

转基因耐除草剂玉米 ZZM030 对草铵膦、草甘膦及非靶标除草剂的耐受性评价

谢彦博, 谭喜昌, 邢珍娟, 夏蔚, 李葱葱, 龙丽坤, 李飞武, 刘娜

(吉林省农业科学院, 长春 130033)

摘要: 采用田间试验, 鉴定小区随机区组排列, 对转基因玉米 ZZM030 和对应的非转基因对照祥 249 进行不同用量的草甘膦、草铵膦及非靶标除草剂的喷施处理, 分别在用药后 7、14、28 d 调查和记录成苗率、植株高度、药害症状, 评价该转基因玉米品系的目标性状有效性和对非靶标除草剂耐受性。结果表明, 转基因玉米 ZZM030 对草铵膦和草甘膦具有良好的耐受性, 对玉米田其他常用除草剂阿特拉津和烟嘧磺隆也具有好的耐受性, 不耐受玉米敏感型除草剂精喹禾灵和稀禾啶。

关键词: 玉米; 草甘膦; 草铵膦; 非靶标除草剂

中图分类号: S513.035.3

文献标识码: A

Tolerance Evaluation of Transgenic Corn ZZM030 to Glufosinate, Glyphosate and Non-Target Herbicides

XIE Yan-bo, TAN Xi-chang, XING Zhen-juan, XIA Wei, LI Cong-cong, LONG Li-kun, LI Fei-wu, LIU Na

(Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China)

Abstract: Using farmland experiments, the plots were randomly arranged in groups, and the transgenic corn ZZM030 and the corresponding non-transgenic control Xiang249 were sprayed with different amounts of glufosinate, glyphosate, and non-target herbicides. Investigate and record the seedling rate, plant height, and symptoms of phytotoxicity at 14 and 28 days. The results showed that GM corn ZZ030 has good tolerance to glufosinate and glyphosate, ZZM030 corn has good tolerance to other herbicides atrazine and nicosulfuron, but it cannot tolerate corn sensitive the herbicides quizalofop-p-ethyl and sethoxydim.

Key words: Corn; Glyphosate; Glufosinate; Non-target herbicide

杂草是玉米生产的危害之一,严重影响玉米产量^[1]。现代农业杂草治理通常使用化学除草,但存在除草效率低、成本高和农药残留风险,影响农业生态环境和食品安全^[2]。除草剂的选择也有很大的限制,往往杀草谱广的除草剂缺乏选择性而对作物产生药害^[3]。同时,随着杂草对除草剂抗性的增强,国

内多地发生使用除草剂失败的案例^[4]。草甘膦是性能优良的灭生性广谱有机磷类除草剂,具有除草效率高、低毒性和无残留等优点,是世界上销售量最大的除草剂;草铵膦是在草甘膦之后研发出的可以代替草甘膦的广谱灭生性除草剂,广泛用于农业防治各种杂草^[5-7]。草甘膦和草铵膦由于其非选择性,无法直接应用到玉米田中。随着耐除草剂转基因玉米的种植,农民对除草剂有了更多的选择,转基因耐除草剂玉米与非选择性除草剂的组合,可以取代大多数常规除草剂^[8],提高玉米田防治杂草的效果,弥补其他除草剂杀草谱窄的缺点,更是可以减少除草剂对周围环境的污染^[9]。

一份有关转基因作物的 900 项研究的综述表明,转基因作物和传统作物在对环境和人类健康带来的风险方面没有区别,将更多地受益于更具安全性的转基因作物^[10]。目前,国内外转基因作物中抗

录用日期: 2020-09-15

基金项目: 吉林省科技攻关计划项目(20170204012NY)

