

转基因大豆产业化现状及展望*

罗振锋^{1,2} 李启云²

(1. 东北农业大学, 哈尔滨 150030; 2. 吉林省农业科学院, 公主岭 136100)

COMMERCIALIZATION STATUS AND RESEARCH PROGRESS OF TRANSGENIC SOYBEAN

Luo Zhenfeng^{1,2} Li Qiyun²

(1. Northeast Agricultural University, Haerbin 150030; 2. Jilin Academy of
Agricultural Sciences, Gongzhuling 136100)

摘要 转基因大豆是迄今为止播种面积最大、商业化程度最高的转基因作物,同时,也是人们目前公认的最难转化的作物之一。建立高效遗传转化体系和是否继续加强转基因大豆的产业化推广一直都是科技工作者和各国政府的关注焦点。本文将从国内外转基因大豆产业化现状、转基因受体系统、转基因方法及发展趋势等方面对其做一简单综述。

关键词 转基因大豆;产业化现状;展望

中图分类号 S 565.1 **文献标识码** A **文章编号** 1000-9841(2005)03-0220-04

0 前言

基因工程作为一种新的育种方法极大地提高了育种工作的质量和效率。自1983年第一例转基因植株问世以来,国际上获得转基因植株的植物已超过35个科120多个种,主要集中在七大类农作物,即:大豆、玉米、棉花、油菜、马铃薯、南瓜、西葫芦和木瓜等^[1]。2004年,全球转基因玉米、大豆、棉花和其它作物播种面积达到0.81亿公顷,比2003年的0.68亿公顷增长了20%,比1996年(转基因作物商业化运作第一年)的约174万公顷增加了近47倍,种植转基因作物面积超过5万公顷的国家也由2003年的10个增加到14个。ISAAA创建者、主席James估计,2010年转基因作物的种植面积将会达到1.5亿公顷,将有30个国家的150万农民种植转基因作物^[2]。

转基因大豆是最早引入商业化种植的农作物之一,也是迄今为止播种面积最大、商业化程度最高的农作物,占转基因作物总种植面积的60%,它已成为世界大豆生产的主流品种,产量占世界大豆总量的50%以上,而且,这一趋势还将进一步扩大。

1 转基因大豆产业化现状

1.1 全球转基因大豆的种植情况

1988年,Hinchee首次报道成功获得大豆转基因植株^[3]。1994年美国孟山都公司推出的名为Roundup Ready Soybean(简称RR大豆)的转基因抗除草剂大豆获准推广,成为世界上最早获准推广的转基因大豆^[4]。2000年,在获准进行商业化生产的47例转基因植物中,大豆占3例:1994年Monsanto公司抗草甘膦大豆,1997年DuPont公司高十八烯酸(油酸)大豆和1998年AgrEvo公司抗草丁

* 收稿日期:2005-05-19

基金项目:国家转基因植物研究与产业化专项(JY03-B-16)

作者简介:罗振锋(1957-),男,在读博士,研究方向大豆育种、生物技术研究。Tel:0434-6283009。

麟大豆^[5]。

来自 ISAAA 的数据(2004 年)显示^[2],转基因大豆的种植面积达 4840 万公顷,占总面积的 60%,比 2003 的 4140 万公顷增加了 17%,继续处在 4 个主要商业化种植的转基因作物(大豆、玉米、棉花和油菜)的首位。商业化种植国家有 8 个:美国、阿根廷、加拿大、墨西哥、罗马尼亚、乌拉圭、南非和巴拉圭。美国是当前世界大豆第一大生产国,据美国农业部保守估计,2003 年转基因大豆约占大豆总面积(2927 万公顷)的 81%,绝大部分是 RR 大豆,种植面积增长速度紧次于转基因玉米的种植面积;巴西是大豆第二大生产国,2004 以前,巴西对转基因大豆严格控制,转基因大豆种植面积在 10%左右,2004 年巴西增加了 2/3 种植面积,达 30~50 万公顷,占大豆总产量的 20%左右(巴西农业部下属的商品预测机构 CONAB 的数据,来自中国饲料行业信息网:大豆);阿根廷是世界大豆第三大生产国,所产大豆绝大部分也是转基因大豆,2003 年近 100%为抗除草剂转基因大豆,2004 年其种植转基因大豆的总量继续攀升;乌拉圭转基因大豆的种植面积占大豆总种植面积的 99%;巴拉圭尽管是第一次报道种植转基因大豆,但其种植面积达到了其总种植面积的 60%(12 万公顷);加拿大、南非及罗马尼亚等国转基因大豆的种植面积也有明显的增加。

