

Bt 毒蛋白在转基因抗虫玉米中的表达 及在亚洲玉米螟中的转移积累*

史晓利^{1,2} 杨益众^{1**} 蔡建华² 张小丽¹ 施敏娟¹

(¹ 扬州大学园艺与植物保护学院, 江苏扬州 225009; ² 江都市农业技术推广中心, 江苏江都 225200)

摘要 以两个转 *Bt* 基因抗虫玉米品系 G03-2396、G03-2739 和对照玉米品种苏玉 16 为材料, 采用室内生物测定法研究它们对亚洲玉米螟的抗性, 并采用酶联免疫技术 (ELISA) 检测这两个转基因玉米品系不同组织中 *Bt* 毒蛋白的表达量及亚洲玉米螟 3 龄与 5 龄幼虫取食转基因玉米后体内和粪便中的 *Bt* 毒蛋白含量。结果表明, 转 *Bt* 基因抗虫玉米心叶对玉米螟幼虫的毒性较强, 初孵幼虫取食 6 d 后的存活率不到 3%, 3 龄幼虫取食 6 d 后的存活率小于 70%, 抗虫玉米雌穗的毒性小于心叶。两个转 *Bt* 基因玉米心叶和雌穗中均表达了一定量的 *Bt* 毒蛋白, 但心叶中的毒蛋白含量高于雌穗; *Bt* 毒蛋白表达量依次为 G03-2739 心叶 ($39.6 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FM}$) > G03-2396 心叶 ($26.1 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FM}$) > G03-2396 雌穗 ($17.0 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FM}$) > G03-2739 雌穗 ($14.6 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FM}$)。取食转基因玉米心叶或雌穗后, 3 龄幼虫体内的 *Bt* 毒蛋白含量显著高于 5 龄幼虫; 同龄幼虫取食心叶后其体内及粪便中 *Bt* 毒蛋白含量均显著高于取食雌穗的个体。其中, 取食 G03-2739 心叶的 5 龄幼虫粪便中的 *Bt* 毒蛋白含量最高, 达 $10.4 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FM}$; 取食其雌穗的 3 龄幼虫粪便中的 *Bt* 毒蛋白含量最低, 仅 $2.7 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FM}$ 。

关键词 转基因抗虫玉米 *Bt* 毒蛋白 亚洲玉米螟 粪便 转移积累

文章编号 1001-9332(2009)11-2773-05 中图分类号 S435.62 文献标识码 A

***Bt* toxic protein expression in insect-resistant transgenic corns and its transfer to and accumulation in *Ostrinia furnacalis*.** SHI Xiao-li^{1,2}, YANG Yi-zhong¹, CAI Jian-hua², ZHANG Xiao-li¹, SHI Min-juan¹ (¹ School of Horticulture and Plant Protection, Yangzhou University, Yangzhou 225009, Jiangsu, China; ² Agricultural Technology and Popularization Center, Jiangdu 225200, Jiangsu, China). -Chin. J. Appl. Ecol. 2009 20(11): 2773-2777.

Abstract: Taking the insect-resistant transgenic corn varieties G03-2396 and G03-2739 and the conventional corn variety Suyu 16 as test materials, a bioassay in laboratory was conducted to test their resistance against *Ostrinia furnacalis*. The *Bt* toxin expression in different tissues of the two transgenic corns, the ingestion of *Bt* toxin by the 3rd and 5th instar of *O. furnacalis*, and the *Bt* toxin amount in feces of *O. furnacalis* larvae fed with *Bt* corns were analyzed by using enzyme-linked-immunosorbent-assay (ELISA). It was found that the central leaves of both G03-2396 and G03-2739 had great toxicity to *O. furnacalis* larvae. After fed with the central leaves for 6 d, the survival rate of neonate larvae was less than 3%, and that of the 3rd instar larvae was less than 70%. Female ears had smaller toxicity than central leaves. The *Bt* toxic protein was detected both in the leaves and in the female ears of the two transgenic corns, but its content was higher in central leaves than in female ears. The *Bt* toxic protein expression level was in order of G03-2739 central leaf ($39.6 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FM}$) > G03-2396 central leaf ($26.1 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FM}$) > G03-2396 female ear ($17.0 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FM}$) > G03-2739 female ear ($14.6 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FM}$). When fed with central leaf or female ear, the *Bt* toxic protein amount in the 3rd instar larvae was significantly higher than that in the 5th instar larvae. For the same age instar larvae, the *Bt* toxic protein content was significantly higher after fed with central leaf than fed with female ear, so did the *Bt* toxic protein content in larvae.

