

## 低磷胁迫对转基因抗虫玉米苗期生长的影响

苏贺 牛晓雪 陈小文 申婷婷 董学会\*

(中国农业大学 农学与生物技术学院,北京 100193)

**摘要** 为了了解导入 *Bt* 基因是否会引起玉米对磷元素利用能力发生改变,本研究采用转基因抗虫玉米 Bt 38 及其背景材料郑单 958(ZD 958)为试验材料,进行水培试验,设置正常供磷(1 mmol/L)和低磷(1  $\mu$ mol/L)两个水平。结果表明:在相同磷浓度下,ZD 958 与 Bt 38 的某些生物性状、生理性状显著地不同,在生物性状上,正常供磷条件下与 ZD 958 相比,Bt 38 根长极显著降低,全展叶叶面积显著减小,低磷条件下与 ZD 958 相比,Bt 38 株高、根长、茎粗、叶长,叶宽、地上鲜重、地下鲜重均极显著增加,根冠比显著下降;在生理特征上,相同供磷条件下,与 ZD 958 相比,抗虫玉米心叶、全展叶叶绿素含量及 Chla/Chlb 均有显著性变化,抗虫玉米不同部位可溶性糖、淀粉含量、激素含量亦有显著性变化。此外,全展叶中可溶性蛋白含量和抗氧化酶活性也有显著性变化。综上,*Bt* 基因的导入改变了 ZD 958 苗期对磷元素的利用能力,从而使 ZD 958 与 Bt 38 在不同磷环境下表现出不同的生存能力。

**关键词** 玉米; Bt 38; 郑单 958; 抗虫; 低磷胁迫; Cry1Ac

中图分类号 S 513

文章编号 1007-4333(2014)03-0063-10

文献标志码 A

## Effect of low phosphorus stress on insect-resistant maize at seedling stages

SU He, NIU Xiao-xue, CHEN Xiao-wen, SHEN Ting-ting, DONG Xue-hui\*

(College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

**Abstract** In order to explore the difference of phosphorus(P) use efficiency between Bt corn and Non-Bt corn, we take Bt 38 (Bt maize) and the background maize ZD 958 (NON-Bt maize) as experimental materials, using hydroponics at two P concentration levels (1 mmol/L, 1  $\mu$ mol/L) to test the effect. The result showed that some biological traits and physical signs presented significant difference even under the same P concentrations between Bt 38 and ZD 958. Among the biological traits, root length, full-developed leave area from Bt corn decreased markedly under normal P concentration compared with ZD 958. Furthermore, plant height, root length, Stem diameter, leaf length, leaf width, shoot fresh weight, root fresh weight all increased dramatically, while root/shoot ratio decreased significantly. Additionally, among physical signs, compared with Bt 38 vs ZD 958, Chlorophyll content and Chla/Chlb of unfully-developed and fully-developed leaves, solvable sugars and starch content as well as plant hormone content among different part of maize changed markedly. Moreover, solvable proteins content, activities of anti-oxidant enzymes changed significantly under different P concentration treatments. In a word, expression of Cry1Ac affected both biological and physical traits in Bt corn, which lead to diverse viabilities under the same P concentrations.

**Key words** maize; Bt 38; ZD 958; insect-resistant; low phosphorus stress; Cry1Ac

玉米(*Zea mays* L.)不仅是我国重要的粮食、饲料作物,还是重要的工业、能源作物。由于对玉米

的需求持续增长,种植面积逐年增加。自 2008 年起,我国玉米的种植面积便超过了水稻的种植面积,

收稿日期:2013-08-14

基金项目:农业部转基因生物新品种培育重大专项(2013ZX08011-023)

第一作者:苏贺,博士研究生,E-mail:suhe@cau.edu.cn

通讯作者:董学会,教授,主要从事转基因玉米安全评价、玉米高产的化学调控研究,E-mail:xuehuidong@cau.edu.cn

一举成为种植面积最大的作物,种植面积达 2 986 hm<sup>2</sup>[1]。在我国玉米的生产过程中,亚洲玉米螟对玉米产量危害非常严重,每年可造成 600 万~900 万 t 的产量损失[2]。因此,培育抗玉米螟的玉米品种对我国以及世界玉米事业的发展都具有重要意义。苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)杀虫蛋白基因是世界上应用最为广泛的抗虫基因,到目前为止已经分离出超过 180 种的 *Bt* 杀虫晶体蛋白基因,它们主要对鳞翅目、鞘翅目、双翅目等害虫具有较强的抗性[3],美国早在 1997 年便开始批准转 *Bt* 基因玉米杂交种生产与销售,至 2008 年,其国内便有超过 50% 的玉米种植面积均为转 *Bt* 基因玉米,截至 2008 年,全世界转 *Bt* 基因玉米的种植面积已经超过 800 万 hm<sup>2</sup>[4],然而,有文献表明,转 *Bt* 基因玉米中某些微量矿质营养的吸收利用受到限制,对转 *Bt* 基因玉米产量和品质的提高不利[5]。

