



转基因大豆 SHZD32-01 对草甘膦的抗性及草甘膦除草效果研究

李娜, 曹越平

(上海交通大学 农业与生物学院, 上海 200000)

摘要: 为了评价自主研制的转 G10-EPSPS 基因的抗除草剂转基因大豆 SHZD32-01 对不同浓度草甘膦的耐受性和草甘膦的除草效果, 以 SHZD32-01 大豆为试验材料, 以受体中豆 32 为对照, 采用随机区组设计, 在 V3 期喷施田间剂量为 1, 2, 4 倍浓度的草甘膦 ($1.23, 2.46, 4.92 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$) 和清水, 统计大豆株高和受害率等指标, 以及草甘膦喷施后各小区再次长出杂草的密度与高度。结果表明: 1~4 倍田间浓度的草甘膦处理下, 转基因大豆 SHZD32-01 的株高和覆盖度之间无显著差异, 对转基因大豆的生长没有明显影响, 而受体材料全部死亡。清水处理下, SHZD32-01 与中豆 32 之间的株高无显著差异, 但株高低于喷施草甘膦的处理。喷施草甘膦 7 d 后, SHZD32-01 与受体中豆 32 的种植小区内杂草全部死亡; 28 d 后田间浓度草甘膦处理下再次长出杂草的密度和高度与人工除草小区无显著差异。田间种植转基因大豆 SHZD32-01 在 V3 期喷施 1 倍草甘膦即可达到很好的除草效果。

关键词: 转基因大豆 SHZD32-01; 不同浓度; 草甘膦; 抗性; 除草效果

Resistance of Transgenic Soybean SHZD32-01 to Glyphosate and Glyphosate Weeding Control in Fields

LI Na, CAO Yue-ping

(College of Agricultural and Biological, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200000, China)

Abstract: In order to assess the resistance of independently developed transgenic soybean SHZD32-01 (G10-epsps) to different concentrations of glyphosate and the weeding control effect, SHZD32-01 and the receptor Zhongdou 32 were treated by 1, 2, 4 fold of the recommended concentration of glyphosate ($1.23, 2.46, 4.92 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$) and water, with four replications in a 4×4 completely randomized block design. The height and damage rate of soybean plants were analyzed, and density and height of the regenerate weeds were surveyed. The result showed that there were no significant differences between the height of SHZD32-01 treated by different glyphosate concentrations, as well as the height of SHZD32-01 and Zhongdou 32 treated by water. The height of SHZD32-01 treated by water was lower than that of treated by glyphosate (1-4 fold of glyphosate). After 7 d, weeds treated by glyphosate treatment could not survive in the field of SHZD32-01 and Zhongdou 32. After 28 d, there were no significant differences between the density and height of regenerated weeds in the field of SHZD32-01 treated by manual weeding and recommended glyphosate concentration. To achieve ideal effect, $1.23 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ concentration of glyphosate was recommended in weeding control in SHZD32-01 field at V3 stage.

Keywords: Transgenic soybean SHZD32-01; Different concentration; Glyphosate; Resistance; Weeding control effect

大豆具有较高的蛋白质和油脂含量, 是人类重要的营养物质来源之一^[1]。在大豆的生长过程中, 杂草不仅威胁着大豆的产量, 还影响着大豆品质^[2-3]。草甘膦除草剂具有高效低毒、土壤残留量少和易分解等优点而被广泛应用^[4], 但由于其非选择性和灭生性, 在杀死杂草的同时也灭杀了农作物。抗草甘膦转基因大豆的种植既能降低除草成本, 减少农药的使用, 也可避免常规品种使用选择性除草剂产生的药害, 有利于大面积机械化生产及免耕种植。据报道, 2016 年, 全球转基因大豆的种植面积已高达 9 140 万 hm^2 , 其中有 6 800 万 hm^2 为耐除草剂转基因大豆。在美国, 抗除草剂大豆的种植面积占比已高达 94%^[5]。

目前, 我国浙江大学沈志成教授从耐辐射球菌中克隆的 G10-epsps 基因已被转入大豆、棉花、水稻和玉米等作物中, 并表现出良好的草甘膦耐受性^[6-9]。本实验室利用农杆菌介导法, 将 G10-epsps 基因转入受体大豆中豆 32 中, 经多代筛选后获得了抗草甘膦转基因大豆 SHZD32-01, 现已完成生产性试验。刘文娟等^[10]在研究不同浓度草甘膦对孟山都转基因大豆 GTS40-3-2 生长的影响时, 将其检测处理设为田间推荐剂量的 1, 2 和 4 倍等浓度。曹洪玉等^[11]对转基因大豆 356043 喷施了 2~4 倍浓度的草甘膦来进行抗性鉴定。2015 年, 转基因大豆 SHZD32-01 在上海交通大学进行环境释放试验时, 张家进等^[12]对其 T₅ 代喷施清水和 1, 2 和 4 倍浓度

