

价。为了提高标准生物效价的准确性和针对性,可以在细胞、个体等不同水平同时建立几个标准生物效价来相互印证和说明。

进行谱效育种还必须与该药用植物规范化栽培技术的研究与应用相结合,否则,就有可能影响谱效的稳定性和重复性,难以达到中药材质量优质、稳定、可控的要求。谱效育种涉及植物遗传育种、分析化学、药理学等多个学科的知识与技术,因此,必须加强有关学科间的渗透、交叉与合作才能完成。

参考文献:

[1] 科技部, 国家计委, 国家经贸委, 等. 中药现代化发展纲要 (2002 年至 2010 年) [J]. 江苏药学与临床研究, 2003, 11 (1): 61-63.  
 [2] 王铁生, 王英平. 韩国人参栽培新品种及轮作制 [J]. 人参研究, 2003 (3): 13-14  
 [3] 周志军, 武晓阳, 孟义江, 等. 药用植物育种研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19 (7): 1694-1698  
 [4] 邢彦军. 中药材的良种选育 [J]. 北京农业, 2002, 12: 17.  
 [5] 黄璐琦, 王永炎. 药用植物种质资源研究 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2008  
 [6] 张铁军. 中药新药研究的思路方法和实践 [J]. 中草药, 2007, 38 (1): 1-35.

[7] 秦海林. 中药物质基础整体特征的精细表达与解析——中药指纹图谱的研究 [J]. 世界科学技术—中药现代化, 2002, 4 (4): 74-79  
 [8] 邵建强. 中药指纹图谱的研究进展 [J]. 中草药, 2009, 40 (6): 994-998  
 [9] 何毓敏, 张长城, 袁 丁. 探讨基于谱效关系的中药质量评价的物元分析新方法 [J]. 中草药, 2009, 40 (8): 1182-1185  
 [10] Wang C Z, Ni M, Sun S, et al. Detection of adulteration of notoginseng root extract with other panax species by quantitative HPLC coupled with PCA [J]. J Agric Food Chem, 2009, 57: 2363-2367  
 [11] Lee E J, Shay K R, Aalim M W, et al. Quality assessment of ginseng by H-NMR metabolite fingerprinting and profiling analysis [J]. J Agric Food Chem, 2009, 57: 7513-7522  
 [12] 伍贤进, 蒋向辉, 张 俭, 等. 鱼腥草不同居群营养成分及抑菌效果比较 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17 (12): 2383-2384  
 [13] 蒋向辉, 伍贤进, 魏 麟, 等. 湖南六个鱼腥草品系的形态分类研究 [J]. 种子, 2006, 25 (4): 81-83  
 [14] 张 俭, 伍贤进, 卢红梅. 鱼腥草制剂抗炎动物模型的建立及研究 [J]. 时珍国医国药, 2007, 18 (6): 1290-1291  
 [15] Lu H M, Liang Y Z, Wu X J, et al. Tentative fingerprint-efficacy study of *Houttuynia cordata* injection in quality control of traditional Chinese medicine [J]. Chem Pharm Bull, 2006, 54 (5): 725-730

## 药用植物抗性基因工程研究现状与发展前景

贺 红, 刘 丹, 谢建辉, 柴婷婷

(广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510405)

摘 要: 概述了抗性基因工程的原理, 总结了我国药用植物抗性基因工程的研究现状及存在的问题, 并探讨了抗性基因工程技术在药用植物育种中的发展方向及前景, 指出抗性基因工程技术在药用植物育种中的成功应用, 将培育更多抗性(抗病虫害、抗除草剂、抗逆性等)、质优的新品种, 促进药用植物资源的可持续发展。

关键词: 抗性基因工程; 药用植物; 育种

中图分类号: R282.12 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)01-附 1-04

### Research status and prospect of resistant gene engineering in medicinal plant

HE Hong, LIU Dan, XIE Jian-hui, CHAI Ting-ting

(College of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

Key words: resistant gene engineering; medicinal plant; breeding

药用植物不仅本身作为药物应用于传统医学保健和治疗中,而且可作为化学药品的原料。因此,药用植物的生产在我国的农业发展体系中具有战略意义。然而,由于生态环境的破坏、土地和其他自然资源的减少和恶化、生产效率和技术的低下,使我国药用植物生产面临严峻的挑战。药用植物的平均产量远低于其潜在的最高值,其原因之一是它们并不总是生活在最适宜的环境中,在生长发育过程中受到各种逆境及有害生物的影响,为了防治病虫害等危害,每年使用大量的化学农药,生产成本升高,而且农药残留及环境污染问题日益

