

· 综述 ·

抗草铵膦转基因作物及其生物安全性研究进展

张宏军 倪汉文* 周志强 江树人

(中国农业大学, 北京 100094)

摘要 抗草铵膦转基因作物一般可以承受 $2.0 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 有效量以下的剂量, 而只要 $1.0 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 就可以得到很好的杂草防效。其抗性的稳定性受到环境因子、载体构建和抗性基因导入方法等因素的影响; 抗性基因可以通过花粉漂移; 抗性作物与原受体在没有草铵膦作用下有一定的差异。虽然大量文献报道抗草铵膦转基因作物对周围的生态群落没有影响, 但也发现草铵膦可以致毛虫死亡。抗草铵膦转基因作物的安全性问题具有长期性、复杂性和不可预见性。在应用抗除草剂作物时, 应特别注意其抗性稳定性, 将之纳入杂草综合治理体系中。

关键词 抗除草剂转基因作物; 草铵膦; 安全性

中图分类号 S481.4; Q789

Major Progress on Biosafety of Glufosinate Resistant Transgenic Crops

Zhang Hongjun Ni Hanwen Zhou Zhiqiang Jiang Shuren

(China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract Evaluating biosafety of transgenic herbicide resistant crops is important, as this technique gets more and more popular in the integrated weed control program. In general, the maximum capacity of transgenic glufosinate resistant crops to tolerate glufosinate was at $2.0 \text{ kg (a.i.)} \cdot \text{hm}^{-2}$, and application of $1.0 \text{ kg (a.i.)} \cdot \text{hm}^{-2}$ would have a good efficacy. However, the resistant stability of the transgenic crops might differ as environmental factors, transformation methods of resistant genes, and construction of expression vectors varied. There were also certain variations between transgenic crops and original parents. Herbicide resistant genes could drift by pollen movement. Although many reports demonstrated that transgenic glufosinate resistant crops had no effects on other organisms, there was evidence showed that glufosinate residue on plant leaves could kill caterpillar. Thus, the evaluation of biosafety of glufosinate resistant transgenic crops was a complicated matter, and would be a long-term task. It is, therefore, necessary to pay more attention to the resistant stability of the transgenic crops and this method could only be considered as one of the effective techniques in the integrated weed control program.

Key words herbicide resistant transgenic crops; glufosinate; biosafety

当今世界杂草的抗药性不断出现和发展, 除草剂新品种的开发成本不断增加, 环境要求也越来越高。农药公司为了增加其产品的市场份额而不断研究开发抗除草剂转基因作物品种。抗

收稿日期: 2002-03-05

国家转基因农作物生物安全研究专项基金资助项目(J00-C-002)

* 倪汉文, 副教授, 研究方向为杂草生物学、生物除草剂、抗除草剂转基因作物安全性等。北京圆明园西路2号



除草剂转基因作物因有很大优势陆续得到商品化推广, 大面积种植。但是出于环境安全等考虑, 国内外的科研机构围绕抗除草剂转基因作物的安全性方面开展了广泛、深入研究。

草铵膦 (Glufosinate) 是德国艾格福公司 (AgrEvo) 开发的有机磷类广谱灭生性除草剂, 其作用靶标是植物的谷氨酰胺合成酶 (GS), 通过抑制此酶, 导致氮代谢紊乱和氨的过量积累造成中毒, 叶绿体破坏。科学家分别从潮霉菌的菌株 *S. trepamyces hygroscopicus* 中分离得到 *bar* 基因和从菌株 *S. viridochromogenes* 分离得到 *pat* 基因。这 2 个基因具有 80% 的同源性, 都可以编码草铵膦乙酰化酶 (phosphinothricin acetyltransferase), 而该酶可以使草铵膦乙酰化而失活。艾格福公司先后将抗性基因导入作物, 从而选育出多种抗草铵膦转基因作物品种。如抗草铵膦大豆、玉米、油菜、甜菜、棉花与水稻等^[1-4]。中国农科院水稻所也培育出抗草铵膦的转基因水稻, 抗性表现稳定, 现正进行安全性评价工作。

