

转 *Bt* 基因作物对非靶标土壤动物的影响*

袁一杨 戈 峰**

(中国科学院动物研究所农业虫鼠害综合治理研究国家重点实验室, 北京 100101)

摘要 转 *Bt* 基因作物已经在世界范围内广泛种植. 随着转基因作物的快速发展与推广, 有必要深入研究其对土壤生态系统的影响. 本文概述了转 *Bt* 作物对土壤动物群落以及蚯蚓、线虫、蛭虫、螨类和甲虫等重要类群的种群动态影响的研究进展, 介绍了转 *Bt* 基因作物的发展历史, 分析了 *Bt* 蛋白进入土壤的途径及其在土壤环境中的残留与降解的动态, 阐述了未来转 *Bt* 基因作物对非靶标土壤动物影响的生态风险分析的重要领域, 旨在为研究转 *Bt* 基因作物对非靶标土壤动物影响提供参考.

关键词 转 *Bt* 基因作物 *Bt* 蛋白 生态风险分析 非靶标土壤动物 土壤动物群落

文章编号 1001-9332(2010)05-1339-07 **中图分类号** S433 **文献标识码** A

Effects of transgenic *Bt* crops on non-target soil animals. YUAN Yi-yang, GE Feng (State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects & Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China). -Chin. J. Appl. Ecol., 2010, 21(5): 1339-1345.

Abstract: Transgenic *Bt* crops are widely planted around the world. With the quick development and extension of genetically modified crops, it is needed to make a deep study on the effects of *Bt* crops on soil ecosystem. This paper reviewed the research progress on the effects of transgenic *Bt* crops on the population dynamics and community structure of soil animals, *e. g.*, earthworm, nematode, springtail, mite, and beetle, etc. The development history of *Bt* crops was introduced, the passway the *Bt* protein comes into soil as well as the residual and degradation of *Bt* protein in soil were analyzed, and the critical research fields about the ecological risk analysis of transgenic *Bt* crops on non-target soil animals in the future were approached, which would provide a reference for the research of the effects of transgenic *Bt* crops on non-target soil animals.

Key words: transgenic *Bt* crop; *Bt* protein; ecological risk analysis; non-target soil animal; soil animal community.

随着转基因作物在全球范围内的迅速发展与推广, 其相对于传统作物的优势已经逐步显现出来, 转基因作物的培育及其应用也已经成为农业的重要发展方向. 自 1987 年 Vaecck 等^[1]首次报道了转 *Bt* 基因抗虫烟草后, 转 *Bt* 植物的研究获得了突破性的进展, 并迅速在全球推广种植. 至 2007 年, 转基因作物累计种植面积达到 6.9 亿 hm^2 , 成为近代历史上发展最快的作物品系. 美国、阿根廷、巴西、加拿大、印度和中国仍然是全球转基因作物的主要种植国, 转基因玉米、大豆和棉花为主要栽培品种. 在我国转基因棉花已经被大面积推广, 而且正在酝酿世界上最大的转基因水稻计划^[2]. 在这种趋势下, 转基因

作物的生态环境风险评估已经成了研究的焦点.

苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*, *Bt*)是一种广泛存在于土壤中的革兰氏阳性菌, *Bt* 蛋白通常以前蛋白形成存在, 分子量约为 130 kD, 被昆虫摄食后, 在碱性的消化道中溶解后释放出具有杀虫活性的 N 端胰蛋白酶抗性中心片段^[3]. 残留的 *Bt* 蛋白可在土壤中积累并保持杀虫毒性, 由于 *Bt* 蛋白不需要特定的 pH 值和蛋白水解酶来激活, 从而对土壤动物造成危害, 打破原有生物之间的平衡, 这种级联反应可能会扩大这种影响, 最终影响土壤生态系统的平衡^[4-6]. 土壤中动物种类十分丰富, 它们在土壤生态系统物质循环和能量流动起着非常重要的作用, 因此, 其对土壤生态环境的潜在危险不可忽视. 潜在风险分析是生态风险评价体系的第一步和重要的工作^[7].

* 转基因生物新品种培育科技重大专项(2009ZX08012-005B)资助.

** 通讯作者. E-mail: gef@ioz.ac.cn

2009-08-21 收稿, 2010-03-10 接受.

1989 年, Höfte 等^[8] 根据从克隆基因推导的杀虫蛋白质氨基酸序列的相似性和蛋白质的杀虫活性对 *Bt* 蛋白进行了分类, 分别用罗马数字 I、II、III、IV 等来命名, 这些数字代表了 *Bt* 杀虫蛋白质的几种杀虫范围(如 I 和 II 指明了对鳞翅目昆虫的毒性, III 和 IV 分别代表了对鞘翅目和双翅目昆虫的毒性等). 此后随着大量的新毒素蛋白基因被发现, 在第一届 *Bt* 分子生物学大会上成立了 *Bt* 毒蛋白基因命名委员会, 制定了只以氨基酸序列为分类依据的新的 *Bt* 毒蛋白基因分类系统^[9].