收稿日期: 2017-12-11

基金项目: 国家转基因重大专项 (2016ZX08004001-004)。

第一作者简介: 李娜 (1993-), 女, 硕士, 主要从事抗草甘膦大豆的遗传转化与抗性鉴定研究。E-mail: ln254251788@sjtu.edu.cn。

通讯作者: 曹越平 (1967-), 女, 博士, 教授, 主要从事转基因大豆新品种培育研究。E-mail: yuepingcao@sjtu.edu.cn。

的草甘膦,以检测其草甘膦抗性。本试验根据农业部 2031 号公告中除草剂耐受性检测剂量的设定标准和前期研究设置的草甘膦喷施浓度梯度,对 SHZD32-01 的 T₀代喷施 1,2,4 倍浓度的草甘膦,继续检测其草甘膦抗性,同时研究喷施不同浓度草甘膦的除草效果,旨在为该材料的环境安全使用提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试品种及主要试剂 供试材料分别为转 G10-*epsps* 基因抗草甘膦大豆 SHZD32-01 和该转化体的受体材料中豆 32。G10-*epsps* 基因由浙江大学沈志成教授提供。研究使用草甘膦的品牌为孟山都农达。

1.1.2 试验地点与安全管理 该试验于 2017 年在上海宝山的试验基地内进行,试验地东侧为栅栏,以外为河道,其余三侧设有 80 cm 宽的排水沟,西侧排水沟外为 3 m 宽水泥路和温室。南北侧排水沟外为 3 m 宽水泥路和 100 m 以上的非大豆隔离带,隔离带主要是合作社的温室和蔬菜。蔬菜品种包括菊科生菜,茄科茄子、辣椒和禾本科玉米等。该试验地周边为水渠、菜地、隔离的居民自留地、以及隔离的民宅边缘的垃圾及荒草,试验地点周围无大豆相关的野生种及栽培种。试验地大门 24 h 上锁,并有专人进行安全管理,详细记录进出人员。试验期间未发生材料被盗和被毁等事故。

转基因抗草甘膦大豆 SHZD32-01 材料的收获、贮藏、运输和保管都由专人负责。试验结束后,除了必需保管的大豆材料以外,其余材料全部焚毁。

1.1.3 试验地概况 试验地土质为菜园灰潮土,质地为轻壤土,肥力中等偏上,地力均匀。土壤有机质 32.6 g·kg⁻¹、全氮 1.29 g·kg⁻¹、有效磷 123 mg·kg⁻¹、有效钾 438 mg·kg⁻¹,土壤 pH6.648。轮种作物为油菜和冬瓜。

试验地 5~6 月平均气温为 22~24℃,7~8 月平均气温达到 30℃,9~10 月平均气温为 19~24℃。

1.2 试验设计

试验地采用随机区组方法,总面积为 1 050 m² (25 m×42 m),共设 32 个小区,每个小区净面积为 20 m² (4 m×5 m),小区间设置 1 m 宽的隔离带。供试品种为转基因大豆 SHZD32-01 和受体大豆中豆 32,试验设 4 个处理,分别为:喷施清水、喷施 1 倍中剂量的草甘膦(1.23 kg·hm⁻²,为农药登记推荐剂量的中剂量)、2 倍中剂量的草甘膦(2.46 kg·hm⁻²)、4 倍中剂量的草甘膦(4.92 kg·hm⁻²)。4 次重复,

共 32 小区。考察 SH2D32-01 对不同剂量草甘膦的抗性表现。并进一步对比分析 1 倍草甘膦田间浓度(推荐荒地剂量)与人工除草对杂草群落结构的影响。

1.3 方法

1.3.1 大豆相关性状的调查 2017 年 5 月 24 日播种,于大豆 V3 期,上午 9:00 待露水散尽后进行清水和不同倍数草甘膦的喷施,并在药物处理后 6 h、2,3 和 6 d 观察大豆形态,在 14,28 和 42 d 时随机选取 10 株大豆,调查与记录大豆株高、覆盖度、药害症状,并按照公式(1)计算受害率。其中,药害症状等级按照农业部 2031 号公告-1-2013^[7]记录。

除草剂受害率公式:

$$X = \frac{\sum (N \times S)}{T \times M} \times 100\% \quad (1)$$

式中:X—受害率(单位为%);N—某级受害株数;S—级别值;T—总株数;M—最高级别。

1.3.2 田间杂草的调查 在喷施草甘膦 28 d 后,采用对角线 5 点取样的方法,每样点取样方 0.25 m² (0.5 m×0.5 m),对每个小区的杂草种类、数量与株高进行调查与记录。并按照以下公式计算每个处理内杂草群落的田间密度和田间频度:

田间密度(meticulous density, MD) = 某杂草在某小区调查样点内的株数/该小区样点的总面积,株·m⁻²。

1.4 数据分析

采用 Excel 对数据进行整理和计算,采用 SPSS 17.0 对所得结果进行 Duncan's 差异显著性分析。

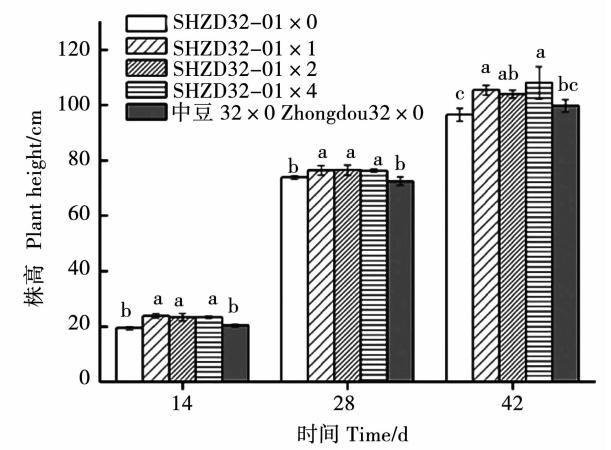
2 结果与分析

2.1 喷施不同浓度草甘膦对大豆生长的影响

2.1.1 对大豆的形态的影响 草甘膦处理 6 h 后,受体中豆 32 的叶片已开始出现轻微发黄和失水现象(田间日照强,温度高),而杂草和 SHZD32-01 均无明显症状。第 2 天,不同浓度草甘膦处理的中豆 32 叶片萎蔫下垂,发黄严重,杂草也开始出现发黄症状,且草甘膦浓度越高,症状越明显。而 SHZD32-01 生长良好,无药害症状。第 3 天,田间药剂处理的抗除草剂的转基因大豆、受体大豆和杂草的颜色差别已经非常明显,转基因大豆油绿,长大;草全部微黄,受体大豆更加萎蔫,变黄加重,停止生长。第 6 天,草甘膦处理的受体中豆 32 与杂草全部枯死,残茬呈现棕黄色。SHZD32-01 的叶片仍然鲜绿,无明显症状。

2.1.2 对大豆株高的影响 由图 1 可知,14~28 d,1,2 和 4 倍草甘膦处理下抗草甘膦转基因大豆 SHZD32-01 之间的株高无显著性差异,清水处理下

SHZD32-01 与中豆 32 的株高之间无显著差异。3 个不同浓度草甘膦处理过的 SHZD32-01 的株高显著高于清水处理的 SHZD32-01 和中豆 32 ($P < 0.05$)。



不同小写字母表示处理间存在显著差异 ($P < 0.05$)。下同。
Different lowercase indicate significant difference ($P < 0.05$) between treatments. The same as below.

图 1 草甘膦处理 14,28 和 42 d 后大豆的株高
Fig. 1 Soybean height of 14,28 and 42 d after glyphosate treatment

表 1 草甘膦处理后大豆的覆盖度与受害率
Table 1 The coverage and injury rate of soybean after glyphosate treatment (%)

试验处理 Treatment	覆盖度 Coverage			受害率 Injury rate		
	14 d	28 d	42 d	14 d	28 d	42 d
SHZD32-01 × 0	67.50 ± 5.59 a	94.63 ± 1.56 a	99.75 ± 0.43 a	0 b	0 b	0 b
SHZD32-01 × 1	67.50 ± 4.27 a	94.38 ± 3.27 a	99.75 ± 0.43 a	0 b	0 b	0 b
SHZD32-01 × 2	67.63 ± 5.63 a	94.25 ± 2.77 a	99.75 ± 0.43 a	0 b	0 b	0 b
SHZD32-01 × 4	67.50 ± 6.58 a	94.50 ± 4.03 a	99.50 ± 0.87 a	0 b	0 b	0 b
中豆 32 × 0 Zhongdou 32 × 0	67.13 ± 6.05 a	94.25 ± 3.83 a	99.50 ± 0.50 a	0 b	0 b	0 b
中豆 32 × 1 Zhongdou 32 × 1	0 b	0 b	0 b	100 a	100 a	100 a
中豆 32 × 2 Zhongdou 32 × 2	0 b	0 b	0 b	100 a	100 a	100 a
中豆 32 × 4 Zhongdou 32 × 4	0 b	0 b	0 b	100 a	100 a	100 a

2.2 喷施草甘膦对小区内杂草的影响
未喷施草甘膦时,小区内主要杂草为苋科反枝苋[*Amaranthus retroflexus* (L.)],禾本科稗草[*Echinochloa crusgalli* (L.)],藜科藜[*Chenopodium album* (L.)],马齿苋科马齿苋[*Portulacaceae* (L.)],苋科凹头苋[*Amaranthus lividus* (L.)],大戟科铁苋菜

