

抗草甘膦栽培大豆种质挖掘及抗性生理研究

商 璐, 谭洪鹤, 洪慧龙, 陶 波, 高 山, 隋 冰

(东北农业大学 农学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘 要:利用田间试验结合生物化学分析研究了不同的栽培大豆品系对草甘膦的抗性, 试验结果显示: 在草甘膦有效剂量为 0.31 ~ 0.92 kg·hm⁻² 时, 不同栽培大豆品种对草甘膦抗性存在明显差异, 在草甘膦剂量为 0.92 kg·hm⁻² 时, 石豆 1 号存活率为 100%, 表现了较高的抗性, 8 份材料的存活率为 4% ~ 48%, 表现出一定的抗性; 44 份材料表现敏感, 存活率为 0。试验研究了抗性材料石豆 1 号、中抗材料 Williams 和敏感材料中黄 35 对草甘膦的生理生化反应的差异, 结果表明: 随着草甘膦处理剂量的增加和处理时间的延长, 石豆 1 号莽草酸含量、叶绿素含量和超氧化物歧化酶 (SOD) 相对活性没有明显变化。而 Williams 和中黄 35 的莽草酸含量和 SOD 相对活性明显升高, 叶绿素含量明显降低。结果表明草甘膦 (浓度 0.92 kg·hm⁻²) 处理下, 不同抗性栽培大豆叶片中莽草酸含量有明显差异, 处理 5 ~ 14 d 时敏感材料叶片中莽草酸含量保持较高水平, 因此栽培大豆叶片莽草酸含量可以作为判断其对草甘膦抗性高低的主要生理指标之一, 而 SOD 的活性和叶绿素含量可以作为判断栽培大豆对草甘膦抗性的辅助生理指标。

关键词:栽培大豆; 草甘膦抗性; 莽草酸; 叶绿素; SOD

中图分类号: S565.1 文献标识码: A DOI: 10.11861/j.issn.1000-9841.2017.01.0060

Glyphosate Resistant Screening of Different Soybean Varieties and Its Resistance Mechanism

SHANG Lu, TAN Hong-he, HONG Hui-long, TAO Bo, GAO Shan, SUI Bing

(College of Agriculture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: In this paper, the resistance of different soybean cultivars to glyphosate was studied systematically by field experiment combined with biochemical analysis. The results showed that under the effective glyphosate dose of 0.31-0.92 kg·ha⁻¹, there was a significant difference in glyphosate resistance among different soybean cultivars. When glyphosate dose was 0.92 kg·ha⁻¹, the survival rate of Shidou 1 was 100%, showed high resistance, the survival rate of the other 8 materials was 4% - 48%, showed certain resistance, 44 materials were sensitive, and the survival rate was 0. The physiological and biochemical reaction of different resistant soybean materials were as follows, with the increase of glyphosate treatment dose and the extension of treatment time, shikimic acid chlorophyll content and SOD activity of Shidou 1 didn't change significantly. It showed that Shidou 1 had stronger resistance to glyphosate, while the shikimic acid and SOD of the other two kinds soybean materials increased significantly. This result indicated that the accumulation of shikimic acid in soybean can be used as a judgment of one of the main physiological indexes of resistance to glyphosate.

Keywords: Cultivated soybean; Glyphosate resistance; Shikimic acid; Chlorophyll; SOD

大豆 (*Glycine max*) 是在全国普遍种植的重要油料作物。我国大豆的产区主要集中在东北、黄淮、汉江平原, 其中以东北大豆产量和品质较好。近 20 年来中国大豆发展不容乐观, 许多学者将中国大豆竞争力低的主要原因归结为单产低, 成本高; 品质差, 效益低; 技术落后, 发展缓慢等^[1-4]。其中高成本的重要原因为机械化水平低及人工除草费用高, 而草甘膦是成世界上产量最大、应用最广的农药品种, 近年来随着抗草甘膦转基因作物的发展, 草甘膦用量在逐年增加^[5]。所以发展抗除草剂大豆能弥补这一缺点, 从而减少种植大豆的费用, 降低成

本。草甘膦是典型的有机磷除草剂, 作用靶标为 5 - 稀醇式丙酮 - 莽草酸 - 3 - 磷酸合成醇 (EPSPs)。草甘膦通过竞争磷酸稀醇丙酮酸 (PEP), 抑制植物体内 EPSP 酶的活性, EPSPs 是芳香族氨基酸合成酶, 酶活被抑制后体内莽草酸大量积累, 芳香族氨基酸合成受阻, 植物生长受到抑制以致死亡^[6-7]。叶绿体中 EPSPS 合成酶能催化莽草酸途径中的磷酸烯醇式丙酮酸和莽草酸 - 3 - 磷酸产生 EPSP。主要通过竞争性抑制植物代谢过程中 EPSPS 的活性, 同时催化植物体内莽草酸代谢途径而影响莽草酸的合成途径, 导致蛋白质合成受阻、代谢过程紊乱,