1 抗性作物耐药性、除草效果及与其他农化制剂的互作

1.1 抗性作物的耐药性和杂草防效

抗草铵膦转基因作物的耐药性和杂草防效研究较多。Kranzsz 等在田间评价了一次和连续多次使用草铵膦对抗草铵膦玉米的安全性和对一年生杂草的防除情况。草铵膦 ($0.4 \sim 1.2 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$) 对玉米有一定伤害但不影响产量^[5,6]; 连续多次喷施明显好于一次喷施的药效且发现其分别与烟嘧磺隆或溴苯腈混用, 也不影响玉米株高和产量^[7]。抗草铵膦转基因苜蓿田喷施草铵膦的除草效果很好, 虽然苜蓿叶片中叶绿体含量显著降低^[8], 但对产量没有显著影响。

高剂量的草铵膦对抗性转基因作物药害较轻, 而且统计表明对最终产量没有显著影响。抗性作物的安全剂量范围一般可以达到 $2.0 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$, 而 $0.5 \sim 1.0 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 的剂量就可以保证除草效果。草铵膦抗性作物的耐药性和杂草防效方面的研究很多, 但其他除草剂对转基因作物的耐药性, 及其他除草剂等农化物质与草铵膦混用等研究还很少。

1.2 草铵膦与其他农化制剂的互作

人们担心草铵膦的作用靶标单一, 在抗性作物连作时容易诱导杂草产生抗性, 而且如果转基因作物的抗性基因漂移到杂草上就可能产生超级杂草。于是开始研究草铵膦与其他农化制剂的互作, 期望降低这些风险, 并提高草铵膦的吸收和传导, 提高药效, 节约成本等。

草铵膦中只要添加硫酸铵 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 就可以显著提高对稗草、狗尾草和苘麻等杂草的防效, 但是对藜和苋菜防效不理想^[9]。同位素标记研究发现, 硫酸铵可以促进草铵膦的吸收和传导^[9]。草铵膦与莠去津混用时杂草防效很差^[10], 而与吡氟禾草灵混用的药效很好^[11]。在抗草铵膦作物田 (油菜、甜菜、玉米), 草铵膦混用比草铵膦单用药效好^[11]。草铵膦与其他部分除草剂混用可提高除草效果, 但有些混配组合也增加了药害。草铵膦 $2.2 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 单用对抗性水稻的药害最轻只达 $6\% \sim 13\%$, 与三氟羧草醚混用对水稻植株的药害达到 22% , 与乙氯草定混用对水稻的药害最严重, 达到 $59\% \sim 76\%$ 。草铵膦与三氟羧草醚混用对杂草红稻的防效最好, 可以达到 92% , 而且比单用草铵膦, 降低红稻株高 16% 、缩短籽粒成熟期 31% , 降低百粒重 24% ^[12,13]。

2 抗性稳定性

2.1 环境因子的影响

环境条件的改变尤其是温度和光强的改变, 能够影响转基因植物抗性的表达。例如, 可以使白色的突变体呈现红色的玉米 A1 基因在导入牵牛花后, 可以正常表达, 但是在给予强光处

