

国内外转基因作物产业化的比较

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: 当前, 全球转基因作物研发和产业化迅猛发展, 创造了巨大的经济、社会和生态效益。转基因作物产业化发展的快慢, 是关系到我国农业可持续发展和提高农产品国际竞争力的重大问题。就国内外转基因作物的产业化进行了优劣比较, 并从影响转基因作物产业化的技术瓶颈和安全性监管两方面进行了探讨。

关键词: 转基因作物, 产业化, 国内外比较

Comparison of Commercialization of Transgenic Crops in China and World-Wide

Xujing Wang, and Shirong Jia

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

Abstract: currently, transgenic crops create huge economic, social and ecological benefits with the development of its commercial production. For China, the speed of development and commercialization of transgenic crops is a strategic issue for the sustainable agriculture development and the international competitiveness of our agricultural products. In this paper, we compared and analyzed the status of commercialization of transgenic crops in China and world-wide.

Keywords: transgenic crops, commercialization, comparison between China and world-wide

据国际农业生物技术应用服务组织(ISAAA)的资料, 1996 年全球转基因作物首次商业化种植 170 万公顷, 2006 年增加到 1.02 亿公顷, 11 年间增长 60 倍, 累计种植面积达 5.766 亿公顷, 相当于美国或中国的总面积, 或英国土地面积的 25 倍。种植的国家亦从 1996 年的 6 个增加到 2006 年的 22 个。22 个种植转基因作物国家中, 发展中国家和工业化国家各为 11 个^[1,2]。转基因作物技术成为迄今作物技术中发展最快的一项技术。11 年中, 转基因作物的广泛应用创造了巨大的经济、社会和生态效益。尽管近年来国际上对转基因作物的安全性存在争论, 但

全球种植面积每年仍以两位数增长, 发展趋势不可逆转, 相信这一农业高新技术必将对今后农业的可持续发展作出更大的贡献。

为分析转基因作物产业化发展现状, 总结经验教训, 本文就国内外的优劣势进行了比较, 并从影响其发展的技术瓶颈和安全性监管两方面进行了探讨。

1 产业化发展分析

1.1 总体分析

上世纪 80 年代, 我国曾是最早大面积种植转基因烟草的国家。1997 年起我国转基因作物的种植面

Received: September 19, 2007; Accepted: November 15, 2007

Supported by: the National Natural Science Foundation of China (No. 70333001).

Corresponding author: Shirong Jia. Tel: +86-10-62130143; Fax: +86-10-62130148; E-mail: srjia@126.com

国家自然科学基金项目(No. 70333001) 资助。

积多年处于世界第四位,但自2003年起降为第五位,至2006年又降为第六位。转基因作物种植面积占全球转基因作物总面积较大的国家依次为美国(54.6%)、阿根廷(18.0%)、巴西(11.5%)、加拿大(6.1%)、印度(3.8%)、中国(3.5%)。印度从2002年起开始种植抗虫棉,比我国晚六年,却在短短的几年中种植面积跃升为第五位,2006年种植面积比上一年猛增了两倍(192%)^[1,2]。这一发展态势特别值得引起我们深思和重视,近年转基因作物产业化速度相对落后已经成为制约我国该领域整体发展的主要矛盾。

与世界转基因作物产业发展相比,我国在创新能力、投资强度、产业规模、市场竞争能力和市场份额上与发达国家差距明显。具体表现在科研成果原创性少;研发资金投入不足、融资渠道狭窄;缺乏拳头产品和实力强大的龙头企业;产业发展的外部环境,如政策、法规、市场机制不完善,上游研究与下游成果转化、产业化脱节。大宗农作物中只有转基因抗虫棉实现了产业化。

1.2 转基因作物种类分析

目前全球种植的转基因作物主要是大豆、玉米、棉花和油菜。2006年,转基因大豆约为5860万公顷,占全球转基因作物总种植面积的57%,居首位。其次是转基因玉米(2520万公顷,占25%)、转基因棉花(1340万公顷,占13%)和转基因油菜(480万公顷,占5%)^[1]。

