遗传修饰生物体(GMOs)生态风险的监测^{*}

魏 伟 钱迎倩 马克平 桑卫国
(中国科学院植物研究所 , 北京 100093)

摘 要 遗传修饰生物体(GMOs)释放的生态学风险往往要在相当长的时期内才表现出来 ,因而必须对其进行长期监测。监测的内容和方法依对象的不同而有所不同。在短期和长期监测中 ,数学模型具有重要的作用。本文就监测的内容、原则和方法进行了全面的论述。

关键词 遗传修饰生物体(GMOs) ,监测 ,数学模型

Monitoring the ecological risks of genetically modified organisms (GMOs)/WEI Wei , QIAN Ying_Qian , MA Ke_Ping , SANG Wei_Guo

Abstract Long_term monitoring of ecological risks of GMOs , which will emerge during a long period of time after commercialized release , is necessary. The contents and approaches for monitoring are different in terms of various GMOs and release conditions. Mathematical models could play an important role for short or long_term monitoring and for predicting the consequences of GMOs release. The contents , principles and methods for monitoring the ecological risks of GMOs are fully discussed in this paper.

Key words genetically modified organisms (GMOs) , monitoring , mathematical models

Author 's address Institute of Botany , The Chinese Academy of Sciences , Beijing 100093

1 导言

目前 ,各国政府都制定了相应的制度来管理遗传修饰生物体(GMOs)的释放 ,即遗传修饰生物体(GMOs)及其产品上市以前都经过了严格的评审和论证。然而 ,其生态学后果是长期的 ,也就是说 ,即使遗传修饰生物体(GMOs)的短期释放在有效的管理措施的保证下是安全的 ,也不能忽视其长期释放可能带来的生态学风险^[1-5]。1996 年美国南部的 Bt 棉失去对害虫的控制^[6-7] ,1997 年抗除草剂转基因棉花在密西西比河流域大规模种植后发生大量落铃和棉桃畸形现象^[8] ,这些都是现实发生的生态学风险。

对于遗传修饰生物体(GMOs)释放的风险评价的结果及后果必须通过长期的监测才能获得。这种监测的结果能够为其它 GMOs ,尤其是为类似 GMOs 的释放提供有用的信息 ,减少不必要的重复劳动 ,并且监测能够帮助我们避免发生与上一次释放时同样的错误 ,了解那些不可预见的事件。因此 ,必须监测任何一次转基因生物体等遗传修饰生物体(GMOs)的释放。

2 监测的内容

2.1 转基因生物的入侵(invasion)风险

我们可以用外来种入侵的经验来评价转基因生物体对自然生境的入侵风险^[9 ,10]。针对入侵 ,有的学者总结出了一个粗放的 10% ~ 10% 规律 ,适用于所有的动植物 ,即 10% 的外来物种定居成功 ,10% 的定居者成为有害生物。对于转基因生物体的入侵来讲 ,这个规律意味着其大多数不能够定居 ,而大部分的定居者不会产生生态学影响 ,然而很小部分的有害定居者将产生

^{*} 本文为第三届全国生物多样性保护与持续利用研讨会大会报告之一

显著的生态学效应 ,而那些没有成为有害生物的定居者在某些方面或某些地点可能仍然是不利的^[10]。

很多人认为 ,栽培作物的生长要依赖于人类的培育 ,在自然界中不能够独立生存。实际上这是不正确的^[10]。在邻近耕作地的同一地区 ,栽培作物可以生长得很好 ,更不要说获得了优良性状的转基因作物了。已有证据表明 ,Bt 基因提高了转基因甘蓝型油菜在田间的适合度^[11]。导致新物种入侵的主要因素是人为干扰^[9] ,在这种情况下 ,转基因生物体通过杂草策略入侵 ,这种策略增加了转基因生物体在不稳定环境中存留的可能性。

2.2 转基因逃逸(escape)的风险

许多栽培作物都驯化自野生植物 ,在自然界中 ,这些作物都存在自己的野生近缘种^[12-16]。通过转基因作物与其野生近缘种间的基因流动所造成的转基因逃逸是转基因作物释放后可能带来风险的重要方面^[4]。转基因可以通过传粉在空间上逃逸 ,也可以通过种子库在时间上逃逸 ,并通过转基因作物与其野生近缘种的杂交种在自然界中存留。在存留的过程中 ,在适合的条件下 ,转基因作物与其野生近缘种的杂交种可以与其野生亲本不断回交 ,转基因进入野生亲本的遗传背景 ,从而完成了转基因在时空上的逃逸。

