

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

王志兴, 王旭静, 贾士荣

(中国农业科学院生物技术研究所, 北京 100081)

摘要:水稻是重要的粮食作物,转基因抗虫水稻在我国已经获得安全证书,且其他性状的转基因水稻也进入田间试验和环境释放阶段,因此,水稻的基因漂流备受关注。归纳和分析了近10年来国内外水稻基因漂流的数据和信息,分别包括向栽培稻品种、不育系和普通野生稻的基因漂流,明确了转基因向不育系的漂流频率最大,其次是普通野生稻,向栽培稻品种的漂流频率最小,并提出了向这三种类型水稻基因漂流的0.1%阈值距离。

关键词:水稻;基因漂流;阈值距离

doi:10.3969/j.issn.1008-0864.2011.03.05

中图分类号:Q788,S511 文献标识码:A 文章编号:1008-0864(2011)03-0030-05

Data Survey and Analysis of the Transgene Flow Frequencies and Distances in Major Crops II. Rice

WANG Zhi-xing, WANG Xu-jing, JIA Shi-rong

(Biotechnology Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Rice is one of the most important food crops. At present, transgenic insect-resistant rice has obtained safe certificate in China and transgenic rice with other traits have entered cultivation test and environmental release stage. So transgene flow of rice was paid more attention. This article reviewed and analyzed the data and information on rice transgene flow, which is published internationally in recent ten years. The data include the frequencies and distances of gene flow to common cultivars, male-sterile lines and common wild rice (*Oryza Rufipogon*). It is indicated that the frequency of transgene flow to male-sterile lines is highest, to common cultivars is lowest, and to common wild rice is between male-sterile lines and common cultivars. The isolation distances at a threshold level 0.1% for the three categories of rice are determined.

Key words: rice; gene flow; threshold distance

水稻的基因漂流备受关注,这是因为首先水稻是世界和我国最重要的粮食作物,民以食为天,食品安全关系重大;其次,我国是亚洲栽培稻的起源中心之一,有丰富的野生稻资源;再次,我国又是一个杂交稻生产大国,需要详细研究向不育系的基因漂流规律,以便积累充分的科学数据;另外,抗虫转基因水稻已在我国获得安全证书,其他性状的转基因水稻也已进入田间试验和环境释放阶段。基于以上四点,对国内外近年来水稻基因

漂流的数据进行调研和分析十分必要。

1 与安全性有关的生物学特性

1.1 一般性描述

水稻(*Oryza sativa* L.)为同源二倍体($2n = 24$),具有AA基因组,分类上属单子叶植物纲,禾本科,稻属。

中国是水稻栽培种起源中心之一。一般认

收稿日期:2011-03-24;接受日期:2011-04-30

基金项目:国家转基因新品种培育重大专项(2009ZX08012-019B)资助。

作者简介:王志兴,研究员,博士,主要从事植物基因工程与转基因生物安全研究。Tel:010-82106102; E-mail:wangcotton@126.com

为,水稻栽培种是从普通野生稻(*O. rufipogon* Griff.)衍变而来。

我国具有丰富的野生稻资源,战国时代的《山海经·海内经》(公元前3世纪以前)在华南就有野生稻的记载。我国有三种野生稻:普通野生稻(AA基因组)、药用野生稻(*O. officinalis*, CC基因组)及疣粒野生稻(*O. meyeriana*, GG基因组)。除AA基因组的普通野生稻可与栽培稻杂交外,CC基因组的药用野生稻及GG基因组的疣粒野生稻与栽培稻之间未见有天然杂交的报道,它们之间用人工杂交也很难成功,一般需采用胚抢救法才能得到极少数杂种种子,其种间杂种的育性很低。宋小玲等^[1]研究了药用野生稻和转基因水稻花粉杂交的基因飘流,发现转基因水稻花粉能在药用野生稻柱头上正常萌发生长,并能释放内容物,但杂交后结实率为0,表明转基因水稻和药用野生稻杂交不亲和。刘琳莉等^[2]采用荧光显微镜技术观察转基因水稻花粉在药用野生稻柱头上的萌发及在花柱内的生长过程,发现药用野生稻与栽培稻杂交不亲和,其原因是花粉管在花柱中停止生长,不能进入胚囊完成受精。因而在自然条件下转基因栽培稻不存在向药用野生稻和疣粒野生稻基因飘流的可能性。