突出。因此,只有借助于先进的科学技术手段,提高药用植物的生产效率和品质,才能减轻资源的压力,增强我国药用植物产业的竞争力。其中,基因工程在药用植物上的应用是较为快捷和有前途的手段之一。植物抗性基因工程是根据分子遗传学原理,培育具有特定抗性的植物新品种的生物技术,包括植物抗病基因工程、植物抗虫基因工程、植物抗除草剂基因工程和植物抗逆基因工程。抗性基因工程技术的成功应用,将有利于选育抗病、抗虫等转基因药用植物,对于保证药材的产量和质量,减少环境污染有着重要意义。

①收稿日期: 2009-10-15

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30873376)

作者简介: 贺 红 (1967—), 女, 理学博士, 研究员, 主要从事中药生物技术研究。 Tel: (020) 39358067

E-mail: hehong67@yahoo.com.cn

## 1 抗性基因工程原理

抗性基因工程的程序是鉴定和分离抗性基因, 抗性基因的重组, 将抗性基因导入受体, 获得能够抗性表达并稳定遗传的再生个体<sup>[1]</sup>。

1.1 抗性基因的分离和克隆: 目前已发展出一系列适合不同条件的抗性基因分离与克隆方法, 如功能克隆法、序列克隆法、基于 mRNA 差异显示技术的克隆方法、图位克隆法及转座子标签法等<sup>[2]</sup>。植物抗性基因克隆的主要目标是识别、分离特异性基因并获得基因完整的全序列, 确定染色体定位, 阐明基因的生化功能, 明确其对特定性状的遗传控制关系。基因克隆是整个基因工程或分子生物学的起点, 在此基础上才能进行转化载体构建和植物转化与再生, 最后对外源基因进行检测和分析。随着分子生物学技术的不断发展, 植物基因分离技术已日臻完善和多样化。

### 1.2 抗性目标基因

1.2.1 抗病毒基因: 由于植物病毒具有相对较小的基因组, 因此较可能通过分子生物学手段对病毒进行控制, 目前发展了不同的抗病毒策略, 包括外壳蛋白介导的抗性; 复制酶介导的抗性; 病毒卫星 RNA 策略; 缺陷型运动介导的抗性等。这些策略用来整合或创造出植物病毒系统中的新抗性因子, 干扰病毒感染功能的进行, 从而阻止疾病的扩展。目前, 外壳蛋白介导的抗病毒途径比较成熟, 一些重组植株已进入大田试验, 有些已应用于农业生产。其他策略的抗病毒基因工程正在发展中, 而且不断有新的发现和策略出现。

1.2.2 抗真菌和细菌基因: 在自然界, 当植物受到病原菌攻击, 抗性品种会启动一系列防卫基因的表达。感病品种则不会有防卫基因的激活, 或防卫基因延迟表达, 或表达量不足以抵抗病原菌的侵染。目前植物基因工程已克隆了一些抗菌蛋白基因, 如几丁质酶基因、葡聚糖苷酶基因、抗菌肽基因<sup>[3]</sup>及诱导超敏反应的抗性蛋白基因等。

1.2.3 抗虫基因: 抗虫性是寄主植物抵御或减少昆虫危害的能力。植物抗虫育种所利用的遗传抗性包括拒虫性、抗虫性及耐虫性 3 个方面, 耐虫性完全着眼于植物对害虫危害的承受力, 而拒虫性及抗虫性着眼于减少危害。植物基因工程主要研究了植物的抗虫性遗传抗性。目前, 普遍使用的抗虫基因根据其来源大致可分为微生物来源和植物来源的抗虫基因, 如苏芸金芽孢杆菌毒蛋白基因、蛋白酶抑制剂基因、淀粉酶抑制剂基因及植物凝集素基因。在进行植物抗虫基因操作时, 需要根据受体植物种类、害虫的特点, 正确地选择使用适宜的抗虫基因。

1.2.4 抗除草剂基因: 目前, 抗除草剂的基因工程主要有 2 种策略, 一是修饰除草剂作用的靶蛋白, 使其对除草剂不敏感, 或促其过量表达以使植物吸收除草剂后仍能进行正常代谢, 如抗 EPSPS 抑制剂基因的研究及其应用; 二是分离能解除除草剂毒性的酶基因(如 *bar* 基因等), 上述两种策略都已取得了积极的结果, 获得了各类抗除草剂转基因植物。

