

# Cry1Ab 杀虫蛋白在水稻-褐飞虱-拟水狼蛛食物链中转移与富集

陈茂<sup>1</sup>, 叶恭银<sup>1\*</sup>, 卢新民<sup>1</sup>, 胡萃<sup>1</sup>, 彭于发<sup>2</sup>, 舒庆尧<sup>3</sup>, Illimar ALTOSAAR<sup>4</sup>

(1. 浙江大学应用昆虫学研究所/水稻生物学国家重点实验室 杭州 310029; 2. 中国农业科学院植物保护研究所 北京 100094;

3. 浙江大学原子核农业科学研究所 杭州 310029; 4. 渥太华大学农业生物技术实验室 渥太华 K1H 8M5, 加拿大)

**摘要:**采用 ELISA 方法检测了 2 个转 *cry1Ab* 基因水稻(Bt 水稻)品系 KMD1 和 KMD2 不同生育期叶鞘内 Cry1Ab 杀虫蛋白的含量及其通过褐飞虱和拟水狼蛛的转移和富集情况。结果表明,这 2 个品系中抽穗期和黄熟期叶鞘内 Cry1Ab 的含量均显著低于苗期、分蘖期和孕穗期,KMD1 和 KMD2 中 Cry1Ab 杀虫蛋白可以通过食物链转移到 Bt 水稻非靶标害虫褐飞虱及其天敌拟水狼蛛体内。褐飞虱在 KMD1 或 KMD2 上取食 2 d 后,体内均含有 Cry1Ab 杀虫蛋白,但连续取食 2、4、6、8 和 10 d 后,其体内含量并未因取食时间的延长而呈现明显增加的趋势。当拟水狼蛛捕食以 KMD1 或 KMD2 为食的褐飞虱时,在捕食 2、4、6、8 和 10 d 后,其体内均可检测到 Cry1Ab 杀虫蛋白,其含量并未随捕食时间的延长而明显上升,但均显著高于相应时间褐飞虱体内的含量。可见,该蛋白可通过水稻转移至褐飞虱,再转移至拟水狼蛛,并存在明显的富集现象,而这种富集并不随蜘蛛捕食时间的延长而加强。拟水狼蛛捕食以 KMD1 或 KMD2 为食的褐飞虱时,其捕食量未受到显著影响,其中肠酶粗提物对 Cry1Ab 杀虫蛋白具有明显的降解作用。

**关键词:** Bt 水稻; Cry1Ab 杀虫蛋白; 褐飞虱; 拟水狼蛛; 食物链; 生物富集; 解毒

中图分类号: Q968 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2005)02-0208-06

## Biotransfer and bioaccumulation of Cry1Ab insecticidal protein in rice plant-brown planthopper-wolf spider food chain

CHEN Mao<sup>1</sup>, YE Gong-Yin<sup>1\*</sup>, LU Xin-Min<sup>1</sup>, HU Cui<sup>1</sup>, PENG Yu-Fa<sup>2</sup>, SHU Qing-Yao<sup>3</sup>, Illimar ALTOSAAR<sup>4</sup>

(1. State Key Laboratory of Rice Biology/Institute of Applied Entomology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; 2. Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094, China; 3. Institute of Nuclear Agricultural Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; 4. Agricultural Biotechnology Laboratories, BMI-Medicine, University of Ottawa, Ottawa, K1H 8M5, Canada)

**Abstract:** The concentration of Cry1Ab insecticidal protein expressed in two homozygous transgenic *Bacillus thuringiensis* (Bt) rice lines, KMD1 and KMD2, were determined by enzyme immunosorbent assay (ELISA) with the PathoScreen kit for Bt cry1Ab/Ac protein (Agdia, USA). The results showed that the concentration of Cry1Ab expressed both in KMD1 and KMD2 at the heading and maturing stage were significantly lower than that at the seedling, tillering and booting stage. Cry1Ab protein could be transferred from transgenic rice plants to its nontarget pest brown planthopper (BPH), *Nilaparvata lugens* (Stål), and from *N. lugens* to its natural enemy wolf spider (WS), *Pirata subpiraticus* (Boesenberg et Strand) in the food chain by preying. The quantitative cycle of Cry1Ab insecticidal protein in the food chain was analyzed using the kit. After being fed on KMD1 or KMD2 rice plants for 2 days, Cry1Ab protein could be detected in the *N. lugens* body. However, after continuous feeding on Bt rice plants for 2, 4, 6, 8 and 10 days, the content of Cry1Ab remaining in the *N. lugens* body did not show the expected tendency of increase. Also, Cry1Ab protein could be detected in the *P. subpiraticus* body by preying on the *N. lugens* reared on KMD1 or KMD2 rice plants for 2, 4, 6, 8 or 10 days, while their contents were significantly higher than those of *N. lugens* fed on KMD1 or KMD2 for the same

