

# 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\*

郑爱琴 强胜 宋小玲\*\*

南京农业大学杂草研究室 南京 210095

**摘要** 抗除草剂转基因油菜 (*Brassica napus*) 的抗性基因具有向野芥菜 (Wild *B. juncea*) 漂移的可能性, 为了解野芥菜接受抗性油菜的花粉形成携带抗性基因的F1后, 再接受常规栽培油菜的花粉可能产生的影响, 以2种F1 (野芥菜为母本、抗草甘膦和抗草丁膦转基因油菜分别为父本获得) 为母本, 5种常规栽培油菜 (*B. napus*) 为父本进行回交, 统计了回交后每角果的饱满种子粒数和角果长, 测定了回交1代 (BC1)、回交1代子1代 (BC1F1) 的萌发率以及抗性基因在后代中的传递频率, 并在温室条件下测定了携带抗性基因的BC1以及BC1F1的适合度. 结果显示, 2种F1和5种常规栽培油菜回交后每角饱满粒数都很少, 平均都不超过1粒; BC1以及BC1F1代间出苗率没有显著差异, 但都显著低于亲本野芥菜. 两种抗性基因在BC1以及BC1F1中都能以49%-62%和52%-64%的频率传递下去. 温室条件下各BC1的总适合度没有显著差异, 但都显著低于野芥菜, 主要原因是各BC1的有效角果数少和每角饱满粒数显著少于野芥菜. 从BC1F1的总适合度来看, 携带不同抗性基因的F1和同种常规油菜的BC1F1的总适合度没有明显差异, 各BC1F1的总适合度和野芥菜也没有显著差异, 但繁殖能力还是显著低于亲本野芥菜. 相比BC1, 其自交产生的BC1F1的繁殖能力有所提高, 主要表现在有效角果数和每角饱满种子粒数有较为明显的增加. 研究表明转基因油菜的抗性基因通过花粉漂移到野芥菜产生F1后, 携带了抗性基因的F1在有大量常规栽培油菜的环境下, 存在和常规油菜通过回交产生携带抗性基因的种子可能性, 尽管BC1以及BC1F1的繁殖能力弱, 但都能产生后代; 常规栽培油菜的基因型对携带抗性基因的F1接受常规栽培油菜的花粉后可能产生的生态风险有一定影响. 总之, 野芥菜接受转基因油菜的花粉产生F1后又接受常规油菜的花粉而造成的抗性基因逃逸风险较小, 但值得关注. 图1 表6 参38

**关键词** 抗除草剂转基因油菜; 基因漂移; 野芥菜; 常规栽培油菜; 回交后代; 适合度

CLC Q788

## Fitness of backcross between F1 (wild *B. juncea* × herbicide-resistant transgenic oilseed rape) and 5 conventional cultivate varieties\*

ZHENG Aiqin, QIANG Sheng & SONG Xiaoling\*\*

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

**Abstract** The spontaneous hybridization of transgenic herbicide-resistant oilseed rape (*Brassica napus*) with wild *B. juncea* has been reported. But the potential impact produced by F1 receiving pollen from conventional cultivated oilseed rape is unclear. The first backcross with F1 (wild *B. juncea* as maternal parent and glyphosate-resistant or glufosinate-resistant transgenic oilseed rape as paternal parent) used as maternal parent and 5 conventional cultivated oilseed rape (*B. napus*) varieties as paternal parents was conducted by hand pollination. The silique length and seed number per silique were measured after backcross. The transgene transmitted frequencies were tested by bioassay and PCR. The fitness of the first backcross generation (BC1) and the first progeny of the first backcross generation (BC1F1) were measured in greenhouse. The results showed that all the first backcross produced less than 1 seed per silique. There was no difference in germination percentages of different BC1 and BC1F1, which were all significantly lower than that of wild *B. juncea*. The herbicide-resistant transgene was maintained in BC1 and BC1F1 at 49-62% and 52-64% ratios. The composite fitness of different BC1 with herbicide-resistant gene was similar; however the fecundity of all BC1 was low, with fewer siliques per plant and fewer seeds per silique. The composite fitness of BC1F1 was similar with wild *B. juncea*; however the fecundity of all BC1F1 was lower than that of wild

收稿日期 Received: 2013-11-01 接受日期 Accepted: 2014-01-06

\*国家自然科学基金项目 (31270579) 和转基因生物新品种培育重大专项 (2014ZX08011) 资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (31270579), and the Transgenic Organism Research and Commercialization Project by Ministry of Agriculture of China (2014ZX08011)

\*\*通讯作者 Corresponding author (E-mail: sxl@njau.edu.cn)

*B. juncea*. Compared with BC1, BC1F1 produced more siliques and seeds per silique. The results demonstrated that F1 with herbicide-resistant gene could backcross with conventional cultivated oilseed rape and produce BC1 and BC1F1 with herbicide-resistant gene. The genotype of conventional cultivated oilseed rape affected the potential impact produced by backcross between F1 and conventional cultivated oilseed rape. Such ecological influence should not be ignored.

**Keywords** herbicide-resistant transgenic oilseed rape; gene flow; wild *Brassica juncea*; cultivated conventional oilseed rape; backcross; fitness

甘蓝型油菜 (*Brassica napus*) 是转基因研究最为活跃的作物之一,也是商业化的转基因作物中最主要的一种。由于油菜是常异花授粉植物,其花粉可通过风媒或虫媒进行远距离传播,且花粉活力保持时间也较长,同时在自然环境中存在许多芸薹属的野生近缘种,因此转基因油菜的基因漂移问题备受人们的关注。已经有许多关于转基因油菜的抗性基因向芥菜 (*B. juncea*)<sup>[1]</sup>以及近缘杂草芜菁 (*B. rapa*)<sup>[2-3]</sup>、野芥菜 (*B. juncea* var. *gracilis*)<sup>[4-5]</sup>和野萝卜 (*Raphanus raphanistrum*)<sup>[6-8]</sup>等漂移的研究报道。

我国目前还没有转基因油菜的商业化种植,但每年进口大量的转基因抗除草剂油菜籽用于食用油加工,这些转基因油菜种子在运输的过程中很可能洒落而发生逃逸。油菜种子的颗粒很小,千粒重只有3-5 g,且呈圆形,极易四处滚落。种子在运输的过程中,往往会滚落在路边,遇上适宜条件就能萌发。目前已有多个转基因油菜种子在运输中发生逃逸的报道<sup>[9-12]</sup>。在我国,与甘蓝型油菜亲缘关系较近的野生杂草中最值得关注的是野芥菜。野芥菜是芥菜型栽培油菜自逸的产物,上世纪80年代至今在西北地区严重危害小麦、青稞、油菜等作物。近20年来已扩散到长江流域广大地区并成为广泛分布于农田和荒地的重要杂草<sup>[13-14]</sup>。除我国,该野生种还在亚洲的其它国家、北美以及欧洲的部分国家广泛分布<sup>[12, 15-16]</sup>。

国外已有报道表明甘蓝型常规油菜或转基因油菜能和 *B. juncea* 在田间发生杂交<sup>[1, 17-19]</sup>。在我国田间情况下,抗除草剂转基因油菜的抗性基因能漂移到野芥菜中产生F1<sup>[5-6]</sup>。且在人工授粉的情况下,以野芥菜为母本,分别以2种抗除草剂转基因油菜 (*B. napus*) 为父本,亲和性指数都很高,达13以上,与野芥菜自交或开放授粉条件下的亲和性指数没有明显差异,且F1都携带了相应的抗性基因。说明转基因油菜和野芥菜的亲和性较好,且抗性基因能传递到F1<sup>[5]</sup>。尽管F1自交几乎不结实,但F1能和亲本回交,增加了基因漂移的风险<sup>[20]</sup>。Liu等(2010)报道抗绿磺隆的突变油菜和来自土耳其的野芥菜 (Wild *B. juncea*) 的F1接受常规油菜的花粉后能产生BC1,在法国田间种植的情况下BC1的单株重量较亲本油菜重,单株种子的重量和数量以及种子的萌发率都没有油菜的高<sup>[21]</sup>。但其并没有对回交1代自交产生的子代继续观察。在我国,由于野芥菜除发生在农田外,还常发生在路边、荒地、河沟、水渠边以及房屋宅院周围,假如转基因油菜在运输、加工过程中逃逸的种子产生了自生苗,这些自生苗有可能作为花粉供体和周围的野芥菜发生杂交产生F1, F1的种子就有可能通过各种途径传播到常规油菜田附近,那么这些携带了抗性基因的F1在有大量常规油菜的环境下,能否和常规油菜通过回交产生种子?和不同常规油菜回交产生种子的可能性是否有差异?这些种子是否携带抗性基因以及与野芥菜相比它们的生存适合度如何?

