

文章编号: 1674-7054(2011)04-0373-05

转基因水稻向普通野生稻及其他近缘植物的基因漂流研究进展

尹昭坤, 乔健, 袁潜华

(海南大学农学院, 海南海口 570228)

摘要: 转基因水稻与普通野生稻及其近缘植物的基因漂流问题, 是目前国内外科学家在转基因水稻环境安全评价方面所关注的重点问题之一。笔者综述了转基因水稻向普通野生稻及其他近缘植物基因漂流的研究进展, 并讨论了转基因水稻基因漂流控制的问题。

关键词: 转基因水稻; 普通野生稻; 杂草稻; 基因漂流

中图分类号: S 336

文献标志码: A

水稻是世界重要的禾谷类作物, 为全球近一半人口提供粮食。近年来, 作物生物技术的迅猛发展, 极大地促进了作物转基因品种的选育。水稻转抗虫、抗病、抗除草剂、耐旱、耐盐等基因的转基因品种已经培育成功, 许多已经进行环境释放试验, 部分进入了生产性试验, 个别品种已经取得安全证书。转基因作物在全球范围的广泛种植可产生了巨大的经济效益, 为解决世界粮食安全问题提供了契机。与此同时, 转基因作物也引发了对生物安全问题的担忧与争论。因此, 尽管目前转基因水稻的研制技术已基本成熟, 但因国际贸易及安全性评估体系尚未完善, 以及存在安全性争论等问题, 其整体仍处于环境释放和生产试验阶段。转基因水稻的生物安全性问题仍是其商业化应用的瓶颈。

转基因水稻与普通野生稻及其近缘植物的基因漂流问题, 是目前国内外科学家在转基因水稻环境安全评价方面所关注的重点问题之一^[1-2]。国内外研究者在转基因水稻的环境安全性研究方面取得了一定的进展, 获得了很多研究成果并积累了大量的资料和数据^[3]。

1 转基因水稻的基因漂流

转基因作物基因漂流(gene flow/gene dispersal)是指外源基因通过花粉授精杂交等途径在种群之间扩散的过程^[4]。转基因植物基因漂流(gene flow)途径大致有2个: 一是通过转基因植物的种子扩散到新生境, 并生存下来; 二是通过花粉向同种或近缘种非转基因植物转移。基因漂流也可能存在第3条途径, 即非同种生物间, 如植物与微生物(细菌、真菌、病毒等)间在自然界中发生基因转移, 但这条途径尚未得到证实^[5]。基因漂流的影响因素主要包括生物学因素和物理因素2类^[6]: 第1类通过花粉授精杂交等途径在种群之间扩散所产生的基因漂流, 其完成要求空间分布相近、花期相遇和无生殖隔离等; 第2类影响基因漂流的物理因素主要指地形条件、物候条件、风向风速和有无隔离屏障等^[7]。

转基因作物基因漂流已经引起多方关注, 尤其对环境和生物多样性的影响是重点关注和争议的问题。但应注意的是, 转基因作物基因漂流的风险并不是基因漂流本身, 而是它可能引起的潜在环境后果。这取决于基因种类、基因的表型性状及其释放的环境。因此, 研究的重点应是不同目的基因、不同表型性状在不同环境中可能引起的后果^[8]。分析作物在特定地区、特定环境和特定作物类型中的基因漂流频

收稿日期: 2011-10-26

基金项目: 转基因生物新品种培育重大专项(2009ZX08011-010B)

作者简介: 尹昭坤(1986-), 女, 河南信阳人, 海南大学农学院2009级硕士研究生。

通信作者: 袁潜华, 海南大学农学院研究员。E-mail: qhyuan@163.com

率,可以对作物基因漂流的环境风险大小作出客观评价。由于野生近缘种群拥有着十分丰富的基因资源,外源基因逃逸到作物的野生近缘种中可能直接或间接地影响这些野生种群的遗传和生态适应性,进而影响该野生种群的生态和进化方向^[1]。因此,转基因作物向野生植物的基因漂流应该是重点关注的内容。

