分子植物育种(网络版), 2012 年, 第 10 卷, 第 1206−1213 页
Fenzi Zhiwu Yuzhong (Online), 2012, Vol.10, 1206−1213
http://mpb.5th.sophiapublisher.com

专题介绍

Review

转基因抗除草剂棉花的现状及前景

郭书巧, 束红梅, 巩元勇, 倪万潮
江苏省农业科学院经济作物研究所, 农业部长江下游棉花和油菜重点实验室, 南京, 210014
通讯作者: niwanchao2002@yahoo.com.cn 作者

分子植物育种, 2012 年, 第 10 卷, 第 29 篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0029
收稿日期：2012 年 04 月 25 日
接受日期：2012 年 05 月 15 日
发表日期：2012 年 06 月 13 日

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放取阅论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

引用格式(中文):
郭书巧等, 2012, 转基因抗除草剂棉花的现状及前景, 分子植物育种(online) Vol.10 No.29 pp.1206-1213 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0029)
引用格式(英文):
Guo et al, 2012, The Status and Prospect of Transgenic Herbicide-Resistant Cotton, Fenzi Zhiwu Yuzhong (online) (Molecular Plant Breeding) Vol.10 No.29 pp. 1206-1213 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0029)

摘 要 培育抗除草剂作物一直以来是育种学家追逐的热点。近年来，已成功开发出了一大批抗、耐除草剂的基因，部分基因已赋予作物抗除草剂特性。本文阐述了近年来克隆的抗除草剂基因及其在棉花分子育种中的应用。作者指出转基因抗除草剂棉花的使用引起除草剂选择压的增加从而导致提前出现抗、耐性杂草，其现实危害性应该得到重视，预测了转基因抗除草剂棉花的发展前景。

关键词 棉花; 除草剂; 转基因; 抗性杂草

The Status and Prospect of Transgenic Herbicide-Resistant Cotton

Guo Shuqiao, Shu Hongmei, Gong Yuanyong, Ni Wanchao
Institute of Industrial Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Cotton and Rapeseed, Ministry of Agriculture, Nanjing, 210014, China
Corresponding author, niwanchao2002@yahoo.com.cn; Authors

Abstract Developing herbicide-resistant crops has been a chasing hotspot of the breeders. In recent years, a large number of herbicide resistant or tolerant genes have successfully developed, and some of the genes have been assigned to herbicide resistant traits in crops. This paper expatiated the herbicide-resistant genes cloned in recent years and their application in cotton molecular breeding program. The authors pointed out that the use of genetically modified herbicide-resistant cotton caused the increase of herbicide selection pressure leading to the early appearance of anti-herbicide weeds, the reality of the dangers should be taken seriously. The authors predict the prospects for the development of genetically modified herbicide-resistant cotton.

Keywords Cotton; Herbicides; Transgene; Anti-herbicide weeds

无论是选择性除草剂还是非选择性除草剂，除草剂作为现代工业服务于农业的典型事件已经有大约 70 年的历史了，促进了规模农业的发展，解放了农业劳动力转移的部分束缚，提高了农业劳动生产率。但是，除草剂安全应用一直是不可回避的问题，主要涉及除草剂使用不当的危害或者由此带来的杂草抗性的出现等潜在问题。开发抗除草剂作物是近 10 余年来植物生物技术最活跃的领域，此项技术带来了显著的经济与环境效益，促使更有效的利用土地与水分，降低燃料耗费而显著减少温室气体排放，同时由于减少耕作而降低土壤碳的螯合作用(James, 2011)。非选择性除草剂由于其除草范围广，使用方便，因而成为开发抗除草剂作物的主要对象，最有成效的是抗草甘膦作物的创制与推广，另外抗其它类型除草剂的作物也逐步发展，作为抗草甘膦作物的补充，在某些方面已显示出其优越性。

棉花(*Gossypium spp*)是人民生活的必需品，也是重要的工业原料及军用物资；同时也是第一批进入商业化生产的转基因作物。在我国，常年种植面积 5×10^6 hm^2 以上，占经济作物总面积的 26%，是国民经济的重要支柱产业。然而，我国棉田生态型复杂，杂草危害较重. 常年造成损失在 14%~16%，严重制约了棉花的优质、高效生产(马小艳等, 2010)。

转基因抗除草剂棉花的培育对于稳定棉花生产有着举足轻重的地位，本文对近年来已克隆的抗除草剂基因及转基因抗除草剂棉花的培育和应用情况进行了概述和展望。

1 已克隆的抗除草剂基因

根据除草剂的作用机理可以把除草剂分为几类：一类是氨基酸代谢抑制型除草剂，直接影响植物体内氨基酸生物合成过程中的关键酶或蛋白；另一类是光合作用抑制型除草剂，主要阻碍植物光合作用过程中电子链的传递，从而影响植物的正常生长发育，导致植株死亡(郭书巧等, 2012, 私人通讯; Tan et al., 2006)；还有激素类除草剂等等。

