

DOI: 10.11686/cyxb2017129

http://cyxb.lzu.edu.cn

王晓蕾, 王建, 张庆玲, 闫静, 强胜, 宋小玲. 抗草丁膦转基因油菜与野芥菜的抗性回交3代子1代和子2代的适合度. 草业学报, 2017, 26(12): 138-151.

WANG Xiao-Lei, WANG Jian, ZHANG Qing-Ling, YAN Jing, QIANG Sheng, SONG Xiao-Ling. Fitness of resistant backcross generation (BC3F2-3) between glufosinate-resistant transgenic oilseed rape and wild *Brassica juncea*. Acta Prataculturae Sinica, 2017, 26(12): 138-151.

抗草丁膦转基因油菜与野芥菜的抗性 回交3代子1代和子2代的适合度

王晓蕾, 王建, 张庆玲, 闫静, 强胜, 宋小玲*

(南京农业大学杂草研究室, 江苏 南京 210095)

摘要:如果抗除草剂转基因油菜的抗性基因渗入到野芥菜中, 会给野芥菜的防除带来很大困难。因此在抗除草剂转基因油菜环境释放前对抗性基因向野芥菜的渗入开展深入的研究非常必要。以抗草丁膦转基因油菜与野芥菜的携带抗性基因回交3代子1代和子2代(BC3mF2和BC3pF2及BC3mF3和BC3pF3, m表示以野芥菜为母本的回交后代, p表示以野芥菜为父本的回交后代)为材料, 在田间条件下研究了它们在不同密度(低密度为15株/区, 高密度为30株/区)及不同种植比例(单种, 野芥菜与回交后代以4:1, 3:2, 1:1混种)时的适合度成分和总适合度。结果表明, 无论是低密度还是高密度条件下, 单种时BC3F2和BC3F3的总适合度均与野芥菜无显著差异。低密度混种时, 在4:1和3:2下, 只有BC3mF3的总适合度与野芥菜无显著差异, 其余各后代的总适合度均显著小于野芥菜; 以1:1混种时, 只有BC3mF2和BC3mF3的总适合度与野芥菜无显著差异。高密度混种时, 3个比例混种下4种供试回交后代的总适合度均显著小于野芥菜。相关性分析结果表明, BC3mF3的各适合度成分都与混种比例不相关。表明携带抗性基因的BC3F2和BC3F3在野外都具有生存定植的可能性, 且BC3mF3定植的可能性较其他供试回交后代更大。因此在防范转基因油菜基因逃逸的策略上, 在防范初始杂交发生的同时, 也应该防范回交后代的产生。

关键词:抗草丁膦转基因油菜; 野芥菜; 回交后代; 适合度

Fitness of resistant backcross generation (BC3F2-3) between glufosinate-resistant transgenic oilseed rape and wild *Brassica juncea*

WANG Xiao-Lei, WANG Jian, ZHANG Qing-Ling, YAN Jing, QIANG Sheng, SONG Xiao-Ling*

Weed Research Lab, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

Abstract: One of the concerns about releasing transgenic herbicide-resistant oilseed rape (*Brassica napus*, AACC=38) is that herbicide-resistant (HR) transgenes from transgenic oilseed rape may escape to wild *Brassica juncea*. If this happens, wild *B. juncea* with the HR trait might pose new problems for weed control. Therefore, it is necessary to evaluate gene flow from HR transgenic oilseed rape to wild *B. juncea* before it is released. The fitness components and composite fitness of BC3mF2, BC3pF2, BC3mF3 and BC3pF3 (m = backcross progeny obtained with wild *B. juncea* as maternal plants; p = backcross progeny obtained with wild *B. juncea* as paternal plants.) between glufosinate-resistant transgenic oilseed rape and wild *B. juncea* under

收稿日期: 2017-03-21; 改回日期: 2017-05-17

基金项目: 转基因生物新品种培育科技重大专项子课题(2016ZX08012005-006)和国家自然科学基金项目(31270579)资助。

作者简介: 王晓蕾(1994-), 女, 安徽滁州人, 在读硕士。

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: sxl@njau.edu.cn

different densities and different planting proportions were measured in the field. In pure plots, the composite fitness of BC3F2 and BC3F3 were not different to wild *B. juncea* either at low density (15 plants/plot), or high density (30 plants/plot). In mixed plots, at low density under 4 : 1, 3 : 2 proportions, the composite fitness of the backcross generations was lower than that of wild *B. juncea* except for BC3mF3, which was similar to wild *B. juncea*. Under 1 : 1 proportion, the composite fitness of the backcross generations was lower than that of wild *B. juncea* except for BC3mF2 and BC3mF3, which were similar to wild *B. juncea*. At high density, the composite fitness of all backcross generations was lower than that of wild *B. juncea* irrespective of proportions. There was no correlation between fitness components of BC3mF3 and planting density. BC3F2 and BC3F3 between glufosinate-resistant transgenic oilseed rape and wild *B. juncea* have the ability to establish in field, particularly BC3mF3. Therefore, hybridization between transgenic oilseed rape and wild *B. juncea*, including backcrosses between wild *B. juncea* and F₁ or subsequent generations, should be prevented.

Key words: glufosinate-resistant transgenic oilseed rape (*Brassica napus*); wild *Brassica juncea*; backcross generation; fitness

转基因油菜(*Brassica napus*)是生物技术的重点研究领域,自商业化种植以来,其种植面积不断增加,2015年已达 1 亿 hm² 左右,占总转基因作物面积的 5%^[1]。转基因作物的大面积种植在带来可观的经济和社会效益的同时也可能造成一定的生态风险,其中抗性基因向野生近缘种特别是近缘杂草的漂移问题备受关注^[2-4]。我国目前虽还没有转基因油菜的商业化种植,但其研究相当活跃,已经培育出一批抗除草剂的转基因油菜^[5]。同时每年进口大量的转基因油菜籽用于食用油的加工生产,油菜籽在运输、加工过程中可能会散落而发生转基因的逃逸^[6-9]。因油菜是异花授粉植物,花粉传播距离远且活力保持时间长,同时在我国存在很多可交配的野生近缘种,因此转基因油菜的基因漂移问题更值得关注^[5,10]。

转基因作物和野生近缘种能否发生初始杂交、抗性基因在杂交和回交后代中能否传递下去及杂交或回交后代的适合度(fitness)是抗性基因能否成功地漂移至野生近缘种的关键因素^[11-13]。其中适合度是指个体在特定环境下的生存和繁殖能力。转基因逃逸是否会带来生态风险很大程度上取决于杂交或回交代的适合度^[14]。研究表明,转基因作物和野生近缘种的杂交或回交后代的适合度受亲本基因组^[15-17]、基因型^[18-19]和测试环境条件^[20-23]等因素的影响,因此通过杂种适合度大小来评估抗性基因漂移风险时要综合考虑各方面因素。

在我国与转基因油菜亲缘关系最近的杂草是野芥菜(wild *B. juncea*)。野芥菜是西北地区和长江流域荒地及农田的重要杂草^[24]。在自然条件下油菜包括转基因油菜和野芥菜能自发杂交^[10,25-26]。本实验室前期研究发现,以野芥菜为母本,抗草丁膦转基因油菜为父本,人工杂交获得的 F₁ 代表现出对草丁膦的抗性,但结实率很低^[10]。以携带抗草丁膦基因的 F₁ 和野芥菜回交,发现以野芥菜为母本的回交 1 代(正向回交 1 代)和以野芥菜为父本的回交 1 代(反向回交 1 代)自交的结实率都明显低于野芥菜的自交结实率;但以野芥菜和正向回交 1 代以及野芥菜和正向回交 2 代为亲本,回交获得的正向回交 2 代和正向 3 代的自交结实率已和野芥菜相当,但反向回交 2 代和反向回交 3 代的自交结实率仍显著低于野芥菜^[27]。这说明通过不断回交,携带抗草丁膦基因的回交后代适合度在不断提高,抗性基因有可能渗入到野芥菜中。但上述研究是在温室条件下进行的,尚没有对回交后代在田间条件下的适合度进行研究。

本试验在田间条件下研究了携带抗草丁膦基因的正反回交 3 代子 1 代以及正反回交 3 代子 2 代与野芥菜在单种和 3 种比例(4 : 1, 3 : 2, 1 : 1)混种时的适合度。目的是获得回交 3 代自交子代在田间条件下的适合度及变化规律,为进一步开展抗草丁膦转基因油菜的抗性基因向野芥菜渗入的研究提供试验基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

