

谢宇, 杨巍, 任雪娇, 等. 转 *Bt* 基因玉米的抗虫鉴定及杂种优势 [J]. 华南农业大学学报, 2019, 40(4): 25-32.
XIE Yu, YANG Wei, REN Xuejiao, et al. Insect-resistant identification and heterosis of transgenic *Bt* maize[J]. Journal of South China Agricultural University, 2019, 40(4): 25-32.

转 *Bt* 基因玉米的抗虫鉴定及杂种优势

谢宇, 杨巍, 任雪娇, 慈佳宾, 姜良宇, 杨伟光
(吉林农业大学 农学院, 吉林 长春 130118)

摘要:【目的】研究转 *Bt* 基因玉米 *Zea may* 材料表达、产量潜力及杂种优势表现, 为转基因材料遗传改良提供参考。【方法】以 Reid 群骨干系 PH6WC 及育成的自交系 J1490、J1495、4DH10 和外引系 PH1CPS 作母本, 以 Non-Reid 为基础的转 *Bt* 基因材料 6DH85、J1401、6DH222、8DH273 和 8DH279 以及自选系 J9D207、J1628、J1668 为父本, 按 NC II 设计组配 40(5×8) 个杂交组合, 对转 *Bt* 基因材料抗虫表现和产量潜力进行研究。【结果】通过回交转育系谱法处理后代获得转基因材料中的部分 *Bt* 基因丢失或者沉默, 没有在子代中成功表达出相应蛋白。转 *Bt* 基因的杂交组合在一定程度上可以避免因虫害造成的产量损失, 与对照品种相比, 组合 4DH10×8DH279 表现最好, 增产 31.10%; 组合 J1495×J1401 虽然含有 *Bt* 基因, 且与其不含 *Bt* 基因的同父本组合相比增产效果明显, 最高可增产 65.77%, 但与对照品种相比, 仅增产 10.04%。【结论】玉米转基因育种与常规育种相结合, 对其跟踪测配, 才有望培育出高产、抗虫优良品种。

关键词: 玉米; *Bt* 基因; 转基因; 抗虫性; 产量; 杂种优势
中图分类号: S334.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-411X(2019)04-0025-08

Insect-resistant identification and heterosis of transgenic *Bt* maize

XIE Yu, YANG Wei, REN Xuejiao, CI Jiabin, JIANG Liangyu, YANG Weiguang
(Agronomy College, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract: 【Objective】To study the material expression, yield potential and heterosis of transgenic *Bt* maize(*Zea may*), and provide references for genetic modification of transgene materials. 【Method】The Reid group elite line PH6WC, the bred inbred lines J1490, J1495 and 4DH10, as well as the introduced line PH1CPS were used as female parents. The Non-Reid based transgenic *Bt* materials, including 6DH85, J1401, 6DH222, 8DH273 and 8DH279, as well as the self-selected lines J9D207, J1628 and J1688 were used as male parents. Totally 40(5×8) cross combinations according to the NC II design were assembled. The insect-resistant performance and yield potential of transgenic *Bt* materials were studied. 【Result】Part of the *Bt* genes were deleted or silenced in transgene materials obtained through backcrossing pedigree method, and no corresponding protein was successfully expressed in the filial generations. The cross combination of transgenic *Bt* materials could partially avoid yield loss due to pest. Comparing to the control variety, combination 4DH10×8DH279 had the best performance with 31.10% yield increase. For combination J1495×J1401, although it contained the *Bt* gene and it displayed obvious yield increase (65.77% at the highest) compared with the combination without *Bt*

收稿日期: 2018-09-17 网络首发时间: 2019-06-25 15:53:34
网络首发地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.s.20190625.0932.024.html>
作者简介: 谢宇 (1992—), 女, 硕士研究生, E-mail: 2804217360@qq.com; 通信作者: 杨伟光 (1960—), 男, 教授, 博士, E-mail: ywg789@126.com
基金项目: 国家重点研发计划项目 (2017YFD0101102); 吉林省科技发展计划项目 (20160204001NY, 20170307009NY); 吉林省教育厅“十三五”科学技术项目 (JJKH20180663KJ, JJKH20180660KJ)

gene of the same male parent, however, it only had 10.04% yield increase compared with the control variety.

【Conclusion】 High-yield and insect-resistant maize varieties can be bred through combining transgene breeding with conventional breeding as well as tracking and testing.

