

转 *CpTI* 基因对棉花主要病害及早衰的影响

朱荷琴, 冯自力, 刘雪英

(中国农业科学院棉花研究所/农业部棉花改良重点实验室, 河南 安阳 455000)

摘要: 2006—2007年, 采用4个转 *CpTI* 基因棉花材料及其受体研究了转 *CpTI* 基因对棉花苗病、黄萎病、后期叶斑病及早衰的影响。结果表明: 3个转 *CpTI* 基因材料苗病死苗率均低于其对应的受体材料。在6月底和7月初黄萎病的发生初期, 转基因材料黄萎病发生较受体材料轻, 7月中旬到8月底9月初, 不同品种以及同一品种的不同生育期之间差异较大, 转基因材料C连续两年病指极显著低于对照受体材料。与非转基因材料相比, 转 *CpTI* 基因材料叶斑病的发生显著加重, 早衰发生也加重。

关键词: 转 *CpTI* 基因棉花; 棉花病害; 风险评估

中图分类号: S435.621 **文献标识码:** A

文章编号: 1002-7807(2009)06-0488-04

The Effect of *CpTI* Cotton on Main Diseases and Premature Senescence

ZHU He-qin, FENG Zi-li, LIU Xue-ying

(Cotton Research Institute of CAAS/Key Laboratory of Cotton Genetic Improvement, MOA, Anyang Henan 455000, China)

Abstract: The cowpea trypsin inhibitor gene (*CpTI*) has been widely used in genetic engineering for more than ten years and has been successfully transferred into cotton (*Gossypium hirsutum* L.). Widely growing of transgenic plant may be accompanied by ecological effects including changes in diseases those coursed by fungus, bacterial or virus. People have paid more attention on environment risk assessment of transgenic plant recently. Most research on Bt cotton has focused on invasiveness, gene flow to indigenous organisms, development of resistant in target pests, and direct or indirect effects on non-target organisms and ecosystem. But a few studies have been published to evaluate the effects of *CpTI* on cotton diseases. Four *CpTI* cotton lines and their contrasts (non-*CpTI* cotton) were monitored for changes in diseases including seedling disease, *Verticillium* wilt, latter leaf spot and early senescence in 2006 and 2007. The results showed that the percentage of died seedling coursed by seedling disease of three *CpTI* cotton lines were lower than that of their contrasts (non-*CpTI* cotton). *Verticillium* wilt disease index (ID) of four *CpTI* cotton lines were lower than that of non-*CpTI* cotton lines in the end of June and the beginning of July (the beginning stage of *Verticillium* wilt), after that changes of *Verticillium* wilt ID were different among lines and stages. *Verticillium* wilt ID of *CpTI* A was remarkably higher than that of its contrast. ID of latter leaf spot and early senescence of four *CpTI* cotton lines were distinctly higher than that of four non-*CpTI* cotton lines.

Key words: *CpTI* cotton; cotton disease; risk assessment

我国从1998年开始推广应用转基因抗虫棉, 到2007年种植面积已达354万公顷, 占总植棉面积的69%。外源基因的介入不仅使寄主产生对

靶标生物的毒杀或控制作用, 同时也可能会对非靶标生物产生不同程度的影响。有研究表明, 转Bt基因棉田病害种类和主要病害的发生消长规

律与常规棉田不同^[1-2]。蛋白酶抑制剂基因(*CpTI*)在植物基因工程中的应用已有 10 余年,转 *CpTI* 基因棉花的获得使棉花的抗虫能力和抗虫范围有了新的扩展^[3]。和其它基因一样,*CpTI* 基因的安全性也同样受到人们的关注,而目前还没有关于转 *CpTI* 基因对棉花病害发生影响的报道。本研究以 4 个转 *CpTI* 基因材料及其受体为材料,研究比较了转 *CpTI* 基因材料和受体材料之间主要病害包括苗期病害、黄萎病、叶斑病和早衰的差异,以期建立转 *CpTI* 基因植物对棉花主要病害影响的风险评价体系提供参考。

1 材料和方法

1.1 供试材料

受体棉花材料(无 *CpTI* 基因,对照):受体 A(05B1)、受体 B(中 1525)、受体 C(中 287)、受体 D(中棉所 36),对应转 *CpTI* 基因棉花:转基因 A(转 *CpTI* 基因 05B1)、转基因 B(转 *CpTI* 基因中 1525)、转基因 C(转 *CpTI* 基因中 287)、转基因 D(转 *CpTI* 基因中棉所 36)。转基因棉花及受体棉花材料由中国农业科学院棉花研究所转基因课题组、抗逆育种课题组、早熟棉育种课题组提供。

