

喷施草甘膦对转基因大豆产量构成和抗性遗传的影响

刘文娟¹, 刘 勇², 宋 君¹, 郭灵安¹, 常丽娟¹, 张富丽¹, 王 东¹, 尹 全¹, 赵泓洋¹, 雷绍荣^{1*}
(1. 四川省农业科学院分析测试中心, 四川 成都, 610066; 2. 四川省农业科学院植物保护研究所, 四川 成都, 610066)

摘要:为研究喷施草甘膦对转基因大豆产量构成和抗性遗传的影响,并对转基因大豆田间实际除草中草甘膦的合理施用提供数据支持,本研究选择抗草甘膦转基因大豆 GTS 40-3-2,采用田间随机区组的设计方法,在大豆生长的 V2 期茎叶喷施一定浓度梯度的 41% 草甘膦异丙胺盐水剂,调查成熟期大豆的产量构成及成熟籽粒中转基因成分的相对含量,子代大豆于第二年种植,茎叶喷施相同浓度梯度草甘膦后进行抗性观测和产量统计。结果发现,1.12 ~ 12.30 kg(ai) · hm⁻² 的草甘膦水剂均能有效控制杂草,但喷施 7.38 ~ 12.30 kg(ai) · hm⁻² 的草甘膦会显著抑制 GTS 40-3-2 及其子代大豆成熟期的单株粒数和单株产量。草甘膦喷施对 GTS 40-3-2 成熟籽粒中外源基因的相对含量没有显著影响,子代大豆与亲本具有相同的草甘膦抗性。表明 1.23 ~ 4.92 kg(ai) · hm⁻² 的草甘膦可在转基因大豆生长的 V2 期安全使用,不会造成大豆的减产;喷施草甘膦超过 7.38 kg(ai) · hm⁻²,一定程度上损伤大豆的结粒水平,但籽粒质量不受影响;草甘膦喷施对转基因大豆的抗性遗传没有显著影响,大豆自交子代田间栽培时,可选择草甘膦进行杂草控制,但浓度仍需在推荐剂量范围内。

关键词:抗草甘膦转基因大豆;草甘膦异丙胺盐水剂;产量构成;抗性遗传

中图分类号:S482.4, S565.103 文献标识码:A 文章编号:1007-9084(2013)06-0697-07

Impact of spraying glyphosate on yield component and resistance genetics of glyphosate – tolerant soybean at two – trifoliate leaf stage

LIU Wen – juan¹, LIU Yong², SONG Jun¹, GUO Ling – an¹, CHANG Li – juan¹,
ZHANG Fu – li¹, WANG Dong¹, YIN Quan¹, ZHAO Hong – yang¹, LEI Shao – rong^{1*}

(1. Analysis and Test Center, Sichuan Academy of Agriculture Sciences, Chengdu 610066, China;

2. Institute of Plant Protection, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu 610066, China)

Abstract: The objective of this study is to research the impact of glyphosate on yield component and resistance genetics of glyphosate – tolerant soybean and to provide a statistical basis for applying glyphosate effectively to control weed. The random complete block design was used and the influence of spraying 41% glyphosate isopropyl ammonium AS at different rates on yield component and transgenic ratio of transgenic soybean cultivar GTS 40-3-2 at V2 stage was studied in the field. The following year, the glyphosate resistance and yield component of first filial generation soybean after applying glyphosate in the same concentration rates were investigated. The result indicated that glyphosate was effective at 1.23 – 12.30 kg(ai) · hm⁻² to control weed. However, the glyphosate at 7.38 – 12.30 kg(ai) · hm⁻² markedly reduced the number of seed and seeds weight per plant of soybean parents and progeny. Spraying glyphosate had no obvious impact on the quantity of genetically modified ingredient (GM%) in seeds of GTS 40-3-2, which induced the first filial generation soybean with the same glyphosate tolerance as their parents. It was concluded that spraying glyphosate at 1.23 – 4.92 kg(ai) · hm⁻² was available for weeding control as well as maintaining the yield component of GTS 40-3-2, which could be safe to use at V2 stage of the glyphosate – tolerant soybean. Application of glyphosate above 7.38 kg(ai) · hm⁻² depressed the seed number but did not affect the seed mass of GTS 40-3-2. Spraying glyphosate did not have obviously negative influence on the genetics of resistance to glyphosate of GTS 40-3-2. Glyphosate could be used to weed control with recomm