2 转基因水稻向普通野生稻的基因漂流

普通野生稻(*Oryza rufipogon* Griff)是栽培稻的祖先,是十分宝贵的野生种质资源。普通野生稻中蕴藏着许多优异基因(如抗病、抗虫、抗逆性等),具有十分丰富的遗传多样性,是水稻遗传改良的基因库^[2]。普通野生稻有非常广阔的地理分布,广泛分布于非洲、亚洲、大洋洲,生长在沼泽地带、草塘或河边。普通野生稻与栽培稻同属 AA 型基因组,亲缘关系较近,两者杂交可以获得种子,转基因水稻可以通过花粉扩散向普通野生稻产生基因漂流,但目前报道的杂交后代育性高低不一。另一方面,普通野生稻也可向栽培稻产生基因漂流,两者杂种 1 代与亲本回交后可以获得稳定的杂种后代^[3],运用该方法,育种家已成功地将水稻野生近缘种中的优异基因转入栽培稻中,如水稻草矮病毒抗性基因的获得^[4],雄性不育系的选育^[5],在长雄野生稻中发现的白叶枯抗性基因^[6]等,并以此为基础成功选育抗白叶枯病水稻新品种。

一些研究者对在不同生态区转基因水稻向普通野生稻间的基因漂流进行了研究。SONG Zhi-ping 等^[7]在栽培条件下对栽培稻恢复系明恢 63 向普通野生稻基因漂流进行了评估。在田间自然状况下,栽培稻向多年生普通野生稻基因漂流的频率在各实验群体之间有较大的差异,最高频率为 2.94%;基因漂流最大距离为 43.2 m。卢宝荣等^[8]评估了韩国与中国 2 个不同生态区转基因水稻向普通野生稻基因漂流频率,并采用微卫星分子标记(SSR)技术检测转 *bar* 基因水稻向普通野生稻和杂草稻的基因漂流频率。结果显示,韩国与中国 2 个不同生态区转 *bar* 基因水稻向杂草稻的基因漂流频率为 0.011% ~ 0.046%,向普通野生稻的基因漂流频率为 1.21% ~ 2.19%。FORY L^[9]等对拉丁美洲转基因水稻和普通野生稻间的基因漂流情况进行了研究,试验通过筛选商用农田中 54 385 份杂草稻单株,分别与哥伦比亚不同地区抗除草剂转基因水稻 CF205 进行杂交,并运用 SNP 分子标记对考卡山谷省杂交群体 *ALS*(乙酰乳酸合酶)基因进行检测,结果显示,有 9%(19 280 株)的野生稻杂种后代具有除草剂抗性,抗性株系中,通过父本遗传获得抗性的植株比例小于 1%。

由于此前的多项研究是在小面积实验环境下进行,为提高基因漂流评估的精确度,贾士荣等^[7]在广州和海南南繁基地对转基因水稻向栽培稻和高州野生稻的基因漂流进行了研究。通过研究发现,在大面积种植的主流风向(顺风),转基因水稻向普通野生稻的最大漂流距离为 250 m,这是目前转基因向普通野生稻基因漂流研究的最大漂流距离,检测到的最大距离上的漂流频率为 0.01%。而与转基因花粉供体邻近种植的区域(0 ~ 1 m),转基因向普通野生稻基因漂流频率达到了 11% ~ 18%。就普通野生稻而言,在不同的生态区使用不同的普通野生稻材料,转基因水稻向普通野生稻的漂流距离和漂流频率结果有一定差异,这种差异在一定程度上可能是由于不同试验区的主流风向、风速以及花粉源的多少等差异所致。

除此之外,卢宝荣的研究组还对栽培稻向多年生普通野生稻发生基因漂流的杂种 1 代进行了测定。结果显示,与亲本相比较,杂交后代的幼苗生活力、花粉生活力、种子产量均显著降低。杂交后代在生殖生长阶段虽表现不佳,但在营养生长期却表现出杂种优势,分蘖力要比亲本高。而在整个生活史中,其综合适应性无显著差异^[10]。