作者简介: 谢彦博, 硕士, 主要从事研究转基因植物的环境安全评价工作。E-mail: xieyanbo6736@outlook.com

刘娜和李飞武为本文通讯作者。

E-mail: ln301317@163.com

E-mail: lifeiwu3394@sina.com

致谢: 感谢中国种子集团有限公司为本项研究提供试验材料及研究经费。

虫和耐除草剂两种性状占据绝大多数,转基因耐除草剂作物对除草剂耐受性评价是重要的研究内容之一。陈银竹^[11]等测定了施用草甘膦条件下转基因抗草甘膦大豆呼交06-698生理指标和田间杂草防除水平,表明草甘膦对该材料安全并有显著的杂草防除效果。李娜^[12]以受体中豆32为对照,对施用不同浓度草甘膦条件下转基因大豆HSZD32-01的药剂耐受性和除草效果进行评价,结果表明,田间喷施1~4倍推荐使用剂量的草甘膦对转基因大豆HSZD32-01的生长没有抑制作用。李海强^[13]等采用田间试验,采集棉花株高、真叶数、蕾数和产量等指标分析得出,转*Bt-cryIAc*和*CP4-EPSPS*基因抗虫耐除草剂棉花对草甘膦有良好的耐受性。王大铭^[14]等对转基因抗草甘膦玉米CL38-1进行评价,通过对喷施除草剂后玉米株高和受害率的调查,表明该材料对草甘膦具有耐受性。

转基因玉米ZYM030由中国种子集团有限公司独立研发,以玉米自交系祥249为受体,通过农杆菌介导法,利用表达载体pZHZH35006将抗虫基因*cryIAb/cryIAcZM*、耐草甘膦基因*epspsZM*和耐草铵膦基因*bar*导入玉米幼胚中,通过筛选、分化、鉴定所获得^[15]。本研究选择在农田条件下,从ZYM030对靶标除草剂草铵膦和草甘膦及其他非靶标除草剂的耐受性进行评价,为转基因耐除草剂玉米的安全评价和产业化提供相关的科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

转*cryIAb/cryIAcZM*、*bar*和*epspsZM*基因抗虫耐除草剂玉米ZYM030及对应的非转基因玉米祥249由中国种子集团有限公司生命科学技术中心提供,在吉林省公主岭市进行田间试验。目标除草剂为41%草甘膦异丙胺盐(农达,孟山都公司),有效成分含量为18%草铵膦(拜耳公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 草甘膦和草铵膦耐受性检测

小区采用随机区组排列,小区间设有1 m宽隔离带,小区面积24 m²,3次重复,处理包括ZYM030喷施推荐剂量中剂量除草剂(ZM-1)、喷施中剂量2倍量除草剂(ZM-2)、喷施中剂量4倍量除草剂(ZM-4),祥249喷施中剂量除草剂(CK-1),ZYM030不喷施除草剂(ZM-0),祥249不喷施除草剂(CK-0)。用药时间为玉米4~5叶期,施药方式为茎叶喷施,分别在用药后7、14、28 d调查和记录玉米成苗率、植株高度、药害症状^[16]。药害症状分级按GB/T 19780.42执

行^[17],分为0~5级。

1.2.2 非靶标除草剂耐受性检测

非靶标除草剂为玉米田间普遍使用的阿特拉津、烟嘧磺隆以及玉米敏感的精喹禾灵、烯禾啶(在不同小区施用)。小区设计与靶标除草剂耐受性试验一致,处理包括ZYM030不喷施除草剂,ZYM030喷施除草剂;祥249不喷施除草剂,祥249喷施除草剂。除草剂的施用剂量为农药登记标签的中剂量。用药时间为玉米3~4叶期施用。调查时间、内容与靶标除草剂一致。

1.3 统计分析

运用SPSS20.0软件用方差分析方法比较不同处理的转基因玉米及非转基因玉米在出苗率、成苗率的差异,判别转基因玉米对目标除草剂的耐受水平。

2 结果与分析

2.1 ZYM030玉米对草甘膦和草铵膦的耐受性

2.1.1 草甘膦耐受性

喷施草甘膦7 d后,在3种剂量下,转基因玉米均产生轻微药害,叶片局部颜色变浅,用药14 d后药害症状均已消失。用药28 d后,喷施3种剂量的ZYM030成苗率分别为95.17%、92.77%和97.32%,与未喷施除草剂的ZYM030及祥249的成苗率之间无显著差异,不同剂量处理之间成苗率也无显著差异。

