

# 转 Bt *cry1Ab* 基因水稻花粉对中华 草蛉成虫产卵和寿命的影响

白耀宇<sup>1,2</sup> 蒋明星<sup>1</sup> 程家安<sup>1\*</sup>

(1. 浙江大学应用昆虫学研究所, 杭州 310029; 2. 西南大学植物保护学院,  
重庆市昆虫学与害虫控制工程重点实验室, 重庆 400716)

**摘要:** 用 ELISA 法测定了转 Bt 基因水稻克螟稻 1 号 (KMD1) 和克螟稻 2 号 (KMD2) 花粉中 Cry1Ab 含量。将转 Bt 基因水稻和其亲本对照秀水 11 (XS11) 花粉加入到草蛉人工干粉饲料中, 评价了对中华草蛉 *Chrysoperla sinica* Tjeder 成虫产卵和寿命等参数的影响。结果显示, 转 Bt 基因水稻“克螟稻”花粉中表达 Cry1Ab 杀虫蛋白, 且表达量较高。分别用含 5% KMD1、KMD2 和 XS11 花粉的人工饲料饲喂中华草蛉初羽化成虫, 发现两类 Bt 水稻花粉对该虫产卵前期、产卵量、产卵天数和成虫寿命等参数均无显著影响。人工饲料中水稻花粉的比例上升至 20% 和 80% 后, KMD1、KMD2 和 XS11 花粉饲料处理中的草蛉均出现产卵前期延长、产卵量减少和产卵天数缩短的趋势, 但在同一花粉比例下这些参数在 3 个花粉饲料处理间均无显著差异。结果表明, Bt 水稻花粉中 Cry1Ab 杀虫蛋白对该草蛉成虫产卵和寿命等参数无显著的负面影响。

**关键词:** 转 *cry1Ab* 基因水稻; 花粉; 中华草蛉; 产卵; 寿命

## Effects of transgenic *cry1Ab* rice pollen on the oviposition and adult longevity of *Chrysoperla sinica* Tjeder

BAI Yao-yu<sup>1,2</sup> JIANG Ming-xing<sup>1</sup> CHENG Jia-an<sup>1\*</sup>

(1. Institute of Applied Entomology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; 2. Chongqing  
Key Laboratory of Entomology & Insect Control Engineering, Plant Protection  
College, Southwest University, Chongqing 400716, China)

**Abstract:** The concentrations of Cry1Ab insecticidal protein expressed in pollens of transgenic Bt rice KMD1 and KMD2 from a commercial Chinese *japonica* rice variety Xiushui 11 (XS11), contain a synthetic *cry1Ab* gene from the bacterium *Bacillus thuringiensis* (Bt) Berliner, were detected by enzyme immunosorbent assay (ELISA) with the Quantiplate™ kit for Bt Cry1Ab protein. The results showed that the pollens of KMD1 and KMD2 can express Cry1Ab protein highly. Newly emerged *Chrysoperla sinica* Tjeder adults were provided with three different artificial diets (dry yeast powder-sugar mixture) which contained 5% pollens of KMD1, KMD2 and the control rice line XS11, respectively, and their preovipositional period, fecundity, ovipositional days and longevity were observed. The results showed that none of these parameters differed significantly among the three pollen treatments, even if the proportion of pollen in the artificial diets increased to 20% and 80%. This indicated that the insecticidal protein Cry1Ab in pollens of KMD1 and KMD2 had no significant negative effects on the reproduction and adult

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30070500)

作者简介: 白耀宇, 男, 1970 年生, 博士后, 研究方向为昆虫生态学与转基因植物生物安全性评价 (email: zjuento@hotmail.com)

通讯作者 Author for correspondence (email: jacheng@zju.edu.cn)

收稿日期: 2005-01-10

longevity of *C. sinica*.