1.2.1 转基因棉花

抗虫棉是我国研究开发最为成功、目前唯一实现大规模产业化的转基因作物,我国是继美国之后第二个拥有抗虫棉自主知识产权的国家。2006年我国Bt转基因棉花的种植面积达400万公顷,占棉花种植总面积的75%。棉农由于农药和用工减少、产量增加,累计增收节支约166亿元人民币。棉田剧毒农药的使用量减少75%~80%,按调查数据估算,全国农药使用量至少减少48万吨,从而大大减少了对土壤、水体、饮用水的污染和农药中毒事故的发生。据农业部最新统计,河北、山东、河南、安徽等棉花主产省的抗虫棉种植率几乎达到100%^[3]。国产抗虫棉的发展还为我国棉花种业和公司的发展奠定了基础,开始走出国门,参与国际市场竞争。

1.2.2 转基因水稻

水稻是最重要的粮食作物,也是世界上13亿贫困民众的主要粮食作物。转基因水稻研究一直受到

国际重视,进展显著。美国已批准222项转基因水稻田间试验和3项转基因抗除草剂水稻商业化应用。2007年5月中旬美国农业部又批准了Ventra Bioscience公司转溶菌酶、乳铁蛋白、人血清白蛋白基因的水稻在Kansas州Junction县种植。这三种蛋白常见于人奶中。该公司计划将表达这些蛋白的水稻种子开发成饮料,用于治疗腹泻和作为贫血病人的营养品^[4]。2005年,伊朗批准种植了大约4000公顷转Bt基因水稻,抢先拉开了商业化种植转基因水稻的序幕^[2]。转基因水稻的应用将对联合国在2015年之前将贫困、饥饿和营养不良人群减少50%的千年发展目标做出贡献。

我国“863”等多个科技计划投入数亿元资金开展转基因水稻研究,近十年间发展迅速,总体上已达到国际先进水平。结合我国在水稻杂交育种方面的优势,抗虫、抗病、品质改良的转基因水稻育种在国际上具有较强的技术优势,有多个实验室建立了转基因水稻育种体系,育成一批抗病虫性好、产量高、品质优的转基因水稻品系。经农业部批准已有236项转基因水稻进行了田间试验(包括中间试验、环境释放和生产试验)。自2000年以来,农业部先后受理了8项转基因水稻的产业化申请,完成了一系列环境安全和食品安全性评价,获得了大量科学的、具有说服力的实验证据,未发现转基因抗病虫水稻对人类健康和生态环境有任何不良作用,产业化前期准备工作已经基本就绪。一旦获准生产应用,将成为继抗虫棉后第二个具有巨大显示度和产业化前景的转基因作物。

1.2.3 转基因玉米、大豆、油菜

转基因玉米、大豆、油菜的研发和产业化,我国处于明显的劣势地位。以转基因玉米为例,国外产业化迅猛发展,研发势头强劲,全球种植面积稳步增加,从1996年的30万公顷增加到2005年的2120万公顷,占玉米种植总面积的14%,涉及抗虫、抗除草剂、抗虫+抗除草剂复合性状三类,其中抗虫1130万公顷,抗除草剂340万公顷,复合抗性650万公顷^[2]。值得指出的是,世界85%的转基因玉米在美国种植。转基因玉米一般增产5%~8%,给美国带来了巨大的经济效益,2003年节本增效值高达2.8亿美元。目前,全球转基因玉米市场价值约19.1亿美元,占转基因作物市场价值的36%。

当今具有复合性状的转基因玉米研究势头强劲,

专用品种日渐增多。巨大的市场前景引起世界各国高度重视, 纷纷投入巨资加快转基因玉米的研发, 并呈现出以稳产、增值为主线的发展态势。在抗虫、抗除草剂等节本减灾(稳产性状)第一代产品大面积应用的基础上, 以专用、高效为特点的新品种也陆续推出。以改良品质等增值性状为特征的第二代产品, 如高油、高蛋白、高氨基酸专用玉米也已基本成熟, 开发医药、工业、能源等新用途及多基因复合的产品正成为热点。

我国转基因玉米技术体系已初步建立, 在国家十五“转基因植物研究与产业化专项”的支持下, 建立了国家转基因植物中试与产业化基地(吉林), 初步具备了玉米规模化转化和中试的能力。截止目前, 全国已获得一批转基因自交系和杂交品系, 包括抗虫、高赖氨酸、高蛋白质、植酸酶等性状。虽然这些玉米已进入环境释放或生产性试验, 但与国外相比还有较大差距, 迄今尚未批准生产应用, 产业竞争处于劣势。

