

转基因抗虫棉

遗传与育种

◎ 吴国荣 承泓良 王宣山 编著

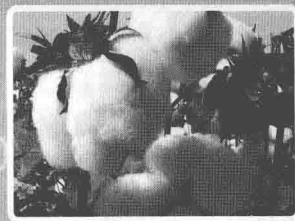
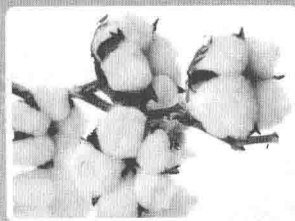
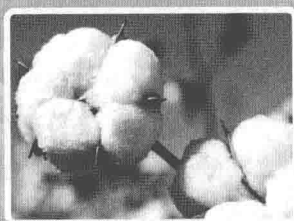


中国农业科学技术出版社

转基因抗虫棉

遗传与育种

◎ 吴国荣 承泓良 王宣山 编著



图书在版编目 (CIP) 数据

转基因抗虫棉遗传与育种 / 吴国荣, 承泓良, 王宣山编著. —北京:
中国农业科学技术出版社, 2016. 7

ISBN 978 - 7 - 5116 - 2680 - 6

I. ①转… II. ①吴… ②承… ③王… III. ①棉花 - 抗虫性 - 遗传育种
IV. ①S562. 034

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2016) 第 167250 号

责任编辑 贺可香
责任校对 贾海霞

出版者 中国农业科学技术出版社
北京市中关村南大街 12 号 邮编: 100081
电 话 (010) 82109704 (发行部) (010) 82106638 (编辑室)
(010) 82109709 (读者服务部)
传 真 (010) 82106650
网 址 <http://www.castp.cn>
经 销 者 各地新华书店
印 刷 者 北京富泰印刷有限责任公司
开 本 880 mm × 1 230 mm 1/16
印 张 30.5
字 数 950 千字
版 次 2016 年 7 月第 1 版 2016 年 7 月第 1 次印刷
定 价 120.00 元

— 版权所有 · 翻印必究 —

前言

当今世界,科学技术发展突飞猛进,新兴学科、交叉学科不断涌现,科技进步对经济社会的影响日益广泛和深刻。伴随着信息科技革命方兴未艾的浪潮,生命科学和生物技术的发展也正在展现出无可限量的前景。越来越多的人们已经预见到,一个生命科学新纪元即将来临,21世纪将是生命科学迅猛发展的时代。如今现代生物技术广泛应用于农业、医药与健康、能源、环境保护等领域,对科技发展、社会进步和经济增长产生极其重要而深远的影响。

转基因抗虫棉是现代生物技术主要组成部分的转基因技术与传统棉花育种技术有机结合的产品,也是传统棉花育种技术的重大创新。自1996年全球首个转基因抗虫棉在美国进入商业化推广以来,其种植面积呈现出逐年迅猛增长的势头。据Narajo(2010)报道,全球转基因抗虫棉面积由1996年的25万 hm^2 增加到2009年的1550万 hm^2 ,增加了61倍,占全球棉花种植总面积的49.52%。由于转基因抗虫棉的推广应用有效地控制了棉花重要害虫的发生,大大降低了化学农药的使用。据Barfoot等(2010)统计,1996—2008年,转基因抗虫棉的种植减少了31.4亿 kg 化学农药活性成分的施用。在我国,2014年转基因抗虫棉种植面积占全国棉田面积的93%。据统计,种植转基因抗虫棉增收节支约2100元/ hm^2 ,至2006年累计减少农药用量25.5万 t ,为棉农增收节支超过238亿元。

棉花品种在棉花生产系统中处于技术核心地位。因为任何外在因素(包括栽培技术措施和气候、土壤、水系等自然条件)只有通过品种这个内在因素才能发挥作用。随着现代科学与技术的发展,不同学科间相互渗透、相互交叉已成为常态,因而转基因抗虫棉遗传与育种必然涉及生物技术、植物保护、土壤、昆虫、微生物、植物生理、遗传育种和农业技术经济等多学科领域的内容,已成为一个综合性问题。棉花科学技术专家从不同学科角度出发,对转基因抗虫棉遗传育种进行了系统、深入的研究,并已取得具有科学意义和应用价值的研究成果。本书意在梳理、综合这些科研成果,试图为今后这方面的深入研究和研究成果的推广应用提供有益的参考。本书内容包括转基因作物研究与应用概况;与转基因抗虫棉遗传育种相关的外源抗虫基因来源、遗传转化方法、抗虫性与经济性状遗传方式、常规棉与杂交棉育种技术、田间试验技术、良种繁育等;与转基因抗虫棉应用研究相关的转基因抗虫棉对靶标害虫、非靶标昆虫和土壤生态系统的影响;以及转基因抗虫棉应用概况与发展展望,共11章。吴国荣执笔第一章、第二章、第三章、第五章、第六章,承泓良执笔第八章、第九章、第十章,王宣山执笔第四章、第七章、第十一章,最后由承泓良和王宣山统稿、定稿。本书突出科学性、系统性和实用性,适合棉花科学技术人员阅读和参考,也可作为农业院校师生的参考书。

衷心感谢江苏金色农业科技发展有限公司对本书的编撰与出版所给予的大力支持。

本书编写过程中,参阅了大量公开发表的文献资料,并有选择地吸取了相关的科研成果。在此谨向各位原著作者致以衷心的感谢。由于编著者的知识与经验有限,书中难免会有这样或那样的缺点和错误,敬请读者批评指正。

编著者

2016年3月

目 录

第一章 转基因作物研究与应用概况	(1)
第一节 研究概况	(1)
一、转基因作物的诞生	(1)
二、转基因技术的发展	(4)
第二节 应用概况	(9)
一、全球转基因作物种植情况	(9)
二、我国转基因作物种植情况	(10)
三、转基因作物的经济、社会和环境效益	(11)
第二章 外源抗虫基因的来源与遗传转化方法	(14)
第一节 外源抗虫基因的来源	(14)
一、来源于微生物的抗虫基因	(14)
二、来源于植物的抗虫基因	(15)
三、来源于动物的抗虫基因	(17)
第二节 遗传转化方法	(18)
一、农杆菌介导法	(18)
二、基因枪法	(19)
三、花粉管通道法	(20)
第三节 Bt 毒蛋白的杀虫机理	(20)
第四节 转 Bt 棉基因抗虫棉中 Bt 毒蛋白鉴定方法	(23)
第三章 转基因抗虫棉的遗传	(25)
第一节 抗虫性的遗传方式	(25)
一、转 Bt 基因抗虫棉	(25)
二、转 (Bt + CpTI) 双价基因抗虫棉	(36)
第二节 数量性状的遗传	(40)
一、遗传率	(40)
二、基因效应	(42)
三、性状间相关性	(52)
第四章 转基因抗虫常规棉育种	(68)
第一节 杂交育种的基本程序	(68)
一、发现和创造变异	(68)
二、稳定和选择变异	(69)
三、鉴定和比较变异	(70)
四、保持变异	(70)
第二节 亲本选配	(71)

