

菊花‘北甘菊’和‘神马’对除草剂草丁膦的敏感性研究

陈海^{1,2}, 张秀海², 吴忠义², 罗昌², 程曦², 黄丛林^{2*}

(1. 首都师范大学生命科学院, 北京 100048; 2. 北京市农林科学院北京农业生物技术研究中心, 北京 100097)

摘要 [目的]探究不同菊花品种对除草剂草丁膦的敏感性。[方法]以野生菊花‘北甘菊’和秋季切花菊‘神马’为材料,研究了菊花对除草剂草丁膦的敏感性表现。[结果]不同品种不同营养生长期的植株对草丁膦的敏感性不同,‘神马’植株平均叶片数为13叶片期时对草丁膦的敏感浓度为40 mg/L,‘甘菊’植株平均叶片数为8叶期时对草丁膦的敏感浓度为50 mg/L。[结论]为草丁膦抗性的转基因菊花的筛选提供了理论依据。

关键词 菊花;草丁膦;敏感性**中图分类号** S682.1¹ **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)09-03871-02**Sensitivities of *Chrysanthemum lavandulifolium* and *Chrysanthemum Morifolium* ‘Shenma’ to Herbicide Glufosinate****CHEN Hai et al** (College of Life Science, Capital Normal University, Beijing 100048)

Abstract [Objective] The aim was to explore sensitivities of different varieties of *Chrysanthemum* to herbicide glufosinate. [Method] The sensitivities of wild *Chrysanthemum lavandulifolium* and autumn cut *Chrysanthemum morifolium* ‘Shenma’ to herbicide glufosinate were studied. [Result] The glufosinate sensitive concentration of *Chrysanthemum* changed with their vegetative growth phases and species. The sensitive concentration of *Chrysanthemum morifolium* ‘Shenma’ to glufosinate was 40 mg/L at 13-leaf stage, while the sensitive concentration of *Chrysanthemum lavandulifolium* to glufosinate was 50 mg/L at 8-leaf stage. [Conclusion] The research result provides theoretical for the screening of transgenic *Chrysanthemum* with resistance to glufosinate.

Key words *Chrysanthemum*; Glufosinate; Sensitivity

草丁膦(Glufosinate),又名草铵膦,化学名称为甲基-(3-氨基-3-羧基丙基)膦酸铵,属于一种具有部分内吸作用的非选择性除草剂,使用时主要当作触杀剂。草丁膦作为一种选择压工具,在植物转基因材料的筛选和获得中得到广泛应用,目前已在大豆、玉米、水稻、小麦、黄瓜、油菜、甜菜、棉花等^[1-4]多种作物中获得大批具有草丁膦抗性的材料。王才林等^[5]利用转 *bar* 基因水稻‘HR’为供体,‘9311’为受体,经过3次回交转育成对Basta除草剂具有抗性的9311近等基因系;朱常香等^[6]利用PIG基因枪,将 *bar* 基因转入玉米自交系的幼胚中,经抗性愈伤组织再生获得抗性植株;梁雪莲等^[7]利用农杆菌转化法获得抗性小麦。

杂草是农业生产中的一大危害,不仅与作物争夺水分和养分,而且严重影响作物的产量和品质^[8]。同时,杂草给工作人员增加额外的大量工作,也在一定程度上阻碍菊花大面积栽培。因此,利用转基因技术培育出具有除草剂抗性的菊花品种具有重要的现实意义。在菊花转基因植株后代选择中,合适的筛选浓度对于从大量的转基因后代植株中获得抗除草剂阳性株系至关重要。为此,笔者以野生菊花‘北甘菊’和秋季切花菊‘神马’为材料,研究了菊花对草丁膦的敏感性,旨在为草丁膦抗性的转基因菊花的筛选提供理论依据。

1 材料与方法**1.1 材料** 野生菊花“北甘菊”(*Chrysanthemum lavandulifo-*

基金项目 北京市园林绿化局花卉育种研发项目(YLHH201300104);北京市农林科学院科技创新能力项目(KJCX201101012, KJCX201105012, KJCX201102003)。

作者简介 陈海(1988-),男,重庆人,硕士研究生,研究方向:植物抗逆。*通讯作者,研究员,博士,硕士生导师,从事植物抗逆、花卉分子生物学及其生物技术育种研究, E-mail: conglinh@126.com。

收稿日期 2013-03-08

lium)和秋季切花菊“神马”(*Chrysanthemum morifolium*)的种苗均由北京市农林科学院北京农业生物技术研究中心提供;200 g/L草丁膦购于永农生物科学有限公司,将购买的草丁膦原液稀释成2 g/L母液备用。

