中国转基因水稻对健康和环境的风险

Dr. Janet Cotter, University of Exeter, UK Dr. Sue Mayer, GeneWatch, UK



2004年11月

内容概要

1. 前言

本文是绿色和平关于中国转基因稻米的内容概要,这份报告主要阐述了中国的转基因稻 米对人类健康、农业和环境等方面的风险。

我们格外关注中国转基因稻米的情况有以下两个原因:

- 如果转基因稻米获得商业化种植的批准,将成为第一例获准的作为人类主食的转基因作物。其它已经被批准商业化种植的转基因作物主要是用作动物饲料(如大豆和玉米)、纺织原料(如棉花)或是仅占饮食中很少份额(如美国的转基因木瓜)。
- 中国是稻米的原产地和生物多样性中心,是很多稻米品种和近缘物种的故乡。因此,对于环境方面的影响,如转基因品种与野生稻的杂交问题要给予特别的关注。

2. 哪种类型的转基因稻米?

以下是有可能最先考虑被批准的转基因稻米品种:

- 抗虫,转Bt(Bacillus thuringiensis) Cry毒蛋白基因
- 抗虫,转豇豆胰蛋白酶抑制剂(Cowpea trypsin inhibitor, CpTI)基因
- 和抗稻白叶枯病,转 Xa21 稻米基因

3. 健康影响

稻米在各年龄层段都是饮食中重要的组成部分,包括刚断奶婴儿吃的米粉和稀粥。因此, 在对转基因稻米进行评估时我们必须非常地小心谨慎。然而,目前的转基因作物存在着很多 非有意和非预期的后果,在毒性和致敏性测试方面也有很大难度,所以对转基因稻米的安全 评估非常困难。

a. 转基因技术带来的非预期变化

用于创造转基因植物的技术既不精确也不准确。在转基因操作过程当中,多个拷贝的外源基因或基因片断经常随机地插入作物原有的基因当中,以及造成原有基因的缺失或重排。 这些情况可能导致的非有意和非预期后果包括:

- 破坏作物的原有基因及它们的正常功能,有可能导致产生不可预料的有毒或反营养物质;
- 增加或减少作物原本的毒素或致敏蛋白的表达量;
- 如果多拷贝同时存在时可能发生基因沉默,。(注:基因沉默,即转入基因在受体植物中往往不能稳定表达,有时甚至完全不表达)

现在已有一些转基因稻米非预期变化的相关报道,联合国粮农组织和世界卫生组织制定的食品法典准则中关于转基因技术的部分也要求考虑非预期变化。¹因此,对转基因稻米的

¹ Codex Alimentarius Guideline for the conduct of food safety assessment of foods derived from

安全评估必须包括到可能的非有意和非预期后果。

b. 致敏性,毒性和营养价值

转入基因的表达产物是否有毒性或致敏性,在对转基因食品的安全评估中需要非常仔细。很多人每天会进食大量的大米,因此食品安全评估一定要进行得非常严格,对转入的基因成分及其蛋白产物的最终去向要进行深入的研究。这就要求对基因及其蛋白产物在烹饪过程中的降解情况,以及它们在人体消化道中的活性表现进行评估。

对于 Bt 毒蛋白基因和豇豆胰蛋白酶抑制剂基因,还会有特别的健康问题顾虑,因此需要全面地进行分析。

如果抗抗生素的基因被用作基因标记物,那么透过基因转移至微生物而导致抗生素疗法 失效的可能性就应成为在风险评估中的一个内容。

4. 环境及农业影响

转基因稻米可能通过以下途径对环境和农业经济造成不利影响。

a. 杂草问题

转基因稻米对杂草稻或野生稻的基因流(植物间通过交叉授粉而发生的基因流动)将是有害的。如果基因流将外源基因转入到杂草稻和/或红稻中,可能会增加它们的竞争优势而使其变得更为麻烦,农民将为杀死它们而施用更多的有毒化学品。例如,抗虫或抗病基因的转入将会增加红稻的竞争优势。

b. 野生稻

在有野生稻分布的栽培稻种植地区,它们之间的基因流也迟早会发生。野生稻的基因库将因此而被污染,从而损害野生稻生物多样性的保育工作。转基因栽培稻与野生稻的杂交后代可能会使原始类型的野生稻种群灭没,导致它们灭绝。野生稻种的消失将是遗传资源的重大损失,这也将会威胁到未来的育种和粮食安全,因为作物育种需要依赖于多样性的遗传资源。

c. 非转基因栽培稻

非转基因稻米会被基因流污染,这将危及非转基因稻米的供给,扰乱市场从而可能带来经济损失。除基因流外其它可能的污染途径还包括:

- 上季稻米。上季种植的稻米种子会在收割时留落一些在田里,并能与下一季稻米 一同生长。如果上一季种的是转基因品种,而下一季的是常规品种,那么遗留在 田里的转基因稻米就有可能造成污染。
- 土壤种子库。发芽之前,稻米种子可以在土壤中保存两年或更久。

- 种子储存和种子交换。
- 种子运输过程中的溢漏。

d. 对非靶标生物的影响

是否会对非靶标生物产生影响是对抗虫转基因稻米评估中的一项重要内容。非靶标生物是指那些受到毒素影响却不是原本要对付的物种,它们可能直接摄入含有毒素的花粉或植物残体,也可通过间接途径,如捕食吃了毒素的昆虫。这可能会减少重要物种的数量,或是减少自然中那些帮助控制害虫的益虫的数量,从而危害到整个生态系统。

有科学证据,特别是来自于 Bt 玉米的研究表明,其对非靶标生物的间接影响是一个真实存在的问题。抗虫转基因稻米的种植也可能会带来生态上的影响,如可能会伤害到家蚕这种吐丝的经济昆虫。Bt 毒素可以在土壤中积累,它对土壤生态有什么样的影响还是个未知数。对 CpTI 影响的研究远少于 Bt 毒素,但其对非靶标生物的间接影响也是一个令人担忧的问题。

e. 害虫产生抗性

稻米害虫对抗虫转基因稻米的 Bt 毒素产生抗性也是有可能的。由于这种担心,使得人们认为要采取一定的管理措施以避免在 Bt 棉花和玉米身上发生这样的问题。其关键是要求建立"避难所",即种植一定面积的非 Bt 作物使得对 Bt 敏感的种群得以生存,或是限制转基因作物的种植数量。然而,对于 Bt 稻米,管理措施却不那么容易被实现。因为对于很多的小农户来说,留一小块地种植不同的非转基因稻米是不太可行的。

而对于 CpTI,就很少考虑抗性是否会影响它的效率以及如何缓和这种抗性。如何采取措施来管理害虫对 CpTI 的适应我们还需要仔细地评估。

5.结论

对于转基因稻米可以"安全食用"的批准还要有更为谨慎的考虑。对于占据人类食品 重要构成部分(也是婴儿食品)的稻米,我们一定要有完全的把握。在食品安全评估中的主 要问题是:

- 转基因可能会带来非有意的损害吗?如果它们一旦发生了又会有怎样的影响?
- 转基因会不会导致基因产物中出现有毒或致敏物质?

