

转基因抗虫棉生物安全评价研究进展

邓 欣^{1,2}, 赵廷昌^{1,*}, 高必达², 张永军¹, 孙福在¹

(1. 中国农业科学院植物保护所 植物病虫害生物学国家重点实验室,北京,100094;

2. 湖南农业大学 生物安全科技学院,长沙,410128)

摘要:概述了转基因抗虫棉的推广应用现状,并从基因漂移、靶标害虫对转基因抗虫棉的抗性及其治理对策、对非靶标昆虫的影响、对土壤生态系统的影响及其产品的食品安全性评价几个方面对近年来国内外对转基因抗虫棉的生物安全性研究做了综述。

关键词:转基因抗虫棉;Bt;生物安全;基因漂移;害虫抗性;非靶标昆虫;土壤生态系统;食品安全性

文章编号:1000-0933(2006)12-4244-06 中图分类号:Q143 文献标识码:A

Advance on the biosafety assessment of insect-resistant transgenic cotton

DENG Xin^{1,2}, ZHAO Ting-Chang^{1,*}, GAO Bi-Da², ZHANG Yong-Jun¹, SUN Fu-Zai¹ (1. Institute of Plant Protection, CAAS, State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Beijing 100094, China; 2. College of Biosafety Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China). Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(12): 4244~4249.

Abstract: The biosafety assessment of insect-resistant transgenic cotton is one of the most important issues in recent years. This paper introduced the popularization and application status of insect-resistant transgenic cotton, and the related biosafety assessment research was summarized, with emphasis on gene flow, insects resistance and management, effects on non-target insects, soil ecosystem and food safety assessment. Finally, was discussed the prospect of the biosafety assessment of insect-resistant transgenic cotton.

Key words: Insect-resistant transgenic cotton; Bt; biosafety; gene flow; insect resistance; non-target insects; soil ecosystem; food safety assessment

1987年, Vaecck 在世界上首次报道将 Bt 杀虫蛋白基因转入棉花^[1]。美国的 Monsanto 公司于同年获得第一例转 Bt 基因抗虫棉。到 2005 年全球转基因抗虫棉种植面积达 980 万 hm², 占转基因作物种植面积的 11%^[2]。抗虫棉通过提高棉花产量、减少杀虫剂用量、节约劳力等来降低生产成本, 显示了巨大的社会效益和经济效益。然而, 随着转基因植物在全球范围内的蓬勃发展, 对转基因生物安全性的争论也不断升温, 科学家担心大量远缘物种基因重组会打破物种的界限, 影响自然的进化历程; 具有全新性状的转基因生物, 可能对生物群落结构和生态系统的功能造成影响; 以及基因工程中大量使用的抗生素标记基因, 进入环境后可能转移到某种病原菌中引起疾病的流行, 从而影响人体健康。因此, 人们对转基因生物进行了大量的生物安全性评价。本文概述了转基因棉的推广应用现状, 从基因漂移、靶标害虫对转基因抗虫棉的抗性及其治理对策、非靶标昆虫的影响和土壤生态系统的影响以及其产品的安全性评价几个方面就近年来国内外对转基因抗虫棉生物安全的研究进行综述。

收稿日期: 2005-10-15; 修订日期: 2006-04-08

作者简介: 邓欣(1980~), 女, 湖南衡阳人, 硕士生, 主要从事转基因抗虫棉的生物安全及微生物分子生物学研究。E-mail: kitty. amao@yahoo.com.cn

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhaotgcg@163.com

Received date: 2005-10-15; Accepted date: 2006-04-08

Biography: DENG Xin, Master candidate, mainly engaged in biosafety of insect-resistant transgenic cotton and microbial molecular. E-mail: kitty. amao@yahoo.com.cn

1 转基因抗虫棉的应用推广现状

目前应用最广并已投入生产的转基因抗虫棉所用的基因是 Bt 杀虫蛋白基因和豇豆胰蛋白酶抑制剂基因 (Cowpea trypsin inhibitor, CpTI), 其它还有植物凝集素基因、来自动物的蝎昆虫毒素基因和蜘蛛毒素基因以及胆固醇氧化酶 (Cho) 基因等^[3]。中国、美国、印度、阿根廷、南非、墨西哥、澳大利亚及哥伦比亚共 8 个国家种植了转基因抗虫棉^[2]。其中我国是世界上抗虫棉种植面积最大的国家。我国于 1988 年启动了转基因抗虫棉的研究, 十多年的研究取得了丰硕的成果, 累计推广面积达 600 万 hm^2 , 产生的社会效益超过 120 亿元, 显示了巨大的经济效益。到 2005 年, 全国转基因抗虫棉种植面积达 330 万 hm^2 ^[2]。

