

4 个旋毛虫隔离种 18S rRNA 基因分子克隆及序列比较分析

李冬梅¹, 王秀荣², 路义鑫¹, 董晓波¹, 宋铭忻¹

(¹东北农业大学动物医学院寄生虫教研室, 哈尔滨 150030; ²中国农业科学院哈尔滨兽医研究所, 哈尔滨 150001)

摘要:【目的】旋毛虫的分类问题一直是众多学者关注的问题, 笔者试图通过分子遗传机制来确定旋毛虫不同隔离种之间的关系, 同时也为寄生虫学的分类研究奠定基础。【方法】通过 RT-PCR 方法, 克隆 4 个不同旋毛虫隔离种的 18S rRNA 基因片段, 并进行比较分析。【结果】序列分析结果表明, 黑龙江省猪旋毛虫与 *T. spiralis* 的同源性为 99.4%, 犬旋毛虫与 *T. nativa* 的同源性为 99.3%; 猪旋毛虫与 *T. nativa* 的同源性为 99.0%。犬旋毛虫与 *T. spiralis* 的同源性为 99.1%。猪旋毛虫为旋毛形线虫 (*T. spiralis*); 犬旋毛虫为本地毛形线虫 (*T. nativa*)。【结论】这与传统的分类结果基本一致。在分子水平上为传统的分类学提供了更强的理论依据, 为旋毛虫病的流行病学和防治提供奠定基础。

关键词: 旋毛虫隔离种; 18S rRNA; 分类

Cloning and Sequence Analysis of the 18S Ribosomal RNA Gene from Four *Trichinella* Isolates

LI Dong-mei¹, WANG Xiu-rong², LU Yi-xin¹, DONG Xiao-bo, SONG Ming-xin¹

(¹ Research Center of Parasite, Veterinary Medicine Faculty, Northeast Agricultural University, Harbin 150030;

² Harbin Veterinary Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150001)

Abstract: 【Objective】The taxonomy and species identification of *Trichinella spiralis* has been received attention by many scholars. The authors try to determine the different *T. spiralis* isolates through molecular genetic mechanism and be the base of the traditional taxonomy. 【Method】The gene segment in 18S ribosome RNA gene of four *Trichinella* isolates were cloned and sequenced. 【Result】The sequence was compared and analysed by using DNAsis software, and the results showed that the homology of 18SrRNA gene of HH and *T. spiralis* was 99.4%, that of HC and *T. nativa* was 99.3%. The Swine isolate belong to *T. spiralis*, the Dog isolate belongs to *T. nativa*. The result was consistent with the traditional taxonomy. 【Conclusion】The result has provided a strong evidence for the traditionary taxonomy and be the base of the epidemiology and precention to *Trichinellosis*.

Key words: *Trichinella* isolates; 18S rRNA; Taxonomy

0 引言

【本研究的重要意义】旋毛虫病 (*Trichinellosis*) 是一种重要的人畜共患寄生虫病。目前全世界大约有 1 100 万人体感染者, 国际兽疫局 (Office International des Epizooties, OIE) 和国际旋毛虫病委员会 (International Commission on Trichinellosis, ICT) 已将其列为再次出现的疾病 (Re-emerging disease)。中国是旋毛虫污染较严重的国家之一, 东北三省、河南

南阳地区、湖北襄樊地区、云南、西藏等 26 个省市区是中国旋毛虫病的重要分布区。旋毛虫病现已成为世界性公共卫生重大问题。【前人研究进展】目前国际上已将毛形属分为 8 个隔离种 (即 *T. spiralis*, T1; *T. nativa*, T2; *T. pseudospiralis*, T3; *T. nelsoni*, T4; *T. murrelli*, T5; *T. britovi*, T7; *T. papuae*, *T. zimbabwensis*, T10) 和 3 个分类地位尚未确定的基因型 (即 T6、T8 和 T9)^[1-5]。中国是旋毛虫病流行十分严重的地区, 因此国内有许多学者从事旋毛虫的研究

