

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2021.01.007

转基因玉米双抗 12-5-21 的抗虫性及对草甘膦的耐受性

孙红伟, 徐晓辉, 李 凡, 杨淑珂, 路兴波*

山东省农业科学院植物保护研究所/山东省植物病毒学重点实验室, 山东 济南 250100

摘要:【目的】评价转 *cry1Ab/cry2Aj* 和 *G10evo-epsps* 基因玉米双抗 12-5 的杂交后代双抗 12-5-21 对亚洲玉米螟、黏虫、棉铃虫的抗性及对目标除草剂草甘膦的耐受性。【方法】分别在 6 叶期和花丝期、6 叶期、花丝期对亚洲玉米螟、黏虫、棉铃虫进行田间人工接虫;自然条件下,收获期剖秆调查双抗 12-5-21 对鳞翅目害虫的抗性;在玉米 5 叶期分别喷施推荐剂量中剂量及 2、4、6 倍中剂量草甘膦,药后 1、2、4 周调查玉米受害情况。【结果】6 叶期及花丝期,双抗 12-5-21 受亚洲玉米螟为害的虫害平均级值分别为 1.12 和 1.07;6 叶期,双抗 12-5-21 受黏虫为害的虫害平均级值为 1.32;花丝期,双抗 12-5-21 受棉铃虫为害的虫害平均级值为 0.02。双抗 12-5-21 对亚洲玉米螟、黏虫、棉铃虫抗性均达高抗水平。收获期剖秆结果显示,双抗 12-5-21 蛀孔数、活虫数及受害株率均显著低于对照玉米,对鳞翅目害虫控制效果达 90% 以上。喷施中剂量草甘膦,双抗 12-5-21 完全无受害症状;喷施 2、4 倍中剂量草甘膦后 1 周,双抗 12-5-21 表现轻微药害,2 周后玉米完全无受害症状;双抗 12-5-21 喷施 6 倍中剂量的草甘膦后 2 周,受害率由 1 周的 36.00% 降为 8.00%,新生叶片正常,4 周后双抗 12-5-21 生长完全恢复正常,株高未受影响。【结论】转基因玉米双抗 12-5-21 田间对亚洲玉米螟、黏虫、棉铃虫的抗性均达高抗;双抗 12-5-21 能够耐受 4 倍中剂量草甘膦。

关键词: 转基因玉米; 双抗 12-5; 抗虫性; 除草剂耐受性



开放科学标识码
(OSID 码)

Insect resistance and tolerance to the target herbicide of the transgenic maize cultivar Shuangkang 12-5-21

SUN Hongwei, XU Xiaohui, LI Fan, YANG Shuke, LU Xingbo*

Institute of Plant Protection, Shandong Academy of Agricultural Sciences/
Shandong Key Laboratory of Plant Virology, Jinan, Shandong 250100, China

Abstract:【Aim】The resistance against *Ostrinia furnacalis*, *Mythimna separata* and *Hrelicoverpa armigera* and the tolerance to the target herbicide (glyphosate) were evaluated in the transgenic maize Shuangkang 12-5-21 (hybrid of transgenic *cry1Ab/cry2Aj* and *G10ev-epsps* maize Shuangkang 12-5).【Method】The larvae of *O. furnacalis* were put onto field-grown maize plants at 6 leaves and silking stage, *M. separata* were inoculated at 6 leaves stage and *H. armigera* at silking stage. Under natural conditions, the resistance of Shuangkang 12-5-21 to Lepidoptera pests was investigated at harvest time. The 1, 2, 4 and 6 times recommended medium dose of glyphosate were sprayed at 5 leaves stage of maize. The damage of maize were investigated at 1, 2 and 4 weeks after spraying glyphosate.【Result】At 6 leaves and silking stage, the average damage level of Shuangkang 12-5-21 caused by *O. furnacalis* was 1.12 and 1.07 respectively, the level caused by *M. separata* at 6 leaves stage and *H. armigera* at silking stage was 1.32 and 0.02 respectively. Shuangkang 12-5-21 showed high resistance to *O. furnacalis*, *M. separata* and *H. armigera*. At harvest time the number of larval tunnels, live insects and the damage rate were significantly lower than those of the control maize, with a control effect against Lepidoptera pests was >90%. Shuangkang 12-5-21 had no damage symptoms treated with recommended medium dose of glyphosate. When treated with 2 and 4 times recommended medium dose of glyphosate, Shuangkang 12-5-21 showed slight damage symptoms 1

收稿日期(Received): 2020-05-20 接受日期(Accepted): 2020-07-21

基金项目: 山东省农业科学院农业科技创新工程: 新品种测试与检测公共服务平台(CXGC2017A02)