针对氨基酸抑制型除草剂，植物对除草剂的抗性一般有以下几种机制：(1)修饰除草剂的靶标位点使之不能再与除草剂结合；(2)产生更多的使除草剂失活或者降解除草剂的酶；(3)改变自身机制来阻滞或分隔除草剂，使之无法接触靶标；(4)编码转运体蛋白，使毒素从植物体内输出。

其中使代谢失活或者降解除草剂是自然界中植物对选择性除草剂产生抗性的主要原因，也是培育抗除草剂作物的主要策略。自 1946 年，生产上开始使用 2,4−D 以来，已经有一大批抗除草剂基因被成功开发(见表 1)，为抗除草剂棉花的培育奠定了基础。这些基因主要抗草甘膦、草铵膦、绿磺隆和咪唑啉酮类等多种除草剂。其中抗草甘膦的基因包括以下 4 类(Cerdeira et al., 2007)：使其目标蛋白 EPSPS (5−烯醇丙酮酰莽草酸−3−磷酸合成酶)过量表达的 *cp4* 和 *aroA* 基因(Stalker et al., 1985; Hoiseth and Stocker., 1985; Cerdeira et al., 2007)；使 EPSPS 位点发生突变的玉米 *epsps* 基因(Padgette et al., 1991; Cerdeira et al., 2007)；使草甘膦降解成无毒物质的 *gox* 基因(Duke, 2010; Staub et al., 2012; Nandula et al., 2007)；以及能使毒素从植物体内输出的编码转运体蛋白的 *yhhS* 基因(Staub et al., 2012)(表 1)。抗草铵膦的 *Bar* (PAT)编码 PPT 乙酰转移酶，它能与草铵膦的有效成分左旋膦丝菌素(L-PPT)结合，使目标蛋白不受毒害(郭书巧等, 2012 , 私人通讯; Thompson et al., 1987; Wohlleben et al., 1988)；抗磺酰脲类和咪唑啉酮类都是 ALS (乙酰乳酸合成酶)抑制剂，目前克隆的几个抗性基因都是编码 ALS 或者是 ALS 的异构酶或异构蛋白，使产物过量表达(Lang et al., 2011; John and Stewart, 2010; Sala et al., 2008)。

表 1 已克隆的抗除草剂基因
Table 1 The cloned herbicide-resistant genes

基因 Gene	编码产物 Coding product	来源 Gene origin	抗性机理 Resistance mechanism	靶标除草剂 Target herbicides
cp4	5−烯醇丙酮酰莽草酸−3−磷酸合成酶 5−enolate acetone usionsacid−3−extra-cting phosphate synthase (EPSPS)	根癌农杆菌 *Agrobacterium sp.*	过量表达靶标酶 EPSPS Overexpression of target enzyme EPSPS	草甘膦 Glyphosate
aroA	EPSPS	鼠伤寒沙门氏菌 *Salmonella typhimu-Rium*	过量表达靶标酶或者蛋白 Overexpression of target enzyme or protein	草甘膦 Glyphosate
Epsps	EPSPS 异构酶 EPSPS isomerase	玉米 *Zea mays*	目标基因位点发生突变 The target gene locus mutation	草甘膦 Glyphosate
Gox	草甘膦氧化-还原酶 Glyphosate oxidation−reductase	人苍白杆菌 *Ochrobactrumantropi*	将草甘膦降解为氨甲基膦酸(AMPA)和乙醛酸 Glyphosate was degraded into aminomethyl phosphonic acid (AMPA) and glyoxylate	草甘膦 Glyphosate
yhhS	MFS 家族转运体信号肽 Signal peptide transporter of the MFS family	大肠杆菌 *Escherich coli*	将毒素输出 Toxins exporting	草甘膦 Glyphosate
Bar	草铵膦乙酰转移酶 Phosphinothricin N-acetyltransferase (PAT)	吸水链霉菌 *Streptomyces hygroscopicus*	编码产物将草铵膦乙酰化而失活。 Inactivates phosphinothricin and glufo-sinate by acylating it	草铵膦 Glufosinate
Bar	草铵膦乙酰转移酶 Phosphinothricin N-acetyltransferase (PAT)	绿色产色链霉菌 *Streptomyces viridochromogenes*	编码产物将草铵膦乙酰化而失活。 Inactivates phosphinothricin and glufo-sinate by acylating it	草铵膦 Glufosinate

