

除草剂草铵膦对转基因抗草铵膦棉花 生长发育的影响

姜伟丽, 马小艳, 任相亮, 彭 军, 马亚杰, 马 艳*

中国农业科学院棉花研究所/棉花生物学国家重点实验室, 河南 安阳 455000

摘要:【背景】草铵膦是继草甘膦之后又一种高效、广谱、低毒的非选择性除草剂,有望成为我国转基因抗除草剂棉花的主要靶标之一。目前,在抗草铵膦棉花的不同生育期使用草铵膦是否影响棉花生长发育尚不清楚。【方法】分别在抗草铵膦棉花子叶期、3~4片真叶期、现蕾期、盛花期喷施草铵膦,单次施药量分别为900和1800 g·hm⁻²,每个处理小区面积25.6 m²。分析草铵膦对花粉育性、棉花生长、产量及纤维品质的影响。【结果】喷施草铵膦对棉花盛花期的花粉活力、株高、茎直径、产量因子、纤维品质等各项参数均无显著性影响,在子叶期使用1800 g·hm⁻²的高剂量浓度处理时,籽指水平显著低于空白对照处理。【结论与意义】转基因抗草铵膦棉花对900、1800 g·hm⁻²的草铵膦具有较好的耐受性。本研究为转基因抗草铵膦棉花的环境安全性评价提供了依据。

关键词: 草铵膦; 抗草铵膦棉; 生长; 发育

Effects of glufosinate on the growth and development of transgenic glufosinate-resistant cotton

Wei-li JIANG, Xiao-yan MA, Xiang-liang REN, Jun PENG, Ya-jie MA, Yan MA*

State Key Laboratory of Cotton Biology, Cotton Research Institute, Chinese Academy of
Agricultural Sciences, Anyang, Henan 455000, China

Abstract:【Background】Glufosinate is the second most highly efficient, broad-spectrum, low toxicity and non-selective herbicide after glyphosate. It is expected to become one of the main herbicide in resistant/tolerant transgenic cotton fields in China. When spray glufosinate on transgenic glufosinate-resistant cotton at different growth stages, it is unclear whether it affects the growth and development of resistant/tolerant transgenic cotton.【Method】Glufosinate of 900 g (a.i)·hm⁻² and 1800 g·hm⁻² was applied at the cotyledon, 3~4 true leaf stage, squaring and bloom stages, in the transgenic glufosinate-resistant cotton field, in 2015. Each treatment area was 25.6 m² (8.0 m×3.2 m). The influence of glufosinate to pollen fertility, cotton growth, cotton yields and fiber quality among treatments were compared.【Result】There were no significant effects to growth and development parameters including pollen activity, plant height, stem diameter, yield and fiber quality during different cotton growth stages when exposed to 900 g·hm⁻² glufosinate. Plant height and seed index were affected by high concentration (1800 g·hm⁻²) at the cotyledon stage.【Conclusion and significance】It indicated that transgenic glufosinate-resistant cotton have good tolerance when exposed to 900 and 1800 g·hm⁻², which are recommended doses of glufosinate. This study contributed to the assessment of environment safety of transgenic glufosinate-resistant cotton.

Key words: glufosinate; transgenic glufosinate-resistant cotton; growth; development

近年来,由于种植转基因作物能获得良好的生产效益,其种植面积不断上升。2013年全球转基因作物的种植面积达到1.752亿hm²,种植国家达27个(James, 2014)。在转基因作物的所有性状中,抗

除草剂性状一直占主导地位。其中,抗除草剂转基因作物首选草甘膦和草铵膦(glufosinate ammonium)2大灭生广谱除草剂为对象。抗草甘膦性状已经在转基因抗除草剂大豆、棉花和油菜作物市场占据了

收稿日期(Received): 2016-02-26 接受日期(Accepted): 2016-03-31

基金项目: 转基因动植物新材料的育种价值评估(2016ZX08010005-007); 转基因生物新品种培育重大专项(2016ZX08011-002)

