抗虫转基因水稻对非靶标生物的生态安全性研究进展

傅强*, 赖凤香, 陈洋, 李凯龙

中国水稻研究所水稻生物学国家重点实验室, 杭州310006

摘要: 抗虫转基因水稻的培育和利用为水稻害虫控制提供了一条最为有效、经济的途径, 但其生态安全性直接影响着其能否进行商品化种植。本文拟在概述抗虫转基因水稻的研发现状的基础上, 从研究和评价方法、对不同类型非靶标生物的影响效应等方面就抗虫转基因水稻对非靶标生物安全性的研究进展进行综述。

关键词: 抗虫转基因水稻; Bt稻; 非靶标生物; 生态安全性

A Review of the Ecological Safety of the Insect-Resistant Transgenic Rices to Non-Target Organisms

FU Qiang*, LAI Feng-Xiang, CHEN Yang, LI Kai-Long

State Key Lab of Rice Biology, China National Rice Research Institute, Hangzhou 310006, China

Abstract: The breeding and use of insect-resistant transgenic rices (IRTRs) provide a useful and economic approach for the IPM of rice insect pests. However, the ecological safety is one of the decisive factors influencing the commercialization of IRTRs. Here, we review the development and types of IRTRs, the assessment methodology for ecological safety, and the ecological effects of IRTRs on different kinds of non-target organisms.

Key words: insect-resistant transgenic rice; Bt rice; non-target organism; ecological safety

水稻是我国主要的粮食作物, 65%的人口以稻米为主食(章秀福等2005)。水稻害虫是制约我国水稻生产的重要生物因子, 每年给水稻生产造成严重损失。据统计, 仅水稻螟虫每年造成的损失就达我国稻谷总产量的3.1%, 约63亿公斤(盛承发等2003)。

抗虫转基因水稻的培育和利用为水稻害虫控制提供了一条最为有效、经济的途径。然而, 目前人们对转基因水稻的安全性尚存在争议, 是转基因水稻尚未能实现大规模商品化生产的关键原因之一。本文拟在概述抗虫转基因水稻的研发现状的基础上, 从研究和评价方法、对不同类型非靶标生物的影响效应等方面就抗虫转基因水稻对非靶标生物安全性的研究进展进行综述。

1 抗虫转基因水稻的研发概况

抗虫转基因水稻是以提高水稻品种对害虫抗性为目的而培育的一类转基因水稻。自1989年首例抗虫转基因水稻转化成功(杨虹等1989)以来, 已获得了大量的抗虫转基因水稻, 所用的外源基因主要有苏云金杆菌(*Bacillus thuringiensis* Berliner, 简称*Bt*)杀虫蛋白基因(晶体蛋白基因*cry*和营养期杀虫蛋白基因*vip*)、蛋白酶抑制剂基因(如豇豆胰蛋白酶抑制剂基因*CpTI*或修饰的豇豆胰蛋白酶抑制剂基因*sck*、马铃薯蛋白酶抑制剂II基因*pinII*和大豆胰蛋白酶抑制剂基因*SbTI*)和凝集素基因(如雪花莲凝集素基因*GNA*), 其中前两类以二化螟、三化螟、大螟和稻纵卷叶螟等水稻鳞翅目害虫为靶标, *GNA*则以褐飞虱等半翅目害虫为靶标。

目前, *cry*基因是使用最广泛的抗虫基因, 源于一种革兰氏阳性土壤芽胞杆菌——苏云金杆菌(*B. thuringiensis* Berliner), 表达Cry杀虫蛋白。Cry蛋白的杀虫机理是: 被靶标昆虫取食后在中肠碱性环境中活化, 并与昆虫受体蛋白结合, 引起细胞膜穿孔, 破坏细胞渗透平衡, 导致细胞肿胀破裂、昆虫瘫痪或死亡。由于Cry蛋白只能特异地与靶昆虫中肠上皮细胞的受体蛋白结合, 非靶标生物无此类特异受体, 因此Cry蛋白对靶标害虫有高毒力, 而对非靶标昆虫低毒, 对人和高等动物无毒。实际上, *Bt*杀虫剂作为害虫的生防制剂应用已有百余

收稿 2013-06-17 修定 2013-06-24

资助 转基因生物新品种培育重大专项课题(2011ZX08012-004)。

* 通讯作者(E-mail: fuqiang@caas.cn; Tel: 0571-63372472)。

年历史, 是迄今使用最早、最成功的生物杀虫剂, 其对自然环境及人类的安全性经受了时间的检验。

目前研发的抗虫转基因水稻中, 多数为单价转基因水稻, 所用的外源抗虫基因有*cry1Aa*、*cry1Ab*、*cry1Ac*、*cry1B*、*cry1C**、*cry1Ca1*、*cry2A*、*cry9C*和*CpTI* (*sck*); 少数则导入双价抗虫基因或2个抗虫基因的融合基因, 如*cry1Ac*+*cry2A*、*cry1Ac*+*CpTI* (*sck*)、*cry1Ab*+*cry2Ab*和*cry1Ab/cry1Ac*、*cry1Ab/cry1B*、*cry1Ab/vip3H*等(Chen等2010, 2011; 陈洋等2011)。双价或多价转基因水稻还可通过2个或以上不同单价转基因水稻进行常规杂交获得。如, 转*cry1Ab*+*cry1C*、*cry1Ab*+*cry2A*、*cry1Ac*+*cry1C*、*cry1Ac*+*cry2A*或*cry1C*+*cry2A*双价基因的抗虫水稻'明恢63' (Yang等2011)。研究表明, 上述转基因水稻对一种或多种鳞翅目靶标害虫表现为较高抗性(Chen等2010, 2011), 但不抗另一类水稻主要害虫——稻飞虱。抗稻飞虱转基因水稻因缺乏高效基因而发展缓慢, 已报道的转*GNA*基因水稻可显著提高对褐飞虱的抗性, 但一般难以达到高抗水平(唐克轩等2001; 左示敏等2004), 尚待进一步突破。

迄今, 我国已有一批高抗鳞翅目害虫的转基因水稻相继进入环境释放或生产性试验, 并开展了大量相关的环境安全性研究, 主要有: 转*cry1Ab/cry1Ac*基因的'华恢1号'和Bt '汕优63', 转*cry1Ab*基因的克螟稻及其衍生品系, 转*cry1Ac*+*CpTI* (*sck*)基因的MSA、MSB和'科丰6号'等, 其中, '华恢1号'和Bt '汕优63'于2009年获得了我国迄今颁发的转基因水稻中仅有的2例转基因生物安全证书。