收稿日期: 2016-03-20
基金项目: 转基因生物新品种培育重大专项 (2016ZX08004001)。
第一作者简介: 商璐 (1990-), 男, 硕士, 主要从事抗草甘膦大豆种质挖掘及抗性机制研究。E-mail: 330662161@qq.com。
通讯作者: 陶波 (1963-), 男, 教授, 主要从事抗除草剂作物基因的挖掘研究。E-mail: botaol@163.com。

阻碍次生代谢产物的形成,最终导致植株死亡^[8]。莽草酸积累是草甘膦作用于植物的标志^[9]。植株经草甘膦处理后,草甘膦在植株体内经叶内吸传导至根、茎等组织速度较快,但莽草酸等次生代谢物降解相对缓慢,导致在幼嫩的叶、根部等组织中有大量类似莽草酸的代谢物积累。草甘膦处理后,植株体内莽草酸积累量越少,植株对草甘膦的耐受程度越高^[10-11]。SOD 等在清除植物体内活性氧对生物膜系统的伤害方面起着重要作用。许长成等^[12]的研究结果表明 Lemont(抗百草枯材料)与桂朝 2 号(敏感材料)相比具有较高的 SOD 活性。卞咏梅等^[13]研究指出小球藻对西草净的抗性原因可能为细胞内所含活性氧防御物的强活性,高活性的防御物对体内产生活性氧伤害有解毒作用。

经过长时间的草甘膦使用,世界各地已发现多种草甘膦抗性杂草。澳大利亚的瑞士黑麦草是第一种被发现的抗草甘膦杂草,其后不久在南非及美国也发现黑麦草抗性,抗性机制可能是草甘膦向质体内作用靶点传导下降^[14]。自然选择是指利用不同资源间草甘膦的耐受性差异,在连续草甘膦选择压力下,筛选对草甘膦具有较高耐受性资源的方法^[15]。该方法已成功应用于黑麦草、百脉根、菜豆等植物并获得对草甘膦耐受性较高的抗性资源^[16]。在大豆的除草剂耐受性研究方面,王迪^[17]对 425 份野生大豆进行抗草甘膦筛选,并对其进行部分生理生化指标测定,筛选出 2 份抗性较好的野生大豆;高越^[18]对 87 份野生大豆种质进行草甘膦抗性鉴定,在供试的筛选野生大豆品系之间存在抗性较高的品系 ZYD254,可以作为耐性大豆资源进行利用。其研究结果表明不同抗性野生大豆叶片部位的莽草酸含量差异明显,不同剂量草甘膦对抗感野生大

豆叶片 GST 活性影响不同,在草甘膦处理 5 d 内不同抗性野生大豆叶绿素含量变化情况纯在差异。

本研究通过田间试验方法,对 53 份栽培大豆材料进行筛选,并对筛选得到的抗性材料和敏感材料进行生理分析,以进一步明确抗草甘膦大豆抗性产生的生理机制,研究不同抗性栽培大豆在莽草酸处理 14 d 内叶片中莽草酸和叶绿素含量、SOD 活性的变化情况,研究筛选栽培大豆与草甘膦抗性相关的生理指标,为抗草甘膦大豆育种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

试验所用的栽培大豆种质材料由中国农业科学院作物科学研究所(国家作物种质资源库)和东北农业大学农药教研室提供。

除草剂:41% 草甘膦异丙胺盐水剂(美国孟山都)。

其它试剂:磷酸氢二钠、磷酸氢二钾、磷酸二氢钠、磷酸二氢钾、甘氨酸、过碘酸、Tris-HCL、莽草酸、谷胱甘肽、液氮、2,4 - 二硝基氯苯(CDNB)、甲硫氨酸(MET)、氮蓝四唑(NBT)、EDTA-Na2、核黄素、愈创木酚等,均为分析纯。

1.2 试验设计

1.2.1 田间试验 试验于 2015 年 5 月在黑龙江农业科学院实验基地进行。供试大豆材料按编号顺序进行种植,人工单粒播种,株距 10 cm,行距 45 cm,小区行长 3 m,4 行区,正常田间管理,3 次重复。