目前, 转基因作物的主要种类为玉米、棉花、水稻、小麦、马铃薯等, 其靶标害虫主要包括玉米钻心虫 (*Sesamia nonagrioides* Lefebvre)^[10]、斜纹夜蛾 (*Spodoptera littoralis* Boisduval)^[11]、欧洲玉米螟 (*Ostrinia nubilalis* Hübner)^[10,12]、玉米根虫(包括 *Diabrotica virgifera* *virgifera* LeConte、*Diabrotica barberi* Smith and Lawrence、*Diabrotica undecimpunctata howardi* Barber、*Diabrotica virgifera zea* Kryan and Smith)^[12]、棉铃虫(包括 *Earias* spp.、*Helicoverpa* spp.、*Heliothis* spp.、*Pectinophora* spp.)^[13-15]、马铃薯叶甲 (*Leptinotarsa decemlineata* Say)^[16]、三化螟 (*Tryporyza incertulas* Walker)^[17]、二化螟 (*Chilo suppressalis* Walker)^[17]、稻纵卷叶螟 (*Cnaphalocrocis medinalis* Guenee)^[17]、蚜虫 (*Aulacorthum solani* Kaltenbach、*Myzus persicae* Sulzer)^[18] 等.

Bt 蛋白是转 *Bt* 作物释放的重要物质, 本文概述了 *Bt* 蛋白进入土壤的途径及其在土壤环境中的存留与降解的动态, 转 *Bt* 作物对土壤动物群落以及蚯蚓、线虫、虫兆虫、螨类和甲虫等重要类群影响的研究进展, 旨在为评价转 *Bt* 作物的土壤生态安全提供科学依据.

1 转 *Bt* 作物释放的 *Bt* 蛋白进入土壤的途径

1.1 植株残体

研究表明, 转 *Bt* 作物的整个植株的任何一个部分都能够分泌 *Bt* 蛋白, 转 *Bt* 作物可通过收获前后遗留在田间的植株残体向土壤中释放 *Bt* 蛋白^[19-21], 是 *Bt* 蛋白进入土壤中的重要途径. 但是, 近年来也有研究表明这不是某些 *Bt* 蛋白的主要释放途径^[22].

1.2 根及根系分泌物

转 *Bt* 作物的根系也表达并且通过根际分泌物释放 *Bt* 蛋白^[23-25], 但并不是所有的作物均通过根系释放 *Bt* 蛋白, 如在种植加拿大油菜、棉花和烟草

的培养液和土壤中均没有检测到任何 *Bt* 蛋白^[26].

1.3 花粉

一些转 *Bt* 作物可以通过花粉表达高浓度的 *Bt* 蛋白, 并且可以对生物体产生负面影响^[27-28]. 因此, 转 *Bt* 作物的花粉也是 *Bt* 蛋白进入土壤的一条途径.

1.4 土壤动物取食与排泄

许多土壤动物都可以取食转 *Bt* 作物或其凋落物, 并通过排泄粪便将 *Bt* 蛋白转移到土壤中, 而且在这个过程中 *Bt* 蛋白可以一直保持其活性而不被降解^[29].

2 *Bt* 蛋白在土壤环境中的动态

2.1 影响 *Bt* 蛋白降解的环境因素

Bt 蛋白在环境中的降解情况直接影响其在土壤中的积累及其与土壤生态环境之间的互作. *Bt* 蛋白降解越慢, 在土壤中的积累就越多, 土壤动物暴露在 *Bt* 蛋白下的几率也会增加, 因此环境条件也是间接作用于转 *Bt* 作物田中土壤生态平衡的重要因素. 已有研究表明, 土壤的温度和 pH 对 *Bt* 蛋白的影响较大, 且温度和 pH 越低, *Bt* 蛋白降解越慢^[30].

2.2 *Bt* 蛋白在土壤中的残留时间

转 *Bt* 作物释放的 *Bt* 蛋白在土壤中不会保持较高的量, 但仍有少量与土壤活性颗粒结合残留在土壤中达几周或几个月, 由此使非靶标土壤生物有可能接触到这些残留的蛋白. 如果长期重复种植这些转 *Bt* 作物, 就可能会造成 *Bt* 蛋白在土壤中的积累, 破坏土壤生物多样性, 并最终威胁到整个土壤生态系统^[31-32].

有关 *Bt* 蛋白在土壤中存留的时间长短的研究因不同的材料、试验方法和条件而得出不同的结论. 但一般认为 *Bt* 蛋白不能在土壤中持续存在, 即使在根系周围的土壤中也不能持续存留^[33]. 有研究发现, *Bt* 蛋白在 *Bt* 作物田土壤中与在非 *Bt* 作物田土壤含量相近, 可能所检测到的 *Bt* 蛋白是由于土壤中现存的 *Bt* 菌引起的, 而不是由 *Bt* 作物释放到田间土壤中. 如, Margarit 等^[34] 通过研究发现 *Bt* 玉米根系分泌的 Cry1Ab 蛋白不会在土壤中积累, 并且在种植 *Bt* 和非 *Bt* 玉米的土壤中均发现了 Cry1Ab 蛋白, 推测可能是土壤中现存的 *Bt* 菌导致. Ahmad 等^[35] 研究了 *Bt* 玉米对土壤节肢动物的影响, 并检测了 *Bt* 玉米田土壤中 *Bt* 蛋白的含量, 但没有在土壤中检测到 *Bt* 蛋白, 说明 *Bt* 蛋白不能在土壤中持续存在, 其在土壤中会很快降解, 而且 *Bt* 玉米也没

