

文章编号: 1003-8701(2002)03-0025-03

不同玉米自交系对卡那霉素敏感性的鉴定

郝文媛, 王丕武, 武丽敏, 张 君

(吉林农业大学农学院, 吉林 长春 130118)

摘 要: 利用 8 个玉米自交系, 设置 13 个卡那霉素浓度, 研究卡那霉素对玉米种子发芽及生长的影响。结果表明: 卡那霉素对玉米种子发芽率有一定的影响, 同时能够引起幼苗的白化现象, 随着卡那霉素浓度的增大, 幼苗的生长受到明显的抑制, 白化率也明显增大。

关键词: 玉米自交系; 卡那霉素; 发芽率; 白化率

中图分类号: S482.28; S513.024

文献标识码: A

卡那霉素是一种抗生素, 对植物细胞的生长发育具有明显的影响, 能够引起大豆、小麦、烟草、番茄等多种植物绿色器官的黄化。而将玉米的种子接种在一定浓度的卡那霉素培养基上进行萌发, 凡对卡那霉素有抗性的种子长成的幼苗表现为正常绿色, 而不具备抗性的种子幼苗均表现为缺绿或白化。因此, 作为一种有效的选择手段, 卡那霉素已被广泛应用于植物基因工程, 用于鉴定转化的后代。迄今为止, 有关不同浓度卡那霉素处理普通玉米引起白化率的多少及转基因玉米的最适筛选浓度, 国内尚未见报导。本文通过大量的试验测定玉米自交系对卡那霉素的敏感性, 筛选了适宜的选择浓度, 为玉米转基因后代的筛选工作提供了参考数据。

1 材料与方法

1.1 供试品种

选择常用的或有应用前景的玉米骨干自交系 8 个: 330、340、Mo17、7922、444、842、846 和 853。

1.2 培养基的制备

在灭菌后的 M_s 培养基中, 按照 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600 mg/L 13 个浓度水平, 由 $K_0 \sim K_{600}$, 浓度梯度为 50 mg/L, 配制成 M_s + 卡那霉素的培养基, 高压灭菌后, 在 50℃ 时加入经抽滤灭菌的卡那霉素, 分装入 150 mL 的三角瓶中, 每瓶约 21 mL。

1.3 发芽试验

将供试种子消毒后, 在 SW-CJ-1C 标准型净化工作台中将饱满的种子均匀摆放在盛有含不同浓度卡那霉素培养基的三角瓶内, 每个三角瓶接种 10 粒种子, 然后在 25~28℃, 光照 2 000 lx × 14 h 条件下发芽, 并于发芽第 7 天和第 16 天记录发芽率和白化率。

收稿日期: 2001-09-17

作者简介: 郝文媛(1977-), 女, 吉林农业大学硕士, 从事植物遗传转化研究。

1.4 试验设计和分析

试验按品种和卡那霉素二因素裂区设计,3 次重复,利用各处理的平均数进行方差分析和差异显著性测定。其中发芽率和白化率进行反正弦转换,然后进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 卡那霉素对玉米自交系种子发芽率的影响

在本试验中,不同自交系间发芽率差异极显著(表 1),不同卡那霉素水平间发芽率差异呈显著水平,且品种与卡那霉素的互作效应也显著。结果表明,在本试验的浓度范围内,卡那霉素处理对自交系种子的发芽率有一定的影响,而且因品种的不同有明显的差异。

表 1 发芽率试验结果的方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	显著水平	
					5%	1%
区 组	845.64	2	422.82		3.74	6.51
因素 A	7 339.44	7	1 048.49	4.93 * *	2.85	4.46
误 差	2 976.67	14	212.61			
因素 B	2 390.90	12	199.24	1.832 *	1.80	2.27
A×B	13 413.03	84	159.67	1.469 *	1.35	1.53
误 差	20 876.80	192	108.73			
总 和	47 842.50	311				

注: * 为显著, * * 为极显著,下同。

2.1.1 自交系间发芽率的差异

在本试验中,不同自交系间的发芽率也有差异,其中 7922 与 842 的发芽率差异极显著(7922 发芽率可达 83.30%,842 发芽率可达 71.07%,表 2)。而在 K₀ 浓度下,7922 的发芽率为 100%,842 发芽率为 93.33%,这说明用卡那霉素处理后种子的发芽率降低,而且不同自交系对卡那霉素的敏感性也有差异。