用药7 d后,喷施3种剂量的ZYM030植株高度与未喷施除草剂的处理之间均不存在显著差异,喷施除草剂的祥249植株全部出现枯死症状。用药14 d后,喷施除草剂的ZYM030株高均显著低于未施药处理;喷施28 d后,各处理的株高均无显著差异。结果表明,喷施不同剂量草甘膦对转基因植株后续生长和各项主要农艺指标均未产生显著影响(表1)。

2.1.2 草铵膦耐受性

ZYM030在喷施中剂量及2倍量草铵膦时未产生药害,喷施4倍量的初期发现轻微药害,叶片上有黄色斑点,药害症状在用药后28 d均已消失。喷施3种剂量的转基因玉米ZYM030成苗率分别为98.82%、97.37%及98.13%,与未施药处理的成苗率无显著差异,不同剂量处理之间成苗率也无显著差异。

喷施草铵膦的ZYM030株高与未施药处理之间均无显著差异。祥249用药后7 d全部植株均出现枯死症状。结果表明,喷施不同剂量草铵膦对转基

因植株后续生长和各项主要农艺指标均未产生显著影响。

2.2 非靶标除草剂耐受性检测

按推荐剂量喷施玉米田常用除草剂阿特拉津及烟嘧磺隆,ZYM030及祥249均未产生药害,ZYM030成苗率分别为97.61%和99.79%,祥249成苗率分别为99.39%和98.99%,无显著差异。喷施这两种除草剂对ZYM030及祥249的株高未呈显著影响(表2)。

表1 喷施不同浓度草甘膦和草铵膦的ZYM030对株高的影响

Table 1 Plant height of ZYM030 sprayed with different concentrations of glyphosate and glufosinate

处 理 Treatment	施药后 7 d 株高(cm) Plant height at one week after application		施药后 14 d 株高(cm) Plant height at two weeks after application		施药后 28 d 株高(cm) Plant height at three weeks after application	
	草铵膦 Glufosinate	草甘膦 Glyphosate	草铵膦 Glufosinate	草甘膦 Glyphosate	草铵膦 Glufosinate	草甘膦 Glyphosate
CK-0	60.73±4.04 a	60.73±4.04 a	84.80±1.03 a	84.80±1.03 a	176.53±0.57 a	176.53±0.57 a
ZM-0	56.33±1.75 a	56.33±1.75 ab	81.73±1.28 a	81.73±1.28 a	169.13±2.96 a	169.13±2.96 a
ZM-1	60.87±4.49 a	50.53±1.18 b	86.80±2.20 a	66.73±1.56 b	180.93±2.49 a	155.93±5.63 a
ZM-2	60.27±2.97 a	54.80±2.16 ab	88.00±1.55 a	63.93±0.90 b	177.20±4.69 a	153.07±3.54 a
ZM-4	58.07±0.52 a	55.13±2.71 ab	83.27±1.17 a	64.13±2.29 b	170.53±3.64 a	156.07±1.05 a
CK-1	—	—	—	—	—	—

注:“—”表示植株全部死亡。

Note:— means all plants died.