鉴于此,我们以野芥菜为母本,两种转基因抗除草剂油菜为父本获得的F1为花粉受体(母本),5种种面积较大的常规栽培油菜为花粉供体(父本)进行回交,观察回交的结果情况、抗性基因在回交1代及其子1代中的传递频率以及回交1代及其子1代的营养、生殖生长情况,目的是探索抗除草剂转基因油菜和野芥菜发生初始杂交后,能否再以常规油菜为花粉供体进行回交产生适合度较高的后代,从而带来潜在的生态风险。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

5种常规栽培油菜:苏油1号和苏油4号属甘蓝型半冬性中熟常规油菜品种,秦油7号和9号是甘蓝型双低杂交油菜;史力佳属于甘蓝型双低油菜常规品种。以上种子从种子公司购买获得。野芥菜采集于南京江浦。

2种抗除草剂转基因油菜 (*B. napus* L.; genome, AACC) 都来自加拿大,抗草甘膦转基因油菜 (DS-Roughrider, Roundup Ready, event RT73) RT73是纯合的、含有一个完整的 *cp4 epsps* 和 *gox* 基因,以及它们各自的调控基因。抗草丁膦转基因油菜 (Swallow, Liberty Link, event HCN92) 是纯合的、含有2个拷贝的(连锁)的 *pat* 基因 (<http://www.agbios.com/dbase.php>)。以野芥菜为母本、抗性油菜为父本人工杂交获得F1<sup>[6]</sup>。2009年3-5月分别以F1为母本,5种常规油菜为父本进行人工回交,获得回交1代 (BC1)。2010年对BC1套袋,使其自交获得回交1代子1代 (BC1F1)。

### 1.2 方 法

1.2.1 第1次回交的结实情况观察 上述5种常规油菜和2种F1于2008年10月5日单粒播种在装满没有野芥菜发生的菜园土的一次性塑料小杯中(口径6.5 cm,深度9 cm,杯底部打孔),浇足水后,每杯播种1粒,盖浅土。之后放置在温室中,进行正常的水分管理。长至4叶期后对供试的2种F1用相应的除草剂进行抗性筛选,具体方法同回交后代的抗性筛选。5种常规油菜以及存活的F1单株移栽在塑料大盆中,并随机排列于温室中,进行正常管理直到开花。开花后进行回交。把做母本的F1人工去雄后授常规油菜的花粉,之后立即套袋。成熟后统计角果长和每角果饱满种子粒数。每个组合母本植株和父本植株至少都为10株,父本花粉随机分配给母本植株,每株母本植株至少授粉50个花蕾。

1.2.2 回交1代及其子1代的出苗率 播种每种饱满的BC1或BC1F1种子,方法同1.2.1。2周后BC1每种后代随机选择80杯(因有的种子少于100粒)、BC1F1每种选择100杯统计出苗数,计算出苗率(每次重复20或25杯,4次重复)。

1.2.3 抗性基因在回交1代及其子1代中的传递频率 待植株长至4叶期时分别用草甘膦和草丁膦筛选2次,其中41% (a.i)

草甘膦异丙胺盐(农达,孟山都公司生产,美国)的施药剂量为1 400 g a.i.  $\text{hm}^{-2}$ , 20%的草丁膦(保试达,拜耳公司生产,德国)施药剂量为700 g a.i.  $\text{hm}^{-2}$ . 采用手持式喷雾器(黄岩市下喷雾器有限公司,浙江,中国),扇形喷头. 每次施用至少选择常规栽培油菜和相应的转基因油菜各20株作为阴阳对照. 在药害症状明显时统计死亡和存活植株数量,对存活植株抽样进行分子检测,确认其是否携带抗性基因. 同时把存活的植株每种回交后代进行分子鉴定. 分子测定的方法:以野芥菜为阴性对照,相应的抗性油菜为阳性对照,采用PCR的方法,确认抗性基因EPSPS和Bar的存在. EPSPS的扩增引物P1:5' AAGGCATTCATTCCCATTG 3', P2:5' TAACATCTTCACCTTCCAAAAG 3'. 按下列组分配制50  $\mu\text{L}$ 反应体系:5  $\mu\text{L}$  10  $\times$  Ex Taq Buffer, 4  $\mu\text{L}$   $\text{MgCl}_2$  (25 mmol/L), 4  $\mu\text{L}$  dNTP Mixture (各2.5 mmol/L), 2  $\mu\text{L}$  各引物(10  $\mu\text{mol/L}$ ), 0.5  $\mu\text{L}$  TaKaRa Ex Taq DNA聚合酶(5 U/ $\mu\text{L}$ ) [宝生物工程(大连)有限公司], 大约20 ng模板DNA. PCR扩增在Whatman Biometra TGRADIENT Thermocycler上进行. 反应条件如下:94 预变性5 min, 35个循环(94 变性50 s, 50 退火50 s, 72 延伸1 min), 最后72 延伸10 min. 扩增获得的527 bp产物在1%琼脂糖凝胶和120 V电压条件下电泳30 min. EB染色后在紫外灯下观察并拍照. Bar的扩增引物P1:5' GCACCATCGTCAACCACTAC 3', P2:5' GCCAGAAACCCACGTCAT 3'. 反应体系与EPSPS相同. 反应条件如下:94 预变性5 min, 35个循环(94 变性30 s, 55 退火30 s, 72 延伸1 min), 最后72 延伸10 min. 扩增获得的429 bp产物在2%琼脂糖凝胶和90 V电压条件下电泳1 h. EB染色后在紫外灯下观察并拍照.

1.2.4 回交1代及其子1代的温室适合度 从经过抗性筛选和抗性检测后存活下来的植株中挑选生长健壮、大小适中的植株,按照试验设计进行盆钵移栽. 盆钵中所用土壤来源一致均为菜园土,且事先与腐殖质按1:1比例混合均匀. 所用盆钵大小一致(口径23 cm,深24 cm). 每盆移栽一株. 每种回交后代各移栽25株. 开花期时对各植株进行套袋自交防止窜粉,成熟后整株收获考种并收取种子. 在植株生长过程中以及成熟后进行适合度成份的测量,试验中所测指标包括营养生长期指标(株高、茎粗、地上部干生物量)和生殖生长期指标(单株有效角果数、角果长、每角果饱满粒数). 具体方法见表1.

1.2.5 数据的统计分析 把每个植株作为一个重复进行数据

的统计,统计分析采用SPSS(SPSS17.0)统计软件进行,多重比较采用Duncan复极差测验(Duncan's Multiple Range Test). 对BC1及其BC1F1的适合度分析,以野芥菜为比较的标准“1”,相应回交后代的各项指标与它的该指标之比为该后代这一指标的相对适合度值,每一后代的总适合度(Composite fitness)值是其各项指标的相对适合度值的加权平均数<sup>[22-23]</sup>.

## 2 结果与分析

### 2.1 第1次回交的结实情况

以携带抗性基因的F1为母本,5种常规油菜为父本回交后每角果饱满粒数都很少,有较多授粉的花没有结实,有的只有1粒饱满种子,最多的也只有2粒,角果短小,长度为2 cm左右. 第1次回交后每角果饱满种子粒数明显少于野芥菜的每角果粒数(平均约13粒). 各回交组合的具体结实情况见表2. 从表2可以看出,携带不同抗性基因的2种F1和同种常规油菜回交后平均角果长以及每角果饱满种子粒数没有显著差异. 但在所有的回交组合中携带抗草甘膦基因的F1和秦油9号回交能获得最多的饱满种子数,平均超过了0.5粒,比2种F1和苏油1号、秦油7号以及史力佳的回交组合每角果饱满种子粒数明显多,但与2种F1和苏油4号的回交组合的每角果饱满种子粒数不存在显著差异. 以上结果说明,以野芥菜为母本,抗除草剂转基因油菜为父本获得的F1接受栽培甘蓝型油菜的花粉后,产生种子的可能性相对较小,但由于每组合中都产生一些饱满种子,因此这种风险还是存在的.