第 42 天,1,2 和 4 倍田间浓度的草甘膦处理下 SHZD32-01 之间的株高无显著性差异,清水处理下 SHZD32-01 与中豆 32 之间的株高无显著差异。喷施过不同浓度草甘膦的 SHZD32-01 的株高均显著高于喷施清水的 SHZD32-01 ($P < 0.05$)。与清水处理的中豆 32 的株高相比,除了喷施 2 倍草甘膦的 SHZD32-01 与其差异不显著以外,其它浓度草甘膦处理的 SHZD32-01 的株高显著高于喷施清水的中豆 32 ($P < 0.05$)。以上结果表明,抗除草剂转基因大豆 SHZD32-01 的生长不受 1,2 和 4 倍草甘膦浓度的抑制。
2.1.3 对大豆覆盖度与受害率的影响 由表 1 可知,喷施不同浓度的草甘膦 42 d 后抗除草剂转基因大豆 SHZD32-01 全部成活,受害率均为 0,而受体中豆 32 全部死亡。清水、1,2 和 4 倍草甘膦处理的转基因大豆 SHZD32-01 与清水处理的受体大豆中豆 32 之间的覆盖度无显著性差异。喷不同浓度草甘膦的受体大豆中豆 32 因全部死亡而地面裸露。由覆盖度和受害率可知,喷施 1,2 和 4 倍浓度草甘膦对抗除草剂转基因大豆 SHZD32-01 的生长没有影响。

[*Acalypha australis* (L.)] 和玄参科阿拉伯婆婆纳 [*Veronica persica* Poir. (L.)] 等,占杂草总量的 90% 以上。
喷施草甘膦 3 d 后,绝大部分杂草叶片发黄发蔫,叶边缘开始枯萎,禾本科杂草药效反应不明显;施药 7 ~ 10 d 后,大部分杂草黄化严重,几乎全部死

亡。草甘膦喷施 28 d 后,SHZD32-01 与中豆 32 的种植小区内再次生长的杂草主要有 4 种,分别是苋科反枝苋,禾本科稗草、藜科藜和马齿苋科马齿苋,田间发生频度均为 1。

2.2.1 喷施不同浓度的草甘膦对小区内杂草的田间密度和高度的影响 由表 2 可知,在 SHZD32-01 种植田中,反枝苋的田间密度在 3 种浓度的草甘膦

处理下差异不显著,马齿苋 1 与 2 倍草甘膦处理下的田间密度差异不显著;稗草和藜在 1 倍草甘膦处理下的田间密度显著高于在 2 和 4 倍浓度 ($P < 0.05$),但 2 与 4 倍草甘膦处理之间差异不显著。在受体中豆 32 种植田中,1 与 2 倍草甘膦处理下所有杂草的田间密度均差异不显著,1 倍草甘膦处理下反枝苋与马齿苋的田间密度显著高于 4 倍处理。

表 2 不同浓度的草甘膦对杂草田间密度的影响
Table 2 The effect of different glyphosate concentrations on weeds density in field (株·m⁻²)

处理 Treatment	田间密度/(株·m ⁻²)			
	反枝苋 <i>Amaranthus retroflexus</i> (L.)	稗草 <i>Echinochloa crusgalli</i> (L.)	马齿苋 <i>Portulacaceae</i> (L.)	藜 <i>Chenopodium album</i> (L.)
SHZD32-01 × 1	1.06 ± 0.13 a	1.52 ± 0.09 a	1.71 ± 0.42 a	1.19 ± 0.10 a
SHZD32-01 × 2	0.97 ± 0.50 a	1.09 ± 0.22 b	1.57 ± 0.16 ab	0.82 ± 0.12 b
SHZD32-01 × 4	0.97 ± 0.30 a	1.05 ± 0.07 b	1.44 ± 0.05 b	0.75 ± 0.12 b
中豆 32 × 1 Zhongdou 32 × 1	1.23 ± 0.98 a	1.27 ± 0.17 a	1.57 ± 0.07 a	0.71 ± 0.12 a
中豆 32 × 2 Zhongdou 32 × 2	1.05 ± 0.14 ab	1.21 ± 0.05 a	1.48 ± 0.11 a	0.78 ± 0.07 a
中豆 32 × 4 Zhongdou 32 × 4	0.95 ± 0.26 b	1.35 ± 0.30 a	1.08 ± 0.10 b	0.66 ± 0.12 a