作者简介: 姜伟丽,女,助理研究员,硕士。研究方向: 棉田杂草化学防除及转基因棉花环境安全评价技术。E-mail: zhsjwl@126.com

* 通讯作者(Author for correspondence), E-mail: aymayan@126.com

主导地位。草铵膦作为生物源除草剂双丙氨膦的衍生物,除了具有草甘膦的某些优点,如广谱、易降解、低毒、对作物安全等外,其杀草速度更快于草甘膦,成为继草甘膦之后又一个性能优良的灭生性除草剂品种,也是世界第二大转基因作物耐受除草剂(苏少泉,2005; 张宏军等,2002)。艾格福公司已先后选育出多种抗草铵膦转基因作物品种,如抗草铵膦大豆、玉米、油菜、甜菜、棉花和水稻等(黄大年,1997; 吴爱忠等,2000; Oard *et al.*, 1996),因而草铵膦的应用面积和使用量在逐步增长。近年来,我国对转基因抗除草剂棉花也进行了研发与培育,如抗2,4-D、溴苯腈、草甘膦、草铵膦等棉花品种,目前处于田间试验阶段,随着在转基因抗/耐草铵膦棉花品种培养上的新突破,草铵膦有望成为我国棉田主要应用的除草剂品种之一。

在转基因抗除草剂作物的生长过程中,除草剂的喷施时期受到一定程度的限制。如在转基因抗草甘膦棉的4~8叶期喷施草甘膦,会造成棉花的花药不能正常开裂,花粉活力降低,甚至畸形不育,以及影响棉铃的分布和成熟期,导致棉铃数量减少、产量下降(梅磊等,2013; Edenfield *et al.*, 2005; Yasuor *et al.*, 2007)。马小艳等(2013)研究表明,抗草甘膦棉花在花铃期喷施草甘膦后棉花单株结铃数和铃重降低、产量下降。目前,国内针对抗草铵膦棉花在不同生育期使用草铵膦对其生长及花粉育性的研究尚未见报道。本试验以转基因抗草铵膦棉花品系为供试材料,研究在不同生育期喷施草铵膦对抗草铵膦棉花生长发育及花粉育性的影响,以初步明确转基因抗草铵膦棉花对其目标除草剂的耐受性,为转基因抗草铵膦棉花的环境安全评价及研发应用提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料:转基因抗草铵膦棉花品系(代号2014001),由中国农业科学院棉花研究所育种研究室提供。

供试药剂:20%草铵膦水剂(河北威远生物化工股份有限公司)。

喷雾器具:新加坡利农HD400背负式手动喷雾器(新加坡利农私人有限公司)。

1.2 试验处理

试验共设9个处理,分别于2015年棉花子叶

期(5月15日)、3~4片真叶期(6月3日)、现蕾期(6月18日)、盛花期(封行前,7月21日)喷施草铵膦,每次施药量分别为900和1800 g·hm⁻²,每处理3次重复,小区面积25.6 m²(8 m行长,4行区),随机区组排列。小区间实行定向喷雾处理,喷雾量为600 L·hm⁻²,喷雾周到均匀。

1.3 调查方法

花粉活力测定:当棉花进入初花期,对每个小区进行花粉取样,其中盛花期在施药后1 d开始取样,取样时间为上午9:00—11:00,每处理取花3朵,将每朵花的花粉全部剪切下来,用亚历山大染色法(Alexander, 1969)对花粉进行染色,显微镜下观察,每处理选3个视野统计花粉育性。镜下显红色、圆形、饱满的花粉粒为可育花粉,黄色、半透明、不规则的为败育花粉。

花粉育性=所有视野中的可育花粉/所有视野中的所有花粉×100%。

棉花长势及产量调查:于9月17日每小区随机选择10株棉花,测量植株株高、茎直径、果枝数、蕾铃数等生长参数;10月初,每小区均匀采收25铃,晒干轧花后进行室内考种获得铃重、衣分、籽指、棉籽数等参数;随机取100 g棉纤维,由农业部棉花品质监督检验测试中心对棉纤维样品进行品质分析。

1.4 统计分析

运用SPSS 13.0软件对所有数据进行统计分析,采用单因素方差分析(one-way analysis, ANOVA)和Duncan's差异显著性分析,检验不同处理区棉花生长参数、品质、花粉活性的差异。

