

转 *bar* 及 *Nla* 基因白菜的田间生物学及经济性状调查*

刘凡^{1**} 赵泓¹ 赵岫云¹ 孟淑春¹ 曹鸣庆^{1,2}

(¹国家蔬菜工程技术研究中心 北京 100089)

(²北京农业生物技术研究中心 北京 100089)

摘要 对转入除草剂抗性基因 *bar* 及来自病毒 TuMV 的 *Nla* 基因的不结球白菜纯合株系二代进行了田间生物学性状调查. 结果表明, 转基因白菜的植物学性状与其未转基因对照材料相比, 无明显差别; 但在涉及其生存竞争力的一些生物学性状, 如发芽势、花粉活力、种子库存力等方面, 比对照材料弱, 其经济性状也比对照稍差. 获得的转基因性状——除草剂抗性, 能稳定遗传, 并在田间很好表达; *Nla* 基因介导的 TuMV 抗性在露地开放栽培条件下, 不能很好表达, 转基因株染病较重. 对产生以上现象的原因进行了分析讨论. 图 3 表 5 参 16

关键词 转基因白菜; 田间栽培; 性状; 除草剂抗性; 抗病毒; 竞争力

CLC Q943 : S634.501

EVALUATION OF TRANSGENIC CHINESE CABBAGE UNDER FIELD CONDITIONS*

LIU Fan^{1**}, ZHAO Hong¹, ZHAO Xiuyun¹, MENG Shuchun¹ & CAO Mingqing^{1,2}

(¹National Engineering Research Center for Vegetables, Beijing 100089, China)

(²Beijing Agro-Biotechnology Research Center, Beijing 100089, China)

Abstract Four homozygous transgenic Chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *chinensis* var. *utilis* Tsen et Lee) lines were evaluated in the field. The plants carried a *bar* gene for Basta resistance and a *Nla* gene from TuMV for virus resistance. A number of biological and agronomic characteristics, including growth duration, pollen vigor, seeds per pod, seed germination capacity, yield of flower stem and seed storage ability, were evaluated under field conditions. The result showed that most of the traits were statistically comparable between the transformed and nontransformed plants except some traits, such as seed vigor, pollen vigor and seed preserve ability. They were related to the competition talent and declined in transgenic plants. The yield of flower stem was also lower than the control. The transgene mediated Basta resistance of the transgenic plants expressed well in the field conditions, but the virus resistance did not. One hybridized combination with good traits was bred between a transgenic line and a traditional variety. The inbreeding depression of the transgenic plants and the complex pathological environment in the field were suggested to be the main reason for the phenomena above. Fig 3, Tab 5, Ref 16

Keywords transgenic Chinese cabbage; field evaluation; traits; herbicide resistance; virus resistance; competitiveness

CLC Q943 : S634.501

芜菁花叶病毒(turnip mosaic virus, TuMV)属马铃薯 Y 病毒组, 是危害十字花科植物的主要病毒. 有关研究证明, 马铃薯 Y 病毒的核内蛋白酶基因 *Nla* 能明显提高转基因材料的病毒抗性^[1]. 我们于 1995 年通过农杆菌介导的真空渗入植株转基因方法获得了不结球白菜转 TuMV *Nla* 基因及编码除草剂抗性的 *bar* 基因的转基因植株^[2]. 通过连续自交, 获得了各转基因株的纯合株系. 3 个世代的温室鉴定结果表明, 转基因白菜株系具良好而稳定的除草剂抗性, 有数个株系较对照非转基因材料的病毒病抗性强, 其抗病性主要表现在推迟发病时间, 降低病情指数上^[3]. 该转基因材料 1998 年获得中华人民共和国农业部批准进入田间中试(农基安审字 98B-01-09). 针对

转基因材料释放前必须考证的生物学及农艺性状变化情况, 特别是其中涉及转基因植株生存竞争力等影响生态群落稳定性的性状, 1999 年这些转基因白菜开始在田间进行了控制范围内的露地实验, 以对上述问题进行调查取证, 为该转基因白菜的利用提供科学依据.

