



评述

中国知名大学及研究院所专栏 复旦大学生命科学学院专辑

转基因栽培稻基因漂移是否会带来环境生物安全影响?

卢宝荣, 王磊, 王哲

复旦大学生命科学学院, 生物多样性与生态工程教育部重点实验室, 上海 200438

E-mail: brlu@fudan.edu.cn

收稿日期: 2016-01-16; 接受日期: 2016-02-06

国家自然科学基金(批准号: 31330014)和国家转基因育种重大专项(批准号: 2016ZX08011006)资助

摘要 转基因通过基因漂移可以渐渗到作物的野生近缘种, 由此而导致的环境风险是全球广泛关注的生物安全问题. 有 3 个关键因素可以决定环境风险的程度: 特定空间距离的转基因漂移频率, 转基因在野生近缘种中的表达水平, 以及转基因为野生近缘种群体带来的适合度效应. 本文将根据现有研究结果, 从上述 3 方面对转基因漂移到非转基因栽培稻、杂草稻和野生稻造成的潜在环境影响进行回顾. 栽培稻品种之间的基因漂移频率很低, 可以通过空间隔离或其他方法使其降低到可忽略的水平. 在共同分布的环境中, 栽培稻基因(包括转基因)向杂草稻和野生稻的漂移不可避免. 尽管抗虫转基因(*Bt* 或 *Bt/CpTI*)在栽培稻和野生近缘种杂交后代中可以正常表达, 但由于在低虫压环境中, 抗虫转基因不会明显改变野生近缘种的适合度, 抗虫转基因漂移所造成的环境影响十分有限. 因此对基因漂移而言, 抗虫转基因栽培稻的商品化种植应该比较安全. 然而, 抗除草剂转基因渐渗到杂草稻或野生稻会改变群体的适合度, 可能会引起不可预测的环境后果.

关键词 生态影响, 栽培稻, 野生近缘种, 基因漂移, 适合度, 转基因, 生物安全

作为全世界最重要的粮食作物之一, 栽培稻 (*Oryza sativa* L.) 的可持续生产与全球粮食安全密切相关, 全世界每年稻米的消费量高达 4.8 亿吨, 这些稻米为全球约 35 亿人提供主粮^[1]. 稻米为发展中国家的人口提供了 27% 的膳食能量和 20% 的蛋白质^[2], 对于亚洲、拉丁美洲、加勒比地区以及非洲部分地区人民的营养保障提供了重要基础. 我国是世界最大的栽培稻生产国和消费国, 栽培稻生产在我国的粮

食安全中占有举足轻重的地位. 我国每年栽培稻的种植面积达 3000 万公顷, 稻谷产量约占粮食总产量的 40%^[3], 约有 65% 的人口以稻米作为主粮^[4], 保证栽培稻的可持续高产和稳产至关重要. 然而, 我国栽培稻生产正面临严峻的挑战, 这是由于耕地面积日益减少, 栽培稻的单位面积产量增长缓慢, 病虫害频繁发生, 杂草危害蔓延扩散等诸多原因, 而传统的育种技术对于解决上述问题却显得力不从心. 自 2012

引用格式: 卢宝荣, 王磊, 王哲. 转基因栽培稻基因漂移是否会带来环境生物安全影响? 中国科学: 生命科学, 2016, 46: 420–431

Lu B R, Wang L, Wang Z. Can transgene flow lead to environmental biosafety impacts in rice? *Sci Sin Vitae*, 2016, 46: 420–431, doi: 10.1360/N052016-00127

年以来,我国稻米的进口量迅速增长并逐年上升^[5],2014 年进口稻米量已高达 255.3 万吨.为了防治病虫害并提高栽培稻产量,不得不高剂量使用化学农药,这不仅使害虫产生了显著的抗药性,而且也对大气、土壤、水体、有益生物乃至人类健康均产生了诸多不利影响,每年我国因误用农药导致的中毒案例已超过 4000 起,中毒死亡人数超过 400^[6],食品和饲料中农药残留危害的现象也屡见不鲜.由此可见,仅依靠传统方法来摆脱目前我国栽培稻生产所面临的困境,具有极大的挑战性,需要利用新技术并结合优异种质资源,进行品种的遗传改良,才能保证我国栽培稻的生产和粮食安全.

在众多新技术中,转基因技术由于其独特优点脱颖而出,在其诞生至今的短短 30 多年中得到了迅速发展,并在农业领域特别是农作物遗传改良中得到广泛应用.到 2014 年底,全球转基因作物的种植面积已达 1.815 亿公顷,转基因作物创造的价值高达 157 亿美元^[7].相对于传统方法育种,转基因技术的最大优势在于可以打破物种间生殖隔离障碍,使农作物能够获得任何物种的优异基因用于性状的遗传改良,从而极大拓展了育种过程中可利用的基因资源,使基因的导入不再局限于具有一定亲缘关系的物种.同时,转基因技术是将确定目标性状的基因直接转入受体作物,与人工杂交和多世代筛选的育种方法相比,更为快捷、高效且更具目标性.由于上述优点,转基因技术迅速应用于传统育种,成为能够保障世界粮食安全的重要技术之一,并且已在农业生产应用中表现出了良好前景,也为解决我国栽培稻生产面临的问题提供了一种重要方法.

栽培稻的病虫害是制约我国栽培稻高产稳产的重要因素,即使在施用抗虫农药的情况下,每年我国因病虫害而造成的稻谷产量损失也高达 400~500 万吨^[3].利用转基因技术培育抗虫稻品种是应对虫害的有效方法.转基因 *Bt* 抗虫棉的成功培育和广泛种植,不仅拯救了我国的棉花产业,而且还大大减少了农药的使用量,为区域生态环境和人民健康带来了显著的利益^[8].转基因抗虫棉的成功应用,为转基因抗虫稻的研发和推广提供了很好的案例.鉴于栽培稻的重要性及相关研究成果,我国利用转基因技术对栽培稻的遗传改良进行了大量探索.迄今,已有多种不同类型的基因,如产量提高、品质改良、抗病、抗

虫、抗除草剂、抗逆境胁迫等,被成功转移到栽培稻中^[9-13].2009 年,我国两种抗虫转基因栽培稻“华恢 1 号”和“*Bt* 汕优 63”获得了中华人民共和国农业部颁发的生物安全证书,并且于 2014 年获准延期,这是我国的转基因水稻从实验室研究迈向生产实践的重要里程碑.然而在转基因技术发展和应用的过程中,人们仍忧心于转基因所带来的潜在生物安全影响,并且这样的担忧已成为转基因技术发展与应用的瓶颈.其中,栽培稻的转基因漂移是否带来潜在生态环境影响便是世人最为关注的生物安全问题之一.栽培稻的转基因漂移频率有多高?外源基因漂移到野生近缘种之后能否正常表达?通过基因漂移进入野生近缘种群体的转基因是否会改变其适合度和群体结构从而导致环境风险?诸如此类的问题^[14]均亟待以科学研究结果予以回答.本文将基于已有的研究成果对这些疑问进行分析和解答,特别是对抗虫栽培稻的转基因漂移是否会导致环境影响的相关问题进行了介绍和探讨.

