

# 低磷胁迫对转基因抗虫玉米苗期 Bt 蛋白 和磷利用效率的影响

申婷婷 李金 苏贺 詹延廷 蒲俊 董学会\*

(中国农业大学 农学与生物技术学院,北京 100193)

**摘要** 为研究低磷胁迫(LP)、正常条件(HP)2个处理对转 *Bt* 基因玉米和郑单 958 根系形态以及磷利用效率的影响。以转 *Bt* 基因玉米(Bt799)和受体郑单 958 为试验材料,进行温室水培试验。研究证明:1)低磷胁迫后 Bt799 的根长、根鲜重和根冠比升高幅度高于郑单 958,就总根长、根系投影面积总和、根表面积、根平均直径、单位立方米总根长和根总容积而言,Bt799 玉米的 LP/HP 是郑单 958 玉米 LP/HP 的 1.13、1.19、1.33、1.18、1.14 和 1.55 倍。2)低磷胁迫降低各叶位 Bt 蛋白量,根部除根基处 1~7 cm Bt 蛋白量上升以外,其余根系均下降。在正常处理下,Bt799 全株和根系 Bt 蛋白总量为 1 750 和 423 ng,低磷处理下 Bt799 分别为 1 470 和 784 ng。3)低磷胁迫下 2 种玉米叶片和根系磷含量和磷积累量显著降低,各叶位磷占总磷比例显著下降,但根系磷占总磷比例反而升高。研究表明,Bt799 通过根长、根表面积和根系直径等形态变化来优化其空间分布构型,吸收更多的磷元素,但向叶片转运磷元素的能力较弱。

**关键词** 低磷胁迫;转 *Bt* 基因玉米;Bt 蛋白;根系形态;磷利用效率

中图分类号 S 513

文章编号 1007-4333(2015)03-0015-09

文献标志码 A

## Effect of low phosphorus stress on Bt protein and P efficiencies in transgenic maize

SHEN Ting-ting, LI Jin, SU He, ZHAN Yan-ting, PU Jun, DONG Xue-hui\*

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

**Abstract** To clarify the effects of low-phosphorous on Bt protein, root morphology and efficiencies, we took Bt799 and the back-ground ZhengDan958 as experimental materials to carry out hydroponics test. The results showed that: 1) Root length, root fresh weight and root shoot ratio of Bt 799 rose more than those of ZhengDan958 under P-deficient condition. The ratio of P-deficient and P-sufficient (LP/HP) of Bt 799 were 1.13, 1.19, 1.33, 1.18, 1.14 and 1.55 times higher than LP/HP (Zhengdan 958) in root total length, root projected area, root surface area, root average diameter, root total length per cubic meter and root volume. 2) The leaf Bt protein expression content decreased, the same as root except 1-7 cm root base. Total Bt protein content of entire Bt799 and root were 1 750 and 423 ng under P-sufficient, while under P-deficient condition they were 1 470 and 784 ng. 3) In different positions of both maize, P concentration and P accumulation decreased dramatically under P-deficient, the percentage of leaf P amount to total P amount decreased significantly, root showed the opposite trend. We conclude that Bt 799 optimized the spatial distribution of root to absorb more P element through the changes of morphological characteristics such as root length, root surface area, root diameter and so on, but the P transport ability to upper leaf is weak.

**Key words** P-deficient; Bt799; Bt protein; root morphology; P efficiencies

收稿日期: 2014-10-27

基金项目: 农业部新品种培育重大专项(2013ZX08011)

第一作者: 申婷婷, 硕士研究生, E-mail: 639725256@qq.com

通讯作者: 董学会, 教授, 主要从事药用植物及玉米转基因玉米安全评价研究, E-mail: xuehuidong@cau.edu.cn

磷是作物生长发育所必需的大量营养元素之一,它既是细胞质和细胞核的主要成分,同时又直接参与植物体内糖、蛋白质和脂质的代谢。在低磷土壤条件下,大多数玉米植株生长放缓,株高降低,根系分泌物增加,根系发达,有利于玉米植物对低磷土壤的适应和有限磷的吸收<sup>[1]</sup>。