1.2 试验和调查方法

于 2006 年和 2007 年将供试材料种植在枯黄萎病重病地,每材料 2 行区,3 次重复,随机排列。出苗后开始调查苗病死苗数,6 月底 7 月初分级调查黄萎病,每 7d 左右一次,直到 8 月底 9 月初。7 月底 8 月初到 9 月上旬或中旬,分级调查早衰,9 月中旬分级调查叶斑病。

黄萎病分级标准参照朱荷琴等方法^[4],早衰和叶斑病分级标准参照黄萎病分级标准。

1.3 统计方法

采用平均值的成对二样本 *t* 测验对试验数据进行分析。

2 结果与分析

2.1 转 *CpTI* 基因对棉花苗病发生的影响

4 对材料中,除转基因 A 苗病死苗率(3.4%)和受体 A(3.3%)没有差异外,其它 3 个转基因材料的苗病死苗率均低于受体材料,其中转基因材料 C 苗病死苗率为 4.5%,对照受体材料为 17.8%,差异达显著水平,转基因材料平均死苗率为 7.4%,低于受体材料 14.5%(表 1)。

2.2 转 *CpTI* 基因对棉花黄萎病发生的影响

在黄萎病发生初期(6 月底至 7 月初),转基因材料黄萎病发生较受体材料轻,两年平均病指分别较受体材料降低 53.9%和 35.6%。其中,转基因材料 D 两年均极显著低于对照受体材料,2006 年 7 月 8 日,转基因材料 A 和 C 的病指极显著或显著低于对照受体材料。黄萎病发生的中后期(7 月中旬至 8 月底 9 月初),转 *CpTI* 基因对黄萎病的影响在不同材料以及同一个材料的不同生育期之间差异较大(表 2、表 3)。其中,转基因 A 在 2006 年的 8 月 16 日、2007 年的 7 月 23 日和 8 月 29 日病指均显著高于同期受体材料的病指;转基因材料 B 连续两年和受体材料没有显著差异;转基因材料 C 在 2006 年 7 月 21 日、2007 年 7 月 10 日、7 月 16 日、8 月 2 日、8 月 6 日、8 月 21 日、8 月 29 日,病指均极显著或显著低于受体材料;转基因材料 D 两年表现不同,2006 年表现为中期(8 月 4 日)极显著高于对照受体,而后期(8 月 24 日)又极显著低于对照受体材料,2007 年则表现为中后期和受体没有显著差异;对每对材料整个生育期的调查结果进行分析,只有转基因 C 连续两年病情指数极显著低于受体材料,其它材料差异不显著。上述结果表明,将外源基因 *CpTI* 导入不同的棉花材料,对黄萎病发生的影响不同,且同一材料在不同时期也表现不同。

表 1 转 *CpTI* 基因材料及受体材料苗病、枯萎病、早衰及叶斑发生情况

Table 1 Died seedling percentage of seedling disease, ID of *Fusarium* wilt, early senescence and leaf spot of *CpTI* cotton and non-*CpTI* cotton

材料名称	苗病死苗/%		早衰指数		叶斑病指
	2007	2006	2007	平均	2006
转基因 A	3.4	45.4**	23.9	34.7	61.3*
受体 A	3.3	30.7	21.5	26.1	42.3
转基因 B	4.9	35.4	21.2	28.3	43.3
受体 B	8.8	29.6	16.6	23.1	42.3
转基因 C	4.5*	47.3*	34.2*	40.8	66.3*
受体 C	17.8	22.6	16.3	19.5	46.3
转基因 D	16.9	61.4	30.2	45.8	82.4*
受体 D	28.2	51.0	29.2	40.1	63.0
转基因材料平均	7.4	47.4*	27.4	37.4	63.4*
受体材料平均	14.5	33.5	20.9	27.2	48.5

注:“*”表示 *t* 测验差异显著,“**”表示 *t* 测验差异极显著,下同。

表2 转 *CpTI* 基因材料及受体材料不同时期黄萎病情指数(2006年)
Table 2 ID of *Verticillium* wilt of *CpTI* cotton and non-*CpTI* cotton in different period in 2006

材料名称	07-06	07-21	07-28	08-04	08-11	08-16	08-24	平均
转基因 A	7.5**	32.4	31.7	37.5	37.8	39.6*	41.5	33.4
受体 A	18.4	43.1	39.4	43.0	33.5	31.4	39.4	35.3
转基因 B	7.7	37.9	42.0	42.3	41.4	42.6	30.0	34.6
受体 B	14.9	34.3	38.8	40.2	40.6	41.9	37.5	35.2
转基因 C	7.3*	31.5**	33.0	38.2	36.8	36.0	29.9	31.1**
受体 C	22.0	48.1	45.7	43.4	39.8	37.0	40.7	40.3
转基因 D	10.4**	49.7	50.5	49.1**	48.5	52.4	22.7**	39.9
受体 D	15.9	46.7	48.6	45.2	46.4	50.0	41.7	40.9
转基因材料平均	8.2	37.9	39.3	41.8	41.1	42.6	31.0	34.7
受体材料平均	17.8	43.0	43.1	43.0	40.1	40.1	39.8	32.0

