

项目编号:

项目类别:

农业转基因生物安全评价 申 报 书

转 *cry1Ab* 基因抗虫玉米 MON810 进口用作加工原料
的安全证书

(上册: 申请书正文)

孟山都远东有限公司

2004 年 1 月 20 日

中华人民共和国农业部制

项目编号：

项目类别：

农业转基因生物安全评价 申报书

项目名称：转 *cry1Ab* 基因抗虫玉米 MON810 进口用作加工原料
的安全证书

申请单位：孟山都远东有限公司

地 址：北京朝阳区工体北路甲 2 号盈科中心 IBM 大厦 916 室

邮政编码：100027

填报日期：2004 年 1 月 20 日

中华人民共和国农业部制



孟山都公司文件

© 2004 孟山都公司 版权所有

本申请书受著作权法保护。本申请书只限于由孟山都公司提交的农业转基因生物安全行政主管部门使用，并且只能用于本申请书的申请目的。没有孟山都公司的事先书面同意，任何出于其它目的使用本申请书将被严格禁止。孟山都公司提交本申请书给相关行政主管部门并不表示孟山都公司批准任何个人或实体获得任何权利对本申请书中涉及的知识产权进行授权许可或使用。

填写说明

1. 在填写申报书之前，应认真阅读《农业转基因生物安全管理条例》、《农业转基因生物安全评价管理办法》、《农业转基因生物进口安全管理办法》等有关法规，了解相关要求。
2. 此申报书同样适用于法规规定的报告类实验研究和中间试验的报告，名称分别改为“农业转基因生物实验研究报告书”和“农业转基因生物中间试验报告书”。
3. 申报书内容应当包括以下部分：申请表、项目内容摘要、工作目的和意义、国内外研究的相关背景资料、安全性评价、试验方案、相关附件资料、本单位农业转基因生物安全小组审查意见、本单位审查意见、所在省（市、自治区）的农业行政主管部门的审查意见。
4. 申请实验研究的，申请表按表 2 填写，项目名称应包含转基因性状、受体生物名称、实验研究所在省（市、自治区）名称和实验研究阶段等内容，如“转基因抗虫棉花在河北省的实验研究”。一份申报书只能包含同一物种的受体生物和相同的转基因性状。“安全性评价”可不填写。“试验方案”包括研究目标、外源基因的名称和来源、载体构建图谱、转化方法和规模、地点、安全控制措施等。“相关附件资料”包括法人证书和营业执照的复印件，若涉及合作项目，应提交双方合作或转让协议等。“所在省（市、自治区）的农业行政主管部门的审查意见”可不填写，申报材料报送农业部时，抄送实验研究所在省（市、自治区）的农业行政主管部门。
5. 申请中间试验的，申请表按表 2 填写。申报书中“安全性评价”、“试验方案”和“相关附件资料”依照《农业转基因生物安全评价管理办法》附录 I、II、III 要求逐条填写。“所在省（市、自治区）级农业行政主管部门的审查意见”可不填写，申报材料报送农业部时，抄送中间试验所在省（市、自治区）级农业行政主管部门。
6. 申请环境释放和生产性试验的，申请表按表 2 填写；申报书中“安全性评价”、“试验方案”和“相关附件资料”依照《农业转基因生物安全评价管理办法》附录 I、II、III 要求逐条填写。对于已批准过的环境释放或生产性试验，在试验结束后，若同一转基因生物在原批准地点以相同规模重复试验，在申报时“安全性评价”部分可省略。
7. 申请农业转基因生物安全证书的，申请表按表 3 填写；申报书中“安全性评价”和“相关附件资料”依照《农业转基因生物安全评价管理办法》附录 I、II、III 要求逐条填写，“试验方案”不用填写；转基因植物的品种命名应符合《农业植物品种命名规定》；首次申请农业转基因生物品种（或品系）生产应用安全证书的，需提供《农业转基因生物品种（或品系）生产应用综合评价报告》，主要包括对我国生产、贸易、社会等方面影响。
8. 首次申请农业转基因生物生产性试验和安全证书的，在申请截止日 30 个工作日前提供所申报转基因生物活性样品和技术资料。样品要求：符合要求的，有活性的植物种子 2.5kg，动物 5ml 血样或 3g 组织各三份，微生物 3 批次，各 10 管样品。技术资料要求：申请生产性试验提供外源片段整合进基因组的 Southern 杂交结果、拷贝数及检测方法等；申请安全证书提供外源插入片段信息及转化体特异性 PCR 检测方法等。
9. 申报书应当用中文填写，一式十份，一律使用 A4 纸，正文用小四宋体打印，标准字间距和单倍行距，并提供光盘。对于不符合要求的申报书，不予受理。
10. 申请者可以注明哪些资料需要保密并说明理由。
11. 受理时间：每年 3 次，截止日期分别为 3 月 1 日、7 月 1 日和 11 月 1 日。
12. 受理单位：农业部行政审批综合办公室科教窗口。地址：北京市朝阳区农展馆南里 11 号。邮政编码：100125。收款单位：农业部科技发展中心；开户行：中信银行北京朝阳支行；帐号：7111110189800000419。

目 录

目 录.....	I
相关技术报告目录	II
商业保密资料声明	3
一、农业转基因生物安全证书申请表	1
二、项目内容摘要	3
三、工作目的和意义	5
四、国内外相关研究的最新动态	6
五、安全性评价	8
六、相关附件资料	52
七、本单位农业转基因生物安全小组审查意见	87
八、本单位审查意见	88
九、所在省（市、自治区）的农业行政主管部门的审查意见	89

相关技术报告目录

(申请书下册)

(技术报告为商业保密资料)

- 报告 1** 转 *cry1Ab* 基因抗虫玉米 MON810 环境安全检测报告 (中国农科院植物保护研究所、山东省农科院植物保护研究所和吉林省农科院)
- 报告 2** MON810 玉米食用安全检测报告 (中国疾病预防控制中心营养与食品安全所)
- 报告 3** 抗虫玉米 MON 810 的分子生物学分析 (孟山都研究报告, MSL-14382)
- 报告 4** 1994 年美国田间试验抗虫玉米评价 (孟山都研究报告, MSL-14179)
- 报告 5** 1998 年美国 and 欧盟田间试验中 MON810 抗虫玉米和常规对照秸秆和籽粒成分比较 (孟山都研究报告, MSL-16258)
- 报告 6** 苏云金杆菌杀虫蛋白 Cry1A(b)、Cry1A(c)、CryIIA 和 CryIII A 对弹尾目昆虫的影响 (孟山都研究报告, MSL14685)
- 报告 7** 抗虫玉米品系中表达的 *B.t.k* HD-1 蛋白与大肠杆菌中表达蛋白的等同性评价 (孟山都报告, MSL-14231)
- 报告 8** 大肠杆菌产生的 Cry1Ab 蛋白对小鼠的急性口服毒性 (孟山都研究报告, SB-2004-092)
- 报告 9** HD-1 蛋白体外肠道模拟消化试验安全性评价 (孟山都研究报告, MSL-13425)

商业保密资料声明

本申请书包含了许多属于孟山都公司开发并拥有的商业保密资料。这些商业保密资料是由孟山都公司投入巨大的人力物力，经过长时间的研究获得，包括研究路线的制定、各种表达调控元件的 DNA 序列、遗传操作策略和各种安全评价的数据等资料。孟山都公司目前只向世界各国农业转基因生物行政主管部门提交这些商业保密资料用于安全评价和审批的目的，而从未公开发表或向公众提供。一旦孟山都公司的竞争对手获得这些资料，竞争对手将会以很少人力物力投入在很短的时间内开发出类似 MON810 的相应产品，这对孟山都公司来说是不公平的。孟山都公司在中国国内外面临着许多技术实力很强的竞争对手。因此，孟山都公司依据《农业转基因生物安全评价管理办法》第三章第二十七条的有关规定以及本申请书的填写说明，要求对本申请书的商业保密资料进行保密。

一、农业转基因生物安全证书申请表

项目概况	项目名称	转 <i>cryIAb</i> 基因抗虫玉米 MON810 进口用作加工原料的安全证书				
	项目来源	孟山都远东有限公司				
转基因生物概况	类别	动物 <input type="checkbox"/> 植物 <input checked="" type="checkbox"/> 微生物 <input type="checkbox"/> (选√)				
	转基因生物名称	转 <i>cryIAb</i> 基因抗虫玉米 MON810				
	受体生物	中文名	玉米	学名	<i>Zea mays</i> L.	
		分类学地位	禾本科、玉蜀黍族、玉蜀黍属、玉米种	品种(品系)名称	Hi-II	安全等级 I
	目的基因 1	名称	<i>cryIAb</i>	供体生物	<i>Bacillus thuringensis</i>	
		生物学功能	编码 CryIAb 蛋白, 使作物抵抗鳞翅目害虫的危害。			
		启动子	<i>e35S</i>	终止子	编码序列下游终止码	
	载体 1	PV-ZMBK07		供体生物	<i>Escherichia coli</i>	
	载体 2	PV-ZMGT10 (未转入受体)		供体生物	<i>Escherichia coli</i>	
	* 标记基因 1	名称	无	供体生物	无	
		启动子	无	终止子	无	
	* 报告基因 1	名称	无	供体生物	无	
		启动子	无	终止子	无	
	调控序列 1	名称	<i>hsp70</i> 内含子	来源	玉米	
		功能	提高基因转录水平			
	转基因方法	基因枪转化		基因操作类型	2	
	转基因生物品系(株系)名称	MON810		转基因生物品系(株系)个数	1	
转基因生物安全等级	I		转基因生物产品安全等级	I		
试验概况	中间试验情况	转基因生物名称及编号		可以不填写		
		批准文号		可以不填写		
		试验的时间、地点和规模		可以不填写		
	环境释放情况	转基因生物名称及编号		可以不填写		
		批准文号		可以不填写		
		批准时间、地点和规模		可以不填写		
	生产性试验情况	转基因生物名称及编号		可以不填写		
		批准文号		可以不填写		
		批准时间、地点和规模		可以不填写		
拟申请使用范围(省、自治区、直辖市)			境内			
拟申请使用年限			5 年			

申请单位概况	单位名称	孟山都远东有限公司		地 址	北京朝阳区工体北路甲2号，盈科中心 IBM 大厦 916 室	
	邮 编	100027		电 话		
	传 真			电子邮件		
	单位性质	境内单位（事业 <input type="checkbox"/> 企业 <input type="checkbox"/> 中外合作 <input type="checkbox"/> 中外合资 <input type="checkbox"/> 外方独资 <input type="checkbox"/> ） 境外单位（企业 <input checked="" type="checkbox"/> 其它 <input type="checkbox"/> ）(选√)				
	申请人姓名			电 话		
	传 真			电子邮箱		
	联系人姓名			电 话		
	传 真			电子邮箱		
研制单位概况	单位名称	孟山都公司		法人代表		
	联系人姓名			电 话		
	传 真			电子邮箱		
	主 要 完 成 人					
	姓名			性别		出生年月
	学历			专业技术职务		
	何时何地曾从事何种 基因工程工作					
	参 与 完 成 人					
	姓名	年龄	学历	职称	单 位	在本项目中的分工

- 注：**1. 申请农业转基因生物实验研究的，“受体生物品种（品系）名称、目的基因启动子和终止子、载体、标记基因、报告基因、调控序列、转基因生物品种（株系）”栏目不用填写。
2. 如果“标记基因”或“报告基因”已删除，应在表中标注。
3. 申请人指所申请项目的安全监管具体负责人。

二、项目内容摘要

玉米螟是一种严重危害玉米生长的害虫（在欧洲、美洲主要为欧洲玉米螟，在亚洲主要为亚洲玉米螟），它可以侵害玉米的叶、茎、叶壳、果穗等部位，并可以蛀茎钻入茎秆当中，因此也称“钻心虫”。化学杀虫剂并不能控制钻入茎秆的玉米螟，而保丰玉米无论在什么阶段、什么部位都可以有效地控制玉米螟的危害。在中国由于玉米螟造成的玉米产量损失大约在 3-10%左右，并导致每年数十亿元的损失。

孟山都公司利用基因枪转化方法，将来源于苏云金杆菌中的 *Cry1Ab* 基因转入到玉米基因组中，开发了具有抗虫特性的“保丰[®]”玉米 MON 810。MON 810“保丰[®]”玉米可以抵御欧洲玉米螟（ECB, *Ostrinia furnacalis*），西南玉米螟（SWCB, *Diatraea grandiosella*）和亚洲玉米螟（ACB, *Ostrinia furnacalis*）等鳞翅目害虫。

种植“保丰[®]”玉米可以 1) 有效地控制玉米螟的危害；2) 并保持有益物种不受影响；3) 减少化学农药的使用；4) 因而也减少化学农药对农药使用者的危害；5) 有利于害虫综合治理和可持续农业系统；6) 减少玉米果穗及籽粒中真菌毒素的水平；7) 不需要任何额外的劳力和机械设备，无论是大农场主还是小农户都可以因种植保丰玉米而获益。

以质粒 DNA 为探针进行 Southern 杂交，分析表明 MON 810 转化体中仅含有单位点的单拷贝插入。进一步的遗传分离分析也证实，证明了该外源基因可以按照孟德尔遗传法则稳定的遗传。

插入到玉米的染色体基因组中“保丰[®]”玉米所产生的 *Cry1Ab* 蛋白只对特异性的鳞翅目害虫起作用，对人类、哺乳动物和其它有益昆虫没有影响。其安全性已被广泛的研究试验所证实。对有效成份分析的结果也表明“保丰[®]”玉米 MON 810 的营养成份与常规玉米实质等同。保丰玉米 MON 810 除具有抗虫特性外，在感病性及其它农艺和表型性状上与常规玉米表现一致。

MON 810 抗虫玉米中 *Cry1Ab* 蛋白在整株植物以极低水平有效表达。通过经过验证的 ELISA 方法对不同组织的 *Cry1Ab* 蛋白表现水平进行了定量测定。结果表明，MON810 玉米的 *Cry1Ab* 蛋白表达水平在不同年份和不同地理区域具有一致性。*Cry1Ab* 蛋白表达水平的一致性也证明了产品表现好的重要指标之一-插入的稳定性。*Cry1Ab* 蛋白表达水平足以在全生长过程中有效地控制第一、二代玉米螟的危害。

有关环境评价研究证明，“保丰[®]”玉米 MON810 对环境中的有益昆虫没有危害，对土壤生物也没有影响。

MON 810 抗虫玉米可以有效地控制玉米螟等特定的鳞翅目害虫，其籽粒及其衍生产品的生产或进口都不会对非靶标生物和环境产生负面影响。而且有大量的信息证明，含有 *Cry1Ab* 蛋白的苏云金杆菌 K 亚种（B.t.k）的微生物杀虫剂不会对非靶标物种产生作用。形成这些抗虫玉米植株 *Cry1Ab* 基因编码的 *Cry1Ab* 蛋白对鳞翅目昆虫具有特殊的选择性，当害虫取食后，在昆虫中肠的碱性条件下产生毒素并结合于肠内特异的受体上而产生杀虫作用，而对益虫和非靶标昆虫没有不

利影响。这些益虫和非靶标昆虫包括鳞翅目害虫的捕食者和寄生者或蜜蜂。实验室研究也证明了 Cry1Ab 蛋白对蚯蚓、鲑鱼、鹌鹑、弹尾目昆虫、枝角类是安全的。试验采用 Cry1Ab 蛋白的抗胰蛋白酶核，因为它是 Cry1Ab 蛋白的抗虫活性部分。MON 810 玉米多年的商业化也证明了其对非靶标生物的安全性。

通过测量土壤中 MON 810 玉米组织中抗虫活性的减少，来评估 Cry1Ab 蛋白的降解率。结果表明 Cry1Ab 蛋白的半衰期 DT50 为 1.6 天，DT90（达到 90% 失活的天数）为 15 天。（Sims and Holden, 1996）。这个降解与微生物 Bt 产品在土壤中的降解率是相似的（West et al, 1984; West, 1984; and Pruett et al, 1980）。因此，Cry1Ab 对土壤中非靶标微生物无害的结论。

除与其他 Cry 蛋白外，Cry1Ab 蛋白同在 PIR、EMBL、Swissprot 和 GenBank 蛋白数据库中同已知的毒素蛋白没有有意义的氨基酸序列相似性。在胃液中，由于含有胃蛋白酶 Cry1Ab 蛋白迅速降解，Western 杂交分析发现，在模拟胃液试验中，2 分钟内 90% 的最初加入的 Cry1Ab 蛋白降解。对小鼠进行了急性口服毒性试验表明，Cry1Ab 蛋白对哺乳动物没有急性毒性。在试验的小鼠急性毒性口服试验中，所用的 Cry1Ab 蛋白的最高剂量大约是 MON 810 玉米作为人类食物摄入该蛋白量的 2000 万倍以上。

综上所述，所有对 MON810 玉米的安全性评价数据均支持 MON810 对人类健康及环境没有不良影响的结论。MON810 玉米在 1996 年~1997 年获得美国食品药品监督管理局（FDA）、美国农业部（USDA）、美国环保署（EPA）的批准，允许在美国商业化种植。按照中华人民共和国农业部的有关法规要求，现申请 MON810 保丰玉米作为加工原料进口中国的安全证书，请农业部农业转基因安全管理办公室予以批准。

三、工作目的和意义

孟山都公司开发研究的 MON810“保丰®”玉米可以有效地控制玉米螟等鳞翅目害虫。

玉米螟是一种严重危害玉米生长的害虫（在欧洲、美洲主要为欧洲玉米螟，在亚洲主要为亚洲玉米螟），它可以侵害玉米的叶片、茎秆、叶鞘、果穗等部位，并可以蛀茎钻入茎秆当中，因此也称“钻心虫”。化学杀虫剂并不能控制钻入茎秆的玉米螟，而保丰玉米无论在什么阶段、什么部位都可以有效地控制玉米螟的危害。在中国由于玉米螟造成的玉米产量损失大约在 3-10%左右，并导致每年数十亿元的损失。

保丰玉米可以 1) 有效地控制玉米螟的危害；2) 并保持有益物种不受影响；3) 减少化学农药的使用；4) 因而也减少化学农药对农药使用者的危害；5) 有利于害虫综合治理和可持续农业系统；6) 减少玉米果穗及籽粒中毒枝菌素的水平；7) 不需要任何额外的劳力和机械设备，无论是大农场主还是小农户都可以因种植保丰玉米而获益。

“保丰®”玉米 MON810 作为食品、饲料的安全性以及其对环境的影响已被广泛地研究，证明它与常规玉米一样安全，在营养成份上具有等同性，已获得了部分国家种植或进口的批准。此次，孟山都公司向中国农业部提交“转 *cry1Ab* 基因抗虫玉米 MON810 作为加工原料进口中国的安全证书”的申请，避免 MON810 玉米在进口中国的过程中发生贸易中断的风险。

四、国内外相关研究的最新动态

全球转基因作物应用情况

全球人口迅速增长带动了粮食需求的大量增加。事实上，通过常规的品种改良和栽培技术改进，特别是杀虫剂的使用，粮食生产在过去几十年已经明显提高。上世纪 60 年代兴起的细胞遗传学和细胞生物学技术引发了“绿色革命”，使粮食作物的产量显著提高、抗病性和抗虫性明显增强。然而，这些技术的广泛采用也同时给环境和人类健康带来一些新的问题，如农药和化肥的使用导致土壤侵蚀加剧。同时，在这些技术使用 20 年后，对粮食增产的贡献也明显减少。为克服这些问题，来自于政府、大学、研究机构及公司的科学家们正在寻求新的技术和方法。随着 DNA 技术的迅速发展，到上世纪 80 年代科学家们已经开发出一些新的现代育种技术和方法，其中利用农杆菌介导转化和基因枪转化的转基因技术是最为成功的一项。

随着生物技术的发展以及各国对生物技术领域投入的加大，使得全球育种家和生物技术研究机构能够突破传统的育种框架和育种年限来培育新的植物品种。1995 年美国批准了转基因抗虫棉的商业化种植批准，1996 年转基因抗虫棉开始推广，中国也在 1996 年开始引入转基因抗虫棉。

据报道，中国科学家在玉米、水稻、花生、玉米、棉花等作物上进行了大量的研究工作，获得种植安全证书的有转 Bt 抗虫基因棉花、转抗黄瓜花叶病毒的番茄，抗阿特拉津的大豆正处于环境释放阶段。

转基因作物的安全评价

遗传改良生物（GMO）安全评价的概念最早是由一些科学家于 1975 年在有关重组 DNA 研究的 Asilomar 会议上提出的。这些科学家担心重组 DNA 技术可能会导致重组病毒的产生，而这种重组病毒一旦从实验室泄漏会对公众健康产生不良影响。这些科学家经过 14 个月的工作一致同意并起草了一份通过物理和生物方法防止危险试验结果和物品扩散的指南，该指南成为 1976 年由国家卫生研究所重组 DNA 咨询委员会起草的美国现代生物技术研究指南的基础。随后，其他一些国家也都采用了美国现代生物技术研究指南。

关于转基因植物环境安全性评价，Cordle 等（1991）描述了一种逐步进行安全评价的方法，具体如下：

A) 首先应该确定非改良生物的安全关注程度，包括：

- 1) 非改良生物的危害性和病原菌状态；
- 2) 在多变环境中适应的能力；
- 3) 在群落中的与其他生物的生态关系、功能和重要性；
- 4) 遗传信息转移的能力；
- 5) 监测和控制的可能性。

B) 其次应该考虑其遗传学操作对安全性的影响，包括：

- 1) 遗传改良的过程；
- 2) 基因的构建和表达；
- 3) 分子生物学知识和其他信息在什么程度上可以用来评估转基因生

物的安全性。

- C) 第三步要综合考虑上述步骤的评价。遗传改良生物的安全评价要在综合有关遗传改良生物和非遗传改良生物的所有已知信息后才可作出。

确定转基因植物的基因转移到周围环境中的可能性是非常重要的。转基因植物的基因有可能逃逸到下列生物体中 (Love, 1994): (1) 改良基因转移到微生物或病原菌; (2) 改良基因通过细菌感染为载体转移到其他植物物种中; (3) 转基因植物扩散到自然生态环境中并繁殖; (4) 改良基因水平转移到野生物种中 (Evenhuis 等, 1991; Kapteijns, 1993; Regal, 1994)。但是, 目前还没有证据表明转基因已经转移到微生物中或水平转移到其他植物中 (Evenhuis 等, 1991)。

关于转基因植物的食品安全检测, 国际食品规范委员会 (Codex Alimentarius Commission) 采用一些基本原则来评价来源于转基因植物和转基因微生物的遗传改良食品 (GM food)。这些原则前提是依据预先评价、个案评价和评价转基因的直接效应 (由插入基因引起) 和间接效应 (由插入一个新基因的互作结果引起)。Codex 的安全评价原则要求评价下述方面:

- A) 对健康的直接影响 (毒性);
- B) 引起过敏反应的倾向 (过敏性);
- C) 特定成分, 不管是营养成分还是毒性成分;
- D) 插入基因的稳定性;
- E) 特定遗传改良的营养效应;
- F) 插入基因可能引起的非预期效应。

国际食品规范委员会制定的风险评估原则被普遍认为对于当前国际市场上的遗传改良生物的安全评价是足够。目前, 所有已经上市遗传改良生物产品都经过严格风险评估, 与其相应的非改良生物产品比是同样安全的。

抗虫玉米研究进展

孟山都公司通过生物技术工程开发了具有抗玉米螟等特定的鳞翅目害虫的“保丰[®]”玉米 (YieldGard[®]), 为广大农民提供了有效的控制玉米鳞翅目害虫的方法。而且, 保丰玉米在不同的生长期、不同的生长部位都能有效地控制玉米螟的危害。对人类、家畜、鸟类、鱼类和其它有益昆虫都非常安全。美国环境保护署 (EPA)、美国食品和药物管理局 (FDA) 以及美国农业部 (USDA) 将其列为“安全”级产品。

保丰玉米不仅可以很好地控制虫害, 而且改善了玉米的品质, 提高了玉米的产量。即使是在玉米螟虫危害不大的年份里, 保丰玉米的产量也明显地高于普通玉米。因此, 无论是大规模的玉米农场主还是普通农民都会通过种植保丰玉米获益, 且无需增加额外的劳力和机械。在美国, 对六百名种植保丰玉米的农民调查结果中显示, 90% 以上的农民对此项技术非常满意, 并希望以后继续种植保丰玉米。

目前, 由孟山都公司开发的“保丰[®]”玉米抗虫技术在同类技术中处于国际领先地位, 已经在美国、加拿大、阿根廷等主要玉米生产国进行了大面积商业化推广和使用, 并获得了日本、欧盟等国家的进口批准。

五、安全性评价

1 受体植物的安全性评价

1.1 受体植物的背景资料:

1.1.1 学名、俗名和其他名称:

受体植物为玉米，学名为 *Zea mays* L，俗名为玉米，也称为玉黍、苞谷、棒子等。

1.1.2 分类学地位:

栽培玉米在分类上属于单子叶植物纲禾本科 (*Gramineae*)，玉蜀黍族 (*Maydeae*)，玉蜀黍属 (*Zea* L.)。在早期的分类系统中，玉蜀黍属仅有栽培玉米 (*Zea mays* L.) 一个种。Wilkes (1967)将类蜀黍属 (大刍草“Teosinte”) 归入玉蜀黍属，成为其中的一个亚属，包括两个种：一年生的墨西哥玉米 (*Zea mexicana*) 和多年生玉米 (*Zea perennis*)。根据新的研究结果，Doebly 领导的研究小组对玉蜀黍属内各分类单位的地位进行重新划分，制定了新的分类系统 (Doebly and Iltis, 1980):

Graminea (禾本科)

Maydeae (玉蜀黍族)

 Genus *Zea* (玉蜀黍属)

Zea mays (玉米种)

ssp. mays (栽培玉米亚种)

1.1.3 试验用受体植物品种 (或品系) 名称:

试验用受体植物为常规玉米品种 Hi-II, 它是 A188 和 B73 自交系玉米的衍生品系，其生物特性与其它 A188 和 B73 的衍生自交系玉米相似。A188 和 B73 自交系分别是美国明尼苏达大学和衣阿华州立大学开发的自交系，市场上可以购得。

1.1.4 是野生种还是栽培种:

受体植物是玉米，是有安全使用历史的栽培种。

1.1.5 原产地及引进时间:

针对玉米的起源和驯化已经进行了大量研究。有人认为玉米很可能于 7,000 到 10,000 年前在墨西哥南部开始驯化。玉米公认的起源目前还没有找到，但是墨西哥类蜀黍很可能在玉米的遗传背景里起了重要的作用。

哥伦布发现新大陆时，从智利到加拿大南部的当地文明社会正在种植玉米。

哥伦布于 1492 年指出在古巴南部沿海地区有玉米种植，并在返回西班牙时把玉米引入了欧洲(Goodman, 1988)。玉米引入欧洲种植两代以后，玉米传遍了世界上可以种植玉米的那些地区。

玉米的来源已进行了广泛的研究，目前有四个主要的假说 (OECD, 2003)。

1. 来自于墨西哥类蜀黍：利用墨西哥类蜀黍选育产生的玉米；
2. 三重假说：a) 玉米来自于果荚玉米；b) 利用玉米和三囊草杂交衍生的墨西哥类蜀黍，和c) 通过玉米同墨西哥类蜀黍或者三囊草种间杂交，或者同二者同时种间杂交，进化出来的现代玉米品种 (Mangelsdorf, 1974)；
3. 普通起源假说：玉米、墨西哥类蜀黍和三囊草独立地来源于同一种常见但未知的祖先；
4. 灾难性有性突变假说：墨西哥类蜀黍由于后来遗传有性突变，导致雌穗的发育，从而产生了现代玉米。

其它的一些推断包括在 *Andropogoneae* 族里的 *Coix* 和 *Manisuris* 属的物种，它们对玉米的基因组的形成起了一定的作用。这些假说已经通过研究杂交种的基因组相似性、可育性、变异性和生态学特征的分离进行了验证，也通过考古学证据和分子遗传标记分析进行了验证。

尽管目前许多不同的证据报道以佐证不同的假说，但是更多的证据支持玉米起源于墨西哥类蜀黍 (Galinat, 1988) 的假说。墨西哥类蜀黍的基因组类似于玉米，易于同玉米杂交，还具有一些类似于玉米的植物生态学特性。这些证据证明玉米极有可能起源于墨西哥类蜀黍。

玉米何时被引入中国还无定论。公元 1511 年安徽省《颍州志》物产中所列珍珠秫被认为是我国玉米的最早记载 (万国鼎 1962, 中国作物遗传资源 1994)。山东农科院主编的《中国玉米栽培学》(1986 年) 中认为《颍州志》中的珍珠秫应属高粱的一个品种。我国最早记载玉米的古籍有 1555 年河南《巩县志》、1551 年 (明嘉靖 30 年) 河南《襄城县志》、1555 年河南《巩县志》、1560 年甘肃《平凉府志》、1563 年《大理府志》和 1574 年的《云南通志》等。一般认为玉米是由阿拉伯人从西班牙带到麦加，由麦加经中亚西亚传入我国的西北部，再传到内陆各省；或从麦加传入印度和我国西南部，尔后向其它地区传播。但是由于当时沿海地区商业发展迅速和航海事业十分发达，玉米经由海路传入东南沿海地区也是可能的。早期引进的玉米是硬粒型的，马齿型玉米是在 20 世纪 20 年代以后引入的。在 1760 年以前由云南广西一带的硬粒型地方品种经突变和选择形成了糯质玉米品种 (详见《中国农业发展史》，1992，《中国农业科学技术史稿》，1989，《中国作物栽培史稿》，1980)。

