应用昆虫学报 *Chinese Journal of Applied Entomology* 2014, 51(5): 1204–1214. DOI: 10.7679/j.issn.2095–1353.2014.143

转 Bt 基因水稻对白符跳虫适应低温环境与排泄的影响*

杨 玺[1, 2**] 袁一杨[2] 戈 峰[2] 肖铁光[1***]

（1. 湖南农业大学植物保护学院，长沙 410128；2. 中国科学院动物研究所 农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室，北京 100101）

摘 要 **【目的】** 为探讨转基因 Bt 水稻种植对土壤重要分解者跳虫的潜在生态风险性。**【方法】** 将同一非转基因亲本插入 3 种不同的 Bt 基因（*cry1C*、*cry2A*、*cry1Ab*/*Ac*）的转 Bt 基因水稻叶片残体饲养白符跳虫 *Folsomia candida*，通过放入不同低温环境下观察其存活率和粪便排泄速率以分析白符跳虫取食 Bt 水稻叶片后的适应低温行为。**【结果】** 结果表明，3 种转 Bt 基因水稻相对于非转基因亲本水稻品种而言，不会影响白符跳虫的适应低温环境；而不同 Bt 基因插入后导致的水稻成分的变化可能影响了白符跳虫对水稻残体的偏好性，进而影响其在低温环境下的适应行为。**【结论】** 结果可为评估转 Bt 水稻对土壤生态系统影响提供参考价值，为转 Bt 水稻安全性评价提供科学的依据。

关键词 白符跳虫，转 Bt 基因水稻，排泄速率、低温适应

Low temperature adaption experiments on *Folsomia candida* fed isogenic and Bt-rice

YANG Xi[1, 2**] YUAN Yi-Yang[2] GE Feng[2] XIAO Tie-Guang[1***]

(1. College of Plant Protection, Hunan Agriculture University, Changsha 410128, China;
2. State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract **[Objectives]** To evaluate the potential ecological risk of transgenic Bt rice to ground-dwelling arthropods. **[Methods]** Three different transgenic Bt rice varieties and their isogenic rice tissue residues were fed to *Folsomia candida* for 28 days after which these were exposed to low temperature to assess their low temperature adaption on the basis of survival and excretion. **[Results]** The results show that being fed transgenic Bt rice had no effect on low temperature adaption compared to isogenic rice. However, inserting the Bt gene into rice plants could change the chemical composition of rice, which might affect the survival and excretion of *F. candida* at low temperature. **[Conclusion]** This work is a case study for evaluating the impact of the transgenic Bt rice on the soil ecosystem, and also provides a scientific basis for estimating the safety of transgenic Bt rice.

Key words *Folsomia candida*, transgenic Bt rice, excretion, low temperature adaptation

---

* 资助项目：转基因生物新品种培育重大专项（2012ZX08011002）

**E-mail: youngx0311@foxmail.com

***通讯作者，E-mail: tieguang@21cn.com

收稿日期：2014-08-21，接受日期：2014-09-02

转 Bt 基因水稻可以有效的减少农药使用和增加产量，被认为是我国应对粮食问题的重要途径（Qiu，2008）。目前，我国已经培育出多个转 Bt 基因水稻品种，包括华恢 1 号、Bt 汕优 63 和克螟稻等，其中，华恢 1 号和 Bt 汕优 63 于 2009 年获得农业部颁发的生产应用安全证书，从而使转基因水稻在我国商业化生产迈出的第一步（李黎红等，2012）。然而，转 Bt 基因水稻的生态安全问题同样不容忽视。

同化学杀虫剂一样，靶标害虫对转 Bt 基因水稻也可能会产生抗性，同时插入同源性较远的两个不同 Bt 基因而成的双价转 Bt 基因水稻能缓解靶标害虫产生抗性和增加 Bt 水稻使用寿命。转 *cry2A* 基因水稻和转 *cry1C* 基因水稻在田间试验中已表现出对螟虫的高杀虫性，因此，这两个水稻品种将很有可能作为培育双价转 Bt 水稻的品种材料。Bt 基因的插入会引起植物本身产生不可预计的变化，从而对生态环境构成潜在风险。转 Bt 基因水稻的生态风险评价试验往往是用一种转 Bt 基因水稻和对应非转基因水稻亲本观察转基因品种是否会产生风险。

跳虫是土壤重要的分解者。冰核剂是跳虫体内对抗低温环境重要的物质，跳虫的肠道内容物甚至肠道内壁都存在冰核剂，进入低温环境中会及时排除肠道内容物，从而避免冰点过高使得虫体结冰致死（Worland and Block，2003；Denlinger and Lee，2010）。排泄功能作为消化系统的重要一步，是取食食物之后整个消化吸收过程的最终体现。通过排泄数量分析转 Bt 基因作物对非靶标生物的影响是研究转基因作物对生态安全性以及抗性作用的重要评价方法之一，转 Bt 水稻作为白符跳虫非理想食物材料，对其整个消化吸收过程中的影响值得去研究和探讨。