理并且将温度升高到 36 ℃ 时,则转入的 A1 基因会部分或全部沉默,不表现红色性状。如果没有强光协同处理,即使将温度升高到 48 ℃,基因沉默的比例也只能达到 5%,这充分说明强光跟温度协同作用可导致基因 A1 沉默^[14]。温度并不是导致 A1 基因沉默的主要环境因子。但是对于抗草铵膦转基因的作物来讲,温度胁迫是一个重要因子。一些学者研究了高温对转基因作物基因表达的影响。微生物(*Photinus pyralis*)中的荧光素酶基因导入烟草中,在常温下可以正常表达,但是只要在 37 ℃ 下培养此转基因植物 10 d,导入的基因就全部沉默;尽管荧光素酶基因对应的信使 RNA 含量增加了,却没有表达;而且温度胁迫下的基因沉默是可逆的过程,把温度下降到常温时,该基因恢复表达^[14]。高温可诱导抗草铵膦苜蓿和烟草的细胞丧失抗性^[15]。在将抗草铵膦的 *pat* 基因导入紫花苜蓿作为标记基因过程中,将草铵膦加入培养液进行细胞悬浮培养,具有稳定的抗性;但是在不同温度 37 ℃ 和 25 ℃ 下培养比较,抗性很不稳定。37 ℃ 时,只连续培养了 10 d 就有 95% 的细胞失去了抗性,对这些细胞进行的基因检测发现,*pat* 基因稳定存在,但是靶标酶-谷氨酰胺合成酶完全失去活性^[16]。在田间种植转基因抗除草剂作物(水稻和马铃薯)时,发生代谢紊乱^[17]。

水层深度和遮荫程度对抗性水稻生长影响的研究说明随着水层深度增加,遮荫程度增加,并随氮肥用量减少,水稻的生长明显受到抑制,并且对除草剂的抗性明显降低。但是抗性降低的具体原因仍然不清楚。

温度等环境因子导致基因沉默的机理还不清楚,是环境因子造成抗性基因的丢失,还是使之不能转录?是在表达的过程中出现了问题,还是虽能正常表达但靶标酶失活?究竟环境因子启动了哪个信号导致这样的结果,有待于深入研究。

2.2 导入方法及载体构建的影响

用基因枪法将 *bar* 和 *pat* 抗除草剂基因导入水稻成熟种子胚培养的愈伤组织中,可以得到 5% 的高转化率,在田间 3 代的抗性稳定性评价发现,在第 3 代有一定比例的抗性分离^[18]。

研究指出温度胁迫造成的基因沉默与基因 DNA 序列无关,而与导入基因时连接的启动子和终止子的类型有关。研究温度胁迫下烟草草铵膦的抗性时,把微生物中克隆的 *pat41* 基因连接在 832 个碱基的 CaMV 35s 启动子后,导入植物中,抗性正常表达,但在经过 10 d 连续 37 ℃ 培养完全丧失了对草铵膦的抗性,无论是靶标酶的活性,还是 *pat41* 基因对应的蛋白都检测不到;相比之下,*pat5* 基因连接了具有 534 个碱基的 CaMV 35s 启动子,将其导入植物,表现出正常的抗性。而且在温度胁迫下保持了稳定的抗性。序列比较发现,*pat41* 基因编码区富含腺嘌呤和鸟嘌呤,而 *pat5* 基因编码区富含胞嘧啶和胸腺嘧啶。但同样是 *pat5* 基因 5'-3' 和 3'-5' 不同顺序导入植物,只是 5'-3' 序列导入后,植物对温度胁迫仍具有稳定抗性。为了深入研究转基因植物抗性稳定性的表达,一些学者还采用不同的载体构建,来研究不同载体在连接目的基因之后,再将之导入植物后的抗性稳定性^[19]。McCabe 等采用从病毒中得到的 CaMV 启动子和从菜豆中得到的 *petE* 启动子分别连接上抗除草剂草铵膦的 *bar* 基因后导入苜蓿中。研究发现这 2 种载体的导入结果差异非常显著。用 CaMV 启动子导入的苜蓿在 T₀ 代只有 2.5% 的抗性比例,T₁ 代为 16%,T₂ 代为 22%,T₃ 代达到 11%。而用 *petE* 启动子导入的苜蓿抗性比例非常大,在 T₀ 代就有 97% 的抗性比例,T₁ 代有 63%,在 T₂ 代有 83%,T₃ 代达到 99%。基因分析结果也发现用 *petE* 启动子导入的苜蓿具有更加稳定的抗性^[20]。

在转基因过程中,不同的载体构建对转化率也有影响。抗草铵膦芥子的转基因过程中,启动子采用 CaMV 35s 和 35sdebar。结果启动子的转化率分别为 23% 和 16%^[21]。