一、选择综合性状优良的亲本	(71)
二、选择前期生长势强的大铃品种	(71)
三、选择生育期相对较短的品种	(72)
第三节 育种方法与策略	(76)
一、杂种品系间互交育种法	(76)
二、分裂交配	(76)
三、棉花混选——混交育种体系	(77)
四、修饰回交法	(77)
五、保持基因流动性育种杂种种质库建设体系	(77)
第四节 杂种分离世代抗虫性的鉴定与筛选	(80)
一、生物鉴定	(81)
二、卡那霉素鉴定	(85)
第五章 转基因抗虫杂交棉育种	(90)
第一节 杂种优势的度量	(90)
一、中亲优势	(90)
二、超亲优势	(91)
三、竞争优势	(91)
第二节 杂种优势的遗传假说	(91)
一、基因的加性作用和非加性作用	(91)
二、显性假说和超显性假说	(92)
三、基因网络系统	(93)
第三节 转基因抗虫棉杂种优势的表现	(93)
一、抗虫性	(94)
二、产量及其构成因素	(97)
三、棉纤维品质	(103)
四、杂种优势表达的机理	(109)
第四节 亲本选配	(116)
一、亲子关系	(116)
二、亲本间遗传关系	(118)
三、配组方式	(126)
第五节 杂种优势利用途径	(133)
一、人工去雄授粉法	(133)
二、棉花雄性不育系的利用	(138)
三、标志性状利用	(148)
第六章 田间试验技术	(152)
第一节 试验误差的概念	(152)
第二节 试验地选择	(153)
一、均匀性	(153)
二、代表性	(153)
第三节 田间试验设计	(153)
一、田间试验设计的3个基本原则	(154)
二、适当的小区技术	(154)

三、适用于大量育种材料作比较试验的试验设计	(155)
第四节 统计方法的应用	(160)
一、提供试验数据的特征数	(160)
二、测验特征数间的差异显著性	(160)
三、分析试验数据的变异	(161)
四、分析试验数据间的相关关系	(161)
五、由样本结果推断总体特征	(161)
六、评价和改进试验的设计和抽样	(161)
七、控制试验误差的统计方法	(162)
第七章 良种繁育	(165)
第一节 品种在棉花生产系统中的地位	(165)
第二节 良种繁育的意义和任务	(167)
第三节 棉花品种退化的现象与原因	(167)
一、品种退化的表现	(167)
二、品种退化的特点	(168)
三、品种退化的原因	(169)
第四节 转基因抗虫杂交棉不同制种方法的效益比较	(178)
第八章 转基因抗虫棉对靶标害虫的影响	(180)
第一节 转基因抗虫棉对棉田昆虫群落结构的影响	(180)
第二节 Bt 棉对靶标害虫幼虫的毒杀效果	(193)
一、对棉铃虫幼虫的杀虫活性	(193)
二、对棉铃虫幼虫生长发育的影响	(201)
三、对棉铃虫杀虫活性的时空变化	(207)
四、Bt 棉 Bt 毒蛋白表达量的时空变化	(215)
第三节 (Bt + CpTI) 双价对靶标害虫幼虫的毒杀效果	(227)
一、对棉铃虫幼虫的杀虫活性	(228)
二、对棉铃虫幼虫生长发育的影响	(231)
三、对棉铃虫幼虫杀虫活性的时空变化	(235)
第四节 影响转基因抗虫棉对棉铃虫幼虫杀虫活性的因素	(240)
一、外界环境条件	(240)
二、棉花自身发育的调控	(252)
第九章 转基因抗虫棉对非靶标昆虫的影响	(264)
第一节 对非靶标害虫的影响	(264)
一、对棉蚜的影响	(264)
二、对棉叶螨的影响	(292)
三、对烟粉虱的影响	(299)
四、对斜纹夜蛾的影响	(306)
五、对甜菜夜蛾的影响	(312)
六、对玉米螟的影响	(319)
七、对棉大卷叶螟的影响	(324)
八、对小地老虎的影响	(327)
九、对其他非靶标害虫的影响	(331)

十、转基因抗虫棉推广应用与非靶标害虫为害的关系	(334)
第二节 对天敌昆虫的影响	(335)
一、对天敌种群的影响	(336)
二、对捕食性天敌的影响	(342)
三、对寄生性天敌的影响	(355)
四、对寄生性天敌种群和群落的影响	(367)
第三节 对经济昆虫的影响	(369)
第十章 转基因抗虫棉对土壤生态系统的影响	(377)
第一节 Bt 毒蛋白在土壤中的活性	(377)
第二节 对土壤养分和酶活性的影响	(383)
一、土壤养分	(383)
二、酶活性	(388)
第三节 对土壤微生物群落的影响	(403)
第四节 对土壤动物的影响	(434)
第十一章 转基因抗虫棉的应用概况与发展展望	(445)
第一节 应用概况	(445)
第二节 发展展望	(450)
主要参考文献	(453)

第一章 转基因作物研究与应用概况

人口、资源、环境一直是人类生存与发展所面临的主要问题。近年来,由于人口增长、气候变化、金融危机等因素,出现了全球性的粮食短缺,主要农产品价格快速上涨,在世界范围内造成了粮食危机与恐慌。联合国粮食及农业组织、世界粮食计划署联合公布的2010年度报告显示,全球共有37个国家面临粮荒,2009年全球饥饿人口突破10亿,是过去40年来的最高值。而可利用的耕地和淡水资源却逐年减少,大量使用农药、化肥导致环境严重污染并增加了农业生产成本和农民负担,粮食产量增长潜力已几乎发掘殆尽,培育的新品种在产量潜力上难有重大突破。近年来,一些科学家、政治家、经济学家提出第二次绿色革命,即以可持续发展的、不影响环境的方式提高农作物产量和品质。而通过转基因技术培育出的转基因作物将为世界农业发展注入新的动力。