续表 1
Continuing table 1

基因 Gene	编码产物 Coding product	来源 Gene origin	抗性机理 Resistance mechanism	靶标除草剂 Target herbicides
surB-Hra	ALS 异构酶 ALS isomerase	烟草 *Nicotiana tabacum*	过量表达靶标酶 ALS 并与除草剂结合 Overexpression of target ALS and product combined with imidazolinone	磺酰脲类 Sulfonylureas
surA-C3	ALS 异构酶 ALS isomerase	烟草 *Nicotiana tabacum*	过量表达靶标酶 ALS 并与除草剂结合 Overexpression of target ALS and Product combined with imidazolinone	磺酰脲类 Sulfonylureas
Csr-1-1	ALS 异构酶 ALS isomerase	拟南芥 *Arabidopsis thaliana*	过量表达靶标酶 ALS 并与除草剂结合 Overexpression of target ALS and product combined with imidazolinone	磺酰脲类 Sulfonylureas
Ahasl1	乙酰乳酸合成酶大亚基 The large subunit of AHAS	太阳花 *Helianthus annuus* L.	编码产物 AHAS 与咪唑啉酮类除草剂竞争性结合 The AHAS coding product combined with imidazolinone	咪唑啉酮类 Imidazolinones
PsbA	光系统 II 的 32 kD D1 蛋白 The 32 kD D1 polypeptide of photosystem II	蓝藻细菌 *Cyanobacteria*	32 kD D1 蛋白与阿特拉津结合 The recombinant D1 protein combined with atrazine	阿特拉津 Atrazine
Bxn	腈水解酶 Nitrilase	臭鼻克雷伯杆菌 *Klebsiella ozaenae*	能降解除草剂溴苯腈为 3,5−二溴−4−羟基苯甲酸 Degradate bromoxynil into 3,5 – dibromo −4 − hydroxybenzoic acid	溴苯腈 Bromoxynil
tdfA	2,4−D 单加氧化酶 Monooxygenase	真养产碱杆菌 *Alcaligenes eutrophus*	将 2,4−D 转变为 2,4−二氯苯酚 Degrade 2,4−D into 2,4−dichlorophenol	2,4−D
PnPQR	MFS 家族转运体 Transporter of the MFS family	硝化还原假单胞菌 *Nitration reduction pseudomonas*	输出泵 Toxins exporting	百草枯 Paraquat
OaPQR	MFS 家族转运体 Transporter of the MFS family	人苍白杆菌 *Ochrobactrum antropi*	输出泵 Toxins exporting	百草枯 Paraquat

同时，针对光合作用抑制型除草剂，植物对其抗性也是从其靶标入手，比如 PSⅡ(光合系统Ⅱ)抑制剂溴苯腈和阿特拉津的作用位点都是叶绿体中的 32 kD 蛋白，是质体醌的结合部位(郭书巧等, 2012, 私人通讯; Sajjaphan et al., 2002; John and Stewart, 2010)，编码 32−kDa D1 蛋白的 *PsbA* 基因突变或者过量表达都能使这类除草剂产生抗性(Sajjaphan et al., 2002; John and Stewart, 2010)。另一类抗性基因就是能对除草剂降解的基因，如降解溴苯腈的 *bxn* 基因(Stalker et al., 1988)。对于 PSⅠ(光合系统Ⅰ)的抑制剂百草枯来讲，由于其抗性机制不是直接作用于某个具体的酶或者蛋白，而是与 PSⅠ产生的自由电子发生反应，从而竞争性的抑制 NADP 的还原(郭书巧等, 2012, 私人通讯)，故而很难找到抗性基因，目前发现的主要是与毒素输出相关的基因，如 *PnPQR* 和 *OaPQR*，两个基因都是 MFS 家族的转运体蛋白(郭书巧等, 2009; 倪万潮和郭书巧, 2009)。

激素类除草剂，目前在生产上应用较多的是 2,4−D。植物对 2,4−D 的抗性是主要是通过对除草剂的降解，Lyon 等(1989)从真养产碱杆菌 *Alcaligenes eutrophus* 中克隆了编码 2,4−D 单氧化酶的 *tdfA* 基因，2,4−D 单氧化酶能将 2,4−D 转化降解为无毒的 2,4−二氧苯酚。

2 抗除草剂转基因棉花的创制

第一例转基因作物于 1994 年商业化之后，转基因植物的研究在各地广泛开展起来并逐步进入了商品化的轨道(表 2)；抗除草剂性状始终是转基因作物的重要性状，1995 年抗除草剂溴苯腈转基因棉花与抗草铵膦转基因油菜也进入商业化，当时转基因作物所占市场份额很少(Duke and Cerdeira, 2010)。1996 年抗草甘膦大豆推出，在随后的几年

里，抗草甘膦和抗草铵膦的作物陆续投入生产。到2010 年为止，抗除草剂性状被应用到大豆、玉米、油菜、棉花、甜菜以及苜蓿中，占全球 1.48×10^8 hm^2 转基因作物的 61%；其中转基因棉花(2.1×10^7 hm^2)占全球转基因作物种植面积的 14%。而抗草甘膦作物是抗除草剂作物的主流，占所有转基因抗除草剂作物面积的 80%。目前已经商品化的转基因抗除草剂棉花主要有：抗草甘膦转基因棉花、抗草铵膦转基因棉花、抗溴苯腈转基因棉花、抗磺酰脲类转基因棉花(Duke and Cerdeira, 2010; James, 2011)(表 2)。转基因植物正在以不可阻挡之势渗入到人类的生产生活之中。

表 2 抗除草剂转基因棉花的商业化概况
Table 2 Summary of commercialized transgenic herbicide-resistant cotton

