

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2012.02.008

转 *cry1Ac* + *cry2Ab* 基因棉与转 *cry1Ac* + *EPSPS* 基因棉荒地的生存竞争能力

张兴华*, 田绍仁, 张天玉, 李捷, 乔艳艳
江西省棉花研究所, 江西 九江 332105

摘要:【背景】此研究为“十二五”转基因生物新品种培育国家项目中创建新的转基因棉花品种环境安全评价技术而设。【方法】以转双价双 *Bt* 抗虫基因 (*cry1Ac* + *cry2Ab*) 棉和转双价抗虫、抗除草剂基因 (*cry1Ac* + *EPSPS*) 棉为观察品种, 非转基因棉赣棉 11 号为对照品种, 在荒地用撒播和 3 cm 深度播种 2 种方式, 于 2011 年 5 月~2012 年 3 月对棉花出苗率、株高、生育进程、棉吐絮瓣数、絮瓣脱落率、自生苗等生存竞争能力进行比较, 检测、评价其杂草化的风险, 并探讨、验证检测技术的可行性。【结果】在荒地条件下, 以 2 种方式播种的转 *cry1Ac* + *cry2Ab* 基因棉和转 *cry1Ac* + *EPSPS* 基因棉与非转基因棉相比, 上述各项指标的竞争能力总体上未表现显著优势。【结论与意义】转 *cry1Ac* + *cry2Ab* 基因棉和转 *cry1Ac* + *EPSPS* 基因棉在荒地条件下生长无杂草化风险。同时, 研究证明, 在荒地自然生态条件下, 可以采用撒播和 3 cm 深度播种方法检测新的转基因棉花品种在生存竞争能力上的杂草化风险, 在测评上有互为参照效应, 为定性评价新的转基因棉花品种的杂草化风险提供了保障。

关键词: 双价双 *Bt* 抗虫基因棉; *cry1Ac* + *cry2Ab* 基因; 双价抗虫、抗除草剂基因棉; 5-烯醇丙酮酰莽草酸-3-磷酸合酶基因; 生存竞争能力; 杂草化风险

Studies on the competitive ability of transgenic *cry1Ac* + *cry2Ab* cotton and transgenic *cry1Ac* + *EPSPS* cotton in wasteland

Xing-hua ZHANG*, Shao-ren TIAN, Tian-yu ZHANG, Jie LI, Yan-yan QIAO
Cotton Research Institute of Jiangxi Province, Jiujiang, Jiangxi 332105, China

Abstract: 【Background】This study is to create a new environmental safety assessment technology of transgenic cotton in the "Twelfth Five" national project, which is aim at cultivating new variety of genetically modified organism. 【Method】Three experiment materials were put in trial, including two transgenic cottons with two *Bt* genes (*cry1Ac*, *cry2Ab*) and the double insect and herbicide-resistant genes respectively, which were the observed species, and one non-transgenic cotton Ganmian No.11, which was the check test variety. The three materials were seeded on the earth's surface and under the three centimeters depth of the earth on May 5, 2011 in order to compare their seeding emergence rate, plant height, reproductive process, the number of cotton boll opening valve, the floc valve dropping rate and survival competitiveness of the autogenetic seedling rate, evaluate their risk of weediness, discuss and verify the feasibility of this detection technology. 【Result】The differences of all above survival competitive ability between the double price of *Bt* gene (*cry1Ac*, *cry2Ab*) cotton, the double price of insect and herbicide-resistant gene cotton and the control variety were less than 5% in general, which indicated the two transgenic cotton had no weediness risk. 【Conclusion and significance】It was not only feasible to use seeding on the earth's surface as well as seeding under the three centimeters depth of the earth as detecting whether the survival competitive ability of new transgenic cotton has risk of weediness in the wasteland, but also had interactive reference effect on evaluation, which provided more reliable insurance on evaluation and had the significance of technique location.