作者简介: 孙红伟, 女, 研究员。研究方向: 转基因植物成分检测及环境安全评价。E-mail: hongweisun@126.com

* 通信作者(Author for correspondence), E-mail: luxb99@sina.com

week later while no damage symptom 2 weeks later; treated with 6 times medium dose of glyphosate, the damage rate of herbicide of Shuangkang 12-5-21 decreased from 36.00% (1 week later) to 8.00% (2 weeks later) and the new leaves grew normally. After 4 weeks, the growth of Shuangkang 12-5-21 completely returned to normal, and the plant height was not affected. 【Conclusion】 Transgenic maize Shuangkang 12-5-21 showed high resistance to *O. furnacalis*, *M. separata* and *H. armigera* and Shuangkang 12-5-21 could tolerate 4 times recommended medium dose of glyphosate.

Key words: transgenic maize; shuangkang 12-5; insect resistance; tolerance to the target herbicide

玉米 *Zea mays* L. 是我国重要的粮食作物及工业加工原料, 在我国农作物生产中占有重要的位置。虫害是影响玉米产量的重要因素。我国主要的玉米害虫有亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* (Guenée)、黏虫 *Mythimna separate* (Walker)、棉铃虫 *Helicoverpa armigera* Hübner 等鳞翅目害虫。亚洲玉米螟常年发生, 给玉米生产造成一定的损失, 被害玉米一般减产 10%~20%, 严重年份达 50% 以上(王红军和郭书亚, 2017)。黏虫一般年份发生不重, 但在适宜的环境中会突然大暴发, 如 2012 年 8 月上旬, 在河北省廊坊、唐山等, 北京通州、昌平, 内蒙古通辽、赤峰, 辽宁朝阳、阜新, 吉林长春、松原, 黑龙江哈尔滨, 天津和山西晋中等地 3 代黏虫幼虫相继暴发, 发生面积 374 万 hm^2 , 严重发生面积 54.5 万 hm^2 , 对玉米、谷子、水稻等粮食作物生产安全造成了严重威胁(张云慧等, 2012)。

我国害虫防治一直提倡预防为主、综合防控, 但现阶段主要依赖化学防治。化学防治虽然效果较好, 但防治时间滞后, 无法控制实际减产, 另外, 环境污染、食品污染严重, 浪费大量人力、物力。而转基因作物由于自身持续表达抗性蛋白, 可以在害虫发生早期对其进行有效控制, 避免害虫大发生。

到目前为止, 我国未批准任何转基因玉米种植, 但在 2008 年开始实施的转基因生物新品种培育重大专项支持下, 我国每年都有众多转基因玉米进入中间试验、环境释放试验或生产性试验, 目前国内不少种子公司已培育出抗虫耐除草剂效果较好的转基因玉米品种(戴军等, 2014; 刘洋等, 2016; 王慧等, 2014; 张琪等, 2010)。其中, 转植酸酶玉米于 2009 年获得安全证书, 2019 年, 抗虫抗除草剂玉米 DBN9936、双抗 12-5 也获得安全证书。因此, 从技术储备、玉米经济地位、病虫害预防需求及除草剂安全应用各方面看, 玉米是最适合在我国首先批准释放的转基因作物(李宁等, 2011; 沈平等, 2016; 张彦琴等, 2016)。转基因玉米双抗 12-5 是浙江大学研发的含有抗虫基因 *cry1Ab/cry2Aj* 与耐

除草剂基因 *G10evo* 的转基因玉米新品系, 其中, *cry1Ab/cry2Aj* 表达 Bt 杀虫蛋白, 对亚洲玉米螟有较高的杀虫活性, 对其他鳞翅目害虫也有一定的控制作用(常雪等, 2013; 孙红炜等, 2018), 草甘膦靶标酶基因 *G10evo* 对草甘膦有很高的耐受性(谭苗苗, 2016)。本研究对转基因玉米双抗 12-5 的杂交后代双抗 12-5-21 对 3 种鳞翅目害虫抗性及对靶标除草剂草甘膦的耐受性进行了鉴定, 以期转基因玉米双抗 12-5 的推广应用提供科学的基础数据。

1 材料与方法

1.1 供试玉米

双抗 12-5-21(转基因抗虫耐除草剂玉米)、综 31(非转基因玉米, 感虫对照品种)、郑单 958(非转基因玉米, 当地对照品种, 与双抗 12-5-21 具有相同的杂交亲本), 其中, 双抗 12-5-21 由浙江大学提供, 综 31 由中国农业科学院作物研究所提供, 郑单 958 购自当地种子市场。