3 转基因水稻向其他近缘植物的基因漂流研究

杂草稻与栽培稻是同一生物学种,两者之间没有显著的生殖隔离,容易产生基因交流^[11]。杂草稻是栽培稻的返祖退化类型或是与其野生近缘种产生天然杂交分离和种质渗入后形成的伴生杂草。杂草稻不仅具有十分旺盛的生长能力、适应性强、耐干旱、种子休眠期长^[12],而且具有早发芽、分蘖多、早抽穗、早成熟、异交能力强等特性^[13]。在杂草稻与栽培稻共生区,栽培稻有“杂草化”趋势。在这些地区,杂草稻与栽培稻的杂种后代与栽培稻形成生存竞争,其后代种子质量差,从而导致水稻产量的下降^[12-23]。由于杂草稻通过基因漂流渗入到栽培稻后可能会导致稻米产量和品质下降,目前杂草稻已成为稻田杂草防除中亟待解决的问题^[24]。

红稻是杂草稻的一种,是野生稻和栽培稻在天然杂交过程中形成的^[25-26]。杂草稻/红稻群体是野生稻与栽培水稻的中间型,有着丰富的遗传多样性和高度异质性^[27]。ZHANG N Y等^[28]研究发现,栽培稻和杂草稻之间的异交率小于1%,转基因水稻向杂草稻的基因漂流频率为0.3%。MESSEGUER^[29]报道了转基因水稻与栽培稻、红稻间可以发生基因漂流,其漂流频率小于1%。SHIVRAIN V K^[30]等以12个红稻类群作为花粉供体,与抗咪唑乙烟酸转基因水稻进行杂交来研究红稻向栽培稻的基因漂流频率和杂种后代的生态适合度。研究发现红稻与转基因稻发生了基因渗入。红稻向转基因水稻的基因漂流频率为0.01%~0.20%,同时基因漂流频率因红稻类群各异。杂种1代可育,杂交后代在结实率 and 环境适合度方面均比亲本高。

PREECHA P^[31]等发现甜菜碱醛脱氢酶 *badh2* 基因向杂草稻发生基因漂流。ZAIDA Lentini^[32]采用 cpDNA SSRs 分子标记技术检测转基因水稻向杂草稻的基因漂流情况,发现在田间自然状态下,转基因水稻向杂草稻的基因漂流率小于1%。然而,在亚洲其他地区的多项研究表明,在可控的试验环境下,栽培稻与杂草稻间发生基因漂流的频率较高^[33]。YOSUKE Kuroda^[34]对老挝糯稻种植区的栽培稻与野生稻的杂交研究显示,杂种亲和性与糯稻品种和野生稻居群亲本的特性有关。在设置100 m的距离隔离和采取花粉隔离措施后,该地区栽培稻与野生稻间仍有基因漂流现象。

除对基因漂流频率的研究外,转基因水稻通过与相关物种杂交,是否会增加杂草稻的生存、适应和传播能力等,也成为转基因水稻基因漂流研究的重要问题。CHUN Y J^[35]等以抗除草剂基因水稻为花粉供体,以3种栽培稻和1个杂草稻居群为受体,研究韩国转基因水稻品种 Dongjin 与3种栽培稻和杂草稻间的基因漂流情况,发现 Dongjin 与3种栽培稻和杂草稻间均发生了基因漂流,且其杂种2代群体表现出更强的环境适应性。

BARBARA Schaal^[36]等对泰国野生稻与当地栽培稻、耐旱转基因水稻之间的基因漂流过程中产生的杂草稻种子适合度进行测定,发现以转基因水稻做母本与野生稻进行杂交产生的杂草稻后代比父母本具有更强的耐旱性。该研究还认为转基因水稻向普通野生稻基因漂流过程中产生的杂草稻将对稻田产量产生显著影响。PAOLA Ruiz 对拉丁美洲热带植物区转基因水稻、栽培稻与杂草稻间的基因漂流及其对受体物种的产生影响进行了研究^[37]。笔者选用4个当地栽培品种分别与158份不同红稻群体混合种植,观察杂种后代的形态表征和物候特性,并进行 SAS 聚类分析。结果显示,这些杂种后代种子质量性状可作为区分红稻及其近缘物种的依据,一些被评估的表型(如有无芒,种皮颜色,粒长,粒宽)差异显著,并筛选出一些红稻生物型作为进一步基因漂流试验检测的指标。