**Key words:** Transgenic *cry1Ab* rice; pollen; *Chrysoperla sinica* Tjeder; reproduction; longevity

水稻是世界上最重要的粮食作物之一,大量使用化学农药已引起了稻田害虫频繁暴发。为此,各国科学家正在致力于研究转基因抗虫水稻,以寻求更为有效的害虫治理技术。转 Bt 基因水稻是治理鳞翅目害虫的最有希望应用于生产的新技术之一。1993 年,日本 Fujimoto 等<sup>[1]</sup>首次获得了转 Bt 基因抗虫粳稻。此后,人们将经改造或修饰的 Bt 基因转入水稻中获得了一系列的转 Bt 基因抗虫水稻,这些 Bt 水稻高抗水稻鳞翅目害虫<sup>[2-7]</sup>。在国内,浙江大学原子核农业科学研究所与加拿大渥太华大学合作,在国际上率先利用农杆菌介导法于 1994 年成功地将 Bt *cry1A(b)/cry1A(c)* 基因导入 10 余个水稻品种中,室内和田间小区的生测均表明这些转基因抗虫水稻对靶标害虫的控制效果明显,并于 1998 年 6 月通过农业部批准进行环境释放试验,成为国际上有希望较早实现商品化的水稻之一<sup>[8-11]</sup>。

转基因抗虫植物的应用已引起人们的极大关注<sup>[12]</sup>,其对生态环境的安全性倍受关注<sup>[13-17]</sup>。一般认为 Bt 杀虫剂对非靶昆虫无毒性副作用,而且一直作为害虫综合治理体系中的重要成分被长期使用。但传统 Bt 杀虫剂与转 Bt 基因植物不同,前者包含几种 Bt 原毒素以及活细菌孢子,而目前商业化种植的转基因植物仅表达一种已部分活化的 Bt 毒素,具有专一性更高、毒性强、毒蛋白在植物整个生长期的大部分器官中表达等特性<sup>[18]</sup>。所以,对 Bt 杀虫剂的风险评价结论不能类推至转 Bt 基因植物。

草蛉是农业生态系统中重要的天敌资源,成虫通常兼性或专性取食植物花粉或花蜜<sup>[19]</sup>。其中,中华草蛉 *Chrysoperla sinica* Tjeder 是多种农林害虫的主要天敌,在我国广泛分布<sup>[20]</sup>。根据作者调查,该虫可在水稻田中发现,是水稻蚜虫 *Sitobin avenae* (Fab.) 等的重要天敌,成虫补充营养时有取食花粉和花蜜的习性<sup>[21,22]</sup>。转 Bt 基因作物尤其是 Bt 水稻环境释放后是否会直接或间接对该类捕食性天敌昆虫产生不利的影响,是当前人们关注和争论的焦点。这方面的研究国外多局限于 Bt 玉米<sup>[23-27]</sup>等作物,国内亦见有 Bt 棉花方面的报道<sup>[28-31]</sup>。

目前大多数培育成功的转 Bt 基因作物采用组成型启动子,如 Ubi 和 CaMV35S 等,使得外源 Bt 基因在植物的花粉中也有表达,且表达量很高<sup>[32]</sup>。因

此,转 Bt 基因植物的花粉对草蛉的影响也是其安全性评价的一个重要内容。作者在室内用 Bt 水稻花粉饲料饲喂中华草蛉,观察了其产卵与存活情况,以期为此类水稻的安全性评价提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试虫源

2003 年 4 月在浙江大学实验农场油菜上采集中华通草蛉卵块,于人工气候室内孵化。幼虫用桃蚜 *Myzus persicae* (Sulzer) 饲喂,成虫用啤酒酵母人工干粉饲料(简称为干粉饲料, dry yeast powder-sugar mixture, DYPS)<sup>[33]</sup>饲喂。为了获得足够数量和较一致的供试虫源,用连续饲养的第 3 和 4 代初羽化( $\pm 6$  h)成虫进行试验。桃蚜为人工气候室内用结球甘蓝 *Brassica oleracea* var. *capitata* L. 饲养所得。人工气候室内温度  $28 \pm 1$  °C, RH60% ~ 80%, L : D = 16 : 8。

### 1.2 供试人工饲料的配制

供试水稻为 2 个转 Bt *cry1Ab* 基因粳稻纯合品系克螟稻 1 号(KMD1)和克螟稻 2 号(KMD2),以及对非转基因晚粳品种秀水 11(XS11)。KMD1 和 KMD2 均以 XS11 为亲本通过农杆菌介导法获得,后代均能稳定表达 Cry1Ab 杀虫蛋白,且其表达量较高,在室内和田间条件下高抗二化螟、三化螟和稻纵卷叶螟等 8 种鳞翅目害虫<sup>[14]</sup>。KMD1、KMD2 和 XS11 水稻花粉均采自开颖前日的颖内花药。将 3 种水稻花穗采回室内后剥开颖壳,取出花药在 CHRIST ALPHA1-2 型冷冻干燥机上去水 12 h,然后加液氮研磨成粉末,冷藏在  $-80$  °C 备用。测定 KMD1 和 KMD2 冻干花粉中 Cry1Ab 杀虫蛋白含量。