3 抗草铵磷转基因作物与原受体之间的差异

很多人从转基因抗除草剂作物问世以来,就一直寻找抗除草剂品种与原受体的差异和区别。但是现在除了抗除草剂这一特性外,人们还没有其他明显证据^[22]。所以一些生物学家也认为,抗性基因的导入,除了使原受体具有除草剂抗性外,不会有任何影响。然而实际工作中,人们不断发现二者的差异。抗性最先发生在杂草上,于是人们研究了杂草抗性和对应敏感型的表现。如抗莠去津的杂草在没有莠去津的压力作用下,抗性型不如敏感型的竞争力强^[23~25]。基于一些相应的研究结果,科学家推测,在没有除草剂高压选择之下,抗性型仍然要合成抗性蛋白酶,这样就消耗了大量的能量,所以其生长不如敏感型竞争力强。对于抗除草剂的作物而言,我们可以比较抗性品种与原受体之间竞争力的差异。Oard 等利用基因枪法将 *bar* 基因导入已经商品化的 3 个水稻品种。对转基因后的材料进行 DNA 和 RNA 检测表明, *bar* 基因整合到水稻的 DNA 中,可以稳定遗传和表达,并表现了很好的抗性。在水稻 4 叶期,喷施 2.12 或 2.24 kg·hm⁻² 的草铵磷对转基因品种不造成任何伤害,而原受体亲本在 7 d 之内就会被完全杀死。但是在 1993—1994 年田间评价过程中,却发现了一些新问题:转基因抗草铵磷水稻与原受体亲本比较可以正常受精,产生成熟的种子,但是在没有草铵磷作用下,转基因抗草铵磷水稻生育期延迟。原受体已经有 50% 抽穗,而转基因品种只有 20% 抽穗,而且株高和产量都有不同程度的差异^[26]。Oard 等田间评价发现抗草铵磷水稻与原受体亲本比较,在没有草铵磷作用下,二者株高和成熟期等方面存在显著差异^[27]。

4 抗性基因漂移

抗除草剂转基因植物的基因漂移问题自从转基因植物问世以来,科学家就开始了对其讨论、争执和验证。Bartsch 等研究了转基因抗除草剂草铵磷的甜菜与野生种进行人工杂交,研究抗性基因通过花粉飘移的可能性,发现抗性基因可以通过花粉而漂移。一些学者还在田间研究了抗草铵磷转基因芸薹与其近源野生杂草杂交的可育性,得到了同样的结论^[28~33]。对抗草铵磷小麦与野生山羊草 (*Aegilops cylindrica*) 杂交种进行的研究发现杂种可以在田间自发地与野生山羊草回交。Sujatha 等研究了抗除草剂草铵磷转基因水稻和杂草红稻杂交的可能性。试验证实抗性基因完全可以从抗性水稻漂移到杂草红稻,其杂交的 F₁ 代可以耐受 2.2 kg·hm⁻² 的草铵磷;而在 F₂ 代抗性发生了分离,抗性和敏感的比例为 3:1^[34]。林鸿生等通过试验也证实抗草铵磷水稻的抗性基因可以随花粉漂移,在 3 m 以内的同种非抗性水稻上就可以检测到一定比例的 *bar* 基因^[35]。由此表明,经过不断的回交,转基因作物中的外源基因可进入野生亲缘种的遗传背景。

5 加速抗性杂草发生

目前,在世界范围内,由于长期大量使用除草剂,已在 171 种杂草中发现 231 种抗性生物型对各类除草剂产生了抗药性,给杂草防除带来了很大障碍。在管理不善情况下,种植抗除草剂作物会增加除草剂的用量,而且连续多年种植,进一步加速杂草抗药性的产生。通过合理轮换作物种类或品种,采用综合的杂草防治措施等,可有效防止或延缓抗药性杂草的产生^[36]。

