

转基因 Bt 水稻花粉在桑叶上的自然飘落浓度

樊龙江¹, 吴月友¹, 庞洪泉¹, 吴建国¹, 舒庆尧¹, 徐孟奎², 陆剑飞³

(1. 浙江大学农业与生物技术学院, 杭州 310029; 2. 浙江大学动物科学学院, 杭州 310029; 3. 浙江省农药检定管理所, 杭州 310029)

摘要:实地(杭州)调查了桑稻混种地区水稻花粉飘落到桑叶上的浓度,同时对转 Bt 基因水稻花粉向桑叶上飘飞程度进行了田间试验。20 个采样点的调查结果显示,超过一半(54.5%)的桑叶检测到了水稻花粉,其浓度变化范围为 13.3~199.0 粒/cm²,平均浓度为 92.9 粒/cm²,与 109.1 粒/cm²(该浓度影响家蚕生长发育)持平($t=0.10, P>0.5$)。不同桑稻距离(0~10m)的桑叶花粉浓度总体上是距离越近花粉浓度越高。将处于开花期的转基因 Bt 水稻和非转基因水稻植株(各 3 株)同时放入桑园中,然后观察水稻植株周边桑叶飘落上水稻花粉的浓度。两次试验采集的桑叶自然飘落的水稻花粉平均为 3.8 粒/cm²,这一结果证明水稻花粉可飘落到桑叶上,从而支持上述调查结果;试验同时证实转基因 Bt 水稻和非转基因水稻植株的花粉飘飞能力没有差异。以上研究结果表明,Bt 水稻在我国南方养蚕地区推广将可能对家蚕的生长发育造成负面影响。

关键词:Bt 水稻;桑叶;家蚕;转基因作物安全性;花粉浓度

Bt rice pollen distribution on mulberry leaves near ricefields

FAN Long-Jiang¹, WU Yue-You¹, PANG Hong-Quan¹, WU Jian-Guo, SHU Qing-Yao¹, XU Meng-Kui², LU Jian-Fei³ (1. College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; 2. College of Animal Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; 3. Administration Office of Pesticide, Zhejiang Province, Hangzhou 310029, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2003, 23(4): 826~833.

Abstract: Sericulture is an important industry for silk production in Southern China. Typically, mulberry (*Morus L.*) plants are grown on the ridge of or beside ricefields in this area, the so-called mulberry-rice mixed cropping area. The allowing of limited environmental release, and presumable commercial release later, of Bt (*Bacillus thuringiensis*) transgenic rice (*Oryza sativa L.*) by China raised a doubt that if Bt transgenic rice pollen, which will be wind-dispersed on mulberry leaves, is harmful for sericulture in the mulberry-rice mixed cropping area. The studies reported here contribute to the exposure characterization necessary for assessing the risk of Bt rice pollen to silkworm (*Bombyx mori L.*) larvae. In particular, this paper describes the naturally occurring densities of rice pollen on mulberry leaves during rice anthesis for a number of geographic locations and under a variety of environmental conditions at mulberry-rice mixed cropping area in China.

The density of rice pollen on leaves of mulberry plants outside of ricefields was measured at different locations (total 20 sampling sites) in Hangzhou, China on September 16 and 18, 2001. Three scopes were observed immediately under microscope for every leaf after it was picked. Before observation, 1% I-KI

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30170181)

收稿日期:2002-01-09; **修订日期:**2002-07-12

作者简介:樊龙江(1965~),男,浙江衢州人,博士,主要从事转基因作物遗传生态学等研究。E-mail: fanlj@zju.edu.cn

Foundation item: Supported by National Natural Science Foundation of China (No. 30170181)

Received date: 2002-01-09 **Accepted date:** 2002-10-12

Biography: FAN Long-Jiang, Ph. D., Main research interests include the genetic ecology of transgenic crops etc.