目前 ,转入作物的特性(inserted traits)以抗除草剂的为多 ,其次是抗虫和抗病毒 ,最后是抗逆^[17]。当这些转基因逃逸后并逐渐在野生种群中固定下来以后 ,就使得作物的野生近缘种具有了获得选择优势的潜在可能性^[18-20]。如果获得选择优势的野生近缘种本身就是杂草 ,那么就会为该杂草的控制增加很大的困难。也有学者认为 ,转基因在野生种群中的固定将导致野生等位基因的丢失而造成遗传多样性的丧失^[21]。从目前的研究来看 ,转基因在时空上的逃逸不可避免 ,因而需要监测、控制和管理转基因作物与其野生近缘种间的基因流动。

2.3 从抗病毒转基因作物产生新的病毒的风险

含有病毒基因的转基因抗病毒作物所释放的最受关注的一个风险就是转基因有可能会与其它病毒重组 ,从而产生新的、甚至是更为恶劣的病毒。在实验室外和田间条件下 ,已有了转基因与其它病毒基因重组产生新的病毒的例子 ,并且会使非病原病毒转变成病原病毒^[22-27]。

2.4 转基因作物释放对土壤生态系统及生物地球化学循环的影响

转基因作物对土壤生物的影响 ,不仅包括初级基因产品 ,也包括来自生物和非生物反应所产生的次级产品的影响^[28]。土壤中的生物体通过捕食、竞争、对抗或共生而发生相互作用 ,一旦环境由于转基因产品的释放而发生改变 ,一些敏感生物体快速发生反应 ,达到一定程度后 ,其它生物也发生反应 ,从而影响到整个土壤生态系统^[29]。

转基因植物及其产物进入土壤以后 ,可能会与土壤微生物发生相互作用 ,影响到一些微生物的活动过程 ,而微生物对生物地球化学循环有着重要的贡献 ,从而转基因植物对生物地球化学循环产生了重要影响^[30]。转基因植物对生物地球化学循环的影响依赖于土壤类型和质地、气候条件以及转基因植物的种类等因素。

2.5 害虫对转 Bt 抗虫植物的抗性风险

由于转 Bt 基因植物能够持续地高水平表达单一的杀虫毒蛋白 ,因此 Bt 植物对害虫造成的选择压力甚至比 Bt 杀虫剂还要高 ,Bt 植物的释放将会加速害虫的抗性进化。在迄今为止所报道的在田间或实验室条件下对 Bt 杀虫剂产生抗性的 17 种害虫中有很大部分是目前转基因植物的目标害虫^[5]。

2.6 转基因植物产生的杀虫剂对非目标生物的影响的风险

目前已经商品化的抗虫转基因植物就是能够产生 Bt 杀虫蛋白的转基因作物。Bt 杀虫蛋

白对非目标生物影响的潜在风险不容忽视^[31]。

2.7 GMOs 对于人类和其它生物体的致病性

包括 GMOs 导致的疾病的传染性、感染剂量、宿主范围及改变的可能性、在人宿主以外生存的可能性、传播媒介的存在或者传播的方式、生物学稳定性、抗体的抗性模式、毒性、致敏性、非活性 GMOs 以及它们代谢产物的毒性或致敏性影响、代谢产物的危险性^[32]。

还应该监测 GMOs 的释放对受体环境中的任何植物、动物和生态系统,包括关键的、稀有的、濒危的或特有的种、潜在竞争生物体的潜在影响;以及潜在受体环境中任何生物体接受释放生物体基因的潜在可能性,以及它们可能对被释放生物体产生排斥性和耐受性等不良反应的可能情况。

3 GMOs 环境监测

3.1 总则

3.1.1 监测要按照案例逐个进行的原则,不同的 GMOs 以及不同的用途要用不同的方法和程序来满足特殊的监测需求,这些需求与以下几个方面有关:所监测的生物体或其遗传修饰构成、释放的类型、释放地点的特征、对环境潜在的影响等。

3.1.2 必须监测任何一次 GMOs 的释放,环境监测应该贯穿释放过程中和释放结束后,监测所需的时间依赖于 GMOs 的生活周期,以及其所处生境的演替速率,一般为 5~10 年。

3.1.3 监测可以是简单的观测,也可以是全面而细致的研究,但一定要满足监测的要求;监测可以由 GMOs 的使用者或是独立的官方机构、组织和团体来进行,但一定要置于监督机制的管理之下。

