

转*cry1Ab* 基因水稻对拟水狼蛛捕食作用间接影响的评价

刘志诚¹ 叶恭银¹ 傅强² 张志涛² 胡萃¹

(¹ 浙江大学 应用昆虫学研究所, 浙江 杭州 310029; ² 中国水稻研究所, 浙江 杭州 310006)

Indirect Impact Assessment of Transgenic Rice with *cry1Ab* Gene on Predations by the Wolf Spider, *Pirata subpiraticus*

LIU Zhi-cheng¹, YE Gong-yin¹, FU Qiang², ZHANG Zhi-tao², HU Cui¹

(¹ Institute of Applied Entomology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; ² China National Rice Research Institute, Hangzhou 310006, China)

Abstract: Predation amounts and functional responses by the wolf spider, *Pirata subpiraticus* on the rice leaffolder, *Cnaphalocrocis medinalis*, and the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, which were fed with transgenic rice with *cry1Ab* gene, were evaluated under laboratory conditions. Both on these two preys, functional responses by the spider followed the Holling "disc equation" for type II response. When the larvae of the leaffolder fed with leaves of transgenic rice with *cry1Ab* gene were used as the prey, the killed amount and handling time by the spider were lower than those of the control, but the differences were not significant, whereas the attack constant performed significantly lower than that of the control. The killed amount and handling time as well as the attack constant by the spider showed some difference from those of the control, and these differences did not reach the significant level as the planthopper nymphs reared on the transgenic rice plants were as the preys. To consider the tested results, it may be drawn that there was no marked adverseness of transgenic rice with *cry1Ab* gene on the predation by the wolf spider.

Key words: transgenic rice; *cry1Ab* gene; *Pirata subpiraticus*; *Cnaphalocrocis medinalis*; *Nilaparvata lugens*; predation

摘 要: 室内评价了拟水狼蛛 (*Pirata subpiraticus*) 对取食转 *cry1Ab* 基因水稻的稻纵卷叶螟 (*Cnaphalocrocis medinalis*) 幼虫和褐飞虱 (*Nilaparvata lugens*) 若虫的捕食量及功能反应。结果表明, 拟水狼蛛对这 2 种猎物的捕食功能反应均符合 Holling II 型圆盘方程。该蜘蛛对取食转 *cry1Ab* 基因水稻的稻纵卷叶螟幼虫的捕食量和处理时间低或短于取食对照的, 但差异未达显著水平, 而瞬时攻击率显著低于对照。该蜘蛛对以转 *cry1Ab* 基因水稻为食的褐飞虱若虫的捕食量、瞬时攻击率和处理时间与取食对照的相比有一定的变化, 但差异均不显著。综合考虑, 认为转 *cry1Ab* 基因水稻对拟水狼蛛捕食作用无明显的负作用。

关键词: 转基因水稻; *cry1Ab* 基因; 拟水狼蛛; 稻纵卷叶螟; 褐飞虱; 捕食作用

中图分类号: S336; S511.035.3; S181

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2003)02-0175-04

农田生态系统中作物-害虫-天敌三营养层通过营养流和化学信息流的互动而协同共存, 当某一营养层发生变化时, 就可能对其他营养层产生影响。转抗虫 *Bt* 基因作物 (*Bt* 作物) 中的 *Bt* 毒蛋白对第二营养层的靶标害虫, 如二化螟 (*Chilo suppressalis*) 和稻纵卷叶螟 (*Cnaphalocrocis medinalis*) 等鳞翅目害虫具有明显的致死作用^[1,2], 这样就会影响猎物的数量和质量, 从而影响第三营养层天敌的生长发育、繁殖和控制作用等。另一方面, 转基因作物中的 *Bt* 杀虫蛋白也可能经非靶标害虫如褐飞虱 (*Nilaparvata lugens*) 的取食, 通过食物链的营养流对非靶标害虫天敌产生影响。此外, 在转基因作物的培育中, *Bt* 基因的随机插入, 也可能会引起作物某些物质组分或含量产生非预期的变化, 从而影响第二营养层害虫的生长发育和繁殖等, 进而导致天敌

