

耐除草剂转基因作物研究现状及发展前景

邱 龙, 马崇烈, 刘博林, 章旺根

(中国种子集团有限公司生命科学技术中心, 武汉 430075)

摘要: 控制农田杂草是促进粮食增产的重要措施之一。种植耐除草剂转基因作物, 配合施用相应的除草剂, 可高效地控制杂草, 是一种增加产量、降低种植成本的有效措施。本文在简述植物耐除草剂原理的基础上, 对全球耐除草剂转基因作物的发展现状、应用范围、对农业可持续发展的贡献、环境安全风险及其防范对策做了较为系统的论述, 并对耐除草剂转基因作物的应用前景进行了展望。

关键词: 农田杂草; 除草剂; 转基因作物; 农业可持续发展

Current Situation of Research on Transgenic Crops with Herbicide Tolerance and Development Prospect

QIU Long, MA Chong-lie, LIU Bo-lin, ZHANG Wang-gen

(Life Science and Technology Center, China National Seed Group Company Limited, Wuhan 430075)

Abstract: To improve crop productivity, it is important to control weeds in the fields during plant growth. Facts have proved that the cultivation of transgenic crops with herbicide tolerance is an effective measure to reduce the production cost and to increase the output compared to conventional methods. This article aims to review the principle, application and safety of transgenic plants with herbicide tolerance in the world. Furthermore, the prospect of transgenic crops with herbicide tolerance was forecasted.

Key words: weeds; herbicides; transgenic crops; sustainable agriculture

0 引言

农田杂草与作物竞争阳光、水分、养分及生长空间, 同时又是作物病原菌及害虫的中间寄主生物, 严重影响了农作物产量与农产品质量^[1]。因此, 有效控制田间杂草是促进粮食增产, 增加农民收入, 确保粮食安全的重要措施之一。化学除草是当前农田除草的主要方式, 然而一般的化学除草剂存在一定的负效应, 如农药残留影响农业生态环境及食品安全, 较低的除草效率增加了农业生产成本。草甘膦和草丁膦等灭生性除草剂具有高效、低毒、易降解、无残留等特点, 但它们除草没有选择性, 不能直接用在作物的生长期。通过转基因技术培育耐灭生性除草剂的农作物可以克服这一难题, 即在作物生育期喷施 1—2 次就能解决所有杂草问题, 减少了除草剂的用量及投入成本。因此,

耐除草剂转基因作物具有非常广阔的应用价值和 market 潜力。

1 转基因植物耐除草剂的技术原理

1.1 除草剂杀灭杂草的机制

通过抑制植物生理代谢过程中的关键酶, 进而造成杂草死亡是化学除草剂杀灭农田杂草的主要机制。这些代谢过程包括光合作用、氨基酸代谢等。譬如, 除草剂阿拉特津抑制植物光合作用电子传递链, 其作用的靶蛋白为类囊体膜上的蛋白质^[2-3]; 除草剂草甘膦和草丁膦分别抑制植物芳香族氨基酸合成关键酶——5-烯醇丙酮酰莽草酸-3-磷酸合酶 (5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase, EPSPS) 和在氨同化及氮代谢调节中起重要作用的谷氨酰胺合成酶 (glutamine synthetase, GS)^[4], 当施用草甘膦时,

收稿日期: 2011-12-31; 接受日期: 2012-03-07

基金项目: 中国种子集团有限公司研发项目

联系方式: 邱 龙, Tel: 027-87570546; E-mail: qiulong@sinochem.com。通信作者章旺根, E-mail: zhangwanggen@sinochem.com

进入植物体内的草甘膦分子与磷酸烯醇丙酮酸竞争性结合 EPSPS 的活性位点,终止了芳香族氨基酸的合成途径,造成苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸等氨基酸的缺乏,最终导致植物死亡。此外,这 2 种抑制氨基酸代谢的除草剂在目前已经商品化的除草剂中占据极大的市场份额,可以预见其耐性基因工程的市场前景广阔^[5]。