1.2 田间抗虫性鉴定

供试昆虫亚洲玉米螟、黏虫、棉铃虫均由本研究室人工繁殖。参照农业部 953 号公告-10.1-2007 及农业部标准 NY/T 1248.5-2006 进行试验。

亚洲玉米螟: 在玉米 6 叶期和吐丝期人工接种初孵幼虫, 选择傍晚接虫。心叶期接种到心叶内, 吐丝期接种到花丝上。每小区人工定株接虫 40 株, 每株接虫 30~40 头。3 d 后进行第 2 次接虫, 最后一次接虫 14 d 后调查。

心叶期调查: 调查接虫株中上部叶片被亚洲玉米螟危害程度, 包括受害叶片上的虫孔大小、数量及分布等, 记录食叶级别, 计算平均食叶级别, 根据平均食叶级别判定玉米心叶期对亚洲玉米螟的抗性水平。危害程度分级标准及抗性评价标准参照农业部标准 NY/T 1248.5-2006。

吐丝期调查: 根据雌穗被害情况、蛀孔数量、隧道长度(cm)及存活幼虫龄期数量等, 计算各小区穗期亚洲玉米螟对雌穗的被害级别平均值。按照

雌穗被害级别平均值判定玉米穗期对亚洲玉米螟的抗性水平。雌穗被害级别分级标准及抗性评价标准参照农业部 953 号公告-10.1-2007。

黏虫:玉米 6 叶期接虫,接虫方法及接虫次数同亚洲玉米螟。最后一次接虫 14 d 后调查玉米叶片受黏虫危害程度及幼虫存活数,记录叶片被害级别并计算被害级别平均值,判定玉米心叶期对黏虫的抗性水平。危害程度分级标准及抗性评价标准参照农业部 953 号公告-10.1-2007。

棉铃虫:在吐丝期接虫,接虫方法及接虫次数同亚洲玉米螟。最后一次接虫 14 d 后调查雌穗被害率、幼虫存活数、雌穗被害长度,确定雌穗被害级别并计算平均值,判定玉米对棉铃虫的抗性水平。雌穗被害级别分级标准及抗性评价标准参照农业部 953 号公告-10.1-2007。

采用随机区组设计,3 个处理,每个处理 3 次重复,小区面积为 30 m²(5 m×6 m),行距 60 cm,株距 25 cm,小区间设 2 m 间隔,以防治虫在不同小区之间扩散。除全生育期不喷施杀虫剂外,按常规方式播种及管理。

1.3 收获期对鳞翅目害虫的抗性鉴定

采用随机区组设计,3 个处理,每个处理 3 次重复,小区面积为 150 m²(5 m×30 m),行距 60 cm,株距 25 cm,不进行人工接虫。除全生育期不喷施杀虫剂外,按常规方式播种及管理,调查自然条件下玉米对鳞翅目害虫抗性。

收获前,每小区对角线 5 点取样,每点取相邻 4 行的 20 株玉米,进行剖秆调查,记录植株受害率、雌穗及茎秆蛀孔数、活虫数。鳞翅目害虫控制效果计算公式如下:

$$E/\% = \frac{D-T}{D} \times 100$$

其中,*E* 为控制效果;*D* 为当地对照品种玉米受害植株数或虫数;*T* 为转基因抗虫玉米受害植株数或虫数。

1.4 草甘膦耐受性鉴定

供试除草剂:41% 草甘膦异丙胺盐(glyphosate-isopropylammonium)水剂,美国孟山都公司生产,商品名农达。在玉米植株生长至 6 叶期喷施除草剂。采用随机区组设计,设 8 个处理,每个处理重复 3 次,共 24 个小区,小区面积 4 m×6 m,每小区之间设 1 m 间隔。处理如下:(1)郑单 958 不喷施草甘

膦;(2)郑单 958 喷施推荐剂量中剂量草甘膦(923 g·hm⁻²);(3)郑单 958 喷施 2 倍推荐剂量中剂量草甘膦(1846 g·hm⁻²);(4)双抗 12-5-21 不喷施草甘膦;(5)双抗 12-5-21 喷施推荐剂量中剂量草甘膦(923 g·hm⁻²);(6)双抗 12-5-21 喷施 2 倍推荐剂量中剂量草甘膦(1846 g·hm⁻²);(7)双抗 12-5-21 喷施 4 倍推荐剂量中剂量草甘膦(3692 g·hm⁻²);(8)双抗 12-5-21 喷施 6 倍推荐剂量中剂量草甘膦(5538 g·hm⁻²)。