1.2 中国转基因大豆的种植情况

目前,中国农业生物技术的整体水平在发展中国家中处于领先地位,一些领域已进入国际先进行列;继美国之后,中国是第二个拥有自主研制抗虫棉技术的国家;中国转基因水稻的研制处于世界先进水平。然而,值得注意的是,作为世界第 4 大大豆主产国,中国转基因大豆的生产尚在起步阶段,商业化种植转基因大豆仍处空白。中国只发放了一种转基因大豆的安全证书,即孟山都公司的抗除草剂转基因大豆 40-3-2。因此,目前中国转基因大豆仍处在研究阶段,发展非转基因大豆、保护不受污染仍是当前的基本国策。

2 转基因大豆研究概况

大豆高效遗传转化一直是植物基因工程领域的难点之一^[7-9]。其主要原因是转化以后从转化组织的细胞上再生植株比较困难。虽然已经有了再生频率相对较高的再生系统(包括体细胞胚胎发生和器官发生再生系统),然而,这些再生系统尚不能与现

有的植物转化方法很好地结合,转化效率依然没有显著提高。

2.1 大豆遗传转化的常用方法

目前,应用于大豆遗传转化的方法有:根癌农杆菌介导法,基因枪法,花粉管直接导入法,电击介导法,PEG 法,真空抽滤法,显微注射法和超声波辅助农杆菌法等^[10]。其中,根癌农杆菌介导法和基因枪法是应用较为普遍的方法,前者更为常用。

根癌农杆菌介导法优点在于:其拷贝数少、整合完整、遗传稳定(后代分离遵循孟德尔遗传规律)及受目的基因分子量限制小等,因此成为大豆遗传转化的首选方法。王连铮(1984)^[11]首次报道根癌农杆菌的 15 个菌株对大豆的致瘤作用,证明 Ti 质粒可以作为载体把胭脂碱基因转移到野生大豆、半野生大豆和栽培大豆的基因组中,并能稳定遗传。Hinchee 等^[3](1988)首次报道农杆菌转化成功获得大豆转基因植株。Ko 等^[12](2003)报道农杆菌菌株和外植体的接种朝向是影响农杆菌转化大豆未成熟胚来源的胚性愈伤组织的重要因素。Ko 等^[13](2004)采用农杆菌菌株 KYRT1 辅助质粒转化大豆未成熟胚来源的胚性愈伤组织被认为是目前应用前景最好的农杆菌介导转化系统^[14],转基因胚性愈伤组织的频率可达 55%(PCR 检测结果)。

基因枪法也叫微弹轰击法,是借用火药爆炸、高压气体或高压放电为动力,用微粒对植物进行轰击而将其上的外源基因带入到植物细胞核内。与根癌农杆菌介导法相比,基因枪法可以不受基因型和轰击靶组织的限制,且操作简便,可控度高。但是,其不足也是显而易见的,如:目的基因一般不易太大(<10kb),拷贝数高易引起基因沉默等。McCabe 等(1988)^[15]首次以大豆芽分生组织为靶组织,经基因枪轰击获得转基因大豆,这是基因枪法转化大豆的首例报道,虽然获得了转基因植株,但都为嵌合体。Aragao(2000)^[16]利用基因枪法转化大豆成熟种子浸泡 24 小时后的茎尖获得转化植株是目前应用于大豆基因枪转化的最好系统。

花粉管直接导入法是目前国内大豆转基因常用的方法之一。主要是利用花粉粒及花粉管通道,利用子房、幼穗及种胚注射等生物媒介导入外源基因。刘德璞等(2002)^[17]通过该方法育成抗蚜虫转基因大豆品种吉科豆 1 号。由于此方法的分子机理研究的还不是很清楚,因此在应用上还存在争议。

2.2 大豆遗传转化常用的再生系统

到目前还没有一种高效、稳定、快捷、简便的用

于大豆转化的再生体系。子叶节和胚胎再生悬浮培养体系是目前最广泛应用的方法,但存在着基因型差异 仍然需要对这两种方法进行改进。

采用无菌苗大豆子叶节,通过器官发生途径再生大豆植株的最早报道是1980年(Cheng等)^[18]。近年来,国内外成功的大豆转基因事例多以大豆无菌苗子叶节为外植体,通过施加外源细胞分裂素,一般为6-BA,来诱导子叶节处潜在的分生组织增殖产生不定芽,不定芽经抽茎生根后再生植株^[9]。大豆不定芽器官发生体系目前已经被公认为较成熟的大豆再生系统。其优点是再生时间短,外植体容易获得,再生过程简单及再生频率高等。缺点是外植体较大,纯化、筛选难度大等。

大豆体细胞胚胎发生再生系统被认为是解决大豆遗传转化中嵌合体问题的最有潜力的再生体系。它是通过与合子胚发生相类似的途径形成体细胞胚,经组织培养获得再生植株。由于胚状体多为单细胞起源,遗传背景较一致,无性系变异小,转化后得到的嵌合体较少。在此系统中诱导体细胞胚胎发生施加外源激素主要为 α -NAA和2,4-D。