猎物质量与数量的改变, 最终对天敌产生影响。现今, 有关这方面的研究主要限于评价 *Bt* 玉米^[3]、*Bt* 棉花^[4] 和 *Bt* 马铃薯^[5] 通过第二营养层的靶标或非靶标害虫而对天敌生存、生长发育与繁殖的影响, 其中除普通草蛉 (*Chrysoperia carnea*) 以 *Bt* 玉米上的猎物为食时幼虫死亡率有明显增加外^[6], 绝大多数结果显示转抗虫 *Bt* 基因作物对天敌尤其是捕食性天敌昆虫无明显的负作用; 有关对捕食作用的影响评价仅见于 *Bt* 马铃薯对具斑食蚜瓢虫 (*Coleomegilla maculata*)^[6] 的影响。在 *Bt* 水稻方面

收稿日期: 2002-03-11; 修改稿收到日期: 2002-05-31。

基金项目: 国家“973”项目(001CB109004); 国家自然科学基金资助项目(39970507); 教育部全国优秀博士学位论文专项项目(199944); 国家“863”项目(J00-C-002); 浙江省科技厅资助项目。

第一作者简介: 刘志诚(1968—), 男, 在读博士研究生。

未见相关报道。因此,我们以稻田生态系统中主要广谱捕食性天敌拟水狼蛛(*Pirata subpiraticus*)为对象,对其以转 *cry1Ab* 基因水稻为食的靶标害虫和非靶标害虫的捕食作用进行研究,评价 *Bt* 水稻通过食物链中的营养流可能对其产生的影响,为 *Bt* 水稻生态风险的正确评价提供个案依据。

1 材料与方 法

1.1 供试 *Bt* 水稻

“克螟稻1号(KMD1)”和“克螟稻2号(KMD2)”,系用农杆菌介导法获得的秀水11转基因水稻R₀代,均含 *cry1Ab* 基因和 Ubiquitin 启动子。对照系未转基因亲本粳稻品种秀水11。催芽后,播种、移栽于覆盖有80目塑料网纱的无虫网室内。

1.2 供试昆虫及其准备

褐飞虱成虫源于中国水稻研究所,为饲养在养虫室内感虫品种 TN1 上的成虫。试验前,在养虫室内任雌雄成虫分别于各供试稻株(移栽后60 d)上取食、交配产卵,卵孵化后若虫继续于相应的稻株上饲养,直至4龄,备用。

稻纵卷叶螟的低龄幼虫采自浙江大学实验农场稻田内,然后在室内以非转基因对照稻株饲养至4龄。试验前,接幼虫于各供试材料的稻株上饲养2 d,使其处于亚中毒状态,备用。

1.3 供试蜘蛛

拟水狼蛛雌成蛛,采自浙江大学实验农场稻田内。试验前,选择大小基本一致、健壮的个体,并饥饿

24 h。

1.4 捕食量及功能反应的测定

取各供试稻株稻秆(带少部分稻叶),放入盛有少量木村B水稻营养液的500 mL广口瓶中,每瓶4根。按2、4、8、16、24头/瓶,共计5个密度,分别移入稻纵卷叶螟4龄幼虫,再分别移入1头拟水狼蛛雌成蛛。每密度各设9个重复和相同数量的无蜘蛛对照。褐飞虱若虫的5个试验密度分别为4、8、16、32、64头/瓶,其他同稻纵卷叶螟。24 h后,考查各瓶中稻纵卷叶螟和褐飞虱被捕食数。

1.5 统计方法

功能反应结果用 Holling II 型圆盘方程 $N_t = a \cdot N \cdot T / (1 + a \cdot N \cdot T_h)$ 进行拟合。其中 N_t 表示天敌捕食量, N 表示猎物的初始密度, T 为试验时间, a 表示瞬时攻击率, T_h 表示处理时间。功能反应的重要参数瞬时攻击率和处理时间用 t 检验进行差异比较^[7]。所有计算均在 Excel 和 STATISTICAL 软件上完成。

2 结果与分析

2.1 拟水狼蛛的捕食量

在同一猎物密度下,拟水狼蛛对转 *cry1Ab* 基因的克螟稻1号与克螟稻2号上的稻纵卷叶螟幼虫的捕食量,大多低于对照(秀水11),但差异均未达显著水平;克螟稻1号与克螟稻2号相比,同一猎物密度下也无显著差异(表1)。拟水狼蛛对以转 *cry1Ab* 基因的克螟稻1号和克螟稻2号为食的褐飞虱若虫

表1 拟水狼蛛对以转 *cry1Ab* 基因水稻为食的稻纵卷叶螟和褐飞虱的捕食量

Table 1. Predations by *Pirata subpiraticus* on *Cnaphalocrocis medinalis* larvae and *Nilaparvata lugens* nymphs fed with transgenic rice containing *cry1Ab* gene at various prey densities.