土壤缺磷是指土壤中缺乏维持植物生长所必须的无机态磷,是全世界范围内引起作物生长不良而严重减产的主要原因之一[6]。为了解外源 *Bt* 基因导入对玉米磷素的吸收、利用能力的影响,以抗虫玉米 Bt 38 及其背景材料非抗虫玉米 ZD 958 为试验材料,对比 2 种玉米在低磷胁迫下的生物性状与生理性状,比较 2 种玉米对磷素的吸收与利用能力的异同,试图从一个全新的角度对抗虫玉米的生产进行安全评价,为抗虫玉米的推广与应用提供理论指导,也为磷高效玉米的选育工作奠定理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

抗虫玉米(Bt 38),背景材料郑单 958(ZD 958)。种子由中国农业大学玉米中心提供。本试验于 2012 年 5 月至 6 月在中国农业大学农学与生物技术学院的人工气候恒温培养箱和转基因基地温室进行。

### 1.2 材料培养

挑选大小一致的玉米种子各 100 粒,用 1% NaClO 溶液消毒 15 min,去离子水冲洗 3 次,播种于发芽盒(长×宽×高为 26 cm×18 cm×15 cm)砂床中(湿砂含水量 20%),置于恒温培养箱中 25℃ 恒温、暗环境下培养 4 d 后挑选整齐一致的幼苗(去掉胚乳)(6 株一组,5 个重复)于包裹有铝箔(根系避光)的水培盒中培养(容量为 5 L)。低磷处理之前,将幼苗培养在 Hoagland 全营养液中 7 d,再转入不同磷浓度的 Hoagland 营养液中,每 4 天换 1 次营养

液,昼夜保持通气,培养 12 d 后取样。

### 1.3 营养液组成

营养液组分浓度(mmol/L): Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 4.0; KNO<sub>3</sub> 5.0; MgSO<sub>4</sub> 2.0; NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.0; EDTA-Fe 0.1; Mn(Cl)<sub>2</sub> 0.01; CuSO<sub>4</sub> 0.001; ZnSO<sub>4</sub> 0.001; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 0.033; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> 0.0002; 低磷的营养液中 NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 浓度为 1.0 μmol/L, 缺少的 N 以 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 补齐。

### 1.4 样品处理

水培结束后,每个重复中取出 1 株长势一致的玉米植株,测量株高、根长、最上部全展叶,茎粗,再将植株分为地上部、地下部两部分,分别称重。称重后将植株样品于 105℃ 杀青 1 h, 80℃ 烘至恒重,用粉样机粉碎,过 40 目筛,用于测定可溶性糖及淀粉含量。将余下的植株分样,液氮处理 15 min,保存于 -40℃ 冰箱中备用。

### 1.5 试验仪器

上海仪器有限公司生产的尤尼科 WF UV-4802H 型分光光度计,试验所用药品均为分析纯。

### 1.6 试验方法

株高:用直尺从茎节基部开始测量,直至叶片伸展最远端处(最大株高)。

茎粗:用游标卡尺测量玉米基部最粗处,以测量的最大粗度为茎粗。

根长:从茎节基部根生长位置开始至根尖集中部位。

叶长:从叶片与叶鞘接合处开始至叶片最末端。

叶宽:叶片的最大宽度。

叶面积计算公式:

$$\text{叶面积} = \text{叶长} \times \text{叶宽} \times 0.75$$

式中 0.75 为展开叶的校正系数[7]。

鲜重及干重:将待测植株依次用自来水、蒸馏水冲洗干净,然后用吸水纸吸干表面水分,分为地上部、地下部,用精确度为 0.01 g 的电子天平称重。

叶绿素含量测定:将收获的心叶、全展叶分别剪碎、混匀,称取 0.2 g,加 10 mL 乙醇/丙酮(1:1)在摇床中浸提 2 次,混合浸提液,测吸光值[8]。

可溶性糖与淀粉含量测定:称取 0.05 g 干样,蒽酮比色法测定。

植物组织激素含量测定:采用 ELISA 法[9]。称取 0.2 g 鲜样,放入预冷的研钵中,按 1:3(W:V)加入 4℃ 条件下预冷的 80% 甲醇提取液(含 22 mg BHT/100 mL)、少量石英砂和 0.1 g PVP,冰浴条

件下研磨成匀浆,4℃浸提8 h,4℃,10 000 r/min离心10 min,取上清备测。

全展叶中CAT、SOD活性测定:准确称取玉米叶片0.5 g,加入预冷的50 mmol/L pH 7.0磷酸缓冲液(含1%聚乙烯吡咯烷酮)6 mL,冰浴研磨至匀浆。4℃,10 000 r/min,离心15 min,取上清置于4℃备用。考马斯亮蓝法测定可溶性蛋白含量、过氧化物酶(POD)活性、超氧化物歧化酶(SOD)活性和CAT活性测定方法参照李合生的方法<sup>[10]</sup>。