Key words: the double price of *Bt* gene cotton; *cry1Ac* + *cry2Ab* genes; the double price of insect and herbicide-resistant gene cotton; 5-enol pyruvoyl shikimate-3-phosphate synthase gene; survival competitiveness; weediness potential

收稿日期 (Received): 2012-03-15 接受日期 (Accepted): 2012-04-26
基金项目: 国家“十二五”转基因生物新品种培育重大专项(2011ZX08011-002)
作者简介: 张兴华, 男, 研究员。研究方向: 棉花植保
* 通讯作者 (Author for correspondence), E-mail: jxcotton@163.com

苏云金芽孢杆菌 *Bacillus thuringiensis* δ -内毒素晶体蛋白基因简称 *Bt* 基因 (Crickmore *et al.*, 1998), 是世界上应用最广泛的生物杀虫剂 (关雄, 2006)。据统计, 已报道的 *Bt* 基因有 60 种以上。根据它们的杀虫范围和基因序列差异, 可大致分为 6 类, 即 *cry1*、*cry2*、*cry3*、*cry4*、*cry5*、*cryt*。每一类中又包含不同的亚类, 前 5 类称为晶体蛋白基因家族, 第 6 类称为细胞外溶性晶体蛋白基因 (张洪瑞等, 2008)。1981 年 Shnepf & Witeleg 首次从苏云金芽孢杆菌中分离并克隆了 *Bt* 基因, 美国孟山都公司将 *Bt* 基因经过启动子改造后转入棉花中, 于 1995 年获得了 2 种转 *Bt* 基因抗虫棉 NUCOTN33B 和 NUCOTN35B (谢德意, 2001)。我国于 1990 年从苏云金芽孢杆菌亚种 aizawai7-29 和 KurstakiHD-1 中分离克隆了 *Bt* 基因 (谢道昕和范云六, 1991); 后对其进行改造并获得具有自主知识产权的抗虫性极强的 *Bt* 基因 [GFM *cry1A* BT 基因 (*cry1Ab*、*cry1Ac*)] (郭三堆, 1993; 郭三堆等, 1993), 且由中国农业科学院生物工程中心、中国农业科学院棉花研究所等单位将改造的 *Bt* 基因转入国产棉花品种中, 于 1994 年成功获得了第一批国产转单价 *Bt* 基因抗虫棉 (张锐等, 2007)。1998 年孟山都公司将腈水解酶基因 *BXN* 与 *Bt* 基因同时转入一个棉花中, 获得既抗虫又抗溴苯腈除草剂的棉花品种 (冯坚, 2006)。

近几年, 我国又推出了转双价 *Bt* 和豇豆胰蛋白酶抑制抗虫基因 (*cry1Ac* + *CPTI*) 棉 (Wu & Guo, 2005)、转双价双 *Bt* 抗虫基因 (*cry1Ac* + *cry2Ab*) 棉 (雒珺瑜等, 2011)、转双价抗虫和抗除草剂基因 (*cry1Ac* + *EPSPS*) 棉、转双价抗病基因 (*Chi* + *Glu*) 棉等新品种。对于这些新的转基因棉花品种, 必须在推广种植前进行环境安全风险评估。我国仅在 2007 年公布了 1 项技术标准, 即农业部 953 号公告-12-2007 (以下简称 953 号公告)。但该标准仅适用于转单价 *Bt* 基因抗虫棉, 一些新的转双价复合基因棉仍缺乏环境安全评价技术标准。为此, 中华人民共和国农业部从“十一五”起开始设立环境安全评价技术研究专项。本文对转 *cry1Ac* + *cry2Ab* 基因棉与转 *cry1Ac* + *EPSPS* 基因棉荒地的生存竞争能力进行研究, 以期转双价双 *Bt* 抗虫基因棉和转双价抗虫、抗除草剂基因棉环境安全评价技术的建立提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验品种: 转双价双 *Bt* 抗虫基因 (*cry1Ac* + *cry2Ab*) 棉, 转双价抗虫、抗除草剂基因 (*cry1Ac* + *EPSPS*) 棉均由中国农业科学院棉花研究所提供; 对照品种: 非转基因常规棉——赣棉 11 号为江西省棉花研究所研制品种。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 试验地设在江西省棉花研究所内, 面积 40 m × 6 m。试验品种和对照品种各设 4 个重复, 随机排列, 每个重复的小区面积为 3 m × 2 m, 播 40 粒棉种, 分地表撒播和 3 cm 深度点播 2 种方式。播种后不进行任何栽培管理。