1 材料和方法

1.1 试验材料

“49 菜心”为白菜类蔬菜作物中我国南方栽培的一种极早熟菜薹(*Brassica rapa* ssp. *chinensis* var. *utilis* Tsen et Lee)品种. 采用根癌农杆菌介导的真空渗入转化法, 将来自芜菁花叶病毒(TuMV)的核内蛋白酶 a 基因(*Nla*)和抗除草剂 Basta 的 *bar* 基因导入“49 菜心”核基因组中, 获得转基因不结球白菜株系 T1、T2^[2]. 通过连续自交, 逐代鉴定、筛选, 从中获得优良纯合转基因白菜株系 T1-9、T2-16、T2-19、T2-20, 经温室繁殖后, 用于本研究.

收稿日期: 2003-08-28 修回日期: 2004-04-15

* 北京市科委项目(No. 954413500)及北京市自然科学基金项目(No. 5992006)资助 Supported by the Municipal Science Committee Project and Municipal Natural Science Foundation of Beijing, China

** 通讯作者 Corresponding author (E-mail: Liufan@nerev.com)

杂交组合配制中所用常规亲本材料来自本中心白菜育种组。

1.2 研究方法

1.2.1 栽培及管理 栽培试验在北京市农林科学院蔬菜研究中心实验农场进行。转基因白菜,杂交种及对照“49 菜心”于 2 月底在温室播种育苗,4 月初移栽入露地或塑料大棚。除进行病毒病抗性考察的材料不喷施农药外,其余材料的栽培及管理方法同常规。

1.2.2 常规生物学及经济性状考察 考察转基因白菜,及其与非转基因常规材料配制的杂交一代植株的田间生长情况,包括整齐度、生长势、开花期、苔长、苔粗、单株产量等。

1.2.3 花粉量及花粉活力 花粉量及花粉活力考察采用 3~4 mm 长花蕾。花粉游离及悬浮方法参见文献[4]。显微镜下血球计数器计数花粉量,换算成每蕾所含花粉数目。

在 6 cm 直径培养皿中加入 2 mL 花粉悬浮液,加入 FDA (fluorescein diacetate, 二乙酸荧光素, 2 mg/mL 储备液) 10 μ L, 轻轻混匀,避光静置片刻。荧光显微镜下观察计数花粉活力,即具明显荧光的活性小孢子百分数。每份样品观察 5 个视野。每个材料 3 个样品。

1.2.4 转基因材料田间散落种子的自然萌发及越年生长期 7 月初当种荚黄熟时,转基因白菜收获植株的大部分荚,其余的任其自然开裂散落种子,并抛荒实验地。下半年及越年观察该地域内转基因白菜的萌发及生长情况。

1.2.5 转基因白菜种子田间贮藏活力实验 2000 年 6 月,49 菜心及转基因品系 T1-9, T2-19 的种子测定其电导度及发芽率后,另取适量种子,用石蜡密封于直径为 6 cm、高 4 cm 的小铁盒及青霉素针剂玻璃瓶内,埋于地下约 33 cm 深处。每容器 50 粒种子,3 个平行。于次年 4 月取出种子,再次测定其电导度及发芽情况。

种子经无离子水清洗后,吸干表面水分,浸泡于定量的无离子水中,24 h 后采用 DDS-11A 型电导仪测定浸泡液的电导度。之后,将这些种子置于铺有湿滤纸的玻璃板上,于 20 $^{\circ}$ C 恒温箱中萌发。3 d 后以萌发的种子百分数作为发芽势,并量苗长。7 d 后统计发芽率。每材料设 3 个平行处理,每份样品为 50 粒种子。

1.2.6 幼苗的田间除草剂 Basta 抗性 植株在田间定植并恢复生长后,已具有 3~4 片真叶。此时对其叶面喷施 $\varphi=1\%$ Basta 水溶液(含 PPT 1.5 g/L)。1 wk 后根据叶表状态评价其除草剂抗性。

1.2.7 病毒病感病性 根据植株及叶的症状,将病症分为五级:0 级,无任何症状;1 级,心叶明脉或轻花叶;3 级,心叶及中部叶片轻花叶;5 级,心叶及中外部叶片重花叶,少数叶片畸形、皱缩;7 级,叶柄及叶脉处有坏死褐色条斑,多数叶畸形、皱缩,植株矮化以至整株坏死。

病情指数 = (nx/NX)

公式中 n = 病症级别, x = n 级别病症植株数, N = 最高病症级别, X = 鉴定植株总数。

1.2.8 转基因材料外源基因稳定性的分子鉴定 通过对转基因材料基因组 DNA 的 Southern 杂交,验证外源基因的存在状态。DNA 提取采用 CTAB 方法^[5]。探针标记采用 PCR DIG 探