1 转基因漂移及其对环境的潜在影响

1.1 转基因生物安全的定义及涵盖领域

按照卡塔赫纳生物安全议定书的定义,生物安全是指:“确保在安全转移、处理和使用凭借现代生物技术获得的、可能对生物多样性的保护和可持续使用产生不利影响的改性活生物体领域内采取充分的保护措施,同时顾及对人类健康所构成的风险并特别侧重越境转移问题”^[15].由此可见,生物安全的定义主要包括了活体改性生物(living modified organisms, LMO),即经过生物技术改良的转基因生物体所涉及的安全与健康问题,以及为了控制和解决这些问题所采取的相应措施.转基因生物安全所涵盖的领域非常广泛,几乎涉及了与生物相关的所有领域.但是对其进行归纳,转基因生物安全主要涉及以下几方面的领域.民以食为天,因此公众最关心的生物安全领域就是转基因生物的食品安全问题.即任何转基因食品在其进行商品化应用之前必须经过食品安全的评价,在对其进行了包括营养特性、致敏性、毒性等安全评价,并证明没有食品安全的问题之后,才会颁发安全证书进入商品化生产.转基因生物安全涉及的另一重要领域是环境生物安全.转基因环境生

物安全是指转基因生物释放到自然环境中后对其周围的生物多样性和所在生态系统可能带来的影响。转基因的环境生物安全问题主要包括转基因向非转基因作物品种及野生近缘种漂移及其所导致的潜在生态环境风险、抗病或抗虫转基因对非靶标生物的影响、抗病或抗虫转基因作物长期种植导致靶标生物对转基因产生的抗性影响, 转基因作物对农业及自然生态系统中的生物多样性的潜在影响、以及转基因作物大面积种植对土壤生物群落的影响。环境生物安全所涉及的地域范围较广, 影响因素众多, 产生环境效应以及生态后果的时间周期较长, 再加之环境生物安全影响的检测较难和不易严格进行界定, 所以对环境生物安全问题的研究、评价及管理都具有很大的难度。

此外, 生物安全还涉及与转基因相关的法律与法规, 转基因的标识与检测, 公众对转基因的认知, 转基因的社会、经济和伦理, 以及转基因风险评价体系等问题。由于生物技术是新兴的技术, 人们对转基因生物的商品化应用与人类健康和生态环境保护的关系还缺乏了解。为了促进转基因技术及其产品的安全利用, 从法律和法规的层面对转基因生物的研发、环境释放以及商品化生产等方面均进行了规范管理。一些国家还立法, 对进入商品销售的转基因产品进行标识, 充分保障了消费者的知情权与选择权, 同时还为此而配套制定了转基因成分的检测方法, 以保证转基因标识法的实施。由于公众缺乏转基因生物和转基因技术的相关知识, 生物安全涉及的另一领域便是加强对公众的相关科学知识普及和信息反馈, 提高公众对转基因的科学认知。转基因技术和产品的应用, 还产生了诸如社会发展、经济利益与风险分配、以及与伦理相关的问题, 这些也是生物安全关注的领域。此外, 为了充分保障转基因生物技术和转基因产品的安全应用, 需要建立一套完整的转基因风险评价体系, 对其安全性进行全面、客观和科学的评价。由此可见, 转基因生物安全涵盖的领域确实非常广泛。但本文主要关注转基因漂移及其潜在的环境风险分析, 并用研究实例对其进行讨论。

1.2 转基因漂移及其潜在的环境风险

通常, 基因漂移(或称基因流, gene flow)是指一个或多个基因从某一个生物群体转移到另一个群体的过程^[16]。这是自然界中非常普遍的现象, 也是生物

进化的一个重要驱动力^[16]。有些作者也将基因水平转移(horizontal gene transfer)包含在基因漂移的范畴内, 但是基因水平转移不涉及有性生殖的过程, 而主要通过细胞之间的接触和感染等方式使基因或遗传物质在亲缘关系较远的不同物种个体之间进行转移。由于基因水平转移大多发生在低等生物(如菌类), 而且发生的频率极低, 不高于基因突变的频率, 目前还没有充分的证据表明它会带来与环境生物安全相关的问题。因此, 本文将讨论的主要目标集中于经典意义上的基因漂移^[16]。

按照导致基因漂移的媒介不同, 广义的基因漂移还可以分为花粉介导、种子介导、以及无性繁殖体介导的基因漂移^[17]。花粉介导的基因漂移涉及有性杂交的过程, 会造成不同生物群体之间的遗传物质交换和遗传重组, 因而对生物群体的进化过程影响较大。由于种子或无性繁殖体介导的基因漂移不涉及有性杂交过程, 并且可以通过人工管理的方式来避免这种类型的基因漂移和降低基因漂移的水平, 因此也不在本文讨论的范畴。按照基因漂移的对象不同, 还可以将基因漂移分为作物与作物、作物与同种杂草、以及作物与野生近缘种 3 大类型。转基因可以通过上述不同形式的基因漂移, 从转基因作物转移到非转基因作物品种以及作物的野生近缘种群体^[17]。

作物与作物发生转基因漂移的后果, 主要是造成非转基因作物品种的转基因混杂, 有些人将其称为“转基因污染”, 这种无意识和低水平的混杂可能引起国家或地区之间的贸易纠纷, 甚至上升为法律诉讼。特别是那些对转基因作物或产品设有严格限制的地区和国家, 如果在进口的农作物产品中检测出了因无意识混杂而超过特定“阈值”含量的转基因成分, 更会引起不同程度的贸易或法律纠纷。在转基因作物大面积种植的情况下, 一旦转基因以较高的频率漂移到地方品种和农家品种, 还可能会影响这些作物品种的遗传多样性并改变这些种质资源的遗传完整性^[17]。此外, 在抗虫转基因作物(棉花)的种植中一般采取“高剂量与庇护所”的策略, 即在转基因棉花中种植一定比例的非转基因棉花作为靶标害虫的庇护所, 在群体中保持一定比例的转基因敏感靶标害虫, 以延缓其对转基因抗性的产生。如果转基因作物与非转基因作物之间的基因漂移水平较高, 非转基因作物庇护所中的棉花植株将获得抗虫性

状, 从而丧失庇护所的功能, 加速靶标害虫抗性的产生^[18].

作物向同种杂草(*conspecific weed*)的转基因漂移后果主要取决于转基因的性质. 同种杂草是指发生于同一田块, 与栽培作物属于同一生物学物种的杂草, 如栽培稻田中的杂草稻(*O. sativa f. spontanea*)和栽培油菜田中的杂草油菜(*Brassica napus*). 如果转基因能够增强同种杂草的入侵能力和生存竞争能力, 则会使农田中的杂草危害更加严重, 甚至入侵到农田以外的生境. 如果同种杂草获得的转基因能够增强其抗逆境和抗胁迫(如耐旱和耐寒)能力, 则基因漂移会提高同种杂草的环境适应性, 使该杂草在更广泛的生境中发生. 目前已有 3 种抗除草剂基因分别从不同转基因油菜漂移到杂草型油菜, 从而产生同时抗几种除草剂的“超级杂草”案例^[19], 以及抗除草剂基因从栽培稻漂移到杂草稻而形成抗除草剂杂草稻的案例报道^[20]. 上述作物与同种杂草(如栽培稻与杂草稻、油菜与杂草型油菜)之间的基因漂移大大增加了利用除草剂控制杂草的难度.