收稿日期: 2005-02-26; 接受日期: 2006-02-15

基金项目: 霍英东青年教师基金 (91034); 中国博士后科学基金 (2004035160)

作者简介: 李冬梅 (1978-), 女, 黑龙江哈尔滨人, 硕士, 研究方向为寄生虫病及寄生虫分子生物学, Tel: 0451-55190729; E-mail: lidongmei78@yahoo.com.cn. 通讯作者宋铭忻 (1968-), 男, 黑龙江哈尔滨人, 教授, 博士生导师, 研究方向为寄生虫病的流行病学及防治。Tel: 0451-55190729; E-mail: songmx@neau.edu.cn

工作, 周源昌、宋铭忻和孙庆显等将他们收集到的哈尔滨五常犬旋毛虫、哈尔滨海伦猪旋毛虫进行了形态学和生物学观察, 包括光镜和电镜观察、虫体在小鼠体内的分布、繁殖力指数、对寒冷的耐受性、同工酶酶谱分析等, 结果认为这 2 个旋毛虫隔离种不是同一种群, 哈尔滨五常犬旋毛虫大致相当于 *T. nativa*, 哈尔滨海伦猪旋毛虫相当于 *T. spiralis*。刘明远、诸欣平等^[6,7]利用随意扩增的 DNA 多态性技术将中国不同地区的旋毛虫与意大利国际旋毛虫保种中心的旋毛虫进行比较鉴定, 证明中国猪旋毛虫为 *T. spiralis*, 中国犬旋毛虫为 *T. nativa*。徐克成^[8]先后对所收集到的中国 7 省市 8 地区不同动物来源的旋毛虫隔离种的形态学、生物学、分子生物学、遗传学等方面做了系统研究, 结果表明, 在旋毛虫不同发育阶段, 虫体各阶段之间与各地旋毛虫隔离种之间缺乏一定规律性变化, 因此旋毛虫形态学指标在分类研究中缺乏一定的说服力。

【本研究的切入点】鉴于旋毛虫病的危害性和旋毛虫属种分类的复杂性, 本试验从分子遗传的角度, 对中国旋毛虫各隔离种的分类进行研究, 为传统分类学提供可靠的依据, 同时也为寄生虫虫体的鉴定和分类探索一种新的方法。18S rRNA 基因是一类编码核糖体小亚基的 RNA、长约 1 800 bp 的 DNA 序列, 由于在生物体内含量较大占 80% 左右, 且在进化过程中非常保守, 核苷酸的替换率较低, 因而它是探讨生物高级分类群系统演化的难得工具之一。【拟解决的关键问题】因此笔者从基因遗传的角度入手, 对国内分离的 2 个旋毛虫隔离种进行分子鉴定, 希望能够建立一个快速、准确确定旋毛虫种间关系的方法。

1 材料与方 法

1.1 材 料

试验用旋毛虫各隔离种均为东北农业大学寄生虫学教研室保种的虫体 (表 1)。

实验动物为纯系昆明健康成年小鼠, 购自哈尔滨兽医研究所实验动物中心。胃蛋白酶为上海长城生化制药厂生产; 各种工具酶购于宝生物工程 (大连) 有限公司、GIBCO 公司、Promega 公司、Invitrogen 公司; Trizol (Invitrogen 公司)、DEPC (Sigma 公司)、X-gal、IPTG (GIBCO 公司); 小量胶回收试剂盒 (上海华舜生物工程有限公司)、低熔点琼脂糖原粉 (Boehringer Mannheim 公司); 抗生素 (Amp 和卡那霉素) 为国产注射用粉, 其余试剂为国产分析纯。各种试剂的配置参照《分子克隆实验指南》(第二版)。