2 转基因抗虫棉生物安全评价研究进展

2.1 转基因抗虫棉的基因漂移

基因漂移, 也称基因逃逸, 是指由遗传工程的方法转移到某一生物有机体的遗传信息 (目标基因) 在生物的个体、种群甚至是物种之间自发移动的过程。已有研究证实抗虫棉体内的外源基因可向周围环境漂移。防止外源基因向周围环境扩散的最有效的方法是设置一定的隔离带, 科研人员对隔离距离进行了大量研究。Pope 等指出, 在他们的实验条件下, 至少需要 1 英里以上的距离才能实现完全的保护^[4]。Afzal 和 Khan 则指出, 100 英尺的隔离距离是完全安全的^[5]。沈法富等的研究表明: 在 0~6m 陆地棉品种间显示较高频率的基因漂移, Bt 基因漂移距离最大可达 36m; 海岛棉的 Bt 基因漂移较陆地棉品种低, 但 Bt 基因漂移最远达 72m^[6]。张宝红等认为隔离带的距离以 50~100m 为宜^[7]。他们的研究结果同张长青等对同一种抗 2, 4-D 的转基因棉花的花粉扩散频率的结果相差不大, 后者认为 100m 的隔离距离可以使转基因逃逸的频率降为零^[8]。

除多种环境因素外, 转基因作物释放的面积也可能会影响到转基因花粉的传播距离。Kjellson 等认为如今转基因棉花的释放面积都是非常大的, 50m 或 100m 的隔离距离不足以控制转基因花粉的扩散。但以上转基因棉花花粉传播距离的数据是以实际产生杂交后代的频率而得出的, 实际上, 更准确的结果应该建立在对扩散花粉的收集和鉴定上^[9]。

另外, Raamsdonk 等探索了模型模拟技术在自然种群中转基因植物基因漂移、竞争等方面应用的可能性, 以及预测其对未来生态环境的影响^[10]。樊龙江等则建议建立植物转基因漂移状况国家和省级地理信息系统^[11]。目前还没有转基因植物花粉漂移到近缘物种改变远缘杂交的习性的报道。

2.2 靶标害虫对转基因抗虫棉的抗性及其治理对策

在实验室中现在已至少发现 10 种蛾类、2 种甲虫和 4 种蝇类对 Bt 毒素产生抗性。梁革梅等报道获得了 Bt 棉花产生抗性的棉铃虫品系, 研究表明棉铃虫对 CryIAC 蛋白抗性是由单个不完全隐性基因控制的^[12]。已有研究结果证实, 害虫对 Bt 杀虫蛋白的抗性发展速度是较快的, 并可能造成防治失效^[13]。范贤林等通过对不同抗性水平的棉铃虫种群的比较实验证明, Bt 棉对抗 Bt 杀虫基因棉铃虫种群的生长抑制作用显著降低。而棉铃虫对 Bt 农药和转 Bt 棉品系间存在交互抗性^[14]。Roush 等应用抗性治理模型来估计害虫对转 Bt 基因植物的抗性频率, 研究表明如不进行抗性治理, 烟蚜夜蛾对 Bt 棉产生抗性的时间为 10a 左右, 而美洲棉铃虫可能只需 3~4a^[15]。而据 Fitt 研究, 如无避难所, Bt 棉大面积种植有效时间约 3~4a, 如采用包括避难所在内的抗性延缓技术则可种植数 10a^[16]。

各国采取了“庇护所”的对策以治理或减缓棉铃虫对转基因棉花抗性的产生。Tang 等研究发现分别种植的庇护所能保持大量敏感昆虫种群并降低抗性水平, 较混合种植的庇护所效果好^[17]。Stokstad 认为如果能对害虫的抗性基因本身进行研究, 获得一种简易的 DNA 方法来检测抗性基因的存在, 就能够为农民提供一个早期预报工具, 使农民能够及时停止种植转基因 Bt 作物而改用一段时间的化学杀虫剂, 从而有效地延迟抗性的进化^[18]。经过多年的研究, 我国学者在对转基因抗虫棉的抗性管理和治理上也积累了相当多的研究成果。如谭声江的研究表明玉米和蓖麻在田间能起到避难所的作用, 但在推行这种天然避难所策略以前, 应该客观评价由于棉花害虫造成的损失或者由于防治害虫而增加的投入^[19]。魏伟等提出延迟害虫对 Bt 作物抗性的管理策略^[20]。吴孔明等提出了通过增加春播玉米、花生和大豆面积为第 2 代棉铃虫提供庇护所延缓棉铃虫抗