收稿日期:2013-04-19

基金项目:四川省财政基因工程论文基金(2012LWJJ-006);四川省财政基因工程论文基金(2013LWJJ-010);四川省财政基因工程青年基金(2012QNJJ-027)

作者简介:刘文娟(1979-),女,青海西宁人,副研究员,博士,研究方向:转基因生物安全,E-mail:lwj19790628@sina.com

* 通讯作者:雷绍荣,研究员,博士,从事食品安全研究,E-mail:leishaorong2004@163.com

ended rate when the first filial generation of GTS 40 - 3 - 2 was cultivated.

Key words: Glyphosate - tolerant soybean; Glyphosate isopropylammonium AS; Yield component; Resistance genetics

转基因技术的飞速发展,为农业生产带来了一场新的革命。其中,抗草甘膦转基因作物为人们提供了一种能够有效控制杂草的新途径。在抗草甘膦作物中,尤以孟山都公司开发的抗草甘膦转基因大豆(Roundup ready soybean,RRS)最为突出,目前广泛应用的品系是 GTS 40 - 3 - 2。草甘膦是一种有机磷类除草剂,其除草原理是通过抑制定位于植物叶绿体内膜的 5 - 烯醇式丙酮酸莽草酸 - 3 - 磷酸合成酶(EPSPS)的活性,阻碍植物体内芳香族氨基酸的生物合成,最终导致植物死亡^[1]。GTS40 - 3 - 2 通过成功导入来源于根癌农杆菌或者根癌土壤杆菌 CP4 菌株的 *aroA* 基因,编码对草甘膦高耐性和对底物——磷酸烯醇式丙酮酸(PEP)高亲和力的 CP4 - EPSPS,使其进入莽草酸途经,合成芳香族氨基酸,从而维持大豆的正常代谢^[2]。尽管转基因大豆能够耐受正常杀死杂草的草甘膦 50 倍的剂量,但草甘膦对其而言仍属一种非生物胁迫,因此,草甘膦对转基因大豆的安全性已引起广泛重视,其中,喷施草甘膦对转基因大豆产量的影响和转基因大豆的抗性检测成为研究热点。研究发现,草甘膦喷施会造成转基因大豆叶片萎黄和叶斑现象^[3];花荚期转基因大豆喷施草甘膦后,大豆成熟时间推迟,成熟期植株高度降低^[4];草甘膦喷施可能造成转基因大豆地上部分干重下降^[5];1999 至 2001 年在美国几个州同时进行的大量田间对比试验发现,转基因大豆比传统大豆田间减产 5% ~ 10 %^[6]。综上所述,尽管具有较高的草甘膦抗性,但草甘膦对转基因大豆在多方面仍存在不同程度的伤害。草甘膦对转基因大豆负面影响的研究中,草甘膦浓度的选择大多在试剂标识范围内,而实际除草中,转基因大豆与其他抗草甘膦转基因作物的轮作种植和田间草甘膦长期的单一性使用,造成杂草抗性发展的同时最终导致草甘膦使用量的逐年增加。喷施草甘膦对转基因大豆子代抗性遗传的影响目前还鲜有研究,且转基因大豆的抗性鉴定还多集中于定性分析^[7]。因此,本试验选择抗草甘膦转基因大豆 GTS 40 - 3 - 2,在大豆生长的 V2 期进行一定浓度梯度(试剂标识除草浓度及其倍量)41% 草甘膦异丙胺盐水剂的茎叶喷施,在大豆成熟后进行产量测定和籽粒中转基因成分定量分析,籽粒于第二年种植后在 V2 期进行相同浓度梯度的草甘膦喷施后测产。通过研究草甘膦喷施