此外,大豆原生质体再生系统也有获得大豆再生植株的成功报道(1988)^[19]。该体系从理论上讲是克服大豆遗传转化嵌合体现象的最有希望的系统。但是由于此系统操作复杂,不容易掌握,工作量大,不同基因型差异大,再生效率低以及相关的遗传转化方法的转化效果不理想,所以应用并不广泛。

3 转基因大豆研究未来的发展趋势

3.1 技术方面

总的看来大豆细胞和大多数植物一样可以用来进行有效的转化。但到目前还没有一种高效、稳定、快捷、简便的用于大豆转化的再生体系,现有的再生系统也不能与当前植物遗传转化方法很好地结合,这是限制大豆转基因技术发展的关键因素。建立一个适用于大豆转基因的高效再生受体系统,并对转基因方法进行优化和创新,摸索出一条有利于转化频率提高的新体系,才有可能使大豆转基因成为一项规模化技术体系,为生产实践服务。如Liu等(2004)^[20]最新报告利用农杆菌介导胚尖再生系统的高效转化方法,其再生频率高达87.7%,转化效率达到了前所未有的8.0%~15.8%,比以往的转化频率提高4~8倍左右。而且,取材方便,培养周期大大缩短,操作简单,无需添加过多附加物和特殊

筛选剂,这为大豆遗传转化实现规模化遗传转化提供了一个更合适的系统和发展方向。

3.2 育种方向

除单一性状如抗除草剂和抗虫性的改良外,事实上,大豆遗传转化已经在多个研究领域取得成功。如:杜邦(DuPont)公司1997年获美国食品药品监督管理局(FDA)批准推广的高油酸(70%)转基因大豆;低亚麻酸(2%)大豆、低棕榈酸(4%)大豆、高硬脂酸(28%)大豆、高棕榈酸(27%)大豆、富含抗癌蛋白质大豆及富含脱敏因子大豆(2001)等转基因品种也已在美国培育成功^[4],Mazur等^[21](1999)获得转基因大豆种子油酸相对含量甚至高达85%。多元化发展已经成为转基因大豆育种的必然趋势。在未来的相当的一段时间内,除继续重视单一性状如抗除草剂和抗虫性的改良外,加强大豆的营养品质(如:脂肪酸组成、氨基酸成分和植酸磷含量等)^[22],采用双抗基因或多抗基因转化^[2]以及将大豆作为生物反应器生产高价值蛋白药物等领域将是转基因大豆育种的重点方向。

3.3 安全性评价

应用转基因作物具有极大的经济效益的同时,也存在一定的风险,包括对环境、食品的安全性、抗性基因的稳定性及抗性杂草发生影响等。大豆是人类可食用的最重要的植物蛋白质之一。由于转基因大豆安全性存在不可预见性,因此,必须要对其进行长期监控。每一种新研制的转基因大豆都必须通过个案处理,评估其可能存在的风险,以确保进行环境释放和市场释放时转基因作物及其加工的食品具有高度的安全性。同时,中国拥有丰富的野生大豆资源,几乎有大豆种植的地方就有野生大豆分布。由于栽培大豆和野生大豆间没有生殖隔离现象,一旦转基因逃逸到野生大豆群体中,野生大豆原始性状将受到破坏,其抗除草剂特性也可使其变为杂草,其草生蔓延将给大豆生产造成不可估量的损失,并造成遗传多样性的丧失。因此,对我国来说,转基因大豆的安全管理尤为重要。

原国家科委于1993年12月发布了《基因工程安全管理办法》,国务院在2001年5月颁布了《农业转基因生物安全管理条例》,同年,农业部发布《农业转基因生物安全评价管理办法》、《农业转基因生物进口安全管理办法》和《农业转基因生物标识管理办法》,并设立农业转基因生物安全委员会,负责农业转基因生物的安全评价工作。2005年,农业部明确规定,所有转基因作物必须不含抗生素标记基因。