1.2.2 调查内容 试验期间调查优势杂草种类、高度和覆盖度 (目测各种杂草占小区的比例), 棉花出苗数、株高、生育进程 (蕾、铃、吐絮)、吐絮瓣数、吐絮瓣脱落率、自生苗等指标。

1.2.3 调查时间 于 2011 年 5 月 4 日播种前调查各小区杂草种类、高度和覆盖度, 6 月 5 日播种后 30 d 开始第 1 次调查, 以后每隔 1 个月调查 1 次, 至 11 月上旬结束。2012 年 3 月底进行第 2 次吐絮棉瓣脱落率和自生苗调查。

1.2.4 数据处理 将试验数据进行方差分析、LSD 最小显著性极差检验。其中, 由于吐絮瓣数和絮瓣脱落率各有 1 ~ 2 个小区数据为 0, 无法进行生物统计上的差异显著性分析。鉴于此, 作者应用普通方法进行统计, 自定差异显著性标准: < 5% 为差异不显著, 5% ~ 10% 为差异显著, > 10% 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 地表撒播竞争能力表现

2.1.1 播种前杂草情况 播种前, 试验地杂草平均覆盖度 95.4%, 平均高度 10 ~ 70 cm。其中, 优势杂草 5 种: 野麦 *Avena fatua* L.、南苜蓿 *Medicago hispida* Gaertn.、野芹菜 *Sanicula lamelligera* Hance、风花菜 *Rorippaislandica* (Oed.) Borb.、猪殃殃 *Galium aparine* L. var. *tenerum* (Gren. Et Godr.) Rchb.; 非优势杂草 4 种: 野老鹳草 *Geranium carolinianum* L.、一年蓬 *Erigeron annuus* (L.) Pers.、刺儿菜 *Cephalanoplos segetum* (Bge.) Kitam.、小飞蓬 *Conyza canadensis* (L.) Cronq.; 其他杂草数量稀少 (表 1)。

表 1 播种前杂草种类、高度及覆盖度
Table 1 The species, height and coverage of weed before sowing

种类 Species	杂草名称 Weed name	地表撒播 Sowing on the earth's surface		3 cm 深播 Sowing in 3 cm depth	
		高度	覆盖度	高度	覆盖度
		Height (cm)	Coverage (%)	Height (cm)	Coverage (%)
优势杂草 Dominant weed	野麦 <i>Avena fatua</i>	40 ~ 60	5 ~ 80	40 ~ 100	5 ~ 80
	南苜蓿 <i>Medicago hispida</i>	10 ~ 40	15 ~ 90	30 ~ 60	30 ~ 70
	野芹菜 <i>Sanicula lamelligera</i>	30 ~ 50	3 ~ 85	20 ~ 50	2 ~ 90
	风花菜 <i>Rorippaislandica</i>	40 ~ 70	5 ~ 20	50 ~ 120	5 ~ 30
	猪殃殃 <i>Galium aparine</i> var. <i>tenerum</i>	20 ~ 30	5 ~ 30	20 ~ 40	4 ~ 50
非优势杂草 Non-dominant weed	野老鹳草 <i>Geranium carolinianum</i>	30 ~ 40	3 ~ 10	40	2
	一年蓬 <i>Erigeron annuus</i>	40	10	30	2
	刺儿菜 <i>Cephalanoplos segetum</i>	15	2		
	小飞蓬 <i>Conyza canadensis</i>	20 ~ 40	5 ~ 15	30	2 ~ 5
	羊蹄 <i>Rumex japonicus</i>			80	5
其他杂草 Other weed			2 ~ 35		1 ~ 35
平均值 Average		10 ~ 70	95.4	20 ~ 120	98.3