1.1.6 用途；

如今，玉米在 100 多个国家有商业种植。主要的玉米生产国是美国、中国、巴西、墨西哥、法国和印度，它们占了全世界总产量的 75%。种植玉米主要是为了获得玉米籽粒，其大多数用作动物饲料，但是也有相当大的部分制成产品用于

食品、药物和工业产品等广大领域。从 2000 年开始，在河南省、西北地区和华北地区的 9 个省玉米被用来提炼燃用酒精。

(i) 食品

尽管玉米作为一种能源具有巨大的价值，但同以玉米为基础的食品加工相比，人类对整粒玉米的消费量非常少 (Hodge, 1982; Watson, 1988)。用于食品和工业目的的玉米籽粒大多数 (77%) 通过湿磨粉方式进行加工。在籽粒湿磨的过程中，经过胚芽胚乳分离，可以生产玉米油和淀粉。

胚芽部分同胚乳分离后，经压榨提取出玉米油，可用于制造人造黄油、烹调油和烤炸油，供人类食用。玉米油尽管只占整个植物油市场的一小部分，但其含有的大量的多不饱和脂肪酸却具有重要的营养和保健作用。玉米油被认为是一种高级植物油，因为它在冷藏温度下具有良好的香味、色泽、稳定性和澄清度。其在营养上的良好品质主要同其含有的亚麻脂肪酸和维生素 E 有关。这些良好的品质使之成为消费者直接食用和生产人造奶油用的高级油。这种精制油 50% 左右用于炸用油和沙拉油，25% 用于生产人造奶油，25% 用于其它目的。经压榨的胚芽进行干燥后，可加进玉米渣饲料中。

胚乳部分可以用于磨粉，经离心处理可以分离出淀粉。约 40% 的淀粉作为食品直接消费，或者用于其它工业目的，而约 60% 转化为各种甜味剂 (White and Pollack, 1995)。淀粉可以转化成多种甜味剂和发酵产品，包括高果糖玉米糖浆和乙醇。玉米淀粉也可以作为一种食品组成成分，如乳制品和冰激凌，面糊食品，烤制食品，汤料、酱油和浓汤，沙拉，肉、禽、鱼制品、糖果和饮料等等。

干磨粉是一个术语，通常指下列三种加工方法中的一种：

- 1) 石磨法 (在非洲、拉丁美洲和亚洲广泛采用)；
- 2) 干磨乙醇法；
- 3) 调温去胚芽系统 (TD)。

在食品加工工业里，TD 系统法得到了最广泛的采用，常见的产品是粗磨谷粉、粗粉、面粉、油和饲料 (OECD, 2002)。

(ii) 饲料产品

玉米籽粒里含有的代谢能是牲畜饲料里使用的各种谷物中最易于代谢的能量 (Ensminger et al., 1990)。玉米籽粒里有大约 83% 的碳水化合物，它们以淀粉、戊聚糖、糊精、糖、纤维素和半纤维素的形式存在。淀粉是碳水化合物馏份里最大的组分，能提供大部分能量。纤维包括纤维素和半纤维素，它们一般来说对反刍动物有效，但对非反刍动物则很难利用。玉米籽粒里有大约 4% 的油，玉米油含有大量的 18:2 亚麻酸，这是猪和家禽必需的多不饱和脂肪酸中的一种。虽然同其它谷物籽粒相比，玉米籽粒里的蛋白质含量较低，但由于它在动物日粮里所占比例较高，所以玉米蛋白是饲料中主要氨基酸的一个来源。如玉米籽粒是甲硫氨酸的良好来源，但不是赖氨酸和色氨酸的来源。甲硫氨酸和赖氨酸是家禽、猪和其它牲畜以玉米为主要成分的饲料中两个最重要的限制性氨基酸 (NRC, 2001)。

作为湿法和干法磨粉的副产品，玉米面筋粉、淀粉渣和蒸馏干酒糟是牲畜饲料的重要成分。玉米淀粉渣和面筋粉是湿法磨粉的副产品，可掺入动物饲料中。

面筋里蛋白质含量较高（60%），是类胡萝卜素的重要来源。它通常用于牛、鱼、家禽、宠物和其它动物饲料，主要用在家禽的日粮里。玉米淀粉渣（湿的或者干的）是极好的饲料，其淀粉和油含量低，可消化纤维含量高，是蛋白质（20%）的重要来源，主要用于奶牛和肉牛的日粮里。

除籽粒外，玉米还可用于青贮饲料，而青贮饲料作为重要的适口性能源，是饲养场和奶牛场的一种主要的饲草成分（Newcomb, 1995）。

1.1.7 在国内的应用情况；

玉米早在 16 世纪就来到了中国，是早期的欧洲传教士带来的。最初在中国东部沿海地区—福建省的丘陵和山区种植，十七世纪传遍了中国各地。目前，玉米在中国的许多省份都有种植（Rozelle and Carter, 2001）。

玉米在中国的农业生产结构中起着重要的作用，是优良的饲料、重要的的工业原料和优质的粮食作物。中国是世界上最重要的玉米生产国之一，玉米的播种面积和总产量位于水稻和小麦之后，是第三大作物。玉米分布在北纬 50°—20° 间由东北至西南一个狭长的地带，包括 14 个省、市、自治区。中国玉米带可分为 6 个产区：I. 北方春播玉米区；II. 黄淮海夏播玉米区；III. 西南山地玉米区；IV. 南方丘陵玉米区；V. 西北灌溉玉米区和 VI. 青藏高原玉米区（详见 1.3.1 部分和图 1）。其中，前 3 个产区占玉米播种总面积的 80%。

历史上，玉米单独或与其它谷类粮食一起制作各种中国人喜食的食品（如玉米饼、面包、蛋糕等）。鲜玉米（包括普通玉米和甜糯玉米）可直接食用。在过去的 20 年间，玉米成为最重要的饲料作物之一。玉米作为原材料可生产 300 多种工业产品，或作为制药的原料。玉米作物的终端用途在迅速地变化；玉米正在越来越多地用于大型养猪场和家禽场，而不再仅仅是一种粮食作物或者农家院养猪养鸡的饲料（Rozelle and Carter, 2001）。在中国，大约 75% 的玉米用于动物饲料，其余的用于人类消费和工业用途（USDA-ERS, 2000）。

1.1.8 对人类健康和生态环境是否发生过不利影响；

玉米原产于墨西哥，早在公元前 2700 年就作为粮食作物进行种植了（Salvador, 1997）。几百年来，一直是动物饲料和人类的主食。玉米籽粒及其加工品可以用在各种食品和动物饲料产品里。食用玉米时发生的过敏反应极为少见；研究最多的是同脂类传递蛋白质有关的课题（Pastorello et al., 2000）。此外，玉米里不含毒素或者抗营养因子（Watson, 1982; White and Pollak, 1995）。

玉米在全世界广泛地种植，人们认为它不是一种持久性杂草或者是一种难于防治的杂草。正如我们今天所知，玉米不能在野生环境里存活，因为其雌性花序（果穗）能限制种子的传播。

迄今为止，种植玉米、食用玉米（包括食用含有玉米成分的食品）、作为饲料或用于工业用途，都未见对人类或动物的健康及生态环境产生过不利影响的报道。

1.1.9 从历史上看，受体植物演变成有害植物（如杂草等）的可能性；

玉米是起源于西半球为数不多的主要作物物种之一。虽然玉米已得到了广泛的研究，但是公认的玉米血亲目前还没有找到。墨西哥类蜀黍极有可能在玉米的遗传背景里起了重要的作用。从一个野生杂草物种转化成一个依靠人类得以生存的栽培驯化物种，在西半球土著居民那里经历了很长的时间才得以完成。正如我们今天所知，与杂草不同，玉米不能在野生环境里存活，因为其雌性花序（果穗）能限制种子的传播，因此栽培玉米不具有成为杂草倾向。

1.1.10 是否有长期安全应用的记录。

如前所述，玉米原产于墨西哥，早在公元前 2700 年就作为粮食作物进行种植了（Salvador, 1997）。长期以来，玉米一直是动物和人类的主食，因此证明了它用于食品具有长期的安全使用史。

1.2 受体植物的生物学特性：

1.2.1 是一年生还是多年生；

玉米是一年生栽培种。

1.2.2 对人及其他生物是否有毒，如有毒，应说明毒性存在的部位及其毒性的性质；

玉米不含有毒物质，对动物和人类健康是安全的。但根据 OECD（2002），玉米里有几个人们熟知的抗营养因子，包括植酸、2,4-dihydroxy-7-methoxy-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one（DIMBOA）、棉子糖，以及胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶的抑制因子。

植酸存在于玉米内，它能螯合矿物营养元素，包括钙、镁、钾、铁和锌，使单胃动物无法有效吸收这几种矿物质（Liener, 2000）。同时认为植酸对于动物，特别是非反刍动物，是一种重要的抗营养因子，因为它能降低磷的生物学有效性。饲料企业在生产加工时通常要向猪和家禽饲料中添加植酸酶，以提高饲料中磷的利用率。

DIMBOA 属于一组代谢物，即氧胍酸和酚类化合物，通常可以在谷类植物中发现。DIMBOA 里的葡萄糖苷，即 DIMBOA-glc，是在玉米最初发育阶段存在于地上部绿色组织和根部组织里的这类化合物中最重要的一种（Cambier et al., 2000）。DIMBOA-glc 在受伤的植物组织里，利用酶去除葡萄糖苷，变成 DIMBOA，后者对昆虫有毒性（OECD, 2002）。

棉子糖是一种低分子量的碳水化合物，由于食用后它能产生气体造成肠胃气胀，人们认为它是一种抗营养因子（Maynard et al., 1979）。玉米还含有少量的胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶的抑制因子，人们认为这二个因子都不具有营养重要性（White and Pollak, 1995）。

1.2.3 是否有致敏原，如有，应说明致敏原存在的部位及其致敏的特性；

玉米不是常见的致敏食品。目前很少有关食用了玉米产品后发生过敏反应报道（OECD, 2002）。过去的 7 年中，在美国只报道过二例（Pauls and Cross, 1988; Tanaka et al., 2001）。Jones 等（1995）研究表明，许多表现为对籽粒过敏的个人，

实际上是对花粉过敏，这些人里有大约 80% 的人进行了食物攻击试验，并没有产生临床症状。此外，那些发生籽粒过敏反应的人，一般对小麦蛋白质发生过敏反应(~75%)，对玉米的过敏反应极少（一百多位病人中不到六位向该小儿科过敏反应专科中心报告发生了过敏反应）。

来自于意大利的二份最新报告(Pasterello *et al.*, 2000; Pasini *et al.*, 2002)表明，有一些过敏病人出现的食品过敏反应，同食用包括玉米粥在内的玉米产品出现的过敏反应症状相一致，其中来自拿波里的6位病人轻度食品攻击结果呈阳性(Pasini *et al.*, 2002)。但是，上述意大利研究中所报告的病人，通常对杂草、*prunidae* 类植物产生的花粉、籽粒及香料等，都会发生多重过敏反应。多重过敏反应使得临床上识别特定病例的致敏原时不太可靠；由于过敏反应之间或多或少潜在的交叉作用，使得皮试诊断和离体 IgE 结合试验更为复杂。目前，还没有足够的证据来了解在意大利或地中海地区玉米产品过敏反应流行的特点，也还没有来自于世界其他地区的、关于玉米食品过敏反应的报告实例。这表明，由于使用玉米及其衍生产品，对人类造成过敏反应的风险很可能是很低的。

1.2.4 繁殖方式是有性繁殖还是无性繁殖，如为有性繁殖，是自花授粉还是异花授粉或常异花授粉；是虫媒传粉还是风媒传粉；

玉米是有性繁殖作物，主要是风媒授粉，虫媒传粉较少。是自交、杂交均亲和的物种(Wilkes, 1972 and 1989)。自花授粉导致同一植株内遗传特征的纯和性，而异花授粉能结合许多植株的遗传特点，这一自交一杂交的概念和由此而来的产量反应构成了现代玉米种子业的基础。有生命力的花粉可以传播的距离取决于湿度、温度、风向、风力等因素。

1.2.5 在自然条件下与同种或近缘种的异交率；

玉米是典型的风媒授粉植物，产生大量的花粉，使穗上胚珠成功地受精（戈斯，1968；基塞尔巴赫，1949）。玉米田间风的运动使雄穗的花粉落在同一或毗邻植株的花丝上。玉米花粉直径 0.1mm，在正常的从较低高度靠风媒传播的花粉中是最大的。这种大颗粒和迅速沉降影响了玉米花粉的传播（雷纳等，1972）。

只有少数植物种类能和玉米杂交，能杂交的均属美洲大陆物种类。玉米和墨西哥类蜀黍（*Zea mays ssp. mexicana* Schrad.）从遗传角度来看是相容的，在墨西哥和危地马拉某些地区，两种植物如长得靠近能自由进行杂交（德布莱和伊尔蒂斯，1980）。大刍草（teosinte）也很容易和玉米进行有性杂交，杂种一代表现出高度可育，且能自交和回交。玉米能十分困难地同多种三囊草属(*Tripsacum*)植物杂交，但杂交后代为雄性不育。大田未曾发现三囊草—玉米杂交种，三囊草—墨西哥类蜀黍也未曾产生过(古德曼，1995)。

1.2.6 育性（可育还是不育，育性高低，如果不育，应说明属何种不育类型）；

玉米是可育植物，总地来说玉米基因型是相容的，任何传递的花粉均有产生种子的潜力。在自然条件下有许多因素可以引起玉米的雄花不育，如高温、干旱、辐射、化学药物处理以及营养元素缺乏等。

1.2.7 全生育期;

(i) 温度和生育期

玉米是一年生植物，其生育期的长短取决于品种特性及其生长的环境 (Hanway and Ritchie, 1982)。在生长点露出地面 (5 叶到 7 叶阶段) 之后，在低于 0°C 的温度下，玉米的存活时间不超过 6 至 8 小时。冻害的程度取决于低于 0°C 的温度的时间长短、土壤条件、残茬、低温期的长短、风向、相对湿度和植物发育阶段。在温带地区晚春时的轻霜冻可以引起叶片损伤，也影响玉米灌浆。因此，玉米能否完成生命期取决于平均无霜期的长短。一般早熟品种到晚熟品种生育期约从 90 天—130 天不等。

无霜期的长短决定了生育期不同的玉米品种在不同纬度地区种植。相关的成熟期也取决于生育期间的气候条件、地形、大型水体和土壤类型 (Troyer, 1994)。

同一品种的成熟期在同一年不同的种植地点有所不同，在同一地点不同年份也稍有不同，这取决于从种植到收获经历的环境条件。

(ii) 生长发育阶段

玉米自播种至成熟经历了营养生长 (V) 和生殖生长 (R) 阶段 (Kumudini and Tollenaar, 1998)。这个过程可进一步分为许多阶段，以下作一个简要的介绍：

苗期 (VE-V5): 由于中胚轴迅速生长使得玉米出土。随后，胚叶开始通过胚芽鞘尖长出来，50% 以上玉米苗高 2-3cm 以上称为出苗。苗期是以生根、长叶、茎节分化为主的营养生长阶段，一般历时 20-35 天不等

拔节期至抽雄期 (V6-VT): 玉米生长点位于地面以上，茎迅速伸长为拔节。拔节是由玉米由营养生长转向营养生长与生殖生长并进的时期。至最后一叶片长出，雄穗出现，玉米达到最大株高。一般历时 27-30 天。

吐丝期 (R1): 当花丝在苞叶外面可见，抽丝即告开始。在这一阶段胚珠外观白色，内部清晰可见，含有很少的液体，胚不可见。在抽丝前后的二周是玉米植株的生命周期里对环境逆境最敏感的阶段。在这一阶段，在逆境条件下常见籽粒败育。败育造成的籽粒数目的减少会造成严重减产。

水泡期 (R2): 吐丝后大约 10-14 天，水泡期及开始。其特点是籽粒的穗轴上有淡白色的水泡状籽粒，里面的胚乳含有透明的液体，而胚形状较小但可以分辨出来。花已经完成了授粉受精功能，开始干枯。

乳熟期 (R3): 花丝形成后大约 18-22 天，籽粒外观为黄色，随着淀粉在胚乳里开始积累，其内为乳状白色液体。此时通过解剖，胚易于辨认。乳熟期穗粒数已经确定，籽粒中干物质的积累是影响产量的主要因素。

蜡熟期 (R4): 花丝形成后大约 24-28 天，随着淀粉在胚乳内持续积累，使籽粒内部乳状液体变稠，形成“团样”液体，蜡熟阶段即告开始。

凹陷期 (R5): 花丝形成后大约 35-42 天，全部或部分籽粒顶部开始凹陷，在籽粒的凹陷端附近，出现了一条明显的水平线，它是成熟籽粒液体 (乳) 区和固体 (淀粉) 区的分界线，成为“乳线”。随着籽粒的成熟，“乳线”将向着籽粒的

基部（穗轴方向）移动。当浆线在籽粒的顶部和基部之间达到 50%时，籽粒即为 40-45%含水量，并且已经达到了其最终干物质重的 95%。

完熟期 (R6): 花丝形成后大约 55-65 天，籽粒的干物质达到最大值，籽粒即达到生理性成熟。在籽粒的乳线消失后不久，籽粒基部形成黑层，就达到了完熟期阶段。黑层首先在果穗顶部籽粒出现，随后基部籽粒逐步产生。黑层出现后籽粒的平均含水量为 30-35%，但可以随着环境条件的不同而有所变化。

1.2.8 在自然界中生存繁殖的能力，包括越冬性、越夏性及抗逆性等。

玉米是一年生植物，被认为没有也不可能演化为杂草。种子是唯一有生存力的构造。玉米种子的生存取决于温度、种子的湿度、基因型、苞叶的保护和发育阶段(罗斯曼, 1949)。极冷的温度对玉米种子发芽有不良作用，被视为玉米种子生产的主要危险(威奇, 1988)。有报告说，高于 45°C 的温度对玉米种子的成活力也有损害(克雷格, 1977)。在玉米开花期持续高温(38°C 以上)会影响花粉的生活力，进而降低玉米的结实率。玉米是比较耐旱的作物，其抗旱性主要表现在苗期，但玉米的耐盐性不高。

1.3 受体植物的生态环境:

1.3.1 在国内的地理分布和自然生境:

玉米在中国分布很广，南起海南岛，北到北纬 50° 的黑龙江，东起台湾及沿海各省，西到新疆、青藏高原，都有玉米栽培。东北及西南高寒山区为春播玉米，黄淮海流域为夏播玉米，在广西、海南等省可一年两季种植。根据各地气候条件、生产条件和种植制度，从东北到西南的狭长带状区域内，形成了中国玉米的主要种植区，即北方春播玉米区、黄淮海夏播玉米区、西南山地玉米区、南方丘陵玉米区、西北灌溉玉米区、青藏高原玉米区。

1. **北方春播玉米区:** 玉米主产区，占播种总面积的 39.2%，占总产的 43.8%。该区包括黑龙江、黑龙江、辽宁、宁夏，内蒙古、山西大部，河北、陕西和甘肃北部，生态条件和生产条件都适合玉米生长，地势平坦，土壤肥沃，光照充足，无霜期 130—170 天，年降雨量 400—800mm（60%降雨在 6—9 月间）。一年一熟。

2. **黄淮海夏播玉米区:** 玉米主产区，占播种总面积的 32.7%，占总产的 35.5%。该区包括山东和河南、河北大部、山西中南部、陕西关中地区和江苏徐淮地区，是玉米的集中产区。水资源丰富，黄河、淮河和海河横穿该区，年降雨量为 170—220mm（70%降雨在夏季），水浇地面积达 50%。一年两熟。

3. **西南山地玉米区:** 玉米主产区，占播种总面积的 18.4%，占总产的 13.4%。该区包括四川、云南和贵州省、陕西南部、广西西部高原地区、湖南、湖北和甘肃部分地区。山地占该区的 90%，地形复杂。无霜期为 240—330 天，降雨量为 800—1200mm。该区种植的玉米易受生物和非生物因素（如干旱和病虫害）的危害。一年一熟或一年多熟。

4. **南方丘陵玉米区:** 该区面积广大，包括广东、海南、浙江、江苏和安徽南部、广西东部、湖南和湖北省。该区主要种植水稻，玉米面积较小，只占 3.2%，产量只占总产的 2.2%。该区位于热带和亚热带地区，无霜期 220—360 天，降雨量

1000—1800mm，适合玉米生长。一年三熟或一年四熟。

5. **西北灌溉玉米区：**该区为干旱地区，降雨量低于 200mm，包括新疆、河西甘肃走廊、宁夏河套地区。这一地区的作物主要靠灌溉。无霜期 130—180 天。玉米播种面积占 3%。一年一熟。

6. **青藏高原玉米区：**该区位于高纬度地区，包括青海省和西藏自治区、四川西部和云南北部地区。玉米栽培历史较短，播种面积很小。

1.3.2 生长发育所要求的生态环境条件，包括自然条件和栽培条件的改变对其地理分布区域和范围影响的可能性；

由于玉米有诸多不同的类型，因此不同气候条件的广泛范围内均有种植。玉米的主要产地在纬度 30 度和 55 度之间，世界各地，包括中国在内，高于纬度 47 度的地区种植较少（肖，1988）。玉米生产的最佳时期是最热月份的等温线在 21 和 27°C 之间，无冻期在 120 至 180 天之间。15 厘米的夏季降雨量约为无灌溉条件下玉米生产的降雨下限，玉米生长期间的降雨量并无上限，但过多的降雨会导致减产。光照、水分、温度及土壤条件对玉米生长发育均有影响。

1.3.3 是否为生态环境中的组成部分；

玉米不是自然生态环境中的组成部分，但是已成为农业生态系统中一个重要组成部分。正如在 1.1.7 节里讨论的那样，玉米早在 16 世纪就被欧洲传教士引入中国。最初在中国东部沿海地区的福建省丘陵区 and 山区种植。之后，又在十七世纪传遍了全国各地（Rozelle and Carter, 2001）。目前，玉米在中国的大多数省份都有种植（1.3.1 节）。

1.3.4 与生态系统中其他植物的生态关系，包括生态环境的改变对这种（些）关系的影响以及是否会因此而产生或增加对人类健康和生态环境的不利影响；

玉米是异花授粉作物，在中国大部分省份都有种植。

如前所述，某些墨西哥类蜀黍物种可以同玉米杂交产生可育后代，但是墨西哥类蜀黍只生长在墨西哥和危地马拉(Sánchez-González and Ruiz-Corral, 1997)。摩擦禾可以同玉米杂交，但极为不易。并且杂交种具有高度的不育性，在遗传学上不具稳定性 (Mangelsdorf, 1974)。此外，玉米没有杂草特性，不能有效地侵袭现有的生态系统。因此，生态环境的改变将不可能对玉米产生任何生态效应，如演化为侵袭性杂草或因其稀有物种的灭绝等。人们预计，玉米和其它作物植物的生态学关系不会由于生态环境的变化而发生改变。

1.3.5 与生态系统中其他生物（动物和微生物）的生态关系，包括生态环境的改变对这种（些）关系的影响以及是否会因此而产生或增加对人类健康或生态环境的不利影响。

在生态系统里，玉米同土壤内外的其它生物有一定的生态学关系。玉米根系

由于其同诸多微生物群体,如细菌、真菌、放线菌(Vega-Segovia and Ferrera-Cerrato, 1996)、原生动物和螨类等有一定的关系,所以还能起到土壤调节的作用。一些有益昆虫同玉米保持生态关系,玉米同时也有一些常见的病虫害。同玉米一起存在的生物同玉米的生态学关系,其任何的变化,预计将不会对人体健康或环境产生任何的负面影响。

1.3.6 对生态环境的影响及其潜在危险程度;

玉米是栽培作物,在中国有长期的栽培历史,对生态环境不会造成风险。

1.3.7 涉及到国内非通常种植的植物物种时,应描述该植物的自然生境和有关其天然捕食者、寄生物、竞争物和共生物的资料。

玉米具有长期的栽培历史,是中国目前四大作物之一,是重要的粮食和饲料作物,因此不是非通常种植植物物种,不涉及此项。

1.4 受体植物的遗传变异:

1.4.1 遗传稳定性;

玉米是高等植物中应用较广的遗传学资料,含有较多的遗传位点,通过自交和回交可以稳定遗传。

玉米进化成为自由授粉作物物种后,直到二十世纪,玉米栽培品种才成为今天意义上的异化授粉作物。哥伦布发现新大陆之前,当地的土著人利用简单的群体选择,培育某些品种。在今天看来,他们的选育方法极简单,但这些选择方法能十分有效地培育品种、品系,以满足他们对食物、燃料、饲料和文化的需求。随着西半球文化的发展,发现了品种间杂交育种方法,由此利用遗传变异能力,培育独特的品种。

十九世纪二十年代,奠定了杂交玉米育种基础理论。通过进行玉米品种遗传组成的基础研究,以确定某个特定玉米品种内的自花授粉效应(Shull, 1909)。玉米单株连续 7 至 10 代的自花授粉,培育出了纯系(即自交系),在这个纯系群体中每个植株都有相同的遗传特性。孟德尔遗传学理论对在近交过程中发生的遗传变化进行了正确解释:通过自交,使每个基因位点上杂合等位基因的逐步纯合,形成纯系。在纯系里等位基因的纯合,使活力和生产力普遍下降。

在二个纯系进行杂交时,人们发现后代生活力又得到恢复。如果在自交的过程中没有进行选择,则各种可能出现的杂交种的平均生产能力(如籽粒产量)和开始用来自交的品种的生产性能近似。但是,某些杂交种优于原始的自由授粉品种,并且可以通过杂交种的纯系亲本的杂交而进行繁殖。于是,确定了杂交玉米的理论:自交培育纯系、纯系杂交以产生杂交种,然后通过杂交种评价筛选,并利用纯系亲本生产优良杂交种,最后将这个杂交种提供农民使用(Shull, 1909)。

1.4.2 是否有发生遗传变异而对人类健康或生态环境产生不利影响的资料;

在玉米育种过程中,育种家利用诱变、杂交等手段创造新的遗传变异,用来

选育新品种。玉米在自然条件下也会产生一些遗传变异，育种家也经常有目的选择、利用这些自然变异进行品种改良。目前未见这些遗传变异对人类或环境产生不利影响的资料。

1.4.3 在自然条件下与其他植物种属进行遗传物质交换的可能性；

基因飘移过程中，能够通过正常有性传播实现基因渐渗，必须具备一定的条件：

1) 两个亲本必须有性亲合；2) 必须有重叠的物候学特性；和 3) 必须有适当的花粉载体，它能在两个亲本之间传递花粉。

玉米和一年生墨西哥类蜀黍具有遗传亲合性。在墨西哥和危地马拉，距离较近时，通过风媒传粉可以自由杂交。但在中国没有墨西哥类蜀黍。

玉米与近缘种大刍草具有进行遗传物质交换的可能性以外，但是也有证据表明由大刍草向玉米转移基因受到严格的限制 (Doebley et al. 1987)。

在野生条件下，玉米同三囊草属杂交是极为困难的，因为三囊草属对生境的要求类似于墨西哥类蜀黍，在中国没有三囊草属。

1.4.4 在自然条件下与其他生物（例如微生物）进行遗传物质交换的可能性。

未发现任何关于遗传物质由玉米向其他物种通过种间有性杂交传递遗传物质的报道。理论上讲，遗传物质通过水平传递到其它生物是可能的，但在自然条件下，从植物向动物或者微生物的水平基因传递，在试验上目前还没有得到证实 (Bertolla and Simonet, 1999; Nielsen et al., 2000)。

1.5 受体植物的监测方法和监控的可能性。

目前对玉米的改良、生产和利用无论从科学研究还是生产实践，都已经有了比较完整的、科学的理论和方法，能采用田间调查和管理等方法对玉米进行有效地监测和监控。

1.6 受体植物的其他资料。

有关玉米的其他资料可以从相关的教材、科技书籍、网站等信息渠道上获得。

1.7 根据上述评价，参照本办法第十一条有关标准划分受体植物的安全等级。

如上所述，玉米对人体或动物没有毒性，并且看来不会变成杂草，所以，玉米对环境产生负面效应或者演变成有害生物的可能性是极小的。因此，根据农业转基因生物安全管理办法第十一款列出的标准，受体植物玉米应属安全等级 I 级。

