

综述与进展

Review and Progress

抗除草剂转基因玉米的研究进展

胡海军[✉], 史振声[✉], 钟雪梅[✉]

沈阳农业大学农学院, 沈阳, 110866

✉ 通讯作者: shi.zhensheng@163.com ✉ 作者

分子植物育种, 2012 年, 第 10 卷, 第 26 篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0026

收稿日期: 2012 年 03 月 02 日

接受日期: 2012 年 05 月 11 日

发表日期: 2012 年 06 月 05 日

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放取阅论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

引用格式(中文):

胡海军等, 2012, 抗除草剂转基因玉米的研究进展, 分子植物育种(online) Vol.10 No.26 pp.1185-1190 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0026)

引用格式(英文):

Hu et al., 2012, Research Progress on Herbicide Resistant Transgenic Maize, Fenzi Zhiwu Yuzhong (online) (Molecular Plant Breeding) Vol.10 No.26 pp. 1185-1190 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0026)

摘要 本文介绍了抗草甘膦、抗草丁膦、抗咪唑啉酮和抗稀禾定 4 类抗除草剂基因的来源及其作用机理, 评述了抗除草剂基因导入玉米的主要方法, 并对抗除草剂转基因玉米的应用前景及其安全性问题进行了讨论。

关键词 转基因玉米; 抗除草剂基因; 生物安全

Research Progress on Herbicide Resistant Transgenic Maize

Hu Haijun[✉], Shi Zhensheng[✉], Zhong Xuemei[✉]

College of Agronomy Science, Shenyang Agricultural University, Shenyang, 110866

✉ Corresponding author, shi.zhensheng@163.com; ✉ Authors

Abstract This review introduced the sources and function mechanism of four type herbicide resistant genes that are EPSPS inhibitor resistant gene, acetyl PPT transferase gene, ALS inhibitor resistant gene and ACCase inhibitor resistant gene, and reviewed the main methods of the herbicide-resistant genes introducing into maize. We also discussed the biosafety issues and the future prospects of herbicide resistant transgenic maize.

Keywords Transgenic maize; Herbicide resistant gene; Biosafety

研究背景

玉米是世界三大粮食作物之一(Park et al., 2001), 也是中国种植面积最大的粮食作物, 在粮食生产及社会稳定中具有重要的作用。据报道, 近年来杂草是影响作物产量的主要因素, 每年因杂草而造成的粮食损失约占粮食总产量的 10%~20%, 为减少不必要的损失, 人们广泛研制并推广使用各种除草剂。要安全有效地灭除杂草, 同时又不危害作物的生长发育, 必须选育抗除草剂品种(王宜林和李宏, 2005)。自 1983 年世界上首例抗除草剂转基因作物在美国成功培植以来, 在植物抗除草剂基因作用机理方面的研究取得了较大的进展(吴延军等, 2002, 中国农业通报, 18(4): 71-74)。利用生物技术将抗除草剂基因导入玉米体内并使之表达, 培育抗除草剂转基因玉米品种, 为除草剂的推广应用创造了有利条件。目前, 美国抗除草剂转基因玉米的播种面积

占玉米总播种面积的 30%左右(James, 2012, 中国生物工程杂志, 32(1): 1-14)。抗除草剂转基因玉米是否会给环境、食品和人类健康等带来负面的影响, 备受瞩目。为此, 在大面积推广应用转基因玉米的同时, 我们还需要对其安全性进行更加深入的研究和探讨(程焉平, 2003)。

1 玉米抗除草剂基因来源及其作用机理

研究表明: 所有除草剂的作用机理都是通过对靶酶的抑制或干扰而引起植物代谢过程的异常, 造成杂草的死亡, 而达到除草的目的(Thompson et al., 1987)。目前, 玉米抗除草剂的基因工程主要有三种策略: 一是通过对靶蛋白的修饰作用, 降低其对除草剂的敏感性; 二是通过对靶蛋白的诱导作用, 使其过量表达, 使非抗性玉米能够进行正常的代谢活动而免受除草剂的危害; 三是通过导入具有降解作