1.2 开花习性

水稻为自花授粉植物,其天然异交率一般在1%以下,最高可达5%^[3]。水稻为圆锥花序,开花顺序为先从主轴上开花,其次是上部的枝梗开花,然后从上向下,各枝梗依次开花。在正常情况下,一般在上午9:00开始开花,中午最盛,16:00以后开花较少。一朵花开放时,从稃片张开到闭合,大约需要1.5~2 h。水稻花期一般为7~10 d,花粉寿命较短,栽培稻品种的花粉在适宜的温湿度下从花药散出后的存活时间仅为3~5 min,野生稻的花粉在离开花药后最长可达9 min^[4]。柱头的生活力在去雄后可维持6 d左右,去雄后1~2 d内授粉,结实率最高。花粉以风媒传播。

2 水稻基因飘流研究

目前国际上主要有3个实验室进行该项研究,包括西班牙的Messeguer研究组^[5,6]、上海复旦大学的卢宝荣研究团队^[7~11]和中国农业科学

院生物技术研究所的贾士荣研究团队^[12~15]。其中第三个研究团队用23个受体(8个籼、粳不育系,7个常规稻品种,7个F₁杂种和1个普通野生稻居群)在模拟水稻生产实际和较大面积上(1.2 hm²)进行了3年3点(广州、三亚和杭州)试验,利用获得的基因飘流数据和南方稻区17个省市38个气象台站32年的气象资料,建立了水稻花粉扩散和基因飘流的模型,并设置1%和0.1%两个阈值,在100%保证率(32年)下,预测了我国南方稻区不同地点的最大基因飘流距离。因此已经为水稻基因飘流研究积累了丰富的数据,明确了基本规律:①基因飘流频率随受体材料的异交结实率而异,向不育系的基因飘流>普通野生稻>常规稻和杂交稻品种;②基因飘流频率随距离增加呈负线性指数下降,并与风速、风向有关;③基因飘流的最大距离因不同受体材料、不同地点开花期的风速而有明显差异。

2.1 向常规稻及杂交稻的基因飘流

栽培稻品种为自花授粉作物,天然异交率很低,在相邻种植时的最大异交率一般不超过1%^[3]。表1数据显示,转基因水稻与栽培稻品种相邻种植时的基因飘流频率一般都低于1%,Messeguer研究组的结果为0.188%~0.53%^[5,6];卢宝荣研究团队的结果为0.04%~0.7%^[7,8];贾士荣研究团队的结果为0.02%~3.04%(在14个栽培稻品种中,仅有2个品种的飘流频率高于1%,武育粳7号为1.28%,秀水11为3.04%),同时还发现,广州两年的基因飘流频率在1~2 m处有急剧降低的拐点,杭州在2 m处同样有一个急剧降低的拐点,但在三亚平均风速较大的情况下,20 m内没有明显降低的拐点^[13]。按水稻基因飘流模型预测,尽管我国南方稻区各地气候差别很大,但在1%阈值下的最大基因飘流距离均小于1 m,0.1%阈值下的最大基因飘流距离均不超过5 m^[14]。

2.2 向不育系的基因飘流

由于不育系不产生有活力的花粉,异交结实率明显高于常规稻品种,但不同的不育系异交结实率差别很大。贾士荣研究团队以8个籼、粳不育系为花粉受体进行研究,发现在相邻种植时基因飘流频率最低为1.56%(培矮64S),最高可达92.01%(中9A)。向不育系的最大飘流距离

表 1 本调研对水稻基因飘流频率和距离的汇总
Table 1 Data collection of transgene flow distances and frequencies in rice.