Key words: maize; *Bt* gene; transgenic; insect resistance; yeild; heterosis

玉米螟 *Ostrinia furnacalis* 和黏虫 *Mythimna separata* 是我国玉米 *Zea may* 主产区最主要的害虫^[1]。据统计,玉米螟一般发生年可造成减产 7%~10%,轻者可造成减产 5% 左右,重者造成减产达 20%~30%,甚至更多^[2-3]。目前玉米螟和黏虫等虫害主要采用化学农药防治,虽然具有一定功效,但同时也带来诸多问题,如农药的使用破坏了生态环境,增加了农业生产成本,化学农药在食物中的残留危害人类的身体健康,长期使用农药带来害虫耐药性,致使害虫防治更困难。而通过培育抗虫性品种来防治虫害,经济有效^[4-6]。

以重组 DNA 和转基因技术为重点的生物技术的快速发展,为培育抗虫玉米新品种提供了新的手段^[7-9]。与传统的育种方法相比,转基因育种技术具有虫害防治成本低、抗性基因来源丰富、不受不同生物体间生殖隔离的限制等优点^[10-12]。但受基因型限制,适合于遗传转化的受体材料有限,转化率低,且通过遗传转化获得的自交系植株的综合性状通常不优良,因此较为简便的是通过回交的方法将目的基因导入到综合农艺性状优良的背景材料中,从而获得既具有优良的外源目的基因性状,又具有综合优良性状的品种^[13-15]。本研究对回交转育的 *Bt* 材料进行转基因检测和遗传特性研究。通过玉米螟、黏虫受害情况调查,结合分子鉴定,对种植的转 *Bt* 基因材料进行筛选,为转基因抗虫研究提供材料和参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试材料由吉林农业大学农学院种子科学与工程教研室提供。

2016 年,以 Reid 群骨干系 PH6WC 及其育成的自交系 J1490、J1495、4DH10 和外引系 PH1CPS 作母本,以 Non-Reid 为基础的转 *Bt* 基因材料 6DH85、J1401 和 6DH222 以及自选系 J9D207、J1628、J1668 为父本,按 NC II 遗传交配设计,组配 30 (5×6) 个杂交组合。2017 年春,将 30 个杂交组合和 11 个亲本以及对照材料先玉 335(CK) 在吉林大学“转基因实验圃”作随机区组处理,2 次重复,4 行区,行长 5 m。种植密度 6.0 万株/hm²。

2017 年冬,以同样的方法将补充的亲本 (8DH273 和 8DH279) 和组配的杂交种及原有的材料在海南实验田种植。2016 和 2017 年共计组配 40 个杂交组合。

1.2 抗虫鉴定调查

田间抗虫鉴定:在不施用任何药剂情况下分别于苗期、腊熟期调查玉米植株受玉米螟和黏虫的为害程度,参照农业部 953 号公告—10.1—2007 标准^[16]确定食叶级别和雌穗被害级别,从而确定转基因抗虫玉米的抗性水平。

室内抗虫鉴定:采取转基因和未转基因幼嫩玉米叶片饲喂玉米螟,每个处理饲喂 10 头,饲喂 3 d 后称质量 1 次。

1.3 小区产量测定及室内考种

每小区选取中间 2 行收获,风干脱粒,测量小区产量及测定含水量,转换成标准水分的产量。选取 10 个果穗进行室内考种。包括穗长、穗粗、穗轴粗、秃尖长、穗行数、行粒数、百粒质量、穗粒质量、穗质量等性状。

1.4 *Bt* 基因检测

分子鉴定参照文献 [17] 的方法。利用复合式 PCR 方法对转 *Bt* 基因玉米进行鉴定,建立总反应体系为 25 μL 的 PCR 反应体系。具体操作:DNA 首先在 99 ℃ 下预变性 5 min,经过 3 步 (95 ℃ 变性 5 s, 65 ℃ 退火 15 s, 72 ℃ 延伸 1 min)40 轮循环后,终延伸 72 ℃ 5 min,之后在 4℃ 保温。在 25 μL 总反应体积中,含有 10×PCR buffer 2.5 μL, 25 mmol/L Mg²⁺ 2.0 μL, DMSO 1.25 μL, 5 U/μL *Taq* 酶 0.20 μL, 10 μmol/L 引物各 0.5 μL, 20 ng/μL DNA 2.5 μL, ddH₂O 补齐 25 μL。所用的引物分别为 XTPNT(5'-CAGGTCGCTGTCATTGAATCCTGTTGCCGGTCTT-3', 5'-CAGGTCGCTGTCAATAATTGCGGGACTCTAAC-3') 和 XTPCM(5'-CAGGTGGCAGTCATCATTGCGATAAAGGAAAGC-3', 5'-CAGGTGGCAGTCACGAAGCATAGTCGGATTGTG-3'), 引物序列的下划线部分为人为加入富含 GC 的片段,PCR 产物用 12 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测并拍照。

