

吴季荣,邢宇俊,梁杰,等. 转 *WYMV-Nib8* 基因抗黄花叶病小麦的农艺性状[J]. 江苏农业科学,2020,48(19):115-118.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.19.025

# 转 *WYMV-Nib8* 基因抗黄花叶病小麦的农艺性状

吴季荣,邢宇俊,梁杰,陆丹丹,董飞,徐剑宏,史建荣

(江苏省农业科学院农产品质量安全与营养研究所/江苏省食品质量安全重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地/  
江苏省现代粮食流通与安全协同创新中心/江苏省转基因安全评价公共技术服务中心,江苏南京 210014)

**摘要:**与一般作物相比,转基因作物在目标性状得到改良的同时,其他农艺性状可能会受到影响。前期研究发现,与受体小麦扬麦 158 相比,转 *WYMV-Nib8* 基因小麦 N12-1 对小麦黄花叶病具有较强抗性。为了明确 N12-1 的生存竞争能力及在长江中下游麦区的生态适应性,在 2017—2018 年以转基因小麦 N12-1 及其受体扬麦 158 和 3 个当地主栽品种扬麦 11、宁麦 13、宁麦 14 为比较对象,对小麦的主要农艺性状(基本苗数、株高、穗数、粒数、穗粒数、千粒质量)和对主要病害的抗性进行研究。2 年的试验结果表明,N12-1 与扬麦 158 的基本苗数、穗数、粒数无显著差异,但 N12-1 显著矮于其受体扬麦 158,而穗粒数显著高于扬麦 158。N12-1 与当地主栽品种扬麦 11 相比,株高、穗粒数、千粒质量有显著差异,其他性状无显著差异;N12-1 与宁麦 13 仅在株高上有显著差异,其他性状均无显著差异;N12-1 与宁麦 14 仅千粒质量有显著差异,其他性状均无显著差异。转基因植物与受体之间对赤霉病、纹枯病的抗性均无显著差异。研究结果可为该转基因小麦申请安全证书提供基础。

**关键词:**转基因小麦;黄花叶病;农艺性状;病虫害抗性;转 *WYMV-Nib8* 基因

**中图分类号:** S435.121.4<sup>+</sup>9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)19-0115-04

目前,应用基因工程技术改良作物性状已经成为重要的育种方法之一。转基因技术的目的是在

不改变受体作物遗传背景的情况下改变目标性状,如产量、品质、抗性等<sup>[1]</sup>。随着转基因技术的发展,转基因作物的种植面积不断增加。截至 2018 年,世界上 26 个国家的转基因作物种植面积已经超过 1.9 亿  $\text{hm}^2$ <sup>[2]</sup>。小麦转基因研究也得到了快速发展,目前已经出现了一批具有优良性状的转基因小麦品系,特别是抗病转基因小麦育种已经取得了较快发展<sup>[3]</sup>。

转 *WYMV-Nib8* 基因抗黄花叶病小麦 N12-1 是中国农业科学院作物科学研究所培育的抗病转

收稿日期:2019-12-30

基金项目:转基因生物新品种培育重大专项(编号:2016ZX08011-003)。

作者简介:吴季荣(1981—),男,江苏盐城人,博士,副研究员,主要从事转基因安全评价研究。Tel:(025)84392003;E-mail:yangzhouwj@126.com。

通信作者:史建荣,博士,研究员,主要从事农产品质量安全研究。Tel:(025)84392001;E-mail:shiji@jaas.ac.cn

[6]Dowton M, Austin A D. Phylogenetic relationships among the microgastroid wasps (Hymenoptera: braconidae): combined analysis of 16S and 28S rDNA genes and morphological data[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*,1998,10(3):354-366.

[7]von Dohlen C D, Na Mo-Ran. Molecular phylogeny of the Homoptera;a paraphyletic taxon[J]. *Journal of Molecular Evolution*, 1995,41(2):211-223.