野芥菜(wild *B. juncea*)采集于南京江浦,抗草丁膦转基因油菜(Swallow, Liberty Link, event HCN92)来

自加拿大。宋小玲等^[10]以野芥菜为母本,抗性油菜为父本人工杂交获得携带抗性基因的 F_1 ;以野芥菜为母本, F_1 或者回交代为父本获得正向回交1代(BC1mF1)、正向回交2代(BC2mF1)、正向回交3代(BC3mF1),以 F_1 或者回交代为母本,野芥菜为父本获得反向回交1代(BC1pF1)、反向回交2代(BC2pF1)、反向回交3代(BC3pF1)^[27]。以BC3mF1与BC3pF1连续套袋自交及抗性筛选获得携带抗性基因的正向回交3代子1代(BC3mF2)和正向回交3代子2代(BC3mF3)与反向回交3代子1代(BC3pF2)和反向回交3代子2代(BC3pF3)为研究对象。详细过程见图1。

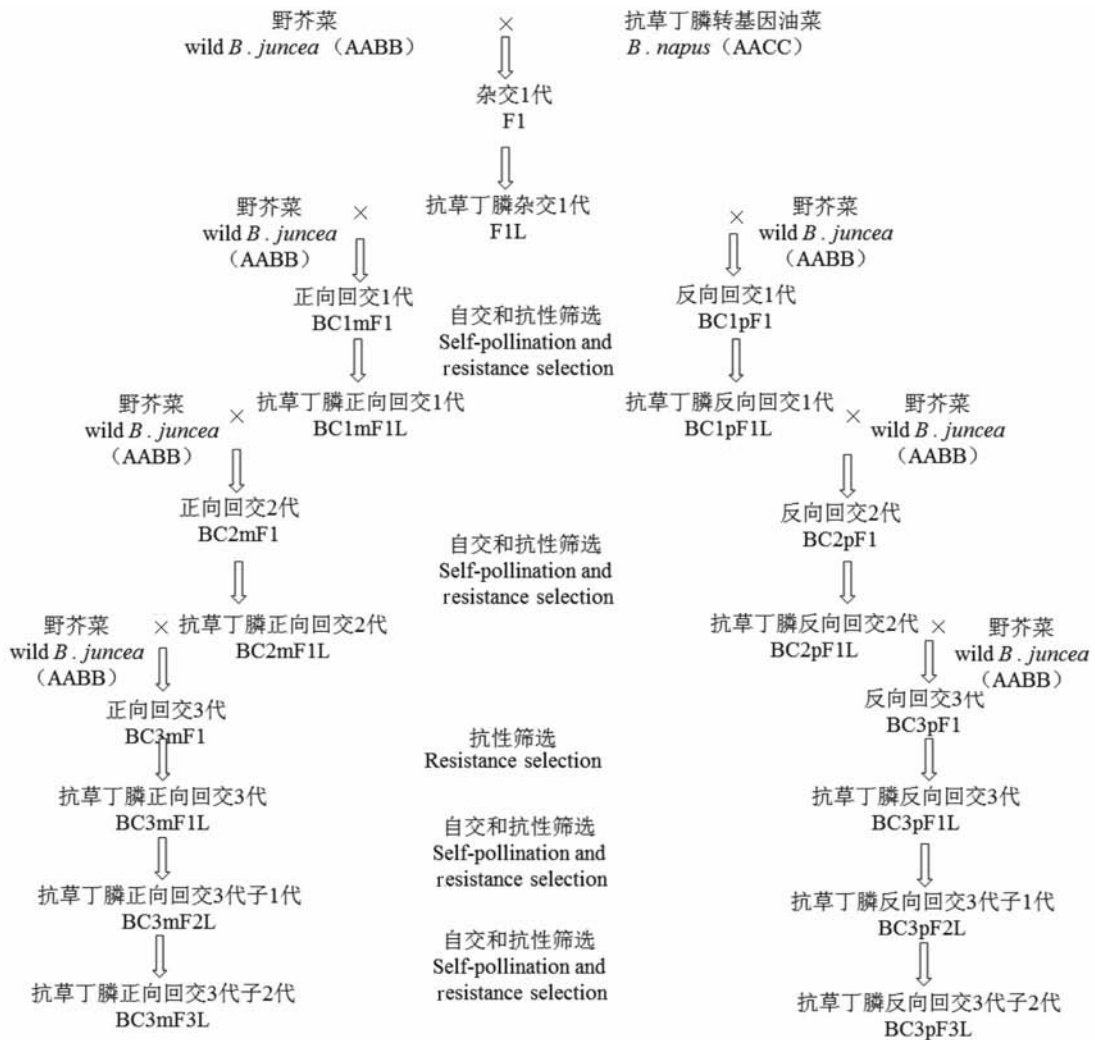


图1 野芥菜和抗草丁膦转基因油菜杂交和回交框架图

Fig. 1 Crossing scheme of hybridization and backcrossing between wild *Brassica juncea* and transgenic glufosinate-resistant oilseed rape

×前面的作母本,后面的作父本;m表示野芥菜为母本的后代;p表示野芥菜为父本的后代;L表示携带抗草丁膦基因;BC表示回交后代。Combinations involved in this study are indicated as maternal plants×paternal plants. Plants in front of × are always maternal, and plants in the back of × are always paternal. m denotes backcross progeny obtained with wild *B. juncea* as maternal plants. p denotes backcross progeny obtained with wild *B. juncea* as paternal plants. L denotes F_1 and backcross progeny with glufosinate-resistant gene. BC: Backcross generation.

1.2 试验方法

1.2.1 种植方法 试验于2012和2013年进行,每年11月初将经过抗性筛选的长势良好携带抗性基因的植株幼苗移栽至试验田。田间试验按照随机区组设计,小区面积为 3 m^2 ($2.5\text{ m}\times 1.2\text{ m}$),重复3次。种植密度按照低、高两种密度即15和30株/区进行种植,其中低密度1:1混种时,为了使野芥菜与回交后代株数相同且不

改变株距,小区面积相应扩大。各密度下分别设计单种和混种,混种时野芥菜与各回交后代两两混合种植,混种比例为野芥菜:回交后代=4:1,3:2,1:1。小区内回交后代和野芥菜随机排列。其中低密度下每小区种植 3 行×5 列,行距为 0.4 m,株距为 0.5 m。高密度下每小区种植 6 行×5 列,行距为 0.2 m,株距为 0.5 m,小区具体设计见图 2。

1.2.2 适合度成分的测量 所测指标包括营养生长指标(株高^[28]、茎粗^[29]、一次分支数^[30]、地上部单株生物量^[31])和生殖生长指标(单株有效角果数^[32]、单株种子重量^[33]、角果长^[19]、每角果饱粒数^[34])。具体方法见表 1。统计每小区内的全部植株,计算平均值。

1.2.3 数据的统计分析 采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。单种条件下多重比较采用 Duncan 复极差测验(Duncan's Multiple Range Test)的方法,混种条件下采用配对样本 *T* 检验的方法。把同年的各回交后代及亲本野芥菜在相同密度、相同比例下的相同适合度成分进行方差分析,比较差异显著性。

以各自亲本野芥菜的各适合度成分为标准“1”,回交后代的各适合度成分与野芥菜相应适合度成分之比为回交后代该适合度成分的相对适合度值。每一回交后代的总适合度(composite fitness)值是其各项适合度成分相对适合度值的加权平均数^[36-37]。

在 SPSS 20.0 软件中运用 Pearson 相关系数,对各回交后代的适合度成分与单种和混种时密度以及混种比例的相关性进行分析。

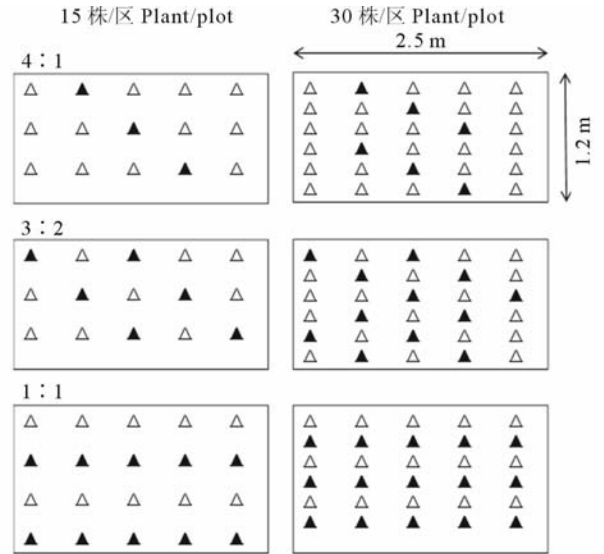


图 2 野芥菜与回交后代混种时小区植株分布

Fig. 2 Layout of field experiment in mixed plot

△代表野芥菜 Represents *B. juncea*; ▲代表回交后代 Represents progeny of the first backcross generation.