对转基因大豆产量构成和抗性遗传的影响,对转基因大豆的安全评价和田间草甘膦的合理施用提供数据支持和理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 供试土壤 试验于四川省农业科学院转基因植物环境安全评价基地大田进行。前茬作物为玉米,播种前采用机械除草,土壤中没有可检测水平的草甘膦残留。供试土壤为沙壤土质,水浇地,pH6.2 ~ 6.9,偏酸性。土壤肥力良好,排灌情况良好。2009 年试验区 0 ~ 20cm 土层有机质含量 1.87%,全氮 0.8g · kg⁻¹,速效磷 9.7mg · kg⁻¹,速效钾 176.9 mg · kg⁻¹;2010 年试验区 0 ~ 20cm 土层有机质含量 2.52%,全氮 1.3g · kg⁻¹,速效磷 9.1mg · kg⁻¹,速效钾 161.8mg · kg⁻¹。

1.1.2 供试品种 抗草甘膦转基因大豆 GTS 40 - 3 - 2,来源于美国孟山都公司。

1.1.3 供试药剂 41% 草甘膦异丙胺盐水剂(福建省福鼎市绿丰化工有限公司)。

1.2 试验设计

GTS 40 - 3 - 2 种植于四川省农业科学院转基因植物环境安全评价基地试验田中,田间试验于 2009 年 5 月 - 9 月和 2010 年 5 月 - 9 月进行。2009 年大豆出苗后间苗定苗,行距 0.4m,株距 0.3m,每小区种植 50 株。采用随机区组设计,41% 草甘膦异丙胺盐水剂设 7 个处理水平,分别为 0.00、1.23、2.46、4.92、7.38、9.84 和 12.30kg(ai) · hm⁻²,其中 1.23 ~ 2.46kg(ai) · hm⁻²的草甘膦处理水平为供试 41% 草甘膦异丙胺盐水剂的推荐除草剂量,不喷施草甘膦(草甘膦处理浓度为 0)的区组设为对照,草甘膦用量均为有效剂量,设置 3 次重复,在大豆生长的第二复叶(V2)期用长江 0.8 型手持压缩式喷雾器(苏州农业药械厂)于天气晴朗无风的上午 8:00 - 10:00 对大豆进行草甘膦茎叶喷施,施药时保持药液喷洒均匀。为消除杂草对转基因大豆生长繁育的竞争抑制并保证试验条件的一致性,对所有试验区组从大豆播种至收获期均进行定期的人工除草。2010 年种植 2009 年收获的 GTS 40 - 3 - 2 的子代大豆,不同浓度草甘膦处理后收获的子代大豆分别播种,同样于大豆生长的 V2 期进行 1.23 ~ 12.30kg

(ai) · hm⁻²的草甘膦茎叶喷施,种植方式和小区设置同于亲本,为消除土壤中残留草甘膦的影响,子代与亲本大豆种植于不同的试验区域。

1.3 大豆产量构成指标测定

2009 年种植的 GTS 40 - 3 - 2 和 2010 年种植的子代大豆,籽粒完全成熟后测定产量构成因素,包括单株有效荚数、单株粒数、单株产量和百粒重等。

1.4 大豆种子中转基因成分定量检测

1.4.1 DNA 提取 将不同浓度草甘膦处理后收获

表 1 转基因大豆 GTS40 - 3 - 2 结构特异序列定量检测的引物和探针
Table 1 Primers and probes used for construct specific quantitative detection of genetically modified glyphosate - tolerant soybean GTS 40 - 3 - 2

检测基因 Detected genes	引物及探针序列 Sequences of primers and probes	扩增片段长度 Size/bp
Lectin	5' - CCAGCTTCGCCGCTTCCTTC - 3'	74
	5' - GAAGGCAAGCCCATCTGCAAGCC - 3'	
	5' - FAM - CTTACCTTCTATGCCCTGACAC - TAMRA - 3'	
结构特异基因 Construct specific genes	5' - CATTGAGAGGACACGCTGA - 3'	74
	5' - GAGCCATGTTGTTAATTGTGCC - 3'	
	5' - FAM - CAAGCTGACTCTAGCAGATCTTTC - TAMRA - 3'	