针合成试剂盒(Roche, 1636090)。总 DNA 经 HindIII 酶切后,电泳分离,吸印转膜。探针杂交、检测步骤据 DIG Luminescent Detection Kit (Roche, 1363514)试剂盒操作方法进行。Nla 基因杂交后,洗脱探针,用同一张膜进行 bar 基因的 Southern 杂交。

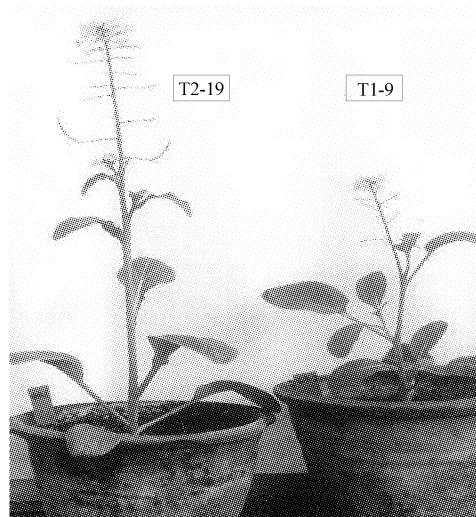


图 1 开花期的转基因白菜

Fig. 1 Flowering transgenic Chinese cabbage

2 结果与分析

2.1 转基因菜心的生物学性状

对转基因白菜的 4 个株系 T1-9, T2-16, T2-19, T2-20 进行了田间性状鉴定。调查显示,该 4 个转基因株系的植物学性状与非转基因的对照材料相比,无论在根、茎、叶、花、果实的形态,还是在生长方式上都无明显差异。

虽然各转基因株系内的性状整齐度较对照材料高,但 4 个株系间有一定差异,主要表现在开花期上(图 2)。自播种到第 1 朵花开放, T2-16 约需 25 d, T2-19, T2-20 与对照材料相似,约需 30 d, T1-9 的花期明显落后,约需 40 d。

虽然转基因材料与对照在形态上无可见差异,但无论其种子的发芽势还是幼苗的生长势表现都略比对照弱(参见表 5 中种子贮存前数据)。

由于获得的转基因白菜从 T1 至 T3 代一直采用人工剥蕾自交留种。自 T4 代开始进行株系内姐妹交留种。因此供试转基因白菜株系是遗传上相对纯合的自交系,导致其生长势比其来源农家品种“49 菜心”差,而植株的整齐度得到提高。

2.2 经济性状

材料栽种于戴塑料顶的大棚中,每种材料 20 株为一小畦,常规管理。记录各材料的始花期。当花序的第一轮花开放后,测量花絮顶端到离地 2 cm 处的距离,记为苔长,以茎最粗处的直径为苔粗。砍下花苔,剥去最外层老叶,称量单株重。

表 1 中数据为 10 株的平均结果。可见转基因菜心在苔长及苔粗上,都较对照材料略差,表现在单株产量上也比对照产量低。对单株产量进行方差分析,结果表明,对照与转基因菜心间在 5% 水平上差异显著。

2.3 与生存竞争力有关的一些生物学性状

2.3.1 花粉量及花粉活力测定 花粉量及花粉活力是反映

植物体繁衍能力的一项指标. 以手触新开放花蕾的花药, 转基因白菜与非转基因对照相似, 都有大量花粉散出. 对一定量花蕾中花粉数量及花粉活力进行显微镜检观察, 统计结果表明,

二者的每蕾平均花粉数无明显差异, 而其花粉活力有较显著差异(表 2). 转基因株系的花粉活力表现低于对照材料, 可能与其为多代纯合自交系, 生长势较弱有关.

表 1 转基因“49 菜心”的田间性状考察

Table 1 Field traits of the transgenic Chinese cabbage

材料 Lines	始花期 (t/d) Early flowering time	苔长 (l/cm) Length of flower stem	苔粗 (d/cm) Dia. of flower stem	单株产量 (m/g) Yield of flower stem per plant
CK	28 ~ 32	31.57	2.5	98.6 ^a
T1 - 9	38 ~ 42	18.94	2.4	87.5 ^{bc}
T2 - 16	25 ~ 29	30.42	2.0	90.4 ^b
T2 - 19	28 ~ 32	20.0	2.1	85.8 ^{bc}