表 1 适合度成分及测定方法

Table 1 Fitness components and the measurement methods

营养生长阶段 Vegetative stage	生殖生长阶段 Reproductive stage
株高:成熟后,用直尺测量地上基部到主茎最高处。Plant height: height from the base of the plant to the tip of the plant at maturity.	单株有效角果数:单株所有的至少含有 1 粒饱满或半饱种子的角果。Siliques number per plant: number of siliques/plant contained at least one full or half full seed.
茎粗:与株高测量同步进行,用直尺测量主茎的直径。Stem diameter: main stem diameter of each plant measured at maturity at measuring plant height.	单株种子重量:成熟后单株种子的总重量。Seed weight per plant: total seed weight per plant at maturity.
一次分支数:成熟后统计主茎上的分枝数目。The first branch number: the number of branches on the main stem at maturity.	角果长:每株选中下部 20 个角果测量其长度。Siliques length: siliques length at lower part of plant measured at maturity (at least 20 siliques per plant).
地上部单株干生物量:成熟后测定每株的干生物量 ^[35] 。Above-ground dry biomass per plant: weighting above-ground dry biomass per plant at maturity ^[35] .	每角果饱粒数:与角果长测量同步进行,统计 20 个角果内的饱满种子数。Seed number per siliques: number of full seeds in siliques at measuring siliques length.

2 结果与分析

2.1 单种时各回交代与野芥菜的适合度

2.1.1 低密度 各适合度指标的测定结果见表 2。从表 2 中可以看出,BC3mF2 与 BC3pF2 的株高、茎粗、单

株有效角果数分别为 151.00、150.47 cm、1.33、1.32 cm 与 1714.20、1580.33 个,均显著小于野芥菜的 176.33 cm、1.51 cm、2442.97 个。但一次分支数、地上部单株干生物量、种子重量、角果长以及每角果饱粒数均与野芥菜无显著差异。而 BC3mF3 和 BC3pF3 除了茎粗显著小于野芥菜,其余各适合度成分均与野芥菜无显著差异(表 2)。各后代的总适合度为 0.86~1.02,均已达到与野芥菜相当的水平(图 3)。

2.1.2 高密度 各适合度成分的测定结果见表 2。只有 BC3mF3 的株高与野芥菜无显著差异,其余后代株高显著低于野芥菜 12.93~29.27 cm;各后代的茎粗为 1.22~1.36 cm,地上部单株干生物量为 98.00~115.43 g,单株有效角果数为 1129.73~1263.57,均显著小于野芥菜。此外 BC3pF2 的每角果饱粒数为 15.30 粒,显著小于野芥菜的 17.89 粒(表 2)。各后代的总适合度为 0.85~0.89,均与野芥菜无显著差异(图 4)。

低密度条件下,BC3mF2 和 BC3pF2 的株高、单株有效角果数显著低于野芥菜,但其自交后代 BC3F3 的这两个适合度成分提高到与野芥菜相当的水平。高密度下,BC3mF2 和 BC3pF2 的株高、单株有效角果数仍显著低于野芥菜,只有 BC3mF3 的株高与野芥菜相当。但是无论是低密度还是高密度条件下,各后代的总适合度均与野芥菜无显著差异。

表 2 单种时回交 3 代子 1 代及子 2 代(BC3F2、BC3F3)与野芥菜的适合度成分比较

Table 2 Comparison on fitness components between wild *B. juncea* and the first and second progenies of the third backcross generation (BC3F2、BC3F3) in pure plots

种植密度 Densities (plants/plot)	实验材料 Material	株高 Plant height (cm)	茎粗 Stem diameter (cm)	一次分支数 The first branch number	地上部单株 干生物量 Above-ground dry biomass (g/plant)	有效角果数 Silique number /plant	单株种子重量 Total seed weight (g/plant)	角果长 Silique length (cm)	每角果饱粒数 Seed number /silique
15	Wild <i>B. juncea</i>	176.33a	1.51a	15.33a	216.49a	2442.97a	45.99a	3.96a	18.20a
	BC3mF2	151.00b	1.33b	14.73a	175.13a	1714.20b	36.96a	3.94a	17.98a
	BC3pF2	150.47b	1.32b	15.00a	171.63a	1580.33b	37.24a	3.89a	16.81a
	Wild <i>B. juncea</i>	141.53a	1.48a	14.23a	123.48a	1626.77a	31.59a	3.83a	15.88a
	BC3mF3	131.40a	1.38b	15.20a	117.07a	1864.27a	35.58a	4.01a	16.69a
	BC3pF3	131.70a	1.30b	16.00a	126.01a	1730.90a	33.44a	3.73a	16.72a
30	Wild <i>B. juncea</i>	169.63a	1.51a	13.93a	148.04a	1790.67a	37.15a	3.91a	17.89a
	BC3mF2	156.70b	1.22b	13.11a	112.21b	1129.73b	33.24a	4.01a	17.65a
	BC3pF2	150.07b	1.23b	14.33a	115.43b	1207.33b	35.46a	3.79a	15.30b
	Wild <i>B. juncea</i>	167.90a	1.60a	14.50a	141.24a	1649.73a	32.33a	3.89a	16.97a
	BC3mF3	154.60a	1.36b	13.70a	98.50b	1263.57b	29.82a	3.83a	16.16a
	BC3pF3	138.63b	1.22b	13.73a	98.00b	1238.50b	29.63a	3.76a	16.46a

注:同列不同字母表示差异显著($P < 0.05$),下同。

Note: The different letters within the same column denote significant differences at $P < 0.05$, the same below.

2.2 混种时各回交代与野芥菜的适合度

2.2.1 低密度混种条件下 在低密度混种条件下,野芥菜与供试后代生长良好。各适合度成分的测定结果见表 3。在低密度 4:1 混种时,BC3mF2、BC3pF2 与 BC3pF3 的株高为 105.39~132.67 cm,茎粗在 0.87~1.15 cm 之间,都显著小于野芥菜,而 BC3mF3 的株高和茎粗分别为 137.33 cm 和 1.24 cm,与野芥菜无显著差异;BC3pF2 的地上部单株生物量显著小于野芥菜 42.65 g,其余后代的地上部单株生物量为 105.64~134.67 g,与野芥菜无显著差异;BC3F2 与 BC3F3 的一次分支数、单株有效角果数、种子重量、角果长以及每角果饱粒数均与野芥菜无显著差异(表 3)。BC3mF2、BC3pF2 与 BC3pF3 的总适合度为 0.87~0.89,均显著小于野芥菜,只有 BC3mF3 的总适合度为 0.93,与野芥菜无显著差异(图 5)。

低密度 3 : 2 混种时, BC3mF2、BC3pF2 与 BC3pF3 的株高分别比其混种的野芥菜显著低 20.84、25.26 和 36.95 cm, 茎粗分别显著低 0.39、0.42 和 0.35 cm, 只有 BC3mF3 的株高和茎粗均与野芥菜无显著差异; BC3pF2 的地上部单株干生物量为 112.87g, 显著小于野芥菜 46.76 g, 其余后代的地上部单株干生物量与野芥菜无显著差异; BC3F2 与 BC3F3 的一次分支数、单株有效角果数、种子重量、角果长以及每角果饱粒数均与野芥菜无显著差异(表 4)。低密度 3 : 2 混种条件下 BC3mF2、BC3pF2 与 BC3pF3 的总适合度分别为 0.87、0.86、0.87, 都显著小于野芥菜, 只有 BC3mF3 的总适合度为 0.94, 与野芥菜相当(图 6)。

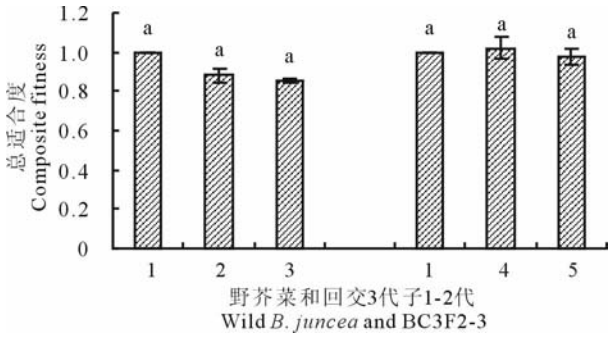


图 3 田间低密度单种下野芥菜和回交 3 代子 1 代及子 2 代的总适合度

Fig. 3 Composite fitness of wild *B. juncea* and the first and second progenies of the third backcross generation in pure 15 plants/plot

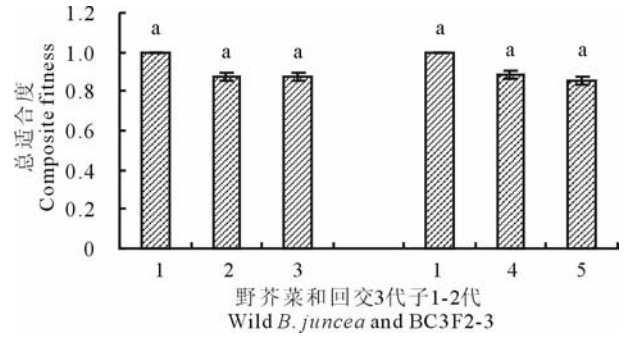


图 4 田间高密度单种下野芥菜和回交 3 代子 1 代及子 2 代的总适合度

Fig. 4 Composite fitness of wild *B. juncea* and the first and second progenies of the third backcross generation in pure 30 plants/plot

1: Wild *B. juncea*; 2: BC3mF2; 3: BC3pF2; 4: BC3mF3; 5: BC3pF3. 不同小写字母表示差异性显著 ($P < 0.05$), 下同。The different letters mean the significant differences at $P < 0.05$, the same below.