1.5 数据分析

应用 Excel 软件整理试验数据,用 DPS 软件^[18]进行方差分析和 Tukey 法多重比较。

杂种优势分析按平均优势和对照优势进行^[19]。

平均优势=100% $(\overline{F_1}-\overline{MP})/\overline{MP}$, 式中 $\overline{F_1}$ 为杂种 1 代某性状均值, $\overline{MP}$ 为双亲某性状平均值。

对照优势=100% $(\overline{F_1}-\overline{CK})/\overline{CK}$, 式中 $\overline{CK}$ 为对照品种某一性状均值。

2 结果与分析

2.1 转 *Bt* 基因自交系及其杂交种检测

对 5 份回交转育的转基因材料 6DH85、J1401、6DH222、8DH273 和 8DH279 进行分子检测, 电泳结果表明, 在大约 100 bp 处, 出现了与阳性对照大小完全一致的 DNA 片段, 表明外源 *Bt* 基因可以通过杂交和连续自交导入自交系中, 5 份转基因材料中 J1401、8DH273 和 8DH279 呈阳性 (图 1)。

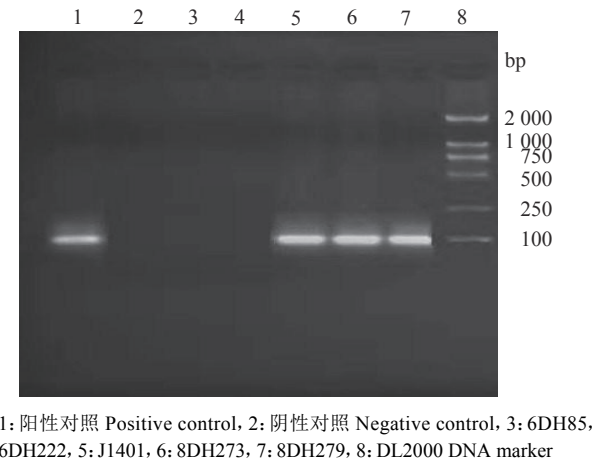


图 1 转 *Bt* 基因自交系检测

Fig. 1 Detection of transgenic *Bt* maize inbred lines

对由 J1401、8DH273 和 8DH279 组配的 15 个杂交组合包括 J1495×J1401、J1490×J1401、4DH10×J1401、PH1CPS×J1401、PH6WC×J1401、PH6WC×8DH273、J1490×8DH273、J1495×8DH273、PH1CPS×8DH273、4DH10×8DH273、PH6WC×8DH279、J1490×8DH279、J1495×8DH279、PH1CPS×8DH279 和 4DH10×8DH279 进行转 *Bt* 基因检测, 结果如图 2 所示, 其中组合 J1495×J1401、PH6WC×8DH273、J1490×8DH273、J1495×8DH273、PH1CPS×8DH273、4DH10×8DH273、PH6WC×8DH279、J1490×8DH279、J1495×8DH279、PH1CPS×8DH279、4DH10×8DH279 呈阳性。通过对回交转育材料及其组配杂交种的 *Bt* 基因检测, 发现通过回交后代处理的系谱法获得的转基因后代出现转基因丢失或者沉默, 因此需进行转基因跟踪检测。

2.2 组合及自交系抗虫表现

2.2.1 田间抗虫表现 对 5 份转基因材料 6DH85、J1401、6DH222、8DH273、8DH279 和 2 份骨干系 PH6WC、J9D207, 以及由 J1401、8DH273、8DH279 组配的 15 个杂交组合的田间抗虫表现进行了鉴定。结果如表 1 所示, 苗期叶片被害级别以 J1401、8DH273、8DH279 自交系和组合 J1495×J1401、PH6WC×8DH273、J1490×8DH273、J1495×8DH273、PH1CPS×8DH273、4DH10×8DH273、PH6WC×8DH279、J1490×8DH279、J1495×8DH279、PH1CPS×8DH279、4DH10×8DH279 为高抗, 茎秆折