有对土壤节肢动物群落产生影响。

2.3 土壤非靶标动物对 *Bt* 蛋白降解的作用

土壤中 *Bt* 蛋白的降解过程除了物理化学等因素的作用外,土壤动物的作用也不容忽视。土壤动物可能通过其活动,如取食、消化以及排泄等加快降解土壤中的 *Bt* 蛋白,并作为 *Bt* 蛋白转移的介导者。如 Schrader 等^[36]研究了 2 种蚯蚓 (*Lumbricus terrestris*, *Aporrectodea caliginosa*) 对土壤中 *Bt* 毒素降解的影响,发现蚯蚓增强了土壤中 *Bt* 毒素的降解。Wandeler 等^[37]研究了分解者等足目动物 *Porcellio scaber* 对 2 种转 *Bt* 玉米与 6 种非 *Bt* 玉米的取食,结果表明,用 *Bt* 作物喂养的 *P. scaber* 的取食量明显低于非 *Bt* 作物喂养的,但是通过在 8 个品种之间进行比较,可以发现取食量主要由品种的差异造成。其身体、中肠与其粪便中均发现了 *Bt* 蛋白,说明 *P. scaber* 在一定程度上可以消化 *Bt* 蛋白。

3 *Bt* 蛋白对土壤重要物种类群的影响

3.1 蛭虫

蛭虫(弹尾目昆虫)种类和个体数量在土壤中都很多,它们作为分解者在参与土壤物质循环、提高土壤肥力、改善土壤理化特性、维护土壤生物群落,以及在土壤质量评价、污染监测、污染土壤的生物修复等方面都具有重要作用。在种类众多的虫兆虫中,*Folsomia candida* 是对化学物质最敏感的一种蛭虫^[38],其敏感度是 *Xenylla grisea* 的 10 倍^[39]。因此,研究蛭虫就成为了研究转 *Bt* 作物对土壤动物影响的重要对象,并且已经有证据表明,转 *Bt* 玉米会对 *F. candida* 产生作用,但是这种影响具有种属特异性。Bakonyi 等^[40]进行了 3 种蛭虫 (*F. candida*、*Heteromurus nitidus* 和 *Sinella coeca*) 对 *Bt* 玉米和非 *Bt* 玉米的趋向试验,结果表明 *F. candida* 趋向于取食非 *Bt* 玉米,它对 *Bt* 蛋白含量高于 $(3.45 \pm 0.8) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 的玉米会产生反应;但是在另外二种蛭虫 *H. nitidus* 和 *S. coeca* 的试验中却没有得到类似的结果。也有研究表明,转 *Bt* 作物不会对虫兆虫产生影响。如,Bitzer 等^[41]在 4 个地区研究了转 *Bt* 玉米与杀虫剂对土壤表面蛭虫和地下蛭虫的影响,结果显示转 *Bt* 玉米对蛭虫的丰度无影响,对虫兆虫的物种多样性指数影响也较小(转 *Bt* 玉米中蛭虫种类相对较少)。白耀宇等^[42]调查了转 *Bt* cry1Ab 基因水稻克螟稻 1 号(KMD1)和克螟稻 2 号(KMD2)对水稻灌浆期和收割后休田期稻田土表落叶层中弹尾虫种群数量的影响,研究发现水稻生长后期和休田期转

Bt 基因水稻茎叶残体的降解未对弹尾虫种群产生不利影响,相反却对一些种群个体数量的增长有促进作用,这有可能是导入外源 *Bt* 基因后,其农艺性状及一些与植株组织降解有关的理化性状发生了变化,使转 *Bt* 基因水稻植株组织残体较对照易于降解,形成了更适于弹尾虫生长和繁殖的腐生环境。

3.2 螨类

螨类也是土壤中数量和种类非常丰富的一个类群。其中,以甲螨对转 *Bt* 作物的反应来进行 *Bt* 作物的生态安全性评价研究优势较大^[43]。目前,针对螨类对转 *Bt* 作物反应的研究主要集中于田间的调查试验,且研究结果尚未发现显著的影响。如, Yu 等^[44]通过研究证明 *Bt* 棉和 *Bt* 马铃薯的杀虫蛋白对 *Oppia nitens* 没有伤害。Oliveira 等^[45]测定了 *Bt* 棉对 *Scheloribates praeincisus* 的毒性,结果也没有发现 *S. praeincisus* 受到任何影响。