调查方法:参照农业部 953 号公告-11.1-2007,分别在用药后 1、2、4 周调查成苗率、药害症状(选取药害症状最轻的 5 株),药害症状分级按 GB/T 17980.42-2000 执行,除草剂受害率计算公式如下:

$$X/\% = \frac{\sum (N \times S)}{T \times M} \times 100$$

其中,*X* 为受害率;*N* 为同级受害株数;*S* 为级别数;*T* 为总株数;*M* 为最高级别。

2 结果与分析

2.1 双抗 12-5-21 对鳞翅目害虫的田间抗性

不同玉米品种对亚洲玉米螟田间抗性鉴定结果见表 1。6 叶期,感虫品种综 31 受害平均级值为 8.49,虫害级别达到 7 级,为感虫水平;郑单 958 受害平均级值为 5.52,虫害级别达到 5 级,表现为中抗亚洲玉米螟;而双抗 12-5-21 受害平均级值为 1.12,虫害级别为 1 级,达高抗水平。花丝期,感虫品种综 31 受害平均级值为 7.13,为感虫水平;郑单 958 受害平均级值为 5.76,表现为感虫水平;而双抗 12-5-21 的受害平均级值为 1.07,达高抗水平。方差分析结果表明,双抗 12-5-21 的受害平均级值显著低于当地对照。

不同玉米品种对黏虫田间抗性鉴定结果见表 2。6 叶期,感虫品种综 31 的受害平均级值为 6.14,为感虫水平;郑单 958 受害平均级值为 4.32,表现为中抗黏虫;而双抗 12-5-21 的受害平均级值为 1.32,达高抗水平。方差分析结果表明,双抗 12-5-21 的受害平均级值显著低于当地对照。

不同玉米品种对棉铃虫田间抗性鉴定结果见表 2。花丝期,感虫品种综 31 的受害平均级值为 5.66,为感虫水平;郑单 958 受害平均级值为 3.51,表现为中抗;而双抗 12-5-21 的受害平均级值为 0.02,达高抗水平。方差分析结果表明,双抗 12-5-21 的受害平均级值显著低于当地对照。

从田间人工接虫鉴定结果看,双抗 12-5-21 对 棉铃虫的抗性均达到高抗水平,可以有效减轻鳞翅
玉米田 3 种常见的鳞翅目害虫亚洲玉米螟、黏虫、 目害虫的危害。

表 1 双抗 12-5-21 对亚洲玉米螟的田间抗性
Table 1 Resistance of Shuangkang 12-5-21 against *O. furnacalis* in field

品种 Varieties	6 叶期 6 leaves stage			花丝期 Silkling stage	
	平均级值 Mean average	虫害级别 Pest grade	抗性类型 Resistance type	平均级值 Mean average	抗性类型 Resistance type
双抗 12-5-21 Shuangkang 12-5-21	1.12±0.01c	1	高抗 High resistance	1.07±0.25c	高抗 High resistance
郑单 958 Zhengdan 958	5.52±0.10b	5	中抗 Medium resistance	5.76±0.40b	感 Sensitive
综 31 Zong 31	8.49±0.09a	7	感 Sensitive	7.13±0.21a	感 Sensitive

表中数据为平均值±标准差。数据后小写字母表示在 0.05 水平上的差异 ($P<0.05$)。
The data in the table are means±SE. The lower case letters after the data indicate the difference at the level of 0.05 ($P<0.05$).

表 2 双抗 12-5-21 对黏虫、棉铃虫的田间抗性
Table 2 Resistance of Shuangkang 12-5-21 against *M. separata* and *H. armigera* in field

品种 Varieties	黏虫-6 叶期 <i>M. separata</i> -6 leaves stage		棉铃虫-花丝期 <i>H. armigera</i> -silkling stage	
	平均级值 Mean average	抗性类型 Resistance type	平均级值 Mean average	抗性类型 Resistance type
双抗 12-5-21 Shuangkang 12-5-21	1.32±0.16c	高抗 High resistance	0.02±0.04c	高抗 High resistance
郑单 958 Zhengdan 958	4.32±0.48b	中抗 Medium resistance	3.51±0.35b	中抗 Medium resistance
综 31 Zong 31	6.14±0.24a	感 Sensitive	5.66±0.22a	感 Sensitive

表中数据为平均值±标准差。数据后小写字母表示在 0.05 水平上的差异 ($P<0.05$)。
The data in the table are means±SE. The lower case letters after the data indicate the difference at the level of 0.05 ($P<0.05$).