表 2 转基因菜心与对照的花粉量及花粉活力比较

Table 2 Pollen quantity and vigor in transgenic Chinese cabbage and its control

材料 Material	样品总 花蕾数 Total buds	平均花粉数/蕾 No. of pollens /bud (n/10 ⁵)	染色法 FDA stain		
			观察花粉 Total pollens	染色花粉 Stained pollens	染色率 Frequency (r/%)
对照菜心 Control	64	0.79	1220	963	78.9
转基因 Transgenic lines					
T2 - 16	60	0.82	960	672	70.0
T2 - 19	60	0.70	910	605	66.5
T1 - 9	109	0.89	843	573	68.0
平均 Average		0.80			68.2

2.3.2 种子繁殖能力比较 在对转基因作物的生存竞争力分析中, 种群的净替代率 (net replacement) 为一监测种群动态表现的简单参数, 它是以后代产生的种子数与播种种子数的比值为指标的. 本实验中, 对转基因白菜株系与非转基因对照在种子的生产能力上进行了初步的比较. 数据的 *t* 测验表明, 无论在每一枝条的结荚数还是每荚内的种子数上, 转基因白菜与对照间都没有显著差异(表 3).

2.3.3 转基因白菜种子的库存持久力实验 将转基因白菜及其对照种子分别埋在地下约 33 cm 深的密封盒(瓶)内, 经 10 mo(当年 6 月至次年 4 月)的储存后, 不管是转基因还是非转基因白菜种子, 种子活力均降低. 虽然最终发芽率在没有长

菌的情况下, 变化不大, 但苗长均明显减小. 在瓶装的种子中, 转基因与非转基因种子的活力变化没有明显差异, 储存后发芽 3 d 时的苗长均降为储存前的 40% 左右. 在盒装种子中, 转基因材料的两个样都出现严重细菌污染, 种子发芽时多数腐烂致死, 而对照种子全部能正常发芽(表 4). 究其原因, 可能转基因种子自身带菌且种子的抵抗力弱等所致.

由表 4 还可见, 转基因白菜种子的电导度不论在储存前后, 都较对照菜心种子的高, 虽然储存 10 mo 后, 种子的活力明显降低, 但其电导度却没有明显变化. 转基因白菜种子的电导度较高, 可能与繁种时种子的质量有关, 这也可能正是转基因白菜种子在储存条件不好的情况下, 易被细菌侵染的原因(如盒装种子).

表 3 转基因菜心及对照的结籽情况比较

Table 3 Seed set of the transgenic plants and the control

项目 Item	材料 Material	样品号 Samples						平均 Average
		1	2	3	4	5	6	
荚数/枝条 Pods/branch	CK	37	33	31	39	28		33.6
	T2 - 20	45	31	26	33	29		32.8
种子数/荚 Seeds/pod	CK	22	22	24	18	20	12	19.7
	T2 - 20	23	24	24	22	15		21.6

表 4 储存前后对照与转基因白菜的种子活力

Table 4 Vigor of the transgenic and control seeds before and after storage underground

实验材料 Material	处 理 Storage treatment		电导度 Electric conductivity [k/10 ² μS(cm g) ⁻¹]	发芽势 Vigor of germin- ation (r/%)	苗长 Length of seedlings (l/mm)	最终发芽率 Germination capacity (r/%)	腐烂 Rotted	畸形 Deformed
49 菜心 Control	存前 Before		0.77	99	47.25	99	1	
	存后 After	盒装 Box	0.68	100	19.05	100		
		瓶装 Bottle	0.70	100	19.27	100		
T1 - 9	存前 Before		1.41	99	44.52	100		
	存后 After	盒装 Box	1.25	2	0.04	9.3	85	1
		瓶装 Bottle	1.07	94	14.00	100		
T2 - 19	存前 Before		1.49	91	33.40	93.3	4	5
	存后 After	盒装 Box	1.35	0	0	0	150	
		瓶装 Bottle	1.02	92	14.97	94.7	6	

2.3.4 散落转基因种子的自然萌发及越年生长能力 转基因材料栽种区分别按上、下、左、右、中 5 个点取样,调查 5 个点各 1 m² 区域内的植被情况. 10 月份时,实验地除萌生了大量的藜科、蓼科、禾本科等杂草外,在 1 m² 区域内可见 1~2 株白菜幼苗(图 2). 越冬后于第二年春季再调查这片地,未见有白菜发生. 该结果表明,转基因白菜种子无休眠现象,在自然条件下,只要温度、湿度适合,就可以自然萌发,但是在冬季寒冷时,植株会冻死,无越年生长能力. 该结果证明,转基因白菜与其非转基因对照在低温逆境抗性上无明显差异.