表 1 实验用 4 个旋毛虫隔离种

Table 1 Origin of reference samples of four *Trichinella* isolates

编号 Numbers	隔离种 Isolates	宿 主 Host	来源 Country of origin
ISS3	旋毛形线虫 <i>T. spiralis</i>	猪 Pig	波兰 Poland
ISS10	本地毛形线虫 <i>T. nativa</i>	北极熊 Polar bear	挪威冷岸群岛 Norway
HC	犬旋毛虫 <i>Dog isolate</i>	犬 Dog	哈尔滨五常 Harbin Wuchang
HH	猪旋毛虫 <i>Swine isolate</i>	猪 Pig	黑龙江逊克 Heilongjiang Xunke

1.2 方 法

1.2.1 旋毛虫肌幼虫的收集 取保种用 4 个旋毛虫隔离种肌幼虫, 分别经口感染 5 只成年健康小鼠, 感染剂量为 200 条活幼虫/小鼠, 于感染 40d 后将含旋毛虫肌幼虫的小鼠剖杀。人工胃液消化法收集虫体, 备用。

1.2.2 旋毛虫总 RNA 提取 根据阎玉河^[9]的方法, 稍做改进。利用研磨器, 将约 50 μ l 体积的、用 DEPC 处理水洗涤 3 次的旋毛虫肌幼虫与 Trizol 液一起研磨, 研碎虫体后移入 1.5 ml 离心管中, 补加 Trizol 液至 800 μ l, 震荡混合 5 min, 继续加入氯仿 200 μ l, 彻底混匀 2~3 min, 12 000 r/min, 离心 15 min, 取上清并加入 500 μ l 异丙醇, 室温放置 15~30 min 后, 12 000 r/min 离心 15 min, 去上清并用滤纸吸干后用 75% 乙醇洗涤一次, 离心并吸出乙醇, 滤纸吸干离心管中残液并放入 37 $^{\circ}$ C 温箱烘干, 向管中加 DEPC 处理水 20 μ l, 放于 -70 $^{\circ}$ C 冰箱备用。

1.2.3 RNA 反转录和目的基因扩增 根据 Genebank 中发表的 *T. spiralis* 18S rRNA 序列 (u60231) 为参考, 用 Oligo4 软件设计引物, UP: 5'-AAGCTTGC-TTGTCTCAAAGATT-3', LOW: 5'-GATCCTTCCGC-AGTTCACCTAC-3', 由上海捷倍思基因技术有限公司合成。

以 40 μ l 体系进行反转录。取已合成的下游引物 2 μ l (10pmol) 与 20 μ l RNA 样品混合后, 置 70 $^{\circ}$ C 水浴吸附 5min, 迅速冷却后继续加入: Buffer 8 μ l, DTT 4 μ l, RNA 酶抑制剂 1 μ l, 反转录酶 1 μ l, dNTP 4 μ l, 混匀后, 置于 37 $^{\circ}$ C 水浴 1~1.5 h, 70 $^{\circ}$ C 5min (终止)。取以上反转录产物 (即 cDNA) 利用 50 μ l 体系进行 PCR 扩增: cDNA 2 μ l, Primer 1 μ l (上下游引物各 0.5 μ l), Buffer 5 μ l, dNTP 3 μ l, DNA 聚合酶 0.5 μ l, H₂O 38.5 μ l, 混匀后置于 PCR 仪中扩增, PCR 循环参数为: 95 $^{\circ}$ C 预

变性 5min; 94℃ 1min, 50℃ 1min, 72℃ 2min, 35 个循环, 72℃延伸 8min。取 5μl PCR 产物通过 1%琼脂糖凝胶电泳进行鉴定。

1.2.4 目的基因的分子克隆和鉴定 用华舜生物有限公司的小量胶回收试剂盒回收电泳后的 PCR 产物, 操作按试剂盒说明进行。取适量的 PCR 回收产物与克隆载体 pMD18-T Vector 连接, 感染大肠杆菌, 用华舜生物有限公司的质粒小量抽提试剂盒提取质粒, 质粒进行 PCR 鉴定。将克隆后的阳性产物送上海博亚生物合成公司测序。