抗性特征 Resistant trait	基因特性 Gene charecteristics	基因来源 Gene origin	代表品种/系 Representative cultivar or line	研制公司 Breeding company	商业化年份 Released year
溴苯腈 Bromoxynil	*Bxn* nitrilase	臭鼻克雷伯氏菌 *Klebsiella ozaennae*	BXN	Rhonc-Poulenc	1995
草甘膦 Glyphosate	*cp4-epsps*	农杆菌 *Agrobacterium tumfaciens*	MON1445	Monsanto	1996
	2cp4-epsps	农杆菌 *Agrobacterium tumfaciens*	MON88913	Monsanto	2006
	2mepsps	玉米 *Zea mays*	GBH614	Bayer	2009
草铵膦 Glufosinate	*PAT*	吸水链霉菌 *Streptomyces hygroscopicus*	LLCotton25	Bayer	1996
	bar	绿色产色链霉菌 *Streptomyces virdochromogenes*	LLCotton25		
磺酰脲类 Sulfonylureas	*Als*	拟南芥 *Arabidopsis thaliana*		Dupont	1997
	als	烟草 *Nicotiana tabacum*			

2.1 抗草甘膦转基因棉花

第一个商用的抗草甘膦棉花是由孟山都公司培育的代号为 MON1445 的棉花品种。转化所用的质粒，含有两个抗草甘膦基因，包括利用密码子的偏爱性改良过的 *cp4-epsps* 和来源于人苍白杆菌的 *gox* 基因；利用 CoMVb 为启动子，同时添加了来源于农杆菌的 CTP2 为转运肽，以 Coker312 为转化受体，利用农杆菌(AGBIOS 2008)介导法进行转化。但是转化植株在花粉和绒毡层中没有得到充分表达，并且 *gox* 基因没有整合到基因组中，因此 MON1445 只含有 *cp4-epsps* 的基因序列(Green, 2009)。

MON88913 是孟山都公司培育的另一个抗草甘膦棉花，该材料在四叶期后都具有草甘膦抗性，其转化质粒 PV-GHGT35 中含有两个 *cp4-epsps* 的表达框。并对启动子进行了改造。由于其抗性较强，很快就获得了生产者的认可，在开始销售的第 1 年(2006 年)种植面积就达到 0.9×10^5 hm^2 (Dill et al., 2008)。

GBH614 是由拜耳公司培育的另一个抗草甘膦棉花。转化所用质粒中含有两个突变的玉米 *epsps* 基因(*2mepsps*)，该基因的突变，导致两个氨基酸的改变，以组成性启动子 Ph4a748At 为启动子，以 TPotpC 为转运信号肽，利用农杆菌介导法进行转化。该材料除草甘膦抗性外，其它农业性状与受体基本没有差异(http://cera-gmc.org/index.php?action=gm_crop_database&mode=ShowProd&data=GHB614; James, 2011; Green, 2009)。

2.2 抗草铵膦转基因棉花

抗草铵膦作物几乎与抗草甘膦同时培育成功，但是由于草铵膦的生产成本较高等诸多原因，使得它的商业化受到了极大的限制(Green and Owen, 2011)。编码膦丝菌素乙酰转移酶(PAT)的 *bar* 基因(Thompson et al., 1987; Wohlleben et al., 1988)，常用作多种作物其它目的基因转化的标记基因，是目前用得较多的一种抗除草剂标记基因(D'Halluin et al., 1992; Ahuja and Punekar, 2008; John and Stewart, 2010)。

Bar 基因也常用于抗除草剂基因工程的研究，Keller 等(1997)通过基因枪轰击法，将 *bar* 基因转化到珂字棉 312、岱字棉 50、海岛棉 Pima 和 El Dorado 四个品种中，获得了抗 Basta 的转基因棉花植株。遗传分析表明，该基因为单基因显性遗传，符合孟德尔遗传规律。田间鉴定结果表明，该植株对 Basta 的抗性可达 15 000 ppm，并且在不同时期施用 PPT 对抗性棉花的生长、产量和品质没有影响(Keller et al., 1997)。

2.3 抗溴苯腈转基因棉花

抗溴苯腈是转基因技术赋予棉花的第一种除草剂特征。早在 1987 年 Stalker 和 McBride 在土壤细菌臭鼻杆菌(*Klebsiella ozaenaen*)中分离了一种酶，将其在大肠杆菌中表达后，能将溴苯腈水解成没有除草功效的 3,5−二溴−4−羟基苯甲酸。Stalker 等(1988)将编码该溴苯腈降解酶的基因(*Bxn*)从臭鼻杆菌中成功克隆，并在光诱导启动子的驱动下，将其转入烟草发现该基因过量表达能赋予该基因高水平的溴苯腈抗性。

美国 Calgene 公司将 *Bxn* 基因和来源于苏云金孢杆菌的 *crylAc* 基因，同时导入陆地棉中，得到具有抗除草剂和抗虫双重抗性的陆地棉品系 3 187/31 808。1995 年，法国罗纳普朗克公司(Rhonc-Poulenc)培育的抗溴苯腈转基因棉花也顺利上市商业化(John and Stewart, 2010)。

2.4 抗磺酰脲类除草剂转基因棉花

20 世纪 80 年代，科学家已经从拟南芥、烟草等植株中成功分离出编码乙酰乳酸合成酶(AHAS 或 ALS)的 *als* 基因(表 1)，乙酰乳酸合成酶正是磺酰脲类除草剂的作用靶标。