国内转基因大豆和油菜的研发比转基因玉米更为迟后, 迄今未见到有明显应用前景的产品可作为产业化的首选。近年来我国大豆生产远远不能满足市场需求, 每年都需大量进口, 2005 年进口转基因大豆达 2650 万吨, 远远超出我国大豆的总产量, 加强国内研发已刻不容缓。

1.3 未来转基因作物产品分析

1.3.1 第一代转基因作物替代产品

目前商业化种植的主要是抗除草剂和转 Bt 基因的抗虫作物。Bt 转基因作物的大规模长期应用, 有可能使靶标害虫对 Bt 转基因作物产生抗性。为预防和延缓昆虫对 Bt 蛋白产生抗性, 除采用高剂量和“庇护所”(refuge)策略外, 用两个或几个杀虫机制不同的基因同时转入作物, 可大大延缓害虫产生抗性的速度^[5]。研究发现, 由于鳞翅目害虫中肠道细胞上存在着不同的 Bt 蛋白受体, 只要 2 个基因选择得当, 害虫对不同 Bt 蛋白不存在交互抗性, 便可有效地延缓害虫对转基因作物产生抗性的时间。目前广泛种植的保铃棉(Bollgard)中含有 Bt *Cry1A(c)* 基因, 为延缓棉铃虫对 Bt 产生抗性, 孟山都公司已同时将两个 Bt 抗虫基因(*Cry1A(c)* 和 *Cry2Ab2*)导入棉花, 推出了第二代保铃棉(Bollgard II)^[6]。Bollgard II 不仅具有更好的抗虫性, 而且理论上可大大延缓棉铃虫对 Bt 棉

产生抗性的时间。这是第一代产品替代品的典型例子。

就我国而言, 在长江流域和黄河流域棉区种植抗虫棉时不需设置“庇护所”, 因为农户的田块面积小, 转基因抗虫棉常与玉米、大豆、花生等作物插花种植, 形成天然“庇护所”。研究结果表明, 在华北棉区, 70% 的第四代棉铃虫在玉米上生存, 玉米成为很好的天然“庇护所”, 可以大大降低对棉铃虫的选择压。但在新疆棉区, 由于棉花是规模化种植, 必须种植非转基因棉作为“庇护所”, 以延缓棉铃虫对 Bt 蛋白产生抗性。但无论是长江流域、黄河流域或新疆棉区, 都有一个如何延缓棉铃虫对 Bt 棉产生抗性的问题。如何设计国产第二代抗虫棉已成为目前必须解决的紧迫问题。

1.3.2 第二代转基因作物新产品

第一代转基因作物主要是抗虫、抗病、抗除草剂。这类性状称为“输入性状”, 转入基因的功能是改良农艺性状, 得益的是农民和开发商。第二代转基因作物将不断开发“输出性状”, 重点在改良品质, 增加营养, 或使食品具有医疗保健功能, 或用作环保和工业原料, 从而大幅度增加农副产品的附加值, 并使消费者直接得益, 预计将更会受到消费者的欢迎。如富含维生素 A 的金米稻, 高赖氨酸或高油玉米, 高油酸大豆, 预防龋齿、骨质疏松、糖尿病和畜禽疾病等的药物、疫苗、抗体, 以及生产可降解塑料等的转基因植物等等。目前国际上这类产品的研发速度极快, 已有多种医用蛋白、抗体、疫苗在植物、植物悬浮细胞中表达, 有的处于临床 I 期、II 期试验阶段, 有的已进入 III 期临床试验, 美国利用玉米种子表达抗生物素蛋白已于 1997 年批准商品化。

我国也已开展第二代转基因产品的研究, 并取得了一定进展。如中国农科院生物技术所利用油菜油体表达体系生产鲑鱼降钙素, 表达水平达种子总蛋白的 6.47%, 鲑鱼降钙素在临床上用于治疗骨质疏松症和骨痛已 30 多年。该所还研制出高效表达植酸酶基因的玉米, 表达活性可满足饲料生产的需要, 安全性评价已进入生产性试验阶段。不少单位还在高油油菜、畜禽疫苗、农用酶制剂、可降解塑料等方面开展了大量研究, 取得了可喜进展。但从总体上说, 我国这方面的研究无论在广度和深度上都与国外有很大的差距, 跟踪的多, 创新和突破少, 严格讲还处于起步阶段。