2 基因操作的安全性评价

2.1 转基因植物中引入或修饰性状和特性的叙述。

最初开发 MON810 抗虫玉米时，利用基因枪法将含有 PV-ZMBK07 和 PV-ZMGT10 两种质粒载体的混合物同时轰击玉米受体，这两个转化载体包含以下基因：1) *cry IAb* 基因 (HoRe 和 Whiteley, 1989)；2) CP4 5-烯醇丙酮莽草酸-3-磷酸合成酶 (CP4 EPSP) 基因 (Padgett 等, 1993)；3) 草甘膦氧化还原酶基因 (*gox*) (Padgett 等, 1994)；4) 由细菌特异性启动子启动的 *nptII* 基因。通过对抗虫玉米 MON 810 的分子生物学分析证实，该品系仅插入了 PV-ZMBK07 载体的 *cryIAb* 基因，而不含有另一个载体 PV-ZMGT10 所含有的 CP4 EPSP 合成酶基因、*gox* 基因，也不含有两个转化载体所含有的 *nptII* 基因。另外，在该品系中没有发现 PV-ZMGT10 载体 DNA 序列的插入。抗虫玉米 MON 810 基因组中含有一段整合 DNA 序列，该序列位于一段 5.5Kb 的 NdeI 酶切片段上，该片段包含 E35S 启动子、玉米 *hsp70* 的内含子和 *cry IAb* 基因。

cryIAb 基因是从自然界广泛存在的土壤细菌苏云金芽孢杆菌 (*Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki*) HD-1 菌株克隆得到的，其表达产物 Cry1Ab 蛋白能够有效地控制特定的鳞翅目害虫。

2.2 实际插入或删除序列的以下资料：

2.2.1 插入序列的大小和结构，确定其特性的分析方法；

MON 810 抗虫玉米包含一个具有功能性的 *cryIAb* 表达单元，包括一个在 5' 末端的 e35S 启动子和一个在 3' 末端的 *cryIAb* 基因。通过 PCR 试验证明，e35S 启动子的大小为 299 bp，*cryIAb* 编码区域大小为 2448 bp，二者之间还有 1 个来源于热激蛋白 *hsp70* 的内含子序列，大小为 804 bp。插入序列中未包含终止子，但一个翻译的终止密码出现在 *cryIAb* 片段末端下游的 9 bp 区。插入序列两端的切割并不会影响表达蛋白的杀虫活性。插入序列的大小和结构见图 1。

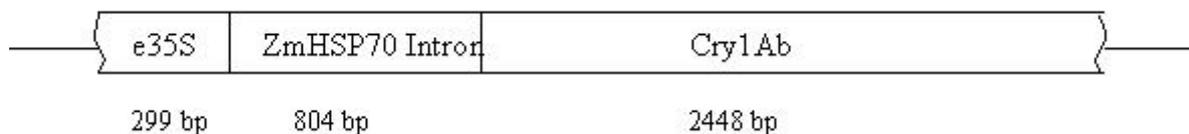


图 1. MON 810 转化体中插入序列结构示意图

此外，PCR 检测也确定并验证了插入序列的侧翼基因组 DNA 序列。MON810 插入序列以及插入 5'-和 3'-端侧翼基因组 DNA 序列见图 2~图 4。

图 2. 抗虫玉米 MON810 插入序列（商业保密资料）

涉及商业保密资料，在本公开版本中已删除

图 3. MON810 插入序列 5' 端侧翼序列 (商业保密资料)

涉及商业保密资料, 在本公开版本中已删除

图 4. MON810 插入序列 3' 端侧翼序列 (商业保密资料)

涉及商业保密资料, 在本公开版本中已删除

2.2.2 删除区域的大小和功能;

抗虫玉米 MON810 通过基因枪转化, 导入 *CryIAb* 抗虫基因, 从而能抵抗玉米螟等鳞翅目害虫的危害, MON810 玉米开发过程中的转基因操作过程没有发生玉米基因组序列的删除。

2.2.3 目的基因的核苷酸序列和推导的氨基酸序列;

A、*CryIAb* 基因的核苷酸序列 (商业保密资料)

图 5. *CryIAb* 基因的核苷酸序列 (商业保密资料)

涉及商业保密资料, 在本公开版本中已删除

B、由 *CryIAb* 基因推导的氨基酸序列

```

1 MDNPNINEC IPYNCLSNPE VEVLGGERIE TGYTPIDISL SLTQFLLSEF
51 VPGAGFVLGL VDIIWGIFGP SQWDAFLVQI EQLINQRIEE FARNQAI SRL
101 EGLSNLYQIY AESFREWEAD PTNPALREEM RIQFNDMNSA LTTAIPLFAV
151 QNYQVPLLSV YVQAANLHLS VLRDVSVFGQ RWGFDAATIN SRYNDLTRLI
201 GNYTDHAVRW YNTGLERVWG PDSRDWIRYN QFRRELTLTV LDIVSLFPNY
251 DSRTYPIRTV SQLTREIYTN PVLENFDGSF RGSAQGIEGS IRSPHLM DIL
301 NSITIYTD AH RGEYYWSGHQ IMASPVGFSG PEFTFPLYGT MGNAAPQQR I
351 VAQLGQGVYR TLSSTLYRRP FNIGINNQQL SVLDGTEFAY GTSSNLPSAV
401 YRKSGTVDSL DEIPPQNNNV PPRQGFSHRL SHVSMFRSGF SNSSVSIIRA
451 PMFSWIHRSA EFNNIIPSSQ ITQIPLTKST NLGSGTSVVK GPGFTGGDIL
501 RRTSPGQIST LRVNITAPLS QRYRVIRIYA STTNLQFHTS IDGRPINQGN
551 FSATMSSGSN LQSGSFRTVG FTTPFNFSNG SSVFTLSAHV FNSGNEVYID
601 RIEFVPAEVT FEAEYDLERA QKAVNELFTS SNQIGLKT DV TDYHIDQVSN
651 LVECLSDFEC LDEKKELSEK VKHAKRLSDE RNLLQDPNFR GINRQLDRGW
701 RGSTDITIQG GDDVFKENYV TLLGTFDECY PTYLYQKIDE SKLKAYTRYQ
751 LRGYIEDSQD LEIYLIRYNA KHETVNVPGT GSLWPLSAPS PIGKCAHSHS
801 HFSLDIDVGC TDLNEDFR

```

图 6. *CryIAb* 蛋白的推导氨基酸序列

2.2.4 插入序列在植物细胞中的定位（是否整合到染色体、叶绿体、线粒体，或以非整合形式存在）及其确定方法；

利用 Southern 杂交、PCR 方法，证明 MON 810 中的 *cryIAb* 基因都整合到玉米基因组 DNA 中，未整合到叶绿体、线粒体上，也不以非整合形式存在。

2.2.5 插入序列的拷贝数。

如前所述，最初开发抗虫玉米 MON 810 时采用了两个载体质粒 PV-ZMBK07 和 PV-ZMGT10，这两个转化载体包含如下基因：1) *cry IAb* 基因 (HoRe 和 Whiteley, 1989)；2) CP4 5-烯醇丙酮莽草酸-3-磷酸合成酶 (*cp4 epsps*) 基因 (Padgett 等, 1993)；3) 草甘膦氧化还原酶基因 (*gox*) (Padgett 等, 1994)；4) *nptII* 基因，由细菌特异性启动子启动。通过对抗虫玉米 MON 810 的分子生物学分析可以确定，该品系仅插入了 PV-ZMBK07 载体的 *cry IAb* 基因，不含 *cp4 epsps* 基因、*gox* 基因和 *nptII* 基因。另外，在该品系中没有发现 PV-ZMGT10 载体 DNA 序列的插入。此外，对 MON 810 不同育种世代中性状分离情况的研究也表明 *cryIAb* 基因可以稳定存在于多个世代中，且分离比率符合单一基因座单拷贝插入的遗传分离规律。

MON810 插入拷贝数分析

用 *Nde I* 消化对照玉米 MON 818 和抗虫玉米 MON 810 基因组。*Nde I* 酶切的目的是为了确定抗虫玉米 MON 810 基因组中 DNA 插入位点的数目。质粒 PV-ZMBK07 和 PV-ZMGT10 的 DNA 上不含 *NdeI* 的酶切位点，因此用此酶可以切开插入的外源序列之外的基因组 DNA 序列，释放出由插入的外源 DNA 以及邻近的玉米基因组 DNA 所组成的片段。作为对照的 MON 818 的基因组 DNA 和 MON 810 的基因组 DNA 经 *NdeI* 酶切后，以质粒 PV-ZMBK07 的 DNA 为探针进行检测。检测结果如图 7 所示。对照 MON 818 的 DNA（第 1 泳道）在分子量大小为 21.0 Kb 的位置上产生了一条很浅的、呈弥散形的条带。该条带是一条背景带，因为在对照组 MON818 和样品 MON 810 的 DNA 中均检测到这条带的存在。MON 810 在分子量约为 5.5 Kb 的位置，检测到一个条带（第 2 泳道）。这一结果表明，转基因抗虫玉米 MON 810 包含有整合的外源 DNA 的一个片段。插入的 DNA 序列加上其邻近的两个 *Nde I* 酶切位点之间的玉米基因组 DNA 序列的大小约为 5.5 Kb。

CryIAb 基因完整性的 Southern 杂交分析

NcoI/EcoRI 双酶切消化对照玉米 MON 818 和抗虫玉米 MON 810 的基因组 DNA，以切下 *cryIAb* 基因。将上述 DNA 经 *NcoI/EcoRI* 双酶切消化后，以 *cryIAb* 为探针进行 Southern 印迹检测。检测结果如图 8 所示，见 1-3 泳道。第 1 泳道为阳性对照，在分子量为 3.46 Kb 的位置检测到有相应 *cryIAb* 基因大小的条带存在。由于质粒 DNA 未与阴性对照玉米基因组 DNA 混合，因此检测到的条带的大小较其真实的分子量略大一些。阴性对照玉米 MON 818 基因组 DNA（第 2 泳道）中未检测到任何信号条带，与预期结果一致。而在 MON 810 的基因组 DNA（第 3 道）中检测到一个条带，分子量约为 3.1 Kb。*NcoI/EcoRI* 酶切后，以 *cryIAb* 基因为探针进行检测，可以检测到在其基因组 DNA 中存在有一分子量约为 3.1 Kb 的 *cryIAb* 基因，可以编码有活性的抗虫蛋白 Cry1Ab (Hofte et al., 1986)。

PV-ZMGT10 质粒元件及 PV-ZMBK07 骨架序列的 Southern 杂交分析

***cp4 epsps* 基因:**

NcoI/BamHI 双酶切消化质粒 DNA (PV-ZMBK07 和 PV-ZMGT10) 和抗虫玉米 MON 810 基因组 DNA, 以切下 *cp4 epsps* 基因。以上 DNA 经 *NcoI/BamHI* 双酶消化后, 以 *cp4 epsps* 基因为探针进行了 Southern 印迹检测。结果如图 9 的泳道 1 和 2 所示。在约 50 pg 的 PV-ZMBK07 和 PV-ZMGT10 的 DNA 混合物 (第 1 道) 中检测到一条分子量为 3.1 Kb 的条带, 该条带与预期从质粒 PV-ZMGT10 上切下的 *cp4 epsps* 片段大小一致。而 MON 810 的基因组 DNA (第 2 道) 中未检测到与 *cp4 epsps* 探针杂交的片段, 表明该抗虫玉米系不含有 *cp4 epsps* 基因。

***gox* 基因:**

NcoI/BamHI 双酶消化质粒 DNA (PV-ZMBK07 和 PV-ZMGT10) 和抗虫玉米 MON 810 基因组 DNA, 以切下 *gox* 基因。以上 DNA 经 *NcoI/BamHI* 双酶消化后, 以 *gox* 基因为探针进行 Southern 印迹检测。结果如图 9 第 3、4 道所示。约 50 pg 的 PV-ZMBK07 和 PV-ZMGT10 的 DNA 混合物 (第 1 道) 中检测到一条分子量为 3.1 Kb 的条带, 该条带与预期从质粒 PV-ZMGT10 上切下的基因 *gox* 片段大小一致。MON 810 的基因组 DNA (第 4 道) 中未检测到与 *gox* 探针杂交的片段, 表明在该抗虫玉米系 MON 810 不含有 *gox* 基因。

上述 *cp4 epsps* 基因和 *gox* 基因的 Southern 杂交检测结果说明, 尽管 MON810 开发时通过基因枪法, 将两个质粒混合物同时轰击受体玉米基因组, 结果 PV-ZMGT10 载体元件未被导入玉米基因组。MON810 只含有来自 PV-ZMBK07 的 *cry1Ab* 抗虫基因。

PV-ZMBK07 质粒骨架序列:

NcoI/EcoRI 双酶消化质粒 PV-ZMBK07、对照组玉米系 MON818 和转基因抗虫玉米系 MON 810 基因组 DNA, 可以切下质粒骨架片段 *nptII/ori-pUC*。以上 DNA 经 *NcoI/EcoRI* 双酶消化后, 以基因 *nptII* 为探针进行了 Southern 印迹分析。结果如图 10 的 1-3 道所示。约 50 pg 的 PV-ZMBK07 质粒 DNA 分别在分子量为 2.5 Kb 和 1.8 Kb 的位置检测到两条带 (第 1 道)。这两条 2.5 Kb 和 1.8 Kb 的条带分别对应预期从载体 PV-ZMBK07 上切下的片段。阴性对照 MON 818 基因组 DNA (第 2 道) 中未检测到任何条带, 与预期结果一致。同样在玉米系 MON 810 的基因组中 (第 3 道) 也未检测到相应的条带, 表明在转基因抗虫玉米系基因组中, 未整合入载体质粒的骨架序列。

将上面的 Southern 印迹分析的膜洗掉探针后用 *ori-pUC* 片段重新进行 Southern 印迹检测。质粒 PV-ZMBK07 和 PV-ZMGT10 的 DNA (第 4 道) 检测到分子量为 1.8 Kb 的条带。这条 1.8 Kb 的条带对应于预期从载体 PV-ZMBK07 上切下的片段。阴性对照 MON 818 基因组 DNA (第 5 道) 中未检测到任何条带, 与预期结果一致。同样在玉米系 MON 810 的基因组中 (第 6 道) 也未检测到相应的条带, 表明在转基因抗虫玉米系基因组中, 并没有整合入质粒的骨架序列。上述 Southern 分析中未检测到转基因抗虫玉米系中存在 *ori-pUC* 片段和 *nptII* 基因, 表明在该玉米品系中不含有任何载体质粒骨架序列。

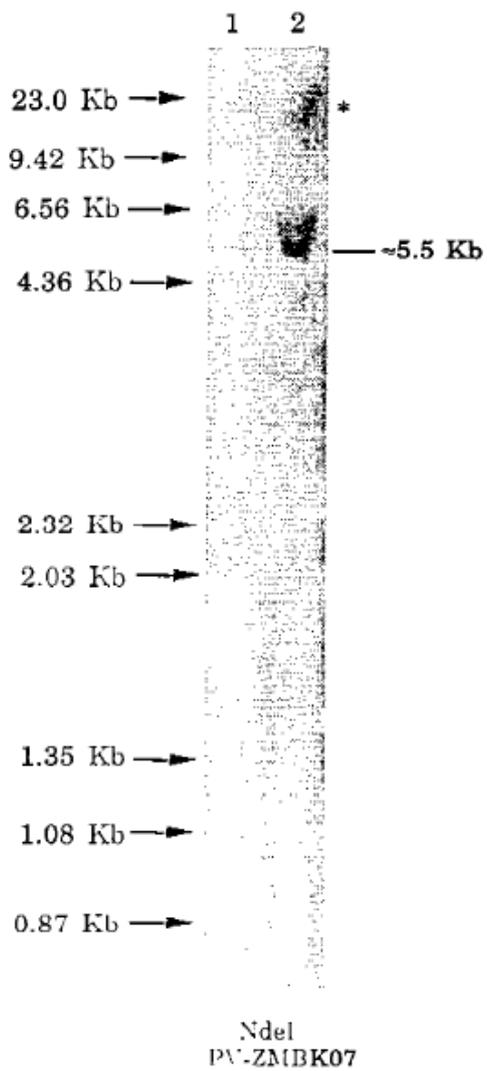


图 7. MON 810 中插入位点的 Southern 杂交分析

泳道 1 和泳道 2 分别为对照玉米 MON 818 和抗虫玉米 MON 810 基因组经 *Nde* I 酶切后与质粒 PV-ZMBK07 杂交后的结果。箭头标示分子量大小。

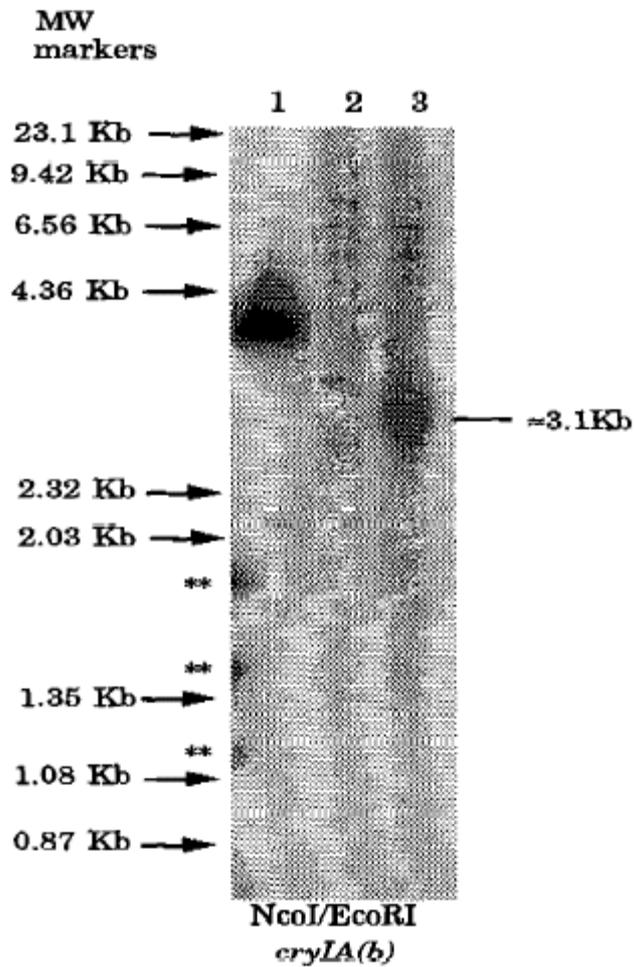


图 8. Southern 杂交分析 MON 810 中 *cryIA(b)* 基因的完整性

泳道 1-3 分别为用 *NcoI/EcoRI* 消化的 50 pg PV-ZMBK07 质粒 DNA、对照玉米 MON 818 基因组 DNA 和抗虫玉米 MON 810 基因组 DNA。

→ 标示分子量大小

— 标示目的片段大小

** 标示由于泳道 1 内容物扩散造成的与泳道 1 相邻的泳道中出现的杂交条带

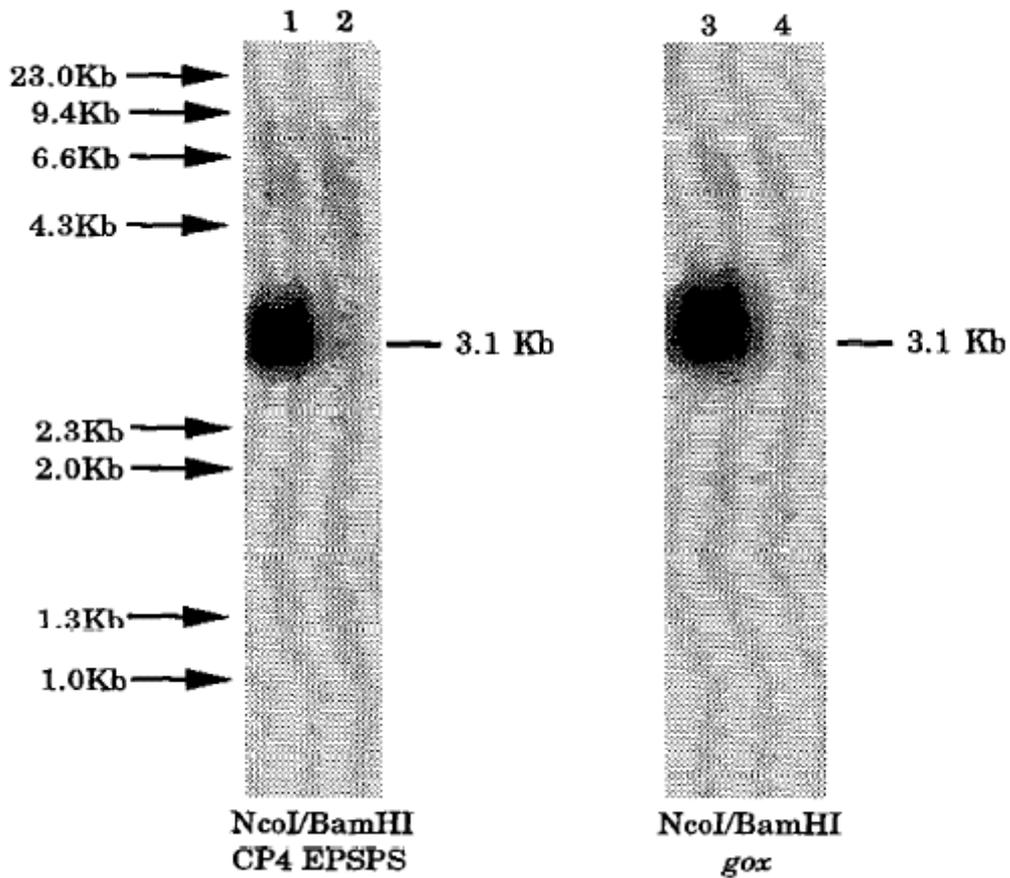


图 9. Southern 杂交分析 MON 810 中是否存在 *cp4 epsps* 和 *gox* 基因

泳道 1,3 分别为用 *NcoI/BamHI* 消化的 50pg PV-ZMGT10 和 PV-ZMBK07 质粒 DNA; 泳道 2,4 分别为用 *NcoI/BamHI* 消化的 MON 810 基因组 DNA。泳道 1,2 与 *cp4 epsps* 基因杂交, 泳道 3,4 与 *gox* 基因杂交。

→ 标示分子量大小

— 标示目的片段大小

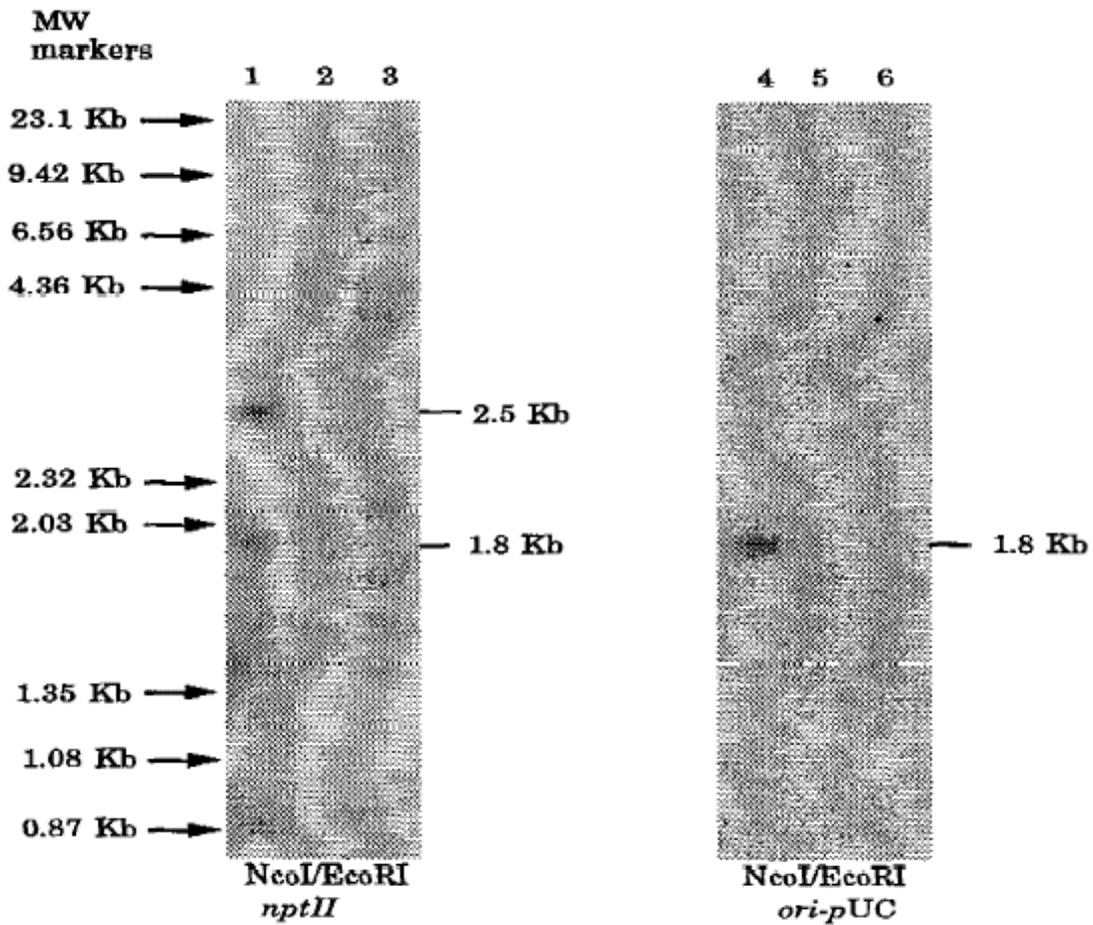


图 10. Southern 杂交分析 MON 810 中是否存在 *nptII* 基因和 *ori-pUC*
 泳道 1 和泳道 4 为用 *NcoI/EcoRI* 消化的 50pg PV-ZMBK07 质粒 DNA；泳道 2 和泳道 5 为 *NcoI/EcoRI* 消化的对照玉米 MON 818 基因组 DNA；泳道 3 和泳道 6 为 MON 810 基因组 DNA。泳道 1-3 与 *nptII* 基因杂交，泳道 4-6 与 *ori-pUC* 杂交。
 → 标示分子量大小
 — 标示目的片段大小

2.3 目的基因与载体构建的图谱，载体的名称、来源、结构、特性和安全性，包括载体是否有致病性以及是否可能演变为有致病性。

最初开发抗虫玉米 MON 810 时采用了两个载体质粒 PV-ZMBK07 和 PV-ZMGT10，这两个转化载体包含如下基因：1) *cry IAb* 基因 (HoRe 和 Whiteley, 1989)；2) CP4 5-烯醇丙酮莽草酸-3-磷酸合成酶 (*cp4 epsps*) 基因 (Padgett 等, 1993)；3) 草甘膦氧化还原酶基因 (*gox*) (Padgett 等, 1994)；4) *nptII* 基因，由细菌特异性启动子启动。通过对抗虫玉米 MON 810 的分子生物学分析可以确定，该品系仅插入了 PV-ZMBK07 载体的 *cryIAb* 基因，没有发现 PV-ZMGT10 载体 DNA 序列的插入。PV-ZMBK07 和 PV-ZMGT10 质粒载体构建图谱见图 11。

PV-ZMBK07 质粒载体括 *cryIAb* 编码序列。*cryIAb* 编码序列受增强的花椰菜花叶病毒 (CaMV) 35S 启动子 (Kay *et al.*, 1987; Odell *et al.*, 1985) 和 *hsp70* 玉米内含子 (Rochester *et al.*, 1986) 调控 *cryIAb* 编码序列的表达。3' 端为胭脂氨酸合成酶 (NOS) 基因的非编码区，用于终止转录和指导信使 RNA (mRNA) 的多聚腺苷酸化 (Fraley *et al.*, 1983)。PV-ZMBK07 质粒还包括新霉素磷酸转移酶 (*nptII*) 的编码序列 (Beck *et al.*, 1982)，用于编码细菌选择性标记，在转化中用于鉴定转化的玉米细胞，但未被转入最终受体。载体不致病，也不可能演变成致病因素。质粒 PV-ZMBK07 中的遗传元件见表 1。