1.2.5 抗逆基因: 非生物胁迫如干旱、高盐度和极端温度对植物都产生共同的结果, 即细胞脱水或渗透胁迫。在自然条

件下, 植物抗渗透胁迫主要通过组织结构变化保存水分和通过细胞代谢调节渗透压的变化。植物对缺水的响应表现在合成大量被称作渗透保护剂的低分子化合物, 这些渗透保护剂通过降低细胞渗透势维持细胞的膨压。植物抗渗透胁迫的基因工程集中于调节渗透压分子及其基因相关的研究上。植物抗寒相关基因主要为环境因素诱导表达的基因以及与细胞膜生物合成有关的基因。

1.3 植物遗传转化系统: 当分离得到具有功能的目的基因后, 就需要选取合适的遗传转化方法将外源基因导入到受体植物中去。外源基因导入到植物有 3 个关键因素必须考虑: 一是要有适宜的基因包括目的基因、标记基因或报告基因和合适的选择条件; 二是要有较完善的组织培养系统, 植物细胞必须有效地再生成植株; 三是外源基因导入到植物的途径和方法, 要求损失小、频率高且外源基因能稳定地整合到基因组上, 才有可能实现目的基因的稳定遗传与正常的时空表达。目前, 已发展出一系列比较完善的植物转化系统, 根据转化方式不同, 大致可分为农杆菌转化法、DNA 直接导入法和花粉管通道转化法。

1.4 转基因植株的检测与鉴定: 通过遗传转化获得植株后, 是否是真正的转基因植株, 还需要进行严格的检验与鉴定。大多数植株基因研究都采用愈伤组织或再生芽的抗性鉴定、报告基因检测、简易 PCR 检测、目的基因整合的 Southern 杂交检测、目的基因转录水平的 Northern 检测以及释放水平的蛋白质 Western 的鉴定, 最后还要进行目的性状的田间鉴定。

## 2 药用植物抗性基因工程的应用

2.1 药用植物抗病基因工程: 病害的发生流行, 给中药材生产和发展带来了严重损失, 甚至限制了某种药用植物在某一地区的栽培。如人参根病常年发病率为 20% ~ 30%, 栽过参的老参地不能连作, 需要 10 年以上才能再栽参。病害不仅影响中药材的产量, 更为严重的是造成中药材外观及内在质量的下降。传统的抗病育种存在种质资源贫乏、抗病基因和劣质性状基因连锁、周期长、工作量大、抗性基因的遗传不稳定, 不能解决某些品种间的远缘杂交问题, 以及难以对新的病原小种做出及时反应等不足。随着现代分子生物学的发展以及植物基因工程技术的日趋完善, 人们开始着眼于鉴定和克隆抗病相关蛋白的基因, 并期望通过将外源抗病基因导入植物从而提高植物对病害的抗性。

根据有害生物的种类, 主要可分为病毒病害、细菌病害和真菌病害等。利用植物病毒外壳蛋白基因、病毒复制酶的部分基因或利用反义 RNA 抑制病毒编码的加工酶等策略已获得了几十种转基因植物, 有的已进入生产实用阶段。利用几丁质酶和葡聚糖苷酶基因抑制真菌性病害已在多种转基因植物上得到良好表现。利用破坏病原细菌毒素、抑菌肽类、溶菌酶类等方法获得抗细菌的转基因植物也已有成功报道。

柑橘属植物是多种中药材的原植物。据不完全统计, 世界上已报道的柑橘病毒和类似病毒病大约 80 余种<sup>[4]</sup>。但目前柑橘的抗病毒基因工程仅在衰退病中开展。Gutierrez 等<sup>[5]</sup>于 1997 年首次报道了将柑橘衰退病外壳蛋白基因转入