2.1.2 卡那霉素浓度对发芽率的影响

不同卡那霉素浓度间的发芽率存在差异。K₀ 水平的发芽率最大,为 84.03%,K₆₀₀ 水平的发芽率最小,为 73.89%,K₀ 与 K₄₀₀、K₄₅₀、K₅₀₀、K₅₅₀、K₆₀₀ 差异显著,都达到了显著或极显著水平(表 3),这表明卡那霉素对自交系种子发芽率有影响,起到了一定抑制作用。当浓度水平相对低时,对种子发芽的抑制作用较小,但随着浓度的提高,抑制作用也增大。

2.2 卡那霉素对玉米自交系白化率的影响

在本试验中,自交系间的白化率、卡那霉素浓度间的白化率差异都极显著,自交系与卡那霉素的互作效应所产生的白化率也是极显著的。说明在本试验浓度范围内,卡那霉素处

表 2 自交系间发芽率的新复极差测验

自交系	发芽率 (%)	显著水平	
		5%	1%
7922	83.30	a	A
853	83.08	ab	A
340	82.25	ab	AB
330	82.23	ab	ABC
444	78.71	abc	ABCD
Mo17	75.07	bcd	ABCD
846	71.48	cd	BCD
842	71.06	d	D

表 3 卡那霉素水平间发芽率的新复极差测验

卡那霉素浓度 (mg/L)	发芽率 (%)	显著水平	
		5%	1%
0	84.03	a	A
50	81.29	ab	AB
100	81.00	ab	AB
150	79.69	abc	AB
200	79.54	abc	AB
250	79.35	abc	AB
300	78.65	abc	AB
350	78.35	abc	AB
400	76.65	bc	AB
450	76.27	bc	AB
500	75.90	bc	AB
550	74.56	bc	B
600	73.89	c	B

理对自交系种子白化率的发生有极其重要的影响(表 4)。

表 4 对玉米自交系白化率的方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	显著水平	
					5%	1%
区 组	1 320.57	2	660.28			
因素 A	11 485.94	7	1 640.84	19.570* *	2.85	4.46
误 差	1 173.73	14	83.83			
因素 B	134 476.93	12	11 206.41	129.850* *	1.80	2.27
A×B	25 821.34	84	307.39	3.562* *	1.35	1.53
误 差	16 569.79	192	86.30			
总 和	190 848.32	311				

2.2.1 自交系间白化率的差异

自交系间的白化率存在着显著差异,这表明白化率的多少与品种的遗传特性有关(表 5)。其中 340 与其它品种的差异性是极显著的。由多重比较结果可以看出,前 4 个品种是对卡那霉素敏感的品种,而后 4 个品种较为钝感。因此,不同品种对卡那霉素的最适筛选浓度不同。

表 5 自交系间白化率的新复极差测验

自交系	白化率 (%)	显著水平	
		5%	1%
340	34.59	a	A
846	29.79	b	AB
444	29.10	b	AB
330	26.17	bc	BC
853	24.12	cd	BCD
842	20.44	de	CDE
Mo17	18.39	ef	DE
7922	15.17	f	E

2.2.2 卡那霉素浓度对白化率的影响

在本试验中,不同卡那霉素间白化率存在着差异。K₆₀₀ 白化率最高,在 K₀~K₁₅₀时,白化率很低,差异不显著。从 K₂₀₀ 开始到 K₆₀₀,种子的白化率明显增大,差异显著或达到极显著水平(表 6)。这说明白化率的大小随卡那霉素浓度的变化而变化。值得说明的是,即使在 600 mg/L 卡那霉素浓度下,供试材料没有完全白化,这表明利用卡那霉素对转化后的自交系进行选择是有局限性的。当达到 600 mg/L 浓度时,有的幼苗生长仍表现为正常。

表 6 卡那霉素水平间白化率的多重比较结果

卡那霉素浓度 (mg/L)	白化率 (%)	显著水平	
		5%	1%
K ₆₀₀	54.72	a	A
K ₅₅₀	56.90	ab	A
K ₅₀₀	49.77	bc	AB
K ₄₅₀	47.32	c	B
K ₄₀₀	35.17	d	C
K ₃₅₀	28.81	e	C
K ₃₀₀	14.35	f	D
K ₂₅₀	13.59	f	D
K ₂₀₀	9.65	fg	DE
K ₁₅₀	5.56	gh	EF
K ₁₀₀	4.02	h	EF
K ₅₀	1.53	h	F
K ₀		h	F

2.2.3 自交系与卡那霉素的互作

由于自交系品种与卡那霉素的互作是极显著的,所以,各品种所要求的卡那霉素的最适浓度可能不相同。因此,分别计算各品种不同浓度的简单效应以分析互作的具体情况,各品种与卡那霉素互作值不在赘列,如果以白化率到 70%左右所得到的最适筛选浓度为标准:敏感品种以 340 为 K₄₀₀,846、330、444 为 K₄₅₀;钝感品种以 853、842 为 K₅₅₀,Mo17、7922 为 K₆₀₀。