1.2.5 序列分析 用 DNAsis 和 Genedoc 软件分析所测得的旋毛虫各隔离种的 18S rRNA 基因序列。

2 结果与分析

2.1 RT-PCR 扩增

利用 Genebank 中发表的 *T. spiralis* 18S rRNA 序列 (u60231) 为参考设计的引物对猪、犬旋毛虫和 *T. spiralis*、*T. nativa* 进行扩增, 均扩增出了大小为 1 800 bp 左右目的条带, 这与预期扩增的片段大小相吻合, 初步确定扩增出的片段为目的基因 18S rRNA (图 1)。

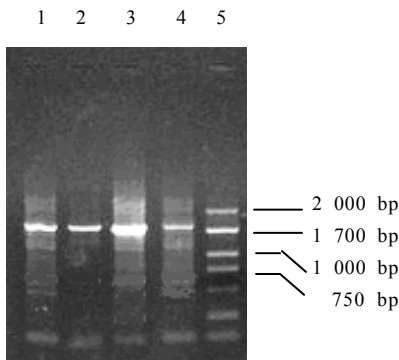


图 1 18SrRNA 基因的 RT-PCR 扩增电泳图谱
Fig. 1 The results of the RT-PCR of the 18S rRNA gene
1. 旋毛形线虫; 2. 猪旋毛虫; 3. 本地毛形线虫; 4. 犬旋毛虫; 5. DNA 分子量标准 CD003
1. *Trichinella spiralis*; 2. *Swine isolate*; 3. *Trichinella native*; 4. *Dog isolate*; 5. DNA marker CD003

2.2 目的基因克隆后的鉴定

PCR 回收产物与克隆载体连接, 感染大肠杆菌后, 提纯质粒, 质粒 PCR 后进行 1%琼脂糖凝胶电泳鉴定 (图 2)。电泳结果显示: 1、2、3、4 泳道样品均扩增出了长度为 1 800 bp 左右的明亮条带, 与 RT-PCR 产物大小一致。

2.3 序列分析

如图 3 所示, 用 DNAsar 和 Genedoc 软件分析测得的 4 个旋毛虫隔离种的 18S rRNA 基因序列的进化关系, 结果显示, 猪旋毛虫与 *T. spiralis* 的同源性为 99.4%, 犬旋毛虫与 *T. nativa* 的同源性为 99.3%; 猪旋毛虫与 *T. nativa* 的同源性为 99.0%。犬旋毛虫与 *T. spiralis* 的同源性为 99.1%。

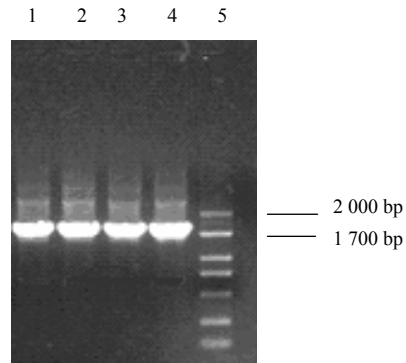


图 2 重组质粒 pMD18-T-18S rRNA 的 PCR 鉴定
Fig.2 Identification of the recombinant plasmid of pMD18-T-18S rRNA by PCR
1. 犬旋毛虫; 2. 本地毛形线虫; 3. 猪旋毛虫; 4. 旋毛形线虫; 5. DNA 分子量标准 CD003
1. *Dog isolate*; 2. *Trichinella native*; 3. *Swine isolate*; 4. *Trichinella spiralis*; 5. DNA marker CD003