[8]王玉生. 我国常见粉蚧类害虫双基因条形码鉴定技术研究[D]. 北京:中国农业科学院,2016.

[9]石晶晶. 两种检疫性粉蚧及其近似种的鉴定技术研究[D]. 太原:山西大学,2016.

[10]Geoffrey E M, Benjamin B N. A molecular phylogenetic study of armoured scale insects (Hemiptera: Diaspididae)[J]. *Systematic Entomology*,2005,31(2):338-349.

[11]何衍彪,詹儒林,赵艳龙. 菠萝粉蚧及菠萝凋萎病研究进展[J]. *广东农业科学*,2007,13(2):47-50.

[12]汪永庆,王新国,徐来祥,等. 一种动物基因组 DNA 提取方法的改进[J]. *动物学杂志*,2001,36(1):27-29.

[13]Chenna R, Sugawara H, Koike T, et al. Multiple sequence alignment with the Clustal series of programs[J]. *Nucleic Acids Research*, 2003,31(13):3497-3500.

[14]郑斯竹,张凯,杨晓军,等. 墨天牛属昆虫 *COI* 基因比较及系统学初步研究[J]. *应用昆虫学报*,2015,52(2):370-381.

[15]Felsenstein J. Confidence-limits on phylogenies-an approach using the bootstrap[J]. *Evolution*,1985,39(4):783-791.

[16]Deng J, Yu F, Zhang T X, et al. DNA barcoding of six Ceroplastes species (Hemiptera: Coccoidea: Coccidae) from China [J]. *Molecular Ecology Resources*,2012,12(5):791-796.

基因小麦<sup>[4]</sup>,其受体为长江中下游地区前期主要推广的品种扬麦 158。在前期的研究中发现,N12-1 对靶标病害小麦黄花叶病具有优良的抗性,相较于受体亲本扬麦 158 的高发病率(98.0%),N12-1 发病率可低至 6.2%,甚至对小麦黄花叶病完全免疫<sup>[5]</sup>。转基因过程在改良目标性状的同时,外源基因的插入可能导致基因组其他基因的表达产生变化,从而影响非靶标性状,相比于转基因受体来说,其生态适应性和生存竞争能力可能发生改变,长势比受体差<sup>[6]</sup>。根据农业农村部《农业转基因生物安全评价管理办法》的要求,转基因农作物在获得生产许可前必须进行生物安全评价试验,生态适应性、生存竞争能力等的研究是生物安全评价试验的主要内容<sup>[7]</sup>。本研究拟通过对转基因抗黄花叶病小麦 N12-1 进行农艺性状、非靶标病虫害的抗性研究,以确定其在长江中下游麦区的生态适应性与生存竞争能力。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验设计

本试验于 2016 年 10 月至 2017 年 6 月、2017 年 10 月至 2018 年 6 月在位于南京市六合区的江苏省农业科学院六合转基因试验基地进行,土壤肥力中等。试验材料分别为高抗小麦黄花叶病转 *WYMV-Nib8* 基因品系 N12-1(由中国农业科学院作物科学研究所提供)及其受体品种扬麦 158 与南京当地 3 个主栽品种——扬麦 11、宁麦 13 和宁麦 14。这 5 个品种(系)分别种植 4 个小区,每个小区种植 7 行,每行 2 m,行距 30 cm,株距 3 cm,按随机区组设计。前茬作物为水稻,基肥为复合肥,施用量为 300 kg/hm<sup>2</sup>,其余按常规操作进行管理。

### 1.2 试验方法

1.2.1 基本苗数调查 在小麦生长苗期进行基本苗数调查,每个小区选择出苗比较一致的 2 行进行调查,每行调查 1 m 长度范围内的苗数,以 2 个点的平均值代表基本苗数。选取的调查点以插牌固定,用于后期相关农艺性状调查。

1.2.2 株高调查 在小麦成熟期进行株高调查,每个小区选择 4 个角及中间共计 5 个点进行测量,取土壤表面到穗最高处(不包括芒)的株高,以平均值代表各小区小麦的整体株高,单位为 cm。