2 对非靶标生物影响的研究与评价方法

按转基因生物安全性评价的原则, 抗虫转基因水稻对非靶标生物的影响采用个案评价的原则, 即需对每一种转基因水稻进行评价。有关研究和评价的程序、方法与对象分述如下。

2.1 研究和评价的程序与方法

抗虫转基因生物对非靶标生物的影响风险取决于非靶标生物接触或暴露于杀虫蛋白的概率及接触或暴露后的危害性, 即: 风险= f (暴露率, 危害性)。基于不同暴露水平对非靶标生物潜在影响的层次递进的风险评价程序(Tiered Risk Assessment Approach), 是目前国际上普遍采用的对转基因生物非靶标生物生态风险评价方法, 包括室内、室内扩展、半田间、田间等4个不同层次的实验研究和评价, 与传统的化学农药对非靶标生物的评价体系相似, 能严格、有效地评价非靶标生物的安全性(Touart和Maciorowski 1997; Milofsky 2006; Romeis等2006, 2008; 叶恭银等2011)。

(1)第1层次——室内实验: 在实验室条件下, 通过饲喂添加了数倍(如10倍)于环境暴露量的杀虫蛋白的人工饲料, 可在较短时间内(如30 d)检测对代表性非靶标生物的急性毒性作用。

(2)第2层次——室内扩展实验: 在实验室条件下, 通过饲喂转基因植物材料或混入转基因材料的人工饲料进行检测, 其暴露剂量一般相当于转基因生物目标基因的表达量。

(3)第3层次——半田间实验: 在温室或网室条件下, 用转基因植物进行较长时间(如一个完整的生命周期)的检测。暴露剂量接近田间自然状况, 暴露时间长于第2层次。

(4)第4层次——田间实验: 在田间自然条件下进行的研究, 一般通过多地点多年检测转基因植物对非靶标生物的影响。暴露剂量为田间自然水平, 暴露时间一般长于前述各层次。

上述不同层次实验中, 研究的成本一般随层次上升而递增。因此, 基于经济有效原则, 非靶标安全性的研究通常从第1层次开始, 当前一层次检测发现无危害时, 可终止后续实验做出评价; 若前一层次实验发现有潜在危害, 则继续进入下一层次的研究, 直至最终可以做出安全性评价的判定。但在实际工作中, 因考虑到社会公众关注等方面因素, 不管前面几个层次的结果如何, 通常均进行田间实验, 可检测田间自然生态条件下的非预期效应。此外, 一些研究者认为, 因田间实验一般都会进行, 半田间实验可作为可选项。不过也有研究者认为田间实验结果常因地点、时间的不同而产生较大差异, 半田间实验具有明显优点, 如其条件相对可控、暴露量更有保证、结果更可靠、与实验室检测结果的关联度可能更大。

在转基因水稻对非靶标生物的影响评价中, 因仅少部分非靶标生物有合适的人工饲料, 第1层次的室内研究受到限制, 因此常以第2层次的室内

扩展实验开展较多; 同时因水稻的重要性及受公众的高关注度, 第4层次的田间实验亦得到广泛开展(参见后文)。

2.2 研究和评价的对象

稻田生物种类繁多, 对每一种生物进行研究和评价是不现实的, 因此通常选择部分可能暴露于外源杀虫蛋白下的非靶标生物作为安全性评价的对象。在评价对象的选择上, 据稻田及周边生态系统中物种在食物网中的位置和功能特点, 可以将用于抗虫转基因水稻安全性评价的非靶标生物分成以下4类。

(1)非靶标的植食性害虫: 以水稻为食的靶标害虫之外的害虫。以转*Bt*基因水稻为例, 主要包括稻飞虱、稻叶蝉、稻蓟马、稻蚜虫、稻瘿蚊等田间害虫及麦蛾、谷蠹等仓储害虫。抗虫转基因水稻除可能对非靶标害虫有直接毒性之外, 还可能因抑制靶标害虫的发生而改变非靶标害虫的生态位, 进而间接影响非靶标害虫的发生甚至灾变, 因此对它们进行安全性评价十分必要。

(2)非靶标的害虫天敌: 寄生或捕食水稻靶标和非靶标害虫的天敌, 包括寄生蜂、蜘蛛、捕食蝽、瓢虫等。天敌是稻田各类害虫的关键控制因子, 是抗虫转基因水稻非靶标生物影响最重要的研究和评价对象。

(3)非靶标的中性生物: 不直接为害水稻亦不捕食或寄生水稻害虫的一类生物, 包括稻田摇蚊、弹尾虫及土壤微生物等。其中, 摇蚊、弹尾虫等是稻田生态系统中捕食性天敌的重要猎物, 其丰盛度无疑直接影响和维系着捕食性天敌的种群数量, 进而关系到天敌对害虫的控制能力(郭玉杰等1995), 是抗虫转基因水稻生态安全性评价的重要对象。

(4)非靶标的经济昆虫: 稻区常存在家蚕等经济昆虫, 尤其在我国江浙地区, 稻区田间地头常见桑树, 水稻花粉可能飘落桑叶上被家蚕取食, 因此, 抗虫转基因水稻对家蚕的安全性一直是人们关注的焦点之一。

3 对非靶标生物的影响情况

迄今, 抗虫转基因水稻对非靶标生物影响的研究主要集中于转*cry1Ab/cry1Ac*基因的‘华恢1号’、Bt ‘汕优63’和TT9-3、TT9-4, 转*cry1Ab*基因的克螟稻(KMD1、KMD2、KMD3)、B1和B6及转*cry1Ac*+*CpTI* (*sck*)基因的MSA、MSB、MSB4和‘科丰6号’等, 主要研究结果按非靶标的植食性害虫、天敌、土壤生物及经济昆虫分别归纳如下:

3.1 对非靶标的植食性害虫的影响

目前研究较多的抗虫转基因水稻是以鳞翅目害虫为靶标的转*Bt*或*CpTI*基因抗虫水稻, 其非靶标植食性害虫包括稻飞虱、稻叶蝉、稻蓟马、稻瘿蚊等田间害虫以及麦蛾、谷蠹等仓储害虫。

(1)稻飞虱: 包括褐飞虱、白背飞虱等种类, 是我国水稻最主要的害虫, 为抗虫转基因水稻非靶标影响的关注重点。室内转基因水稻上的饲养实验结果表明, 抗虫转基因水稻对褐飞虱的取食选择性(Bernal等2002; 傅强等2003)、产卵选择性(傅强等2003)、若虫发育和存活率(Bernal等2002; Chen等2011)、药剂敏感性(李兆亮等2011)均没有明显影响; 亦有报道发现Bt稻不利于褐飞虱的取食(陈茂等2004), 或对若虫发育质量(傅强等2003; Chen等2012)、产卵(Chen等2012)有一定抑制作用。抗虫转基因水稻对白背飞虱的若虫发育速率(傅强等2003)、产卵量和卵孵化率(傅强等2003; 谭红等2006)等均无明显影响, 也有报道发现*Bt*稻对白背飞虱的若虫发育速率(谭红等2006)或发育质量(傅强等2003)不利。