2.2 双抗 12-5-21 收获期对鳞翅目害虫的抗性

由表 3 看出,双抗 12-5-21 受害株率为 3.00%,
而郑单 958 和综 31 受害株率分别为 32.67%、
68.33%;双抗 12-5-21 茎秆及雌穗蛀孔数为 3.33,而
当地对照和感虫品种分别为 69.67 和 177.67;双抗
12-5-21 雌穗及茎秆虽然有少量蛀孔,但活虫数为
0.00,而郑单 958 和综 31 活虫数分别为 45.00 和
155.00 头。方差分析结果表明,双抗 12-5-21 受害

株率、蛀孔数、活虫数均远远低于当地对照郑单 958
和感虫品种综 31,与二者之间差异显著。由于双抗
12-5-21 植株上未调查到害虫,根据虫数计算,双抗
12-5-21 对害虫的控制效果为 100.00%;根据受害植
株数计算,相比郑单 958,双抗 12-5-21 的控制效果
为 90.82%。以上结果表明,自然条件下,双抗 12-5-
21 对鳞翅目害虫抗性效果显著。

表 3 双抗 12-5-21 收获期对鳞翅目害虫的抗性
Table 1 Resistance of Shuangkang 12-5-21 against lepidopteran pests at harvest

品种 Varieties	受害株率 Damage rate/%	蛀孔数 Number of borers/个	活虫数 Number of live insects/头	控制效果 Control effect/%	
				按照虫数 According to the number of insects	按受害植株数 According to the number of damaged plants
双抗 12-5-21 Shuangkang 12-5-21	3.00±1.00c	3.33±0.58c	0c	100.00	90.82
郑单 958 Zhengdan 958	32.67±4.04b	69.67±4.16b	45±3.61b	—	—
综 31 Zong 31	68.33±6.51a	177.67±13.50a	155±8.89a	—	—

表中数据为平均值±标准差。数据后小写字母表示在 0.05 水平上的差异 ($P<0.05$)。
The data in the table are means±SE. The lower case letters after the data indicate the difference at the level of 0.05 ($P<0.05$).

2.3 双抗 12-5-21 对除草剂草甘膦的耐受性

由表 4 看出,处理 1 周后,郑单 958 不喷施草
甘膦处理及双抗 12-5-21 各处理平均成苗率均为
100.00%,郑单 958 喷施中剂量及中剂量 2 倍量草

甘膦成苗率为 0.00,受害率为 100.00%,玉米苗全
部死亡;双抗 12-5-21 中剂量草甘膦受害率为 0.00,
喷施 2 倍中剂量、4 倍中剂量草甘膦受害率均为
2.67%,喷施 6 倍中剂量草甘膦受害率为 36.00%。

统计分析表明,双抗 12-5-21 各处理受害率显著低于郑单 958 喷施草甘膦的 2 个处理,喷施 6 倍中剂量草甘膦受害率显著高于中剂量、2 倍中剂量、4 倍中剂量草甘膦的受害率。随着喷药浓度的增加,双抗 12-5-21 株高略有降低,但双抗 12-5-21 各处理之间株高差异不显著。

由表 5 看出,处理 2 周后,双抗 12-5-21 喷施中剂量、2 倍中剂量、4 倍中剂量草甘膦处理受害率为 0.00;喷施 6 倍中剂量草甘膦处理的受害率明显降低,为 8.00%,且均为在喷药初期叶部产生药害,新生叶片生长正常,但玉米株高显著低于双抗 12-5-

21 其他处理;双抗 12-5-21 各处理受害率均显著低于郑单 958。

药后 4 周,6 倍中剂量草甘膦处理的抗 12-5-21 生长完全恢复正常,株高与该品种其他处理差异不显著,其他各处理表现与药后 2 周完全一致。

在大田使用除草剂时,一般喷施推荐剂量中剂量的除草剂,从本实验调查结果看,双抗 12-5-21 对目标除草剂草甘膦具有显著的耐受性,可以耐受 4 倍中剂量的草甘膦,喷施 6 倍中剂量草甘膦 4 周后,玉米生长完全恢复正常,株高与双抗 12-5-21 其他处理差异不显著。

表 4 双抗 12-5-21 对草甘膦的耐受性(1 周后)

Table 4 Tolerance identification of Shuangkang 12-5-21 to glyphosate (1 week later)

品种 Varieties	处理 Treatment	成苗率 Germination rate/%	株高 Plant height/cm	植株受害率 Plant damage rate/%
郑单 958	不喷施草甘膦 Without glyphosate	100.00a	59.67±6.62	—
Zhengdan 958	喷施中剂量草甘膦 Sprayed medium dose glyphosate	0.00b	—	100.00a
	喷施 2 倍中剂量草甘膦 Sprayed 2 times medium dose glyphosate	0.00b	—	100.00a
双抗 12-5-21	不喷施草甘膦 Without glyphosate	100.00a	53.20±6.79a	—
Shuangkang 12-5-21	喷施中剂量草甘膦 Sprayed medium dose glyphosate	100.00a	50.20±3.94a	0.00d
	喷施 2 倍中剂量草甘膦 Sprayed 2 times medium dose glyphosate	100.00a	50.67±3.29a	2.67±4.62c
	喷施 4 倍中剂量草甘膦 Sprayed 4 times medium dose glyphosate	100.00a	48.47±3.63a	2.67±4.62c
	喷施 6 倍中剂量草甘膦 Sprayed 6 times medium dose glyphosate	100.00a	45.47±2.73ab	36.00±6.93b

表中数据为平均值±标准差。数据后小写字母表示在 0.05 水平上的差异 ($P<0.05$)。
The data in the table are means±SE. The lower case letters after the data indicate the difference at the level of 0.05 ($P<0.05$).