酸橙和来檬中。贺红等<sup>[6]</sup>将柑橘衰退病病毒外壳蛋白基因转入枳壳 *Poncirus trifoliata* Raf 中,经 Southern 杂交证明获得了转基因植株。陈善春等<sup>[7]</sup>成功地将柞蚕抗菌肽基因导入柑橘3个品种。中药麦芽为禾本科植物大麦 *Hordeum vulgare* L. 的成熟果实,即籽粒经发芽干燥而得,大麦为药食同源植物。近年来,国内外研究者对大麦抗白粉病及黄矮病等基因进行了鉴定、定位与克隆研究,并探讨了大麦抗病育种的策略。天麻是我国特有的一种药用植物,它在与蜜环菌长期的相互作用中形成了一套有效的抑制及消化真菌的机制,从而成为研究植物与真菌相互作用的良好模式系统之一。Xu 等<sup>[8]</sup>从人工栽培的黄天麻中分离得到一种抗真菌蛋白(GAFP-1),王晓晨等<sup>[9]</sup>克隆了 GAFP-1cDNA 并检测了全长序列。由于 GAFP-1 在体外对梨腐烂病菌、立枯丝核菌及灰葡萄孢等植物病原真菌均有明显的抑制作用,编码 GAFP-1 的基因可望应用于植物抗真菌病害基因工程。白术属补益类中药,随着栽培规模的扩大,受到病原物的危害逐渐增强,毛碧增等<sup>[10]</sup>利用基因枪介导转化水稻几丁质酶基因(*RCH10*)和苜蓿 $\beta$ -1,3-葡聚糖酶基因(*AGLU*)获得抗立枯病白术,同时拓宽了白术抗病育种的基因库。

2.2 药用植物抗虫基因工程: 危害药用植物的动物很多,其中昆虫占95%以上,其他还有蜗牛、螨类、鼠类等。昆虫中的害虫以药用植物的根、茎、叶、花、果实等为食,给中药材生产带来严重损失。

植物基因工程的迅速发展为虫害的防治带来了革命性的变化。利用苏芸金芽孢杆菌(Bt)杀虫蛋白基因 *Cry I* 和 *Cry II* 已分别获得抗鳞翅目和鞘翅目害虫的转基因植物,有的已开始生产应用;利用凝集素蛋白基因抗同翅目的蚜虫和飞虱的转基因烟草也初见成效;利用 Ser 和 Cys 的酶抑制剂基因已获得具广谱抗性的转基因植物。此外开发利用其他杀虫蛋白、昆虫激素、杆状病毒等在抗虫植物基因工程的应用也在研究。

在药用植物方面,罗青等<sup>[11]</sup>选用对蚜虫具有明显抗性的基因—雪花莲外源凝集素酶基因,通过农杆菌转化法感染宁杞1号,获得完整的转基因枸杞。张磊等<sup>[12,13]</sup>将抗鳞翅目昆虫的基因—半凝集素基因转化四倍体菘蓝,PCR及 Southern 杂交结果表明,外源基因已整合到转基因菘蓝的基因组中,RT-PCR 结果表明其 DNA 可以正常转录成 mRNA,表明可以利用农杆菌介导的基因转化技术培育抗虫菘蓝新品系。丁如贤等<sup>[14]</sup>利用叶盘法将 *CryI(A)C* 和豇豆胰蛋白酶抑制剂基因 *CpTI* 共同转入四倍体菘蓝获得对小菜蛾抗性。

2.3 药用植物抗除草剂基因工程: 因为杂草和栽培植物竞争水分、养料和光照,影响植物产量,同时杂草种子还会降低其质量。因此通过化学方法来控制杂草已成为农业及中药材生产中不可缺少的一部分。

抗除草剂基因工程是一项比较成功的植物基因工程。现在报道的抗除草剂转基因植物有几十种,主要是农作物品种,这些植物给农业生产带来了极大的便利。在药用植物方

面,1992年,Saito 等<sup>[15]</sup>构建了一个嵌合载体 pARK5,含有 CaMV35S 启动子控制的 *bar* 基因,转基因植株及其后代显示了对除草剂草丁膦(phosphinothricin)和 bialaphos 的抗性。同样地,Yamazaki 等<sup>[16]</sup>利用 Ri 二元载体转化系统,将编码 phosphinothricin 乙酰转移酶的 *bar* 基因成功地导入到野甘草 *Scoparia dulcis* L. 基因组中,转基因植株及其子代对除草剂表现出明显的抗性,而次生代谢途径仍能正常进行。许铁峰等<sup>[17]</sup>CaMV35S 为启动子,将带有抗除草剂基因(*bar* 基因)的 pCAMBIA3300 植物二元表达载体,导入根癌农杆菌菌株 EH A 105,作为基因工程菌转化四倍体菘蓝,筛选得到的抗性植株经 PCR 鉴定,表明 *bar* 基因已转移到四倍体菘蓝的基因组。