1.2 方法

1.2.1 ‘北甘菊’和‘神马’菊花苗的培养。‘北甘菊’和‘神马’均在25℃、光暗周期为12/12 h条件下通过组培苗形式保存于组培间。将组培苗通过组培快繁得到一定数量,待苗龄20 d时移栽至日光温室,在温室内生长45 d后去除顶芽,然后用侧芽扦插方式扩繁,最后得到以每一个苗盘为单位的生长期大致相同的‘北甘菊’、‘神马’的种苗,根据对不同生长期材料的需要,按时按需取材。

1.2.2 ‘神马’对草丁膦敏感性试验。将草丁膦浓度范围设置为50~150 mg/L,梯度为20 mg/L。以移栽28 d‘神马’菊花苗为材料,每个浓度梯度处理1棵苗,每个处理3次重复。每次处理时,将配制好的草丁膦溶液装于喷壶内,雾状充分喷洒植株叶片至整株植物叶片湿润出现水珠。处理前,拍照记录;处理后植株正常光照条件培养,从第2天起每24 h观察记录一次整株即叶片变化情况。

1.2.3 不同浓度草丁膦处理菊花苗。由“1.2.2”试验结果可知,‘神马’对草丁膦的敏感性都小于等于50 mg/L,所以草丁膦浓度范围第2次设置为10~50 mg/L,浓度梯度为10 mg/L,以平均13叶期的菊花苗为材料进行试验。此外,为了使对草丁膦的敏感性浓度更加精确,还增设了35和45 mg/L 2个浓度梯度。每个浓度梯度处理总数都在21株以上。其他操作同“1.2.2”。对处理效果做量化处理时,凡是‘神马’和‘北甘菊’的整棵植株半数以上叶片出现变黄、枯萎或者死亡时,记为对草丁膦的敏感性反应;如果大部分枯死,则按照死亡处理。

1.2.4 相同浓度、不同喷洒量的草丁膦溶液处理菊花苗。用30、40和50 mg/L的草丁膦溶液200、400 ml分别处理平均13叶期的‘神马’和平均8叶期的‘北甘菊’,每个处理3次重复,每个重复处理植物数均在21株以上。处理后正常光照条件培养,并从处理第2天开始每24 h观察记录一次结果。

1.2.5 用相同浓度草丁膦处理不同生长期的菊花苗。用40和50 mg/L草丁膦分别处理‘神马’和‘北甘菊’的平均13叶期苗、平均8叶期苗和日光温室正常栽培的成熟菊花植株,喷施草丁膦后正常光照条件培养,从第2天开始每24 h观察记录一次结果。

2 结果与分析

2.1 “神马”对不同浓度草丁膦的抗性表现 草丁膦是有机

膦类除草剂,属于非选择性、广谱除草剂 Basta 的活性成分。它的作用机理是强烈抑制谷氨酰胺合成酶(GS)的活性,导致细胞内氨的含量迅速积累,随之叶绿体解体,破坏光合作用,进而植物死亡。因此,菊花对草丁膦的敏感性程度可直接从菊花植株叶片的颜色及形态变化反映出来,易于直接观察记录。由图1可知,用50~150 mg/L浓度的草丁膦溶液处理‘神马’时,未见有明显区别,所有处理在第3~5天时开始出现叶片变黄、枯萎现象,直至最后菊花苗整株萎蔫、枯死。叶片对不同浓度草丁膦的反应速度不一致,高浓度处理反映稍快些。由此可见,“神马”品种对草丁膦的敏感性浓度等于或低于50 mg/L。

2.2 “北甘菊”和“神马”对不同浓度草丁膦的抗性表现 由



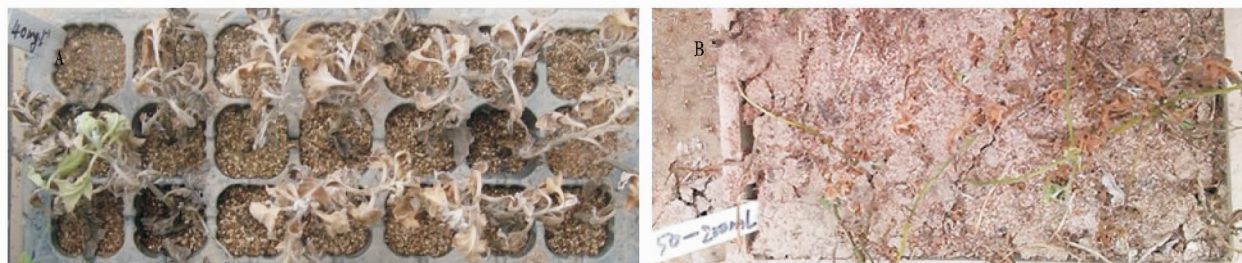
注:a~g分别代表草丁膦处理之前的植株生长情况;A代表对照;B、C、D、E、F、G分别代表草丁膦处理浓度为50、70、90、110、130、150 mg/L时处理后第8天的植株生长情况。