1.2 耐除草剂的基因工程策略

创制耐除草剂转基因作物通常有以下 3 种策略:一是过量表达除草剂作用靶蛋白,使植物吸收除草剂后仍能进行正常的生理代谢;二是修饰靶蛋白,使其与除草剂结合的效率降低,进而提高植物的耐性;三是通过引入能够降解除草剂的酶或酶系统,在除草剂发生作用前将其降解或解毒。由于靶标蛋白的过量表达会造成作物的代谢负担^[6],所以,目前商业化的草甘膦耐性的产生大多是基于非敏感靶标酶(如 EPSPS)基因的导入。此外,自然界很多生物含有除草剂的解毒酶基因,它们编码的产物能将除草剂水解或发生乙酰化等修饰作用,使除草剂失效,如编码草丁膦乙酰转移酶(phosphinothricin acetyltransferase)的 *pat* 和编码草甘膦乙酰转移酶(glyphosate acetyltransferase)的 *gat*^[5]。

2 全球耐除草剂转基因作物的发展状况

2.1 全球转基因作物的发展态势

自从 1996 年实现转基因作物的商业化种植以来,全球转基因作物的种植面积和销售收入均成倍地增长。根据国际农业生物技术应用服务组织(International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications, ISAAA)发布的《2010 年全球生物技术/转基因作物商业化发展态势》的报告显示^[7]:2010 年,全球种植转基因作物 1.48 亿公顷,相当于全球总耕种面积的 10%,与 1996 年相比,增长达 87 倍;种植转基因作物的国家从 2009 年的 25 个增加到 29 个,有 30 个国家允许进口转基因作物用于食品、饲料和进行环境释放,这些国家的人口占世界总人口的 75%^[8],且排名前十位的国家种植面积首次均超过了 100 万公顷;2010 年,中国转基因作物的种植面积为 350 万公顷,主要为棉花、西红柿等作物;对于不同作物而言,转基因大豆继续作为主要的转基因作物,占据 7 330 万公顷即全球转基因作物种植面积

的 50%,占全球大豆种植面积的 81%,其次为转基因玉米、棉花和油菜。

2.2 耐除草剂是转基因作物的最主要性状

2010 年,具有耐除草剂性状的转基因作物占全球转基因作物面积的 61%,即 8 930 万公顷。根据 ISAAA 公布的数据,全球耐除草剂单一性状的转基因事件为 45 例,共涉及 12 个作物^[9],其中以玉米、大豆、油菜和棉花为主。耐除草剂的功能基因主要为 *pat* 和 *epsps*,此外,还包括编码腈水解酶(nitrilase)的 *bnx* 和编码麦草畏-氧-脱甲基酶(dicamba O-demethylase)的 *ddm* 等;主要的遗传转化方法为农杆菌介导法和基因枪法;研发单位集中在孟山都(Monsanto)和拜耳(Bayer)两家著名的种业公司;率先实现商业化种植的国家主要分布于美洲大陆,以美国和加拿大为主;就商品化种植的时间而言,20 世纪 90 年代中后期释放的品种较多,但多为单一类型的除草剂耐性转基因作物;2008 年以后出现了同时耐两种除草剂类型的双价转基因作物,如 2009 年释放的兼麦草畏(Dicamba)和草丁膦双重耐性的转基因棉花以及 2010 年释放的同时耐草甘膦和草丁膦的转基因玉米;此外,就复合性状而言,耐除草剂与育性恢复和抗虫性的转基因事件各 10 例和 50 例,可以预见,复合性状产品可以满足农户和消费者的多样化需求,将是未来的发展趋势^[10]。

3 耐除草剂转基因作物的应用价值及对农业可持续发展的贡献

3.1 提高除草效果、降低除草成本

通过转基因技术使农作物获得对除草剂的耐性,不仅克服了除草剂的选择性问题,使得许多灭生性广谱除草剂得到广泛使用,而且更重要的是提高了除草效果,降低了除草成本。Méndez 等^[11]研究发现,耐除草剂转基因玉米每公顷可节约除草成本 102 美元,而产量则提高了 22%(抗虫和耐除草剂双价转基因),同时对环境的影响(Environmental Index Quotient)降低了 7.3 倍。当前,中国的水稻、小麦、玉米、大豆和油菜等作物杂草危害均相当严重,而传统的选择性除草剂在使用过程中需要增加施用量,且残留期长、容易影响下茬作物的正常生长,因此,在中国开展耐除草剂转基因育种具有巨大的市场需求^[12]。特别是近年来随着农村剩余劳动力的减少和劳动力成本的增加,水稻栽培措施也发生了改变,即越来越多的水稻种植业者采用直播和抛秧等栽培方法,这使得稻田杂