### 2.2 回交1代(BC1)及回交1代子1代(BC1F1)的出苗率

从出苗情况来看,BC1出苗率在70%-76%之间,各组合之间没有显著差异,但都显著低于野芥菜95%的出苗率. BC1F1的出苗率在75%-84%之间,也没有显著差异,但还是显著低于野芥菜92%的出苗率(由于没有差异,数据没有列出).

### 2.3 抗性基因在回交1代及其子1代中的传递频率

在4-5叶期,经过2次草甘膦筛选后,BC1以及BC1F1中均有死亡和存活的植株,且作为阳性对照的抗草甘膦油菜生长良好,而作为阴性对照的相应的常规油菜出现明显的药害. 药害症状表现为一周左右心叶基部开始黄化,并渐渐向叶上部扩展,直至整株变黄死亡. 经过两次草丁膦筛选后,BC1和BC1F1也均有死亡和存活的植株,且作为阳性对照的抗草丁膦油菜生长良好,而作为阴性对照的常规栽培油菜明显的药害死亡. 药害症状在3 d后就很明显,首先老叶边缘失水、失

表1 适合度成分指标及测定方法

Table 1 Fitness components and assay methods

营养生长期 Vegetative stage	生殖生长期 Reproductive stage
株高:成熟后,用直尺测量盆底至植株顶端的高度 Plant height: height from the base of the plant to the tip of the plant at mature	单株有效角果数:每株上所有的含有1粒以上饱满或半饱满种子的角果数 Number of silique/plant; number of silique/plant with more than 1 full or half full seeds at mature
茎粗:与株高测量同步进行,用直尺测量主茎地上基部的直径 Main stem diameter: measured for each plant with a ruler at mature	角果长:每株选中下部20个角果测量其长度 Silique length: silique length at lower part of plant measured with a ruler at mature stage; at least 20 siliques of each plant measured
地上部生物量:成熟后测定每株的干生物量(参考Liu 等的方法 <sup>[20]</sup> ) Dry aboveground biomass: measured at final harvest as described by Liu et al. (2010)	每角果饱满粒数: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/Silique: the number of full seeds in silique counted at measuring silique length; at least 20 siliques of each plant measured

绿、卷曲,之后逐渐向叶中央和心叶扩展,直至整株死亡。

表2 携带抗除草剂基因的2种F1(野芥菜×抗除草剂转基因油菜)和5种常规栽培油菜回交后每角果饱满种子粒数和角果长(平均数±标准误)

Table 2 Seed number per silique and silique length of the first backcross between F1 with herbicide-resistant gene (wild *B. juncea* × herbicide transgenic oilseed rape) and five different conventional oilseed rape varieties (mean ± SE)

回交组合 Backcross combination	角果长 Length of silique	每角果饱满种子粒数 Seeds/silique
F <sub>R</sub> ×苏1 F <sub>R</sub> ×Su 1	2.27 ± 0.02 a	0.42 ± 0.05 b
F <sub>L</sub> ×苏1 F <sub>L</sub> ×Su 1	2.09 ± 0.09 a	0.30 ± 0.06 b
F <sub>R</sub> ×苏4 F <sub>R</sub> ×Su 4	2.10 ± 0.05 a	0.44 ± 0.04 ab
F <sub>L</sub> ×苏4 F <sub>L</sub> ×Su 4	2.27 ± 0.16 a	0.44 ± 0.05 ab
F <sub>R</sub> ×秦7 F <sub>R</sub> ×Qin 7	2.21 ± 0.07 a	0.30 ± 0.02 b
F <sub>L</sub> ×秦7 F <sub>L</sub> ×Qin 7	2.13 ± 0.07 a	0.40 ± 0.09 b
F <sub>R</sub> ×秦9 F <sub>R</sub> ×Qin 9	2.23 ± 0.02 a	0.59 ± 0.03 a
F <sub>L</sub> ×秦9 F <sub>L</sub> ×Qin 9	2.16 ± 0.10 a	0.43 ± 0.07 ab
F <sub>R</sub> ×史 F <sub>R</sub> ×Shi	2.25 ± 0.06 a	0.38 ± 0.06 b
F <sub>L</sub> ×史 F <sub>L</sub> ×Shi	2.04 ± 0.07 a	0.39 ± 0.03 b

×前面的作母本,后面的作父本;R表示携带抗草甘膦基因,L表示携带抗草丁膦基因;苏1=苏油1号,苏4=苏油4号,秦7=秦油7号,秦9=秦油9号,史=史力佳。每列数据后不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

Combinations involved in this study are indicated as maternal plant × paternal plant, in the corresponding order. R denotes F1 and backcross progeny with glyphosate-resistant gene. L denotes F1 and backcross progeny with glufosinate-resistant gene. Su 1 = No.1 of Su You; Su 4 = No.4 of Su You; Qin 7 = No. 7 of Qin You; Qin 9 = No. 9 of Qin You; Shi = Shi Li Jia. The data followed by different lowercase letter in the same column are significantly different ( $P < 0.05$ ).

根据设计的特异性引物对挑选的各回交后代的总DNA进行PCR扩增,BC1存活植株分别得到了EPSPS基因的527 bp的扩增条带和Bar基因的429 bp的扩增条带(图1),与相应的阳性对照抗除草剂油菜扩增条带一致,阴性对常规油菜无扩增产物。说明试验所用各BC1均携带了抗性基因。BC1F1存活植株也检测到了相应的抗性基因(图略)。

从存活植株的比例来看,各BC1都有49%-62%的植株存活下来,都符合1:1的孟德尔遗传规律。各BC1F1有52%-64%的植株存活下来,都不符合3:1的孟德尔遗传规律。这说明2种转基因油菜和野芥菜杂交后,其F1在接受常规油菜的花粉后,两种抗性基因还能以较高频率传递到后代中。各BC1及BC1F1死亡和存活植株的比例见表3和表4。

#### 2.4 回交1代及回交1代子1代在温室条件下的适合度

目测观察移栽的植株生长都很健壮。BC1的适合度测定结果见表5。各BC1的平均株高在83-93 cm,没有显著差异,和野芥菜的株高也没有显著差异。各BC1的平均茎粗在0.69-0.89 cm之间,除BC1<sub>R</sub>(F<sub>1R</sub>×秦油7号)的茎粗明显大于BC1<sub>L</sub>(F<sub>1L</sub>×秦油7号)的茎粗外,2种F1和另外4种常规油菜的BC1的茎粗没有显著差异。F<sub>1R</sub>与5种常规油菜的BC1中,BC1<sub>R</sub>(F<sub>R</sub>×秦油7号)和BC1<sub>R</sub>(F<sub>R</sub>×秦油9号)的茎粗明显大于BC1<sub>R</sub>(F<sub>R</sub>×苏油1号)以及BC1<sub>R</sub>(F<sub>R</sub>×史力佳)的茎粗;且这2种BC1的茎粗明显小于野芥菜;F<sub>1L</sub>与5种常规油菜的BC1中,BC1<sub>L</sub>(F<sub>L</sub>×秦油9号)的茎粗明显大于BC1<sub>L</sub>(F<sub>L</sub>×苏油1号)、BC1<sub>L</sub>(F<sub>L</sub>×苏油4号)以及BC1<sub>L</sub>(F<sub>L</sub>×秦油7号)的茎粗;且这3