这些政策和法规的出台必将对转基因大豆的发展产生深远影响。

参 考 文 献

- 1 邓小莉,黄建新. 转基因植物的研究概况及应用领域[J], 2003, 生物学杂志, 20(6), 14—16.
- 2 <http://www.isaaa.org/kc>, ISAAA Briefs 32—2004, Preview, Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops, 2004.
- 3 Hinchee MAW, Connor—Ward DV, Newell CA, et al. Production of transgenic soybean plant using *Agrobacterium*—mediated DNA transfer[J]. *Bio/Technology*, 1988, 6, 915—922.
- 4 韩天富. 转基因大豆及其安全管理办法[J]. 粮食与油脂, 2001, 2, 10—12.
- 5 杨加银. 转基因大豆生产的现状与趋势[J]. 世界农业, 2002, 278(6), 40—42.
- 6 张丽萍, 张贵云. 抗除草剂作物研究进展[J]. 北京农业科学, 1999, 17(5), 25—27.
- 7 周思军. 大豆抗虫基因转移及其转化系统优化研究[D]. 博士学位论文, 东北农业大学, 2000, 15—19.
- 8 马晓红. *gna* 基因在大豆上的转化及转化体系的优化[D]. 硕士学位论文, 上海师范大学, 2003, 10—15.
- 9 王萍. 大豆组织培养体系优化与双价抗虫基因遗传转化的研究[D]. 博士学位论文, 东北农业大学, 2002, 10—19.
- 10 王关林, 方宏筠主编, 植物基因工程(第二版)[M]. 北京: 科学出版社, 2004, 295—501.
- 11 王连铮, 尹光初, 罗教芬, 等. 大豆致瘤及基因转移研究[J]. 中国科学(B), 1984, 2, 137—141.
- 12 Ko TS, Lee S, Krasnyanski S, Korban SS. Two critical factors are required for efficient transformation of multiple soybean cultivars, *Agrobacterium* strain and orientation of immature cotyledonary explant[J]. *Theor Appl Genet*, 2003, 107, 439—447.
- 13 Ko TS, Lee S, Frrand SK, et al. A partially disarmed vir helper plasmid, pKYRT1, in conjunction with 2, 4—dichlorophenoxyacetic acid promotes emergence of regenerable transgenic somatic embryos from immature cotyledons of soybean[J]. *Planta*, 2004, 218, 536—541.
- 14 刘海坤, 卫志明. 大豆遗传转化研究进展[J]. 植物生理与生物学报, 2005, 31(2), 126—134.
- 15 McCabe Dennis E, Swain William F, Martinell Brian J, et al. Stable transformation of soybean (*Glycine max*) by Particle acceleration[J]. *Bio/Technology*, 1988, 6, 923—926.
- 16 Aragao FJL, Sarokin L, Vianna GR, et al. Selection of transgenic meristematic cells utilizing a herbicidal molecule results in the recovery of fertile transgenic soybean (*G. max*) plants at a high frequency[J]. *Theor Appl Genet*, 2000, 101, 1—6.
- 17 刘德瑛, 袁鹰, 王成武, 等. 导入外源 DNA 大豆后代的抗虫性鉴定与筛选[J]. 大豆科学, 2002, 21(4), 245—249.
- 18 Cheng TY, H Saka, TH Voqui Dinh. Plant regeneration from soybean cotyledonary node segments in culture[J]. *Plant Sci. Lett.* 1980, 19, 91—99.
- 19 Wei ZM, Xu ZH. Plant regeneration from protoplast of soybean(*G. max*) [J]. *Plant Cell Rep*, 1988, 7, 348—351.
- 20 Liu HK, Yang C, Wei ZM. Efficient *Agrobacterium tumefaciens*—mediated transformation of soybeans using an embryonic tip regeneration system[J]. *Planta*, 2004, 219, 1042—1049.
- 21 Mazur B, Krebbers E, Tingey S. Gene discovery and product development for grain quality traits[J]. *Science*, 1999, 285, 372—375.
- 22 张林生, 俞嘉宁, 曹让, 等. 转基因植物在农业上的应用[J]. 西北植物学报, 2002, 22(4), 1011—1017.

欢迎订阅《遗传学报》、《遗传》杂志

《遗传学报》、《遗传》杂志是中国遗传学会和中国科学院遗传与发育生物研究所主办、科学出版社出版的一级学术期刊, 中文生物学核心期刊, 中国科技核心期刊, 已被美国化学文摘、生物学数据库、生物学文摘、医学索引以及俄罗斯文摘杂志等 20 余种国内外重要检索系统与数据库收录。内容涉及遗传学、发育生物学、基因组与生物信息学以及分子进化等领域, 读者对象为基础医学、农林牧渔、生命科学各领域的科研、教学、开发人员, 大学生、研究生、中学生物教师等。2004 年起, 两刊全面实行网上投稿, 网上审稿, 网址: www.chinagene.cn

《遗传学报》(月刊) 邮发代号 2—819, 2006 年定价 40 元, 全年 480 元。

《遗传》(月刊) 邮发代号 2—810, 2006 年定价 30 元, 全年 360 元。

地 址: 北京市安定门外大屯路 中国科学院遗传与发育生物研究所编辑室

邮政编码: 100101

主 编: 薛勇彪 E-mail: ybxue@genetics.ac.cn

编辑室主任: 李绍武 E-mail: swli@genetics.ac.cn

电话/传真: 010—64889354, 010—64889348