solvent was spread on leaves. Upon contact with the solvent, pollen turns dark blue and is easily observed. Pollen was found on 54.5% of total 255 sampling leaves. The average density of all leaves was 92.9 grains per cm² (13.3~199.0 grains per cm²), which is not significantly different from 109.1 grains per cm², a harmful density for silkworm larvae ($t=0.10, P>0.5$). A pollen density of 221.5 grains per cm² (over twice the toxic level of 109.1) was observed on 16.2% of leaves. In general, pollen density was progressively lower from the field edge outward. In one case within this study, the average pollen density of leaves from mulberry plants that are 10m away from the ricefield also reached the dangerous level of 92.9 grains per cm². The safe isolation distance is 100m based on China or 150m based on ESD, the World Bank. But distances between ricefields and mulberry plants are usually less than 100m in the sericultural region. Meanwhile a comparative study on flow capability of pollen between Bt rice and its wild-type was carried out. Bt rice and its wild-type plants (three individual plants for each treatment) were moved to mulberryfield during their anthesis. The average density of pollen on leaves around rice (including transgenic and non-transgenic rice) was 3.8 grains per cm². Meanwhile, there was no difference in the wind-dispersed capability of pollen between Bt and its wild-type rice.

These results suggest that commercial release of Bt rice may be harmful to sericulture in the southern sericultural region in China.

Key words: Bt rice; *Morus L.*; *Bombyx mori L.*; safety of transgenic crops; density of pollen

文章编号:1000-0933(2003)04-0826-08 中图分类号:S336 文献标识码:A

利用转基因技术将苏云金杆菌(*Bacillus thuringiensis*, Bt)毒蛋白基因导入农作物,使其获得抗虫性是 目前转基因技术最有影响的应用范例,Bt 玉米、Bt 棉花等已在美国等许多国家大面积商业化生产。我国也 已批准并开始 Bt 棉花的大面积商业化种植,同时我国还批准了多个 Bt 水稻(*Oryza sativa L.*)品种的环境 释放,但尚未批准其商业化种植。Bt 作物的大面积种植引起诸多生态风险方面的争论,其中一项主要的争 论是 Bt 基因漂流可能导致的生态风险。基因漂流可能导致的风险是多方面的,可能是遗传方面的,如转基 因向近缘野生种逃逸等;也可能是生物种群食物链方面的,如 Bt 玉米花粉对大斑蝶(*Danaus plexippus*)等 生境的影响等^[1]。

我国南方广大养蚕地区的传统作物种植模式是桑稻间种(图 1),即每户蚕农的桑树(*Morus L.*)都插种 在自家的水稻田埂上,养蚕季节(6~10 月份)每天到田埂上采桑喂蚕。如果在这些地区商业化种植转基因 Bt 水稻,Bt 花粉是否会飘落到桑叶上影响家蚕(*Bombyx mori L.*)生长发育呢?最新一项室内 Bt 水稻花粉 喂养家蚕实验表明^[2],桑叶上 Bt 花粉浓度平均为 109 粒/cm²时,家蚕的生长发育受到明显影响。那么在水 稻开花期,农村桑稻间种的桑叶上飘落的花粉浓度会达到多少浓度呢?这是转基因水稻安全性评价的一个 重要依据。

本研究在水稻花期对我国的主要养蚕地区——杭嘉湖地区进行了多点实地调查和取样,获取了实际 田间状态下,桑叶上飘落水稻花粉的浓度;同时对转 Bt 基因水稻花粉向桑叶上飘飞程度进行了田间试验, 试验结果为实地调查结果提供了佐证。

1 材料与方法

1.1 桑叶上飘落水稻花粉浓度实地调查方法

于 2001 年 9 月中旬水稻开花期,分两次(9 月 16 日和 9 月 18 日)对杭州市余杭区塘栖镇邵家坝村附 近桑稻间种区共 20 个点进行了采样。每点采摘不同桑稻距离的桑叶至少 8~10 片,装入相应的塑料袋中, 每次采样结束即刻进行花粉观察和记数。采样主要在 14:00 以后进行,同时也在 10:00 进行了采样。第一 次采样(9 月 16 日)的前一天当地下过一场大雨。采样点选择注意朝向,尽量使各朝向的采样点达到均衡, 同时均匀采集桑叶的不同部位的桑叶。同时选取了桑稻间距超长(10m 以上)的样点。为了避免其他作物 花粉对水稻花粉观察的干扰,所选取的采样点附近几乎没有其他作物品种处于开花期。同时在进行实际