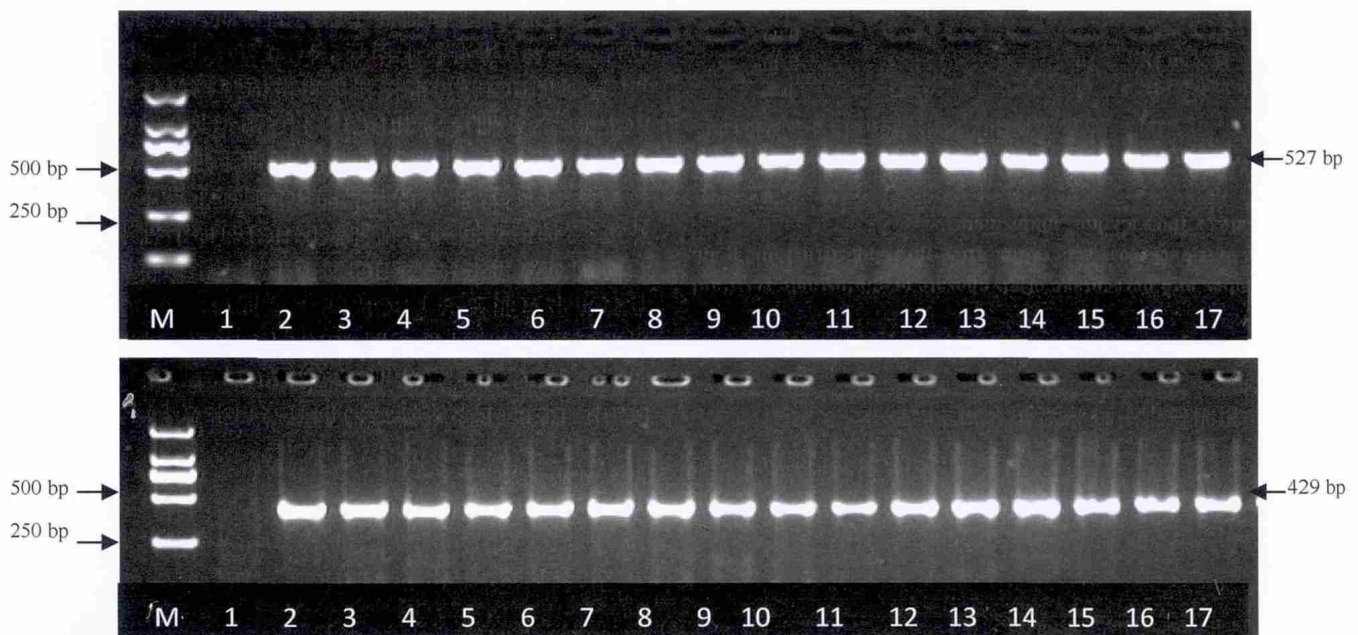


图1 回交1代中EPSPS和Bar基因的分子检测。(上图)M:marker DL2000;1:野芥菜;2:抗草甘膦转基因油菜;3-5:BC1R(F<sub>R</sub>×苏1);6-8:BC1R(F<sub>R</sub>×苏4);9-11:BC1R(F<sub>R</sub>×秦7);12-14:BC1R(F<sub>R</sub>×秦9);15-17:BC1R(F<sub>R</sub>×史)。(下图)M:marker DL2000;1:野芥菜;2:抗草丁膦转基因油菜;3-5:BC1L(F<sub>L</sub>×苏1);6-8:BC1L(F<sub>L</sub>×苏4);9-11:BC1L(F<sub>L</sub>×秦7);12-14:BC1L(F<sub>L</sub>×秦9);15-17:BC1L(F<sub>L</sub>×史)。

Fig. 1 Detection of the EPSPS gene and Bar gene in the first backcross generations. M: marker DL2000; 1: Wild *B. juncea*; 2: Glyphosate-resistant transgenic oilseed rape; 3-5: BC1R (F<sub>R</sub> × Su1); 6-8: BC1R (F<sub>R</sub> × Su 4); 9-11: BC1R (F<sub>R</sub> × Qin 7); 12-14: BC1R (F<sub>R</sub> × Qin 9); 15-17: BC1R (F<sub>R</sub> × Shi). M: marker DL2000; 1: Wild *B. juncea*; 2: Glufosinate-resistant transgenic oilseed rape; 3-5: BC1L (F<sub>L</sub> × Su 1); 6-8: BC1L (F<sub>L</sub> × Su 4); 9-11: BC1L (F<sub>L</sub> × Qin 7); 12-14: BC1L (F<sub>L</sub> × Qin 9); 15-17: BC1L (F<sub>L</sub> × Shi).

种BC1的茎粗明显小于野芥菜的茎粗。

表3 喷施1 400 g a.i. hm<sup>-2</sup>草甘膦或700 g a.i. hm<sup>-2</sup>草丁膦后回交1代存活植株数量和百分率

Table 3 Number and percentage of glyphosate or glufosinate resistant plants in the first backcross generation after spraying with 1 400 g a.i. hm<sup>-2</sup> glyphosate or 700 g a.i. hm<sup>-2</sup> glufosinate

回交1代 BC1	存活植株 株数 NSP	死亡植株 株数 NDP	存活植株 株百分率 PSP (P/%)	卡方值 $\chi^2$ Value under the 1:1 expected ratio
BC1 (F <sub>R</sub> × 苏1 F <sub>R</sub> × Su 1)	48	42	53.33	0.4*
BC1 (F <sub>L</sub> × 苏1 F <sub>L</sub> × Su 1)	50	41	54.95	0.89*
BC1 (F <sub>R</sub> × 苏4 F <sub>R</sub> × Su 4)	62	42	59.62	0.89*
BC1 (F <sub>L</sub> × 苏4 F <sub>L</sub> × Su 4)	49	47	48.51	0.04*
BC1 (F <sub>R</sub> × 秦7 F <sub>R</sub> × Qin 7)	52	46	53.06	0.37*
BC1 (F <sub>L</sub> × 秦7 F <sub>L</sub> × Qin 7)	58	36	61.7	2.28*
BC1 (F <sub>R</sub> × 秦9 F <sub>R</sub> × Qin 9)	80	61	56.74	2.56*
BC1 (F <sub>L</sub> × 秦9 F <sub>L</sub> × Qin 9)	122	116	51.26	0.15*
BC1 (F <sub>R</sub> × 史 F <sub>R</sub> × Shi)	48	44	52.17	0.17*
BC1 (F <sub>L</sub> × 史 F <sub>L</sub> × Shi)	52	43	54.74	0.67*

BC1 = 回交1代; ×前面的作母本,后面的作父本;R表示携带抗草甘膦基因,L表示携带抗草丁膦基因;苏1 = 苏油1号,苏4 = 苏油4号,秦7 = 秦油7号,秦9 = 秦油9号,史 = 史力佳。\*表示符合期望1:1的分离比。

BC1 = the first backcross generation; Combinations involved in this study are indicated as maternal plant × paternal plant, in the corresponding order. R denotes F1 and backcross progeny with glyphosate-resistant gene. L denotes F1 and backcross progeny with glufosinate-resistant gene. Su 1 = No.1 of Su You; Su 4 = No.4 of Su You; Qin 7 = No. 7 of Qin You; Qin 9 = No. 9 of Qin You; Shi = Shi Li Jia. NSP: Number of surviving plants; NDP: Number of dead plant; PSP: Percentage of surviving plants; \* follow the 1:1 expected ratio ( $P = 0.05$ ).

表4 喷施1 400 g a.i. hm<sup>-2</sup>草甘膦或700 g a.i. hm<sup>-2</sup>草丁膦后回交1代子1代存活植株数量和百分率

Table 4 Survival rate of the first backcross progenies (BC1F1) of the first backcross generation after spraying with 1 400 g a.i. hm<sup>-2</sup> glyphosate or 700 g a.i. hm<sup>-2</sup> glufosinate

回交1代子1代 BC1F1	存活植株数 NSP	死亡植株数 NDP	存活植株百分率 PSP (P/%)
BC1F1 (F <sub>R</sub> × 苏1 F <sub>R</sub> × Su 1)	76	70	52.05 <sup>a</sup>
BC1F1 (F <sub>L</sub> × 苏1 F <sub>L</sub> × Su 1)	60	41	59.41 <sup>a</sup>
BC1F1 (F <sub>R</sub> × 苏4 F <sub>R</sub> × Su 4)	96	87	52.46 <sup>a</sup>
BC1F1 (F <sub>L</sub> × 苏4 F <sub>L</sub> × Su 4)	80	61	56.74 <sup>a</sup>
BC1F1 (F <sub>R</sub> × 秦7 F <sub>R</sub> × Qin 7)	69	61	53.08 <sup>a</sup>
BC1F1 (F <sub>L</sub> × 秦7 F <sub>L</sub> × Qin 7)	98	53	64.90 <sup>a</sup>
BC1F1 (F <sub>R</sub> × 秦9 F <sub>R</sub> × Qin 9)	72	67	51.80 <sup>a</sup>
BC1F1 (F <sub>L</sub> × 秦9 F <sub>L</sub> × Qin 9)	82	62	56.94 <sup>a</sup>
BC1F1 (F <sub>R</sub> × 史 F <sub>R</sub> × Shi)	71	41	63.39 <sup>a</sup>
BC1F1 (F <sub>L</sub> × 史 F <sub>L</sub> × Shi)	89	54	62.24 <sup>a</sup>