磷参与并促进植物的氮代谢,蛋白质的合成和分解都有磷的参与,由于体内硝态氮的积累以及磷素供应不足影响蛋白质的合成,新的细胞形成相对较少,导致细胞分裂减少,进一步影响玉米的生长<sup>[2]</sup>。研究表明低磷胁迫降低青豆可溶性蛋白和氨基酸的含量,同时抑制氮代谢相关酶活性,进而影响青豆的生物量<sup>[3]</sup>,降低小麦中国春-synthetic6x染色体代换系及其亲本可溶性蛋白含量<sup>[4]</sup>,降低玉米籽粒蛋白质、氨基酸以及一些必需氨基酸的含量,对高油玉米磷素与籽粒营养品质的相关分析表明,植物的吸磷量与蛋白质的产量在一定程度上呈正相关<sup>[5]</sup>。转 *Bt* 基因玉米是全球商品化最快的抗虫转基因作物之一,它通过转入苏云金芽孢杆菌 (*Bacillus thuringiensis*) 的晶体蛋白基因使玉米自身产生抗虫蛋白而达到抗虫的目的,对靶害虫玉米螟有很好的控制作用。随着越来越多的转 *Bt* 基因作物在全球大规模商业化种植,其对环境及土壤生态系统以及在土壤逆境下的风险评价受到广泛的关注<sup>[6-7]</sup>。逆境胁迫可能引起植物一些基因表达的变化,某些正常蛋白质合成受阻,逆境蛋白质合成加强,使植物代谢和物质结构发生变化<sup>[8]</sup>,近年来对逆境条件下转 *Bt* 基因玉米研究较少:其中转 *Bt* 基因玉米 (Bt38) 在接种丝黑穗病菌后,对病害较其受体郑单 958 表现敏感,产量下降幅度较大<sup>[9]</sup>,低磷胁迫下, Bt38 的生存能力弱于郑 58<sup>[10]</sup>。转基因植物释放到逆境养分环境下,存在的潜在风险报道较少,因此对磷胁迫下转 *Bt* 基因玉米的磷利用效率的研究就显得尤为重要。Bt 蛋白作为一种可溶性蛋白容易受到磷素吸收和代谢的影响,本实验室近期研究表明磷胁迫确实降低转 *Bt* 基因玉米功能叶片中 Bt 蛋白量,但是低磷胁迫对 Bt 蛋白量和磷利用效率的影响还不是很清楚。本研究利用 ELISA 方法,通过水培试验测定转 *Bt* 基因抗虫玉米叶片和根系 Bt 蛋白量,探讨转 *Bt* 基因玉米体内 *Bt* 基因在低磷胁迫下的空间表达动态,以期更为有效地为转 *Bt* 基因玉米的安全评价提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

转 *Bt* 基因玉米 (Bt799) 及其受体郑单 958 均由中国农业大学玉米改良中心提供。本试验于中国农业大学南平房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

挑选整齐一致的玉米种子,采用 1% 次氯酸钠消毒 15 min,用蒸馏水冲洗 3~5 遍,用吸水纸吸干表面水分,播种于发芽盒 (长×宽×高=26 cm×18 cm×15 cm) 沙床中,置于人工气候恒温培养箱中培养,培养温度为 25 °C,14 h/10 h 光暗交替,7 d 后挑选整齐一致的一叶一心幼苗转移到含有 40 L 培养液的塑料培养槽中,以 Hoagland 营养液进行培养。通过改变营养液中 P 含量实现胁迫处理,试验设置 2 个供磷水平:1 mmol/L (正常供磷处理),0.05 mmol/L (低磷处理)。磷以磷酸二氢铵的形态供应,在处理后的培养过程中保持通气,培养 25 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> 0.01; 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 0.05 mmol/L, 缺少的 N 以 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 补齐。

### 1.4 样品处理

每个重复取出 6 株长势一致的玉米植株,分别对各叶位和根系称重,其中根系每 7 cm 分为 1 个单位 (根基处 7 cm 是根毛开始大量生长的位置,其中根基处为第 1 段),称重后将部分植株样品于 105 °C 杀青 1 h,80 °C 烘至恒重。将余下植株样品,保存于 -40 °C 冰箱中备用。

### 1.5 方法

#### 1.5.1 鲜重的测定

将待测植株用蒸馏水冲洗干净,然后用吸水纸吸干表面水分,称重。

#### 1.5.2 根系形态的测定

用 EPSON 扫描仪 (EPSON Perfection v700, 中国) 记录根系形态,然后用根系形态分析软件 WinRHIZO 分析总的根长和根表面积等根系参数。

1.5.3 Bt 蛋白量的测定与 Bt 蛋白总量的计算方法

Bt 蛋白量测定采用酶联免疫(ELISA)试剂盒,以标准 CryIAc 蛋白配制不同浓度蛋白溶液制作标准曲线,计算每 g 样品中含有 Bt 蛋白量。

样品中 Bt 质量分数(ng/g)用下式计算:

$$A = N \times V/W$$

式中:A 表示 Bt 蛋白质量分数(ng/g);V 表示提取样品后,上清液的总体积;W 表示样品的鲜重;N 表示样品中 Bt 蛋白的质量浓度(ng/mL)。

$$\text{Bt 蛋白总量(ng)} = \text{Bt 蛋白的质量分数(ng/g)} \times \text{各器官鲜重(g)}$$

1.5.4 全磷含量测定与磷积累量、磷分布的计算方法

将植物样品干样粉碎,过 40 目筛子,称取植物样品 0.2 g 左右,采用浓硫酸-双氧水法消煮,SEAL Analytical AA3 流动分析仪(德国)测定植物全磷质量分数。