植株的第二片三出复叶刚长出时进行草甘膦茎叶处理,草甘膦有效浓度为 0.92 kg·hm⁻²,14 d 后调查大豆各种质存活率,观察受害症状,抗性等级详见表 1。

表 1 草甘膦耐性等等级分级标准

Table 1 Classification standard of glyphosate tolerance grade

分级 Grade	枯叶面积比例 Area ratio of withered leaf/%	药害症状 Injury symptoms of pesticide
0	0 ~ 10	无症状
1	10 ~ 20	心叶轻微萎蔫或无显著变化
2	20 ~ 40	心叶变黄,植株整体萎蔫,叶片从叶尖开始黄化卷曲,部分叶片出现枯斑
3	40 ~ 60	心叶黄化卷曲,部分畸形萎缩,植株整体褪绿黄化,植株生长受抑制,并有萎缩的趋势
4	60 ~ 80	心叶畸形卷曲,黄化严重,植株整体黄化严重,植株萎蔫,生长停滞
5	80 ~ 100	植株严重萎缩,或整株死亡

1.2.2 生理生化试验 试验于 2015 年 7 月在东北农业大学农学院进行。将筛选出的种子消毒,浸泡于 25℃ 蒸馏水中 6 h,27℃ 催芽 12 h,下胚轴刚萌发时移栽播种,每盆 15 粒,3 次重复。待第二片三出复叶刚长出时进行茎叶草甘膦喷施处理,草甘膦处理浓度梯度为:0,0.31,0.62,0.92 kg·hm⁻²,施药后 1,3,5,7,14 d 取新鲜的幼嫩叶片放置于 -80℃ 冰箱中保存并观察存活率,记录抗性等级。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 莽草酸含量 利用分光光度法测定莽草酸含量:精确量取 0.2 g 的新鲜大豆叶片,放置在冰块上预冷的研钵中,加入 1 mL HCl(0.25 mol·L⁻¹),立刻用研磨锤研磨成匀浆,提取液 15 000 r·min⁻¹、4℃ 离心 15 min,取出上清液 100 μL,与 2 mL 过碘酸(0.1%)混合用来氧化莽草酸,静置 3 h,加入 2 mL NaOH(1 mol·L⁻¹),混匀加入 1.2 mL 甘氨酸(0.1 mol·L⁻¹),混匀、静置 5 min。380 nm 波长下利用比色法测定吸光度,绘制莽草酸标准曲线,计算样品中的莽草酸含量。

1.3.2 叶绿素含量 使用 SPAD 502 测定仪测定叶绿素含量。吸收峰在 650 和 940 nm 时估算叶绿素水平。于大豆叶片边缘测定叶绿素含量值,测定时尽量避开叶脉,以保证测量准确性,重复测量 8 次,取平均值并记录。

1.3.3 SOD 活性 称取 0.5 g 大豆叶片,加入到已经填加液氮和石英砂的研钵中,加入 1 mL 磷酸缓冲液,研磨为匀浆,加入 4 mL 缓冲液继续研磨,取 3 mL 匀浆,15 000 r·min⁻¹,4℃ 下离心 10 min,上清液即为 SOD 粗提液。

酶活性测定的反应体系为:1.7 mL 磷酸缓冲液(0.05 mol·L⁻¹,pH7.8);0.3 mL 甲硫氨酸(Met)溶液(130 mmol·L⁻¹);0.3 mL 氮蓝四唑(NBT)溶液(750 μmol·L⁻¹);0.3 mL EDTA-Na₂溶液(100 μmol·L⁻¹);20 μmol·L⁻¹的核黄素溶液 0.3 mL;0.1 mL 酶液(对照管中加入煮至灭活的酶液,空白对照未添加酶液)。

对照置于暗处,其它管置于 12 000 lx 的日光灯下反应 20 min。反应结束,560 nm 波长下测定各管的吸光度值,以抑制 NBT 光化学还原的 50% 为 1 个酶活性单位表示 SOD 活性单位,以施药酶活力与当日黑暗处理空白对照酶活力的比值作为相对活力。

1.4 数据分析

所有数据经 Excel 2007 整理后,应用 SAS 9.1 软件进行方差分析,利用 Duacan's 检测方法对数据进行 5% 水平下差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 不同品种大豆草甘膦材料的筛选

不同大豆材料对草甘膦存在明显抗性差异,其中 44 份大豆生长受到严重抑制,植株全部死亡,药害等级均为 5 级;8 份大豆材料表现出不同程度的抗性,存活率为 4%~48%;石豆 1 号对草甘膦具有较强的抗性,存活率为 100%,植株能够正常生长发育(表 2)。根据存活率和药害等级的高低选择了抗性材料石豆 1 号、中抗材料 Williams 和敏感材料中黄 35 进行生理生化机制的研究。

表 2 草甘膦(0.92 kg·hm⁻²)对不同栽培大豆种质存活率的影响
Table 2 Effect of glyphosate(0.92 kg·hm⁻²) on survival rate of different soybean germplasm