测前,先取相应的水稻花粉进行显微镜观察,以此作为鉴别水稻花粉的参照物。单季稻品种为秀水系统(秀水 63、丙 97-59、丙 96-42 等)。

已有研究表明^[3~5],转基因与同种非转基因作物的花粉飘飞特性(如飘飞距离等)没有明显差别,所以非转基因水稻花粉向桑叶飘飞程度的调查结果可以代表转基因水稻花粉的飘飞情况。

1.2 花粉观测方法

本研究采取直接将桑叶放到显微镜下观察进行花粉浓度记数。首先在桑叶上随机点上一小滴 1%I-KI 溶液,用镊子轻轻将溶液涂开,使溶液均匀分开直至不流动。然后将涂过溶液的部分剪下,放在低倍显微镜下观察并记数。每片桑叶观察 3 个视野。花粉经染色变成蓝黑色,在绿色(桑叶)背景下非常便于观察(图 2)。本实验显微镜的观察倍数为 16×10,经测微尺测量,每观察视野直径为 0.98mm,面积为 7.539×10⁻³ cm²。

1.3 Bt 水稻花粉向桑叶飘飞田间试验

将处于开花期的转基因 Bt 水稻和非转基因水稻植株同时放入桑园中,然后观察水稻植株周边的桑叶上是否会飘落上水稻花粉以及飘落的浓度。

于 2001 年 9 月上旬在浙江大学进行了两次(10~11 日和 12~13 日)田间实验。实验水稻品种为 Bt 水稻“克螟稻”(浙江大学原子核农业应用研究所育成^[6,7],农业部环境释放批准编号为农基安审字 98A-01-01)及其野生型品种秀水 11、两个单季稻籼型品系 1278 和 1300。于 10:00 前,从田间拔取处于花期的 Bt 水稻和非转基因水稻植株分别放入塑料桶中(各 3 株),加水并放入校内的桑树园中。桑树园远离(>1000m,且中间有数幢楼房间隔)水稻田,没有外来水稻花粉飘落到桑叶上的可能性。塑料桶放置时,间隔 10m 以上,防止串粉。分别于当日下午和第 2 天下午在稻株四周不同距离(0~1m)和高度(低于水稻穗部、与穗平和高于穗部)各采摘 8 片桑叶,分别装入塑料袋带回实验室进行显微镜观察。花粉观测方法同上。



图 1 长江流域典型的桑稻间种模式(2001 年 9 月 18 日摄于杭州市余杭区塘栖镇邵家坝村)和花粉经处理后在显微镜下的形态

Fig. 1 A typical mulberry-rice intercropping at the Yangtze valley (Shaojia village, Yuhang District, Hangzhou, China; 2001-09-18) and the treated rice pollen under microscope

2 结果与分析

2.1 实地调查结果:桑叶平均花粉浓度及分布

根据 20 个采样点共 255 张桑叶 765 个显微镜视野的观测统计,所有采点的桑叶上自然飘落的水稻花粉平均(算术或加权平均)浓度为每视野 0.7 粒花粉,折 92.9 粒/cm²,与 109.1 粒/cm² 的浓度水平(折 0.8 粒/每视野)持平($t=0.10, P>0.5$)。如将每张叶片观测的 3 个视野中,花粉浓度最低的观测值和最高观测值分别进行平均,可得到其平均变化范围为 13.3~199.0 粒/cm²(0.1~1.5 粒/每视野)。余杭区当地主要桑树品种的桑叶平均面积为 332.1 cm²(根据 6 个当地品种桑叶长宽计算得到叶面积,再乘以 0.85)^[8],

依据以上平均花粉浓度,一张桑叶上平均自然飘落上花粉 3.1 万粒。花粉在桑叶上的分布以叶脉附近最为密集。

在所采集的 255 张桑叶样品中,具有不同花粉浓度的桑叶比例(表 1)显示,超过一半(54.5%)的桑叶检测到了水稻花粉,其中平均花粉浓度达到平均总浓度 0.7 粒/每视野的桑叶约占 35%,超过 0.8 粒/每视野(109.1 粒/cm²)浓度的桑叶约为 30%(图 2),而超过该浓度 2 倍和 4 倍以上的桑叶分别占 16.1%和 4.4%。在所进行的所有的观测中,最高花粉浓度为一个视野中有 25 粒花粉,折 3316.1 粒/cm² 的,是 109.1 粒/cm² 浓度的 30.4 倍。