3.1.4 有效的监测需要遗传学方法和生态学方法的同时参与;需要遗传标记时,要最先选择最廉价的、易于操作的并且是容易获得的标记,以保证监测能够在足够大的尺度上进行,从而获得可靠的统计重复性。

3.1.5 监测的方法要从以下几个方面进行考虑——灵敏性、可靠性、应用性、实用性、重复性、特异性、所需投资、取样的方便及可能性以及其限制性等;监测的设计要以有关监测对象的知识、释放的环境以及释放方案为基础。

3.1.6 在监测实施项目的过程中或监测项目实施的后效时,要如实记录各项指标的结果,在被要求时要如实上报,并根据需要永久保存记录。在监测过程中,一旦发生了对人类健康或环境意外或有害的影响时,必须及时地采取一切可能的有效措施,并及时地向上级主管部门提供有关信息。

3.2 遗传修饰植物体释放的环境监测的原则和方法

3.2.1 原则

1)遗传修饰植物体的受体植物的生物学特性必须指示着需要进行田间监测,并足以证明所付出的努力和耗费是值得的;

2)在考虑监测的手段和方法时,首先要考虑在特定的条件下,监测某一遗传修饰植物体是否合适;

3)监测的试验设计必须保证所获得的监测数据能够进行统计分析,并且最好向统计学家咨询;

4)试验设计必须能够提供所需的灵敏水平,所能达到的检测灵敏水平必须在一开始就确定;

5)遗传修饰作物释放后,由于某些基因插入可能导致向环境中释放一些蛋白和其它物质,它们可能会对随后种植的作物产生直接或间接的影响,这种影响依赖于插入基因的性质、释放的产物、在环境中的存留以及作物的轮作制度,监测必须要考虑到这一点;

6)检测出转基因植物与其它植物间的基因流并不一定意味着某一基因将在受体种群中固定,或者其环境影响将随后发生。

3.2.2 监测的方法

包括直接观察的方法、用生物学或物理学手段阻断花粉逃逸进行取样和鉴定的方法以及间接研究的方法。在释放前和释放后的监测中,直接观察采取对释放地点采样进行鉴定、记录,或者在必要时移去这种植物或其亲缘种的方法,并且必须考虑这种植物的繁殖生物学特性。用直接观察的方法进行检测所释放植物的明显形态学特征应该是稳定遗传和表达的,并且有别于当地植物和该种作物的野生种群的,这些特征包括形态学标记(种子的颜色和形状、植物及花的形态等)、生理学标记(抗病性、抗啃食性、除草剂耐受性、抗生素抗性),另外还有生物化学标记(二次代谢产物、蛋白、同工酶、抗体)以及分子生物学标记(核DNA、核外DNA、遗传修饰所构建的DNA)。

为了大大减少工作量,监测的对象最好是完美设计的取样而不是对释放地点及其周围的彻底调查。可以在一种转基因作物周围或者邻近种植非转基因作物用来取样并测度花粉的运动。用来测度转基因花粉运动的非转基因植物根据用途的不同可以分为两类:1)与转基因植物完全杂交亲合,并且其开花特性尤其是开花时间和持续时间尽量相同,用来测度花粉的移动距离;2)与转基因植物应是相同属或族中非常近缘的物种,用来确定转基因作物与其近缘种特别是杂草间基因流发生的可能性,在这种情况下,细胞学检查也是用来鉴定潜在杂种的一种方法。

用于捕捉花粉的植物基因型应该在一些特征方面有别于所监测植物,并且这些特征(见前文)是稳定遗传和表达或者是能够检测出的,它们存在于四个水平上:1)形态学、2)生理学、3)生物化学、4)分子水平。

也可以用间接的方法来估计转基因的扩散,这些间接的方法基于这样一种概念,就是种群中基因型的分布可以用来推断基因流潜在的模式。

3.3 遗传修饰动物体释放环境监测的原则和方法

3.3.1 原则

- 1)必须能够标记动物;
- 2)所监测动物需要能够被重捕;
- 3)由于遗传修饰动物体的活动性比较强,监测时应该强调其在意外事故中逃逸的可能性;
- 4)对于昆虫来说,一般应监测其活动性比较强的时期,即成虫阶段,但对拟寄生等,最好监测其幼虫阶段。

3.3.2 方法

监测的方法分为取样、检测遗传修饰动物或其插入基因、确定其生物学或环境影响三个步骤:

取样就是在自然界捕获一定数量的自然种群,用以检测遗传修饰动物体逃逸或修饰基因构成逃逸的情况,诱捕的方法有很多,诱捕昆虫的方法有:光诱捕(适于鞘翅目、半翅目和双翅目的昆虫)、诱饵诱捕(适于某些昆虫)、性激素(适于鳞翅目的昆虫)、胶粘、陷阱、电力抽吸、捕

虫网等。

为了鉴定遗传修饰生物体或转基因 ,必须要对其进行标记 ,标记的方法大体上分为人为的和生物体或修饰基因构成本身的。人为的标记方法有以下几种 :无线电发射机、颜色标记、标签、在动物身上用剪刀剪出标记(如鱼鳍)等。生物体或修饰基因构成本身的遗传学标记有以下几种 :形态学的、生理学的、生物化学的、分子遗传标记。这些遗传学标记必须是稳定表达和遗传的。

3.4 遗传修饰微生物体环境释放监测的方法

可以用平板计数法、最大可能数量(MPN)法、显微镜检技术进行数量动态监测。也可以用标记基因如生物发光基因、乳糖基因、抗生素抗性基因、重金属抗性基因、*xyIE* 抗性基因等监测它们的存在 ,所用到的核酸技术包括 PCR 的目标特异扩增、直接杂交、用寡核苷酸探针检测细胞核糖体 RNA 等。

4 遗传修饰生物体(GMOs)环境释放影响监测的数学模型

4.1 监测转基因逃逸的数学模型

4.1.1 Bateman 给出了距离对风媒和虫媒传粉污染影响的三个方程式 ,并将它们近似地合并成一个 :

$$F=(ye^{-kD})/D \tag{1}$$

这里 F 是花粉污染的比率 , D 是距离 , Y 是零隔距离时的污染^[33]。

4.1.2 Manasse 给出了评价基因流动的指数模型^[34] ,他的模型类似于方程(1) ,然而更加完善 ,适合于评价转基因作物与其野生亲缘种间的基因流动。Manasse 在研究中发现 ,随着植物丛或个体间距离的增加 ,一年中基因传播的平均距离也在增加。这就意味着伴随着长距离隔离 ,一个罕见的长距离传粉事件会增加转基因逃逸的风险。

Kareiva 等给出了一个与 Manasse 的指数模型类似的可靠性函数(reliability function)^[35] :

$$R(x)=\exp(-ax^b) \tag{2}$$

$R(x)$ 是花粉传布到距离 x 的可能性 ,其平均数等于 $1/a\Gamma(b+1)/b$,变异等于 $1/a^2[\Gamma(b+2)/b-\Gamma^2(b+1)/b]$ 。

4.1.3 由于植物可以接受各种来源(包括自身)的花粉 ,因而来自转基因植物的花粉可能只是柱头上总花粉的一小部分 ,所以可以用异交的数据来估计一个参数 C ,也就是离转基因作物零距离时污染的估计。

获得一个含转基因的种子的概率与 $R(x)$ 成比例 :

$$L=\prod_{k=1}^N(\frac{S_k}{M_k}\sum cR(x)]^{M_k}[1-cR(x)]^{S_k-M_k} \tag{3}$$

其中 : S_k = 第 k 个取样点采集的种子数 ; M_k = S_k 中含有转基因的种子数 ; N = 取样点的数量。

对于风险评价来说 ,需要的不是在某一距离上的传粉频率 ,而是描述一个转基因在一个或几个方向上传布到某一特定距离以外的可能性 ,这就是累积密度函数(cumulative density function c. d. f.)^[36] :

$$c. d. f. =\Gamma(\alpha\beta)/\Gamma(\beta) \tag{4}$$

这里 α 为 ax^b , β 为 $1/b$ (一个方向)或 $2/b$ (所有方向) ; $\Gamma(\cdot,\cdot)$ 是不完全伽马函数 , $\Gamma(\cdot)$ 是完全伽马函数。

4.2 监测转基因入侵的数学模型

4.2.1 Kareiva 等^[37]认为可以用 Lotka_Volterra 竞争模型来预测转基因入侵的后果。他们将有关的参数定义以后 ,用来预测一种(缺失突变)遗传修饰微生物体 *Pseudomonas syringae* 品系同其野生品系间的竞争 :

$$dN^{+}/dt=r^{+}N^{+}(1-N^{+}/K^{+}-\alpha_{-+}N^{-}/K^{+}) \tag{5}$$

$$dN^{-}/dt=r^{-}N^{-}(1-N^{-}/K^{-}-\alpha_{+-}N^{+}/K^{-}) \tag{6}$$

N^{+} 和 N^{-} 分别是遗传修饰生物体和自然种群的种群密度 r^{+} 和 r^{-} 分别是遗传修饰生物体和自然种群的种群内禀增长率 K^{+} 和 K^{-} 是各自的环境容纳量 α_{-+} 和 α_{+-} 则分别是各自的竞争系数。