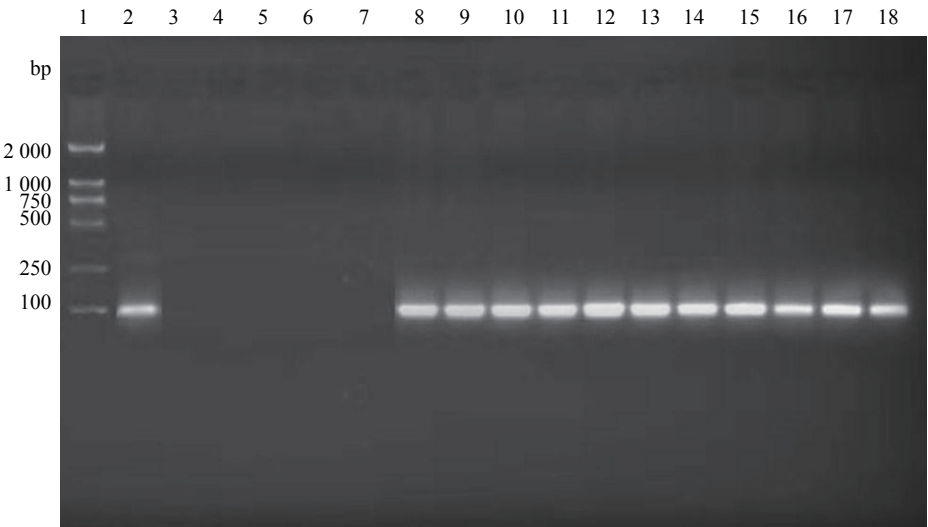


图 2 转 *Bt* 基因杂交种检测

Fig. 2 Detection of transgenic *Bt* maize hybrid lines

表 1 转 *Bt* 基因材料苗期、腊熟期田间抗虫表现

Table 1 Insect-resistance performance of transgenic *Bt* gene material at seedling stage and wax stage

组合 Combination	苗期 Seedling stage			腊熟期 Maturation stage		
	食叶级别	虫害级别 ¹⁾	茎秆折断率/%	雌穗被害级别	虫害级别 ¹⁾	茎秆折断率/%
	Leaf-feeding level	Pest level	Stem breakage rate	Ear damage level	Pest level	Stem breakage rate
PH6WC×J1401	6.84	S	0	5.14	S	0
J1490×J1401	6.33	S	0	5.21	S	0
J1495×J1401	0	HR	0	1.00	HR	0
PH1CPS×J1401	6.98	S	0	5.27	S	0
4DH10×J1401	4.92	MR	0	5.29	S	0
PH6WC×8DH273	0.23	HR	0	1.00	HR	0
J1490×8DH273	0.89	HR	0	1.00	HR	0
J1495×8DH273	0	HR	0	1.00	HR	0
PH1CPS×8DH273	0	HR	0	1.00	HR	0
4DH10×8DH273	0	HR	0	1.00	HR	0
PH6WC×8DH279	0	HR	0	1.00	HR	0
J1490×8DH279	0	HR	0	1.00	HR	0
J1495×8DH279	0	HR	0	1.00	HR	0
PH1CPS×8DH279	0	HR	0	1.00	HR	0
4DH10×8DH279	0	HR	0	1.00	HR	0
8DH273	0	HR	0	1.00	HR	0
8DH279	0	HR	0	1.00	HR	0
6DH85	6.75	S	0	5.14	S	0
J1401	0.57	HR	0	1.00	HR	0
6DH222	6.41	S	0	5.05	S	0
PH6WC	6.23	S	0	5.13	S	0
J9D207	6.12	S	0	5.16	S	0

1) HR: 高抗, R: 抗, MR: 中抗, S: 感, 高感: HS^[16]
1) HR: High resistance, R: Resistance, MR: Medium resistance, S: Susceptivity, HS: High susceptibility

断率各组合均为 0；腊熟期雌穗被害级别同样是 J1401、8DH273、8DH279 自交系和组合 J1495×J1401、PH6WC×8DH273、J1490×8DH273、J1495×8DH273、PH1CPS×8DH273、4DH10×8DH273、PH6WC×8DH279、J1490×8DH279、J1495×8DH279、PH1CPS×8DH279、4DH10×8DH279 为高抗，茎秆折断率均为 0。由此表明，通过回交转育法获得的转 *Bt* 基因自交系可在玉米各时期表现抗虫性。