第一节 研究概况

一、转基因作物的诞生

基因(遗传因子)是遗传的物质基础。奥地利人孟德尔进行了长达12年的植物(豌豆)杂交试验,于1865年发表了遗传因子(现代遗传学称为基因)的观点。19世纪20年代,美国遗传学家摩尔根通过对果蝇的研究,提出基因存在于染色体上,是组成染色体的遗传单位,它能控制遗传性状的发育,也是突变、重组、交换的基本单位。1953年,沃森和克里克提出著名的脱氧核糖核酸(DNA)双螺旋结构模型。现在我们认识到,基因是具有遗传效应的DNA片断,脱氧核苷酸的排列顺序(碱基序列)决定基因的信息。某种生物的基因组包含了这种生物的所有基因。

转基因技术是将一种生物基因转移到另一种生物(或同种生物的不同品种)内的工程化生物技术,导入基因通过表达能引起生物体性状发生可以遗传的改变,这种外源导入基因称为目的基因。科学家将细菌的DNA分子切开,接入另一段外源DNA,将改造后的DNA重新导入细菌,使其产生新的外源蛋白,这是经典的基因工程。而现在广义的基因工程则指按人们意愿,改造或设计动物、植物以及微生物的基因或基因组,从而改变生物的遗传特性,构建具有新性状的转基因生物。

转基因作物的研究始于20世纪70年代末80年代初。1977年,Ackermann用野生型Ri质粒转化烟草细胞获得再生植株。1979年,Marton等将Ti质粒转入烟草原生质体中,获得愈伤组织并再生出芽。1983年1月8日,Bevan等、Fraley等和Herrera-Estrella等分别在Miami Winter Symposium会议上宣布利用农杆菌将外源基因转入植物体内获得成功,转基因植物从此诞生。随后有研究分别报道了用去除癌基因的根癌农杆菌及发根农杆菌进行基因转移,获得形态正常的转基因植物。1984年,胡萝卜、牵牛花、白花烟草等植物相继获得转基因植株(Horsch等);1985年,培育出转基因油菜(Ooms等);1985年,Horsch等首创叶盘法进行植物遗传转化,他们利用根癌农杆菌感染烟草、番茄和矮牵牛叶片外植体,成功获得了转基因植物。这种方法简单且高效,开创了植物外植体遗传转化的新途径。1987年,Sanford等建立了基因枪转化法,并成功转化了多种植物。早期农杆菌介导法只适用于双子叶植物的遗传转化,随后不久许多单子叶植物的遗传转化也获得成功(Cat-

lin 等, 1988; Bytebier, 1988)。据不完全统计, 目前至少有 35 科 120 多种植物已成功培育出转基因植物, 包括水稻、玉米、棉花、大豆、番茄、马铃薯、烟草、油菜、番木瓜等重要农作物; 涉及的性状包括抗除草剂、抗虫、抗病害、抗逆以及品质改良等, 另外还有一些转基因植物用作生物反应器的报道 (Farre, 2008); 部分转基因植物已商业化生产, 并应用于食品和饲料 (James, 2009)。

据统计, 我国正在研究的转基因植物种类达 52 种, 列前 10 位的分别是: 棉花、水稻、玉米、马铃薯、番茄、小麦、油菜、烟草、杨树、大豆。通过国家商品化生产许可的有转基因耐储藏番茄、转查尔酮合成酶基因矮牵牛、抗病毒甜椒、抗病毒番茄、抗虫棉花、抗病毒木瓜和抗虫欧洲黑杨等 7 种。还有转基因水稻、玉米、油菜、马铃薯、大豆、小麦及林木等 30 种植物获准进入中间实验、环境释放或生产性实验 (国家发展和改革委员会等, 2010; Chen 等, 2011; 邱丽娟等, 2011; Huang 等, 2009; Hu 等, 2006; Song 等, 2007; Tian 等, 2009; Wu 等, 2008; Xue 等, 2010; 黎裕等, 2010)。

(一) 转基因植物种类

1. 棉花

目前, 我国已培育转基因抗虫棉品种 160 多个, 其中国审品种 60 多个。针对抗虫棉面临的后期抗虫性弱、(*Bt* + *CpTI*) 双价抗虫基因不同步表达、转基因抗虫棉抗棉铃虫而不抗蚜虫等问题, 成功研制并构建了新的拥有自主知识产权的融合抗虫基因 *CryCI*, 抗棉铃虫效果由通常的 80% 提高到 90% 以上, 转基因植株在保持高抗棉铃虫的同时, 蚜虫虫口减退率由原来的 30% 提高到 60%。此外, 选育出了农艺性状优良、兼抗除草剂和病虫的转基因棉花新品系, 已进入环境释放阶段。

2. 水稻

转基因 (*CryAb/CryIac*) 抗虫水稻获得了安全证书, 已具备产业化条件。创制了一批新型抗虫转基因新材料, 其中转 *cry2A* 和 *cryIC* 基因水稻对二化螟等螟蛾科的鳞翅目昆虫有高度抗性。高抗、广谱和无选择标记新型抗虫、抗草甘膦转基因水稻品系进入生产性试验。抗除草剂、白叶枯病、稻瘟病、纹枯病、淀粉品质转基因新材料进入中间试验。此外, 还创制了一大批抗逆、品质改良、功能型、高产等转基因水稻新材料。

3. 玉米

转植酸酶基因玉米新品系通过了安全评价, 获得了安全证书。抗虫转基因玉米已进入环境释放, 抗除草剂材料进入中间试验阶段。此外, 还创制了一批抗旱、耐盐、耐冷、抗粗缩病、高赖氨酸以及磷或钾高效利用的转基因玉米新材料。

4. 小麦

抗黄花叶病转基因小麦新品系进入生产性试验阶段, 抗旱转基因小麦新品系和耐盐转基因小麦新品系进入环境释放阶段, 抗赤霉病、纹枯病以及磷、钾高效利用转基因小麦进入中间试验阶段。此外, 还创制了一批抗除草剂、抗穗发芽、抗白粉病、抗大麦黄矮病毒、抗蚜虫、优质转基因新材料。

5. 大豆

抗大豆食心虫和苜蓿夜蛾、抗蚜虫大豆进入环境释放阶段。抗草甘膦除草剂、新型转双价基因抗除草剂、抗旱、高含硫氨基酸、钾高效大豆等进入中间试验。

6. 园艺和林木

培育出耐储藏番茄“华番一号”、抗芜菁花叶病毒转基因白菜, 以及转 *Bt* 基因抗虫甘蓝。获得了抗虫转基因欧洲黑杨、毛白杨、美洲黑杨、欧美杨、落叶松, 并获得对天牛有抗性的转基因杨