受体 Recipients	相邻种植时的 飘流频率(%) Gene flow frequency at contiguous donor planting(%)	允许阈值 1% 下 的最大飘流距离 (m) Distances at a threshold level 1% (m)	允许阈值 0.1% 下的最大飘流 距离(m) Distances at a threshold level 0.1% (m)	最远基因飘流 Maximum distance of gene flow		试验地点 Experiment venue	参考文献 Reference
				飘流距离(m) Distance (m)	频率(%) Frequency (%)		
	0.02 ~ 3.04	< 1m	< 3 ~ 5m	50 ~ 100m	0.005 ~ 0.001	广州、杭州和三亚 Guangzhou, Hangzhou and Sanya	[13]
栽培稻 品种 Cultivars	0.05 ~ 0.7	NA	NA	NA	NA	福州和三亚 Fuzhou and Sanya	[7]
	0.188 ~ 0.53	NA	NA	NA	NA	西班牙 Spain	[5,6]
	0.04 ~ 0.18	NA	NA	NA	NA	云南个旧 Yunnan Gejiu	[8]
		< 1m	< 5m	NA	NA		[14]
	3.15 ~ 36.12	< 2m	< 30m	150m	0.007	广州 Guangzhou	
	80.1	< 10m	< 50m	100m	0.015	杭州 Hangzhou	[13]
不育系 Male-sterile line	1.56 ~ 92.01	< 20 ~ 50m	< 75 ~ 150m	250 ~ 320m	0.003 ~ 0.009	三亚 Sanya	
		39m (景洪, Jinghong), 260m (桂林, Guilin)					[14]
	11 ~ 18	10m	20 ~ 50m	50m	0.1	广州 Guangzhou	
普通野 生稻 Common wild rice	1.21 ~ 2.94	30m	75m	250m	0.01	三亚 Sanya	[15]
		NA	NA	43.2m	0	茶陵 Chaling	[9]
			45m (景洪, Jinghong), 293m (桂林, Guilin)	NA	NA		[14]
杂草稻 (红稻) Red rice	0.036 0.011 ~ 0.046	NA	0.25m 0.15m	NA	NA	西班牙 Spain 韩国 Korea	[6] [11]
	0 ~ 1.26	NA	NA	NA	NA	美国 USA	[22]
稗草 Barnyard grass	0	NA	NA	NA	NA	杭州 Hangzhou	[15]

注: NA: 无具体数据。

Note: NA: No data.

在广州为 150 m (0.007%), 杭州为 100 m (0.015%), 三亚由于水稻开花期的最大风速明显高于广州和杭州, 最大飘流距离可远至 250 ~ 320 m (0.003% ~ 0.009%)^[13]。在 1% 和 0.1% 允许阈值下, 最大飘流距离在广州分别为 < 2 m 和 < 30 m, 杭州分别为 < 10 m 和 < 50 m、三亚分别为 < 20 ~ 50 m 和 < 75 ~ 150 m (表 1)。由于我国南方稻区幅员辽阔, 地形地貌和气候差异很大, 加上水稻开花期受东南季风的影响, 不同地区向不育系的最大基因飘流距离变幅很大, 据基

因飘流模型预测, 最大飘流距离在云南景洪仅为 39 m, 广西桂林高达 260 m, 从总体上看, 最大飘流距离在南方稻区有 3 个高值区和 3 个低值区, 基本规律是东西方向由东向西逐渐减小, 南北方向以南岭为界, 先逐步减小, 然后至东南沿海又逐步增大^[14]。

2.3 向普通野生稻的基因飘流

普通野生稻与栽培稻具有相同的 AA 基因组, 亲缘关系近, 生殖隔离水平低^[16]。而且普通野生稻与栽培稻具有一定程度的花期相遇, 如在

湖南茶陵普通野生稻的花期在 9 月初 ~ 11 月中旬,开花时间为 9:30 ~ 16:30,地方晚稻品种花期一般在 9 月中旬 ~ 10 月初,开花时间为 8:30 ~ 14:00^[17];海南普通野生稻的开花期主要集中在 10 ~ 12 月,而常规稻也主要集中在 10 ~ 12 月,二者的开花高峰期也相近,基本为上午的 11:30 ~ 12:30^[18]。因此,在自然条件下,如果转基因水稻与普通野生稻具有地理分布重叠,花期花时相遇,它们之间就会发生基因飘流。

卢宝荣研究团队在湖南茶陵测得向普通野生稻的最大飘流频率为 1.21% ~ 2.94%,最大距离为 43.2 m^[9,11]。贾士荣研究团队测得向普通野生稻的最大飘流频率为 11% ~ 18%,最大飘流距离在广州和三亚分别为 50 m (0.08%) 和 250 m (0.008%)^[15]。在 1% 和 0.1% 允许阈值下,最大飘流距离在广州分别为 <20 ~ 50 m 和 <50 m、三亚分别为 <75 m 和 <250 m (表 1)。根据模型预测,在南方稻区向普通野生稻的最大飘流距离变幅为:云南景洪 45 m,广西桂林 293 m^[14]。