* 国家重大转基因专项“转基因生物安全监测技术”(2008ZX08012-004)资助。

** 通讯作者。E-mail: yzyang@yzu.edu.cn

2009-01-19 收稿, 2009-09-03 接受。

feces, being the highest ($10.4 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FM}$) for the 5th instar larvae fed with G03-2739 central leaf, and the lowest ($2.7 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FM}$) for the 3rd instar larvae fed with G03-2739 female ear.

Key words: insect-resistant transgenic corn; *Bt* toxic protein; *Ostrinia furnacalis*; feces; transfer and accumulation.

玉米是世界三大禾谷类作物之一,在农业生产中占有极其重要的地位,而玉米螟一直是玉米等旱粮作物的主要害虫,在生产中造成的损失巨大.利用基因工程技术培育抗螟品种(系)已成为控制玉米螟发生危害的一种重要手段^[1-2],因此转 *Bt* 抗虫基因玉米受到广泛青睐,美国及欧洲部分国家已形成一定的产业规模,我国对转基因玉米的研究与推广也取得了一些进展.中国农业大学、中国农业科学院生物技术研究所等单位已成功培育出转 *Bt* 基因玉米,且中国农业大学选育的转 *Bt* 基因玉米已获准在河北和东北等地进行田间试验^[3].然而转基因抗虫作物大面积种植后引起的生态环境安全等问题也引起了人们的广泛关注^[4-8].自从我国政府允许美国 MON810 转 *Bt* 抗虫基因玉米及国内自主研制的一些转基因抗虫玉米材料可以进行中间试验与环境释放后,科研工作者已做了一些安全性评价工作^[9-12],但有关 *Bt* 杀虫蛋白在转 *Bt* 基因玉米中的表达以及在靶标害虫亚洲玉米螟(*Ostrinia furnacalis*)以下简称玉米螟)体内和其粪便中的转移积累的系统研究鲜见报道.为此,本文以两个转 *Bt* 基因抗虫玉米品系 G03-2396 和 G03-2739 为材料,以“苏玉 16”为对照,利用室内生物测定方法检测了其玉米螟的杀虫效果,同时采用酶联免疫技术检测了这两个转 *Bt* 基因玉米不同器官中毒蛋白的表达量、玉米螟不同虫龄获取 *Bt* 毒蛋白的能力及其粪便中毒蛋白的含量,以期明确 *Bt* 毒蛋白在玉米植株、虫体与粪便中的含量变化及转移积累,为转 *Bt* 抗虫基因玉米的风险评估提供参考依据.

1 材料与方 法

1.1 供试玉米品系

转 *Bt* 基因玉米品系 G03-2396 和 G03-2739 均为转 *cry1Ab* 杀虫蛋白基因的 *Bt* 玉米,由中国农业大学提供,对照玉米“苏玉 16”由扬州大学玉米育种组提供.3 个品种(系)均于 2006 年 4 月中旬播种于扬州大学农牧场试验田内,为方便田间操作,按宽窄行点播,宽行行距 80 cm,窄行行距 50 cm,株距 37 cm,小区面积 400 m²,常规管理,整个生育期不使用任何化学农药.

1.2 供试虫源

供试玉米螟为本研究室上一年采自常规玉米田的越冬虫源.翌年成虫羽化、产卵、幼虫孵化后以人工饲料^[13]在实验室条件下饲养 1~2 代后备用.

1.3 转 *Bt* 基因玉米对玉米螟幼虫的毒杀效果试验

采用室内生物测定方法^[14].在玉米心叶期(播种后 45~50 d,下同)抽取未展开的幼嫩心叶,在灌浆期(雌穗吐丝后 5~10 d,下同)掰下已具雏形的雌穗,带回室内作为供试材料,分别饲养玉米螟初孵幼虫、3 龄幼虫.将各品种(系)玉米心叶洗净晾干,取 5 cm 左右为一段,基部用湿润脱脂棉保湿,置于罐头瓶中,接初孵或 3 龄幼虫 10 头,瓶口用铜质纱网封严 2 d 检查 1 次幼虫存活情况并更换食料,持续饲养 6~8 d;将各品种(系)玉米穗轴切成 3~5 mm 厚的薄片,每瓶投 8~10 片,同时接初孵或 3 龄幼虫 10 头,用湿润脱脂棉球保湿,其余同心叶处理.试验均重复 4 次.