### 1.7 统计分析

统计软件使用Excel 2007整理数据,用SPSS 20.0进行方差分析,方差分析采用2×2两因素、两水平方差分析,进行方差分析前应对数据进行方差同质性检验,如果方差不同质,则对数据进行倒数转换或正弦转化,使检验数据方差同质,结果展示时仍用转换前的数据。相同磷水平不同基因型数据间的比较采用独立样本T检验法。

## 2 结果与分析

### 2.1 生物性状分析

由表1可知,玉米苗的10个性状中,除株高以外,其他生物性状受基因型影响均不显著;除叶长与

地下鲜重外,磷水平对玉米的生物学性状影响均显著;基因型与磷水平交互作用对叶长影响不显著,对其他各生物学性状影响均显著。

由表2可知,正常供磷下,ZD 958根长与叶面积积极显著高于Bt 38,其他各生物性状差异不显著;低磷条件下,ZD 958与Bt 38除叶面积差异不显著以外,其他生物性状差异均显著,Bt 38除根冠比显著低于ZD 958,其他各性状均极显著高于ZD 958。

### 2.2 叶绿素含量分析

由表3可知,Bt基因对玉米心叶Chla含量、Chla/Chlb值的影响均显著,对玉米全展叶Chla含量、Chlb含量、Chla/Chlb值影响均达到极显著水平。此外,磷水平对玉米全展叶Chla/Chlb值影响显著。

由表4可知,正常供磷条件下,ZD 958心叶Chla含量显著低于Bt 38,全展叶Chla含量显著高于Bt 38,Chla/Chlb值显著低于Bt 38;低磷条件下,ZD 958心叶Chla含量、Chlb含量以及Chla/Chlb值均显著低于Bt 38;全展叶Chla含量、Chlb含量极显著高于Bt 38,Chla/Chlb值极显著低于Bt 38。

表1 苗期玉米生物学性状基因型、磷水平两因素方差分析

Table 1 Variance analysis results of two factors(genotypes,phosphorus concentrations) of maize biological traits at seedling stage

变异来源 Source of variation	自由度 Df	F 值 F values								
		株高 Plant height	根长 Root length	茎粗 Stem diameter	叶长 Leaf length	叶宽 Leaf width	叶面积 Leaf area	地上鲜重 Shoot fresh weight	地下鲜重 Root fresh weight	根冠比 Root shoot ratio
		基因型 Genotype	1	22.28**	0.71	0.01	0.96	1.12	4.43	0.19
磷水平 P level	1	167.46**	22.87**	35.54**	0.11	104.54**	106.92**	48.38**	2.90	209.42**
基因型×磷水平 Genotype×P level	1	50.47**	27.00**	9.47*	1.57	13.54**	24.80**	7.29*	5.68*	9.39*

注:\*\*为差异极显著( $P<0.01$ ),\*为差异显著( $P<0.05$ ),下表同。

Note:\*\* means the effect of variation on parameters is significant at 0.01 level,\* means the effect of variation on parameters is significant at 0.01 level,same as follows.

表2 相同磷环境下不同基因型玉米生物性状比较

Table 2 Biological traits of different genotype maize under same P concentration at seedling stage

磷水平 P level	基因型 Genotype	株高/cm Plant height	根长/cm Root length	茎粗/mm Stem diameter	叶长/cm Leaf length	叶宽/ cm Leaf width	叶面 积/cm <sup>2</sup> Leaf area	地上鲜重/g Shoot fresh weight	地下鲜重/g Root fresh weight	根冠比 Root shoot ratio
HP	ZD 958	70.63± 1.90 a	48.33± 1.21 A	9.98± 0.39 a	52.87± 1.64 a	3.73± 0.11 a	22.32± 0.80 A	17.40± 1.25 a	4.87± 0.39 a	0.28± 0.02 a
	Bt 38	65.43± 1.90 a	41.03± 1.21 B	8.75± 0.39 a	47.33± 1.64 a	3.40± 0.11 a	16.64± 0.80 B	13.47± 1.25 a	3.93± 0.39 a	0.29± 0.02 a
LP	ZD 958	42.80± 1.90 B	47.83± 1.21 B	6.49± 0.39 B	30.57± 1.64 B	2.40± 0.11 B	10.05± 0.80 a	5.30± 1.25 B	3.27± 0.39 B	0.62± 0.02 a
	Bt 38	55.67± 1.90 A	53.10± 1.21 A	7.64± 0.39 A	40.67± 1.64 A	2.73± 0.11 A	12.35± 0.80 a	8.13± 1.25 A	4.20± 0.39 A	0.52± 0.02 b

注:表中值为边际均值±标准误差,结果为相同磷水平不同基因型间比较结果,不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ),不同大写字母表示差异极显著( $P<0.01$ ),下同。

Note: The data represent the marginal means ± standard errors between different genotypes under same phosphorus concentration. Different lowercase in a column mean significant difference at the 0.05 level. Different uppercase in a column mean significant difference at 0.01 level, same as follows.