2 我国转基因作物产业化中需要重视的两个问题

影响我国转基因作物产业化的因素很多,包括源头创新、体制机制、资金投入、公司和市场培育、监管政策和评价体系等等,全面分析需要做深入的调查研究和数据分析,否则难免挂一漏万。近年来,我国转基因作物的国际排位不断下降,新批的转基因作物很少,产业化速度有所减慢。除诸多影响因素外,我们认为当前有两个问题(技术和监管)值得重视,以下仅就技术和监管两个层面加以分析,提出一些粗浅看法,与业内同行讨论商榷。

2.1 技术层面

在国际国内文献中,新发现的功能基因与日俱增,经初步鉴定,一批抗病、抗虫、抗非生物逆境、品质改良的基因确有效果,但由于表达量低,尚达不到生产应用要求。另一方面,人们担心外源基因漂流可能对环境 and 食品安全产生潜在风险,如何从生物学措施上根本杜绝或减少基因漂流是亟待解决的问题。以上两点已成为转基因作物能否迅速产业化的技术瓶颈。

纵观过去 20 年的作物转基因技术,虽然在核基因组中提高表达量的方法和技术很多,都值得进一步研究,但从应用角度讲多数情况下还不能满足要求。近年来叶绿体基因组转化技术的进步,显示其具有巨大的应用前景,是一个能伞状辐射到农艺性状改良和用植物生物反应器生产各种药物、疫苗、抗体、功能食品和工业、环保产品的通用核心关键技术。

一个植物细胞中约含 100 个叶绿体,每个叶绿体中约含 100 个相同的叶绿体基因组,因此单个基因在一个植物细胞中就达 10000 倍^[7],在高等植物细胞中在两个倒置重复区中编码基因的拷贝数可达 20000 个,导致基因的高量表达^[8]。如在烟草叶绿体中表达 Bt 杀虫蛋白 Cry2Aa2,表达量占叶片总可溶性蛋白的 46%,其抗性可真正达到高剂量策略,能杀死耐受 40000 倍杀虫蛋白浓度的抗性昆虫^[9]。表达 *badh* (甜菜碱醛脱氢酶)基因的叶绿体转基因胡萝卜植株能耐 400 mmol/L NaCl,相当于盐生植物^[10]。表达海藻糖磷酸盐合酶 *TPS1* 基因的叶绿体转基因植株抗旱性明显提高,可在 3%和 6% PEG 上生长,干旱 24 天后复水可恢复,海藻糖的积累量比核转化提高 17~25 倍^[11]。表达抗草甘膦除草剂的 *EPSPS* 基因,表达量比核基因组转化提高 250

倍^[12]。表达医药用和工业用蛋白、抗体、疫苗等的叶绿体转基因植株均取得了表达量明显高于核基因组转化的结果^[8]。

叶绿体转化系统还具有便于外源基因定点整合、导入性状稳定性高和安全性好、直接表达原核基因等优点。特别是叶绿体转化产生的转基因植物,基因漂流的风险远低于核基因组转化的植物,因为大多数植物中的质体 DNA 都是母系遗传,可避免作物与作物、作物与相关野生种或杂草之间的杂交^[13]。同时花粉中也不会有叶绿体基因编码的蛋白,不会对以花粉为食物的昆虫产生影响^[14]。

迄今已完成了 35 种作物叶绿体基因组的全序列测定,包括烟草、水稻、玉米、棉花、马铃薯等,这些研究结果为开展叶绿体遗传转化及应用开发奠定了基础^[15]。目前国际上已在烟草(包括野生烟草 *Nicotiana glauca*)、拟南芥、番茄、马铃薯、油菜、白菜、生菜、花椰菜、红辣椒、胡萝卜、矮牵牛、金盏菊(marigold)、大豆、水稻、棉花、杨树等植物叶绿体转化上获得成功^[15],国内除在烟草和水稻^[16]上开展了一些工作外,总体上还是空白。特别需要强调的是:(1)完善的叶绿体转基因技术平台在我国尚未建立;(2)更无实战可用于改良农艺性状和生产药用和工业用蛋白的技术体系。国外已用玉米等粮食作物作为生产药用蛋白、疫苗、抗体的生物反应器,我国尤其应重视建立水稻的叶绿体转化体系,用于开发新产品;(3)在限控基因漂流方面,迫切需建立叶绿体转基因技术。以油菜为例,由于油菜异交率高,花粉扩散最远可达 3 公里,我国油菜种植区又存在较多的易与油菜杂交的近缘种和杂草,种植核基因组转化油菜有可能会因花粉扩散而带来农业生态环境和食品安全风险。