种质 Germplasm	总株数 Total plants	存活株数 Survival number	存活率 Survival rate /%	药害等级 Grade of pesticidal injury symptoms
石豆 1 号 Shidou 1	25	25	100	0
东农 50 Dongnong 50	25	12	48	2
徐豆 10 号 Xyudou 10	25	11	44	2
黑农 48 Heinong 48	25	10	40	3
绥农 21 Suinong 21	25	9	36	3
Williams	25	8	32	4
十胜长叶 Shishengchangye	25	6	24	4
长农 21 Changnong 21	25	4	16	4
冀豆 12 Jidou 12	25	1	4	5
中黄 35 Zhonghuang 35	25	0	0	5
Tiffil	25	0	0	5
科新 7 号 Kexin 7	25	0	0	5

续表 2

种质 Germplasm	总株数 Total plants	存活株数 Survival number	存活率 Survival rate/%	药害等级 Grade of pesticidal injury symptoms
中黄 55 Zhonghuang 55	25	0	0	5
吉农 18 Jinong 18	25	0	0	5
铁豆 44 Tiedou 44	25	0	0	5
Williams 82	25	0	0	5
中品 03-5373 Zhongpin 03-5373	25	0	0	5
吉育 402 Jiyu 402	25	0	0	5
吉育 101 Jiyu 101	25	0	0	5
中黄 59 Zhonghuang 59	25	0	0	5
东农 50 变异株 Dongnong 50 variant strain	25	0	0	5
中黄 13 Zhonghuang 13	25	0	0	5
黑农 51 Heinong 51	25	0	0	5
小铃 28 Xiaoling 28	25	0	0	5
T249H	25	0	0	5
中品 95-5383 Zhongpin 95-5383	25	0	0	5
辽豆 20 Liaodou 20	25	0	0	5
冀黄 13 突变体 Jihuang 13 mutant	25	0	0	5
科新 6 号 Kexin 6	25	0	0	5
中黄 50 Zhonghuang 50	25	0	0	5
中黄 30 Zhonghuang 30	25	0	0	5
kottman	25	0	0	5
冀豆 12 褐变 Jidou 12 browning	25	0	0	5
耐盐 279 Salt tolerance 279	25	0	0	5
ZYD3687	25	0	0	5
绥无腥 2 号 Suiwuxing 2	25	0	0	5
吉育 88 Jiyu 88	25	0	0	5
黑河 43 Heihe 43	25	0	0	5
黄 13T208 Huang13T208	25	0	0	5
13T090-7	25	0	0	5
13T370	25	0	0	5
13T352	25	0	0	5
13T226	25	0	0	5
13T295	25	0	0	5
13T336	25	0	0	5
黑 13T357	25	0	0	5
Hei13T357	25	0	0	5
黄 13T113 Huang13T113	25	0	0	5
4m042-9	25	0	0	5
4m149-8	25	0	0	5
4m385-2	25	0	0	5
4m333-4	25	0	0	5
4m025-2	25	0	0	5

2.2 草甘膦不同剂量对不同抗性栽培大豆的生理生化作用

2.2.1 莽草酸含量 石豆 1 号、Williams 和中黄 35 在未经草甘膦处理时,叶片中的莽草酸含量差异不大,随着草甘膦剂量的增加,敏感植株中黄 35 莽草酸含量逐渐增加,在有效浓度为 0.92 kg·hm⁻²时,

中黄 35 莽草酸含量高达 4 439.9 μg·g⁻¹,抗性材料石豆 1 号在各剂量下莽草酸含量无明显差异(图 1),中抗种质 Williams 莽草酸含量在抗性种质和敏感种质莽草酸含量变化之间。结果说明不同抗性栽培大豆种质之间对草甘膦抗性存在较大差异,石豆 1 号对草甘膦具有较强的抗性。

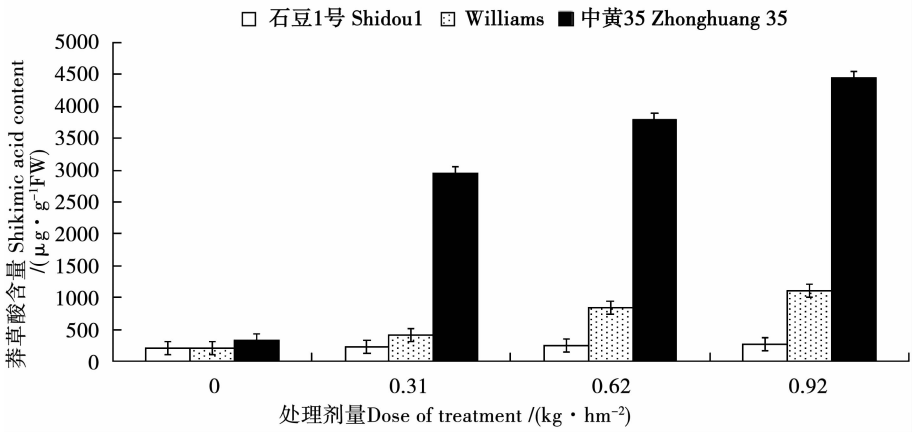


图 1 不同剂量草甘膦处理对不同抗性栽培大豆莽草酸含量的影响
Fig. 1 Effect of different glyphosate disposed doses on shikimic acid content of soybean cultivars with different resistance