6 环境安全性

统计发现,种植抗除草剂甜菜可以减少除草剂的用量,更有益于环境安全^[37],种植抗除草

剂转基因作物,把需要大量土壤处理的除草剂都改为茎叶处理,显著降低了施入到环境中除草剂的总量^[38]。在抗草铵膦玉米周围的缓冲区种植了抗草铵膦转基因玉米而且连续多次使用草铵膦,大量调查都说明,缓冲区内及周围的生物种群及组成等未发现有任何异常^[39]。另一周边调查也说明:蝴蝶、腹足纲动物、节肢纲动物的生长、繁殖情况未发现异常。王茵等采用抗草铵膦水稻的稻米喂养小鼠和大鼠来评价转基因水稻的毒性,发现抗草铵膦稻米对小鼠和大鼠没有致畸、致突变作用^[40]。

许多科学家和公众都担心抗除草剂作物的种植会影响生物多样性,但是目前还没有证据表明抗除草剂作物种植影响了其他生物生长、发育,或繁殖^[41]。可是最近一项研究表明:抗草铵膦水稻在喷施一定量(100 $\mu\text{g}/\text{叶}$)的草铵膦后,导致喂养毛虫的死亡,作者分析,草铵膦的作用靶标是谷氨酰胺合成酶(GS),而昆虫和动物体内也有这个参与氮代谢的酶,在检测毛虫的谷氨酰胺合成酶活性之后,证实草铵膦抑制GS的活性,影响毛虫氮代谢而导致死亡^[42]。最近又有研究发现草铵膦具有杀菌活性^[43]。可由此推测抗草铵膦转基因作物种植过程中随着草铵膦的不断施用,可能会对周边区域的生物造成影响,这就需要我们对抗除草剂转基因作物进行持续监测和研究。

7 结 语

草铵膦是广谱灭生性除草剂。如果在使用过程中,抗性基因沉默,或表达量低,将会引起极大的损失,所以安全性应以其抗性稳定性为核心。环境因素的变化导致抗性沉默,那么哪些环境因子,多大的强度可以导致抗性沉默?这些因子之间有什么关系?抗性基因沉默的机理是什么?如何避免其发生?如果发生,如何补救?这些都是与生产紧密相关的课题。

草铵膦对抗除草剂种植区周边的生物群落的发生、发展是否有影响?有多大的影响?这对于生态的可持续发展意义重大而深远。抗性基因如果真的发生漂移的话,人们一直担心会出现超级杂草。而且现有的一些研究表明,抗性基因可以通过抗性品种与近源野生种杂交而发生漂移。那么我们在研究抗性基因漂移的具体证据的时候,是否也应该考虑如何消除这方面的威胁,以及威胁发生之后的补救措施。

为了充分利用抗除草剂转基因作物,防止应用后可能发生的危害,我们应将抗除草剂转基因作物纳入杂草综合治理,而不是完全依赖它来防除杂草,从而避免抗性杂草的发生,降低其负面影响。抗除草剂转基因作物有很多优点,但像其他转基因作物一样,其生物安全性问题具有长期性、复杂性和不可预见性。因此,我们必须持积极、谨慎的态度,以保证该项新技术发挥作用,又不至于给我们的经济和环境造成影响。

参 考 文 献

- 1 黄大年. 农作物抗除草剂遗传工程研究进展. 生物工程进展, 1997, 17(5): 14~ 17
- 2 吴爱忠, 吴爱忠, 唐克轩, 等. 转基因培育抗除草剂水稻. 遗传学报, 2000, 21(17): 992~ 998
- 3 黄大年, 朱冰, 杨炜. 抗菌肽B基因导入水稻及转基因植株的鉴定. 中国科学, 1997, 27(1): 55~ 62
- 4 Oard J H, Linscombe S D, Braveman M P, et al. Development, field evaluation, and agronomic performance of transgenic herbicide resistant rice. Molecular Breeding, 1996, 2(4): 359~ 368
- 5 Schmutzler K. Chances and risks of genetically engineered herbicide tolerance. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 1999, 32(2): 83~ 87