1.4 玉米样品的采集与处理

参照张桂芬等^[15]的方法:分别于玉米心叶期和灌浆期,采用棋盘式 20 点随机取样,每点 1 株.心叶期取幼嫩心叶单个分装,带回室内在 -30℃ 条件下保存,灌浆期掰下已具雏形的雌穗以同样方法保存.测定时分别取各品系不同组织 1.0 g,加 2 ml 样品提取缓冲液,用少量石英砂及聚乙烯吡咯烷酮(PVP)在 4℃ 下研磨匀浆,匀浆液转入 10 ml 离心管后,再用 3 ml 提取缓冲液冲洗研钵 3~4 次,一并移入离心管,摇匀后于 4℃ 过夜;在 12000 r·min⁻¹、4℃ 下离心 10 min,取上清液用于 *Bt* 毒蛋白含量的测定^[16].测定重复 10 次.

1.5 玉米螟幼虫及其粪便的收集与处理

在玉米心叶期和灌浆期,于培养皿(直径 9 cm)中单头饲养刚蜕皮的 3 和 5 龄玉米螟幼虫,不同虫龄分别饲养 30 头,方法同上.48 h 后分别称其鲜质量,然后放入 2 ml 离心管中,于 -30℃ 保存备用;同时单头收集幼虫粪便,称其鲜质量,然后放入 10 ml 离心管中,于 -30℃ 保存.测定毒蛋白含量时,将单头幼虫放入预冷玻璃匀浆器中,加 2 ml 提取缓冲液 4℃ 研磨匀浆,然后转入 2 ml 离心管中 4℃ 过夜,离心 10 min(12000 r·min⁻¹ 4℃),取上清液用

于 *Bt* 毒蛋白含量的测定. 各处理粪便在 10 ml 离心管中加 5 ml 提取缓冲液 4°C 浸提、离心、检测^[17].

1.6 *Bt* 毒蛋白含量的测定

Bt (*Bacillus thuringiensis*) 单克隆抗体由中国农业大学化学控制中心提供. 测定程序参照王保民等^[16]的方法: 1) 包被: 取 $10\text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ 的标样 $100\ \mu\text{l}$ 用样品提取缓冲液稀释 1000 倍作为起始浓度, 然后依次 2 倍稀释成 11 个梯度 (10.24 、 5.12 、 2.56 、 1.28 、 0.64 、 0.32 、 0.16 、 0.08 、 0.04 、 0.02 、 $0.01\ \text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$), 每孔 $100\ \mu\text{l}$, 每板上 2 条标准曲线. 同一样品匀浆液重复 3 次取样. 然后将酶标板放入保湿盒 (带盖瓷盘, 内铺饱和湿润纱布), 于 37°C 包被 3 h; 2) 洗板: 将包被好的酶联板取出, 甩掉包被液, 每孔加入 $150\ \mu\text{l}$ 洗涤液, 放置 1 min, 再甩掉洗涤液, 重复洗涤 4 次. 将板内残留洗涤液在吸水纸上甩干; 3) 加毒蛋白抗体: 将抗体用抗体稀释液按 1:500 稀释, 每孔加入 $100\ \mu\text{l}$, 放入湿盒, 37°C 下温育 30 min; 4) 洗板: 同(2); 5) 加二抗标记酶: 将二抗标记酶用二抗稀释液按 1:1000 稀释, 每孔加入 $100\ \mu\text{l}$, 放入湿盒, 37°C 下温育 30 min; 6) 洗板: 同(2); 洗涤 5 次; 7) 加底物显色: 称取 $20\sim 30\ \text{mg}$ 邻苯二胺 (OPD) 溶于 10 ml 底物缓冲液中, 完全溶解后, 加 $4\ \mu\text{l}$ 30% 的 H_2O_2 混匀, 每孔加入 $100\ \mu\text{l}$, 放入湿盒, 在 37°C 下反应 $15\sim 20\ \text{min}$, 每孔加入 $50\ \mu\text{l}$ $2\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的硫酸终止; 8) 在酶标仪 (BIO-TEK, ELx800 nv) 上于 $490\ \text{nm}$ 下测定各孔的 OD 值; 9) 计算样品含量. 将结果换算成每克鲜质量含有的 *Bt* 毒蛋白含量.