2.1.2 出苗竞争力 6 月 5 日和 7 月 5 日: 转 *cry1Ac* + *cry2Ab* 基因棉各小区杂草平均高度分别为 50.0 和 57.5 cm, 平均覆盖度分别为 88.8% 和 97.5% (表 2), 平均出苗率分别为 2.5% 和 6.9% (表 3); 转 *cry1Ac* + *EPSPS* 基因棉各小区杂草平均高度分别为 47.5 和 50.0 cm, 平均覆盖度分别为 87.5% 和 91.3% (表 2), 平均出苗率分别为 2.5% 和 5.0% (表 3)。以上指标与对照相比差异均不显著。这表明转 *cry1Ac* + *cry2Ab* 基因棉和转 *cry1Ac* + *EPSPS* 基因棉在 6 ~ 7 月出苗率竞争优势均较小, 棉苗被杂草覆盖。

8 月 5 日和 9 月 5 日: 转 *cry1Ac* + *cry2Ab* 基因棉各小区杂草平均高度分别为 150.0 和 167.5 cm, 平均覆盖度均为 100% (表 2), 平均出苗率分别为 9.4% 和 10.6% (表 3); 转 *cry1Ac* + *EPSPS* 基因棉各小区杂草平均高度分别为 150 和 175.0 cm, 平均覆盖度均为 100% (表 2), 平均出苗率分别为 5.6% 和 7.5% (表 3)。以上指标中, 仅 9 月 5 日的转 *cry1Ac* + *cry2Ab* 基因棉平均出苗率与对照相比差异显著, 其余均不显著。

出苗竞争力方面杂草化风险评估: (1) 直到 9 月份, 转 *cry1Ac* + *cry2Ab* 基因棉出苗率与对照相比才表现出显著的竞争优势, 此时已是棉花生长末期, 失去了成熟的机会, 不能繁殖传代, 因此不具有杂草化风险; (2) 转 *cry1Ac* + *EPSPS* 基因棉出苗率与对照相比始终无显著的竞争优势, 也不具有杂草化风险。

表 2 2 种播种方式下小区杂草高度及覆盖度
Table 2 The height and coverage of weed in each district by two sowing methods

品种 Variety	地表撒播 Sowing on the earth's surface											
	杂草覆盖度 Weed coverage (%)						杂草高度 Weed height (cm)					
	06 - 05	07 - 05	08 - 05	09 - 05	10 - 05	11 - 05	06 - 05	07 - 05	08 - 05	09 - 05	10 - 05	11 - 05
I	88.8aA	97.5aA	100aA	100aA	100aA	已枯萎	50.0aA	57.5aA	150.0aA	167.5aA	107.5aA	已枯萎
II	87.5aA	91.3aA	100aA	100aA	100aA	已枯萎	47.5aA	50.0aA	150.0aA	175.0aA	125.0aA	已枯萎
CK	91.3aA	96.3aA	100aA	100aA	100aA	已枯萎	53.8aA	52.5aA	137.5aA	155.0aA	135.0aA	已枯萎
品种 Variety	3 cm 深播 Sowing in 3 cm depth											
	杂草覆盖度 Weed coverage (%)						杂草高度 Weed height (cm)					
	06 - 05	07 - 05	08 - 05	09 - 05	10 - 05	11 - 05	06 - 05	07 - 05	08 - 05	09 - 05	10 - 05	11 - 05
I	61.3abA	87.5aA	100aA	100aA	100aA	已枯萎	52.5abA	46.3aA	110.0aA	120.0aA	100.0aA	已枯萎
II	75.0aA	88.8aA	100aA	100aA	100aA	已枯萎	61.3aA	41.3aA	87.5aA	115.0aA	117.5aA	已枯萎
CK	38.8bA	73.8aA	100aA	100aA	100aA	已枯萎	38.8bA	40.0aA	107.5aA	122.5aA	127.5aA	已枯萎