表 5 双抗 12-5-21 对草甘膦的耐受性(2、4 周后)

Table 5 Tolerance identification of Shuangkang 12-5-21 to glyphosate (2, 4 weeks later)

品种 Varieties	处理 Treatment	药后 2 周 2 weeks after spraying glyphosate		药后 4 周 4 weeks after spraying glyphosate	
		株高 Plant height/ cm	植株受害率 Plant damage rate/%	株高 Plant height/ cm	植株受害率 Plant damage rate/%
郑单 958	不喷施草甘膦	101.80±4.91	—	234.47±15.13	—
Zhengdan 958	Without glyphosate				
	喷施中剂量草甘膦	—	100.00a	—	100.00a
	Sprayed medium dose glyphosate				
	喷施 2 倍中剂量草甘膦	—	100.00a	—	100.00a
	Sprayed 2 times medium dose glyphosate				
双抗 12-5-21	不喷施草甘膦	94.47±0.81a	—	210.70±7.67a	—
Shuangkang 12-5-21	Without glyphosate				
	喷施中剂量草甘膦	94.40±1.83a	0.00c	206.00±9.04a	0.00c
	Sprayed medium dose glyphosate				
	喷施 2 倍中剂量草甘膦	91.93±3.19a	0.00c	201.53±5.60a	0.00c
	Sprayed 2 times medium dose glyphosate				
	喷施 4 倍中剂量草甘膦	89.40±3.14a	0.00c	204.40±6.32a	0.00c
	Sprayed 4 times medium dose glyphosate				
	喷施 6 倍中剂量草甘膦	82.27±0.81b	8.00b	203.33±5.30a	8.00b
	Sprayed 6 times medium dose glyphosate				

表中数据为平均值±标准差。数据后小写字母表示在 0.05 水平上的差异 ($P<0.05$)。
The data in the table are means±SE. The lower case letters after the data indicate the difference at the level of 0.05 ($P<0.05$).

3 讨论

将外源抗虫基因导入玉米,使之在玉米植株内持续表达抗虫蛋白,可以有效控制靶标害虫的发生 (Burkness *et al.*, 2001; Chilcutt *et al.*, 2007; Horner & Dively, 2003; Lynch *et al.*, 1999)。美国于 1996 年开始商业化种植转基因玉米,转基因抗虫玉米的应用有效控制了玉米虫害的发生,经济、社会、生态效益明显 (James, 2015)。

转基因作物的环境安全性评价一般包括 3 个方面:一是外源基因功能评价,如抗虫性、除草剂耐受性、抗逆能力评价等 (孙红炜等, 2018; 王江等, 2016);二是生存竞争能力评价,主要是转基因作物可能带来的“杂草化”风险,主要包括转基因作物本身的“杂草化”或者转基因作物抗除草剂基因漂移到杂草上,导致杂草抗性的产生 (姜伟丽等, 2018; 马小燕等, 2013);三是对农田生物多样性影响评价,包括作物遗传多样性、农田节肢动物多样性、对靶标和非靶标害虫影响、土壤微生物多样性影响等 (高欣欣等, 2018; 洪鑫等, 2020; 尹俊琦等, 2017)。其中,第一方面是最重要也是最基本的一个指标,决定了转基因作物有无进行后续研究并推广应用的价值。

从全国大部分玉米种植区来看,亚洲玉米螟一代幼虫 6 月份在心叶内取食,8 月上、中旬夏玉米穗期,第 3 代幼虫在玉米打苞后钻入苞内,抽雄后即向下转移,蛀入幼穗及茎内为害。黏虫是我国著名的迁飞性、暴食性及杂食性害虫,1、2 龄幼虫仅啃食叶肉成天窗,3 龄以后沿叶缘蚕食成缺刻,危害严重时吃光大部叶片,只残留很短的中脉,心叶期及喇叭口期 Bt 蛋白表达量高低是决定对黏虫抗性的关键。棉铃虫喜温暖高湿,有强烈的趋嫩性,夏玉米抽雄未开花盛期,为棉铃虫产卵盛期,虫卵 80% 左右落在夏玉米抽出但未开花的幼嫩雄穗上,幼虫孵化后集中在幼嫩雌穗顶端花丝上取食。因此,根据不同鳞翅目害虫为害关键期,选择 6~8 叶期、花丝期进行亚洲玉米螟抗性鉴定,4~6 叶期对黏虫、花丝期对棉铃虫进行抗性鉴定,可以更为客观地反映出转基因玉米对鳞翅目害虫的抗性。