2.4 药用植物抗逆基因工程: 抗逆包括抗盐碱、抗旱、抗涝及抗寒等。逆境条件会造成植物水分供应失调,温度过低引起的冷冻害或高温强光引起的灼伤,土壤酸碱度不合适,缺氧,这些可概括为非生物逆境。几乎所有的非生物逆境均能抑制植物的生长和促进植物衰老,导致细胞死亡或降低植物产量。

植物抗逆基因工程是发展得较晚的一类抗性基因工程,这与人们对植物抗逆性机制的认识有关。然而,抗逆基因工程无疑对改良植物品种,增强其适应性具有重要意义。药用植物的药效与其抗逆性之间可能会存在某种相关。因为药用植物的有效成分往往是次生代谢产物,这些产物的合成有时是与环境的胁迫有关的。因此,对于药用植物而言,其最佳种植区域往往并不是其最适生长区域,导致其质量与产量之间存在一些矛盾。因此,将抗逆基因工程应用于药用植物,不仅可增强植物自身的抗逆能力,而且,有望解决药用植物产量与质量之间的矛盾。此外,还可能带来特定化学成分的变化。

### 3 药用植物抗性基因工程技术的发展前景

当今世界面临人口过度增长、全球气候变迁、环境恶化、生态系统破坏、生物资源逐渐灭绝等一系列的严重问题。植物生产面临更多的病虫害和逆境,抗性育种显得尤为迫切。植物基因工程培育植物优良品种取得了举世瞩目的成果,已成为现代农业发展的主要技术之一。应用这些抗性目的基因已创造出了众多具有抗病虫、抗除草剂、抗寒、抗旱、抗盐碱等优良性状的植物新品种。但目前这方面的研究主要集中在农作物方面,而药用植物相关的研究还处于起步阶段,大多还停留在转化技术研究,与实际应用还有较大的距离。

制约药用植物抗性基因工程研究的因素有多种,主要问题在于相关的研究基础还很薄弱,抗性基因的克隆及抗性机制等方面的研究大多还是空白。对大多数药用植物而言,高效再生转化受体系统尚未建立。目前,已知通过离体培养获得的再生植株的药用植物有枸杞、西洋参、延胡索、毛地黄、丹参、黄连、川白芷、桔楼、西红花、长春花、地黄、巴戟天、阳春砂、广藿香、芦荟、溪黄草等。数量依然有限,而且有的再生频率不高,难以作为基因转化的受体系统。

同时,药用植物本身的特殊性也制约抗性基因工程研究

的开展。在我国,药用植物经过几千年的应用和发展,已经形成了具有悠久历史的传统中药。药用植物有别于农作物,其有效成分是植物细胞的次生代谢产物,这一特点决定了药用植物与农作物的遗传转化有着不同的侧重点,即在转基因药用植株的筛选和评价过程中,转基因事件对药用植物有效成分乃至药效的影响是首要考虑因素。转基因药材面临着重新评价药物的有效性和安全性问题。在我国的新药管理体系中,转基因中药材是作为一类新药处理的。由于受到大多数中药有效成分和疗效机制不明确这个瓶颈的限制,药用植物转基因产物的药效评价问题是其中最突出、最难解决的问题。目前只有在现有药材质量评价体系的基础上,初步加以评价,并在实践和发展中不断完善。

此外,对于安全性的疑虑,也是限制我国药用植物基因工程研究和应用的因素之一。目前转基因植物安全性问题主要包括两个方面:一是对人体健康的影响,二是对环境的影响。但是,目前在已经商业化生产并应用的转基因作物中,还未找到任何证据证明这些作物是不安全的。随着科学技术的不断发展,评价和管理的技术体系和法制体系的不断完善,相信转基因产品的安全性问题将不再是药用植物基因工程研究和应用的障碍。

目前,有关植物基因工程的一些技术、方法都已较为成熟,其安全性也得到实践的验证,但现有的研究主要集中在农作物方面。随着现代科学技术的蓬勃发展,学科之间相互渗透、相互作用,为药用植物基因工程育种提供了良好的可供借鉴的方法和技术。