从图 2 可以看出在草甘膦处理前不同抗性种质之间莽草酸含量没有明显差异,在草甘膦浓度(0.92 kg·hm⁻²)的处理下,随着处理时间的延长,抗性材料石豆 1 号莽草酸含量虽有所波动,但整体较稳定;敏感材料中黄 35 莽草酸含量持续升高,在

5~14 d 达到峰值。Williams 莽草酸含量随着时间的延长一直在升高,但是没有中黄 35 升高的明显。说明草甘膦对石豆 1 号作用较小,莽草酸含量在本底值范围内波动,说明莽草酸含量的高低可以反映应草甘膦抗性的强弱。

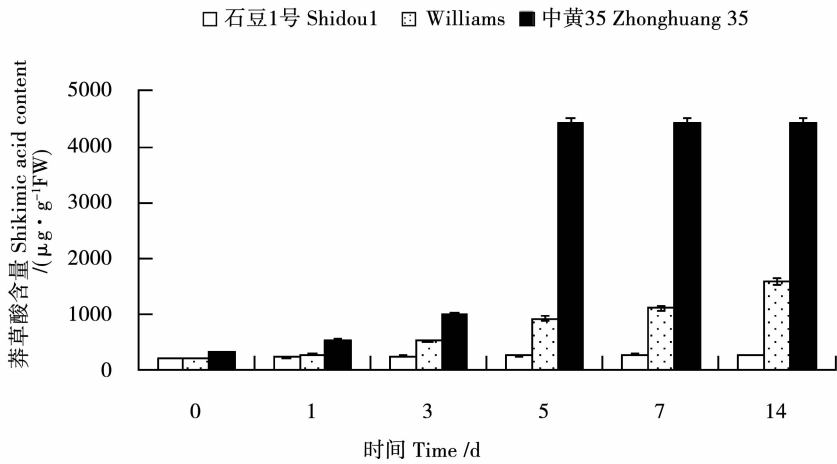


图 2 草甘膦处理不同时间对不同抗性栽培大豆莽草酸含量的影响
Fig. 2 Effect of different glyphosate disposed time on shikimic acid content of soybean cultivars with different resistance

2.2.2 叶绿素含量 由图 3 可知没有经过草甘膦处理时,石豆 1 号,Williams 和中黄 35 叶片中叶绿素含量差异较小,在喷施草甘膦剂量之后,敏感植株中黄 35 中叶绿素含量急剧减少,在第 7 天时敏感种质中黄 35 叶绿素含量为 0,而抗性材料石豆 1 号

在各个剂量下,叶绿素含量略有降低,中抗种质 Williams 叶绿素含量随着草甘膦剂量的增加而降低,在 0.92 kg·hm⁻²条件下叶绿素含量降低至 0。说明不同栽培大豆之间对草甘膦抗性存在较大差异,石豆 1 号对草甘膦具有较强的抗性。

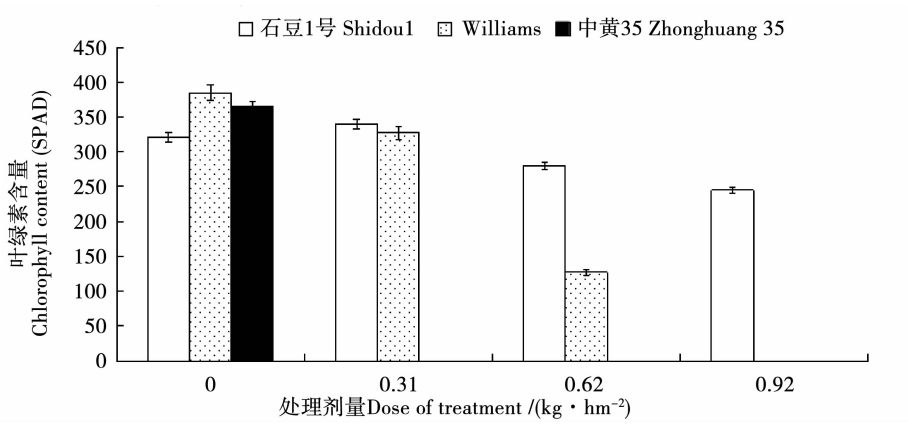


图 3 不同剂量草甘膦处理对不同抗性栽培大豆叶绿素含量的影响

Fig. 3 Effect of different glyphosate disposed doses on the chlorophyll content of soybean cultivars with different resistance