4.2.2 转基因生物体进入自然系统中以后 ,将会与多种生物而不仅与一种生物发生竞争作用 ,特别是对于高等植物来说 ,都一样需要光、CO₂、水和营养物这些少数资源 ,资源利用出现分化的可能性比较小 ,因而研究起来困难较大。而 Tilman 的竞争模型能够提供解决途径^[38] ,可以利用 Tilman 的竞争模型来研究转基因生物体入侵对群落的影响。Andow^[39]根据 Tilman 模型建立了一个数学理论模型来预测转基因生物体释放对群落结构的改变。在这个模型中 ,Andow 用一个参数(R^{*})来描述一个物种的最低资源需求 ,一个物种的 R^{*} 愈低 ,其竞争能力就愈强。当群落中初级消费者消耗植物比较大时 ,转基因抗性就能够降低植物的 R^{*} ,这种转基因植物就可能会影响到群落的结构 ;当植物的竞争能力差(高的 R^{*})时 ,并且转基因性状对 R^{*} 没有影响时 ,这种转基因植物就不会影响到群落的结构。

4.2.3 Crawley 等^[40]研究了一种抗除草剂转基因甘蓝型油菜入侵自然生境后的生态学后果。他们用一个有限增长率(λ)来指示转基因入侵后的命运。

$$\lambda_1=(1-d_1-g)+g(1-d_2)F \tag{7}$$

d_1 是一年中种子失活的比例 g 是第一年春天种子萌发的比例 d_2 是冬天种子失活的比例 F 是每个萌发种子结实种子的平均数量。 $\lambda > 1$ 时 ,表示转基因植物种群数量将增大 , $\lambda < 1$ 时 ,表示转基因植物将会消亡。

公式(7)计算出的 λ 值是在种子的生活史开始于一个没有竞争的农田生境中 ,因而可能有些偏高。当考虑到种子萌发一开始就会有自然植被的竞争时 , λ 值可以这样估算 :

$$\lambda_2=\text{第二代的幼苗/第一代的幼苗} \tag{8}$$

4.3 监测昆虫对抗虫作物抗性的等位基因频率的数学模型

$$P_{(R,T+1)}=\frac{P_{(R,T)}^2+P_{(R,T)}P_{(S,T)}W_{RS}}{P_{(R,T)}^2+2P_{(R,T)}P_{(S,T)}W_{RS}+P_{(S,T)}W_{SS}} \tag{9}$$

$P_{(R,T+1)}$ 为 $T+1$ 世代抗性等位基因的频率 $P_{(R,T)}$ 和 $P_{(S,T)}$ 分别为 T 世代抗性等位基因和感性等位基因的频率 W_{SS} 和 W_{RS} 分别为纯合感性个体和杂合个体的适合度。当抗性等位基因的频率即 $P_{(R,T+1)}$ 达到或超过 0.5 时 ,说明种群对 Bt 作物进化出了抗性 , $T+1$ 则为抗性进化所需的世代数^[51]。

5 结束语

本文的主要目的是论述对遗传修饰生物体(GMOs)的释放进行监测的原理与方法 ,为开展 GMOs 释放的监测工作提供依据 ,使遗传修饰生物体(GMOs)及其产品更好更安全地为人类服务。目前 ,国内国际上尚无此类文献 ,因而撰写这样一篇文章是非常及时而有益的。