I : 转双价双 *Bt* 抗虫基因(*cry1Ac* + *cry2Ab*) 棉; II : 转双价抗虫、抗除草剂基因(*cry1Ac* + *EPSPS*) 棉; CK: 赣棉 11 号。同列数据后不同小、大写字母分别表示在 0.05、0.01 水平上差异显著。

I : The double price of *Bt* gene (*cry1Ac* + *cry2Ab*) cotton; II: Double price of insect and herbicide-resistant gene cotton; CK; Ganmian No. 11. Different small and capital letters indicate significant differences at *P* < 0.05 and *P* < 0.01, respectively.

表 3 2 种播种方式下转基因棉的出苗率、株高及生育进程

Table 3 The seedling emergence, height and growing process of transgenic cotton by two sowing methods

品种 Variety	地表撒播 Sowing on the earth's surface												
	出苗率 Seeding emergence rate (%)				株高 Height (cm)					生育进展 Growing process			
	06-05	07-05	08-05	09-05	07-05	08-05	09-05	10-05	11-05	08-05	09-05	10-05	11-05
I	2.5aA	6.9aA	9.4aA	10.6aA	15.00aA	21.33aA	36.78aA	36.80aA	36.85aA	蕾	铃	吐絮	吐絮
II	2.5aA	5.0aA	5.6aA	7.5abA	13.75aA	19.95aA	28.05aA	28.13aA	29.38aA	无蕾	蕾	蕾	铃
CK	1.9aA	3.1aA	3.8aA	4.4bA	8.75aA	14.70aA	32.44aA	32.50aA	32.63aA	蕾	铃	铃	吐絮

品种 Variety	3 cm 深播 Sowing in 3 cm depth												
	出苗率 Seeding emergence rate (%)				株高 Height (cm)					生育进展 Growing process			
	06-05	07-05	08-05	09-05	07-05	08-05	09-05	10-05	11-05	08-05	09-05	10-05	11-05
I	13.8aA	18.1aA	20.6aA	24.4aA	25.00aA	29.50aA	33.92aA	33.93aA	33.93aA	花、铃	蕾、铃	吐絮	吐絮
II	10.6aA	8.8aA	14.4aA	15.6aA	21.25aA	30.25aA	40.51aA	40.52aA	40.52aA	蕾	蕾、铃	吐絮	吐絮
CK	13.1aA	11.3aA	13.1aA	15.6bA	23.75aA	36.45aA	44.67aA	44.68aA	44.68aA	花、铃	蕾、铃	吐絮	吐絮

同列数据后不同小、大写字母分别表示在 0.05、0.01 水平上差异显著。
Different small and capital letters indicate significant differences at $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively.

2.1.3 株高竞争力 在 7~11 月 5 个调查日中,转 *cry1Ac + cry2Ab* 基因棉平均株高分别为 15.00、21.33、36.78、36.80 和 36.85 cm,转 *cry1Ac + EPSPS* 基因棉平均株高分别为 13.75、19.95、28.05、28.13 和 29.38 cm,与对照相比差异均不显著(表 3)。这表明在整个生长期,转 *cry1Ac + cry2Ab* 基因棉和转 *cry1Ac + EPSPS* 基因棉与对照相比,株高竞争优势均较弱;与同期杂草(表 2)相比,株高也处于劣势,出苗稀少,一直处于杂草的覆盖下,生长上无竞争力。由此可见,这 2 种转基因棉在株高竞争力方面均无杂草化风险。

2.1.4 生育进程竞争力 转 *cry1Ac + cry2Ab* 基因棉吐絮比对照快 1 个月(表 3),显示出生育进程竞争优势,具有一定的杂草化风险;转 *cry1Ac + EPSPS*

基因棉成铃比对照慢 2 个月(表 3),在生育进程上无竞争力,且在生长期内,成铃未进入吐絮期由此丧失絮棉种子繁殖的机会,从而在棉生育进程竞争力上不具有杂草化风险。