1.4.3 实时荧光 PCR 反应 TaqMan 探针法荧光定量 PCR 反应体系:THUNDERBIRD™ Probe qPCR Mix(2 ×)(TOYOBO, Japan) 12. 5μL, 上下游引物(10μmol · L⁻¹) 各 1μL, 探针(10μmol · L⁻¹) 0. 5 μL, ROX reference dye(50 ×)(TOYOBO, Japan) 0. 5 μL, 模版 DNA 2μL, 加灭菌超纯水补齐至 25 μL。荧光定量 PCR 仪器(Applied Biosystems, 7500 Real Time PCR System, America) 运行反应程序:50℃ 2min;95℃ 10min;95℃ 15s;60℃ 1min(45cycles)。

标准曲线的制定参考 Vařtilingo 等^[9]的方法,将分离纯化得到的 100% 含量的 GTS 40 - 3 - 2 标准品 DNA 用超纯水按 1: 5 比例稀释成 5 个浓度梯度:100、20、4、0. 8 和 0. 16ng · μL⁻¹,样品检测每小区收获大豆籽粒 DNA 为一个独立样本,每种处理 3 个平行,设置空白对照(以灭菌超纯水代替模版 DNA)和阴性对照(模版为非转基因大豆 DNA)。

1.4.4 转基因成分相对含量计算 计算各处理水平大豆的转基因成分相对含量:大豆外源基因相对含量(%) = (GTS 40 - 3 - 2 结构特异基因的绝对含量/大豆内源基因 *Lectin* 的绝对含量) × 100。

1.5 数据统计分析

应用 SPSS13. 0 软件采用新复极差法对所有检测数据间的差异性进行比较分析。

2 结果与分析

2.1 转基因大豆的草甘膦抗性

试验发现,喷施 1. 23 ~ 12. 30 kg(ai) · hm⁻²的

的子代大豆成熟籽粒,研磨成粉末后称取 100mg,使用植物基因组 DNA 纯化试剂盒(Tiagen 生物技术有限公司,北京)分离、纯化大豆基因组 DNA。

1.4.2 引物和探针合成 根据 GB/T 19495. 5 - 2004^[8]合成大豆内源持家基因 *Lectin*(植物凝集素基因)和 GTS40 - 3 - 2 结构特异片段(叶绿体转运肽基因 *CTP* 与 *cp4 epsps* 基因的边界序列)的特异引物和探针(表 1)。

41% 草甘膦异丙胺盐水剂,田间除草效果良好,草甘膦喷施后,转基因大豆与非转基因对照相比,能正常生长繁育,对该浓度范围草甘膦具有显著抗性。

2.2 喷施草甘膦对转基因大豆产量构成的影响

V2 期喷施 1. 23 ~ 12. 30 kg(ai) · hm⁻²的草甘膦后,单株有效荚数与对照相比没有显著差异;大豆的单株粒数和单株产量在 1. 23 ~ 4. 92 kg(ai) · hm⁻²草甘膦喷施后没有发生显著变化,但在 7. 38 ~ 12. 30 kg(ai) · hm⁻²的草甘膦喷施后受到明显抑制,与对照相比显著减少;成熟籽粒的百粒重在喷施不同浓度草甘膦后基本保持对照水平(表 2)。

2.3 喷施草甘膦对转基因大豆子代抗性遗传的影响

2.3.1 喷施草甘膦对转基因大豆子代种子中转基因成分相对含量的影响 对模板量为 100 ~ 0. 16ng · μL⁻¹的 5 个标准品的 *Lectin* 基因和 GTS 40 - 3 - 2 结构特异片段进行扩增,得到 Ct 值,根据 Ct 值与 *Lectin* 基因和 GTS 40 - 3 - 2 结构特异片段的绝对含量,绘制 Ct 值与 *Lectin* 基因含量的内标基因标准曲线,以及 Ct 值与 GTS 40 - 3 - 2 结构特异片段含量的外源基因标准曲线(图 1 和图 2)。根据内标基因与外源基因标准曲线,测定各处理组大豆内标基因 *Lectin* 与 GTS 40 - 3 - 2 结构特异片段的绝对含量,根据公式计算大豆 GTS 40 - 3 - 2 结构特异片段的相对含量。结果(表 4)显示,对 V2 期 GTS 40 - 3 - 2 茎叶喷施 1. 23 ~ 12. 23kg(ai) · hm⁻²的草甘膦,成熟大豆籽粒中结构特异片段相对内标基因 *Lectin* 的