2 结果与分析

2.1 草铵膦对转基因抗草铵膦棉花育性的影响

在棉花子叶期、3~4片真叶期和现蕾期分别喷施草铵膦后,初花期的花粉育性均可达到92.7%以上,与空白对照无显著差异。在3~4片真叶期和现蕾期喷施高浓度1800 g·hm⁻²草铵膦后,花粉育性分别为92.7%和93.8%,略低于低浓度处理(94.7%和96.4%)和空白对照处理(95.7%),差异不显著。

盛花期施药后,分别于药后1、2、3、4、5、6、7、10、13 d,连续9次取样,花粉育性的变化不大,为94.4%~98.9%,与空白对照相当(94.1%~98.8%);在药后5 d后,高浓度1800 g·hm⁻²处理的花粉育

性略低于 $900 \text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$ 处理和空白对照处理,但差异不显著。因此,在不同生育期喷施草铵膦对抗草铵膦棉花粉可育性的影响并不明显。

2.2 草铵膦对转基因抗草铵膦棉花生长的影响

不同时期喷施草铵膦对转基因抗草铵膦棉花生长的影响见表 1。9 月中旬棉花生长均稳定处于停滞阶段,各处理区棉花平均株高 $81.7 \sim 93.7 \text{ cm}$,

平均茎直径 $15.7 \sim 17.0 \text{ mm}$,平均果枝数 $11.7 \sim 12.8$ 台,与空白对照处理无显著性差异。其中高浓度 $1800 \text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$ 处理的株高均略低于空白对照处理,尤其在子叶期喷施后,棉花的株高为 81.7 cm ,相对较低。总体而言,在以上 4 个生育期喷施草铵膦对转基因抗草铵膦棉花的生长无明显不良影响。

表 1 不同时期喷施草铵膦对转基因抗草铵膦棉花生长的影响

Table 1 Effects of transgenic glufosinate-resistant cotton growth treated with glufosinate at different growth stages

施药时期 Spraying time	施药量 Dose ($\text{g} \cdot \text{hm}^{-2}$)	株高 Plant height (cm)	茎直径 Stem diameter (mm)	果枝数(台) Branch numbers
子叶期 Cotyledon stage	900	$85.6 \pm 3.1\text{ab}$	$15.7 \pm 0.4\text{a}$	$12.5 \pm 0.2\text{ab}$
	1800	$81.7 \pm 3.3\text{b}$	$16.2 \pm 0.3\text{a}$	$12.1 \pm 0.4\text{ab}$
3~4 片真叶期 3~4 leaf stage	900	$83.8 \pm 2.5\text{b}$	$16.0 \pm 0.3\text{a}$	$12.4 \pm 0.3\text{ab}$
	1800	$87.4 \pm 3.1\text{ab}$	$16.0 \pm 0.6\text{a}$	$12.3 \pm 0.4\text{ab}$
现蕾期 Squaring stage	900	$93.7 \pm 2.0\text{a}$	$17.0 \pm 0.3\text{a}$	$12.7 \pm 0.2\text{ab}$
	1800	$87.4 \pm 1.9\text{ab}$	$16.8 \pm 0.4\text{a}$	$11.7 \pm 0.5\text{b}$
盛花期 Bloom stage	900	$87.5 \pm 2.0\text{ab}$	$16.2 \pm 0.6\text{a}$	$12.8 \pm 0.1\text{a}$
	1800	$86.0 \pm 3.1\text{ab}$	$16.3 \pm 0.2\text{a}$	$12.3 \pm 0.2\text{ab}$
	CK	$88.6 \pm 2.5\text{ab}$	$16.3 \pm 0.4\text{a}$	$12.4 \pm 0.3\text{ab}$

表中同列不同字母表示数据经 Duncan 氏法多重比较差异显著。

Different letters in a column represent significant differences among treatments when using a Duncan's multiple ranging test.