样品中全磷质量分数(mg/g)用下式计算:

$$P = C \times V/W$$

式中:C 表示从流动分析仪得到的全磷质量浓度,mg/L;V 表示消煮液体积,L;W 表示样品干重,g;

$$\text{各部位磷积累量(g)} = \text{各部位磷质量分数(mg/g)} \times \text{各部位干重(g)}$$

$$\text{各部位磷分布} = \text{植株各器官各部位磷积累量(g)} / \text{总积累量(g)} \times 100$$

1.6 统计分析

数据整理采用 Excel2010,采用 SPSS17.0 进行数据统计和分析,多重比较采用 Duncan 法,显著水平设置为  $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 低磷胁迫对玉米苗期生物性状的影响

由表 1 可知,玉米幼苗的 5 个生物性状中,除根鲜重外,其他受基因型的影响显著;磷水平对 5 个生物性状影响极显著;基因型与磷水平交互作用对根冠比影响极显著。

表 1 玉米生物性状基因型、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

变异来源 Source of variation	自由度 Df	F				
		株高 Plant height	根长 Root length	地上鲜重 Shoot fresh weight	根鲜重 Root fresh weight	根冠比 Root shoot ratio
基因型 Genotype	1	5.6*	15.1**	14.7**	0	147.6**
磷水平 P level	1	22.9**	254.7**	11.8**	147.8**	2 182.9**
基因型×磷水平 Genotype×P level	1.0	0.8	1.7	0.3	2.9	62.7**

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

Note: \*\* means significant different at 0.01 level, \* means significant different at 0.05 level.

由表 2 可知,正常条件下,HP958 的根长、地上部鲜重和根鲜重显著高于 HPBt。低磷条件下,2 种玉米出现典型的缺磷症状,叶片枯萎、发紫、根系伸

长,其中 Bt799 的缺磷症状相对郑单 958 更严重一些,其中根长、根鲜重、根冠比升高幅度高于郑单 958,地上部鲜重小于郑单 958。

表 2 低磷胁迫对玉米苗期生物量的影响

Table 2 Biomass of maize under different phosphorus level

处理 Treatment	株高/cm Plant height	根长/cm Root length	地上部鲜重/g Shoot fresh weight	根鲜重/g Root fresh weight	根冠比 Root shoot ratio
HPBt	89.0±7.9 ab	40.0±3.5 c	17.1±1.8 b	2.9±0.5 b	19.10±1.46 c
LPBt	79.3±0.6 c	66.7±0.6 a	14.5±0.5 b	7.5±0.2 a	52.10±0.59 a
LP/HP(Bt)	89.1%	166.8%	84.8%	258.6%	272.50%
HP958	97.0±1.0 a	48.0±3.5 b	21.1±0.4 a	3.5±0.1 b	16.60±0.97 d
LP958	83.0±3.0 bc	70.7±2.1 a	16.8±2.1 b	7.0±1.0 a	40.00±0.98 b
LP/HP(958)	85.6%	147.3%	79.6%	200.0%	241.30%

注:HP:对照,LP:低磷胁迫。表中值为平均值±标准差,同列不同小写字母表示在 $< 0.05$ 水平差异显著,以下各图和表同。

Note: HP-means P-sufficient, LP means P-deficient. The value show mean value±standard deviation. Different letters at the same line mean significantly different at 0.05 level. The same as following figures and tables.

由表3可知,低磷胁迫下,根系活力提高,是植株响应低磷胁迫的一个重要体现,低磷条件下,Bt799的根系形态显著高于郑单958,侧根较多,根

系较长,增加了根系对养分的吸收面积,Bt799根系形态6个指标的升高幅度均高于郑单958。

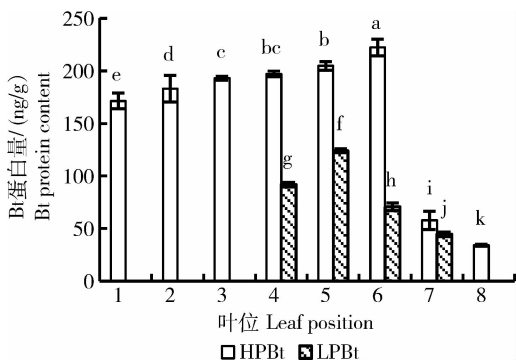
表3 低磷胁迫对玉米苗期根系形态的影响

Table 3 Root morphology of maize under different phosphorus level

处理 Treatment	总长/cm Total length	投影面积总和/ cm <sup>2</sup> Projected area	表面积/cm <sup>2</sup> Surface area	平均直径/mm Average diameter	单位立方米的总长/ (cm/m <sup>3</sup> ) Total length per cubic meter	总容积/cm <sup>3</sup> Volume
HPBt	1 561±80 a	1 677±106 b	186±15 b	0.38±0.02 c	1 561±80 a	1.77±0.21 b
LPBt	1 892±246 a	2 262±363 a	298±43 a	0.50±0.01 a	1 892±246 a	3.74±0.60 a
LP/HP(Bt)	1.20	1.30	1.60	1.32	1.21	2.11
HP958	1 093±374 b	1 177±399 c	137±44 b	0.40±0.01 c	1 093±374 b	1.37±0.40 b
LP958	1 163±125 b	1 279±163 bc	165±26 b	0.45±0.03 b	1 163±125 b	1.87±0.40 b
LP/HP(958)	1.06	1.09	1.20	1.12	1.06	1.36