图 2 田间散落转基因种子的自然萌发能力
Fig. 2 Spontaneously germinated transgenic seeds (arrow) in the harvested field

2.4 转基因性状

无论栽培在大棚还是露地的转基因菜心均在苗期喷施 1% 的 Basta 溶液(含 PPT 1.5 g/L), 1 wk 后调查植株存活情况. 播种 20 d 后,调查病毒病发病情况.

结果表明,无论何种栽培条件下,转基因株均表现明显而稳定的除草剂抗性,除草剂处理后存活率几乎为 100%,仅有数株死亡(占 0.5%~1%),死亡株可能为非除草剂致死.

在大棚栽培条件下,转基因材料与对照的病毒病发病情况都很轻,植株正常生长、抽薹、开花,形成有良好经济价值的产品器官. 但在开放露地栽培条件下,由于当年虫害较重,病源丰富,各材料的病毒病发病都较重,部分植株出现重花叶及扭曲生长现象,甚至有的植株矮化,产品劣质或完全丧失经济价值. 其中对照材料表现稍好,病情指数为 16.67,转基因材料中 T2-19 的病情指数为 17.2, T2-16, T1-9 的病情指数分别为 30.91、35.0.

2.5 田间栽培的转基因菜心外源基因存在状态鉴定

通过植物材料基因组的 PCR 及 Southern 杂交,鉴定了外源基因在释放材料中的存在状态. NIa 基因的 PCR 结果显示,抽样的转基因释放材料样品中,均能扩增出 1.1 kb 的 NIa 基因片段,而对照非转基因材料中无相应片段(图 3-1). bar 基因的 Southern 杂交结果显示,转基因材料基因组中均有 bar 基因存在,而对照材料没有(图 3-3). 但是 NIa 基因的 Southern 杂交结果显示,在转基因材料及对照基因组 DNA 中都有清晰的杂交带(图 3-2).

多次结果均表明,NIa 基因在对照植物基因组的 Southern 杂交中呈阳性,而 PCR 结果呈阴性. 这是否因为对照基因组确实存在一段与外源 NIa 基因同源性较高的序列,该序列导致 Southern 杂交结果呈阳性,但按外源 NIa 基因设计的 PCR 引物序列一条或者全部不在该同源序列内,导致 PCR 扩增呈阴性的结果,还有待进一步验证.

分子鉴定表明,释放的转基因材料中确实存在外源 bar 基因及 NIa 基因.

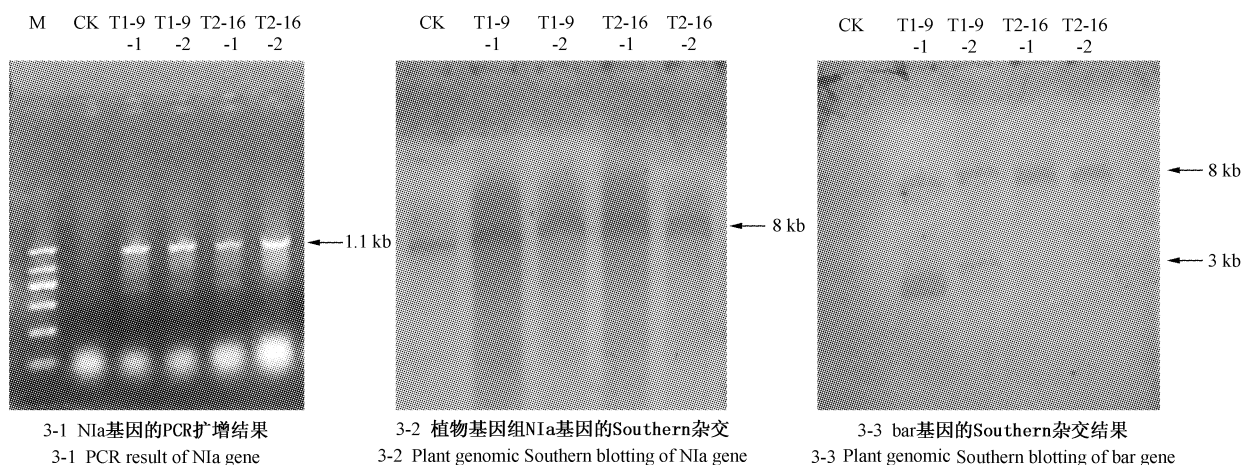


图 3 释放材料基因组中外源基因的分子鉴定

Fig. 3 Foreign gene identification using PCR and genomic Southern blotting in released transgenic Chinese cabbage lines

2.6 转基因白菜试配组合 F1 的性状考察

1999 年用转基因材料 T2-19 与几种菜心试配了杂交组合,2000 年秋在大棚中进行了 F1 代的性状考察.