表3 转 *CpTI* 基因材料及其受体材料不同时期黄萎病情指数(2007年)
Table 3 ID of *Verticillium* wilt of *CpTI* cotton and non-*CpTI* cotton in different period in 2007

材料名称	06-28	07-10	07-16	07-23	08-02	08-06	08-13	08-21	08-29	09-05	平均
转基因 A	17.9	27.9	26.7	23.2*	26.8	30.4	28.2	23.0	20.1*	16.0	24.0
受体 A	23.5	27.8	23.4	17.3	27.1	25.7	18.4	16.6	10.4	7.4	19.8
转基因 B	30.5	35.3	33.7	31.3	42.5	41.9	31.3	29.9	27.7	18.1	32.2
受体 B	30.8	40.4	38.5	35.3	46.0	42.5	28.5	26.6	26.0	17.8	33.2
转基因 C	22.5	32.2*	27.1*	26.4	34.3*	41.8**	26.5	22.0**	14.3**	18.2	26.5**
受体 C	44.6	42.4	39.8	41.3	47.5	47.0	31.1	27.3	25.7	21.6	36.8
转基因 D	22.4**	39.9	38.6	36.1	43.8	47.2	31.3	23.4	16.2	12.9	31.2
受体 D	45.7	41.3	36.6	34.4	43.0	42.6	30.8	20.7	12.8	13.0	32.1
转基因材料平均	23.3	33.8	31.6	29.3	36.9	40.3	29.3	24.6	19.6	16.3	28.5
受体材料平均	36.2	38.0	34.6	32.1	40.9	39.5	27.2	22.8	18.7	14.9	30.5

2.3 转 *CpTI* 基因对棉花叶斑病发生的影响

2006年对4对材料叶斑病的调查结果表明,转 *CpTI* 基因材料的叶斑病发生较非转基因材料重,转基因材料叶斑病的平均病指为63.4,高于非转基因材料的平均病指48.5,差异达显著水平。其中转基因A叶斑病指为61.3,极显著高于受体A(42.3);转基因C叶斑病指为66.3,极显著高于受体C(46.3);转基因D叶斑病指82.4,极显著高于受体D(63.0)(表1)。

2.4 转 *CpTI* 基因对棉花早衰的影响

2006年7月28日、2007年8月6日开始对早衰进行分级调查,到8月底,转基因材料和受体材料早衰发生都非常轻,也没有显著差异,进入9月份早衰明显加重。2006年9月15日和2007年9月5日的调查结果表明,4个转基因材料的早衰指数均高于其受体材料,其中,2006年转基因材料A早衰指数为45.4,极显著高于受体材料A(30.7),转基因材料C早衰指数为47.3,受体材料C为22.6,差异达极显著水平;2007年转基因材料C早衰指数为34.2,极显著高于受体材料C(16.3)。表明与非转基因材料相比,转 *CpTI* 基因材料的早衰发生重(表1)。

3 讨论

3.1 外源 *CpTI* 基因的导入对棉花主要病害的发生有一定的影响

转基因抗虫棉最常用的外源基因是 *Bt* 基因和 *CpTI* 基因。这两种基因已被分别或同时导入棉株中,并获得了一批有发展前景的转基因棉花品种^[3]。至2007年,我国转基因抗虫棉的面积已占棉花总面积的69%,其中,黄河流域棉区转基因抗虫棉的面积占98%以上,长江流域棉区转基因抗虫棉的面积占70%以上,新疆棉区抗虫棉的面积占30%左右。黄河流域和长江中下游棉区转基因抗虫棉已基本取代常规棉,使我国棉花生产实现了新一轮的品种更换^[5]。国内外有众多的研究表明,外源 *Bt* 和 *CpTI* 基因的介入,不仅使寄主产生对靶标害虫的毒杀或控制作用,同时也对非靶标害虫及天敌的种群动态产生了不同的影响^[6]。然而,其对棉花病害的影响研究不多。简桂良等认为,转 *Bt* 抗虫棉的抗黄萎病性普遍较差,致使近年来棉花黄萎病在各主产棉区发生为害逐年加重。抗虫棉后期病害严重,且出现了一些新的病害,如茎枯病、后期的黑斑病和褐斑病,尤其是红叶茎枯病等与早衰相关的病害,在环境