作物向其野生近缘种转基因漂移的后果是带来潜在的环境影响或生态风险. 具有自然选择优势或劣势的转基因, 一旦通过基因漂移转移到作物的野生近缘种, 可能由于适合度的提高或下降而导致杂种群体的生存竞争能力和繁殖能力的变化, 进而带来不确定的环境影响^[18]. 通常, 由于农田生态环境中的野生近缘种群体分布的范围通常小于作物群体, 作物向野生近缘种的转基因漂移能够对其群体遗传结构和遗传多样性带来显著影响^[18]. 大量的转基因通过基因漂移而转移到野生近缘种群体, 即使该转基因不带来任何适合度优势, 也会由于遗传同化(*genetic assimilation*)效应而大大降低这些野生近缘种群体的遗传多样性^[18]. 一方面, 具有适合度优势的转基因漂移到野生近缘种群体之后, 获得转基因个体的生存或繁殖优势将得到提升, 这类转基因将通过遗传渐渗在群体中迅速扩散; 同时, 由于携带转基因的个体入侵能力增强, 当其进入农业生态系统后, 便会成为难以控制的新型杂草^[17]. 另一方面, 如果转基因会给野生近缘种群体带来一定的适合度劣势, 不断发生的作物向野生近缘种群体的基因漂移会导致这些群体的适应性降低, 从而使群体逐渐萎缩乃至局部群体的灭绝, 即湮没(*swamping*)效应^[18]. 再者, 具有自然或人工选择优势的转基因在受到强烈

的正选择或负选择时, 也会使与之连锁的其他基因由于选择剔除(*selective sweep*)效应而趋于单一化, 从而导致群体的遗传多样性下降甚至丧失^[18].

2 栽培稻转基因漂移及其环境影响的研究与评价

评价转基因漂移是否会导致潜在的生态影响, 以下几个关键环节非常重要: (i) 确定转基因漂移的频率, 如果转基因漂移到非转基因作物或野生近缘种的频率极低, 甚至不会发生转基因漂移, 则导致潜在环境风险的可能性就相对很低. 反之, 则风险较高; (ii) 对于野生近缘种而言, 需要检测漂移到野生种群体中的转基因是否能够正常表达, 如果转基因不能在野生近缘种群体中正常表达, 则不会导致负面的环境影响; (iii) 需要评价漂移到野生近缘种群体中的转基因是否能够提高野生近缘种植株的适合度, 如果漂移到野生近缘种群体的转基因不会改变野生群体的适合度, 则转基因带来的环境影响也非常有限; (iv) 漂移到野生近缘种的转基因是否会对群体的遗传结构和进化潜力带来影响, 这也是决定转基因漂移及其潜在环境长期影响的重要因素. 因此, 本文将从上述 4 个环节分别对该领域的研究成果进行回顾和总结.

2.1 栽培稻品种之间和栽培稻与野生近缘种间的转基因漂移频率

栽培稻品种之间基因漂移频率的大小, 决定了发生转基因混杂的可能性以及对非转基因品种的影响. 利用分子标记和转基因自身作为标记, 世界各地的学者已对栽培稻不同品种之间的基因漂移频率进行了大量的研究. 例如, Messeguer 等人^[21]利用抗草铵膦除草剂转基因(*pat*)作为标记, 开展了转基因栽培稻与其非转基因品种基因漂移的田间实验, 检测到在距离 1 m 处, 基因漂移的最高频率为 0.53%, 而在距离 5 m 处基因漂移的频率仅为 0.01%. 之后, Messeguer 等人^[22]又利用除草剂, 检测了抗除草剂转基因(*bar*)从栽培稻到非转基因品种的基因漂移频率, 发现在近距离(<1 m)的条件下转基因漂移的频率为 0.05%~0.1%. 利用简单重复序列微卫星分子标记(*simple sequence repeat*, *SSR*), Rong 等人^[23]检测了农家水稻品种和杂交品种之间的基因漂移, 检测到在

近距离(0.2 m)条件下, 农家品种向杂交品种的平均基因漂移频率为 0.17%; 而杂交品种向农家品种的平均基因漂移频率为 0.04%, 表明栽培稻品种之间的非对称和极低频率的基因漂移。随后, 他们又在不同混合种植模式下, 检测了在上述近距离条件下抗虫转基因(*Bt/CpTI*)从栽培稻向非转基因品种漂移的实验, 获得了在不同混种情况下的基因漂移频率为 0.05%~0.79%的结果^[24]。其后, Rong 等人^[25]在不同的研究中又检测了 4 种不同田间设计和 3 对不同抗虫转基因(*Bt/CpTI*)和非转基因水稻品种之间的转基因漂移频率随着空间距离增加的变化规律, 发现空间距离为 0.2 m 的情况下, 最大基因漂移频率为 0.28%, 而在距离增加到 6.2 m 之后基因漂移频率即下降至 0.001% 以下。相似水平的基因漂移频率也在 Jia 等人^[26]以及 Qian 等人^[27]的栽培稻基因漂移田间实验中获得。上述研究结果表明, 栽培稻不同品种之间的基因漂移频率普遍很低, 在近距离处(0.2 m)的基因漂移频率一般均小于 1%, 而在增大空间隔离距离的条件下, 如>10 m, 基因漂移频率将迅速下降至 0.01% 以下。利用模型模拟的结果, 也获得了与上述实验结果相吻合的栽培稻基因漂移频率^[28,29]。由此可见, 通过一定空间距离和物理屏障的隔离措施, 便可以将转基因栽培稻和非转基因栽培稻品种之间的基因漂移频率控制在阈值要求的范围内。

由于杂草稻对栽培稻生产的严重危害以及杂草稻基因漂移可能产生的生态后果, 对栽培稻向杂草稻的基因漂移研究也日益受到重视。Langevin 和 Grace^[30]利用同工酶和表型标记的方法检测了在模拟水稻生产条件下, 不同栽培稻品种在近距离(0.1 m)向杂草稻的基因漂移, 发现不同组合的基因漂移频率在 1%~7% 左右, 但有一例栽培稻向杂草稻的基因漂移频率高达 52%, 这是栽培稻与杂草稻基因漂移频率最高的报道, 而之后也没有再检测到如此高水平的基因漂移频率。利用抗草铵膦转基因栽培稻, Noldin 等人^[31]检测了栽培稻与杂草稻之间的基因漂移, 发现栽培稻向两种杂草稻的基因漂移频率分别为 0.14% 和 0.26%。Chen 等人^[32]利用抗除草剂转基因(*bar*)栽培稻与 13 个不同来源的杂草稻进行了混栽实验, 并检测了栽培稻向杂草稻的基因漂移, 结果发现栽培稻向杂草稻的基因漂移频率为 0%~0.046%。其后, 世界各地的学者利用抗除草剂栽培稻, 在不同的实验设计条件下进行了栽培稻向杂草稻基因漂移的

实验^[33,34], 获得的基因漂移频率均在 1% 以下。综上所述研究结果, 栽培稻向杂草稻基因漂移的频率一般较低, 在与栽培稻混栽和近距离的条件下, 基因漂移的频率通常都小于 1%, 与栽培稻不同品种间的基因漂移频率类似。但是不同来源的杂草稻群体之间的遗传背景差异较大, 某些株系与栽培稻之间存在较高水平的基因漂移。由于杂草稻与栽培稻为同一物种, 而且共同分布于稻田, 栽培稻的转基因通过基因漂移渐渗到杂草稻不可避免。另外, 由于杂草稻的自我繁殖特性, 即使每一世代仅有较低频率的转基因渐渗到杂草稻群体, 这些转基因也可以通过逐代积累而达到较高的水平, 从而带来一定的环境影响。