大量的田间种群动态调查亦发现, 抗虫转基因水稻田间稻飞虱的优势种组成、发生动态和发生数量与非转基因对照水稻无显著差异, 或数量有所降低(傅强等2003; Chen等2006b, 2007; 刘雨芳等2007; 陈洋等2011; 隋贺等2011), 与室内研究结果一致。但亦有少数研究报道结果不同, 刘志诚等(2002)报道转*cry1Ab/cry1Ac*基因水稻TT9-3移栽后早中期白背飞虱若虫的田间数量显著高于对照; Wang等(2010)则发现转*cry1Ab/cry1Ac*基因水稻Bt ‘汕优63’田间后期褐飞虱虫量显著较高, 其中前者没有在Chen等(2006a)对TT9-3的两年三地田间系统研究中证实, 应是田间实验的一种偶发现象; 后者则可能是间接效应所致, 非转基因对照田受靶标害虫的严重为害时, 田间长势差, 不利于褐飞虱发生, 进而导致其发生量低于Bt ‘汕优63’。笔者曾观察到不防治水稻田褐飞虱和白背飞虱的发生量显著低于前期防治的稻田(待发表资料), 类似的

现象在转基因棉花田间非靶标害虫的研究中亦有报道(Fitt和Daly 1994)。

(2)稻叶蝉: 我国南方地区水稻常见害虫。周霞等(2005)报道, 室内观察结果显示, 转基因水稻KMD1、KMD2植株上黑尾叶蝉的产卵量、净生殖率均显著高于对照‘秀水11’; 田间调查亦发现KMD2上黑尾叶蝉种群数量高于‘秀水11’。刘志诚等(2002)报道转*cry1Ab/cry1Ac*基因水稻TT9-3移栽后中后期田间黑尾叶蝉若虫密度显著高于对照IR72。但刘志诚等(2002)同时发现TT9-3田间黑尾叶蝉成虫的虫口密度与IR72无显著差异, 转*cry-1Ab/cry1Ac*基因TT9-4上的黑尾叶蝉成虫与若虫数量均与IR72无显著差异; Chen等(2006a)则通过两年三地调查进一步研究发现TT9-3田间叶蝉的优势种组成及发生动态与对照水稻无显著差异。刘雨芳等(2007)对转*cry1Ab+sck*基因水稻恢复系MSA、MSB、MSA4及杂交稻21S/MSB、II-32A/MSB与KF6-304的研究则发现, 21S/MSB、II-32A/MSB 上的叶蝉数量显著或极显著高于其对照, 但叶蝉数量很低(<35头·百丛$^{-1}$), 单种叶蝉的种群数量则更低, 且MSA、MSB、MSA4与KF6-304 没有引起稻田叶蝉数量的明显变化。

(3)稻蓟马: 水稻苗期的常见害虫。转基因水稻KMD1、KMD2、B1、B6及TT9-3、TT9-4对稻蓟马的发育、寿命和产卵有一定的负面影响, 且田间虫口数量相对较低, 不利于稻蓟马的发生(Akhtar等2010), 但亦有报道发现KMD2田间稻蓟马的发生较重(唐健等2000)。

(4)稻瘿蚊: 我国南方部分稻区主要水稻害虫。刘雨芳等(2007)报道, MSA、MSB在成熟收割前有增加无效分蘖上稻瘿蚊引起的葱管数的态势, 但在水稻生长中期对稻瘿蚊有一定的抗性, 能减少葱管的形成, 降低标葱率, 认为转基因水稻上田间稻瘿蚊灾变的风险较少。

(5)仓储害虫: 为害稻谷或稻米的害虫有多种。研究发现, 克螟稻、Bt ‘汕优63’稻谷对麦蛾(蔡万伦等2006; 李光涛等2008)、印度谷螟(蒋海燕等2011)等鳞翅目害虫有明显抑制作用, 但对赤拟谷盗、谷蠹、嗜卷书虱等其他目储粮害虫无明显影响(蔡万伦等2006, 2008)。

总上所述, 多数研究结果表明转*Bt*或*Bt+CpTI*基因水稻对褐飞虱、白背飞虱、稻蓟马等非靶标害虫的生长、发育、繁殖、寄主选择行为及田间虫口数量均无显著影响或有一定的抑制作用, 引起非靶标害虫灾变的风险极小。少数研究发现转基因水稻可能有利于非靶标植食性害虫的发生, 其中部分结果可能是田间害虫分布不均所致; 而Bt ‘汕优63’田间后期褐飞虱虫量显著较高(Wang等2010), 则可能源于靶标害虫为害造成的间接效应, 可通过常规防治方法实现Bt稻褐飞虱的防治, 其灾变风险易于得到控制。此外, 尽管KMD1、KMD2似有利于黑尾叶蝉的发生(周霞等2005), 但因稻田叶蝉虫口数量较低, 一般可以在稻飞虱防治时得到兼治, 其灾变风险亦较小。

3.2 对非靶标的害虫天敌的影响

害虫天敌包括捕食性天敌和寄生性天敌两大类, 以往研究主要包括对这两类天敌的多样性及代表性种类的研究。

3.2.1 捕食性天敌 捕食性天敌是稻田害虫的主要控制因子之一, 在抗虫转基因水稻非靶标天敌安全性评价中备受关注。

关注的第一个问题是天敌能否接触到转基因水稻的杀虫蛋白? 据姜永厚等(2004a)的研究, 取食KMD1的二化螟、稻眼蝶、褐飞虱、稻蚜及饲喂以KMD1为食的二化螟或稻眼蝶幼虫的拟水狼蛛体内都能检测到Cry1Ab蛋白, 其中, 稻眼蝶体内的含量最高; 以稻眼蝶为食的拟水狼蛛体内Cry-lAb含量是以二化螟为食的狼蛛的约60倍。Chen等(2009)亦发现取食KMD1、KMD2的稻纵卷叶螟及以此为食的拟水狼蛛体内均能检测到Cry1Ab蛋白。此外, 研究发现取食Bt稻上植食性昆虫的黑肩绿盲蝽(Bernal等2002)、尖钩宽黾蝽(白耀宇等2005a)、龟纹瓢虫(Bai等2006)等均能接触到Bt蛋白。显然, 抗虫转基因水稻表达的杀虫蛋白可以在“水稻-植食性害虫-天敌”食物链中传递。然而, Bt蛋白对天敌的直接影响取决于其消化道中是否Bt蛋白受体, 已证实拟水狼蛛的消化道中不存在Cry1Ab蛋白受体(Chen等2009)。

