光合生产特征旺盛; 科棉 4 号和鲁棉研 22 表现为盛花后叶绿素含量, 净光合速率, 可溶性糖等光合生产特征旺盛; sGK321 和鲁棉研 16 整个生育期叶绿素含量、叶片光合速率等光合生产特征较弱。相关分析表明, 叶片蔗糖转化酶活性和生殖器官干重、成铃强度呈显著正相关, 相关系数分别为 0.9842** 和 0.8699。生产上应根据不同类型 Bt 棉的光合生产特征, 采取不同的调控措施, 以发挥光合生产潜力, 提高产量。

关键词: Bt 棉; 光合生产; 光合特征

中图分类号: S562.01 **文献标识码:** A

文章编号: 1002-7807(2007)02-0128-05

Characteristics of Photosynthetic Production in Bt Transgenic Cotton Leaves

WANG Yong-hui, YANG Zhao-hua, ZHANG Xiang, ZHANG Li, WANG Shu-hong, WANG Jin-you, CHEN De-hua*

(The Key Opening Lab of Crop Genetics and Physiology of Jiangsu Province, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: The growth and development and photosynthetic production characteristics of *Bacillus thuringiensis* (Bt) transgenic cotton cultivars in transplanting pattern under high fertility, during the 2003 and 2004 growing seasons at the Yangzhou University Farm, Yangzhou of Jiangsu Province, China. The results showed that Bt transgenic hybrid cotton (CCRI 29, Lumian 15 and Kemian 3) had higher contents of chlorophyll, soluble sugar, higher net photosynthetic rate, reproductive organs dry matter weight, and greater intensity for boll setting, enzyme activity of Sucrosease from peak square to peak boll period. They had strong photosynthetic production in whole period. The cultivars of GK 19 and GK 99088 had higher contents of chlorophyll, soluble sugar, higher net photosynthetic rate before peak flower period; the cultivars (Kemian 4 and Lumian 22) had higher contents of chlorophyll, soluble sugar, higher net photosynthetic rate after peak flower period; the cultivars of sGK 321 and Lumian 16 had lower contents of chlorophyll, lower net photosynthetic rate in whole period. There were significant correlation between Sucrosease activity and reproductive organs dry matter weight, boll-setting intensity, respectively ($r=0.9482^{**}$, $r=0.8699^{**}$). These results suggested that appropriate cultivating measures should be adopted concerning with different photosynthetic production characteristics of Bt cotton cultivars, which contributed to bolster the expression of photosynthetic production and improve yield.

Keywords: Bt cotton; photosynthetic production; photosynthetic characteristics

收稿日期: 2007-03-20 作者简介: 王永慧(1983-), 男, 硕士; * 通讯作者, dehuachen2002@yahoo.com.cn

基金项目: 江苏省教育厅重点实验室基金(K04007), 农业部转基因专项基金

转Bt基因棉花在我国已得到大面积推广应用,已成为我国棉花种植的主要类型^[1-3],但由于导入的Bt基因、导入方法以及受体的遗传基础的不同,形成的Bt棉品种的生育特性和生理特性都发生了一些变化^[4-5]。迄今对转Bt基因棉花光合特征已有一些研究^[6-9],但大都集中于对某一品种(系)及其轮回亲本叶片光合生产性状和棉铃碳水化合物的代谢的研究,对不同引入方法、不同来源的Bt棉的光合生产性状在整个生长期的变化特点则少见报导。本研究以通过杂交引入和直接引入常规棉种形成的不同来源的Bt棉品种为研究材料,探讨转基因抗虫棉光合生产特征的变化,为转基因抗虫棉在生产上高光效生产提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验设计

试验于2003—2004年在扬州大学试验农场进行,以不同来源、不同方法引入形成的9个转Bt基因棉品种(系):中棉所29、鲁棉研15、鲁棉研22、鲁棉16、sGK321、GK19、GK99088、科棉3号、科棉4号为材料,其中中棉所29、鲁棉研15、科棉3号为转Bt基因棉杂交种,其它为常规棉转Bt基因品种(系)。以常规棉品种泗棉3号为对照。两年都以品种为试验因子,按单因素随机区组设计,3个重复,共计27个小区,小区面积41 m²,密度为每公顷3.75万株,4月1日播种,5月18日移栽。氮肥每公顷375 kg,其中基肥占20%,花铃肥占65%(分初花期和盛花期两次施用),桃肥占15%;磷肥(过磷酸钙)每公顷600 kg,钾肥(氯化钾)每公顷240 kg,基肥和花铃肥各占50%。分别于蕾期、初花期、盛花期和打顶后9 d用DPC化控,用量为每公顷15 g、30 g、45 g、60 g。其它措施按当地高产要求实施。