图 2 重组质粒 pMD18-T-18S rRNA 的 PCR 鉴定

Fig.2 Identification of the recombinant plasmid of pMD18-T-18S rRNA by PCR

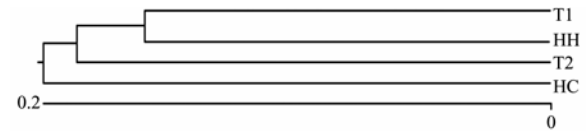


图 3 4 个旋毛虫隔离种的进化树

Fig.3 Phylogenetic tree of 18S rRNA gene of four *Tichinella* isolates

3 讨论

从测序结果及序列比较分析来看, 序列测定的准确性很好, 本试验测得的旋毛形线虫与 NCBI 上发表 *T. spiralis* 的 18S rRNA 序列 U60231 有 8 处的差异, 最明显的是在 1 246~1 251 bp 处, 旋毛形线虫与 U60231 比较有连续 5 个碱基的缺失, 而一同测得的其它 3 个旋毛虫隔离种也同样有缺失, 这可能与旋毛虫隔离种的地域差异及宿主差异有关, 也可能是试验条件的差异导致的。本研究结果中是用试验中测得的 4 个序列来比较他们的同源性, 这样在同样的试验条件

下, 会减少对结果的影响。

整体来看, 不同虫种 18S rRNA 基因的保守性很高, 软件分析显示各隔离种序列间的同源性都在 99% 以上。猪旋毛虫与旋毛形线虫的同源性为 99.3%, 略高于与本地毛形线虫的同源性 99.0%。犬旋毛虫与本地毛形线虫的同源性为 99.3%, 略高于与旋毛形线虫的同源性 99.1%。这与传统的分类学结果是相符的^[7-9], 确定猪旋毛虫为旋毛形线虫 (*T. spiralis*), 犬旋毛虫为本地毛形线虫 (*T. nativa*)。

目前, 18S rRNA 基因用于原虫的分类和虫体鉴定较多, 在线虫领域中的报道还比较少。Simpson 等最早报道从曼氏血吸虫基因组中克隆出 rRNA, 并能用于种间种内变异的研究。Lindsay 等^[10]通过 ITS1 和 18S rDNA 序列以及形态性状的分析, 发现了隐孢子虫的一个新种 (*Cryptosporidium andersoni*)。Hye 等^[11]通过 RT-PCR 方法扩增了分离自韩国的一个旋毛虫隔离种 (ISS623) 的 rRNA ITS1 区 910bp 的基因片段, 用限制性内切酶分析, 认为 ISS623 与上海的旋毛虫隔离种不同, 而上海的与日本的一个旋毛虫隔离种是相近的。Aguinaldo 等^[12-14]在线虫系统发育的研究工作中通过对 34 类动物中的 10~20 种线虫的 18S rRNA 序列进行分析和测定, 最终挑选出其中一种慢进化种类旋毛虫作为线虫的代表种进行研究。可见, 旋毛虫在线虫进化过程中具有一定的代表意义。本研究对代表虫种进化和分类的 18S rRNA 基因序列分析结果表明, 与传统的分类结果是一致的。随着分子生物学的发展, 对旋毛虫的分类将从分子水平揭示其物种的进化和遗传关系及种内遗传变异的本质, 为旋毛虫病的流行病学和防治提供奠定基础。

4 结论

本试验在分子水平上为传统的分类学提供了更强的理论依据。但是, 要利用 PCR 进行旋毛虫乃至寄生虫的分类学研究, 或者虫体的鉴定工作, 还要对寄生虫的遗传进化、宿主和寄生虫之间的相互影响、寄生虫的地域差异等方面与基因的分析工作进行系统的结合, 以找到最适合, 最快速, 最准确的鉴定寄生虫种的方法和分子标记。旋毛虫属种分类的研究对旋毛虫病的病原学、免疫学、流行病学、临床学及预防等均具有重要的意义。对旋毛虫病感染早期准确的诊断, 将可避免或减少畜牧业的经济损失, 同时也保证人类的健康。