表3 苗期叶片叶绿素基因型、磷水平两因素方差分析

Table 3 Variance analysis results of two factors (genotypes, phosphorus concentrations) of chlorophyll content at seedling stage

取样部位 Sampling parts	变异来源 Source of variation	自由度 Df	Chla F 值 Chla F value	Chlb F 值 Chlb F value	Chla/Chlb F 值 Chla/Chlb F value
心叶 Unfull-developed leaves	基因型 Genotype	1	9.20*	5.02	6.90*
	磷水平 P level	1	1.21	2.39	0.47
	基因型×磷水平 Genotype×P level	1	1.06	0.46	0.87
全展叶 Full-developed leaves	基因型 Genotype	1	57.00**	48.10**	34.56**
	磷水平 P level	1	2.57	2.54	5.86*
	基因型×磷水平 Genotype×P level	1	2.80	1.79	2.86

表 4 相同磷环境下不同基因型玉米叶绿素含量比较

Table 4 Chlorophyll contents of different genotype maize under same P concentration at seedling stage mg/g

磷水平 P level	基因型 Genotype	心叶 Unfull-developed leaves			全展叶 Full-developed leaves		
		Chla 含量	Chlb 含量	Chla/Chlb	Chla 含量	Chlb 含量	Chla/Chlb
		Chla content	Chlb content		Chla content	Chlb content	
HP	ZD 958	0.72±0.14 b	0.20±0.04 a	3.56±0.17 a	2.02±0.10 a	0.46±0.03 a	4.41±0.13 b
	Bt 38	1.30±0.14 a	0.31±0.04 a	4.16±0.17 a	1.42±0.10 b	0.29±0.03 b	4.95±0.13 a
LP	ZD 958	1.02±0.14 b	0.28±0.04 b	3.60±0.17 b	2.03±0.10 A	0.45±0.03 A	4.51±0.13 B
	Bt 38	1.31±0.14 a	0.34±0.04 a	3.89±0.17 a	1.09±0.10 B	0.20±0.03 B	5.47±0.13 A

2.3 可溶性糖含量及淀粉含量分析

由表 5 可知,基因型及磷水平对玉米地上部可溶性糖含量影响不显著,两者的交互作用对地上部淀粉含量影响显著;基因型、磷水平及两者的交互作用对地下部可溶性糖含量影响极显著,磷水平对地

下部淀粉含量影响极显著。

由表 6 可知,正常供磷时,ZD 958 地上部淀粉含量显著高于 Bt 38,地下部淀粉含量极显著低于 Bt 38;低磷条件下,ZD 958 与 Bt 38 各部位可溶性糖、淀粉含量影响不显著。

表 5 可溶性糖含量与淀粉含量基因型、磷水平两因素方差分析

Table 5 Variance analysis results of two factors(genotypes,phosphorus concentrations) of soluble sugars content and starch content at seedling stage

取样部位 Sampling parts	变异来源 Source of variation	自由度 Df	可溶性糖含量 F 值 Solvable sugars F value	淀粉含量 F 值 Starch content F value
地上部 Shoot	基因型 Genotype	1	0.91	0.36
	磷水平 P level	1	0.12	0.06
	基因型×磷水平 Genotype×P level	1	2.32	5.61*
	基因型 Genotype	1	11.40*	0.13
	磷水平 P level	1	96.66**	16.04**
地下部 Root	基因型×磷水平 Genotype×P level	1	17.87**	0.57

表 6 相同磷环境下不同基因型玉米可溶性糖和淀粉含量比较

Table 6 Soluble sugars and starch contents of different genotype maize under same P concentration at seedling stage mg/g

磷水平 P level	基因型 Genotype	地上部 Shoot		地下部 Root	
		可溶性糖含量	淀粉含量	可溶性糖含量	淀粉含量
		Solvable sugars content	Starch content	Solvable sugars content	Starch content
HP	ZD 958	1.19±0.07 a	11.50±1.10 a	1.20±0.11 a	8.56±1.28 B
	Bt 38	1.32±0.07 a	8.63±1.10 b	1.30±0.11 a	10.36±1.28 A
LP	ZD 958	1.23±0.07 a	8.24±1.10 a	2.74±0.11 a	16.09±1.28 a
	Bt 38	1.15±0.07 a	10.57±1.10 a	1.91±0.11 a	14.91±1.28 a