性发展的技术措施,以及应结合棉铃虫地理型分布区域对我国棉铃虫进行抗性治理,以确保在棉铃虫生态区内存在足够的天然庇护所^[21]。

2.3 转基因抗虫棉对非靶标昆虫的影响

2.3.1 对非靶标害虫的影响 虽然抗虫棉对非鳞翅目害虫没有直接的影响,但可以通过鳞翅目害虫及其天敌而间接地对非鳞翅目害虫产生影响。Wilson 等在田间的调查表明抗虫棉花通过对鳞翅目害虫的影响而间接地促进了甘薯白粉虱的种群增长^[22]。崔金杰等的研究表明,转基因抗虫棉田棉蚜、棉叶螨、棉盲蝽、白粉虱和棉叶蝉等刺吸性害虫的发生为害呈加重趋势^[23]。徐建民等的调查表明,斜纹夜蛾、甜菜夜蛾在赣北抗虫棉区已上升为主要害虫^[24]。王武刚等的研究发现在相同越冬虫源的棉田,Bt 棉田的红蜘蛛种群发展比常规棉田显得更快^[25]。门兴元等的研究也发现,在未防治的条件下抗虫棉的节肢动物群落和害虫亚群落的多样性指数在棉花生长前期和后期要高于常规棉^[26]。

2.3.2 对害虫天敌的影响 在田间,转基因抗虫棉的害虫存在很多的寄生性天敌和捕食性天敌,Bt 棉可能会通过影响其害虫而影响到昆虫天敌。关于抗虫棉对害虫天敌的影响的报道目前很不一致,一些实验证明 Bt 毒蛋白对捕食性天敌没有影响。Jenkins 发现转 Bt 基因棉能间接提高天敌的捕食率^[27]。王武刚等调查发现转 Bt 基因棉对棉田自然天敌影响不显著^[25]。夏敬源等在大田实验中发现棉铃虫的优势寄生性天敌的数量明显减少,捕食性天敌的数量减少不明显^[28]。

然而,崔金杰等的研究表明,种植转 Bt 基因棉严重影响棉铃虫幼虫优势寄生性天敌的寄生率、羽化率和捕食量^[29]。吴孔明于 1997~1999 年对河南省新乡市和河北省廊坊市种植的 GK 抗虫棉作系统调查,表明抗虫棉田瓢虫类、草蛉类和蜘蛛类捕食性天敌的数量与常规化学防治田相比大幅度增加^[30]。门兴元等的研究则发现,在未防治的条件下抗虫棉的天敌亚群落多样性指数在棉花生长后期要高于常规棉,但在棉花生长的早期和中期,两者的大小没有表现出显著性差异^[26]。

2.4 转基因抗虫棉对土壤生态系统的影响

2.4.1 Bt 毒素在土壤中的代谢活性 转基因抗虫棉中的外源蛋白进入土壤后能否保持活性是其对土壤生态系统产生影响的先决条件。研究表明纯化 Bt 毒素可被粘土矿物、腐殖酸和有机矿物聚合体等土壤表面活性颗粒快速吸附,并与之紧密结合,结合态的 Bt 蛋白在很长一段时间内仍保持杀虫活性,而且不易被土壤微生物分解^[31~33]。

不仅纯化的 Bt 毒素能对土壤环境产生影响,抗虫棉的根系分泌物和残茬也可以向土壤释放 Bt 毒素。Rui 等发现 Bt 棉根系分泌的 Bt 毒素的高活性可持续 2 个月^[34]。Donegan 发现转 CryIAb 基因棉花叶片和茎秆在砂壤土和粘壤土中分解释放毒素的高活性状态可分别持续 28d 和 40d^[35]。Sims 的研究表明转 CryIIA 基因棉花秸秆室内或田间分解 40d 后的杀虫活性一致^[36]。Palm 等将转 Bt 棉花叶枝埋入 5 种不同微生物生态系统土壤中,发现 140d 后在 3 种土壤中仍能检测到 Bt 毒素^[37]。Flores 等发现转 Bt 抗虫棉残茬在土壤中的降解量比对应的常规棉少,而改用微生物悬浮液处理残茬时也得到同样的结果^[38]。James 报道,Bt 毒素可通过枯枝落叶和根系分泌物残留在土壤中,与土壤粘粒结合毒性难以降解^[39]。可见,无论转 Bt 基因作物根系分泌或秸秆分解释放的 Bt 毒素,并没有完全降解,仍可保持杀虫活性。