References

- [1] Rombout Y B, Bosch S, Van Der Giessen J W. Detection and identification of Eight *Trichinella* genotypes by reverse line blot hybridization. *Journal of Clinical Microbiology*, 2001, 39: 642-646.
- [2] Zarlenga D S, Chute M B, Martin A, Kapel C M. A multiplex PCR for unequivocal differentiation of all encapsulated and non-encapsulated genotypes of *Trichinella*. *International Journal for Parasitology*, 1999, 29: 1859-1867.
- [3] Dick T A, Lu M C, deVos T, Ma K. The use of the polymerase chain reaction to identify porcine isolates of *Trichinella*. *Journal of Parasitology*, 1992, 78(1): 145-148.
- [4] Uparanukraw P, Morakote N. Detection of circulating *Trichinella spiralis* larvae by polymerase chain reaction. *Parasitol Research*, 1997, 83(1): 52-56.
- [5] 张红卫, 崔晶. 旋毛虫属的分类及其分类研究方法. 河南医学研究, 2002, 11: 374-376.
Zhang W H, Cui J. The systematics of the genus *Trichinella* and its taxonomic methods. *Henan Medical Research*, 2002, 11: 374-376. (in Chinese)
- [6] 刘明远, 宋铭忻, 杨瑞馥, 陈佩慧, 安春丽, 柳增善, 郭兆彪, 侯顺利, 路义鑫, 诸欣平. 用随意扩增的 DNA 多态性鉴定中国分离的部分旋毛虫虫株. 中国兽医科技, 1997, 27(2): 18-20.
Liu M Y, Song M X, Yang R F, Chen P H, An C L, Liu Z S, Guo Z B, Hou S L, Lu X X, Zhu X P. Identification of some China isolates of *Trichinella spiealis* by means of RAPD. *Chinese Journal of Veterinary Science and Technology*, 1997, 27(2): 18-20. (in Chinese)
- [7] 诸欣平, 刘明远, 王风云, 周蕾, 宋铭忻. 用 DNA 限制性片段长度多态性鉴定中国旋毛虫 3 个分离株. 寄生虫与医学昆虫学报, 1998, 5(2): 101-105.
Zhu X P, Liu M Y, Wang F Y, Zhou L, Song M X. Identification of three isolates of *Trichinella* in China on the basis of restriction fragment length polymorphisms (RFLP) analysis. *Acta Parasitology Medical Entomologic Sinica*, 1998, 5(2): 101-105. (in Chinese)
- [8] 徐克成, 刘明远, 王嵘, 王凌, 何天星, 张景春. 中国旋毛虫形态度量学分析. 中国兽医学报, 1998, 18(4): 363-366.
Xu K C, Liu M Y, Wang R, Wang L, He T X, Zhang J C. Morphometric analyses of *Trichinella spiralis* isolated from China. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 1998, 18: 363-366. (in Chinese)
- [9] 阎玉河, 朱元晓, 许威光, 陈辉, 马增全, 王克领. 旋毛虫肌幼虫 RNA 的提取及目的基因的 PCR 扩增. 畜牧兽医学报, 1994, 25: 262-267.
Yan Y H, Zhu Y X, Xu W G, Chen H, Ma Z Q, Wang K L. The RNA

- extraction of *Trichinella* muscle larva and PCR amplification of aimed gene. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 1994, 25: 262-267. (in Chinese)
- [10] Lindsay D S, Upton S J, Owens D S, Morgan U M, Mead J R, Blagburn B L. *Cryptosporidium andersoni* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporiidae) from cattle, *Bos taurus*. *Journal of Eukaryot Microbiology*, 2000, 47(1): 91-95.
- [11] Kwon H S, Chung M S, Joo K H. PCR-RFLP patterns of four isolates of *Trichinella* for rDNA ITS1 region. *The Korean Journal of Parasitology*, 2001, 39(1): 43-48.
- [12] Aguinaldo A M, Turbeville J M, Linford L S, Rivera M C, Garey J R, Raff R A, Lake J A. Evidence for a clad of nematodes, arthropods and other moulting animals. *Nature*, 1997, 387: 489-493.
- [13] Blaxter M L, De Ley P, Garey J R, Liu L X, Scheldeman P, Vierstraete A, Vanfleteren J R, Mackey L Y, Dorris M, Frisse L M, Vida J T, Thomas W K. A molecular evolutionary framework for the Phylum Nematoda. *Nature*, 1998, 359: 71-75.
- [14] 吴纪华, 梁彦龄, 钟 扬, 傅萃长, 陈家宽. 线虫系统发育研究进展. *科学通报*, 2001, 46: 1068-1073.
- Wu J H, Liang Y L, Zhong Y, Fu C C, Chen J K. The study of phyletic evolution in *Nematode*. *Science Report*, 2001, 46: 1068-1073.