将水稻花粉与干粉饲料混合后共配制三组人工饲料,即 KMD1 + DYPS、KMD2 + DYPS 和 XS11 + DYPS;每组又包含了 3 种不同花粉比例的饲料处理,即花粉百分比分别占 5%、20% 和 80%,百分比换算公式为:水稻花粉重量/(干粉饲料 + 水稻花粉)总重量  $\times 100\%$ 。干粉饲料预先参照周伟儒等<sup>[33]</sup>的方法配制,所用啤酒酵母为湖北安琪酵母公司产品。供试用水稻花粉人工饲料保存于  $4 \sim 8$  °C 冰箱中。

### 1.3 试验设计

### 1.3.1 5% 水稻花粉人工饲料试验

室内饲养的第 3 代初羽成虫供试。供试成虫分成 7 组, 每组 8~12 对。其中 3 组自羽化后即分别饲以 3 种不同处理的含 5% 花粉人工饲料, 始产卵后继续用相应的花粉人工饲料饲喂, 直至死亡; 另外 3 组自羽化后先饲喂干粉饲料至始产卵, 之后再分别饲以 3 种处理的 5% 花粉人工饲料, 直至死亡。最后 1 组成虫为对照, 一直用干粉饲料饲喂, 直至死亡。各组成虫自开始饲养后, 每 24 h 观察记载其产卵和死亡情况, 统计产卵前期、产卵历期、产卵量及成虫寿命。产卵之前单对饲养于 100 mL 杯口用白色纱布罩住的烧杯中, 产卵后将雌雄分开单头饲养。饲养期间, 每 24 h 更换饲料 1 次, 不定期向饲养瓶内水槽中添加自来水, 保证供水充足。

### 1.3.2 取食不同比例水稻花粉人工饲料试验

室内饲养的第 4 代初羽成虫供试。设 KMD1 + DYPS、KMD2 + DYPS、XS11 + DYPS 共 9 种处理及 100% 水稻干花粉处理; 其中 KMD1 + DYPS、KMD2 + DYPS、XS11 + DYPS 3 种处理又分别设 5%、20%、80% 3 个不同花粉比例。成虫自羽化即开始供以各种处理饲料, 直至死亡。饲喂和观察方法同 1.3.1。

以上试验在人工气候室内  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ 、RH 60%~80% 和 L:D = 16:8 下进行。

### 1.4 供试花粉中 Bt 杀虫蛋白的 ELISA 定量分析

Envirologix Cry1Ab/Cry1Ac 平板试剂盒购自美

国 Envirologix 公司, 其中包括一块包埋好抗体的 96 孔平板及配套试剂, 4 个 Cry1Ab 标样, 其浓度分别为 0、0.5、2.5 和 5.0 ng。分别称取 KMD1、KMD2 和 XS11 花粉样品 0.01g (设 3~5 个重复), 放入 1.5 mL 离心管中, 加适量抽提液进行抽提, 离心, 取上清液稀释后按照试剂盒说明书上的步骤进行测定。所有结果均由酶标仪读取, 设置波长为 450 nm。每次试验均用 Cry1Ab 标样制作标准曲线, 将所得结果换算成供试饲料中每克干重 (dry weight, DW) 含有的 Cry1Ab 蛋白微克数  $\mu\text{g/g DW}$ 。

### 1.5 数据统计分析

数据统计与方差分析结果使用 Excel 2000 和《实用统计分析及其 DPS 数据处理系统》软件运算所得<sup>[34]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 Bt 水稻花粉及花粉人工饲料中 Cry1Ab 杀虫蛋白的含量