大量研究表明 Bt 毒素在土壤中能够存留较长的一段时间,且不易被土壤微生物分解,其活性持续时间与粘粒含量呈正比,而与土壤 pH 值呈反比^[40]。中性土壤中转 Bt 基因棉花的活性降低较快^[41]。并有可能随着转 Bt 基因植物的不断种植而积累,进而增加其向土壤生物体进行基因转移的生态风险性^[38]。目前,杀虫晶体蛋白在土壤中降解时间的报道差异较大,可能是杀虫晶体蛋白类型与浓度、转 Bt 基因棉花品种、土壤类型、土壤微生物组成、土壤水分等均能影响土壤中 Bt 毒素的降解速度,另外,毒素检测方法的不同也影响结果的一致性。不同转 Bt 基因抗虫棉的 Bt 毒素在不同土壤环境下的降解时间需要更深入细致的研究。

大田实际的情况和室内的结果却有很大的差异。Graham 等报道,在连续种植了 3~6a 的转 BtCryIAc 棉花田中,用 ELISA 法和生物测定法未检测到这种毒蛋白,认为种植了转 Bt 棉后残留在田中的植株残体等通过

耕作方式向土壤释放的 Bt 毒蛋白的量很低,生物活性也不足以达到能检测到的水平^[42]。Saxena 及 Stotzky 等在 Bt 棉根际也未能检出毒蛋白^[43,44]。

2.4.2 对土壤微生物群落的影响 土壤微生物对环境变化最为敏感,而土壤微生物多样性对土壤生态系统的结构和功能有着重要作用。Yudina 等发现 4 种不同转 Bt 基因棉花促使了土壤中细菌和真菌数量发生短暂性的显著增加^[45]。Watrud 和 Seidier 也报道,转 Bt 基因棉花可以提高土壤中细菌和真菌的数量^[46]。Oger 等对转基因植物对根际细菌的影响进行了研究,结果发现转基因植物可改变根际细菌的生物学环境^[47]。

但也有一些关于抗虫棉对土壤微生物不造成影响的报道。沈法富等的研究表明不同年份和生育期的抗虫棉根际微生物数量存在差异,但年度间和相同的发育时期棉花根际微生物的数量变化趋势一致^[48]。裴克全采用对原核生物核糖体小亚基 16srDNA 全序列分析的方法,研究转基因抗虫棉根际土壤微生物的多样性,也没有发现抗虫棉田与非抗虫棉田间有显著的差异^[49]。Stotzky 认为纯化的 BTT 和 BTK 自由态或结合态杀虫蛋白,对细菌(革兰氏阳性)、真菌(酵母菌,丝状体)和藻类(绿藻,硅藻)的原位生长没有影响^[50]。Donegan 等发现美国 247 和 249 品系 Bt 抗虫棉土壤中的微生物数量、种类和组成与常规棉差异显著,但她认为这种差异并不是 Bt 毒素本身引起的,可能是由于遗传修饰后的植株的生理生化特性发生了变化,随着植物的不断种植而积累,从而对土壤微生物产生影响^[35]。MacGregor 和 Turner 研究也认为,转基因作物对土壤生物群落影响的部分原因是转基因植株的生理生化特性和表达产物化学和生物学特性引起的^[51]。

2.4.3 对土壤动物的影响 土壤原生动物种群的变化是最敏感的监测指标之一,一些研究表明抗虫棉对土壤动物产生影响。Tapp 和 Stotzky 通过生物测定(Bioassay)研究纯化的 Bt 蛋白与土壤颗粒结合后的活性表明,与土壤颗粒结合的 Bt 蛋白对烟草甲虫类害虫(*Leptinotarsa decemlineata*)和天蛾类害虫(*Manduca sexta*)的幼虫仍有毒害作用^[32]。Crecchio 等也指出,纯化的 Bt 毒蛋白分别与腐殖质酸和蒙脱石-腐殖质酸-铝羟基聚合物的复合体的结合态和游离态都具有对烟草天蛾幼虫的杀虫活性^[31]。

但以上研究大多针对鳞翅目昆虫,关于对其他土壤动物的研究情况则不同。Yu 的研究表明 Bt 棉的杀虫蛋白对土壤中一种弹尾虫(*Folsomia candida*)和一种奥甲螨(*Oppia nitens*)没有产生负面影响^[52]。Saxena 将蚯蚓在被 Bt 毒素污染的土壤中培养 45d,其肠道物和粪便中均含有 Bt 毒素,但蚯蚓实验种群的数量和生长状况正常,将蚯蚓转移到新鲜无污染土壤中 2~3d 后,肠道物中的 Bt 毒素消失,说明结合态 Bt 毒素只是经过了蚯蚓的消化系统,并没有被其消化系统的酶降解,也不影响其正常生长^[53]。