2.3 草铵膦处理对抗草铵膦棉花产量及纤维品质的影响

不同时期喷施草铵膦对转基因抗草铵膦棉花各项产量因子不存在显著性影响。各药剂处理区除盛花期在高浓度 $1800 \text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$ 处理的单株有效铃数为 16.3 个外,其他各药剂处理区的单株有效铃数为 $14.3 \sim 15.9$ 个,略低于空白对照 ($16.2 \text{ 株} \cdot \text{个}^{-1}$);除在 3~4 片真叶期喷施 $1800 \text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$ 的草铵膦后,转基因棉籽指显著低于空白对照处理外,其他时期

各药剂处理区的单铃重、衣分、籽指和棉籽数与空白对照处理相当(表 2)。

20%草铵膦 AS 在不同生育期按照 900 、 $1800 \text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$ 处理后,各小区所测定的上半部平均长度、整齐度指数、马克隆值、伸长率和断裂比强度等 5 项指标值均无明显变化,与空白对照相比,无显著差异。因此,在不同时期喷施草铵膦对抗草铵膦棉花的纤维品质未造成不良影响(表 3)。

表 2 不同时期喷施草铵膦对转基因抗草铵膦棉花产量因子的影响

Table 2 Effects of transgenic glufosinate-resistant cotton yield factor treated with glufosinate at different growth stages

施药时期 Spraying time	施药量 Dose ($\text{g} \cdot \text{hm}^{-2}$)	单株有效铃数(个) Effective boll number per plant	单铃重 Single boll weight (g)	衣分 Lint percentage (%)	籽指 Seed index (g)	单铃棉籽数(个) Cotton boll number
子叶期	900	$14.5 \pm 0.6\text{a}$	$7.2 \pm 0.0\text{ab}$	$41.8 \pm 0.6\text{b}$	$11.7 \pm 0.2\text{a}$	$36.3 \pm 0.6\text{ab}$
Cotyledon stage	1800	$14.5 \pm 0.9\text{a}$	$7.1 \pm 0.1\text{ab}$	$42.5 \pm 0.3\text{ab}$	$11.6 \pm 0.1\text{ab}$	$35.3 \pm 0.6\text{ab}$
3~4 片真叶期	900	$15.9 \pm 0.7\text{a}$	$6.8 \pm 0.2\text{b}$	$42.6 \pm 0.8\text{ab}$	$11.4 \pm 0.3\text{ab}$	$34.4 \pm 1.0\text{b}$
3~4 leaf stage	1800	$14.3 \pm 1.5\text{a}$	$7.0 \pm 0.2\text{ab}$	$44.0 \pm 0.3\text{a}$	$10.9 \pm 0.3\text{b}$	$36.8 \pm 0.6\text{a}$
现蕾期	900	$14.9 \pm 0.6\text{a}$	$7.0 \pm 0.1\text{ab}$	$43.8 \pm 0.6\text{a}$	$11.2 \pm 0.2\text{ab}$	$35.7 \pm 0.7\text{ab}$
Squaring stage	1800	$14.6 \pm 0.5\text{a}$	$6.9 \pm 0.1\text{ab}$	$42.5 \pm 0.4\text{ab}$	$11.4 \pm 0.0\text{ab}$	$35.2 \pm 0.6\text{ab}$
盛花期	900	$15.7 \pm 1.2\text{a}$	$7.1 \pm 0.1\text{ab}$	$43.6 \pm 0.9\text{ab}$	$11.5 \pm 0.2\text{ab}$	$35.8 \pm 0.5\text{ab}$
Bloom stage	1800	$16.3 \pm 1.0\text{a}$	$7.2 \pm 0.2\text{a}$	$43.3 \pm 0.5\text{ab}$	$11.4 \pm 0.2\text{ab}$	$36.5 \pm 0.4\text{ab}$
	CK	$16.2 \pm 0.7\text{a}$	$7.0 \pm 0.0\text{ab}$	$42.2 \pm 0.6\text{ab}$	$11.7 \pm 0.3\text{a}$	$35.0 \pm 0.7\text{ab}$

表中同列不同字母表示数据经 Duncan 氏法多重比较差异显著。

Different letters in a column represent significant differences among treatments when using a Duncan's multiple ranging test.