四倍体棉花中含有多个 ALS 家族成员，其中一个 ALS 基因的突变体对磺胺脲类表现出了明显的抗性(Grula et al., 1995)。美国 phytogen 公司将从棉花中克隆的编码 ALS 的基因，进行了编码区改造，使之产生异构 ALS，在原有启动子和先导序列的驱动下，进行了棉花再转化，转化体表现了对绿磺隆较高的抗性。加拿大 Dupont 公司将 *als* 基因导入 Cocker312，获得对绿磺隆具有抗性的棉花品系，于 1997 年顺利上市。

2.5 抗其它类型除草剂转基因棉花

阿特拉津(atrazine)是一种光合系统 II 抑制性除草剂，该类除草剂的作用机理是竞争性的结合光合作用中质体醌结合部位的 32 kD 蛋白，从而使质体醌传递电子受阻，能量传递中断，编码 32 kD 蛋白的 *Psba* 基因位于叶绿体基因组上。因此想获得高抗该类除草剂的作物，最有效的方法就是使导入的基因必须在叶绿体中表达，这样容易达到高效表达水平，抗除草剂效果好，但是也存在易在遗传过程中失活、丧失除草活性等缺点。

2,4−D 是一种激素类除草剂，培育抗 2,4−D 转基因棉花的的关键是提高作物对 2,4−D 的降解能力。编码 2,4−D 二氯苯氧乙酸单加氧酶的 *tfdA* 基因，能将 2,4−D 转化降解为毒性比 2,4−D 下降 100 倍的 2,4−二氧苯酚。科学家们已经从土壤细菌 *A. eutrophus* 中克隆了 *tfdA*，并将其导入珂字棉中，获得的转基因植株可耐大田使用浓度的 2 倍以上的有效剂量(Lyon et al., 1989; Barley et al., 1992)。Lyon 等(1993)也将该基因导入棉花中，获得了抗 2,4−D 的能力增加了 50~100 倍的转基因植株。

3 杂草对除草剂的抗性问题

除草剂的使用，为人类是生产生活带来了极大的利益，同时也在一定程度上破坏了生态平衡，抗除草剂作物的培育使得除草剂的使用量，使用频度迅速增长，从而为杂草抗性的产生埋下了伏笔。杂草对除草剂抗性的产生需有两个条件，一是杂草种群内存在遗传差异，二是存在除草剂的选择压。杂草种群内遗传差异可以是本身就存在的，也可以是由于突变产生的。选择压的强度决定于除草剂的使用量、使用频度和有效期。连续使用单一除草剂，形成的选择压大，易使杂草产生抗药性。

到 2012 年 3 月 1 日为止，已经在 570 000 个地区(fields)，发现有 200 种(Species)杂草的 372 抗性生态型(Resistant Biotypes)对常用的除草剂具有抗性(http://www.weedscience.org)。对棉田几种常用除草剂的抗性分析，可以看出，早在 1957 年就发现杂草对 2,4−D−具有抗药性，一直到上世纪 80 年代，共在 6 个地方发现有 5 种杂草具有抗药性，从 1980 年至 2011 年底，对 2,4−D 具有抗性的杂草及所分布地区持续增长，共在 46 个地区的 29 种杂草上发现；在 1980 年首次发现对百草枯具有抗性的杂草，其增长趋势与 2,4−D 类似，至 2011 年底，共在 44 个地区的 25 种杂草上发现(图 1; 图 2)；草甘膦作为一种优秀的非选择性除草剂，截止到 1997 年，只在一个地区的一种杂草上发现有抗药性；1997 年后，由于转基因抗草甘膦作物的快速推广，伴随着

草甘膦逐渐成为世界性除草剂，在这之后的十几年时间里，对草甘膦具有抗性的杂草快速增长(图 1)，到 2011 年的 14 年时间里，已有 20 种杂草对其产生抗性，其分布已经达 139 个地区，可以说已经遍布全球，这不得不引起我们的注意。

还有另外两种棉田除草剂草铵膦和溴苯腈，其中草铵膦作为一种优秀的非选择性除草剂，目前只有 2 种抗性杂草在 2 个地区被发现；而溴苯腈抗性的杂草也只有 4 种在 4 种作物中被发现。

由于转基因抗除草剂作物田块中有增加除草剂选择压力的趋势，杂草产生除草剂耐性的机会相对增多，衍生出恶性杂草的机会也相对增多。因而，关于转基因抗除草剂作物的安全性问题一直处于争论的漩涡之中。我国转基因作物管理实践中，尚未批准抗除草剂作物的商业化，就是一种科学谨慎的态度，尚需要进一步的科学评价。