基金项目: 国家重点基础研究发展规划“973”项目(001CB109004); 国家自然科学基金项目(39970507); 教育部全国优秀博士学位论文专项项目(199944)

作者简介: 陈茂,男,1977年生,安徽巢湖人,博士生,主要从事生物安全评价研究, E-mail: chenmao0907@hotmail.com

\* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: chu@zju.edu.cn

收稿日期 Received: 2004-10-13; 接受日期 Accepted: 2005-02-01

time. Although the inoculation time was increased from 2 to 4, 6, 8 and 10 days, the level of Cry1Ab detected in *P. subpiraticus* did not show any increase. Additionally, there were no significant differences among the predatory consumptions of *P. subpiraticus* preying on *N. lugens* reared on KMD1, KMD2 or on the non-transgenic parental rice line Xiushui11. No clear bioaccumulation pattern of Cry1Ab protein was observed in *N. lugens* and *P. subpiraticus*. More than 50 percent of Cry1Ab was degraded by the crude protease extract from the midgut of *P. subpiraticus* at 37°C without light for 2 hours. However, as the exposure time increased from 2 to 4, 8, 12 and 24 hours, the detoxification function of the crude protease extract did not show a tendency to increase.

**Key words:** Bt rice; Cry1Ab insecticidal protein; *Nilaparvata lugens*; *Pirata subpiraticus*; food chain; bioaccumulation; detoxification

近年来, 抗虫转 Bt 基因作物对其非靶标生物的影响业已成为人们关注的生物安全焦点之一 (Poppy, 2000)。植食性或捕食性非靶标生物因直接取食转基因植物, 或以转基因植物上植食者为食物源, 均可能会受到直接或间接的影响。这种影响一旦出现, 即可能会导致植物-植食者-天敌三营养层间呈现新的互作关系。迄今, 有关抗虫转 Bt 基因作物对其非靶标植食者及天敌的正面或负面的影响已有不少报道 (Shelton *et al.*, 2002; High *et al.*, 2004)。但这些报道仅分析了温室或是田间条件下转基因作物对供试对象生物学特性的影响, 而极少探讨 Bt 杀虫蛋白能否在转基因植物-非靶标植食者-天敌三者间进行转移与富集。其实, Bt 植物中的杀虫蛋白通过食物链传递到非靶标植食者及天敌体内是可能的 (Riddick and Barbosa, 1998), 而且 Bernal 等 (2002) 也验证了这点, 即褐飞虱 *Nilaparvata lugens* Stål 在取食含 CaMV 35S 或 *actin* 启动子的 Bt 水稻后, 在其分泌的蜜露中即可检测到 Bt 杀虫蛋白。但是, 能否进一步转移至第三营养层的天敌, 及能否在转移过程中出现富集尚乏深入探讨。为此, 本文通过 ELISA (enzyme immunosorbent assay) 方法, 定量检测了 2 个 Bt 水稻品系中 Cry1Ab 杀虫蛋白通过食物链向非靶标害虫褐飞虱, 及其天敌拟水狼蛛 *Pirata subpiraticus* Boesenberg *et* Strand 的转移过程, 旨在分析 Cry1Ab 杀虫蛋白在转基因植物-非靶标植食者-天敌这一食物链中转移与富集的规律。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试转基因水稻

供试 Bt 水稻为处于 R<sub>10</sub> 代的 2 个粳稻纯合品系, 即 KMD1 和 KMD2。这 2 个品系源于 2 个独立的 R<sub>0</sub> 代转化株, 均含有 *cry1Ab* 基因和玉米 *ubiquitin* 启动子 (Cheng *et al.*, 1998), 且在田间对靶标害虫二