表 1 不同水稻花粉浓度的桑叶比例

Table 1 The percentage of leaves with different rice pollen density							
3 个视野平均花粉数 Average pollen number	折算浓度 (粒/cm ²) Pollen number/cm ²	桑叶数 Leave number	占桑叶总数 (%) Percentage to total leave number	3 个视野平均花粉数 Average pollen number	折算浓度 (粒/cm ²) Pollen number/cm ²	桑叶数 Leave number	占桑叶总数 (%) Percentage to total leave number
0	0	116	45.5	0	0	116	45.5
0.3	43.8	49	19.2	1	132.6	65	25.5
0.7	88.9	28	11.0	2	265.3	25	9.8
1.0	132.6	12	4.7	3	397.9	12	4.7
1.3	176.4	9	3.5	4	530.6	14	5.5
1.7	221.5	11	4.3	5	663.2	8	3.1
2.0	265.3	9	3.5	6	795.9	3	1.2
2.3	309.1	4	1.6	7	928.5	4	1.6
2.7	354.2	3	1.2	8	1061.1	3	1.2
3.0	397.9	3	1.2	9	1193.8	1	0.4
3.3	441.7	2	0.8	11	1459.1	1	0.4
3.7	486.8	2	0.8	12	1591.7	1	0.4
4.0	530.6	2	0.8	13	1724.4	1	0.4
≥4.3	≥574.3	5	2.0	25	3316.1	1	0.4
平均 Average	0.7	—	—	1.5	199.0	—	—
合计 Total	—	255	100	—	—	255	100

最近发表的 Bt 玉米花粉向乳叶草(*Asclepias syriaca*)上自然飘落浓度的田间调查结果^[9]显示,在玉米地里的乳叶草上 Bt 玉米花粉平均可达 170.6 粒/cm²,最高可达 1400 粒/cm²,随着距玉米地边缘的距离增大,花粉浓度显著减少,当该距离为 2m 时,花粉浓度降为 14.2 粒/cm²;同时发表的另一篇调查结果^[10]表明,在距离 Bt 玉米地边缘 0.5m 和 1.0m 的乳叶草上最高平均花粉浓度分别可达 260 和 170 粒/cm²。这些调查结果与本研究获得的桑叶上水稻花粉浓度调查结果基本是在同一数量级上。由于单位面积的玉米产生的花粉总量是水稻的 2~3 倍(以 3000 万花粉粒/每玉米雄穗、22 万花粉粒/每水稻稻穗;3800 株玉米/666.7m² 和 17 万水稻有效穗/666.7m² 计算)^[11~12],同时玉米植株比水稻高(但花粉比水稻重),所以,两者浓度的差异是可以理解的。在这一数量级的花粉浓度下,北美目前种植的一种 Bt 玉米品种“Event 176”的花粉对野外大斑蝶幼虫有明显的毒害(花粉中 Bt *cry1Ab* 毒蛋白的表达量为 1.1~5.0 μg/g)。根据用提纯 Bt 蛋白所做的试验推算,大斑蝶幼虫食用 7~30 粒/cm²“Event 176”玉米花粉的乳叶草(按每克花粉约为 15 万粒花粉计),其生长量(体重)将会显著受到抑制(体重比对照轻 50%),但由于不同的转 Bt 玉米品种所用的启动子和 Bt 基因种类不同(如目前使用的 *cry1Ab*、*cry9C*、*cry1Ac* 和 *cry1F* Bt 基因),该临界浓度值会有所变化,如美国推广应用的另两个 Bt 玉米品种“Bt11”和“Mon810”的临界浓度为 366 粒/cm² 以上(它们花粉中 Bt *cry1Ab* 毒蛋白的表达量<0.09 μg/g)^[13]。虽然水稻花粉(直径 25~30μm)较玉米花粉(直径 73.4~92.6μm)^[14]小,由于我国目前育成的 Bt 水稻品种所用的启动子为非特异性的,所以估计其花粉中 Bt 毒蛋白表达量与玉米“Event176”花粉不会有太大的差异。