## 2.2 低磷胁迫对玉米苗期不同叶位 Bt 蛋白量的影响

低磷胁迫,Bt799不同叶位Bt蛋白量如图1所示:低磷胁迫降低叶位的Bt蛋白量,且达到显著差异,随着叶位的升高Bt蛋白含量呈先上升后下降趋势,Bt蛋白在顶部新叶中的含量最低。LPBt第5叶鲜重Bt蛋白最高为124 ng/g,而HPBt第6叶最高为222 ng/g,LPBt第4叶、第5叶、第6叶和第7叶鲜重Bt蛋白分别为HPBt的47%、60%、32%和77%。



1:第1叶;2:第2叶;3:第3叶;4:第4叶;5:第5叶;6:第6叶;7:第7叶;8:第8叶。图2同。

1: Leaf 1; 2: Leaf 2; 3: Leaf 4; 5: Leaf 5; 6: Leaf 6; 7: Leaf 7; 8: Leaf 8. The same as figure 2.

图1 磷胁迫对不同叶位 Bt 蛋白量的影响

Fig. 1 Bt protein content of different leaf position under different phosphorus level

低磷胁迫,Bt799不同叶位Bt蛋白总量如图2所示:随着叶位的升高Bt蛋白表达总量呈先上升后下降趋势。低磷胁迫降低不同叶位的Bt蛋白总量,且都达到显著差异。其中LPBt整个叶片Bt蛋白表达总量为685 ng,HPBt为1 327 ng,仅为对照的51.6%。

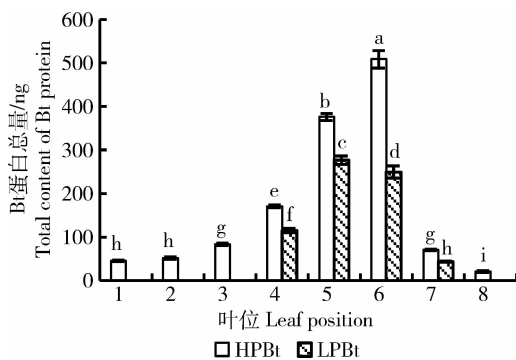


图2 磷胁迫对不同叶位 Bt 蛋白总量的影响

Fig. 2 Total Bt protein content of different leaf position under different phosphorus level

## 2.3 低磷胁迫对玉米苗期根系 Bt 蛋白量的影响

低磷胁迫后,Bt799根系Bt蛋白量如图3所示:LPBt在1~7 cm处显著高于HPBt。在8~14、15~21和29~35 cm处都显著低于HPBt,LPBt在36~42 cm和43 cm~根尖鲜重Bt蛋白量分别为129和70 ng/g。

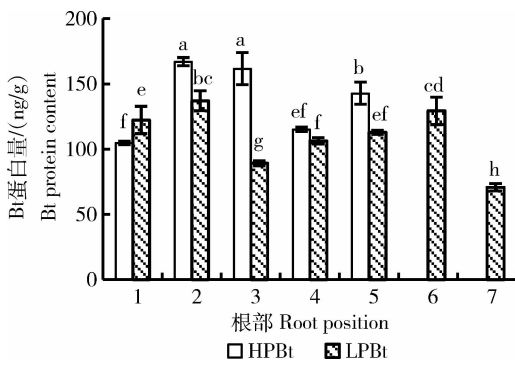


图 3 磷胁迫对根系 Bt 蛋白量的影响  
Fig. 3 Bt protein content of root under different phosphorus level

图 3 磷胁迫对根系 Bt 蛋白量的影响

Fig. 3 Bt protein content of root under different phosphorus level

低磷胁迫后, Bt799 的 Bt 蛋白总量如图 4 所示:从根基到根尖 Bt 蛋白总量呈下降趋势,低磷胁迫使根系生长旺盛,单位长度内的鲜重增加,因此 LPBt 在根系中 Bt 蛋白总量都显著高于 HPBt,其中 LPBt 整个根中 Bt 蛋白总量为 785 ng, HPBt 为 423 ng,是 HPBt 的 186%。

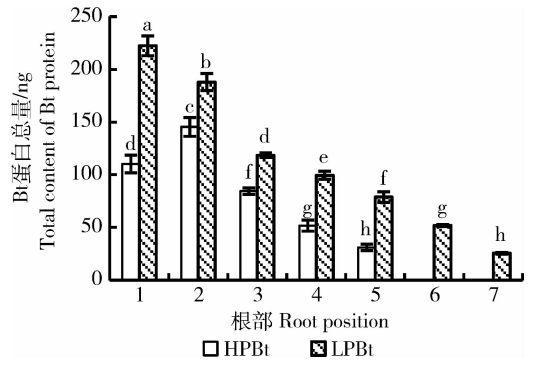


图 4 磷胁迫对根系 Bt 蛋白总量的影响  
Fig. 4 Total content of Bt protein of root under different phosphorus level