由图 2 可知,在 SHZD32-01 种植田中,除了稗草在 4 倍草甘膦处理下的高度显著低于 1 倍草甘膦处理以外,其它杂草的高度均差异不显著。

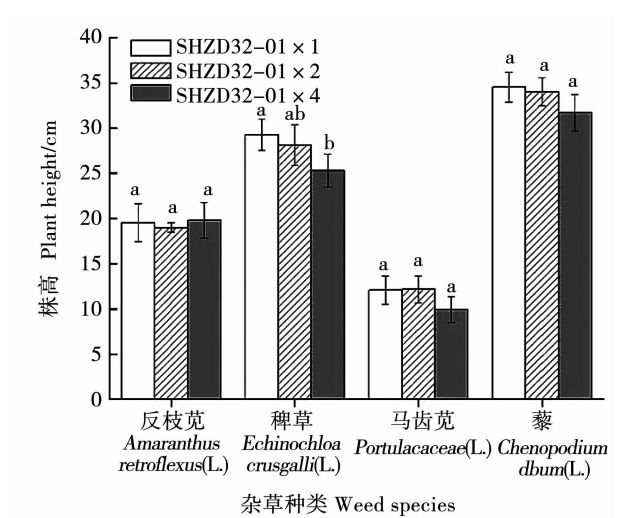


图 2 不同浓度的草甘膦对 SHZD32-01 种植田内杂草高度的影响

Fig. 2 The effect of different glyphosate concentrations on weed height of SHZD32-01 in planting field

由图 3 可知,在受体中豆 32 种植田中,除了稗草在 2 倍草甘膦处理下的高度略高于 1 倍草甘膦处理,藜在 1 倍草甘膦处理下显著高于 4 倍处理以外 ($P < 0.05$),其它杂草的高度均差异不显著。

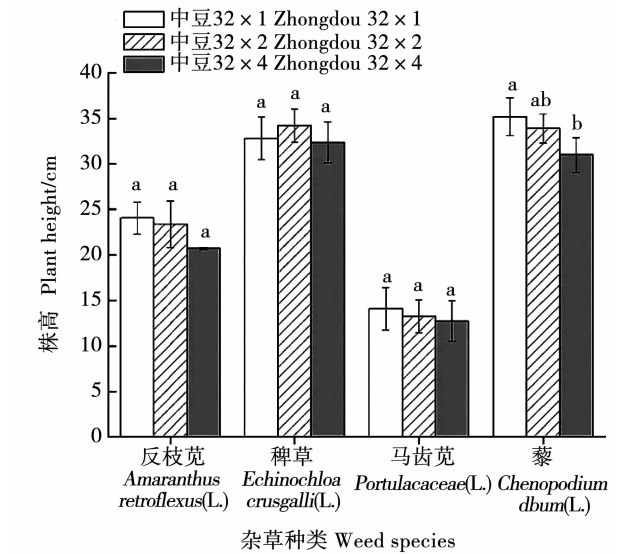


图 3 不同浓度的草甘膦对中豆 32 种植田内杂草高度的影响

Fig. 3 The effect of different glyphosate concentrations on weed height of Zhongdou 32 in planting field

以上结果表明:1,2 和 4 倍田间浓度的草甘膦处理下再次生长出的杂草高度与密度基本无显著差异,因而田间只需喷施 1 倍草甘膦即可达到很好的除草效果。

2.2.2 人工除草和 1 倍草甘膦处理对小区内杂草的田间密度和高度的影响 由表 3 和表 4 可知,人工除

草和1倍草甘膦处理下,转基因大豆 SHZD32-01 的种植小区内杂草的密度与高度均无差异。受体中豆 32 的种植田内,人工除草的小区大豆覆盖率较高,而草甘膦处理的小区内已无大豆生长,土地裸漏,马齿

苋和藜的密度略高于人工除草小区,稗草和藜的高度显著高于人工除草($P < 0.05$),其它杂草高度均无显著差异。

表3 人工除草和1倍草甘膦处理对杂草密度的影响

处理 Treatment	SHZD32-01		中豆 32 Zhongdou 32	
	人工除草	1倍草甘膦	人工除草	1倍草甘膦
	Manual weeding	1 fold glyphosate	Manual weeding	1 fold glyphosate
反枝苋 <i>Amaranthus retroflexus</i> (L.)	1.44 ± 0.09 a	1.00 ± 0.05 a	1.40 ± 1.17 a	1.23 ± 0.10 a
稗草 <i>Echinochloa crusgalli</i> (L.)	1.53 ± 0.15 a	1.52 ± 0.89 a	1.34 ± 0.15 a	1.27 ± 0.17 a
马齿苋 <i>Portulacaceae</i> (L.)	1.78 ± 0.14 a	1.71 ± 0.04 a	1.57 ± 0.08 a	1.90 ± 0.05 a
藜 <i>Chenopodium album</i> (L.)	1.12 ± 0.11 a	1.20 ± 0.10 a	0.71 ± 0.12 a	1.10 ± 0.05 a