2.2.2 室内抗虫表现 对 5 份转基因材料 6DH85、J1401、6DH222、8DH273、8DH279 和 2 份骨干系 PH6WC、J9D207，以及由 J1401、8DH273、8DH279 所组配的 15 个杂交组合的室内抗虫表现进行了鉴定。结果如表 2 所示，以不含 *Bt* 基因植株的叶片饲喂玉米螟，其成长较快，而以含有 *Bt* 基因植株的叶片饲喂玉米螟时，低龄幼虫较快死亡，高龄幼虫虽然不会死亡，但是生长缓慢。由此表明，通过回交转育法获得的转 *Bt* 基因自交系的抗虫性表现明显。

表 2 转 *Bt* 基因材料室内抗虫表现¹⁾

Table 2 Indoor identification of insect resistance of transgenic *Bt* gene material

组合 Combination	平均单头虫质量/mg Average weight of each insect				死亡率/% Mortality	组合 Combination	平均单头虫质量/mg Average weight of each insect				死亡率/% Mortality
	0 d	3 d	6 d	9 d			0 d	3 d	6 d	9 d	
PH6WC×J1401	8.50	17.10	41.50	60.40	0	J1490×8DH279	8.29				100
	37.10	42.10	60.10	80.30	0		40.83	40.19	41.49	43.84	0
	88.20	93.40	120.40	140.50	0		91.92	94.87	95.54	96.32	0
J1490×J1401	7.70	12.30	27.50	44.90	0	J1495×8DH279	7.84				100
	44.20	49.80	65.70	87.30	0		39.16	38.94	39.61	42.59	0
	88.40	95.10	116.90	130.10	0		89.60	91.51	94.35	94.89	0
J1495×J1401	8.30				100	PH1CPS×8DH279	6.93				100
	42.00	44.60	47.30	49.60	0		39.48	39.51	41.26	42.11	0
	84.40	99.10	96.50	98.40	0		87.52	90.46	92.13	95.62	0
PH1CPS×J1401	8.46	14.90	25.70	41.90	0	4DH10×8DH279	7.61				100
	37.30	43.20	56.70	77.20	0		38.42	39.46	39.91	42.53	0
	89.40	93.40	107.90	114.60	0		88.46	93.16	95.29	98.89	0
4DH10×J1401	8.76	11.70	19.60	36.80	0	8DH273	9.14				100
	33.40	39.40	56.10	74.10	0		40.13	39.16	40.13	42.59	0
	90.20	98.60	110.10	119.90	0		90.29	91.95	91.26	93.19	0
PH6WC×8DH273	8.37				100	8DH279	8.61				100
	36.87	37.23	37.41	38.56	0		42.84	43.19	44.62	44.89	0
	93.48	95.29	96.94	98.26	0		90.16	91.16	93.56	93.89	0
J1490×8DH273	7.89				100	6DH85	9.33	14.10	23.10	48.90	0
	37.52	38.19	40.53	41.61	0		38.40	41.70	57.80	67.60	0
	92.87	94.51	95.16	97.19	0		89.20	94.50	115.30	123.10	0
J1495×8DH273	8.06				100	J1401	9.70				100
	34.13	33.81	34.13	36.45	0		34.50	36.40	35.10	37.20	0
	88.24	91.19	93.46	94.60	0		85.50	87.60	97.80	97.50	0
PH1CPS×8DH273	9.23				100	6DH222	7.91	14.70	28.60	64.90	0
	36.95	37.51	39.48	39.89	0		39.10	44.80	65.10	78.90	0
	89.51	91.46	92.51	95.49	0		84.20	94.10	109.70	119.60	0
4DH10×8DH273	9.12				100	PH6WC	7.82	11.40	19.90	47.90	0
	37.23	36.26	38.13	39.49	0		35.60	45.70	59.00	77.90	0
	89.62	93.61	96.13	98.60	0		84.30	94.30	113.60	123.90	0
PH6WC×8DH279	8.16				100	J9D207	6.72	13.50	24.60	56.70	0
	41.25	43.62	43.89	46.91	0		36.40	44.50	68.90	89.40	0
	93.12	94.29	94.13	95.36	0		87.20	96.50	114.70	130.80	0

1) 表中数据空白处表示玉米螟虫已被转*Bt*基因玉米叶片毒死

1) Blank data in the table indicate that the corn locusts had been poisoned by the *Bt* gene maize leaves

2.3 产量及其构成因素方差分析

将 40 个杂交组合的穗长、穗粗、秃尖长、穗质量、百粒质量及产量性状的方差分析列于表 3, 6 个

性状 F 值均达到极显著水平, 表明所组配的杂交组合遗传差异普遍存在。

表 3 玉米植株各性状方差分析¹⁾
Table 3 Variance analysis of different characters of maize plant