田间抗性鉴定被认为是最直接、最可靠和最终的玉米抗虫性鉴定评价标准 (何康来等, 2000)。本试验中,在亚洲玉米螟、黏虫严重危害的心叶期进行的人工接虫抗性试验,双抗 12-5-21 对亚洲玉米

螟和黏虫的抗性均达到高抗水平;在花丝期,双抗 12-5-21 对亚洲玉米螟和棉铃虫的抗性同样达高抗水平。王江等 (2016) 对双抗 12-5 对亚洲玉米螟的抗性研究表明,食叶级别平均值为 1 级,抗性类型为高抗,雌穗被害级别平均值为 1.0,抗性类型为高抗,与本研究一致。常雪等 (2013) 研究了 6 个转 *cry1Ab/cry2Aj* 基因玉米品系对亚洲玉米螟抗虫性,春播和夏播田各转基因玉米品系叶片、茎秆、雌穗基本没有被害,食叶级别为 1.0~1.5。本试验中为夏播玉米,心叶期平均食叶级别为 1.12,同样叶片花丝、雌穗基本无被害症状。本试验中双抗 12-5-21 抗虫效果略优于常雪等 (2013) 所研究的品系,原因可能是本试验中所用品系是从多个品系中筛选出的最佳品系,而且试验玉米为杂交种,本身抗性较一般自交系玉米要强,另外可能与接虫量、接虫时气候条件,甚至试虫来源有关。

李桂玲和李欢庆 (2007) 的研究显示,叶片虫孔级别与茎秆隧道长度及茎秆虫孔数各自之间并无线性相关,茎秆隧道长度和茎秆虫孔数之间有极显著的相关关系。因此,茎秆及穗的虫孔数或隧道长度均可作为田间抗虫鉴定的指标。本试验选取茎秆及穗的蛀孔数进行调查,结果显示,转基因玉米受害率极低,仅为 3.00%,且危害症状极轻微,茎秆及雌穗仅有 3.33 个蛀孔,未发现活虫,这与常雪等 (2013)、王江等 (2016) 的研究基本一致。

草甘膦是一种非选择性除草剂,具有广谱灭生性,同时具有内吸性,药剂会从叶部传导到根部,杀死多年生杂草;此外,草甘膦无残留,在土壤中分解速度快,不会对下茬作物产生药害,因此应用广泛。但是,由于草甘膦的非选择性,在喷洒时,易伤害到作物本身,影响作物生长。将耐除草剂基因 *G10evo* 导入植株体内并表达,使植物具有对草甘膦的耐受性,可以有效避免草甘膦对自身的伤害。王江等 (2016) 研究了双抗 12-5 喷施推荐剂量及 2 倍推荐剂量草甘膦后的生长情况,结果 4 周内玉米生长正常,受害率为 0.00。本研究设置了推荐剂量中剂量及 2、4、6 倍中剂量,结果表明,喷施 4 倍以内中剂量草甘膦 2 周后,双抗 12-5-21 完全无受害症状,喷施 6 倍中剂量 2 周后,植株受害率显著降低,新生玉米叶片正常,4 周后植株生长完全恢复正常。

2014 年,农业部发布了转基因生物新品种培育重大专项成果认定标准 (试行),明确规定:参照

NY/T 1248.5-2006《玉米抗亚洲玉米螟鉴定技术规范》,转基因抗虫玉米对亚洲玉米螟的抗虫效果要达到高抗;转基因耐草甘膦玉米对草甘膦的耐受性要达到推荐剂量的5倍以上。本试验中,田间抗虫性鉴定结合收获期剖秆调查结果表明,在各相应时期,转基因抗虫玉米双抗 12-5-21 均显示了对亚洲玉米螟、黏虫、棉铃虫显著的抗虫效果,达到了高抗水平,同时对目标除草剂草甘膦具有显著耐受性,可以耐受4倍中剂量目标除草剂,喷施6倍中剂量目标除草剂4周后玉米生长完全恢复正常,具有进一步开发推广的潜力。