3.3 蚯蚓

蚯蚓在土壤生态系统具有加速有机质分解、增进 C、N 营养循环、促进土壤形成和改善土壤通透性等多种作用,是土壤健康的传统指示生物。从目前转 *Bt* 作物对蚯蚓的影响结果来看,有些研究表明蚯蚓会受到转 *Bt* 作物的伤害,但另外一些研究结果却得出了相反的结论。如, Hönemann 等^[46]通过研究两种 *Bt* 玉米凋落物对 *Enchytraeus albidus* 的毒性(存活与繁殖),认为 *Bt* 玉米不会对其造成伤害。Vercesi 等^[47]观测了 *Bt* 玉米凋落物与 *Bt* 玉米植株对 *Aporrectodea caliginosa* 的存活率、繁殖率和生长发育的影响,结果显示其茧的孵化率由于受到 *Bt* 玉米凋落物的影响而减少。Saxena 等^[48]研究了 *Bt* 玉米根分泌与凋落物中 *Bt* 蛋白对蚯蚓 (*Lumbricus terrestris*)、线虫、原生动物、细菌与真菌的影响,结果均未发现负面影响,同时也在蚯蚓的中肠中发现了 *Bt* 蛋白,但是在将其转移到不含 *Bt* 毒素的土壤中 2~3 d 后,其体内的 *Bt* 蛋白即消失。肖能文等^[49]研究了 Cry1Ac 蛋白在人造土壤中对赤子爱胜蚓 (*Eisenla fetida*) 的毒理及生化影响,测定了蚯蚓存活率、体质量变化及体内总蛋白含量、过氧化氢酶(CAT)、乙酰胆碱酯酶(AchE)、谷胱甘肽-S-转移酶(GST)和纤维素酶活性,结果表明,*Bt* 毒蛋白对蚯蚓的生物量和生理水平的影响均不明显,不存在急毒性和亚致死毒性效应,对蚯蚓比较安全。

3.4 线虫

线虫广泛存在于各种生境,营养类群多样,是土壤指示生物的典型代表。目前,线虫作为土壤健康指

示生物的研究已成为国际土壤生态学领域的热点和前沿课题. Griffiths 等^[50]分析了转 *Bt* 玉米对土壤线虫群落结构的影响,表明影响线虫群落结构的主要因素是作物品种的差异,而不是转 *Bt* 玉米. Höss 等^[51]研究了 *Bt* 玉米及其纯化蛋白对 *Caenorhabditis elegans* 的作用,测定了大田中采集的 *Bt* 玉米根围土壤和大块的土样以及纯化的 *Bt* 蛋白的影响,结果发现采集自大田土壤中的 *C. elegans* 的繁殖率与死亡率显著降低并与其土壤中 *Bt* 蛋白的含量相关,且纯化 *Bt* 蛋白的影响也与浓度相关,但是由于在纯 *Bt* 蛋白的试验中产生影响的 *Bt* 蛋白浓度很高($41 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),所以不能确定大田试验的研究结果是否由 *Bt* 蛋白引起.同时,该研究结果也表明,*C. elegans* 在研究转 *Bt* 蛋白的潜在影响方面具有较大潜力.

3.5 甲虫

甲虫是土壤中的重要昆虫,也是重要的指示动物. Duan 等^[52]对转 *Bt* 玉米分泌的 *Bt* 蛋白对其根部土壤中 *Poecilus chalcites* 幼虫的毒性进行了检测,表明即使 10 倍于转 *Bt* 玉米最大分泌量的 *Bt* 蛋白剂量对其生长、发育也没有明显影响. Álvarez-Alfageme 等^[53]测定了 *Bt* 作物、海灰翅夜蛾幼虫 (*Spodoptera littoralis* Boisduval) 和捕食性步甲 (*Poecilus cupreus* L.) 三级营养关系中 *Bt* 玉米的饲喂-捕食的介导效应对土壤捕食步甲的适合度与消化生理学的影响.结果表明,在食物链中 Cry1Ab 蛋白的含量随营养级的升高逐级降低,但没有发现 *Bt* 蛋白对 *S. littoralis* 幼虫和 *P. cupreus* 幼虫的蛋白水解酶活性具有明显影响. Floate 等^[54]通过为期 4 年的大田中土壤步甲对 *Bt* 玉米的反应研究,发现在 2001 年 *Bt* 玉米中的 *Amara farcta* Leconte 和 *Harpalus amputatus* Say 种群数量低于 I (非 *Bt* 玉米中使用农药)或 NI (非 *Bt* 玉米中不使用农药). 在 2003, *Amara apricaria* (Paykull) 与 *Amara carinata* (Leconte) 在 *Bt* 玉米中多于 I 和 NI. 同样在 2003, *Poecilus scitulus* Leconte 在 *Bt* 玉米中多于 I 和 NI. 但是这些现象均没有在研究过程中重复出现,表明 *Bt* 玉米对土壤步甲没有产生影响.

3.6 *Bt* 蛋白对其它非靶标土壤动物的影响

除了蚯蚓、线虫、虫兆虫、甲虫以及螨类以外,土壤中还生存着许多其他土壤动物,如倍足纲以及等足目动物等,它们在维持土壤生态系统平衡中也发挥着重要作用. Weber 等^[55]研究了 *Bt* 玉米对 *Allajulus latestriatus* 的作用,并进行了毒性试验(将 *Bt* 蛋白拌入食物中),结果显示 *Bt* 玉米不会对 *A. latestri-*

atus 造成伤害,但是其粪便中 *Bt* 蛋白含量与其食物的含量呈线性相关,并且这些蛋白仍然对靶标害虫具有毒性. Vaufeury 等^[56]使用微宇宙的方法研究了 *Bt* 玉米对大蜗牛 (*Helix aspersa* Mueller)、小型节肢动物以及菌根真菌的影响,发现 *Bt* 蛋白未对 *H. aspersa* 产生负面影响,但是在蜗牛的组织中和粪便中均发现了 *Bt* 蛋白,说明蜗牛介导了 *Bt* 蛋白从植物到土壤及其天敌的传导过程.