猎物 Prey	猎物密度 ¹⁾ Prey density ¹⁾	捕食量 ²⁾ Killed amount ($\bar{X} \pm SE$) ²⁾		
		克螟稻1号 KMD1	克螟稻2号 KMD2	秀水11 Xiushui 11
稻纵卷叶螟 <i>C. medinalis</i>	2	1.02±0.19 a	1.18±0.15 a	1.44±0.29 a
	4	1.22±0.28 a	1.29±0.20 a	1.89±0.20 a
	8	3.00±0.41 a	2.00±0.24 a	3.33±0.71 a
	16	3.27±0.44 a	3.89±0.77 a	3.44±0.82 a
	24	5.38±0.91 a	4.33±0.75 a	5.56±1.09 a
褐飞虱 <i>N. lugens</i>	4	2.69±0.42 a	1.80±0.29 a	2.27±0.39 a
	8	4.98±0.47 a	3.58±0.72 a	5.00±0.55 a
	16	8.36±0.82 a	7.80±1.13 a	6.54±1.07 a
	32	5.07±0.46 a	6.84±1.37 a	5.13±0.41 a
	64	11.24±2.17 a	7.84±1.58 a	8.22±2.08 a

¹⁾密度单位为“头/瓶”;²⁾捕食量单位为“头/(蜘蛛·d)”。同一猎物密度下,同一行中具相同字母的捕食量间差异未达显著水平($P=0.05$)。

¹⁾The unit of prey density is “larvae (or nymphs) per bottle”; ²⁾The unit of killed amount is “larvae (or nymphs) per spider in 24 h”. There is no significant difference at the level of $P=0.05$ among the killed amounts for the same prey followed by the same letter in the same row.