经 ELISA 测定, KMD1 和 KMD2 干花粉中 Cry1Ab 杀虫蛋白平均含量分别为 12.78 和 31.37  $\mu\text{g/g DW}$ , 两者间 Cry1Ab 量差异显著 ( $P < 0.01$ ), 对照 XS11 花粉中没有检测到 Cry1Ab (表 1)。然后根据此平均含量进一步推算加入到不同重量百分比花粉人工饲料中的 Cry1Ab, 结果见表 1。由表 1 可知供试 Bt 水稻花粉人工饲料中 Cry1Ab 的含量较高。

表 1 Bt 水稻及其对照 XS11 花粉和不同 Bt 水稻花粉人工饲料中 Cry1Ab 杀虫蛋白的含量

Table 1 The concentrations of Cry1Ab protein in pollens of Bt rice and control line XS11 and pollen-DYPS containing different proportions of Bt pollen

供试 Bt 水稻及 XS11 干花粉 Dry pollens of Bt rice and control line XS11 tested	Cry1Ab 含量 Cry1Ab values ( $\mu\text{g/g DW}$ )	人工饲料中花粉所占比例 (%) Percent proportions of Bt rice pollen in pollen-DYPS	Cry1Ab 含量 Cry1Ab values ( $\mu\text{g/g DW}$ )	
			KMD1 花粉人工饲料 KMD1 pollen + DYPS	KMD2 花粉人工饲料 KMD2 pollen + DYPS
KMD1	12.78 $\pm$ 2.53	5	0.64	1.57
KMD2	31.37 $\pm$ 5.75	20	2.56	6.27
XS11	0	80	10.22	25.10

注: 同一列 KMD1 和 KMD2 花粉 Cry1Ab 含量 (平均值  $\pm$  标准差) 后具有不同字母者表示差异显著 ( $P < 0.01$ )。Note: Cry1Ab values of KMD1 and KMD2 (mean  $\pm$  SD) within the same column followed by different letters indicate significant difference with each other ( $P < 0.01$ ).

### 2.2 水稻花粉人工饲料不同处理条件下对产卵和寿命的影响

结果表明, 在以 5% KMD1 和 KMD2 及 XS11 花粉干粉喂养的条件下, 无论是产卵前期以不同花粉人工饲料饲喂、始产卵后继续以相同花粉人工饲料饲喂, 还是产卵前期以人工饲料饲喂、始产卵后再以

不同花粉人工饲料饲喂, 草蛉的产卵前期、产卵天数、生殖力及雌雄成虫寿命在不同花粉人工饲料处理间的差异均不显著 ( $P > 0.05$ ) (表 2)。

### 2.3 不同比例水稻花粉人工饲料对产卵和寿命的影响

以含不同比例 Bt 水稻花粉人工饲料饲喂中华

表 2 取食 5% KMD1 和 KMD2 及 XS11 花粉人工饲料中华草蛉成虫的生殖和寿命参数比较  
Table 2 The comparison of parameters relevant to reproduction and longevity among *Chrysoperla sinica* adults feeding on DYPS containing 5% pollens of KMD1 and KMD2 or control rice XS11

产卵前期饲料 Fodder during preoviposition period	始卵后饲料 Fodder after oviposition onset	产卵前期(d) Preoviposition period	生殖力(卵量/雌) Fecundity (eggs / female)	产卵天数(d) Oviposition days	雌虫寿命(d) Female longevity	雄虫寿命(d) Male longevity
KMD1 + DYPS	KMD1 + DYPS	3.2 ± 1.0(10) a	897.1 ± 147.1(8) a	34.5 ± 6.4(8) a	38.5 ± 10.6(8) a	29.6 ± 4.5(8) a
KMD2 + DYPS	KMD2 + DYPS	3.7 ± 0.6(10) a	960.1 ± 111.9(8) a	41.0 ± 3.6(8) a	45.0 ± 4.6(8) a	31.1 ± 12.8(8) a
XS11 + DYPS	XS11 + DYPS	3.6 ± 1.0(10) a	885.0 ± 106.6(7) a	37.3 ± 5.5(7) a	41.2 ± 6.0(8) a	24.7 ± 2.5(8) a
DYPS	KMD1 + DYPS	4.1 ± 1.0(10) a	964.7 ± 85.0(7) a	34.0 ± 9.9(7) a	39.7 ± 5.0(7) a	25.3 ± 4.5(7) a
DYPS	KMD2 + DYPS	4.2 ± 1.0(10) a	960.3 ± 34.4(7) a	39.3 ± 4.0(7) a	41.8 ± 7.6(7) a	30.5 ± 7.5(7) a
DYPS	XS11 + DYPS	5.1 ± 1.2(10) a	1010.5 ± 101.5(8) a	42.1 ± 7.2(8) a	40.1 ± 8.2(8) a	27.5 ± 3.1(8) a
DYPS	DYPS	3.9 ± 1.0(10) a	1025.3 ± 64.7(7) a	40.3 ± 9.2(7) a	41.3 ± 5.5(8) a	31.9 ± 4.6(8) a