以上结果说明,Bt 水稻在我国南方养蚕地区推广应用将可能对家蚕的生长发育造成负面影响。

2.2 实地调查结果:不同采样点、采样距离和时间花粉浓度比较

分别将 20 个独立的采样点所采集的桑叶浓度平均,结果表明(图 2)各采样点的桑叶上均有一定的花粉浓度,其中有一半(10 个)的点桑叶平均浓度达到 0.7 粒/每视野的总平均浓度,有 8 个点桑叶平均浓度超过 0.8 粒/每视野(即 109.1 粒/cm²),同时 2 个点桑叶平均花粉浓度超过该浓度的 3 倍左右。如果以每张桑叶 3 个视野中花粉浓度最高的观测值来获得各点桑叶花粉平均浓度,则大多数采样点的桑叶花粉浓度均超过 0.7(17 个)和 0.8 粒/每视野(14 个),个别点(2 个)的桑叶花粉浓度甚至超过 0.8 粒/每视野浓度的 7 倍左右。

来自不同桑稻距离的桑叶花粉浓度总体上是距离越近花粉浓度越高,其中尤以桑稻 0 距离的桑叶花粉浓度最高(表 2)。各桑稻距离的平均花粉浓度与 0.8 粒/每视野(即 109.1 粒/cm²)的 *t* 测验,除桑园地基高于稻田 1m 外,均未达到显著差异水平,也就是说,这些距离的桑叶花粉浓度都有很大几率达到或超过 109.1 粒/cm²。花粉浓度桑稻 0 距离(如图 1 所示)和 0.5~1.0m 的情况在南方养蚕地区最为普遍,在水稻盛花时,风很容易就会将花粉吹到桑叶上。在本次实地调查中特意选择了一个超过 10m 桑稻距离的地点进行采样,所选的桑林只有一面种植了大片水稻,桑林和稻田间还有一条道路。最终得到的观测结果有些出人意料,检测到比较高的花粉浓度。这说明大风天气可以使花粉飘飞相当远的距离。根据以前的研究结果,我国规定的水稻制繁种等安全隔离距离标准为 100m,国际水稻研究所为 125m,而世界银行环境可持续发展组织(ESD)的建议距离为 150m^[14,15]。在我国南方种植的桑树与周边稻田的距离一般都在 100m 以内。由于 0.5m 和 10m 距离的桑叶采样数量较少,本调查得到这两个距离的平均浓度与实际浓度可能存在一定的偏差。

在本次 20 次取样中有 3 次是在 10:00 左右,即水稻开花前进行的,结果表明,3 个点上午取样的桑叶上均有一定的花粉浓度,按每视野平均花粉粒数和最高花粉粒数统计,3 个点平均为 0.5 和 1.2 粒,而所有下午取样的桑叶平均粒数为 0.8 和 1.8 粒。可见上午取样的桑叶花粉浓度低于下午取样的桑叶。风力等的作用会使桑叶上粘附的花粉不断抖落下来,使桑叶花粉浓度不断降低。

表 2 不同桑稻距离的桑叶花粉浓度
Table 2 The pollen density on leaves at different distances between rice and mulberry plants

桑稻距离	平均花粉粒数/每视野		最高花粉粒数/每视野
Distance (m)	Average pollen number per scope	<i>t</i> / <i>t</i> _{0.05} *	Top pollen number per scope
0	0.9	0.06/1.96	2.1
0.5	0.5	0.38/2.03	1.1
1	0.8	0.01/2.00	1.7
10	0.7	0.13/2.08	1.7

* *t* 测验为不同桑稻距离花粉浓度与 0.8 粒/每视野(即 109.1 粒/cm²)比较,*t*_{0.05}为相应的临界 *t* 值
* *t* test with 0.8 pollen number per scope as control and *t*_{0.05} are corresponding critical *t* values

表 3 不同桑稻距离的花粉浓度(田间试验)
Table 3 The pollen density on leaves at different distances between rice and mulberry plants (field experiment)