2.4 向杂草稻和杂草的基因飘流

刘琳莉等^[19]用标记花粉放射自显影技术研究转基因水稻与杂草稻的可交配性,发现转基因水稻花粉可以在杂草稻的花柱内生长并到达胚囊,具有一定的杂交亲和性,存在转基因向杂草稻飘流的可能。Messeguer 等^[2]采用田间同心圆设计,发现距离转基因水稻 50 cm 处,向红稻的基因飘流频率为 0.036%。卢宝荣研究团队测得的飘流频率为 0.011% ~ 0.046%^[11] (表 1)。Zhang 等^[20]研究表明转基因水稻向红稻的基因飘流频率为 0.3% ~ 1%。Shivrain 等^[21,22]在美国的研究表明转基因水稻与红稻之间的基因飘流频率最高可达 1.26%。

宋小玲等^[23]对稗类植物 (*Echinochloa* spp.) 的开花生物学特性进行了观察,发现稗草每日的开花节律为 70% ~ 80% 的颖花在 7:00 之前开,15% ~ 20% 在 7:00 ~ 8:30 开,8:30 之后只有零星开花,10:30 之后未见稗草开花。栽培水稻的开花时间一般在 9:00 以后,高峰期在 11:00 左右,说明稗草和水稻的花时不遇;水稻花粉人工授在稗草柱头上,花粉粒不萌发或花粉管停止伸长,杂交结实率为 0^[24,25]。Wang 等^[15]在杭州中国水

稻所转基因水稻安全圃中,采集与 Barsta 抗性水稻共存 5 年的稗草种子,在 50 794 株苗中未发现 Barsta 抗性苗,说明不存在转基因水稻向稗草的基因飘流和渐渗。

3 基因飘流率小于 0.1% 的阈值距离

在目前农业转基因生物安全监管配套规章中,推荐的水稻隔离距离为 100 m^[26]。

鉴于在相邻种植时向不育系和向栽培稻品种的基因飘流率有数量级的差异,向普通野生稻的飘流率介于前两者之间,三者最远的飘流距离也有明显差别,显然对这三种类型的水稻应采用分类管理和阈值管理的原则。选用阈值小于 0.1% 而不是 1% 和 0.01% 的理由已在前文中阐述。

根据国际上近年来积累的转基因水稻基因飘流的数据,特别是在我国环境条件下积累的较大面积、多年多点、实测和模型预测的大量数据,已具备了确定小于 0.1% 阈值和实行阈值管理的可行性。

3.1 与栽培稻和杂交稻品种的阈值距离

实测结果小于 3 ~ 5 m,模型预测结果小于 5 m。值得强调的是,尽管我国南方稻区 17 省市的气候差别很大,但 0.1% 的阈值距离均不超过 5 m。小于 0.1% 的阈值,可使品种纯度达到 99.9%,可以完全满足甚至超过农业部 1997 年关于水稻良种繁育部办标准^[27] 的规定,即:一级种纯度 ≥ 98%,二级种纯度 ≥ 96%。

3.2 与不育系繁殖和杂交稻制种的阈值距离

大田基因飘流的实测值为广州小于 30 m,杭州小于 50 m,三亚小于 75 m 和 150 m (2 年数据)。在不育系繁殖和杂交稻制种中,去杂去劣是一个通行的常规措施,转基因飘流产生的杂株也可通过表型识别加以汰除。

3.3 与普通野生稻的阈值距离

实测结果在广州为 20 m 和 50 m (2 年数据),三亚为 75 m。模型预测结果为最小 45 m (云南景洪),最远 293 m (广西桂林)。我国普通野生稻分布在海南、广东、广西、江西、湖南、福建、云南和台湾 8 个省。野生稻的原位保护十分重