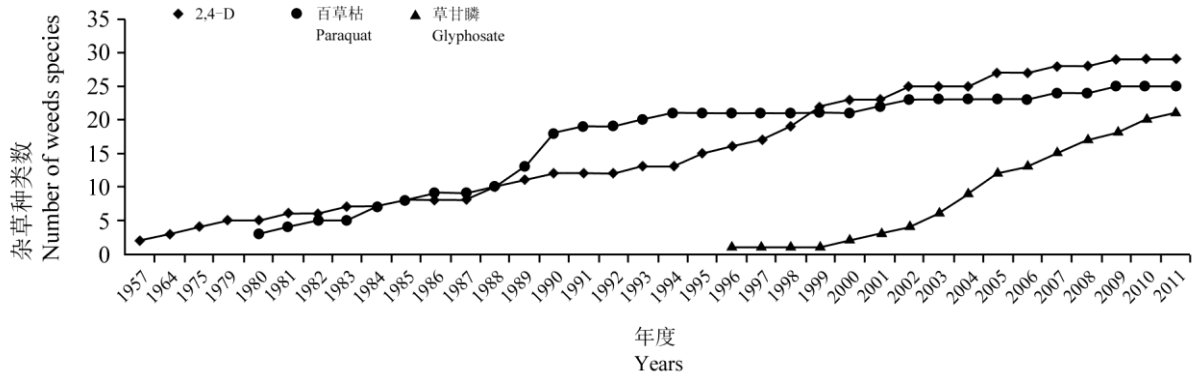

图 1 具有 2,4−D、百草枯及草甘膦抗性的杂草种类数
Figure 1 Number of weed species with resistance to 2,4−D, paraquat and glyphosate

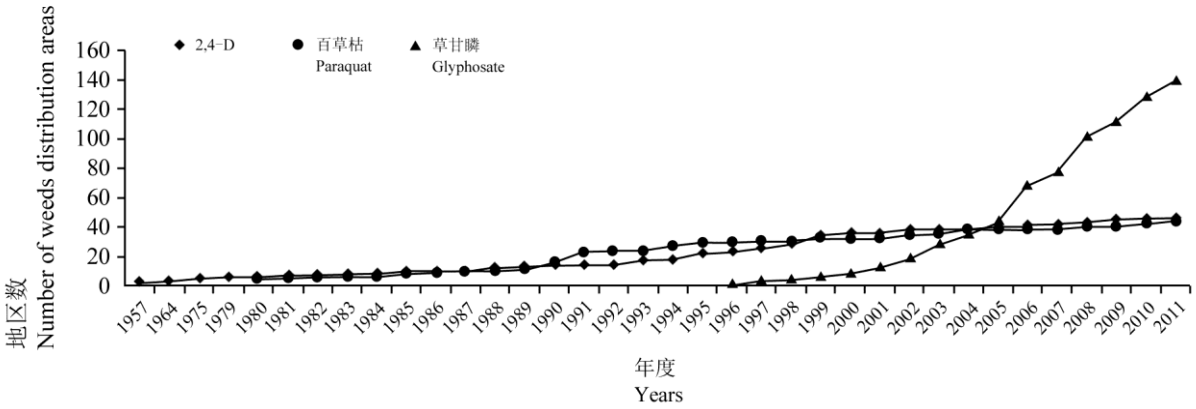

图 2 具有 2,4−D、百草枯及草甘膦抗性的杂草分布区域数
Figure 2 Number of weed distribution areas with resistance to 2,4−D, paraquat and glyphosate

4 转基因抗除草剂棉花的应用及未来趋势预测

目前转基因抗除草剂棉花已经成为国际转基因作物商业化的主要类型(James, 2011)。抗除草剂基因在棉花中的应用相当广泛，主要表现在以下几个方面：(1)获得或增强具有多种除草剂抗性的转基因棉花。由于草甘膦杀草谱广、价格低廉等诸多优势，使得其在过去及未来的很长一段时间内，必将在除草剂市场上占主导地位，因此抗草甘膦棉花的培育与推广，依然是一个比较有潜力的发展方向。然而近十年来草甘膦抗性杂草出现之快，分布之广，给我们敲响了警钟。单一除草剂的高强度使用，势必造成杂草对除草剂抗性的发生。为了保护这些优异的除草剂，更好的保护生态平衡，最好是交替使用几种不同作用方式的除草剂。相应地在转基因育种方面，我们也应该培育抗百草枯、草铵膦等抗草甘膦以外的抗其它除草剂的转基因棉花。培育对

多种除草剂具有抗性的作物，将是今后发展的主要方向。(2)具有包括抗除草剂和抗虫等特性在内多种复合性状转基因棉花的培育。目前应用最多的主要是抗除草基因与抗虫基因的组合，如草甘膦抗性的 *epsps* 基因或者溴苯腈抗性的 *Bxn* 与苏云金芽孢杆菌的 *crylAc* 基因同时导入棉花，获得同时抗虫和抗除草剂的材料。具有多种抗性的转基因棉花培育也是转基因育种的一个方向。2010 年有 11 个国家种植了具有复合性状的转基因作物；2011 年，美国种植的棉花中有 95%以上是抗草甘膦和抗虫棉。多种抗除草剂基因的复合可以提高除草效率，有效的保护除草剂的使用寿命，延缓杂草抗性的产生；抗除草剂基因、抗虫基因及抗逆基因的组合则可以减少生产成本，提高工效。(3)在棉花杂种优势中的应用。棉花杂种优势的利用方式主要是品种间杂交。将抗除草剂基因导入棉花父本中，通过杂交获得抗除草剂的 F1 杂交种，这种杂交种在苗期通过喷施除草剂即可辨别假杂种。这种方式既可提高种子纯度，也可减少工作量。抗除草剂基因在三系育种中的应用在其它作物中已有了相当的研究。