化螟 *Chilo suppressalis* (Walker)、三化螟 *Scirpophaga incertulas* (Walker) 和稻纵卷叶螟 *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) 表现高抗 (Ye *et al.*, 2001, 2003)。对照为其非转基因亲本品种秀水 11。供试水稻材料均播种、移栽于防虫网室内。

### 1.2 供试昆虫和蜘蛛

褐飞虱采自浙江大学实验农场, 置于人工气候室内 (相对湿度 80% ~ 90%, 温度 25 ± 1°C, 光照时间 14 h/d), 于感虫品种 TN1 水稻上连续饲养 3 代。取羽化后 24 h 内的褐飞虱成虫供试验用。拟水狼蛛雌成蛛采自浙江大学实验农场, 并单头分装于指形管内饲养, 管底垫一以水浸湿的海绵球, 脱脂棉塞封口, 供水饥饿 48 h 后供实验用。

### 1.3 不同生育期 KMD1 与 KMD2 水稻叶鞘内 Cry1Ab 杀虫蛋白含量的测定

分别取 KMD1、KMD2 和对照水稻苗期、分蘖期、孕穗期、抽穗期和黄熟期的叶鞘 500 mg, 迅速加液氮研磨成粉, -70°C 冻存。Cry1Ab 杀虫蛋白含量以 Bt-cry1Ab/1Ac 蛋白试剂盒 (PathoScreen, 美国 Agdia 公司) 测定, 具体操作步骤严格按试剂盒说明书进行。对各材料每一生育期的检测, 均设重复 10 次。水稻叶鞘总可溶性蛋白以 Bradford 法 (Bradford, 1976) 测定, 并计算 Cry1Ab 杀虫蛋白占不同生育期水稻叶鞘总可溶性蛋白的比率。

### 1.4 褐飞虱摄入 Cry1Ab 杀虫蛋白量的测定

将羽化后 24 h 内的褐飞虱雌成虫置于人工气候室 (条件同 1.2) 内, 分别用移栽后 50 ± 2 d 的 KMD1、KMD2 和对照水稻分蘖期的健株饲养, 任其取食。取食 2、4、6、8 和 10 d 后, 自各供试材料植株上分别收集 30 头成虫, 并立即置 -70°C 冻存。同时, 于饲喂水稻植株前, 分别收集 30 头成虫, 供作未取食 KMD1 和 KMD2 的对照。按方法 1.3 分别测定各样品飞虱体内 Cry1Ab 杀虫蛋白含量。检测时各样品以 5 头为一组 (预备试验检测显示, 单头体内

Cry1Ab 含量甚低,检测结果不稳定),以液氮共同匀浆测定。另外,在收集飞虱样品同时,按方法 1.3 也收集相应时间的各供试水稻叶鞘 10 份,检测其中 Cry1Ab 杀虫蛋白含量。

### 1.5 拟水狼蛛摄入 Cry1Ab 杀虫蛋白量的测定

分别在移栽后  $50 \pm 2$  d 的 KMD1、KMD2 和对照水稻植株上取食 2 d 后的褐飞虱雌成虫饲喂拟水狼蛛雌成蛛,每头每天饲喂 8 头。记录每天被完全吞食、捕食致死及存活的飞虱数量。连续饲喂 2、4、6、8 和 10 d 后,分别自各处理收集成蛛 30 头,  $-70^\circ\text{C}$  冻存。同时,于饲喂前,分别收集 30 头雌成蛛,供作对照。按方法 1.3 分别测定各样品成蛛体内 Cry1Ab 杀虫蛋白含量。检测时各样品以 3 头为一组(单头体内 Cry1Ab 含量甚低,检测结果不稳定),以液氮共同匀浆测定。