用的外来酶或酶系统, 使除草剂在发生作用以前就被降解。表 1 是 4 类(抗草甘膦基因、抗草丁膦基

因、抗咪唑啉酮基因和抗稀禾定基因)抗除草剂基因的基本情况。

表 1 一些已获得并利用了抗除草剂基因

Table 1 Some t of herbicide resistant genes obtained and applied in maize

抗性基因 Resistant genes	基因名称 Gene name	基因来源 Gene origin	所抗除草剂 Target herbicides
<i>Gox</i>	草甘膦氧化——还原基因 Glyphosate redox gene	-	草甘膦 Glyphosate
<i>Aro a</i>	鼠伤寒沙门氏菌 EPSPS 突变基因 Salmonella typhimurium EPSPS mutant gene	Salmonella typhimurium	
	EPSPS 突变基因 EPSPS mutant gene	Escherichia coli Arabidopsis thaliana	
<i>Cp4</i>		Agrobacterium tumefaciens	
<i>Bar (Pat)</i>	PPT-乙酰转移酶基因 PPT-Acetyl transferase gene	Streptomyces hygrosopicus Streptomyces viridochromogenes	草丁膦 Phosphinothricin, PPT
<i>Ilv G</i>	ALS 突变基因	Abrabidopsis thaliana	咪唑啉酮
<i>Gh 90</i>	ALS mutant gene		Imidazolinone
<i>Accl-s2</i>	-	组织培养 Tissue culture	稀禾定 Sethoxydim

1.1 抗草甘膦基因

草甘膦(Glyphosate)属于非选择性有机磷类除草剂, 适用范围广, 能够有效灭除田间七十六种杂草。它的机理是通过抑制植物代谢过程中的莽草酸羟基乙烯转移酶(EPSPS)的活性, 阻断芳香族氨基酸的合成, 使杂草死亡。实现玉米抗草甘膦除草剂有两种策略: 一是应用编码点突变的靶蛋白基因; 二是诱导 EPSPS 酶的过量产生。

研究发现: 大肠杆菌细胞中含有抗草甘膦的 *Aro a* 基因, 该基因可以编码 EPSPS 酶(吴发强等, 2006)。Kisor 等(1995)对大肠杆菌进行组织培养, 在添加草甘膦的培养基上发现一个具有强抗性的 SM-1 突变体, 通过生物技术将 *Aro a* 基因与章鱼碱合成酶或甘露碱合成酶的启动基因导入到烟草中, 从而获得了抗草甘膦的转基因烟草。Comai 等(1985)利用鼠伤寒沙门氏菌的突变体成功克隆出突变基因 *Aro a*, 并在大肠杆菌中成功表达。美国孟山都公司从根癌农杆菌 CP4 中克隆得到具有良好动力学参数的 *Cp4-EPSPS* 基因, 该基因对草甘膦具有较高的抗性(Barry et al., 1992)。目前, *Cp4-EPSPS* 基因已广泛应用于玉米、小麦、棉花等多种植物。采用定点突变技术, 降低玉米体内的 EPSPS 基因敏感性, 获得抗草甘膦除草剂的玉米植株(李敬娜, 2010)。

在不干扰植物正常生长发育的情况下, 将外来

抗草甘膦基因导入到植物体内, 通过降解作用, 保证植物正常的代谢活动, 从而获得抗性植株。Peñaloza-Vazquez 等(1995)从鼻疽假单胞菌中克隆到一个能够降解草甘膦的 DNA 片段, 将该片段导入到大肠杆菌中, 成功获得具有降解草甘膦的菌株。研究证明: 该片段包含两个能够降解草甘膦的 *Gox a* 和 *Gox b* 基因。美国 Monsanto 公司(专利 US5776760)克隆出一个编码草甘膦氧化还原酶结构的基因, 该基因通过对氧化还原酶的作用使 C-N 键裂解, 生成对植物不具危害的 N-乙酰草甘膦和乙醛酸(如图 1), 利用转基因技术将该基因导入到玉米和细菌, 成功获得抗草甘膦的植株(Green et al., 2008)。