草甘膦浓度在 0.92 kg · hm⁻² 时,敏感材料、抗性材料叶绿素含量在不同时间存在显著差异(图 4)。中黄 35 叶绿素含量逐渐降低,在第 5 天含量为 0;石豆 1 号叶绿素含量在 1 ~ 3 d 缓慢下降,第 3 天后逐渐回升,第 14 天植株基本恢复正常。表明石豆 1 号在草甘膦胁迫下能够维持正常生长状态。

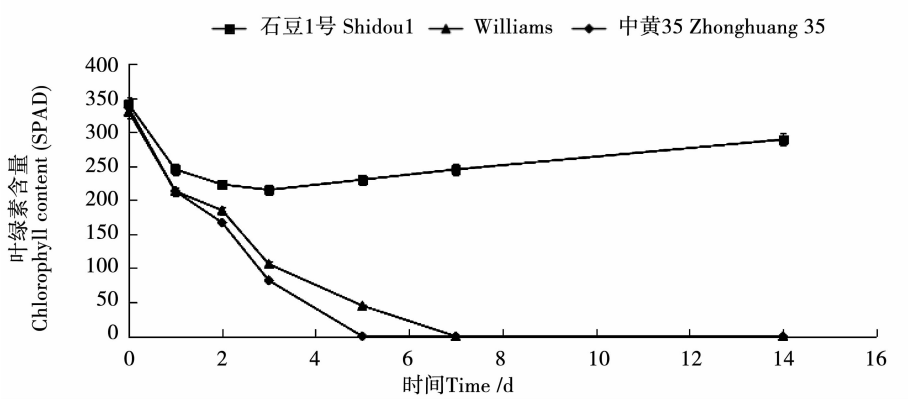


图 4 草甘膦处理不同时间对不同抗性栽培大豆叶绿素含量的影响

Fig. 4 Effect of different glyphosate disposed time on the chlorophyll content of soybean cultivars with different resistance

2.2.3 SOD 活性 对栽培大豆 SOD 活性研究结果表明,从图 5 可看出随着草甘膦剂量的增加,敏感、中抗种质 SOD 活性不断增加,在 0.92 kg · hm⁻² 草甘膦处理后,SOD 活性于第 7 天达到最高,约为抗性种质的 3 ~ 4 倍。在不同剂量处理后,抗性种质的石豆 1 号的 SOD 活性始终维持在较稳定水平。

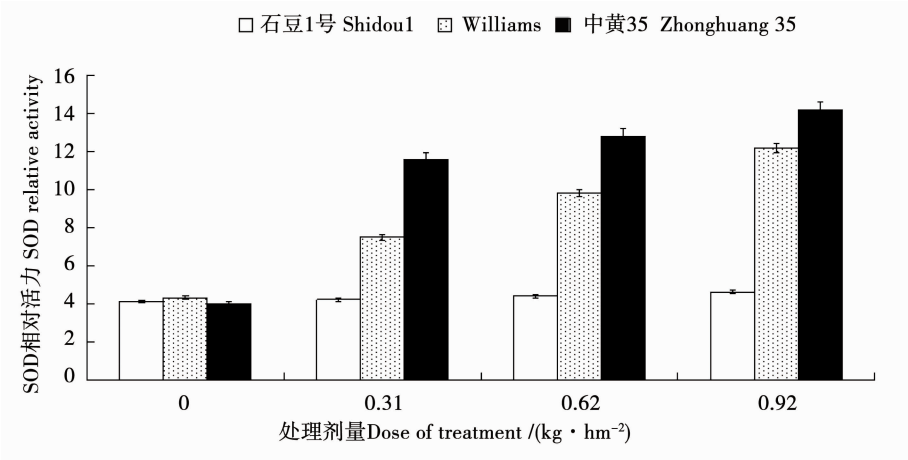


图 5 不同剂量草甘膦处理对不同抗性栽培大豆 SOD 活性的影响

Fig. 5 Effect of different glyphosate disposed doses on the SOD activity of soybean cultivars with different resistance

从图6可以看出0.92 kg·hm⁻²草甘膦处理后,趋势,第7天达到峰值,后开始下降,抗性材料 SOD 随处理时间延长,敏感种质的 SOD 活性呈先升后降 仅在本底值范围内波动。