条件合适的情况下,时有大面积流行的可能^[1]。孙君灵等 1996—1997 年系统调查了转 Bt 基因抗虫棉在平作棉田和麦套棉田黄萎病发生消长的情况,结果表明,转 Bt 基因抗虫棉黄萎病发生规律与对照中棉所 12 存在较大差异。转 Bt 基因抗虫棉与对照品种相比,黄萎病发生前期,病株率低于对照品种,扩展缓慢;发病后期,扩展速度加快,病指超过对照品种,且全年隐症期短,在麦套棉田的发病高峰比对照品种推迟 10 d 以上^[2]。我们的研究表明,与对照受体材料相比,在黄萎病的发生初期,转 *CpTI* 基因棉花黄萎病发生较轻,这与上述孙君灵等的研究结果部分相同。然而,值得关注的是转 *CpTI* 基因棉花材料叶斑病和早衰均明显加重,其原因有待进一步研究。

3.2 系统评价转基因棉花病害发生消长规律是环境安全评价的重要内容

目前,对转基因抗虫棉花环境安全的评价主要是针对其对靶标害虫、非靶标害虫及天敌种群动态的影响,而转基因抗虫棉对病害的影响研究不多,其可能产生的由病害引起的风险评估也缺少系统资料。刘慧君等的研究表明:转葡萄糖氧化酶基因(*GO*)棉花株系不仅对棉花枯萎病和黄萎病的抗性显著提高,其对苗期炭疽病、立枯病及棉铃疫病的抗性也有显著提高,但转基因株系不抗红腐病。Murray 等^[8]认为,转 *GO* 基因棉花可获得对黄萎病的抗性,但不抗枯萎病。本研究表明,转 *CpTI* 基因对棉花主要病害的发生有不同程度的影响,尤其是早衰和后期叶斑病的显著加重,应引起广泛关注。因此,作者认为,系统评价转基因棉花病害发生消长规律是转基因棉花环境安全评价的重要内容,也是病害综合防治的基础工作。

参考文献:

- [1] 简桂良,卢美光,王凤行,等. 转基因抗虫棉黄萎病综合防治技术体系[J]. 植物保护, 2007, 33(5): 136-140.
JIAN Gui-liang, LU Mei-guang, WANG Feng-xing, et al. Technology system of IPM for *Verticillium* Wilt in transgenic cotton[J]. Plant Protection, 2007, 33(5): 136-140.
- [2] 孙君灵,刘学堂,宋晓轩,等. 转 Bt 基因抗虫棉黄萎病发生规律探讨[J]. 棉花学报, 1998, 10(6): 316-321.
SUN Jun-ling, Liu Xue-tang, Song Xiao-xuan, et al. Studies on the development regularity of *Verticillium* wilt in Bt transgenic cotton[J]. Acta Gossypii Sinica, 1998, 10(6): 316-321.
- [3] 王仁祥. 中国转基因抗虫棉的应用及发展对策[J]. 棉花学报, 2003, 15(3): 180-184.
WANG Ren-xiang. The development and application of transgenic insect-resistant cotton in China[J]. Cotton Science, 2003, 15(3): 180-184.
- [4] 朱荷琴,吴征彬,邹奎. 国家棉花品种区域试验棉花抗枯黄萎病鉴定技术实施方案[J]. 中国棉花, 2007, 34(11): 9-10.
ZHU He-qin, Wu Zheng-bin, Zou Kui. Technical proposal for identification of resistance to *Verticillium* Wilt in national cotton variety regional test[J]. China Cotton, 2007, 34(11): 9-10.
- [5] 朱荷琴,冯自力,宋晓轩,等. 去早蕾对转基因抗虫棉黄萎病及早衰的影响[J]. 棉花学报, 2008, 20(6): 414-417.
ZHU He-qin, Feng Zi-li, Song Xiao-xuan, et al. Effect of removal of early squares on *Verticillium* wilt and premature senescence in Bt transgenic cotton[J]. Cotton Science, 2008, 20(6): 414-417.
- [6] 崔金杰,雒珺瑜,王春义,等. 转双价基因棉田主要害虫及其天敌的种群动态[J]. 棉花学报, 2004, 16(2): 94-101.
CUI Jin-jie, LUO Jun-yu, WANG Chun-yi, et al. Population dynamics of main pests and enemies in the transgenic *CryIAc+CpTI* cotton field[J]. Cotton Science, 2004, 16(2): 94-101.
- [7] 刘慧君,简桂良,邹亚飞. *GO* 基因导入对棉花农艺性状及抗病性的影响[J]. 分子植物育种, 2003, 1(6): 669-672.
LIU Hui-jun, Jian Gui-liang, Zou Ya-fei. Influence of *GO* gene introduction on agronomic characters and disease resistance of cotton[J]. Molecular Plant Breeding, 2003, 1(6): 669-672.
- [8] MURRAY F, Llewellyn D, McFadden H, et al. Expression of the *talaromyces flavus* glucose oxidase gene in cotton and tobacco reduces fungal infection, but is also phytotoxic[J]. Molecular Breeding, 1999, 5(3): 219-232.