1.2.3 产量相关性状调查 在小麦成熟期,统计每个小区调查基本苗数时已经固定的 2 个点内的穗

数,计算每个小区 2 个点的平均值,得到 1 m 范围内的穗数,单位为穗/m;收获每个小区固定调查点的小麦,脱粒后统计 2 个点内小麦的籽粒数,计算每个小区 2 个点的平均值,得到 1 m 范围内的籽粒数,单位为粒/m;各测定点粒数与穗数的比值为各调查点的穗粒数,计算每个小区 2 个点的平均值,得到 1 m 范围内的穗粒数;每个点随机挑选 1 000 粒小麦籽粒,称质量后得到该点的千粒质量,以各小区 2 个点千粒质量的平均值代表各小区小麦的千粒质量,单位为 g。

1.2.4 蚜虫数量调查 于 2016—2017 年调查蚜虫的自然发生数量。在小麦生长灌浆期,调查供试的 5 个品种(品系)小麦的各个重复的蚜虫数量,各小区取 4 个角和中心共 5 个点进行调查,每个点取 20 根茎秆调查叶片、穗部的蚜虫数量,以各小区所有茎秆上的总蚜虫数量代表各小区蚜虫的发生数。

1.2.5 主要病害的调查 于 2017—2018 年接种后调查 N12-1 与扬麦 158 对赤霉病、纹枯病的抗性。赤霉病接种、调查方法按文献[8]进行;纹枯病接种、调查采用大田播撒病麦粒法<sup>[9]</sup>进行。

### 1.3 数据分析

方差分析及多重比较采用 SPSS 16.0 软件进行。

## 2 结果与分析

### 2.1 农艺性状结果

研究转基因作物的目的在于改善作物的目标性状而对其他性状不产生有害影响。通过 2 年重复试验,由表 1 可见,不同品种(品系)间的基本苗数、穗数、粒数基本无显著差异,N12-1 的株高显著低于扬麦 158,千粒质量也显著低于扬麦 158,但穗粒数显著高于扬麦 158。N12-1 的株高、千粒质量显著低于主栽品种扬麦 11,而穗粒数显著高于扬麦 11;N12-1 基本苗数在 2017 年显著高于扬麦 11,在 2018 年与扬麦 11 无显著差异;N12-1 的穗数、粒数与扬麦 11 相比无显著差异。N12-1 的株高显著高于主栽品种宁麦 13,穗数、粒数、穗粒数、千粒质量两者间无显著差异,基本苗数在 2017 年显著高于扬麦 11,在 2018 年两者无显著差异。与主栽品种宁麦 14 相比,N12-1 的千粒质量显著较低,穗数、粒数、株高无显著差异(除 2018 年的株高),基本苗数、穗粒数在不同年份的表现不同。