含量与对照(未喷施草甘膦)相比没有显著差异,转基因成分相对含量水平均在100%左右。

表2 喷施草甘膦后转基因大豆成熟期产量构成因素

Table 2 Yield component factors of GTS 40-3-2 after spraying glyphosate at V2 stage

草甘膦浓度 Glyphosate isopropylammonium rate/kg(ai)·hm ⁻²	产量构成指标 Yield component indexes			
	单株有效荚数 Effective pods number per plant	单株粒数 Seeds number per plant	单株产量 Seed weight per plant/g	百粒重 100 seeds weight/g
0.00	66.58 ± 4.19 ab	134.42 ± 7.58 ab	15.00 ± 1.09 ab	11.44 ± 0.44 ab
1.23	74.18 ± 5.35 a	142.04 ± 15.37 a	17.60 ± 2.69 a	12.15 ± 0.95 ab
2.46	77.80 ± 6.57 a	149.60 ± 14.69 a	18.77 ± 1.72 a	12.63 ± 0.46 a
4.92	57.00 ± 4.67 b	104.83 ± 10.06 bc	12.07 ± 0.83 bc	11.67 ± 0.40 ab
7.38	53.64 ± 4.92 b	96.50 ± 8.49 c	10.97 ± 0.89 c	11.47 ± 0.63 ab
9.84	56.25 ± 5.52 b	99.33 ± 11.42 c	10.54 ± 1.27 c	10.78 ± 0.61 b
12.30	52.09 ± 5.86 b	85.91 ± 13.93 c	10.24 ± 1.78 c	12.27 ± 0.57 a

注:不同小写字母表示0.05水平上差异显著。下同
Note: Different lower case indicates significant differences at 0.05 level. Same as below

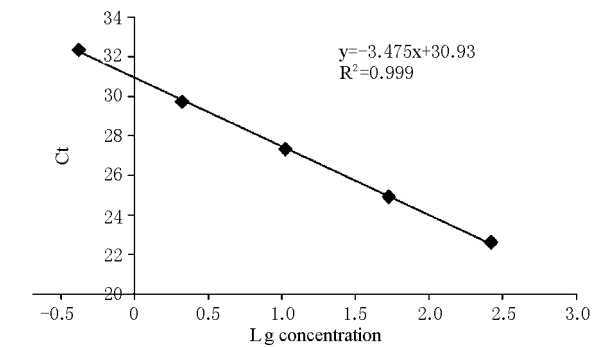


图1 内标基因 *Lectin* 基因含量与 Ct 值的标准曲线
Fig.1 Standard curve of Ct vs. template amount of reference DNA with *Lectin* gene

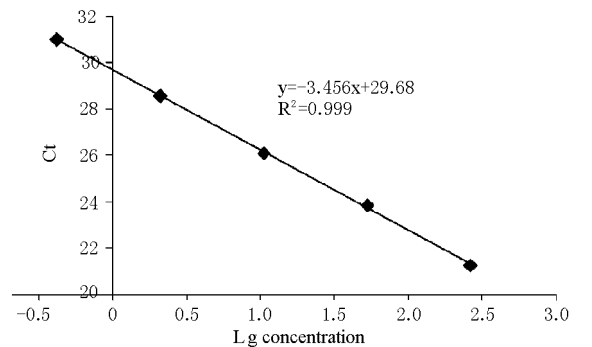


图2 外源基因 GTS 40-3-2 结构
特异片段含量与 Ct 值的标准曲线
Fig.2 Standard curve of Ct vs. template amount of reference DNA with construct specific fragment

表3 喷施草甘膦后转基因大豆成熟籽粒中转基因成分相对含量
Table 3 Relative quantity of genetically modified ingredient in seeds of GTS 40-3-2 after spraying glyphosate at V2 stage