树植株及北京杨和新疆杨双抗虫转基因植株。转基因抗虫杨 12 号已通过品种审定, 抗虫 741 已获得品种保护。我国对香石竹和矮牵牛的转基因改良成绩突出, 其中转基因改变花色的矮牵牛是我国第一例转基因释放材料。此外, 转基因菊花业已获得成功, 先后培育出抗虫、花期调节的菊花转基因株系, 目前正进行产业化的前期试验。

(二) 转基因作物按性状分

1. 转基因抗除草剂作物

目前世界上种植面积最大的一类转基因植物是抗除草剂作物。通过喷洒除草剂, 可以抑制田间杂草生长而不影响转基因作物的生长, 因此节约了劳动力, 减少水土流失。根据所抗除草剂类型不同, 转基因抗除草剂作物可以分成五大类: ①抗草甘膦转基因作物, 包括番茄、玉米、水稻、小麦、向日葵和甜菜等; ②抗草铵膦转基因作物, 包括玉米、小麦、水稻、大豆、油菜、马铃薯、番茄和苜蓿等; ③抗磺酰脲类除草剂转基因作物, 包括油菜、水稻、大豆、亚麻、棉花、番茄、甘蔗、甜瓜等; ④抗溴苯腈转基因作物, 包括油菜、棉花、马铃薯、烟草等; ⑤其他, 如抗阿特拉津的转基因作物。1994 年, 抗溴苯腈的转基因棉花开始种植, 1996—1998 年, 转基因抗草甘膦大豆、棉花、玉米以及转基因抗草铵膦油菜、玉米和棉花开始大面积种植。抗除草剂作物培育时, 首先需要考虑选择除草剂的种类。例如, 溴苯腈类除草剂因具有致畸危害, 已被许多国家禁用。目前以广谱、无土壤残留且廉价的草甘膦为目标而创制出的抗除草剂作物占绝对优势, 其中尤以抗草甘膦大豆在世界范围内种植面积最广; 其次是抗草胺膦作物以及抗咪唑啉酮作物。2009 年, 全球耐除草剂大豆的种植面积达 6 920 万 hm^2 , 占转基因作物种植面积的 52%, 耐除草剂玉米、棉花、油菜、苜蓿也都在世界范围广泛种植, 节约了大量劳动力, 极大地提高了农业生产效率。

2. 转基因抗虫作物

虫害每年给农业生产带来巨大损失, 世界每年因此造成的损失占农作物总产量的 30% 以上, 在一些国家和地区, 其损失甚至可达 80% (Farre 等, 2010)。植物抗虫基因工程为害虫防治提供了新的途径。目前常用的抗虫基因可以分为三大类: ①从细菌中分离出来的抗虫基因, 如苏云金杆菌杀虫蛋白基因 (Bt); ②从植物组织中分离出来的抗虫基因, 如蛋白酶抑制剂基因、外源凝集素基因、淀粉酶抑制剂基因等; ③从动物体内分离到的毒素基因, 如蝎毒素基因、蜘蛛毒素基因等 (Christou 等, 2006)。最近又发展出一些新的抗虫方法, 例如, 在转基因植物中表达靶向昆虫基因的双链 RNA, 昆虫取食植物后体内靶基因表达受到抑制, 导致生长受到影响 (Mao 等, 2007; Baum 等, 2007); 在玉米中表达石竹烯合成酶, 使玉米根系持续释放石竹烯, 吸引一些线虫从而减轻甲虫对玉米根系的危害 (Degenhardt 等, 2009)。2009 年, 全球转基因抗虫作物种植面积达 2 170 万 hm^2 , 占世界转基因作物种植总面积的 15%。其中大部分是转 Bt 基因的作物, 包括玉米、棉花、茄子等。抗除草剂和抗虫是转基因作物最重要的改良性状, 因此开始出现一些将抗虫与抗除草剂性状叠加在一起的转基因作物 (James, 2009)。

3. 转基因抗病作物

细菌、真菌以及病毒都能导致作物感染, 造成严重产量损失, 但世界范围内转基因抗病作物种植面积远小于抗除草剂、抗虫转基因作物 (James, 2009)。目前主要通过转入抗微生物蛋白, 如抗菌肽 (Barrell 等, 2009)、几丁质酶 (Mercedes 等, 2006; Karasuda, 2003)、防御素 (Jha 等, 2009), 以提高作物的抗细菌和抗真菌能力; 转入病毒的壳蛋白 (coat protein, CP) 基因提高抗病病毒能力 (Furtani 等, 2006; Collinge 等, 2001)。最近也出现了一些新的抗病方法, 例如, 在水稻中表达 NAC 转录因子 OsNAC6 提高植株抵抗生物胁迫和非生物胁迫能力 (Nakashima 等, 2007)。通过提高次生代谢物含量提高作物抗病能力 (Lorenc Kukula 等, 2009; Barder 等, 2006)。通过 RNA 干扰技术提高作物对病毒的免疫力 (Wang 等, 2000) 等。20 世纪 90 年代, 番木瓜环斑病斑

毒 (PRSV) 对全世界番木瓜生产造成了毁灭性的影响。美国科学家将病毒的外壳蛋白转入番木瓜后, 获得了可以抵抗 PRSV 的转基因番木瓜, 不但提高了产量和品质, 还显著降低了生产成本。

4. 营养品质改良作物

作物品质改良最重要的方面是提高作物的产量和营养价值。转基因技术在植物代谢工程和品质改良方面也具有重大潜力。Zha 等 (2009) 在水稻中表达了一个细胞膜蛋白 LRKI, 使植物花序、小穗数量以及粒重增加, 最终产量增加了 27%。还有很多关于增加作物营养价值的报道, 提高胡萝卜素 (Zha 等, 2008; Fujisawa 等, 2009; Lopez 等, 2008) 和维生素, 如叶酸 (Diaz 等, 2007; Storozhenko 等, 2007)、维生素 E (Tavva 等, 2007) 的含量水平。2009 年, Naqvi 等报道了同时提高叶酸、类胡萝卜素和抗坏血酸含量的转基因玉米, 其种子中类胡萝卜素含量增加了 407 倍, 抗坏血酸增加了 6.1 倍, 叶酸增加了 2 倍。另外, 提高人体必需氨基酸含量 (Wu 等, 2007; Frizzi 等, 2008)、长链不饱和脂肪酸 (Burgal 等, 2008; Hoffmann 等, 2008; Kajikawa 等, 2009) 以及矿质元素 (Edwards 等, 2009; Park 等, 2009) 含量的转基因作物也取得了很大进展。瑞士科学家 Potrykus 领导的小组将类胡萝卜素合成的基因转入水稻, 在胚乳中表达, 培育出富含类胡萝卜素的金色大米, 显著提高了大米的营养价值。