- 6 Kransz R F, Kapusta G, Matthew s J L, et al Evaluation of glufosinate-resistance corn (*Zea mays*) and glufosinate: efficacy on annual weeds *Weed Technology*, 1999, 13(4): 691~ 696
- 7 Read M A, Ball J G Survey evidence on producer use and costs of genetically modified seeds *Agribusiness* (New York), 2000, 16(1): 6~ 20
- 8 Kornyevev D Y. Inhibition of glutamine synthetase activity by phosphinothricin results in disappearance of the peak M 2 of the chlorophyll fluorescence induction curve *Photosynthetica*, 1999, 36(4): 601~ 604
- 9 Maschhoff J R. Effect of ammonium sulfates on the efficacy, adsorption, and translocation of glufosinate *Weed Science*, 2000, 48: 2~ 6
- 10 Shalender Kumar, Bangea R S Effects of post-emergence herbicides on weed control in potato. *Indian Journal of Weed Science*, 1998, 30(3/4): 129~ 132
- 11 Adamczewski K, Praczyk T, Bubniewicz P, et al Transgenic crops tolerant to herbicides in field experiments at institute of plant protection. *Progress in Plant Protection*, 1999, 39(1): 231~ 237
- 12 Sujatha Sankula, Braveman M P, Oard J H, et al Genetic analysis of glufosinate resistance in crosses between transformed rice (*Oryza sativa*) and red rice (*Oryza sativa*). *Weed Technology*, 1998, 12(2): 209~ 214
- 13 Sujatha Sankula, Braveman M P, Oard J H, et al Glufosinate-resistant, BAR-transformed rice (*Oryza sativa*) and red rice (*Oryza sativa*) response to glufosinate alone and in mixtures *Weed Technology*, 1997, 11(4): 662~ 666
- 14 Meyer P, Line F, Heidmann L, et al Endogenous and environmental factors influence 35s promoter methylation of a maize A1 gene construct in transgenic petunia and its color phenotype *Mol Gen Genet*, 1992, 231: 345~ 352
- 15 Neumann K W, Droge-Laser S, Kohne S, et al Heat induced loss of transgenic activity detected and analyzed in several transgenic *Nicotiana tabacum* lines *Journal of Plant Physiology*, 1997, 115: 939~ 947
- 16 Walter C, Broer I, Hillemann D, et al High frequency, heat treatment-induced inactivation of the phosphinothricin resistance gene in transgenic single cell suspension cultures of *Medicago sativa* *Molecular Gene Genet*, 1992, 235 (2- 3): 189~ 196
- 17 Hashimoto W, Ozawa S Genetically modified foods: potential problems for safety assessment and monitoring-review. *Recent Research Developments in Agricultural & Food Chemistry*, 1999, 3(1): 277~ 293
- 18 Jiang Junda High efficiency transformation of U. S. rice lines from mature seed-derived calli and segregation of glufosinate resistance under field conditions *Crop Science*, 2000, 40(6): 1729~ 1741
- 19 Stefan K. The heat treatment induced reduction of the pat gene encoded herbicide resistance in *Nicotiana tabacum* is influenced by the transgenic sequence *Plant Physio*, 1998, 153: 631~ 642
- 20 McCabe M S Increased stable inheritance of herbicide resistance in transgenic lettuce carrying a petE promoter *bar* gene compared with a CaMV 35S *bar* gene *Theoretical and Applied Genetics*, 1999, 99(3/4): 587~ 592
- 21 Smriti Mehra P, Ashwani Pareek, Panchali Bandyopadhyay, et al Development of transgenics in India oilseed mustard (*B. rassica juncea*) resistant to herbicide phosphinothricin. *Current Science*, 2000, 78 (11): 1358~ 1364
- 22 McBride W D, Books N. Survey evidence on producer use and costs of genetically modified seed *Agribusiness* (New York), 2000, 16(1): 6~ 20
- 23 Holt J S, Radosevich S R. Differential growth of two common groundsel (*Senecio vulgaris*) biotypes *Weed Science*, 1983, 31: 112~ 120
- 24 Marriage P D, Warwick S I Differential growth and response to atrazine between and within susceptible and resistant biotype of *Chenopodium album* L. *Weed Research*, 1980, 20: 9~ 15
- 25 Warwick S I Differential growth between and within triazine-resistant and triazine susceptible biotypes of