作者贡献

郭书巧和倪万潮是论文的构思者及负责人；郭书巧，束红梅完成资料的搜集、整理、初稿的写作；巩元勇参与论文的校对和定稿工作。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由国家自然科学基金(项目编号: 31101452)、江苏省自然科学基金(项目编号: BK2010465)和转基因重大专项(项目编号: 2011ZX08005-001)共同资助。

参考文献

Ahuja M., and Punekar N.S., 2008, Phosphinothricin resistance in *Aspergillus niger* and its utility as a selectable transform-ation marker, Fungal Genet. Biol., 45(7): 1103-1110 http://dx.doi.org/10.1016/j.fgb.2008.04.002 PMid:18479949

Barley C, Trolinder N, Ray C, Morgan M., Quisenberry J.E., and Ow D.W., 1992, Engineering 2,4−D resistance into cotton, Theor. Appl. Genet., 83(5): 645-649

Cerdeira A.L., Gazziero D.L.P., Duke S.O., Matallo M.B., and Spadotto C.A., 2007, Review of potential environmental impacts of transgenic glyphosate-resistant soybean in Brazil, J. Environ. Sci. Health B., 42(5): 539-549 http://dx.doi.org/10.1080/03601230701391542 PMid:17562462

D'Halluin K., De Block M., Denecke J., Janssens J., Leemans J., Reynaerts A., and Botterman J., 1992, The *bar* gene as selectable and screenable marker in plant engineering, Methods Enzymol., 216: 415-426 http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879(92)16038-L

Dill G.M., Cajacob C.A., and Padgette S.R., 2008, Glyphosate-resistant crops: adoption, use and future considerations, Pest Manag. Sci., 64(4): 326-331 http://dx.doi.org/10.1002/ps.1501 PMid:18078304

Duke S.O., 2010, Glyphosate degradation in glyphosate-resistant and -susceptible crops and weeds, J. Agric. Food Chem., 59: 5835-5841 http://dx.doi.org/10.1021/jf102704x PMid:20919737

Duke S.Q., and Cerdeira A.L., 2010, Chapter 3: transgenic crops for herbicide resistance, In: Kole C., Michler C., Abbott A.G., Hall T.C.(eds.), Transgenic Crop Plants: Volume 1: Principles and Development, Verlag Berlin Heidelberg, New York, USA, pp.133-166

Green J.M., 2009, Evolution of glyphosate-resistant crop technology, Weed Science, 57: 108-117 http://dx.doi.org/-10.1614/WS-08-030.1

Green J.M., and Owen M.D.K., 2011, Herbicide-resistant crops: utilities and limitations for herbicide-resistant weed management, J. Agric. Food Chem., 59(11): 5819-5829 http://dx.doi.org/10.1021/jf101286h PMid:20586458 PMC-id:3105486

Grula J.W., Hudspeth R.L., Hobbs S.L., and Anderson D.M., 1995, Organization, inheritance and expression of acetohydroxyacid synthase genes in the cotton allotetraploid Gossypium hirsutum, Plant Mol. Biol., 28(5): 837-846 http://dx.doi.org/10.1007/BF00042069 PMid:7640356

Guo S.Q., Zheng Q., and Ni W.C., 2009, PQR gene conferring paraquat resistance to the heterologous host *Escherichia coli*, Shengwu Jishu Tongbao (Biotechnology Bulletin), 7: 98-103 (郭书巧, 郑卿, 倪万潮, 2009, PQR转运体基因赋予大肠杆菌BL21百草枯抗性, 生物技术通报, 7: 98-103)

Hoiseth S.K., and Stocker B.A., 1985, Genes *aroA* and *serC* of *Salmonella typhimurium* constitute an operon, J. Bacteriol., 163(1):355-361 PMid:2989248 PMCid:219121

James C., 2011, Brief 43: Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2011, ISAAA Brief No.43, ISAAA: Ithaca, NY, pp.1-28

John M.E., and Stewart J.McD., 2010, Genetic engineering applications in crop improvement, Physiology of Cotton, 394-403

Keller G., Spatola L., McCabe D., Martinell B., Swain W., John M.E., 1997, Transgenic cotton resistant to herbicide bialaphos, Transgenic Research, 6: 385-392 http://dx.doi.-org/10.1023/A:1018483300902

Lang Z.F., Shen J.J., Cai S., Zhang J., He J., and Li S.P., 2011, Expression, characterization, and site-directed mutation of

a multiple herbicide-resistant acetohydroxyacid synthase (rAHAS) from *pseudomonas* sp. Lm10, Curr. Microbiol., 63(2):145-150 http://dx.doi.org/10.1007/s00284-011-9953-x PMid:21638043