2.1.5 吐絮瓣和絮瓣脱落竞争力 2011 年 11 月 5 日,转 *cry1Ac + cry2Ab* 基因棉和转 *cry1Ac + EPSPS* 基因棉平均吐絮瓣数分别为 1.5 和 0 个,与对照相比差异均不显著;絮瓣脱落率与对照均为 0。2012 年 3 月 28 日,2 种转基因棉的平均吐絮瓣数分别为 8.0 和 0 个,与对照相比差异也不显著;絮瓣脱落率与对照均为 0(表 4)。这表明转 *cry1Ac + cry2Ab* 基因棉和转 *cry1Ac + EPSPS* 基因棉吐絮瓣竞争优势均不显著,且吐絮的棉瓣不能脱落,丧失了繁殖机会,因此都不具有杂草化风险。

表 4 2 种播种方式下棉吐絮瓣数和絮瓣脱落率

Table 4 The number of cotton boll opening valve and the floc valve dropping rate of cotton by two sowing methods

品种 Variety	地表撒播 Sowing on the earth's surface				3 cm 深播 Sowing in 3 cm depth			
	吐絮瓣数 The number of cotton boll opening valve		絮瓣脱落率 Floc valve dropping rate (%)		吐絮瓣数 The number of cotton boll opening valve		絮瓣脱落率 Floc valve dropping rate (%)	
	2011-11-05	2012-03-28	2011-11-05	2012-03-28	2011-11-05	2012-03-28	2011-11-05	2012-03-28
I	1.5aA	8.0aA	0aA	0aA	6.8BA	16.0cC	0aA	0bB
II	0.0aA	0.0bB	0aA	0aA	11.0bA	36.0bB	0aA	8.3bA
CK	1.0aA	4.0abA	0aA	0aA	16.3aA	60.0aA	0aA	13.3aA

同列数据后不同小、大写字母分别表示在 0.05、0.01 水平上差异显著。
Different small and capital letters indicate significant differences at $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively.

2.1.6 自生苗 2012 年 3 月 28 日,转 *cry1Ac + cry2Ab* 基因棉、转 *cry1Ac + EPSPS* 基因棉和对照各小区均无自生苗,这是由于三者吐絮棉瓣中的棉籽(种子)均为不成熟的空壳。因此,这 2 种转基因棉无自生苗上的杂草化风险。

2.2 3 cm 深度播种竞争能力表现

2.2.1 播种前杂草情况 播种前,试验地杂草平均覆盖度 98.3%,杂草平均高度 20~120 cm。其中,优势杂草 5 种:野麦、南苜蓿、野芹菜、风花菜、猪殃殃;非优势杂草 4 种:野老鹳草、一年蓬、小飞蓬、羊蹄 *Rumex japonicus* Houtt.;其他杂草数量稀少(表 1)。

2.2.2 出苗竞争力 6 月 5 日和 7 月 5 日:转 *cry1Ac* + *cry2Ab* 基因棉各小区杂草平均高度分别为 52.5 和 46.3 cm,与对照相比差异均不显著;平均覆盖度分别为 61.3% 和 87.5%,与对照相比差异均显著(表 2);平均出苗率分别为 13.8% 和 18.1%,与对照相比,前者差异不显著,后者差异显著(表 3)。转 *cry1Ac* + *EPSPS* 基因棉各小区杂草平均高度分别为 61.3 和 41.3 cm,与对照相比,前者差异显著,后者差异不显著;平均覆盖度分别为 75.0% 和 88.8%,与对照相比差异均显著(表 2);平均出苗率分别为 10.6% 和 8.8%,与对照相比差异均不显著(表 3)。这表明 2 种转基因棉在 6~7 月出苗竞争力较弱,棉苗被杂草覆盖。