#### 4 结语

植物基因工程在世界范围内的研究和应用已有 20 多年的历史,发展十分迅速。转基因植物的应用已经带来了巨大的经济效益,且逐年呈上升趋势。植物基因工程的应用和产业化,不仅带来了直接经济效益,而且对环境、社会均产生深远的影响。目前,有关基因工程的一些技术、方法都已相当成熟,其安全性也得到实践的验证,管理模式也日益规范和成熟。而随着人类医药健康需求的不断增长和变化,药用植物的生产必将在世界农业中占有越来越重要的经济和战略地位。因此,基因工程在药用植物上的应用也是必然的趋势,其中药用植物抗性基因工程的研究和应用,显得尤为迫切。我国是一个药用植物资源生产和消费大国,具有得天独厚的药用植物资源优势和市场优势,药用植物抗性基因工程研究和应用具有广阔的发展空间。但是,目前相关领域的研究较为薄弱,如在药用植物抗性生理、抗性机制及抗性基因

的克隆等方面的研究还有待加强,许多新的问题需要去探索和研究。与农作物相比,药用植物对内在质量的要求更高,发展具有中医药自己优势特点的药用植物基因工程技术,也将是一个具有挑战性的课题。随着现代科学技术的蓬勃发展,学科之间相互渗透相互作用,通过借鉴与合作,基因工程将在药用植物育种中发挥巨大作用,将培育更多抗性(抗病虫害、抗除草剂、抗逆性等)、质优的新品种,保证药用植物资源的可持续利用。

#### 参考文献:

- [1] 肖尊安 植物生物技术 [M]. 北京:化学工业出版社, 2005
- [2] 许亦农,麻密译. 植物生物技术导论 [M]. 北京:化学工业出版社, 2005
- [3] 董燕,周联,王培训. 抗菌肽在中药生物工程中的应用前景 [J]. 中草药, 2005, 36(5): 780-783
- [4] 何天富,柑橘学. [M]. 北京:中国农业出版社, 1999
- [5] Gutierrez E M A, Luth D, Moore G A. Factors affecting *Agrobacterium*-mediated transformation in *Citrus* and production of sour orange (*Citrus aurantium* L.) plants expressing the coat protein gene of citrus tristeza virus [J]. *Plant Cell Rep*, 1997, 16: 745-753.
- [6] 贺红,韩美丽,李耿光,等. 农杆菌介导转化法构建转 CTV-cp 的枳壳植株 [J]. 中国中药杂志, 2001, 26(1): 21-23.
- [7] 陈善春,张进才,黄自然,等. 根癌农杆菌介导柞蚕抗菌肽 D 基因转化柑橘的研究 [J]. 中国农业科学, 1997, 30(3): 7-13.
- [8] Xu Q, Liu Y, Wang X C, et al. Purification and characterization of a novel anti-fungal protein from *Gastrodia elata* [J]. *Plant Physiol Biochem*, 1998, 36: 899-905
- [9] 王晓晨, Willson A D, Guy B, 等. 天麻中一种抗真菌蛋白基因的克隆 [J]. 植物学报, 1999, 41(10): 1041-1045
- [10] 毛碧增,孙丽,刘雪辉. 基因枪转化双价防卫基因获得抗立枯病白木 [J]. 中草药, 2008, 39(1): 99-102
- [11] 罗青,曲玲,曹有龙,等. 抗蚜虫转基因枸杞的初步研究 [J]. 宁夏农林科技, 2001(1): 1-3
- [12] 张磊,谭秋敏. 四倍体菘蓝转抗虫基因研究 I. 根癌农杆菌介导的转基因菘蓝 [J]. 中草药, 2003, 34(3): 258-261
- [13] 许铁峰,张磊,刘成洪,等. 四倍体菘蓝转抗虫基因研究 II. 转半夏凝集素基因菘蓝的分子生物学检测 [J]. 中草药, 2003, 34(9): 846-849
- [14] 丁如贤,肖莹,王凯,等. 转双价抗虫基因 Bt-CpTI 提高四倍体菘蓝对小菜蛾抗性 [J]. 中草药, 2009, 40(4): 621-624
- [15] Saito K, Yamazaki M, Anzai H, et al. Transgenic herbicide-resistant *Atropa belladonna* using a ribinary vector and inheritance of the transgenic trait [J]. *Plant Cell Rep*, 1992, 11: 219-224.
- [16] Yamazaki M, Lin S, Hayashi T, et al. Transgenic fertile *Scoparia dulcis* L., a folk medicinal plant, conferred with a herbicide-resistant trait using a ribinary vector [J]. *Plant Cell Rep*, 1996, 15(5): 317-321.
- [17] 许铁峰,唐克轩,张汉明,等. 抗除草剂基因导入四倍体菘蓝 [J]. 中药材, 2003, 26(5): 313-315