N12-1 的穗粒数在 2 年之间无显著差异,但其

表1 供试小麦品种(品系)各农艺性状的差异

品种 (品系)	基本苗数(株)		株高(cm)		穗数(穗/m)		粒数(粒/m)		穗粒数(粒)		千粒质量(g)	
	2017年	2018年	2017年	2018年	2017年	2018年	2017年	2018年	2017年	2018年	2017年	2018年
N12-1	34.50 <sup>b</sup>	26.00 <sup>a</sup>	74.45 <sup>b</sup>	60.03 <sup>b</sup>	98.50 <sup>a</sup>	60.38 <sup>a</sup>	4 534.13 <sup>a</sup>	2 720.38 <sup>ab</sup>	46.00 <sup>b</sup>	45.75 <sup>b</sup>	37.35 <sup>a</sup>	42.97 <sup>a</sup>
扬麦158	34.00 <sup>b</sup>	24.13 <sup>a</sup>	85.55 <sup>c</sup>	70.13 <sup>d</sup>	104.63 <sup>a</sup>	61.25 <sup>a</sup>	4 237.63 <sup>a</sup>	2 433.13 <sup>ab</sup>	40.69 <sup>a</sup>	39.72 <sup>a</sup>	42.87 <sup>b</sup>	46.46 <sup>c</sup>
扬麦11	28.25 <sup>a</sup>	26.25 <sup>a</sup>	88.87 <sup>e</sup>	66.23 <sup>e</sup>	95.13 <sup>a</sup>	58.38 <sup>a</sup>	3 856.75 <sup>a</sup>	2 342.63 <sup>a</sup>	40.49 <sup>a</sup>	40.09 <sup>a</sup>	41.91 <sup>b</sup>	44.80 <sup>b</sup>
宁麦13	25.75 <sup>a</sup>	25.25 <sup>a</sup>	69.15 <sup>a</sup>	55.90 <sup>a</sup>	101.13 <sup>a</sup>	68.50 <sup>a</sup>	4 634.63 <sup>a</sup>	2 990.88 <sup>ab</sup>	46.11 <sup>b</sup>	44.00 <sup>ab</sup>	36.77 <sup>a</sup>	42.10 <sup>a</sup>
宁麦14	26.50 <sup>a</sup>	28.00 <sup>a</sup>	73.25 <sup>ab</sup>	57.03 <sup>a</sup>	101.88 <sup>a</sup>	64.00 <sup>a</sup>	4 243.50 <sup>a</sup>	2 785.00 <sup>b</sup>	41.65 <sup>a</sup>	43.71 <sup>ab</sup>	42.13 <sup>b</sup>	45.81 <sup>b</sup>

注:同列数据后不同小写字母表示不同品种(品系)在0.05水平上差异显著。

他性状在2年之间的差异达到了显著或极显著水平;扬麦158也存在相似的结果;扬麦11的年度间差异较明显,株高、穗数、粒数、千粒质量均有显著或极显著差异;宁麦13、宁麦14不同农艺性状在不同年度间的差异与扬麦11相似(表2)。

表2 供试小麦品种(品系)各农艺性状在2017年与2018年之间的差异

品种	P值					
	基本苗数	株高	穗数	粒数	穗粒数	千粒质量
N12-1	0.019	0.000	0.002	0.004	0.883	0.000
扬麦158	0.004	0.001	0.003	0.001	0.517	0.000
扬麦11	0.481	0.000	0.000	0.000	0.731	0.007
宁麦13	0.712	0.000	0.024	0.011	0.273	0.002
宁麦14	0.577	0.000	0.001	0.000	0.084	0.003

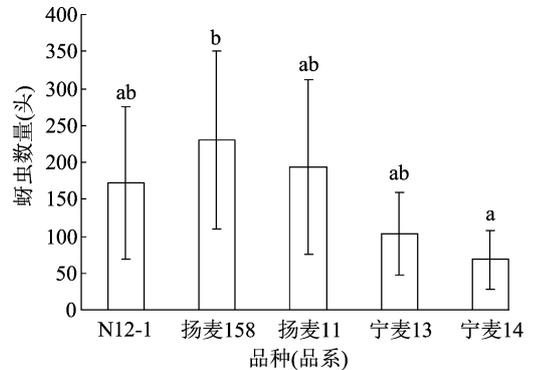
注: $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

## 2.2 蚜虫发生情况调查结果

于2017年5月小麦灌浆期调查蚜虫的发生数量。由图1可以看出,N12-1的蚜虫发生数量比其受体扬麦158少,但二者间的差异未达到显著水平,N12-1的蚜虫发生数量与当地主栽品种扬麦11、宁麦13和宁麦14间亦无显著性差异。

## 2.3 主要病害发生情况

于2017—2018年小麦生长季对不同小麦品种



不同品种(品系)间标有不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )

图1 不同供试小麦品种(品系)蚜虫的发生情况

(品系)接种长江中下游地区小麦常见的赤霉病、纹枯病这2种小麦真菌病害并调查病害的发生情况。由图2-A可以看出,转基因小麦品系N12-1与受体小麦扬麦158的平均病小穗率为7%~8%,两者之间的赤霉病病小穗率无显著性差异;由图2-B可以看出,不同小麦品种(品系)间纹枯病的病情指数亦无显著性差异,表明转基因操作对小麦非靶标病害的发生没有显著性影响。

## 3 结论与讨论

植物遗传转化的主要目的不仅是将有用的目的基因导入受体植物,而且要求获得的转基因植株

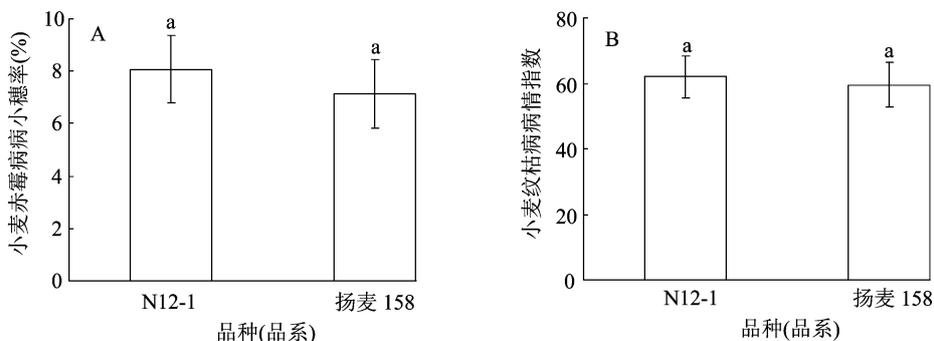


图2 不同供试小麦品种(品系)小麦赤霉病(A)与纹枯病(B)的发生情况

具有良好的应用价值。通过2年的重复试验发现,转WYMV-Nib8基因小麦N12-1与受体扬麦158之间在数个农艺性状上存在显著差异,但其病虫害抗性无显著性差异。前人研究转基因小麦农艺性状时发现,转基因小麦表现为株高、千粒质量等性状的变化<sup>[10-12]</sup>及抽穗期延迟、小穗数增加<sup>[13]</sup>;其他研究发现,转基因小麦与受体之间的农艺性状无显著性差异<sup>[14]</sup>。此外,转基因水稻品系与受体之间的农艺性状也存在一些差异<sup>[15-17]</sup>。在其他作物上,转基因抗病棉花在营养生长、生殖生长、抗病性及纤维品质等方面均具有一定的竞争优势,与常规对照品种相当<sup>[18]</sup>。抗虫转基因玉米对种子发芽率、生育期、穗行数、穗长、千粒质量等农艺性状也没有显著影响<sup>[19]</sup>。本研究发现,外源基因导入会对受体植物内源基因的表达调控产生一系列影响,进而影响到植物的农艺性状。究其原因,可能是外源基因的表达打破了受体内原有的能量供给和消耗平衡,造成一些性状表达所需能量的相对不足,从而影响生理代谢,并促进表型变化,最终导致转基因杂交后代农艺性状的变化。在组织培养过程中,细胞可以发生染色体数目变异、结构变异(包括染色体的断裂、易位、倒位、缺失、重组等)以及核基因的扩增、丢失、突变重组等变化,进而造成转基因植物农艺性状的变异<sup>[20]</sup>。根据本研究结果和前人的研究结果,转基因小麦的农艺性状与对照相比在某些性状上可能存在显著性差异,与转基因育种的要求还有一段距离。因此,必须弄清楚产生这些差异的具体原因,避免在转基因品种培育的过程中出现类似的问题,有助于选育出目标农艺性状、经济性状基本保持不变或者更好的符合育种目标的品系。

转基因小麦农艺性状的研究必须经过多年重复试验才能得到最确切的结果,在不同年份之间,某一性状可能有所不同<sup>[13]</sup>,因为不同年份之间的试验环境等差异可能影响最终的试验结果。