转基因稻米可能会对环境和农业经济产生如下的负面影响:

- 出现更令人头疼的杂草稻:
- 野生稻遗传资源遭受转基因的污染:
- 传统的非转基因稻米被转基因稻米污染;
- 危害非靶标生物:
- 害虫进化产生抗性而迫使施用更多的化学杀虫剂。

第一部份:食品安全

2. 前言

最近的一些报告显示,中国正在考虑是否将要很快批准转基因稻米的商业化种植。¹ 如果获准,这将是第一例被允许作为主食的转基因作物。其它已经被批准商业化种植的转基因作物主要是用作动物饲料(如大豆和玉米)、纺织原料(如棉花)或是仅占饮食中很少份额(如木瓜)。因此,作为亚洲人民的口粮(同时也是刚断奶婴儿的食品),转基因稻米的种植必须格外谨慎。因为稻米种植区域在中国非常广泛,大约有3000万公顷²,占到农地面积的1/4,其对环境方面的影响也需要特别考虑,将在另文中论述。

以下是有可能最先考虑被批准的转基因稻米品种:

- 抗虫,转Bt(Bacillus thuringiensis)毒蛋白基因
- 抗虫, 转豇豆胰蛋白酶抑制剂(Cowpea trypsin inhibitor)基因
- 和抗稻白叶枯病,转 Xa21 稻米基因

由这些性状的组合品种(被称为"堆塔效应"(pyramiding))也在被考虑批准之列。

这篇简报将论述这几种类型转基因稻米的现有资料及所有转基因稻米共同的可能影响,并特别强调了几个对人体健康的关键问题。

3. 转基因稻米和食品安全

从平均来看,大米为中国人提供了30%的热量和19%的蛋白质。³有些人可能更多而有些人会低于这个平均水平。在其它一些国家,如孟加拉国国国国国和柬埔寨,大米提供了2/3的热量和蛋白质。稻米在各年龄层段都是饮食中重要的部分,包括刚断奶婴儿吃的米糕和稀粥。⁴稻米在饮食中的重要地位要求我们在对转基因稻米作评估时必须非常小心仔细。因为各人对稻米的摄取量不同,那些吃大量稻米的人群必须也考虑进来。

与稻米在亚洲人饮食中的主要地位相比,玉米(一种已被广泛商业化种植的转基因作物,也在人类饮食中占有重要比例)为在全世界为不同人提供了 5-33%的热量,这个比例在拉丁美洲和亚撒哈拉非洲更高。⁵然而,转基因玉米和大豆主要被用作动物饲料,由这些作物所得出的经验不能被用来推断转基因稻米的安全性。

风险评估中的关键问题包括基因改造是否会带来潜在的有害的非预期变化,如果一旦发生会有哪些影响,以及通过转基因而引入的基因产物会有哪些毒性或过敏效应。

4. 转基因技术带来的非预期变化

转基因技术还没有完全精准到可以将单个或多个基因插入到基因组中的某一特定位点。而是可能会插入多个考贝,插入的基因方向可能会是正向或反向,并且可能包含所用载体的基因片断,还可能出现植物基因的缺失、重排和复制。这些因转入基因引起的变异可能发生在插入的部位或是整个基因组。⁶不论插入基因的最初来源是什么,这类影响都可能发生。

通 过 基 因 枪 法 (particle bombardment) 和 农 杆 菌 转 化 法 (Agrobacterium transformation)获得的转基因稻米,正遭受到由该种操作带来的各种麻烦。例如,对 16 个由农杆菌介导转入 Xa21 基因的稻米转化株进行的插入 DNA 序列分析显示,除了应转入的 DNA 序列(T-DNA)外,有 6 株含有来自载体的多余序列,另有 3 株在被插入 DNA 的两条链上都发生了复杂的基因重排。⁷其中有 9 个品系含有不只一个考贝的 Xa21 基因,而插入基因随机地整合在 10 条不同的染色体上。遗传背景 (指被转基因的稻米品种) 对白叶枯病抗性的影响也非常显着,而目前还没有数据表明这种改变是否由插入位点和其影响造成。

最近的其它一些对农杆菌介导的转基因稻米的研究也提供了类似的证据,如发现载体 DNA (在一个研究的 171 个样本中 71 个有这样的发现 8),以及 T-DNA 自身的重排比原来预想的要普遍得多。 9 有报导称 T-DNA 插入的位置也影响到一些转 Bt 基因水稻品系的淀粉粘性。 10

有人认为当基因枪法被用在稻米上时,存在"热点"区域,即会在同一位置上转入好几个考贝¹¹。伴随插入完整基因或基因片断会发生相当复杂的插入事件,会散布于整个植物 DNA 中¹²。在基因枪法中来自于质粒的外源 DNA 也能被整合进去,从而影响到其它转入基因的转录。利用最小框 (minimal cassettes) 介导的转基因稻米不含有外源质粒 DNA,它比利用了质粒的转基因稻米要有更高含量的抗虫蛋白,也未发现有基因沉默现象¹³。因此有可能生产出"清白"(clean)的转基因稻米产品,并达到"最佳效果"。

由于转基因操作引起变异而带来的影响包括:

- 破坏植物的内源基因从而导致反常的功能——这会影响生化反应途径而可能产生不可 预料的有毒物质或者反营养物质(anti-nutrients);
- 由于新基因的导入增加或减低了内源基因的活性,或调控基因被破坏(disruption)—— 这将会增加或减低原有有毒物质或致敏蛋白的表达水平;
- 由于多重考贝的存在,使得后代会发生基因沉默现象。

考虑到转基因技术会带来非预期的变化,联合国粮农组织和世界卫生组织食品法典准则 (FAO/WHO Codex Guidelines)中就评估转基因食品的安全性做了特别的规定。¹⁴并且,已经有了很多关于转基因稻米的表型和农艺性状非预期变化的报导。¹⁵一个完整的转基因稻米安全评估应该包括:

- i.进行全序列分析以确定考贝数及插入基因的整合位点(包括侧序列(flanking sequences))。为减少非预期后果变成现实的可能性,如果有证据表明转入了多余的载体 DNA,发生了基因重排、缺失,或是插入原有基因序列中或附近,这样的转基因品种都不应该被批准; 6
- ii. 对转基因品种及其非转基因对等品种进行 mRNA 的对比分析, 以确定是否有非预期转录的发生: 16
- iii.除了对大量和微量营养物进行标准化的生化指标对比评估外,也应进行转录水平改变的概要分析。这应包括对任何有可能的新致敏原被上调(up-regulated,即浓度增加);对已经存在于稻米中的大量和微量致敏蛋白要给予特别的注意 ¹⁷,以确保它们没有上调或通过其它方式的改变(如使其变得比在自然中更具致敏性)。在亚洲,对大米的过敏反应并不少见,大致分为两类主要的致敏原(见 http://www.ifr.ac.uk/protall/DATABASE/search.html 及

网站上的相关参考资料): PAP 和 Glb33。

5. 致敏性,毒性和营养价值

在任何对转基因食品进行的安全评估中,需要对转入基因的表达产物的毒性和致敏性进行仔细地评估。如果抗抗生素的基因被用作标记物,那么透过基因转移至微生物而导致抗生素疗法失效的可能性就成为在风险评估中的一个内容。同时,也要考虑二代植物新陈代谢可能产生的非预期影响。¹⁸例如 Bt 玉米的木质素产物就有所增加,若在转基因稻米中也有这样的变化将会影响到它的营养价值。^{19,20}

在考虑那些可能会首先商业化种植的特定转基因稻米时,应该考虑这些对致敏性和毒性 进行彻底地风险评估的原则、困难和要求。

4.1 致敏性

确定蛋白质的致敏可能性,尤其是来自于正常饮食之外的生物体的蛋白质,就为风险评估带来了特殊的挑战。这是因为我们对不同蛋白质造成过敏的机制了解得太有限,所以我们不可能百分之一百准确地预知某种蛋白质是否有致敏性。²¹ 在联合国粮农组织和世界卫生组织对转基因食品致敏性进行评估的判断树 (decision tree)中²²,将引入基因按其来源是否已知其具有致敏性而有分别。若引入基因来源于一种会导致食物过敏的生物,风险评估将集中于是否存在序列同源性 (sequence homology),并用对基因来源过敏的病人的血清对该基因发达的蛋白是否过敏来进行后续评估,无论基因的来源是普遍过敏原或只是特殊过敏源,评估方法都是相同的。

如果不知道转入基因的来源是否具有致敏性,或其从未被人类食用,则必须进行下列研究:

- 是否存在与已知致敏原(食物和环境中)的序列同源性;
- 进行目标血清扫描(targeted serum screening),即用对与基因来源材料有关的多种过敏源过敏的病人的血清进行交叉反应:
- 胃蛋白酶抗性检测:
- 以动物模式作免疫原性测试。

这些就是对每种转基因稻米进行致敏可能性评估时应遵循的框架。

4.2 毒性

根据法典准则有关对转基因食品毒性评估的规定²³,需要集中对与已知有毒蛋白和反营养物质(如蛋白酶抑制剂(protease inhibitors),植物凝集素(lectins))有相似氨基酸序列的蛋白质进行评估,以及研究其对加热或加工处理的稳定性,及在有代表性适当的胃肠消化模式系统下的降解情况。如果在食品中的蛋白质与以前我们安全食用的蛋白质不同,就需要进行适当的口服毒性测试,同时顾及其在植物中已知的生物学功能。

然而,因为转基因稻米一旦食用对个人而言就是大量的,所以对它的食品安全评估就必 须格外严格,包括要对人志愿者进行实验,以使动物实验获得的结论对人也成立,即便有可 能带来负面的结果。^{24个}一项为期 14 周的对小鼠饲喂 Bt 稻米米粉的研究显示,对小鼠的生长和内脏没发现有什么负面影响。²⁵然而,对比用非转基因稻米米粉饲喂的情况,雌性小鼠血液的某些生化指标会有显着的变化。但研究者在讨论中说这种变化仍属于正常范围之内,但这样的实验应再重复,因为微小的变化经过长时间的积累对于敏感的个体仍会有重大的影响。动物实验通常都是很短期的(90 天),动物在生理上与人也存在很多不同。

目前,只有一个关于食用转基因食品对人体健康影响的科学研究,该研究关注转基因食物对微生物的基因转移。²⁶在该研究中检测到了转基因大豆对肠道微生物的基因转移。这种情况会有什么影响目前还不能确定,但是,有一位科学家做出了这样的评论:在7个检测对象中有3个发现了基因转移事件,说明基因转移发生的概率并不像英国转基因科学评估小组认为的那么小。这项发现意义重大,对基因转移事件进行全面研究迫在眉睫。²⁷

将这类研究扩展至人志愿者以了解转入基因及其表达产物的最终命运,对于评价转基因稻米是十分必要的。还应包括评估基因及其蛋白产物在烹饪过程中的降解程度,以及它们在人体消化道中的活性表现。

4.3 Bt 毒素

从土壤细菌苏云金芽孢杆菌(Bacillus thuringiensis)中,可以分离到很多种杀虫毒素。几种编码 Bt 毒素的基因已经被转入到稻米中,以使它们可以抵抗鳞翅目昆虫,特别是水稻三化螟(Scirpophaga incertulas)、二化螟(Chilo suppressalis)以及一些卷叶类昆虫(Marasima spp. 和 Cnaphalocricos medinalis)。转基因 Bt 稻米在中国已经进行了田间试验,最有可能首先商业化种植的是转 crylAb 和、或 crylAc 基因的 Bt 稻米。²⁸

在致敏性方面,对 Cry1Ac 毒素的免疫原性分析 29 研究表明:

- Cry1Ac 毒蛋白是一种有效的免疫原。
- Crv1Ac 毒蛋白在腹腔注射和消化道(吞服)途径都表现出免疫原性。
- 对 Cry1Ac 毒蛋白的免疫反应既是系统性的也是粘膜性 (mucosal) 的。
- 在小鼠消化道内 Cry1Ac 毒蛋白能与表面蛋白结合。

这些研究报告建议在批准转 Cry1Ac 基因稻米时要非常谨慎。因为 Cry1Ac 基因与 Cry1Ab 基因的序列非常类似,这类研究对 Cry1Ab 毒蛋白也是适用的。而且,一项对喷施 Bt 农药(含有 Cry1Aa 和 Cry1Ab 毒素)工人的研究表明,他们体内产生了特别的 IgE 和 IgG 型抗体。³⁰大量接触该种农药的工人在皮肤测试中也表现出阳性结果。

尽管 Bt 毒素在稻米烹饪后至少会部分降解失活,从而限制了它潜在的致敏性或毒性,但这需要对人志愿者进行实验来确定。实验还应该包括那些给婴儿食用的大米产品类型。因为对 Cry1Ab 毒素的过敏和反应通常是通过呼吸途径,农民和对转基因稻米进行加工的工人就有可能吸入这类尘埃,因此实验也要考虑他们的情况。

4.4 豇豆胰蛋白酶抑制剂

豇豆胰蛋白酶抑制剂(Cowpea trypsin inhibitor, CpTI)被转入稻米中以抵抗两种螟虫: 二化螟(Chilo suppressalis)和大螟(Sesamia inferens)。31

对 CpTI 致敏性的确定要给予特殊的注意。对于能抵抗加热和胃蛋白酶的致敏性蛋白已在豇豆(Vigna sinensis)³²中确定,植物体内的这类防御性蛋白被认为是潜在的致敏原。³³而且,谷物的胰蛋白酶抑制剂与主要的稻米致敏原 PAP¹⁷在结构上也很相似。因此,确定 CpTI与豇豆中已知的致敏原是否属于同族序列的研究非常必要,并且要以血清试验作为补充。

豇豆以及其它豆类的胰蛋白酶抑制剂在未加工食物中会是反营养物质,因为它们会抑制或降低胰蛋白酶降解蛋白质的能力 ^{34,35}。对蛋白酶抑制剂的摄食会阻碍年幼动物的生长。CpTI 只有在烹饪过程中充分变性失活后才不会带来问题 ³⁶,如果会产生 CpTI 的转基因稻米或米粉在食用时未经充分加工的话,就会对蛋白质的吸收有影响。

一项给小鼠饲喂转 CpTI 基因稻米以检测免疫原性和毒物学影响的研究认为没有负面的反应。³⁷然而,实验没有给出足够的证据证明这类负面反应不会在人身上发生。而且,饲喂小鼠这种研究方法不能认为是对人食物过敏研究的精确模式,因为这个技术还十分不灵敏。³⁸ 饲喂的时间(30 天)以及应用的参数也不够充分,不足以消除长期食用会产生负面后果的可能性。

4.5 Xa21

Xa21 是从稻米中分离的一个基因,能抗稻白叶枯病(Xanthomonas oryzae pv Oryzae (Xoo))。Xa21 基因编码的蛋白激酶在启动细胞防御反应的信号传递中发挥着作用。³⁹与 CpTI 相比,Xa21 不太可能有致敏性。因为该基因是在野生稻中发现的,也不太可能有毒性。所以,与 Xa21 有关的主要安全问题是它的转变对其它细胞功能的影响。

6. 结论

对于转基因稻米可以"安全食用"的批准还要有更为谨慎的考虑。对于占据人类食品重要构成部分(也是婴儿食品)的稻米,我们一定要有完全的把握。Bt 毒素具有潜在的致敏性,CpTI 有可能在未经充分烹饪而被人食用从而带来负面后果,这些都要给予特别的关注。为确定转基因自身的"清白",必须证明它们不含有任何可能带来非预期后果的外来基因。最后,人志愿者实验对于消除动物实验研究中的不确定性非常重要。对比已获批准的其它转基因作物,对转基因稻米评估的任何偷工减料都会带来比其它已经获批准的转基因作物更广泛的影响。我们必须坚持最严格的评估。

参考文献:

- 1. Jia, H. (2004) China ramps up efforts to commercialize GM rice. Nature Biotechnology 22(6): 642
- IRRI world rice statistics. http://www.irri.org/science/ricestat/pdfs/Table%2002.pdf <30th
 October 2004>
- Rice Today, September 2002. Rice Facts. Essential food for the poor. http://www.irri.org/publications/today/pdfs/1-2/facts1-2.pdf <28th October 2004>
- 4. Ministry of Health and Welfare, Japan (1999) Guideline for weaning (revised edition) Pediatrics International 41 (1): 115 doi:10.1046/j.1442-200x.1999.01037.x
- 5. CIAGR Research. Areas of research: Maize (Zea mays L)