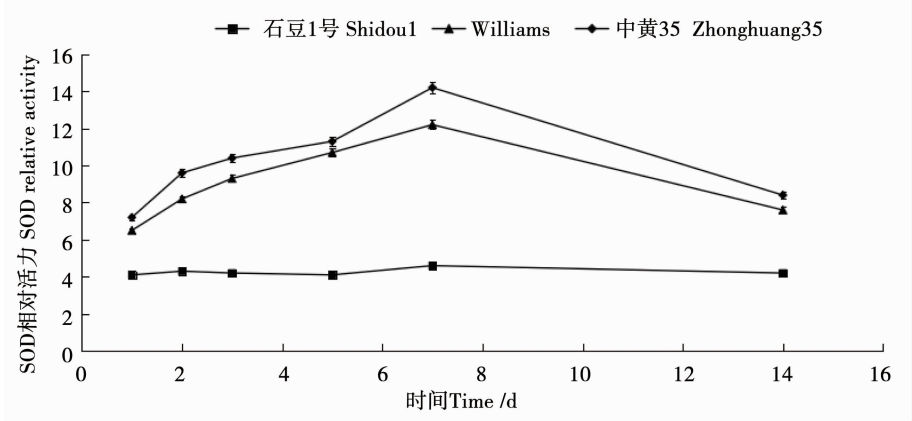


图6 草甘膦处理不同时间对不同抗性栽培大豆 SOD 活性的影响
Fig.6 Effect of different glyphosate disposed time on the SOD activity of soybean cultivars with different resistance

3 讨论

目前,通过非转基因手段培育的抗除草剂作物涉及玉米、大豆、菜豆、烟草等 20 余种^[15]。虽然抗除草剂转基因作物的培育和推广明显提高了农田除草效率,取得了巨大的经济效益。但是,随着研究的深入,外源基因的不可预测性却越来越多地阻碍了转基因作物的发展。因此,在转基因作物的安全性尚未得到证实之前,利用非转基因技术选育抗除草剂作物更安全可靠。

本研究对 53 份栽培大豆种质进行草甘膦抗性鉴定和筛选,在经过草甘膦喷施后产生了明显的差异,大多数种质植株严重萎缩或者整体死亡,存活率为 0,药害等级均为 5 级。部分栽培大豆种质存活率 4%~48% 不等,存活植株生长受到严重抑制,植株叶片畸形萎缩,心叶黄化卷曲,植株整体褪绿黄化,药害等级为 2~5 级。石豆 1 号对草甘膦表现出了较高的抗性,存活率为 100%,植株没有变化,对植株的生长和生育期没有影响,因此可确定石豆 1 号为草甘膦抗性品种。

国内外研究表明,莽草酸积累是植物喷施草甘膦后体内最早出现的相对敏感的指标^[16,19],陈景超等^[19]研究表明,施用草甘膦后杂草植株体内莽草酸积累量可以反映不同杂草对草甘膦的敏感性,莽草酸积累量与植株对草甘膦耐受性呈反比。SOD 在清除植物体内活性氧对生物膜系统的伤害方面起着重要作用。本研究对石豆 1 号、Williams 和中黄 35 的莽草酸积累量和叶绿素含量的分析表明,不同时间和不同浓度处理时石豆 1 号体内莽草酸和叶绿素和 SOD 的含量与对照相比没有明显的差异。而

Williams 和中黄 35 体内的莽草酸和 SOD 含量明显升高,叶绿素含量下降为 0,试验结果表明植物体对草甘膦产生抗性的主要生理因素是莽草酸含量保持稳定;表明莽草酸在植物体内积累量的多少可以作为判断栽培大豆对草甘膦抗性高低的主要生理指标,这与前人的研究结果是一致^[20-21],而 SOD 的活性和叶绿素含量的多少也因栽培大豆对草甘膦抗性的不同而存在差异,也可以作为判断栽培大豆对草甘膦抗性的生理指标。

4 结论

本文利用田间试验结合生物化学分析方法,研究了不同的栽培大豆品系对草甘膦的抗性,在草甘膦剂量为 0.92 kg·hm⁻² 时,石豆 1 号存活率为 100%,表现了较高的抗性,东农 50、徐豆 10 号、黑农 10 号、绥农 21、Williams、十胜长叶、长农 21、和冀豆 12 的存活率为 4%~48%,表现出一定的抗性;44 份材料表现敏感,存活率为 0。抗性材料石豆 1 号、中抗材料 Williams 和敏感材料中黄 35 在草甘膦的胁迫下生理生化反应存在差异。栽培大豆叶片中莽草酸和叶绿素含量及 SOD 活性可以作为判断栽培大豆对草甘膦抗性高低的生理指标。

参考文献

[1] 王济民,朱希刚.我国大豆业发展所面临的形势、问题与对策[J].农业经济问题,2000,21(9):39-44. (Wang J M, Zhu X G. The situation, problems and countermeasures of soybean industry development in our country[J]. Agricultural Economic Problems, 2000, 21(9): 39-44.)
[2] 余建斌,乔娟,乔颖丽.进口冲击下的中国大豆产业发展对策[J].农业现代化研究,2005,26(3):213-216. (Yu J B, Qiao