草危害变得日益严重，特别是被称为“水稻杀手”的新型杂草—杂草稻—已在中国广大稻区泛滥^[13]。由于杂草稻与栽培稻在外观及生理特性上非常相似，除了人工拔除，一般的除草剂很难杀灭，而种植耐除草剂转基因水稻可以提供一种简便、快速、低成本的杂草稻控制方法。因此培育具有自主知识产权的除草剂耐性转基因水稻种质是实现“绿色超级稻”构想的策略之一^[14]。此外，耐除草剂转基因作物种植面积扩大和市场效益的提高必将进一步推动新型除草剂的开发与应用。

3.2 创制转基因恢复系以提高两系法种子纯度

在水稻两系法杂交制种过程中杂种纯度是影响种子质量的重要问题之一。例如遇到气温波动不育系自交结实种子。若不能有效地清除假杂种，将降低种子的质量、造成大田生产的产量损失。耐除草剂转基因技术可以有效地提高杂交水稻的制种纯度，即将外源耐除草剂基因转移到恢复系的品种中，经过自交选育出纯合耐除草剂基因的新型恢复系。用这样的恢复系配制杂交种，在杂种（F₁）秧龄期施用一次除草剂不仅可以防除杂草，更重要的是除去假杂种，从而提高杂交种的产量和质量，该方法对于非选择性的除草剂尤为适用。黄大年等^[15]首次报道了该技术在提高两系杂交稻制种纯度中的应用。两系杂交早稻“香125s/Bar68”高产栽培的研究结果表明使用除草剂Basta后的纯度达99.98%，供试组合各项经济性状稳定，生长整齐^[16]。

3.3 创制新型不育系

一般而言，植物界完全的核质互作雄性不育现象较少，因此在其它作物中构建像水稻这样稳定的核质互作雄性不育系较困难，所以创制新型雄性不育系意义重大，而且应用前景广阔^[17]。Mariani等^[18]利用来源于解淀粉芽孢杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens* 的核糖核酸酶 RNase 基因，即 *Barnase*，在烟草花药特异表达启动子 TA29 驱动下，选择性地破坏绒毡层细胞结构，进而获得转基因工程雄性不育系（*Barnase*/-）。Mariani等^[19]进一步将 *Barnase* 的抑制基因 *Barstar* 导入油菜，自交得到纯合转基因油菜（*Barstar/Barstar*），该油菜绒毡层细胞发育良好，雄性可育；用之对 *Barnase*/- 转基因油菜授粉，其 F₁ 的 2 种基因型（*Barnase/Barstar*，-/*Barstar*）均可育。因此，*Barstar/Barstar* 可做为 *Barnase*/- 的恢复系，两者配合使用，能够开发出更多的油菜杂交组合。但是，这一体系的主要难题是如何保持和筛选可用于杂交种子生

产的不育系，因为当 *Barnase*/- 与正常可育株（-/-）杂交后，其 F₁ 不育与可育 1 : 1 分离，必须要有特定的方法才能选留转基因不育系。耐除草剂转基因技术则可以方便实现转基因不育系的筛选与保持，即将紧密连锁的不育基因与除草剂耐性基因同时表达，当转基因不育株与正常株杂交后，喷施除草剂即可杀死可育株（-/-），使不育株（*Barnase*/-）得以保留。目前，*Barnase-Barstar* 系统已成功应用于油菜抗草丁膦转基因育种，而且该转基因品种已占到加拿大商业化油菜栽培品种的 10% 左右，同时该品种也是欧盟通过的少数几个转基因作物之一^[20]。该项技术的开发对于玉米、小麦等其它作物都有很好的借鉴作用。此外，将耐除草剂基因转移到不育系中，在制种授粉后喷施除草剂杀死恢复系可以实现杂交种的机械化收割，并确保不育系的纯度。