1.2 抗草丁膦基因

草丁膦(Phosphinothricin, PPT)属于广谱性磷酸类除草剂, 具有较强的适用范围广, 可以非选择性地触杀杂草, 同时它是萎锈灵除草剂的活性成分。草丁膦除草剂的作用机理是通过抑制玉米体内谷氨酰胺合成酶(GS)的活性, 阻止谷氨酰胺的合成, 造成细胞间氨的迅速积累, 光合器官被破坏, 最终玉米因缺乏甘氨酸而死亡。

抗草丁膦基因主要有两种: 一种是土壤中吸水性链霉菌 *Bar* 基因(White et al., 1990; Wohlleben et al., 1988); 另一种是产色性链霉菌 *Pat* 基因(向文胜等, 1998)。*Bar* 基因与 *Pat* 基因具有 86% 的同源性

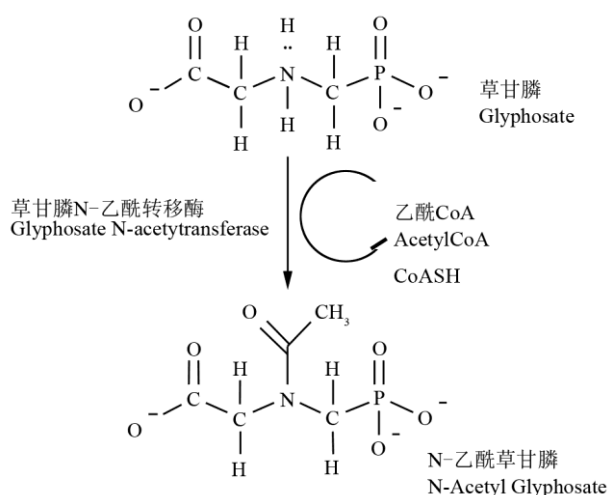


图 1 草甘膦的 N-乙酰转移化反应

Figure 1 The Reaction of Glyphosate N-acetyltransferase

氨基酸序列, 因此两种基因具有相似的催化能力; 两者的基因片段长度分别为 615 bp 和 1 312 bp, 其作用位点也存在很大差异。抗草丁膦基因的作用机理在于: 通过编码草丁膦乙酰转移酶使草丁膦的自由氨基乙酰化(图 2)。Laursen 和 Sawahel 等先后通过转基因技术将 *Bar* 基因导入玉米, 获得抗草丁膦玉米材料。目前, 国内在抗草丁膦玉米方面的研究还不多见, 但也获得了成功。杨慧珍等(2011)通过花粉介导法将 *Bar* 基因(启动子为 CaMV35S)导入玉米自交系黑玉 2 号, 成功获得转基因玉米种子。

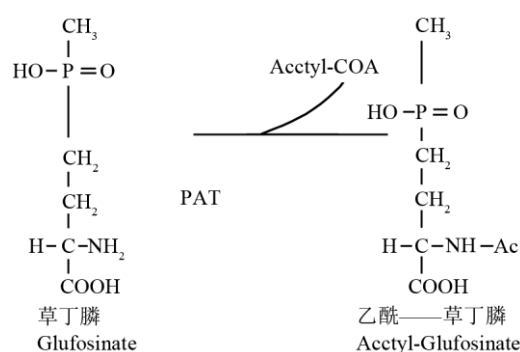


图 2 草丁膦乙酰转移酶的催化反应

Figure 2 The Reaction of Phosphinothricin N-acetyltransferase

1.3 抗咪唑啉酮基因

咪唑啉酮(Imidazolinone)属于一类广谱性的除草剂。它的作用机理是通过抑制乙酰乳酸合成酶(ALS)的活性, 显著地抑制植物细胞的有丝分裂, 产生除草作用。