3 讨 论

①由于卡那霉素对玉米自交系的发芽率和生长有一定的影响,有抗性的自交系幼苗表现为正常绿色,没有抗性的自交系幼苗表现为缺绿或完全白化现象。因此,当用具有抗卡那霉素基因的重组 DNA 转化玉米时,根据在一定卡那霉素浓度下发芽率及幼(下转第 43 页)

- [1] 王春裕,等.中国东北地区盐渍土的生态分区[J].土壤通报,1999,30(5):193—196.
- [2] 田长彦,等.21世纪新疆土壤盐渍化调控与农业持续发展研究建议[J].干旱区地理,2000,23(2):18—25.
- [3] 魏由庆.从黄淮海平原水盐均衡谈土壤盐渍化的现状和未来[J].土壤学进展,1995,23(2):18—25.
- [4] 李明,等.盐荒地旱作改良综合农艺措施抑盐效果探讨[J].土壤通报,2001,32(2):60—65.
- [5] 李小刚,等.甘肃景电灌区次生盐化土壤的性质及其发生机理[J].土壤通报,2001,32(1):4—10.
- [6] 翁 华,等.丝棉木抗旱耐盐性能的研究[J].干旱区地理,1996,13(4):67—72.
- [7] 赵 清,等.利用咸水种植高冰草及改良土壤研究初报[J].干旱区研究,1997,14(2):73—75.
- [8] 季 方,等.塔里木盆地盐分循环变化与调控[J].干旱区研究,2000,17(4):33—38.
- [9] 张建新,等.滴灌技术在重盐碱地上种植棉花的试验[J].干旱区研究,2001,18(1):43—45.
- [10] 罗廷彬,等.新疆盐碱地生物改良的必要性与可行性[J].干旱区研究,2001,18(1):46—48.
- [11] 黄 强,等.两种覆盖方式下的土壤溶液盐分含量变化[J].干旱区地理,2001,24(1):52—56.
- [12] 何 伟,等.纳污场引起的土壤次生盐碱化及其预测[J].干旱区研究,2000,17(2):.
- [13] Bao D L N. Ameliorative influence of organic matter on biological activity of salt-affected soils. *Arid Soil Res. Reh.*, 1996, 10(4): 311—319.

(上接第 27 页)苗的色泽变化来鉴别转化和未转化的种子是可行的。

②白化现象的发生因自交系不同其表现也有所差异。例如:846、444 长出的幼芽为白化苗,而 842 的幼苗则由茎向顶端开始变白。

③白化现象一旦发生,无论给予什么条件都不能变绿,白化苗生长的最终结果是枯死。

④卡那霉素作为一种抗生素,对玉米幼苗的生长发育有一定的影响。与对照 K_0 相比较,当卡那霉素浓度大于 400 mg/L 时,对玉米幼苗生长的抑制作用十分明显;卡那霉素浓度大于 550 mg/L 时,在种子萌发后第 8 天,玉米幼苗开始枯萎。而此时玉米幼苗尚未达到 100% 的白化率,因此要想获得 100% 的白化率是不可能的。所以,在转基因玉米的检测筛选时,仅用白化现象作为指示性性状来区分种子是否转化是不够理想的,而应结合 PCR 检测、Southern 杂交及田间抗虫性试验来进行筛选。

参考文献:

- [1] 李 强.植物基因工程中常用的报告基因[J].生物学杂志,1995,63(1):12.
- [2] 王丕武,等.卡那霉素对大豆种子发芽的影响[J].吉林农业大学学报,1996,18(2):18.

(上接第 39 页)高 $1.3\%\sim 4.7\%$ 、有效分蘖增加 $4.1\%\sim 6.0\%$ 、出穗期提早 $2\sim 3\text{ d}$,有效穗数、穗粒数和千粒重分别提高 $2.9\%\sim 4.2\%$ 、 $2.2\%\sim 3.8\%$ 和 $1.3\%\sim 2.1\%$ 。

参考文献:

- [1] 张 宽,等.硫在冲积水稻土上对水稻产量的影响[C].硫、镁和微量元素在作物营养平衡中的作用国际学术讨论会论文集,1993,120—121.
- [2] 吴 英,等.黑龙江省大豆、玉米施硫效果的研究[C].中国农业硫肥研究和使用的第四次国际学术讨论会论文集,1996,27(5):222—225.
- [3] 李书田,等.土壤中植物有效硫的评价[J].植物营养与肥料学报,1998,4(1).
- [4] 李西开,等.土壤农业化学常规分析方法[M].北京:科学出版社,1983.