1.2 取样和测定

1.2.1 生殖器官干重。于花铃期(07-20,08-15,08-30)每个重复取5株代表性棉花,将生殖器官全部取出,于105℃杀青15 min后在80℃下烘干至恒重。

1.2.2 成铃强度。通过定期的铃数调查获得成铃强度。

1.2.3 叶绿素相对含量(SPAD值)。于棉花生育期取主茎功能叶,使用SPAD-502叶绿素仪进行。

1.2.4 叶片净同化速率。使用CI-301便携式光合仪,于棉花生育期选晴天上午9:00—11:00测定主茎功能叶的净光合速率(Pn),每个处理连续测量10株棉花,并计算平均值。

1.2.5 可溶性糖含量。于棉花主要生育期取10株主茎功能叶,用蒽酮比色法进行比色,方法参见《作物生理研究法》^[10]。

1.2.6 蔗糖转化酶活性测定。于棉花生育期取主茎功能叶,液氮冷冻,用3,5-二硝基水杨酸比色法,方法参见《现代植物生理学实验指南》^[11]。

1.2.7 数据统计分析方法。利用SAS软件对不同品种各性状间进行方差分析和线性相关关系分析。

2 结果与分析

2.1 不同品种叶片叶绿素含量变化

表1表明,9个转基因抗虫棉品种的叶片叶绿素含量(SPAD值)在4个关键生育期均显著高于对照。随着生育进程,不同品种间的叶片叶绿素含量均呈现先上升、后逐渐下降的特点。转基因抗虫棉品种间叶片叶绿素含量呈现4种变化特征。经最小显著差数测验(PLSD)进一步表明,sGK321和鲁棉研16在整个生育期的叶片叶绿素含量一直不高。中棉所29、鲁棉研15和科棉3号的叶片叶绿素含量在盛蕾至盛铃期(06-20—08-15)较高,盛花后叶绿素含量下降,且明显低于鲁棉研22和科棉4号,处于第二位。GK19和GK99088在盛花前较高,甚至高于3个杂交品种,但盛花后叶绿素含量下降,明显低于3个杂交品种,如在盛蕾期GK19叶绿素含量为42.91,而在盛铃期为41.42。鲁棉研22和科棉4号在盛花前最低,盛花后则逐渐增加一直处于最高值。由此可见,3个杂交棉品种的叶片叶绿素含量一直较大,GK19和GK99088在盛花前较大,科棉4号表现为盛花后较大,sGK321和鲁棉研16在整个生育时期叶片叶绿素含量一直较低。

表1 不同品种叶片叶绿素含量变化(SPAD值)

Table 1 The leaf chlorophyll content(SPAD)
for different Bt cultivars

品种(系)	生育期/月-日			
	06-20	07-20	08-15	08-30
中棉所29	41.23cd	46.14c	47.79c	44.92bc
鲁棉研15	40.37bc	46.51c	48.97cd	44.44bc
科棉3号	42.34d	46.07c	49.46d	45.35c
GK19	42.91d	44.72b	41.42a	42.21ab
GK99088	43.45d	46.52c	42.55ab	43.23b
鲁棉研22	36.19a	45.87bc	52.85e	51.12d
科棉4号	38.21b	43.26ab	53.14e	50.95d
sGK321	39.08b	42.51a	43.97b	41.13a
鲁棉研16	39.58b	42.38a	44.23b	40.87a
泗棉3号	35.01a	42.12a	41.44a	39.16a
方差F值	3.12*	2.85*	3.04*	3.31*