草甘膦浓度 Glyphosate isopropylammonium rate / kg(ai)·hm ⁻²	<i>Lectin</i>		结构特异片段 Construct specific fragments		转基因成分相对含量 Relative quantity of genetically modified ingredient (GM/%) ($\bar{X} \pm S$)
	CT 值 CT value	绝对含量 Absolute quantity/ng	CT 值 CT value	绝对含量 Absolute quantity/ng	
0.00	24.52	69.34	23.19	63.95	97.48 ± 2.72 a
	24.39	67.22	23.07	69.62	
	24.34	78.17	23.45	75.55	
	24.38	76.31	22.94	71.45	
1.23	24.60	68.92	23.37	77.46	101.78 ± 2.62 a
	25.28	60.90	23.96	60.48	
	24.41	65.10	23.01	67.79	
	24.78	47.12	23.66	45.43	
2.46	24.94	48.09	23.59	47.03	99.45 ± 4.11 a
	24.35	67.46	22.91	72.76	
	24.82	56.74	23.39	53.30	
	24.47	77.87	23.06	73.18	
4.92	24.67	49.87	23.35	46.43	98.59 ± 2.02 a
	24.85	52.52	23.59	50.13	
	24.88	53.29	23.48	52.36	
	24.65	52.17	23.44	51.16	
7.38	24.68	55.25	23.42	51.08	95.60 ± 2.58 a
	24.83	52.11	23.48	50.41	
	24.69	57.90	23.26	60.54	
	24.76	52.90	23.49	52.40	
12.30	24.59	66.33	23.04	66.90	101.49 ± 2.81 a

2.3.2 喷施草甘膦对转基因大豆子代产量构成的影响 喷施草甘膦后收获的子代大豆,第二年种植并于 V2 期喷施 1.23 ~ 12.30kg(ai) · hm⁻² 的草甘膦,与非转基因对照相比,大豆能正常生长繁育,表现出与亲本相同的草甘膦抗性。子代大豆成熟期的单株有效荚数、单株粒数、单株产量和百粒重水平变

化(表 3)显示,与亲本一致,喷施草甘膦后,子代大豆的单株有效荚数与对照相比统计差异不显著;而 7.38 ~ 12.30kg(ai) · hm⁻² 的草甘膦处理会造成子代大豆单株粒数和单株产量与对照相比的显著降低;籽粒百粒重水平不受喷施草甘膦影响。

表 4 喷施草甘膦后转基因大豆 GTS 40-3-2 子代成熟期产量构成因素
Table 4 Yield component factors of the first filial generation soybean after spraying glyphosate at V2 stage

草甘膦浓度 Glyphosate isopropylammonium rate /kg(ai) · hm ⁻²	产量构成指标 Yield component indexes			
	单株有效荚数 Effective pods number per plant	单株粒数 Seeds number per plant	单株产量 Seed weight per plant/g	百粒重 100 seeds weight/g
0.00	120.40 ± 2.03 a	237.00 ± 14.69 ab	37.28 ± 3.09 a	16.68 ± 0.60 ab
1.23	128.33 ± 4.55 a	288.56 ± 13.81 a	43.84 ± 4.28 a	15.15 ± 0.39 b
2.46	120.75 ± 3.15 a	244.50 ± 13.68 ab	43.23 ± 4.52 a	17.36 ± 0.35 a
4.92	107.78 ± 2.83 a	229.11 ± 13.72 ab	40.60 ± 4.31 a	17.40 ± 0.37 a
7.38	112.00 ± 2.24 a	161.57 ± 10.39 c	25.41 ± 1.72 b	15.74 ± 0.29 ab
9.84	114.00 ± 3.59 a	172.33 ± 10.14 bc	28.54 ± 3.26 b	16.31 ± 0.36 ab
12.30	93.86 ± 2.33 a	133.57 ± 18.30 c	23.23 ± 2.72 b	17.05 ± 0.55 a