野生稻是栽培稻的重要遗传资源宝库。通常, 由于野生稻种群不大, 并且自身的异交率较高, 因此栽培稻向野生稻基因漂移及其产生的影响不可忽视。对于栽培稻向野生稻的基因漂移已有诸多研究。2003 年, Song 等人^[35]利用微卫星分子标记, 检测了在不同田间设计实验条件下栽培稻向普通野生稻的基因漂移, 结果表明, 在相距 3.6 m 的实验条件下, 栽培稻向普通野生稻(*O. rufipogon* Griff.)的最大基因漂移频率为 3%, 而在相距 30 m 的情况下, 基因漂移频率迅速下降到 0.1% 以下。Chen 等人^[32]用微卫星分子标记检测了在相间种植的条件下(行距为 0.5 m)栽培稻向普通野生稻的基因漂移频率为 1.2%~2.2%。Wang 等人^[36]利用抗除草剂转基因(*bar*), 在中国广州和三亚检测了大规模田间种植条件下栽培稻向普通野生稻基因漂移的频率, 结果表明, 在近距离处(0~1 m), 基因漂移频率达到 11%~18%, 而且在栽培稻与普通野生稻相距 250 m 的情况下, 也能检测到频率为 0.01% 的基因漂移。上述研究结果表明, 由于普通野生稻自身的异交率水平较高, 而且不同群体的异交率有较大变异, 栽培稻向普通野生稻的转基因漂移频率通常也会较高, 在近距离的情况下转基因漂移的频率通常会大于 1%。同样, 由于野生稻的落粒性和自我繁殖特性, 进入野生稻群体的转基因也可以通过世代积累而达到较高的水平。因此, 对转基因从栽培稻漂移到野生稻所带来的环境影响, 应该予以认真研究和评价。

大量田间试验结果表明栽培稻、杂草稻和野生稻之间的基因漂移频率有较大的变异, 因此学者考虑建立基因漂移模型来模拟不同空间范围的基因漂移规律。Yao 等人^[37]建立了预测栽培稻转基因漂移最大

距离的模型. 基于倾斜高斯烟羽模型(*tilted Gaussian plume model*), 该研究利用气象参数来预测供体花粉量随距离变化的函数关系, 再结合基因漂移频率与供体花粉量之间的线性关系构建了预测栽培稻基因漂移频率的模型. 该研究分析了中国主要栽培稻种植区转基因漂移的最大距离, 并预测在阈值为 0.1% 的条件下, 栽培稻品种之间的基因漂移隔离距离为 5 m, 而在相同的阈值水平下, 栽培稻向普通野生稻的基因漂移的距离为 293 m, 并预测在阈值为 1% 的条件下, 栽培稻向其雄性不育品种的基因漂移隔离距离为 260 m, 这些结果为杂交稻制种的空间隔离提供了一定的依据. Rong 等人^[28]根据田间实验数据并结合 Song 等人^[38]报道的栽培稻花粉漂移拟合数据建立了花粉介导的栽培稻基因漂移模型, 该模型利用气象参数和生物参数对栽培稻品种之间以及栽培稻向普通野生稻的基因漂移频率进行了模型预测. 结果表明, 对于栽培稻品种之间的转基因漂移, 如果要低于欧盟限定的阈值为 0.9% 的转基因无意识混杂水平, 只要在转基因和非转基因栽培稻田块之间保证有 5 m 以上的空间隔离距离便可以实现. 而对于栽培稻与普通野生稻之间, 至少需要 183 m 的隔离距离才能保证转基因漂移的频率低于 1%^[38]. 上述模型考虑了生物参数(如异交率、物种之间的杂交亲和性), 大大提高了基因漂移频率预测的准确性, 但是该模型仍然需要通过田间实验来获得关键的参数. 因此, 基于 Rong 等人模型, Wang 等人^[29]构建了不依赖田间实验结果也能对风媒植物的基因漂移频率进行精确预测的模型. 通过加入花粉直径、花粉释放高度、异交率、杂交亲和性和风速等参数, 便可以计算出任意空间距离上花粉供体向受体植物的基因漂移频率. 该模型对栽培稻基因漂移的预测结果与实验获得的基因漂移数据较为吻合. 模型模拟的结果表明, 在空间距离大于等于 10 m 的条件下, 栽培稻向栽培稻或杂草稻的基因漂移频率较小, 通常低于 0.1%; 而在同样的空间距离条件下, 栽培稻向野生稻的基因漂移频率则较高, 最高可达 1% 左右.

2.2 转基因在野生近缘种群中的表达

转基因通过基因漂移转移到作物的野生近缘种群(包括同种杂草)是否能够导致环境影响, 这在很大程度上取决于该转基因是否能够在野生近缘种群

体或个体中表达. 如果转移到野生近缘种群体的转基因不能表达, 则不能带来任何环境影响. 关于转基因在栽培稻品种间杂种和野生近缘种中的表达已有多项研究. 为了探明转基因在栽培稻品种间的杂交后代中是否符合孟德尔遗传规律并在世代间稳定遗传, 王忠华等人^[39]研究了 *Bt* 基因在转基因栽培稻杂交后代 F_1 , F_2 和 BC_1 中的蛋白表达, 结果发现杂交后代群体中含有转基因的植株其 *Bt* 蛋白的平均含量均显著超过转基因栽培稻亲本的含量, 杂交后代中的转基因符合孟德尔分离比, 而且能稳定遗传. 吴刚等人^[40]研究了“克螟稻”的杂种, 发现抗虫转基因 *CryIAb* 在连续 6 个世代的杂种后代中均高效表达, 后代保持了极强的抗虫性, 对二化螟幼虫致死率可达 100%. 戴正元等人^[41]对 *CryIAb* 抗虫转基因水稻恢复系与不育系杂交后代的可溶性蛋白含量进行了检测, 结果显示目标基因在杂交稻中仍能高水平表达, 并在人工和自然虫压条件下对稻纵卷叶螟、二化螟等鳞翅目害虫表现优良抗性. 对于转基因在杂草稻中的表达研究, 左娇等人^[42]在温室条件下将抗除草剂转基因水稻与马来西亚杂草稻杂交, F_1 的绝大多数种子都对草甘膦表现出了良好的抗性, 抗除草剂转基因在 F_2 和回交后代中的分离也符合孟德尔遗传规律. Wang 等人^[43]研究了抗除草剂基因 *epsps* 在栽培稻和不同类型杂草稻杂种后代中的表达, 结果表明抗除草剂转基因能够在杂种后代中正常表达, 而且不同杂草稻亲本的遗传背景对其表达也没有产生显著影响. Xia 等人^[44]采用酶联免疫吸附测定(*enzyme linked immunosorbent assay, ELISA*)方法研究了 *Bt* 抗虫转基因在栽培稻和多个株系的普通野生稻杂交后代中的表达, 结果表明抗虫转基因能够在杂种 F_1 和 F_2 代植株中正常表达, *Bt* 转基因的表达量不低于其抗虫转基因栽培稻亲本, 而且在开花期 F_1 和 F_2 的 *Bt* 转基因表达量还显著高于栽培稻亲本, 能够很好地发挥抗虫作用. 另外, 苏军等人^[45]研究了抗虫转基因栽培稻与普通野生稻杂交和回交后代中 *CryIAc/CpTI* 转基因的表达情况, 结果表明抗虫基因可以在杂交和回交后代中正常表达. 上述研究结果均证明, 在一般情况下转基因能够在栽培稻与杂草稻和野生稻的杂交后代群体中正常表达, 并发挥其抗虫或抗除草剂的作用.

2.3 转基因漂移在野生近缘种群中的适合度影响

目前最有商品化生产潜力的转基因栽培稻为抗虫(*Bt*)栽培稻, 因此对于抗虫转基因带来的适合度效应研究较多. 为了验证抗虫转基因在栽培稻品种中是否带来利益和成本适合度的变化, Chen 等人^[46]利用 *Bt*, *CpTI* 和双价 *Bt/CpTI* 抗虫转基因栽培稻进行了比较适合度差异的同质园实验, 结果表明 *Bt* 和 *Bt/CpTI* 抗虫转基因在高虫压的环境条件下为栽培稻带来了显著的适合度优势, 但在无虫压和低虫压条件下 *Bt/CpTI* 转基因则为栽培稻带来了一定的适合度成本. 为了验证上述结果, Xia 等人^[47]开展了更大规模的实验, 同样发现 *Bt/CpTI* 抗虫转基因在高虫压的条件下为栽培稻带来了显著的适合度利益, 但在低虫压的条件下出现了显著的适合度成本. Xia 等人^[48]进一步的研究发现, 在自然虫压条件下 *Bt* 抗虫转基因能为栽培稻(尤其是杂交稻)带来显著的适合度利益, 从而为栽培稻带来了高产的潜力. 上述系列研究结果均表明, 在有虫害的自然条件下, *Bt* 和 *Bt/CpTI* 抗虫转基因可以显著提高栽培稻的适合度.