5. 生物反应器

转基因作物也可以作为生物反应器用于生产蛋白、化合物和疫苗 (Twyman 等, 2005)。例如, 在水稻种子中表达柳杉花粉表面抗原用于口服疫苗 (Yang 等, 2007), 在烟草中表达口蹄疫病毒的两个蛋白, 叶片提取物可以成功诱导猪的免疫反应 (Pan 等, 2008)。转基因作物作为廉价、高效的生物反应器在医药领域具有很大的应用潜力。

6. 复合性状转基因作物

具有复合性状的转基因作物是未来的发展趋势。第一代的转基因作物仅带有筛选标记基因, 主要用于转化系统的建立; 第二代的转基因作物同时包含 1~2 个农艺性状基因, 主要为害虫或除草剂抗性基因; 第三代的转基因作物将带有多个外源基因, 可同时带有抗虫、抗病、抗除草剂、高产、抗旱、优质等性状, 另外还能实现受控基因的时空表达特征等, 使转基因技术的应用逐渐走向复合性基因的研究、开发及使用。2009 年, 种植转基因作物的 25 个国家中已有 11 个国家种植复合性状的转基因作物。2009 年, 美国 3 520 万 hm^2 玉米作物中 85% 为转基因品种, 其中 75% 为双性状或三性状杂交作物, 转基因棉花占美国、澳大利亚和南非棉花种植面积的 90% 以上, 其中双性状杂交种占美国所有转基因棉花的 75%, 澳大利亚为 88%, 南非为 75%。未来的复合性状产品将包括抗虫、耐除草剂和耐干旱, 以及优良营养性状等, 如高 $\omega 3$ 油用大豆或增强维生素 A 的稻米。2009 年 4 月, 西班牙和德国的一个研究小组成功开发出一种富含 3 种维生素的转基因玉米, 这标志着人们首次实现了在单一作物中引入多种维生素的突破。2009 年, 获得批准的新型玉米 SmartStax™, 它包含了 8 种不同的抗虫与耐除草剂基因, 具有 3 种性状, 包括两种抗虫性 (一种抗地上害虫, 一种抗地下害虫) 和除草剂抗性 (James 等, 2009)。

二、转基因技术的发展

国际上转基因技术主要采用农杆菌介导法和基因枪介导法。目前, 全球已经批准商业化应用的转基因植物有 107 种, 其中利用农杆菌介导法转化的占 64%, 基因枪介导法占 31%, 其他 DNA 直接转移法和电激法等占 5% (James, 2009)。

(一) 含标记基因的转基因技术

1. 农杆菌介导转化法

农杆菌细胞内的 Ti 质粒或 Ri 质粒具有一段 T-DNA, 可通过农杆菌侵染植物伤口进入细胞, 并

插入到植物基因组中。将目的基因插入到经过改造的 T-DNA 区,借助农杆菌的感染可实现外源基因向植物细胞的转移与整合,然后通过细胞和组织培养技术,再生出转基因植株。1983 年该技术开始用于植物的遗传转化研究。

2. 基因枪轰击转化法

利用火药爆炸或高压气体加速,将包裹了带有目的基因的 DNA 溶液高速微弹直接送入完整的植物组织和细胞中,然后通过细胞和组织培养技术,再生出植株。该技术始于 1987 年,克服了当时农杆菌介导的转基因方法受受体种类和基因型的限制。目前,已开发出超声波辅助农杆菌介导法、农杆菌法等,将有助于拓宽受体的基因型范围,提高转化频率。

科学技术是一把无情的“双刃剑”。尽管转基因技术经过多年的发展,已相对比较成熟,但一些缺点开始逐渐暴露,例如,插入位点随机,基因表达水平个体差异大,筛选过程中的抗性基因可能会造成生物安全问题等。因此,转基因作物的应用引起了公众对生物安全性的普遍担忧,其生物安全性问题已成为严重制约转基因技术成果推广应用的“瓶颈”(卢宝荣等,2003)。世界上很多国家都十分关注生物安全问题,并把生物安全与经济安全、金融安全、国防安全、政治安全等放在同等重要的战略地位,并相应制定了各种管理制度保障其生物安全。但这些措施只是严格限制了转基因作物的应用范围,并不能从根本上缓解转基因作物应用的生物安全“瓶颈”问题。为解决上述问题。近年来已发展出一些新的转基因技术,提高了转基因作物培育效率并使其更加适合生产应用。

(二) 无标记基因的转基因技术

由于植物细胞遗传转化效率较低,因此在遗传转化过程中需要通过一些标记基因进行筛选,以获得转基因的细胞/植物,去除未转化的细胞。除草剂、抗生素可以杀死未转化的植物细胞,而转基因细胞由于携带了抗性基因,可以在含除草剂或抗生素的培养基上生长,因此是良好的转基因筛选系统。但是当转基因植物再生成功以后,标记基因便毫无用处。相反,由于这些基因已经整合到植物基因组中,存在基因漂移的可能性,标记基因成为转基因安全性争论的一个焦点(Darbani 等,2007),直接限制了一些转基因植物的推广和应用。近年来发展出一些不含标记基因的转基因技术。

通过共转化技术、位点专一重组酶介导的基因剔除技术、基于转座子的基因剔除技术以及基于染色体内部重组的基因剔除技术等方法可以获得无标记转基因植物。

1. 共转化技术

共转化技术是将选择标记基因和目的基因分别构建在不同的 T-DNA 区段上,可以是两个质粒也可以是一个质粒(Komari 等,1996;Xing 等,2000;Afolabi 等,2005),转化受体细胞后通过筛选获得共整合的植株作为育种对象。在 F_1 分离世代,一些植株的选择标记基因与目的基因分离,即可获得仅含目的基因而不含标记基因的转基因植株。这种方法比较简单,但周期较长且经常紧密连接,难以分离得到无标记转基因植株(Ebinuma 等,2001),这些缺点使共转化和遗传分离技术的应用受到了限制。另外,共转化技术无法应用于无性繁殖的植物品种或繁殖周期较长的林木。