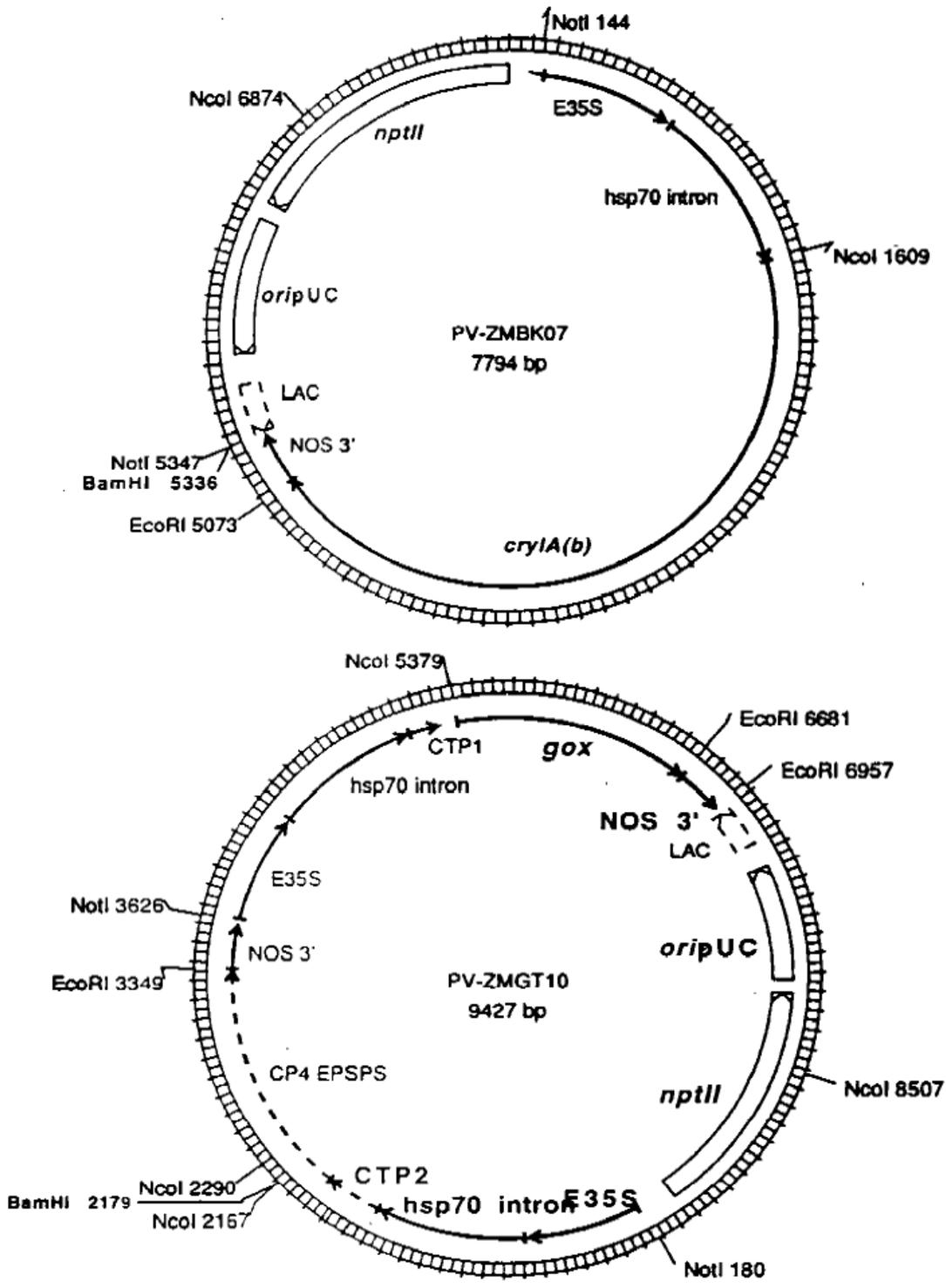


图 11. PV-ZMBK07 和 PV-ZMG10 质粒环形图谱

环形图上标明了 Southern 杂交所采用的限制性酶切位点。尽管 PV-ZMGT10 质粒载体参与了基因枪转化，但其遗传元件未被导入受体玉米基因组。

表 1. PV-ZMBK07 质粒中遗传调控元件一览表

调控元件	大小 (Kb)	功能描述 (参考文献)
<i>e35S</i> 启动子	0.61	花椰菜花叶病毒(CaMV)启动子 (Odell <i>et al.</i> , 1985) 带复制增强子区域 (Kay <i>et al.</i> , 1987)。
<i>hsp70</i> 内含子	0.80	来自玉米 <i>hsp70</i> (热激蛋白)基因的内含子, 作用是提高基因转录水平(Rochester <i>et al.</i> ,1986)。
<i>cryIAb</i> 基因	3.46	<i>CryIAb</i> 蛋白编码序列, 可使植株抵抗 鳞翅目昆虫
<i>NOS</i> 3'终止子	0.26	胭脂氨酸合成酶基因 3'末端非翻译区, 终止转录, 支配聚腺苷酸化 (Fraley <i>et al.</i> , 1983)。
<i>lac Z</i> 启动子	0.24	一段来自 <i>Ecoli. lacI</i> 编码启动子 <i>Plac</i> 序列, 另一段来自于 pUC119 编码 β -D-半乳糖苷酶或 <i>LacZ</i> 蛋白的 序列(亚尼施. 佩龙等, 1985)。
<i>ori-pUC</i>	0.65	是 pUC 质粒的复制起始点, 允许质粒在大肠杆菌中复制 (维埃拉及梅辛, 1987)。
<i>npt II</i> 基因	0.79	来自于根癌农杆菌的 Ti 质粒。II 型新霉素磷酸转移酶基因。本酶对氨基糖苷类抗生素有耐药性, 可作为选择含质粒的细菌标记(贝克等, 1982)。

2.4 载体中插入区域各片段的资料:

2.4.1 启动子和终止子的大小、功能及其供体生物的名称;

如表 1 所述, 增强的花椰菜花叶病毒 (CaMV) 35S 启动子 (Kay *et al.*, 1987; Odell *et al.*, 1985) 和 *hsp70* 玉米内含子 (Rochester *et al.*,1986) 被用来调控 *cryIAb* 编码序列的表达。35S 启动子在质粒构建中大小为 615 bp, 其中 3'部分的 299 bp 被整合到受体基因组中。

3'端为胭脂氨酸合成酶 (NOS) 基因的非编码区, 用于终止转录和指导信使 RNA (mRNA) 的多聚腺苷酸化 (Fraley *et al.*, 1983), 但在实际转化操作中由于插入 DNA 在 *cryIAb* 基因的 3'端被切割, 所以该终止子并未整合到受体基因组中。但是, 一个翻译的终止密码子在 *cryIAb* 切割末端下游区的 9 bp 区表达并终止 mRNA 翻译为蛋白质。

2.4.2 标记基因和报告基因的大小、功能及其供体生物的名称;

分子特性分析表明, MON 810 中不存在标记基因和报告基因。

2.4.3 其他表达调控序列的名称及其来源 (如人工合成或供体生物名称)。

MON 810 插入序列中, 位于启动子之后的是来自于玉米热激蛋白基因的内含子 *hsp70*, 大小为 800 bp, 它的功能是提高基因转录的水平, 详见表 1。

2.5 转基因方法。

MON 810 是通过基因枪的方法将目的基因转入受体细胞的。质粒 DNA 用粒

子加速法被转入植物组织（克莱因等，1987）。用氯化钙和精脒使 DNA 沉淀到钨或金粉颗粒上。将裹有 DNA 的微粒滴在塑料大载体上，用火药的爆炸力使其通过枪筒高倍加速。大载体击中塑料挡板，大载体的飞行被阻，但裹有 DNA 的微粒继续飞行。微粒穿透靶标植物细胞，DNA 沉淀，与细胞染色体整合。

2.6 插入序列表达的资料：

2.6.1 插入序列表达的器官和组织，如根、茎、叶、花、果、种子等；

MON 810 中的 Cry1Ab 蛋白可以在整个植株中表达，例如根、茎、叶、籽粒等。详细的表达量分析见 2.6.2 部分。

2.6.2 插入序列的表达量及其分析方法；

MON 810 抗虫玉米中 Cry1Ab 蛋白在整株植物以极低水平有效表达。在四个不同的田间试验中对测试样品的 Cry1Ab 蛋白表达量进行了测试：包括 1994、1995 年在美国的田间试验和 1995、1996 年在欧洲的田间试验。通过被验证了的 ELISA 方法对不同组织的 Cry1Ab 蛋白表现水平进行了定量测定。结果表明，MON 810 玉米的 Cry1Ab 蛋白表达水平在不同年份和不同地理区域具有一致性（见表 2）。Cry1Ab 蛋白表达水平的一致性也证明了产品表现好的重要指标之一，即插入的稳定性。Cry1Ab 蛋白表达水平足以在全生长过程中有效地控制第一、二代玉米螟的危害（Gianessi and Carpenter, 1999）

表 2. 抗虫玉米 MON 810 中 Cry1Ab 蛋白表达水平 (µg/g fwt)

植物组织	参数	1994 美国 ¹ (6地)	1995 美国(5地)	1995 欧盟 ¹ (4地)	1996 欧盟(3地)
叶片 ²	平均	9.35	8.95	8.60	12.15
	标准差	1.03	2.17	0.74	3.86
	范围	7.93-10.34	5.21-10.61	7.59-9.39	7.77-15.06
秸秆/全植株 ³	平均	4.15	3.34	4.80	4.88
	标准差	0.71	1.09	0.75	0.52
	范围	3.65-4.65	2.31-4.48	4.11-5.56	4.32-5.34
籽粒 ²	平均	0.31	0.57	0.53	0.41
	标准差	0.09	0.21	0.12	0.06
	范围	0.19-0.39	0.39-0.91	0.42-0.69	0.35-0.46
各阶段叶片 ⁴					
	(1 st)	平均	9.78		
	(2 nd)	平均	8.43		
(3 rd)	平均	4.91			

² 平均数是由统计每个试验地植物样品的分析值而得来的。

³ 对于 1994 年美国的试验而言，此值代表了对全植株的分析值；对于余下的试验而言，此值代表了对秸秆组织的分析值。全植株于授粉两周后被采集；秸秆样品于乳熟期或马齿早期被采集；平均值是由分析植物样品所确定的，这些植物样品来自于一个美国试验地和所有的欧盟试验地。一个植物样品是两个单独植株的混合物。

⁴ 联合叶片样品的平均值由一个地点，在两周的间隔采集，从 V4 阶段直到授粉。

2.6.3 插入序列表达的稳定性的稳定性。

Southern 杂交分析表明，MON 810 只有一个功能性的 *cry1Ab* 编码序列拷贝整合在细胞的核染色体中，并象预期的一样按照孟德尔方式稳定地遗传并表达 Cry1Ab 蛋白。2.6.2 部分中所述多年的田间蛋白表达数据以及广泛的育种及杂交种商业化也证明了插入序列表达的稳定性的稳定性。

2.7 根据上述评价，参照本办法第十二条有关标准划分基因操作的安全类型。

如上描述，基因操作改变了受体生物表现型，但对人类健康和环境安全没有不利影响，按照《农业转基因生物安全评价管理办法》第十二条基因操作安全性划分标准，该基因操作安全性为类型 2，即：“不影响受体生物安全性的基因操作”

3 转基因植物的安全性评价

3.1 转基因植物的遗传稳定性。

MON 810 R0 代与一个自交系杂交后得到的 BC0F1 代植株、BC0F1 代植株与一个自交系（该自交系与同 R0 代杂交的自交系相同）杂交得到的 BC1F1 代植株和单个 BC0F2 代植株与一个非转基因测试植株杂交后得到的 BC1F2 代后代植株的分离数据如表 3 所示，根据孟德尔遗传法则，其分离比率符合单一插入的分离规律。

表 3. 对 MON 810 玉米后代的遗传分离研究

世代	实际分离比	期望分离比	卡方
BC0F1 ¹	44:47	45.5:45.5	0.044 [*]
BC1F1 ²	10:4	7:7	1.786 [*]
BC1F2 后代 ³	69:181:77	81.75:163.5:81.75	4.138 [#]

¹ 数值表示存在 *cryIAb* 基因表达的植株数；没有表达的植株数是根据欧洲玉米螟饲喂试验结果得到的。

² 数值表示存在 *cryIAb* 基因表达的植株数；没有表达的植株数是根据 Cry1Ab 蛋白的 ELISA 检测结果得到的。

³ 数值表示根据欧洲玉米螟饲喂试验得到的纯合体植株穗行数：分离植株的穗行数：疑似纯合体植株的穗行数

* 在 p=0.05 水平无显著性差异（卡方=3.84,1df）

在 p=0.05 水平无显著性差异（卡方=5.99,2df）

MON 810 中引入的 *cryIAb* 基因可以稳定存在于与一个轮回亲本（B73）杂交的 7 个世代中和与另一个不相关自交系（M017）杂交的 6 个世代中（表 4）。与 B73 和 M017 回交的卡方检验值并未偏离 P=0.05 水平的期望值。

表 4. MON 810 玉米品系在两个不相关自交系（B73 和 M017）中的回交后代的基因传递稳定性(数值表示用 ELISA 方法检测的 Cry1Ab 蛋白阳性或阴性的植株的比例)

世代	实际比例	期望比例	卡方
BC6F1(B73) ¹	8:13	10.5:10.5	0.762 [*]
BC5F1(M017) ¹	11:11	11:11	0.045 [*]

¹ 数值表示存在蛋白表达的植株数；没有蛋白表达的植株数

* 在 p=0.05 水平无显著性差异（卡方=3.84,1df）

3.2 转基因植物与受体或亲本植物在环境安全性方面的差异：

3.2.1 生殖方式和生殖率；

MON 810 与常规玉米在生殖方式和生殖率上没有差异。1993、1994、1995 三年的大量田间观察证明，抗虫玉米品系 MON 810 的生殖率和方式与其它常规玉米品种没有区别（Croon et al., 1995）。抗虫玉米同样表现出分离的雄蕊（雄穗）和雌蕊的特征。花粉完全是在雄蕊花房上产生，与雌蕊开花期同步。没有发现种子或植物成熟期的不同。2002 年和 2003 年在吉林省和山东省进行的环境安全检测结果也证实，MON 810 与常规玉米相比，生育期、产量等均无显著差异。

3.2.2 传播方式和传播能力；

玉米的传播通过种子实现，转入的特性可能通过花粉传播。由于 MON 810 中转入的抗虫性状不会影响其种子和花粉特性，所以不认为 MON 810 与常规对照玉米在传播方式和传播能力上存在任何差异。

3.2.3 休眠期；

种子休眠（包括硬实种子）是植物的一种存活机制，这一重要特性经常同植物的杂草化相关（Anderson, 1996; Lingenfelter and Hartwig, 2003）。休眠机制，包括硬实种子（即由于种皮透水透气性差和对胚生长的机械限制，导致种子休眠）在不同物种间也不同，并且会涉及很复杂的过程。对于玉米来说，硬粒种子的数目可以忽略不计或者根本不存在。

1994 年，抗虫玉米品系 MON 810 与常规玉米的种子发芽比较实验在由美国中西部地区的五个田间地点收集的种子样品上进行。试验结果表明，所有种子样本都显示了很高的发芽率，在不同环境条件下 MON 810 品系与常规玉米对照在发芽率上具有一致性（表 5）。这些发现支持了抗虫玉米品系 MON 810 和常规玉米种子萌发、休眠上没有显著差异的结论。

2002-2003 年在吉林省和山东省进行的环境安全性检测结果也证实 MON 810 玉米种子的发芽率与常规对照相比无明显差异。

表 5. 抗虫玉米 MON 810 与常规玉米的田间发芽结果比较

品系	发芽率	变幅
MON 810 ^a	87.4%	71.1~94.3%
常规玉米 ^a	90.6%	78.9~98.3%

^a 5 个点的均值和变幅

3.2.4 适应性；

MON 810 与常规玉米在适应性上没有差异。在美国与其他各地迄今为止进行的 MON 810 抗虫玉米品系的大田试验所收集的资料与观察结果证明 MON 810 和常规玉米之间并无显著的形态、生长或发育方面的区别。观察的特征包括种子发芽、植株形态、花粉散落时间、雌蕊生长时间、花期相遇程度、穗发育、产量、农艺性状、植物优势、感病虫害性和杂草化可能性等。美国从 1994 年到 1996 年进行的 MON 810 抗虫玉米试验按照环境保护署和美国农业部动植物卫生检验局

规定要求监测下一轮作季节的自生植物情况。试验结果表明，MON 810 抗虫玉米品系及其后代除能防止鳞翅目昆虫取食外，与其他玉米品种实质相等，所有种子样本都显示了与常规玉米同样的适应性。

3.2.5 生存竞争能力；

如前所述，普通商用玉米品种一般不认为是杂草，所以不能侵袭现有的自然生态系统。玉米不具有种子在土壤里的长期持久性、扩散、侵袭和在新的或多样性的环境下成为优势物种的能力，或者同本地植被竞争的能力等任何优势特性。

玉米植株只借助种子繁殖，玉米种子没有典型杂草的内在休眠特性，因此极冷时不能存活，过冬是不寻常的。现代玉米不被作为一种杂草存活，因为在玉米属于农作物，对其进行选择和驯化过程与杂草植物的进化过程相反，演变为玉米果穗被苞叶所包裹。由于玉米穗的结构之故，单个种子的扩散不会自然地出现。然而，即使单个玉米粒在田间和从田间到仓库的路上撒落，也不能在栏杆、水沟和路边找到玉米自生苗。玉米没有人类的帮助不能跨世代存活，也没有作为杂草存活的能力（Galinat, 1988）。而且，即使玉米可以越冬进入大豆的作物轮作，但机械和化学的措施可以防治这些自生苗。

2002 年山东省农业科学院植物保护研究所对 MON 810 玉米的生存竞争能力检测结果显示：转基因玉米 MON 810 及其亲本对照在栽培地、荒地和拓荒地条件下，其出苗率、适应性、长势、株型、生育期、株高等方面均无显著差异，在栽培地条件下二者产量差异不显著，与杂草的竞争能力方面也无显著差异，后代种子发芽率也无明显差异，玉米在山东省济南市能够越冬，但第二年春天出苗率较低、越冬性较差。试验过程中没有发现转基因玉米对试验区内及周围植物种类有不良影响。

2003 年吉林省农业科学院农业部转基因植物环境安全检验检测中心（吉林）对 MON 810 玉米的生存竞争能力检测结果显示：转基因玉米 MON 810 与其对照非转基因品种在荒地及杂草的竞争中和在栽培地株高、产量和发芽率等方面的表现没有显著差异，表明抗虫基因的转入没有增强受体的生存竞争能力，不会增加杂草潜势。

3.2.6 转基因植物的遗传物质向其他植物、动物和微生物发生转移的可能性；

一旦整合进植物基因组，T-DNA 边界序列就会丢失。由于缺少边界序列的帮助，整合的 DNA 转移到其它植物里的可能性几乎没有，除非通过有性杂交（Huttner *et al.*, 1992; Bakkeren *et al.*, 1989）。而 MON 810 中目的基因通过有性杂交转移的范围只限于有性亲和种属（见 1.4.3 部分）。如同在 1.4.4 部分描述的那样，目前世界上还没有直接证据表明已经发生过遗传基因在生物间的水平转移（horizontal transferr）（Bertolla and Simonet, 1999 *et al.* 2000）。

3.2.7 转变成杂草的可能性；

在美国的主要杂草参考资料里，玉米并不作为杂草列出（Crockett, 1977; Holm *et al.*, 1979; Muenscher, 1980），也不列在联邦政府出版的有害杂草物种名单里（7 CFR Part 360）。同样，在中国出版的各类杂草名录中也不包括玉米。此外，玉米

一直在全世界种植，并没有任何玉米是有害杂草的报道。因为玉米在进化过程中经过了驯化和改良，所以，玉米不可能作为一种杂草存活。因为玉米属于农作物，对其进行的选择和驯化过程与杂草植物的进化过程相反，栽培玉米种的玉米果穗被苞叶所包裹。由于玉米穗的结构之故，单个种子的扩散不会自然地出现。

对 MON 810 的环境安全性检测结果证实，MON 810 玉米存活（对病、虫的敏感性、萌芽和定植）、繁殖（产生的种子）和传播（种子和花粉）的生物学特性与非转基因对照没有差别。所以 MON 810 不可能转变为杂草。

3.2.8 抗病虫害转基因植物对靶标生物及非靶标生物的影响，包括对环境有益和有害生物的影响；

MON 810 抗虫玉米通过表达来自苏云金杆菌的 Cry1Ab 蛋白，可以有效地控制玉米螟等特定的鳞翅目害虫。而且有大量的信息证明，含有 Cry1Ab 蛋白的苏云金杆菌 K 亚种（B.t.k）的微生物杀虫剂不会对非靶标物种产生作用（Melin and Cozzi, 1990）。MON 810 玉米中表达的 Cry1Ab 蛋白对鳞翅目昆虫具有特殊的选择性，当害虫取食后，在昆虫中肠的碱性条件下产生毒素并结合于肠内特异的受体上而产生杀虫作用，而对益虫和非靶标昆虫没有不利影响。这些益虫和非靶标昆虫包括鳞翅目害虫的捕食者和寄生者或蜜蜂。实验室研究也证明了 Cry1Ab 蛋白对蚯蚓、鲑鱼、鹌鹑、弹尾目昆虫、枝角类是安全的。MON 810 玉米在美国多年的商业化也证明了其对非靶标生物的安全性。

2002 年，中国农科院植物保护研究所和山东省农科院植保所分别在河北省和山东省进行田间试验，检测 MON 810 玉米对生物多样性的影响。检测结果证实：MON 810 玉米对靶标害虫亚洲玉米螟有明显抗性。MON 810 玉米对田间节肢动物多样性，在物种生态优势度、天敌总量、瓢虫、小花蝽、蜘蛛和草蛉等捕食性天敌种群动态、以及寄生性天敌总量，以及非靶标害虫玉米蚜的种群动态上，同其非转基因对照相比，没有显著的影响。与非转基因对照相比，MON 810 对主要病害的发生没有显著影响。

3.2.9 对生态环境的其他有益或有害作用。

玉米植物组织在收获后根据收获后农业习惯的不同，可能被埋于地下或保留在土壤表面。通过测量土壤中 MON 810 玉米组织中抗虫活性的减少，来评估 Cry1Ab 蛋白的降解率。结果表明 Cry1Ab 蛋白的半衰期 DT_{50} 为 1.6 天， DT_{90} （达到 90% 失活的天数）为 15 天（Sims and Holden, 1996）。这个降解与微生物 Bt 产品在土壤中的降解率是相似的（West et al, 1984; West, 1984; and Pruett et al, 1980）。这样快的降解进一步支持了 Cry1Ab 对土壤中非靶标微生物无害的结论。

而且，由于 MON 810 抗虫玉米可以有效控制玉米螟等鳞翅目害虫，因此可以大量减少农药的使用及其对生态环境的危害，因而对环境有一定的保护作用。

3.3 转基因植物与受体或亲本植物在对人类健康影响方面的差异：

MON 810 玉米的鳞翅目害虫抗性的产生是通过在玉米中导入来源于苏云金芽孢杆菌亚种 *kurstaki* HD-1 基因（B.t.k.HD-1，即 *cry1Ab*）（Hofte and Whiteley,

1989) 实现的, 该基因能够编码一种可以杀死鳞翅目幼虫, 但对哺乳动物 (Siegel and Shaddock, 1990)、家畜 (Saik et al., 1990) 和非靶标生物 (Mehn and Cozzi, 1990) 无害的杀虫蛋白 Cry1Ab。

由于植物表达的蛋白量有限, 为了满足安全性评价的需要, 需要应用大肠杆菌中表达纯化的目的蛋白进行一些研究, 在使用大肠杆菌表达蛋白之前, 需要首先确认大肠杆菌表达蛋白与植物源蛋白的等同性。由于 Cry1Ab (*B.t.k.* HD-1) 全长蛋白 (~131kD) 在摄入后, 能快速生成一个不易被胰酶消化的核心区域 (~63kD) 而发挥杀虫效应, 所以仅针对抗胰蛋白酶消化核进行了等同性分析。通过免疫印迹分析证实, MON 810 中表达 Cry1Ab 蛋白 (抗胰蛋白酶核) 与大肠杆菌中表达的 Cry1Ab 蛋白 (抗胰蛋白酶核) 实质等同。

3.3.1 毒性;

对 Cry1Ab 蛋白毒性的评估包括以下几个方面: (1) 蛋白特性; (2) 蛋白与已知毒素的相似性; (3) 蛋白的消化特性和热稳定性; (4) 蛋白的急性毒性。

i) Cry1Ab 蛋白的作用方式及专一性

Cry1Ab 蛋白必须能被昆虫吸收方产生杀虫效果。这种蛋白晶体在中性或酸性 pH 溶液中不能被溶解; 而昆虫幼体肠液 pH 是碱性的, 可以溶解这种蛋白晶体。溶解的蛋白被昆虫肠液中的蛋白酶激活。这种包括大约 600 个氨基酸的有杀虫力的蛋白从昆虫围食膜到达中肠上皮, 和中肠上皮的特异受体进行高度专一性的结合。结果肠的膜电位及 pH 值发生改变, 肠变得麻痹导致幼虫死亡。

Cry1Ab 蛋白只对鳞翅目昆虫有杀害力。通过测定 Cry1Ab 蛋白寄主范围试验的结果表明, 在观察的 18 种昆虫中只有 7 种对 Cry1A 蛋白敏感, 而这 7 种昆虫都是鳞翅目昆虫。这种专一性直接归功于目标昆虫中 Cry1A 特异受体的存在。

因为哺乳动物肠细胞表面没有 Cry1Ab 的受体, 所以人类对这些蛋白不敏感。此外, 关于 Bt 蛋白安全性的许多文献也证明 Bt 蛋白对人类没有危害, 微生物 Bt 产品也已有很长的安全使用历史。

ii) Cry1Ab 蛋白与已知毒素蛋白的相似性分析

另外一个分析蛋白潜在毒性的方法是比较引入植物的蛋白与已知的毒蛋白的氨基酸序列。除其他的 Cry 蛋白外, Cry1Ab 蛋白同列在 PIR、EMBL、Swissprot 和 GenBank 蛋白数据库中同已知的毒素蛋白没有有意义的氨基酸序列相似性。

iii) Cry1Ab 蛋白在模拟胃肠液中的消化特性和热稳定性

Cry1Ab 蛋白抗胰蛋白酶核被用于模拟消化研究, 是因为它是 Cry1Ab 蛋白的杀虫活性部分。在模拟胃液中, Cry1Ab 蛋白迅速降解, Western 杂交分析发现, 在模拟胃液试验中, 2 分钟内 90% 的 Cry1Ab 蛋白降解。应用靶标害虫进行的蛋白活性测试同样发现, Cry1Ab 蛋白的生物活性也已很快丧失。同样用 Western 杂交分析方法和昆虫生物活性分析方法测定 Cry1Ab 抗胰蛋白酶核在模拟肠液中的消化, Cry1Ab 蛋白具有杀虫活性的胰蛋白酶核的稳定性与预期一致, 在模拟肠液中 19.5h 仍具有活性。该蛋白的胰蛋白酶核和其他苏云金芽孢杆菌抗虫蛋白一样均对胰蛋白酶的消化具备一定耐受性。该蛋白在模拟胃液中迅速降解的特性为其用做

哺乳动物食品的安全性提供了保证。

对含有 MON 810 玉米的食品加工前后的 Cry1Ab 蛋白量进行 ELISA 分析，结果表明在类似食品工业常用加工条件下，热处理会导致 Cry1Ab 蛋白迅速变性，从而导致加工食品中免疫反应性浓度大幅下降。

iv) 用 Cry1Ab 蛋白对小鼠的急性口服毒性研究

用 Cry1Ab 蛋白对小鼠进行了急性口服毒性试验。口服毒性试验被认为是鉴定蛋白毒性的有效方法，因为毒蛋白是通过急性反应来表现的。Cry1Ab 蛋白的目标剂量分别为 0, 400, 1000 和 4000 mg/kg。另一组以饲喂法用 4000 mg/kg 的牛血清蛋白 (BSA) 作对照。7 天后即使是饲喂最大剂量的一组均未观察到致死。另外，BSA 对照组和 Cry1Ab 处理组在死亡率、体重、累积体重、食物消耗量上没有显著差异。正如预期的那样，试验结果表明，Cry1Ab 蛋白对哺乳动物没有急性毒性。在试验的小鼠急性毒性口服试验中，所用的 Cry1Ab 蛋白的最高剂量大约是 MON 810 玉米作为人类食物摄入该蛋白量的 2000 万倍以上。

v) 90 天大鼠喂养实验

受农业部委托，中国疾病预防控制中心将 MON 810 玉米掺入饲料（掺入比例为 50%），饲喂大鼠 90 天，动物活动、生长未见异常，被毛浓密有光泽。MON 810 玉米组、对照玉米组和国内普通对照玉米组比较，未发现 MON 810 玉米对试验大鼠体重、食物利用率、血液学指标、血生化指标、脏器比以及组织病理学观察有生物学意义的改变。

对 Cry1Ab 蛋白的安全性评价结果表明，Cry1Ab 除了与同家族的 Cry 蛋白外，与已知的毒素蛋白没有氨基酸序列同源性。Cry1Ab 蛋白在模拟哺乳动物消化液试验中迅速降解并且杀虫活性丧失。此外，小鼠急性毒性试验表明高剂量 Cry1Ab 蛋白对小鼠没有毒害作用。这些研究支持 Cry1Ab 蛋白是安全的观点，并且与 Cry1Ab 蛋白安全使用历史是一致的。Cry1Ab 蛋白对昆虫有很高的选择性，对其他类型的活的有机体如哺乳动物、鱼类、鸟类、无脊椎动物等没有毒害。

3.3.2 过敏性；

Cry1Ab 蛋白的供体生物 *Bt subsp. kurstaki* 是一个能产生孢子的、自然存在于土壤中的格兰士阳性细菌。自从 1958 年以来，Bt 菌株一直在美国进行商业应用，以生产具有杀虫活性的微生物衍生产品 (EPA, 1988)。没有报告表明 Bt 菌株或由这些菌株产生的蛋白具有过敏性。