抗咪唑啉酮玉米始于 1982 年(苏少泉, 2006)。据报道(Dong et al., 1991), 在 *ALS* 基因上具有许能够产生抗咪唑啉酮的突变位点, 具有该突变体的大肠杆菌的抗性比野生型提高了 4 倍。Mazur 等(1987)从拟南芥和烟草株系中成功分离出 *ALS* 基因。徐立华等(2008)通过转基因技术将抗咪唑啉酮基因(*AHAS*)导入齐 319 和鲁原 341 的愈伤组织中, 经检测呈阳性, 并由此自交系获得抗性玉米种子。美国氰氨公司利用基因转化, 推出了抗咪唑啉酮除草剂的玉米杂交种, 其种植面积达近 $1 \times 10^6 \text{ hm}^2$ 。

1.4 抗稀禾定基因

稀禾定(Sethoxydim)是一种高效、低毒, 具有触杀及内吸特性的选择性除草剂。这类除草剂的靶蛋白是乙酰辅酶 A 羧化酶(ACCase), 它所催化的反应是脂肪酸生物合成中的第一步, 通过抑制丙二酸单酰辅酶 A 的合成从而阻碍脂肪酸合成, 起到抑制杂草的作用。

抗稀禾基因(ACCase)最早发现于 1958 年(Wakils, 1958)。赵虎基和王国英(2003)采用根癌农杆菌介导法将 *ACCase* 转入到玉米的三个自交系 178、Z3 和 Z31 的幼胚和愈伤组织, 获得有抗性的植株。郭峰等(2011)利用分子生物技术手段, 进一步明确了 *ACCase* 的作用机理。巴斯夫公司利用转基因技术将 *ACCase* 抗性基因成功转入玉米, 发现该玉米的抗性提高了 10 倍, 从此抗稀禾定除草剂转基因的杂交玉米开始商业化生产。

2 抗除草剂基因导入的主要方法

随着科学技术的迅猛发展, 转基因技术得以不断完善和成熟。目前, 基因枪法、农杆菌介导法、花粉管通道法、PEG 介导法、子房注射法和电击法等基因转化技术均已在玉米上成功应用。但在玉米导入抗除草剂基因中应用最多、效果最好、理论依据较为充分的只有农杆菌介导法和基因枪法。

2.1 农杆菌介导法

农杆菌介导法的优点是: 能够导入较大的 DNA 片段, 单拷贝或寡拷贝外来的基因组, 基因杂合的概率较低, 能够稳定遗传, 并可获得可育性较高的再生植株。Grimsley 等(1987)利用农杆菌介导法将具有条纹病毒的 DNA 片段成功地导入玉米幼苗, 首次证实了农杆菌能够侵染玉米。1999 年, 黄璐和卫志明建立了农杆菌介导遗传转化体系(黄璐和卫志明, 1999)。孙传波等(2010)通过农杆菌介导法成

功地将抗草甘膦基因 EPSPS 转入到玉米自交系 H99 内, 并获得抗除草剂玉米新品种。姚丹等(2004)通过根瘤农杆菌侵染, 将抗除草剂基因导入到玉米自交系的愈伤组织中, 并获得稳定遗传的可再生植株。王秀红等(2011)通过农杆菌介导法将外源抗草甘膦基因 *To* 导入玉米体内, 并稳定地遗传给后代; 同年, 孙传波等(2011)用同样的方法, 将抗草甘膦基因导入玉米自交系郑 58 中, 获得抗除草剂的优良品系。虽然农杆菌介导技术已比较成熟, 但由于玉米并不是农杆菌的天然宿主, 所以基因转化率较低, 这使农杆菌介导法在抗除草剂转基因玉米上的应用受到一定程度限制。

2.2 基因枪法

基因枪法是目前玉米基因转化的主要方法。该方法不受基因型的限制, 具有较广的受体范围。其主要原理是通过基因枪的作用而产生巨大推力, 该推力通过金属微弹将外源基因送入细胞核, 通过整合来实现基因的转化。Klein 等(1989)首次利用基因枪技术将 *Gus* 和 *Pat* 基因导入玉米并成功表达, 得到转基因植株。余桂容等(2010)利用基因枪技术将抗除草剂基因(*2mG2-epsps*)导入玉米自交系 X2211 和 78599 的幼胚愈伤组织, 获得了抗除草剂的转基因植株并得到种子。2007 年, 刘小红通过基因枪法将抗草丁膦基因 *p35SIIH3X* 质粒上的 *Bar* 基因导入了优良玉米自交系 18-599 幼胚诱导的愈伤组织, 并成功表达(刘小红, 2007)。虽然该法目前在玉米的基因转化上应用最为广泛, 但也存在诸多难以克服的问题, 如转化体存在嵌合体, 拷贝的精确度及后代的稳定性均不如农杆菌介导法, 另外基因枪法的设备昂贵等, 没有一定的经济基础难以使用。