注:不同字母为PLSD测验在5%水平下的显著差异,下同。

*代表方差分析的F值达95%以上显著水平,下同。

2.2 叶片净光合速率(Pn)变化

表2表明,9个转基因抗虫棉品种的叶片净光合速率均显著高于对照。随着生育进程,不同品种间的叶片净光合速率均呈现先下降、后上升、再逐渐下降的特点。PLSD测验进一步表明,转基因抗虫棉品种间叶片净光合速率呈现4种变化特征。sGK321和鲁棉研16在整个生育期的净光合速率一直不高,如在盛铃期(08-15)分别达到 $21.46 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 和 $22.04 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。3个杂交棉品种的叶片净光合速率在盛蕾至盛铃期(06-20—08-15)较高,盛铃后光合强度下降,且同期明显低于鲁棉研22和科棉4号,处于第二位。GK19和GK99088在盛花前较高,甚至高于中棉所29、鲁棉研15和科棉3号,但盛花后光合强度下降,且明显低于中棉所29、鲁棉研15和科棉3号,如在盛蕾期GK19净光合速率(CO_2)为 $28.19 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,而在盛铃期GK19为 $20.55 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。鲁棉研22和科棉4号在盛花前最低,盛花后则逐渐增加一直处于最高值。由此可见,中棉所29、鲁棉研15和科棉3号的净光合速率一直较大,GK19和GK99088在盛花前较大,鲁棉研22和科棉4号表现为盛花后较大,sGK321和鲁棉研16在整个生育时期净光合速率一直较低。相关分析表明,各个时期的叶片叶绿素含量与其净光合速率呈显著线性正相关关系。如盛铃期(08-15)的叶片叶绿素含量与净光合速率呈极显著线性正相关($r=0.8449^{**}$)。由此可见,叶绿素含量的高低直接影响叶片的光合强度。

表2 不同品种叶片净光合速率(CO_2)的变化

Table 2 The net photosynthetic rates for different Bt cultivars ($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)

品种(系)	生育期/月-日			
	06-20	07-20	08-15	08-30
中棉所29	29.34d	21.49bc	27.17d	17.24b
鲁棉研15	27.42c	21.54bc	24.81c	16.76b
科棉3号	27.54c	22.88c	23.37bc	17.16b
GK19	28.19cd	23.49c	20.55b	14.28a
GK99088	29.84d	22.08bc	21.43b	14.12a
鲁棉研22	20.52ab	20.99b	28.47de	22.22c
科棉4号	20.41ab	21.31bc	29.14e	23.41c
sGK321	21.46b	17.85a	16.08a	14.85a
鲁棉研16	22.04b	19.17b	17.12a	14.26a
泗棉3号	19.39a	17.08a	15.98a	15.64a
方差F值	2.65*	2.58*	2.91*	2.64*

2.3 叶片蔗糖转化酶活性(FW)变化

表3表明,9个转基因抗虫棉品种的叶片蔗

糖转化酶活性同样具有显著差异,且均高于对照品种,随着生育进程,不同品种间的蔗糖转化酶均呈现先下降、后上升、再逐渐下降的特点。转基因抗虫棉品种间叶片蔗糖转化酶活性(FW)变化呈现4种变化特征。sGK321和鲁棉研16的叶片蔗糖转化酶活性在整个生育期一致呈现最低值,如在盛铃期(08-15)sGK321和鲁棉研16分别达到 $131.21 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $133.17 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,说明sGK321和鲁棉研16的蔗糖转化能力相对较弱。3个杂交品种的酶活性在整个生育期相对一直较高。GK19和GK99088在盛花(07-20)前达到最大值,如在盛蕾期(06-20)分别达到 $148.74 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $149.04 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,盛花后则低于中棉所29、鲁棉研15和科棉3号。鲁棉研22和科棉4号在盛花前蔗糖转化酶活性较低,盛花后明显增加。由此可见,中棉所29、鲁棉研15和科棉3号的糖的转化在盛蕾后一直较为旺盛,GK19和GK99088在盛花前较为旺盛,鲁棉研22和科棉4号表现为盛花后碳代谢旺盛,sGK321和鲁棉研16在整个生育时期糖的转化相对较弱。相关分析表明,盛铃期蔗糖转化酶活性与生殖器官干重呈极显著线性正相关($r=0.9482^{**}$)。说明叶片中可溶性糖的卸出有利于生殖器官干物重的积累。同时相关分析进一步表明,盛花期(07-20)的叶片蔗糖转化酶活性与优质桃形成期(07-20—08-30)的成铃强度呈极显著线性正相关($r=0.8699^{**}$),说明转基因抗虫棉的蔗糖转化酶活性高,有利于促进蔗糖向棉铃转运,提高成铃强度。