- http://www.cgiar.org/research/res_maize.html <28th October 2004>
- 6. Wilson, A. Latham, J. & Steinbrecher, R. (2004) Genome scrambling myth or reality? Transformation-induced mutations in transgenic crop plants. EcoNexus technical report. EcoNexus, Brighton, UK.
- 7. Zhai W, Chen C, Zhu X, Chen X, Zhang D, Li X, & Zhu L. (2004) Analysis of T-DNA-XA21 loci and bacterial blight resistance effects of the transgene XA21 in transgenic rice. Theor Appl Genet 109: 534-542.
- 8. Kim SR, Lee J, Jun SH, Park S, Kang HG, Kwon S, & An G. (2003) Transgene structures in T-DNA-inserted rice plants. Plant Mol Biol 52: 761-773.
- Yang, L. Ding J, Zhang C, Jia J, Weng H, Liu W, & Zhang D.
 (2004) Estimating the copy number of transgenes in transformed rice by real-time quantitative PCR. Plant Cell Rep. Published online 1st October, DOI: 10.1007/s00299-004-0881-0
- 10. Wu, D.X. Shu, Q. Y., Wang, Z. H., Cui, H. R. & Xia, Y. W. (2002) Quality variations in transgenic rice with a synthetic *cry1Ab* gene from *Bacillus thuringiensis*. Plant Breeding 121: 198-202.
- 11. Kohli, A., Leech, M, Vain, P. Laurie, DA & Christou P. (1998) Transgene organisation in rice engineered through direct DNA transfer supports a two-phase integration mechanism mediated by the establishment of integration hot spots. Proc Natl Acad Sci 95: 7203-7208.
- 12. Kohli, A. Twyman R.M.; Abranches R.; Wegel E.; Stoger E.; & Christou P. (2003)

 Transgene integration, organisation and interaction in plants. Plant Mol Biol 52: 247-258.
- 13. Loc, N.T., Tinjuangjun, P., Gatehouse, A.M.R., Christou, P., & Gatehouse, J.A. (2002) Linear transgene constructs lacking vector backbone sequences generate transgenic rice plants which accumulate higher levels of proteins conferring insect resistance. Mol Breed 9:231-244.
- 14. Codex Alimentarius Guideline for the conduct of food safety assessment of foods derived from recombinant-DNA plants *CAC/GL 45-2003* ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/guide plants en.pdf <30th October 2004>
- 15. Shu Q-Y, Cui, H-R., Ye,G-Y., Wu, D-X., Xia, Y-W Gao,M-W.& Altosaar I (2002) Agronomic and morphological characterization of *Agrobacterium*-transformed Bt rice plants. *Euphytica* 127: 345-352.; Schuh W Nelson M.R., Bigelow D.M., Orum T.V., Orth C.E., Lynch P.T., Eyles P.S., Blackhall N.W., Jones J., Cocking E.C. & Davey M.R. (1993) The phenotypic characterisation of R₂ generation transgenic rice plants under field conditions. *Plant Sci* 89: 69-79; Wu DX, Shu, Wang. QY, Cui Z H, Xia. YW. (2002) Quality variations in transgenic rice with a synthetic *cry1Ab* gene from *Bacillus thuringiensis*. *Plant Breeding* 121: 198-202;
- 16. Kuiper, H., Kleter, G.A Noteborn H.P.J.M. & Kok E.J. (2001) Assessment of the food safety issues related to genetically modified foods. Plant J. 27: 503-528.
- 17. Nakase, M. Usui Y, Alvarez-Nakase AM, Adachi T, Urisu A, Nakamura R, Aoki N, Kitajima K, & Matsuda T (1998) Cereal allergens: rice-seed allergens with structural similarity to wheat and barley allergens. Allergy 53 (Suppl 46): 55-57.
- 18. Firn, D. & Jones, C.G. (1999) Secondary metabolism and the risks of GMOs. Nature 400: 13-14.
- 19. Saxena, D. & Stotzky, G. (2001) Bt corn has a higher lignin content than non-Bt corn,

- American Journal of Botany. 2001;88:1704-1706.
- 20. Wu, DX, Shu, QY, Wand, ZH, Cui, HR. & Xia, YW (2002) Quality variations in transgenic rice with a synthetic *cry1 Ab* gene from *Bacillus thuringiensis*. Plant Breeding 121: 198-202.
- 21. Metcalfe, DD. (2003) Introduction: what are the issues in addressing the allergic potential of genetically modified foods? Environ Health Perspect 111 (8): 1110-1113.
- 22. Evaluation of allergenicity of genetically modified foods. Report of a joint FAO/WHO Expert Consultation on Allergenicity of Foods Derived from Biotechnology 22 25 January 2001 http://www.who.int/foodsafety/publications/biotech/ec_jan2001/en/ <30th October 2004>
- 23. Codex Alimentarius Guideline for the conduct of food safety assessment of foods derived from recombinant-DNA plants CAC/GL 45-2003 ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/guide_plants_en.pdf <30th October 2004>
- 24. Zhou, Q. Chen X, Piao J, & Gu L. (2004) Study on food safety of genetically modified rice which expressed cowpea trypsin inhibitor by 90 day feeding test on rats. Wei Sheng Yan Jiu 33: 176-179; Li, Y. Piao J, Chen X, & Zhuo Q (2004) Nutrition assessment of transgenic rice. Wei Sheng Yan Jiu 33: 303-306.
- 25. Wang, Z-H, Wang, Y, Cui, H-R, Xia, Y-W., Altosaar, I & Shu Q-Y. (2002) Toxicological evaluation of transgenic rice flour with a synthetic gene Cry1Ab gene from Bacillus thuringiensis. J Sci Food Ag 82: 738-744.
- 26. Netherwood, T. Martín-Orúe, SM. O'Donnell, AG. Gockling,S. Graham, J, Mathers, J.C & Gilbert, HJ. (2004) Assessing the survival of transgenic plant DNA in the human gastrointestinal tract. NatBiotech 22: 204-209.
- 27. Heritage, J. (2004) The fate of transgenes in the human gut. Nature Biotechnology 22: 170-173.
- 28. Shu, Q.Y. Ye, G.-Y, Cui, H.-R. Cheng, X. Xiang,Y. Wu, D. Gao, M.-W. Xia, Y.-W Hu, C.. Sardana R &. Altosaar I. (2000) Transgenic rice plants with a synthetic *cry1Ab* gene from *Bacillus thuringiensis* were highly resistant to eight lepidopteran pests. Mol. Breed. 6: 433-439; Tu, J.M. Zhang, G. Datta, K. Xu, C. He, Y. Zhang, Q. Khush, GS. & Datta SK. (2000) Field performance of transgenic elite commercial hybrid rice expressing *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin. Nat. Biotechnol 18: 1101-1104; Ye, G.Y. Yao H.W. Shu Q.Y. Cheng X. Hu C. Xia Y.W. Gao M.W. & Altosaar I. (2003) High levels of stable resistance in transgenic rice with a *cry1Ab* gene from *Bacillus thuringiensis* Berliner to rice leaffolder (*Cnaphalocrocis medinalis* (Guenee) under filed conditions. Crop Prot 22:171-178. Ye GY, Shu QY, Yao HW, Cui HR, Cheng XY, Hu C, Xia YW, Gao MW, & Altosaar I. J (2001). Field evaluation of resistance of transgenic rice containing a synthetic *cry1Ab* gene from *Bacillus thuringiensis* Berliner to two stem borers. J Econ Entomol. 2001 Feb; 94(1):271-6.
- 29. Moreno-Fierros, L. García, N. Gutiérrez,R. López-Revilla, R. Vázquez-Padrón, RI.. (2000). Intranasal, rectal and intraperitoneal immunization with protoxin Cry1Ac from *Bacillus thuringiensis* induces compartmentalized serum, intestinal, vaginal and pulmonary immune responses in Balb/c mice. Microbes Infect 2(8): 885-90; . Vázquez-Padrón, R.I, Moreno-Fierros, L. Neri-Bazán, L, de la Riva, G.A & López-Revilla, R. (1999). *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac protoxin is a potent systemic and mucosal adjuvant. Scand J Immunol 49: 578-584; Vázquez-Padrón, R.I Moreno-Fierros, L. Neri-Bazán, L, de la

