

转基因作物研究进展及我国 转基因大豆的现状与未来

孙亚男 张维耀 王金星 潘文婧 姜成喜 付春旭

姜世波 曲梦楠 高陆思 景玉良 付亚书

(黑龙江省农业科学院绥化分院, 绥化 152000)

摘要:转基因作物从20世纪90年代发展至今,在农业、环境和社会经济等方面均取得了可观效益。随着转基因技术的不断发展,转基因作物育种可利用的目的基因、可改良的性状逐渐增多,基因编辑技术的兴起,使作物改良简单化、精准化。转基因作物种类增多、数量增加、种植面积增加,转基因产品的流通速率明显提高。对转基因技术进行了详细介绍,结合国际农业生物技术应用服务组织(ISAAA)数据分析得到国际及我国转基因作物的种植情况,针对转基因大豆的技术应用和研发成果进行了汇总与讨论,总结出现阶段我国转基因大豆及其产品在研发过程中存在的问题,并对转基因大豆的产业发展提出了合理建议,以期为中国转基因大豆育种工作提供参考。

关键词:转基因;大豆;产业化

基因工程技术(针对作物)总结为通过向生物体或细胞转入来自细菌、病毒、昆虫等任何一种生物体的优良外源基因(片段),移除或改变自身不良基因等手段,进而改变RNA或蛋白质水平的表达,创造出具有特定优异性状的新品种或新产品。基因工程技术可综合现代分子生物学、生物化学和细胞生物学等多项先进技术,是作物发展史上的一场空前革命^[1]。

转基因能准确、高效、有针对性地进行定向杂交^[2]。传统作物育种主要是通过对突变产生的优良基因和重组体进行选择和利用,进而获得优异新品系(品种)。这是有效的,也是目前应用最为普遍的育种方式,基本以高产、优质、抗逆为育种目标,但是,像抗除草剂、抗病虫以及其他复合性状或优良品质是主要粮食作物种质中缺少的,即原始作物中的DNA上不具有上述的功能基因。转基因育种技术的出现解决了这一难题,通过分子水平上的技术操作将细菌中的抗除草剂、抗虫等特定基因导入到大豆等粮食作物中,达到在高产、优质品种上附加抗除草剂、抗虫等性状的目的。转基因育种技术能够针对指定性状的目的基因进行操

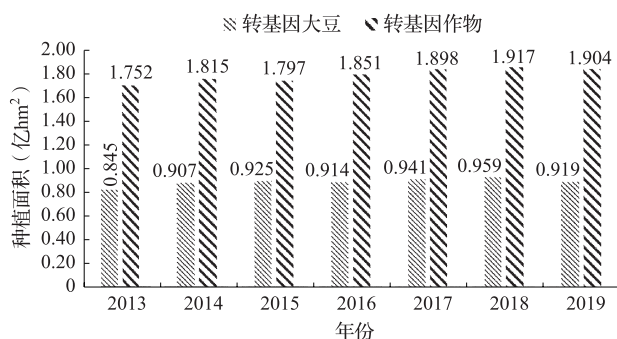
作,转化成功率高、时间相对较短,最重要的是可见性强。将转基因技术与传统育种技术结合,一方面能够显著提高作物品种改良的效率;另一方面在增强抗除草剂、抗虫、抗病、抗逆等抗性的同时,降低了农药、肥料的使用,这对保障粮食安全、保护生态环境、提高社会效益等方面都具有重要意义。

1 发展现状

1.1 转基因作物种植现状 1996年转基因作物首次进行商业化种植,总种植面积约170万hm²,截止到2019年,转基因作物种植面积已增加至1.9亿hm²,但根据国际农业生物技术应用服务组织(ISAAA)调查报告显示,种植面积大小到2013年已基本趋于稳定。世界范围内,参与转基因作物种植或引用的国家已超过70个,其中,美国、巴西、阿根廷、加拿大、印度的种植面积分别排第1~5位,主要农作物转基因应用率接近100%,其面积总和占全球转基因作物种植面积的90%以上。我国种植面积320万hm²,居世界第7位,排名靠前,但面积远小于美国等国。关于全球转基因作物种植面积、转基因大豆种植面积、各国转基因作物种类及种植面积的具体情况见图1和表1。