注:同一列数据(平均值 ± 标准差)后具有相同字母者表示差异不显著( $P > 0.05$ )。括号中数字为供试虫数,表 3 同。Note: Data (mean ± SD) within the same column followed by same letter indicate no significant difference with each other ( $P > 0.05$ ). Values in parentheses indicate the number of samples tested, the same for Table 3.

草蛉初羽化成虫,各项生殖和寿命参数见表 3。由表 3 可知,对同一比例水稻花粉人工饲料,在 Bt 水稻与对照非转基因水稻花粉处理间,草蛉产卵前期、产卵天数、生殖力及成虫寿命等均无显著差异( $P >$

0.05)。

不同处理间的产卵前期有显著差异。XS11 80% 花粉人工饲料处理中的成虫极显著长于 20% 和 5% 处理( $P < 0.01$ ); KMD2 80% 和 20% 花粉人工饲料

表 3 取食不同比例 KMD1 和 KMD2 及对照 XS11 水稻花粉人工饲料中华草蛉成虫的生殖和成虫寿命参数比较

Table 3 The comparison of parameters relevant to reproduction and longevity among *Chrysoperla sinica* adults feeding on DYPS containing different proportions of KMD1 and KMD2 or XS11 rice pollen

不同比例花粉人工饲料 DYPS containing different proportions of rice pollens	产卵前期(d) Preoviposition period	生殖力(卵量/雌) Fecundity (eggs/female)	产卵天数(d) Oviposition days	雌虫寿命(d) Female longevity	雄虫寿命(d) Male longevity
5% KMD1 + DYPS	4.7 ± 2.1 (12)	586.5 ± 83.4 (7)	27.5 ± 3.5 (7)	42.1 ± 24.0 (7)	25.3 ± 6.5 (6)
	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>
KMD2 + DYPS	3.7 ± 0.6 (10)	605.0 ± 92.5 (6)	29.3 ± 7.5 (6)	33.2 ± 7.6 (6)	28.1 ± 7.5 (6)
	a b <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>
XS11 + DYPS	5.7 ± 0.6 (12)	596.7 ± 103.4 (8)	22.1 ± 4.4 (8)	30.3 ± 4.2 (8)	25.7 ± 5.5 (7)
	a b <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>
20% KMD1 + DYPS	6.0 ± 2.2 (12)	518.5 ± 149.6 (7)	30.33 ± 10.0 (7)	37.3 ± 11.06 (7)	29.3 ± 4.04 (7)
	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>
KMD2 + DYPS	6.8 ± 1.9 (12)	582.3 ± 225.1 (6)	40.1 ± 4.0 (6)	40.5 ± 11.9 (6)	28.7 ± 6.5 (6)
	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>
XS11 + DYPS	5.5 ± 1.0 (12)	541.0 ± 126.9 (7)	29.8 ± 3.5 (7)	31.1 ± 5.9 (7)	25.7 ± 5.0 (7)
	a b <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>
80% KMD1 + DYPS	7.7 ± 0.6 (12)	91.7 ± 99.9 (6)	14.7 ± 8.7 (6)	23.3 ± 14.2 (6)	17.9 ± 1.1 (6)
	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a b <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	a b <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>
KMD2 + DYPS	8.1 ± 1.4 (12)	70.3 ± 91.8 (7)	9.3 ± 9.3 (7)	25.1 ± 7.1 (7)	21.3 ± 3.8 (7)
	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a b <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	a b <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	a b <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>
XS11 + DYPS	9.7 ± 1.5 (12)	79.5 ± 62.0 (6)	5.0 ± 5.7 (6)	21.7 ± 7.0 (6)	19.5 ± 8.7 (6)
	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a b <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	a b <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	a a <sub>1</sub> A <sub>1</sub>