缓冲液的制备: 1) 样品提取缓冲液: Na_2CO_3 $1.33\ \text{g}$, DTT $0.19\ \text{g}$, NaCl $1.46\ \text{g}$, Vc $0.5\ \text{g}$, 以蒸馏水定容至 $250\ \text{ml}$; 2) 抗体/二抗稀释缓冲液: $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 12\text{H}_2\text{O}$ $2.96\ \text{g}$, NaCl $8.0\ \text{g}$, KH_2PO_4 $0.2\ \text{g}$, 白明胶 $1.0\ \text{g}$, Tween-20 $1\ \text{ml}$, 以蒸馏水定容至

$1000\ \text{ml}$; 3) 底物缓冲液: $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7\cdot \text{H}_2\text{O}$ (柠檬酸) $5.10\ \text{g}$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 12\text{H}_2\text{O}$ $18.43\ \text{g}$, Tween-20 $1\ \text{ml}$, 加蒸馏水 $1000\ \text{ml}$; 4) 洗涤液: $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 12\text{H}_2\text{O}$ $2.96\ \text{g}$, NaCl $8.0\ \text{g}$, KH_2PO_4 $0.2\ \text{g}$, Tween-20 $1\ \text{ml}$, 加蒸馏水 $1000\ \text{ml}$; 5) 终止液: H_2SO_4 $2\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

1.7 数据处理

采用 Excel 2003 软件进行数据处理, 用 DPS 3.01 软件对数据进行方差分析, 并运用 LSD 法进行多重比较^[18].

2 结果与分析

2.1 转 *Bt* 基因抗虫玉米对玉米螟存活率的影响

由表 1 可知, 转 *Bt* 基因抗虫玉米品系 G03-2739、G03-2396 心叶对玉米螟初孵幼虫 (L1) 和 3 龄幼虫 (L3) 均表现出较强的抗性, 两者与对照 (苏玉 16) 差异均达到极显著水平 ($P < 0.01$), 但 3 龄幼虫的存活率高于初孵幼虫. 雌穗对玉米螟幼虫的抗性不及心叶, 同时饲喂 6 d, 取食两品系心叶的初孵幼虫存活率接近 0, 而取食雌穗的存活率分别为 86.7% 和 80.0%. 雌穗对玉米螟 3 龄幼虫的抗性更低.

2.2 *Bt* 毒蛋白在转基因玉米中的表达

在两个转基因玉米品系的心叶和雌穗中都检测到了 *Bt* 毒蛋白, 且心叶中的毒蛋白含量明显高于雌穗中 (表 2). 其中, G03-2739 心叶和雌穗中的毒蛋白含量差异极显著 ($P < 0.01$); G03-2396 心叶和雌穗中的毒蛋白含量差异也达到显著水平 ($P < 0.05$). 对照苏玉 16 心叶和雌穗中均没有检测到 *Bt* 毒蛋白. 统计检验还表明 G03-2739 心叶中 *Bt* 毒蛋白表达量显著高于 G03-2396 ($P < 0.05$), 而两品系雌穗间毒蛋白的表达量差异不显著 ($P > 0.05$).

2.3 *Bt* 毒蛋白在玉米螟 3 龄与 5 龄幼虫体内的积累

不同虫龄的玉米螟取食玉米不同器官后体内毒蛋白含量的测定结果见表 3. 无论是取食转基因玉

表 1 玉米螟取食不同玉米品种 (系) 心叶和雌穗后的幼虫存活率

Tab. 1 Survival rates of larvae of *Ostrinia furnacalis* fed with central leaf and female ear of different corn cultivars (%)

玉米品种 (系) Corn cultivar	虫龄 Instar	心叶 Central leaf			雌穗 Female ear		
		2 d	4 d	6 d	2 d	6 d	8 d
苏玉 16	L1	87.5aA	70.0aA	67.0aA	92.5aA	90.0aA	82.5aA
Suyu 16 (CK)	L3	95.0aA	95.0aA	82.5aA	97.5aA	92.5aA	87.5aA
G03-2739	L1	27.5cC	7.5bB	3.0bB	95.0aA	86.7aA	80.0aA
	L3	80.5bB	80.0bB	67.5bB	95.0aA	92.5aA	72.5bA
G03-2396	L1	57.5bB	7.5bB	0.0bB	90.3aA	80.0bA	75.0bA
	L3	80.5bB	75.0bB	35.0cC	95.5aA	92.5aA	75.0bA

