

导入抗真菌基因的 Bt 棉花种质对黄萎病、棉铃虫的抗性初报

涂松林, 施爱民

(湖北省沙洋监狱局农科所 448200)

目前,棉花生产上所用的主栽品种对黄萎病一般只能达到耐病,其主要原因之一是缺乏可利用的抗源,陆地棉近缘种如海岛棉、瑟伯氏棉等虽对黄萎病有较好的抗性,但常规育种转育这些抗病基因未能成功,与陆地棉多代回交这些抗病基因往往会丢失。采取生物工程技术,将抗真菌病原蛋白质如几丁酶、 α -1,3-葡聚糖酶以及葡萄糖氧化酶导入棉花,通过基因表达产生几丁质酶和葡聚糖酶等,达到防治黄萎病的目的。本研究将抗真菌基因导入抗枯萎耐黄萎病性好的转 Bt 基因棉 GK19 中,以期得到棉铃虫与黄萎病兼抗的转基因株系。

1 材料和方法

1.1 材料

1999 年将中国农科院生物技术研究所分离克隆的抗真菌基因通过花粉管通道法导入 Bt 棉 GK19 中,分株收获并在海南扩繁共获 62 份株行材料,2000 年进行田间抗病虫鉴定。抗黄萎病品系中植 BD18 分别作抗病、感虫对照,GK19 作抗虫对照。

1.2 方法

1.2.1 试验在人工黄萎重病圃进行。

采用营养钵育苗移栽,于 2000 年 4 月 22 日播种,5 月 9 日移栽,全生育期不防治棉铃虫,其它管理措施同常规。每份材料种植 2 行,行长 8m,随机种植,2 次重复。

1.2.2 抗虫鉴定。

4 片真叶期用卡那霉素鉴定是否携带 Bt 基因,并将未携带 Bt 基因的棉株拔除。四代棉铃虫为害高峰期调查蕾铃受害情况及残余活虫数,计算百株蕾铃受害数、百株残虫量及虫口减退率。抗虫划分标准为虫害减退率大于 90%为高抗、70%~90%为抗、50%~70%为中抗、小于 50%为感。

1.2.3 抗病考查。

在棉花生长的各个时期,对黄萎病的发病情况作好观察记载,调查发病株数及相应发病级别,共调查 4 次,以发病最严重的一次作最后结果。计算发病株率、病情指数,以病情指数划分抗病级别。

2 结果与分析

2.1 抗棉铃虫鉴定结果

在高峰百株日卵量 1100 粒的虫压下,有 35 份材料百株残虫量为 0,占 56.4%,百株残虫量大于 8 头的仅 7 份,占 12.9%,即 87.1%的材料四代棉铃虫均小于防治指标,而感虫对照中植 BD18 百株残虫量达 54.15 头,大部分蕾铃受害后脱落;用虫口减退率来划分抗虫级别,高抗棉铃虫材料 47 份,虫口减退率 92.3%~100%,抗棉铃虫材料 10 份,虫口减退率 71.42%~85.36%,中抗或感虫仅 5 份,其中抗虫对照 GK19 百株残虫 6.51 头,虫口减退率 80.94%,为抗棉铃虫,但 GK19 导入抗真菌基因后,大部分材料虫口减退率高于 80.94%,说明导入抗真菌基因后 Bt 棉 GK19 对棉铃虫的抗性有增强的趋势。

2.2 抗黄萎病鉴定结果

黄萎病的发生情况差异很大,病株率为 7.69%~80.00%,病指 1.92~43.59,其中高抗黄萎病材料 17 份,病指 1.92~10.00,抗黄萎病材料 21 份,病指 10.34~20.00,耐黄萎病材料 19 份,病指 20.14~34.21,只有 5 份材料感黄萎病,病指 35.19~46.61,抗病对照中植 BD18 病指为 20.00,表现为抗,GK19 病指 26.4,表现为耐,鉴定材料中病指小于 26.4 的为 44 份,占 71.0%,说明 GK19 在导入抗真菌基因后,大部分材料对黄萎病的抗性由耐转为抗或高抗,抗黄萎病效果明显增强,但增强幅度不一。

3 小结

(1) GK19 导入抗真菌基因后，对棉铃虫的抗性有所增强，可能由于几丁质酶等蛋白对棉铃虫胞壁有降解作用或有其它生理生化影响，导致棉铃虫在 Bt 蛋白的毒杀下，死亡率进一步提高。(2) 抗卡那霉素的株数比例越高，在剔除敏感株后，田间调查结果其抗虫能力越强。(3) 经初步鉴定，选出高抗棉铃虫同时抗黄萎病的材料 33 份，2001 年在进一步鉴定抗病虫性的同时，将进行农艺性状的筛选及经济性状的考查，择优良单株自交纯合，预计 2002 年可获得双抗转基因纯系作为育种抗源或进入品比试验。(《中国棉花》2001. 05)