注:在各花粉比例处理内,同一列数据(平均值 ± 标准差)后具有相同无下标字母者表示差异在  $P > 0.05$  水平上不显著。在相同花粉人工饲料不同花粉比例处理间,同一列数据具有相同带下标字母者表示差异不显著,小写和大写字母分别表示差异在  $P > 0.05$  和  $P > 0.01$  水平。Note: For each proportion treatment of pollen, data (mean ± SD) within the same column followed by same un-sublabeled letter indicate no significant difference with each other ( $P > 0.05$ ). Among different pollen proportions of the same pollen, data within the same column followed by same sublabeled letters indicate no significant difference with each other, lowercase and capital letters represent probability levels  $P > 0.05$  and  $P > 0.01$ , respectively.

处理中的显著或极显著长于 5% 处理。不同处理间的单雌产卵总量也有显著差异。80% 花粉人工饲料饲喂的均极显著少于相应的 5% 和 20% 处理的 ( $P < 0.01$ )。绝大多数情况下 80% 花粉人工饲料饲喂的产卵天数也均显著或极显著短于 5% 和 20% 处理的; 在 20% 和 80% KMD2 花粉人工饲料处理间雌虫寿命差异显著, 以后者为较短 ( $P < 0.05$ ); 在 3 个不同比例水稻花粉人工饲料处理间雌虫寿命差异均不显著 ( $P > 0.05$ )。在各个 100% 干花粉处理中, 所有成虫均未能产卵。表明随着饲料中花粉比例的升高, 成虫出现产卵前期延长、产卵期缩短、产卵量下降及雌虫寿命缩短的趋势。

### 3 讨论

迄今对草蛉等捕食性天敌昆虫进行的田间调查表明, 除个别棉田外, 天敌种群和群落在转 Bt 基因田与常规作物田无明显差异, 有的甚至在数量上高于常规对照田<sup>[28-30]</sup>。但这些结果还不能作为最后结论, 因为绝大多数监测的田间调查面积太小, 持续时间太短, 难以完全客观反映转基因作物对害虫天敌种群和群落的实际影响<sup>[35]</sup>。

用转 Bt 基因玉米饲喂欧洲玉米螟 *Ostrinia nubilalis* 和埃及棉夜蛾 *Spodoptera littoralis*, 并以两者作为普通草蛉 *Chrysoperla carnea* 的食料, 结果发现普通草蛉幼虫的死亡率与用非转 Bt 基因玉米饲喂的对照相比较为高、发育历期延长<sup>[23]</sup>; 用加入了含 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  Bt 毒素 Cry1Ab 的人工饲料饲喂普通草蛉幼虫, 其死亡率仍然高于对照<sup>[24]</sup>。但用 Bt 玉米上的稠李缢管蚜 *Rhopalosiphum padi* 饲喂普通草蛉后, 未发现对其生长发育和存活有不利影响<sup>[36]</sup>。Meier 等<sup>[25]</sup>用成对选择法对普通草蛉进行了生测, 当同时给草蛉幼虫提供取食了 Bt 玉米的埃及棉夜蛾和稠李缢管蚜时(二者对 Bt 毒素 Cry1Ab 都不产生致死中毒反应), 所有草蛉均选择稠李缢管蚜且无不良反应, 这可能是植物韧皮部汁液中不含 Bt 毒素或含量甚微, 导致蚜虫体内没有 Bt 毒素或含量甚微。对此, Head 等<sup>[26]</sup>用 ELISA 在取食了 Bt 玉米的玉米蚜 *Rhopalosiphum manidis* 体内未检测到 Cry1Ab 毒素, 但从取食了含 20 ~ 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  Cry1Ab 的人工饲料的蚜虫体内检测到了该毒素。这些室内试验结果表明, Bt 杀虫毒素可通过猎物对普通草蛉幼虫产生毒性反应。但 Romeis 等<sup>[37]</sup>的研究表明, Cry1Ab 杀虫蛋白对普通草蛉幼虫并没有直接的毒性, 认为 Bt 玉