BC1F1 = 回交1代子1代; ×前面的作母本,后面的作父本;R表示携带抗草甘膦基因,L表示携带抗草丁膦基因;苏1 = 苏油1号,苏4 = 苏油4号,秦7 = 秦油7号,秦9 = 秦油9号,史 = 史力佳;<sup>a</sup>表示偏离期望的3:1分离比。

BC1F1: the first backcross progeny of the first backcross generation; Combinations involved in this study are indicated as maternal plant × paternal plant, in the corresponding order. R denotes F1 and backcross progeny with glyphosate-resistant gene. L denotes F1 and backcross progeny with glufosinate-resistant gene. Su 1 = No.1 of Su You, Su 4 = No.4 of Su You; Qin 7 = No. 7 of Qin You; Qin 9 = No. 9 of Qin You; Shi = Shi Li Jia; a: significant deviation ( $P = 0.05$ ) from the expected 3:1 ratio; NSP: Number of surviving plants; NDP: Number of dead plant; PSP: Percentage of surviving plants.

各BC1的角果稀疏,单株有效角果数平均在80-140个之间,显著少于野芥菜的594个有效角果。两种F1和同种常规油菜的BC1的有效角果数没有显著差异。F1R和5种常规油菜的

BC1中,BC1<sub>R</sub>(F<sub>R</sub> × 秦油7号)的有效角果数平均为140个/株,明显多于BC1<sub>R</sub>(F<sub>R</sub> × 苏油1号)和BC1<sub>R</sub>(F<sub>R</sub> × 史力佳)的有效角果数;F1<sub>L</sub>和5种常规油菜BC1中,BC1<sub>L</sub>(F<sub>L</sub> × 秦油9号)的有效角果数明显多于BC1<sub>L</sub>(F<sub>L</sub> × 苏油1号)和BC1<sub>L</sub>(F<sub>L</sub> × 苏油4号)的有效角果数。各BC1的地上部干生物量都显著低于野芥菜;2种F1和同种常规油菜的BC1的地上部干生物量无明显差异;F1<sub>R</sub>与5种常规油菜的BC1的地上部干生物量也没有明显区别;BC1<sub>L</sub>(F<sub>L</sub> × 秦油9号)的地上部干生物量明显大于BC1<sub>L</sub>(F<sub>L</sub> × 苏油1号)和BC1<sub>L</sub>(F<sub>L</sub> × 史力佳)的地上部干生物量。所有的BC1的角果长和每角果饱满粒数这两个指标都没有显著差异;角果长平均在2.4-3.0 cm之间;BC1的每角果饱满粒数都很少,平均都低于1粒,显著低于野芥菜13.59粒,这说明BC1的繁殖能力都很低。由于每角果饱满粒数是衡量繁殖能力的重要指标,因此从这一指标来看,BC1的生存能力不强。

就总适合度来看,携带不同抗性基因的各BC1在温室条件下的适合度无显著差异,都显著低于野芥菜的适合度。

## 2.5 回交1代子1代在温室条件下的适合度

BC1F1的适合度见表6。BC1F1的平均株高在99-104 cm之间,没有显著差异,和野芥菜的株高也相当。从株高来看,同种BC1F1不同个体之间的株高有较大变化,最低的植株只有60 cm左右,最高的超过1 m,但目测观察每个植株生长都很健壮。携带不同抗性基因F1和同种常规油菜的BC1F1的茎粗没有显著差异。F1<sub>R</sub>和5种常规油菜的BC1F1的茎粗没有显著差异,但BC1F1<sub>L</sub>(F<sub>L</sub> × 秦油9号)的茎粗明显比BC1F1<sub>L</sub>(F<sub>L</sub> × 史力佳)的大。绝大多数BC1F1的茎粗和野芥菜无显著差异。

各BC1F1的有效角果数没有显著差异,平均在185-235之间,都显著低于野芥菜的有效角果数。在各BC1F1中,有些个体的有效角果较多,也有些个体的有效角果数较少,如BC1F1<sub>R</sub>(F<sub>R</sub> × 苏油1号)最多1株为356个,最少的1株为35个;BC1F1<sub>L</sub>(F<sub>L</sub> × 苏油1号)最多的1株为328个,最少的1株为56个。同各自的BC1相比,BC1F1的有效角果数都有显著提高,至少增加了1倍。

BC1F1地上部干生物量平均在30.87-47.37 g之间,和野芥菜的没有显著差异,且2种F1和同一种常规油菜的BC1F1之间没有显著差异。2种F1和苏油1号的BC1F1的相对较小,平均不超过33 g,其余都接近或超过了40 g。但同种BC1F1中个体之间也有较大差异,如BC1F1<sub>R</sub>(F<sub>R</sub> × 苏油4号)中最重接近68 g,最轻的不到17 g。BC1F1与BC1相比也明显提高,是各自BC1的3-4倍。这说明BC1自交1次后,其生存竞争能力有明显提高。

2种F1和同种常规油菜的BC1F1的角果长和每角果饱满粒数没有显著差异,但2种F1和苏油4号的BC1F1的角果最长,平均为4.5 cm和4.7 cm,每角饱满种子粒数相对也较多,平均在3.91粒和3.53粒;其次2种F1和秦油9号的BC1F1的角果也较长,每角饱满粒数也较多,能达到3.81粒和3.60粒;2种F1和史力佳的BC1F1角果最短,每角饱满粒数也最少,不超过2粒。与各自的BC1相比,BC1F1每角饱满粒数都有所提高,除了BC1F1(F × 史力佳)的每角饱满粒数提高不明显外,其它BC1F1都比相应的BC1提高了3-5倍,但还是显著少于野芥菜每角饱满粒数。这说明通过1次自交,携带抗性基因的回交后代的繁殖

表5 携带抗除草剂基因的2种F1(野芥菜×抗除草剂转基因油菜)和5种常规栽培油菜的回交1代的适合度比较(平均数±标准误)

Table 5 Comparison on fitness of the first backcross generation between F1 with herbicide-resistant gene (wild *B. juncea* × herbicide transgenic oilseed rape) and five different conventional oilseed rape varieties (Mean ± SE)

植物种类 Plant type	株高 (h/cm) Plant height	茎粗 (D/cm) Diameter of stem	有效角果数 Silique number	地上部干生物量 (mg) Dry aboveground biomass	角果长 (l/cm) Silique length	每角饱粒数 Seed number/ Silique	总适合度 Composite fitness
BC1R (F <sub>R</sub> ×苏1 F <sub>R</sub> × Su 1)	82.75 ± 6.69 a	0.69 ± 0.05 b	84.54 ± 12.55 c	10.53 ± 1.03 bcde	2.59 ± 0.29 b	0.86 ± 0.30 b	0.4712 b
BC1L (F <sub>L</sub> ×苏1 F <sub>L</sub> × Su 1)	82 ± 4.34 a	0.67 ± 0.06 b	80.83 ± 21.75 c	8.31 ± 0.82 e	2.42 ± 0.16 b	0.82 ± 0.14 b	0.4458 b
BC1R (F <sub>R</sub> ×苏4 F <sub>R</sub> × Su 4)	89.25 ± 4.62 a	0.80 ± 0.04 ab	117.75 ± 19.70 bc	9.59 ± 0.90 bcde	2.97 ± 0.27 ab	0.72 ± 0.24 b	0.5213 b
BC1L (F <sub>L</sub> ×苏4 F <sub>L</sub> × Su 4)	94.62 ± 4.24 a	0.71 ± 0.04 b	82.46 ± 10.45 c	9.43 ± 0.81 bcde	2.59 ± 0.30 b	0.89 ± 0.53 b	0.4900 b
BC1R (F <sub>R</sub> ×秦7 F <sub>R</sub> × Qin 1)	83 ± 4.14 a	0.89 ± 0.06 a	140.77 ± 16.95 b	12.06 ± 0.99 b	3.21 ± 0.23 ab	0.41 ± 0.07 b	0.5518 b
BC1L (F <sub>L</sub> ×秦7 F <sub>L</sub> × Qin 1)	93.2 ± 5.19 a	0.71 ± 0.03 b	103.4 ± 15.62 bc	11.20 ± 1.16 bcd	2.91 ± 0.23 ab	0.55 ± 0.14 b	0.5125 b
BC1R (F <sub>R</sub> ×秦9 F <sub>R</sub> × Qin 9)	87.20 ± 3.36 a	0.89 ± 0.05 a	109.4 ± 10.22 bc	11.70 ± 1.00 bc	2.75 ± 0.20 b	0.87 ± 0.14 b	0.5342 b
BC1L (F <sub>L</sub> ×秦9 F <sub>L</sub> × Qin 9)	89.67 ± 4.76 a	0.91 ± 0.04 a	131.53 ± 20.84 b	11.66 ± 1.13 bc	2.82 ± 0.14 b	0.82 ± 0.12 b	0.5505 b
BC1R (F <sub>R</sub> ×史 F <sub>R</sub> × Shi)	83.13 ± 5.14 a	0.72 ± 0.05 b	79.33 ± 12.18 c	8.74 ± 0.41 de	2.95 ± 0.24 ab	0.65 ± 0.08 b	0.4947 b
BC1L (F <sub>L</sub> ×史 F <sub>L</sub> × Shi)	92.95 ± 5.46 a	0.78 ± 0.08 ab	104.82 ± 14.98 bc	9.10 ± 0.38 cde	2.8 ± 0.43 b	0.76 ± 0.08 b	0.5095 b
野芥菜 Wild <i>B. juncea</i>	92.73 ± 2.51 a	0.96 ± 0.03 a	594.44 ± 20.30 a	31.82 ± 0.92 a	3.81 ± 0.08 a	13.59 ± 0.08 a	1 a