- Riva, G.A & López-Revilla, R. (1999). Intragastric and intraperitoneal administration of Cry1Ac protoxin from *Bacillus thuringiensis* induces systemic and mucosal antibody responses in mice. Life Sciences 64(21): 1897-1912; Vázquez-Padrón, R. I., Moreno-Fierros, L. Neri-Bazán. L. Martínez-Gil, A.F., de la Riva, G.A. & López-Revilla, R.. (2000). Characterization of the mucosal and systemic immune response induced by Cry1Ac protein from *Bacillus thuringiensis* HD 73 in mice. Braz J Med Biol Res 33: 147-155; Vázquez-Padrón, R. I., Gonzáles-Cabrera, J., García-Tovar, C. Neri-Bazán, L., López-Revilla, R., Hernández, M., Moreno-Fierros, L. & de la Riva.G.A. (2000). Cry1Ac protoxin from *Bacillus thuringiensis* sp. *kurstaki* HD73 binds to surface proteins in the mouse small intestine. Biochem Biophys Res Comms 271: 54-58.
- 30. Bernstein, I. L. Bernstein, J.A., Miller, M. Tierzieva, S. Bernstein, D.I., Lummus, Z. Selgrade, M.K., Doerfler. D.L. & Seligy V.L. (1999) Immune responses in farm workers after exposure to *Bacillus thuringiensis* pesticides. Environ Health Perspect 107: 575-582.
- 31. Xu, D., Xue Q, McElory D, Mawal Y, Hilder VA, & Wu R (1996). Constitutive expression of a cowpea trypsin inhibitor gene *Cpti*, in transgenic rice plants confers resistance to two major rice insect pests. Mol Breed 2: 167-173.
- 32. Rao TR, Rao DN, Kotilingam K, & Athota RR. (2000). Isolation and characterization of allergens from the seeds of Vigna sinensis. Asian Pac J Allergy Immunol. 18(1):9-14.
- 33. Breiteneder H.,& Radauer C. (2004) A classification of plant food allergens. J Allergy Clin Immunol. 113(5):821-30; Hoffmann-Sommergruber K (2000) Plant allergens and pathogenesis-related proteins. What do they have in common? Int Arch Allergy Immunol. 122(3):155-66.
- 34. Nti, C.A. & Phahar, W.A. (1996) Cowpea inhibition of human and bovine protease activities and the effects of processing. Food Control 7: 129-133.
- 35. Pustai, A., Grant, G., Brown, D.J., Stewart, J.C., Bardoz, S., Ewen, S.W.B., Gatehouse, A.M.R., & Hilder, V. (1992) Nutritional evaluation of the trypsin (EC 3.4.21.4) inhibitor from cowpea (*Vignia unguiculata* Walp.) Br J Nutr 68: 763-791.
- 36. Lima, L.M. Araujo, AH., Oliveira, AS., Pereira, RA., Miranda, MRA. & Sales, MP. (2004) Comparative digestibility and the inhibition of mammalian digestive enzymes from mature and immature cowpea (*Vigna ungiculata* (L.) Wapl.) seeds. Food Control. 15: 107-110.
- 37. Chen X, Zhuo Q, Piao J, & Yang X (2004) Immunotoxicologic assessment of transgenetic rice. Wei Sheng Yan Jiu.33(1):77-80.
- 38. Kimber, I, Dearman,RJ. Penninks,AH, Knippels,LMJ., Buchanan,RB., Hammerberg, B., Jackson, HA. & Helm, RM. (2003) Assessment of protein allergenicity on the basis of immune reactivity: animal models. Environ Health Perspect 111: 1125-1130.
- 39. Cosgrove, D.J. Gilroy, S., Kao, T., Ma, H., & Schultz, JC (2000) Plant Signaling 2000. Cross Talk Among Geneticists, Physiologists, and Ecologists. Plant Physiol, 124, pp. 499-506

第二部份:环境及农业影响

1. 前言

稻米种植区域在中国非常广泛,大约有 3000 万公顷¹,占到农地面积的 1/4。转基因稻米的种植不可避免地会引申出环境安全问题。以下是有可能首先被商业化种植的 3 种转基因稻米:

- 抗虫,转Bt(Bacillus thuringiensis)毒蛋白基因
- 抗虫,转豇豆胰蛋白酶抑制剂(Cowpea trypsin inhibitor)基因
- 和抗稻白叶枯病,转 Xa21 稻米基因

组合这些性状的单个转基因品种也在研究之中。

转基因稻米可能会对环境产生如下的负面影响:

- 出现更令人头疼的杂草;
- 污染遗传资源;
- 危害非靶标生物;
- 害虫进化产生抗性而迫使施用更多的化学品。

不同类型转基因稻米产生以上影响的可能性将在后文中详细讨论。而关于转基因稻米对人体健康的可能影响在另文中予以讨论。

2. 转基因稻米对杂草稻和野生稻的基因流

转基因稻米对杂草稻或野生稻的基因流(植物间通过交叉授粉而发生的基因流动)可能 因以下原因而带来危害:

- 如果基因流将外源基因转入杂草稻中,可能会增加它的竞争优势而使其变得更为麻烦,农民将为杀死它们而施用更多的有毒化学品。
- 野生稻的基因库可能会被污染,从而扰乱其生物多样性的保护;转基因栽培稻与其近缘的野生种的杂交后代的大量蔓延,将会使野生稻种群遭到灭没(swamping)。
- 非转基因稻米会被污染,这将危及非转基因稻米的供给,扰乱市场从而可能带来经济损失。

2.1 杂草稻

从全球来看,杂草稻或红稻给直播稻米系统造成了相当大的损失²。一般来讲,红稻被认为与栽培稻(*Oryza sativa*)是同一种生物,但因为它有一些不同的性状而使得它成为了问题杂草,如呈红色(其它杂草稻都没有这个特点),对栽培稻的竞争能力,种子更早地落粒和进入休眠。杂草稻的发生被认为是栽培稻与野生稻杂交的结果³。因为杂草稻与栽培稻是同一种生物,所以它们也能够杂交,尽管这种杂交的发生率很低,在 0.035%⁴ 到 0.75%⁵之间。尽管这种发生率很低,红稻确实是个问题,随着时间的推延基因流是不可避免的。对害虫或疾病抗性基因的转入可能增加红稻的竞争优势。例如,野生向日葵获得转 Bt 基因后种子的

产量增加了55%。6

尽管直播在中国的稻米生产中还没有被广泛运用,但它将因减少劳力和减少土壤侵蚀的需要而被逐渐采用。伴随直播的增加,红稻将会变成一个棘手的问题。⁷有清楚的证据表明草食性昆虫能影响杂草的生长和繁殖,而这也受着环境条件的影响。⁸如果转基因稻米获准商业化种植,由于红稻会通过基因流获取 Bt, CpTI 或稻白叶枯病抗性等基因,将会产生更加有害的红稻类型。

2.2 野生稻

亚洲是稻米的起源中心,能与栽培稻(*Oryza sativa*)杂交的野生稻分布相当广泛。普通野生稻(*O. rufipogon*)和一年生野生稻(*O. nivara*)与栽培稻都属于 AA 型基因组型,能在田间发生杂交。这些野生稻也可以看作是杂草。因为稻米大部分是自花授粉,其与野生稻的异交率也相当低,最高约 2-3%。^{7,9} 这个结果稍微比杂草红稻的要高些,因为普通野生稻自然的异交率比栽培稻要高一些。花粉的传播距离被测量到为 43 米远,但有人认为可以传得更远。¹¹