### 1.6 拟水狼蛛中肠酶粗提物对 Cry1Ab 杀虫蛋白降解作用的分析

于 PBS 缓冲液(pH 7.0, 0.1 mol/L)体系下解剖拟水狼蛛雌成蛛,取中肠,迅速用液氮冷冻。参照 Forcada 等(1996),每头中肠加 150  $\mu\text{L}$  MEB 抽提液(100 mL PBST, 0.5 g Tween 20, 0.4 g 脱脂奶粉),冰上匀浆,  $4^\circ\text{C}$  下  $12\,000 \times g$  离心 15 min,收集上清液,得中肠酶粗提物。然后,将纯 Cry1Ab 杀虫蛋白用 MEB 缓冲液稀释到 80 ng/mL,再加等体积的中肠酶粗提物,使其终浓度为 40 ng/mL。对照直接用 MEB 缓冲液将纯 Cry1Ab 杀虫蛋白终浓度调至 40 ng/mL。而后,于  $37^\circ\text{C}$  避光条件下分别反应 2、4、8、12 和 24 h,并立即收集酶处理和对照样品,置于  $-70^\circ\text{C}$  保存。每一反应时间各设重复 10 次。最后,统一以 Bt-cry1Ab/1Ac 蛋白试剂盒测定各样品中 Cry1Ab 杀虫蛋白含量,以分析中肠酶粗提物对该蛋白的降解作用。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同生育期转基因水稻叶鞘内 Cry1Ab 杀虫蛋白的含量

ELISA 结果表明,不同生育期 KMD1 和 KMD2 水稻叶鞘内均含有 Cry1Ab 杀虫蛋白(图 1),而对照秀水 11 水稻中没有。KMD1 和 KMD2 水稻相同生育期叶鞘内杀虫蛋白含量没有显著差异( $P > 0.05$ )。方差分析表明,Cry1Ab 杀虫蛋白的含量在 KMD1 ( $F = 53.259, P < 0.05$ )和 KMD2 ( $F = 58.133, P < 0.05$ )的不同生育期间则存在显著差异,其中苗期、分蘖期和

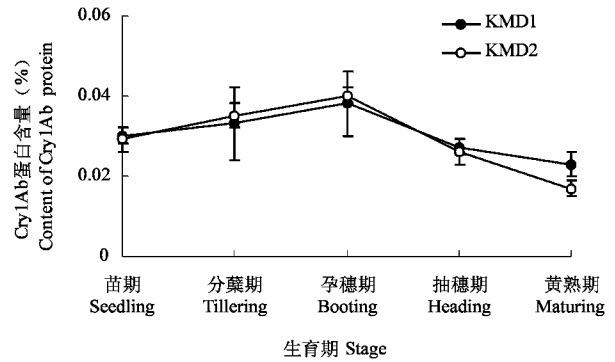


图 1 KMD1 和 KMD2 不同生育期叶鞘内 Cry1Ab 杀虫蛋白占总可溶性蛋白的百分率

Fig. 1 Percentage of Cry1Ab insecticidal protein in sheathes of Bt rice KMD1 and KMD2 accounting for total soluble proteins at rice different stages

图中数据为平均值  $\pm$  标准误,下同。The data in the figure are mean  $\pm$  SE. The same for following figures and tables.

孕穗期叶鞘内 Cry1Ab 杀虫蛋白的含量显著高于抽穗期和黄熟期。

### 2.2 褐飞虱体内 Cry1Ab 杀虫蛋白的含量

在喂饲褐飞虱的同时(第 2、4、6、8 和 10 d),分蘖期 KMD1 水稻中 Cry1Ab 杀虫蛋白占叶鞘总可溶性蛋白的比率变动在 0.031% ~ 0.034% 之间; KMD2 叶鞘中杀虫蛋白的含量在 0.034% ~ 0.036% 之间。2 个品系中 Cry1Ab 杀虫蛋白含量都比较稳定。褐飞虱体内 Cry1Ab 杀虫蛋白含量随其对 KMD1 或 KMD2 取食时间的延长呈现有先升后降,并趋于稳定。褐飞虱未取食 KMD1 或 KMD2 水稻时,其体内均未检测到 Cry1Ab 杀虫蛋白,而取食 2 d 后则均能检测到该杀虫蛋白(表 1)。Duncan's 多重比较表明,该飞虱在 KMD1 水稻上取食后第 6 d,其体内的 Cry1Ab 杀虫蛋白含量显著低于第 2、8 和 10 d ( $P < 0.05$ ),而其他取食时间之间则无显著差异( $P > 0.05$ );在 KMD2 水稻上取食后第 4 和 6 d,体内 Cry1Ab 杀虫蛋白含量显著较第 2、8 和 10 d 低( $P < 0.05$ ),其他取食时间之间则也无显著差异( $P > 0.05$ )。