BC1 = 回交1代; ×前面的作母本,后面的作父本;R表示携带抗草甘膦基因的F1,L表示携带抗草丁膦基因的F1;苏1 = 苏油1号,苏4 = 苏油4号,秦7 = 秦油7号,秦9 = 秦油9号,史 = 史力佳。每列数据后不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Combinations involved in this study are indicated as maternal plant × paternal plant, in the corresponding order. R denotes F1 and backcross progeny with glyphosate-resistant gene. L denotes F1 and backcross progeny with glufosinate-resistant gene. BC1 = the first backcross generation. Su 1 = No.1 of Su You; Su 4 = No.4 of Su You; Qin 7 = No. 7 of Qin You; Qin 9 = No. 9 of Qin You; Shi = Shi Li Jia. The data followed by different lowercase letter in the same column are significantly different ( $P < 0.05$ ).

表6 携带抗除草剂基因的2种F1(野芥菜×抗除草剂转基因油菜)和5种栽培油菜的回交1代子1代的适合度比较(平均数±标准误)

Table 6 Comparison on fitness of the first progeny of the first backcross generation between F1 with herbicide-resistant gene (wild *B. juncea* × herbicide transgenic oilseed rape) and five different conventional oilseed rape varieties (mean ± SE)

植物种类 Plant type	株高 (h/cm) Plant height	茎粗 (D/cm) Diameter of stem	有效角果数 Silique number	地上部干生物量 (mg) Dry aboveground biomass	角果长 (l/cm) Silique length	每角饱粒数 Seed number/ Silique	总适合度 Composite fitness
BC1F1 (F <sub>R</sub> ×苏1 F <sub>R</sub> × Su 1)	99.04 ± 3.85 a	0.93 ± 0.32 b	185.13 ± 25.30 b	32.77 ± 3.41 bc	3.71 ± 0.23 cd	2.81 ± 0.68 bcd	0.65 ± 0.13 a
BC1F1 (F <sub>L</sub> ×苏1 F <sub>L</sub> × Su 1)	102.69 ± 7.64 a	1.00 ± 0.23 ab	173.27 ± 22.93 b	30.87 ± 2.80 c	3.73 ± 0.26 bcd	2.95 ± 0.57 bcd	0.66 ± 0.13 a
BC1F1 (F <sub>R</sub> ×苏4 F <sub>R</sub> × Su 4)	100.03 ± 3.97 a	0.98 ± 0.17 ab	211.29 ± 24.61 b	44.79 ± 4.06 a	4.51 ± 0.37 ab	3.91 ± 1.19 b	0.77 ± 0.16 a
BC1F1 (F <sub>L</sub> ×苏4 F <sub>L</sub> × Su 4)	99.81 ± 3.39 a	1.12 ± 0.23 ab	236.35 ± 26.98 b	47.37 ± 3.23 a	4.69 ± 0.26 a	3.53 ± 0.82 bc	0.80 ± 0.17 a
BC1F1 (F <sub>R</sub> ×秦7 F <sub>R</sub> × Qin 1)	102.46 ± 7.84 a	1.00 ± 0.32 ab	206.38 ± 36.19 b	41.35 ± 4.49 abc	3.63 ± 0.44 cd	2.28 ± 1.14 bcd	0.70 ± 0.15 a
BC1F1 (F <sub>L</sub> ×秦7 F <sub>L</sub> × Qin 1)	102.07 ± 3.99 a	1.01 ± 0.34 ab	208.06 ± 30.10 b	40.88 ± 3.13 abc	3.80 ± 0.21 bc	2.53 ± 1.24 bcd	0.71 ± 0.15 a
BC1F1 (F <sub>R</sub> ×秦9 F <sub>R</sub> × Qin 9)	100.51 ± 3.95 a	1.16 ± 0.87 ab	221.00 ± 33.06 b	41.77 ± 5.48 abc	3.89 ± 0.23 bc	3.81 ± 0.95 b	0.75 ± 0.14 a
BC1F1 (F <sub>L</sub> ×秦9 F <sub>L</sub> × Qin 9)	105.84 ± 3.53 a	1.22 ± 0.18 a	215.92 ± 43.76 b	43.04 ± 3.58 ab	3.95 ± 0.38 abc	3.60 ± 0.61 b	0.77 ± 0.15 a
BC1F1 (F <sub>R</sub> ×史 F <sub>R</sub> × Shi)	100.79 ± 3.79 a	1.02 ± 0.23 ab	204.13 ± 23.70 b	45.80 ± 2.34 a	3.56 ± 0.20 cd	0.83 ± 0.20 d	0.70 ± 0.17 a
BC1F1 (F <sub>L</sub> ×史 F <sub>L</sub> × Shi)	104.67 ± 5.77 a	0.93 ± 0.23 b	202.92 ± 26.94 b	39.10 ± 3.23 abc	3.35 ± 0.26 cd	1.53 ± 0.37 cd	0.66 ± 0.15 a
野芥菜 Wild <i>B. juncea</i>	113 ± 3.80 a	1.38 ± 0.10 a	572.47 ± 69.53 a	38.18 ± 4.11 abc	3.80 ± 0.17 bcd	14.43 ± 0.40 a	1 a

BC1 = 回交1代; ×前面的作母本,后面的作父本;R表示携带抗草甘膦基因的F1,L表示携带抗草丁膦基因的F1;苏1 = 苏油1号,苏4 = 苏油4号,秦7 = 秦油7号,秦9 = 秦油9号,史 = 史力佳。每列数据后不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Combinations involved in this study are indicated as maternal plant × paternal plant in the corresponding order. R denotes F1 and backcross progeny with glyphosate-resistant gene; L denotes F1 and backcross progeny with glufosinate-resistant gene; BC1F1 = the first progeny of the first backcross; Su 1 = No.1 of Su You; Su 4 = No.4 of Su You; Qin 7 = No. 7 of Qin You; Qin 9 = No. 9 of Qin You; Shi = Shi Li Jia. The data followed by different lowercase letter in the same column are significantly different ( $P < 0.05$ ).