对 Cry1Ab 的生物信息学分析表明，Cry1Ab 与已知致敏原无氨基酸序列相似性。8 个氨基酸滑动窗口分析也证实 Cry1Ab 与已知致敏原不存在短肽序列的匹配。Cry1Ab 蛋白在 MON 810 玉米品系种子中存在水平很低，大约是 0.3~0.5ug/g 湿重玉米种子。此外，Cry1Ab 蛋白在模拟胃液中能够被迅速消化，加热处理后免疫活性也会大幅下降。

综合上述数据，可得出结论：Cry1Ab 不具有致敏性。

3.3.3 抗营养因子；

玉米有安全的使用历史，在各种人类食物和动物饲料产品中，消耗了玉米谷物和加工产品。玉米饲料作为动物饲料，被反刍动物广泛地消化。玉米不含已知的过敏原或产生有生物活性的毒素。如前所述，根据 OECD 文献资料（2002），玉米里含有几个人们熟知的抗营养因子，这些因子包括植酸、DIMBOA、棉子糖和胰蛋白酶与胰凝乳蛋白酶二者的抑制因子。根据 OCED 文献叙述的，“在考虑玉米中的抗营养因子和天然毒素时，只有植酸对动物饲料具有重要意义”（OECD, 2002）。已有的研究表明，MON 810 玉米中的抗营养因子与对照相比没有显著差异。

3.3.4 营养成份：

对 1994 年在美国、以及 1995 年欧洲田间试验中收获的玉米籽粒和秸秆的营养成分进行了分析，结果表明 MON 810 抗虫玉米品系的主要成分与对照品系实质等同，并且在已发表的文献报导的数值范围之内。对玉米籽粒的成分分析指标包括蛋白质、脂肪、灰分、粗纤维、中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维、碳水化合物、热量和水分。还分析了氨基酸、脂肪酸、钙质、磷、生育酚（维生素 E）等成分。具体结果见表 7-表 11。这些分析证明 MON 810 品系的营养成分和对照品系以及其他商品玉米的营养成分实质相等。

表 6. 玉米品系 MON 810 玉米籽粒的成分分析总结（1994）

成分					文献结果	
	对照		MON 810		范围	范围 ^d
	平均 ^b	范围 ^c	平均 ^b	范围 ^c		
蛋白质	12.8	11.7-13.6	13.1	12.7-13.6	6.0-12.0 ^e 9.7-16.1 ^e	11.2-12.9
油分 ^a	2.9	2.6-3.2	3.0	2.6-3.3	3.1-5.7 ^e	3.8-4.2
灰分 ^a	1.5	1.5-1.6	1.6	1.5-1.7	11.1-3.9 ^e	1.5-1.8
碳水化合物 ^a	82.7	81.7-83.8	82.4	81.8-82.9	无报道	81.7-83.0
热量/100g ^a	409	406-410	408	407-410	无报道	412-416
水分含量 ^a	12.0	10.6-14.2	12.4	11.0-14.4	7-23 ^e	13.0-15.8

a 样本的干重百分比, b 六个田间样本的平均, c 从最小到最大的值, d Sanders and Patzer(1995), e Watson,1987, f Jugenheimer,1976

表 7. MON 810 玉米籽粒成分的常规组分分析总结

组分	1994 美国		1995 欧盟		文献范围
	平均 ^a	(范围 ^b)	平均 ^c	(范围) ^d	
	MON810	对照 ^e	MON810	对照 ^e	
蛋白质 ^f	13.1 (12.7-13.6)	12.8 (11.7-13.6)	11.5 (10.5-12.2)	10.8 (9.0-11.8)	6.0-12.0 ^g 9.7-16.1 ^h
脂肪 ^f	3.0 (2.6-3.3)	2.9 (2.6-3.2)	3.0 (2.8-3.3)	3.0 (2.4-3.3)	3.1-5.7 ^g 2.9-6.1 ^h
灰分 ^f	1.6 (1.5-1.7)	1.5 (1.5-1.6)	1.4 (1.3-1.5)	1.4 (1.2-1.6)	1.1-3.9 ^g
粗纤维 ^f	2.6 ⁱ (2.5-2.8)	2.4 (2.3-2.5)	N.A. ⁱ	N.A.	2.0-5.5 ^k
中性洗涤纤维 ^f	N.A.	N.A.	12.1 (10.7-13.9)	12.4 (9.6-15.3)	8.3-11.9 ^g
酸性洗涤纤维 ^f	N.A.	N.A.	3.4 (2.7-4.1)	3.9 (3.1-5.3)	3.3-4.3 ^g
碳水化合物 ^f	82.4 (81.8-82.9)	82.7 (81.7-83.8)	84.1 (83.1-84.8)	84.9 (83.7-86.3)	未报道
水份%	12.4 (11.0-14.4)	12.0 (10.6-14.2)	13.3 ^j (12.1-15.2)	12.1 (11.6-12.3)	7-23 ^g

^a: 数值为各个田间试点来源共 6 个样品的平均值;

^b: 范围指示各品系在 6 个试点中单个数值的最高与最低值;

^c: 数值为 4 个田间试点来源的共 4 个样品的平均值;

^d: 范围指示各品系在 4 个试点中单个数值的最高与最低值;

^e: 试验中的对照品系;

^f: 样品的干重百分比;

^g: Watson, 1987.

^h: Jugenheimer, 1976.

ⁱ: N.A.未分析;

^j: 置信区间水平设置为 95%;

^k: Watson, 1982.

表 8. MON 810 玉米籽粒氨基酸组分分析^a

氨基酸	1994 美国		1995 欧盟		文献范围 ^g
	平均 ^b	(范围) ^c	平均 ^d	(范围) ^e	
	MON810	对照 ^f	MON810	对照 ^f	
蛋氨酸	1.7 (1.6-1.9)	1.7 (1.6-1.7)	1.4 ^h (1.4-1.5)	1.5 (1.4-1.7)	1.0-2.1
半胱氨酸	2.0 ^h (1.9-2.1)	1.9 (1.8-2.0)	1.9 (1.9-2.1)	2.1 (1.9-2.4)	1.2-1.6
赖氨酸	2.8 (2.5-2.9)	2.8 (2.7-2.9)	2.9 (2.7-3.1)	3.1 (2.6-3.5)	2.0-3.8
色氨酸	0.6 ^h (0.5-0.7)	0.6 (0.4-0.6)	0.5 ^h (0.4-0.5)	0.6 (0.5-0.7)	0.5-1.2
苏氨酸	3.9 (3.7-4.4)	3.8 (3.7-3.9)	3.7 (3.6-3.7)	3.7 (3.3-3.8)	2.9-3.9
异亮氨酸	3.7 (3.3-4.1)	3.8 (3.6-4.0)	3.8 (3.4-4.3)	3.9 (3.7-4.3)	2.6-4.0
组氨酸	3.1 ^h (2.9-3.3)	2.9 (2.8-3.0)	3.0 (2.9-3.0)	3.1 (2.9-3.2)	2.0-2.8
缬氨酸	4.5 (4.1-4.9)	4.6 (4.3-4.8)	4.7 (4.4-4.9)	4.8 (4.4-4.9)	2.1-5.2
亮氨酸	15.0 (14.1-16.7)	14.5 (13.8-15.0)	14.5 (13.9-15.3)	14.2 (13.3-15.3)	7.8-15.2
精氨酸	4.5 (4.1-4.7)	4.5 (4.2-4.7)	3.9 (3.6-4.1)	4.1 (3.8-4.3)	2.9-5.9
苯丙氨酸	5.6 ^h (5.4-6.1)	5.4 (5.2-5.6)	5.6 (5.4-5.9)	5.6 (5.3-6.0)	2.9-5.7
亮氨酸	3.7 (3.4-4.0)	3.7 (3.5-3.8)	3.5 (3.4-3.7)	3.6 (3.2-3.9)	2.6-4.7
丙氨酸	8.2 ^h (7.8-8.9)	7.8 (7.5-8.0)	8.2 (7.9-8.4)	8.1 (7.5-8.6)	6.4-9.9
天冬氨酸	7.1 (6.4-8.2)	6.6 (6.3-6.8)	7.1 (6.9-7.3)	6.9 (6.4-7.3)	5.8-7.2
谷氨酸	21.9 (20.4-24.4)	21.1 (20.1-21.6)	21.3 (20.8-21.8)	20.9 (19.5-22.1)	12.4-19.6
脯氨酸	9.9 ^h (9.7-10.5)	9.6 (9.4-9.8)	9.7 (9.5-9.9)	9.7 (9.2-10.1)	6.6-10.3
丝氨酸	5.5 ^h (5.3-5.9)	5.2 (5.1-5.4)	5.5 (5.4-5.6)	5.3 (4.9-5.5)	4.2-5.5
酪氨酸	4.4 ^h (4.1-4.8)	4.0 (3.9-4.1)	4.0 (3.9-4.2)	4.0 (3.7-4.3)	2.9-4.7

^a 数值为占总蛋白的百分比；^b 数值为各个田间试点来源共 6 个样品的平均值；^c 范围指示各品系在 6 个试点中单个数值的最高与最低值；^d 数值为 4 个田间试点来源的共 4 个样品的平均值；^e 范围指示各品系在 4 个试点中单个数值的最高与最低值；^f 试验中的对照品系；^g Watson, 1982. 所得数值为占总蛋白的百分比 [10.1% 总蛋白 (N × 6.25)]；^h 置信区间水平设置为 95%。

表 9. MON 810 玉米籽粒脂肪酸组分分析^a

脂肪酸	1994 美国		1995 欧盟		文献范围 ^g
	平均 ^b	(范围) ^c	平均 ^d	(范围) ^e	
	MON810	对照 ^f	MON810	对照 ^f	
棕榈酸 (16:0)	10.5 (10.2-11.1)	10.5 (10.2-10.7)	10.5 ^h (10.3-10.8)	10.3 (9.9-10.7)	7-19
硬脂酸 (18:0)	1.9 (1.7-2.1)	1.8 (1.8-1.9)	1.5 (1.4-1.7)	1.5 (1.4-1.6)	1-3
油酸 (18:1)	23.2 (21.5-25.4)	22.8 (21.6-23.9)	22.0 (21.0-22.9)	22.4 (21.8-23.5)	20-46
亚油酸 (18:2)	62.6 (59.5-64.7)	63.0 (61.8-64.6)	64.0 (63.3-64.6)	64.0 (62.7-65.1)	35-70
亚麻酸 (18:3)	0.8 (0.7-0.9)	0.9 (0.8-0.9)	1.1 (1.0-1.1)	1.0 (1.0-1.1)	0.8-2

^a: 脂肪酸数值 为占总脂的百分比, 低于本测试检测限的脂肪酸未列于表中;

^b: 所报告数值为来源于 6 个田间试点共 6 个样品的平均值;

^c: 范围指示各品系在 6 个试点中单个数值的最高与最低值;

^d: 数值为 4 个田间试点来源的共 4 个样品的平均值;

^e: 范围指示各品系在 4 个试点中单个数值的最高与最低值;

^f: 试验中的对照品系;

^g: Watson, 1982;

^h: 置信区间水平设置为 95%。

表 10. MON 810 玉米籽粒生育酚, 钙及磷的分析^a

	1994 美国		文献范围 ^d
	平均 ^b	(范围) ^c	
	MON810	对照	
生育酚 (维生素 E) mg/kg	10.4 (9.7-11.3)	10.9 (9.9-12.1)	3.0-12.1
钙%	0.0036 ^e (0.0033-0.0039)	0.0033 (0.0029-0.0037)	0.01-0.1
磷 %	0.358 (0.334-0.377)	0.348 (0.327-0.363)	0.26-0.75

^a: 基于组织干重的数值;

^b: 所报告数值为来源于 6 个田间试点共 6 个样品的平均值;

^c: 范围指示各品系在 6 个试点中单个数值的最高与最低值;

^e: Watson, 1982;

^h: 置信区间水平设置为 95%。

表 11. MON 810 玉米秸秆营养成分分析总结

组分	1995 欧盟		文献范围 ^d
	平均 ^a	(变幅) ^b	
	MON810	对照 ^c	
蛋白质 ^e	7.3 ^f	6.1	
	(5.7-8.4)	(4.8-7.4)	4.8-8.4
脂肪 ^e	1.4	1.8	
	(1.3-1.7)	(1.4-2.1)	1.4-2.1
灰分 ^e	3.2	3.4	
	(3.1-3.6)	(2.9-4.4)	2.9-5.1
中性洗涤纤维 ^e	38.4	41.5	
	(36.9-41.4)	(39.9-43.3)	39.9-46.6
酸性洗涤纤维 ^e	24.7	27.3	
	(22.6-27.2)	(25.6-29.2)	21.4-29.2
碳水化合物 ^e	88.0	88.8	
	(86.9-89.8)	(88.0-89.1)	84.6-89.1
干物质 %	30.0	28.7	
	(28.7-32.4)	(26.5-31.3)	26.5-31.3

^a: 数值为 4 个田间试点来源的共 4 个样品的平均值;

^b: 范围指示各品系在 4 个试点中单个数值的最高与最低值;

^c: 所得数值为 2 套测量值的平均, 以 MON 820 为对照玉米品系;

^d: 孟山都公司在 1993~1995 年间进行的田间试验所种植对照品系的范围 (Sidhu et al., 2000);

^e: 样品干重百分比;

^f: 置信区间水平设置为 95%。

3.3.5 抗生素抗性；

MON 810 中不存在抗生素抗性基因，没有抗生素抗性。

3.3.6 对人体和食品安全性的其它影响。

Cry1Ab 蛋白来源于苏云金杆菌(Bt)，自从 1958 年以来，Bt 菌株一直在美国进行商业应用，以生产具有杀虫活性的微生物衍生产品 (EPA, 1988)。具有长期的安全使用历史。此外，蛋白安全性评价数据也支持 Cry1Ab 蛋白对人类健康无害的结论，对 MON 810 的组成成分分析表明 MON 810 与常规对照的组成成分实质等同。所以 MON 810 玉米不会对人体和食品安全产生任何不良影响。

3.4 根据上述评价，参照本办法第十三条有关标准划分转基因植物的安全等级。

根据农业部农业转基因生物的安全等级和产品的生产、加工活动对其安全等级的影响类型和影响程度，孟山都公司通过对受体植物、基因操作、转基因植物及转基因产品的安全进行了全面的评估（包括基因操作、环境、生态、毒性、食品安全等），认为 MON 810 玉米的安全等级为 I 级。

4 转基因植物产品的安全性评价

4.1 生产、加工活动对转基因植物安全性的影响。

MON 810 玉米中的 *cry1Ab* 基因是稳定地插入玉米的基因组中,表达 Cry1Ab 蛋白使植株具有鳞翅目害虫抗性。研究表明, Cry1Ab 蛋白对人类和动物健康不会产生不良影响, MON 810 玉米的组成成分也与常规玉米实质等同。玉米商业化生产加工过程通常包括加热处理, Cry1Ab 加热处理后免疫活性会大幅下降。所以生产和加工活动对 MON 810 玉米的安全性不会产生任何不良影响。

4.2 转基因植物产品的稳定性。

MON 810 中的插入片段为单拷贝,且在不同世代中能够稳定遗传。自商业化至今, MON 810 玉米对靶标害虫都表现出良好的抗性。

4.3 转基因植物产品与转基因植物在环境安全性方面的差异。

如前所述, MON 810 玉米不仅可以减少大量杀虫剂的使用,还可以减少农民因使用杀虫剂而受到的危害,并对环境中的有益昆虫和野生生物无害。田间试验中,未观察到任何 MON 810 与其它玉米不同的行为。Cry1Ab 蛋白对人、哺乳动物、鱼类、鸟类以及非靶标生物如蜜蜂、草蛉等没有影响。MON 810 玉米产品不会对环境造成任何危害。

4.4 转基因植物产品与转基因植物在对人类健康影响方面的差异。

MON 810 玉米产品与常规玉米产品在营养成分上具有实质等同性。动物饲喂试验进一步证明了 MON 810 玉米与常规玉米的安全性相当。MON 810 玉米在美国已经商业化多年,没有任何资料表明它对人类健康影响方面与常规玉米有差异。

4.5 参照本办法第十四条有关标准划分转基因植物产品的安全等级。

综上所述,目前玉米所采用的生产加工方法不会影响玉米产品的安全性,因此,根据《农业转基因生物安全评价管理办法》第二章第十四条的规定,本项目转基因植物的产品的安全等级为 I。

参考文献

- Anderson, P., Hellmich, R., and Lewis, L. 2000. Bt pollen and monarch butterflies: research update. Joint Annual Meeting: Entomological Society of Canada and Entomological Society of America, Dec 3-6, 2000. *To be published.*
- Armstrong, C. L., Green, C. E., and Phillips, R. L. 1991. Development and availability of germplasm with high type II culture formation response. Maize Genetics Cooperation NewsLetter 65:92-93.
- Armstrong, C.L., Parker, G.B., Pershing, J.C., Brown, S.M., Sanders, P.R., Duncan, D.R., Stone, T., Dean, D.A., DeBoer, D.L., Hart, J., Howe, A.R., Morrish, F.M., Pajeau, M.E., Petersen, W.L., Reich, B.J., Rodriguez, R., Santino, C.G., Sato, S.J., Schuler, W., Sims, S.R. Stehling, S. Tarochione, L.J. and Fromm, M.E. 1995. Field evaluation of European corn borer control in progeny of 173 transgenic corn events expressing an insecticidal protein from *Bacillus thuringiensis*. Crop Science 35(2):550-557.
- Aronson, A.I., Beckman, W., and Dunn, P. 1986. *Bacillus thuringiensis* and related insect pathogens. Microbiol. Rev. 50(1):1-24.
- Aulrich, K., Halle, I, and Flachowsky, G. 1998. Ingredients and digestibility of corn kernels of the Cesar species and the genetically altered *Bt*-hybrids in laying hens. 1998 Conference Book, VDLUFA-Schriftenreihe.
- Beck, E., Ludwig, G., Auerswald, E.A., Reiss, B. And Schaller, H. 1982. Nucleotide sequence and exact localization of the neomycin phosphotransferase gene from transposon Tn5. Gene 19:327-336.
- Bietlot, H., Carey, P.R., Choma, C., Kaplan, H., Lessard, T. and Pozsgay, M. 1989. Facile preparation and characterization of the toxin from *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. Biochem J. 260:87-91.
- Cantwell, G.E., Lehnert, T., and Fowler, J. 1972. Are biological insecticides harmful to the honey bee? Am. Bee J. 112: 294-296.
- Crecchio, C. and Stotzky, G. 1998. Insecticidal activity and biodegradation of the toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* bound to humic acids from soil.. Soil Biol. Biochem., 30(4), 463-470.
- Daenicke, R., Gadeken, D., and Aulrich.K. 1999. Use of silo corn of conventional species and the genetically altered *Bt*-hybrids in cattle feeding fattened cows. 12th Corn Colloquium, Wittenberg.
- Dean, D. H., Rajamohan, F., Lee, M.K., Wu, S.J., Chen, X.J., Alcantara, E. and Hussain, S.R. 1996. Probing the mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins by site-directed mutagenesis- a minireview. Gene 179:111-117.
- Dicke, F.F. and Guthrie, W.D. 1988. The most important corn insects. *In* Corn and Corn Improvement Third Edition. G.F. Sprague and J.W.Dudley (ed). American Society of Agronomy Inc., Madison, WI. Pp 769-880.
- Doolittle, R.F. 1990. Searching through sequence databases. *In* Molecular Evolution: Computer Analysis of Protein and Nucleic Acid Sequences. Methods in Enzymology

183:109.

Dulmage, H.T. 1981. Insecticidal activity of isolates of *Bacillus thuringiensis* and their potential for pest control. *In* Microbial control of pests and plant diseases 1970 - 1980. Burges, H.D., Ed., Academic Press, London, pp. 193-222.

English, L. and Slatin, S.L. 1992. Mini-review. Mode of action of Delta-endotoxins from *Bacillus thuringiensis*: A comparison with other bacterial toxins. Insect Biochem. Molec. Biol. 22(1):1-7.

EPA. 1988. Guidance for the reregistration of pesticide products containing *Bacillus thuringiensis* as the active ingredient. NTIS PB 89-164198.

FAO/WHO. 1996. Biotechnology and food safety. Report of a Joint JAO/WHO Consultation, Rome, Italy, 30 September - 4 October 1996. FAO, Food and Nutrition Paper 61.

FDA. 1992. Statement of policy: Foods derived from new plant varieties. Fed. Regist. (USA) 57: 22984-23005.

Faust, M. and Miller, L. 1997. Study finds no *Bt* in milk (Abstr.). Iowa State University Integrated Crop Management Newsletter IC-478, Special Livestock Edition.

Fischhoff, D.A., Bowdish, K.S., Perlak, F.J., Marrone, P.G., McCormick, S.M., Niedermeyer, J.G., Dean, D.A., Kusano-Kretzmer, K., Mayer, E.J., Rochester, D.E., Rogers, S.G. and Fraley, R.T. 1987. Insect tolerant transgenic tomato plants. Bio/technology 5:807-813.

Flexner, J.L., Lighthart, B. and Croft, B.A. 1986. The effects of microbial pesticides on non-target beneficial arthropods. Agric. Ecosys. Environ. 16:203-254.

Fraley, R.T., Rogers, S.G., Horsch, R.B., Sanders, P.R., Flick, J.S., Adams, S.P., Bittner, M.L., Brand, L.A., Fink, C.L., Fry, J.S., Galluppi, G.R., Goldberg, S.B., Hoffmann, N.L., and Woo, S.C. 1983. Expression of bacterial genes in plant cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 80:4803-4807.

Fromm, M.E., Morrish, F., Armstrong, C., Williams, R., Thomas, J., and Klein, T.M. 1990. Inheritance and expression of chimeric genes in the progeny of transgenic maize plants. Bio/Technology 8:833-839.

Gianessi, L.P. and Carpenter, J.E. 1999. Agricultural Biotechnology: Insect Control Benefits. National Center for Food and Agricultural Policy, Washington, D.C.

Gill, S.S., Cowles, E.A. and Pietrantonio, P.V. 1992. The mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. Annu. Rev. Entomol. 37:615-636.

Hellmich, R.L., Lewis, L.C. and Pleasants, J.M. 2000a. Monarch feeding behavior and Bt pollen exposure risks to monarchs in Iowa. Presented at the USDA Monarch Workshop, 24-25 Feb 2000, Kansas City, MO. *To be published*

Hellmich, R.L., Lewis, L.C. and Pleasants, J.M. 2000b. Survival of monarch larvae in Bt and non-Bt field corn. Presented at the USDA Monarch Data Review, 16-17 Nov 2000, Chicago, IL. *To be published.*

Hill, M., Launis, K., Bowman, C., McPherson, K., Dawson, J., Watkins, J., Koziel, M. and Wright, M.S. 1995. Biolistic introduction of a synthetic *Bt* gene into elite

maize. Euphytica 85:119-123.

Hofmann, C., Vanderbruggen, H. V., Höfte, H., Van Rie, J., Jansens, S., and Van Mellaert, H. 1988a. Specificity of *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxins is correlated with the presence of high-affinity binding sites in the brush border membrane of target insect midguts. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:7844-7848.

Hofmann, C., Luethy, P., Huetter, R. and Pliska, V. 1988b. Binding of the Delta endotoxin from *Bacillus thuringiensis* to brush-border membrane vesicles of the cabbage butterfly (*Pieris brassicae*). Eur. J. Biochem. 173(1):85-91.

Höfte, H. and Whiteley, H. R. 1989. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. Microbiol. Reviews 53:242-255.

Huber, H.E. and Lüthy, P. 1981. *Bacillus thuringiensis* Delta-endotoxin: Composition and activation. In *Pathogenesis of Invertebrate Microbial Diseases*. Davidson, E.W., Ed., Allanheld, Osmun Publishers, Totowa, New Jersey, pp 209-234.

Ignoffo, C.M. 1973. Effects of entomopathogens on vertebrates. Ann. N.Y. Acad. Sci. 217:141-172.

Jugenheimer, R.W. 1976. Corns for special purposes and uses. In *Corn: Improvement, Seed Production, and Uses*. John Wiley & Sons, New York, pp 227 and 243.

Kay, R., Chan, A., Daly, M. and McPherson, J. 1987. Duplication of CaMV 35S promoter sequences creates a strong enhancer for plant genes. Science 236:1299-1302.

Klausner, A. 1984. Microbial insect control. Bio/Technology 2:408-419.

Knowles, B.H. 1994. Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal Delta-endotoxins. Adv. Insect Physiol. 24:275-308.

Krieg, A. and Langenbruch, G.A. 1981. Susceptibility of Arthropod species to *Bacillus thuringiensis*. In *Microbial Control of Pests and Plant Diseases*, Burges, H.D., Ed., Academic Press, London, pp 837-896.

Lee, T.C., Zeng, J., Bailey, M., Sims, S.R., Sanders, P.R. and Fuchs, R.L. 1995. Assessment of equivalence of insect protected corn- and *E. coli*-produced *B.t.k.* HD-1 protein. Plant Physiol. Suppl. 108:151.

Losey, J.E., Rayor, L.S., and Carter, M.E. 1999. Transgenic pollen harms monarch larvae. Nature. 399, 6733:214.

MacIntosh, S.C., Stone, T.B., Sims, S.R., Hunst, P.L., Greenplate, J.T., Marrone, P.G., Perlak, F.J., Fischhoff, D.A., and Fuchs, R.L. 1990. Specificity and efficacy of purified *Bacillus thuringiensis* proteins against agronomically important insects. J. Invert. Path. 56:258-266.

Masoero, F., Moschini, M., Rossi, F., Prandini, A., and Pietri, A. 1999. Nutritive value, mycotoxin contamination and in vitro rumen fermentation of normal and genetically modified corn (Cry1A(B)) grown in northern Italy. Maydica 44: 205-209.

McClintock, J.T., Schaffer, C.R., Sjoblad, R.D. 1995. A comparative review of the mammalian toxicity of *Bacillus thuringiensis*-based pesticides. Pestic. Sci. 45:95-105.

Melin, B.E. and Cozzi, E.M. 1990. Safety to nontarget invertebrates of Lepidopteran

strains of *Bacillus thuringiensis* and their β -exotoxins. In *Safety of Microbial Insecticides*, Laird, M., Lacey, L.A. and Davidson, E.W., Eds., CRC Press, Boca Raton, FL, pp 149-168.

Metcalf, D.D., Astwood, J.D., Townsend, R., Sampson, H.A., Taylor, S.L. and Fuchs, R.L. 1996. Assessment of the allergenic potential of foods derived from genetically engineered crop plants. Critical Rev. in Food Science and Nutrition 36(S):S165-S186.

Munkvold, G.P., Hellmich, R.L. and Showers, W.B. 1997. Reduced Fusarium ear rot and symptomless infection in kernels of maize genetically engineered for European corn borer resistance. Phytopathology 87(10):1071-1077.

Munkvold, G.P., Hellmich, R.L. and Rice, L.G. 1999. Comparison of fumonisin concentrations in kernels of transgenic *Bt* maize hybrids and nontransgenic hybrids. Plant Dis. 83(2):130-138.

NCGA. 2000. *The World of Corn*. The National Corn Growers Association.

Noteborn, H.P.J.M., Bienenmann-Ploum, M.E., van den Berg, J.H.J., Alink, G.M., Zolla, L., Reynaerts, A., Pensa, M. and Kuiper, H.A. 1995. Safety assessment of the *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal protein CRYIA(b) expressed in transgenic tomatoes. In *ACS Symp. Ser.*, 605 (Genetically Modified Foods), pp 134-147.

Odell, J.T., Nagy, F. and Chua, N.-H. 1985. Identification of DNA sequences required for activity of the Cauliflower Mosaic Virus 35S promoter. Nature 313:810-812.

OECD (Organisation for Economic Cooperation and Development). 1993. *Safety evaluation of foods produced by modern biotechnology: Concepts and principles*. OECD, Paris.

Orr, D.B. and Landis, D.A. 1997. Oviposition of European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) and impact of natural enemy populations in transgenic versus isogenic corn. J. Econ. Entomol. 90(4): 905-909.

Palm, C.J., Donegan, K., Harris, D. and Seidler, R.J. 1994. Quantification in soil of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* δ -endotoxin from transgenic plants. Molecular Ecology 3:145-151.

Pearson, W.R. and Lipman, D.J. 1988. Improved tools for biological sequence comparison. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444-2448.

Pilcher, C.D., Obrycki, J.J., Rice, M.E. and Lewis, L.C. 1997. Preimaginal development, survival, and field abundance of insect predators on transgenic *Bacillus thuringiensis* corn. Environ. Entomol. 26(2):448-454.

Pruett, C.J.H., Burges, H.D. and Wyborn, C.H. 1980. Effect of exposure to soil on potency and spore viability of *Bacillus thuringiensis*. J. Invertebr. Pathol. 35:168-174.

Rice, M.E. and Pilcher, C.D. 1999. *Bt* Corn and insect resistance management: Farmer perceptions and educational opportunities. A poster presented at the 1999 meeting of the Entomological Society of America.