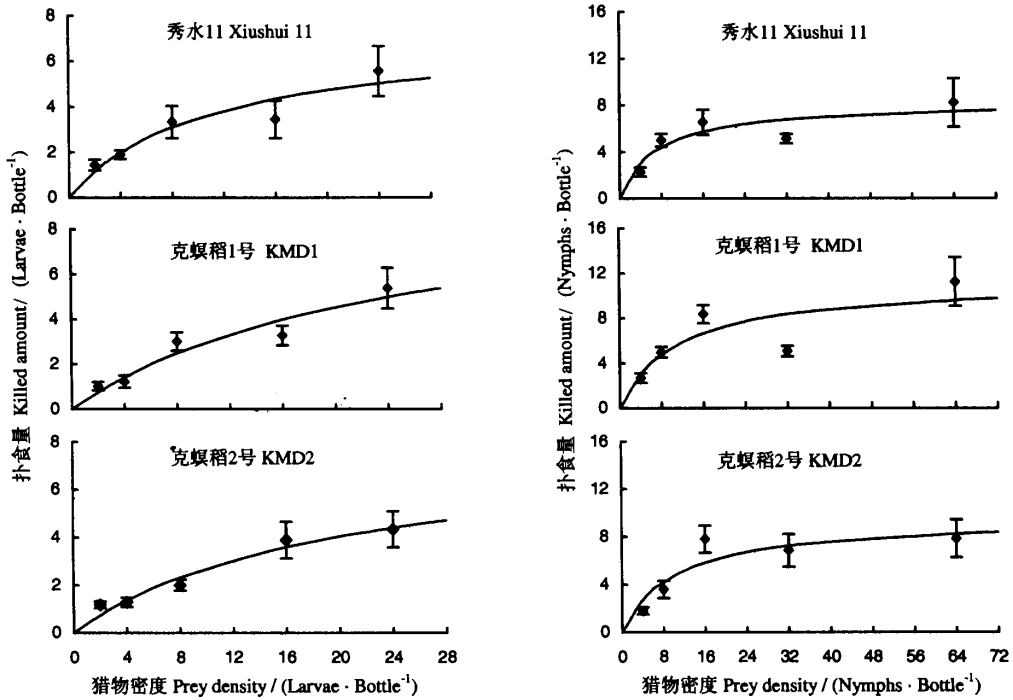


图 1 拟水狼蛛对以转 *cry1Ab* 基因水稻为食的稻纵卷叶螟幼虫(左)和褐飞虱若虫(右)的功能反应

Fig. 1. Functional responses of *Pirata subpiraticus* when exposed to different densities of *Cnaphalocrocis medinalis* larvae (left) and *Nilaparvata lugens* nymphs (right) fed with transgenic rice containing *cry1Ab* gene.

图中点为观察值,曲线为模拟值。

Points are means \pm standard error of observed values, and the curves represent simulated data in the figures.

的捕食量因猎物密度而有高低,对以克螟稻 1 号为食的一般稍高于对照,而对以克螟稻 2 号为食的则一般稍低于对照,但这些差异均未达显著水平。克螟稻 1 号与克螟稻 2 号相比,同一密度下该蜘蛛对褐飞虱的捕食量多以取食克螟稻 1 号的为高。

2.2 拟水狼蛛的捕食功能反应

拟水狼蛛对以各供试稻株为食料的稻纵卷叶螟幼虫的功能反应均符合 Holling II 型反应(图 1-左)。对 Holling II 型反应圆盘方程中 2 个参数的统计分析表明,该蜘蛛对以转 *cry1Ab* 基因的克螟稻 1 号或

克螟稻 2 号为食料的幼虫的瞬时攻击率(a)显著低于对照,处理时间(T_h)也均短于对照,但差异未达显著水平(表 2)。

该蜘蛛对以各供试稻株为食料的褐飞虱的功能反应也符合 Holling II 型反应(图 1-右)。与稻纵卷叶螟幼虫不同的是,该蜘蛛对以转 *cry1Ab* 基因的克螟稻 1 号或克螟稻 2 号为食的若虫的瞬时攻击率(a)和处理时间(T_h)与对照相比虽偏低,但均无显著差异(表 2)。

表 2 拟水狼蛛对以转 *cry1Ab* 基因水稻为食的稻纵卷叶螟和褐飞虱捕食功能反应的参数

Table 2. Parameters of functional responses by *Pirata subpiraticus* on *Cnaphalocrocis medinalis* larvae and *Nilaparvata lugens* nymphs fed with transgenic rice containing *cry1Ab* gene.

供试材料 Tested material	稻纵卷叶螟 <i>C. medinalis</i>			褐飞虱 <i>N. lugens</i>		
	瞬时攻击率	处理时间	R^2	瞬时攻击率	处理时间	R^2
	Attack constant (a) / h^{-1}	Handling time(T_h)/h		Attack constant (a) / h^{-1}	Handling time(T_h)/h	
克螟稻 1 号 KMD1	0.017 \pm 0.006 b	2.358 \pm 1.106 a	0.92	0.042 \pm 0.029 a	2.128 \pm 0.671 a	0.63
克螟稻 2 号 KMD2	0.017 \pm 0.004 b	3.000 \pm 0.796 a	0.96	0.039 \pm 0.018 a	2.514 \pm 0.503 a	0.82
秀水 11 Xiushui 11	0.028 \pm 0.010 a	3.292 \pm 0.899 a	0.88	0.048 \pm 0.027 a	2.889 \pm 0.534 a	0.75

注:表中 a 和 T_h 的数据均系平均数 \pm 标准误,同一列中具相同字母者差异未达显著($P=0.05$)水平。

Note: Parameters of a and T_h in the table are means \pm standard error, and there is no significant difference at the level of $P=0.05$ among the data followed by the same letter in the same column.