3.4 培育保持系的新技术

相对于核质互作雄性不育系而言，隐性细胞核雄性不育基因在作物中广泛存在，然而难以用普通的方法保持其不育性。最近，由美国先锋公司（Pioneer Hi-Bred International, Inc.）研制的杂交种子生产技术（seed production technology, SPT）采用转基因方法成功地解决了细胞核雄性不育的保持问题^[21]。具体而言，在雄性核不育系（rr）中同时转入紧密连锁的 3 个基因：（1）育性恢复基因 R 如 *Ms45*^[22]，该基因能够使受体植株 rr 产生可育的花粉；（2）花粉致死基因 F，该基因编码的 α -淀粉酶使得花粉发育因缺少能量而受阻^[23]；（3）种子筛选标记基因 S 如 *DsRed2*^[24]，该基因编码的红色荧光蛋白在种子的糊粉层中表达，进而形成杂合的可育保持系（R-F-S/r）。由于该保持系只能产生一种可育的雄配子类型 r，因为 R-F-S 型雄配子由于含有 F 基因而不能存活，所以用 rr 作母本与该保持系杂交可以直接生产不育系，且不含转基因成分。该技术巧妙地将转基因技术和传统的杂交育种方法相结合，使杂种优势资源利用率大大提高，从而解决了常规杂交育种过程中资源利用率低、育种周期长等技术瓶颈，目前已在玉米雄性不育制种中得到应用。但是，由于该技术保持系自交后代发生分离（保持系：不育系=1 : 1），所以在生产保持系时需要特殊的仪器设备针对红色荧光进行分选，增加了制种成本。

笔者认为，与种子颜色筛选标记基因 *DsRed2* 相比，耐除草剂转基因技术可以提供一种更为简便的筛选方法，即以除草剂耐性基因（herbicide tolerance，

HT) 代替 *DsRed2*, 创制 R-F-HT/r 新型保持系, 在该保持系自交 F_1 的苗期喷施除草剂不仅可以防除杂草而且可以同时杀灭不育系, 使保持系得以保留; 这一基因工程策略可以进一步扩大耐除草剂转基因技术在水稻和小麦等作物杂交育种中的应用, 进而推动新一代育种技术的发展。

3.5 促进保护性耕作、降低二氧化碳排放

种植耐除草剂转基因作物有助于保护性耕作方式的推广^[25]。保护性耕作技术的推广可以减少表面土壤流失, 提高水分利用率和土壤中有机质的含量, 不但保护了农业土壤生物圈的生物多样性, 而且能够减少对农业环境的影响, 此外, 该技术还降低了农机投资及油耗。如果农业生产完全转变为免耕生产, 单油耗一项, 每公顷可节省多达 53 升^[26]。可见, 保护性耕作技术的大面积推广应用具有良好的生态效益和巨大的经济效益^[27]。

每年农业生产排放的温室气体占全球年排放量的 14%, 是导致气候变化的部分原因。ISAAA 指出^[7], 转基因耐除草剂作物有助于减少二氧化碳排放表现在以下 2 个方面: (1) 转基因作物的单产高于常规品种, 在有限的耕地面积的条件下, 使得转基因作物成为节省土地的技术, 进而减少了以开垦土地为目的的森林砍伐, 使得二氧化碳排放减少, 同化增加; (2) 耐除草剂转基因作物促进了免耕地, 减少了土壤碳的损失及二氧化碳的排放。

可见, 转基因耐除草剂作物可以同时实现粮食增产、低能耗和缓解气候变化 3 个目标, 可谓“一石三鸟”。

4 耐除草剂转基因作物的安全隐患及消除策略

4.1 耐除草剂转基因作物的安全隐患

诚然, 任何事件的发生都存在风险, 理论上的零风险是不存在或不可能做到的。当前, 耐除草剂转基因作物存在的生态风险主要包括以下 3 个方面。(1) 耐除草剂转基因植物在试验、种植或运输过程中, 可能会因为种子的遗落, 而直接生成抗性自生苗, 危害下茬植物。如在加拿大农田中发现对多种除草剂具有耐性的野草化的油菜植株。(2) 耐除草剂转基因作物的抗性基因也可能通过花粉漂散的方式转移至其野生近缘种或杂草, 而产生新的抗性杂草类型^[28]。尽管在理论上存在产生超级杂草的风险性, 然而转基因商品

化的 15 年来并未发现由于基因漂移所产生的超级杂草。事实上超级杂草形成的 2 个必要条件——花期相遇和异交结实, 在规模化的农业生产实践中, 特别是对于水稻和小麦等自花授粉的作物而言, 同时实现的可能性极低。(3) 随着转基因作物种植面积不断扩大, 特别是草甘膦长期以来的大范围使用, 较大的选择压力加速了杂草自然抗药性的产生^[29-30]。目前, 据报道已有 19 种杂草对草甘膦产生了自然抗性, 而其中的大部分是在过去的 8 年中报道的, 这与 8 年间转基因耐除草剂作物的迅速推广有关^[31], 当前, 如苋属, 藜属和鸭趾草属的抗性杂草已成为难以控制的田间杂草^[32-33]。