## 2.4 激素含量分析

由表7可知,基因型对全展叶 ABA 含量有显著影响,对全展叶 ZR 含量影响极显著对其他部位激素含量影响不显著,磷水平对全展叶各激素含量影响均达到极显著水平,对其他各部位激素含量影响不显著。此外,基因型与磷水平的交互作用对心叶 GA 值影响极显著,对全展叶、根的 ZR 含量影响极显著。

由表8可知,正常供磷条件下,ZD 958 心叶 GA 含量显著高于 Bt 38,ABA 和 ZR 含量同 Bt 38 差异不显著;ZD 958 全展叶 ZR 含量极显著低于 Bt 38,根中各激素含量差异不显著。低磷条件下,ZD 958 与 Bt 799 各激素含量差异不显著,ZD 958 全展叶 ABA 含量显著低于 Bt 799,此外,ZD 958 根中 ZR 含量显著低于 Bt 38。

表7 苗期叶片与根中激素含量基因型、磷水平两因素方差分析

Table 7 Variance analysis results of two factors(genotypes,phosphorus concentrations) of plant hormones at different part of maize at seedling stage

取样部位 Sampling parts	变异来源 Source of variation	自由度 Df	赤霉素 F 值 GA F value	脱落酸 F 值 ABA F value	细胞分裂素 F 值 ZR F value
心叶 Unfull-development leaves	基因型 Genotype	1	3.37	0.46	0.04
	磷水平 P level	1	2.65	0.50	2.65
	基因型×磷水平 Genotype×P level	1	15.73**	0.01	3.79
全展叶 Full-developed leaves	基因型 Genotype	1	3.77	8.06*	24.40**
	磷水平 P level	1	13.58**	53.04**	41.59**
	基因型×磷水平 Genotype×P level	1	1.06	8.08*	22.89**
根 Root	基因型 Genotype	1	0.24	0.89	0.80
	磷水平 P level	1	2.90	0.01	1.80
	基因型×磷水平 Genotype×P level	1	0.52	2.25	25.02**

表8 相同磷环境下,不同基因型玉米激素含量比较

Table 8 Plant hormones contents at different part among different genotype maize under same P concentration at seedling stage

取样部位 Sampling parts	磷水平 P level	基因型 Genotype	赤霉素含量 GA content	脱落酸含量 ABA content	细胞分裂素含量 ZR content
心叶 Unfull-development leaves	HP	ZD 958	12.64±1.19 b	764.92±63.26 a	201.98±24.42 a
		Bt 38	19.56±1.19 a	813.93±63.26 a	159.46±24.42 a
	LP	ZD 958	19.31±1.19 a	726.61±63.26 a	148.03±24.42 a
		Bt 38	16.77±1.19 a	763.20±63.26 a	200.56±24.42 a

ng/g

表 8(续)

取样部位 Sampling parts	磷水平 P level	基因型 Genotype	赤霉素含量 GA content	脱落酸含量 ABA content	细胞分裂素含量 ZR content
全展叶 Full-development leaves	HP	ZD 958	33.62±3.10 a	1068.93±52.33 a	193.23±13.41 B
		Bt 38	22.18±3.10 a	1068.77±52.33 a	323.62±13.41 A
	LP	ZD 958	18.09±3.10 a	539.05±52.33 b	170.91±13.41 a
		Bt 38	16.95±3.10 a	836.34±52.33 a	172.99±13.41 a
根 Root	HP	ZD 958	21.86±1.74 a	537.24±47.89 a	183.15±10.82 a
		Bt 38	19.75±1.74 a	420.22±47.89 a	138.73±10.82 a
	LP	ZD 958	17.63±1.74 a	459.79±47.89 a	114.53±10.82 b
		Bt 38	18.04±1.74 a	486.49±47.89 a	178.29±10.82 a

2.5 玉米全展叶中可溶性蛋白含量及抗氧化酶活性分析

由表 9 可知,基因型极显著地影响了玉米全展叶可溶性蛋白含量和 SOD 活性,显著地影响了叶片的 POD 活性、SOD 比活力;磷水平对 CAT 活性影响不显著,对其他各指标影响均达到极显著水平;基因型与磷水平的交互作用对可溶性蛋白含量、POD 比活力影响极显著,对其他指标的影响不显著。

由表 10 可知,正常磷条件下,ZD 958 POD 活性和 SOD 活性均显著低于 Bt 38,SOD 比活力极显著低于 Bt 38,可溶性蛋白含量及 CAT 活性与 Bt 38 差异不显著;低磷环境下,ZD 958 可溶性蛋白含量极显著低于 Bt 38,POD 活性与 Bt 38 差异不显著,但是比活力显著高于 Bt 38,SOD 活性极显著低于 Bt 38,SOD 比活力与 Bt 38 差异不显著。