- Senecio vulgaris* L. Weed Research, 1980, 20: 209~ 303
- 26 Oard J H, Linscombe S D, Braveman M P, et al Development, field evaluation, and agronomic performance of transgenic herbicide resistant rice Molecular Breed, 1996, 2(4): 359~ 368
- 27 Oard J H, Cohn M A, Linscombe S, et al Field evaluation of seed production, shattering, and dormancy in hybrid populations of transgenic rice (*Oryza sativa*) and the weed, red rice (*O. sativa*). Plant Science Limerick, 2000, 157(1): 13~ 22
- 28 Bartsch D, Pohl O r f M. Ecological aspects of transgenic sugar beet: Transfer and expression of herbicide resistance in hybrids with wild beets Euphytica, 1996, 91(1): 55~ 58
- 29 Jorgensen R B, Andersen B. Spontaneous hybridization between oilseed rape and weedy brassicaceae: a risk of growing genetically modified oilseed rape American Journal of Botany, 1994, 81(12): 1620~ 1626
- 30 Mikkelsen T D, Andersen B, Jorgensen R B. The risk of crop transgene spread Nature, 1996, 380: 31
- 31 Chevre A M, Eber F, Baranger A, et al Characterization of backcross generations obtained under field conditions from oilseed rape wild radish F₁ interspecific hybrids: an assessment of transgene dispersal Theo Appl Genet, 1998, 97: 90~ 98
- 32 Chevre A M, Eber F, Damency H, et al Gene flows from transgenic crop. Nature, 1997, 389: 924
- 33 Chevre A M, Eber F, Damency H, et al Assessment of interspecific hybridization between transgenic oilseed rape and wild radish under normal agronomic conditions Theoretical and Applied Genetics, 2000, 100(8): 1233~ 1239
- 34 Sujatha Sankula M P, Sankula Sujatha, Braveman M P, et al Genetic analysis of glufosinate resistance in crosses between transformed rice (*Oryza sativa*) and red rice (*Oryza sativa*). Weed Technology, 1998, 12(2): 209~ 214
- 35 林鸿生, 华志华 *Bar* 基因在水稻制种中的应用及其安全性分析 江西农业学报, 2000, 12(2): 6~ 10
- 36 Tharp B E. Response of annual weeds species to glufosinate and glyphosate Weed Technology, 1999, 13(3): 542~ 547
- 37 Wevers J D A. Herbicides tolerance and the effects on the environmental contamination. 63e Congress Institut International de Recherches Betteravieres, Interlaken, Switzerland, 9~ 10 fevrier 2000, 179~ 185
- 38 Muellner H. Herbicide tolerance, a contribution to integrated crop management Pesticide Chemistry, 1991, 130~ 138
- 39 Volkmars C, Wetzel M L, Hussein A, et al Ecological studies accompanying the cultivation of transgenic maize plants in Friemar from 1994 to 1996 Archives of Phytopathology and Plant Protection, 1999, 32(4): 291~ 335
- 40 王茵, 来伟旗, 陈建国, 等 抗除草剂基因(BAR)转基因水稻的毒性试验 卫生研究, 2000, 29(3): 141~ 142
- 41 Watkinson A R, Freckleton R P. Predictions of biodiversity response to genetically modified herbicide tolerant crops Science, 2000, 289: 1554~ 1557
- 42 Kutlesna J. Insecticidal activity of glufosinate through glufosinate depletion in a caterpillar. Pest Management Science, 2001, 57: 25~ 32
- 43 Pline W A, Lacy G H, Stromberg V, et al Antibacterial activity of the glufosinate on pseudomonas syringae pathovar glycinea Pesticide Biochemistry and Physiology, 2001, 71(1): 48~ 55