

# 菜豆抗草甘膦资源的抗性遗传分析

张伶俐, 陶波

(东北农业大学, 黑龙江 哈尔滨 150030)

**摘要:** 采用经典遗传分析方法, 对 2 个菜豆抗草甘膦抗性资源 89-05-3 和 89-09 的草甘膦抗性遗传规律进行了研究。试验将 2 个抗性资源分别与 2 个敏感材料 89-13 和 89-21 配对组合, 建立各自的抗感亲本、 $F_1$  (正反交) 及  $F_2$  3 个世代群体。选用美国孟山都公司生产的 41% 草甘膦水剂为鉴定用药, 于苗期对各世代群体植株进行抗性鉴定,  $F_2$  的抗感植株分离比例采用  $\chi^2$  测验进行适合性的检测。结果表明: 89-05-3 和 89-09 对草甘膦的抗性遗传符合 1 对细胞核显性基因控制模式。

**关键词:** 菜豆; 草甘膦; 抗性; 遗传分析

**中图分类号:** S 643. 103. 4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)07-0091-03

草甘膦是由美国孟山都公司 1971 年研制成功, 是一种广谱灭生性、内吸传导型除草剂, 一直是世界上应用数量增长最快、使用量最大的农药<sup>[2]</sup>。由于抗性优良、应用广泛, 而被国内外学者围绕抗除草剂转基因作物方

**第一作者简介:** 张伶俐(1980-), 女, 黑龙江海伦人, 在读硕士, 研究实习员, 现从事生物技术及分子育种研究工作。E-mail: zll20041001@163.com.

**通讯作者:** 陶波(1963-), 男, 博士, 教授, 现主要从事农药学和抗除草剂转基因植物安全性方面的研究工作。E-mail: botao1@163.com.

收稿日期: 2009-03-12

面开展了广泛、深入研究。Comai 1985 年首次将鼠伤寒沙门氏菌的 *aroA* 突变基因导入烟草, 获得抗草甘膦的转基因植物<sup>[2]</sup>。从 1996 年种植 GM 作物以来, 每年的种植面积以两位数的百分比增长, 其被接受的速度非常惊人, 尤其以抗除草剂性状作物具有最大的应用潜力<sup>[3,5]</sup>。

目前, 国外的抗草甘膦基因是从鼠伤寒沙门氏菌中分离提纯出来的, 而我国还没有具有自主知识产权的天然抗草甘膦基因, 考虑到环保及生物安全性等诸多因素<sup>[6,7]</sup>, 为此, 寻找、利用天然抗草甘膦的作物或植物都具有重要的现实意义和应用价值。但是, 有关自然界中存在的天然抗草甘膦的作物, 国内仅有东北农业大学关于

## 3 小结

培养土中加入适量碳化稻谷壳对促进辣椒苗根系的发达具有明显效果, 表现为根数极显著增加, 平均根长显著增长, 最长的根长极显著增长。使辣椒苗地上部茎粗、叶数、茎高的生长不受显著影响。并及时达到壮苗标准。

培养土中加入适量碳化稻谷壳使辣椒苗的生理性

状得以改善, 定植成活率大大提高, 缓苗天数缩短, 灰霉病的发生率大大降低。

培养土中加入适量碳化稻谷壳可以使辣椒苗不经分苗就可达到用营养钵分苗的效果。建议在生产中大力推广。但是, 要注意由于培养土中加入稻谷壳, 其保水性较差, 晴天要及时浇水, 稻谷壳加入的量要合适。否则, 容易影响其生长速度并使苗子生长不均匀。

## The Influence of Different Cultivated Matching Soil on Seedling of Hot Pepper

DONG Hong-xia

(Yongzhou Vocational and Technical College, Yongzhou, Hunan 425001, China)

**Abstract:** In the normal rule of seedling wood, if the seedling wood is not separated, the root for chaff for was very unsuccessfully, but only at the educating soil inside joining proper carbonizational husk, it can make the hot pepper seedling number increase, and the root grow long rapidly. The living rate of manufacturing settling down was specially improved and the seedling wood days were shortened. The rate of disease was greatly declined.

**Key words:** Carbonizational husk; Hot pepper seedlings; Number of roots; Length of roots

菜豆抗草甘膦的报导,经过多年的研究已经选出稳定的抗性品系,并对抗草甘膦菜豆进行了抗性酶学机理、抗性机理及分子学机理等方面的研究<sup>[8-11]</sup>。该研究将采用传统遗传分析方法对其抗性遗传进行分析。为下一步标记、定位及克隆出具有自主知识产权的抗草甘膦基因打下基础,为了有效利用菜豆的抗性和建立合理的抗性基因转育体系,耐草甘膦基因分子标记辅助育种,丰富抗草甘膦的育种材料等都具有重要的现实意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试的2个菜豆草甘膦抗性资源89-05-3和89-09,2个敏感品系89-13和89-21,对照为91-01。鉴定用药为:41%草甘膦水剂,由美国孟山都公司生产。