2.3 其他转化方法

迄今为止, 直接导入法、花粉管通道法、PEG 介导法等玉米抗除草剂基因的导入方面也有较多的报道, 但这些方法多以玉米的原生质体为受体材料, 导入的外来基因只能瞬时表达, 不能稳定遗传, 由此获得的转基因可育玉米植株就很少或者操作方法缺乏一定的理论依据。

3 抗除草剂转基因玉米的安全性探讨

抗除草剂转基因玉米的大面积推广种植和除草剂的大量使用, 必将对食品安全和生态环境带来或多或少的影响, 对转基因玉米可能存在的风险不断有报道。抗除草剂转基因玉米的安全性问题, 主

要包括两个方面: 一是食品安全性; 二是生态环境的安全性。

3.1 食品安全性

虽然抗除草剂转基因玉米已给人类带来了巨大的经济效益, 但这些玉米是否会危害对人体健康, 是否会对人体健康产生无法预知的潜在风险, 是否会产生致毒或者致敏性的物质等, 即转基因食品的安全性问题, 已备受世人瞩目(程焉平, 2005)。Losey 等(1999)在《Nature》上发表的研究报告指出: 转 *Bt* 基因玉米将危害非靶标鳞翅目昆虫, 尤其是大斑蝶的幼虫。然而, 目前全球已有 23 个国家获得耐除草剂转基因玉米的批准(MON810); 中国已于 2011 年发放了一个转基因玉米的安全证书。但这并不意味着转基因生物是安全的, 与食品安全性相比, 抗除草剂转基因玉米给生态环境带来的负面效应亦不容忽视。

3.2 生态环境的安全性

能够稳定遗传的抗除草剂基因可通过花粉作用, 产生危害更为严重的“超级杂草”(Kling, 1996)。此外, 转基因玉米的抗性基因可能会污染或破坏自然环境中的基因资源, 造成基因的释放和漂移。2001 年, 《Nature》上发表的研究报告指出: 转基因玉米的 DNA 已污染了墨西哥当地的传统玉米品种。该报告引起学术界关于转基因问题的激烈争论, 但问题的实质和“大斑蝶事件”一样发生深思。

4 展望

迄今, 对玉米抗除草剂基因的研究将更加深入, 基因转化技术将日益成熟, 这样抗除草剂转基因玉米的种植面积将不断扩大, 但抗除草剂转基因玉米的应用前景究竟如何则主要取决于转基因玉米的安全性问题能否妥善解决。总之, 生物技术的研发与利用必须立足于社会和生态环境的可持续发展, 切不可“焚林而田, 竭泽而渔”。

致谢

本项目由(十二五)国家科技支撑计划项目, 东北平原南部(辽宁)春玉米水稻持续丰产高效技术集成创新与示范(2011BAD16B12); 辽宁省科技厅重大、重点项目以及玉米高产、优质、多抗新品种选育(011201018)共同资助。