2.4 低磷胁迫对玉米苗期磷效率的影响

由表 4 可知,磷胁迫显著降低叶片和根系的磷含量。正常处理条件下,2 种玉米下部叶片全磷含量高于上部叶片,这表明下部叶片磷储备能力较大,可以为上部叶片提供更多的磷。低磷处理下,下部叶片全磷含量低于上部叶片,这表明为抵抗低磷胁迫保证植物体的正常生长,上部叶片代谢速率加快,不断地从下部叶片吸收更多磷,因此下部叶片全磷下降幅度高于上部叶片。在叶片中:HP958 在第 1、2、4 叶高于 HPBt, LPBt 在第 5、6 和 7 叶下降幅度

表 4 低磷胁迫对玉米苗期磷的影响

Table 4 P concentration of leaf and root under different phosphorus level

叶 Leaf	HPBt/(mg/g)	LPBt/(mg/g)	LP/HP(Bt)/%	HP958/(mg/g)	LP958/(mg/g)	LP/HP(958)/%
第 1 叶 Leaf 1	121.66±9.95 b	—	—	134.38±6.81 a	—	—
第 2 叶 Leaf 2	69.36±2.42 d	—	—	77.88±1.18 c	—	—
第 3 叶 Leaf 3	75.85±3.42 c	—	—	77.90±1.42 c	—	—
第 4 叶 Leaf 4	52.09±2.80 f	7.45±0.17 i	14.30	57.44±4.15 e	6.24±0.03 i	10.86
第 5 叶 Leaf 5	44.92±1.36 g	7.52±0.15 i	16.74	41.01±0.91 gh	7.49±0.39 i	18.26
第 6 叶 Leaf 6	41.31±0.64 gh	8.09±0.30 i	19.58	37.51±4.36 h	8.45±0.34 i	22.53
第 7 叶 Leaf 7	38.72±3.60 h	8.66±0.39 i	22.37	36.62±1.08 h	8.65±0.07 i	23.62
第 8 叶 Leaf 8	44.93±4.36 g	—	—	42.21±1.28 g h	—	—
根 Root	HPBt/(mg/g)	LPBt/(mg/g)	LP/HP(Bt)	HP958/(mg/g)	LP958/(mg/g)	LP/HP(958)
1~7 cm 1st	57.49±4.84 ef	17.80±2.34 g	0.31	58.24±4.06 ef	8.86±0.85 i	0.15
8~14 cm 2nd	76.20±10.01 ab	11.80±0.21 hi	0.16	78.07±0.53 ab	8.06±1.90 i	0.10
15~21 cm 3rd	62.35±1.45 de	10.91±0.29 hi	0.18	55.29±2.88 f	7.11±0.19 i	0.13
22~28 cm 4th	66.60±4.64 cd	10.81±0.19 hi	0.16	66.52±1.66 cd	7.33±0.74 i	0.11
29~35 cm 5th	71.48±3.03 bc	11.37±2.55 hi	0.16	54.30±7.60 f	6.50±0.27 i	0.12
36~42 cm 6th	—	12.46±0.23 ghi	—	—	9.47±1.89 i	—
43~根尖 7th	—	15.89±0.38 ghi	—	—	10.09±0.21 hi	—

注:同一部位不同小写字母表示在<0.05 水平差异显著,下表同。

Note: Different letters at the same position mean significantly different at 0.05 level. The same as following tables.

高于 LP958,说明对 Bt799 上部叶片磷含量影响较大。在根系中:低磷胁迫后,Bt799 根系纵向分段磷含量的下降幅度低于郑单 958。Bt799 相对郑单 958 来说,受到低磷胁迫后,根系尽最大限度地吸收磷,结合上部叶片磷含量看出运输到上部叶片磷能力弱。

由表 5 可知,植株不同部位磷积累量表现为叶>根,叶位和根系中磷积累量为低磷<对照。正常条件下郑单 958 和 Bt799 总磷积累量分别为(叶:45.35 和 33.96 mg;根:13.87 和 11.1 mg)。低磷

条件下郑单 958 和 Bt799 总磷积累量分别为(叶:8.16 和 7.00 mg;根:4.01 和 8.5 mg)。其中 HP958、HPBt、LP958 和 LPBt 地上部分两两比例分别为 327%、306%、203%和 82%。LPBt 地上部分两两比例远低于 LP958,表明 Bt799 把更多的磷分配给根系,以促进根系的生长和对养分的吸收,但不能及时运转给上部叶片,导致上部叶片磷积累量相对较少,生长受到抑制,根冠比增加,虽然根系发达,但仍然难以转运更多磷满足自身生长发育的需要,自我调节能力相对郑单 958 较弱。