### 1.2 亲本抗性鉴定

2008年7~9月,用对草甘膦敏感的品系91-01作对照,对2个抗性资源亲本的草甘膦抗性分别进行了田间喷药鉴定,浓度为168 mL/667m<sup>2</sup>,于对照种完全枯死时,调查草甘膦抗性情况。

### 1.3 杂交组合配制

2006年7月,用人工去雄蕾期授粉的杂交方法,分别进行89-05-3×89-13、89-09×89-21的正反交杂交,获得各自正反交F<sub>1</sub>;2007年7月89-05-3×89-13、89-09×89-21F<sub>1</sub>植株让其自然授粉留种,得到F<sub>2</sub>。

### 1.4 群体植株抗性反应鉴定与统计分析

89-05-3×89-13组合的亲本、F<sub>1</sub>(正反交)、F<sub>2</sub>及89-09×89-21组合的亲本、F<sub>1</sub>(正反交)和F<sub>2</sub>群体的抗性鉴定于2008年7~9月进行。2抗感组合的亲本及正反交F<sub>1</sub>播种30-35粒,F<sub>2</sub>播种159粒。为了尽可能避免植株因阶段性抗性表达而引起抗性判定错误,鉴定于幼苗生长至具有7~8展开叶(3叶期)时进行。鉴定方法、浓度等同1.2。鉴定后,第0、3、5、7、10天进行调查,当2对组合各自敏感亲本植株完全死亡时,记载各植株的情况。该试验中,2组敏感亲本的所有个体在鉴定后10d均达到了完全死亡。F<sub>2</sub>群体的抗感植株分离比例采用 $\chi^2$ 测验进行适合性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 亲本抗性表现

从表1可以看出,在苗期鉴定表明89-05-3和89-09都表现出高抗的抗性,相反用于与其配组的品系89-13、89-21和CK则极其敏感,这说明抗、敏感亲本之间的抗性差异显著。

### 2.2 89-05-3和89-09的抗性遗传

用41%草甘膦水剂168 mL/667m<sup>2</sup>剂量对89-05-3×89-13组合和89-09×89-21组合的F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>群体植株进行了苗期抗性鉴定。苗期鉴定表明:89-05-3/89-13 F<sub>1</sub>的50个单株的抗性与抗性亲本一致,均表现为高抗的抗性,

反交F<sub>1</sub>群体的抗性表现均与正交F<sub>1</sub>相同,表明89-05-3的抗性由细胞核的显性基因所控制;F<sub>2</sub>代群体的抗性分析发生了抗、感分离,鉴定的159株幼苗植株有121株为抗性型,38株为敏感型,经 $\chi^2$ 检验, $\chi^2_1(3:1)=0.00782 < 3.84$ (表2、3)。89-09/89-21 F<sub>1</sub>的50个单株也表现为高抗的抗性,反交F<sub>1</sub>群体的抗性表现同正交F<sub>1</sub>相同,表明89-09的抗性由细胞核的显性基因所控制;173株F<sub>2</sub>代分离群体的抗性分析,其中有126株为抗性型,47株为敏感型,经 $\chi^2$ 测验 $\chi^2_2(3:1)=0.1027 < 3.84$ (表4、5)。2个F<sub>2</sub>群体的抗、感植株分离比例均符合3R:1S理论比例,符合孟德尔遗传规律,说明89-05-3和89-09对草甘膦的抗性遗传受1对显性基因控制。

表1 亲本对草甘膦抗性的评价

亲本 Parent	田间鉴定 Assessment in field		抗性评价 Resistance evaluation
	抗(R)	敏感(S)	
89-05-3	50	0	高抗
89-13	0	50	高感
89-09	50	0	高抗
89-21	0	50	高感
CK	0	50	高感

表2 89-05-3/89-13 F<sub>2</sub>代单株苗期草甘膦抗性的适合性测验

89-05-3× 89-13	表现型	抗性植株	敏感植株	总株数
	Phenotype	Resistant plants	Sensitive plants	
苗期 Seedling	观察次数(O)	121	38	159
	理论次数(E)	119.25	39.75	159
	O-E	1.75	-1.75	0

$$\chi^2_1 = 0.00782 < \chi^2_{0.05} = 3.84.$$

表3 89-05-3×89-13组合亲本、F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>群体的草甘膦抗性鉴定

亲本或组合 Parent or cross combination	世代 Generation	株数 Number of plants		抗感比 Ratio of R to S	理论比例 Theoretical ratio(R:S)	$\chi^2$ 检测
		抗(R)	敏感(S)			
89-05-3	P <sub>1</sub>	50	0		1:0	
89-13	P <sub>2</sub>	0	50		0:1	
89-05-3/89-13	F <sub>1</sub>	50	0		1:0	
反交 Reciprocal cross	F <sub>1</sub>	50	0		1:0	
	F <sub>2</sub>	121	38	121:38	3:1	0.1027