米表达的 Cry1Ab 毒素蛋白对草蛉是安全的, 造成普通草蛉幼虫中毒的主要原因可能是猎物质量的下降。董亮等<sup>[31]</sup>用 2 种转 Bt 基因棉花上饲养的棉蚜 *Aphis gossypii* Glover 饲喂中华草蛉, 研究结果表明转 Bt 基因抗虫棉对中华草蛉的生长发育和繁殖无不良影响。

本研究中, 未发现转 Bt 基因水稻花粉中 Cry1Ab 蛋白对中华草蛉产卵前期、产卵天数、产卵量和成虫寿命等有显著的负面影响。但是, 随着干粉饲料中花粉量的加大, 可对草蛉取食的适合度产生显著的不利影响, 造成其产卵前期延长、产卵量下降和产卵期缩短, 这可能与不同花粉中的某些营养或物理因子存在差异有关, 而不是所含 Cry1Ab 毒蛋白作用的结果。迄今, 在室内得出的有关转 Bt 基因植物对草蛉影响的研究结果不尽一致, 有待对多种 Bt 植物、多种草蛉进行室内和田间系统长期的试验。

致谢: 本研究的转 Bt 基因水稻种子由浙江大学核农所提供, 在此表示感谢!

### 参 考 文 献 (References)

- 1 Fujimoto H, Itoh K, Yamamoto M, *et al.* Insect resistant rice generated by introduction of a modified endotoxin gene of *Bacillus thuringiensis*. *Bio/Technology*, 1993, 11: 1151 - 1155
- 2 Wünn J, Klöti A, Burkhardt P K, *et al.* Transgenic indica rice breeding line IR58 expressing a synthetic *cryIA(b)* gene from *Bacillus thuringiensis* provides effective insect pest control. *Bio/Technology*, 1996, 14 (2): 171 - 176
- 3 Riazuddin S. Transformation of indica rice with Bt pesticidal genes. In: *Rice Genetics III: Proceeding of the Third International Rice Genetics Symposium*, 16 - 20, October, 1995, Manila (Philippines): IRRI, 1996, pp. 730 - 734
- 4 Ghareyazie B, Alinia F, Menguito C A, *et al.* Enhanced resistance to two stem borers in an aromatic rice containing a synthetic *cryIA(b)* gene. *Molecular Breeding*, 1997, 3: 401 - 414
- 5 Nayak P, Basu D, Das S, *et al.* Transgenic elite indica rice plants expressing *cryIA(c)* endotoxin of *Bacillus thuringiensis* are resistant against yellow stem borer (*Scirpophaga incertulas*). *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 1997, 94: 2111 - 2116
- 6 Wu C, Fan Y, Zhang C, *et al.* Transgenic fertile japonica rice plants expressing a modified *cryIA(b)* gene resistant to yellow stem borer. *Plant Cell Reporter*, 1997, 17: 129 - 132
- 7 Datta K, Vasquez A, Tu J, *et al.* Constitutive and tissue-specific differential expression of the *cryIA(b)* in transgenic rice plants conferring resistance to rice insect pests. *Theoretical and Applied Genetics*, 1998, 97: 31 - 36
- 8 舒庆尧, 叶恭银, 崔海瑞, 等. 转基因水稻“克螟稻”选育. 浙