关注的另一个问题是, 抗虫转基因水稻对捕食性天敌的实际影响效应如何? 有不少研究者通过室内生物学观察或田间系统调查开展了研究。总体上, 转基因抗虫水稻KMD1、KMD2、B1和B6

(Li等2007; 刘志诚等2011)、MSA和MSB (刘雨芳等2005)、TT9-3和TT9-4 (刘志诚等2002, 2003; Li等2007)对田间捕食性天敌物种构成、物种丰富度和多样性均无显著影响。各类主要天敌的影响效应研究结果如下:

(1)蜘蛛: 广谱性的稻田主要捕食性天敌。以转基因水稻KMD1、KMD2上靶标害虫——稻纵卷叶螟为猎物, 拟水狼蛛体的发育历期有所延长, 但存活率、产卵量和田间种群密度均没有明显变化; 其中发育历期的变化可能是因取食转基因水稻的猎物营养质量较差所导致, 而非Cry1Ab蛋白的直接影响(Chen等2009)。以KMD1和TT9-3非靶标害虫——褐飞虱为猎物, 食虫沟瘤蛛的存活率、发育历期、繁殖力均与对照无显著差异, 且两地三年的田间种群数量调查亦未见与对照有显著差异(Tian等2010)。在KMD1、KMD2田间采集的拟环纹豹蛛的免疫学指标与对照田采集的无显著差异(田俊策等2011)。

(2)黑肩绿盲蝽: 稻飞虱的重要捕食性天敌。Bernal等(2002)对转*cry1Ab*基因水稻Chinsurah Boro II、Zhong 8215和Tarom Molaii及转*cry1Ab/cry1Ac*基因水稻Bt-IR72的研究表明, 以Bt稻上的褐飞虱为猎物, 黑肩绿盲蝽的存活与发育均无显著差异。Chen等(2007)亦通过两年三地的田间观察, 发现KMD1田间的黑肩绿盲蝽的数量与对照无显著差异。

(3)其他: 饲喂KMD1和KMD2上的植食性害虫或花粉, 对尖钩宽黾蝽的捕食量和功能反应(白耀宇等2005a)、龟纹瓢虫的生长发育繁殖和活动能力(Bai等2005, 2006)及中华草蛉的成虫寿命和繁殖力(白耀宇等2005b)均无显著影响。

3.2.2 寄生性天敌 寄生性天敌是稻田害虫的又一主要控制因子。与食性较广的捕食性天敌不同, 多数寄生性天敌寄主单一。显然, 对于以转基因水稻靶标害虫为主要寄主的寄生性天敌, 势必因转基因水稻杀死了靶标害虫而受到负面影响; 此外, 即使靶标害虫没有死亡, 但其生长发育可能受到抑制, 进而影响寄生性天敌。如, 以KMD1、MSB饲喂处理的二化螟幼虫为寄主, 尽管二化螟绒茧蜂的茧块大小、羽化率、性比、成蜂寿命等均无显著差异, 但其寄生率均降低(姜永厚等2004b, 2005)。田间系统调查进一步证实这种负面影响, KMD对田间靶标害虫寄生蜂(尤其茧蜂)数量具一定负面影响(田俊策等2008), TT9-3和TT9- 4田间寄生靶标害虫的茧蜂或姬蜂科的优势度有时明显低于对照(刘志诚等2003), MSA、MSB、MSA4和KF6-304水稻生长中期寄生蜂数量有所减少(刘雨芳等2006)。

同时, 稻田中还存在大量非靶标害虫的寄生性天敌或寄主范围较广的寄生性天敌。田间系统调查结果表明, KMD1和KMD2田间非靶标害虫——稻飞虱卵的被寄生率和死亡率无显著影响(高明清等2011)。总体上, KMD1和KMD2田间寄生性天敌的各科组成、物种丰富度和多样性指数与对照稻田无显著差异(田俊策等2008; 刘志诚等2011), MSA、MSB、MSA4和KF6-304对田间寄生蜂亚群落的物种丰富度、多样性指数没有显著影响(刘雨芳等2006)。

从上述研究看出, 抗虫转基因水稻对靶标害虫的寄生性天敌有明显负面效应, 鉴于靶标害虫可由转基因水稻控制, 其寄生性天敌的减少对其有效控制的影响不大; 转基因水稻对捕食性天敌的影响小, 其生态风险几乎可以忽略不计。

3.3 对土壤和土表中性类生物的影响

Bt作物表达的Bt蛋白可以通过植株残体、根及根系分泌物、花粉等途径进入土壤(袁一杨和戈峰2010; 周学永等2011)。对转基因水稻的研究发现, KMD1、KMD2稻草在自然条件下历经160 d仍含Cry1Ab蛋白(白耀宇等2006); 而掺入土壤的Cry-1Ab蛋白在好气条件和灌水条件下的降解半衰期分别为19.6~41.3 d和45.9~141 d (Wang等2007), 这些研究说明Cry1Ab蛋白可以在土壤中残留较长时间。土壤中残留的蛋白或遗留土表的转基因残株是否对土壤或土表生物产生潜在影响? 在抗虫转基因水稻非靶标生态安全性评价中颇受关注, 主要见于土表弹尾虫、土壤细菌等非靶标生物的研究。

(1)稻田弹尾虫: 种类和个体数量都较丰富, 作为分解者在参与土壤物质循环、提高土壤肥力、改善土壤理化特性、维护土壤生物群落等方面有重要作用(袁一杨和戈峰2010); 还可为尖钩宽黾蝽等稻田天敌捕食(白耀宇等2005a), 是稻田“水稻-植

食性昆虫-天敌”食物链的重要一环。研究表明, 以KMD1、KMD2腐烂茎叶为食的弹尾虫体内可检测到Cry1Ab蛋白(白耀宇等2005a), KMD1、KMD2稻田灰橄榄长角跳虫等弹尾虫的种群数量显著高于对照稻田(白耀宇等2005a, 2006), 进一步的两地三年观察发现这2种Bt稻收割后, 田间弹尾虫的种类构成和物种丰富度与对照田无明显差异(Bai等2010)。但是, ‘华恢1号’土壤优势弹尾虫属长角跳属和原等属的田间数量与对照水稻差异显著, 只是该结果系一年的数据(吴刚等2012), 尚需进一步研究确定。