要让转基因产品被公众接受,最好的办法是从根本上杜绝基因漂流,保障环境和食品安全。

目前防止和减少转基因漂流的技术,主要是采取时空隔离(距离隔离、花期隔离)、摘除花器或限制开花、雄性不育等。这些可称为减少基因漂流的现有技术。时空隔离已进行了许多研究,如明确不同作物的最大基因漂流距离,提出相应的距离和花期隔离措施。雄性不育虽可使转基因作物不产生花粉,可有效地用于不需采收种子的植物如林木、花卉等,但对生产上应用杂交种的作物如杂交水稻而言,该法仍不能避免基因漂流,因为即便用于配制杂交种的母本不产

生花粉, 但杂种 F_1 在大面积生产中仍将有花粉飘出。因此总体上说, 以上现有技术只能减少基因漂流, 并不能从根本上解决基因漂流问题。探索研究用生物学限控措施(biological containment)防止基因漂流的新一代技术, 已成为国际研究的热点和前沿课题, 它不仅是一项为发展新一代技术的基础研究, 而且对进一步促进和推动转基因作物的产业化具有重要意义。

目前国际上基于分子生物学技术提出的生物学限控措施包括: 母性遗传(叶绿体转化)、细胞质雄性不育和恢复基因(cytoplasmic male sterility and restorer genes)、合子胚败育(apoptosis, 将合子胚败育基因与 RNAi 技术联合使用, 使转基因在转入非目标作物后合子胚败育)、孤雌生殖或无融合生殖(apomixis)、闭花授精(cleistogamy)、基因拆分(split gene approach)、减弱基因漂流(transgenic mitigation, 同时转入调节适应性的基因, 如控制株高、落粒、休眠、弱势、杂种致死的基因)、以及外源基因去除技术(美国康涅狄格大学华裔生物学教授李义领导的研究小组经过近 6 年不断探索, 成功地将转基因植物中的外源基因从花粉和种子中去除)等^[17-19], 所有这些设想和技术路线都只是在起步和探索阶段, 有的虽然已证明在模式植物上有一定的可行性, 但至今仍未有效地应用于重要农作物中。

叶绿体转化能有效控制基因漂流已在不同作物上得到验证, 包括油菜、烟草、番茄等^[20-24], 显示出诱人的应用前景, 但因目前大部分作物尚未建立起叶绿体转化体系而使其应用受到限制。因而有必要加强此方面的研究。

2.2 转基因作物的安全监管政策与评价体系

转基因作物的研发已经历了技术成熟期(上世纪 80 年代中期至 1996 年)和产业发展期(1997 年至今), 对我国而言, 目前已进入重大的战略抉择期, 采取何种产业政策和监管政策至关重要。在全球经济进一步一体化的大背景下, 反思政策取向, 与时俱进, 在保障安全的前提下, 采取积极的促进转基因作物产业化的政策已成为当务之急。

美国是世界农产品的生产和出口大国, 为维持其垄断地位, 对转基因作物的监管采取相对开放的政策, 即以产品为基础评价转基因作物的安全性, 只要转基因最终产品与非转基因市售传统产品一样安全, 便批准其产业化, 因而其发展速度最快。相反, 欧盟为维护自身利益, 限制美国农产品进口, 采取了以技术为基

础的评价和监管政策, 即首先假定转基因技术有风险, 采取抵制转基因产品的政策, 甚至一度禁止转基因作物的种植, 其后果是, 国内的技术和产品开发受到极大影响, 至今尚无一例自己研发的转基因作物产品上市。回顾和总结十几年来美国和欧盟的经验教训, 采取两种不同政策的后果是: “强者恒强, 弱者更弱”。