致谢:感谢中国农业科学院作物科学研究所陈明博士在转基因中间试验申请过程中给予的帮助。

#### 参考文献:

[1] Visarada K B R S, Meena K, Aruna C, et al. Transgenic breeding: perspectives and prospects[J]. Crop Science, 2009, 49(5): 1555 -

- 1563.
- [2] 国际农业生物技术应用服务组织. 2018年全球生物技术/转基因作物商业化发展态势[J]. 中国生物工程杂志, 2019, 39(8): 1-6.
- [3] 史建荣, 吴季荣, 徐剑宏, 等. 转基因抗病小麦的环境生物安全研究进展[J]. 麦类作物学报, 2010, 30(6): 1170-1174.
- [4] 徐惠君, 庞俊兰, 叶兴国, 等. 基因枪介导法向小麦导入黄花叶病毒复制酶基因的研究[J]. 作物学报, 2001, 27(6): 688-693.
- [5] 吴宏亚, 张伯桥, 高德荣, 等. 转WYMV-Nib8基因抗黄花叶病小麦的鉴定及优良株系的选育[J]. 麦类作物学报, 2006, 26(6): 11-14.
- [6] 贾士荣. 转基因植物的环境及食品安全性[J]. 生物工程进展, 1997, 17(6): 37-42.
- [7] 中华人民共和国农业部令 第8号: 农业转基因生物安全评价管理办法[Z]. 北京: 中华人民共和国农业部, 2002.
- [8] 陆琼娴, 杨慧勇, 徐剑宏, 等. 大麦品种赤霉病抗性鉴定[J]. 江苏农业学报, 2008, 24(4): 533-535.
- [9] 任丽娟, 陈佩度, 陈怀谷, 等. 小麦抗纹枯病种质资源筛选[J]. 植物遗传资源学报, 2010, 11(1): 108-111.
- [10] 林刚, 何光源. 转基因小麦“中间试验”与农艺性状评价[J]. 武汉植物学研究, 2004, 22(4): 284-288.
- [11] 周岩, 游建, 魏琦超, 等. 花粉管通道法转化SeNHXI基因对小麦主要农艺性状的影响[J]. 江苏农业科学, 2011, 39(5): 21-23.
- [12] 王瑞霞, 高庆荣, 崔德才, 等. 转反义PLD $\gamma$ 基因小麦的分子检测及农艺性状分析[J]. 作物学报, 2005, 31(10): 1354-1358.
- [13] Barro F, Barcelo P, Lazzeri P A, et al. Field evaluation and agronomic performance of transgenic wheat[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2002, 105(6/7): 980-984.
- [14] 郭宁, 张玉江, 江昌俊. 转Bar基因小麦的抗性遗传及农艺性状分析[J]. 中国农学通报, 2007, 2(5): 192-195.
- [15] 唐祚顺, 李良才, 田文忠. 基因枪法转基因水稻后代农艺性状的表现[J]. 中国农业科学, 2001, 34(6): 581-586.
- [16] 崔海瑞, 王忠华, 舒庆尧, 等. 转Bt基因水稻螟稻杂交转育后代农艺性状的研究[J]. 中国水稻科学, 2001, 15(2): 101-106.
- [17] 高璐, 薛永来. 农杆菌介导的水稻快速高效基因转化系统[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(4): 39-42.
- [18] 马小艳, 彭军, 姜伟丽, 等. 转双价基因(Chi+Glu)抗病棉花栽培地生存竞争能力研究[J]. 中国棉花, 2014, 41(9): 22-24.
- [19] 梁海生, 李梦桃, 李圣彦, 等. 转Bt基因抗虫玉米HGK60的农艺性状分析[J]. 生物技术通报, 2018, 34(7): 92-100.
- [20] Arencibia A, Gentinetta E, Cuzzoni E, et al. Molecular analysis of the genome of transgenic rice (*Oryza sativa* L.) plants produced via particle bombardment or intact cell electroporation[J]. Molecular Breeding, 1998, 4(2): 99-100.