2.5 转基因抗虫棉产品的食品安全性评价

转基因产品的食品安全性评价是全球关注的热点问题,棉子蛋白和棉子油是仅次于大豆的植物蛋白和植物油源,人们担心 Bt 毒蛋白会对动物和人体引起不良后果,但已经进行的研究很少。陈松等用含 5%~10% 抗虫棉棉子的饲料喂养小白鼠 28d,结果表明,和对照相比对小白鼠增重、饲料消耗量、死亡率、行为、器官、毛重等方面的影响均不明显。用含 10% 棉子的饲料喂养鹌鹑 8d,对鹌鹑的饲料消耗、增重、死亡率、行为等没有明显影响。用含 20% 棉子的饲料喂养鲤鱼 10 周,在增重、饲料消耗、饲料转化率、死亡率、体征等方面,无明显差异。在棉子和棉子油为饲料饲喂小白鼠 30d,没有发现对小白鼠的体细胞的诱变活性,没有发现精子细胞畸形现象。对喂养了 28d 的大鼠肝脏、肾胃、肠、睾丸等的组织切片镜检,未发现组织和细胞变形、增生和坏死等病理变化。但长期饲养是否有慢性毒性或对后代有影响需进一步研究^[54,55]。

3 结语

综上所述,国内外关于转基因抗虫棉对生态环境安全性的研究和了解已经取得了一些科学试验数据和评价管理经验,尤其是在基因漂移、靶标害虫的抗性问题的影响方面已积累了大量数据,但还有一些问题存在着争议,一些试验方法和结论,缺乏科学研究的基础,不能确切地预测转基因植物的生态风险。在土壤生态系统的评价方面,国外已有一些报道,我国的研究则还刚起步,对土壤生态系统的影响所积累的数据还很少。另外,转基因的产品包括棉子油和饲料等,人们担心这些携带外源基因和标记基因的棉子产品会通过动物的食用而进入食物链,然而目前对其食品安全性评价的研究却非常少。这些问题都显现了我们对转

基因抗虫棉生物安全性研究的不足。由于潜在的生态风险性是一个重要而且复杂的问题,往往要在相当长的时期内才表现出来,尤其是实验中一些不显著的问题,在产业化规模种植并经过较长时间后,才可能会暴露出来,进而直接和间接的对生态系统造成不利影响。因此,必须对大面积种植的转基因抗虫棉的生态风险进行长期跟踪监测研究,加强安全性评价的试验研究,发展能够检测转基因植物生态风险的新方法和新技术,建立与转基因抗虫棉相配套的病虫害可持续治理策略。同时加强抗虫棉产品的食品安全性研究,着重研究主要标记基因和报告基因对动植物和人体健康可能造成不利影响的理论基础及其生态、遗传、生理代谢和毒理学机制,评价外源基因在食物链中的传递和累积。从而对转基因抗虫棉的生态风险性有一个比较全面客观的评价,使其更好地为农业生产服务。

References:

- [1] Vaeck M R. Transgenic plants protected from insect attack. *Nature*, 1987, 328 :33~37.
- [2] James C. Global status of commercialized transgenic crops:2005. ISAAA :Ithaca, N. Y, 2005.
- [3] Zhang Y J, Wu K M, Peng Y F, *et al.* Progress in ecological safety of insect-resistant transgenic plants. *Entomological Knowledge*, 2002, 39(5) :321~327.
- [4] Pope O A, Simpson D M. Effect of corn barriers on naural crossing in cotton. *Journal of Agricultural Research*, 1944, 68 :347~361.
- [5] Afzal M, Khan A H. Natural crossing in cotton in western Punjab II. Natural crossing under field conditions. *Agronomy Journal*, 1950, 42 :89~93.
- [6] Shen F F, Zhang X K, Yu Y J, *et al.* Bt gene flow of transgenic cotton. *Acta Genetica Sinica*, 2001, 28(6) :562~567.
- [7] Zhang B H, Feng R. Insect resistance of cotton and insect-resistant transgenic cotton. Beijing: Chinese Agricultural and Scientific Press, 2000. 306~326.
- [8] Zhang C Q, Lü Q Y, Wang Z X, *et al.* Frequency of 2, 4-D resistant gene flow of transgenic cotton. *Scientia Agricultura Sinica*, 1997, 30(1) :92~93.
- [9] Kjellson G, Simonsen V, Ammann K. Methods for risk assessment of transgenic plants II. Pollination, gene-transfer and population impacts. Basel : Birkhauser Verlag. 1997, 1~308.
- [10] Raamsdonk L R, Schouten H J, Van Raamsdonk L W D. Gene flow and establishment of transgenes in natural plant population. *Acta Bot Neerlandica*. 1997, 46(1) :69~84.
- [11] Fan L J. GIS for plant transgene escape :a proposal. *Biotechnology Information*. 2001, 3 :1~3.
- [12] Liang G M, Tan W J, Guo Y Y. Studies on the resistance screening and cross-resistance of cotton bollworm to *Bacillus thuringiensis*. *Scientia Agricultura Sinica*, 2000, 33(4) :46~53.
- [13] Cui X F, Xia J Y. Biology studies on cotton bollworm with different resistance level to Bt toxic protein. *Acta Gossypii Sinica*, 2003, 15(3) :163~165.
- [14] Fan X L, Zhao J Z, Fan Y L, *et al.* Inhibition of transgenic Bt plants to the growth of cotton bollworm. *Plant Protection*, 2000, 26(2) :3~5.
- [15] Roush R T. Two toxin strategies for management of insecticidal transgenic crops: can pyramiding succeed where pesticide mixtures have not? *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 1998, 35 :1777~1786.
- [16] Fitt G P. Proceedings of 8th Australian Cotton Conference, ACGRA. Broadbeach, Australia, 1996, 69~76.
- [17] Tang J D, Collins H L, Metz T D, *et al.* Greenhouse tests on resistance management of Bt transgenic plants using refuge strategies. *J Econ Entomol*, 2001, 94(1) :240~247.
- [18] Sokstad E. First light on genetic roots of Bt resistance. *Science*, 2001, 293 :778.
- [19] Tan S J, Chen X F, Li D M. Progress in the studies on *Helicoverpa* spp. resistance to transgenic Bt cotton and its management strategy. *Acta Entomologica Sinica*, 2002, 45(1) :138~144.
- [20] Wei W, Qian Y Q, Ma K P. Pests resistance to transgenic Bt crops and its management strategies. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 1999, 5 :215~228.
- [21] Wu K M, Guo Y Y. Evolution of environmental Adaptability in cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* in China. In: Wu K M, Chen X F. Progress in entomology. Beijing: Chinese Scientific & Technological Press, 2000. 246~253.
- [22] Wilson F D. Resistance of cotton tines containing a *Bacillus thuringiensis* toxin to pink bollworm and other insects. *J Econ Entomol*, 1992, 85(4) :1516~1521.
- [23] Cui J J, Xia J Y. Effects of Bt transgenic cotton (with early maturity) on population dynamic of main pests and their natural enemies. *Acta Gossypii Sinica*, 1998, 10(5) :255~262.
- [24] Xu J M, Liu D Z, Song J H, *et al.* analysis occurrence of main pests in Bt transgenic cotton. *Jiang Xi Cotton*, 2005, 27(2) :35~37.
- [25] Wang W G, Wu K M, Liang G M, *et al.* Occurrence of cotton pests in the Bt cotton fields and its control strategy. *Plant Protection*, 1999, 25(1) :3~5.
- [26] Men Y X, Ge F, Yin X M, *et al.* Diversities of arthropod community in transgenic Bt cotton and nontransgenic cotton agroecosystems. *Chinese Journal of Ecology*, 2003, 22(5) :26~29.
- [27] Jenkins J N. Field and laboratory evaluations of transgenic cotton strains containing a gene from *Bacillus thuringiensis* stain HD-1. *Proc Belt Cotton Prod Res Con*, 1990, 635.
- [28] Xia J Y, Cui J J, Ma L H, *et al.* The role of transgenic Bt cotton in integrated insect pest management. *Acta Gossypii Sinica*, 1999, 11(2) :57~64.
- [29] Cui J J, Luo J Y, Wang C Y, *et al.* effects of transgenic Bt plus CpTI cotton on the predating functional response of main predators in cotton field. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2005, 28(1) :48~51.
- [30] Wu K M, Guo Y Y, Wang W G. Field resistance evaluation of Bt transgenic cotton GK series to cotton bollworm. *Acta Phytopythologica Sinica*, 2000, 27(4) :317~321.
- [31] Crecchio C, Stotzky G. Biodegradation and insecticidal activity of the toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* bound on complexes of montmorillonite-humic acids-Al hydroxypolymer. *Soil Biol. Biochem.*, 2001, 33 :573~581.
- [32] Tapp H, Stotzky G. Insecticidal activity of the toxin from *Bacillus thuringiensis* subspecies *kurstaki* and *tenebrionis* adsorbed and bound on pure and soil clays. *Appl Environ Microbiol*, 1995, 61 :1786~1790.
- [33] Koskella J, Stotzky G. Microbial utilization of free and clay-bound insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* and their retention of insecticidal activity after incubation with microbes. *Appl Environ Microbiol*, 1997, 63 :3561~3568.
- [34] Rui Y K, Yi G X, Zhao J, *et al.* Changes of Bt toxin in the rhizosphere of transgenic Bt cotton and its influence on soil functional bacteria. *World Journal of*