(责任编辑 林鉴非)

2005年转基因作物商业化生产概况

2005年是转基因作物商业化种植的第十年。该年全球共有21个国家的850万农民种植了4亿公顷转基因作物。据Cropnosis估算, 2005年转基因作物的全球市场价值为52.5亿美元, 相当于2005年全球作物保护市场(340.2亿美元)的15%, 以及全球商业种子市场(300亿美元)的18%。自1996年生物技术作物首次商业性种植以来, 10年间其种植面积每年都以两位数的速度增长, 参与种植的国家从6个增至21个。转基因作物的全球种植面积增加了50多倍。转基因作物种植面积的迅速增加反映出农民对农业生物技术的信任和信心。

据农业生物技术应用国际组织(isaaa)调查, 2005年, 经核准的转基因作物全球种植面积为9000万公顷, 比2004年的8100万公顷增加了11%。2005是具有里程碑意义的一年, 葡萄牙和法国分别在停止种植转基因作物5年和4年后, 恢复了Bt玉米的种植, 加上首次种植Bt玉米的捷克共和国, 欧盟内种植Bt玉米的国家增加到了5个, 即西班牙、德国、葡萄牙、法国和捷克共和国。伊朗于2004年正式推广种植Bt水稻, 2005年的种植面积约为4000公顷, 除常规生产之外, 还为2006年全面商业化生产准备种子。

2005年种植转基因作物的21个国家中包括11个发展中国家和10个工业化国家。按种植面积的大小排序, 分别是美国、阿根廷、巴西、加拿大、中国、巴拉圭、印度、南非、乌拉圭、澳大利亚、墨西哥、罗马尼亚、菲律宾、西班牙、哥伦比亚、伊朗、洪都拉斯、葡萄牙、德国、法国和捷克共和国。美国、阿根廷、巴西、加拿大和中国仍占领先地位, 种植转基因作物的面积分别为4980万公顷(占该类作物全球种植面积的55%)、1710万公顷、940万公顷、580万公顷和330万公顷。

就作物种类而言, Bt大豆面积为5440万公顷(占转基因作物全球种植面积的60%); 随后为玉米(2120万公顷, 24%)、棉花(980万公顷, 11%)和油菜(460万公顷, 5%)。就导入的外源基因性状而言, 耐除草剂性状种植面积第一, 其次是抗虫和多性状。耐除草剂的大豆、玉米和油菜占全球转基因作物总种植面积的71%(6370万公顷); Bt作物占18%(1620万公顷), 多基因作物占11%(1010万公顷)。多外源基因作物是2004和2005年间发展最快的, 增长率达49%, 相比之下, 耐除草剂的增长率为9%, 抗虫性的增长率为4%。约1/5的转基因作物种植面积种的是含2种或3种外源基因的多性状作物。多基因转基因作物成为未来发展的一个重要趋势。

参加种植转基因作物的农民在2005年增加了25万名, 达到850万名。参与种植转基因作物的中贫困自给农民约为770万名(2004年为750万名), 其中大多数来自中国(640万)、印度(100万)、南非(数千, 包括主要的Bt棉女性种植者)和菲律宾(5万多)。转基因作物对于在2015年实现贫困人口下降50%的新千年发展目标将起重要作用。

农业生物技术应用国际服务组织(ISAAA)是一家非盈利性的机构。成立25年来, 他们一直关注农业生物技术的应用和全球的食品安全, 从1999年起, 每年出版关于转基因作物(生物技术作物)商业性生产全球态势的调查报告。详情可查阅<http://www.isaaa.org>。