### 2.3 拟水狼蛛体内 Cry1Ab 杀虫蛋白的含量

拟水狼蛛对以不同供试水稻为食的褐飞虱的累计捕食量随捕食时间的延长而增加并渐趋稳定(图 2)。对以不同供试水稻植株为食的飞虱而言,它们被该蜘蛛完全吞食及捕食致死的数量没有显著差异( $P > 0.05$ )。可见,Bt 水稻对该蜘蛛的捕食能力无明显的影响。当该蜘蛛以取食 KMD1 和 KMD2 植株

的飞虱为猎物时,其体内即可检测到 Cry1Ab 杀虫蛋白,且其单头体内的蛋白含量显著高于单头飞虱体内的含量(表1),表明 Cry1Ab 杀虫蛋白可通过食物链由水稻转移到飞虱体内,再由其转移到蜘蛛体内,存在富集现象。就该蜘蛛体内 Cry1Ab 杀虫蛋白含量的变化而言,存在有随捕食时间延长而先增后降,再渐于稳定的趋势,即在捕食第8 d 后不再有显著增加的趋势(表1)。

表1 取食 Bt 水稻不同时间后褐飞虱及其捕食者拟水狼蛛体内 Cry1Ab 杀虫蛋白的含量

Table 1 Content of Cry1Ab insecticidal protein in *N. lugens* feeding on Bt rice for different times and its predator, *P. subpiraticus*

供试 Bt 水稻品系 Bt rice lines tested	取食时间(d) Feeding time	Cry1Ab 杀虫蛋白含量 (ng/头) Content of Cry1Ab insecticidal protein (ng/individual)	
		褐飞虱 <i>N. lugens</i>	拟水狼蛛 <i>P. subpiraticus</i>
KMD1	0	0 c(a)	0 c(a)
	2	0.07 ± 0.01 b(b)	0.37 ± 0.03 a(a)
	4	0.09 ± 0.01 ab(b)	0.20 ± 0.03 b(a)
	6	0.05 ± 0.01 b(b)	0.19 ± 0.02 c(a)
	8	0.14 ± 0.01 a(b)	0.30 ± 0.05 ab(a)
KMD2	0	0 c(a)	0 c(a)
	2	0.11 ± 0.01 a(b)	0.30 ± 0.03 b(a)
	4	0.05 ± 0.01 b(b)	0.48 ± 0.10 a(a)
	6	0.04 ± 0.01 b(b)	0.18 ± 0.03 b(a)
	8	0.10 ± 0.01 a(b)	0.20 ± 0.01 b(a)
	10	0.11 ± 0.03 a(b)	0.28 ± 0.05 b(a)

注 Notes: 同一 Bt 水稻品系数据后有相同字母的表示差异不显著 ( $P > 0.05$ ) (Duncan's 多重比较)。同一 Bt 水稻品系数据后括号内有相同字母表示褐飞虱与拟水狼蛛间差异不显著 ( $P > 0.05$ ) ( $t$  测验)。The data for the same Bt rice line followed by the same letter indicate no significant difference ( $P > 0.05$ ) by Duncan's multiple range test. The data for the same Bt rice line followed by the same letter in parenthesis indicate no significant difference between *N. lugens* and *P. subpiraticus* ( $P > 0.05$ ) by  $t$ -test.

#### 2.4 拟水狼蛛中肠酶粗提物对 Cry1Ab 杀虫蛋白的降解

拟水狼蛛中肠酶粗提物与 Cry1Ab 杀虫蛋白在 37℃ 下混合反应 2 h 后, 50% 以上的 Cry1Ab 杀虫蛋白即被降解, 但随着反应时间的延长, 其降解作用并未表现出显著增强趋势 ( $P > 0.05$ ), 对照组中 Cry1Ab 杀虫蛋白则基本未被降解(图3)。