表 3 4 : 1 混种时回交 3 代子 1 代及子 2 代 (BC3F2、BC3F3) 与野芥菜适合度成分的比较

Table 3 Comparison on fitness components between *B. juncea* and backcross generation (BC3F2, BC3F3) in mixed 4 : 1 planting proportion

种植密度 Densities (plants/plot)	实验材料 Material	株高 Plant height (cm)	茎粗 Stem diameter (cm)	一次分支数 The first branch number	地上部单株 干生物量 Above-ground dry biomass (g/plant)	有效角果数 Silique number /plant	单株种子重量 Total seed weight (g/plant)	角果长 Silique length (cm)	每角果饱粒数 Seed number /silique
15	Wild <i>B. juncea</i>	151.00a	1.36a	14.23a	154.50a	1880.84a	32.18a	3.81a	16.59a
	BC3mF2	132.67b	0.87b	11.94a	134.67a	1567.49a	27.59a	3.89a	16.90a
	Wild <i>B. juncea</i>	155.46a	1.46a	14.90a	166.66a	1736.33a	34.52a	3.75a	15.38a
	BC3pF2	124.93b	1.15b	13.13a	124.01b	1432.23a	30.98a	3.68a	15.60a
	Wild <i>B. juncea</i>	147.12a	1.44a	14.92a	130.15a	1750.39a	33.01a	3.58a	15.34a
	BC3mF3	137.33a	1.24a	14.56a	105.67a	1422.00a	27.65a	3.80a	16.63a
30	Wild <i>B. juncea</i>	144.81a	1.43a	14.20a	113.90a	1613.87a	30.34a	3.74a	15.75a
	BC3pF3	105.39b	1.02b	13.39a	105.64a	1411.56a	27.94a	3.53a	15.10a
	Wild <i>B. juncea</i>	167.20a	1.53a	11.70a	104.41a	1077.31a	20.03a	3.72a	15.97a
	BC3mF2	137.95b	1.11b	9.74a	70.32b	705.56b	11.98b	3.69a	15.57a
	Wild <i>B. juncea</i>	146.84a	1.41b	11.57a	92.85a	1165.62a	20.01a	3.62a	15.11a
	BC3pF2	120.02b	1.03b	10.46a	57.18b	675.69b	11.19b	3.74a	15.34a
	Wild <i>B. juncea</i>	152.11a	1.41a	12.68a	83.06a	1006.64a	18.06a	3.70a	15.13a
	BC3mF3	116.03b	0.90b	12.87a	40.53b	614.97b	11.21b	3.40a	13.90a
	Wild <i>B. juncea</i>	163.07a	1.48a	12.76a	92.13a	1160.36a	21.45a	3.75a	15.46a
	BC3pF3	124.31b	1.06b	12.78a	49.56b	681.92b	13.27b	3.45a	13.38a

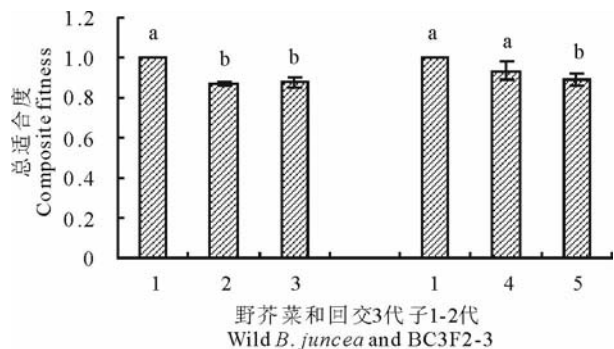


图5 田间低密度 4 : 1 混种下野芥菜和回交 3 代子 1 代及 2 代的总适合度

Fig. 5 Composite fitness of wild *B. juncea* and the first and second progenies of the third backcross generation in mixed 15 plants/plot under 4 : 1 planting proportion

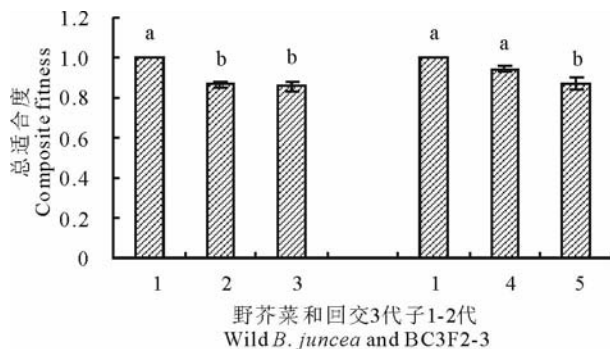


图6 田间低密度 3 : 2 混种下野芥菜和回交 3 代子 1 代及子 2 代的总适合度

Fig. 6 Composite fitness of wild *B. juncea* and the first and second progenies of the third backcross generation in mixed 15 plants/plot under 3 : 2 planting proportion

低密度 1 : 1 混种时,各回交后代的适合度成分均达到了与野芥菜无显著差异。但是 BC3pF2 与 BC3pF3 的总适合度分别为 0.90、0.87,仍显著小于野芥菜,而 BC3mF2 与 BC3mF3 的总适合度分别为 0.95、0.91,与野芥菜无显著差异(图 7)。

2.2.2 高密度混种条件下 4 : 1 混种下,BC3F2 和 BC3F3 的株高在 116.03~137.95 cm 之间,茎粗为 0.90~1.11 cm,地上部单株生物量在 40.53~70.32 g 之间,单株有效角果数在 614.97~705.56 之间,种子重量为 11.19~13.27 g/株,都显著小于野芥菜;而 BC3F2 和 BC3F3 的一次分支数在 9.74~12.87 之间,角果长为 3.40~3.74 cm,每角果饱粒数为 13.38~15.57 粒,均与野芥菜无显著差异(表 3)。最终,BC3F2 和 BC3F3 的总适合度为 0.75~0.79,也都显著小于野芥菜(图 8)。

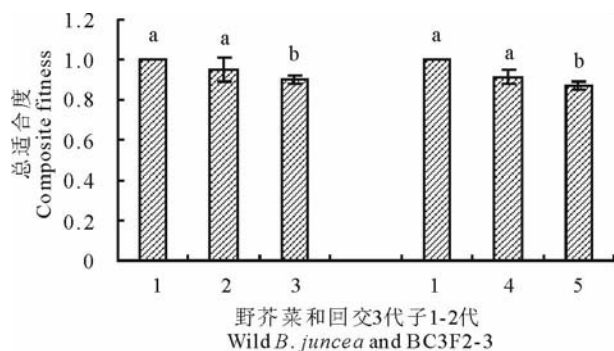


图7 田间低密度 1 : 1 混种下野芥菜和回交 3 代子 1 代及子 2 代的总适合度

Fig. 7 Composite fitness of wild *B. juncea* and the first and second progenies of the third backcross generation in mixed 15 plants/plot under 1 : 1 planting proportion

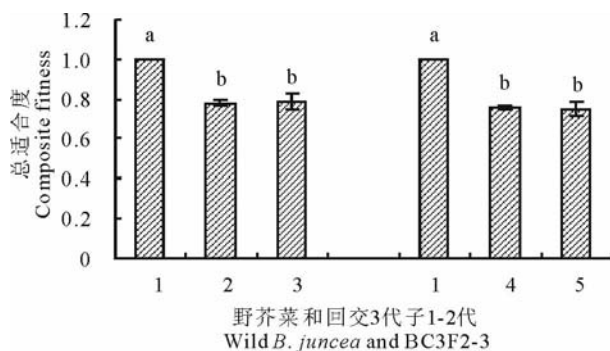


图8 田间高密度 4 : 1 混种下野芥菜和回交 3 代子 1 代及子 2 代的总适合度

Fig. 8 Composite fitness of wild *B. juncea* and the first and second progenies of the third backcross generation in mixed 30 plants/plot under 4 : 1 planting proportion