3 讨论

试验结果表明,拟水狼蛛对取食转 *cry1Ab* 基因的克螟稻1号、克螟稻2号的稻纵卷叶螟幼虫和褐飞虱若虫的捕食量和处理时间与取食非转基因水稻的对照相比,无显著差异,这与具斑食蚜瓢虫以取食 *Bt* 马铃薯的中毒马铃薯叶甲 (*Leptinotarsa decelneata*) 为猎物时捕食量无明显改变的结果^[5]相似。这在一定程度上说明了 *Bt* 水稻不会通过第二营养层的靶标或非靶标害虫对天敌的捕食作用产生明显的负影响,这也可从有关 *Bt* 玉米^[3]、*Bt* 棉花^[4]和 *Bt* 马铃薯^[5]对其靶标或非靶标害虫天敌生存、生长发育和繁殖影响的绝大多数研究结果,即无显著影响中得到一定的佐证。至于瞬时攻击率,当该蜘蛛以取食克螟稻1号、克螟稻2号的稻纵卷叶螟幼虫为猎物时,显著低于对照,原因可能有二,其一是稻纵卷叶螟取食含 *Bt* 毒蛋白的稻叶后因虫体处于亚致死状态而活动性下降,影响了拟水狼蛛的取食行为;其二,稻纵卷叶螟体内的 *Bt* 毒蛋白可能妨碍了拟水狼蛛的捕食。若要证实第二个原因,一方面应评价纯 *Bt* 毒蛋白对其捕食的直接影响程度;另一方面应检测 *Bt* 毒蛋白在稻纵卷叶螟幼虫体内和蜘蛛肠道中累积情况,并须探明蜘蛛肠道中是否有能与 *Bt* 毒蛋白结合的受体,若无,*Bt* 毒蛋白就不可能对蜘蛛产生直接的作用。这方面的研究有待进一步开展。当该蜘蛛以取食克螟稻1号、克螟稻2号的褐飞虱若虫为猎物时,则与对照无显著差异,原因在于褐飞虱是 *Bt* 水稻的非靶标害虫,能在 *Bt* 水稻上正常生长、发育和繁殖,与对照相比,其个体大小和活动性无明显的变化(叶恭银等,待发表);即使褐飞虱取食了 *Bt* 毒蛋白,*Bt* 毒蛋白对其也无致死作用。这样,在稻纵卷叶螟和褐飞虱同时存在的田间实际条件下,该蜘蛛或许会更积极地攻击褐飞虱,若如此, *Bt*

水稻在大大减少用于防治螟虫和稻纵卷叶螟化学农药的有利条件下,该蜘蛛在控制飞虱中将发挥更大的作用。这从近几年 *Bt* 稻田基本不需要防治飞虱的事实可得到一定的肯定。但具体情况尚待深入验证。

此外,需要指出的是在田间自然条件下 *Bt* 水稻的物理性状也可能会影响到该蜘蛛的捕食行为等,这方面有待通过室内模拟和田间实地考察作进一步评价。

参考文献:

- 1 Shu Q Y, Ye G Y, Cui H R, *et al.* Transgenic rice plants with a synthetic *cry1Ab* gene from *Bacillus thuringiensis* were highly resistant to eight lepidopteran rice pest species. *Mol Breeding*, 2000, 6: 433-439.
- 2 Ye G Y, Shu Q Y, Yao H W, *et al.* Field evaluation of resistance of transgenic rice containing a synthetic *cry1Ab* gene from *Bacillus thuringiensis* Berliner to two stem borers. *J Econ Entomol*, 2001, 94: 271-276.
- 3 Obrycki J J, Losey J E, Taylor O R, *et al.* Transgenic insecticidal corn: beyond insecticidal toxicity to ecological complexity. *BioScience*, 2001, 51: 353-361.
- 4 Sims S R. *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (CryIA(c)) protein expressed in transgenic cotton: effects on beneficial and other non-target insects. *Southwest Entomol*, 1995, 20: 493-500.
- 5 Riddick E W, Barbosa P. Impact of Cry3A-intoxicated *Leptinotarsa decelneata* (Coleoptera: Chrysomelidae) and pollen on consumption, development, and fecundity of *Coleomegilla maculata* (Coleoptera: Coccinellidae). *Ann Entomol Soc Am*, 1998, 91: 303-307.
- 6 Hilbeck A, Baumgartner M, Fried P M, *et al.* Effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on mortality and development time of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environ Entomol*, 1998, 27: 480-487.
- 7 Houck M A, Strauss R E. The comparative study of functional responses: experiment designs and statistical interpretation. *Can Entomol*, 1985, 117: 617-629.