许多野生稻群落分布于靠近栽培稻的种植地区,若种植转基因品种,其与野生稻的杂交也将不可避免地发生。某些性状的引入将提高野生稻种类的竞争力,使得它们成为带来麻烦的杂草。这些杂交后代也会将会使原始类型的野生稻种群灭没,导致它们灭绝。

尽管普通野生稻没有分布在中国的中部,也不是稻田里的杂草,但它已很濒危,分布在中国南部的广东、广西、海南和云南等省。¹⁰然而,转基因稻米的引入将对野生稻有负面的影响,会加重防止基因流污染野生稻的负担。^{11,12}台湾的一种野生稻就是由于栽培稻的基因流而遭致"种群灭没",最后灭绝了。¹³ 野生稻种的丢失对自然生物多样性的保护构成极大的威胁,也是对遗传资源的重大损失,这也将会威胁到未来的育种和粮食安全,因为作物育种需要依赖于多样性的遗传资源。

最近对其它一些作物(包括油菜和向日葵)的研究表明,转入基因可以在野生种群中保存并扩散,也产生了令人头疼的杂草问题。由于还不清楚对 Bt 和 CpTI 敏感的害虫及白叶枯病抗性会对野生稻种群有什么影响,所以现在不能预计不可避免的基因流发生后会有什么样的结果。

2.3 非转基因稻米

尽管稻米是自花授粉的植物,但花粉的漂移在 100 米的距离仍能检测到,并且易受风速和风向的影响。¹⁴ 所以,与邻近非转基因稻米一定程度地交叉授粉几乎是不可避免的。其它可能的基因污染源包括:

- 上季稻米。多季稻米的种植,如一年种三季半也不是什么新鲜事。上季种植的稻米种子会在收割时留落一些在田里,并能与下一季稻米一同生长。如果上一季种的是转基因品种,而下一季的是常规品种,那么遗留在田里的转基因稻米就有可能造成污染。
- 土壤种子库。发芽之前,稻米种子可以在土壤中保存两年或更久。
- 种子储存和种子交换。
- 运输过程中的溢漏。

最显而易见的基因污染带来的问题存在于它的市场化中。要控制基因污染是非常困难的,而污染一旦发生,损失非常之大。在美国,对种子的取样调查表明,超过 1%污染水平的基因污染在非转基因玉米、油菜和大豆的种子中非常广泛。¹⁵ 美国星联玉米事件(在食品供应链中发现了饲料用途的转基因玉米成分)使得食品公司赔偿了数亿美元。Aventis 公司被迫召回所有包含星联玉米成分的产品,2000 年时美国农业部还要求该公司回收其种植在全美 35 万英亩的星联玉米。尽管之后美国农业部又在回收星联种子上花费了 1300 万美元,但2003 年时仍能在玉米种子中检测到 Cry9C 基因序列,很可能是因为被污染了的种子已经混入了杂交品种种子供应中。¹⁶

3. 对非靶标生物的影响

是否会对非靶标生物产生影响是对抗虫转基因稻米评估中的一项重要内容。毒素会进入食物链而到达那些对它敏感的非靶标生物,可以通过直接摄入含有毒素的花粉或植物残体,也可通过间接途径,如捕食吃了毒素的昆虫。这可能会减少重要物种的数量,或是减少自然中那些帮助控制害虫的益虫的数量,从而危害到整个生态系统。例如,由于常规杀虫剂的施用,同时也杀灭了稻田害虫的天敌,促使稻飞虱(Nilapavata lugens)成为很难控制的害虫。¹⁷转基因稻米如果有重蹈覆辙的可能性的话,也将很不受欢迎。

因为整个生长季节里毒素都会释放出来,收获以后毒素也会随根部或其它残体而留在土壤中,对它的风险评估比起那些即时施用的杀虫剂更加复杂。有证据表明,特别是从 Bt 玉米中分泌的毒素,这种非直接影响已经是一个很大的问题。如果抗虫转基因稻米被批准,也会按这种机制对生态系统产生影响,甚至会对养蚕业有经济损害。

3.1 Bt 毒素与非靶标生物

3.1.1 Bt 毒素对非靶标昆虫的直接影响

两种 Bt Cry 毒素主要是针对鳞翅目(蝶类和蛾类)的害虫,而这类昆虫也并不都是害虫。美国的一项研究引起了人们对转 Bt 基因作物直接毒害非靶标生物的极大关注,这项实验中确认了转 Bt 基因玉米的花粉对于黑脉金斑蝶(Monarch butterfly)是有毒害的。¹⁸ 食用 Bt 花粉的幼虫对比食用非 Bt 花粉的幼虫成活率要低 44%。后续的研究显示,只有一种类型的转基因玉米——176,在花粉中的 Bt 毒素会十分敏感地对黑脉金斑蝶幼虫产生急性的毒性反应。¹⁹ 尽管这种类型的转基因玉米还没有在美国出售,但这种风险只有在商业化种植之后才可以确定。然而,我们也必须关注到还有其它类型 Bt 玉米低剂量花粉的长期的(慢性的)毒性反应。²⁰

在亚洲也有类似的问题,如家蚕(*Bombyx mori*),它对 Cry1Aa 毒素非常敏感,对 Cry1Ab 和 Cry1Ac 的敏感度会低些。^{21,22} 有研究显示,在桑树叶上发现的花粉如果包含 Cry1Aa Bt 毒素的话,会达到对家蚕产生毒害的水平。²³ 在那些既养蚕又实行稻桑混种的地区,如果种植含 Cry1Aa 的转基因稻米,散出的花粉将会对家蚕产生严重的影响(详细讨论见下文)。

3.1.2 Bt 毒素对非靶标昆虫的间接影响

从 Bt 玉米得来的数据表明,给益虫草蜻蛉(lacewings)饲喂吃了 Bt 的玉米螟幼虫(corn borer,一种玉米害虫),会导致其死亡率升高。²⁴ 瓢虫在 Bt 玉米地里的数量要比在非 Bt 玉米地里的要低。瓢虫是一种多食性的昆虫,它吃蚜虫、花粉、欧洲玉米螟的卵及其它昆虫的卵。²⁵ 以稻米害虫为食的非靶标有益生物也会受到类似的影响。

3.1.3 Bt 毒素与土壤

最近的研究显示,Bt 稻米的根部会分泌 Bt 毒素,并与土壤微粒结合而得以保持。^{26,27} 现在还不清楚这种毒素到底会帮助控制害虫,还是会危害土壤中的非靶标生物。因为现在对 苏云金芽孢杆菌分泌的 Bt 毒素在土壤中所起的正常生态作用还不是很了解,所以对这个问题还需要有进一步的研究。²⁸

最近中国的一些实验室研究发现了土壤酶活性和土壤微生物群落的变化,实验中将转基因稻米的稻草与水浸土壤混合。^{29,30}尽管该发现对土壤肥力的影响还没有作进一步的研究,但转入Bt基因一定与这种变化有关。Bt玉米的木质素成分发生非预期的增加,也给其在土壤中的降解过程带来影响。³¹

3.1.4 CpTI 与非靶标生物

对 CpTI 影响的研究远少于 Bt 毒素。不像 Bt, CpTI 在过去并没被用作控制害虫,转 CpTI 基因作物也还没有在世界上任何地方进行商业化种植。无论过去还是现在,关于对 CpTI 敏感的昆虫范围谱系研究都还没有进行。