L1: 初孵幼虫 Neonate; L3: 3 龄幼虫 The 3rd instar. 同列数据后同龄幼虫间不同小、大写字母分别表示在 0.05 和 0.01 水平差异显著. Values followed with different small and capital letters in the same column with the same larvae meant significant difference at 0.05 and 0.01 levels, respectively.

表2 转 *Bt* 抗虫基因玉米不同器官中 *Bt* 毒蛋白含量
 Tab.2 *Bt* toxic protein content in different tissues of *Bt* insect-resistant transgenic corns ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ FM)

器官 Tissue	玉米品种(系) Corn cultivar		
	G03-2396	G03-2739	苏玉16 Suyu 16 (CK)
心叶 Central leaf	26.1 ± 2.1aA	39.6 ± 4.6aA	0
雌穗 Female ear	17.0 ± 1.4bA	14.6 ± 5.1bB	0

同列数据不同小、大写字母分别表示在 0.05 和 0.01 水平差异显著
 Values followed with different small and capital letters in the same column
 meant significant difference at 0.05 and 0.01 levels, respectively. 下同
 The same below.

米的不同品系还是取食同一品系的不同器官, 3 龄 (L3) 幼虫体内的毒蛋白含量均显著高于 5 龄 (L5) 幼虫, 同一虫龄取食同一品系的不同器官, 均表现为

表3 玉米螟取食转 *Bt* 抗虫基因玉米后幼虫体内和粪便中的 *Bt* 毒蛋白含量
 Tab.3 *Bt* toxic protein content in the body and feces of larvae fed with *Bt* insect-resistant transgenic corns ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ FM)

玉米品种(系) Corn cultivar	虫龄 Instar	虫体 Body		粪便 Feces	
		心叶 Central leaf	雌穗 Female ear	心叶 Central leaf	雌穗 Female ear
苏玉16 Suyu 16 (CK)	L3	0	0	0	0
	L5	0	0	0	0
G03-2396	L3	11.4 ± 2.9aA	6.0 ± 0.8aA	8.7 ± 1.8a	3.2 ± 1.6a
	L5	6.6 ± 0.1bA	1.4 ± 0.2bA	10.3 ± 2.2a	6.3 ± 1.2a
G03-2739	L3	12.3 ± 2.8aA	5.1 ± 2.2aA	9.8 ± 3.5a	2.7 ± 1.0a
	L5	7.2 ± 0.2bB	1.1 ± 0.5bA	10.4 ± 0.6a	4.6 ± 0.7a

L5 5 龄幼虫 The 5th instar.

3 讨论

室内生物测定结果表明, 转 *Bt* 基因玉米品系 G03-2396 和 G03-2739 的心叶对玉米螟初孵幼虫和 3 龄幼虫的毒性相当明显, 雌穗的毒性不及心叶, 尤其是对 3 龄幼虫的毒性较低, 说明玉米生长前期的毒性高于后期, 对玉米螟低龄幼虫的毒性高于高龄幼虫. 酶联免疫检测结果显示, 两品系转 *Bt* 基因玉米的心叶和雌穗中均表达了一定量的 *Bt* 杀虫蛋白, 且心叶中毒蛋白的表达量高于雌穗. 这两个转 *Bt* 基因玉米品系不同器官对玉米螟的毒性与玉米不同器官中的毒蛋白含量相吻合, 这一检测结果与王冬妍等^[9] 研究结果相一致. 因此, 生产上必须重视玉米螟在转 *Bt* 基因玉米生长中后期发生的危害, 以确保玉米高产.