表4 人工除草和1倍草甘膦处理对杂草高度的影响

处理 Treatment	SHZD32-01		中豆 32 Zhongdou 32	
	人工除草	1倍草甘膦	人工除草	1倍草甘膦
	Manual weeding	1 fold glyphosate	Manual weeding	1 fold glyphosate
反枝苋 <i>Amaranthus retroflexus</i> (L.)	21.99 ± 3.33 a	19.53 ± 1.12 a	20.53 ± 2.70 a	24.05 ± 2.04 a
稗草 <i>Echinochloa crusgalli</i> (L.)	30.86 ± 3.61 a	28.29 ± 2.60 a	28.34 ± 1.26 b	32.81 ± 2.72 a
马齿苋 <i>Portulacaceae</i> (L.)	14.71 ± 2.24 a	12.08 ± 1.83 a	11.60 ± 2.06 a	14.09 ± 2.40 a
藜 <i>Chenopodium album</i> (L.)	35.55 ± 1.68 a	34.53 ± 1.91 a	30.15 ± 1.77 b	35.18 ± 2.51 a

3 讨论

在已有的抗草甘膦转基因大豆抗性研究中,高秀清等^[13]于结荚期对其自主研发的抗草甘膦转基因大豆 SNT1 (EPSPS 的遗传修饰)进行 0.923 kg·hm⁻²浓度的草甘膦处理,15 d 后部分植株叶片出现黄色斑点,约 1.02% 的植株最终枯萎死亡。杜邦公司的转基因大豆 356043 在喷施 0.923 ~ 4.92 kg·hm⁻²浓度的草甘膦 28 d 后,在 0.923 ~ 1.538 kg·hm⁻²的草甘膦处理下,356043 的株高随着浓度的增加而降低;当喷施 4.92 kg·hm⁻²浓度的草甘膦时,356043 的株高显著低于清水及其它浓度处理($P < 0.05$),对大豆的生长产生了抑制作用,因而 356043 的草甘膦田间安全用量范围为 0.923 ~ 1.538 kg·hm⁻²^[11]。杨鑫浩等^[14]对孟山都抗草甘膦转基因大豆 MON87701RR2Y 进行 0.62 ~ 4.92 kg·hm⁻²的草甘膦处理,结果表明 28 d 后其株高与未施药的对照差异不显著,表现出较强的草甘膦耐受性。刘文娟等^[10]于 V3 期对孟山都 GTS40-3-2 喷施不同浓度的草甘膦,调查结果表明,1.23 kg·hm⁻²浓度处理下孟

山都 GTS40-3-2 的株高显著高于其它处理,2.46 ~ 4.92 kg·hm⁻²处理下其株高与清水处理之间差异不显著,考虑到环境安全与杂草控制效果,建议其田间喷施剂量范围为 1.23 ~ 2.46 kg·hm⁻²。

张家进等^[12]的研究表明,T₅代转基因大豆 SHZD32-01 在喷施 1.23 ~ 4.92 kg·hm⁻²的草甘膦后生长不受抑制,且株高显著高于喷施清水的 SHZD32-01 和受体中豆 32,本文与其结果一致,表明该材料的草甘膦抗性稳定。李儒海等^[15]研究发现,转基因抗草甘膦棉花 CJJ 在喷施 41% 农达的 14 和 28 d 后,其株高高于同时期的无除草剂处理的 CJJ。转基因抗草甘膦玉米“双抗 12-5”在喷施 2 倍标准计量的草甘膦 7 d 后,也出现了草甘膦处理后株高微高于清水处理的现象^[16]。在植物遭遇盐胁迫和干旱胁迫等不利条件下,植物体内用来产生和清除活性氧的 SOD 酶活性会受到诱导^[17-19]。草甘膦的喷施属于非生物胁迫,因而在一定程度上激发了转基因大豆的叶片中 SOD 酶的活性,故推测喷施草甘膦后,植物为了缓解自身组织的氧化性损伤,体内 SOD 酶的表达会有所增加,因而株高等指标出