图1 ‘神马’对草丁膦的抗性表现

表1可知,低浓度的草丁膦(‘神马’10 mg/L,‘北甘菊’20 mg/L)对菊花的正常生长无明显影响,也观察不到叶片有明显异常情况。当草丁膦浓度逐渐增加时,3~5 d便可开始观察到叶片有明显的失绿、变黄现象。随着时间的延长,变黄的叶片面积逐渐扩大,变黄的叶片数量不断增加,直至整株枯死。当用40 mg/L草丁膦处理‘神马’、50 mg/L草丁膦处理‘北甘菊’时,植株全部死亡(图2)。由此可见,‘神马’和‘北甘菊’对草丁膦的敏感浓度分别为40和50 mg/L。

表1 不同浓度草丁膦处理下‘神马’和‘北甘菊’的植株存活率 %

草丁膦浓度//mg/L	‘神马’	‘北甘菊’
10	100	100
20	71.4	100
30	52.4	65.0
35	28.6	34.8
40	0	28.2
45	0	16.0
50	0	0



注:A.神马;B.北甘菊。

图2 ‘神马’和‘北甘菊’对草丁膦的敏感浓度处理

合使用,培养壮苗,提高植株的抗病能力;铁线莲以盆栽为主,栽培基质透气透水性要好,可采用珍珠岩、泥炭土和松鳞的混合基质,其比例可按 1:3:1 配制。

3.3 药剂防治 铁线莲白绢病的防治要以预防为主,通常在发现时已很严重,在高温高湿的季节结合肥水管理,可每隔 10 d 左右用甲基托布津或五氯硝基苯或甲基枯磷乳油 1 000 倍液进行灌根处理,如有发病,可连续喷施 2~3 d,并

(上接第 3872 页)

2.3 菊花植株对喷洒不同量草丁膦的抗性表现 由表 2 可知,用 400 ml 40 mg/L 草丁膦处理‘神马’、50 mg/L 草丁膦处理‘北甘菊’,处理植株数分别为 72、61 株,植株存活率均为 0。用 400 ml 30 mg/L 草丁膦处理‘神马’和‘北甘菊’时,处理株数分别为 39、60 株,植株存活率分别为 43.6% 和 56.7%,与喷施 200 ml 时相比植株存活率均降低,其中‘神马’的存活率降低 16.8%,‘北甘菊’的存活率降低 12.8%。400 ml 喷施量处理在喷草丁膦后 3~5 d,出现叶片变黄情况的植株数占总处理植株数的比例更大,同时叶片失绿、变黄、枯萎的程度更严重;最后全部处理植株总体枯死的时间和 200 ml 喷施量处理基本一致,在处理 8~10 d。400 ml 喷施量处理的叶片失绿、变黄、枯萎的速率和程度之所以更快、更严重,主要是因为草丁膦属于触杀剂,增加喷施量可增加叶片与草丁膦溶液发生更充分接触的可能性。此外,通过 30 mg/L 浓度处理试验结果表明,如果所喷施的草丁膦浓度未达到菊花植株对草丁膦的敏感浓度,即使增加了草丁膦的喷施量,也只是使植株死亡率在小范围内上升,并不会使之发生根本性变化,充分证明‘神马’对草丁膦的敏感浓度是 40 mg/L,‘北甘菊’对草丁膦的敏感浓度是 50 mg/L。

表 2 不同喷施量不同浓度草丁膦处理下‘神马’和‘北甘菊’的植株存活率 %

草丁膦浓度//mg/L	喷施量//ml	‘神马’	‘北甘菊’
30	200	52.4	65.0
	400	43.6	56.7
40	200	0	28.2
	400	0	-
50	200	0	0
	400	-	0

2.4 不同生长期菊花植株对草丁膦的抗性表现 结果表明,成熟菊花植株对草丁膦的敏感性明显低于平均 13 叶期‘神马’种苗和平均 8 叶期‘北甘菊’种苗,成熟植株的处理结果也与之之前得到的‘神马’和‘北甘菊’对草丁膦的敏感浓度分别是 40、50 mg/L 的结果不相符。这主要是因为上述 2 种状态的菊花植株所处的生长期不同,各自的新陈代谢水平相差较大,成熟植株上多是老旧叶片,并且整株植株也已由生理生长转型为生殖生长。所以在草丁膦抗性的遗传转化后期阳性苗筛选过程中,‘神马’和‘北甘菊’应选取生长期分别为 13 叶期、8 叶期的菊花植株进行。