Lyon B.R., Cousins Y.L., Llewellyn D.J., and Dennis E.S., 1993, Cotton plants transformed with a bacterial degradation gene are protected from accidental spray drift damage by the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, Transgenic Research, 2(3): 162-169 http://dx.doi.org/10.1-007/BF01972610

Lyon B.R., Llewellyn D.J., Huppatz J.L., Dennis E.S., and Peacock W.J., 1989, Expression of a bacterial gene in transgenic tobacco plants confers resistance to the herbicide 2,4−dichlorophenoxyacetic acid, Plant Mol. Biol., 1989, 13(5): 533-540 http://dx.doi.org/10.1007/BF00027313 PMid:2491671

Ma X.Y., Ma Y., Peng J., Xi J.P., Ma Y.J., and Li X.F., 2010, Current situation and developing tendency of the weed researches in cotton field of China, Mianhua Xuebao (Cotton Science), 22(4): 372-380 (马小艳, 马艳, 彭军, 奚建平, 马亚杰, 李希凤, 2010, 我国棉田杂草研究现状与发展趋势, 棉花学报, 22(4): 372-380)

Nandula V.K., Reddy K.N., Rimando A.M., Duke S.O., and Poston D.H., 2007, Glyphosate-resistant and -susceptible soybean (*Glycine max*) and canola (*Brassica napus)* dose response and metabolism relationships with glyphosate, J. Agric. Food Chem., 55(9): 3540-3545 http://dx.doi.org/10.1021/jf063568l PMid:17417871

Ni W.C., and Guo S.Q., 2009, Application of transporters in the mechanism of paraquat resistance, Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding), 7(5): 1010-1014 (倪万潮, 郭书巧, 2009, 转运体在百草枯抗性中的应用, 分子植物育种, 7(5): 1010-1014)

Padgette S.R, Re D.B, Gasser C.S, Eichholtz. D.A., Frazier R.B., Hironaka C.M., Levine E.B., Shah D.M., Fraley R.T., and Kishore G.M., 1991, Site-directed mutagenesis of a conserved region of the 5−enolpyruvylshikimate−3−phos-phate synthase active site, J. Biol. Chem., 266(33): 22364-223-69 PMid:1939260

Sajjaphan K., Shapir N., Judd A. K., Wackett L.P., and Sadowsky M.J., 2002, *Novel psbA1* gene from a naturally occurring atrazine-resistant cyanobacterial isolate, Appl. Environ. Microbiol., 68(3): 1358-1366 http://dx.doi.org/10.1128/AEM.68.3.1358-1366.2002 PMid:11872488 PMCid:123757

Sala C.A., Bulos M., Echarte M., Whitt S.R., and Ascenzi R., 2008, Molecular and biochemical characterization of an induced mutation conferring imidazolinone resistance in sunflower, Theor. Appl. Genet., 118(1): 105-112 http://dx.-doi.org/10.1007/s00122-008-0880-6 PMid:18784913

Stalker D.M., and McBride K.E., 1987, Cloning and expression in Escherichia coli of a *Klebsiella ozaenae* plasmid-borne gene encoding a nitrilase specific for the herbicide bromoxynil, J. Bacteriol., 169(3):955-960 PMid:3029038 PMCid:211886

Stalker D.M., Hiatt W.R., and Comai L., 1985, A single amino acid substitution in the enzyme 5−enolpyruvylshikimate−3−phosphate synthase confers resistance to the herbicideglyphosate, J. Biol. Chem., 260(8): 4724-4728 PMid:2985565

Stalker D.M., McBride K.E., and Malyj L.D., 1988, Herbicide resistance in transgenic plants expressing a bacterial detoxification gene, Science, 242(4877): 419-423 http://dx.doi.org/10.1126/science.242.4877.419 PMid:17-789813

Staub J.M., Brand L., Tran M., Kong Y., and Rogers S.G., 2012, Bacterial glyphosate resistance conferred by overexpression of an *E. coli* membrane efflux transporter, J. Ind. Microbiol. Biotechnol., 39(4): 641-647 http://dx.doi.org/10.1007/s10295-011-1057-x PMid:7766065

Tan S., Evans R., and Singh B., 2006, Herbicidal inhibitors of amino acid biosynthesis and herbicide-tolerant crops, Amino Acids, 30(2): 195-204 http://dx.doi.org/10.1007/s-00726-005-0254-1 PMid:16547651

Thompson C.J., Movva N.R., Tizard R., Crameri R., Davies J.E., Lauwereys M., and Botterman J., 1987, Characterization of the herbicide-resistance gene bar from Streptomyces hygroscopicus, EMBO J., 6(9): 2519-2523 PMid:16453790 PMCid:553668

Wohlleben W., Arnold W., Broer I., Hillemann D., Strauch E., and Pühler A., 1988, Nucleotide sequence of the phosphinothricin N-acetyltransferase gene from *Streptomyces viridochromogenes* Tü494 and its expression in Nicotiana tabacum, Gene, 70(1): 25-37 http://dx.doi.org/10.1016/0378-1119(88)90101-1