表 9 苗期全展叶可溶性蛋白含量,抗氧化酶活性基因型、磷水平两因素方差分析

Table 9 Variance analysis results of two factors(genotypes,phosphorus concentrations) of anti-oxidant enzymes activities in full-developed leaves at seedling stage

变异来源 Source of variation	自 由 度 Df	F 值 F values						
		可溶性蛋白含量 Solvable proteins content	过氧化物酶活性 POD activity	过氧化物酶比活力 POD specific activity	过氧化氢酶活性 CAT activity	过氧化氢酶比活力 CAT specific activity	超氧化物酶活性 SOD activity	超氧化物酶比活力 SOD specific activity
基因型 Genotype	1	16.77**	9.13*	0.42	0.03	0.02	67.67**	8.06*
磷水平 P level	1	128.82**	24.41**	27.00**	5.11	220.55**	10.95*	130.73**
基因型×磷水平 Genotype×P level	1	23.41**	1.21	14.49**	0.13	0.33	3.60	1.04

表 10 相同磷环境下,不同基因型玉米全展叶抗氧化酶活性比较

Table 10 Anti-oxidant enzymes of full-developed leaves among different genotype maize under same P concentration at seedling stage

磷水平 P level	基因型 Genotype	可溶蛋白含量 Solvable proteins content	过氧化物 酶活性 POD activity	过氧化物 酶比活力 POD specific activity	过氧化氢 酶活性 CAT activity	过氧化氢 酶比活力 CAT specific activity	超氧化物 酶活性 SOD activity	超氧化物 酶比活力 SOD specific activity
HP	ZD 958	10.19± 0.59 a	2 533.19± 125.56 b	248.26± 20.89 a	30.40± 1.75 a	2.98± 0.19 a	172.55± 10.07 b	16.96± 1.85 B
	Bt 38	9.88± 0.59 a	3 050.93± 125.56 a	314.19± 20.89 a	30.49± 1.75 a	3.13± 0.19 a	236.32± 10.07 a	24.10± 1.85 A
LP	ZD 958	4.68± 0.59 B	2 051.07± 125.56 a	436.34± 20.89 a	3.61± 1.75 a	0.77± 0.19 a	186.79± 10.07 B	39.99± 1.85 a
	Bt 38	6.70± 0.59 A	2 292.25± 125.56 a	343.22± 20.89 b	4.96± 1.75 a	0.73± 0.19 a	288.77± 10.07 A	43.35± 1.85 a

注:蛋白质含量单位,mg/g;酶活性单位,U/(g·min);比活力单位,U/(mg·min)。

Note:Protein content units, mg/g;enzyme activity units, U/(g·min); enzyme specific activity units, U/(mg·min).

## 2.6 苗期各生物性状间相关性分析

株高、茎粗之间呈极显著正相关,根长与其他各生物性状间相关性不显著。

表 11 结果表明,苗期玉米生物量与全展叶叶面积、株高、茎粗之间呈极显著正相关,叶面积同玉米

表 11 苗期玉米各生物指标间相关性分析

Table 11 Correlation analysis among maize biological traits at seedling stage

性状 character	生物量 Biomass	叶面积 Leaf area	株高 Plant height	根长 Root length	茎粗 Stem diameter
生物量 Biomass	1.000	0.879**	0.879**	-0.076	0.909**
叶面积 Leaf area	0.879**	1.000	0.818**	-0.137	0.909**
株高 Plant height	0.879**	0.818**	1.000	-0.076	0.788**
根长 Root length	-0.076	-0.137	-0.076	1.000	-0.046
茎粗 Stem diameter	0.909**	0.909**	0.788**	-0.046	1.000

注:相关系数为 Kendall 相关系数,\*\*表示变量间相关性极显著( $P<0.01$ ),\*表示变量间相关性显著( $P<0.05$ )。

Note:The correlation coefficient refer to Kendall coefficient,\*\* means correlation between parameters is significant at 0.01 level and \* means significant at 0.05 level.



### 3 讨 论

苗期全展叶是玉米重要的功能叶,面积大小与光合能力存在重要的相关性,叶片光合能力还与叶绿素含量有关。光合作用的主要产物是碳水化合物,可分为结构性碳水化合物(Structural carbohydrates)和非结构性碳水化合物(Non-structural carbohydrates)<sup>[11]</sup>,前者主要构成植物的基本结构,后者包括可溶性糖和淀粉,是植物体内主要的能量储存形式。在利用过程中糖本身及产生的衍生物很大程度上影响着植株的生长发育以及对环境因子的响应<sup>[12]</sup>。植物可溶性蛋白包含代谢相关酶、转录因子以及与逆境相关蛋白,当受到胁迫时(干旱、盐分、污染物等),一些原有蛋白质合成受到抑制或促进,一些新的蛋白质开始合成<sup>[13-14]</sup>,可溶性蛋白含量变化能影响植物的能量代谢,抗逆代谢以及形态建成;活性氧清除酶是保证植物体内物质与能量代谢正常进行的先决条件,如果细胞内活性氧清除酶活性不足,便会引发代谢紊乱,对植物造成伤害。