现胁迫条件下的适应性增长,草甘膦有一定的促进植物生长的潜力^[10]。但气候条件、栽培条件等因素均与大豆株高有关,因此具体原因有待进一步研究。

刘文娟等^[10]研究认为不同的栽培地环境与施药时期对转基因大豆的生长发育、对草甘膦的吸收及药害程度都会产生影响。在 V3 期的转基因大豆具有更高的草甘膦耐受能力。已有研究表明,播种后 18~30 d 内进行大豆田间除草,能最大程度减少产量损失,虽然后期仍有杂草出现,但此时大豆已经封行,杂草对大豆的影响较小^[20]。本试验于 V3 期进行 1,2 和 4 倍的草甘膦处理,7 d 后所有小区内杂草完全死亡,转基因大豆保持叶片油绿,无任何药害症状。42 d 后,SHZD32-01 转基因大豆生长旺盛,受害率为 0。28 d 时小区内再次生长的杂草主要包括反枝苋、稗、马齿苋和藜 4 种,不同浓度草甘膦处理下 SHZD32-01 田内杂草高度与密度均无显著差异;1.23 kg·hm⁻² 浓度草甘膦处理和人工除草处理的 SHZD32-01 小区内杂草高度与密度均无显著差异。V3 期喷施 1.23 kg·hm⁻² 草甘膦时田间杂草已经覆盖地表,转基因大豆展平三出复叶且对地面的覆盖度较小,除草剂可以最大限度地接触杂草,达到很好的除草效果;在杂草再次长出之前,大豆植株已经封垄,28 d 后再次生长的杂草密度与高度与人工除草小区无显著差异,不会影响大豆的生长。

虽然转基因大豆 SH2D32-01 有很好的草甘膦抗性,但是超过 2 倍剂量(2.46 kg·hm⁻²) 过量使用会增加成本和草甘膦向环境中的投放,而且 1 倍剂量(1.23 kg·hm⁻²) 已经是推荐的荒地除草剂量,因此兼顾环境安全与杂草控制效果以及成本控制,建议在转基因大豆的 V3 期喷施草甘膦,使用剂量控制在推荐剂量的 1~1.5 倍(1.23~1.85 kg·hm⁻²),按 200 mL 孟山都农达(草甘膦异丙胺盐 41%) 7.5 元计算,除草剂成本可以控制在 111.94~167.91 元·hm⁻²,整个生育期喷施一次草甘膦即可有效控制杂草的再次生长。

4 结 论

本研究对转基因大豆 SHZD32-01 及受体中豆 32 分别喷施清水、田间施用剂量的 1,2 和 4 倍浓度的草甘膦(1.23~4.92 kg·hm⁻²,孟山都农达),观察转基因大豆与受体大豆对不同浓度草甘膦的反应,并以清水处理为对照。在喷草甘膦后的 7 d 内,转 G10-*epsps* 基因抗草甘膦大豆 SHZD32-01 未出现任何药害症状,受体中豆 32 全部枯萎死亡;42 d 后 SHZD32-01 全部成活,受害率为 0。1~4 倍浓度草

甘膦处理下 SHZD32-01 之间的株高和覆盖度无显著差异,表明田间喷施 1~4 倍推荐使用剂量的草甘膦对抗除草剂转基因大豆 SHZD32-01 没有抑制作用。清水处理下 SHZD32-01 与受体中豆 32 之间的株高无显著差异,G10-*epsps* 基因的转入没有影响大豆的株高。1 倍浓度的草甘膦剂量(1.23 kg·hm⁻²) 能满足环境安全的要求,除草效果与人工除草没有明显差异。

参考文献

[1] 高初蕾, 乔峰, 安怡昕, 等. 商业化转基因大豆育种研发进展与展望[J]. 分子植物育种, 2015, 13(6): 1396-1406. (Gao C L, Qiao F, An Y X, et al. Progress in commercialized transgenic breeding research and development in soybean[J]. Molecular Plant Breeding, 2015, 13(6): 1396-1406.)

[2] 贺海生. 抗草甘膦转基因大豆抗性鉴定、遗传分析及回交转育[D]. 北京: 中国农业科学院, 2013. (He H S. Resistance identification, genetic analysis and backcross breeding of transgenic soybean tolerant to glyphosate[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2013.)

[3] 陈新, 王长永, 朱成松, 等. 转基因抗草甘膦大豆安全性评价及对环境影响的检测[J]. 江苏农业科学, 2003(6): 36-40. (Chen X, Wang C Y, Zhu C S, et al. Safety assessment and environmental effect test of herbicide-tolerant transgenic soybean[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2003(6): 36-40.)

[4] 朱玉, 于中连, 林敏. 草甘膦生物抗性和生物降解及其转基因研究[J]. 分子植物育种, 2003(4): 435-441. (Zhu Y, Yu Z L, Lin M. Bioresistance or biodegradation of glyphosate and construction of transgenic plants[J]. Molecular Plant Breeding, 2003(4): 435-441.)

[5] 国际农业生物技术应用服务组织. 2016 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, 2017, 37(4): 1-8. (International service for the acquisition of agribiotech applications, ISAAA, commercialized development situation of global biotechnology/transgenic crop in 2016[J]. China Biotechnology, 2017, 27(4): 1-8.)

[6] 谭苗苗. 转 *g10evo* 基因抗草甘膦大豆的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2016: 42-43. (Tan M M. The study of *g10evo* glyphosate-resistant transgenic soybean[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2016: 42-43.)