基金项目:生物育种科技重大专项(2019ZX16B01)

通信作者:景玉良,付亚书



数据来源于国际农业生物技术应用服务组织 (ISAAA),
截至 2019 年 12 月,下同

图 1 2013–2019 年全球转基因作物和转基因大豆种植面积

表 1 各国转基因作物应用及种植面积 (2019 年)

排名	国家	种植面积 (百万 hm ²)	转基因农作物
1	美国	71.5	玉米、大豆、棉花、苜蓿、油菜、甜菜、马铃薯、木瓜、南瓜、苹果
2	巴西	52.8	玉米、大豆、棉花、甘蔗
3	阿根廷	24.0	玉米、大豆、棉花、苜蓿
4	加拿大	12.5	油菜、大豆、玉米、甜菜、苜蓿、马铃薯
5	印度	11.9	棉花
6	巴拉圭	4.1	大豆、玉米、棉花
7	中国	3.2	棉花、木瓜
8	南非	2.7	玉米、大豆、棉花
9	巴基斯坦	2.5	棉花
10	玻利维亚	1.4	大豆

1.2 中国转基因作物发展的 4 个阶段 (1) 1986–2000 年转基因棉花开始在我国应用生产,大豆等粮食作物还处于实验研发阶段,整体还处于实验探索阶段。(2) 2001–2009 年开始走向全面创新阶段,注重自主研发,转基因主粮产业化日渐推进,启动转基因生物新品种培育重大专项。(3) 2010–2013 年转基因产品安全性受到争议,转基因产品研发、审定、生产经营等相关政策非常严格,几乎没有向前推进。(4) 从 2014 年至今,本着“确保安全、自主创新、大胆研究、慎重推广”的原则,我国转基因农作物已经进入有序发展状态。

1.3 中国转基因大豆发展现状 大豆是国际上最早实现转基因技术商业化应用的农作物,年种植面积近 1 亿 hm²,占转基因作物总面积的一半以上。

在转基因作物总种植面积和产量均居世界前 3 位的美国、巴西和阿根廷,转基因大豆面积占比均达到 90% 以上,可见,转基因技术对全球大豆产业的发展是举足轻重的^[3]。我国现已成功挖掘一些具有自主知识产权和生产应用价值的功能基因,如 *g2eps*、*g10evo-epsps* 等,中黄 6106、SHZD3201、ZUTS-33 3 个转化体已获得生产应用安全证书,逐步进入安全评价试验^[4],为我国转基因大豆的种植推广打下坚实基础。2022 年初,相关抗除草剂大豆已进入国家审定阶段,向商业化种植稳步推进。

2 技术应用领域

2.1 抗虫 目前,大豆应用的抗虫基因是植物抗虫基因工程中研究和应用最多的 *Bt* 基因,本研究仅针对 *Bt* 基因进行综述性讨论总结。早在 1994 年,Parrott 等^[5]就已成功获得含 *Bt* 基因的转基因大豆再生植株。1996 年 Stewart 等^[6]将 *Bt* 晶体蛋白基因 *CryIac* 成功导入到 Jack,转基因 Jack 成为首例抗虫转基因大豆,到目前为止,仍被广泛应用。经孟山都研发利用,来自 Kurstaki HD73 菌株的 *CryIac* 基因已实现商业化推广。

Bt 基因发现于苏云金芽孢杆菌,首先应用于棉花和玉米中,可以有效减少广谱杀虫剂的使用。早期的试验数据显示,转 *Bt* 基因棉花的单产可达非转基因棉花的 1.3~1.8 倍,可见,*Bt* 毒蛋白能够显著提高抗棉铃虫的能力^[7]。来源于 *Bt* 菌株的抗虫基因 *cryIac*、*cry2Ab2*、*cryIA.105* 都已成功转入大豆^[5],转 *cryIac* 基因抗虫大豆 MON87701,高抗大豆斜纹夜蛾、豆小卷叶蛾等鳞翅目害虫,于 2010 年获得商业化种植批准,成为首个实现商业化推广的抗虫大豆。