表 5 中结果显示,在所配组合中,有 1 个组合(三月菜心 × T2)表现较好,其生长势旺盛,整齐度也好,单株产量比对照材料高. 其余组合的单株产量均低于对照.

由于生长期间气温不高,虫害少,植株又是栽培在塑料大棚中,植株染病机会少,绝大部分材料都未观察到病毒病症状.

用 1% Basta 每株涂抹 2 片叶子,3 d 后观察, F1 植株涂抹叶片没有出现干枯死亡现象,仅有数株出现较轻的失绿症状,表明所有材料均具有 Basta 抗性,而对照材料叶片涂抹后完全干枯凋亡.

表 5 转基因菜心株系 T2-19 试配组合的性状调查
Table 5 Field traits of the progenies in crosses between T2-19 and normal varieties

组合 Cross	整齐度 Uniformity	生长势 Growth vigor	苔长 Length of flower stem (L/cm)	苔粗 Dia. of flower stem (d/cm)	单株产量 Stem yield per plant (m/g)	病毒病感病株 No. of virus infected plants
97C1 (CK)	齐 Uniform	旺 Vigorous	25.2	2.63	106.0	0
三月菜心 × T2 Sanyue × T2	齐 Uniform	旺 - Vigorous	26.7	2.7	111.3	0
T2 × 35 天菜心 T2 × 35 d caixin	齐 Uniform	中上 Middle	27.0	2.23	85.7	0
T2 × 60 天菜心 T2 × 60 d caixin	齐 Uniform	旺 - Vigorous	25.4	1.76	56.9	0
T2 × 特选 19 T2 × texian19	齐 Uniform	旺 Vigorous	19.1	1.65	39.2	0
60 天菜心 × T2 60 d caixin × T2	齐 Uniform	旺 Vigorous	13.4	1.48	26.5	0

3 讨论

Crawley (1992) 对转基因油菜和对照亲本品种进行了多重复杂的比较试验, 结果表明, 转基因油菜在种子的传播能力、死亡率、幼苗生长及食草动物和病原菌侵害等方面, 并不具有更强优势。相反, 种子在土壤中的存活率还低于非转基因油菜^[6, 7]。转基因油菜的田间试验表明, 其在成熟性、产量、油及蛋白含量等方面与非转基因对照都是在统计学上可比的, 没有显示出外源基因插入的负效应^[8, 9], 也没有证据表明转基因株较非转基因株会付出更高的适合性代价 (fitness cost)^[9-11]。水稻上的田间试验也证明, 转基因水稻在生育期、株高、着粒数、结实率、千粒重和产量等农艺性状上, 与非转基因对照均无明显差异^[12]。大豆上的结果也表明, 抗阿特拉津转基因大豆与对照材料在光合速率、种子成分、及植株的株高、百粒重、单株产量等农艺性状上都无明显差别^[13]。本研究结果与上述研究结果一致, 获得的转基因白菜在植物学性状上, 与对照材料没有明显差别, 没有产生明显的因外源基因插入引起的表型突变。转基因材料在花粉量、种子的发芽率、繁殖率、储存能力、自然萌发及越冬能力等上, 都与对照相似, 无明显差异。在水稻上通过 SSR, RAPD, AFLP 进行的基因组分析表明, 除外源基因插入位点外, 转基因纯合水稻在检测的 550 个位点上, 与对照材料均无差异^[14]。这从分子生物学方面初步解释了转基因材料与非转基因材料在农艺性状上的高度相似性。这些研究结果都为农杆菌介导转基因材料安全性和可靠性的评价提供了佐证。