2. 基于位点专一性重组的基因剔除技术

位点专一性重组是通过重组酶的作用在 DNA 特定位点间实现同源重组,既可以将外源基因整合到染色体上,也可以从染色体上将外源基因切除。该系统由重组酶及其识别位点组成,当两个识别位点正向排列时,重组酶催化两位点之间序列的切除。目前应用于植物遗传转化的重组酶系统有三种:①来源于大肠杆菌噬菌体 PI 的 Cre/LoxP 系统,利用 Cre 酶识别 LoxP 位点(Sternberg 等,1981;De Buck 等,2007;Zuo 等,2001)②来源于酿酒酵母的 FLP/FRT 系统,其中 FLP 重组酶作用于 FRT 位点(Li 等,1997;Lyznik 等,1996;Woo 等,2009);③来源于鲁氏酵母(*Zygosaccharomyces rouxii*)的 R/RS 系统,其中 R 重组酶识别 RS 位点(Zuo 等,2001;Sugita 等,2000;Zuo 等,2000)。

3. 基于转座子的基因剔除系统

利用植物的转座元件也可以进行标记基因的剔除。早期该系统将标记基因插入在转座元件中与目标基因共同转化植物。在转基因植物体内,约10%的转座子在转座时会丢失,而目标基因仍然存在于原来的位点,因此在后代中可以分离得到不含标记基因的转基因植株个体(Belzile等,1989; Sugita等,1999)。但该体系效率较低,需要检测大量的植株才能得到无标记的转基因植物。Sugita等(2000)、Ebinuma等(2005、1997)和Lopez-Noguera等(2009)对该系统进行了改进,建立了MAT载体系统,提高了效率。他们在转座元件中插入了农杆菌中编码异戊烯基转移酶的*ipt*基因。该基因的表达可导致组织中细胞分裂素含量增加,使在不含外源激素的培养基上生长的组织大量分化出不定芽,而转座元件丢失的组织不会出现这种表型,因此可以快速高效地筛选出不含标记基因的转基因植物。

4. 基于染色体内重组的基因剔除技术

两个源序列之间发生染色体内重组(intrachromosomal Homologous recombination, ICR)可诱导DNA片段缺失,这一现象为标记基因的剔除提供了另一种技术基础。但自然条件下植物细胞内的ICR频率很低,例如,一株6周龄烟草植株的全部细胞中ICR的平均出现频率低于10次(Puchta等,1995),使之无法应用于植物中标记基因的剔除。Zubko等(2000)建立了基于染色体内重组的基因剔除系统,使烟草再生植株的ICR频率显著提高,成功诱导了标记基因的缺失。该系统在卡那霉素抗性基因*NPTII*两端各插入一段352bp的噬菌体 attachment1 pattachment1 P(*attP*)序列,通过在胚性组织中发生的染色体内重组,两个*attP*序列间的*NPTII*基因被切除。由于*attP*系统不需要表达其他辅助蛋白(如重组酶)或通过后代的遗传分离来筛选无标记转基因植株,因此这种系统可以应用于无性繁殖的植物上,具有很好的应用前景(Zubko等,2000)。

(三) 安全标记基因技术

安全标记基因是指用一些没有抗生素或抗除草剂的基因代替传统抗性标记基因作为标记基因,减少转基因生物的抗药性,降低由此产生的安全问题。目前已报道的安全标记基因主要包括化合物解毒酶基因、糖类代谢酶基因、氨基酸代谢基因以及与光合作用相关的基因等。

1. 化合物解毒相关基因

这类标记基因的作用机制与常规抗性标记基因相似,标记基因编码产物可将细胞生长有毒的化合物转变成无毒的化合物,从而使转化细胞能在含有毒化合物的培养基上生长,而非转化细胞被杀死。

Daniell等(2001)使用甜菜碱醛提供筛选压,利用甜菜碱醛脱氢酶作为标记基因进行烟草叶绿体转化。与利用壮观霉素筛选相比,这种筛选方法出芽快且出芽率高,转化效率提高了25倍。另外,Kumar等(2004)发现表达甜菜碱醛脱氢酶的转基因胡萝卜具有更强的耐盐性,因此这种转基因植物也具有抗逆的潜力。

2. 糖代谢相关基因

由于离体培养的外植体不能进行光合作用,因此必须在培养基中添加一定浓度的碳源,如蔗糖、麦芽糖、葡萄糖等,外植体才能正常生长分化。近几年利用植物细胞对不同糖类碳源的代谢能力,发展出一些利用糖类作为筛选剂的筛选系统,在安全标记基因方面显示出巨大的应用潜力。这类标记基因的编码产物是某种糖类的分解代谢酶,使转化细胞能够利用筛选剂糖类作为主要碳源在筛选培养基上生长;而非转化细胞则处于饥饿状态,生长被抑制。目前已用于植物转化的此类标记基因有木糖异构酶基因*xylA*和磷酸甘露糖异构酶基因*pmi*。

3. 木糖异构酶基因

木糖是许多植物细胞不能代谢利用的糖类。木糖异构酶催化D-木糖到D-木酮糖的可逆转变,

然后再经过磷酸戊糖途径分解代谢,为细胞生长所利用。Haldrup 等(1998)利用链霉菌的木糖异构酶基因作为标记基因获得了转基因马铃薯,与常规卡那霉素抗性基因筛选相比,该系统的转化效率提高了 10 倍。在番茄中,该系统也具有较高的转化效率,但在烟草中,使用木糖异构酶筛选的转化效率反而低于使用卡那霉素筛选的转化效率(Haldrup 等,1998)。近年来该系统已开始应用于玉米等农作物中(Guo 等,2007)。

4. 磷酸甘露糖异构酶基因

植物细胞在以甘露糖为碳源的培养基上不能正常生长分化,这是由于甘露糖在果糖激酶的催化下转化成 6-磷酸甘露糖,不仅不能被细胞进一步代谢利用,而且积累到一定浓度时会对细胞的正常生长代谢产生抑制作用。从大肠杆菌中分离出的磷酸甘露糖异构酶可以催化 6-磷酸甘露糖转变成细胞能够利用的 6-磷酸果糖,使重组细胞能够在以甘露糖为碳源的培养基上正常生长,从而成为一种新的选择标记基因(Weisser 等,2007)。Joersbo 等(1998)在甜菜的遗传转化中用较低浓度的甘露糖曾得到 20%~30% 的转化率,比卡那霉素筛选效率高 10 倍。目前该系统已应用于玉米(Negrotto 等,1998)和水稻(He 等,2004)中。