表2 喷施阿特拉津和烟嘧磺隆的ZYM030对株高的影响

Table 2 Plant height of ZYM030 sprayed with atrazine and nicosulfuron plant height

处 理 Treatment	株高(cm) Plant height		
	施药后 7 d One week after application	施药后 14 d Two weeks after application	施药后 28 d Three weeks after application
CK-0	59.27±4.57 ab	85.40±6.02 ab	169.27±8.49 a
ZM-0	53.60±1.93 ab	83.60±3.70 ab	154.80±4.20 a
CK-A	61.73±2.28 a	95.40±3.14 a	170.20±2.87 a
ZM-A	51.06±2.80 b	79.20±1.22 b	155.40±2.11 a
CK-Y	57.67±0.07 a	85.40±1.97 a	165.80±2.87 ab
ZM-Y	51.27±2.15 a	79.07±1.16 a	148.33±5.71 b

注:CK-A为祥249喷施阿特拉津;ZM-A为ZYM030喷施阿特拉津;CK-Y为祥249喷施烟嘧磺隆;ZM-Y为ZYM030喷施烟嘧磺隆。

Note: CK-A, CK spray atrazine; ZM-A, ZYM030 spray atrazine; CK-Y, CK spray nicosulfuron; ZM-Y, ZYM030 spray nicosulfuron.

表3 喷施精喹禾灵及稀禾啶的ZYM030对成苗率和株高的影响

Table 3 Plant height and seedling rate of ZYM030 sprayed with quizalofop-p-ethyl and sethoxydim

处 理 Treatment	施药后 7 d Ono week after application		施药后 14 d Two weeks after application		施药后 28 d Three weeks after application	
	成苗率(%) Seedling rate	株高(cm) Plant height	成苗率(%) Seedling rate	株高(cm) Plant height	成苗率(%) Seedling rate	株高(cm) Plant height
CK-0	100.00±0.00 a	59.27±4.57 a	100.00±0.00 a	85.40±6.02 a	100.00±0.00 a	169.27±8.49 a
ZM-0	100.00±0.00 a	53.60±1.93 ab	100.00±0.00 a	83.60±3.70 a	100.00±0.00 a	154.80±4.20 ab
CK-J	41.28±3.01 b	44.67±7.35 bc	32.33±9.83 b	63.87±7.05 b	32.36±10.77 b	133.47±12.70 bc
ZM-J	41.68±11.7 b	37.80±0.72 c	36.07±9.66 b	58.73±6.47 b	35.23±10.30 b	120.53±10.66 c
CK-X	97.39±1.72 b	40.33±4.56 b	51.34±9.65 b	58.73±3.87 b	59.95±8.57 b	120.67±5.23 b
ZM-X	94.61±2.84 b	36.47±2.49 b	56.88±10.25 b	58.47±2.91 b	62.27±9.97 b	122.00±10.10 b

注:CK-J为祥249喷施精喹禾灵;ZM-J为ZYM030为喷施精喹禾灵;CK-X为祥249喷施稀禾啶;ZM-X为ZYM030喷施稀禾啶。

Note: CK-J, CK spray quizalofop-p-ethyl; ZM-J, ZYM030 spray quizalofop-p-ethyl; CK-X, CK spray sethoxydim; ZM-X, ZYM030 spray sethoxydim.

按推荐剂量喷施玉米敏感除草剂精喹禾灵及烯禾啶,施药7 d后,ZZM030与祥249均产生严重药害,植株矮化,药害级别为4~5级,两者的成苗率和株高显著低于未喷施除草剂的处理(表3)。

3 结论与讨论

转基因抗草甘膦和抗草铵膦作物的研发前景非常广阔。除草剂耐受性是转基因耐除草剂玉米环境安全评价的重要内容之一。江帆^[18]针对转*cryIAc*和*EPSPS*基因抗虫耐除草剂玉米进行草甘膦耐受性研究,在心叶期喷施草甘膦推荐剂量和2倍量对转基因玉米的株高和生长发育无不良影响。王江^[19]等在转基因抗虫耐除草剂复合性状玉米“双抗12-5”对草甘膦的耐受性研究中也得出了类似结果。任相亮^[20]等在子叶期喷施中剂量、中剂量的3倍量和9倍量的草铵膦,对转基因抗草铵膦棉花的生长发育均没有显著影响。本研究结果显示,转基因玉米ZZM030对靶标除草剂草甘膦及草铵膦同样表现出良好的耐受性,在施用中剂量、中剂量2倍量及4倍量的情况下,对植株的生长没有显著不良影响。