Rochester, D.E., Winer, J.A. and Shah, D.M. 1986. The structure and expression of maize genes encoding the major heat shock protein, hsp70. EMBO J. 5:451-458.

Russell, J. and Petersen, T.S. 1999. *Bt* corn and non-*Bt* corn crop residues equal in

- grazing value. Iowa State University Extension Communications, Ames, IA.
- Sacchi, V.F., Parenti, P., Hanozet, G.M., Giordana, B., Luthy, P. and Wolfersberger, M.G. 1986. *Bacillus thuringiensis* toxin inhibits K⁺-gradient-dependent amino acid transport across the brush border membrane of *Pieris Brassicae* midgut cells. FEBS Lett. 204(2):213-218.
- Sanders, P.R., Lee, T.C., Groth, M.E., Astwood, J.D. and Fuchs, R.L. 1998. Safety assessment of insect-protected corn. *In* Biotechnology and Safety Assessment, 2nd ed; Thomas, J.A. Ed., Taylor and Francis, pp 241-256.
- Sears, M.K., Stanley-Horn D.E. and Matilla, H.R. 2000a. Preliminary Report on the Ecological Impact of Bt Corn Pollen on the Monarch Butterfly in Ontario, submitted March 30, 2000, to Plant Biotechnology Office, Canadian Food Inspection Agency.
- Sears, M.K., Stanley-Horn, D.E. and Matilla, H.R. 2000b. Impact of Bt pollen on 1st and 3rd instar monarchs in field studies. Presented at the USDA Monarch Data Review, 16-17 Nov 2000, Chicago, IL. *To be published.*
- Sedlacek, J.D., Hanley, A.M., Komaravalli, S.R., and Price, B.D. 1999. Impact of transgenic grain on Indian meal moth and Angoumois grain moth. Kentucky State University, Frankfort, KY.
- Shadduck, J.A. 1983. Some considerations on the safety evaluation of nonviral microbial pesticides. Bull. W.H.O. 61(1):117-128.
- Sidhu, R.S., Hammond, B.G., Fuchs, R.L., Mutz, J-N, Holden, L.R., George, B. and Olson, T. 2000. Glyphosate-tolerant corn: The composition and feeding value of grain from glyphosate-tolerant corn is equivalent to that of conventional corn (*Zea Mays* L.). J. Agric. Food Chem. 48(6):2305-2312.
- Siegel, J.P. and Shadduck, J.A. 1989. Safety of microbial insecticides to vertebrates-humans. *In* Safety of Microbial Insecticides, Laird, M., Lacey, L.A. and Davidson, E.W., Eds., CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, pp 102-113.
- Sims, S.R. and Holden, L.R. 1996. Insect bioassay for determining soil degradation of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* CryIA(b) protein in corn tissues. Physio and Chem Ecol 25(3):659-664.
- Sjogblad, R.D., McClintock, J.T. and Engler, R. 1992. Toxicological considerations for protein components of biological pesticide products. Regulatory Toxicology Pharmacology 15:3-9.
- Sleisenger, M.H. and Fordtran, J.S. 1989. Gastrointestinal Disease. Volume 1, Pathophysiology Diagnosis Management. 4th Edition. W.B. Saunders Co., Toronto, pp 685-689.
- Sobek, E.A. and Munkvold, G.P. 1999. European corn borer (Lepidoptera:Pyralidae) larvae as vectors of *Fusarium moniliforme*, causing kernel rot and symptomless infection of maize kernels. J. Econ. Entomol. 92: 503-509.
- Taylor, S.L., Lemanske Jr., R.F., Bush, R.K. and Busse, W.W. 1987. Food allergens: Structure and immunologic properties. Ann. Allergy 59(5), Part II:93-99.
- Taylor, S.L. 1992. Chemistry and detection of food allergens. Food Technol 39:146-152.

- Taylor, S.L., Nordlee, J.A. and Bush, R.K. 1992. Food allergies. *In* Food Safety Assessment, ACS Symposium Series 484. J.W. Finley, S.F. Robinson and D.J. Armstrong, (eds). American Chemical Society, Washington, D.C.
- Van Rie, J., Jansens, S., Höfte, H., Degheele, D. and Van Mellaert, H. 1989. Specificity of *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxins. Importance of specific receptors on the brush border membrane of the mid-gut of target insects. Eur. J. Biochem. 186:239-247.
- Van Rie, J., Jansens, S., Höfte, H., Degheele, D. and Van Mellaert, H. 1990. Receptors on the brush border membrane of the insect midgut as determinants of the specificity of *Bacillus thuringiensis* Delta-endotoxins. Appl. Environ. Microbiol. 56(5):1378-1385.
- Vinson, S.B. 1989. Potential impact of microbial insecticides on beneficial arthropods in the terrestrial environment. *In* Safety of Microbial Insecticides. Laird, M., Lacey, L.A. and Davidson, E.W., Eds., CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, pp. 43-64.
- Watson, S.A. 1982. Corn: Amazing maize. General properties. *In* CRC Handbook of Processing and Utilization in Agriculture, Volume II: Part 1 Plant Products. Wolff, I.A. Ed., CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, pp 3-29.
- Watson, S.A. 1987. Structure and composition. *In* Corn: Chemistry and Technology. Watson, S.A. and Ramstad, P.E., Eds., American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, Minnesota, pp. 53-82.
- West, A.W., Burges, H.D., White, R.J. and Wyborn, C.H. 1984. Persistence of *Bacillus thuringiensis* parasporal crystal insecticidal activity in soil. J. Invertebr. Pathol. 44:128-133.
- West, A.W. 1984. Fate of the insecticidal, proteinaceous parasporal crystal of *Bacillus thuringiensis* in soil. Soil Biol. Biochem. 16(4):357-360.
- Whiteley, H.R. and Schnepf, H.E. 1986. The molecular biology of parasporal crystal body formation in *Bacillus thuringiensis*. Ann. Rev. Microbiol. 40:549-576.
- WHO. 1995. Application of the Principles of Substantial Equivalence to the Safety Evaluation of Foods or Food Components from Plants Derived by Modern Biotechnology. World Health Organization, Food Safety Unit, Geneva, Switzerland.
- Wolfersberger, M.G., Hofmann, C. and Lüthy, P. 1986. Interaction of *Bacillus thuringiensis* Delta-endotoxin with Membrane vesicles isolated from Lepidopteran larval Midgut. *In* Bacterial Protein Toxins. Falmagne, P., Fehrenbech, F.J., Jeljaszewics, J. and Thelestam, M., Eds., New York, NY, pp 237-238.
- Wraight, C.L., Zangerl, A.R., Carroll, M.J. and Berenbaum, M.R. 2000. Absence of toxicity of *Bacillus thuringiensis* pollen to black swallowtails under field conditions. Proc. Nat. Acad. Sci. 97(14): 7700-7703.
- Wright, K.N. 1988. Nutritional properties and feeding value of corn and its by-products. *In* Corn: Chemistry and Technology, Watson S.A. and Ramstad, P.E., Eds., American Association of Cereal Chemists, St. Paul, Minnesota, pp 447-478.
- Yamamoto, T. and Powell, G.K. 1993. Structure and function of the insecticidal protein produced by *Bacillus thuringiensis*. *In* Recent Adv. Mol. Biochem. Res.

Proteins, Proc. IUBMB Symp. Protein Struct. Funct., Meeting date 1992, World Sci., Singapore, Singapore, pp 137-44.

Yu, L., Berry, R.E. and Croft, B.A. 1997. Effects of *Bacillus thuringiensis* toxins in transgenic cotton and potato on *Folsomia candida* (Collembola: Isotomidae) and *Oppia nitens* (Acari: Orbatidae). *Ecotoxicology* 90(1):113-118.

六、相关附件资料

为了与正文区分，本附件部分图表重新编号为附图 1、附图 2 或附表 1、附表 2 等。

相关附件资料目录

序号	附件资料	页码
1	目的基因的核苷酸序列及其推导的氨基酸序列	53
2	目的基因与载体构建的图谱	54
3	目的基因与植物基因组整合及其表达的分子检测或鉴定结果（PCR 检测、Southern 杂交分析、Northern 或 Western 分析结果、目的基因产物表达结果）	55
4	转基因性状及产物的检测和鉴定技术	65
5	各试验阶段审批书的复印件(进口转基因生物直接申请安全证书的，本项不填写)	65
6	各试验阶段的安全性评价试验总结报告(进口转基因生物直接申请安全证书的，本项不填写)	65
7	转基因植物对生态环境安全性的综合评价报告	65
8	食品安全性的综合评价报告，包括: A) 必要的动物毒理试验报告; B) 食品过敏性评价试验报告; C) 与非转基因植物比较，其营养成份及抗营养因子分析报告等	65
9	该类转基因植物国内外生产应用概况	73
10	田间监控方案，包括监控技术、抗性治理措施、长期环境效应的研究方法等	73
11	审查所需的其它相关资料	75
12	转基因生物在输出国家或地区已经允许作为相应用途并投放市场的证明文件(境内单位申请安全证书的,本项不填写)	75
13	输出国家或地区经过科学试验证明对人类、动植物和生态环境无害的资料（境内单位申请安全证书的，本项不填写）	86

1. 目的基因的核苷酸序列及其推导的氨基酸序列；

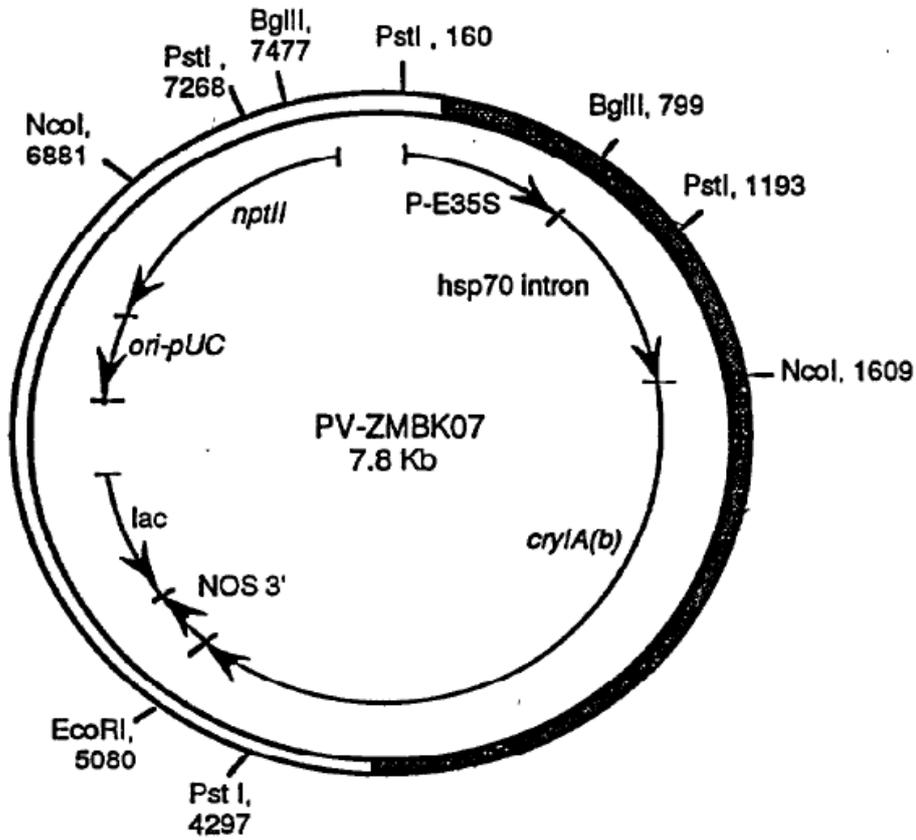
*cry1Ab*基因的核苷酸序列 (商业保密资料)

涉及商业保密资料，在本公开版本中已删除

Cry1Ab蛋白的推导氨基酸序列

```
1 MDNPNINEC IPYNCLSNPE VEVLGGERIE TGYTPIDISL SLTQFLLSEF
51 VPGAGFVLGL VDIIWGIFGP SQWDAFLVQI EQLINQRIEE FARNQAI SRL
101 EGLSNLYQIY AESFREWEAD PTNPALREEM RIQFNDMNSA LTTAIPLFAV
151 QNYQVPLLSV YVQAANLHLS VLRDVSVFGQ RWGFDAATIN SRYNDLTRLI
201 GNYTDHAVRW YNTGLERVWG PDSRDWIRYN QFRRELTLTV LDIVSLFPNY
251 DSRTYPIRTV SQLTREIYTN PVLENFDGSF RGSAQGIEGS IRSPHLM DIL
301 NSITIIYTDH RGEYYWSGHQ IMASPVGFSG PEFTFPLYGT MGNAAPQQRI
351 VAQLGQGVYR TLSSTLYRRP FNIGINNQQL SVLDGTEFAY GTSSNLPSAV
401 YRKSGTVDSL DEIPPQNNNV PPRQGFSHRL SHVSMFRSGF SNSSVSIIRA
451 PMFSWIHRSA EFNNIIPSSQ ITQIPLTKST NLGSGTSVVK GPGFTGGDIL
501 RRTSPGQIST LRVNITAPLS QRYRVRIRYA STTNLQFHTS IDGRPINQGN
551 FSATMSSGSN LQSGSFRTVG FTTPFNFSNG SSVFTLSAHV FNSGNEVYID
601 RIEFVPAEVT FEAEYDLERA QKAVNELFTS SNQIGLKT DV TDYHIDQVSN
651 LVECLSDFEC LDEKKELSEK VKHAKRLSDE RNLLQDPNFR GINRQLDRGW
701 RGSTDITIQG GDDVFKENYV TLLGTFDECY PTYLYQKIDE SKLKAYTRYQ
751 LRGYIEDSQD LEIYLIRYNA KHETVNVPGT GSLWPLSAPS PIGKCAHSH
801 HFSLDIDVGC TDLNEDFR
```

2. 目的基因与载体构建的图谱;



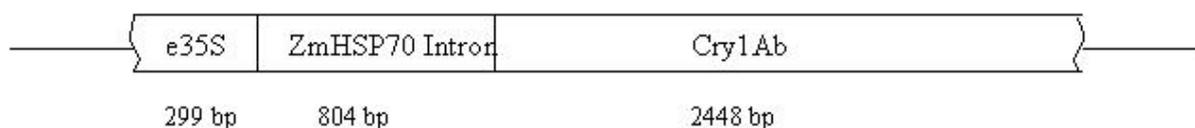
附图 1、PV-ZMBK07 质粒环状图谱

3. 目的基因与植物基因组整合及其表达的分子检测或鉴定结果 (PCR 检测、Southern 杂交分析、Northern 或 Western 分析结果、 目的基因产物表达结果);

产生抗虫玉米 MON 810 运用的转化载体包含以下基因：1) *cry IAb* 基因 (HoRe 和 Whiteley, 1989); 2) CP4 5-烯醇丙酮莽草酸-3-磷酸合成酶(*cp4 epsps*) 基因 (Padgett 等, 1993); 3) 草甘膦氧化还原酶基因 (*gox*) (Padgett 等, 1994); 4) *nptII* 基因, 由细菌特异性启动子启动。通过对抗虫玉米 MON 810 的分子生物学分析可以确定, 该品系仅插入了 PV-ZMBK07 载体的 *cry IAb* 基因, 不含 *cp4 epsps* 基因、*gox* 基因和 *nptII* 基因。另外, 在该品系中没有发现 PV-ZMGT10 载体 DNA 序列的插入。此外, 对 MON 810 不同育种世代中性状分离情况的研究也表明 *cryIAb* 基因可以稳定存在于多个世代中, 且分离比率符合单一基因座单拷贝插入的遗传分离规律。

插入片段分析

MON810 保丰玉米包含一个具有功能性的 *cryIAb* 表达盒, 包括一个在 5' 末端的 *e35S* 启动子和一个在 3' 末端的 *cryIAb* 基因(附图 2)。通过 PCR 试验证明, *e35S* 启动子的大小为 299bp, *cryIAb* 编码区域大小为 2448bp, 二者之间还有 1 个来源于热激蛋白 *hsp70* 的内含子序列, 大小为 804bp。插入序列中未包含终止子, 但一个翻译的终止密码出现在 *cryIAb* 片断末端下游的 9bp 区。插入序列两端的切割并不会影响表达蛋白的杀虫活性。



附图 2、MON 810 插入片段的线性图

插入序列(商业保密资料):

涉及商业保密资料, 在本公开版本中已删除

5' 端侧翼序列(商业保密资料):

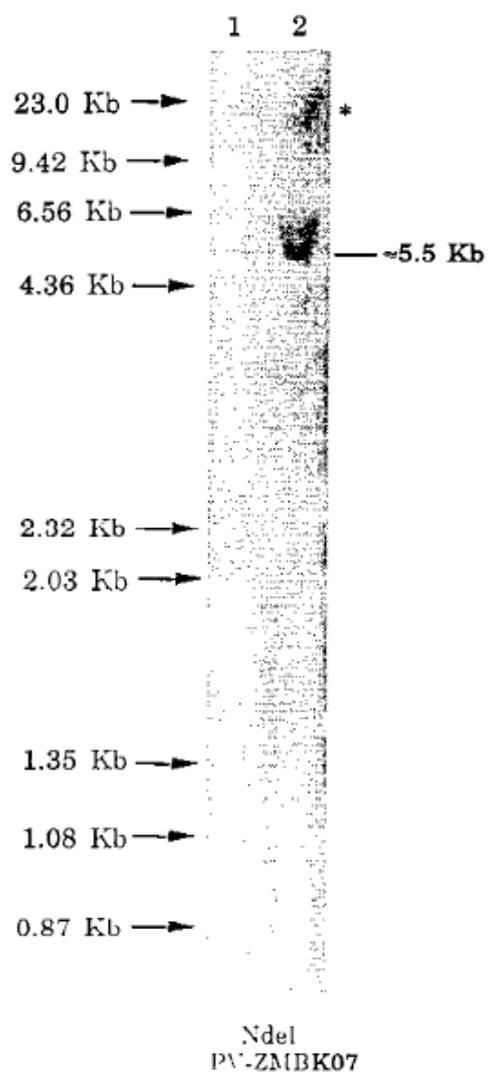
涉及商业保密资料, 在本公开版本中已删除

3' 端侧翼序列(商业保密资料):

涉及商业保密资料, 在本公开版本中已删除

插入位点与拷贝数的Southern杂交分析

用 *Nde* I 对 MON 818 (对照品系) 和 MON 810 基因组进行酶切。*Nde* I 酶切的目的是为了确定玉米系 MON 810 基因组中质粒 DNA 插入点的数目。质粒 PV-ZMZBK07 和 PV-ZMGT10 的 DNA 上不含 *Nde*I 的酶切位点, 因此用此酶可以切开插入的外源序列之外的基因组 DNA 序列, 释放出由插入的外源 DNA 以及邻近的玉米基因组 DNA 所组成的片段。作为对照的 MON 818 的基因组 DNA 和 MON 810 的基因组 DNA 经 *Nde*I 酶切后, 以质粒 PV-ZMVK07 的 DNA 为探针进行检测。检测结果如图附图 3 所示。MON 818 的 DNA (第 1 泳道) 在分子量大小为 21.0 Kb 的位置上产生了一条很浅的、呈弥散形的条带。该条带是一条背景带, 因为在对照组 MON818 和样品 MON 810 的 DNA 中均检测到这条带的存在。MON 810 在分子量约为 5.5 Kb 的位置, 检测到一个条带 (第 2 泳道)。这一结果表明, 转基因抗虫玉米 MON 810 包含有整合的外源 DNA 的一个片段。插入的 DNA 序列加上其邻近的两个 *Nde* I 酶切位点之间的玉米基因组 DNA 序列的大小约为 5.5 Kb。

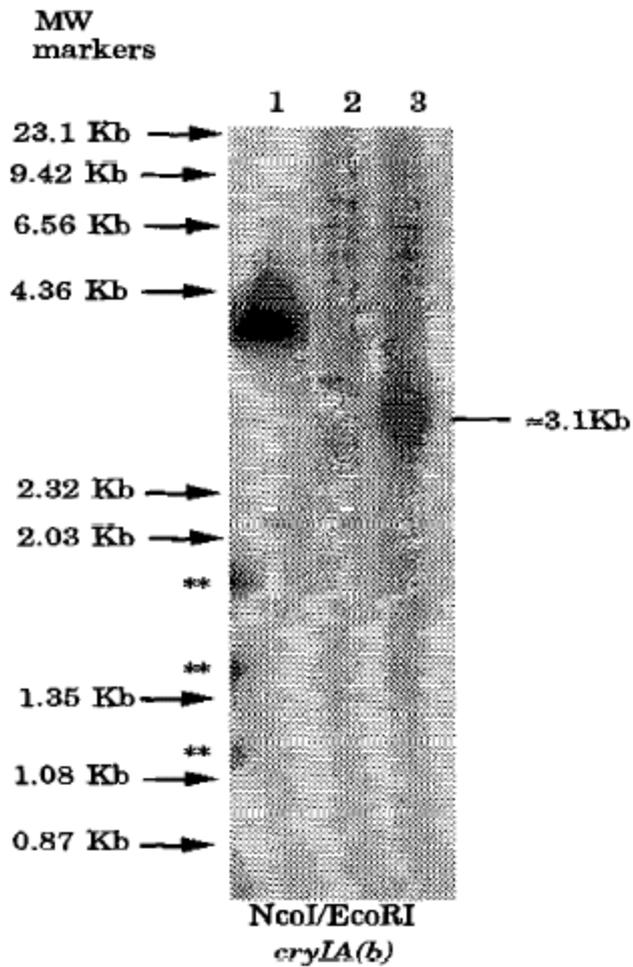


附图 3、MON 810 中插入位点的 Southern 杂交分析

泳道 1,2 分别为 MON 818 与 MON 810 基因组经 *Nde* I 酶切后与质粒 PV-ZMBK07 杂交后的结果。箭头标示分子量大小。

cryIAb基因完整性的Southern杂交分析

NcoI/EcoRI 双酶切消化对照组 MON 818（对照品系）和 MON 810 的基因组 DNA，以切下 *cryIAb* 基因。将上述 DNA 经 *NcoI/EcoRI* 双酶切消化后，以 *cryIAb* 为探针进行 Southern 印迹检测。检测结果如附图 4 所示，见 1-3 泳道。第 1 泳道为阳性对照，在分子量为 3.46 Kb 的位置检测到有相应 *cryIAb* 基因大小的条带存在。由于质粒 DNA 未与阴性对照玉米系的基因组 DNA 混合，因此检测到的条带的大小较其真实的分子量略大一些。阴性对照玉米 MON 818 基因组 DNA（第 2 泳道）中未检测到任何信号条带，与预期结果一致。而在 MON 810 的基因组 DNA（第 3 道）中检测到一个条带，分子量约为 3.1 Kb。*NcoI/EcoRI* 酶切后，以 *cryIAb* 基因为探针进行检测，可以检测到在其基因组 DNA 中存在有一分子量约为 3.1 Kb 的 *cryIAb* 基因，可以编码有活性的抗虫蛋白 Cry1Ab (Hofte et al., 1986)。



附图 4、 Southern 杂交分析 MON 810 中 *cryIAb* 基因的完整性
泳道 1-3 分别为用 *NcoI/EcoRI* 消化的 50 pg PV-ZMBK07 质粒 DNA, MON 818 基因组 DNA, MON 810 基因组 DNA。

→ 标示分子量大小

— 标示目的片段大小

** 标示由于泳道 1 内容物扩散造成的与泳道 1 相邻的泳道中出现的杂交条带

PV-ZMGT10 中元件及PV-ZMBK07 骨架序列的Southern杂交分析

cp4 epsps基因

NcoI/BamHI 双酶切消化质粒 DNA (PV-ZMBK07 和 PV-ZMGT10) 和抗虫系玉米 MON 810 基因组 DNA, 以切下 *cp4 epsps* 基因。以上 DNA 经 *NcoI/BamHI* 双酶消化后, 以 *cp4 epsps* 基因为探针进行了 Southern 印迹检测。结果如附图 5 的泳道 1 和 2 所示。在约 50 pg 的 PV-ZMBK07 和 PV-ZMGT10 的 DNA 混合物 (第 1 道) 中检测到一条分子量为 3.1 Kb 的条带, 该条带与预期从质粒 PV-ZMGT10 上切下的 *cp4 epsps* 片段大小一致。而 MON 810 的基因组 DNA (第 2 道) 中未检测到与 *cp4 epsps* 探针杂交的片段, 表明该抗虫玉米系不含有 *cp4 epsps* 基因。

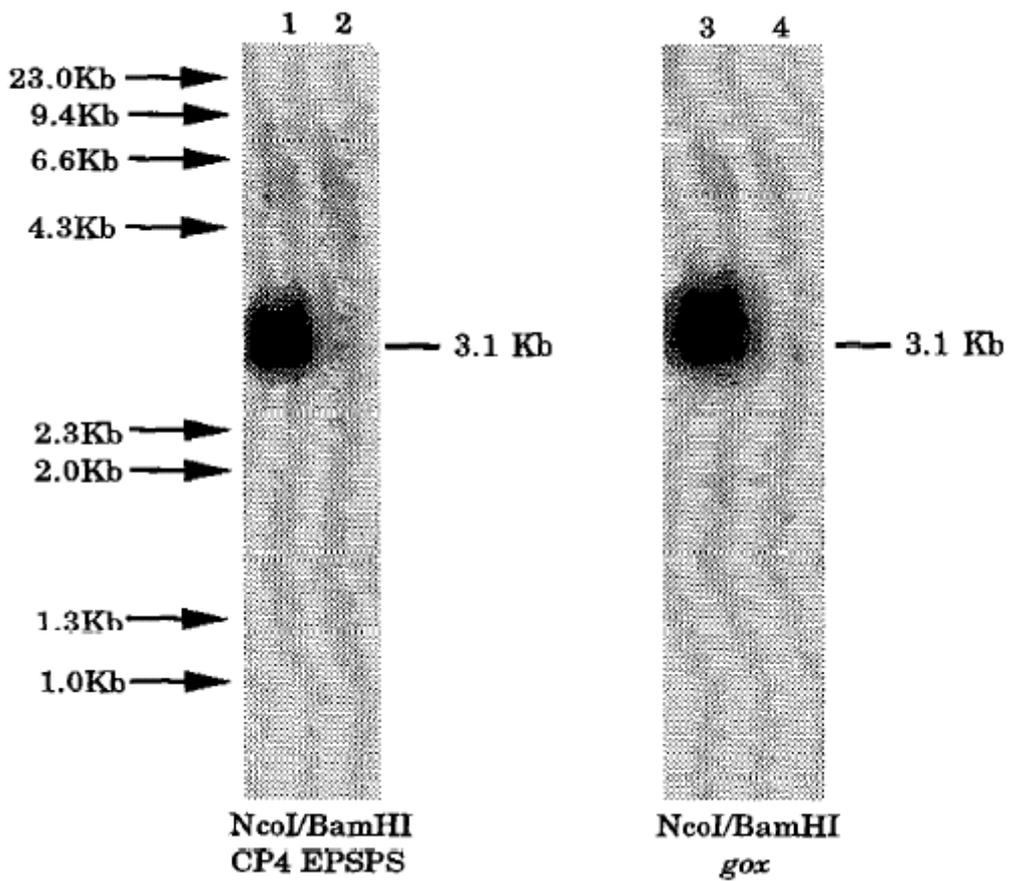
gox基因

NcoI/BamHI 双酶消化质粒 DNA (PV-ZMBK07 和 PV-ZMGT10) 和抗虫系玉米 MON 810 基因组 DNA, 以切下 *gox* 基因。以上 DNA 经 *NcoI/BamHI* 双酶消化后, 以 *gox* 基因为探针进行 Southern 印迹检测。结果如附图 5 第 3、4 道所示。约 50 pg 的 PV-ZMBK07 和 PV-ZMGT10 的 DNA 混合物 (第 1 道) 中检测到一条分子量为 3.1 Kb 的条带, 该条带与预期从质粒 PV-ZMGT10 上切下的基因 *gox* 片段大小一致。MON 810 的基因组 DNA (第 4 道) 中未检测到与 *gox* 探针杂交的片段, 表明在该抗虫玉米系 MON 810 不含有 *gox* 基因。