5. 氨基酸代谢相关基因

邻氨基苯甲酸合成酶(anthranilate synthase, AS)是色氨酸(Trp)及其合成途径的中间产物,可被植物用于合成多种化合物。邻氨基苯甲酸合成酶(AS)是 Trp 合成途径中的关键酶,催化该合成途径的第一步反应,使分支酸转化为邻氨基苯甲酸。在大多数植物中 AS 活性被 Trp 反馈抑制。1998 年, Song 等从烟草中分离出了反馈抑制不敏感的 ASA2 基因。Cho 等将 ASA2 基因作为标记基因,利用 5-MT(5-Methoxytryptamine)进行转基因紫云英和大豆发根筛选,并发现在转基因紫云英发根中 Trp 含量增加了 8~26 倍,转基因大豆中增加了 3~6 倍。目前反馈抑制不敏感 AS 基因已用作拟南芥(Mkiko 等,2005)、水稻和马铃薯(Yamaba 等,2005)等植物的遗传转化以及烟草质体转化的筛选标记基因(Barone 等,2009)。

6. 苏氨酸脱氨酶(threonine deaminase, TD)

苏氨酸脱氨酶催化苏氨酸脱氨转化成 α -酮丁酸,是异亮氨酸合成途径的关键酶,受异亮氨酸的反馈调控。抑制 TD 活性可以杀死植物细胞(Szamosi 等,1994)。O-methylthreonine(OMT)是异亮氨酸结构类似物,可竞争异亮氨酸掺入蛋白质,从而造成细胞死亡。2004 年, Ebmeier 等利用大肠杆菌的 TD 基因作为标记基因进行烟草遗传转化,但转化效率略低于卡那霉素筛选。

7. D-氨基酸氧化酶(D-amino acid oxidase, DAAO)

D-氨基酸广泛存在于单子叶植物和双子叶植物中。不同的 D-氨基酸对于植物有不同的作用。D-氨基酸氧化酶催化多种 D-氨基酸的氧化脱氨反应(Aloson 等,1998)。利用拟南芥进行的转基因分析表明, DAAO 基因无论是作为正向筛选基因还是负筛选基因都具有很大潜力(Eriuson 等,2004)。例如, D-丙氨酸和 D-丝氨酸对植物有毒, DAAO 可将这些化合物代谢成无毒的产物用于代谢;而 D-异亮氨酸和 D-缬氨酸毒性较低,但可以被 DAAO 氧化成高度性的酮酸类化合物,如 3-methyl-2-oxopentanoate 和 3-methyl-2-oxobutanoate。Erikson 等(2004)发现这些化合物在烟草、大麦、玉米、番茄等植物中也具有类似的作用,因此 DAAO 基因可用于多种植物的筛选标记。

8. 光合作用相关基因

谷氨酸-1-半醛转氨酶(glutamate-1-semialdehyde aminotransferase, GSA-AT):叶绿素是植物光合作用的物质基础,缺少叶绿素植物将不能正常进行光合作用,从而影响植株正常生长发育乃至导致植物死亡。谷氨酸-1-半醛转氨酶催化叶绿素合成途径的第一个步骤,即谷氨酸-1-半醛转化成 δ -氨基- γ -酮戊酸(aminolaevulinic acid, ALA)。Glabaculine 能抑制 GSA-AT 的活性,使 ALA 不能正常合成,从而导致叶绿素生物合成途径受阻。目前已分离出一些抗 Glabaculine 的 GSA-AT 突变基因(Rosellini 等,2007; Kannangara 等,1998; Grimm 等,1991)。Gough 等(2001)报道了利用 GSA-

AT 突变基因 GR6 进行转基因植物筛选。在含有 Gabaculine 的培养基上, 转基因植物表现为绿苗, 而非转基因植物为白化苗。其中, 白化苗转移到不含 Gabaculine 的土壤中后还可以继续生长, 因此 GSA-AT 基因既可以用作正筛选标记又可用作负筛选标记 (Gough 等, 2001)。

9. Phytoene desaturase (PDS)

类胡萝卜素参与了光合作用中的光捕获过程, 并在减少光氧化对叶绿体的损伤方面 also 具有重要作用。PDS 是类胡萝卜素合成途径中的一个关键酶, 催化 phytoene 转化成 ξ -carotene 的反应, 是多种除草剂的靶标。抑制 PDS 活性可以抑制类胡萝卜素合成, 从而导致叶绿素降解, 叶绿体结构破坏, 出现光漂白的表型。Wagner 等 (2002) 将聚球藻中分离出的具有除草剂抗性的 PDS 突变基因转化烟草, 获得具有除草剂抗性的转基因植物。Michel 等 (2004) 从水草 *Hyerilla verticillata* 中发现了抗除草剂的 PDS, 将这个 PDS 进一步改造后, 已成功用作抗除草剂 fluridone 和 norflurazon 的筛选标记基因 (Arias 等, 2006)。由于 PDS 基因来源于植物, 因此作为筛选标记基因更易于被消费者接受。另外, 由于 PDS 能抗的除草剂种类较少, 因此可有效降低转基因植物成为超级杂草的风险。

10. 其他基因

ABC 转运蛋白: WBC 基因家族 (White-Brown Complex homologs) 是植物 ABC 转运蛋白中最大的一类, 在模式植物拟南芥中包含 29 个成员。其中转 *AtWBC19* 的植物具有抗卡那霉素的能力。这种抗性机制还需要更进一步的研究。在 35S 启动子驱动下, *AtWBC19* 基因与细菌来源的卡那霉素抗性基因具有相近的抗性能力 (Mentewab 等, 2005)。Kang 等 (2005) 将 *ArWBC19* 转入杨树 (*Populus canescens* $\times$ *P. grandidentata*) 后, 发现转基因植物还对新霉素 (neomycin)、geneticin 以及巴龙霉素 (paromomycin) 等氨基糖苷类抗生素具有抗性。由于这种 ABC 转运蛋白来源于植物, 因此是潜在的新型抗性基因, 可用于构建更加安全的转基因植物。微管蛋白 Tubulin: 一些除草剂通过作用于植物微管蛋白杀灭杂草, 如, 二硝基苯胺类除草剂 Trifluralin (TFL) 和 amiprofos-methyl (APM) 等。Nyporko 等 (2002) 从牛筋草 (*Eleusine indica*) 中分离出抗 TFL 和 APM 的微管蛋白突变体。Yemets 等 (2008) 将这种微管蛋白用作标记基因用于小米、大豆和烟草转化, 获得与卡那霉素筛选系统相似的转化效率。