杂草稻是稻田恶性杂草, 为栽培稻的生产带来了巨大的危害. 有学者认为具有自然选择优势的转基因(如抗虫转基因)一旦漂移到杂草稻群体, 便可能会提高杂草稻的适合度而增加其控制的难度, 给栽培稻带来更大的危害. 为了验证这一假设, 有许多研究聚焦于抗虫转基因对杂草稻适合度影响. 比较早的研究是 Cao 等人^[49]在自然虫压的条件下对 2 种抗虫转基因(*CpTI* 和 *Bt/CpTI*)栽培稻与 3 种不同来源杂草稻群体杂交产生的杂种 F_1 与其对应杂草稻亲本群体进行了适合度分析, 结果表明, 含抗虫转基因的杂种 F_1 代在一些营养性状(如株高)和种子千粒重性状上超过其杂草稻亲本, 但是在单株种子产量上明显低于杂草稻亲本. 但是这些性状表现出的差异是因为受到转基因影响还是由于杂种优势(劣势)所导致, 很难进行区分. 为了对上述问题进行回答, Yang 等人^[50,51]对这些抗虫转基因栽培稻与杂草稻杂种 F_1 的自交分离后代($F_2 \sim F_4$)进行了连续多代的分析研究, 发现在高虫压或自然虫压的条件下, *Bt/CpTI* 抗虫转基因能给杂草稻杂种群体带来显著的适合度利益, 但是在低虫压或无虫压的条件下, 抗虫转基因并没有明显改变杂种群体的适合度. 研究还发现, 在抗虫转基因植株与非转基因植株混种的实验小区中, 由

于转基因植株带来的虫压下降(害虫较少), 抗虫转基因所带来的适合度利益显著降低^[51]. 由此而推论, 在大规模商品化种植条件下, 抗虫转基因栽培稻的种植会显著降低稻田中(甚至区域内)的靶标虫害水平, 从而使得含抗虫转基因杂草稻的适合度优势变得十分有限^[51].

为了进一步验证上述推论, 张宏彬等人^[52]和 Xia 等人^[53]研究了在不同混种条件下, 另一个新培育的无标记(marker free)抗虫转基因(*Bt/CpTI*)栽培稻与 5 个不同来源杂草稻的杂种 F_1 和 F_2 群体的适合度效应. 结果表明, 在有虫压的条件下, 含转基因的分离群体比不含转基因的分离群体均具有适合度优势, 但是不同的杂交组合之间有一定的差异. 更重要的发现是, 在包含转基因与不包含转基因植株的混种实验小区, 不仅虫压水平有不同程度的下降, 抗虫转基因为杂种植株带来的适合度优势也显著下降^[53], 充分验证了上述抗虫转基因栽培稻的种植会降低稻田靶标虫害水平以及导致抗虫转基因杂草稻适合度优势下降的假说. 同时, 该研究还证明抗虫转基因的适合度效应受环境虫压的动态和基因漂移受体的遗传背景影响, 为基因漂移及其环境风险评价的方法提供了新的信息^[53]. 此外, 为了研究转基因是否能在高世代杂种后代中稳定遗传并高效表达抗虫性, Yang 等人^[54]还对上述杂交群体的 $F_5 \sim F_7$ 世代进行了研究. 通过该研究发现, 含转基因的分离群体在高世代仍有很强的杀虫能力, 并且杀虫能力在世代之间变异很小; 同时在自然虫压下, 不同世代的转基因群体具有显著的适合度优势, 这预示着在高世代中抗虫转基因对栽培稻与杂草稻杂交后代的适合度效应趋于固定, 与低世代杂种群体相比, 适合度效应的趋势相同. 因此, 在进行转基因栽培稻与杂草稻杂种后代的适合度分析时, 只需用较低世代($F_1 \sim F_3$)分离群体的结果便可达到目的, 这样可以节约环境生物安全评价的成本.

野生稻是栽培稻遗传改良的重要基因资源, 由于人类活动的影响野生稻群体的分布范围已经大大减少. 具有自然选择优势的转基因一旦漂移到野生稻群体, 会影响其遗传完整性, 造成基因资源的单一化, 甚至丧失. 另一方面, 获得了具有选择优势转基因的野生群体可能会因其适合度的提高和入侵能力的增强而演变为杂草, 因此, 对于转基因漂移如何影响野生稻群体的适合度也有一些研究. 为了研究栽

培稻的基因漂移到普通野生稻带来的适合度影响, Song 等人^[55]对栽培稻与普通野生稻杂种 F_1 群体的相对适合度进行了分析. 结果表明, F_1 群体表现出比其野生亲本更强的生长和无性繁殖能力, 但在有性繁殖性状上却表现出显著下降的趋势, 因而通过对适合度效应的综合判断, 认为杂种 F_1 群体的整体适合度没有显著高于其野生稻亲本^[55]. 为了探究抗虫转基因的引入是否改变栽培稻与野生稻杂种群体的适合度效应, 叶平扬等人^[56]分析了在低虫压环境条件下抗虫转基因栽培稻与尼瓦拉野生稻(*Oryza nivara*)杂种 F_3 和 F_4 代种子的休眠性和萌发率等适合度相关重要性状, 发现转基因对这些性状并未产生显著影响. Dong 等人^[57]的研究也从另一个侧面表明, 抗虫转基因并未对栽培稻与普通野生稻杂交后代与回交后代的种子萌发率和休眠性造成显著的影响. 根据本课题组的进一步研究, 检测了 *Bt/CpTI* 抗虫转基因栽培稻与普通野生稻杂种 F_1 与 F_2 群体的抗虫性、生存能力(宿根越冬与再分蘖)与繁殖能力, 结果均表明含有抗虫转基因的杂种后代与其野生稻亲本抗虫水平无显著差异, 转基因杂种后代的生存能力显著弱于其野生稻亲本, 在高虫压的环境下含抗虫转基因的杂种群体比其非转基因对照在繁殖能力方面有一定的优势. 综上所述, 抗虫转基因未能给栽培稻与野生稻的杂种群体带来额外的抗虫能力, 虽然抗虫转基因对杂种群体的适合度效应有较大变异, 但在低虫压的环境条件下, 抗虫转基因并未给杂种群体带来适合度优势.