[7] 马燕斌, 李焱娥, 孙璇, 等. 转 *G10evo-EPSPS* 基因棉花对除草剂草甘膦的抗性表现[C]. 北京: 中国棉花学会, 2015. (Ma Y B, Li Y E, Sun X, et al. Increasing resistance of transgenic *G10evo-EPSPS* cotton to herbicide glyphosate[C]. Beijing: China Cotton Association, 2015.)

[8] 张欣, 董玉凤, 王旭静, 等. 抗虫耐除草剂转基因玉米 SW-1 目标性状测试及多重 PCR 检测[J]. 生物技术进展, 2017, 7(4): 296-303. (Zhang X, Dong Y F, Wang X J, et al. Target trait test and multiple PCR detection of insect-resistance and herbicide tolerance transgenic maize SW-1[J]. Current Biotechnology, 2017, 7(4): 296-303.)

[9] Zhao Q C, Liu M H, Zhang X W, et al. Generation of insect-re-

sistant and glyphosate-tolarent rice by introduction of a T-DNA containing two *Bt* insecticidal genes and an EPSPS gene[J]. Journal of Zhejiang University-Science B(Biomedicine & Biotechnology),2015,16(10):824-831.

[10] 刘文娟,刘勇,黄小琴,等. 不同时期喷施草甘膦对抗草甘膦转基因大豆生长和产量构成的影响[J]. 中国农业科学,2012,45(4):675-684. (Liu W J, Liu Y, Huang X Q, et al. Impact of spraying glyphosate on growth and yield component of glyphosate-tolerant soybean at different growth stages[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2012, 45(4): 675-684.)

[11] 曹洪玉,李香菊,刘士阳,等. 抗除草剂大豆 356043 对几种除草剂的耐受性评价[J]. 杂草学报,2011,29(2):32-35. (Cao H Y, Li X J, Liu S Y, et al. Assessment of herbicide tolerances of transgenic herbicide-resistant soybean variety ‘356043’ [J]. Weed Science,2011,29(2):32-35.)

[12] 张家进,武湘豫,曹越平. 抗草甘膦转基因大豆的抗性及其栽培地生存竞争能力研究[J]. 上海交通大学学报(农业科学版),2017(4):26-30. (Zhang J J, Wu X Y, Cao Y P. Study on herbicide-resistance and survival competitiveness in cultivated land of transgenic glyphosate-resistant soybean [J]. Journal of Shanghai Jiao Tong University(Agriculture,Science), 2017(4): 26-30.)

[13] 高秀清,张晓琰,高昌勇,等. 抗草甘膦转基因大豆的田间鉴定[J]. 山西农业大学学报(自然科学版),2015,35(2):143-146. (Gao X Q, Zhang X Y, Gao C Y, et al. Field identification of glyphosate-resistant transgenic soybean[J]. Shanxi Agricultural University(Natural Science Edition), 2015, 35(2):143-146.)

[14] 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 glyphosate[D]. Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2014.)

[15] 李儒海,武怀恒,褚世海,等. 转基因抗草甘膦棉花与常规棉花对草甘膦耐受性的比较研究[J]. 中国棉花,2010,37(12):9-11. (Li R H, Wu H H, Zhu S H, et al. Comparative study of resistance on transgenic glyphosate-resistant cotton and normal cotton[J]. China Cotton,2010,37(12):9-11.)

[16] 王江,武奉慈,刘新颖,等. 转基因抗虫耐除草剂复合性状玉米“双抗 12-5”对亚洲玉米螟的抗性以及对草甘膦的耐受性研究[J]. 植物保护,2016,42(1):45-50. (Wang J, Wu F C, Liu X Y, et al. Evaluation of transgenic maize ‘Shuangkang 12-5’ with complex traits of insect-resistance and glyphosate-resistance for the resistance to *Ostrinia furnacalis* and tolerance to glyphosate [J]. Plant Protection, 2016, 42(1):45-50.)

[17] Hernández J A, Almansa M S. Short-term effects of salt stress on antioxidant systems and leaf water relations of pea leaves [J]. Physiologia Plantarum, 2002, 115(2): 251-257.

[18] Madamanchi N R, Donahue J L, Cramer C L, et al. Differential response of Cu, Zn superoxide dismutases in two pea cultivars during a short-term exposure to sulfur dioxide [J]. Plant Molecular Biology, 1994, 26(1): 95-103.

[19] Mittler R, Zilinskas B A. Regulation of pea cytosolic ascorbate peroxidase and other antioxidant enzymes during the progression of drought stress and following recovery from drought [J]. Plant Journal for Cell & Molecular Biology, 1994, 5(3): 397.

[20] 张洪进,张夕林,严佑建. 大豆与杂草竞争临界期研究初报[J]. 大豆科学,1992,11(3):273-276. (Zhang H J, Zhang X L, Yan Y J. Primary study on the crital compitition index between soybean and weed [J]. Soybean Science, 1992, 11(3): 273-276.)