本研究表明, 玉米螟幼虫体内及其粪便中的 *Bt* 毒蛋白含量变化趋势与其玉米植株不同器官中毒蛋白含量的变化趋势相一致, 即转基因玉米心叶组织中的 *Bt* 毒蛋白含量较高, 幼虫取食后其体内及粪便中的 *Bt* 毒蛋白含量也较高. 张桂芬等^[15] 对田间采集的棉铃虫 (*Helicoverpa armigera*) 幼虫进行了毒蛋

取食心叶的幼虫体内毒蛋白含量高于取食雌穗的幼虫, 幼虫取食不同品系的同一器官, 其体内的毒蛋白含量在品系间没有显著差异 ($P > 0.05$). 取食对照苏玉 16 的幼虫体内没有检测到毒蛋白.

2.4 玉米螟幼虫粪便中 *Bt* 毒蛋白含量

取食转 *Bt* 基因玉米的 3 和 5 龄幼虫粪便中均检测到 *Bt* 毒蛋白, 取食玉米心叶的幼虫粪便中毒蛋白含量显著高于取食雌穗的幼虫 ($P < 0.05$). 无论是取食不同玉米品系的相同器官还是不同器官, 均表现为 5 龄幼虫粪便中的毒蛋白含量高于 3 龄幼虫, 但差异不显著 ($P > 0.05$). 取食常规对照苏玉 16 的各龄幼虫粪便中没有检测到毒蛋白 (表 3).

白检测, 发现从 *Bt* 毒蛋白表达量较高的新棉 33B 上采集的棉铃虫, 其体内 *Bt* 毒蛋白的含量反而低于采自 *Bt* 毒蛋白表达量较低的古 K12. 这可能与棉铃虫在棉花不同器官间频繁转移的取食特点有关. 本研究结果是以田间采摘的玉米新鲜器官室内饲养玉米螟而得, 因此避免了田间采集幼虫的不确定因素. 另外, 本研究着重阐述取食同一品系不同器官后玉米螟各虫龄体内及其粪便中毒蛋白含量的差异, 由于试验仅摘取了心叶 (营养生长期) 和雌穗 (生殖生长期) 两种器官, 未就两个转基因抗虫玉米品系全生育期的抗性情况进行系统比较, 这有待于进一步研究. 同时, 玉米螟 3 龄幼虫体内毒蛋白含量较 5 龄幼虫高, 这是否与不同虫龄幼虫的生理代谢及体内解毒酶系种类、活性有关, 尚待进一步分析.

本研究检测了转基因玉米植株、取食转基因玉米材料的玉米螟幼虫及其粪便中的 *Bt* 毒蛋白含量, 具有一定的系统性. Bernal 等^[19] 研究发现, 亚热带蛀茎螟蛾 (*Eoreuma loftini*) 取食转 *Bt* 基因玉米组织后对其幼虫寄生性天敌 (*Parallorhogas pyralophagus*) 的发育速率与雌成虫寿命均产生了一定的影响. 本研究结果是否对玉米螟的寄生或捕食性天敌

以及其他非靶标生物产生影响还有待于进一步研究。在有关转基因玉米的生态安全性评价中,基因漂(飘)移是研究的热点之一。前人研究指出,*Bt* 基因能通过转基因玉米的花粉大量传送而发生转移^[11],也能通过转基因玉米的花粉飘落等多种形式进入土壤^[20-21],同时转基因玉米会使玉米本身及其近缘种带来杂草化风险等^[22]。本研究发现,*Bt* 毒蛋白可以通过玉米螟的粪便向外排泄,这是否也会造成 *Bt* 基因的漂(飘)移,甚至导致基因污染,都有待进一步研究。