用药液对发病植株附近地表进行杀菌处理。

参考文献

- [1] 蔡艳飞,李世峰,李涵,等. 中国铁线莲属植物研究进展[J]. 中国农学通报,2009,25(4):195-198.
- [2] 王文采,李良干. 铁线莲属一新分类系统[J]. 植物分类学报,2005,43(5):431-488.
- [3] 张燕,黎斌,李思锋. 铁线莲属植物分类学及园艺学研究进展[J]. 中国野生植物资源,2010,29(5):6-10.

3 结论与讨论

该研究表明,不同品种不同营养生长期的植株对草丁膦的敏感性不同,其中‘神马’植株平均叶片数为 13 叶片时期对草丁膦的敏感浓度为 40 mg/L,‘甘菊’植株平均叶片数为 8 叶时期对草丁膦的敏感浓度为 50 mg/L,为从大量的转基因后代植株中获得抗除草剂阳性株系提供了参考。

草甘膦属于一种具有部分内吸作用的非选择性除草剂,使用时主要当作触杀剂。施药后,其有效成分是通过叶片起作用,尚未出土的菊花苗不会受到伤害;对于已出土的植物,药剂也不会通过根部起作用。此外,草丁膦的放射性标记有效成分试验结果表明,草丁膦具有由叶片基部向端部转移的良好能力,但药剂从叶片向植株其他部分转移的能力则有限。用药后,其引起植物体内铵代谢陷入紊乱,从而导致强烈细胞毒剂铵离子在体内的迅速积累。与此同时,光合作用被严重抑制,最终产生对植物的毒性。最初症状表现为植物体绿色部分失绿成黄白色,2~5 d 后开始枯萎和死亡^[9]。通过其触杀剂特性和主要通过叶片起作用可见,已有研究将草丁膦加入到培养基中进行筛选的方法并非最优选择^[10-12]。该研究采取直接向植物叶片喷洒草丁膦从而确定其敏感浓度的方法具有便于观察记录、快速有效、易操作、在基因工程筛选过程中简化并缩短操作流程、极大降低工作量的优点。

参考文献

- [1] 张浩夫,浦惠民,傅寿仲,等. 转基因抗除草剂油菜的分子鉴定[J]. 江苏农业科学,2004(5):23-25.
- [2] 金红,杜胜利,魏爱民,等. 抗除草剂转基因黄瓜的获得及 T₁ 植株抗性鉴定[J]. 华北农学报,2003,18(1):44-46.
- [3] 崔杰,李滨胜,程大友,等. 甜菜(*Beta vulgaris* L.)叶绿体转化体系建立及抗虫和抗除草剂植株的获得[J]. 生物化学与生物物理进展,2008,35(12):1437-1443.
- [4] 赵福永,谢龙旭,徐培林,等. 抗草甘膦基因 *aroAM12* 及抗虫基因 *BtIsm* 的转基因棉株[J]. 作物学报,2005,31(1):108-113.
- [5] 王才林,宗寿余,朱为民,等. 水稻抗除草剂基因 *bar* 的转育研究[J]. 作物学报,2002,28(3):305-309.
- [6] 朱常香,宋云枝,汤国民,等. 抗虫、抗除草剂转基因玉米的获得及遗传研究[J]. 山东农业大学学报,2002,33(2):120-125.
- [7] 梁雪莲,孙毅,郭平毅,等. 农杆菌转化小麦幼胚获得转 *bar* 基因再生植株[J]. 华北农学报,2003,18(1):12-16.
- [8] 任江萍,王智琴,李志岗,等. 植物抗除草剂基因研究[J]. 山西农业大学学报,2001,21(2):165-172.
- [9] 郑斐能,李孙荣摘译. 草丁膦(Basta®)[J]. 农药译丛,1985,7(1):62-64.
- [10] 刘海坤,卫志明. 大豆遗传转化研究进展[J]. 植物生理与分子生物学学报,2005,31(2):126-134.
- [11] 梁雪莲,王引斌. 作物抗除草剂转基因研究进展[J]. 生物技术通讯,2001(2):17-21.
- [12] 李永光,黄文佳,李文滨,等. 大豆对草丁膦敏感性研究[J]. 大豆科学,2011,30(5):749-756.