表 3 不同时期喷施草铵磷对转基因抗草铵磷棉花纤维品质的影响

Table 3 Effects of transgenic glufosinate-resistant cotton fiber quality treated with glufosinate at different growth stages

施药时期 Spraying time	施药量 Dose (g·hm ⁻²)	纤维长度 Fiber length (mm)	整齐度指数 Length uniformity (%)	马克隆 Micronaire	断裂伸长率 Elongation (%)	断裂比强度 Fiber strength (cN·tex ⁻¹)
子叶期 Cotyledon stage	900	30.0±0.6a	83.8±0.3b	5.2±0.1a	6.3±0.0a	30.8±0.6a
	1800	29.5±0.4a	85.1±0.1ab	5.2±0.1a	6.3±0.0a	30.1±0.2a
3~4 片真叶期 3~4 leaf stage	900	30.2±0.2a	85.8±0.3a	5.0±0.2ab	6.2±0.0a	30.5±0.5a
	1800	29.9±0.3a	85.4±0.5a	5.1±0.1a	6.3±0.0a	30.2±0.5a
现蕾期 Squaring stage	900	29.7±0.2a	86.1±0.4a	5.2±0.1a	6.3±0.0a	30.1±0.5a
	1800	29.8±0.4a	85.0±1.0ab	4.8±0.2b	6.3±0.0a	31.5±0.4a
盛花期 Bloom stage	900	29.9±0.1a	84.9±0.4ab	5.3±0.1a	6.3±0.1a	30.9±0.7a
	1800	29.8±0.3a	85.0±0.2ab	4.9±0.1ab	6.3±0.0a	31.2±0.3a
	CK	30.7±0.5a	85.8±0.3a	5.0±0.1ab	6.2±0.0a	31.1±1.0a

表中同列不同字母表示数据经 Duncan 氏法多重比较差异显著。
Different letters in a column represent significant differences among treatments when using a Duncan's multiple ranging test.

3 讨论

草铵磷是德国艾格福公司开发的有机磷类除草剂,是谷氨酰胺合成抑制剂,由 D-和 L-草铵磷组成的外消旋体混合物,其中 L-草铵磷具有植物毒性,在植物体内会随着蒸腾流在木质部或韧皮部运输(Anderson *et al.*, 1993; Mersey *et al.*, 1990)。而转基因抗草铵磷中的关键基因是草铵磷乙酰转移酶基因,该基因把 L-草铵磷代谢成对植物无毒的 N-乙酰基-L-草铵磷(Muller *et al.*, 2001), N-乙酰基-L-草铵磷和 L-草铵磷会被运送到植物体内其他各组织中而沉积(Beriault *et al.*, 1999; Muller *et al.*, 2001)。

尽管草铵磷在抗草铵磷作物中会被迅速降解,但是仍会有少量的草铵磷在作物体内(Beriault *et al.*, 1999; Pline *et al.*, 1999)。高剂量使用草铵磷对转基因作物有一定的伤害,但对产量影响不大。草铵磷对抗草铵磷作物安全剂量可高达 2000 g·hm⁻² 以上,而以 400 g·hm⁻² 用量就可防除一年生杂草,1000~2000 g·hm⁻² 可防除多年生杂草,即以 400~2000 g·hm⁻² 的用量可防除一年生及多年生双子叶、禾本科及莎草科杂草。

本试验结果表明,20% 草铵磷 AS 在转基因抗草铵磷棉花子叶期、3~4 片真叶期、现蕾期和盛花期以 900、1800 g·hm⁻² 处理后,对花粉育性、棉花生长、产量及纤维品质均无显著影响。值得注意的是,在子叶期和 3~4 片真叶期使用高浓度 1800 g·hm⁻² 处理后,分别对棉花株高和籽指有一定程度的影响,但最终对产量和纤维品质未产生显著影响。

通常黄河流域和长江流域棉区的露地直播棉田在每年 4 月播种,播种后随着气温的升高和雨量的增多,从播种到封行的一段时间内,不断有杂草大量萌发、生长,因此,及时有效地防除该时期的杂草非常关键。在棉花苗期使用草铵磷,根据杂草草龄大小,可适当选择低、中、高剂量的草铵磷,对棉田杂草的控制期可持续 30 d 左右(马小艳等, 2014),速效性好、持效期长,在棉花全生育期喷施草铵磷 2~3 次即可有效控制整个生育期的杂草。