对于非靶标除草剂耐受性试验,曹洪玉^[21]采用室内土培法评价抗除草剂大豆356043对靶标和非靶标除草剂的耐受性,该品系对靶标除草剂草甘膦和苯磺隆有较好的耐受性,对3种大豆田常见的非靶标除草剂也具有较高的耐受性。余桂荣^[22]以耐草甘膦转基因玉米T抗—4为材料,对非靶标除草剂烟嘧磺隆、硝磺草酮—锈去津、精喹禾灵和草铵膦的耐受性进行评价,转基因玉米和对照受体受非靶标除草剂影响是一致的,即便该转基因玉米对草甘膦产生抗药性仍可以被其他玉米田常用除草剂灭杀。本研究结果表明,转基因玉米ZZM030对玉米田常用除草剂阿特拉津及烟嘧磺隆有较好的耐受性,在施用玉米敏感除草剂精喹禾灵及烯禾啶后,其生长发育受到严重影响。通过对玉米敏感除草剂的耐受性评价,认为ZZM030即使能同时耐受草甘膦和草铵膦两种除草剂,仍可以使用玉米田常用除草剂进行灭杀,为该转化体的安全评价提供了科学数据。

参考文献:

- [1] 李燕敏,祁昱涛,刘昌林,等. 除草剂抗性农作物育种研究进展[J]. 作物杂志,2017(2):1-6.
Li Y M, Qi X T, Liu C L, et al. Advances in research on herbicide-resistant crop breeding[J]. Crops, 2017(2): 1-6. (in Chinese)
- [2] 邱龙,马崇烈,刘博林,等. 耐除草剂转基因作物研究现状及发展前景[J]. 中国农业科学,2012,45(12):2357-2363.
Qiu L, Ma C L, Liu B L, et al. Current situation of research on transgenic crops with herbicide tolerance and development prospect[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2012, 45(12): 2357-2363. (in Chinese)
- [3] 杨成凤,高初蕾,乔峰,等. 耐除草剂转基因大豆商业化研发现状与展望[J]. 陕西农业科学,2014,60(5):53-55.
Yang C F, Gao C L, Qiao F, et al. Current status and prospects of commercialization of herbicide-tolerant genetically modified soybeans[J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences, 2014, 60(5): 53-55. (in Chinese)
- [4] Ning Z, Lan Z, Wei L, et al. Greenhouse and field evaluation of isoxaflutole for weed control in maize in China[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 12690.
- [5] Zhang X B, Tang Q L, Wang X J, et al. Development of glyphosate-tolerant transgenic cotton plants harboring the *G2-aroA* gene[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2017, 16(3): 551-558.
- [6] Sylvain R, Marine D, Grégory G, et al. Monitoring of glyphosate, glufosinate-ammonium, and (Aminomethyl)phosphonic acid in ambient air of Provence-Alpes-Côte-d'Azur region, France[J]. Atmospheric Environment, 2019, 204: 102-109.
- [7] Selim Ç, Cigdem S, George K, et al. Acute glufosinate-based herbicide treatment in rats leads to increased ocular interleukin-1 β and c-Fos protein levels, as well as intraocular pressure[J]. Toxicology Reports, 2019, 6: 155-160.
- [8] Esteban G R, Íñigo L, Gema P F, et al. Weeds and ground-dwelling predators' response to two different weed management systems in glyphosate-tolerant cotton: a farmscale study[J]. Plos One, 2018, 13(1): e0191408.
- [9] 李香菊,崔海兰,于惠林,等. 耐除草剂转基因作物及其环境安全[C]. 贵阳:第十三届全国杂草科学大会论文集,2017.
- [10] 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.
ISAAA. Global development trend of commercialized biotech/GM crops in 2016[J]. China Biotechnology, 2017, 37(4): 1-8. (in Chinese)
- [11] 陈银竹,丁伟,刘胜男,等. 草甘膦对转基因抗草甘膦大豆的安全性研究[J]. 江苏农业科学,2018,46(16):56-59.
Chen Y Z, Ding W, Liu S N, et al. Study on the safety of glyphosate to transgenic glyphosate resistant soybean[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2018, 46(16): 56-59. (in Chinese)
- [12] 李娜,曹跃平. 转基因大豆SHZD32-01对草甘膦的抗性及其草甘膦除草效果研究[J]. 大豆科学,2018,37(3):408-414.
Li N, Cao Y P. Resistance of transgenic soybean SHZD32-01 to glyphosate and glyphosate weeding control in fields[J]. Soybean Science, 2018, 37(3): 408-414. (in Chinese)
- [13] 李海强,李号宾,丁瑞丰,等. 转(*Bt CryIac*+*CP4EPSPS*)基因抗虫抗草甘膦棉花对草甘膦的耐受性研究[J]. 环境昆虫学报,2017,40(1):209-214.
Li H Q, Li H B, Ding R F, et al. Effects of transgenic cotton expressing *Bt cryIac*+*CP4EPSPS* genes on glyphosate tolerance[J]. Journal Environmental Entomology, 2017, 40(1): 209-214. (in Chinese)
- [14] 王大铭,周琳,宋新元. 转基因抗草甘膦玉米CL38-1的草甘膦耐受性及杂草化风险评价[J]. 杂草学报,2016,34(2):23-28.
Wang D M, Zhou L, Song X Y. Evaluation on glyphosate tolerance