8 月 5 日和 9 月 5 日:转 *cry1Ac* + *cry2Ab* 基因棉各小区杂草平均高度分别为 110.0 和 120 cm,与对照相比差异均不显著;平均覆盖度均为 100%,与对照相等(表 2);平均出苗率分别为 20.6% 和 24.4%,与对照相比差异均显著(表 3)。转 *cry1Ac* + *EPSPS* 基因棉各小区杂草平均高度分别为 87.5 和 115.0 cm,与对照相比差异均不显著;平均覆盖度均为 100%,与对照相等(表 3);平均出苗率分别为 14.4% (与对照差异不显著) 和 15.6% (与对照相等),棉苗被杂草覆盖。

出苗竞争力方面杂草化风险评估:(1)在整个生长期中,转 *cry1Ac* + *cry2Ab* 基因棉出苗率竞争优势与对照相比均未达到显著水平,因此不具有显著的杂草化风险;(2)转 *cry1Ac* + *EPSPS* 基因棉出苗竞争力与对照相比,在 7 月份之前处于弱势,到 9 月份出苗率与对照相等,所以其在出苗竞争力方面也不具有杂草化风险。

2.2.3 株高竞争力 7 月 5 日、8 月 5 日、9 月 5 日和 10 月 5 日,转 *cry1Ac* + *cry2Ab* 基因棉平均株高分别为 25.00、29.50、33.92 和 33.93 cm,转 *cry1Ac* + *EPSPS* 基因棉平均株高分别为 21.25、30.25、40.51 和 40.52 cm,与对照相比差异均不显著(表 3);11 月 5 日,各小区杂草已处于枯萎状态。由此可见,

这 2 种转基因棉株高竞争力与对照相比均无显著优势,不具有杂草化风险。

2.2.4 生育进程竞争力 转 *cry1Ac* + *cry2Ab* 基因棉、转 *cry1Ac* + *EPSPS* 基因棉在生育进程上与对照均一致(表 3),无竞争优势,这也说明它们无杂草化风险。

2.2.5 吐絮瓣和絮瓣脱落竞争力 2011 年 11 月 5 日,转 *cry1Ac* + *cry2Ab* 基因棉和转 *cry1Ac* + *EPSPS* 基因棉平均吐絮瓣数分别为 6.8 和 11 个,与对照相比差异均显著;絮瓣脱落率和对照均为 0。2012 年 3 月 28 日,2 种转基因棉平均吐絮瓣数分别为 16.0 和 36.0 个,与对照相比差异均极显著;絮瓣脱落率分别为 0 和 8.3%,与对照相比差异均显著(表 4)。这表明转 *cry1Ac* + *cry2Ab* 基因棉和转 *cry1Ac* + *EPSPS* 基因棉与对照相比,吐絮瓣和絮瓣脱落竞争力均呈显著的负优势,不具有繁殖传代意义上的杂草化风险。

2.2.6 自生苗 2012 年 3 月 28 日,转 *cry1Ac* + *cry2Ab* 基因棉、转 *cry1Ac* + *EPSPS* 基因棉和对照各小区均无自生苗,这是由于三者吐絮棉瓣中的棉籽(种子)均为不成熟的空壳。因此,这 2 种转基因棉在荒地 3 cm 深播下无自生苗的杂草化风险。

综上所述,在地表撒播和 3 cm 深度播种条件下,转 *cry1Ac* + *cry2Ab* 基因棉和转 *cry1Ac* + *EPSPS* 基因棉各项指标的竞争能力均无显著优势,在推广种植上不存在杂草化风险。

3 结论与讨论

转 *cry1Ac* + *cry2Ab* 基因棉、转 *cry1Ac* + *EPSPS* 基因棉和对照非转基因棉在荒地撒播和 3 cm 深播 2 种方式的生存竞争能力检测结果表明,仅转 *cry1Ac* + *cry2Ab* 基因棉撒播的平均出苗竞争优势与对照相比达到显著差异,其余检测指标与对照相比均无显著的竞争优势。因此,从整体上看,可以定性地确定受检的转 *cry1Ac* + *cry2Ab* 基因棉和转 *cry1Ac* + *EPSPS* 基因棉在推广种植上不存在杂草化风险。