水平距离 (m)	垂直距离	平均粒数/每视野	最高粒数/每视野
Horizontal distance	Vertical distance	Average pollen number /per scope	Top pollen number per scope
<0.5	低于穗 under spike	0.042	0.125
<0.5	与穗平 parallel spike	0.034	0.086
<0.5	高于穗 above spike	0.000	0.000
<0.5	与穗平 parallel spike	0.034	0.086
0.5~1.0	与穗平 parallel spike	0.021	0.063
1.0	与穗平 parallel spike	0.000	0.000

2.3 田间试验结果:桑叶平均花粉浓度及分布

根据两次试验共 95 张桑叶 285 个显微镜视野的观测统计,所有(包括转基因和非转基因水稻处理)采集的桑叶上自然飘落的水稻花粉平均浓度为每视野 0.028 粒花粉,折 3.8 粒/cm²;同样,将每张叶片观测的 3 个视野中,花粉浓度最低的观测值和最高观测值分别进行平均,则可得到其平均变化范围为 0~9.9 粒/cm²(0~一万粒/每视野)。虽然在桑园中只放入了 3 株水稻植株,其花粉量极其有限,但在其周围 1.5m 范围内的桑叶上均飘落上一定

于风的作用完全有可能使大量花粉飘落到周边的桑叶上,就象本研究中实地调查得出的结果。

水稻植株放入桑园中,四周的桑叶上会飘落上一定的水稻花粉,试验表明桑叶与水稻植株越近则花粉飘落的浓度越高(表 3)。在本试验中,在水稻植株 1m 以外(水平或垂直方向)的桑叶上未检测到花粉,但是在实际大面积种植情况下,这一距离将远大于 1m。

2.4 田间试验结果:转 Bt 基因与非转基因水稻品种(系)花粉飘飞能力的比较

作物经基因转化后花粉飘飞特性是否会发生变化已有一些研究,本试验结果表明(表 4),转基因水稻与非转基因水稻的花粉飘飞特性并没有明显变化,它们飘飞到桑叶上的浓度虽有一些差异(互有高低),但均未达显著差异。3 个品种(系)中,Bt 水稻处理的桑叶花粉浓度介于另两个非转基因水稻品种处理之间,其中秀水 11 处理的桑叶浓度最高,但它与 Bt 水稻品种等均未达到显著差异。这一结果进一步验证了利用非转基因水稻品种花粉向桑叶飘飞的状况推测转基因水稻品种花粉飘飞特性的可靠性。

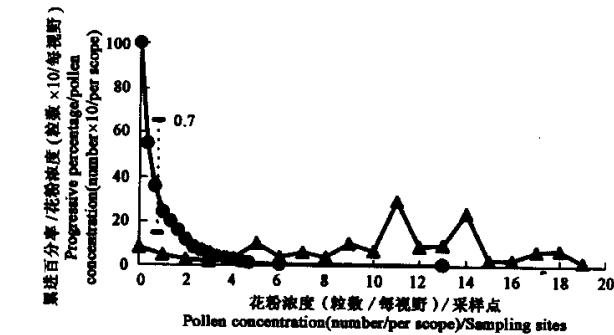


图 2 不同花粉浓度的桑叶占总数的累进比例(从右到左)和各采样点的平均花粉浓度。
Fig. 2 The progressive percentage (●) (from right to left) of leaves with different pollen density and average pollen concentration (···) and at all sampling sites(▲)

表 4 转 Bt 基因与非转基因水稻品种(系)花粉飘飞能力的比较*

Table 4 Comparison of flowing ability of pollen between transgenic and non-transgenic rice				
材料 Cultivar	平均粒数/每视野 Average pollen number/per scope	t/P	最高粒数/每视野 Top pollen number/per scope	t/P
克螟稻(Bt 稻) KMD(Bt transgenic rice)	0.028	0.46/0.65	0.083	0.73/0.47
秀水 11(野生型) Xiushui 11(Wild type)	0.056	—	0.125	—
1278	0.017	1.10/0.27	0.051	0.50/0.62