3 讨论

有研究表明,0.84 ~ 1.12kg(ai) · hm⁻² 的草甘膦喷施不会明显影响抗草甘膦转基因大豆的生长繁育水平^[4,10,11],喷施 2.24kg(ai) · hm⁻² 的草甘膦导致转基因大豆主茎节数减少 30%,根、茎干重降低 25% ~ 30%,但不会造成大豆最终的减产^[3],即一定浓度范围的草甘膦对转基因大豆的产量没有损伤。本研究中,在试验所涉及时间、地域和环境等栽培条件下,供试 41% 草甘膦异丙胺盐水剂以 1.23 ~ 4.92 kg(ai) · hm⁻² (试剂推荐除草剂量 1.23 ~ 2.46kg(ai) · hm⁻²) 对抗草甘膦转基因大豆 GTS 40-3-2 及其子代在 V2 期进行茎叶喷施,没有造成大豆产量的显著下降,与已有结果一致。并且,该浓度范围的草甘膦在田间喷施中能有效杀灭杂草,因此,在转基因大豆生长的 V2 期使用安全有效。

本试验发现,对 V2 期 GTS 40-3-2 及其子代大豆喷施超过推荐剂量的 7.38 ~ 12.30 kg(ai) · hm⁻² 草甘膦,尽管田间除草效果良好,但会一定程度上降低大豆成熟期的单株粒数,最终导致单株产量的减少。研究发现草甘膦除主要抑制 EPSPS 合成酶活性,还会影响叶绿素的生物合成^[3],改变叶绿体的超微结构^[12],以及抑制光合反应中的光合磷酸化与 ATP 酶的活性^[13],从而影响植物叶片的光合作用^[14]。超过推荐除草剂量的草甘膦会显著抑制转基因大豆叶片固氮酶的活性,造成氮含量的持续降低^[15]。GTS 40-3-2 的抗性是基于转入基因的表达蛋白 CP4-EPSPS 对草甘膦具有高耐性,而

一定浓度草甘膦喷施对转基因大豆其他方面的负面作用则可能对大豆的生长繁育水平造成潜在危害。本试验中,V2 期 7.38 ~ 12.30kg(ai) · hm⁻² 的草甘膦喷施显著降低了 GTS 40-3-2 及其子代大豆成熟期的单株粒数和单株产量,反映出该浓度对转基因大豆产量的负面影响。从产量构成指标分析,草甘膦造成转基因大豆单株产量减少的主要原因在于对单株籽粒数量的抑制,结荚水平和籽粒质量基本不受影响。有研究证明,环境和理化因素对外源基因在受体中的表达有一定程度的影响^[16,17],本试验发现,尽管可能由于种子活力、生长环境(温度、湿度、土壤肥力)和田间管理等原因造成不同年份不同试验区域种植的转基因大豆亲本和子代成熟期的产量构成水平有较大差异,但从造成产量损伤的草甘膦喷施浓度分析,亲本和子代大豆的产量构成受草甘膦影响趋势基本相同,表明可能环境因素对大豆产量的影响更为显著,但该结论还需多年比较试验的进一步分析。大豆是严格自交作物,自然条件下,转基因大豆中外源抗草甘膦基因向野生近源种和栽培种发生漂移的频率很低^[18,19],GTS 40-3-2 的草甘膦抗性由一对显性核基因控制^[20],表明其自交子代的草甘膦抗性不会发生性状分离。本试验中,不同浓度草甘膦喷施后,GTS 40-3-2 成熟籽粒中外源基因的相对含量与亲本相比没有显著差异,均在 100% 水平左右;籽粒于第二年种植并喷施草甘膦后,所有植株均能正常生长繁育,表现出与亲本一致的显著抗性;喷施草甘膦对子代大豆成熟期产量构成的影响趋势同于亲本。由此表明,2009 年

收获的大豆籽粒为 GTS 40-3-2 的自交子代,对亲本喷施草甘膦没有显著影响子代大豆中外源基因的转录水平和子代大豆对草甘膦的抗性表现,草甘膦对转基因大豆的抗性遗传没有显著的负面影响。

4 结论

1. 23 ~ 12. 30kg(ai) · hm⁻² 浓度范围的供试 41% 草甘膦异丙胺盐水利剂对 5-9 月成都地区田间杂草均有理想的防除效果,其中 1. 23 ~ 4. 92 kg(ai) · hm⁻² 的草甘膦可在抗草甘膦转基因大豆 GTS 40-3-2 生长的 V2 期安全使用,不会影响大豆的产量。喷施草甘膦超过推荐剂量,一定程度上影响转基因大豆的籽粒数量,最终降低单株产量。草甘膦喷施对转基因大豆的抗性遗传没有显著影响,大豆自交子代田间栽培时,仍可选择草甘膦进行杂草控制,但浓度仍需保持在推荐除草剂量范围以内。

参考文献:

[1] Schönbrunn E, Eschenburg S, Shuttleworth W A, et al. Interaction of the herbicide glyphosate with its target enzyme 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase in atomic detail[J]. PNAS,2001,98(4):1 376-1 380.