4.2 消除耐除草剂转基因作物安全隐患的对策

针对耐除草剂转基因作物可能造成的生态安全问题, 科学家们正积极研究对策, 把可能的风险降到最低。目前的防控策略主要包括物理隔离和基因工程技术。

物理隔离的主要方式是距离隔离。花粉扩散和基因飘移的基本规律是基因飘移率随距离增加而呈负指数曲线下降, 直到到达斜渐近线^[34]。中国农业生物基因工程安全管理实施办法分别提出了不同作物的参考隔离距离, 如水稻 100 m、玉米 300 m、大豆 100 m、棉花 150 m、油菜 1 000 m 等。王志兴等^[35]和王旭静等^[36]分别调研和分析了主要农作物水稻和小麦的转基因飘移频率并提出了其基因飘移的 0.1% 阈值距离。可见, 物理隔离措施的研究有利于进一步通过分类管理和阈值管理等手段来控制转基因飘移的风险。

基因工程技术是消除或降低耐除草剂转基因作物安全最行之有效的策略, 如前所述的安全风险均可通过以下的技术措施规避: (1) 通过创制耐不同类型除草剂的转基因作物品种或近等基因系品种, 在不同年份喷施不同类型的除草剂可以消除前茬遗落的耐除草剂转基因种子对下茬作物的影响。(2) 在防控转基因植物花粉逃逸的风险方面, 母性遗传、雄性不育、闭花授粉等策略^[37]已取得显著效果, 其中, 叶绿体转化技术已在烟草、番茄和油菜的遗传改良中得到实现^[38-40]; 另外, 二次休眠^[41]、落粒性^[42]、矮生性^[43-44]等性状的遗传操作也将有助于降低基因逃逸的风险; 同时, “终结者系统”^[45-47]、时空特异性表达^[48]、基因组不相容性、孤雌生殖^[20]以及位点特异性重组系统^[49]等技术也有望用于防控基因逃逸。(3) 虽然通过轮作、不同作用模式除草剂的交替或混合使用等措施可以预防和控制杂草抗性^[50-51], 但是转基因技术更为

经济有效。例如陶氏公司 (Dow AgroSciences) 通过转化能够降解 2,4-D 的芳氧基链烷酸酯双加氧酶基因实现了转基因作物不仅对 2,4-D 具有抗性,而且还对吡啶氧乙酸类除草剂具有抗性(如绿草定和氟草定),起到了多种除草剂抗性基因“叠加”的效果,该技术已在玉米和大豆中得到应用^[52]。

5 结束语

粮食、能源及气候问题是人类 21 世纪面临的三大科学挑战。耐除草剂转基因作物不仅在促进粮食、饲料和纤维生产的安全及自足、减轻贫困和饥饿、降低能源消耗等方面起到重要作用,而且对减缓气候变化也具有重要贡献。因此,未来的转基因耐除草剂育种必将迎来更加广阔的应用前景。当前,中国农业生物技术的某些领域已处于国际领先水平,但整体实力与国际先进水平还有一定的距离,特别是成果转化率较低^[53]。值得一提的是,中国作为栽培大豆的起源中心,如今却是全球最大的大豆进口国,而主要的出口国为耐除草剂转基因大豆种植最多的美国、巴西和阿根廷。可见,推动包括耐除草剂转基因育种在内的农业生物技术的发展是维护中国粮食安全和经济安全的命脉所在。