3 : 2 混种下,BC3F2 和 BC3F3 的株高为 109.58~137.46 cm,茎粗为 0.96~1.18 cm,地上部单株生物量在 48.17~76.08 g 之间,单株有效角果数为 592.20~857.81,种子重量为 10.54~18.07 g,均显著小于野芥菜;而 BC3F2 和 BC3F3 的一次分支数为 9.24~13.60,角果长为 3.44~3.89 cm,每角果饱粒数在 14.32~17.31 粒之间,与野芥菜无显著差异(表 4)。各回交后代的总适合度为 0.76~0.84,也都显著小于野芥菜(图 9)。

表 4 3 : 2 混种时回交后代 (BC3F2、BC3F3) 与野芥菜适合度成分的比较

Table 4 Comparison on fitness components between *B. juncea* and backcross generation (BC3F2, BC3F3) in mixed 3 : 2 planting proportion

种植密度 Densities (plants/plot)	实验材料 Material	株高 Plant height (cm)	茎粗 Stem diameter (cm)	一次分支数 The first branch number	地上部单株 干生物量 Above-ground dry biomass (g/plant)	有效角果数 Siliqua number /plant	单株种子重量 Total seed weight (g/plant)	角果长 Siliqua length (cm)	每角果饱粒数 Seed number /siliqua
15	Wild <i>B. juncea</i>	156.22a	1.26a	14.70a	170.24a	1983.67a	33.70a	3.90a	16.99a
	BC3mF2	135.38b	0.87b	13.89a	129.59a	1588.89a	18.41a	3.89a	17.63a
	Wild <i>B. juncea</i>	157.22a	1.30a	14.11a	159.63a	1847.00a	35.10a	3.87a	17.35a
	BC3pF2	131.96b	0.88b	14.19a	112.87b	1459.22a	26.89a	3.91a	17.90a
	Wild <i>B. juncea</i>	143.92a	1.40a	15.42a	142.49a	1606.79a	30.55a	3.68b	16.65a
	BC3mF3	132.17a	1.23a	15.00a	115.30a	1432.69a	29.35a	3.97a	16.99a
30	Wild <i>B. juncea</i>	153.00a	1.34a	16.30a	141.15a	1653.21a	30.72a	3.74a	16.05a
	BC3pF3	116.05b	0.99b	15.80a	100.86a	1470.72a	28.09a	3.74a	15.86a
	Wild <i>B. juncea</i>	151.86a	1.38a	10.63a	117.19a	1297.97a	24.42a	3.80a	16.65a
	BC3mF2	137.46b	1.11b	9.24a	76.08b	857.81b	18.07b	3.89a	17.31a
	Wild <i>B. juncea</i>	144.54a	1.56a	11.52a	116.17a	1375.39a	25.70a	3.82a	16.18a
	BC3pF2	124.52b	1.00b	9.78a	62.28b	806.72b	14.69b	3.76a	16.34a
	Wild <i>B. juncea</i>	156.95a	1.47a	13.00a	86.53a	1131.02a	21.07a	3.49a	15.18a
	BC3mF3	128.13b	1.18b	12.20a	53.22b	659.64b	12.93b	3.67a	15.41a
	Wild <i>B. juncea</i>	154.92a	1.37a	12.42a	86.59a	950.59a	17.09a	3.55a	15.88a
	BC3pF3	109.58b	0.96b	13.60a	48.17b	592.20b	10.54b	3.44a	14.32a

1 : 1 混种下, BC3F2 和 BC3F3 的株高为 115.73~133.17 cm, 茎粗为 0.98~1.14 cm, 地上部单株生物量为 61.85~78.55 g, 单株有效角果数为 799.09~882.18, 种子重量为 16.36~20.23 g, 均显著小于野芥菜; 而 BC3F2 和 BC3F3 的一次分支数为 11.14~12.84, 角果长为 3.51~3.96 cm, 每角果饱粒数为 13.60~16.41 粒, 与野芥菜无显著差异(表 5)。各回交后代的总适合度为 0.77~0.84, 也都显著小于野芥菜(图 10)。

2.3 各后代适合度成分与密度的相关性分析

BC3F2 和 BC3F3 的地上部单株干生物量、单株有效角果数和种子重量与单种和混种时密度以及混种比例的相关性见表 6。可以看出, 各回交后代在单种和混种时这 3 个适合度成分均与种植密度呈显著负相关关系。说

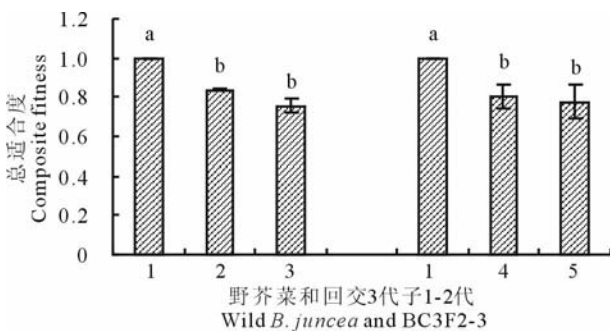


图 9 田间高密度 3 : 2 混种下野芥菜和回交 3 代子 1 代及子 2 代的总适合度

Fig. 9 Composite fitness of wild *B. juncea* and the first and second progenies of the third backcross generation in mixed 30 plants/plot under 3 : 2 planting proportion

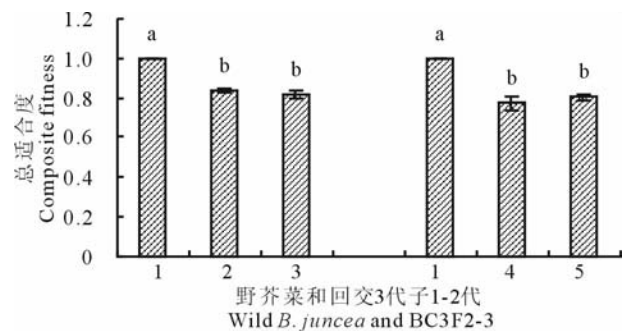


图 10 田间高密度 1 : 1 混种下野芥菜和回交 3 代子 1 代及子 2 代的总适合度

Fig. 10 Composite fitness of wild *B. juncea* and the first and second progenies of the third backcross generation in mixed 30 plants/plot under 1 : 1 planting proportion

表 5 1 : 1 混种时回交后代 (BC3F2、BC3F3) 与野芥菜适合度成分的比较

Table 5 Comparison on fitness components between *B. juncea* and backcross generation (BC3F2, BC3F3) in mixed 1 : 1 planting proportion

种植密度 Densities (plants/plot)	实验材料 Material	株高 Plant height (cm)	茎粗 Stem diameter (cm)	一次分支数 The first branch number	地上部单株 干生物量 Above-ground dry biomass (g/plant)	有效角果数 Silique number /plant	单株种子重量 Total seed weight (g/plant)	角果长 Silique length (cm)	每角果饱粒数 Seed number /silique
15	Wild <i>B. juncea</i>	162.23a	1.60a	15.11a	180.96a	1715.51a	34.75a	3.78a	15.23a
	BC3mF2	150.58a	1.41a	14.49a	156.74a	1500.11a	33.71a	4.12a	15.59a
	Wild <i>B. juncea</i>	159.97a	1.49a	14.53a	185.33a	1625.90a	32.91a	3.82a	15.28a
	BC3pF2	145.03a	1.30a	12.97a	135.19a	1483.22a	28.48a	3.71a	15.46a
	Wild <i>B. juncea</i>	154.59a	1.46a	15.38a	153.44a	1836.16a	34.88a	3.63a	14.91a
	BC3mF3	144.23a	1.29a	14.97a	118.18a	1527.98a	29.37a	3.91a	15.00a
30	Wild <i>B. juncea</i>	157.26a	1.42a	15.61a	157.75a	1834.08a	34.11a	3.79a	16.11a
	BC3pF3	139.63a	1.38a	14.71a	115.97a	1371.41a	24.39a	3.73a	15.35a
	Wild <i>B. juncea</i>	155.82a	1.50a	12.17a	111.37a	1262.39a	28.10a	3.74a	14.95a
	BC3mF2	129.68b	1.02b	12.14a	71.48b	799.09b	20.23b	3.96a	16.41a
	Wild <i>B. juncea</i>	162.11a	1.40a	11.18a	111.25a	1216.50a	27.57a	3.82a	15.56a
	BC3pF2	133.17b	0.98b	11.14a	78.55b	831.45b	17.12b	3.72a	15.71a
	Wild <i>B. juncea</i>	151.24a	1.42a	13.64a	104.20a	1258.11a	24.85a	3.64a	15.90a
	BC3mF3	115.73b	0.98b	11.86a	61.85b	882.18b	17.61b	3.51a	13.60a
	Wild <i>B. juncea</i>	151.76a	1.45a	13.95a	97.64a	1272.37a	23.58a	3.73a	15.27a
	BC3pF3	126.99b	1.14b	12.84a	63.28b	831.17b	16.36b	3.59a	13.85a