[2] Dill G M. Glyphosate-resistant crops: history, status and future[J]. Pest Manage Sci,2005,61(3):219-224.

[3] Reddy K N, Hoagland R E, Zablotowicz R M. Effect of glyphosate on growth, chlorophyll, and nodulation in glyphosate-resistant and susceptible soybean (*Glycine max*) varieties[J]. J New Seeds,2001,2(3):37-52.

[4] Elmore R W, Roeth F W, Klein R N, et al. Glyphosate-resistant soybean cultivar response to glyphosate[J]. Agron J,2001,93(2):404-407.

[5] Reddy K N, Rimando A M, Duke S O. Aminomethylphosphonic acid, a metabolite of glyphosate, causes injury in glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004,52(16):5 139-5 143.

[6] Benbrook C. Evidence of the magnitude and consequences of the Roundup Ready soybean yield drag from university-based varietal trials in 1998[R]. AgBiotech Infonet technical paper,1999,1.

[7] 岳运峰,吴刚,武玉花,等. 转基因植物中标记基因定性 PCR 检测方法研究[J]. 中国油料作物学报. 2011,33(3):280-289.

[8] GB/T 19495.5-2004 转基因产品检测核酸定量 PCR 检测方法[S]. 北京:中国标准出版社,2004.

[9] Vařtilingom M, Pijinenburg H, Gendre F, et al. Real-time quantitative PCR detection of genetically modified maximizer maize and roundup ready soybean in some representative foods[J]. J Agri, 1999,47(12):5 261-5 266.

[10] Nelson K A, Renner K A. Soybean growth and development as affected by glyphosate and postemergence herbicide tank mixtures[J]. Agron J, 2001,93(2):428-434.

[11] Young B G, Young J M, Matthews J L, et al. Soybean development and yield as affected by three postemergence herbicides[J]. Agron J,2003,95(5):1 152-1 156.

[12] 卜贵军,郑小江,王学东,等. 草甘膦对大豆叶片超微结构及生化指标的影响[J]. 中国油料作物学报, 2010,32(2):285-289.

[13] Lamb D C, Kelly D E, Hanley S Z, et al. Glyphosate is an inhibitor of plant cytochrome P450: functional expression of *Thlaspi arvensae* cytochrome P45071B1/reductase fusion protein in *Escherichia coli*[J]. Biochem Biophy Res Commu,1998,244(1):110-114.

[14] Zobiole L H S, Oliveira Jr R S, Visentainer J V, et al. Glyphosate affects seed composition in glyphosate-resistant soybean[J]. J Agric Food Chem,2010,58(7):4 517-4 522.

[15] Zablotowicz R M, Reddy K N. Nitrogenase activity, nitrogen content, and yield responses to glyphosate in glyphosate-resistant soybean[J]. Crop Prot,2007,26(3):370-376.

[16] 邸娜,姜树原,王瑞刚. 生境因子及理化因素对外源基因在植物体内表达的影响[J]. 生物技术通讯, 2005,16(2):221-223.

[17] Traore S B, Carlson R E, Pilcher C D, et al. Bt and non-Bt maize growth and development as affected by temperature and drought stress[J]. Agron J,2000,92:1 027-1 035.

[18] Abud S, de Souza P I M, Vianna G R, et al. Gene flow from transgenic to nontransgenic soybean plants in the Cerrado region of Brazil[J]. Genet Mol Res,2007,6(2):445-452.

[19] 刘杰,周波,杨春燕,等. 抗草甘膦转 EPSPS 大豆的基因漂移研究[J]. 大豆科学, 2012,31(4):517-521.

[20] 陈新,朱成松,顾和平,等. 抗草甘膦大豆的遗传研究[J]. 江苏农业科学,2002,(6):21-23.