References

- [1] <http://www.fao.org/news/story/en/item/29402/icode/>
- [2] Arntzen C J, Ditto C L, Philip E, Brewer P E. Chloroplast membrane alterations in triazine-resistant *Amaranthus retroflexus* biotypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1979, 76: 278-282.
- [3] Liu B L, Yue S X, Hu N B, Li X B, Zhai W X, Li N, Zhu R H, Zhu L H, Mao D Z, Zhou P Z. Transfer of atrazine resistant gene of black nightshade to soybean chloroplast genome and its expression in transgenic plants. *Science in China Series B*, 1990(4): 444-452.
- [4] Tan S, Evans R, Singh B. Herbicidal inhibitors of amino acid biosynthesis and herbicide-tolerant crops. *Amino Acids*, 2006, 30: 195-204.
- [5] 王秀君, 郎志宏, 单安山, 黄大昉. 氨基酸生物合成抑制剂类除草剂作用机理及耐除草剂转基因植物研究进展. *中国生物工程杂志*, 2008, 28(2): 110-116.
Wang X J, Lang Z H, Shan A S, Huang D F. Advances in mechanism of herbicide inhibiting amino acid biosynthesis and herbicide-tolerant transgenic plants. *China Biotechnology*, 2008, 28(2): 110-116. (in Chinese)
- [6] 王丰玲, 张英锋, 李 阳, 杨跃峰, 马子川. 转基因抗除草剂作物的研究进展. *渤海大学学报: 自然科学版*, 2009, 30(1): 13-16.
Wang F L, Zhang Y F, Li Y, Yang Y F, Ma Z C. Research progress for transgenic herbicide-resistant crops. *Journal of Bohai University: Natural Science Edition*, 2009, 30(1): 13-16. (in Chinese)
- [7] Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2010, ISAAA Brief 42-2010.
- [8] 张 成, 刘定富, 易先达. 全球转基因作物商业化进展及现状分析. *湖北农业科学*, 2011, 50(14): 2819-2823.
Zhang C, Liu D F, Yi X D. Global status and progress of commercialized transgenic crops. *Hubei Agricultural Sciences*, 2011, 50(14): 2819-2823. (in Chinese)
- [9] http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/trait/default.asp?TraitID=1&Trait=Herbicide_Tolerant.
- [10] Que Q, Chilton M M, Fontes C M, He C, Nuccio M, Zhu T, Wu Y, Chen J S, Shi L. Trait stacking in transgenic crops: Challenges and opportunities. *GM Crops*, 2010, 1(4): 220-229.
- [11] Méndez K Á, Giraldo A C, Moreno G R, Castro C S. Production cost analysis and use of pesticides in the transgenic and conventional corn crop [*Zea mays* (L.)] in the valle of San Juan (Tolima). *GM Crops*, 2011, 2(3): 1-6.
- [12] 强 胜, 宋小玲, 戴伟民. 抗除草剂转基因作物面临的机遇与挑战及其发展策略. *农业生物技术学报*, 2010, 18(1): 114-125.
Qing S, Song X L, Dai W M. The opportunity and challenge faced by transgenic herbicide-resistant crops and their development strategy. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2010, 18(1): 114-125. (in Chinese)
- [13] 温广月, 沈国辉, 钱振官, 李 涛, 柴晓玲. 杂草稻对水稻生长及产量的影响. *杂草科学*, 2011, 29(2): 51-53, 59.
Wen G Y, Shen G H, Qian Z G, Li T, Chai X L. Effects of weedy rice (*Oryza sativa* f. *spontanea*) on the growth and yield of rice (*Oryza sativa*). *Weed Science*, 2011, 29(2): 51-53, 59. (in Chinese)
- [14] 张启发. 绿色超级稻的构想与实践. 北京: 科学出版社, 2009.
Zhang Q F. *Strategies and Practice for Developing Green Super Rice*. Beijing: Science Press, 2009. (in Chinese)
- [15] 黄大年, 李敬阳, 章善庆, 薛 锐, 杨 炜, 华志华, 谢小波, 汪晓玲. 用抗除草剂基因快速检测和提高杂交稻纯度的新技术. *科学通报*, 1998, 43: 67-70.
Huang D N, Li J Y, Zhang S Q, Xue R, Yang W, Hua Z H, Xie X B, Wang X L. The new technology to rapid detect and improve the seed purity of hybrid rice applied herbicide resistant gene. *Chinese Sciences Bulletin*, 1998, 43: 67-70. (in Chinese)
- [16] 肖国樱, 熊绪让, 肖喜才, 谭立平, 唐 俐, 邓晓湘. 转基因抗除