转 Bt 基因作物对非靶标生态安全性评价主要是针对其产生的 Bt 蛋白和插入 Bt 基因之后植物自身产生的变化对非靶标生物的影响。转 Bt 基因作物对非靶标生物的安全性评价已经进行了大量而细致的研究，但是对于插入 Bt 基因之后作物植株本身产生变化对非靶标生物的影响仍然较少。先前的研究表明，Bt 蛋白对非靶标生物没有明显影响；如在人造土壤中 Bt 毒蛋白 Cry1Ac 对赤子爱胜蚓毒理及生化的影响结果表明，Bt 毒蛋白对蚯蚓的生物量和生理水平影响均不明显，不存在急毒性和亚致死毒性影响（肖能文等，2005）；白符跳虫 *Folsomia candida* 取食高于 Bt 水稻几百倍浓度的 Cry1Ab 和 Cry1Ac 后，其种群适合度仍然没有受到影响，仅有 11 个基因发生上调表达，显著低于其他污染物（Yuan *et al.*，2014）。前人已开展了大量研究来探讨 Bt 作物对非靶标生物的影响，涵盖了不同类型的 Bt 蛋白、不同种类的作物以及多种非靶标生物（Betz *et al.*，2000；Icoz and Stotzky，2008；袁一杨和戈峰，2010）。其中一些研究结果显示，Bt 作物在特定环境条件下可能会对某些非靶标生物产生影响。如 Wandeler 等（2002）发现等足目动物（*Porcellio scaber* Latreille）对 Bt 玉米的取食量明显低于非 Bt 玉米。Bakonyi 等（2006）指出白符跳虫更倾向于取食非 Bt 玉米。而白耀宇等（2006）的研究表明，转 Bt 基因水稻（克螟稻 1 号和克螟稻 2 号）茎叶残体在

* 资助项目：转基因生物新品种培育重大专项（2012ZX08011002）
**E-mail: youngx0311@foxmail.com
***通讯作者，E-mail: tieguang@21cn.com
收稿日期：2014-08-21，接受日期：2014-09-02

水稻生长后期和休田期会促进一些跳虫种群个体数量的增长。显然，不同类群生物对不同的转基因作物响应不同。因此，深入揭示非靶标生物对 Bt 作物的响应特征与机制，对于 Bt 作物的可持续发展具有重要意义。

跳虫属于弹尾纲（Collembola）、弹尾目，在土壤生态系统中能参与物质循环，提高土壤肥力（黄玉梅，2004）以及控制植物真菌病害（Sabatini *et al.*，2001）。作为对化学物质最为敏感的跳虫之一，白符跳虫是国内外土壤生态安全评价中普遍使用的重要模式物种（Chernova *et al.*，1995；陈建秀等，2007）。前期研究结果表明，Bt 水稻和其亲本之间植物成分的差异可能对白符跳虫产生影响（Yuan *et al.*，2011，2013），而 Bt 蛋白 Cry1Ab 和 Cry1Ac 对白符跳虫的影响较小（Yuan *et al.*，2014）。为了进一步揭示非靶标跳虫对 Bt 水稻的响应机制，本文以白符跳虫为研究对象，围绕 3 种 Bt 水稻（*cry1C*、*cry2A*、*cry1Ab/Ac*）及其亲本（明恢 63），探讨了跳虫对 Bt 水稻的取食选择行为。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试水稻 本试验中共用 3 个转 Bt 基因水稻品种：华恢 1 号（转 *cry1Ab/Ac* 基因，HH1）、转 *cry1C* 基因水稻、转 *cry2A* 基因水稻以及 3 种转 Bt 基因水稻对应同一非转 Bt 基因亲本水稻品种：明恢 63（MH63）。转 *cry1C* 基因水稻和转 *cry2A* 基因水稻由中国农业科学院植物保护研究所提供。所有 4 个水稻品种均于抽穗期采集，水稻品种采集后装于塑料袋保存在–20℃中，试验时将水稻叶片拿出剪碎后加入液氮磨碎待用。

1.1.2 供试跳虫 白符跳虫由中国科学院上海生命科学研究院上海植物生理生态研究所提供。该品系为 FCDK，源于丹麦奥尔胡斯大学前陆地生态学系。虫源放入直径 150 mm 的培养皿中用干酵母饲养，培养皿底部用熟石灰、活性炭（质量比 9∶1）制成的基底覆盖，放入人工气候箱中。人工气候箱设置为全黑夜，温度（20±1）℃，空气相对湿度约为 100%，每 2 d 基底加入蒸馏水保湿。

1.1.3 供试土壤 本试验人造土壤按照 ISO-11267 标准配置，加入直径为 80 mm 的培养盒中。成分包括：10%水藓泥炭、30%高岭土、70%石英砂。加入 $CaCO_3$ 至 pH=6±0.5，加入蒸馏水至总土壤持水量 50%，每个人造土壤约为 25 g。