然而, 抗除草剂转基因漂移到栽培稻的野生近缘种却可能产生不同的适合度效应. 左娇等人^[42]在温室条件下对转 *bar* 基因栽培稻与杂草稻的杂交后代, 包括 F_1 , F_2 和 BC_1 进行了研究, 发现在不施用除草剂的条件下, 转基因与非转基因杂种后代有相似的生存能力, 虽然该论文作者没有进行施用抗除草剂对照的比较. 然而 Wang 等人^[43]对抗除草剂转基因(*epsps*)栽培稻与杂草稻杂种后代(F_1 ~ F_3)的实验结果表明, 即使不施用除草剂, 该转基因栽培稻与杂草稻杂种后代的适合度也表现出了显著提高, 在施用除草剂的条件下, 适合度优势更加显著. 此外在含有转基因的后代中, 还观察到 *epsps* 基因的表达量、种子萌发率、色氨酸的含量以及光合速率等有显著提高的现象, 这可能是由于 *epsps* 合成酶的大量产生, 促进了莽草酸循环中该合成酶下游相关产物如吡喹啉乙酸、芳

香族氨基酸和木质素等的合成增加, 从而使含有该基因的杂种后代具有更强的营养生长能力. 研究还发现, 该转基因对适合度的提升作用在栽培稻与杂草稻的杂种中最为明显, 野生稻杂种中次之, 栽培稻杂种最弱. 上述研究表明, 抗除草剂转基因通过基因漂移进入杂草稻和野生稻群体, 可能由于环境中除草剂的胁迫或抗除草剂转基因本身的特性而表现出相对优势, 从而改变杂草稻或野生稻的种群动态和遗传结构. 因此, 抗除草剂转基因漂移所产生的环境影响需要予以特别关注.

2.4 转基因对野生近缘种杂种群体遗传背景的影响

在植物发生天然杂交的过程中, 来自双亲的等位基因通常会按照孟德尔分离规律, 随机地传递到杂交后代个体中. 但是, 由于自然选择或其他因素的影响, 来自双亲的等位基因可能产生偏分离(segregation distortion)而非随机地传递到杂种后代中, 从而影响杂种群体的基因频率和进化潜力^[16]. 在自然选择的作用下, 杂种后代中具有选择优势的基因(包括转基因)由于具有竞争优势而逐渐在种群中积累, 而不具有选择优势的基因将被逐渐淘汰^[58]. 由于基因之间存在着连锁, 受到正向选择或负向选择的等位基因会导致与之具有遗传连锁关系的基因, 在群体中逐渐发生基因频率变化. 因此, 具有自然选择优势的转基因通过基因漂移(或天然杂交)而转移到作物的野生近缘种群体, 有可能影响背景基因的分选, 从而对野生群体杂种后代中的等位基因频率产生影响, 最终影响野生近缘种群体的长期进化过程.

抗虫转基因通过基因漂移进入野生近缘种群体, 是否会影响后代杂交群体遗传结构? 对这一问题的回答将增进对转基因逃逸到野生近缘种群体导致的长期进化影响的理解. 利用来自栽培稻的 SSR 分子标记, Yang 等人^[59]对含抗虫转基因(*Bt/CpTI*)栽培稻与杂草稻的杂种 F_3 与 F_4 分离群体中来自双亲的 SSR 等位基因分离进行了研究, 实验结果表明, 含有转基因的分离群体中具有更多来自转基因亲本的等位基因, 而不含转基因的分离群体中则具有更多来自于杂草稻亲本的等位基因. 利用 28 对中性分子标记(SSR 和 InDel), 许锴等人^[60]研究了抗虫转基因(*Bt/CpTI*)栽培稻和非转基因栽培稻分别与普通野生稻进行杂交而获得的杂种 F_2 群体, 对等位基因分离

情况的分析结果表明, 来自双亲的等位基因在含有转基因的后代与不含转基因的后代中的分离存在显著差异, 这可能是由于具有选择优势的转基因影响了杂种后代的基因频率. 本课题组进一步跟进研究还发现, 在抗除草剂转基因(*epsps*)栽培稻与杂草稻、野生稻杂交获得的杂种 F_3 群体中, 更多的等位基因来自于转基因栽培稻亲本; 而在非转基因栽培稻与杂草稻、野生稻杂交获得的杂种 F_3 群体中, 来自双亲的等位基因频率无显著差异. 显然, 这一差异完全是由于转基因的存在与否而导致. 由此可见, 具有强选择优势的转基因通过基因漂移进入野生近缘种群体后, 可能通过改变杂种后代中来自双亲的等位基因频率而对该群体的长期进化产生影响, 应当充分予以重视.

3 总结与展望

虽然转基因通过基因漂移进入非转基因作物及其野生近缘种群体仍是全球广泛关注的生物安全问题, 但是前文所介绍的相关问题及其研究结果均表明, 基因漂移以及所导致的环境影响是有规律可循、有方法可以对其进行研究和科学评价的. 以栽培稻为模式材料的大量基因漂移田间实验研究和模型模拟结果表明, 栽培稻品种之间的基因漂移频率很低, 即使在距离很近的情况下(<0.2 m), 基因漂移的频率通常也小于 1%. 而当空间距离达到 10 m 以上时, 基因漂移频率将迅速下降至 0.01% 以下. 因此, 对于转基因与非转基因栽培稻品种之间的基因漂移, 可以通过有效的空间隔离或其他隔离措施(如高秆作物)来使转基因混杂的水平降到阈值许可的范围. 对于杂草稻而言, 虽然每一世代中栽培稻向杂草稻的基因漂移频率相对较低, 基本上与栽培稻之间的基因漂移频率处于同一水平, 但是由于杂草稻的自我繁殖特性, 同一稻田内栽培稻向杂草稻的基因漂移频率能够在多世代中不断得到积累, 从而达到较高的频率. 另外, 由于杂草稻和栽培稻分布和发生在同一稻田内, 而且它们又属于同一生物学物种, 很难用常规的方法对其基因漂移进行限制. 因此, 对不同的转基因漂移到杂草稻群体所带来的潜在生态影响均应该进行认真的研究与评价. 包括普通野生稻和尼瓦拉野生稻在内的 AA 基因组野生稻, 由于其自身的异交率以及与栽培稻的可杂交性均有很大的变异,

栽培稻的基因向这些野生稻转移的频率也会有很大的变异. 就普通野生稻而言, 由于其自身的异交率较高, 即使与栽培稻的隔离距离较远(>20 m), 也有一定频率的基因漂移发生. 因此, 分析转基因适合度效应是评价转基因漂移到野生稻群体能否带来环境影响的关键.

对于抗虫转基因(*Bt*)从栽培稻漂移到杂草稻和野生稻群体的研究均表明, 抗虫转基因漂移不会导致明显的适合度影响, 因为抗虫转基因对杂草稻和野生稻群体的适合度影响取决于多种因素的共同作用. 对于杂草稻而言, 虽然转基因漂移到杂草稻群体无法避免, 但是由于抗虫转基因带来的适合度优势只有在高虫压的环境下才能体现, 在抗虫转基因栽培稻大规模商品化种植的情况下, 栽培稻田的靶标害虫密度必将大大降低, 环境中靶标害虫的总体虫压也会很低, 因此抗虫基因转移到杂草稻群体不会对其带来适合度优势而产生负面环境影响. 相反, 由于对稻田不施或少施用杀虫剂, 对于稻田生态环境的保护是有利的. 对于抗虫转基因漂移到野生稻群体, 由于抗虫基因不能给野生稻植物带来额外的抗虫性, 也不能为野生稻的生存、竞争和越冬能力带来明显的适合度优势, 加之野生稻群体的虫害发生量也远比种植密集的栽培稻田要低, 据此而推论, 抗虫转基因漂移到野生稻群体不会导致显著的环境影响. 总体判断, 抗虫转基因栽培稻的商品化种植不会带来明显的负面环境影响.