### 3 讨论

就生物量金字塔而言, 生产者(Bt 水稻)体内的 Cry1Ab 杀虫蛋白可以通过被取食而转移到初级消

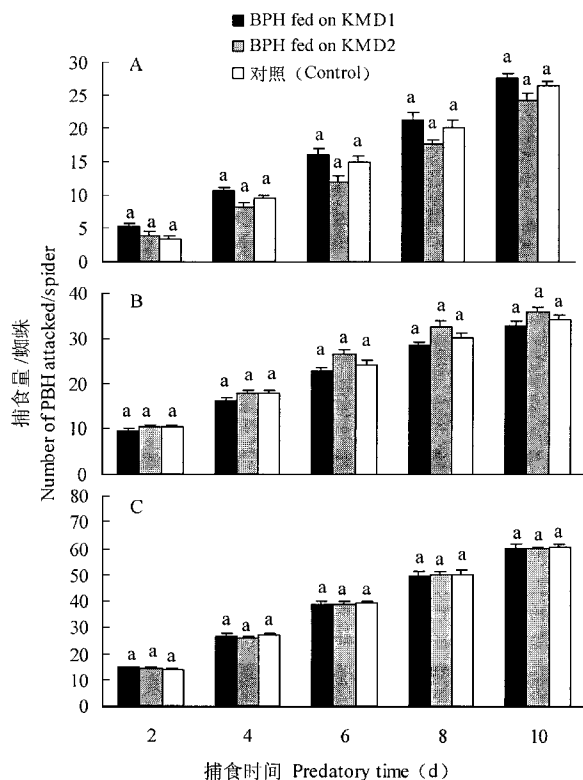


图2 拟水狼蛛对以 Bt 水稻及其对照水稻为食的褐飞虱累积捕食量

Fig. 2 Accumulated amount of the brown planthopper (BPH), *N. lugens* fed on Bt rice and its untransformed control (Xiushui 11) rice predated by *P. subpiraticus*

A: 捕食致死的褐飞虱数量 BPH individuals killed; B: 被吞食的褐飞虱数量 BPH individuals consumed; C: 总捕食量 Total predation amount.

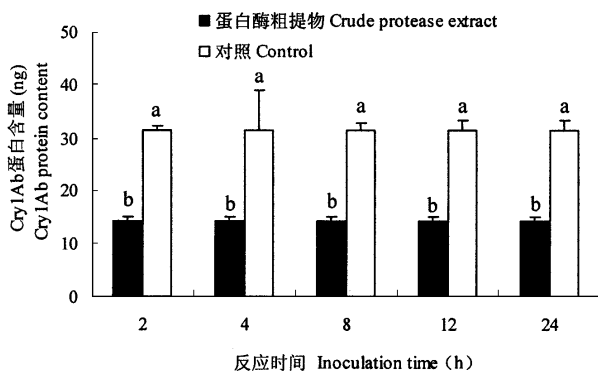


图3 拟水狼蛛中肠酶粗提物在离体条件下对 Cry1Ab 杀虫蛋白的降解作用

Fig. 3 Degradation of Cry1Ab insecticidal protein *in vitro* by crude protease extract from *P. subpiraticus* midgut