(2)土壤微生物: 土壤微生物群落是土壤中的活性组分, 是土壤分解系统的主导者, 对营养物质的循环和土壤性质起到至关重要的作用, 因此研究转基因作物对土壤微生物的影响是转基因作物生态安全性评价的重要组成部分(王北艳和殷奎德2012)。研究发现, Bt稻对土壤中好氧性细菌、放线菌、真菌的数量和土壤蛋白酶、中性磷酸酶、脲酶和土壤呼吸强度(吴伟祥等2003b)及土壤蔗糖酶、芳香硫酸酯酶和脱氢酶活性(Sun等2003)、土壤微生物的生物量氮(李修强等2012a)等均没有显著影响, 对淹水条件下土壤磷酸酶活性的影响亦较小(吴伟祥等2003a)。KMD1连续2年种植对根际微生物构成及酶活性均无显著影响(Liu等2008); KMD1和KMD2根际可培养细菌群落的优势度指数、多样性指数和均匀度指数均与对照无显著差异(杨保军等2009)。

然而, 转基因水稻亦对土壤微生物的部分指标有显著影响。如: Bt稻土壤脲酶活性显著下降、土壤酸性磷酸酶活性显著提高(Sun等2003), 土壤反硝化细菌和产甲烷细菌种群受到显著抑制、厌氧发酵细菌种群则显著增加(徐晓宇等2004), 根际土壤优势菌群改变(陈敏等2005), 根际葡萄球菌属、棒杆菌属和壤霉菌属数量显著较高, 而束毛球菌属数量则显著较低(杨保军等2009)。

此外, 转基因水稻对一些土壤微生物指标的影响常表现出阶段性特点。如, 在添加KMD秸秆的土壤中, 仅前期土壤脱氢酶活性明显较高, 而后期这种差异逐渐消失(吴伟祥等2003b); 含KMD的淹水土壤中, 可培养厌氧细菌的数量和群落组成仅在初期有显著差异, 而后期这种差异消失(任馨等2004); KMD、‘华恢1号’和Bt ‘汕优63’对土壤微生物生物量碳、基础呼吸和微生物代谢熵的影响在大田种植第1年的部分时段有显著影响, 第2年这种影响不明显(李修强等2012a)。

(3)其他: 除上述土壤生物外, 线虫、螨类亦是稻田土壤或土表较重要的生物。吴刚等(2012)在‘华恢1号’田间观察到20个线虫属及11个螨类属的分布, 除中杆属线虫、尖棱甲螨属螨虫的种群数量显著降低, 钩唇属线虫种群数量显著增加外, 其他多数属的线虫和螨虫的种群数量与对照无显著差异。李修强等(2012b)则研究了Bt ‘汕优63’田间土壤线虫, 发现除个别时间段多样性指数差异显著外, 总体上土壤线虫的数量、群落组成与对照无显著差异。

总体上, 抗虫转基因水稻对土壤或土表中性生物的影响不大, 少部分指标虽然前期有显著影响, 但随时间延长而影响不显著。还有少部分指标的差异一直较明显, 其对土壤生物生态平衡及土壤功能的潜在影响还需进一步研究。

3.4 非靶标经济昆虫的影响

抗虫转基因水稻表达的Bt蛋白一般对鳞翅目害虫有毒, 其对稻区鳞翅目经济昆虫的影响颇受关注。家蚕是一种重要的经济昆虫, 在我国桑蚕主产区(如浙江、江苏), 水稻和桑林常常相邻种植, 抗虫转基因水稻花粉是否有可能飘落到临近的桑叶上, 进而对家蚕饲养造成潜在影响?

对浙江杭州桑稻混种地区水稻花粉向桑叶飘落情况的研究发现, 在稻田附近(<10 m)范围内约54.5%的桑叶可检测到水稻花粉, 其平均花粉密度为92.9粒·cm^{-2} (樊龙江等2003)。室内生测实验结果表明, 饲喂附着(109.1±50.6)粒·cm^{-2}的Bt稻(KMD3与‘浙辐504’的杂交后代BC3F5)花粉的桑叶, 对家蚕1~3龄幼虫的存活率与体重均无显著影响(王忠华等2001)。但不同家蚕品系对Bt稻花粉的敏感性有所不同, 饲喂每克含0.05 g B1稻花粉的饲料, 除对夏秋蚕杂交种——‘丰一’×54A无显著影响外, 对其亲本‘丰一’、54A及春蚕杂交种‘青松’×‘皓月’及亲本‘青松’、‘皓月’均有显著影响(袁志东等2006)。

Yao等(2006)进一步发现紧邻转基因水稻TT9-3的桑叶花粉飘落密度平均为62.3粒·cm^{-2}, 最

高花粉飘落1 636粒·cm^{-2}, 分别相当于对家蚕急性毒性的LC2.5和LC22剂量, 其中高密度花粉飘落量的发生概率仅0.002, 且均发生于距离盛花期水稻0.5 m范围内; 相距10 m的桑叶花粉飘落量降低到4.0粒·cm^{-2}; 饲喂实验发现, 自然飘落TT9-3花粉的桑叶对家蚕幼虫的存活和生长发育均无显著影响。Yao等(2008)还报道, 尽管饲喂附着LC15剂量的B1和KMD1花粉的桑叶对家蚕幼虫存活、发育、中肠有明显的负作用, 但考虑到高密度花粉飘落概率小, 且饲喂前的桑叶清理措施还能减少花粉附着量, 因此自然条件下达到LC15剂量的概率极小, 花粉飘落对家蚕的生态风险可以忽略不计。

4 结语

全球转基因作物商业化种植的面积, 已从1996年的170万平方公顷增加到了2012年的17 030万平方公顷, 17年间增长了100倍, 是近代史上推广速度最快的作物技术(James 2012), 充分显示了转基因作物强大的生命力。转基因水稻的商业化种植进展缓慢, 迄今, 仅耐除草剂转基因水稻在美国开始商业化种植, 抗虫转基因水稻曾在伊朗实现小规模商业化种植。我国尽管于2009年给‘华恢1号’和Bt ‘汕优63’颁发了生物安全证书, 但至今尚未开始商业化生产。

与任何一项新技术的问世和应用一样, 抗虫转基因水稻在控制水稻重要害虫, 带来巨大经济和社会效益的同时, 也可能存在一些潜在的风险, 需要进行认真的科学研究和评价, 对可能发生的危害采取有效的应对措施, 尽量避免和降低可能的风险, 使转基因水稻商业化应用的利益最大化。但是, 如果以未经证实的、可能存在的风险为由而完全否定甚至摒弃该项技术及其产品, 不是科学和务实的态度(卢宝荣等2008)。