表 6 BC3F2、BC3F3 的地上部单株干生物量、单株有效角果数和种子重量与单种和混种时密度的相关性以及混种比例的相关性分析

Table 6 Correlation analysis between above-ground dry biomass/plant, silique number/plant and seed weight of backcross generation BC3F2, BC3F3 and the density in pure and mixed plot and the ratio in mixed plot

回交后代 Offspring of backcross generation	适合度成分 Variable of fitness	单种下密度的 Pearson 混种下密度的 Pearson		不同密度下比例的 Pearson	
		相关性值 Pearson	相关性值 Pearson	相关性值 Pearson correlation	
		in pure plot	in mixed plot	15 plants/plot	30 plants/plot
BC3mF2	地上部单株干生物量 Above-ground dry biomass/plant	-0.902*	-0.931**	0.508	0.075
	单株有效角果数 Silique number/plant	-0.845*	-0.911**	-0.135	0.282
	种子重量 Total seed weight/plant	-0.882*	-0.816**	0.491	0.807**
BC3pF2	地上部单株干生物量 Above-ground dry biomass/plant	-0.856*	-0.929**	0.403	0.739*
	单株有效角果数 Silique number/plant	-0.980**	-0.945**	0.139	0.822**
	种子重量 Total seed weight/plant	-0.944**	-0.908**	-0.340	0.669*
BC3mF3	地上部单株干生物量 Above-ground dry biomass/plant	-0.831*	-0.912**	0.359	0.425
	单株有效角果数 Silique number/plant	-0.878*	-0.932**	0.307	0.588
	种子重量 Total seed weight/plant	-0.816*	-0.940**	0.306	0.627
BC3pF3	地上部单株干生物量 Above-ground dry biomass/plant	-0.846*	-0.932**	0.392	0.847**
	单株有效角果数 Silique number/plant	-0.864*	-0.919**	-0.094	0.657
	种子重量 Total seed weight/plant	-0.834*	-0.931**	-0.565	0.723*

* 表示显著性在 0.05 水平, ** 表示显著性在 0.01 水平。

* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed); ** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

明随着密度的增大,各后代的地上部单株干生物量、单株有效角果数和种子重量都呈下降的趋势。与比例的相关性中,低密度种植条件下,各回交后代的地上部单株干生物量、单株有效角果数和种子重量与混种比例无显著相关关系;高密度种植条件下,BC3mF2 的种子重量,BC3pF2 的地上部单株干生物量、单株有效角果数和种子重量以及 BC3pF3 的地上部单株干生物量和种子重量与混种比例呈显著正相关关系,而 BC3mF3 的各适合度成分都与混种比例不相关,这说明了 BC3mF3 具有较强的生存竞争能力。

3 讨论

适合度是衡量个体或种群在不同生境下的适应程度或者是个体对群体基因库的相对贡献程度,即特定基因型个体在同种生物群体中生存和繁殖后代的能力^[14,38]。转基因作物的抗性基因能否逃逸到野生近缘种中很大程度取决于杂交 1 代和随后后代的适合度^[18,39-41]。本试验在田间条件下评估了抗草丁膦转基因油菜与野芥菜的回交 3 代子 1 代及子 2 代的适合度,结果表明,在单种条件下,无论是低密度还是高密度,正反回交 3 代子 1 代和子 2 代都有和野芥菜相似的适合度,这就意味着携带抗性基因的回交 3 代子在田间环境下具有较强的生存能力,因此抗草丁膦转基因油菜向野芥菜的基因逃逸风险不可忽视。

后代的结实能力是评价其适合度的重要指标之一,且受亲本亲缘关系的影响^[12,17]。亲本基因组的同源性越高,杂交或回交后代的结实能力就越强。转基因作物和近缘种的杂交 1 代的染色体组来源于母本和父本,如果亲本的染色体组不同,杂种染色体在减数分裂中不能进行正常配对和分离,导致杂交 1 代的育性降低甚至高度不育。转基因油菜($2n=38$, AACC)和近缘杂草野芥菜($2n=36$, AABB)有一个共同的 AA 基因组,因此 F_1 的染色体组成应该是 AABC, $2n=37$, F_1 几乎不结实^[10]。尽管如此,但 F_1 和野芥菜有回交的可能性,并产生携带抗性基因的回交后代^[9,27,35],因此评价携带抗性基因回交后代的结实能力对正确评估转基因油菜的抗性基因向野芥菜的逃逸可能引起的生态风险有重要意义。

转基因油菜与近缘种的杂交后代可以不断自交或与野生近缘种回交,使得携带抗性基因后代的染色体会越来越接近野生种甚至与野生近缘种相同,因此后代的结实能力也会不断提高。这在转基因油菜与芜菁(*B. rapa*)的回交后代中^[42]以及转基因油菜与野萝卜(*Raphanus raphanistrum*)的杂交和回交后代中得到证实^[12,16-17]。理论上讲转基因油菜和野芥菜的回交后代的染色体数量应该是变化的,且变化范围介于 $20(2A)+8(B)+0-8(B)+0-9(C)$ 之间。C 染色体由于在减数分裂过程中没有同源染色体配对而随着代数的增加逐渐丢失^[43],因此随着回交或自交代数的增加,后代染色体趋于稳定。因此理论上讲,相同条件下,相比回交 3 代子 1 代,回交 3 代子 2 代应具有相似或更高的适合度。本研究单种下的试验结果也证实这一推论。从单个适合度成分来看,在低密度下,正反回交 3 代子 1 代的株高、茎粗和单株有效角果数都显著低于野芥菜,而正反回交 3 代子 2 代的适合度成分部分和野芥菜相当。在高密度下,正反回交 3 代子 1 代的株高、地上部干生物量和单株有效角果数以及反向回交 3 代子 1 代的每角饱粒数都显著低于野芥菜,而正向回交 3 代子 2 代的株高以及反向回交 3 代子 2 代的每角果饱粒数和野芥菜相当,这说明随着自交代数的增加,后代的适合度也呈提高的趋势,且正向回交 3 代子 2 代具有更高的适合度。因此在防范转基因油菜抗性基因逃逸的策略上在防范初始杂交发生的同时,也应该防范回交后代的产生。

植物竞争是植物间对限制性资源(肥、水、光、空间等)需求的一种相互关系,只要植物共享某种资源就会存在竞争^[44]。许多研究表明竞争是影响后代适合度的主要因子之一。Halfhill 等^[45]发现无竞争条件下,转基因油菜与芜菁的回交后代的干生物量显著大于亲本转基因油菜,但种间竞争条件下,回交后代的单株干生物量明显低于亲本转基因油菜。在与小麦竞争的情况下,栽培向日葵(*Helianthus annuus*)与野生向日葵的杂交 1 代及野生向日葵的结实能力均明显下降^[22]。在无竞争的情况下,野萝卜的结实能力明显大于栽培萝卜(*R. sativus*)和野萝卜的杂交后代,但在竞争条件下,野萝卜的结实能力显著下降,从而缩小了杂交后代与野萝卜在生殖适合度上的差异^[21]。在竞争环境条件下,野萝卜和栽培萝卜的杂交后代能产生更多的种子,提高了杂种定植成功的可能性^[23]。因此在田间条件下,研究携带抗性基因的回交后代在竞争条件下的适合度对深入了解转基因油菜向野芥菜的渗入有重要参考价值。

种植密度对物种的竞争能力有显著影响。高密度下的个体间在光照、养分和生长空间方面竞争激烈,单株占有空间少,获得的光照、养分也相对少,这就阻碍了其高度、叶面积和生物量等的增长^[46]。张岚^[47]对高羊茅(*Festuca arundinacea*)、黑麦草(*Lolium perenne*)、早熟禾(*Poa annua*)单种与混种的初期竞争动态的研究发现,各物种的鲜生物量的增速随群落密度的增大而降低。张宏彬等^[48]对含有转基因和不含转基因的转 *Bt* 基因栽培稻和杂草稻的 F₂ 群体进行了田间混种试验,发现高密度下混种的群体适合度小于低密度混种下的适合度。除种植密度,混种比例对后代植物的竞争能力也有显著影响。一般在混合种植时,数量上占优势的植株能产生更多的种子,表现出更优异的生存竞争能力。这在黑麦草(*Lolium multiflorum*)和箭筈豌豆(*Vicia sativa*)^[49]以及小黑麦在不同混种比例下的竞争能力中得到证实^[50]。在转基因油菜与野生近缘种后代的适合度研究中也有类似的研究结果。Johannessen 等^[51]在以油菜作为母本和芜菁为父本的基因漂移研究中证实高密度能降低油菜的营养生长能力,且油菜比例增加能提高其生物量。