- Microbiology & Biotechnology, 2005, 21: 1279~1284.
- [35] Donegan K, Palm C J, F ieland V J, et al. Changes in levels, species, and DNA fingerprints of soil microorganisms associated with cotton expressing the *Bacillus thuringiensis* var. kurstak endotoxin. Appl Soil Ecol, 1995, 2: 111~124.
- [36] Sims S R, Ream J E. Soil inactivation of the *Bacillus thuringiensis* ssp. Kurstaki Cry IIA insecticidal protein with intragenic cotton tissue: laboratory microcosm and field studies. J Agric Food Chem, 1997, 45: 1502~1505.
- [37] Palm C J, Schallet D I, Donegan K, et al. Persistence in soil of transgenic plants produced *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki δ -endotoxin. Can J Microbil, 1996, 42: 1258~1262.
- [38] Flores S, Saxena D, Stotsky G. Transgenic Bt plants decompose less in soil than non-Bt plants. Soil Biology and Biochemistry, 2005, 37: 1073~1082.
- [39] James R R. Utilizing a social ethic toward the environment in assessing genetically engineered insect-resistance in trees. Agric Human Values, 1997, 14: 237~249.
- [40] Fan L J, Zhou X P, Hu B M, et al. Gene dispersal risk of transgenic plants. Chin J Appl Ecol, 2001, 12(4): 630~632.
- [41] Saxena D, Flores S, Stotsky G. Vertical movement in soil of insecticidal Cry1Ab protein from *Bacillus thuringiensis*. Soil Biol Biochem, 2002, 34: 111~120.
- [42] Graham H, James BS, Jon AW, et al. No detection of Cry1Ac protein in soil after multiple years of transgenic Bt cotton (Bollgard) use. Environ Entomol, 2002, 31(1): 30~36.
- [43] Saxena D, Stewart C N, Altosaar I, et al. Larvicidal Cry proteins from *Bacillus thuringiensis* are released in root exudates of transgenic *B. thuringiensis* corn, potato, and rice but not of *B. thuringiensis* canola, cotton, and tobacco. Plant Physiology and Biochemistry, 2004, (42): 383~387.
- [44] G. Stotzky. Persistence and biological activity in soil of the insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis*, especially from transgenic plants. Plant and Soil, 2004, 266: 77~89.
- [45] Yudin T G, Burtseva L I. Activity of delta-endotoxins of four *Bacillus thuringiensis* subspecies against rokaryotes. Microbiol, 1997, 66: 25~31.
- [46] Watrud L S, Seidler R J. Nontarget ecological effects of plant, microbial, and chemical introductions to terrestrial systems. Soil Chemistry and Ecosystem Health. Special Publication 52. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin. 1998, 313~340.
- [47] Oger P, Petit A and Dessaux Y. Genetically engineered plants producing opines alter their biological environment. Nature Biotechnol, 1997, 15(4): 369~372.
- [48] Shen F F, Han X L, Fan S L. Changes in microbial flora and bacterial physiological group diversity in rhizosphere soil of transgenic Bt cotton. Acta Ecologica Sinica, 2004, 24(3): 432~437.
- [49] Pei K Q. Biosafety information construction and preliminary study of molecular ecology of transgenic cotton rhizosphere microbes. Postdoctoral report. Beijing: Institute of Botany, CAS, 2001.
- [50] Stotzky G. Persistence and biological activity in soil of insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* and of bacterial DNA bound on clays and humic acids. J Environ Qual, 2000, 29: 691~705.
- [51] MacGregor A N, Turner M A. Soil effects of transgenic agriculture: biological processes and ecological consequences. N Z Soil News, 2000, 48(6): 166~169.
- [52] Yu I, Berry R E, Coroft B A. Effects of *Bacillus thuringiensis* toxin in transgenic cotton and potato on *Folsomia Candida* (Collembola: Isotomidae) and *Oppia nitens* (Acari: Oribatidae). J Econ Entomol, 1997, 90(1): 113~118.
- [53] Saxena D and Stotzky G. *Bacillus thuringiensis* (Bt) toxin released from root exudates and biomass of Bt corn has no apparent effect on earthworms, nematodes, protozoa, bacteria, and fungi in soil. Soil Biol Biochem, 2001, 33: 1225~1230.
- [54] Chen S, Huang J Q, Zhou B L, et al. An assessment on the safety of cotton seed meal from Bt-transgenic cotton plant on the chronic toxicity test with rat and partridge. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 1996, 12(2): 41~42.
- [55] Chen S, Huang J Q, Zhou B L, et al. An assessment on the safety of cotton seed meal from Bt-transgenic cotton plant on the chronic toxicity test with carp. Acta Gossypii Sinica, 1996, 8(5): 241~245.