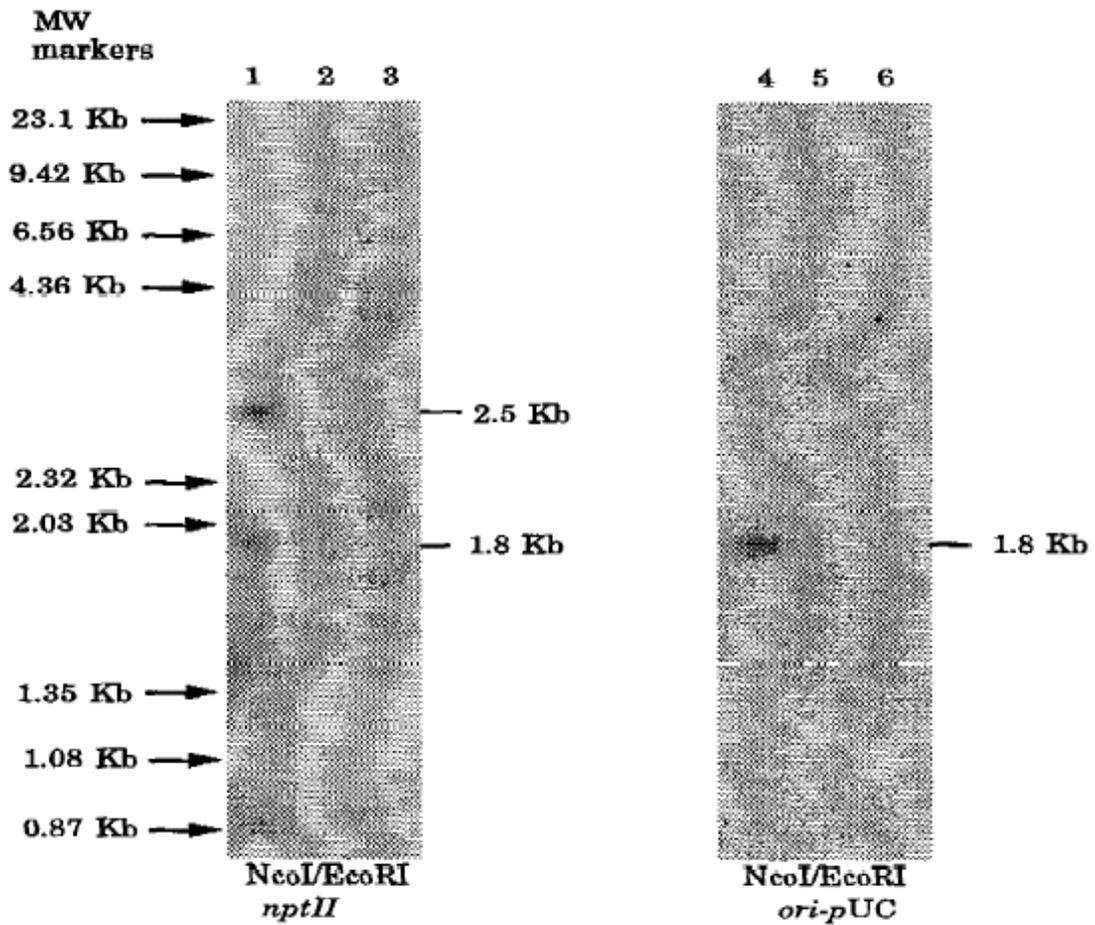
PV-ZMBK07 质粒骨架序列

NcoI/EcoRI 双酶消化质粒 PV-ZMBK07、对照组玉米系 MON 818 和转基因抗虫玉米系 MON 810 基因组 DNA, 可以切下质粒骨架片段 *nptII/ori-pUC*。以上 DNA 经 *NcoI/EcoRI* 双酶消化后, 以基因 *nptII* 为探针进行了 Southern 印迹分析。结果如附图 6 的 1-3 道所示。约 50 pg 的 PV-ZMBK07 质粒 DNA 分别在分子量为 2.5 Kb 和 1.8 Kb 的位置检测到两条带 (第 1 道)。这两条 2.5 Kb 和 1.8 Kb 的条带分别对应预期从载体 PV-ZMBK07 上切下的片段。阴性对照 MON 818 基因组 DNA (第 2 道) 中未检测到任何条带, 与预期结果一致。同样在玉米系 MON 810 的基因组中 (第 3 道) 也未检测到相应的条带, 表明在转基因抗虫玉米系基因组中, 未整合入载体质粒的骨架序列。

我们将上面的 Southern 印迹分析的膜洗掉探针后用 *ori-pUC* 片段重新进行 Southern 印迹检测。质粒 PV-ZMBK07 和 PV-ZMGT10 的 DNA (第 4 道) 检测到分子量为 1.8 Kb 的条带。这条 1.8 Kb 的条带对应于预期从载体 PV-ZMBK07 上切下的片段。阴性对照 MON 818 基因组 DNA (第 5 道) 中未检测到任何条带, 与预期结果一致。同样在玉米系 MON 810 的基因组中 (第 6 道) 也未检测到相应的条带, 表明在转基因抗虫玉米系基因组中, 并没有整合入质粒的骨架序列。上述 Southern 分析中未检测到转基因抗虫玉米系中存在 *ori-pUC* 片段和 *nptII* 基因, 表明在该玉米系中不包含有任何载体质粒骨架序列。



附图 5、Southern 杂交分析 MON 810 中是否存在 *cp4 epsps* 和 *gox* 基因
 泳道 1,3 分别为用 *NcoI/BamHI* 消化的 50pg PV-ZMGT10 和 PV-ZMBK07 质粒 DNA；
 泳道 2,4 分别为用 *NcoI/BamHI* 消化的 MON 810 基因组 DNA。泳道 1,2 与 *cp4 epsps* 基
 因杂交，泳道 3,4 与 *gox* 基因杂交。
 → 标示分子量大小
 — 标示目的片段大小



附图 6、Southern 杂交分析 MON 810 中是否存在 *nptII* 基因和 *ori-pUC*
 泳道 1,4 为用 *NcoI/EcoRI* 消化的 50pg PV-ZMBK07 质粒 DNA；泳道 2,5 为 *NcoI/EcoRI*
 消化的 MON 818 基因组 DNA；泳道 3,6 为 MON 810 基因组 DNA。泳道 1-3 与 *nptII* 基
 因杂交，泳道 4-6 与 *ori-pUC* 杂交。
 → 标示分子量大小
 — 标示目的片段大小

插入的遗传稳定性研究

MON 810 R0 代与一个自交系杂交后得到的 BC0F1 代植株、BC0F1 代植株与一个自交系（该自交系与同 R0 代杂交的自交系相同）杂交得到的 BC1F1 代植株和单个 BC0F2 代植株与一个非转基因测试植株杂交后得到的 BC1F2 代后代植株的分离数据如附表 1 所示，根据孟德尔遗传法则，其分离比率复合单一插入的分离规律。

附表 1、对 MON 810 玉米后代的遗传分离研究

世代	实际分离比	期望分离比	卡方
BC0F1 ¹	44:47	45.5:45.5	0.044 [*]
BC1F1 ²	10:4	7:7	1.786 [*]
BC1F2 后代 ³	69:181:77	81.75:163.5:81.75	4.138 [#]

¹ 数值表示存在 *cryIAb* 基因表达的植株数；没有表达的植株数是根据欧洲玉米螟饲喂试验结果得到的。

² 数值表示存在 *cryIAb* 基因表达的植株数；没有表达的植株数是根据 Cry1Ab 蛋白的 ELISA 检测结果得到的。

³ 数值表示根据欧洲玉米螟饲喂试验得到的纯合体植株穗行数：分离植株的穗行数：疑似纯合体植株的穗行数

* 在 p=0.05 水平无显著性差异（卡方=3.84,1df）

在 p=0.05 水平无显著性差异（卡方=5.99,2df）

MON 810 中引入的 *cryIAb* 基因可以稳定存在于与一个轮回亲本（B73）杂交的 7 个世代中和与另一个不相关自交系（M017）杂交的 6 个世代中（附表 2）。与 B73 和 M017 回交的卡方检验值并未偏离 P=0.05 水平的期望值。

附表 2、MON 810 玉米品系在两个不相关自交系（B73 和 M017）中的回交后代的基因传递稳定性(数值表示用 ELISA 方法检测的 Cry1Ab 蛋白阳性或阴性的植株的比例)

世代	实际比例	期望比例	卡方
BC6F1(B73) ¹	8:13	10.5:10.5	0.762 [*]
BC5F1(M017) ¹	11:11	11:11	0.045 [*]

¹ 数值表示存在蛋白表达的植株数；没有蛋白表达的植株数

* 在 p=0.05 水平无显著性差异（卡方=3.84,1df）

Cry1Ab蛋白表达量的ELISA检测

MON 810 抗虫玉米中 Cry1Ab 蛋白在整株植物以低水平有效表达。在四个不同的田间试验中对测试样品的 Cry1Ab 蛋白表达量进行了测试：包括 1994、1995 年在美国的田间试验和 1995、1996 年在欧洲的田间试验。通过被验证了的 ELISA 方法对不同组织的 Cry1Ab 蛋白表现水平进行了定量测定。结果表明，MON810 玉米的 Cry1Ab 蛋白表达水平在不同年份和不同地理区域具有一致性(见附表 3)。Cry1Ab 蛋白表达水平的一致性也证明了产品表现好的重要指标之一——插入的稳定性。Cry1Ab 蛋白表达水平足以在全生长过程中有效地控制第一、二代玉米螟的危害 (Gianessi and Carpenter, 1999)。

附表 3、抗虫玉米 MON 810 中 Cry1Ab 蛋白表达水平($\mu\text{g/g}$ fwt 组织)

植物组织	参数	1994 美国 ¹ (6地)	1995 美国(5地)	1995 欧盟 ¹ (4地)	1996 欧盟(3地)
叶片 ²	平均	9.35	8.95	8.60	12.15
	标准差	1.03	2.17	0.74	3.86
	范围	7.93-10.34	5.21-10.61	7.59-9.39	7.77-15.06
秸秆/全植株 ³	平均	4.15	3.34	4.80	4.88
	标准差	0.71	1.09	0.75	0.52
	范围	3.65-4.65	2.31-4.48	4.11-5.56	4.32-5.34
籽粒 ²	平均	0.31	0.57	0.53	0.41
	标准差	0.09	0.21	0.12	0.06
	范围	0.19-0.39	0.39-0.91	0.42-0.69	0.35-0.46
各阶段叶片 ⁴					
	(1 st)	平均	9.78		
	(2 nd)	平均	8.43		
(3 rd)	平均	4.91			

²平均数是由统计每个试验地植物样品的分析值而得来的。

³对于 1994 年美国的试验而言，此值代表了对全植株的分析值；对于余下的试验而言，此值代表了对秸秆组织的分析值。全植株于授粉两周后被采集；秸秆样品于乳熟期或马齿早期被采集；平均值是由分析植物样品所确定的，这些植物样品来自于一个美国试验地和所有的欧盟试验地。一个植物样品是两个单独植株的混合物。

⁴联合叶片样品的平均值由一个地点，在两周的间隔采集，从 V4 阶段直到授粉。

4. 转基因性状及产物的检测和鉴定技术；

涉及商业保密资料，在本公开版本中已删除

5. 各试验阶段审批书的复印件（进口转基因生物直接申请安全证书的，本项不填写）；

本申请为转基因生物直接申请进口用作加工原料的安全证书的申请。

6. 各试验阶段的安全性评价试验总结报告（进口转基因生物直接申请安全证书的，本项不填写）；

本申请为转基因生物直接申请进口用作加工原料的安全证书的申请。

7. 转基因植物对生态环境安全性的综合评价报告；

请见下页报告。

**8. 食品安全性的综合评价报告，包括：A)必要的动物毒理试验报告；
B) 食品过敏性评价试验报告；C) 与非转基因植物比较，其营养成分及抗营养因子分析报告等；**

请见下页报告。

转 *cry1Ab* 基因抗虫玉米 MON 810 的生态环境安全性和食用安全性的综合评价报告

一、摘要（转述转基因作物的遗传性状、试验年限、评价或检测指标及结论）

玉米螟是一种严重危害玉米生长的害虫（在欧洲、美洲主要为欧洲玉米螟，在亚洲主要为亚洲玉米螟），它可以侵害玉米的叶、茎、叶壳、果穗等部位，并可以蛀茎钻入茎秆当中，因此也称“钻心虫”。化学杀虫剂并不能控制钻入茎秆的玉米螟，而保丰玉米无论在什么阶段、什么部位都可以有效地控制玉米螟的危害。在中国由于玉米螟造成的玉米产量损失大约在 3-10% 左右，并导致每年数十亿元的损失。

孟山都公司利用基因枪转化方法，将来源于苏云金杆菌中的 *Cry1Ab* 基因转入到玉米基因组中，开发了具有抗虫特性的“保丰[®]”玉米 MON 810。MON 810“保丰[®]”玉米可以抵御欧洲玉米螟 (ECB, *Ostrinia furnacalis*)，西南玉米螟 (SWCB, *Diatraea grandiosella*) 和亚洲玉米螟 (ACB, *Ostrinia furnacalis*) 等鳞翅目害虫。

2002 年初孟山都公司首次向农业部提交了《转 *cry1Ab* 基因抗虫玉米 MON 810 进口用作加工原料的安全证书》的申请，经农业部指定，2002-2003 年分别在河北省、山东省和吉林省进行了环境安全性检测。同时，由中国疾病预防控制中心对 MON 810 进行了抗营养因子分析与 90 天大鼠喂养试验。

2002 年山东省农业科学院植物保护研究所对 MON 810 玉米的生存竞争能力检测结果显示：转基因玉米 MON 810 及其亲本对照在栽培地、荒地和拓荒地条件下，其出苗率、适应性、长势、株型、生育期、株高等方面均无显著差异，在栽培地条件下二者产量差异不显著，与杂草的竞争力方面也无显著差异，后代种子发芽率也无明显差异，玉米在山东省济南市能够越冬，但第二年春天出苗率较低、越冬性较差。试验过程中没有发现转基因玉米对试验区内及周围植物种类有不良影响。

2003 年吉林省农业科学院农业部转基因植物环境安全检验测试中心（吉林）对 MON 810 玉米的生存竞争能力检测结果显示：转基因玉米 MON 810 与其对照非转基因品种在荒地与杂草的竞争中及在栽培地株高、产量和发芽率等方面的表现没有显著差异，表明抗虫基因的转入没有增强受体的生存竞争能力，不会增加杂势。

2002 年，中国农科院植物保护研究所和山东省农科院植保所分别在河北省和山东省进行田间试验，检测 MON 810 玉米对生物多样性的影响。检测结果证实：MON 810 玉米对靶标害虫亚洲玉米螟有明显抗性。MON 810 玉米对田间节肢动物多样性，在物种生态优势度、天敌总量、瓢虫、小花蝽、蜘蛛和草蛉等捕食性天敌种群动态、以及寄生性天敌总量，以及非靶标害虫玉米蚜的种群动态上，同其非转基因对照相比，没有显著的影响。与非转基因对照相比，MON 810 对主要病害的发生没有显著影响。

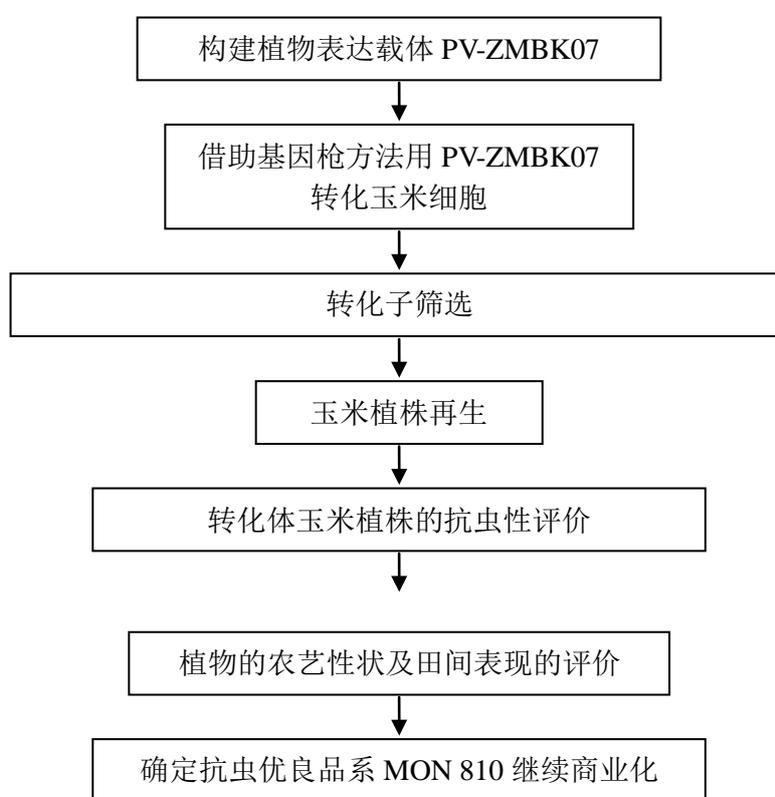
中国疾病预防控制中心将 MON 810 玉米掺入饲料（掺入比例为 50%），饲喂大鼠 90 天，动物活动、生长未见异常，被毛浓密有光泽。MON 810 玉米组、对照

玉米组和国内普通对照玉米组比较，未发现MON 810玉米对试验大鼠体重、食物利用率、血液学指标、血生化指标、脏器比以及组织病理学观察有生物学意义的改变。此外，MON 810与其亲本对照相比，抗营养因子含量无显著差异。

二、背景介绍

抗虫玉米MON 810是利用质粒载体PV-ZMBK07，通过基因枪法产生的。PV-ZMBK07含有编码杀虫蛋白Cry1Ab的*cry1Ab*基因。该基因来自于苏云金杆菌亚种HD-1，受强化花椰菜镶嵌病毒（CaMV）35S启动子、玉米热激蛋白*hsp70*内含子序列和NOS3'非翻译区的调控。MON 810玉米对欧洲玉米螟、西南玉米螟等有良好的抗性。

抗虫玉米 MON 810 的转化开发过程如下图所示：



抗虫玉米 MON 810 的遗传转化过程

三、受体生物学特性

受体植物为玉米，在世界各地几乎都有种植。玉米的学名为 *Zea mays* L，俗名为玉米，也称为玉黍、苞谷、棒子等。在植物分类学上属于单子叶植物的禾本科、玉蜀黍属、玉米种、栽培玉米亚种。现代玉米不是起源于中国，但其确切的起源目前仍无定论。

栽培玉米在分类上属于单子叶植物纲、禾本科 (*Gramineae*)、玉蜀黍族 (*Maydeae*)、玉蜀黍属 (*Zea* L.)。在早期的分类系统中，玉蜀黍属仅有栽培玉米 (*Zea mays* L.) 一个种。Wilkes (1967) 将类蜀黍属 (大刍草“Teosinte”) 归入玉蜀黍属，成为其中的一个亚属，包括两个种：一年生墨西哥玉米 (*Zea mexicana*) 和多年生玉米 (*Zea perennis*)。根据新的研究结果，Doebley 领导的研究小组对玉蜀黍属内各分类单位的地位进行重新划分，制定了新的分类系统 (Iltis and Doebley, 1980; Doebley and Iltis, 1980):

Gramineae (禾本科)

Maydeae (玉蜀黍族)

Genus *Zea* (玉蜀黍属)

Zea mays L (玉米种)

ssp. mays (栽培玉米亚种)

大量研究表明，玉米很可能于 7,000 到 10,000 年前在墨西哥南部开始驯化。玉米公认的起源目前还没有找到，但是墨西哥类蜀黍很可能在玉米的遗传背景中起了重要作用。

玉米在 100 多个国家有商业化种植。主要的玉米生产国是美国、中国、巴西、墨西哥、法国和印度，占全世界玉米总产量的 75%。种植玉米主要是为了收获玉米籽粒，其大多数用作动物饲料，也有相当大的部分用于食品、制药和工业产品等加工领域。

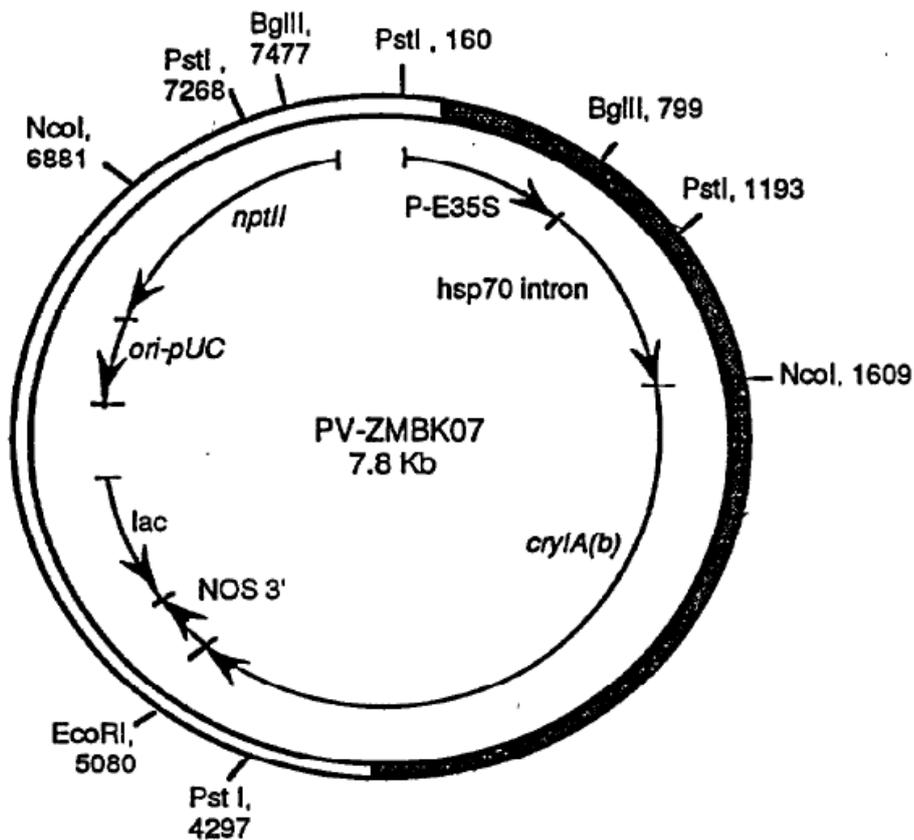
玉米在中国分布很广，南起海南岛，北到北纬 50° 的黑龙江，东起台湾及沿海各省，西到新疆、青藏高原，都有玉米栽培。东北及西南高寒山区为春播玉米，黄淮海流域为夏播玉米，在广西、海南等省可一年两季种植。根据各地气候条件、生产条件和种植制度，从东北到西南的狭长区域内，形成了中国玉米的主要种植区，即北方春播玉米区、黄淮海夏播玉米区、西南山地玉米区、南方丘陵玉米区、西北灌溉玉米区、青藏高原玉米区。

根据研究，玉米大约是在 1511 年前若干年引入中国的。目前，中国是世界上第二大玉米生产国，玉米产量占世界总产的 20% 左右。是我国三大粮食作物之一，播种面积、总产和单产均已跃居粮食作物的第二位。中国玉米种植区域可以划分成 6 个区，即北方春播玉米区、黄淮海平原夏播玉米区、西南山地玉米区、南方丘陵玉米区、西北灌溉玉米区和青藏高原玉米区。玉米的生产大部分主要集中在中国的东北地区、黄淮海平原区和西南山地玉米区，这 3 个地区占全国玉米种植面积的 90% 以上。

MON 810 转化用受体品种为 Hi-II，它是 A188 和 B73 自交系玉米的衍生物，其生物特性与其它 A188 和 B73 的衍生自交系玉米相似。

四、基因操作

最初开发 MON810 抗虫玉米时，利用基因枪法将含有 PV-ZMBK07 和 PV-ZMGT10 两种质粒载体的混合物同时轰击玉米受体，这两个转化载体包含以下基因：1) *cry IAb* 基因 (HoRe 和 Whiteley, 1989)；2) CP4 5-烯醇丙酮莽草酸-3-磷酸合成酶 (CP4 EPSP) 基因 (Padgett 等, 1993)；3) 草甘膦氧化还原酶基因 (*gox*) (Padgett 等, 1994)；4) 由细菌特异性启动子启动的 *nptII* 基因。通过对抗虫玉米 MON 810 的分子生物学分析证实，该品系仅插入了 PV-ZMBK07 载体的 *cryIAb* 基因，而不含有另一个载体 PV-ZMGT10 所含有的 CP4 EPSP 合成酶基因、*gox* 基因，也不含有两个转化载体所含有的 *nptII* 基因。另外，在该品系中没有发现 PV-ZMGT10 载体 DNA 序列的插入。抗虫玉米 MON 810 基因组中含有一段整合 DNA 序列，该序列位于一段 5.5Kb 的 *NdeI* 酶切片段上，该片段包含 E35S 启动子、玉米 *hsp70* 的内含子和 *cry IAb* 基因。质粒 PV-ZMBK07 的环状图谱如下：



分子特征分析表明，MON 810 中含有单一拷贝插入。此外，对 MON 810 不同育种世代中性状分离情况的研究也表明 *cryIAb* 基因可以稳定存在于多个世代中，且分离比率符合单一基因座单拷贝插入的遗传分离规律。

五、遗传稳定性

MON 810 R0 代与一个自交系杂交后得到的 BC0F1 代植株、BC0F1 代植株与一个自交系（该自交系与同 R0 代杂交的自交系相同）杂交得到的 BC1F1 代植株和单个 BC0F2 代植株与一个非转基因测试植株杂交后得到的 BC1F2 代后代植株的分离数据符合孟德尔遗传法则，其分离比率符合单一插入的分离规律。

此外，MON 810 抗虫玉米 1996-1997 年在美国获得商业化栽培批准后，已经商业化应用近 10 年。在商业化应用过程中，MON 810 对靶标害虫表现出良好的抗性。也从另一侧面说明插入的抗虫基因能够稳定表达抗虫蛋白。

六、环境安全评价

生存竞争能力：2002 年山东省农业科学院植物保护研究所对 MON 810 玉米的生存竞争能力检测结果显示：转基因玉米 MON 810 及其亲本对照在栽培地、荒地和拓荒地条件下，其出苗率、适应性、长势、株型、生育期、株高等方面均无显著差异，在栽培地条件下二者产量差异不显著，与杂草的竞争力方面也无显著差异，后代种子发芽率也无明显差异，玉米在山东省济南市能够越冬，但第二年春天出苗率较低、越冬性较差。试验过程中没有发现转基因玉米对试验区内及周围植物种类有不良影响。

2003 年吉林省农业科学院农业部转基因植物环境安全检验测试中心（吉林）对 MON 810 玉米的生存竞争能力检测结果显示：转基因玉米 MON 810 与其对照非转基因品种在荒地及杂草的竞争中和在栽培地株高、产量和发芽率等方面的表现没有显著差异，表明抗虫基因的转入没有增强受体的生存竞争能力，不会增加杂势。

生物多样性：2002 年，中国农科院植物保护研究所和山东省农科院植保所分别在河北省和山东省进行田间试验，检测 MON 810 玉米对生物多样性的影响。检测结果证实：MON 810 玉米对靶标害虫亚洲玉米螟有明显抗性。MON 810 玉米对田间节肢动物多样性，在物种生态优势度、天敌总量、瓢虫、小花蝽、蜘蛛和草蛉等捕食性天敌种群动态、以及寄生性天敌总量，以及非靶标害虫玉米蚜的种群动态上，同其非转基因对照相比，没有显著的影响。与非转基因对照相比，MON 810 对主要病害的发生没有显著影响。

基因漂移：玉米为典型的风媒授粉植物，产生大量花粉，使穗上胚珠成功受精。玉米花粉较大，这种大颗粒和迅速沉降的特性影响了玉米花粉的传播。由于玉米雌雄异花，所以昆虫传粉对玉米的可能性很小，这样也就限制了玉米花粉随昆虫远距离传播的可能。

Bt 玉米花粉的大量传播，可能使 Bt 基因转移到玉米的近缘野生种，从而发生转基因向近缘种的扩散。但根据文献记载，中国没有可以与玉米进行杂交的近缘种。同时，我国也没有发现玉米田周边杂草能够和玉米进行杂交的记载，所以转基因玉米与其他物种间发生基因漂移的可能性很小。

七、食用安全评价

营养学评价：对 1994 年在美国、以及 1995 年欧洲田间试验中收获的玉米籽粒和秸秆的营养成分进行了分析，结果表明 MON 810 抗虫玉米品系的主要成分与对

照品系实质等同，并且在已发表的文献报导的数值范围之内。对玉米籽粒的成分分析指标包括蛋白质、脂肪、灰分、粗纤维、中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维、碳水化合物、热量和水分。还分析了氨基酸、脂肪酸、钙质、磷、生育酚（维生素E）等成分。这些分析证明MON 810品系的营养成分和对照品系以及其他商品玉米的营养成分实质相等。

中国疾病预防控制中心也检测了MON 810玉米的抗营养成分。结果表明，MON 810转基因玉米与其常规对照的抗营养因子水平相当。

毒理学评价：Cry1Ab 蛋白必须能被昆虫吸收方产生杀虫效果。这种蛋白晶体在中性或酸性 pH 溶液中不能被溶解；而昆虫幼体肠液 pH 是碱性的，可以溶解这种蛋白晶体。溶解的蛋白被昆虫肠液中的蛋白酶激活。这种包括大约 600 个氨基酸的有杀虫力的蛋白从昆虫围食膜到达中肠上皮，和中肠上皮的特异受体进行高度专一性的结合。结果肠的膜电位及 pH 值发生改变，肠变得麻痹导致幼虫死亡。

Cry1Ab 蛋白只对鳞翅目昆虫有杀害力。通过测定 Cry1Ab 蛋白寄主范围试验的结果表明，在观察的 18 种昆虫中只有 7 种对 Cry1A 蛋白敏感，而这 7 种昆虫都是鳞翅目昆虫。这种专一性直接归功于目标昆虫中 Cry1A 特异受体的存在。