参考文献

Barry G., Kishore G., Padgett S., Taylor M., Kolaez K.,

- Weldon M., Re D., Eiehholtz D., Fincher D., and Hallas L., 1992, Inhibitors of amino acid biosynthesis: strategies for imparting glyphosate tolerance to crop plants, In: Singh B.K., Flores H.E., and Shannon J.C. (eds.), Biosynthesis and Molecular Regulation of Amino Acids in Plants, American Society of Plant Physiology, Rockville, MD, pp.139-145
- Cheng Y.P., 2003, The study and biosafety of herbicide resistant transgenic crops, *Jilin Nongye Kexue (Journal of Jilin Agricultural Sciences)*, 28(4): 23-28 (程焉平, 2003, 抗除草剂转基因作物的研究及其安全性, *吉林农业科学*, 28(4): 23-28)
- Cheng Y.P., 2005, Research and biosafety of transgenic plant for resistance, *Jinlin Shifan Daxue Xuebao (Jilin Normal University Journal (Natural Science Edition))*, 26(3): 82-84 (程焉平, 2005, 植物抗性转基因研究进展及其安全性问题, *吉林师范大学学报(自然科学版)*, 26(3): 82-84)
- Comai L., Facciotti D., Hiatt W.R., Thompson G., Rose R.E., and Stalker D.M., 1985, Expression in plants of a mount *aroA* gene from *Salmonella typhimurium* confers tolerance to glyphosate, *Nature*, 317: 741-744 <http://dx.doi.org/10.1038/317741a0>
- Dong J.Z., Yang M.Z., Jia S.J., and Chua N.H., 1991, Transformation of melon (*Cucumis melo* L.) and expression from the cauliflower mosaic virus 35s promoter in transgenic melon plants, *Nature Biotechnology*, 9: 858-863 <http://dx.doi.org/10.1038/nbt0991-858>
- Green J.M., Hazel C.B., Fomey D.R., and Pugh, L.M., 2008, New multiple herbicide crop resistance and formulation technology to augment the utility of glyphosate, *Pest Management Science*, 64(4): 332-339 <http://dx.doi.org/10.1002/ps.1486> PMID:18069651
- Grimsley N., Hohn T., Davis J.W., and Hohn B., 1987, *Agrobacterium*-mediated delivery of infectious maize streak virus into maize plants, *Nature*, 325: 177-179 <http://dx.doi.org/10.1038/325177a0>
- Guo F., Zhang C.X., Huang H.J., Wei S.H., Zhang M., and Fang F., 2011, Resistance of weed to ACCase-Inhibiting herbicides, 29(3): 1-6 (郭峰, 张朝贤, 黄红娟, 魏守辉, 张猛, 房峰, 2011, 杂草对 ACCase 抑制剂的抗性, *杂草科学*, 29(3): 1-6)
- Huang L., and Wei Z.M., 1999, *Agrobacterium tumefaciens* mediated maize transformation, *Shiyan Shengwu Xuebao (Acta Biologicae Experimentalis Sinica)*, 32(4): 381-389 (黄璐, 卫志明, 1999, 农杆菌介导的玉米遗传转化, *实验生物学报*, 32(4): 381-389)
- Kisor P.B.K., Hong Z., Miao G.H., Hu C.A.A., and Verna D.P.S., 1995, Overexpression of δ -pynoline-5-carboxylate synthetase increase proline production and confer osmotolerance in transgenic plants, *Plant Physiol.*, 108(4): 1387-1394 PMID:12228549 PMCid:157516
- Klein T.M., Kornstein L., Sanford J.C., and Fromm M.E., 1989, Genetic transformation of maize cells by particle bombardment, *Plant Physiol.*, 91: 440-444 <http://dx.doi.org/10.1104/pp.91.1.440> PMID:16667039 PMCid:1062012
- Kling J., 1996, Could transgenic super crops one day breed super weeds? *Science*, 274: 180-181 <http://dx.doi.org/10.1126/science.274.5285.180>
- Li J.N., 2010, Genetic transformation of maize with the glyphosate-resistant gene mediated by *Agrobacterium tumefaciens*, Thesis for M.S., Hainan University, Supervisor: Yuan Q.H., and Zhao J.R., pp.1-44 (李敬娜, 2010, 农杆菌介导的抗草甘膦基因玉米遗传转化研究, 硕士学位论文, 海南大学, 导师: 袁潜华, 赵久然, pp.1-44)
- Liu X.H., 2007, Transformation of *bar* gene and regeneration of phosphinothricin-tolerant plants in maize, *Shenyang Nongye Daxue Xuebao (Journal of Shenyang Agricultural University)*, 38(1): 25-29 (刘小红, 2007, *Bar* 基因的转化及抗草丁膦除草剂转基因玉米植株的获得, *沈阳农业大学学报*, 38(1): 25-29)
- Losey J.E., Rayor L.S., and Carter M.E., 1999, Transgenic pollen harms monarch larvae, *Nature*, 399: 214 <http://dx.doi.org/10.1038/20341> PMID:10353242 <http://dx.doi.org/10.1038/20338> PMID:10353241
- Mazur B.J., Chui C.F., and Smith J.K., 1987, Isolation and characterization of plant genes coding for acetolactate synthase the target enzyme for two classes of herbicides *Plant Physiol.*, 85(4): 1110-1117 <http://dx.doi.org/10.1104/pp.85.4.1110> PMID:16665813 PMCid:1054403
- Park S.H., Park J., and Smith R.H., 2001, Herbicide and insect resistant elite transgenic rice, *Journal of Plant Physiology*, 158(9): 1221-1226 <http://dx.doi.org/10.1078/0176-1617-00426>
- Peñaloza-Vazquez A., Mena G.L., Herrera-Estrella L., and Bailey A.M., 1995, Cloning and sequencing of the genes involved in glyphosate utilization by *Pseudomonas pseudomallei*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 61(2): 538-543 PMID:7574593 PMCid:167315
- Su S.Q., 2008, The development and future of imidazolinone herbicide-resistant crops, *Xiandai Nongyao (Modern Agrochemicals)*, 5(1): 1-4 (苏少泉, 2006, 抗咪唑啉酮类除草剂作物的发展与未来, *现代农药*, 5(1): 1-4)
- Sun C.B., Ma P.D., Tao R., Guo J., Li H.H., Meng F.M., Qu W.L., Liu W.G., Liu D.P., and Yuan Y., 2010, Study on *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation of