参 考 文 献

- 1 钱迎倩,田彦,魏伟.转基因植物的生态风险评价.植物生态学报,1998,22(4):289~299
- 2 钱迎倩,马克平.经遗传修饰生物体的研究进展及其释放后对环境的影响.生态学报,1998,18(1):1~9
- 3 钱迎倩,魏伟,田彦,马克平.转基因作物的进展及可能存在的问题.应用与环境生物学报,1999,5(4):427~433
- 4 魏伟,钱迎倩,马克平.转基因作物与其野生亲缘种间的基因流动.植物学报,1999,41(4):343~348
- 5 魏伟,钱迎倩,马克平.害虫对转基因 Bt 作物的抗性及其管理对策.应用与环境生物学报,1999,5(2):215~228
- 6 Fox J L. Bt cotton infestations renew resistance concerns. *Nat. Biotech.*, 1997, 14:1070
- 7 Kaiser J. Pests overwhelm Bt cotton crop. *Science*, 1996, 273:423
- 8 Fox J L. Farmers say Monsanto's engineered cotton crop bolls. *Nat. Biotech.*, 1997, 15:1233
- 9 Kjellsson G, Simonsen V. Methods for risk assessment of transgenic Plants. I. Competition, establishment and ecosystem effects. Basel: Birkhauser Verlag, 1994, 1~214
- 10 Williamson M. Community response to transgenic plant release: predictions from British experience of invasive plants and feral crop plants. *Mol. Ecol.*, 1994, 3(1):75~80
- 11 Stewart C N Jr., All J N, Paymer P L et al. Increased fitness of transgenic insecticidal rapeseed under insect selection pressure. *Mol. Ecol.*, 1997, 6:773~779
- 12 Barrett S C H. Crop mimicry in weeds. *Economic Botany*, 1983, 37:255~282
- 13 Doebley J. Molecular evidence for gene flow among *Zae* species. *Bioscience*, 1990, 40:443~448
- 14 Kerlan M C, Chevre A M, Eber F et al. Risk assessment of outcrossing of transgenic rapeseed to related species: I. Interspecific hybrid production under optimal conditions with emphasis on pollination and fertilization. *Euphytica*, 1992, 62:145~153
- 15 Dale P J, Irwin J A, Scheffler J A. The experimental and commercial release of transgenic crop Plants. *Plant Breeding*, 1993, 111:1~22
- 16 Kendall H W, Beachy R, Eisiner T et al. Bioengineering of Crops, Report of the World Bank Panel on Transgenic Crops. Worldbank, 1997, 1~30
- 17 Kjellsson G, Simonsen V, Ammann K (eds.). Methods for Risk Assessment of Transgenic Plants: II. Pollination, Gene_transfer and Population Impacts. Basel: Birkhauser Verlag, 1997, 308
- 18 Dale P J. Spread of engineered genes to wild relatives. *Plant Physiol*, 1992, 100:13~15
- 19 Dale P J. The impact of hybrids between genetically modified crop plants and their related species: general considerations. *Mol. Ecol.*, 1994, 3:31~36
- 20 Dale P J, Irwin J A. The release of transgenic plants from containment, and the move towards their widespread use in agriculture. *Euphytica*, 1995, 85:425~431
- 21 Gaggiotti O E. Potential evolutionary and ecological consequences of the release of GMO's into the wild. The workshop on transgenic organisms in the new millenium: risks and benefits, Italy, Dec 1~5, 1997
- 22 Allison R F, Schneider W L, Greene A E. Recombination in plants expressing viral transgenes. *Virol.*, 1996, 7:417~422
- 23 Zhou X P, Liu Y L, Calvert L et al. Evidence that DNA_A of a geminivirus associated with severe cassava mosaic disease in Uganda has arisen by interspecific recombination. *J. Gen. Virol.*, 1997, 78:2101~2111
- 24 McGrath P. Lethal hybrid decimates harvest. *New Scientist*, 1997, 2097:8
- 25 Harrison B D, Zhou X P, Otim-Nape G W et al. Role of a novel type of double infection in the geminivirus-induced epidemic of severe cassava mosaic in Uganda. *Ann. Appl. Biol.*, 1997, 131:437~448
- 26 Zhou X P, Liu Y, Robinson D J et al. Four DNA_A Variants among Pakistani isolates of cotton leaf curl virus and their affinities to DNA_A of geminivirus isolates from okra. *J. Gen. Virol.*, 1998, 79:915~923
- 27 Kleiner K, Fields of genes. *New Scientist*, 1997, 2095:4
- 28 Morra M J. Assessing the impact of transgenic plant products on soil organisms. *Mol. Ecol.*, 1994, 3:53~56
- 29 Angle J S. Release of transgenic plants: biodiversity and population level considerations. *Mol. Ecol.*, 1994, 3:45~50
- 30 Trevors J T, Kuikman P, Watson B. Transgenic plants and biogeochemical cycles. *Mol. Ecol.*, 1994, 3:45~50
- 31 Union of Concerned Scientists (UCS). Risk research: transgenic insect_resistance crops harm beneficial insects. *The Gene Exchange*, 1998, Summer:4
- 32 OECD. Industrial products of modern biotechnology intended for release to the environment. Paris, 1996, 130