表 5 低磷胁迫对玉米苗期磷积累量的影响

Table 5 P accumulation of leaf and root under different phosphorus level mg

叶 Leaf	HPBt	LPBt	HP958	LP958
第 1 叶 Leaf 1	2.59±0.22 efg	—	2.73±0.09 efg	—
第 2 叶 Leaf 2	1.90±0.04 gh	—	2.16±0.11 g	—
第 3 叶 Leaf 3	2.68±0.22 efg	—	2.70±0.06 efg	—
第 4 叶 Leaf 4	3.46±0.31 ef	0.86±0.04 hi	4.69±0.25 d	0.97±0.38 hi
第 5 叶 Leaf 5	6.64±0.53 c	1.68±0.06 ghi	7.21±0.29 c	1.80±0.06 gh
第 6 叶 Leaf 6	9.81±0.97 b	2.13±0.32 g	11.58±1.63 a	2.68±0.17 efg
第 7 叶 Leaf 7	6.26±0.69 c	2.33±0.10 fg	10.70±0.41 ab	2.72±0.12 efg
第 8 叶 Leaf 8	0.63±0.13 i	—	3.52±0.46 e	—
总 Total	33.96	7.00	45.35	8.16
根 Root	HPBt	LPBt	HP958	LP958
1~7 cm 1st	5.00±0.64 b	4.43±0.17 c	6.43±0.65 a	1.60±0.07 e
8~14 cm 2nd	2.86±0.63 d	1.13±0.04 fg	2.87±0.03 d	0.64±0.03 hi
15~21 cm 3rd	1.51±0.15 ef	0.98±0.08 gh	1.60±0.08 e	0.40±0.02 i
22~28 cm 4th	1.11±0.06 fg	0.65±0.07 hi	1.51±0.01 ef	0.25±0.03 i
29~35 cm 5th	0.62±0.05 hi	0.58±0.22 hi	1.46±0.04 ef	0.30±0.04 i
36~42 cm 6th	—	0.32±0.01 i	—	0.34±0.05 i
43~根尖 7th	—	0.41±0.01 i	—	0.48±0.07 i
总 Total	11.10	8.50	13.87	4.01

植物体各部位全磷积累量占总积累量的百分比可以看出磷在植物体内的分布情况,由表 6 可知,低磷胁迫后,2 种玉米根系磷占比例升高,叶片磷占比例下降,表明在低磷胁迫下吸收的磷优先供应给根

系。低磷胁迫后,磷积累量在整株玉米上的纵向分布发生改变,Bt799 叶片下降幅度大于郑单 958,导致上部叶片磷供应不足,影响叶片正常生长,出现植株矮小,叶片发紫程度严重。

表6 低磷胁迫对玉米苗期各部位磷分布的影响

Table 6 Percentage of leaf and root P amount to total P amount under different phosphorus level %				
叶 Leaf	HPBt	LPBt	HP958	LP958
第1叶 Leaf 1	5.75±0.49 gh	—	4.61±0.15 h	—
第2叶 Leaf 2	4.21±0.10 h	—	3.64±0.19 hi	—
第3叶 Leaf 3	5.95±0.50 h	—	4.56±0.10 h	—
第4叶 Leaf 4	7.68±0.68 g	5.55±0.28 gh	7.91±0.42 g	7.95±3.16 g
第5叶 Leaf 5	14.73±1.18 cde	10.86±0.38 f	12.17±0.49 ef	14.74±0.52 cde
第6叶 Leaf 6	21.76±2.82 a	13.72±2.03 de	19.54±2.76 ab	22.00±1.40 a
第7叶 Leaf 7	13.89±3.76 de	15.05±0.67 cd	18.20±0.69 b	17.15±2.12 bc
第8叶 Leaf 8	1.41±0.30 i	—	5.95±0.78 gh	—
总 Total	75.38	45.18	76.58	61.85
根 Root	HPBt	LPBt	HP958	LP958
1~7 cm 1st	11.09±1.42 c	28.54±1.12 a	10.86±1.09 c	12.86±1.56 b
8~14 cm 2nd	5.60±0.40 ef	7.31±0.23 d	4.79±0.05 fgh	5.04±1.06 fg
15~21 cm 3rd	3.36±0.33 high	6.34±0.54 def	2.58±0.17 klm	3.29±0.14 igkl
22~28 cm 4th	2.46±0.14 klm	4.22±0.46 ghi	2.69±0.18 gklm	2.04±0.22 lm
29~35 cm 5th	1.37±0.10 m	3.72±1.43 higk	2.29±0.45 lm	2.49±0.35 klm
36~42 cm 6th	—	2.06±0.06 lm	—	2.83±0.42 gkl
43~根尖 7th	—	2.63±0.04 gklm	—	3.93±0.54 ghig
总 Total	24.62	54.82	23.42	38.15

## 2.5 Bt 蛋白量和磷营养效率的关系

低磷胁迫降低 Bt799 的 Bt 蛋白量,叶片和根系吸收磷元素的能力降低,那么 Bt 蛋白量和磷含量、磷积累量之间有什么关系呢,对 Bt 蛋白量、Bt 蛋白总量和磷含量、磷积累量做相关性分析。Bt 蛋白量与磷含量( $r=0.514$ )成极显著相关,与磷积累量( $r=0.408$ )成极显著相关;Bt 蛋白总量与磷积累量( $r=0.702$ )成极显著相关。