耗者(褐飞虱)体内,再通过捕食作用而转移到次级消耗者(拟水狼蛛)体内。在这个过程中, Cry1Ab 杀虫蛋白可能会在初级和次级消耗者体内富集。测定

表明,在转基因水稻 KMD1 和 KMD2 上取食 2 d 后,平均每头褐飞虱体内分别含 0.07 和 0.11 ng 的 Cry1Ab 杀虫蛋白。但在这 2 种水稻上连续取食 10 d 时,Cry1Ab 杀虫蛋白含量并没有表现出随取食时间延长而始终明显上升的趋势,有时反而下降。这可能有 2 个原因:第一,Cry1Ab 杀虫蛋白是水溶性的,它可以通过排泄物排出体外,如褐飞虱即可通过蜜露排出(Bernal *et al.*, 2002);第二,可能与昆虫中肠酶对这种蛋白的降解作用有关。正如 Forcada 等(1996)报道,在抗 Bt 杀虫蛋白的烟芽夜蛾 *Heliothis virescens* 品系中,其中肠酶在离体条件下对 Bt 杀虫蛋白就表现有降解作用,可减少中肠内杀虫蛋白的含量,进而降低杀虫蛋白的毒性。我们在分析拟水狼蛛中肠酶粗提物对 Cry1Ab 的降解作用时也证实了这点。但褐飞虱中肠酶本身的降解作用如何尚未分析,需进一步验证。本文结果表明,当拟水狼蛛以取食 Bt 水稻的褐飞虱为猎物时,其体内可检测到 Cry1Ab 杀虫蛋白,且含量显著高于飞虱体内的含量。可见,该蛋白在食物链中可通过生产者(Bt 水稻)转移至初级消费者(褐飞虱),进而再转移至次级消费者(拟水狼蛛)体内,且在次级消费者体内有明显的富集现象。但是,该蛋白在拟水狼蛛中的富集并不明显随着捕食时间的延长而加强,有时反而下降(表 1)。究其原因,一方面可能与该蜘蛛中肠蛋白酶对其表现有明显的降解作用(图 3)有关;另一方面与该杀虫蛋白可能也会通过狼蛛的排泄物排出有关。我们曾通过洗脱饲养蜘蛛的器皿收集其排泄物,并对其中杀虫蛋白进行 ELISA 检测,在排泄物中确能测出少量 Cry1Ab 杀虫蛋白,但难以定量(故未列出数据)。如何定量有待进一步摸索,以更客观地证实后一原因。

虽然,Bt 水稻中 Cry1Ab 杀虫蛋白可以通过食物链转移至褐飞虱及其捕食者拟水狼蛛体内,但并没有对褐飞虱的存活、行为等生物学指标(Bernal *et al.*, 2002; Chen *et al.*, 2003),以及拟水狼蛛的捕食能力(图 2)和田间种群动态(刘志诚等, 2002)产生明显的负面影响。这与 Bt 杀虫蛋白本身的杀虫机理紧密相关。不同 Bt 杀虫蛋白是通过与其靶标昆虫中肠上的特异性受体结合后才表现杀虫活性的,若没有对应的受体就不能表现活性,如 Cry1Ab 杀虫蛋白仅能与鳞翅目幼虫中肠上的受体表现特异性的结合,从而对这类害虫表现杀虫作用(Schnepf *et al.*, 1998)。由于在褐飞虱和拟水狼蛛中肠上都不存在结合 Cry1Ab 杀虫蛋白的受体,故该蛋白即使存

在于它们的中肠内,也不可能表现杀虫活性。具体可通过同位素或荧光标记 Cry1Ab 杀虫蛋白,分析褐飞虱和拟水狼蛛中肠细胞膜提取物与标记 Cry1Ab 杀虫蛋白的结合动态作进一步的验证。迄今,虽有一批转 *cry1Ab* 或 *cry1Ac* 基因水稻品系被成功转化,且在室内或是田间条件下对水稻螟虫表现出较高的抗性水平(High *et al.*, 2004),但均因其可能存在的非预期生态风险问题,而阻碍了其商业化的脚步。Palm 等(1994)等也报道 Bt 杀虫蛋白在土壤中可以存活 2~120 d。同样,它也可以在收割后的植物组织中存活(Sims and Holden, 1996)。这就说明 Bt 杀虫蛋白在转基因植物收割后,仍然可以在自然条件下保持其杀虫活性。从而使得杀虫蛋白由作物转移到昆虫,再由昆虫到其他动物或人类成为可能,更是增加了种植 Bt 作物的生态风险性。不过,根据 Bt 杀虫蛋白本身的作用机理,即使这些蛋白能通过食物链转移与富集,但要在其非靶标生物中表现生物活性的可能性还是很小的。本文结果表明,Cry1Ab 虽能累积于拟水狼蛛体内,但并未影响到它的捕食能力,可在一定程度上说明这点。以往有关 Bt 水稻对非靶标生物影响评价显示其负作用不明显(刘志诚等, 2002; Bernal *et al.*, 2002; 刘志诚等, 2003; Chen *et al.*, 2003)也可以佐证这点。当然,目前的研究是在较短时间内得出的,长期作用如何,尚有待进一步跟踪评价。