本项目重点研究 *Bt* 基因的导入是否会引起 ZD 958 对磷元素的利用能力发生改变,对比正常供磷、低磷胁迫两种条件下 *Bt* 38 和 ZD 958 生物性状间的差异,通过测量玉米各部位可溶性糖、淀粉含量,各部位激素含量以及全展叶可溶性蛋白含量、抗氧化酶活性,试图从植物代谢的角度解释 *Bt* 基因导入使玉米磷元素利用能力改变的原因。

#### 3.1 正常供磷条件下 ZD 958 与 *Bt* 38 磷利用能力比较

作为重要的功能叶,全展叶叶面积与叶绿素含量对玉米生物量的影响具有积极意义。正常供磷条件下,ZD 958 叶面积、叶绿素含量、地上部淀粉含量均显著高于 *Bt* 38,ZD 958 生物量比 *Bt* 38 生物量高 28.0%,ZD 958 表现出更强的磷利用能力。尽管苗期 *Bt* 38 没有比全展叶 POD 活性、SOD 活性以及 SOD 比活力比 ZD 958 高,但比 *Bt* 38 具有更弱的磷利用能力没有表现出正相关性。

#### 3.2 低磷条件下 ZD 958 与 *Bt* 38 磷利用能力比较

低磷条件下,ZD 958 叶面积比 *Bt* 38 叶面积低 18.6%,差异不显著。ZD 958 全展叶叶绿素含量极显著高于 *Bt* 38,ZD 958 株高、根长、生物量均极显著低于 *Bt* 38,ZD 958 表现出更弱的磷利用能力,此外,*Bt* 38 全展叶可溶性蛋白含量与 SOD 活力显著

高于 ZD 958。

全展叶叶绿素含量比较结果表明 ZD 958 全展叶光合能力强于 *Bt* 38,但生物量却显著低于 *Bt* 38。产生这样的现象可能有三个原因:第一,ZD 958 心叶叶绿素含量显著低于 *Bt* 38,对全展叶光合能力弱有一定补偿作用;第二,ZD 958 心叶和全展叶 Chla/Chlb 值均显著低于 *Bt* 38,这与童方平等<sup>[15]</sup>观点一致,即 Chla/Chlb 值越高,植物叶片光合活性越强;第三,缺磷使细胞生长缓慢,导致叶绿素含量相对提高<sup>[16]</sup>。

#### 3.3 ZD 958 和 *Bt* 38 在不同磷环境下的总体表现及原因

低磷胁迫可促进光合产物向根系运输,保证根系优先生长,从而使根系获得更大的吸收表面积,进而表现为根冠比增加<sup>[17]</sup>。本试验中,低磷胁迫使 ZD 958 根冠比增加 141.7%,*Bt* 38 根冠比增加 79.3%。主根伸长与侧根增加是玉米应对低磷胁迫重要的生理特征<sup>[18]</sup>。

从本试验的试验结果可知,在正常磷环境条件下,*Bt* 38 对磷的利用能力比 ZD 958 弱,在低磷环境下,*Bt* 38 对磷的利用能力比 ZD 958 强。在磷充足时,ZD 958 全展叶 GA 含量比 *Bt* 38 高 51.6%,利于叶片的伸展<sup>[19]</sup>,使 ZD 958 获得更大的叶面积,更强的光合能力。此外,ZD 958 根系 ZR 含量比 *Bt* 38 高 32.0%,更能促进根系的生长,使 ZD 958 具有更强的磷吸收能力。在磷缺乏时,ZD 958 全展叶 GA 含量下降率约为 *Bt* 38 的 2 倍,叶面积比 *Bt* 38 小 18.6%,*Bt* 38 在心叶叶绿素含量、心叶及全展叶 Chla/Chlb 值的变化使 *Bt* 38 在低磷条件下保持着最强的光合能力,ZD 958 根 ZR 含量比 *Bt* 38 低 35.8%,ZD 958 根长极显著低于 *Bt* 38,使 *Bt* 38 在低磷条件下能保持比 ZD 958 更高的磷吸收能力。此外,*Bt* 38 可溶性蛋白含量极显著高于 ZD 958,表明 *Bt* 38 在低磷胁迫下保持了更强的代谢活动,或诱发了更多响应逆境的代谢途径,使 POD 活性比 ZD 958 高 11.8%,SOD 活性极显著高于 ZD 958。至于 *Bt* 38 的 POD 比活力显著低于 ZD 958,可能是由 ZD 958 蛋白含量显著低于 *Bt* 38 引起的。