变异来源 Variance source	DF	穗长 Ear length	穗粗 Ear coarse	秃尖长 Baretop length	穗质量 Ear weigh	百粒质量 100-grain weight	产量 Yield
组合 Combination	29	656.71**	8.85**	203.30**	855.39**	417.84**	622.40**
亲本 Parent	28	229.00**	5.36**	166.63**	254.39**	115.37**	296.03**
误差 Error	39	0	0.99	0	3.55	0.05	0.01

- 1) “*” 和 “**” 分别表示影响达到 0.05 和 0.01 的显著水平
- 1) “*” and “**” indicate the effect reaches 0.05 and 0.01 significance levels, respectively

2.4 不同组合的产量比较

将 40 个杂交组合中产量高于对照先玉 335 的组合产量数据归纳于表 4。从表 4 可以看出, 含有 Bt 基因的组合增产效果较其他组合明显, 其中组合 4DH10×8DH279 比对照品种先玉 335 最高增产

31.10%, 差异达极显著水平, 而组合 J1495×J1401 虽然含有 Bt 基因, 与其同父本组合相比增产效果明显, 最高可增产 65.77%, 但与先玉 335 相比, 仅增产 10.04%, 说明仅靠抗虫这一单一手段不能从根本上解决粮食产量问题。

表 4 不同组合产量多重比较
Table 4 The multiple comparisons of area yield in different combination

组合 Combination	产量 ¹⁾ / (×10 ³ kg·hm ⁻²) Yield	增产/% Yield increase	是否含 Bt 基因 Whether or not containing Bt gene	组合 Combination	产量 ¹⁾ / (×10 ³ kg·hm ⁻²) Yield	增产/% Yield increase	是否含 Bt 基因 Whether or not containing Bt gene
4DH10×8DH279	15.20a	31.10	是 Yes	PH6WC×6DH85	13.15hi	13.36	否 No
PH6WC×8DH279	14.90ab	28.45	是 Yes	J1490×J1628	12.88ij	11.03	否 No
4DH10×8DH273	14.67bc	26.48	是 Yes	J1495×J1401	12.76ijk	10.04	是 Yes
J1490×8DH279	14.47bcd	24.75	是 Yes	J1490×6DH85	12.75ijk	9.88	否 No
PH6WC×8DH273	14.36cde	23.83	是 Yes	4DH10×J1668	12.55jk	8.20	否 No
J1490×8DH273	14.11def	21.68	是 Yes	PH1CPS×6DH222	12.50jk	7.79	否 No
PH1CPS×8DH279	14.02defg	20.87	是 Yes	PH1CPS×J9D207	12.39ljk	6.84	否 No
J1495×J9D207	13.97defg	20.39	否 No	PH6WC×J1668	12.32lk	6.17	否 No
J1495×8DH279	13.89efg	19.70	是 Yes	J1495×J1628	11.72l	1.05	否 No
J1495×8DH273	13.66fgh	17.73	是 Yes	先玉335(CK)	11.60l		否 No
4DH10×J1628	13.58gh	17.11	否 No	4DH10×J1401	9.65m	-16.81	否 No
4DH10×J9D207	13.52gh	16.52	否 No	PH1CPS×J1401	8.48n	-26.91	否 No
PH1CPS×8DH273	13.25hi	14.22	是 Yes	J1490×J1401	7.99no	-31.10	否 No
PH6WC×J1628	13.24hi	14.14	否 No	PH6WC×J1401	7.70o	-33.62	否 No

- 1) 同列数据后的不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$, Tukey法)
- 1) Different lowercase letters of the same column indicate significant difference ($P < 0.05$, Tukey method)

2.5 杂种优势分析

40 个杂交组合产量性状的杂种优势如表 5 所示。结合转 Bt 基因检测结果发现, 以转 Bt 基因

8DH273、8DH279 为父本组配的 10 个组合的平均优势及对照优势 (或超标优势) 均表现较好, 其中, 组合 PH6WC×8DH279、4DH10×8DH273 和 J1490×