能力有了显著提高,因而也增加了抗性基因通过这一途径逃逸的生态风险。

就总适合度来看,尽管各BC1F1的繁殖能力明显低于野芥菜,但各BC1F1总适合度和野芥菜的适合度没有明显差异,因此不能忽视其可能引起的生态风险。

### 3 讨论

转基因作物释放的风险之一就是抗性基因渗入到野生近缘种中,增加野生近缘种的生态适合度,从而导致更为严重的杂草问题。转基因和栽培作物的其它基因会以同样的方式渗入到野生近缘种中,但某些不利的基因可能会被清除,而另外一些中性或有利的基因会被保存下来。因此人们预测作物的基因渗入到野生近缘种的途径是多样化的<sup>[8]</sup>。现有研究表明,虽然对作物有利的驯化性状,如矮化、弱的落粒性,

不利杂种在野外生存<sup>[24-25]</sup>,但栽培向日葵的部分性状如快速生长的特性能增强栽培种和野生种杂交后代在野外的生存能力<sup>[26]</sup>。目前有关转基因渗入野生近缘种的报道大都是转基因作物的花粉直接漂移到野生近缘种中可能带来的生态风险,对接受转基因作物花粉后的野生近缘种再接受其它近缘物种的花粉的可能性,以及引起的潜在生态风险很少有报道。本研究在转基因油菜的花粉漂移到野生近缘杂草野芥菜上之后,又观察了携带抗性基因的F1接受常规栽培油菜的花粉后引起潜在风险的可能性,从另外一个途径初步探讨了转基因油菜的抗性基因向野芥菜渗入的可能性。

已有的研究表明抗除草剂转基因油菜和野芥菜的F1几乎不能结实<sup>[5]</sup>。但这些种子可能会逃逸到常规栽培油菜田或其附近,在有大量常规油菜花粉的环境条件下,可能引起的生态风险怎样?本研究表明,以携带抗草甘膦基因和携带抗

草丁膦基因的F1为母本,供试的5种常规油菜为父本进行回交,虽然每朵授粉的花蕾得到的饱满种子很少,还不到1粒,但都能产生饱满种子,因此携带抗性基因的F1在野外还是有可能获得常规油菜的花粉而产生BC1。且常规油菜的基因型对回交后产生饱满种子的粒数有一定影响,相比而言,苏油4号以及秦油9号和两种F1回交获得饱满种子粒数稍多。因此本研究供试的2种携带抗性基因基因的F1接受这两种常规油菜的花粉后产生后代的可能性更大。

转基因作物中的抗性基因能在杂交或回交后代中长期持续传递下去是转基因渗入到近缘种的重要因子,否则这些后代在除草剂选择压下就不能存活,因而也不会对农田生态系统和杂草防治造成很大影响<sup>[27-29]</sup>。本研究中2种F1和5种常规栽培油菜的BC1以及BC1F1都有超过50%的植株在相应除草剂选择压下存活下来,通过分子检测确认这些个体携带相应的抗性基因。这说明来自2种抗除草剂转基因油菜的抗性基因能在BC1以及子1代中传递下去。因此从这一角度看,通过这本研究设计的回交途径,抗性基因向回交后代具有较高的传递频率。但在试验中发现虽然各BC1都符合1:1的孟德尔遗传定律,但其子代不符合3:1的遗传定律。在减数分裂时,可能发生A和C染色体的同源重组,导致抗性分离比不符合孟德尔遗传规律。Hansen等(2003)用AFLP标记检测证明油菜C基因组DNA可通过渐渗杂交进入芜菁A基因组中<sup>[30]</sup>。Leflon等(2006)也证明油菜和芜菁的三倍体杂种中发生了A和C染色体的基因交换<sup>[31]</sup>。Szadkowski等(2010)在3种不同的人工合成的油菜的减数分裂中频繁观察到A、C基因组染色体间形成的二价体和多价体<sup>[32]</sup>。此外,转基因特定的插入位点也可以引起抗性基因在不同基因型后代中不同的传递频率<sup>[1,33]</sup>。同时由于油菜和野芥菜染色体结构的多样性,可能发生基因沉默、基因突变、基因互作等而造成抗性基因遗传的不稳定性。

携带转基因的杂种在自然环境中的生存和繁殖能力即适合度(Fitness)的大小是评价抗性基因能否成功渗入的重要因素<sup>[34]</sup>。转基因逃逸是否会带来生态风险,很大程度上取决于杂种的适合度。本研究中供试的5种BC1以及BC1F1的饱满种子都具有较高的萌发率,这说明种子的萌发已不是限制回交后代在野外扩散的因素。且经过除草剂筛选存活的BC1以及BC1F1的植株生长都很健壮,在营养生长上并没有明显的劣势。但在生殖生长上具有明显的劣势,主要表现是有效角果数少和每角饱满种子粒数少。抗除草剂转基因油菜和野芥菜的F1的染色体应该是AABC,  $2n = 37$ ;但回交后代中染色体数量及组成是非常复杂的,因此导致BC1以及BC1F1的育性降低,育性降低是限制其扩散蔓延的重要因素。但比较BC1和相应的BC1F1的每角饱满粒数发现,BC1F1都比其BC1能产生更多的饱满种子,这说明通过不断自交,携带抗性基因的回交后代的育性也在提高,因而随着自交代数的增加了其适合度也在增加,可能引起的生态风险也会随之增加。

同时携带转基因的野生近缘种的适合度还依赖许多因素,包括父母本的基因型、抗性基因本身和环境条件,以及它们之间的相互作用<sup>[7,26,35-36]</sup>。本研究的结果表明亲本的基因型对回交后代的适合度有一定影响,作为花粉供体的常规栽培油菜的基因型对回交后代的适合度影响要大。如相比而言

和史力佳回交得到的BC1F1的生殖能力比其它油菜的BC1F1弱。因此转基因油菜抗性基因逃逸的评价上不能忽视亲本基因型差异所导致的后代适合度的差异。

环境条件对后代的适合度有较大影响,如Londo等(2010)报道路边喷施草甘膦的雾滴漂移也能导致抗草甘膦油菜和芜菁后代适合度的提高<sup>[37]</sup>。Hovich等(2012)报道在竞争环境条件下,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<sup>[38]</sup>。因此尚需深入了解回交后代在不同生态环境条件下的适应性,这样才有助于从深层次开展转基因作物释放给环境造成的潜在危害分析。本研究只在温室环境条件下进行了后代适合度的评价,并没有对不同环境条件下的适合度进行评价。因此还需在不同环境条件下进行更深入的评价。

## 参考文献 [References]

- Jørgensen RB, Andersen B, Hauser TP, Landbo L, Mikkelsen TR, Østergård H. Introgression of crop genes from oilseed rape (*Brassica napus*) to relative wild species—An avenue for the escape of engineered genes [J]. *Acta Horti*, 1998, **459**: 211-217
- Lu C, Kato M, Kakihara F. Destiny of a transgene escape from *Brassica napus* into *Brassica rapa* [J]. *Theor Appl Genet*, 2002, **105** (1): 78-84
- Hansen LB, Siegismund HR, Jørgensen RB. Progressive introgression between *Brassica napus* (oilseed rape) and *B. rapa* [J]. *Heredity*, 2003, **91** (3): 276-283
- 浦惠明, 戚存扣, 张洁夫, 傅寿仲, 高建芹, 陈新军, 陈松, 赵祥祥. 转基因抗除草剂油菜对十字花科杂草的基因漂移[J]. *生态学报*, 2005, **25** (4): 910-916 [Pu HM, Qi CK, Zhang JF, Fu SZ, Gao JQ, Chen XJ, Chen S, Zhao XX. The studies on gene flow from GM herbicide-tolerant rapeseed to cruciferous weeds [J]. *Acta Ecol Sin*, 2005, **25** (4): 910-916]
- 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[J]. *植物生态学报*, 2007, **31** (4): 729-737 [Song XL, Huangfu CH, Qiang S. Gene flow from transgenic glufosinate-or glyphosate-tolerant oilseed rape to wild rape [J]. *J Plant Ecol*, 2007, **31** (4): 729-737]
- Chèvre AM, Eber F, Baranger A, Hureau G, Barret P, Picault H, Renard M. Characterisation of backcross generations obtained under field conditions from oilseed rape-wild radish F1 interspecific hybrids: an assessment of transgene dispersal [J]. *Theor Appl Genet*, 1998, **97**: 80-98
- Campbell LG, Snow AA. Competition alters life history and increase the relative fecundity of crop-wild radish hybrids (*Raphanus* spp.) [J]. *New Phyt*, 2007, **173**: 648-660
- Snow AA, Culley TM, Campbell LGP, Sweeney M, Hegde SG, Ellstrand NC. Long-term persistence of crop alleles in weedy populations of wild radish (*Raphanus raphanistrum*) [J]. *New Phytol*, 2010, **186**: 537-545
- Yoshimura Y, Beckie HJ, Matsuo K. Transgenic oilseed rape along transportation routes and port of Vancouver in western Canada [J]. *Environ Biosaf Res*, 2006, **5**: 67-75
- Kawata M, Murakami K, Ishikawa T. Dispersal and persistence of genetically modified oilseed rape around Japanese harbors [J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2009, **16**: 120-126