如前所述, 迄今对抗虫转基因水稻非靶标生物安全性研究已积累了十多年的数据和技术。大量研究表明抗虫转基因水稻引起非靶标植食性害虫灾变、害虫天敌控制力减弱及土壤生物生态失衡的潜在风险较小。在当前水稻生产中, 因缺少有效抗虫的常规水稻品种, 水稻害虫的控制主要依靠化学防治。就对稻田非靶标生物的结构、多样性和优势度的影响而言, 抗虫转基因水稻的影响明显小于化学防治(刘志诚等2004)。同时, 种植抗虫转基因水稻还可大幅降低化学杀虫剂的施用量, 有利于稻田生态系统中非靶标生物的生存, 并减少对农田生态环境的化学污染和稻米的农药残留。

当然, 抗虫转基因水稻尚未实现商业化, 目前关于其对非靶标生物影响的研究仅限于部分转基因水稻, 且一般规模不大, 时间不长(通常不超过3年)。随着转基因水稻类型的增加, 还需进一步按照个案原则开展对新的转基因水稻非靶标生态安全性的研究; 同时, 一旦抗虫转基因水稻获准大规模商业化种植, 还需进一步监测其对非靶标生物的长期生态影响, 为抗虫转基因水稻的安全和可持续利用保驾护航。

参考文献

白耀宇, 蒋明星, 程家安(2005a). 转*Bt*基因水稻对两种弹尾虫及尖钩宽龟蝽捕食作用的影响. 昆虫学报, 48: 42~47

白耀宇, 蒋明星, 程家安(2005b). 转Bt *cry1Ab*基因水稻花粉对中华草蛉成虫产卵和寿命的影响. 植物保护学报, 32: 225~230

白耀宇, 蒋明星, 程家安, 王敦(2006). 转*cry1Ab*基因水稻对稻田弹尾虫种群数量的影响. 应用生态学报, 17: 903~906

蔡万伦, 石尚柏, 杨长举, 彭于发, 全明刚(2006). 转*Bt*基因水稻稻谷对几种主要储粮害虫的影响. 生物技术通报, 22: 268~271

蔡万伦, 张宏宇, 杨杉, 杨长举, 华红霞, 彭于发(2008). 转*Bt*基因水稻稻谷对赤拟谷盗生长发育的影响. 植物保护学报, 35: 471~472

陈茂, 叶恭银, 姚洪渭, 胡萃, 舒庆尧(2004). 抗虫转基因水稻对非靶标害虫褐飞虱取食与产卵行为影响的评价. 中国农业科学, 37: 222~226

陈敏, 应文荷(2005). 转*Bt*水稻与常规水稻根际土壤细菌类群的比较研究. 杭州师范学院学报(自然科学版), 4: 290~292

陈洋, 田俊策, 彭于发, 郭予元, 叶恭银(2011). 转*cry1Ab/vip3H*基因水稻对非靶标害虫褐飞虱连续多代生长发育与繁殖的影响. 中国生物防治学报, 27: 490~497

樊龙江, 吴月友, 庞洪泉, 吴建国, 舒庆尧, 徐孟奎, 陆剑飞(2003). 转基因*Bt*水稻花粉在桑叶上的自然飘落浓度. 生态学报, 23: 202~209

傅强, 王锋, 李东虎, 姚青, 赖凤香, 张志涛(2003). 转基因抗虫水稻MSA和MSB对非靶标害虫褐飞虱和白背飞虱的影响. 昆虫学报, 46: 697~704

高明清, 侯守鹏, 蒲德强, 时敏, 叶恭银, 彭于发, 陈学新(2011). 田间转*Bt*基因水稻上稻飞虱卵量、孵化率及天敌作用. 昆虫学报, 54: 467~476