2.2 抗除草剂 各转基因作物均以抗除草剂转基因作物的种植面积和应用最为普遍和广泛。比如,GT 40-3-2 已在超过 10 个国家(地区)批准种植、超过 20 个国家(地区)批准食用或饲用,MON87705 在 3 个国家(地区)批准种植、超过 10 个国家(地区)批准食用或饲用。在抗除草剂转基因作物当中,抗草甘膦转基因大豆一直占主导地位。转基因利用率最高、商业化种植最广泛的抗草甘膦基因是从土壤农杆菌菌株 CP4 中分离得到的 *CP4-EPSPS* 基因,并于 20 世纪 90 年代在插入植物基因组中成功表达^[8]。

草甘膦的除草机制是抑制 EPSPS 酶(参与莽草酸合成)的活性,进而毒害植物体,因此,植物抗草甘膦方面的研究主要集中在 EPSPS。主要可通过以下 3 个方面:(1)挖掘低亲和力的 EPSPS 蛋白的编码基因,一般可从高抗草甘膦作物中克隆得到^[9],将分离得到的基因转入植物体即可得到高抗草甘膦的新品种。抗草甘膦基因 *CP4-EPSPS* 就是应用这一策略,已实现商业化应用推广。(2)通过提高植物自身 EPSPS 的表达量,增强植物体对草甘膦的抗性。*E.coli* 中含有抗草甘膦基因 *aroA*,Rogers 等^[10]首先将 *aroA* 进行克隆,再将其导入原 *E.coli* 寄主中,EPSPS 表达量显著提高,可达非转基因植株的 100 倍,明显增强了植物体对草甘膦的抗性;Shah 等^[11]通过过表达矮牵牛的内源基因 *EPSPS*,转基因植株对草甘膦的抗性是非转基因植株的 5 倍,这说明过表达 EPSPS 可以提高植物体对草甘膦的耐受性,但是,也有试验数据显示^[12],大多数情况下在植物中过量表达内源 EPSPS 并不能增强对草甘膦的抗性,这可能也是该种途径一直未选育出商业化种植推广品种的原因。(3)向植物体导入特定的外源基因,使植物本身可直接降解草甘膦,植株表现出对草甘膦的耐受性。这类基因可以从长期受草甘膦污染的土壤中分离得到^[13],从土壤中获得 *gox* 基因转入小麦,已得到高抗除草剂小麦植株^[14];孟山都公司与先锋公司的转 *gox* 相关基因的多种草甘膦抗性作物已实现商业化生产。

2.3 其他或复合性状 单性状转基因作物开启了转基因作物 1.0 时代,特定性改变农作物性状,解决了育种中的诸多难题。对品种附加或改良单一性状后,品种仍然存在其他性状方面的不足,因此,也就产生了复合性状转基因作物,开启了旨在完善品种各项性状的转基因作物 2.0 时代。有报道指出,在玉米中同时转入 *cry1AcM*、*epsps*、*GAT*、*ZmPIS* 4 个基因,使转基因玉米植株聚合抗玉米螟、抗草甘膦、抗旱的多种优良复合性状,在田间表现出极大优势。通过多基因单载体或多基因多载体转化,实现基因叠加,呈现出多复合性状,但无论是向植物中导入还是表达多个基因的难度都远大于单基因的操作^[15]。因为多基因单载体转化的插入片段较大,遗传转化效率较低;多基因多载体转化插入片段较小,位点随机,虽然转化效率提高,但后期转化体筛选工

作量大。因此,目前商业上应用的复合性状转化事件主要是通过筛选不同转化事件的杂交后代获得的。近些年,我国大豆也已开展这方面研究,在抗除草剂的基础上,将抗虫、品质等基因加入其中,这方面工作正在稳步推进。