- 草剂两系杂交早稻高产栽培技术研究. 湖南农业科学, 2005(6): 32-34, 42.
- Xiao G Y, Xiong X R, Xiao X C, Tan L P, Tang L, Deng X X. Studies on high-yielding cultivation technique of transgenic herbicide-resistant two-line early hybrid rice. *Hunan Agricultural Sciences*, 2005(6): 32-34, 42. (in Chinese)
- [17] 张集文, 武晓智. 水稻光-温敏雄性不育系化学致死突变体的诱变筛选与初步研究. 中国水稻科学, 1999, 13(2): 65-68.
- Zhang J W, Wu X Z. Screening and preliminary study on the chemical lethal mutant in rice photoperiod-temperature sensitive male sterile line. *Chinese Journal Rice Science*, 1999, 13(2): 65-68. (in Chinese)
- [18] Mariani C, De Beuckeleer M, Trueltner J, Leemans J, Goldberg R B. Induction of male sterility in plants by a chimaeric ribonuclease gene. *Nature*, 1990, 347: 737-741.
- [19] Mariani C, Gossele V, Beuckeleer M D, Block M D, Goldberg R B, Greef W D, Leemans J. A chimaeric ribonuclease-inhibitor gene restores fertility to male sterile plants. *Nature*, 1992, 357: 384-387.
- [20] Daniell H. Molecular strategies for gene containment in transgenic crops. *Nature Biotechnology*, 2002, 20(6): 581-586.
- [21] Hondred D, Young J K, Brink K, Crowgey E, Dietrich N, Zhong C X. Plant genomic DNA flanking SPT event and methods for identifying SPT event. United State Patent, Patent No. US2009/0210970A1, 2009.
- [22] Cigan A M, Unger E, Xu R J, Kendall T, Fox T W. Phenotypic complementation of *ms45* maize requires tapetal expression of *MS45*. *Sexual Plant Reproduction*, 2001, 14(3): 135-142.
- [23] Weber N, Fedorova M, Rood T. New protein consultation for an α -amylase: ZM-AA1. Pioneer Hi-Bred International, Inc.
- [24] Improved version of the red fluorescent protein (drFP583/DsRed/RFP). *BioTechniques*, 2002, 33: 592-602.
- [25] Stokstad E. Biotech crops good for farmers and environment, academy finds. *Science*, 2010, 328: 295.
- [26] Dill G M. Glyphosate-resistant crops, history, status and future. *Pest Management Science*, 2005, 61(3): 219-224.
- [27] 谢瑞芝, 李少昆, 李小君, 金亚征, 王克如, 初震东, 高世菊. 中国保护性耕作研究分析—保护性耕作与作物生产. 中国农业科学, 2007, 40(9): 1914-1924.
- Xie R Z, Li S K, Li X J, Jin Y Z, Wang K R, Chu Z D, Gao S J. The analysis of conservation tillage in China-conservation tillage and crop production: Reviewing the evidence. *Scientia Agricultura Sinica*, 2007, 40(9): 1914-1924. (in Chinese)
- [28] 金银根, 吴进才, Yong Woong Krown. 抗除草剂转基因植物的杂草化类型与机理探讨. 西北植物学报, 2003, 23(6): 1036-1043.
- Jin Y G, Wu J C, Yong W K. Mechanism on the volunteer weeds of herbicide resistant genetically-modified plants. *Acta Botany Boreal-Occidentalia Sinica*, 2003, 23(6): 1036-1043. (in Chinese)
- [29] Powles S B, Preston C. Evolved glyphosate resistance in plants: Biochemical and genetic basis of resistance. *Weed Technology*, 2006, 20: 282-289.
- [30] Simarmata M, Kaufmann J E, Penner D. Potential basis of glyphosate resistance in California rigid ryegrass (*Lolium rigidum*). *Weed Science*, 2003, 51: 678-682.
- [31] Cerdeira A L, Duke S O. The current status and environmental impacts of glyphosate-resistant crops: A review. *Journal of Environmental Quality*, 2006, 35: 1633-1658.
- [32] Shaner D L. The impact of glyphosate-tolerant crops on the use of other herbicides and on resistance management. *Pest Management Science*, 2000, 56: 320-326.
- [33] Gianessi L P. Economic and herbicide use impacts of glyphosate-resistant crops. *Pest Management Science*, 2005, 61: 241-245.
- [34] Jia S R, Wang F, Shi L, Yuan Q H, Liu W G, Liao Y L, Li S G, Jin W J, Peng H P. Transgene flow to hybrid rice and its male-sterile lines. *Transgenic Research*, 2007, 16(4): 491-501.
- [35] 王志兴, 王旭静, 贾士荣. 主要农作物转基因飘流频率和距离的数据调研与分析: II 水稻. 中国农业科技导报, 2011, 13(3): 30-34.
- Wang Z X, Wang X J, Jia S R. Data survey and analysis of the transgene flow frequencies and distances in major crops: II Rice. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2011, 13(3): 30-34. (in Chinese)
- [36] 王旭静, 徐惠君, 余茂云, 贾士荣, 王志兴. 主要农作物转基因飘流频率和距离的数据调研与分析: III 小麦. 中国农业科技导报, 2011, 13(4): 66-71.
- Wang X J, Xu H J, She M Y, Jia S R, Wang Z X. Data survey and analysis of transgene flow frequency and distance in major crops. III Wheat. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2011, 13(4): 66-71. (in Chinese)
- [37] Gressel J. Tandem constructs: preventing the rise of superweeds. *Trends Biotechnology*, 1999, 17: 361-366.
- [38] Daniell H, Datta R, Varma S, Gray S, Lee S B. Containment of herbicide resistance through genetic engineering of the chloroplast genome. *Nature Biotechnology*, 1998, 16: 345-348.
- [39] Ruf S, Hermann M, Berger I J, Carrer H, Bock R. Stable genetic transformation of tomato plastids-high-level foreign protein expression in fruits. *Nature Biotechnology*, 2001, 19: 870-875.
- [40] Scott S E, Wilkinson M J. Low probability of chloroplast movement from oilseed rape (*Brassica napus*) into wild *Brassica rapa*. *Nature Biotechnology*, 1999, 17: 390-392.