* t 测验均与转基因克螟稻的野生型品种秀水 11 比较 * t test with Xiushui11 as control

3 讨论

美国康奈尔大学 Losey J. E. 等学者^[16]1999 年的 Bt 玉米花粉喂养大斑蝶幼虫实验结果着实使世界震惊了一回,虽然他们声称在实验中向乳叶草上人为撒上的 Bt 玉米花粉浓度与玉米地里乳草上的实际花粉浓度保持相符(“Pollen density was set to visually match densities on milk-weed leaves collected from corn fields”),但随后美国国会基础研究委员会主席 Smith N. 向国会提交的一份听证会报告中认为,Bt 玉米对野生大斑蝶种群的威胁的证据被“过于夸大”了^[17]。最近一期的美国科学院院刊(PNAS)发表了一组有关 Bt 玉米花粉与大斑蝶的大规模田间调查与分析文章,最终的结论是除了个别 Bt 玉米品种(如 Event 176),Bt 玉米花粉的 Bt 毒蛋白总体上对于北美的大斑蝶并无明显威胁^[18]。本研究的结论是,如果在我国南方桑园间作地区批准种植 Bt 转基因水稻,水稻花粉中的 Bt 毒蛋白可能影响家蚕的生长发育。本研究的对象(家蚕)与上述研究对象(野生大斑蝶)有着明显不同的生境和环境适应能力,同时它们可选择的食物来

源地也明显不同(野生大斑蝶显然比家蚕有更多的选择余地),所以,两者对来自 Bt 玉米或水稻花粉毒蛋白的反应会有所不同。

由于每家每户种植的水稻种类(早稻、单季稻、晚稻)和时间参差不齐,加之水稻花期的安全隔离期长达 20 天以上,所以欲通过避开水稻花期的办法来避免 Bt 花粉的毒害可能是行不通的。我国南方的养蚕季节一般分为春蚕(6 月份)、夏蚕(7 月份)和秋蚕(8~10 月份)3 个生产季节,而这些时期正是各季水稻(早、单季和晚稻)的开花期,可见两者生产季节的矛盾很难调和。一个可行的办法可能是应用特异性启动子,使 Bt 毒蛋白在水稻花粉中不表达或表达量极少,这在玉米上已有成功的应用例子(如前面提到的 Bt 玉米品种“Bt11”和“Mon810”)。

王忠华等人的研究结果,该研究设计中仅安排了一个 Bt 花粉浓度处理,且浓度变化范围较大(32~201 粒/cm²);同时,所用的花粉洗脱记数的方法与本研究所用的花粉直接记数方法有所不同,洗脱的方法可能存在花粉难以完全洗下,从而花粉浓度记数偏低的问题。如果将喂养 Bt 花粉的浓度在 109.1 粒/cm²的基础上进一步提高,家蚕生长发育受到的影响程度又会怎样? 所以,目前非常需要建立一条家蚕生长发育状况随喂养 Bt 花粉浓度变化的曲线,根据这条曲线可以更加准确地判断不同 Bt 花粉浓度对家蚕生长发育的影响程度。这一工作有待进一步深入。另外,Bt 花粉的毒性随着在桑叶上粘附时间的增加,是否会失活而失去毒性? 也就是说,虽然在桑叶上检测到较高浓度的花粉,但是否就有相应的蛋白毒性呢? 这在今后的实验中应于予以考虑。另外,根据乳叶草的研究,一次降雨可以淋去 54%~86%的 Bt 玉米花粉,这说明降雨会明显降低叶片上的花粉浓度;同时,幼蚕与大斑蝶的幼虫一样,都吃嫩叶,而嫩叶上的花粉浓度相对较低(乳叶草嫩叶上的玉米花粉浓度只有中度成熟叶的 30%~50%)^[9],这些因素可能会降低一些 Bt 水稻花粉对家蚕的影响程度。

References :

[1] Fan L J, Zhou X P, Hu B M, *et al.* Gene dispersal risk of transgenic plants. *Chinese J. Applied Ecology*, 2001, **12**(4):630~632.

[2] Wang Z H, Ni X Q, Xu M K, *et al.* Effects of Bt rice “KMD” pollen on development of silkworm larvae. *Hereditas*(Beijing), 2001, **23**(5):463~466.

[3] Scheffler J A, arkinson R P, Dale P J. Evaluating the effectiveness of isolation distances for field plots of oilseed rape (*Brassica napus*) using a herbicide-resistance transgene as a selectable marker. *Plant Breeding*, 1995, **114**:317~321.