- and weediness risk of genetically modified maize CL38-1 with glyphosate-resistant character[J]. Journal of Weed Science, 2016, 34(2): 23-28. (in Chinese)
- [15] 中国种子集团有限公司. 抗虫耐除草剂玉米转化事件: 201810140851.4[P]. 2018-2-11[2019-4-30].
- [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除草剂玉米第1部分:除草剂耐受性. 农业部953号公告-11.1-2007[S]. 北京:中国农业出版社,2007.
- [17] 中华人民共和国农业部. 农药:田间药效试验准则(一)除草剂防治玉米地杂草:GB/T 17980.42-2000[S]. 北京:中国标准出版社,2000.
- [18] 江帆,刘凯强,张天涛,等. 转基因抗虫耐除草剂(*CryIAc+EPSPS*)玉米对草甘膦耐受性研究[J]. 植物保护, 2016, 42(2): 74-78.
- Jiang F, Liu K Q, Zhang T T, et al. Tolerance of transgenic and herbicide- and insect-resistant corn to glyphosate[J]. Plant Protection, 2016, 42(2): 74-78. (in Chinese)
- [19] 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. (in Chinese)
- [20] 任相亮,胡红岩,王丹,等. 子叶期喷施草铵膦对转基因抗草铵膦棉花生长发育的影响[J]. 中国棉花, 2017, 44(11): 20-23.
- Ren X L, Hu H Y, Wang D, et al. Effects of glufosinate ammonium on the growth and development of transgenic glufosinate-resistant cotton at the cotyledon stage[J]. China Cotton, 2017, 44(11): 20-23. (in Chinese)
- [21] 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]. 杂草科学, 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. (in Chinese)
- [22] 余桂荣,宋军,陈谦,等. 转2mG2-*epsps*基因耐草甘膦玉米T抗-4对非靶标除草剂的耐受性评价[J]. 西南农业学报, 2019, 32(12): 2724-2731.
- Yu G R, Song J, Chen Q, et al. Tolerance evaluation of non-target herbicides in glyphosate-tolerant transgenic 2mG2-*epsps* gene maize Tkang-4[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2019, 32(12): 2724-2731. (in Chinese)

(责任编辑:朴红梅)