国际上关于转基因作物产品安全性的争论始于 1998~1999 年。英国普兹太事件和美国斑蝶事件是争论的导火索。这两个报告都已被随后的科学研究所否定^[25]。其后又发生了所谓加拿大“超级杂草”事件、墨西哥玉米事件、中国抗虫棉“破坏环境”事件等国际性争论, 所有这些都已有明确的科学结论^[26]。国际转基因作物推广应用十几年来, 没有发现一例环境和食品安全事故^[27]。因此争论的起因虽始于科学层面, 但本质上讲并不是科学问题。说到底, 是以美国为首的农产品出口国和欧盟为代表的农产品进口国之间的较量和对抗。

我国自 1997 年实施转基因作物安全评价监管以来已有 10 年历史, 积累了丰富的经验和大量科学数据, 安全监管体系已基本形成, 对研究、试验、生产、经营、加工和进出口活动实施了全过程管理。随着国际形势的发展和国内经验的积累, 有必要重新审视和修订具体的评价办法和监管细则, 以进一步推动和促进我国转基因作物产业化发展。

目前我国转基因作物的安全评价需经过试验研究、中间试验、环境释放、生产性试验和安全证书五个阶段, 得到的安全证书只允许一个品种在一个省应用, 跨省和跨生态区应用需重新申请, 相似的转化体或姊妹系需从头评价, 走完中间试验、环境释放、生产性试验和申请安全证书的全过程。这无形中延缓了转基因作物的产业化进程, 增加了监管成本。建议今后将安全评价的对象由品种改为转化体; 将中间试验、环境释放和生产性试验三个阶段融为一体(评价内容不变); 像基因工程药物的监管一样, 批准的安全证书应全国通用(特殊的环境安全性考虑除外); 获得安全证书的转化体因与常规品种材料一样安全, 宜“取消监控状态”, 在常规育种项目中应用。

此外, 随着转基因技术的发展, 未来多基因转化和基因叠加将是一种趋势, 复合性状的转基因品种将愈来愈多, 新一代产品如营养和功能食品、医药、工业、能源、环保等用途的转基因作物将应运而生, 如何科学地评价和制定监管措施、程序等也