另外,一些研究者对于转基因水稻向普通野生稻的基因漂流的模型进行了研究。LU Baorong 等根据不同生态区的基因漂流模型与相对湿度及花粉源的多少等相关性,建立了评价基因漂流的评估模型,以期精确评估和管理转基因水稻的基因逃逸^[38]。KEMIN Yao 等以栽培稻、雄性不育系、普通野生稻为材料,通过由水稻花粉扩散模型计算的花粉扩散率与由田间试验获得的基因漂流率的相关分析,提出了基因漂流系数的概念,计算和验证了花粉扩散率和基因漂流系数^[39]。由花粉扩散率和基因漂流系数,以0.9%,0.1%和0.01%为基因漂流率阈值,分别计算了3种水稻类型的转基因水稻安全隔离距离,绘制出具有中国东南部季风气候和地形特征的最大基因漂流距离空间分布图。该研究为评价我国不同地区转基因水稻向普通野生稻基因漂流的距离以及各地的转基因风险管理提供了参考。

4 结 语

转基因水稻向普通野生稻和其他近缘植物通过花粉传播等途径发生基因漂流。基因漂流是植物界的自然现象,是物种进化的一种途径,在作物和其野生近缘种的进化过程中起着重要的作用。然而,对于水稻的野生近缘植物而言,转基因水稻的基因漂流势必会影响野生植物的生物多样性,对其生态环境造成一定的影响。因此,科学评估转基因水稻对野生近缘植物的影响,对于评价转基因水稻商业化的利弊具有重要意义。转基因作物环境风险评估中的基因漂流试验,是评价转基因环境影响的主要途径之一。现有的有关转基因水稻向普通野生稻及其近缘植物的基因漂流研究,主要集中在不同材料的漂流频率、漂流距离等方面,仅提供了小范围的大田释放评价数据,且观察时间短,资料缺乏系统性,尤其是在不同

生态区的漂流频率的对比方面。另外,转基因水稻长时间释放造成的生态效应还有待于进一步研究。转基因水稻通过基因漂流进入到野生稻群体后,转基因在其中随世代的变化特性或消长规律也是需要探讨的问题。转基因水稻向野生近缘植物基因漂流后代种子活力问题以及在野生居群中的生长繁殖问题等,在基因漂流过程中至关重要,决定着基因初始流动效力。转基因水稻与野生近缘植物杂交后代,如果能够在野生群体中正常生长繁殖,便需要进一步探讨关于基因漂流的长期效应问题。目前,还无法全面了解转基因对野生群体的生态适合度的影响,从而无法确定转基因逃逸是否会通过改变野生近缘种群的生态适合度而导致某种生态后果。因此,加强转基因水稻向其野生近缘种间的基因漂流研究,深入研究野生稻等野生近缘种的形态特性和物候特性,全面评估不同转基因水稻与野生稻及其近缘物种的基因漂流,进而进一步了解其作用规律,制定出准确的安全评估模型,正确评价转基因水稻通过基因漂流对野生近缘植物的影响。另一方面,通过探索研究新一代阻断基因漂流的通用或专用技术,如“外源基因删除”技术,“基因拆分技术”等,使转基因植物的花粉、种子或果实中不再含有目的外源基因,达到用转基因植物生产出非转基因食品的目的,从根本上解决转基因植物的潜在安全性问题,这对于促进和推动转基因作物的产业化具有重要意义。

参考文献:

- [1] LU B R, SNOW. AA Gene flow from genetically modified rice and its environmental consequences [J]. Bio Science, 2005, 55 (8): 669 - 678.
- [2] 卢宝荣. 全球转基因逃逸及其生态后果的最新研究动态 [J]. 生物多样性, 2003, 11(2): 177 - 178.
- [3] 王艳红. 用 SSR 进行普通野生稻(*Oryza rufipogon* Griff) 的分子群体遗传学研究 [D]. 西安: 西北科技大学, 2002.
- [4] 樊龙江, 周雪平, 胡秉民, 等. 转基因植物的基因漂流风险 [J]. 应用生态学, 2001, 12(4): 4 - 6.
- [5] KJELLSON G, SIMONSEN V. Methods for risk assessment of transgenic plants. Competition, establishment and ecosystem effects [M]. Basel: Birkhauser, 1994.
- [6] HARDING K, HARRIS P S. Risk assessment of the release of genetically modified plants: a review [M]. London: Ministry of Agriculture, Fisheries and Food in London, 1997: 8 - 13.
- [7] GROVER J. Gene flow study: Implications for GM crop release in Australia [M/OI]. Canberra: Bureau of Rural Sciences Canberra. 2002 [2011 - 10 - 27]. <http://www.affa.gov.au/brs>.
- [8] 贾士荣. 转基因作物的环境风险分析研究进展 [J]. 中国农业科学, 2004, 37(2): 175 - 187.
- [9] DUNCAN A V. The wild relatives of rice: Use of wild rices for evaluation, breeding, or experimental purposes [M]. Philippines: IRRI, 1994: 22 - 23.
- [10] VAUGHAN D A, MORISHIMA H. Biosystematics of the genus *Oryza*. Chapter 1.2. In: CW smith, RH dilday, eds. rice. origin, history, technology, and production [J]. John Wiley and Sons Inc, 2003, 4(5): 27 - 65.
- [11] KHUSH G S. Breeding for resistance in rice [J]. Ann N Y Acad Sci, 1976, 719: 296 - 308.
- [12] LIN S C, YUAN L P. Hybrid rice breeding in China [M]. Manila: In Innovative approaches to rice breeding. International Rice Research Institute, 1980: 35 - 51.
- [13] VAUGHAN D A, MORISHIMA H, KADOWAKI K. Diversity in the *Oryza* genus [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2003(6): 139 - 146.
- [14] SONG Zhi-ping, LU Bao-rong, CHEN Jia-kuan, et al. Gene flow from cultivated rice to the wild species *Oryza rufipogon* under experimental field conditions [J]. New Phytologist, 2003, 157(24): 657 - 665.
- [15] CHEN Li-juan, LEE Dong-sun, SONG Zhi-ping, et al. Gene flow from cultivated rice (*Oryza sativa*) to its weedy and wild Relatives [J]. Annals of Botany, 2004, 93(1): 67 - 73.
- [16] FORY L, GONZALEZ E, MORALES M, et al. Gene flow analysis in rice wild weedy relatives in Tropical America: Understanding crop-biodiversity interactions [M/OI]. Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical International Center for Tropical Agriculture (CIAT), 2001 [2011 - 07 - 28]. <http://webapp.ciat.cgiar.org/epmr-ciat/pdf/poster-18-epmr07.pdf>.
- [17] WANG Feng, YUAN Qian-hua, JIA Shi-rong, et al. A large-scale field study of transgene flow from cultivated rice (*Oryza sativa*) to common wild rice (*O. rufipogon*) and barnyard grass (*Echinochloa crusgalli*) [J]. Plant Biotechnology Journal, 2006(4): 667 - 676.
- [18] SONG Zhi-ping, LU Bao-rong, WANG Bin, et al. Fitness estimation through performance comparison of F1 hybrids with their parental species (*Oryza rufipogon*) and *O. sativa* [J]. Annals of Botany, 2004, 93(25): 311 - 316.
- [19] 程林, 韩飞, 袁潜华. 转基因稻向栽培稻及其稻属植物的基因漂流研究进展 [J]. 贵州科学, 2007(25): 3 - 6.
- [20] ABDULLAH M, VAUGHAN A, WATANABE, et al. The origin of weedy rice in peninsular malaysia [J]. Malaysian Agricultural Research and Development Institute (MARDI) Research Journal, 1996(24): 160 - 174.
- [21] KHUSH G. Origin, dispersal, cultivation and variation of rice [J]. Plant Mol Biol., 1997 (35): 25 - 34.