郭玉杰, 王念英, 蒋金炜, 陈俊炜, 唐健(1995). 中性昆虫在稻田节肢动物群落中作为捕食者营养桥梁作用的研究. 中国生物防治, 11: 5~9

姜永厚, 傅强, 程家安, 叶恭银, 白耀羽, 张志涛(2004b). 转*Bt*基因水稻对二化螟绒茧蜂生物学特性的影响. 昆虫学报, 47: 124~129

姜永厚, 傅强, 程家安, 祝增荣, 蒋明星, 叶恭银, 张志涛(2004a). 转*Bt*基因水稻表达的毒蛋白Cry1Ab在害虫及其捕食者体内的

积累动态. 昆虫学报, 47: 454~460
姜永厚, 傅强, 程家安, 祝增荣, 蒋明星, 张志涛(2005). 转*sck+cry1Ac*基因水稻对二化螟及二化螟绒茧蜂存活和生长发育的影响. 昆虫学报, 48: 554~560
蒋海燕, 王振华, 华红霞, 高艮亮, 蔡万伦, 杨长举(2011). 转*Bt*基因稻谷对印度谷螟生长发育的影响. 应用昆虫学报, 48: 1722~1727
李光涛, 曹阳, 叶恭银, 刘贯力, 何康来(2008). 转*Bt*基因抗虫稻谷对麦蛾的抗性评价. 植物保护学报, 35: 205~208
李修强, 陈法军, 刘满强, 陈小云, 胡锋(2012b). 转基因水稻Bt '汕优63'种植两年对土壤线虫群落的影响. 应用生态学报, 23: 3065~3071
李修强, 陈法军, 刘满强, 胡锋(2012a). 转*Bt*水稻对土壤可溶性有机碳氮及微生物学性质的影响. 应用生态学报, 23: 96~102
李兆亮, 姚洪渭, 陈洋, 田俊策, 彭于发, 叶恭银(2011). 取食转*Bt*基因水稻褐飞虱对杀虫剂的敏感性及其代谢酶的活性. 中国生物防治学报, 27: 55~62
刘雨芳, 贺玲, 汪琼, 胡斯琴, 刘文海, 陈康贵(2007). 转 *cry1Ac/sck*基因抗虫水稻对稻田主要非靶标害虫的田间影响评价. 中国农业科学, 40: 1181~1189
刘雨芳, 贺玲, 汪琼, 胡斯琴, 刘文海, 陈康贵, 尤民生(2006). 转*cry1Ac/sck*基因抗虫水稻对稻田寄生蜂群落影响的评价. 昆虫学报, 49: 955~962
刘雨芳, 尤民生, 汪琼, 胡斯琴, 刘文海, 赵士熙(2005). 转*cry1Ac/sck*基因抗虫水稻对稻田捕食性节肢动物群落的影响及生态安全评价. 见: 成卓敏主编. 农业生物灾害预防与控制研究. 北京: 中国农业科学技术出版社, 24~31
刘志诚, 陈洋, 田俊策, 卢增斌, 舒庆尧, 胡萃, 彭于发, 叶恭银(2011). 转*cry1Ab*基因粳稻对稻田节肢动物群落的影响. 生物安全学报, 20: 69~76
刘志诚, 叶恭银, 胡萃(2004). 抗虫转基因水稻和化学杀虫剂对稻田节肢动物群落的影响. 应用生态学报, 15: 2309~2314
刘志诚, 叶恭银, 胡萃, Datta SK (2002). *Bt*水稻对主要非靶标害虫和蜘蛛优势种田间种群动态的影响. 植物保护学报, 29: 138~144
刘志诚, 叶恭银, 胡萃, Datta SK (2003). 转*cry1Ab/cry1Ac*基因籼稻对稻田节肢动物群落影响. 昆虫学报, 46: 454~465
卢宝荣, 傅强, 沈志成(2008). 我国转基因水稻商品化应用的潜在环境生物安全问题. 生物多样性, 16: 426~436
任馨, 吴伟祥, 叶庆富, 陈英旭, Thies JE (2004). 转*Bt*基因克螟稻秸秆对淹水土壤细菌群落的影响. 环境科学学报, 24: 871~878
盛承发, 王红托, 高留德, 宣维健(2003). 我国水稻螟虫大发生现状、损失估计及防治对策. 植物保护, 29: 37~39
隋贺, 李志毅, 徐艳博, 韩超, 韩兰芝, 陈法军(2011). 广西兴安转*Bt*水稻大田两迁害虫发生动态. 应用生态学报, 22: 3021~3025
谭红, 叶恭银, 沈君辉, 彭于发, 胡萃(2006). 转*cry1Ab*基因抗虫籼稻对非靶标害虫白背飞虱发育与繁殖的影响. 植物保护学报, 33: 251~256
唐健, 杨保军, 蒋跃南, 叶恭银, 舒庆尧(2000). 稻蓟马危害转*Bt*基因水稻克螟稻2号研究初报. 中国水稻科学, 14: 241~242
唐克轩, 万丙良, 孙小芬(2001). 生物鉴定和喂养试验证明GNA赋予转基因水稻纯系对褐飞虱的抗性. 复旦学报(自然科学版), 40: 108~116
田俊策, 陈洋, 李兆亮, 彭于发, 叶恭银(2011). 转*cry1Ab*基因水稻和两种杀虫剂对非靶标天敌拟环纹豹蛛免疫影响的评价. 中国生物防治学报, 27: 559~563
田俊策, 刘志诚, 姚洪渭, 叶恭银, 彭予发(2008). 转*cry1Ab*基因水稻田寄生蜂亚群落结构及其优势类群数量动态的研究. 环境昆虫学报, 30: 1~7
王北艳, 殷奎德(2012). 转*Bt* 抗虫基因水稻生物安全性探讨. 江苏农业科学, 40: 271~273
王园园, 李云河, 陈秀萍, 武红巾, 彭于发(2011). 抗虫转基因植物对非靶标节肢动物生态影响的研究进展. 生物安全学报, 20: 100~107
王忠华, 倪新强, 徐孟奎, 舒庆尧, 夏英武(2001). *Bt*水稻"克螟稻"花粉对家蚕生长发育的影响. 遗传, 23: 463~466
王忠华, 舒庆尧, 崔海瑞, 徐孟奎, 谢小波, 夏英武(2002). *Bt*转基因水稻米粉对家蚕生长发育及中肠亚显微结构的影响. 中国农业科学, 35: 714~718
吴刚, 李俊生, 肖能文, 戈峰, 刘向东(2012). 转*Bt*基因水稻对土壤跳虫、线虫和螨类种群数量的影响, 湖北植保, (5): 6~9, 11
吴伟祥, 叶庆富, 闵航(2003a). 不同生长期转*Bt*基因水稻秸杆还土对淹水土壤酶活性的影响. 生态学报, 23: 2353~2358
吴伟祥, 叶庆富, 闵航, 陈华儿(2003b). 克螟稻秸秆*cry1Ab*基因表达产物对土壤生物学活性的影响. 土壤学报, 40: 606~612
徐晓宇, 叶庆富, 吴伟祥, 闵航(2004). 转*Bt*基因克螟稻秸秆还田对稻田厌氧微生物种群和酶活性的影响. 植物营养与肥料学报, 10: 63~67
杨保军, 唐健, 江云珠, 彭于发(2009). 转*crylAb*基因克螟稻对根际可培养细菌类群的影响. 生态学报, 29: 3036~3043
杨虹, 李家新, 郭三堆, 陈学军, 范云六(1989). 苏云金芽孢杆菌δ-内毒素基因导入水稻原生质体后获得转基因植株. 中国农业科学, 22: 1~5
叶恭银, 陈洋, 田俊策, 彭于发(2011). 转*Bt*基因抗虫作物对非靶标生物的影响. 植物保护, 37 (6): 1~10
袁一杨, 戈峰(2010). 转*Bt*基因作物对非靶标土壤动物的影响. 应用生态学报, 21: 1339~1345
袁志东, 姚洪渭, 叶恭银, 胡萃(2006). 转*Bt*基因水稻花粉对家蚕不同品种幼虫的生存分析. 蚕桑通报, 37: 23~27
章秀福, 王丹英, 方福平, 曾衍坤, 廖西元(2005). 中国粮食安全和水稻生产. 农业现代化研究, 26: 85~88
周霞, 程家安, 胡阳, 娄永根(2005). 转*Bt*基因水稻克螟稻对黑尾叶蝉种群增长的影响. 中国水稻科学, 19: 74~78
周学永, 刘宁, 赵曼, 李河, 周浪, 唐宗文, 曹斐, 李巍(2011). 转*Bt*基因作物释放杀虫晶体蛋白对土壤生态安全的影响. 遗传, 33: 443~448
左示敏, 张平, 祝树德, 陈宗祥, 田文忠, 朱祯, 潘学彪(2004). 水稻转*GNA*基因后代对褐飞虱的抗性研究. 作物学报, 30: 371~375
Akhtar ZR, Tian JC, Chen Y, Fang Q, Hu C, Chen M, Peng YF, Ye GY (2010). Impacts of six *Bt* rice lines on nontarget rice feeding thrips under laboratory and field conditions. Environ Entomol, 39: 715~726
Bai YY, Jiang MX, Cheng JA (2005). Effects of transgenic *cry1Ab* rice pollen on fitness of *Propylea japonica* (Thunberg). J Pest Sci, 78: 123~128
Bai YY, Jiang MX, Cheng JA, Wang D (2006). Effects of Cry1Ab toxin on *Propylea japonica* (Thunberg) (Coleoptera: Coccinellidae) through its prey, *Nilaparvata lugens* Stål (Homoptera:

Delphacidae), feeding on transgenic Bt rice. Environ Entomol, 35: 1130~1136

Bai YY, Yan RH, Ye GY, Huang FN, Cheng JA (2010). Effects of transgenic rice expressing *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab protein on ground-dwelling Collembolan community in postharvest seasons. Environ Entomol, 39: 243~251

Bernal CC, Aguda RM, Cohen MB (2002). Effect of rice lines transformed with Bacillus thuringiensis toxin genes on the brown planthopper and its predator *Cyrtorhinus lividipennis*. Entomol Exp Appl, 102: 21~28

Chen H, Lin YJ, Zhang QF (2009). Review and prospect of transgenic rice research. Chin Sci Bull, 54: 4049~4068

Chen M, Liu ZC, Ye GY, Shen ZC, Hu C, Peng YF, Altosaar I, Shelton AM (2007). Impacts of transgenic *cry1Ab* rice on non-target planthoppers and their main predator *Cyrtorhinus lividipennis* (Hemiptera: Miridae) – a case study of the compatibility of Bt rice with biological control. Biol Control, 42: 242~250

Chen M, Shelton A, Ye GY (2011). Insect-resistant genetically modified rice in China: from research to commercialization. Annu Rev Entomol, 56: 81~101

Chen M, Ye GY, Liu ZC, Fang G, Hu C, Peng YF, Shelton AM (2009). Analysis of *Cry1Ab* toxin bioaccumulation in a food chain of Bt rice, an herbivore and a predator. Ecotoxicology, 18: 230~238

Chen M, Ye GY, Liu ZC, Yao HW, Chen XX, Shen ZC, Hu C, Datta SK (2006a). Field assessment of the effects of transgenic rice expressing a fused gene of *cry1Ab* and *cry1Ac* from *Bacillus thuringiensis* Berliner on non-target planthoppers and leafhoppers. Environ Entomol, 35: 127~134

Chen M, Zhao JZ, Ye GY, Fu Q, Shelton AM (2006b). Impact of insect-resistant transgenic rice on target insect pests and non-target arthropods in China. Insect Sci, 13: 409~420

Chen Y, Tian JC, Shen ZC, Peng YF, Hu C, Guo YY, Ye GY (2010). Transgenic rice plants expressing a fusedprotein of Cry1Ab/Vip3H has resistance to rice stem borersunder laboratory and field conditions. J Econ Entomol, 103: 1444~1453

Chen Y, Tian JC, Wang W, Fang Q, Akhtar ZR, Peng YF, Hu C, Guo YY, Song QS, Ye GY (2012). Bt rice expressing Cry1Ab does not stimulate an outbreak of its non-target herbivore, *Nilaparvata lugens*. Transgenic Res, 21: 279~291

Fitt GP, Daly JC (1994). Field evaluation and potential ecological impact of transgenic cotton (*Gosspium hirsutum*) in Australia. Biocontrol Sci Tech, 4: 535~548

James C (2012). Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2012. Brief No. 44, New York: ISAAA

Li FF, Ye GY, Wu Q, Peng YF, Chen XX (2007). Arthropod abundance and diversity in *Bt* and non-*Bt* rice fields. Environ Entomol, 36: 646~654

Lin YJ, Yang Z, Chen H, Tang W, Hua HX (2011). Development and characterisation of transgenic rice expressing two *Bacillus thuringiensis* genes. Pest Manag Sci, 67: 414~422

Liu W, Lu HH, Wu WX, Wei QK, Chen YX, Thies JE (2008). Transgenic Bt rice does not affect enzyme activities and microbial composition in the rhizosphere during crop development. Soil Biol Biochem, 40: 475~486

Milofsky TS (2006). Environmental risk assessment process for Bt crops. In: U.S.-China Agricultural Biotechnology Exchange Workshop II: Environmental Risk Assessment. Sponsored by U.S. Trade and Development Agency. Beijing, China. 21~25

Romeis J, Bartsch D, Bigler F, Candolfi MP, Gielkens MMC, Hartley SE, Hellmich RL, Huesing JE, Jepson PC, Layton R et al (2008). Assessment of risk of insect-resistant transgenic crops to nontarget arthropods. Nat Biotechnol, 26: 203~208

Romeis J, Meissle M, Bigler F (2006). Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. Nat Biotechnol, 24: 63~71

Sun CX, Chen LJ, Wu ZJ, Zhang YL, Zhang L (2003). Effect of transgenic Bt rice planting on soik enzyme activities. J Appl Ecol, 14 (12): 2261~2264

Tian JC, Liu ZC, Chen M, Chen Y, Chen XX, Peng YF, Hu C, Ye GY (2010). Laboratory and field assessments of prey-mediated effects of transgenic *Bt* rice on *Ummeliata insecticeps* (Araneida: Linyphiidae). Environ Entomol, 39: 1369~1377

Touart LW, Maciorowski AF (1997). Information needs for pesticide registration in the United States. Ecol Appl, 7 (4): 1086~1093

Wang HY, Ye QF, Gan J, Wu LC (2007). Biodegradation of Cry1Ab protein from *Bt* transgenic rice in aerobic and flooded paddy soils. J Agric Food Chem, 55: 1900~1904

Wang YM, Zhang GA, Du JP, Liu B, Wang MC (2010). Influence of transgenic hybrid rice expressing a fused gene derived from *cry1Ab* and *cry1Ac* on primary insect pests and rice yield. Crop Prot, 29: 128~133

Yang Z, Chen H, Tang W, Hua HX, Lin YJ (2011). Development and characterisation of transgenic rice expressing two *Bacillus thuringiensis* genes. Pest Manag Sci, 67: 414~422

Yao HW, Jiang CY, Ye GY, Hu C, Peng YF (2008). Toxicological assessment of pollen from different *Bt* rice lines on *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombyxidae). Environ Entomol, 37: 825~837

Yao HW, Ye GY, Jiang CY, Fan LJ, Datta K, Hu C, Datta SK (2006). Effect of the pollen of transgenic rice line, TT9-3 with a fused *cry1Ab/1AC* gene from *Bacillus thuringiensis* Berliner on nontarget domestic silkworm, *Bombyx mori* Linnaeus (Lepidoptera: Bombyxidae). Appl Entomol Zool, 41: 339~348