要。从控制最大风险(the worst cases)和严格保护野生稻资源考虑,在普通野生稻原位保护中,如存在花期相遇,应参考以上阈值距离采取隔离措施。

参 考 文 献

- [1] 宋小玲,强胜,刘琳莉,等.药用野生稻和转 *bar* 基因水稻花粉杂交的基因漂移研究[J].南京农业大学学报,2002,25(3):5-8.
- [2] 刘琳莉,强胜,宋小玲,等.用荧光显微镜技术观察药用野生稻(*Oryza officinalis* Wall)和转基因水稻的不亲和性[J].中国农业科学,2004,37(4):469-472.
- [3] Oka H I. Origin of Cultivated Rice[M]. Tokyo: Japan Sci. Soc. Press,1988,254.
- [4] OECD-Environment Directorate, OECD-Chemicals Committee, OECD-Working Party on chemicals. Consensus document on the biology of *Oryza sativa* (rice)[A]. In: OECD Working Papers [C]. Organisation for Economic Co-operation and Development,1999.
- [5] 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[J]. Theor. Appl. Genet., 2001, 103:1151-1159.
- [6] 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]. Mol. Breed., 2004, 13(1):103-112.
- [7] Rong J, Song Z P, Su J, et al. Low frequency of transgene flow from Bt/CpTI rice to its non transgenic counterparts planted at close spacing[J]. New Phytol., 2005, 168:559-566.
- [8] 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[J]. New Phytol., 2004, 163:439-445.
- [9] 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[J]. New Phytol., 2003, 157(3):657-665.
- [10] 戎俊,宋志平,苏军,等. Bt/CpTI 转基因稻及其非转基因亲本对照在间隔种植条件下的转基因漂移[J].生物多样性,2006,14(4):309-314.
- [11] Chen L J, Lee D S, Song Z P, et al. Gene flow from cultivated rice (*Oryza sativa*) to its weedy and wild relatives[J]. Ann. Bot., 2004,93:67-73.
- [12] Yuan Q H, Shi L, Wang F, et al. Investigation of rice transgene flow in compass sectors by using male sterile line as a pollen detector[J]. Theor. Appl. Genet., 2007,115(4):549-560.
- [13] Jia S R, Wang F, Shi L, et al. Transgene flow to hybrid rice and its male-sterile lines[J]. Transgenic Res., 2007, 16(4):491-501.
- [14] Yao K M, Hu N, Chen W L, et al. Establishment of a rice transgene flow model for predicting maximum distances of gene flow in southern China[J]. New Phytol., 2008, 180:217-228.
- [15] 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*)[J]. Plant Biotechnol. J., 2006, 4(6):667-676.
- [16] Naredo M E, Juliano A B, Lu B R, et al. Hybridization of AA genome rice species from Asia and Australia. I. Crosses and development of hybrids[J]. Genet. Res. Crop. Evol., 1997, 44:17-23.
- [17] 卢宝荣,张文驹,李博.转基因的逃逸及生态风险[J].应用生态学报,2003,14(6):989-994.
- [18] 贺混.海南部分居群普通野生稻(*Oryza rufipogon* Griff.)开花习性及其杂交亲和性研究[D].海南儋州:华南热带农业大学,硕士学位论文,2007.
- [19] 刘琳莉,强胜,宋小玲.用32P标记花粉放射自显影技术研究转基因水稻与几个野生近缘种的可交配性[J].核技术,2004,27(8):617-619.
- [20] Zhang Y, Linscombe S, Oard J, et al. Out-crossing frequency and genetic analysis of hybrids between transgenic glufosinate herbicide-resistant rice and the weed, red rice[J]. Euphytica, 2003, 130:35-45.
- [21] Shivrain V K, Burgos N R, Rajguru S N, et al. Gene flow between clearfield TM rice and red rice[J]. Crop Prot., 2007, 26:349-356.
- [22] Shivrain V K, Burgos N R, Sales M A, et al. Factors affecting the outcrossing rate between clearfield TM rice and red rice (*Oryza sativa*)[J]. Weed Sci., 2009, 57:394-403.
- [23] 宋小玲,强胜,徐言宏,等.稗类(*Echinochloe* spp.)植物的开花生物学特性[J].植物资源与环境学报,2002,11(3):12-15.
- [24] 宋小玲,强胜,孙明珠.在蒙导条件下转 *bar* 基因水稻与无芒稗间的基因漂移[J].中国水稻科学,2003,17(3):191-195.
- [25] 宋小玲,强胜,孙明珠.从无芒稗花粉活力评价其与转基因抗除草剂水稻基因漂移的可能性[J].广西植物,2003,23(4):343-346.
- [26] 农业部.农业转基因生物安全管理条例[Z].中华人民共和国国务院令第304号令,2001.
- [27] 农业部.GB 4404.1-1996 粮食作物种子第1部分:禾谷类[S].北京:中国标准出版社,1996.