一项关于转 CpTI 基因作物对非靶标生物影响可能性的研究显示,CpTI 会有负面的影响。实验中当给西红柿夜蛾(*Lacanobia oleracea*)饲喂了转 CpTI 基因西红柿后,寄生性姬蜂(*Eulophus pennicornis*)寄生感染西红柿夜蛾的能力就会下降。³²这种结果仅发生在给蛾饲喂转基因西红柿的叶片时,如果直接给它吃含有 CpTI 的人造配方食物就不是这样。CpTI 对寄生蜂来说不是直接有毒害的物质,但可以使蛾类(它的宿主)变得对它不再有吸引力。对于这种转基因西红柿,寄生性姬蜂在生物防治控制害虫中就不会那么有效了。

4. 害虫产生抗性

已有很多文献说明了害虫对 Bt 毒素产生抗性的可能性。例如,美国生态协会(Ecological Society of America)今年这样说:"普遍的意见认为害虫对 Bt 转基因作物的抗性将会发生…… 抗性的出现将使得 Bt 不再是一种有效的控制手段,很可能因此而导致在某些作物上使用更多、更有害环境或健康的杀虫剂。"³³

由于担心抗性产生及由此带来的影响,使得人们认为要采取一定的管理措施以避免在Bt棉花和玉米身上发生这样的问题。其关键是要求建立"避难所",即种植一定面积的非Bt作物使得对Bt敏感的种群得以生存,或是限制转基因作物的种植数量。避难所可以是与转基因作物同种的作物,也可以不是,只要是害虫的食物就可以。另外,转入两种或更多Bt毒素基因以形成所谓"堆塔效应"被认为可以增强杀虫的效率及减少抗性产生的可能性。这种方法好像已经被用在了中国的转基因稻米上,即同时转入了 Cry1Ac和 Cry 1Ab Bt毒素基因。将 CpTI 与 Cry 毒素组合也可能会提高杀虫的效率和减少抗性产生的可能性。34

然而,对于 Bt 稻米,管理措施却不那么容易被实现。因为对于很多的小农户来说,留一小块地种植不同的非转基因稻米是不太可行的。有研究显示,对于三化螟和二化螟也没有其它的宿主植物可供选择,所以也不能用其它作物来做避难所 35。有些农民会保留或与他的邻居分享种子,所以想通过限制种子供应这个办法也不太可靠。而且,非法种子贸易在中国也是一个问题。黄季焜和王清芳(2003)说:"1999 至 2001 年我们对全国 5 个省转基因棉田进行了连续三年的调查表现,农民种植的约一半 Bt 棉花品种没有得到国家生物安全委员会的商业化种植批准。这些种子主要是通过当地的种子公司、推广人员以及研究机构和小型贸易商到达农民手中的。" 36 还可以预料,转基因种子会与常规非转基因种子混合、运输途中发生溢漏、有关规则没被很好地遵守,这些问题都是会发生的,正如 30%的北美农民就已经发生了这些情况。这些"人的错误"因素意味着想通过所谓"有效管理"来控制种植是不太可能的。

技术性的方法也还没有被证明是可行的,现在并不知道"堆塔效应"可以在延迟抗性产生上有多大的效果。中国的一项关于三化螟对 Cry1Ac 和 Cry1Ab 敏感度基线研究(Baseline surveys of susceptibility)显示,有相当宽的敏感度存在,Cry1Ab 在这两种毒素中又是更有效的。³⁷然而,每种毒素间敏感度的相关性也表明交叉抗性也会发生,这将妨碍延迟抗性产生的计划。在批准商业化种植之前和之后,类似的对其它螟虫或卷叶类昆虫敏感度监测与基线研究也是必需的。

而对于 CpTI, 就很少考虑抗性是否会影响它的效率以及如何缓和这种抗性。现在已知昆虫能够完全或部分地适应蛋白酶抑制剂,并会受到其它消化酶的活性是否增加或是基因表达是否改变等因素的影响。³⁸ 这种适应并不要求昆虫作遗传上的改变,因此抗性的产生将非常快。如何采取什么措施来管理这样的适应我们还需要仔细地评估。

5. 结论

中国可能即将商业化种植的转基因稻米会引起很严重的生态问题。它们包括:

- 如果转基因稻米也种植在野生稻的分布区,对野生稻的基因污染将不可避免。因为 Bt, CpTI 和稻白叶枯病抗性基因会增加杂种的"适宜性",它们将有可能成为问题 杂草或是灭没原始野生稻种群。栽培稻基因污染野生稻基因库现在已经是一个很严 重的保育问题。
- 促进中国直播水稻系统中进化出更为有害的红稻杂草。这会迫使农民增加使用化学 品来控制新产生的杂草。
- 非转基因稻米与转基因稻米不可避免地会发生交叉授粉,由此产生的对非转基因稻米的基因污染将使中国稻米丧失国际市场,同时也会危及非转基因稻米的供应可能性。如果未来真的出现问题,情况也将无法逆转。
- 危害非靶标生物,其中特别有可能威胁到家蚕,如果转 Cry1Aa 基因的稻米铺开的话。
- 因为转基因技术不可预期的后果导致可能改变土壤的功能,如改变分解过程和土壤的微生物群落。
- 害虫对 Bt 抗性的产生或是对 CpTI 的适应。管理措施将很难付诸实施,基因"堆塔效应"是否有效还有待确定。

抗虫稻米的应用可能会减少杀虫剂的使用。但是,由此获得的好处也不会像棉花的那样高,因为由鳞翅目昆虫对稻米造成的损失远比其对棉花的要小。³⁹ 并且,因为价格低廉,使用杀虫剂控杀螟虫在中国比亚洲其它国家的比例要高。在亚洲其它国家,害虫防治系统的推广已经减少了对杀虫剂的依赖。对棉花 Bt 毒素不敏感的害虫在中国已经出现,并逐渐成为一个问题。⁴⁰而其它非转基因的害虫防治方法对棉花也是可能的,而且还更可持续。

参考文献:

- IRRI world rice statistics. http://www.irri.org/science/ricestat/pdfs/Table%2002.pdf <30th
 October 2004>
- 2. FAO Report of the 'Global Workshop on Red Rice Control'. Waradero, Cuba, 3 September 1999. FAO, Rome.
- 3. Suh, H.S. Sato, YI. & Morishima, H. (1997) Genetic characterisation of weedy rice (*Oryza sativa* L.) based on morpho-physiology, isozymes and RAPD markers. Theor Appl Genet. 94: 316-321.
- 4. Messeguer, J. Marfa, V. Catala, MM, Guideroni, E. & Mele, E. (2004) A field study of pollen mediated gene flow from Mediterranean GM rice to conventional rice and the red rice weed. Mol Biol 13: 103-112.
- 5. Zhang, N. Linscombe, S. & Oard, J. (2003) (2003) Out-crossing frequency and genetic analysis of hybrids between tansgenic glufosinate herbicide-resistant rice and the weed, red rice. Euphytica 130: 35-45.
- Snow, A.A., Pilson, D., Rieseberg, L.H., Paulsen, M., Pleskac, N., Reagon, M.R., Wolf, D.E., and Selbo, S.M., (2003). A *Bt* transgene reduces herbivory and enhances fecundity in wild sunflowers. Ecolog Appl 13: 279-286.
- 7. Chen, L.J. Lee, DS, Song, ZP, Suh, HS. & Lu, B-R. (2004) Gene flow from cultivated rice (Oryza sativa) to its wild and weedy relatives. Annals Bot 93: 67-73.
- Louda, S.M. (1999) Paper presented at the "Workshop on Ecological Effects of Pest Resistance Genes in Managed Ecosystems," in Bethesda, MD, January 31 - February 3, 1999. Sponsored by Information Systems for Biotechnology. http://www.isb.vt.edu/proceedings99/proceedings.louda.html 1st November 2004
- 9. Lu, B-R. (2004) Gene flow from cultivated rice: ecological consequences. ISB News Report. Available at: http://www.isb.vt.edu <28th October 2004>
- Gao, L (2004) Population structure and conservation genetics of wild rice *Oryza rufipogon* (Poaceae): a region-wide perspective from microsatellite variation Mol Ecol 13: 1009–1024.
- Song, ZP, Lu, B-R. Zhu YG, & Jchen, K. (2003). Gene flow from cultivated rice to the wild species *Oryza rufipogon* under experimental field conditions. New Phytologist 157: 657-665
- 12. Song Z P, Xu, X. Wang,B. Chen JK & Lu, B-R. (2003) Genetic diversity in the northernmost *Oryza rufipogon* populations estimated by SSR markers. Theor Appl Genet.107(8):1492-9.
- 13. Kiang, YT, Antonovics J. & Wu L (1979). The extinction of Wild Rice (*Oryza perennis formosana*) in Taiwan. J Asian Ecol 1: 1-9.
- 14. Song, Z.P Lu, B-R & Chen JK. (2004). Pollen flow of cultivated rice measured under