随着时代的进步与发展,转基因开发走向 3.0 时代,即朝着生态型、营养型等食用或加工品质性状方面发展,目前并未取得显著成效。抗旱等逆境也是一个热点,2015 年由 Verdeca 研发的转化体为 HB4 的 *Hahb-4* 基因,是首个实现商业化种植的抗旱基因。2018 年 INDEAR 又研发出转化体为 HB4×GTS40-3-2, *Hahb-4* 和 *cp4-epsps* 的耐旱与抗除草剂同时存在的复合目的基因,也已实现商业化种植。通过转基因技术能调控大豆脂肪代谢途径和脂肪酸组成成分,提高大豆脂肪含量,改良脂肪品质^[16]。左娇等^[17]研究发现,转基因大豆除脂肪酸、黄酮和酚酸含量高于非转基因大豆外,对外界环境的适应性以及抗病性还有所提高。截至目前,获得商业化批准的高油转基因大豆共 12 个转化体,其中,杜邦公司研发的转基因大豆 Plenish,不含反式脂肪,油酸含量占大豆脂肪总含量的 3/4,早在 2011 年就被中国批准进口。之后,杜邦公司、孟山都公司在高亚麻油酸上的相关基因开发上也发展迅速。

3 存在问题

3.1 育种效率及研发机制有待提高 大豆转基因方面的研发投资远不及玉米,因为大豆遗传转化效率普遍低于玉米、水稻,转基因转化方面和转化体资源的筛选、鉴定方式都缺少突破与创新。转化体的分子特征、环境安全和食用安全评价技术体系仍然存在缺陷,在新品种培育上的应用效率还需提高,这也正是转基因育种进程中的重要环节。

截至 2022 年,我国具有自主知识产权或重要育种价值的功能性基因较少,*g2epsps*、*cry1C* 等少数抗除草剂、抗虫转基因大豆进入国家生产试验及以上阶段,对于耐盐碱、抗旱、优质高产等基因及转基因大豆还处于试验研究、中间试验等安全评价的初级阶段。对于大豆,除了抗除草剂获得了安全证书以外,其他性状基因还未真正应用于市场。近年来,科企之间的合作项目以“短、平、快”为主,而真正在种质资源和关键技术共享方面的合作较少,全面完善的分子生物技术领域的产学研战略合作体系并未

建成。

3.2 配套政策不够完善 我国“十三五”科技发展规划重点推进抗除草剂转基因大豆等主要产品的产业化。我国转基因大豆鉴于多方面监管制度及政策,在国内并未大面积放开种植,虽然在技术领域上基本可以与国际接轨,却还存在一定应用差距。转基因育种单位,每年开展试验前要经过逐级上报、申请及审批,个别年份会错过大豆最佳播种期,试验数据的准确性会受到影响。

目前,《农业转基因生物安全管理条例》及配套办法在加强监管、确保安全方面相对完善但却过于复杂,而在加快推进产业化、保障转基因产业可持续发展方面还存在缺陷。转基因大豆产业化涉及科研院所、育种单位、市场监管、进出口贸易等多个领域,现行法规制度不能直接指导如何具体实施或操作,亟待相关部门完善产业化配套政策。按照我国农业转基因生物安全管理需求,转基因大豆在我国的种植申请程序简单化,适当减小监管力度,加强对新技术产品检测标准的制订,加快新技术、新方法的标准化进程,进一步构建科学、先进、高效的农业转基因生物安全标准体系。

4 未来

4.1 开启转基因大豆新型育种时代 全球农业生物技术不断创新,植物育种的相关技术迅速发展,转基因性状更加多样,从原来的抗虫、抗除草剂,向高产/抗旱、养分高效利用、添加大豆所不具备的营养元素、改良大豆过敏物质^[18]等方向延展,Sleper等^[19]还尝试将转基因大豆应用于生产酶类、维生素、药品等医药领域,以上可满足于大豆市场化、商业化的额外需求,从而提高人们对转基因大豆及其他作物食品的认可^[20]。除此之外,通过基因编辑等手段,实现了基因定点突变、定点插入、定点敲除^[21],严格意义上来讲,基因编辑是对自身基因进行修饰加工,不涉及到外源基因,因此,基因编辑产品或全基因组选择育成品种通常不被认定为转基因产品,但此类产品同样是在分子水平上改良物种性状,也是分子生物技术产业化体系中的重要组成部分^[22]。而且,通过ZFN技术和TALEN技术能够实现对基因组进行定点修饰,进一步加快了转基因试验进程。如Calyxt公司研发出的高不饱和脂肪酸转基因大豆新品种,我国利用CRISPR-Cas9基因