3.7 土壤动物群落

基于土壤中积累的 *Bt* 蛋白可能对土壤生态系统的生态平衡造成破坏,很多学者都对转 *Bt* 作物大田中的土壤动物群落结构进行了研究. 但研究结果均未发现转 *Bt* 作物对非靶标土壤动物群落产生明显的影响. 如 Griffiths 等^[57]调查了欧洲 3 个地区的转 *Bt* 玉米、其非转基因亲本玉米以及周围杂草土壤中的原生动物与线虫群落. 结果显示,所有 3 个地点中转 *Bt* 玉米品种的线虫种群较小,且线虫的群落结构在每个地点都不相同,但 *Bt* 效应并未局限在某一个线虫类群中,*Bt* 玉米的影响很小且在农业系统的正常变化范围之内. Rose 等^[58]测定了 *Bt* 玉米与非 *Bt* 玉米以及施用过农药的 *Bt* 玉米对田间土壤动物和地上节肢动物的影响,发现 *Bt* 玉米田中的动物丰度与多样性与非 *Bt* 玉米田没有差异,而杀虫剂对其影响较大.

随着转基因作物在全球范围内的推广,关于转基因作物的生物安全方面的争论也愈演愈烈,然而综合考虑当前的研究结果,*Bt* 蛋白对土壤生态系统并没有产生显著影响,并且在害虫控制方面发挥了积极的作用,同时也显现了它在代替各种化学农药来控制害虫方面的重要优势. 另一方面,考虑到转基因作物种植面积将不断扩大,因此建立其长期的生物安全监控体系对于保护生态系统的健康稳定同样不容忽视.

4 结 语

目前,针对转 *Bt* 作物对土壤生物影响的研究可以分为室内控制试验与大田试验,但是两种试验方法所得出的结果有时候会出现矛盾,如 *Bt* 蛋白是否在土壤中长期积累、*Bt* 蛋白对各种土壤动物是否具有负面影响等. 因此,未来不但应该加强基于这两个试验方法的研究,而且应着重对照大田试验研究所得的结果在实验室内进行影响因素的具体分析. 在转 *Bt* 作物的研究中,也不应仅仅将研究的重点放在 *Bt* 蛋白上. 虽然通过试验比较转 *Bt* 作物与其亲本可

以检测到 *Bt* 蛋白对生态环境的影响,但是将这种影响放到真实的自然背景中去研究也是非常重要的^[47]。任何可能由转基因作物造成的生态影响都不应该忽视其自然背景,因为任何农业生产的变化都会改变土壤的生态特征^[59]。

土壤生态系统是一个复杂的系统,转 *Bt* 基因作物对土壤动物的影响是随时间和空间的变化逐步显现出来的。因此,建议在今后的研究中应当注意加强以下几个方面研究:

1) 土壤中的各种生物,从细菌、真菌等微生物到蚯蚓等大型土壤动物都是土壤生态系统的重要组成部分,它们共同组成了土壤中复杂的食物网。虽然目前的大多数研究结果显示转 *Bt* 作物对土壤非靶标动物没有影响,但是研究的焦点大多集中于某一物种、某一类群或生物群落,对转 *Bt* 作物对土壤生物食物网的研究较少。揭示 *Bt* 蛋白在食物网中的转移途径、*Bt* 蛋白对食物网的影响以及食物网对 *Bt* 蛋白的降解与消化,对于研究转 *Bt* 作物对土壤动物的影响具有重要意义。

2) 研究转 *Bt* 作物对土壤非靶标动物的影响不应该忽视其他的环境因素,包括品种的差异、土壤的差异以及气候的差异等。考虑其他环境因素,可以作为安全性评价提供科学的依据。评估转 *Bt* 作物的土壤生态风险需要准确可靠的原始资料,其中不仅要包括转 *Bt* 作物的研究数据,而且需要各种条件变化的影响资料,如栽培品种、土壤类型、植物性质差异等,以分析造成影响的确切原因。然而,目前的原始资料仍然过于分散,无法建立起有效的原始资料库来进行转 *Bt* 作物对土壤生态系统的风险评价^[60-61]。

3) 现有的研究持续时间一般为 1~4 年左右,持续时间相对较短。由于转 *Bt* 作物向土壤中释放的 *Bt* 蛋白量较少,且 *Bt* 蛋白半衰期至多只有几个月的时间,目前试验的结果只能反映 *Bt* 蛋白的短期影响。而转 *Bt* 作物的推广应用是一个长时间的过程,为了预测其永久的安全性,应当加强长期的 *Bt* 作物安全性监测与风险测试研究。

4) 许多研究已经在多种土壤动物体内与粪便中检测到了 *Bt* 毒蛋白,且均保持杀虫毒性,但是仍然没有这些蛋白对它们产生显著影响的报道。然而土壤动物经过长期对 *Bt* 蛋白的摄取后,是否会受到负面影响仍然是一个未知数。因此,应该加强土壤动物长期作为 *Bt* 蛋白转移的介导者对其自身以及土壤生态系统所造成的影响研究。