参考文献

- 常雪,王伟,沈志成,叶恭银,2013. 转 *cry1Ab/cry2Aj* 玉米对亚洲玉米螟的抗性评价. 植物保护学报, 40(4): 339-344.
- 戴军,李秀影,朱莉,汪海,张杰,何康来,郎志宏,黄大昉,2014. 转 *Bt cry1Ah* 基因抗虫玉米的分子检测及农艺性状分析. 生物技术通报 (5): 62-68.
- 高欣欣,全玉东,王振营,白树雄,张天涛,2018. 转基因玉米表达的 *Cry1Ab*、*PAT* 和 *EPSPS* 蛋白对日本通草蛉幼虫的安全风险评估. 植物保护学报, 45(4): 663-669.
- 何康来,王振营,周大荣,文丽萍,宋彦英,2000. 玉米抗螟性鉴定方法与评价标准. 沈阳农业大学学报, 31(5): 439-443.
- 洪鑫,韩成,孔帆,周丰武,吴少松,2020. 抗虫-耐除草剂转基因玉米种植对根际土壤细菌和真菌群落的影响. 生态与农村环境学报, 36(3): 358-366.
- JAMES C, 2016. 2015 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, 36(4): 1-11.
- 李桂玲,李欢庆,2007. 玉米抗螟性鉴定评价标准的研究. 玉米科学, 15(5): 142-143, 152.
- 李宁,何康来,崔蕾,王振营,2011. 转基因抗虫玉米环境安全性及我国应用前景. 植物保护, 37(6): 18-26.
- 刘洋,刘相国,汪洋洲,赵方方,张艳,肖国红,冯树丹,韩四平,尹悦佳,2016. 抗虫抗除草剂转基因玉米 HiII-NGc-1 的遗传稳定性分析. 生物技术进展, 6(6): 428-434.
- 马小艳,马艳,彭军,姜伟丽,马亚杰,2013. 转基因抗草甘膦抗虫棉的荒地生存竞争能力. 生物安全学报, 22(2): 103-108.
- 姜伟丽,马小艳,任相亮,胡红岩,马亚杰,王丹,马艳,2018. 转基因抗草甘膦棉栽培地生存竞争能力. 生物安全学报, 27(1): 59-62.
- 沈平,章秋艳,林友华,李文龙,李昂,宋贵文,2016. 推进我国转基因玉米产业化的思考. 中国生物工程杂志, 36(4): 24-29.
- 孙红炜,李凡,高瑞,徐晓辉,杨淑珂,路兴波,2018. 转 *cry1Ab/cry2Aj* 和 *G10evo-epsps* 基因玉米中 *Bt* 蛋白的时空表达及抗性评价. 生物安全学报, 27(1): 63-68.
- 谭苗苗,2016. 转 *g10evo* 基因抗草甘膦大豆的研究. 硕士学位论文. 杭州: 浙江大学.
- 王红军,郭书亚,2017. 亚洲玉米螟对夏玉米果穗的危害及产量的影响. 江苏农业科学, 45(8): 95-97.
- 王慧,杨小艳,翁建峰,宋新元,王大铭,王振华,李新海,2014. 抗亚洲玉米螟基因 *Cry1A.301* 原核表达和玉米遗传转化. 作物杂志 (2): 34-38.
- 王江,武奉慈,刘新颖,冯树丹,宋新元,2016. 转基因抗虫耐除草剂复合性状玉米“双抗 12-5”对亚洲玉米螟的抗性以及对草甘膦的耐受性研究. 植物保护, 42(1): 45-50.
- 尹俊琦,武奉慈,周琳,宋新元,2017. 转 *Cry1Ac* 基因抗虫玉米 *Bt-799* 对田间节肢动物群落多样性的影响. 生物安全学报, 26(2): 159-167.
- 张琪,陈茹梅,杨文竹,陈平,薛光行,范云六,2010. 组成型表达转植酸酶基因 (*phyA2*) 玉米的获得. 农业生物技术学报, 18(4): 623-629.
- 张彦琴,董春林,杨丽莉,张明义,梁改梅,李洁,杨睿,常建忠,赵巧红,2016. 转基因玉米的产业现状及发展对策. 安徽农业科学, 44(30): 215-216, 244.
- 张云慧,张智姜,玉英,曾娟,高月波,程登发,2012. 2012 年三代黏虫大发生原因初步分析. 植物保护, 38(5): 1-8.
- BURKNESS E C, HUTCHISON W D, BOLIN P C, BARTELS D W, WARNOCK D F, DAVIS D W, 2001. Field efficacy of sweet corn hybrids expressing a *Bacillus thuringiensis* toxin for management of *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae) and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, 94(1): 197-203.
- CHILCUTT C F, ODVODY G N, CORREA J C, REMMERS J, 2007. Effects of *Bacillus thuringiensis* transgenic corn on corn earworm and fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) densities. *Journal of Economic Entomology*, 100(2): 327.
- HORNER T A, DIVELEY G P, 2003. Effect of MON810 *Bt* field corn on *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) cannibalism and its implications to resistance development. *Journal of Economic Entomology*, 96(3): 931.
- LYNCH R E, WISEMAN B R, PLAISTED D, WARNICK D, 1999. Evaluation of transgenic sweet corn hybrids expressing *CryIA(b)* toxin for resistance to corn ear worm and fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, 92(1): 246-252.