- 11 Aono M, Wakiyama S, Nagatsu M, Kaneko Y, Nishizawa T, Nakajima N, Tamaoki M, Kubo A, Saji H. Seeds of a possible natural hybrid between herbicide-resistant *Brassica napus* and *Brassica rapa* detected on a riverbank in Japan [J]. *Genet Mod Crops*, 2011, **2** (3): 201-210
- 12 Tsuda M, Okuzaki A, Kaneko Y, Tabei Y. Persistent C genome chromosome regions identified by SSR analysis in backcross progenies between *Brassica juncea* and *B. napus* [J]. *Breeding Sci*, 2012, **62** (4): 328
- 13 Huangfu CH, Song XL, Qiang S. ISSR variation within and among natural *Brassica juncea* populations: implication for herbicide resistance evolution [J]. *Genet Res Crop Evol*, 2009, **56** (7): 913-924
- 14 Huangfu CH, Song XL, Qiang S. Morphological disparities in the epidermal and anatomical features of the leaf among wild *Brassica juncea* populations [J]. *Weed Biol Manage*, 2009, **9** (3): 234-242
- 15 Johannessen MM, Andersen BA, Jørgensen RB () Competition affects transmission of transgenes from transplastomic oilseed rape to weedy *Brassica rapa* [J]. *Heredity*, 2006, **96**: 360-367
- 16 Allainguillaume J, Alexander M, Bullock JM, Saunders M, Allender CJ, King G, Ford CS, Wilkinson MJ. Fitness of hybrids between rapeseed (*Brassica napus*) and wild *Brassica rapa* in natural habitats [J]. *Molec Ecol*, 2006, **15**: 1175-1184
- 17 Frello SK, Hansen R, Jensen J, Jørgensen RB. Inheritance of rapeseed (*Brassica napus*) – specific RAPD markers and a transgene in the cross *B. juncea* × (*B. juncea* × *B. napus*) [J]. *Theor Appl Genet*, 1995, **91**: 236-241
- 18 Bing DJ, Downey RK, Rakow GFW. Hybridisations among *Brassica napus*, *B. rapa* and *B. juncea* and their two weedy relatives *B. nigra* and *Sinapis arvensis* under open pollination conditions in the field [J]. *Plant Breed*, 1996, **115**: 470-473
- 19 宋小玲, 强胜. 三种类型油菜 (*Brassica* spp.) 和野芥菜 (*B. juncea* var. *gracilis* Tsen et Lee) 杂交亲和性及F1的适合度——潜在基因转移的研究[J]. 应用与环境生物学报, 2003, **9** (4): 357-361 [Song XL, Qiang S. Sexual compatibility of three species of oilseed rape (*Brassica* spp.) with wild rapes (*B. juncea* var. *gracilis* Tsen et Lee) and the fitness of F1-potential for gene transfer [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2003, **9** (4): 357-361]
- 20 Song XL, Wang Z, Zuo J, Huangfu CH, Qiang S. Potential gene flow of two herbicide-tolerant transgenes from oilseed rape to wild *B. juncea* var. *gracilis* [J]. *Theor Appl Genet*, 2010, **120**: 1501-1510
- 21 Liu YB, Wei W, Ma KP, Darmency H. Backcrosses to *Brassica napus* of hybrids between *B. juncea* and *B. napus* as a source of herbicide-resistant volunteer-like feral populations [J]. *Plant Sci*, 2010, **179**: 459-465
- 22 Song ZP, Lu BR, Zhu YG, Chen JK. Gene flow from cultivated rice to the wild species *Oryza rufipogon* under experimental field conditions [J]. *New Phytol*, 2003, **157**: 657-665
- 23 Johnston J A, Arnold ML, Donovan LA. High hybrid fitness at seed and seedling life history stages in Louisiana irises [J]. *J Ecol*, 2003, **91** (3): 438-446
- 24 Al-Ahmad H, Dwyer J, Moloney MM, Gressel J. Mitigation of establishment of *Brassica napus* transgenes in volunteers using a tandem construct containing a selectively unfit gene [J]. *Plant Biotech J*, 2006, **4**: 7-21
- 25 Gressel J, Valverde BE. A strategy to provide long-term control of weedy rice while mitigating herbicide resistance transgene flow, and its potential use for other crops with related weeds [J]. *Pest Manage Sci*, 2009, **65**: 723-731
- 26 Mercer KL, Andow DA, Wyse DL, Shaw RG. Stress and domestication traits increase the relative fitness of crop-wild hybrids in sunflower [J]. *Ecol Lett*, 2007, **10**: 383-393
- 27 Chèvre AM, Adamczyk K, Eber F, Huteau V, Coriton O, Letanneur JC, Laredo C, Jenczewski E, Monod H. Modelling gene flow between oilseed rape and wild radish. I. Evolution of chromosome structure [J]. *Theor Appl Genet*, 2007, **114**: 209-221
- 28 Devos Y, Schrijver A D, Reheul D. Quantifying the introgressive hybridisation propensity between transgenic oilseed rape and its wild/weedy relatives [J]. *Environ Monit Assess*, 2009, **149**: 303-322
- 29 Jørgensen RB, Hauser T, D'Hertefeldt T, Andersen NS, Hooftma D. The variability of processes involved in transgene dispersal—case studies from *Brassica* and related genera [J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2009, **16**: 389-395
- 30 Hansen LB, Siegmund HR, Jørgensen RB. Progressive introgression between *Brassica napus* (oilseed rape) and *B. rapa* [J]. *Heredity*, 2003, **91** (3): 276-283
- 31 Leflon M, Eber F, Letanneur JC, Chelysheva L, Coriton O, Huteau V, Ryder CD, Barker G, Jenczewski E, Chèvre AM. Pairing and recombination at meiosis of *Brassica rapa* (AA) × *Brassica napus* (AACC) hybrids [J]. *Theor Appl Genet*, 2006, **113** (8): 1467-1480
- 32 Szadkowski E, Eber F, Huteau V., Lodé M, Huneau C, Belcram H, Coriton O, Manzanares-Dauleux MJ, Delourme R, King GJ, Chalhoub B, Jenczewski E, Chèvre AM. The first meiosis of resynthesized *Brassica napus*, a genome blender [J]. *New Phytol*, 2010, **186** (1): 102-112
- 33 Zhu B, Lawrence J R, Warwick S, Mason P, Braun L, Halfhill MD, Jr. Stewart CN. Inheritance of GFP-Bt transgenes from *Brassica napus* in backcrosses with three wild *B. rapa* accessions [J]. *Environ. Biosaf Res*, 2004, **3**: 45-54
- 34 Jenczewski E, Ronfort J, Chèvre AM. Crop-to-wild gene flow, introgression and possible fitness effects of transgenes [J]. *Environ Biosaf Res*, 2003, **2**: 9-24
- 35 Rose CW, Millwood RJ, Moon HS, Rao MR, Halfhill MD, Raymer PL, Warwick4 SI, Al-Ahmad H, Gressel J and Stewart Jr CN. Genetic load and transgenic mitigating genes in transgenic *Brassica rapa* (field mustard) × *Brassica napus* (oilseed rape) hybrid populations [J]. *BMC Biotechnol*, 2009, **9**: 93
- 36 Campbell LG, Snow AA. Can feral weeds evolve from cultivated radish (*Raphanus sativus*, Brassicaceae)? [J]. *Am J Bot*, 2009, **96** (2): 498-506
- 37 Londo JP, Bautista NS, Sagers CL, Lee EH, Watrud LS. Glyphosate drift promotes changes in fitness and transgene gene flow in canola (*Brassica napus*) and hybrids [J]. *Ann Bot*, 2010, **106** (6): 957-965
- 38 Hovick SM, Campbell LG, Snow AA, Whitney KD. Hybridization alters early life-history traits and increases plant colonization success in a novel region [J]. *Am Nat*, 2012, **179** (2): 192-203