5) 已经有研究显示,转基因物质进入土壤后可以使抗性基因转移到其他生物中^[62],即发生基因漂移。迄今为止,还没有关于 *Bt* 基因是否可以从转 *Bt* 作物上转移到其他土壤生物上的报道。但是如果发生这种情况,就会出现各种“超级生物”,从而打破土壤生态系统的平衡,产生严重的后果。因此,转 *Bt* 作物的基因漂移是否会对土壤生态系统产生负面影响方面的研究有待加强。

6) 随着转基因作物研究的迅速发展,新的转基因作物被不断开发出来,其分泌的 *Bt* 蛋白的类型也逐渐增加。基于这种情况,针对不同 *Bt* 蛋白之间协同作用的研究显得越来越重要,但是目前这方面的研究仍然很少。加强对不同 *Bt* 蛋白之间的协同作用是否会增加或降低其对非靶标生物的影响方面的研究,无论对于转基因作物的发展还是生态系统的保护都具有重要意义。

7) 鉴于非靶标土壤动物能够吸收一部分 *Bt* 蛋白,而目前尚不清楚 *Bt* 蛋白在非靶标土壤动物体内的代谢过程,*Bt* 蛋白是否会在其体内以某种形式积累或变化,这是否会在未来对土壤生态系统产生影响也是一个值得探讨的问题。

参考文献

- [1] Vaeck M, Reynaerts A, Höfte H, *et al.* Transgenic plants protected from insect attack. *Nature*, 1987, **328**: 33
- [2] James C. The global commercialized developmental situation of transgenic crop in 2007—The first 12 years from 1996 to 2007. *China Biotechnology*, 2008, **28**(2): 1-10 (in Chinese)
- [3] Koziel MG, Beland GL, Bownan C, *et al.* Field performance of elite transgenic maize plants expressing an insecticidal protein derived from *Bacillus thuringiensis*. *Nature Biotechnology*, 1993, **11**: 194-200
- [4] Bai Y-Y (白耀宇), Jiang M-X (蒋明星), Cheng J-A (程家安). Advances in safety studies of soil *Bt* toxin proteins released from transgenic *Bt* crops. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2003, **14**(11): 2062-2066 (in Chinese)
- [5] Wang J-W (王建武), Feng Y-J (冯远娇), Luo S-M (骆世明). Effects of transgenic crops on soil ecosystem. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2002, **13**(4): 491-494 (in Chinese)
- [6] Wei W (魏伟), Qian Y-Q (钱迎倩), Ma K-P (马克平), *et al.* Monitoring the ecological risks of genetically modified organisms (GMOs). *Biodiversity Science* (生物多样性), 1999, **7**(4): 1-6 (in Chinese)
- [7] Hill RA. Conceptualizing risk assessment methodology for genetically modified organisms. *Environmental Biosafety Research*, 2005, **4**: 67-70
- [8] Höfte H, Whiteley HR. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiological Reviews*, 1989,