在转基因株系中出现了花期明显延迟的材料, 很可能是因为原受体材料为一农家品种, 遗传背景不纯造成的性状分离, 是否可能为插入基因引起的突变, 还有待证明。虽然转基因材料在花粉活力、单株产量, 种子的发芽势上, 比对照低, 但其试配的杂交组合中出现了具优良性状的材料, 表明转基因材料的高度自交纯合导致的活力降低, 可以由杂交种的杂种优势来补偿。由于 *bar* 基因介导的除草剂 Basta 抗性是由一对显性核基因控制的, Basta 为一种高效低毒的广谱除草剂, 转基因株的除草剂抗性非常稳定, 在当代及其后代, 以及在不同生境下均能很好表达, 因此也可以将该转基因白菜体系应用于白菜杂交育种中, 作为标记性状来解决杂种生产中的假杂种问题^[15], 以及品种保护问题。

本研究获得的转基因白菜导入了 TuMV 的蛋白酶基因 Nla。前人利用马铃薯 Y 病毒组的 Nla 基因, 获得了专一抗性

高的转基因烟草, 但工作表明转基因株不抗同组的其它病毒^[1]。我们的前期温室 TuMV 接种实验显示, 获得的转基因白菜较对照材料的抗病性强, 但本实验的田间结果显示, 转基因白菜没有显示出比对照更好的抗病性。究其原因, 是由于在温室人工接种条件下, 侵染病毒种类仅是目的基因针对病毒种类及其小种, 转基因材料表现较好抗性, 而田间栽培自然传病情况下, 由于侵染病毒的种类较多 (如还有 CMV) 或者生理小种不同, 转入基因介导的抗病性的专一性, 限制了转基因材料的抗病表现。有报道表明, 外壳蛋白基因具有一定的广谱抗性^[16], 将 Nla 的专一抗性和 CP 的广谱抗性相结合, 可能是抗病毒基因工程的一个更有效策略。

值得注意的是, 多次实验均表明, 非转基因对照材料的 Nla 探针 Southern 杂交结果呈阳性。由于这里的 Nla 基因是芜菁花叶病毒的核内蛋白酶基因, 是否由于在长期的病毒与植物的互作中, 发生了基因交换现象, 还是植物自身存在的类似基因, 是值得研究的问题, 如果是前者, 则更提示我们注意关注基因工程材料的安全性问题。

References

- Maiti IB, John F, Murphy F, Show JG, Hunt A. Plants that express a potyvirus proteinase gene are resistant to virus infection. *Pro Natl Acad Sci USA*, 1993, **90**: 6110 ~ 6114
- Cao MQ, Liu F, Yao L, David B, Colette T, Li Y, Christophe R. Transformation of Pakchoi (*Brassica rapa* L. ssp. *chinensis*) by *Agrobacterium infiltration*. *Mol Breeding*, 2000, **6**: 67 ~ 72
- Liu F, Yao L, Cao MQ, Qiu JY, Zhou GZ. Enhancement of TuMV Resistance of the Nla Transgenic Chinese Cabbage. Montreal, Canada: 11th International Crucifer Genetics Workshop, 1998. 46
- Cao MQ, Li Y, Liu F, Dor C. Embryogenesis and plant regeneration of pakchoi (*Brassica rapa* L. ssp. *chinensis*) via *in vitro* isolated microspore culture. *Plant Cell Reports*, 1994, **13**: 447 ~ 450
- Sue PL, Bailey LG, Baum BR. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant Mol Biol. Reporter*, 1997, **15**(1): 8 ~ 15
- Crawley MJ. The comparative ecology of transgenic and conventional crops. In: Casper R, Landsmann eds. *The Biosafety Results of Field Tests of Genetically Modified Plants and Microorganisms*. Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Braunschweig, 1992. 43 ~ 52