参考文献

- [1] Yan X-F (闫新甫). Transgenic Plant. Beijing : Science Press , 2003 (in Chinese)
- [2] Witkowski JF , Wedberg JL , Steffey KL , et al. *Bt*-corn and European Corn Borer : Long-term Success through Resistance Management. St. Paul : University of Minnesota Extension Service , 1997
- [3] Safety Management Office of Gene Engineering , Ministry of Agriculture (农业部基因工程安全管理办公室). Annual report of the review results announced by office of genetic engineering safety administration , ministry of agriculture. *Biotechnology Information* (生物技术通报) , 1999 (1) : 38-40 (in Chinese)
- [4] Masood E. Europe and US in confrontation over GM food labeling criteria. *Nature* , 1999 , **398** : 641
- [5] Saegusa A. Japan tightens rules on GM crops to protect the environment. *Nature* , 1999 , **399** : 719
- [6] Poppy G. GM crops : Environmental risks and non-target effects. *Trends in Plant Science* , 2000 , **5** : 4-6
- [7] Wolfenbarger LL , Phifer PR. The ecological risks and benefits of genetically engineered plants. *Science* , 2000 , **290** : 2088-2093
- [8] Qian Y-Q (钱迎倩) , Wei W (魏伟) , Sang W-G (桑卫国) , et al. Effect of transgenic crops on biodiversity. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报) , 2001 , **21** (3) : 337-343 (in Chinese)
- [9] Wang D-Y (王冬妍) , Wang Z-Y (王振营) , He K-L (何康来) , et al. Temporal and spatial expression of *cryIAb* toxin in transgenic *Bt* corn and its effects on Asian corn borer , *Ostrinia furnacalis* (G en e). *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学) , 2004 , **37** (8) : 1155-1159 (in Chinese)
- [10] He K-L (何康来) , Wang Z-Y (王振营) , Wen L-P (文丽萍) , et al. Transgenic maize evaluated for resistance to Asian corn borer (Lepidoptera : Pyralidae). *Chinese Agricultural Science Bulletin* (中国农学通报) , 2004 , **20** (6) : 240-246 (in Chinese)
- [11] Lu X-B (路兴波) , Sun H-W (孙红炜) , Yang C-L (杨崇良) , et al. Gene flow of transgenic corn to cultivated relatives in China. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报) , 2005 , **25** (9) : 2450-2453 (in Chinese)
- [12] Li C-C (李葱葱) , Liu N (刘娜) , Kang L-S (康岭生) , et al. Study on the expression of *Bt* insecticidal protein of the transgenic insect-resistant corn. *Journal of Maize Sciences* (玉米科学) , 2006 , **14** (3) : 40-41 (in Chinese)
- [13] Zhou D-R (周大荣) , Wang Y-Y (王玉英) , Liu B-L (刘宝兰) , et al. The mass artificial propagate research of the corn borer. I. A half-artificial diet and the improvement. *Acta Phytophylacica Sinica* (植物保护学报) , 1980 , **7** (2) : 113-122 (in Chinese)
- [14] Yang Y-Z (杨益众) , Dai Z-Y (戴志一) , Huang D-L (黄东林) , et al. Effect of different food condition on population increase of Asian corn borer. *Entomological Journal of East China* (华东昆虫学报) , 1998 , **7** (1) : 76-80 (in Chinese)
- [15] Zhang G-F (张桂芬) , Wan F-H (万方浩) , Guo J-Y (郭建英) , et al. Expression of *Bt* toxin in transgenic *Bt* cotton and its transmission through pests *Helicoverpa armigera* and *Aphis gossypii* to natural enemy *Propylaea japonica* in cotton plots. *Acta Entomologica Sinica* (昆虫学报) , 2004 , **47** (3) : 334-341 (in Chinese)
- [16] Wang B-M (王保民) , He Z-P (何钟佩) , Tian X-L (田晓莉). Preparation of monoclonal antibodies to *cryIA* insecticidal crystal protein and application to determinate toxin in *Bt* cotton. *Acta Gossypii Sinica* (棉花学报) , 2000 , **12** (1) : 34-39 (in Chinese)
- [17] Jiang Y-H (姜永厚) , Fu Q (傅强) , Cheng J-A (程家安) , et al. Dynamics of *cryIAb* protein from transgenic *Bt* rice in herbivores and their predator. *Acta Entomologica Sinica* (昆虫学报) , 2004 , **47** (4) : 454-460 (in Chinese)
- [18] Tang Q-Y (唐启义) , Feng M-G (冯明光). DPS Data Processing System for Practical Statistics. Beijing : Science Press , 2002 (in Chinese)
- [19] Bernal JS , Griset JG , Gillogly PO. Impacts of development on *Bt* maize-intoxicated hosts on fitness parameters of a stem borer parasitoid. *Journal of Entomological Science* , 2002 , **37** : 27-34
- [20] Steven RS , Larry RH. Insect bioassay for determining soil degradation of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* *CryIA* (b) protein in corn tissue. *Environmental Entomology* , 1996 , **25** : 659-664
- [21] Saxena D , 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 Biology & Biochemistry* , 2001 , **33** : 1225-1230
- [22] Quist D , Chapela IH. Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca , Mexico. *Nature* , 2001 , **414** : 541-543