#### 3.4 前人对转基因作物营养利用能力发生改变的研究

陈小文<sup>[4]</sup>对自交系转 *Bt* 基因玉米及受体玉米郑 58 对磷胁迫耐性的研究表明,正常供磷条件下,转 *Bt* 基因玉米的生存能力强于郑 58,低磷胁迫下,

Bt 38 的生存能力弱于郑 58, 这与本试验的研究结果不同, 研究结果的差异可能是由玉米材料的不同引起的, ZD 958 和 Bt 38 均是生产用的玉米杂交种, 这与田晓莉等<sup>[20]</sup>对抗虫棉和常规棉耐, 抗虫棉自交系和抗虫棉杂交种低钾而受能力比较的结果相同。

综上所述, 外源 *Bt* 基因的导入, 改变了玉米对磷元素的利用能力, 影响了玉米对低磷胁迫的耐受能力。在玉米苗期, 正常供磷条件下, ZD 958 比 Bt 38 具有更强的生存能力, 低磷胁迫下, ZD 958 的生存能力弱于 Bt 38, 此外, *Bt* 基因的导入对自交系玉米及杂交种玉米影响不完全相同。由于本试验只对杂交种抗虫玉米苗期的缺磷症状进行了研究, 还不能全面揭示 *Bt* 基因对玉米各个生育时期磷利用能力的影响。因此, 还需要进行时间更长、领域更广的深入研究。

#### 4 结论

外源基因的导入, 对植物的影响可能并不唯一。因此, 在转基因抗虫玉米推广应用之前, 应至少增加两方面的评价: 第一, 应考虑抗虫玉米对主要营养元素吸收利用能力是否发生改变, 以预测推广过程中是否会有新的风险, 通过调整转基因玉米的最适生产区, 以避免在推广过程中发生重大的经济、生态损失。第二, 可以利用外源基因导入对作物营养利用能力的影响指导高营养效率转基因玉米的培育。

#### 参 考 文 献

[1] 中国农业年鉴编辑委员会. 中国农业年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2009

[2] 周大荣. 我国玉米螟的发生、防治与研究进展[J]. 植保技术与推广, 1996, 16(2): 38-40

[3] 修伟明, 刘红梅, 李刚, 等. 转 *Bt* 基因抗虫玉米发展状况及对非靶标昆虫的影响[J]. 玉米科学, 2009, 17(4): 1-6

[4] 陈小文. 转 *Bt* 基因玉米生存竞争能力评价研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2012

[5] 郝彦玲, 芮玉奎, 郭晶, 等. *Bt* 玉米中微量元素锂、硒、铜、铬含量测定[J]. 光谱学与光谱分析, 2007, 27(8): 1638-1639

[6] Matthias Wissuwa. How do plants achieve tolerance to phosphorus deficiency? Small causes with big effects[J]. Plant physiol, 2003, 133(4): 1947-1958

[7] 曹一平, 林翠兰, 王兴仁. 两种玉米基因型磷效率的差异[J]. 土壤肥料, 1992(4): 27-30

[8] 张宪政. 植物叶绿素含量测定: 丙酮乙醇混合液法[J]. 辽宁农业科学, 1986(3): 26-28

[9] 何仲佩. 农作物化学控制实验指导[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1993: 60-69

[10] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2001: 184-185

[11] Korner C H. Carbon limitation in trees[J]. Journal of Ecology, 2003, 91: 4-17

[12] 潘庆民, 韩兴国. 植物非结构性贮藏碳水化合物的生理生态学研究进展[J]. 植物学通报, 2002, 19(1): 30-38

[13] 蒋继志, 王金胜. 分子生物学[M]. 北京: 科学出版社, 2011: 200

[14] 李妮亚, 高俊凤, 汪沛洪. 小麦幼苗水分胁迫诱导蛋白的特征[J]. 植物生理学报, 1998, 24(1): 65-71

[15] 童方平, 方伟, 马履一, 等. 水分胁迫下湿地松优良半同胞家系光合色素的响应[J]. 中国农学通报, 2006, 22(11): 97-102

[16] 陈国祥, 刘双, 王娜, 等. 磷对水生植物菱及睡莲叶生理活性的影响[J]. 南京师范大学学报: 自然科学版, 2002, 25(1): 71-76

[17] 李海波, 夏铭, 吴平. 低磷胁迫对水稻苗期侧根生长及养分吸收的影响[J]. 植物学报, 2001, 43(11): 1154-1160

[18] Kunpeng Li, Zhongping Xu, Kewei Zhang, et al. Efficient production and characterization for maize inbred lines with low-phosphorus toleranc[J]. Plant Sci, 2007, 172(2): 255-264

[19] Brian P W. Effects of Gibberellins on plant growth and development[J]. Bio Rev, 1959, 34(1): 37-77

[20] 田晓莉, 王刚卫, 杨富强, 等. 棉花不同类型品种耐低钾能力的差异[J]. 作物学报, 2008, 34(10): 1770-1780

责任编辑: 袁文业