- EPSPS gene into maize inbred line, *Yumi Kexue (Journal of Maize Sciences)*, 18(6): 24-26, 30 (孙传波, 麻鹏达, 陶蕊, 郭嘉, 李海华, 孟凡梅, 曲文利, 刘文国, 刘德璞, 袁英, 2010, 农杆菌介导法将抗草甘膦基因 EPSPS 转入玉米自交系的研究, *玉米科学*, 18(6): 24-26, 30)
- Sun C.B., Li H.H., Guo J., Tao R., Qu W.L., Meng F.M., Zhang R.J., Liu W.G., and Yuan Y., 2011, Study on *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation of EPSPS gene into shoot apical point of maize, *Shengwu Jishu Tongbao (Biotechnology Bulletin)*, 3: 91-94 (孙传波, 李海华, 郭嘉, 陶蕊, 曲文利, 孟凡梅, 张举仁, 刘文国, 袁英, 2011, 农杆菌介导法向玉米茎尖导入抗草甘膦 EPSPS 基因的研究, *生物技术通报*, 3: 91-94)
- Thompson C.J., Movva N.R., Tizard R., Cramer R., Davies J.E., Lauwereys M., and Botterman J., 1987, Characterization of the herbicide resistance gene bar from *Streptomyces hygroscopicus*, *EMBO J.*, 6(9): 2519-2523 PMID:16453790 PMCid:553668
- Wakils S.J., 1958, A malonic acid derivative as an intermediate in fatty acid synthesis, *J. Am. Chem. Soc.*, 80(23): 6465 <http://dx.doi.org/10.1021/ja01556a086>
- Wang X.H., Shi X.Y., Bai J.R., Sun Y., and Liu H.M., 2011, Transformation and Genetic Analysis of Maize with the Glyphosate-resistant Gene, *Huabei Nongxuebao (Acta Agriculturae Boreali-Sinica)*, 26(1): 117-121 (王秀红, 史向远, 白建荣, 孙毅, 刘惠民, 2011, 抗草甘膦基因的玉米转化及后代遗传分析, *华北农学报*, 26(1): 117-121)
- Wang Y.L., and Li H., 2005, Study on the anti-herbicide transgenic plant, *Shengwuxue Tongbao (Bulletin of Biology)*, 40(4): 15-17 (王宜林, 李宏, 2005, 抗除草剂转基因植物的研究现状, *生物学通报*, 40(4): 15-17)
- White J., Chang S.Y., Bibb M.J., and Bibb M.J., 1990, A Cassette containing the bar gene of streptomyces hygroscopicus: a selectable marker for plant transformation, *Nucleic Acids Res.*, 1990, 18(4): 1062 <http://dx.doi.org/10.1093/nar/18.4.1062> PMID:2315036 PMCid:330379
- Wohlleben W., Arnold W., Broer I., Hillemann D., Strauch E., and Pühler A., 1988, Nucleotide sequence of the phosphinothricin N-acetyltransferase gene from streptomyces viridochromogenes Tü494 and its expression in nicotiana tabacum, *Gene*, 70(1): 25-37 [http://dx.doi.org/10.1016/0378-1119\(88\)90101-1](http://dx.doi.org/10.1016/0378-1119(88)90101-1)