然而与抗虫转基因相比, 抗除草剂转基因从栽培稻漂移到杂草稻或野生稻所产生的适合度效应是完全不相同的. 特别是对于增加 *epsps* 表达量来达到抗除草剂目的的这一类转基因, 当其通过基因漂移而转移到杂草稻和野生稻群体, 可能提高这些群体的抗除草剂能力和适合度, 从而带来不可预测的环境影响和杂草防治问题. 美洲、南欧和东南亚一些国家由于种植基因突变产生的抗除草剂栽培稻品种(Clearfield®), 已经产生了大量抗除草剂杂草稻, 这些为杂草稻防治带来负面影响和巨大挑战的事例, 可以作为发展和商品化种植转基因抗除草剂栽培稻的警醒. 对于抗除草剂基因漂移到栽培稻野生近缘种的生态后果、影响机制以及防治方法, 还需进一步加强研究才能解答. 在没有确定切实可行的解决方案之前, 对于大规模种植抗除草剂转基因栽培稻的

计划, 应该持非常谨慎的态度.

通过多年的研究, 对于栽培稻的转基因漂移及生态后果和一些相关规律已经有了较为深入的了解, 但是按照转基因生物安全的个案(case-by-case)原则, 对于不同类型的转基因漂移所带来的生态风险问题, 还需要进一步的研究才能予以解答. 例如, 大多数对转基因漂移到栽培稻野生近缘种及其适合度影响的研究, 均是基于转基因与非转基因杂种后代以及亲本之间的适合度相关性状比较. 然而, 转基因漂移和

渐渗所带来的长期影响, 目前知之甚少. 此外, 由于转基因生物技术的迅速发展, 出现了更多的新类型转基因(如抗环境胁迫和促进生长的基因)以及更新的技术(如多基因复合性状转化、基因沉默和基因编辑技术等). 如果这类基因和新一代技术应用于栽培稻和其他农作物的遗传改良, 而与之相应的转基因随着基因漂移转移到野生近缘种, 由此产生的生态环境影响又应当如何评价? 这些都是生物安全评价亟待解决的新问题.

参考文献

- Muthayya S, Sugimoto J D, Montgomery S, et al. An overview of global rice production, supply, trade, and consumption. *Ann N Y Acad Sci*, 2014, 1324: 7–14
- 郑向华, 何琴, 叶新福. 稻米营养品质及功能稻育种概述. *现代农业科技*, 2005, 12: 94–95
- 王艳青. 近年来中国水稻病虫害发生及趋势分析. *中国农学通报*, 2006, 22: 343–347
- 蔡洪法. 我国水稻生产现状与发展展望. *中国稻米*, 2000, 6: 5–8
- 杨艳涛, 秦富. 世界与中国稻米市场形势及政策分析. *农业展望*, 2013, doi: 10.3969/j.issn.1673-3908.2013.06.001
- 张巨勇. 化学农药的危害及我国应采取的对策. *云南环境科学*, 2004, 23: 23–26
- James C. Global status of commercialized biotech/GM crops: 2014. International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA), Ithaca, 2014
- Pray C E, Huang J, Hu R, et al. Five years of *Bt* cotton in China—the benefits continue. *Plant J*, 2002, 31: 423–430
- 王德正, 迟伟, 王守海, 等. 转 C4 光合基因水稻特征特性及其在两系杂交稻育种中的应用. *作物学报*, 2004, 30: 248–252
- 刘巧泉, 姚泉洪, 王红梅, 等. 转基因栽培稻胚乳中表达铁结合蛋白提高稻米铁含量. *遗传学报*, 2004, 31: 518–524
- 许新萍, 胡明, 卫剑文, 等. 用高效的基因枪转化系统将抗虫抗病基因导入水稻. *遗传*, 1998, S1: 12–14
- 吴爱忠, 唐克轩, 潘俊松, 等. 转基因培育抗除草剂水稻. *遗传学报*, 2000, 11: 992–998
- 卢德赵, 王慧中, 华志华, 等. 转甜菜碱醛脱氢酶基因水稻的获得及其耐盐性研究. *科技通报*, 2003, 19: 179–182
- Lu B R, Song Z P, Chen J K. Can transgenic rice cause ecological risks through transgene escape? *Prog Nat Sci*, 2003, 13: 17–24
- Entry into force on the ninetieth day after the deposit of the fiftieth ratification Adopted Montreal, 29 January 2009. <http://www.biodiv.org>
- Hartl D L, Clark A G. *Principles of Population Genetics*. Sunderland: Sinauer Associates, 1987
- Lu B R. Transgene escape from GM crops and potential biosafety consequences: an environmental perspective. *Collect Biosafety Rev*, 2008, 4: 66–141
- 卢宝荣, 夏辉, 杨箫, 等. 杂交-渐渗进化理论在转基因逃逸及其环境风险评价和研究中的意义. *生物多样性*, 2009, 17: 362–377
- Hall L, Topinka K, Huffman J, et al. Pollen flow between herbicide-resistant *Brassica napus* is the cause of multiple-resistant *B. napus* volunteers. *Weed Sci*, 2000, 48: 688–694
- Gealy D R, Rutger J N. Gene flow between red rice (*Oryza sativa*) and herbicide-resistant rice (*O. sativa*): implications for weed management. *Weed Technol*, 2003, 17: 627–645
- Messeguer J, Fogher C, Guiderdoni E, et al. Field assessments of gene flow from transgenic to cultivated rice (*Oryza sativa* L.) using a herbicide resistance gene as tracer marker. *Theor Appl Genet*, 2001, 103: 1151–1159
- Messeguer J, Marfà V, Català M M, et al. A field study of pollen-mediated gene flow from Mediterranean GM rice to conventional rice and the red rice weed. *Mol Breeding*, 2004, 13: 103–112
- Rong J, Xia H, Zhu Y Y, et al. Asymmetric gene flow between traditional and hybrid rice varieties (*Oryza sativa*) indicated by nuclear simple sequence repeats and implications for germplasm conservation. *New Phytol*, 2004, 163: 439–445
- Rong J, Song Z P, Su J, et al. Low frequency of transgene flow from *Bt/CpTI* rice to its nontransgenic counterparts planted at close spacing. *New Phytol*, 2005, 168: 559–566
- Rong J, Lu B-R, Song Z P, et al. Dramatic reduction of crop-to-crop gene flow within a short distance from transgenic rice fields. *New Phytol*, 2007, 173: 346–353