- [41] Steber C M, Cooney S E, Mccourt P. Isolation of the GA-response mutant *sly1* as a suppressor of ABI1-1 in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics*, 1998, 149: 509-521.
- [42] Lilegren S J, Ditta G S, Eshed Y, Savidge B, Bowman J L, Yanofsky M F. SHATTERPROOF MADS-box genes control seed dispersal in *Arabidopsis*. *Nature*, 2000, 404: 766-770.
- [43] Webb S E, Appleford N E J, Gaskin P, Lenton J R. Gibberellins in internodes and ears of wheat containing different dwarfing alleles. *Phytochemistry*, 1998, 47: 671-677.
- [44] Peng J, Richards D E, Hartley N M, Murphy G P, Devos K M, Flintham J E, Beales J, Fish L J, Worland A J, Pelica F, Sudhakar D, Christou P, Snape J W, Gale M D, Harberd N P. "Green revolution" genes encode mutant gibberellin response modulators. *Nature*, 1999, 400: 256-261.
- [45] Odell J T, Russell S H, Sauer B L, Hsu F C, Shen J B. Site specific recombination of DNA in plant cells. United State Patent, Patent No. 5658772, 1991.
- [46] Odell J T, Hoopes J L, Vermerris W. Seed-specific gene activation mediated by the Cre/lox site-specific recombination system. *Plant Physiology*, 1994, 106: 447-458.
- [47] Russell S H, Hoopes J L, Odell J T. Directed excision of a transgene from the plant genome. *Molecular and General Genetics*, 1992, 234: 49-59.
- [48] Jepson I. Inducible herbicide resistance. United State Patent, Patent No. US6381463B1, 2002.
- [49] Moon H S, Abercrombie L L, Eda S, Blanvillain R, Thomson J G, Ow D W, Stewart Jr. C N. Transgene excision in pollen using a codon optimized serine resolvase *CinH-RS2* site-specific recombination system. *Plant Molecular Biology*, 2011, 75: 621-631.
- [50] Service R F. A growing threat down on the farm. *Science*, 2007, 316: 1114-1117.
- [51] Behrens M R, Mutlu N, Chakraborty S, Dumitru R, Jiang W Z, LaVallee B J, Herman P L, Clemente T E, Weeks D P. Dicamba resistance: Enlarging and preserving biotechnology based weed management strategies. *Science*, 2007, 316: 1185-1188.
- [52] Wright T R, Shan G, Walsh T A, Lira J M, Cui C, Song P, Zhuang M, Arnold N L, Lin G, Yau K, Russell S M, Cicchillo R M, Peterson M A, Simpson D M, Zhou N, Ponsamuel J, Zhang Z. Robust crop resistance to broadleaf and grass herbicides provided by aryloxyalkanoate dioxygenase transgenes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107: 20240-20245.
- [53] 潘月红, 逯 锐, 周爱莲, 贾 硕, 孙国凤. 我国农业生物技术及产业化发展现状与前景. *生物技术通报*, 2011(6): 1-6.
- Pan Y H, Lu R, Zhou A L, Jia S, Sun G F. The status and prospects of agri-biotechnology and industrialization in China. *Biotechnology Bulletin*, 2011(6): 1-6. (in Chinese)

(责任编辑 李 莉)