表3 不同品种叶片蔗糖转化酶(FW)变化

Table 3 The sucrose activities for different Bt cultivars

($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)

品种(系)	生育期/月-日			
	06-20	07-20	08-15	08-30
中棉所29	135.34d	124.35d	178.52d	139.1d
鲁棉研15	138.24d	125.64d	181.47d	146.14de
科棉3号	145.58e	125.06d	182.35d	148.19e
GK19	148.74e	130.24e	150.28c	130.23c
GK99088	149.04e	129.25e	153.71c	125.24c
鲁棉研22	111.25c	116.27c	191.58e	152.68e
科棉4号	112.08c	112.47c	193.26e	157.25e
sGK321	86.46b	101.26b	131.21b	94.74b
鲁棉研16	88.25b	103.64b	133.17b	95.16b
泗棉3号	76.94a	98.47a	114.3a	86.58a
方差F值	2.67*	2.51*	2.98*	3.35*

2.4 叶片可溶性糖含量(FW)变化

表4表明,与对照相比,9个转基因抗虫棉品

种的叶片可溶性糖含量与品种有关,也与生育期有关。各个生育期品种间可溶性糖具有显著差异,如盛蕾期(6月20日),中棉所29、鲁棉研15、科棉3号、GK19和GK99088的叶片可溶性糖含量低于对照,但无显著差异。鲁棉研22、科棉4号、sGK321和鲁棉研16高于对照。随着生育进程,不同品种间的可溶性糖含量均呈现先下降、后上升、再逐渐下降的特点。转基因抗虫棉品种间叶片可溶性糖含量呈现4种变化特征。sGK321和鲁棉研16的叶片可溶性糖含量在整个生育期基本呈现最高值,如在始絮期分别达到 $75.25\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $76.26\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。中棉所29、鲁棉研15和科棉3号的叶片可溶性糖含量一直也较高,且在盛蕾期至盛铃期(06-20—08-15)高于GK19和GK99088。GK19和GK99088在盛花前的可溶性糖含量低于3个杂交品种,但盛花后较高,仅次于sGK321和鲁棉研16。鲁棉研22和科棉4号的可溶性糖含量在盛花前较高,盛花后则一直处于最低值,如在吐絮期(08-30)达到 $58.75\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $59.12\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。相关分析表明,盛铃期叶片可溶性糖含量与生殖器官干重呈极显著线性负相关($r=-0.9126^{**}$)。由此可见,叶片中可溶性糖的卸出有利于生殖器官干重的积累。同时相关分析进一步表明,初絮期(08-30)的叶片可溶性糖含量与晚秋桃形成期(08-30—09-20)的成铃强度呈极显著线性负相关($r=-0.7694^{**}$),说明叶片中可溶性糖的卸出有利于成铃强度的提高。

表4 不同品种叶片可溶性糖含量变化

Table 4 The soluble sugar contents for different Bt cultivars

 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$

品种(系)	生育期/月-日			
	06-20	07-20	08-15	08-30
中棉所29	51.21a	68.67b	69.49c	60.28a
鲁棉研15	52.45a	67.14b	68.75c	62.32a
科棉3号	54.12a	68.27b	69.76c	62.14a
GK19	50.23a	60.25a	63.52ab	68.87b
GK99088	51.24a	61.22a	64.42b	69.72b
鲁棉研22	57.61b	70.87b	62.24a	58.75a
科棉4号	58.16b	69.81b	62.75a	59.12a
sGK321	64.84c	73.79c	71.21cd	75.25c
鲁棉研16	62.68bc	74.56c	72.34d	76.26c
泗棉3号	55.65a	63.79a	68.74a	60.22a
方差 F 值	2.54*	2.66*	2.78*	3.34*