- 26 Jia S R, Wang F, Shi L, et al. Transgene flow to hybrid rice and its male-sterile lines. *Transgenic Res*, 2007, 16: 491–501
- 27 Qian J C, Luo Q, Wang Y Y, et al. Investigation of gene flow between different rice varieties under interplanting. *Chin J Rice Sci*, 2010, 24: 527–530
- 28 Rong J, Song Z P, Jong T J D, et al. Modelling pollen-mediated gene flow in rice: risk assessment and management of transgene escape. *Plant Biotechnol J*, 2010, 8: 452–464
- 29 Wang L, Haccou P, Lu B R. High-resolution gene flow model for assessing environmental impacts of transgene escape based on biological and climatic parameters. *PLoS One*, 2016, 11: e0149563
- 30 Langevin S A, Grace J B. The incidence and effects of hybridization between cultivated rice and its related weed red rice (*Oryza sativa* L.). *Evolution*, 1990, 44: 1000–1008
- 31 Noldin J A, Yokoyama S, Antunes P, et al. Potencial de cruzamento natural entre o arroz transgênico resistente ao herbicida glufosinato de amônio e o arroz daninho. *Planta Daninha*, 2002, 20: 243–251
- 32 Chen L J, Lee D S, Song Z P, et al. Gene flow from cultivated rice (*Oryza sativa*) to its weedy and wild relatives. *Ann Bot (London)*, 2004, 93: 67–73
- 33 Zhang W Q, Linscombe S D, Webster E, et al. Risk assessment of the transfer of imazethapyr herbicide tolerance from Clearfield rice to red rice (*Oryza sativa*). *Euphytica*, 2006, 152: 75–86
- 34 Olguin E R S, Arrieta-Espinoza G, Lobo J A, et al. Assessment of gene flow from a herbicide-resistant indica rice (*Oryza sativa* L.) to the Costa Rican weedy rice (*Oryza sativa*) in Tropical America: factors affecting hybridization rates and characterization of F1 hybrids. *Transgenic Res*, 2009, 18: 633–647
- 35 Song Z P, Lu B R, Zhu Y G, et al. Gene flow from cultivated rice to the wild species *Oryza rufipogon* under experimental field conditions. *New Phytol*, 2003, 157: 657–665
- 36 Wang F, Yuan Q H, Shi L, 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*). *Plant Biotechnol J*, 2006, 4: 667–676
- 37 Yao K, Hu N, Chen W L, et al. Establishment of a rice transgene flow model for predicting maximum distances of gene flow in southern China. *New Phytol*, 2008, 180: 217–228
- 38 Song Z P, Lu B R, Chen J K. Pollen flow of cultivated rice measured under experimental conditions. *Biodivers Conserv*, 2004, 13: 579–590
- 39 王忠华, 崔海瑞, 舒庆尧, 等. Bt 栽培稻“克螟稻”杂交后代中转基因的遗传表达及育种利用. *农业生物技术学报*, 2000, 1: 89–103
- 40 吴刚, 崔海瑞, 舒庆尧, 等. “克螟稻”后代 *cry1Ab* 基因表达特性及其对二化螟抗性的研究. *中国农业科学*, 2001, 34: 496–501
- 41 戴正元, 李爱宏, 张洪熙, 等. *Cry1Ab* 转基因水稻的杂种优势表现及抗虫性鉴定. *中国生态农业学报*, 2007, 15: 147–150
- 42 左娇, 强胜, 宋小玲. 温室条件下抗除草剂转基因水稻与杂草稻杂交和回交后代的适合度分析. *中国水稻科学*, 2010, 24: 608–616
- 43 Wang W, Xia H, Yang X, et al. A novel 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate (*EPSP*) synthase transgene for glyphosate resistance stimulates growth and fecundity in weedy rice (*Oryza sativa*) without herbicide. *New Phytol*, 2014, 202: 679–688
- 44 Xia H, Lu B-R, Su J, et al. Normal expression of insect-resistant transgene in progeny of common wild rice crossed with genetically modified rice: its implication in ecological biosafety assessment. *Theor Appl Genet*, 2009, 119: 635–644
- 45 苏军, 张高阳, 余文杰, 等. 转 *Cry1Ac/CpTI* 栽培稻外源基因渗入普通野生稻中可稳定的遗传和表达. *分子植物育种*, 2012, 10: 24–29
- 46 Chen L Y, Snow A A, Wang F, et al. Effects of insect-resistance transgenes on fecundity in rice (*Oryza sativa*, Poaceae): a test for underlying costs. *Am J Bot*, 2006, 93: 94–101
- 47 Xia H, Chen L Y, W F, et al. Yield benefit and underlying cost of insect-resistance transgenic rice: implication in breeding and deploying transgenic crops. *Field Crop Res*, 2010, 118: 215–220
- 48 Xia H, Lu B R, Xu K, et al. Enhanced yield performance of *Bt* rice under target-insect attacks: implications for field insect management. *Transgenic Res*, 2011, 20: 655–664
- 49 Cao Q J, Xia H, Yang X, et al. Performance of hybrids between weedy rice and insect-resistant transgenic rice under field experiments: Implication for environmental biosafety assessment. *J Integr Plant Biol*, 2009, 51: 1138–1148
- 50 Yang X, Xia H, Wang W, et al. Transgenes for insect resistance reduce herbivory and enhance fecundity in advanced generations of crop-weed hybrids of rice. *Evol Appl*, 2011, 4: 672–684
- 51 Yang X, Wang F, Su J, et al. Limited fitness advantages of crop-weed hybrid progeny containing insect-resistant transgenes (*Bt/CpTI*) in transgenic rice field. *PLoS One*, 2012, 7: e41220
- 52 张宏彬, 夏辉, 杨箫, 等. 种植密度对抗虫转基因杂草稻分离后代适合度的影响. *复旦学报: 自然科学版*, 2013, 52: 419–427

- 53 Xia H, Zhang H B, Wang W, et al. Ambient insect pressure and recipient genotypes determine fecundity of transgenic crop-weed rice hybrid progeny: implications for environmental biosafety assessment. *Evol Appl*, 2016, doi: 10.1111/eva.12369
- 54 Yang X, Li L, Cai X X, et al. Efficacy of insect-resistance *Bt/CpTI* transgenes in F5–F7 generations of rice crop-weed hybrid progeny: implications for assessing ecological impact of transgene flow. *Chin Sci Bull*, 2015, 18: 1–9
- 55 Song Z P, Lu B R, Wang B, et al. Fitness estimation through performance comparison of F1 hybrids with their parental species *Oryza rufipogon* and *O. sativa*. *Ann Bot*, 2004, 93: 311–316
- 56 叶平扬, 董姗姗, 卢宝荣, 等. 转基因水稻与野生稻(*Oryza nivara* Sharma et Shastry)杂交后代种子萌发率. 复旦学报: 自然科学版, 2008, 47: 329–335
- 57 Dong S S, Xiao M Q, Rong J, et al. No effect of transgene and strong wild parent effects on seed dormancy in crop-wild hybrids of rice: implications for transgene persistence in wild populations. *Ann Appl Biol*, 2011, 159: 348–357
- 58 Hooftman D A P, Flavell A J, Jansen H, et al. Locus-dependent selection in crop-wild hybrids of lettuce under field conditions and its implication for GM crop development. *Evol Appl*, 2011, 4: 648–659
- 59 Yang C, Wang Z, Yang X, et al. Segregation distortion affected by transgenes in early generations of rice crop-weed hybrid progeny: Implications for assessing potential evolutionary impacts from transgene flow into wild relatives. *J Syst Evol*, 2014, 52: 466–476
- 60 许锴, 杨箫, 蔡星星, 等. *Bt/CpTI* 抗虫转基因水稻及其非转基因亲本与普通野生稻杂种 F2 群体的等位基因偏态分离. 复旦学报: 自然科学版, 2012, 51: 259–268

Can Transgene Flow Lead to Environmental Biosafety Impacts in Rice?

LU Bao-Rong, WANG Lei & WANG Zhe

Ministry of Education Key Laboratory for Biodiversity and Ecological Engineering, School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200438, China

The undesired environmental consequences caused by transgene introgression into populations of crop wild relatives have caused worldwide biosafety concerns. Three key parameters determine the magnitude of the environmental consequences: the frequency of transgene flow at particular spatial distances, expression of transgenes in wild relatives, and fitness effect of transgenes brought to the wild populations. This article reviews the current knowledge regarding the potential impacts caused by transgene flow into non-transgenic rice varieties, weedy rice, and wild rice populations based on the three parameters. The frequency of gene flow between rice varieties is low and can be minimized by spatial isolation, among other methods. Gene flow from cultivated rice to weedy and wild rice is unavoidable within their co-occurring regions. The introgression of insect-resistance transgenes (*Bt* or *Bt/CpTI*) will have limited environmental impacts because of their minor fitness change under low insect pressure, although the expression of insect-resistance transgenes is normal in the crop-wild hybrid progeny of rice. Thus, the commercial cultivation of transgenic insect-resistant rice is relatively safe in terms of transgene flow. However, the introgression of a herbicide-resistance transgene into weedy or wild rice populations will increase their fitness, likely causing unwanted environmental consequences.

ecological impact, rice, wild relative, gene flow, fitness, transgene, biosafety

doi: 10.1360/N052016-00127