表 5 转 *Bt* 基因材料产量性状的杂种优势

Table 5 Heterosis of transgenic *Bt* gene materials

%

组合 Combination	平均优势 Average heterosis	对照优势 Control heterosis	组合 Combination	平均优势 Average heterosis	对照优势 Control heterosis	组合 Combination	平均优势 Average heterosis	对照优势 Control heterosis
PH6WC×6DH85	115.56	14.63	PH6WC×J9D207	71.61	−5.11	4DH10×8DH273	124.85	26.48
J1490×6DH85	102.29	11.11	J1490×J9D207	58.61	−9.53	PH6WC×6DH222	61.77	−11.84
J1495×6DH85	36.63	−26.65	J1495×J9D207	118.17	21.74	J1490×6DH222	46.64	−17.53
PH1CPS×6DH85	81.01	0.93	PH1CPS×J9D207	86.66	8.04	J1495×6DH222	33.85	−26.38
4DH10×6DH85	59.55	−15.75	4DH10×J9D207	114.55	17.83	PH1CPS×6DH222	90.97	9.00
PH6WC×J1401	37.51	−32.88	PH6WC×J1628	88.18	15.42	4DH10×6DH222	47.65	−20.09
J1490×J1401	37.81	−30.32	J1490×J1628	77.99	12.27	PH1CPS×8DH279	98.48	20.87
J1495×J1401	125.60	11.27	J1495×J1628	65.24	2.19	4DH10×8DH279	126.13	31.10
PH1CPS×J1401	43.81	−26.09	PH1CPS×J1628	53.46	−1.92	PH6WC×J1668	100.43	7.36
4DH10×J1401	73.67	−15.88	4DH10×J1628	94.26	18.42	J1490×J1668	80.47	−0.19
PH6WC×8DH273	118.69	23.83	PH6WC×8DH279	120.15	28.45	J1495×J1668	75.73	−4.98
J1490×8DH273	108.53	21.67	J1490×8DH279	107.67	24.75	PH1CPS×J1668	63.35	−8.29
J1495×8DH273	106.10	17.73	J1495×8DH279	103.41	19.70	4DH10×J1668	105.71	9.41
PH1CPS×8DH273	93.03	14.22						

8DH279 的对照优势最高, 分别为 28.45%、26.48% 和 24.75%; 以转 *Bt* 基因 J1401 为父本组配的 5 个组合中, 只有含 *Bt* 基因的组合 J1495×J1401 的平均优势及对照优势均表现较好, 平均优势为 125.60%, 对照优势 (或超标优势) 达 11.27%, 而其他不含 *Bt* 基因 4 个组合的平均优势及对照优势却表现很差, 说明含有转 *Bt* 基因玉米的产量可以明显提高, 也说明了经回交转育但未表达的改良材料, 产量降低很多。同样, 经转育未表达的 6DH85和 6DH222, 除个别杂交组合优势较高外, 总体表现较差。

3 讨论与结论

转 *Bt* 基因后代材料在苗期对黏虫、腊熟期对玉米螟的田间抗虫性以及室内抗虫鉴定表现都比较突出, 均为高抗, 说明通过回交转育法获得的转 *Bt* 基因自交系可在玉米生长各时期表现抗虫性, 这与朱卫红等^[20]、李余良等^[21] 研究相一致。通过 PCR 试验对亲本验证, 亲本 J1401、8DH273 和 8DH279 含有 *Bt* 基因, 说明通过杂交的方法可以将 *Bt* 基因转入到自交系中, 对其组配的杂交组合通过 PCR 试验进行验证, 结果显示杂交组合 J1495×J1401、PH6WC×8DH273、J1490×8DH273、J1495×8DH273、PH1CPS×8DH273、4DH10×8DH273、PH6WC×8DH279、J1490×8DH279、

J1495×8DH279、PH1CPS×8DH279、4DH10×8DH279 含有 *Bt* 基因, 而其他组合均不含有 *Bt* 基因, 说明在培育转基因抗虫植株时, 经过几代有性繁殖后可发生外源基因沉默或者丢失的现象, 从而影响其应用价值, 这与刘清等^[22] 的研究结果相同。因此在研究转基因植株时需进行基因跟踪检测。

含有 *Bt* 基因组合表现为明显的对照优势, 与对照品种先玉 335 相比, 组合 4DH10×8DH279 表现最好, 增产 31.10%, 产量明显提高, 其增产来自转 *Bt* 基因对虫害的抗性效应, 这与罗梅浩等^[23] 研究结果相同。亲本 J9D207 虽然不含有 *Bt* 基因, 但其组配的杂交组合的产量与对照品种先玉 335 相比提高产量 20.39%, 而组合 J1495×J1401 虽然也含有 *Bt* 基因, 与先玉 335 相比, 仅增产 10.04%, 说明仅靠抗虫这一单一手段不能从根本上解决粮食产量问题, 因此分子转基因育种应结合常规育种手段, 才有望培育出高产、抗虫、优质的玉米品种^[24-26]。

参考文献:

[1] 糕元春. 吉林省玉米主要虫害防治方法 [J]. 农业与技术, 2014(11): 153-153.