53: 242–255

- [9] Wang Z-H (王忠华), Shu Q-Y (舒庆尧), Cui H-R (崔海瑞), *et al.* The study of insect-resistant plant with *Bacillus thuringiensis* crystal protein genes. *Chinese Bulletin of Botany* (植物学通报), 1999, **16**(1): 51–58 (in Chinese)
- [10] Gonzales-Nunez M, Ortego F, Castanera P. Susceptibility of Spanish populations of the Corn Borers *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae) to a *Bacillus thuringiensis* endotoxin. *Journal of Economic Entomology*, 2000, **93**: 459–463
- [11] Dutton A, Romeis J, Bigler F. Effects of *Bt*-maize expressing Cry1Ab and *Bt*-spray on *Spodoptera littoralis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 2005, **114**: 161–169
- [12] Metcalf RL, Metcalf RA. Destructive and Useful Insects: Their Habits and Control. New York: McGraw-Hill, 1993
- [13] Benedict JH, Altman DW. Commercialization of transgenic cotton expressing insecticidal crystal proteins// Jenkins JN, Saha S, eds. Genetic Improvement of Cotton: Emerging Technologies. Enfield, NH: Science Publishers Inc., 2001: 137–201
- [14] James C. Global Review of Commercialized Transgenic Crops: 2001 Feature: *Bt* Cotton. Ithaca, NY: ISAAA Briefs, 2002
- [15] Benedict JH, Ring DR. Transgenic crops expressing *Bt* proteins: Current status, challenges and outlook// Koul O, Dhaliwal GS, eds. Transgenic Crop Protection: Concepts and Strategies. Enfield, NH: Science Publishers Inc., 2004: 15–84
- [16] Shelton AM, Zhao JZ, Roush RT. Economic, ecological, food safety and social consequences of the deployment of *Bt* transgenic plants. *Annual Review of Entomology*, 2002, **47**: 845–881
- [17] Tu JM, Zhang GA, Datta K, *et al.* Field performance of transgenic elite commercial hybrid rice expressing *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin. *Nature Biotechnology*, 2000, **18**: 1101–1104
- [18] Couty A, de la Viña G, Clark SJ, *et al.* Direct and indirect sublethal effects of *Galanthus nivalis* agglutinin (GNA) on the development of a potato-aphid parasitoid, *Aphelinus abdominalis* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Journal of Insect Physiology*, 2001, **47**: 553–561
- [19] Tapp H, Stotzky G. Insecticidal activity of the toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* and *tenebrionis* adsorbed and bound on pure and soil clays. *Applied and Environmental Microbiology*, 1995, **61**: 1786–1790
- [20] Steven RS, Joel ER. Soil inactivation of the *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* Cry2A insecticidal protein within transgenic cotton tissue. *Laboratory Microcosm and Field Studies*, 1997, **45**: 1502–1505
- [21] Palm CJ, Schaller DL, Donegan KK, *et al.* Persistence in soil of transgenic plants produced *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* δ -endotoxin. *Canadian Journal of Microbiology*, 1996, **42**: 1258–1262
- [22] Prihoda KR, Coats JR. Fate of *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) Cry3Bb1 protein in a soil microcosm. *Chemosphere*, 2008, **73**: 1102–1107
- [23] Saxena D, Flores S, Stotzky G. Insecticidal toxin in root exudates from *Bt* corn. *Nature*, 1999, **40**: 480
- [24] Saxena D, Stotzky G. Insecticidal toxin from *Bacillus thuringiensis* is released from roots of transgenic *Bt* corn *in vitro* and *in situ*. *FEMS Microbial Ecology*, 2000, **33**: 35–39
- [25] Saxena D, Flores S, Stotzky G. Vertical movement in soil of insecticidal Cry1Ab protein from *Bacillus thuringiensis*. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, **34**: 111–120
- [26] Saxena D, Stewartb CN, Altosaar I, *et al.* Larvicidal Cry proteins from *Bacillus thuringiensis* are released in root exudates of transgenic *B. thuringiensis* corn, potato, and rice but not of *B. thuringiensis* canola, cotton, and tobacco. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2004, **42**: 383–387
- [27] Losey JE, Rayor LS, Carter ME. Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature*, 1999, **399**: 214
- [28] Fearing PL, 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
- [29] De Vaufeury A, Kramarz PE, Binet P, *et al.* Exposure and effects assessments of *Bt*-maize on non-target organisms (gastropods, microarthropods, mycorrhizal fungi) in microcosms. *Pedobiologia*, 2007, **51**: 185–194
- [30] Bai YY, Jiang MX, Cheng JA. Impacts of environmental factors on degradation of Cry1Ab insecticidal protein in leaf-blade powders of transgenic *Bt* rice. *Agricultural Sciences in China*, 2007, **6**: 167–174
- [31] Tapp H, Stotzky G. Dot blot enzyme-linked immunosorbent assay for monitoring the fate of insecticidal toxin from *Bacillus thuringiensis* in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 1995, **61**: 602–609
- [32] Tapp H, Stotzky G. Persistence of the insecticidal toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 1998, **30**: 471–476
- [33] Wang HY, Ye QF, Wang W, *et al.* Cry1Ab protein from *Bt* transgenic rice does not residue in rhizosphere soil. *Environmental Pollution*, 2006, **143**: 449–455
- [34] Margarit E, Reggiardo MI, Permingeat HR. *Bt* protein rhizosecreted from transgenic maize does not accumulate in soil. *Electronic Journal of Biotechnology*, 2008, **11**(2): 20–29
- [35] Ahmad A, Wilde GE, Zhu KY. Detectability of coleopteran-specific Cry3Bb1 protein in soil and its effect on nontarget surface and below-ground arthropods. *Environmental Entomology*, 2005, **34**: 385–394
- [36] Schrader S, Münchenberg T, Baumgarte S, *et al.* Earthworms of different functional groups affect the fate of the *Bt*-toxin Cry1Ab from transgenic maize in soil. *European Journal of Soil Biology*, 2008, **44**: 283–289
- [37] Wandeler H, Bahylova J, Nentwig W. Consumption of two *Bt* and six non-*Bt* corn varieties by the woodlouse *Porcellio scaber*. *Basic and Applied Ecology*, 2002, **3**: 357–365
- [38] Chernova NM, Balabina IP, Ponomareva ON. Changes in population growth rate of springtails (Collembola) under the influence of herbicides. *Polskie Pismo Entomologiczne*, 1995, **64**: 91–98
- [39] Sims SR, Martin JW. Effect of the *Bacillus thuringiensis*