3 讨论

3.1 不同Bt棉的光合生产特征各异

研究表明:3个Bt棉杂交种的叶片叶绿素含

量、净光合速率、蔗糖转化酶活性在盛蕾期至盛铃期处于较高的水平,光合强度大,光合效率高;可溶性糖含量盛蕾后一直处于较高的水平;常规棉GK19和GK99088在盛花前上述各项指标较高,但盛花后下降,而可溶性糖含量盛花前较低,盛花后则较高;科棉4号和鲁棉研22在盛花前最低,盛花后则逐渐增加一直处于最高值,而可溶性糖含量盛花前较高,盛花后则明显低于其它品种(系);sGK321和鲁棉研16在整个生育期上述各项指标一直相对较低,光合强度低,光合积累少,但叶片可溶性糖含量从盛蕾至始絮基本呈最高状态。由此可见,移栽种植方式下转Bt棉的光合生产具有4种特征:转Bt杂交种的光合生产在大田生育期一直呈现较为旺盛特征,常规种GK19和GK99088盛花前呈现较为旺盛特征,科棉4号和鲁棉研22表现为盛花前较弱,盛花后光合生产旺盛特征,sGK321和鲁棉研16光合生产和碳代谢在整个生育阶段相对较弱。

3.2 不同光合特征的转Bt基因棉应采取不同的调控措施

叶绿素含量与光合速率呈显著正相关,蔗糖转化酶活性分别与成铃强度、生殖器官干重呈正相关,因此对具有不同光合生产特征的转Bt棉应根据其光合生产特征及时做好调节工作。对转Bt棉杂交种,光合生产旺盛,但其营养生长代谢也强^[12-15],因此应注意控制营养生长,促进结铃期养分向棉铃输送;常规转Bt棉前期光合生产旺盛的品种,在生产上应注意苗蕾期光合养分在营养生长和生殖生长关系上协调,同时要防止棉花生长后期光合养分不足引起早衰;前期弱后期光合生产旺盛的品种需促进前期的光合生产,促进棉苗生长。对于全生育期光合生产相对较弱的品种,应通过生长调节剂等的合理调节,提高叶源的光合生产能力。总之,在生产上要根据Bt棉不同品种的光合特征确定配套的栽培技术,以充分发挥转基因抗虫棉的光合生产潜力,提高产量。

参考文献

- [1] 王孝纲,帅启荣,别墅,等. 转基因抗虫棉的研究利用与市场前景[J]. 中国棉花,2002,29(6):12-14.
- [2] 邹奎. 我国棉花转基因抗虫棉品种现状分析[J]. 中国棉花,2003,30(8):2-4.
- [3] 苏少泉. 转基因棉花的种植与问题[J]. 世界农业,2003,(11):43-44.

- [4] 田晓莉, 杨培珠, 王保民, 等. 转 Bt 基因抗虫棉中棉所 30 的碳、氮代谢特征[J]. 棉花学报, 2000, 12(1): 172-175.
- [5] CHEN D H, Ye G Y, Yang C Q, et al. Effect of introducing *Bacillus thuringiensis* gene on nitrogen metabolism in cotton[J]. Field Crops Research, 2004, 87 (4): 235-244.
- [6] 张月娟. 鄂棉 14、鄂棉 16 及鄂荆 1 号光合性能的研究[J]. 湖北农业科学, 1994, (3): 14-17.
- [7] 董合忠, 李维江, 唐徽, 等. 不同基因型抗虫棉的光合生产与叶源特征[J]. 棉花学报, 2005, 17(6): 328-333.
- [8] 梁哲军, 赵海祯, 齐宏立, 等. 基因型差异对棉花光合产物生产和分配的影响及遗传改良研究[J]. 棉花学报, 2005, 17(1): 18-22.
- [9] 李伶俐, 马宗斌, 杜远仿, 等. 14 个转基因抗虫棉品种光合生育特性及产量品质比较研究[J]. 中国棉花, 2006, 33(7): 14-27.
- [10] 张宪政. 作物生理研究法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.
- [11] 上海植物生理研究所. 现代植物生理学实验指南 [M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [12] 陈德华, 王兆龙, 吴云康, 等. 转 Bt 基因抗虫棉杂交种光合生产及干物质分配特点研究[J]. 棉花学报, 1998, 10(1): 33-37.
- [13] 徐立华, 陈祥龙, 黄骏麒. 转基因抗虫棉杂交种生育特性及栽培技术[J]. 江苏农业科学 1997, 4: 27-28.
- [14] 徐文修, 牛新湘, 边秀举. 新疆棉花光温生产潜力估算与分析[J]. 棉花学报, 2007, 19(6): 455-460.
- [15] 徐立华, 王进友, 王书红, 等. Bt 移栽棉干物质积累与产量及器官建成关系的研究[J]. 棉花学报, 2007, 19(1): 13-17. ●