[2] 宋苗, 汪海, 张杰, 等. 转 *Bt cry1A_h* 基因抗虫玉米对亚洲玉米螟、棉铃虫和黏虫的抗性评价 [J]. 生物技术通报, 2016, 32(6): 69-75.

[3] 康岭生, 王玉民, 等. 转 *Bt* 基因玉米的抗螟性及产量分

析 [J]. 玉米科学, 2009, 17(1): 62-64.

[4] 罗梅浩, 刘建兵, 付贵成, 等. 转 *Bt* 基因玉米对亚洲玉米螟的抗性研究 [J]. 河南农业大学学报, 2007(1): 77-80.

[5] KOZIELM G, BELAND G L, BOWMAN C. Field performance of elite transgenic maize plants expressing an insecticidal protein derived from *Bacillus thuringiensis*[J]. *Nat Biotechnol*, 1993, 11: 194-200.

[6] 段灿星, 王晓鸣, 朱振东. 作物抗虫种质资源的研究与应用 [J]. 植物遗传资源学报, 2003, 4(4): 360-364.

[7] SHELTON A M, ZHAO J Z, ROUSH R T. Economic, ecological, food safety, and social consequences of the deploymen of *Bt* transgenic plant[J]. *Annu Rev Entomol*, 2002, 47: 845-881.

[8] 杨召军, 郎志宏, 张杰, 等. 转 *Bt cryIAh/cryIIe* 双价基因抗虫玉米的研究 [J]. 中国农业科技导报, 2012, 14(4): 39-45.

[9] 黎月嫦. 转 *cry30Fal* 基因抗虫水稻研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2013.

[10] 罗赛男. 用 *DefH9-iaaM* 和 *TERF1* 基因转化糖橙的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2008.

[11] 崔杰. 抗虫 *Bt* 基因 *cryIAC* 甜菜叶绿体遗传转化与表达研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2009.

[12] 林拥军. 农杆菌介导的水稻转基因研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2001.

[13] 张玲. 抗草甘膦转基因玉米的抗性鉴定、遗传分析及回交转育[D]. 雅安: 四川农业大学, 2016.

[14] 李永生. 抗真菌双 T-DNA 植物表达载体构建及农杆菌介导的玉米茎尖遗传转化[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2012.

[15] 杨芳. 豌豆过氧化氢酶基因在玉米中的转化[D]. 济南: 山东师范大学, 2006.

[16] 中华人民共和国农业部. 转基因植物及其产品环境安全检测: 抗虫玉米: 农业部 953 号公告—10.1—2007[S]. 北京: 中国农业出版社, 2007.

[17] 李桂玲. 玉米转 *Bt* 基因后代的抗虫性鉴定研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2002.

[18] 唐启义, 冯明光. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统[M]. 北京: 科学技术出版社, 2002.

[19] 张天真. 作物育种学总论[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 148.

[20] 朱卫红, 王庆东, 刘宗华, 等. 玉米转 *Bt* 基因后代的抗虫性鉴定及其遗传分析 [J]. 河南农业大学学报, 2004, 38(2): 135-138.

[21] 李余良, 胡建广, 苏菁, 等. 基因枪法转 *Bt/GNA* 基因超甜玉米植株的获得及抗虫性鉴定 [J]. 分子植物育种, 2007, 5(4): 461-466.

[22] 刘清, 萧浪涛, 吴顺, 等. 农杆菌介导法将反义蜡质基因转入杂交稻亲本 [J]. 分子植物育种, 2006, 4(4): 500-505.

[23] 罗梅浩, 李潮海, 郭线茹, 等. 转 *Bt* 基因玉米对亚洲玉米螟的抗性及其农艺性状研究 [J]. 玉米科学, 2006, 14(4): 14-16.

[24] 武淑香, 李晓辉, 殷奎德, 等. 玉米转基因育种回顾 [J]. 玉米科学, 2007, 15(4): 63-66.

[25] 王成. 生物技术在玉米育种中的应用 [J]. 农业与技术, 2017, 37(4): 36-37.

[26] 李聪, 李娜, 程贯召, 等. 玉米转基因育种研究进展 [J]. 江苏农业科学, 2012, 40(11): 85-89.

【责任编辑 庄 延】