(四) 质体转化技术

质体是植物细胞中具有独立基因组和转录翻译功能的细胞器。质体包括前质体 (proplastids)、叶绿体 (chloroplasts)、色质体 (chromoplasts) 以及各种白质体如淀粉体 (amyloplasts) 等, 在植物细胞内的功能包括光合作用以及合成淀粉、色素、氨基酸等 (Leister 等, 2003)。

1988 年, Boynton 等首次在单细胞衣藻 (*Chlamydonas reintharrii*) 中实现了叶绿体转化; 1990 年, Svab 等实现了在高等植物 (烟草) 中的质体转化, 随后拟南芥、番茄、马铃薯、大豆、棉花等植物也成功进行质体转化 (Ruf 等, 2001; Sidorov 等, 1999; Sikdar 等, 1998; Dufourmantel 等, 2005; Kumars 等, 2004)。目前植物质体转化主要通过基因枪法进行, 也有通过显微注射法 (Van Bel 等, 2001) 和 PEG 法 (Graig 等, 2008) 进行转化的报道。目的片段进入质体后发生同源重组, 整合进入质体基因组并与之共同遗传。早期质体转基因植物利用质体 16srRNA (*rr n16*) 基因作为标记基因, 利用壮观霉素进行筛选 (Svab 等, 1990), 效率较低。Goldschmidt-Clermone (1991) 建立了以 *aadA* (aminoglycoside 3'-adenylyltransferase) 基因作为标记基因的质体转化筛选系统, 极大地提高了筛选效率。

质体转基因植物具有很高的商业应用前景。1998 年, Daniell 等将矮牵牛 5-莽草酸-3-磷酸合成酶 (5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase, EPSPS) 基因转入烟草质体, 获得抗除草剂植物。Lutz 等 (1999) 将 *Bar* 基因转入烟草质体, 获得了抗草甘膦的烟草。Kota 等 (1999) 将 Bt 基因转入烟草质体, 使毒蛋白表达水平比目前商业化种植的转基因植物高 20 ~ 30 倍。基因剔除系统

如 Cre-Lox 系统也已应用于质体转化,用来产生无标记的质体转基因植物 (Von Wiren 等, 2000; Corneille 等, 2001)。作为生物反应器质体转基因植物在医药领域具有很大潜力。Staub 等 (2000) 利用烟草的叶绿体表达生产人的生长激素,产量是细胞核转基因植物的 300 倍。Richter 等 (2000) 在马铃薯质体中表达肝炎病毒表面抗原 HBsAg,使转基因马铃薯块茎成为可以口服的疫苗。

与细胞核转化技术相比,质体转化技术具有很多优点,但也有一些缺陷。质体转化技术复杂,耗时长,对实验室的软硬件以及操作人员的要求较高;虽然已有一些植物可以进行质体转化,但受体材料还是有很大限制,目前仅局限于少数植物中实现高效转化;另外基因表达的组织特异性较差,主要在叶肉细胞中表达。这些因素使质体转化技术的应用受到一定程度的限制。

总之,世界各国在遗传转化技术创新和集成创新方面纷纷加大力度,遗传转化技术正向高效、安全、规模化方向发展。具体表现如下:①致力于实现标准化、工厂化和流水线式的规模化操作。如孟山都公司有 200 多人在室内专门从事基因的转化研究,每年可获得 30 万株以上的转基因植株,以准确评估基因在目标作物中的育种利用价值和创制符合不同育种目标的转基因材料。②重点开展高效转化技术研究,以突破基因型限制,提高转化效率;实现多个基因按照育种目标进行组装后同时导入一个受体中,使多个性状同时得到改良;实现转基因的定点整合和时空控制表达。③大力发展无选择标记和外源基因删除等安全转化技术。专业化和集约化的转基因操作已成为提高转基因育种效率的重要途径 (Yin 等, 2010)。

第二节 应用概况

自 1996 年全球开始种植转基因作物以来,转基因生物产业已逐渐成为继网络经济、信息产业之后又一个新的经济增长点。

一、全球转基因作物种植情况

2009 年,全球转基因作物种植面积比上年增长 900 万 hm^2 ,即 7%,达到 1.34 亿 hm^2 ,占全球作物种植总面积 15 亿 hm^2 的 9%。1994—2009 年,转基因作物商业化种植 14 年间,种植面积增长了近 80 倍,累计种植面积超过 9.5 亿 hm^2 。全球四大转基因作物大豆、玉米、棉花和油菜在种植面积上均有了不同程度的增长。其中,转基因大豆种植面积达 6 920 万 hm^2 ,比上一年增长 340 万 hm^2 ,占全球转基因作物种植总面积的 52%,仍居第一位。同时,转基因大豆的种植面积在大豆总种植面积中占 3/4 (77%);转基因玉米种植面积达 4 170 万 hm^2 ,比上一年增长 440 万 hm^2 ,占全球转基因作物种植总面积的 31%。这一种植面积在玉米总种植面积 1.58 亿 hm^2 中也占到 26%;3 300 万 hm^2 棉花总种植面积的近一半面积 (49%) 为转基因品种,达到 1 610 万 hm^2 ,比上一年增长 60 万 hm^2 ,占全球转基因作物种植总面积的 12%;转基因油菜种植面积为 640 万 hm^2 ,比上一年增长 50 万 hm^2 ,在全球油菜种植面积中超过了 20%,占全球转基因作物种植总面积的 5%。除了种植面积的增长外,全球选择种植转基因作物的农民也有所增加,相较于 2008 年的 1 330 万,2009 年在 25 个国家范围内种植总人数达到 1 400 万。其中 90% (约 1 300 万) 为发展中国家的小型和资源匮乏的农民。发展中国家占全球转基因作物种植总面积的比例也逐年增长。2009 年,发达国家和发展中国家的转基因作物种植面积分别为 7 250 万 hm^2 和 6 150 万 hm^2 ,分别比 2008 年增长 3% 和 13% (Clive, 2009)。国际农业生物技术应用服务组织 (ISAAA) 公布的转基因作物商业种植的年度报告显示,2012 年,全球转基因作物种植面积合计为 1.703 亿 hm^2 ,19 个发展中国家的种植面积占总数的 52%,首次超过 8 个发达国家。发展中国家的转基因作物种植面积比 2011 年增加了 11%,即 870 万 hm^2 ;而发达国家同比增长 3%,增加了 160 万 hm^2 。种植转基因作物的农民有 1 730 万户,比 2011 年增加了 60 万户。2014 年全球转基因作物种植面积为 1.815 亿 hm^2 。随着孟