编辑系统在大豆作物中成功实现了定向诱变等^[23]。将基因编辑与转基因技术有效结合,创造更多具有优良复合性状的转基因产品,促进转基因产品的更新换代,将是未来转基因大豆的重要育种发展方向。

4.2 推进转基因大豆产业化发展 全球大豆产业较为集中,主要分布在美国、巴西、阿根廷、中国、巴拉圭、加拿大这几个国家,2020年全球大豆产量3.6205亿t,其中巴西占36.7%(1.3300亿t),美国占31.3%(1.1350亿t),阿根廷占13.7%(5000万t),这3个国家是我国主要大豆进口来源国。而中国产量仅占全球的5.4%,排第4位。2020年我国大豆进口量首次超1亿t,再创历史新高,其中大部分为转基因大豆。我国拥有优良的大豆种质资源,但能够直接进行生物改良的资源有限,而且试验成本偏高,导致改良得到的新品种利润降低,使国内企业不得不依赖进口大豆,进一步制约了我国农业发展。着力培育优质转基因大豆新品种,并优化大豆种质资源布局,是保障我国粮食安全的重要措施之一。

在我国可用耕地面积减少、人口增加、环境压力增大的复杂情况下,发展转基因大豆等作物将是我国农业发展的重要方向之一。在后转基因时代,商业化育种的单位将按信息流分为:(1)上游,负责新基因的发掘和基础研究,是决定信息流产业链能否高效有序发展的重要因素;(2)中游,负责基因功能和安全性评估、新品种田间测试、使用权转让等,上、中游的工作主要由科研院所和高校负责;(3)下游,进行新品种审定,种子的加工生产和推广工作,由国家相关部门和种业公司实施完成。上中下游紧密衔接,相关单位积极配合,使转基因品种真正从实验室到大田^[24-25]。同时,加强对商业化转基因大豆的监管,保证转基因大豆及其产品的质量与安全性,促进转基因大豆产业的生态化发展。

4.3 积极参与全球化转基因育种竞争 研发单位与企业收购、并购并存,科企间允许专利互相许可,全球竞争模式趋于多元化,进一步推动转基因大豆在全球范围内的应用。我国转基因大豆技术核心研发单位将与各跨国公司参与产业化竞争是将来的必然趋势,像巴拉圭、巴基斯坦等转基因大豆种植大国并不是以研发为主体,它们通过拜耳

等跨国公司实现了知识产权的交流,打破了本国转基因体制内的多种局限,积极参与到全球转基因产业化竞争中。我国的转基因大豆育种技术就要与国际接轨,可以采用国内、国际同时推进的方法,积极开展转基因大豆技术引进来和走出去,紧跟国际转基因产品产业化步伐。