本试验在田间条件下研究了抗草丁膦转基因油菜与野芥菜的回交 3 代子 1 代、子 2 代和野芥菜在低、高两种密度下混种(4 : 1、3 : 2、1 : 1 比例)时的适合度。试验结果表明,在低密度 4 : 1 和 3 : 2 条件下,正反回交 3 代子 1 代以及反向回交 3 代子 2 代的适合度都显著低于野芥菜,只有正向回交 3 代子 2 代的适合度与野芥菜相似,在 1 : 1 条件下,正向回交 3 代子 1 代和子 2 代的适合度与野芥菜相当;在高密度下,正反回交 3 代子 1 代和子 2 代的适合度都显著低于野芥菜。各后代的地上部单株干生物量、单株有效角果数以及种子重量与种植密度、比例的相关性分析也显示这些适合度成分与密度呈显著负相关,且高密度下与混种比例呈正相关。

竞争条件下即混种与无竞争条件即单种的结果明显不同,竞争导致转基因油菜与野芥菜的回交 3 代子 1 代和子 2 代适合度降低。因此在田间或野外环境存在竞争的情况下,携带抗性基因的回交 3 代子 1 代和子 2 代的生存竞争能力较野芥菜弱。尽管如此,在本试验条件下,供试的回交后代都能正常生长,完成开花结实,平均最低也能产生约 800 个有效角果,且每角饱粒数最低也在 14 粒,单株能形成 11200 粒种子。因此即使在竞争条件下后代的适合度有所降低,还是可能给杂草防除带来威胁。

选择压对后代适合度也有显著影响。Londo 等^[52]报道路边喷施草甘膦的雾滴漂移也能导致携带抗性基因的抗草甘膦油菜和芜菁回交后代适合度的提高。农田除草剂的喷施对转基因作物—杂草的杂交后代提供了选择压,转基因使抗性后代表现出选择优势,从而提高了后代的适合度,这可能会增加后代的杂草性。Londo 等^[53]的研究发现,当没有虫压和除草剂选择压时,抗虫和抗草甘膦转基因油菜的生物量、种子产量、相对繁殖力均比非转基因油菜低;而当存在虫压和除草剂选择压时,抗虫和抗草甘膦转基因油菜的种子产量有所提高,适合度也有所提高。因此,本试验有待进一步研究除草剂选择压特别是不同草丁膦选择压对抗性后代适合度的影响。

本试验设计的田间条件下,在有竞争的条件下,供试回交后代的生存适合度大多数情况下都没有野芥菜高,但是在农田生态系统的转基因油菜田中,在人工喷施除草剂后,没有抗性基因的野芥菜或回交后代会死亡,而携带抗性基因的后代则会存活下来,因此在田间实际环境条件下可能引起的生态风险不容忽视。

4 结论

本试验中,单种条件下,在低密度(15 株/区)时,抗草丁膦转基因油菜与野芥菜的正反回交 3 代子 1-2 代的总适合度与野芥菜相当;混种条件下,在低密度(15 株/区)各混种比例下,正向回交 3 代子 2 代的总适合度与野芥菜相当。因此,务必防范转基因油菜的抗性基因向野芥菜的漂移。防范转基因油菜基因逃逸时首先要加强转基因油菜的进出口及加工过程中的运输管理,防治油菜种子逃逸;其次,隔离种植转基因油菜,周围设置隔离带,外围种植其他作物,避免通过花粉介导的基因漂移;再次,播种和收获过程中要彻底清洗各种机械和工具,且在种子自然脱落前进行收获,避免转基因种子遗落在田间。此外,若转基因油菜或者与野芥菜的回交后代种子散落在田间,由于自身的休眠特性,会保留在田间种子库中,可翻耕农田且适时休耕,待种子库中回交后代种子及转基因油菜种子产生自生苗后进行防除。一旦发现回交后代自生苗时应立即进行防除,防止回交后代与野芥菜的再次回交;同时应轮换施用不同作用靶标的除草剂,防止抗药性杂草的产生,以保证防除效果。

参考文献 References:

- [1] International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA). Global status of commercialized biotech/GM crops: 2015. China Biotechnology, 2016, 36(4): 1-11.
国际农业生物技术应用服务组织. 2015 年全球生物技术/转基因作物商业化发展态势. 中国生物工程杂志, 2016, 36(4): 1-11.
- [2] Stewart C N Jr, Halfhill M D, Warwick S I. Transgene introgression from genetically modified crops to their wild relatives. Nature Reviews Genetics, 2003, 4(4): 806-817.
- [3] Lu B R, Fu Q, Shen Z C. Commercialization of transgenic rice in China: potential environmental biosafety issues. Biodiversity Science, 2008, 16(5): 426-436.
卢宝荣, 傅强, 沈志成. 我国转基因水稻商品化应用的潜在环境生物安全问题. 生物多样性, 2008, 16(5): 426-436.
- [4] Cao D, Stewart C N, Zheng M, et al. Stable *Bacillus thuringiensis* transgene introgression from *Brassica napus* to wild mustard *B. juncea*. Plant Science, 2014, 227: 45-50.
- [5] Chen C Y, Luo Y L, Li X. Research situation and development countermeasure of transgenic rapeseed in China. Hubei Agricultural Sciences, 2013, 52(16): 3762-3766.
陈春燕, 罗颖玲, 李晓. 中国转基因油菜研究现状及发展对策. 湖北农业科学, 2013, 52(16): 3762-3766.
- [6] Yoshimura Y, Beckie H J, Matsuo K. Transgenic oilseed rape along transportation routes and port of Vancouver in western Canada. Environmental Biosafety Research, 2006, 5(2): 67-75.
- [7] Kawata M, Murakami K, Ishikawa T. Dispersal and persistence of genetically modified oilseed rape around Japanese harbors. Environmental Science and Pollution Research, 2009, 16(2): 120-126.
- [8] Aono M, Wakiyama S, Nagatsu M, et al. Seeds of a possible natural hybrid between herbicide-resistant *Brassica napus* and *Brassica rapa* detected on a riverbank in Japan. GM Crops, 2011, 2(3): 201-210.
- [9] Tsuda M, Okuzaki A, Kaneko Y, et al. Persistent C genome chromosome regions identified by SSR analysis in backcross progenies between *Brassica juncea* and *B. napus*. Breeding Science, 2012, 62(4): 328-333.
- [10] Song X L, Huangfu C H, Qiang S. Gene flow from transgenic glufosinate- or glyphosate-tolerant oilseed rape to wild rape. Journal of Plant Ecology (Chinese Version), 2007, 31(4): 729-737.
宋小玲, 皇甫超河, 强胜. 抗草丁膦和抗草甘膦转基因油菜的抗性基因向野芥菜的流动. 植物生态学报, 2007, 31(4): 729-737.
- [11] Richardg F J, Tristant A, Lindae N L, et al. Hybridisation within *Brassica* and allied genera: evaluation of potential for transgene escape. Euphytica, 2007, 158(1): 209-230.
- [12] Chèvre A M, Adamczyk K, Eber F, et al. Modelling gene flow between oilseed rape and wild radish. Evolution of chromosome structure. Theoretical and Applied Genetics, 2007, 114: 209-221.
- [13] Devos Y, De Schrijver A, Reheul D. Quantifying the introgressive hybridisation propensity between transgenic oilseed rape and its wild/weedy relatives. Environmental Monitoring and Assessment, 2009, 149(1/2/3/4): 303-322.
- [14] Jenczewski E, Ronfort J, Chèvre A M. Crop-to-wild gene flow, introgression and possible fitness effects of transgenes. Environmental Biosafety Research, 2003, 2: 9-24.
- [15] Darmency H, Fleury A. Mating system in *Hirschfeldia incana* and hybridization to oilseed rape. Weed Research-Oxford, 2000, 40(2): 231-238.
- [16] Chèvre A M, Eber F, Baranger A, et al. Gene flow from transgenic crops. Nature, 1997, 389: 924.
- [17] Chèvre 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. Theoretical and Applied Genetics, 1998, 97(1/2): 90-98.
- [18] Guertaine G, Sester M, Eber F, et al. Fitness of backcross six of hybrids between transgenic oilseed rape (*Brassica napus*) and wild radish (*Raphanus raphanistrum*). Molecular Ecology, 2002, 11(8): 1419-1426.
- [19] Zheng A Q, Qiang S, Song X L. Fitness of backcross between F₁ (wild *B. juncea* × herbicide-resistant transgenic oilseed rape) and 5 conventional cultivate varieties. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2014, 20(3): 337-344.
郑爱琴, 强胜, 宋小玲. 抗除草剂转基因油菜与野芥菜的杂交 1 代与 5 种常规栽培油菜回交后代的适合度. 应用与环境生物学报, 2014, 20(3): 337-344.
- [20] Hauser T P, Damgaard C, Jørgensen R B. Frequency-dependent fitness of hybrids between oilseed rape (*Brassica napus*) and weedy *B. rapa* (Brassicaceae). American Journal of Botany, 2003, 90(4): 571-578.
- [21] Campbell L G, Snow A A. Competition alters life history and increases the relative fecundity of crop-wild radish hybrids (*Raphanus* spp.). New Phytologist, 2007, 173(3): 648-660.
- [22] Mercer K L, Andow D A, Wyse D L, et al. Stress and domestication traits increase the relative fitness of crop-wild hybrids