- [2] OKA H I. Origin of Cultivated Rice [M]. Tokyo :Japan Scientific Societies Press,1988:49 – 97.
- [3] BRES P. Heredity and genetic mapping of domestication-related traits in a temperate japonica weedy rice [J]. Theor Appl Genet,2001,102, 118 – 126.
- [4] CHANG P Y,SAGARA Y. The utilization of rice in Taiwan [M]. Taiwan: ASPAC Food & Fertilizer Technology Center, 1988:1 – 9.
- [5] COHN M A. Seed dormancy in red rice: A balance of logic and luck [J]. Weed Sci, 2002(50):261 – 266.
- [6] GU X Y, CHEN Z X , FOLEY M E. Inheritance of seed dormancy in weedy rice [J]. Crop Sci, 2003,43(23): 835 – 843.
- [7] Ministry of Environment and Forests government of India. Series of Crop Specific Biology Documents: Biology of rice [M/OI]. India: Ministry of Science&Technology, Government of India,2004 [2011 – 07 – 28]. <http://dbtbiosafety.nic.in/guidelines/rice.pdf>.
- [8] ZHANG N, LINScombe S,OARD J. Out-crossing frequency and genetic analysis of hybrids between transgenic glufosinate herbicide-resistant rice and the weed, red rice [J]. Euphytica ,2003,130(1): 35 – 45.
- [9] MESSEGUER J, MARFA V, CATALA M M, et al. A field study of pollen-mediated gene flow from Mediterranean GM rice to conventional rice and the red rice weed [J]. Molecular Breeding, 2004,13(1): 103 – 112.
- [10] VINOD K, SHIVRAIN A, NILDA R B, et al. Gene flow from weedy red rice (*Oryza sativa* L.) to cultivated rice and fitness of hybrids [J]. SCI, 2009, 65 (10):1124 – 1129.
- [11] PREECHA P. The *badh2* Allele of the fragrance (*fgr/BADH2*) Gene is present in the gene population of weedy rice (*Oryza sativa* f. *spontanea*) from thailand [J]. American-Eurasian J Agric & Environ Sci ,2009, 5(5): 603 – 608.
- [12] ZAIDA L, DANIEL D, ANA M E, et al. Gene flow analysis into wild/weedy relatives from crops with center origin/ diversity in tropical america [M/OI]. Cali: International Center for Tropical Agriculture (CIAT) , 2007 [2011 – 07 – 28]. <http://www.gmo-safety.eu/pdf/biosafenet/Lentini.pdf>.
- [13] LENTINI Z, ESPINOZA A. Coexistence of weedy rice in tropical america gene flow and generic diversity [M]. Boca Raton: CRC Press Inc,2005:306 – 307.
- [14] YOSUKE K, YO-CHIRC S, CHAY B, et al. Gene flow from cultivated rice (*Oryza sativa* L.) to wild *Oryza* species (*O. rufipogon* Griff and *O. nivara* Sharma and Shastry) on the vientiane plain of Laos [J]. Springer, 2005,142:75 – 83.
- [15] CHUN Y J, KIM D I, PARK K W, et al. Gene flow from herbicide-tolerant GM rice and the heterosis of GM rice-weed F_2 progeny [J]. Planta,2011, 1(7):7.
- [16] BARBARA S, ANBREEN B, SANSANEE J, et al. Biosafety research and environmental risk assessment [C] //Introgression and gene flow in asian rice. The 9th International symposium on the biosafety of genetically modified organisms. Korea: Barbara Schaal, 2006: 24 – 29.
- [17] PAOLA R, JUAN J, VÁSQUEZ E ,et al. Gene flow analysis from rice into wild/weedy relatives in the neo-tropics: morphological and phenological characterization of red rice [M/OI]. Cali: International Center for Tropical Agriculture (CIAT) , 2001 [2011 – 07 – 28]. <http://webapp.ciat.cgiar.org/biotechnology/pdf/Poster-2-Red-Rice.pdf>.
- [18] LU Bao-rong . Modeling pollen-mediated gene flow in rice: Implications for assessing and managing transgene escape [J]. ISB News report, 2010, 4(13):1 – 3.
- [19] YAO Ke-min ,HU Ning, CHEN Wan-long, et al. Establishment of a rice transgene flow model for predicting maximum distances of gene flow in southern China [J]. New Phytologist,2008, 180: 217 – 228.

Progresses on the Gene Flow from Transgenic Rice to Common Wild Rice and its Close Relatives

YIN Zhao-kun,QIAO Jian,YUAN Qian-hua

(College of Agriculture, Hainan University, Haikou 570228, China)

Abstract: The introgression of transgenes into common wild rice (*Oryza rufipogon*) and its wild relatives or weeds through pollen mediated gene flow is a major concern in environmental risk assessment of transgenic crops. In the report, the progresses on the gene flow from transgenic rice to common wild rice and its close relatives were reviewed and the strategies for controlling transgene flow were also discussed.

Key words: transgenic rice; common wild rice; weedy rice; gene flow