## 3 讨论

### 3.1 低磷胁迫对转 Bt 基因玉米生物性状的影响

光合作用是植物体最基本的生理过程,是作物产量形成的基础,为植物的生命活动和物质代谢提供碳架、原料和能量,也是其他生物生存的基础<sup>[11]</sup>,其中叶片长势是植物体光合作用强度最直接的体现。磷胁迫下,植物体为充分利用自身储藏以及可转移的磷,根系的形态,如根的粗细、侧根数目和根体积等会发生不同程度的变化<sup>[12]</sup>。一般,根系深而

广,侧根发达,根毛健全的品种对养分的吸收能力较强<sup>[13]</sup>。植物根系与地上部一方面在对营养物质需求上相互依赖、相互制约;另一方面,由于具有不同的生长环境和生理功能,而对环境因子产生不同的响应<sup>[14]</sup>。植物对环境变化的响应,主要通过根系进行,根系与土壤间的相互作用是一系列复杂的生理生化过程,在这过程中,植物为适应环境,提高竞争力,吸收更多养分,根系表现出明显的可塑性<sup>[15]</sup>。本试验中,正常条件下 2 种玉米有 8 片叶子(1~8)、根系为 5 段(1~5),对应的低磷条件下为叶子 4 片(4~7)、根系为 1~7,可以看出 2 种玉米在低磷胁迫后,生物性状发生很大变化。低磷胁迫后 Bt799 的根长、根鲜重和根冠比升高幅度高于郑单 958,低磷胁迫下 Bt799 在总根长、根系投影面积总和、根表面积、根平均直径、单位立方米总根长和根总容积中 LP/HP(Bt)是 LP/HP(958)的 1.13、1.19、1.33、1.18、1.14 和 1.55 倍。LPBt 和 LP958 的地上部鲜重分别为 14.5 和 16.8 g,LPBt 长势弱于 LP958。

### 3.2 低磷胁迫对转 *Bt* 基因玉米 *Bt* 蛋白量规律的影响

在整个植物生长过程中,磷是核酸、蛋白质和磷脂的重要组成部分,合成蛋白质、活化蛋白质和能量传递,对整个代谢有重要意义<sup>[16]</sup>,本试验对低磷胁迫下转 *Bt* 基因玉米不同部位的 *Bt* 蛋白量进行检测。发现低磷胁迫降低 *Bt* 蛋白在叶和大多数根中的表达,这与前人研究的 *Bt* 蛋白在低磷胁迫下新叶和根部的表达情况一致,1~7 cm 处根段 *Bt* 蛋白量上升,有可能是根系在纵向空间对低磷响应机制不一样,1~7 cm 中单位长度重量大于 HPBt,积累的磷较大,导致 *Bt* 蛋白量升高。*Bt* 植物处于逆境中 *Bt* 蛋白量会受到胁迫的影响:Pettigrew 等<sup>[17]</sup>发现通过提高氮肥用量等农艺措施可增强转 *Bt* 基因棉花体内 Cry1Ac 蛋白量;盐胁迫和温度胁迫后,*Bt* 棉叶片中 *Bt* 蛋白含量明显下降<sup>[18-19]</sup>。目前对低磷胁迫下转 *Bt* 基因玉米 *Bt* 蛋白的影响研究较少,影响 *Bt* 蛋白的表达有可能是:低磷胁迫会减弱植物体内的氮代谢,降低植物对氮素的吸收,植株合成蛋白能力下降,进而影响 *Bt* 蛋白的合成。一方面是磷素阻碍植物吸收更多的氮素,使植物合成较少数量和氮合成相关的酶;一方面是直接减弱相关酶的活性,磷胁迫影响  $\text{NO}_3^-$  的吸收、转移和利用,降低氮同化能力<sup>[20]</sup>,这可能在一定程度导致低磷胁迫下,*Bt* 蛋白量降低。*Bt* 蛋白量与磷含量、磷积累量显著正相关,*Bt*799 根系需吸收更多的磷元素为 *Bt* 蛋白表达量做出一些贡献,可能导致消耗过多的能量,不利于自身抵抗低磷环境。

### 3.3 低磷胁迫对转 *Bt* 基因玉米磷效率的影响

植物的养分效率指在较低的外界养分供应水平下,植株仍能利用、吸收较多的外界养分,生产较多的生物量。一般情况下,利用效率与营养元素的转运、被其他离子代替以及生理生化反应的需求量有关<sup>[17]</sup>。磷的转运效率是评价磷营养效率的一个非常重要的指标,植物器官中含磷量在叶片和根系分布是不同的,尤其在展开叶中的含量最高。植株各器官各部位磷积累量占总积累量的百分比能够在一定程度上反映出植株体内磷的纵向分布情况。正常条件下 2 种玉米随着叶位的升高磷含量呈先下降再上升趋势,更多的磷元素转运到新生部位,以保持它们的生长。同一植物种类的不同品种或者品系之间也存在磷效率之间的差异<sup>[21]</sup>,由表 6 可知低磷胁迫后,*Bt*799 叶片总磷占比下降幅度为 30.20%,根部