是面临的一个新问题,需遵循个案分析的原则,建立科学的评价方法和监管体系。

REFERENCES

- [1] James C. Global status of commercialized Biotech/GM crops: 2006. International service for the acquisition of agri-Biotech applications (ISAAA). <http://www.isaaa.org/kc/cropbiotechupdate/2007/01/18.html> (2007-08-30).
- [2] Graham B, Peter B. GM Crops: The first ten years - global socio-economic and environmental impacts. <http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/36/download/isaaa-brief-36-2006.pdf> (2007-08-30).
- [3] Zhang XQ. Yearbook of Chinese high-tech industries development. Beijing: Ligong University Press, 2006, 155-160.
张晓强. 中国高技术产业发展年鉴. 北京: 理工大学出版社, 2006, 155-160.
- [4] USDA approves GM rice in Kansas. The news is available at <http://www.agriculture.com/ag/futuresource/FutureSourceStoryIndex.jhtml?storyId=91800608> and <http://www.nature.com/news/2007/070514/full/070514-17.html> (2007-08-30).
- [5] Jia SR, Guo SD, An DC. Transgenic Cotton. Beijing: Science Press, 2001, 219-224.
贾士荣, 郭三堆, 安道昌. 转基因棉花. 北京: 科学出版社, 2001, 219-224.
- [6] *Bacillus thuringiensis* Cry2Ab2 protein and the genetic material necessary for its production in cotton (006487) Fact Sheet. http://www.epa.gov/oppbpd1/biopesticides/ingredients/tech_docs/brad_0... [2007-08-30].
- [7] Bendich AJ. Why do chloroplasts and mitochondria contain so many copies of their genome? *BioEssays*, 1987, 6: 279-282.
- [8] Ye GN, Hajdukiewicz PT, Broyles D, Rodriguez D, Xu CW, Nehra N, Staub JM. Plastid-expressed 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase genes provide high level glyphosate tolerance in tobacco. *Plant J*, 2001, 25(3): 261-270.
- [9] De Cosa B, MoarW, Lee SB, Miller M, Daniell H. Overexpression of the Bt cry2Aa2 operon in chloroplasts leads to formation of insecticidal crystals. *Nature Biotechnology*, 2001, 19: 71-74.
- [10] Kumar S, Dhingra A, Daniell H. Plastid-expressed betaine aldehyde dehydrogenase gene in carrot cultured cells, roots, and leaves confers enhanced salt tolerance. *Plant Physiol*, 2004, 136: 2843-2854.
- [11] Lee SB, Kwon HB, Kwon SJ, Park SC, Jeong MJ, Han SE, Byun Mk, Daniell H. Accumulation of trehalose within transgenic chloroplasts confers drought tolerance. *Mol Breed*, 2003, 11: 1-13.
- [12] Grevich JJ, Daniell H. Chloroplast genetic engineering: recent advances and future perspectives. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2005, 24: 83-107.
- [13] Heifetz P. Genetic engineering of chloroplast. *Biochemical*, 2000, 82: 655-666.
- [14] Lawrence B. Engineering chloroplasts: an alternative site for foreign genes, proteins, reactions and products. *Tibtechnology*, 2000, 18: 257-263.
- [15] Verma D, Daniell H. Chloroplast vector systems for biotechnology applications. *Plant Physiology*, 2007, 145: 1129-1143.
- [16] Li YN, Sun BY, Su N, Meng XX, Zhang ZF, Shen GF. Establishment of a gene expression system in rice chloroplast and obtainment of PPT-resistant rice plants. *Acta Agricultra Sinica*, 2007, 40(9): 1849-1855.
李轶女, 孙丙耀, 苏宁, 孟祥勋, 张志芳, 沈桂芳. 水稻叶绿体表达体系的建立及抗 PPT 叶绿体转化植株的获得. 中国农业科学, 2007, 40(9): 1849-1855.
- [17] Ma SM, Wang YF. Molecular strategies for decreasing the gene flow of transgenic plants. *Hereditas*, 2004, 26(4): 556-559.
马三梅, 王永飞. 降低转基因植物外源基因扩散的分子策略. 遗传, 2004, 26(4): 556-559.
- [18] Qian HF, Chen ZH, Fu J. The molecular strategy advancement in control of transgene escape from genetically modified plants (GMP). *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2004, 16(5): 288-291.
钱海丰, 陈哲皓, 傅杰. 控制转基因植物中基因逃逸的分子策略. 生命科学, 2004, 16(5): 288-291.
- [19] Luo KM, Duan H, Zhao DG, Zheng XL, Deng W, Chen YQ, Neal SJ, Richard M, Jiang XN, Wu YH, He AG, Pei Y, Li YL. 'GM-gene-deletor': Fused loxP-FRT recognition sequences dramatically improve the efficiency of FLP or CRE recombinase on transgene excision from pollen and seeds of tobacco plants. *Plant Biotechnology Journal*, 2007, 5(2): 263-274.
- [20] Scott SE, Wilkinson MJ. Risks of transgene escape from transplastomic oilseed rape. *Nature Biotechnology*, 1999, 17: 390-392.
- [21] Daniell H, Datta R, Varma S, Gray S, Lee SB. Containment of herbicide resistance through genetic engineering of the chloroplast genome. *Nature Biotechnology*, 1998, 16: 345-348.
- [22] Ruf S, Hermann M, Berger I J, Carrer H, Bock R. Stable genetic transformation of tomato plastids and expression of a foreign protein in fruits. *Nature Biotechnology*, 2001, 19: 870-875.
- [23] Daniell H. Molecular strategies for gene containment in transgenic crops. *Nature biotechnology*, 2002, 20(1): 581-586.
- [24] Daniel H. Environmentally friendly approaches to genetic engineering. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 1999, 35: 361-368.
- [25] Chen M, Ye GY, Hu C. Reviewing the controversial reports of ecological safety of transgenic corn published in 《Nature》. *Chinese Journal of Ecology*, 2004, 23(2): 80-85.
陈茂, 叶恭银, 胡萃. 《Nature》有关转基因玉米生态安全争论性报道的回顾. 生态学杂志, 2004, 23 (2): 80-85.
- [26] Jia SR, Jin WJ. International debate on biosafety of genetically modified crops: scientific review on several cases debate. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2003, 11(1): 1-5.
贾士荣, 金莞军. 国际转基因作物的安全性争论—几个事件的剖析. 农业生物技术学报, 2003, 11(1): 1-5.
- [27] Huang XQ, Li L, Mao TF. Development of transgenic crops and question of biosafety. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2005, 33 (6): 89-93.
黄先群, 李丽, 毛堂芬. 转基因作物的发展和安全性问题. 贵州农业科学, 2005, 33 (6): 89-93.