随着转基因抗草铵磷棉花的商业化种植,势必会造成草铵磷的常年使用,对杂草的选择性压力也增强,为了避免杂草抗药性的产生,应采用综合的杂草防治措施,尽量减少单一草铵磷的使用及其用量,同时借以传统的农艺操作,结合具有保水保土及低投入特点的少耕、免耕等栽培模式,可有效解决棉田中的杂草问题,既提高了棉花的产量和质量,又增加了农民的实际收益。

参考文献

黄大年, 1997. 农作物抗除草剂遗传工程研究进展. 中国生物工程杂志, 17(5): 14-17.
James C, 2014. 2013 年全球生物技术/转基因作物商业化发展态势. 中国生物工程杂志, 34(1): 1-8.
马小艳, 姜伟丽, 马亚杰, 马艳, 2014. 20% 草铵磷 AS 对棉田杂草的防效. 中国棉花, 41(4): 18-19.
马小艳, 彭军, 马艳, 姜伟丽, 马亚杰, 2013. 不同生育期转基因抗草甘膦抗虫棉花对草甘膦的耐受性. 植物保护学报, 40(5): 457-462.
梅磊, 陈进红, 何秋伶, 祝水金, 2013. 草甘膦对转 EPSPS-G6 基因棉花种质系配子育性的影响. 棉花学报, 25(2): 115-120.

- 苏少泉, 2005. 草铵膦述评. *农药*, 44(12): 529–532.
- 吴爱忠, 唐克轩, 潘俊松, 蔡润, 沈大棱, 潘重光, 2000. 转基因培育抗除草剂水稻. *遗传学报*, 27(11): 992–998.
- 张宏军, 倪汉文, 周志强, 江树人, 2002. 抗草铵膦转基因作物及其生物安全性研究进展. *中国农业大学学报*, 7(5): 54–60.
- Alexander M P, 1969. Differential staining of aborted and non-aborted pollen. *Stain Technology*, 44(3): 117–122.
- Anderson D M, Swanton C J, Hall J C and Mersey B G, 1993. The influence of soil moisture, simulated rainfall and time of application on the efficacy of glufosinate-ammonium. *Weed Research*, 33(2): 149–160.
- Berriault J N, Horsman G P and Devine M D, 1999. Phloem transport of D, L-glufosinate and acetyl-L-glufosinate in glufosinate-resistant and-susceptible *Brassica napus*. *Plant Physiology*, 121(2): 619–627.
- Edenfield M W, Brecke B J, Colvin D L, Dusky J A and Shilling D G, 2005. Effect of glyphosate and MSMA application timing on weed control, fruiting patterns, and yield in glyphosate-resistant cotton. *Weed Technology*, 19(2): 224–230.
- Mersey B G, Hall J C, Anderson D M and Swanton C J, 1990. Factors affecting the herbicidal activity of glufosinate-ammonium: absorption, translocation, and metabolism in barley and green foxtail. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 37(1): 90–98.
- Muller B P, Zumdick A, Schuphan I and Schmidt B, 2001. Metabolism of the herbicide glufosinate-ammonium in plant cell cultures of transgenic (rhizomania-resistant) and non-transgenic sugarbeet (*Beta vulgaris*), carrot (*Daucus carota*), purple foxglove (*Digitalis purpurea*) and thorn apple (*Datura stramonium*). *Pest Management Science*, 57(1): 46–56.
- Oard J H, Linscombe S D, Braverman M P, Jodari F, Blouin D C, Leech M, Kohli A, Vain P, Cooley J C and Christou P, 1996. Development, field evaluation, and agronomic performance of transgenic herbicide resistant rice. *Molecular Breeding*, 2(4): 359–368.
- Pline W A, Wu J R and Hatzios K K, 1999. Effects of temperature and chemical additives on the response of transgenic herbicide-resistant soybeans to glufosinate and glyphosate applications. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 65(2): 119–131.
- Yasuor H, Riov J and Rubin B. 2007. Glyphosate-induced male sterility in glyphosate-resistant cotton (*Gossypium hirsutum* L.) is associated with inhibition of anther dehiscence and reduced pollen viability. *Crop Protection*, 26(3): 363–369.

(责任编辑:郭莹)