总磷占比上升幅度为 30.94%,对应的郑单 958 分别为 14.73%和 9.26%,可以看出 *Bt*799 受到低磷胁迫自我调节能力相对郑单 958 较弱,表现在根系吸收磷能力较强但是转运磷能力较弱,根系生长更快,根系吸收磷能力较强,虽把更多的磷分配给根系,以促进根系的生长和对养分的吸收,但仍然难以满足地上部的需求,导致上部叶片磷积累量相对较少,影响自身生长受到抑制,根冠比增加。

## 4 结 论

本研究把玉米植株上部叶片和下部根系分开考虑,以考察 2 种玉米在低磷胁迫后体内纵向 *Bt* 蛋白量规律,以及对磷元素的吸收和利用的影响。结果表明,*Bt*799 受到低磷胁迫自我调节能力相对郑单 958 较弱,表现在根系吸收磷能力较强但是转运磷能力较弱。同时由于 *Bt* 基因作为外源基因,在表达过程当中有可能需要额外的能量,外有磷供应不足内有自身 *Bt* 蛋白需要更多能量,使得 *Bt*799 相对郑单 958 抵抗磷胁迫能力变弱。由于本试验只是对玉米苗期不同部位的 *Bt* 蛋白量进行了观察研究,还需要进一步研究室内水培试验以及大田试验中不同胁迫时间对植株不同部位 *Bt* 蛋白量的影响。

## 参 考 文 献

- [1] 陈俊意,徐莉,杨志国,等.低磷土壤条件下玉米苗期根冠比和株高的混合遗传分析[J].玉米科学,2009,17(3):23-27
- [2] 湛静,陈发波.玉米低磷胁迫研究现状[J].现代农业科技,2014(4):14-15
- [3] Sánchez,G Ávila-Quezada, et al. Nitrogen metabolism in roots and leaves of green bean plants exposed to different phosphorus doses[J]. Phytom,2009,78,11-16
- [4] 郑金凤,王志英,刘霞,等.低磷胁迫对小麦代换系可溶性糖和可溶性蛋白含量的影响及染色体效应[J].华北农学报,2013,28(1):27-31
- [5] 张瑞敏.玉米磷营养高效利用的生理机制研究[D].重庆:西南大学,2008
- [6] 刘玲,赵建宁,李刚,等.转 *Bt*799 对土壤酶活性及速效养分的影响[J].土壤,2012,44(1):167-171
- [7] Paul W,Goedhart,Hilko van der Voet, et al. A statistical simulation model for field testing of non-target organisms in environmental risk assessment of genetically modified plants [J]. Ecology and Evolution,2014,4(8):1267-1283
- [8] 徐向华,丁贵杰,马尾松适应低磷胁迫的生理生化响应[J].林业科学,2006,42(9):24-28
- [9] 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
- [10] 陈小文, 李吉崇, 董学会, 等. 丝黑穗病菌感染对转 Bt 基因玉米抗病性相关指标的影响[J]. 中国农业大学学报, 2014, 19(3): 55-62
- [11] 余利平, 田立荣, 张春雷, 等. 低磷胁迫对油菜不同生育期叶片光合作用的影响[J]. 中国农学通报, 2008, 24(12): 232-236
- [12] Rouached H, Arpat A B, Poirier Y. Regulation of phosphate starvation responses in plants: Signaling players and cross-talks [J]. *Molecular Plant*, 2010, 3(2): 288-299
- [13] 孙红炜, 李凡, 杨淑珂, 等. 转 Bt 基因玉米对根际土壤细菌遗传多样性的影响[J]. 玉米科学, 2013, 21(6): 10-16
- [14] 陈洁, 张永中, 张谦, 等. 低磷胁迫下不同基因型玉米内源激素的动态变化[J]. 玉米科学, 2013, 21(5): 6-12
- [15] 沈玉芳, 李世清, 邵明安. 水肥空间组合对冬小麦生物学性状及生物量的影响[J]. 中国农业科学, 2007, 40(8): 1822-1829
- [16] 姚彩艳, 汪晓丽, 封克. NaCl 和 PEG 胁迫对玉米幼苗根系生长的影响[J]. 扬州大学学报: 农业与生命科学版, 2007, 28(4): 42-46
- [17] Pettigrew W T, Adamczyk Jr J J. Nitrogen fertility and planting date effects on lint yield and Cry1AC(Bt) endotoxin production[J]. *Agronomy Journal*, 2006, 98(3): 691-697
- [18] 张祥, 刘晓飞, 吕春花, 等. 低温对转 Bt 基因棉杀虫蛋白表达及其氮代谢的影响[J]. 棉花学报, 2012, 24(2): 153-158
- [19] 姜周庚, 张延昭, 冯梦诗, 等. 高温胁迫对盛铃期 Bt 棉棉铃中杀虫蛋白表达量及氮代谢的影响[J]. 中国棉花, 2012, 39(4): 13-32
- [20] Juan M R, Luis R. Nitrogen metabolism and yield response of cucumber (*Cucumis sativus* L cv Brunex) plants to phosphorus fertilization[J]. *Sci Food Agric*, 2000, 80(14): 2069-2073
- [21] 张丽梅. 玉米对低磷反应的基因型差异及其生理机制研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2005

责任编辑: 袁文业