本研究未调查杂草数量,而是调查了杂草覆盖度。953 号公告规定,在转基因抗虫棉花生生存竞争能力的荒地测定中,需调查杂草数量。作者研究发现,荒地杂草种类繁多,无法调查杂草株数,如禾本科和苜蓿类杂草,不仅难以准确计算,而且极其耗时。另外,其覆盖度也比一些大型杂草小,如一年

蓬、风花菜、野芹菜等。由此可见,在植物生长竞争能力方面,覆盖度指标更为重要,指标越大,说明竞争能力越强,优势也越大。因此作者认为,在荒地竞争能力检测中,无需调查杂草数量,通过调查、统计各种杂草覆盖度即可说明其占据栖息地的竞争能力。

953 号公告规定,在转基因抗虫棉荒地生存竞争能力测定中,需对棉花的覆盖度做调查。作者研究发现,棉花在荒地不仅出苗少,植株瘦弱矮小,而且大部分荒地杂草覆盖。因此认为,在荒地检测时对于棉花覆盖度可以忽略不测,除非有新的转基因棉花在荒地中表现更强的生长竞争力,则可以临时用游标卡尺逐株测量后统计棉花的覆盖度(张兴华等,2010)。

此外,本研究采用百分数方法自定义差异显著性值。在检测棉花荒地的生存竞争能力中,由于某个处理中某个重复小区会产生无苗生出、无铃吐絮、无吐絮棉瓣脱落的情况而不能进行生物统计中的方差分析和显著性检验。据作者研究,在荒地条件下棉长势不良,出苗株数稀少,彼此间量值很低,差异值较小。因此,自定义定性评价标准: <5% 为差异不显著,5% ~ 10% 为差异显著, > 10% 为差异极显著。经实践检验,此标准符合实际,且实用性强,可操作性好。在 2012 年初召开的“转基因抗病棉花生存竞争能力检测技术操作规程和评价指标”江西省地方标准审定会上得到评审专家的认可。

参考文献

冯坚. 2006. 转基因耐除草剂作物的历史、现状及展望. 杂草科学, 24(1): 1-6.

关雄. 2006. 苏云金芽孢杆菌研究回顾与展望. 中国农业科技导报, 8(6): 5-11.

郭三堆. 1993. Cry1A 杀虫基因的人工合成. 中国农业科学, 26(2): 85.

郭三堆, 洪朝阳, 徐琼芳, 毛立群, 范云六. 1993. 苏云金芽孢杆菌 aizawai7-298-内毒素基因改造后的杀虫活性研究. 中国农业科学, 26(5): 77-82.

雒珺瑜, 崔金杰, 张帅, 陆雪君. 2011. 转 Cry1Ac + Cry2Ab 基因棉对棉田节肢动物群落的影响. 植物保护, 37(6): 90-92.

谢道昕, 范云六. 1991. 苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*) 杀虫晶体蛋白基因导入棉花获得转基因植株. 中国科学(B)辑, (4): 367-373.

谢德意. 2001. 转基因抗虫棉研究进展、问题与对策. 中国棉花, 28(2): 6-8.

张洪瑞, 朱其松, 高苓昌, 杜本怀, 宋克勤, 张士永, 陈峰. 2008. Bt 基因及其在转基因抗虫植物中的研究进展. 河北农业科学, 12(6): 87-89.

张锐, 王远, 孟志刚, 孙国清, 郭三堆. 2007. 国产转基因抗虫棉研究回顾与展望. 中国农业科技导报, 9(4): 32-42.

张兴华, 乔艳艳, 李捷. 2010. 转双价(*Chi* + *Glu*)基因抗病棉栽培地生存竞争能力研究. 江西农业学报, 22(6): 1-3.

Crickmore N, Zeigler D R, Feitelson J, Schnepf E, van Rie J, Lereclus D, Baum J and Dean D H. 1998. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62: 775-806.

Wu K M and Guo Y Y. 2005. The evolution of cotton pest management practices in China. *Annual Review of Entomology*, 50: 31-52.

(责任编辑:彭露)