参考文献:

- [3] 张永军, 吴孔明, 彭于发, 等. 转抗虫基因植物生态安全性研究进展. 昆虫知识, 2002, 39(5): 321~327.
- [6] 沈法富, 张学坤, 于元杰, 等. 转基因抗虫棉的 Bt 基因流. 遗传学报, 2001, 28(6): 562~567.
- [7] 张宝红, 丰嵘主编. 棉花的抗虫性与抗虫棉. 北京: 中国农业科学出版社, 2000. 306~326.
- [8] 张长春, 吕群燕, 王志兴, 等. 抗 2, 4-D 转基因棉花基因漂流频率的研究. 中国农业科学, 1997, 30(1): 92~93.
- [11] 樊龙江. 关于建立植物转基因漂流状况国家和省级地理信息系统的建议. 生物技术通报, 2001, 3: 1~3.
- [12] 梁革梅, 谭维嘉, 郭予元. 棉铃虫对 Bt 的抗性筛选及交互抗性研究. 中国农业科学, 2000, 33(4): 46~53.
- [13] 崔学芬, 夏敬源. 对 Bt 毒蛋白不同抗性水平的棉铃虫种群的生物学研究. 棉花学报, 2003, 15(3): 163~165.
- [14] 范贤林, 赵建周, 范云六, 等. 转 Bt 基因植物对不同抗性棉铃虫的生长抑制作用. 植物保护, 2000, 26(2): 3~5.
- [19] 谭声江, 陈晓峰, 李典谟. 棉铃虫对转 Bt 基因棉的抗性及其治理策略研究进展. 昆虫学报, 2002, 45(1): 138~144.
- [20] 魏伟, 钱迎倩, 马克平. 害虫对转 Bt 基因作物的抗性及其管理对策. 应用与环境生物学报, 1999, 5: 215~228.
- [21] 吴孔明, 郭予元. 中国棉铃虫种群生境适应性的进化. 吴孔明, 陈晓峰主编昆虫学研究进展. 北京: 中国科学技术出版社, 2000. 246~253.
- [23] 崔金杰, 夏敬源. 麦套夏播转 Bt 基因棉田主要害虫及其天敌的发生规律. 棉花学报, 1998, 10(5): 255~262.
- [24] 徐建民, 刘定忠, 宋建辉, 等. 转 Bt 基因抗虫棉棉田主要病虫害的发生情况. 江西棉花, 2005, 27(2): 35~37.
- [25] 王武刚, 吴孔明, 梁革梅, 等. Bt 棉对主要棉虫发生的影响及防治对策. 植物保护, 1999, 25(1): 3~5.
- [26] 门兴元, 戈峰, 尹新明, 等. 转 Bt 基因棉田与常规棉田节肢动物群落多样性得比较研究. 生态学杂志, 2003, 22(5): 26~29.
- [28] 夏敬源, 崔金杰, 马丽华, 等. 转 Bt 基因抗虫棉在害虫综合治理中的作用研究. 棉花学报, 1999, 11(2): 57~64.
- [29] 崔金杰, 雒措瑜, 王春义, 等. 转双价基因(Bt + CpTI) 棉对棉田主要捕食性天敌捕食功能反应的影响. 南京农业大学学报, 2005, 28(1): 48~51.
- [30] 吴孔明, 郭予元, 王武刚. 部分 GK 系列 Bt 棉对棉铃虫抗性的田间评价. 植物保护学报, 2000, 27(4): 317~321.
- [40] 樊龙江, 周雪平, 胡秉民, 等. 转基因植物的基因漂流风险. 应用生态学报, 2001, 12(4): 630~632.
- [48] 沈法富, 韩秀兰, 范术丽. 转 Bt 基因抗虫棉根际微生物区系和细菌生理多样性的变化. 生态学报, 2004, 24(3): 432~437.
- [49] 裴克全. 转基因棉根际微生物的生物安全信息及其分子生态学的初步研究. 博士后工作报告. 北京: 中国科学院植物研究所, 2001.
- [54] 陈松, 黄骏骥, 周宝良, 等. 转 Bt 基因抗虫棉棉籽安全性评价——大鼠、鹌鹑毒性试验. 江苏农业学报, 1996, 12(2): 41~42.
- [55] 陈松, 黄骏骥, 周宝良, 等. 转 Bt 基因抗虫棉棉籽安全性评价——鲤鱼慢性毒性试验. 棉花学报, 1996, 8(5): 241~245.