- J, Qiao Y L. On soybean industry development under import impact in China[J]. Reserch of Agrcultural Modernization, 2005, 26(3): 213-216.)
- [3] 钟金传. 中国大豆产业国际竞争力研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2005. (Zong J C. Study on internationnal competitiveness of soybean industry of China[D]. Beijing: Chinese Agrcultural University, 2005.)
- [4] 刘爱民. 中国大豆产业布局与大豆进口政策[J]. 中国农业信息, 2003(2): 9-11. (Liu A M. Soybean industry layout and import policy of China[J]. Chinese Agrcultural Information, 2003 (2): 9-11.)
- [5] 苏少泉. 草甘膦述评[J]. 农药, 2005, 44(4): 145-149. (Su S Q. Review of glyphosate [J]. Pesticide, 2005, 44 (4): 145-149.)
- [6] Roberts C W, Finnerty J, Johnson J J, et al. The shikimate pathway and its branches in apicomplexan parasites [J]. Nature, 1999, 397(6716): 220-220.
- [7] Roberts F, Roberts C W, Johnson J J, et al. Evidence for the shikimate pathway in apicomplexan parasites[J]. Nature, 1998, 393(6687): 801-805.
- [8] Escorial M C, Sixto H, Gracia-Baudin J M, et al. A rapid method to determine cereal plant response to glyphosate[J]. Weed Technology, 2001, 15: 697-702.
- [9] Buehring N W, Massey J H, Reynolds D B. Shikimic acid accumulation in field grown corn (*Zea mays*) following simulated glyphosate drift[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55: 819-824.
- [10] Franz J E, Mao M K, Sikorski J A, et al. Glyphosate: A unique global herbicide, American chemical society monograph[J]. American Chemical Society, 1997, 189: 521-615.
- [11] Gao J P, Wang G H, Ma S Y, et al. CRISPR/Cas9-mediated targeted mutagenesis in *Nicotiana tabacum*[J]. Plant Molecular Biology, 2015, 87: 99-110.
- [12] 许长成, 樊继莲, 邹琦, 等. 水稻对百草枯(Paraquat)和一些环境胁迫的交叉抗性[J]. 作物学报, 1996, 22(3): 359-361. (Xu C C, Fan J L, Zou Q, et al. Cross resistance between paraquat and environmental stress in rice leaves[J]. Crop Science, 1996, 22(3): 359-361.)
- [13] 卞咏梅, 田中净, 笠井文绘, 等. 几种绿藻对西草净的抗性与活性氧防御物质[J]. 植物资源与环境, 1994(1): 15-19. (Bian Y M, Tian Z J, Lijing W H, et al. Resistance of some green algae to Simetryn and preventing substances against toxicity of active oxygen[J]. Journal of Plant Resources and Environment, 1994(1): 15-19.)
- [14] Pratley J, Urwin N, Stanton R, et al. Resistance to glyphosate in *Lolium rigidum*. I. Bioevaluation[J]. Weed Science Journal of the Weed Science Society of America, 1999, 47(4): 405-411.
- [15] 陶波, 张洪岩, 张庆贺, 等. 非转基因抗除草剂作物研究现状与展望[J]. 植物保护学报, 2010(3): 277-281. (Tao B, Zhang H Y, Zhang Q H, et al. Current knowledge and future challenges of non genetically modified herbicide-resistant crops[J] Acta Phytophylacica Sinica, 2010(3):277-281.)
- [16] Lorraine-Colwill D F, Hawkes T R, Williams P H. Resistance to glyphosate in *lolium rigidum* [J]. Journal of Pest Science, 1999, 55: 486-503.
- [17] 王迪. 抗草甘膦野生大豆资源筛选鉴定及抗性机理研究[D]. 秦皇岛: 河北科技师范学院, 2014. (Wang D. Research on screening indentification and resistant mechanism to glyphosate-resistance in wild soybean resources[D]. Qinhuangdao: Hebei Science and Technology University, 2014.)
- [18] 高越. 抗草甘膦野生大豆种质挖掘及抗性机制研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2013. (Gao Y. Screening and mechanisms of resistance to glyphosate in wild soybeans (*Glycine soja*) [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2013.)
- [19] 陈景超. 大豆田主要杂草对草甘膦的敏感性检测方法研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2012. (Chen J C. The detecting methods of sensitivity for important weeds to glyphosate in soybean fields [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2012.)
- [20] 杨鑫浩. 大豆对草甘膦耐受性检测方法研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2014. (Yang X H. Detecting methods of soybean tolerance to glyphpsate [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2014.)
- [21] Pline W A, Wilcut J W, Duke S O, et al. Tolerance and accumulation of shikimic acid in response to glyphosate applications in glyphosate-resistant and nonglyphosate-resistant cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(3): 506-512.