- experimental conditions. Biodiversity and Conservation 13(3): 579–90.
- Union of Concerned Scientists (2004) Gone to seed. Transgenic contaminants in the traditional seed supply. UCS: Cambridge, MA. www.ucsusa.org/documents/seedreport_full report.pdf.
- 16. Mellon, M & Rissler, J (2004) Gone to Seed, transgenic contaminants in the traditional seed supply, Union of Concerned Scientists: Washington DC. http://www.ucsusa.org/food_and_environment/biotechnology/page.cfm?pageID=1315
- 17. Matteson, P.C. (2000) Insect pest management in tropical Asia. Annu Rev Entomol 45: 549-574.
- 18. Losey J. E, Raynor, L. & Cater, M.E. (1999). Transgenic pollen harms monarch larvae. Nature 399: 214.
- 19. Hellmich R.L. Siegfried, BD, Sears, MK, Stanley-Horn, DE, Daniels, MJ, Mattila, HR, Spencer, T, Bidne, KG & Lewis, LC.(2001). Monarch larvae sensitivity to *Bacillus thuringiensis* purified proteins and pollen. PNAS. 98(21):11925-11930.
- 20. Stanley-Horn D.E. Dively, GP, Hellmich, RL, Mattila, HR, Sears, MK, Rose, R, Jesse, LCH, Losey, JE, Obrycki, JJ & Lewis, L. (2001) Assessing the impact of Cry1Ab-expressing corn pollen on monarch butterfly larvae in field studies. PNAS 98 (21): 11931–11936.
- 21. Jenkins J.L & Dean ,D.H. (2001) Binding specificity of *Bacillus thuringiensis* Cry1Aa for purified, native *Bombyx mori* aminopeptidase N and cadherin-like receptors *BMC Biochemistry* 2001, 2:12. http://www.biomedcentral.com/1471-2091/2/12 <29th October 2004>.
- 22. Wang Z-H Shu Q-Y, Cui H-R, Xu M-K, Xie X-B, Xia Y-W, (2002) The effect of Bt transgenic rice flour on the development of silkworm larvae and the sub-micro-structure of its midgut. Scientia Agricultura Sinica, 35(6): 714-718.
- 23. Fan, L-J, Wu Y-Y, Pang H-Q, Wu J-G, Shu Q-J, Xu M-K, Lu J-F (2003), Bt rice pollen distribution on mulberry leaves near rice fields. Acta Ecologica Sinica 23 (4): 826-833.
- 24. Hillbeck, A., Baumgartner, M., Fried, P.M. & Bigler, F. (1998) Effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on mortality and development time of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). Environmental Entomology 27: 480-487; Hillbeck, A., Moar, W.J., Pusztai-Carey, M., Filippini, A. & Bigler, F. (1998) Toxicity of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin to the predator *Crysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). Environmental Entomology 27: 1255-1263.
- 25. Wold, S.J., Burkness EC, Hutchinson WD, Venette RC. (2001) In-Field Monitoring of Beneficial Insect Populations in Transgenic Corn Expressing a *Bacillus thuringensis* Toxin, J. Entomol. Sci. 36 (2): 177-187:
- 26. Saxena, D. Stewart, CN, Altosaar, I. Shu, Q. & Stozky, G. (2004) 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 Physiol Biochem 42: 383-387.
- 27. Sun, C. Wu, Z, Zhang, Y. & Zhang, L. (2003) Effect of transgenic Bt rice planting on soil enzyme activities. Ying Yong Sgeng Tai Xue Bao 14: 2261-2264.
- 28. see Box 4.1 *The mysterious ecological role of Bt toxins* (page 162) in National Academy of Sciences (2002) Environmental impacts of transgenic plants: the scope and adequacy of regulation. National Academy Press, Washington.

- 29. Wu, W-X., Ye, Q-F, Hang, M, Duan, X-J, Jin, W-M. (2004) Bt-transgenic rice straw affects the culturable microbiota and dehydrogenase and phosphatase activities in a flooded paddy soil. Soil Biol Biochem 36: 289-295.
- 30. Wu, W-X., Ye, Q-F. & Min, H. (2004) Effect of straws from Bt-transgenic rice on selected biological activities in water-flooded soil. Eur J Soil Biol 40: 15-22.
- 31. Saxena, D. & Stotzky, G. (2001) Bt corn has a higher lignin content than non-Bt corn, American Journal of Botany. 2001;88:1704-1706.
- 32. Bell, H.A. Fitches, EC, Down, RE Ford, L, Marris, GC, Edwards, JP, Gatehouse, JA, & Gatehouse, AMR. (2001) Effect of cowpea trypsin inhibitor (CpTI) on the growth and development of the tomato moth *Lacanobia oleracea* (Lepidopters: Noctuidae) and on the success of the gregarious ectoparasitoid *Eulophus pennicornis* (Hymenoptera: Euphidae). Pest Manag Sci 57: 57-65.
- 33. Snow, A. A., Andow DA, Gepts P, Hallerman EM, Power A, Tiedje JM, & Wolfenbarger L L 2004). Genetically engineered organisms and the environment: Current status and recommendations. Ecological Society of America Position Paper.
- 34. Zhao, J.Z., Ping S-X, Lin FX, Yi Z-C, Min Z-R, Liu F-Y, hao-JZ; Shi-XP & Fan-XL. (1998). Insecticidal activity of transgenic tobacco co-expressing Bt and CpTI genes on *Helicoverpa armigera* and its role in delaying the development of pest resistance. Rice Biotech Quarterly 34:9-10.
- 35. Cuong, NL. & Cohen, MB. (2002) Field survey and greenhouse evaluation of non-rice host plants of the striped stem borer, *Chilo suppressalis* (Lepidoptera: Pyralidae), as refuges for resistance management of rice transformed with *Bacillus thuringiensis* toxin genes. Bull Entomol Res 92: 265-268.
- 36. Huang, J. and Wang, Q. (2003). Biotechnology policy and regulation in China. IDS Working Paper, Biotechnology Policy Series 4, Brighton: Institute of Development Studies
- 37. Meng, F. Wu, K, Gao, X, Peng, Y. & Yuyuan, G. (2003) Geographic variation in susceptibility of *Chilo suppressalis* (Lepidopera: Pyralidae) to *Bacillus thuringiensis* toxins in China. J Econ Entomol 96 (6): 1838-1842.
- 38. Jingsma, M.A. & Bolter, C. (1997) The adaptation of insects to plant protease inhibitors. J Insect Physiol 43: 885-895.
- 39. See: High, S.M., Cohen, M.B., Shu, Q.Y. & Altosar, I. (2004) Achieving successful deployment of Bt rice. Trends Plant Sci. 9 (6): 286-292.
- 40. Wu, K., Li, W., Feng, H, & Gao, Y. (2002) Seasonal abundance of the mirids, *Lygus lucorum* and *Adelphocoris* spp. (Hemiptera: Miridae) on Bt cotton in northern China. Crop Protection 21: 977-1002.