## 3 讨论

对2个杂交组合的正反交F<sub>1</sub>代植株材料的抗性鉴定,发现F<sub>1</sub>代全部为抗性植株,可以确定菜豆89-05-3和89-09对草甘膦的抗性基因是由显性基因控制的。对2个杂交组合的F<sub>2</sub>代植株材料的抗性鉴定,发现F<sub>2</sub>代植株的抗感分离比率符合3:1的比率,因此可以确定菜

豆抗草甘膦基因的遗传属于质量性状遗传, 受一对基因控制, 抗性对敏感表现为显性。

表 4 89-09/89-21 F<sub>2</sub>代单株苗期草甘膦抗性的适合性测验

Table 4 89-09/89-21 F<sub>2</sub>-generation glyphosate-resistant plant seedling fit test

89-09/89-21 苗期 Seedling	表现型 Phenotype	抗性植株 Resistant plants	敏感植株 Sensitive plants	总株数 Total population
观察次数(O)		126	47	173
理论次数(E)		129.75	43.25	173
O-E		3.75	-3.75	0

$\chi^2 = 0.1027 < \chi^2_{0.05} = 3.84$

表 5 89-09/89-21 组合亲本、F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>群体的草甘膦抗性鉴定

Table 5 Identification of glyphosate-resistant of 89-09/89-21 combination of parental, F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> groups

亲本或组合 Parent or cross combination	世代 Generation	株数 Number of plants	抗感比 Ratio of R to S	理论比例 Theoretical ratio(R : S)	$\chi^2$ 检测	
89-09	P <sub>1</sub>	50	0	1 : 0		
89-21	P <sub>2</sub>	0	50	0 : 1		
89-09/89-21	F <sub>1</sub>	50	0	1 : 0		
反交 reciprocal cross	F <sub>1</sub>	50	0	1 : 0		
	F <sub>2</sub>	126	47	126 : 47	3 : 1	0.00782

参考文献

[1] 任不凡, 雷崧僧. 草甘膦及其研究进展[J]. 农药 1998 37(7): 1-3.

[2] Comai L, Facciotti D, Hiatt W R, et al. Expression in plants of a mutant aroA gene from Salmonella typhimurium confers tolerance to glyphosate [J]. Nature, 1985(317): 741-744.

[3] 柏亚罗. 耐草甘膦作物的发展历程和展望[J]. 现代农药, 2005, 5(4): 26-30.

[4] 夏禹. 耐草甘膦作物的历史、现状和未来[J]. 世界农药, 2005 27(5): 14-18.

[5] 苏少泉. 抗草甘膦作物的创制与发展[J]. 世界农业, 2004(3): 48-50.

[6] 杨崇良, 路兴波, 张君亭. 世界农业转基因生物、产品研发及其安全性监管[J]. 农业转基因生物及产品安全评价与管理[J]. 山东农业科学, 2005(1): 68-71.

[7] 杨崇良, 路兴波, 张君亭. 世界农业转基因生物、产品研发及其安全性监管 III. 农业转基因生物及其产品安全评价与管理[J]. 山东农业科学 2005(3): 67-70.

[8] 陶波, 秦智伟. 菜豆抗草甘膦基因筛选的研究[J]. 中国农学通报 1993, 9(5): 31-33.

[9] Tao B, Qin Z W. Genetic Stability of Resistance of Bean (Phaseolus vulgaris L.) to Glyphosate. The Journal of Northeast Agricultural University, 1996, 3(1): 15-20.

[10] 陶波, 秦智伟, 向文胜. 等. 外源抗草甘膦 DNA 导入菜豆及其抗性表达[J]. 北方园艺, 2001(5): 37-38.

[11] 向文胜, 陶波. 耐草甘膦菜豆耐性酶学机理的研究[J]. 农药学报 2000, 3(2): 31-35.

[12] 向文胜, 赵长山, 陶波. 等. 耐草甘膦菜豆耐性机理的初步研究[J]. 农药学报, 1999 3(1): 33-38.

[13] 向文胜, 李孛, 陶波, 等. 耐草甘膦菜豆耐性分子学机理研究[J]. 农药学报, 2001, 3(1): 23-29.

## Genetic Analysis of the Resistance in the Anti-glyphosate Resources of Kidney Bean

ZHANG Li-li, TAO Bo

(Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030, China)

**Abstract:** The inheritances of resistance to glyphosate in two anti-glyphosate kidney bean resources 89-05-3 and 89-09 were studied by the traditional genetic analysis method. In the present study, the respective anti-feeling parent, F<sub>1</sub> (reciprocal cross) and the F<sub>2</sub> 3 generation populations were developed by 2 resistant resources hybridization with 2 sensitive materials 89-13 and 89-21, respectively. The resistance of plants of each population was evaluated by spraying method using 41% glyphosate AS produced by The American Monsanto Company as identification of drug in the seedling stage. The segregation ratios of the resistant to susceptible plants in F<sub>2</sub> populations were analyzed by  $\chi^2$  test. The results showed that the inheritances of resistance to glyphosate in 89-05-3 and 89-09 conform to a pair of cell nucleus dominant gene controlling model.

**Key words:** Kidney bean; Glyphosate; Resistance; Genetic analysis