- in sunflower. *Ecology Letters*, 2007, (10): 383-393.
- [23] Hovick S M, Campbell L G, Snow A A, *et al.* Hybridization alters early life-history traits and increases plant colonization success in a novel region. *The American Naturalist*, 2012, 179(2): 192-203.
- [24] Huangfu C H, Song X L, Qiang S. ISSR variation within and among natural *Brassica juncea* populations, implication for herbicide resistance evolution. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2009, 56(7): 913-924.
- [25] Jørgensen R B, Andersen B, Hauser T P, *et al.* Introgression of crop genes from oilseed rape (*Brassica napus*) to related wild species—an avenue for the escape of engineered genes. *Acta Horticulturae*, 1998, 459: 211-217.
- [26] Pu H M, Qi C K, Zhang J F, *et al.* Studies on the gene flow from herbicide-tolerant GM rapeseed to its close relative crops. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(3): 581-588.
浦惠明, 戚存扣, 张洁夫, 等. 转基因抗除草剂油菜对近缘作物的基因漂移. *生态学报*, 2005, 25(3): 581-588.
- [27] Song X L, Wang Z, Zuo J, *et al.* Potential gene flow of two herbicide-tolerant transgenes from oilseed rape to wild *B. juncea* var. *gracilis*. *Theoretical and Applied Genetics*, 2010, 120(8): 1501-1510.
- [28] Cudney D W, Jordan L S, Hall A E. Effect of wild oat (*Avena fatua*) infestations on light interception and growth rate of wheat (*Triticum aestivum*). *Weed Science*, 1991, 39(2): 175-179.
- [29] Leng S H, Shan Y H, Zhu G R, *et al.* Study on axillary bud differentiation and primary branch formation of rape. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 1996, (2): 20-23.
冷锁虎, 单玉华, 朱耕如, 等. 油菜的腋芽分化与分枝形成. *中国油料作物学报*, 1996, (2): 20-23.
- [30] Hu H W. The relation of 12 kinds of main traits and yield of *Brassica napus*. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 1997, (3): 10-11.
胡虹文. 甘蓝型油菜 12 种主要性状与产量的关系. *中国油料作物学报*, 1997, (3): 10-11.
- [31] Honek A, Martinkova Z. Body size and the colonisation of cereal crops by the invasive slug *Arion lusitanicus*. *Annals of Applied Biology*, 2015, 158(1): 79-86.
- [32] Gao B J, Li P, Jiang H. A number of *Brassica napus* were used relationship analysis of yield and agronomic traits. *Journal of Biomathematics*, 2007, 22(1): 137-144.
高必军, 李平, 江洪. 甘蓝型油菜若干农艺性状与单株产量的关系分析. *生物数学学报*, 2007, 22(1): 137-144.
- [33] Daci Z G, Wang J L, Ciren Y J, *et al.* Canonical correlation analysis of agronomic characters of *Brassica juncea* in western China. *Agricultural Science & Technology-Hunan*, 2011, (11): 1600-1604, 1666.
- [34] Lü Z W, Xu P, Zhang X X, *et al.* Primary study on anatomic and genetic characteristics of multi-loculus in *Brassica juncea*. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2012, 34(5): 461-466.
吕泽文, 徐平, 张向向, 等. 芥菜型油菜多室角果的解剖特征及遗传分析. *中国油料作物学报*, 2012, 34(5): 461-466.
- [35] Liu Y B, Wei W, Ma K P, *et al.* Backcrosses to *Brassica napus* of hybrids between *B. juncea* and *B. napus* as a source of herbicide-resistant volunteer-like feral populations. *Plant Science*, 2010, 179(5): 459-465.
- [36] 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 Phytologist*, 2003, 157: 657-665.
- [37] Johnston J A, Arnold M L, Donovan L A. High hybrid fitness at seed and seedling life history stages in *Louisiana irises*. *Journal of Ecology*, 2003, 91(3): 438-446.
- [38] Warwick S I, Beckie H J, Hall L M. Gene flow, invasiveness, and ecological impact of genetically modified crops. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2009, 1168(1): 72-99.
- [39] Hauser T P, Shaw R G. Fitness of F₁ hybrids between weedy *Brassica rapa* and oilseed rape (*B. napus*). *Heredity*, 1998, 81(4): 429-435.
- [40] Hauser T P, Jørgensen R B. Fitness of backcross and F₂ hybrids between weedy *Brassica rapa* and oilseed rape (*B. napus*). *Heredity*, 1998, 81(4): 436-443.
- [41] Lu B R, Snow A A. Gene flow from genetically modified rice and its environmental consequences. *BioScience*, 2005, 55: 669-678.
- [42] Snow A A, Andersen B, Jørgensen R B. Costs of transgenic herbicide resistance introgressed from *Brassica napus* into weedy *B. rapa*. *Molecular Ecology*, 1999, 8(4): 605-615.
- [43] Mikkelsen T R, Jensen J, Jørgensen R B. Inheritance of oilseed rape (*Brassica napus*) RAPD makers in a backcross progeny with *Brassica campestris*. *Theoretical and Applied Genetics*, 1996, 92: 492-497.
- [44] Xue L, Fu J D. A review on factors affecting plant competition. *Journal of Central South University of Forestry & Technology*, 2012, 32(2): 6-15.
薛立, 傅静丹. 影响植物竞争的因子. *中南林业科技大学学报*, 2012, 32(2): 6-15.
- [45] Halfhill M D, Sutherland J P, Moon H S, *et al.* Growth, productivity, and competitiveness of introgressed weedy *Brassica*

- rapa* hybrids selected for the presence of *Bt cry1Ac* and *gfp* transgenes. *Molecular Ecology*, 2005, 14(10): 3177-3189.
- [46] Jiang J H, Zhou C F, An S Q, *et al.* Sediment type, population density and their combined effect greatly charge the short-time growth of two common submerged macrophytes. *Ecological Engineering*, 2008, 34(2): 79-90.
- [47] Zhang L. Early Competition Dynamic Research In Pure And Mixed Communities of *Festuca arundinacea* Sherb., *Lolium perenne* L. and *Poa pratensis* L. Ya'an; Sichuan Agricultural University, 2007.
张岚. 高羊茅、黑麦草、早熟禾单种与混种的初期竞争动态研究. 雅安: 四川农业大学, 2007.
- [48] Zhang H B, Xia H, Yang X, *et al.* Fitness effect on insect-resistant F₂ progeny of crop-weedy rice hybrids under different cultivation modes. *Journal of Fudan University (Natural Science)*, 2013, (4): 419-427.
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, (4): 419-427.
- [49] Mao K, Zhou S R, Wang S M, *et al.* Study on the dynamics of biomass and interspecific competition of mixture communities of common vetch with Italian ryegrass. *Acta Agrestia Sinica*, 1997, 5(1): 8-10.
毛凯, 周寿荣, 王四敏, 等. 箭舌豌豆混播黑麦草生物量和种间竞争的研究. *草地学报*, 1997, 5(1): 8-10.
- [50] Shi P C, Shi G L, Chen Y N, *et al.* Influence of density rations in mixed planting on competitive indexes of triticale cultivar. *Journal of Shihezi University (Natural Science)*, 2011, 29(3): 265-268.
石培春, 石国亮, 陈亚南, 等. 混种密度比例对小黑麦品种竞争系数的影响. *石河子大学学报(自然科学版)*, 2011, 29(3): 265-268.
- [51] Johannessen M M, Andersen B A, Jørgensen R B. Competition affects gene flow from oilseed rape (♀) to *Brassica rapa* (♂). *Heredity*, 2006, 96(5): 360-367.
- [52] Londo J P, Bautista N S, Sagers C L, *et al.* Glyphosate drift promotes changes in fitness and transgene gene flow in canola (*Brassica napus*) and hybrids. *Annals of Botany*, 2010, 106(6): 957-965.
- [53] Londo J P, Bollman M A, Sagers C L, *et al.* Changes in fitness-associated traits due to the stacking of transgenic glyphosate resistance and insect resistance in *Brassica napus* L. *Heredity*, 2011, 107(4): 328-337.