- Wu F.Q., Wang S.Q., Li S.C., Zhang K.Z., and Li P., 2006, Research progress on herbicide resistant transgenic rice and its safety issues, *Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 4(6): 846-852 (吴发强, 王世全, 李双成, 张楷正, 李平, 2006, 抗除草剂转基因水稻的研究进展及其安全性问题, *分子植物育种*, 4(6): 846-852)
- Xiang W.S., Xiao Z.P., and Zhao C.S., 1998, Herbicide resistant transgenic crops, *Dongbei Nongye Daxue Xuebao (Journal of Northeast Agricultural University)*, 29(2): 201-208 (向文胜, 肖振平, 赵长山, 1998, 抗除草剂转基因作物, *东北农业大学学报*, 29(2): 201-208)
- Xu L.H., Yin W.J., Zhou Z.F., Xu F.Z., Zhang J.R., and Xing Y.J., 2008, Study on the development of transgenic maize plants by bombardment transformation, *Yumi Kexue (Journal of Maize Sciences)*, 16(2): 22-25 (徐立华, 阴卫军, 周柱华, 许方佐, 张举仁, 邢燕菊, 2008, 基因枪法获得玉米转基因植株的研究, *玉米科学*, 16(2): 22-25)
- Yang H.Z., Che L., Ren Z.Q., and Xiao J.H., 2011, Study on DNA isolation methods and PCR detection of transgenic maize resistant to glufosinae, *Shanxi Nongye Kexue (Journal of Shanxi Agricultural Sciences)*, 39(9): 925-927 (杨慧珍, 车丽, 任志强, 肖建红, 2011, 抗草丁膦转基因玉米不同 DNA 提取方法及 PCR 检测, *山西农业科学*, 39(9): 925-927)
- Yao D., Wang P.W., Liu Z.Z., Hao W.Y., and Guan S.Y., 2004, Maize embryogenic calli transformation and resistance to herbicide basta and plant regeneration, *Yumi Kexue (Journal of Maize Sciences)*, 12(3): 33-35 (姚丹, 王丕武, 刘占柱, 郝文媛, 关淑艳, 2004, 玉米愈伤组织的遗传转化和对草丁膦抗性及植株再生的研究, *玉米科学*, 12(3): 33-35)
- Yu G.R., Du W.P., Song J., Dou Q., Liu Y.S., Lu W., and Xu L.Y., 2010, Transformation of tolerant-glyphosate 2mG2-epsps gene by maize shoot tip and identification of resistance, *Xinan Nongye Xuebao (Southwest China Journal of Agricultural Science)*, 23(5): 1403-1408 (余桂容, 杜文平, 宋军, 窦茜, 刘永胜, 陆伟, 徐利远, 2010, 通过玉米茎尖转化耐草甘膦基因 2mG2-epsps 及抗性鉴定, *西南农业学报*, 23(5): 1403-1408)
- Zhao H.J., and Wang G.Y., 2003, Molecular biology and gene engineering of plant Acetyl-CoA carboxylase, *Zhongguo Shengwu Gongcheng Zazhi (Journal of Chinese Biotechnology)*, 23(2): 12-16 (赵虎基, 王国英, 2003, 植物乙酰辅酶 A 羧化酶的分子生物学与基因工程, *中国生物工程杂志*, 23(2): 12-16)