## 参 考 文 献 (References)

- Bernal CC, Aguda RM, Cohen MB, 2002. Effect of rice lines transformed with *Bacillus thuringiensis* toxin genes on the brown planthopper and its predator *Cyrtorhinus lividipennis*. *Entomol. Exp. Appl.*, 102: 21–28.
- Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248–254.
- Chen M, Ye GY, Yao HW, Hu C, Shu QY, 2003. Impact evaluation of insect-resistant transgenic rice on the feeding and oviposition behavior of its non-target insect, the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae). *Agricultural Sciences in China*, 2: 1 000–1 006.
- Cheng X, Sardana R, Altosarr I, 1998. *Agrobacterium*-transformed rice plants expressing synthetic *cry1Ab* and *cry1Ac* genes are highly toxic to yellow stem borer and striped stem borer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95: 2 767–2 772.
- Forcada C, Akcácer EM, Garcerá NDM, Martínez R, 1996. Differences in the midgut proteolytic activity of two *Heliothis virescens* strains, one susceptible and one resistant to *Bacillus thuringiensis* toxins. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 31: 257–272.

- High SM , Cohen MB , Shu QY , Altosaar I , 2004. Achieving successful deployment of Bt rice. *Trends Plant Sci.* , 6 : 286 – 292.
- Liu ZC , Ye GY , Hu C , Datta SK , 2002. Effects of Bt transgenic rice on population dynamics of main non-target insect pests and dominant spider species in rice paddies. *Acta Phytophyl. Sin.* , 29 : 138 – 144. [ 刘志诚 , 叶恭银 , 胡萃 , Datta SK , 2002. Bt 水稻对主要非靶标害虫和蜘蛛优势种田间种群动态的影响. *植物保护学报* , 29 : 138 – 144 ]
- Liu ZC , Ye GY , Hu C , Datta SK , 2003. Impact of transgenic *indica* rice with a fused gene of *cry1Ab/cry1Ac* on rice paddy arthropod community. *Acta Entomol. Sin.* , 46 : 454 – 465. [ 刘志诚 , 叶恭银 , 胡萃 , Datta SK , 2003. 转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因籼稻对稻田节肢动物群落影响. *昆虫学报* , 46 : 454 – 465 ]
- Palm CJ , Donnegan K , Harris D , Seidler R , 1994. Quantification in soil of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* delta-endotoxin from transgenic plants. *Mol. Ecol.* , 3 : 145 – 151.
- Poppy GM , 2000. GM crops : environmental risks and nontarget effects. *Trends Plant Sci.* , 5 : 4 – 6.
- Riddick EW , Barbosa P , 1998. Impact of Cry3A-intoxicated *Leptinotarsa decemlineata* ( Coleoptera : Chrysomelidae ) and pollen on consumption , development , and fecundity of *Coleomegilla maculata* ( Coleoptera : Coccinellidae ). *Ann. Entomol. Soc. Am.* , 91 : 303 – 307.
- Schnepf E , Crickmore N , van Rie J , Lereclus D , Baum J , Feitenson J , Zeigler DR , Dean DH , 1998. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* , 62 : 775 – 806.
- Shelton AM , Zhao JZ , Roush TR , 2002. Economic , ecological , food safety and social consequences of the deployment of Bt transgenic plants. *Annu. Rev. Entomol.* , 47 : 845 – 881.
- Sims SR , Holden LR , 1996. Insect bioassay for determining soil degradation of *Bacillus thuringiensis* subsp *kurstaki* Cry1Ab protein in corn tissue. *Environ. Entomol.* , 25 : 659 – 664.
- Ye GY , Shu QR , Yao HW , Cui HR , Cheng XY , Hu C , Xia YW , Gao MW , Altosaar I , 2001. Field evaluation of resistance of transgenic rice containing a synthetic *cry1Ab* gene from *Bacillus thuringiensis* Berliner to two stem borers. *J. Econ. Entomol.* , 94 : 270 – 276.
- Ye GY , Yao HW , Shu QR , Cheng XY , Hu C , Xia YW , Gao MW , Altosaar I , 2003. High levels of stable resistance in transgenic rice with a synthetic *cry1Ab* gene from *Bacillus thuringiensis* Berliner to rice leafhopper , *Cnaphalocrocis medinalis* ( Guenée ). *Crop Prot.* , 22 : 171 – 178.

( 责任编辑 : 袁德成 )