参考文献

- [1] 王晓君,张俊杰,胡宝仓,李文华. 中国SCI论文数据分析与思考. 科技管理研究,2016,6(17): 48-53
- [2] 王昌陵,王文斌. 浅谈杂交育种和转基因技术的关系. 大豆科技,2020(1): 42-44
- [3] 孟洪,陈少愚,李仕宝. 地市级农业科研院所与农技推广机构资源整合初探. 湖北农业科学,2019,58(20): 206-209
- [4] 闫伟,董立明,何禹璇. 我国转基因大豆研究进展. 农业科技管理,2021,40(4): 47-52,71
- [5] Parrot W A, All J N, Adang M J, Bailey M A, Boerma H R. Recovery and evaluation of soybean plants transgenic for a *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki insecticidal* gene. In *Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 1994, 30: 144-149
- [6] Stewart Jr C N, Adang M J, All J N. Genetic transformation, recovery, and characterization of fertile soybean transgenic for a synthetic *Bacillus thuringiensis cryIac* gene. *Plant Physiology*, 1996, 112: 121-129
- [7] Qaim M. Bt cotton in India: field trial results and economic projections. *World Development*, 2003, 31, 12: 2115-2127
- [8] Green J M. Evolution of glyphosate-resistant crop technology. *Weed Science*, 2009, 57(1): 108-117
- [9] Gauvrit C. Resistance to glyphosate: current status and mechanisms. Paris: In Association National pour la Production des Plantes, 2007: 149-158
- [10] Rogers S G, Brand L A, Holder S B, Sharps E S, Brackin M J. Amplification of the *aroA* gene from *Escherichia coli* results in tolerance to the herbicide glyphosate. *Applied and Environmental Microbiology*, 1983, 46: 37-43
- [11] Shah D M, Horsch R B, Klee H J. Engineering herbicide tolerance in transgenic plants. *Science*, 1986, 233: 478-481
- [12] Bradshaw L D, Padgett S R, Kimball S L. Perspectives on glyphosate resistance. *Weed Technology*, 1997, 11: 189-198
- [13] Forlania G, Mangiagallia A, Nielsena E, Suardi C M. Degradation of the phosphonate herbicide glyphosate in soil: Evidence for a possible involvement of unculturable microorganisms. *Soil Biology & Biochemistry*, 1999, 31: 991-997
- [14] Zhou L, Wang C, Liu R F, Han Q, Vandeleur R K, Du J, Tyerman S, Shou H X. Constitutive overexpression of soybean plasma membrane intrinsic protein GmPIPI1; 6 confers salt tolerance. *BMC Plant Biology*, 2014, 14: 181
- [15] Halpin C. Gene stacking in transgenic plants—the challenge for 21st century plant biotechnology. *Plant Biotechnology Journal*, 2005, 3: 141-155
- [16] 任波,李毅. 大豆种子脂肪酸合成代谢的研究进展. 分子作物育种, 2005, 3(8): 301-306
- [17] 左娇,郭运玲,孔华. 转基因大豆安全性评价的研究进展. 热带作物学报, 2013, 34(7): 1402-1407
- [18] Chen H, Lin Y. Promise and issues of genetically modified crops. *Current Opinion in Plant Biology*, 2013, 16(2): 255-260
- [19] Sleper D A, Shannon J G. Role of public and private soybean breeding programs in the development of soybean varieties using biotechnology. *Agbioforum*, 2003, 6(1-2): 27-32
- [20] Rommens C M. Barriers and paths to market for genetically engineered crops. *Plant Biotechnol Journal*, 2010, 8(2): 101-111
- [21] 梁晋刚,贺晓云,武玉花,李夏莹,张秀杰. 中国农业转基因生物安全标准体系现状与展望. 农业生物技术学报, 2020, 28(5): 911-917
- [22] 林落. 基因编辑“进军”农业育种. 科学新闻, 2016, 18(12): 71-73
- [23] Sun X, Hu Z, Chen R, Jiang Q, Song G, Zhang H, Xi Y. Targeted mutagenesis in soybean using the CRISPR-Cas9 system. *Scientific Reports*, 2015, 5: 10342
- [24] 徐国平. 后转基因时代的商业化玉米育种 // 2012年全国玉米遗传育种学术研讨会暨新品种展示观摩会论文及摘要集. 2012: 245-248
- [25] Cabello J V, Lodeyro A F, Zurbriggen M D. Novel perspectives for the engineering of abiotic stress tolerance in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 2014, 26: 62-70

(收稿日期: 2022-02-17)

七部门联合印发《关于保护种业知识产权打击假冒伪劣套牌侵权营造种业振兴良好环境的指导意见》

【本刊讯】2022年03月25日,农业农村部、最高人民法院、最高人民检察院、工业和信息化部、公安部、市场监管总局、国家知识产权局联合印发了《关于保护种业知识产权打击假冒伪劣套牌侵权营造种业振兴良好环境的指导意见》(以下简称《意见》)。

《意见》以习近平新时代中国特色社会主义思想为指导,深入贯彻党的十九大和十九届历次全会精神,落实知识产权强国建设纲要和种业振兴行动方案部署要求,以强化种业知识产权保护为重点,坚持部门协同、上下联动、标本兼治,综合运用法律、经济、技术、行政等多种手段,推行全链条、全流程监管,既立足解决当前突出问题,又着力构建打基础利长远的体制机制,有效激励原始创新,全面净化种业市场。力争到2023年,建立起较为完备的种业知识产权保护制度体系,假冒伪劣、套牌侵权等违法犯罪行为得到有效遏制;到2025年,种业知识产权保护能力显著提升,种业自主创新环境持续优化。