- 江农业大学学报, 1998, 24 (6): 579 - 580
- 9 Cheng X Y, Sardana R, Kaplan H, *et al.* *Agrobacterium*-transformed rice plants expressing synthetic *cryIA(b)* and *cryIA(c)* genes are highly toxic to yellow stem borer and striped stem borer. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 1998, 95: 2767 - 2772
  - 10 吴刚, 崔海瑞, 舒庆尧, 等. *cryIAb* 基因在转基因“克螟稻”后代中的遗传稳定性及表达. *农业生物技术学报*, 2000, 8 (3): 253 - 256
  - 11 Shu Q Y, Ye Q Y, Cui H R, *et al.* Transgenic rice plants with a synthetic *cryIAb* gene from *Bacillus thuringiensis* were highly resistant to eight lepidopteran rice pest species. *Molecular Breeding*, 2000, 6: 433 - 439
  - 12 Masood E. G8 leaders seek study on effects of biotech. *Nature*, 1999, 399: 717
  - 13 钱迎情, 田彦, 魏伟. 转基因植物的生态风险评价. *植物生态学报*, 1998, 22 (4): 289 - 299
  - 14 Losey J E, Rayor L S, Carter M E. Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature*, 1999, 399: 214
  - 15 Saegusa A. Japan tightens rules on GM crops to protect the environment. *Nature*, 1999, 399: 719
  - 16 Poppy G. GM crops: environmental risks and non-target effects. *Trends in Plant Science*, 2000, 5 (1): 4 - 6
  - 17 张永军, 吴孔明, 彭于发, 等. 转基因植物的生态风险. *生态学报*, 2001, 22 (11): 1951 - 1959
  - 18 张少燕, 谢宝瑜. 转基因棉花 Bt 毒蛋白的表达及其生态学效应. *昆虫知识*, 2002, 39 (5): 328 - 333
  - 19 Jarvis M A, Kidd N A C. *Insect Natural Enemies*. London: Chapman & Hall, 1996, pp. 375 - 394
  - 20 牟吉元, 王念慈, 范永贵. 四种草蛉生活史和习性的研究. *植物保护学报*, 1980, 7 (1): 1 - 7
  - 21 杨集昆. 草蛉的生活习性和常见种类. *昆虫知识*, 1974, 11 (3): 36 - 41
  - 22 赵敬钊. 中华草蛉生物学及其种群消长的研究. *昆虫天敌*, 1982, 4 (2): 31 - 37
  - 23 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). *Environmental Entomology*, 1998, 27: 480 - 487
  - 24 Hilbeck A, Moar W J, Pusztai-Carey M, *et al.* Toxicity of the *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin on the predator *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) using diet incorporated bioassays. *Environmental Entomology*, 1998, 27: 1255 - 1263
  - 25 Meier M S, Hilbeck A. Influence of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on prey preference of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Basic Applied Entomology*, 2001, 2 (1): 35 - 44
  - 26 Head G, Brown C R, Groth M E, *et al.* Cry1Ab protein levels in phytophagous insects feeding on transgenic corn: implications for secondary exposure risk assessment. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 2001, 99: 37 - 45
  - 27 Pilcher C D, Obrycki J J, Rice M E, *et al.* Preimaginal development, survival, and field abundance of insect predators on transgenic *Bacillus thuringiensis* corn. *Environmental Entomology*, 1997, 26: 446 - 454
  - 28 崔金杰, 夏敬源. 麦套夏播转 Bt 基因棉田主要害虫及其天敌的发生规律. *棉花学报*, 1998, 10 (5): 255 - 262
  - 29 贾士荣, 郭三堆, 安道昌主编. 转基因棉花. 北京: 科学出版社, 2001
  - 30 孙长贵, 张青文, 徐静, 等. 转 Bt 基因棉和转 Bt + CpTI 双价基因棉对棉田主要害虫及其天敌种群动态的影响. *昆虫学报*, 2003, 46 (6): 705 - 712
  - 31 董亮, 万方浩, 张桂芬. 转 Bt 基因抗虫棉对中华草蛉发育及繁殖的影响研究. *中国生态农业学报*, 2003, 11 (3): 16 - 18
  - 32 Fearing P L, Brown D, Vlachos D, *et al.* Quantitative analysis of Cry1Ab expression in Bt maize plants, tissue, and silage and stability of expression over successive generations. *Molecular Breeding*, 1997, 3: 169 - 176
  - 33 周伟儒, 刘志兰, 邱式邦. 用干粉饲料饲养中华草蛉成虫的研究. *植物保护*, 1980, (5): 2 - 3
  - 34 唐启义, 冯明光. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统. 北京: 科学出版社, 2002
  - 35 李保平, 孟玲, 万方浩. 转基因抗虫植物对天敌昆虫的影响. *中国生物防治*, 2002, 18 (8): 97 - 105
  - 36 Lozzia G C, Furlanis C, Manachini B, *et al.* Effects of Bt corn on *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: Aphidae) and on its predator *Chrysoperla carnea* Stephen (Neuroptera: Chrysopidae). *Bollettino di Zoologia Agraria di Bachicoltura Seri. II*, 1998, 31: 153 - 164
  - 37 Romeis J, Dutton A, Bigler F. *Bacillus thuringiensis* toxin (Cry1Ab) has no direct effect on larvae of the green lacewing *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). *Journal of Insect Physiology*, 2004, 50: 175 - 183