因为哺乳动物肠细胞表面没有 Cry1Ab 的受体，所以人类对这些蛋白不敏感。此外，关于 Bt 蛋白安全性的许多文献也证明 Bt 蛋白对人类没有危害，微生物 Bt 产品也已有很长的安全使用历史。

生物信息学分析表明除了与 Cry 蛋白家族成员外，Cry1Ab 蛋白与已知的毒素没有序列相似性。此外，蛋白体外消化实验和加工处理稳定性分析也证实 Cry1Ab 蛋白能够在模拟胃液中被迅速消化，在加热处理后其免疫活性也会大幅降低。应用 Cry1Ab 蛋白的小鼠急性毒性研究也证实 Cry1Ab 蛋白对哺乳动物没有急性毒性。

受农业部委托，中国疾病预防控制中心将 MON 810 玉米掺入饲料（掺入比例为 50%），饲喂大鼠 90 天，动物活动、生长未见异常，被毛浓密有光泽。MON 810 玉米组、对照玉米组和国内普通对照玉米组比较，未发现 MON 810 玉米对试验大鼠体重、食物利用率、血液学指标、血生化指标、脏器比以及组织病理学观察有生物学意义的改变。

致敏性评价：Cry1Ab 蛋白的供体生物 Bt subsp. *kurstaki* 是一个能产生孢子的、自然存在于土壤中的格兰士阳性细菌。自从 1958 年以来，Bt 菌株一直在美国进行商业应用，以生产具有杀虫活性的微生物衍生产品 (EPA, 1988)。没有报告表明 Bt 菌株或由这些菌株产生的蛋白具有过敏性。

对 Cry1Ab 的生物信息学分析表明，Cry1Ab 与已知致敏原无氨基酸序列相似性。8 个氨基酸滑动窗口分析也证实 Cry1Ab 与已知致敏原不存在短肽序列的匹配。Cry1Ab 蛋白在 MON 810 玉米品系种子中存在水平很低，大约是 0.3~0.5ug/g 湿重玉米种子。此外，Cry1Ab 蛋白在模拟胃液中能够被迅速消化，加热处理后免疫活性也会大幅下降。

综合上述数据，可得出结论：Cry1Ab不具有致敏性。

抗生素抗性：MON 810 中不存在抗生素抗性基因，没有抗生素抗性。

八、非预期效应

从大量现有的 MON 810 的环境安全、食用安全评价试验来看，结果如预期的一样，表明 MON 810 是安全的，未发现非预期效应。在中国境内的环境安全和食用安全检测结果也是如此，未发现非预期效应。

九、生产应用前景及拟采取的安全监控措施

孟山都公司开发研究的 MON810 抗虫玉米可以有效地控制玉米螟等鳞翅目害虫。MON 810 可以 1) 有效地控制玉米螟的危害；2) 并保持有益物种不受影响；3) 减少化学农药的使用；4) 因而也减少化学农药对农药使用者的危害；5) 有利于害虫综合治理和可持续农业系统；6) 减少玉米果穗及籽粒中毒枝菌素的水平；7) 不需要任何额外的劳力和机械设备，无论是大农场主还是小农户都可以因种植保丰玉米而获益。MON 810 已经于 1996 在美国获得商业化种植批准，并商业化。

孟山都在中国申请 MON 810 转基因安全证书的目的在于进口用作加工原料。中国是世界上的玉米生产大国，也是玉米消费大国。近几年国内玉米消费量在 2900 亿斤左右，并成小幅攀升形式。因此，MON 810 玉米的审批将会在一定程度上缓解国内的玉米生产压力。

作为研发商，孟山都公司在抗虫玉米 MON 810 进口安全证书的使用上，严格遵守中国的相关法律法规以及安全证书的要求。在提供安全证书复印件给境外贸易商时，要求贸易商采取下述监控措施来保证抗虫玉米 MON 810 进口过程中的安全，并签订相关协议书确保其在进口过程中的安全操作：遵守相关法律法规；包装要牢固，标识要清楚；运输各环节严格操作；对贸易商不定期监测；必要时，向贸易商提供技术指导和支持。

十、结论

大量的环境和食用安全性评价结果证实，MON 810 中表达的 Cry1Ab 蛋白对靶标害虫具有高度的特异性，对人类和哺乳动物无害。MON 810 玉米也不会对环境造成不利影响。

9. 该类转基因植物国内外生产应用概况；

MON810 玉米在 1996 年获得美国食品药品监督管理局（FDA）、美国农业部（USDA）、美国环保署（EPA）批准后在美国商业化。2002 年 3 月，孟山都公司按照中华人民共和国农业部的有关法规要求，向农业部转基因安全管理办公室提交了《转 *Cry1Ab* 基因抗虫玉米 MON 810 进口用作加工原料的安全证书》申请，并在中国境内由农业部指定检测机构进行了环境安全以及食用安全检测，未发现安全问题。自商业化至今的近 10 年间，还没发现 MON 810 玉米的应用会对人类健康和生态环境造成危害。

10. 田间监控方案，包括监控技术、抗性治理措施、长期环境效应的研究方法等；

本申请书为获得 MON 810 进口用作加工原料的安全证书，不会在中国境内种植。

如果能够获得 MON 810 的进口安全证书，孟山都公司会按照相关的法律法规和农业部批准的安全证书上的要求严格使用和管理安全证书，并明确要求贸易商清楚了解批准的安全证书应用范围和有效期，要求贸易商在有效期范围内向孟山都公司申请 MON 810 进口安全证书的复印件。孟山都公司对贸易商在安全证书使用上的要求将包括：

- 1、要求贸易商必须持有相应转化事件的进口安全证书才能进口含有相应转化事件的商品。
- 2、孟山都公司提供的安全证书复印件只供申请的贸易商自用或其拥有或控制的子公司使用。
- 3、贸易商必须同意只按照安全证书的批准范围使用安全证书，不得将其复印件提供给任何第三方。
- 4、贸易商在使用安全证书进行交易时必须严格遵守相关的法律和法规。
- 5、所提供的安全证书只允许作为加工原料用于食用及饲用的原料的进口，不支持作为遗传研究或种植的材料进口。贸易商必须同意采取必要合理的安全控制手段，以保证进口原料不会被释放到环境中或者被用于可能对生物多样性、可持续利用或人类健康存在潜在风险的用途。
- 6、如果贸易商没有按照规定使用安全证书，孟山都公司保留收回安全证书使用权的权力。

除了安全证书使用上对贸易商提出明确要求外，孟山都公司还会详细记录并保存所有申请过安全证书复印件的贸易商信息，包括公司名称、地址、联系人、联系电话和电子邮箱地址，以便更好的对使用孟山都公司安全证书的贸易商进行监督。此外，孟山都公司还会就包装/标识和运输环节，对从事转基因产品贸易的贸易商提出要求，并不定期的回访贸易商，对进口产品进行监督，如发现任何违规操作或意外事件发生，立即向当地的农业行政主管部门和农业部报告。在必要时，孟山都公司也会向贸易商提供技术指导和支持。

孟山都公司就包装/标识和运输环节对从事转基因产品贸易的贸易商提出的具体要求如下：

1. **遵守相关法律法规：**在 MON 810 向中国进口的过程中，严格地遵守出口国和中国的相关法律和法规，遵守国际性生物安全公约，履行中国政府在进口安全证书中的要求和条件。
2. **包装和标识：**包装要牢固，标识要清楚。要与其它相似的非转基因产品明显区分开。
3. **运输环节：**
 - 1) **产地国内陆运输：**要求使用专门的运输工具用以装载转基因产品。对运输工具在使用前将进行充分地清洗，以避免其它转基因生物污染。
 - 2) **出口终端：**对运往中国的转基因产品在进入出口终端之前，将对指定的筒仓进行清洗，以避免其它转基因生物污染。在确认其出口装船之前，将接受出口国相关部门的检验。
 - 3) **装船：**船只到达装货港之前进行清仓，对船仓和船上各作业区进行彻底地清洗，请专门机构进行监督和检查，并出具船只清洁、安全、并适用于装载的证书。装货过程中会有独立的检测机构负责监装，以确保装货过程在独立和公正的检测下完成。
 - 4) **海运：**在海运的全程中我们将确保舱盖密闭，我们将要求船方定期对仓内货物进行检查，并规定船方不得随意靠港，特别是可能存在疫情的港口。

卸货：当船只到达中国口岸时，要求中国进口商严格执行中国农业部所制定的转基因安全管理条例，避免在港口卸货和中转中，有转基因产品流入农业生产领域，确保中国的农业生物安全。将督促国内收货人，对其用于进口转基因产品的包装物和运输工具进行必要的清洗和标识。将要求国内收货人和中国有关港务部门，将进口转基因产品与在港的其它农产品分开存放，以确保不发生可能的污染。

11. 审查所需的其它相关资料

对 MON 810 在国外和中国境内进行了大量的安全性评价研究，包括全面的分子生物学特性、新引进蛋白的生化特性、环境安全性评价以及食用安全性评价研究，所有研究表明：MON 810 对人类、动植物和生态环境不会产生不利影响。为保持申请书的完整性和便于审阅，所有技术报告附在申请书正文之后。

12. 转基因生物在输出国家或地区已经允许作为相应用途并投放市场的证明文件（境内单位申请安全证书的，本项不填写）

MON810 玉米在 1996 年获得美国食品药品监督管理局（FDA）、美国农业部（USDA）、美国环保署（EPA）批准后在美国商业化。随后根据美国相关法规要求，孟山都公司于 2001 年 EPA 批准到期前对最初批准进行了续展。详细的批准文件如见下页。

1. 美国食品与药品管理局批件



DEPARTMENT OF HEALTH & HUMAN SERVICES

Public Health Service

Food and Drug Administration
Washington DC 20204

SEP 25 1996

Dr. Kent Croon
Regulatory Affairs Manager
Monsanto Company
700 Chesterfield Parkway North
Chesterfield, Missouri 63198

Dear Dr. Croon:

This is in regard to Monsanto's consultation with the Food and Drug Administration (FDA) (Center for Veterinary Medicine and Center for Food Safety and Applied Nutrition) on genetically modified corn, specifically transformation event MON810. According to Monsanto, the new corn variety has been modified for resistance to the European Corn Borer through expression of the *cryIA(b)* gene from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*.

Monsanto submitted a summary assessment of corn containing transformation event MON810 on June 6, 1996. This communication informed FDA of the steps taken by Monsanto to ensure that the product complies with the legal and regulatory requirements that fall within FDA's jurisdiction. Based on the safety and nutritional assessment you have conducted, it is our understanding that Monsanto has concluded that corn products derived from this new variety are not materially different in composition, safety, and other relevant parameters from corn currently on the market, and that the genetically modified corn does not raise issues that would require premarket review or approval by FDA. All materials relevant to this notification have been placed in a file designated BNF0034. This file will be maintained in the Office of Premarket Approval.

Based on the information Monsanto has presented, we have no further questions concerning corn grain or fodder containing transformation event MON810 at this time. However, as you are aware, it is Monsanto's responsibility to ensure that foods marketed by the firm are safe, wholesome and in compliance with all applicable legal and regulatory requirements.

Sincerely,

Alan M. Rulis, Ph.D.
Director
Office of Premarket Approval
Center for Food Safety
and Applied Nutrition



AA017110

食品与药物管理局
华盛顿 DC 20204
1996 年 9 月 25 日

Kent Croon 博士
法规事务部经理
孟山都公司
700 Chesterfield Parkway North
Chesterfield, Missouri 63189

亲爱的 Croon 博士：

您就孟山都公司的转基因玉米品系 MON 810 向食品与药物管理局（FDA）所作的咨询，现予以回复。根据孟山都公司提交的资料，这一新的玉米品种经基因工程改造引入了来自 *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* 的 *CryIAb* 基因，并通过这一基因的表达来实现对欧洲玉米螟的抗性。

孟山都公司 1996 年 6 月 6 日提交了关于 MON810 转基因玉米的评价总结。这份汇报是为了告知 FDA，孟山都公司是严格按照 FDA 的法规要求进行评价的。根据你们所做的安全和营养评价，我们认同你们所得出的结论，即这一新玉米品种在组成、安全性及其他相关的指标上与目前市场上的玉米没有实质性差别，因此不需要进行市场准入前的复审及批准。所有与本通告相关的材料都被归档于编号为 BNF0034 的文件中。该文件将被保存于市场准入审批办公室。

根据孟山都公司提交的材料，我们对于 MON810 转基因玉米用于食用和饲料生产的安全性没有疑问。但是孟山都公司有责任来保证此产品在市场上是安全的，有益健康的并遵循其他相关的法律与法规。

您诚挚的
Alan M. Rulis 博士
主任
市场准入审批办公室
食品安全与应用营养中心

2. 美国农业部动植物检疫局批件

Notices

Federal Register

Vol. 61, No. 52

Friday, March 15, 1996

This section of the FEDERAL REGISTER contains documents other than rules or proposed rules that are applicable to the public. Notices of hearings and investigations, committee meetings, agency decisions and rulings, delegations of authority, filing of petitions and applications and agency statements of organization and functions are examples of documents appearing in this section.

DEPARTMENT OF AGRICULTURE

Animal and Plant Health Inspection Service

[Docket No. 96-006-1]

Monsanto Co.; Addition of Two Genetically Engineered Insect Resistant Corn Lines to Determination of Nonregulated Status

AGENCY: Animal and Plant Health Inspection Service, USDA.

ACTION: Notice.

SUMMARY: The Animal and Plant Health Inspection Service is announcing that it has added two additional genetically engineered, insect resistant corn lines to its August 22, 1995, determination that the Monsanto Company's corn line MON 80100 need no longer be regulated. The effect of this action is that two additional insect resistant corn lines designated as MON 809 and MON 810, which have been modified by the incorporation of genetic material described by the Monsanto Company, will no longer be subject to regulation under 7 CFR part 340.

FOR FURTHER INFORMATION CONTACT: Dr. Ved Malik, Biotechnologist, Animal and Plant Health Inspection Service, Biotechnology, Biologics, and Environmental Protection, Biotechnology Permits, 4700 River Road Unit 147, Riverdale, MD 20737-1237; (301) 734-7612.

SUPPLEMENTARY INFORMATION: On September 5, 1995, the Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS) published a notice in the *Federal Register* (60 FR 46107-46108, Docket No. 95-041-2) announcing the issuance of a determination effective August 22, 1995, that an insect resistant corn line developed by the Monsanto Company (Monsanto) designated as corn line MON 80100, does not present a plant pest risk and is not a regulated article under the regulations contained in 7

CFR part 340. This action was in response to a petition submitted by Monsanto seeking a determination from APHIS that its corn line MON 80100 no longer be deemed a regulated article, based on an absence of plant pest risk. The effect of that action was that the subject corn line and its progeny would no longer be regulated under the regulations in 7 CFR part 340.

The two additional corn lines that are the subject of this notice, MON 809 and MON 810, were identified in Monsanto's previously submitted petition (APHIS Petition No. 95-093-01p) for corn line MON 80100. On January 17, 1996, APHIS received additional information and field test data in a petition (APHIS Petition No. 96-017-01p) in support of nonregulated status under 7 CFR part 340 for corn lines MON 809 and MON 810. As described by Monsanto, corn lines MON 809 and MON 810 express a CryIA(b) protein derived from the common soil bacterium *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* which confers resistance to European corn borer. The subject corn lines were generated through use of the particle acceleration transformation system to insert plasmid vectors PV-ZMBK07 and PV-ZMGT10, the same vectors used to transform corn line MON 80100 for which the August 22, 1995, determination of nonregulated status was issued by APHIS.

Corn lines MON 809 and MON 810 have been evaluated in field tests conducted in 1993 and 1994 under APHIS permits and notifications. Reports from field trials and other data indicate that the subject corn lines grow normally, exhibit the expected morphological, reproductive, and physiological properties, and do not have unexpected pest or disease susceptibility or symptoms. Therefore, the APHIS determination of nonregulated status of August 22, 1995, applies as well to Monsanto's two new transformed corn lines, MON 809 and MON 810.

Done in Washington, DC, this 11th day of March 1996.

Terry L. Medley,

Acting Administrator, Animal and Plant Health Inspection Service

[FR Doc. 96-6201 Filed 3-14-96; 8:45 am]

BILLING CODE 3410-34-P

Food and Consumer Service

Child Nutrition Programs—Income Eligibility Guidelines

AGENCY: Food and Consumer Service, USDA.

ACTION: Notice.

SUMMARY: This Notice announces the Department's annual adjustments to the Income Eligibility Guidelines to be used in determining eligibility for free and reduced price meals or free milk for the period from July 1, 1996 through June 30, 1997. These guidelines are used by schools, institutions, and centers participating in the National School Lunch Program, School Breakfast Program, Special Milk Program for Children, Child and Adult Care Food Program and Commodity School Program. The annual adjustments are required by section 9 of the National School Lunch Act. The guidelines are intended to direct benefits to those children most in need and are revised annually to account for increases in the Consumer Price Index.

EFFECTIVE DATE: July 1, 1996.

FOR FURTHER INFORMATION CONTACT: Mr. Robert M. Eadie, Chief, Policy and Program Development Branch, Child Nutrition Division, FCS, USDA, Alexandria, Virginia 22302, or by phone at (703) 305-2618.

SUPPLEMENTARY INFORMATION: This action is not a rule as defined by the Regulatory Flexibility Act (5 U.S.C. 601-612) and thus is exempt from the provisions of that Act. In accordance with the Paperwork Reduction Act of 1980 (44 U.S.C. 3507), no new recordkeeping or reporting requirements have been included that are subject to approval from the Office of Management and Budget. These programs are listed in the Catalog of Federal Domestic Assistance under No. 10.553, No. 10.555, No. 10.556 and No. 10.558 and are subject to the provisions of Executive Order 12372, which requires intergovernmental consultation with State and local officials. (See 7 CFR Part 3015, Subpart V, and the final rule related notice published at 48 FR 29114, June 24, 1983.)

Background

Pursuant to sections 9(b)(1) and 17(c)(4) of the National School Lunch Act (42 U.S.C. 1758(b)(1) and 42 U.S.C. 1766(c)(4)), and sections 3(a)(6) and 4(e)



公告

联邦登记

第 61 卷第 52 号

1996 年 3 月 15 日星期五

农业部动植物检疫局

[备忘录第 96-006-1 号]

孟山都公司；对两个新转基因抗虫玉米品系解除监管状态

审批机构：美国农业部动植物检疫局

活动类型：公告

概述：动植物检疫局宣布向 1995 年 8 月 22 日的孟山都玉米品系 MON 80100 解除监管状态的决定中新加入两个转基因抗虫玉米品系。本公告决定由孟山都公司经过转基因操作产生的 MON 809 和 MON 810 两个新抗虫玉米品系不再受 7 CFR 第 340 部分的管制。

如需进一步的信息请联系：

Ved Malik 博士

生物技术专家

动植物检疫局

生物技术、生物制品和环境保护

生物技术审批

4700 River Road

Unit 147, Riverdale, MD 20737-1237; (301)734-7612

补充信息：动植物检疫局(APHIS)于 1995 年 9 月 5 日在联邦登记（60 FR 46107-46108，备忘录第 95-041-2 号）上发布公告，宣布一个于 1995 年 8 月 22 日生效的决定，该决定是孟山都公司研发的抗虫玉米品系 MON 80100 不会转变为有害生物，不再受 7 CFR 第 340 部分法的管制。该公告是对孟山都公司向动植物检疫局递交的鉴于 MON 80100 玉米品系无转变为有害生物风险，不应再被视为被管制产品的申请的回复。自此公告发布，该转基因品系及其后代不再被 7 CFR 第 340 部分管制。

另外两个本公告提及的玉米品系 MON 809 和 MON 810 也在孟山都公司之前提交的 MON 80100 玉米品系的申请中（APHIS 申请号 95-093-01p）被提及。APHIS 于 1996 年 1 月 17 日收到解除监管状态的申请(APHIS 申请第 96-017-01p)，该申请包含了用于支持解除 MON 809 和 MON 810 监管状态的补充信息和田间检测数据。如孟山都公司所描述，玉米品系 MON 809 和 MON 810 表达来自于土壤苏云金芽孢杆菌的 Cry1Ab 蛋白，具有对欧洲玉米螟的抗性。这两个玉米品系是通过基因枪法转化质粒 PV-ZMBK07 和 PV-ZMGT10 得到的，这两个质粒也用于产生在 1995 年 8 月 22 日被解除监管状态的 MON 80100。

玉米品系 MON 809 和 MON 810 分别于 1993 年和 1994 年根据 APHIS 的批准和通知进行了田间检测。田间检测报告和其他数据表明这两个玉米品系能够正常生长，且形态学、繁殖和生理学特征都如预期，并未发现任何非预期的病虫害易感性或症状。因此，APHIS 1995 年 8 月 22 号签发的解除监管状态决定也适用于孟山都公司的两个新玉米品系 MON 809 和 MON 810。

1996 年 3 月 11 日完成于华盛顿。

Terry L. Medley

动植物检疫局代理局长

[FR Doc 96-6201 Filed 3-14-96; 8:45am]

账单编号 3410-34-P

3. 美国环保署批件

 <p>U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY Office of Pesticide Programs Registration Division (H7505C) 401 "M" St., S.W. Washington, D.C. 20460</p> <p>NOTICE OF PESTICIDE: <input checked="" type="checkbox"/> Registration <input type="checkbox"/> Reregistration</p> <p>(under FIFRA, as amended)</p>	<p>EPA Reg. Number: 524-489</p>	<p>Date of Issuance: DEC 20 1996</p>
	<p>Term of Issuance: Conditional</p>	
	<p>Name of Pesticide Product: YieldGard™</p>	
<p>Name and Address of Registrant (include ZIP Code): Monsanto Company 700 Chesterfield Parkway North St. Louis, MO 63198</p>		
<p><small>Notes: Changes in labeling differing in substance from that accepted in connection with this registration must be submitted to and accepted by the Registration Division prior to use of the label in commerce. In any correspondence on this product always refer to the above EPA registration number.</small></p> <p>On the basis of information furnished by the registrant, the above named pesticide is hereby registered/reregistered under the Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act.</p> <p>Registration is in no way to be construed as an endorsement or recommendation of this product by the Agency. In order to protect health and the environment, the Administrator, on his motion, may at any time suspend or cancel the registration of a pesticide in accordance with the Act. The acceptance of any name in connection with the registration of a product under this Act is not to be construed as giving the registrant a right to exclusive use of the name or to its use if it has been covered by others.</p> <p>The registration application referred to above, submitted in connection with registration under § 3(c) (7) (B) of the Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act, as amended, is acceptable provided that you do the following terms and conditions.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. This registration will be limited to the corn line MON 810. The Agency will review amendment requests to add additional lines and may or may not grant such requests. 2. Submit/cite all data required for registration of your product under FIFRA § 3(c) (5) when the Agency requires all registrants of similar products to submit such data. 3. Submit production information (80 kilogram units of seed produced) for this product for the fiscal year in which this product is conditionally registered, in accordance with FIFRA § 29. The fiscal year begins October 1 and ends September 30. Production information will be submitted to the Agency no later than November 15, following the end of the preceding fiscal year. 4. This registration will automatically expire on midnight April 1, 2001. EPA will reevaluate the effectiveness of Monsanto's resistance management plan before April 1, 2001, and decide whether to convert the registration to a non-expiring registration. 		
<p>Signature of Approving Official: <i>QZA</i></p>	<p>Date: DEC 20 1996</p>	

EPA Form 8570-6



AA061455

美国环保署 (EPA) 杀虫剂项目办公室 登记处 (H7505C) 401 'm' St. S.W. Washington, DC. 20460 农药登记公告 <input checked="" type="checkbox"/> 登记 <input type="checkbox"/> 续登记	EPA 登记号: 524-489	签发日期: 1996 年 12 月 20 日
	签发类别: 有条件	
	农药产品名称: 保丰玉米	
登记人名称与地址 (包括邮政编码) 孟山都公司 700 Chesterfield Parkway North St. Louis, MO 63198		
<p>注意: 与本登记有关的任何标签内容的改变必须提出申请, 经生物杀虫剂和污染预防处批准后方可商业化应用, 任何与本登记有关内容请查阅上述环保局登记号。</p>		
<p>在登记人提供信息的基础上, 依据《联邦杀虫剂、杀菌剂、灭鼠剂法案》, 上述农药产品获得登记。</p> <p>产品获得登记在任何情况下都不能解释为是环保局对该产品的认可或推荐。为了保护健康和环境, 管理机构可以在任何时候按照法案延缓或取消农药产品的登记。环保局依据法案接受与一个登记产品有关的任何名称不能解释为登记者获得专用该名称或在该名称已被其他登记者涵盖的情况下使用该名称的权利。</p> <p>上述依照《联邦杀虫剂、杀菌剂、灭鼠剂修改法案》第 3(C)(7) (B) 款进行的产品登记, 需满足下列条款和条件才能被接收:</p> <ol style="list-style-type: none"> (1) 本登记仅限于玉米品系 MON 810。本署将审查添加其他品系的修订申请, 但不一定会批准。 (2) 当本署要求所有相似产品的登记者提交数据时, 根据 FIFRA3(C)(5)提交/引用登记你公司产品所需所有数据。 (3) 根据 FIFRA29, 在本有条件登记有效期内, 每财年提交该产品的生产信息 (80kg 单位种子生产)。财年开始于 10 月 1 日, 结束于 9 月 30 日。生产信息在上一个财年结束后, 不晚于 11 月 15 日提交至本署。 (4) 本登记将于 2001 年 4 月 1 日午夜自动失效。EPA 将在 2001 年 4 月 1 日前重新评估孟山都抗性治理计划的有效性, 并确定是否将登记改为永久有效登记。 		
批准人签名 生物杀虫剂和污染预防处 (7511P)	日期 1996 年 12 月 20 日	

13. 输出国家或地区经过科学试验证明对人类、动植物和生态环境无害的资料（境内单位申请安全证书的，本项不填写）

（技术报告为商业保密资料，所有技术报告附于本申请书下册）

- 报告 1** 转 *cry1Ab* 基因抗虫玉米 MON810 环境安全检测报告（中国农科院植物保护研究所、山东省农科院植物保护研究所和吉林省农科院）
- 报告 2** MON810 玉米食用安全检测报告（中国疾病预防控制中心营养与食品安全所）
- 报告 3** 抗虫玉米 MON 810 的分子生物学分析（孟山都研究报告，MSL-14382）
- 报告 4** 1994 年美国田间试验抗虫玉米评价（孟山都研究报告，MSL-14179）
- 报告 5** 1998 年美国 and 欧盟田间试验中 MON810 抗虫玉米和常规对照秸秆和籽粒成分比较（孟山都研究报告，MSL-16258）
- 报告 6** 苏云金杆菌杀虫蛋白 Cry1A(b)、Cry1A(c)、CryIIA 和 CryIII A 对弹尾目昆虫的影响（孟山都研究报告，MSL14685）
- 报告 7** 抗虫玉米品系中表达的 *B.t.k* HD-1 蛋白与大肠杆菌中表达蛋白的等同性评价（孟山都报告，MSL-14231）
- 报告 8** 大肠杆菌产生的 Cry1Ab 蛋白对小鼠的急性口服毒性（孟山都研究报告，SB-2004-092）
- 报告 9** HD-1 蛋白体外肠道模拟消化试验安全性评价（孟山都研究报告，MSL-13425）

七、本单位农业转基因生物安全小组审查意见

MON810抗虫玉米已经在美国和中国进行过安全性评价，获得了大量安全评价资料，所有这些资料均表明MON810抗虫玉米不会对人类健康和生态环境造成危害。MON810抗虫玉米在美国商业化应用已有近10年的时间。MON810玉米在全球应用过程中，没有发现抗性问题的。现有的食用安全性资料未发现MON810玉米和普通玉米使用安全性上存在差异。

根据《农业转基因生物安全管理条例》及其它相关法规的规定，同意上报该申请。

小组组长（签章）

2004年1月10日

八、本单位审查意见

孟山都公司利用现代生物技术开发了“保丰[®]”抗虫玉米。它可以产生 Cry1Ab 蛋白，该蛋白来自于自然界存在的苏云金土壤杆菌。保丰玉米可以有效地控制欧洲玉米螟、西南玉米螟、大螟等鳞翅目害虫。作为害虫治理体系的一部分，保丰玉米可提供多方面的效益和好处。

种植保丰玉米有很多好处，包括提供可靠的防治玉米主要害虫的工具，在控制目标害虫的同时对有益昆虫无影响，并因此可以大量减少化学杀虫剂的使用，从而保护使用者避免农药带来的危害。保丰玉米适用于害虫综合治理和可持续农业体系，并可以大量减少玉米籽实的真菌毒素水平。而且，这些技术不需要投入额外的劳动力和机械设备，无论是大的农场主还是小的农户都可以因种植保丰玉米而获得收益。

根据中国相关法律法规的要求，同意上报本申请书，申请 MON 810 进口用作加工原料的安全证书。

2004 年 1 月 10 日

九、所在省（市、自治区）的农业行政主管部门的审查意见

（进口转基因生物直接申请安全证书的，本项不填写）