[4] Hokanson S C, Hancock J H, Grumet R. Direct comparison of pollen-mediated movement of native and engineered genes. *Euphytica*, 1997, **85**:425~431.

[5] Sankula S, Braverman M P, Jodari F, *et al.* Evaluation of glufosinate on rice (*Oryza sativa*) transformed with the BAR gene and red rice (*Oryza sativa*). *Weed Technology*, 1997, **11**:70~75.

[6] Xiang Y B, Liang Z Q, Gao M W, *et al.* Transformation and expression of insect resistance genes, cry1Ab and cry1Ac from *Bacillus thuringiensis* in rice. *Chinese J. Bio-engenerring*, 1999, **15**(4):495~500.

[7] Shu Q Y, Ye G Y, Chui H Y, *et al.* Bt rice “KMD”. *Journal Zhejiang Agricultural University*, 1998, **24**(6):579~580.

[8] Shi B K, Xia M B, Wu C J, *et al.* *Resource of mulberry plants*. Beijing:China Academy of Agriculture, 1986. 20~35.

[9] Pleasants J M, Hellmich R L, Dively G P, *et al.* Corn pollen deposition on milkweeds in and near cornfields. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2001, **98**(21):11919~11924.

[10] Zangerl A R, Mckenna D, Wraight C L, *et al.* Effects of exposure to event 176 *Bacillus thuringiensis* corn pollen on monarch and black swallowtail caterpillars under field conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2001, **98**(21):11908~11912.

[11] Qian 万方数据 Y. *Generation Technique of Hybrid Corn*. Hefei:Anhui S&T Press, 1991. 25.

[12] Tian D C. *Rice Cultivar*. Chongqing: Shichuan S&T Press, 1991. 51.

[13] Hellmich R L, Siegfried B D, Diane M K, *et al.* Monarch larvae sensitivity to *Bacillus thuringiensis* purified proteins and pollen. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2001, **98**(21):11925~11930.

[14] Liu E M and Li R Q. The isolation distances of GMO of main crops and fruit tree. *Agricultural Biotechnology Newsletter*, 1998, **3**:3~5.

[15] Doyle J and Persley G J. *Enabling the safe use of biotechnology——Principles and practice*. Washington: ESD, The World Bank, 1996. 50.

[16] Losey J E, Rayer L S, Carter M E. Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature*, 1999, **399**: 214.

[17] Fan L J and Zhou X P. *Transgenic Crops: Debates and Facts*. Beijing: Chinese Agriculture Press, 2001. 159~161.

[18] Clarke T. Monarch safe from Bt. *Nature Scienceupdate*. 12 September, 2001.

参考文献:

[1] 樊龙江,周雪平,胡秉民,等. 转基因植物基因漂流的生态风险. 应用生态学报,2001,**12**(4):630~632.

[2] 王忠华,倪新强,徐孟奎,等. Bt 水稻“克螟稻”花粉对家蚕生长发育的影响. 遗传,2001,**23**(5):463~466.

[3] 项友斌,梁竹青,高明尉,等. 农杆菌介导的苏云金杆菌抗虫基因 *cry1Ab* 和 *cry1Ac* 在水稻中的遗传转化及蛋白表达. 生物工程学报,1999,**15**(4):495~500.

[4] 舒庆尧,叶恭银,崔海瑞,等. Bt 转基因水稻“克螟稻”选育. 浙江农业大学学报,1998,**24**(6):579~580.

[5] 施炳坤,夏明炳,吴朝吉,等. 蚕树品种资源目录. 北京:中国农科院蚕业所,1986. 20~35.

[6] 钱章强,樊贵义. 杂交玉米制种技术. 合肥:安徽科技出版社,1991. 25.

[7] 田大成. 水稻异交栽培学. 重庆:四川科技出版社,1991. 51.

[8] 刘蔼民,李荣旗. 主要农作物和果树遗传工程体的田间隔离距离. 农业生物技术通讯,1998,**3**:3~5.

[9] 樊龙江,周雪平. 转基因作物安全性——争论与事实. 北京:中国农业出版社,2001. 159~161.