- 7 Crawley MJ, Hails RS, Rees M, Kohn D, Buxton J. Ecology of Transgenic Oilseed Rape in Nature Habitats. *Nature*, 1993, **363**: 620 ~ 623
- 8 Arnoldo M, Baszczynski CL, Bellemare G, Brown G, Carlson J, Gillespie B. Evaluation of Transgenic Canola Plants Under Field Conditions. *Genome*, 1992, **35**(1): 58 ~ 63
- 9 Fredshavn JR, Poulsen GS, Huybrechts I, Rudelsheim P. Competitiveness of Transgenic Oil Seed Rape. *Transgenic Res*, 1995, **4**(2): 142 ~ 148
- 10 Fredshavn JR, Poulsen GS. Growth behavior and competitive ability of transgenic crops. *Field crops Res*, 1996, **45**: 11 ~ 18
- 11 Snow AA, Bent A, Jørgensen RB. Costs of transgenic herbicide resistance introgressed from *Brassica napus* into weedy *B. rapa*. *Mole Ecol*, 1999, **8**: 605 ~ 615
- 12 Zhao XF(赵显峰), Zhai WX(翟文学), Li P(李平), Wang CL(王春连), Pan XB(潘学彪), Qian Q(钱前), Li SG(李世贵), Zhu LH(朱立煌). Field tests and analyses of different Xa21 - transgenic hybrid rice combinations. *Acta Agron Sin*(作物学报), 2002, **28**(4): 521 ~ 527
- 13 Yue SX(岳绍先), Fu JH(傅骏骅), Li LC(李连城), Yuan HL(苑红丽). The resistance inheritance and some physiological and agronomic trait of transgenic soybean plants with atrazine - resistance gene. *Acta Phytophysiol Sin*(植物生理学报), 1996, **22**(4): 385 ~ 391
- 14 Xie B(谢兵), Zhu XF(朱雪峰), Zhai WX(翟文学), LU RL(鲁润龙), Zhu LH(朱立煌). Genome analysis of transgenic homozygous lines "MingHui 63 - Xa21". *Chin J Biotechnol*(生物工程学报), 2002, **18**(1): 102 ~ 104
- 15 Li YQ(黎垣庆), Liu G(刘刚), Yan WC(严文贵), Xu QS(许秋生). Genetic study on the herbicide resistibility and application on utilizing heterosis in rice. *Acta Bot Sin*(植物学报), 1999, **41**(12): 1348 ~ 1350
- 16 Dinant S, Maisonneuve B, Albouy J, Chupeau Y, Chupeau MC, Bellec Y. Coat protein gene - mediated protection in *Lactuca sativa* against lettuce mosaic potyvirus strains. *Mol Breeding*, 1997, **3**: 75 ~ 86

《种子植物花粉电镜图志》介绍

《种子植物花粉电镜图志》(中国科学院昆明植物研究所韦仲新著)一书于 2003 年出版. 该书是借助高分辨率的电子显微镜对 113 个科, 350 个属, 近 700 种主要和常见的种子植物花粉进行观察和照相而编成的. 全书共 55 万字, 图版 131 个, 由 1 500 多幅照片组成, 为 16 大开本(889 mm × 1 194 mm).

本著作有以下几个主要特点: 1. 书中所有花粉照片不仅采用高分辨率的电子显微镜拍摄而成, 而且在图版制作过程中, 全部照片均由以往的单色制版改为双色制版, 故不仅花粉表面细微结构清晰, 而且反差适中, 黑白分明, 为鉴别不同花粉种类提供重要的识别特征; 2. 本著作是我国目前应用电镜对花粉进行观察和研究的科、属、种最多和最详尽的孢粉学专著. 书中所描述的花粉种类不仅具有广泛的代表性, 而且其中不少种类属于首次电镜观察和研究; 3. 本著作可谓图文并茂, 不仅有形象逼真、立体感强的花粉照片, 而且对照每幅图片, 详细描述了每种花粉的形状、大小、萌发孔类型和外壁纹饰特征等. 此外, 书末除了"中文名称索引"和"拉丁学名索引"外, 还附以"英汉常用孢粉学名词"和"孢粉学主要名词解释"等.

本书不仅可供专门研究花粉形态学的广大科技工作者和从事蜂花粉和食用花粉应用研究的相关人员用以鉴别不同种类花粉之用, 而且对于从事植物分类学、探讨古植被、古气候和古地理等研究提供了重要的参考资料, 具有较重要的学术价值和意义.

本著作获 2004 年中国西部地区优秀科技图书奖一等奖; 并于今年 5 月被推荐参加全国第十四届优秀图书奖的评选. 本书定价 168 元, 凡购买 5 本以上者可作适当优惠. 需要者请来信或来电.

地址: (650204) 昆明黑龙潭, 中国科学院昆明植物研究所

联系人:

韦仲新 E-mail: bewzx@public.km.yn.cn, zhxwei@public.km.yn.cn; Tel: (0871) 5730007, 13888935278

高连明 E-mail: gaolm@mail.kib.ac.cn; Tel: (0871) 5223505; Fax: (0871) 5217791