- insecticidal proteins CryIA (b), CryIA (c), CryIIA, and CryIIIA on *Folsomia candida* and *Xenylla grisea* (Insecta: Collembola). *Pedobiologia*, 1997, **41**: 412–416
- [40] Bakonyi G, Szira F, Kiss I. Preference tests with collembolas on isogenic and *Bt*-maize. *European Journal of Soil Biology*, 2006, **42**: S132–S135
- [41] Bitzer RJ, Rice ME, Pilcher CD. Biodiversity and community structure of epedaphic and euedaphic springtails (Collembola) in transgenic rootworm *Bt* corn. *Environmental Entomology*, 2005, **34**: 1346–1376
- [42] Bai Y-Y (白耀宇), Jiang M-X (蒋明星), Cheng J-A (程家安), et al. Effects of transgenic *Bt* CryIAb rice on collembolan population in paddy field. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2006, **17** (5): 903–906 (in Chinese)
- [43] Chen G-D (陈国定), Zhu W (朱文), Li M-D (黎明达), et al. A preliminary study on the biological monitoring for soil pollution by oribatid mite population. *China Environmental Science* (中国环境科学), 1991, **11**(2): 100–104 (in Chinese)
- [44] Yu L, Berry RE, Croft BA. Effects of *Bacillus thuringiensis* toxins in transgenic cotton and potato on *Folsomia candida* (Collembola: Isotomidae) and *Oppia nitens* (Acari: Oribatida). *Journal of Economic Entomology*, 1997, **90**: 113–118
- [45] Oliveira AR, Castro TR, Deise MF. Toxicological evaluation of genetically modified cotton (Bollgard®) and Dipel® WP on the non-target soil mite *Scheloribates praecinctus* (Acari: Oribatida). *Experimental and Applied Acarology*, 2007, **41**: 191–201
- [46] Hönemann L, Nentwig W. Are survival and reproduction of *Enchytraeus albidus* (Annelida: Enchytraeidae) at risk by feeding on *Bt*-maize litter? *European Journal of Soil Biology*, 2009, **45**: 351–355
- [47] Vercesi ML, Krogh PH, Holmstrup M. Can *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) corn residues and *Bt*-corn plants affect life-history traits in the earthworm *Aporrectodea caliginosa*? *Applied Soil Ecology*, 2006, **32**: 180–187
- [48] Saxena D, Stotzky G. *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) toxin released from root exudates and biomass of *Bt* corn has no apparent effect on earthworms, nematodes, protozoa, bacteria, and fungi in soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 2001, **33**: 1225–1230
- [49] Xiao N-W (肖能文), Ge F (戈峰), Liu X-H (刘向辉). Effects of *Bt* toxin CryIAc on biochemical responses of *Eisenia fetida* in an artificial soil. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2005, **16** (8): 1523–1526 (in Chinese)
- [50] Griffiths BS, Heckmann LH, Caul S, et al. Varietal effects of eight paired lines of transgenic *Bt* maize and near-isogenic non-*Bt* maize on soil microbial and nematode community structure. *Plant Biotechnology Journal*, 2007, **5**: 60–68
- [51] Höss S, Arndt M, Baumgarte S. Effects of transgenic corn and CryIAb protein on the nematode, *Caenorhabditis elegans*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2008, **70**: 334–340
- [52] Duan JJ, Paradise MS, Lundgren JG. Assessing nontarget impacts of *Bt* corn resistant to corn rootworms: Tier-1 testing with larvae of *Poecilus chalcites* (Coleoptera: Carabidae). *Environmental Entomology*, 2006, **35**: 135–142
- [53] Álvarez-Alfageme F, Ortego F, Castañera P. *Bt* maize fed-prey mediated effect on fitness and digestive physiology of the ground predator *Poecilus cupreus* L. (Coleoptera: Carabidae). *Journal of Insect Physiology*, 2009, **55**: 144–150
- [54] Floate KD, Cărcamo HA, Blackshaw RE. Response of ground beetle (Coleoptera: Carabidae) field populations to four years of lepidoptera-specific *Bt* corn production. *Environmental Entomology*, 2007, **36**: 1269–1274
- [55] Weber M, Nentwig W. Impact of *Bt* corn on the diplopod *Allajulus latestriatus*. *Pedobiologia*, 2006, **50**: 357–368
- [56] De Vaufeury A, Kramarz PE, Binet P, et al. Exposure and effects assessments of *Bt*-maize on non-target organisms (gastropods, microarthropods, mycorrhizal fungi) in microcosms. *Pedobiologia*, 2007, **51**: 185–194
- [57] Griffiths BS, Caul S, Thompson J. A comparison of soil microbial community structure, protozoa and nematodes in field plots of conventional and genetically modified maize expressing the *Bacillus thuringiensis* CryIAb toxin. *Plant and Soil*, 2005, **275**: 135–146.
- [58] Rose R, Dively GP. Effects of insecticide-treated and lepidopteran-active *Bt* transgenic sweet corn on the abundance and diversity of arthropods. *Environmental Entomology*, 2007, **36**: 1254–1268
- [59] Conner AJ, Glare TR, Nap JP. The release of genetically modified crops into the environment. Part II. Overview of ecological risk assessment. *Plant Journal*, 2003, **33**: 19–46
- [60] Bruinsma M, Kowalchuk GA, van Veen JA. Effects of Genetically Modified Plants on Soil Ecosystems. Heteren: Netherlands Institute of Ecology, 2002
- [61] Lehesranta SJ, Davies HV, Shepherd LVT. Comparison of tuber proteomes of potato varieties, landraces and genetically modified lines. *Plant Physiology*, 2005, **138**: 1690–1699
- [62] Hoffmann T, Golz C, Schieder O. Foreign DNA sequences are received by a wild-type strain of *Aspergillus niger* after co-culture with transgenic higher plants. *Current Genetics*, 1994, **27**: 70–76

作者简介 袁一杨,男,1981年生,博士研究生。主要从事昆虫生态学研究。E-mail: yuyyk@163.com

责任编辑 肖红