1.2 试验处理

1.2.1 供试跳虫同步化处理 用于试验的白符跳虫需进行同步化繁殖获得同期个体，将不同培养皿中的跳虫进行混合，放入加有少量酵母的新培养皿中喂养。10 d 后跳虫会大量的产卵，此时将跳虫成虫、幼虫清理干净留下虫卵进行孵化，3 d 后将孵出的幼虫放入加有少量酵母的新培养皿中继续饲养，饲养到产卵期视为成虫。

1.2.2 20 喂养试验 本试验中，4 种水稻样品在 60 ℃烘箱中烘干 2 d，然后在研磨钵中加入少量液氮进行磨碎成长条状，放入 - 20℃备用。将处理完的水稻样品 1 g 覆盖于配置好的人造土壤中，共 4 个品种，每个品种看作一个处理，每个处理 5 个重复，以人造土壤中放置酵母粉作为对照。同步化后的跳虫成虫放入新培养皿中进行饥饿处理 10 d，每个样品中放入 100 头成虫。在（20±1）℃的人工气候箱中饲喂 28 d，人工气候箱光周期为全黑暗，每周通气一次，加蒸馏水一次。试验处理结束后，将每个样品中水稻残体小心去除，将跳虫成虫和幼虫倒入底部画有 50

个方格的盒子中，计算成虫和幼虫数量，并用毛笔将成虫挑出放入离心管中进行标记。在显微镜（Nikon SM1500）下用物镜测微尺测量成虫体长，每个处理重复测量 5 头。

1.2.3　阶梯低温处理试验　本试验中，4 种水稻样品在 60℃烘箱中烘干 2 d，然后在研磨钵中加入少量液氮进行磨碎成长条状，放入–20℃备用。将处理完的水稻样品 1 g 覆盖于配置好的人造土壤中，共 4 个品种，每个品种看作一个处理，每个处理 5 个重复，以人造土壤中放置酵母粉作为对照。同步化后的跳虫成虫放入新培养皿中进行饥饿处理 10 d，每个样品中放入 100 头在 20℃下饲喂 7 d，7 d 后分别放入 5℃、0℃和–5℃低温恒温箱中处理 28 d。每周通气一次，加蒸馏水一次。共 15 个处理，每个处理 5 个重复，共 75 个样品。试验处理结束后，将每个样品中水稻残体小心去除，计算存活的跳虫并用毛笔将跳虫挑出放入离心管中进行标记。在显微镜（Nikon SM1500）下用物镜测微尺测量饲喂 7 d 后和低温处理 28 d 后的成虫体长，每个处理重复测量 5 头。

1.2.4　24 h 肠道清空试验　白符跳虫取食水稻残体后会停留在肠道内从而使肠道内颜色改变，如图 1（Motic SMZ 168 SERIES 进行拍摄 ×5.0 倍）。将在 20℃取食水稻残体 7 d 后肠道颜色改变的跳虫放入底部加有 0.1 mL 蒸馏水的 2 mL 离心管中，管盖上钻入通气孔，每管放入一只。每个水稻品种作为一个处理，每个处理 10 只，重复 5 次。放入 5℃和 0℃低温下 24 h 后观察肠道颜色变化，计算肠道清空数量，20℃作为对照。

1.2.5　24 h 排泄速率试验　白符跳虫在 20℃取食水稻残体 7 d 后，放入半径为 5 cm 的培养盒中，底部垫有滤纸并加入少量蒸馏水保湿，并将滤纸与培养盒壁贴紧防止跳虫爬入滤纸下面。每个盒内放入 10 只，每个水稻品种作为一个处理，酵母作为对照组，5 次重复。将培养盒放入 5℃、0℃低温中，20℃作为对照。每隔 3 h，计算盒内排泄的粪便数量并用棉签小心清理干净，共处理 24 h。通过每个时间段排除的粪便数量分析白符跳虫进入低温 24 h 内排泄速率以及数量。

1.3　数据统计与分析

测定结果采用 SPSS 软件对数据进行处理，采用最小显著差法（Least significant difference，LSD）对转基因水稻和与其对应的非转基因亲本水稻间存活率、繁殖率、体长、含水量、排泄数量和速率进行差异显著性分析。用成对样本 *t*-检验（Pared-samples *t*-Test）方法分析 5 种处理在不同温度下的差异。

2　结果与分析

2.1　20℃喂养试验

2.1.1　对白符跳虫存活率的影响　通过对白符跳虫在 20℃喂养 28 d 后的存活率观测结果（图 2）可知，白符跳虫存活率为 85.6%~92.6%，其中存活率最低的华恢 1 号与存活率最高的酵母组，显著低于酵母对照组（P=0.033<0.05），而与转 *cry2A* 基因水稻、转 *cry1C* 基因水稻和非转基因亲本水稻并无显著差异。3 种转 Bt 基因水稻品种中的存活率相对于非转基因亲本水稻品种中的存活率没有显著差异，说明 3 种转 Bt 基因水稻品种相对于非转基因亲本水稻，在 20℃28 d 喂养处理后对白符跳虫并没有不利影响。其中华恢 1 号中的存活率与酵母对照组中的存活率相比较出现了显著降低，可能是由于水稻本身不是白符跳虫理想食物引起。

2.1.2　对白符跳虫体长的影响　进一步观测了白

符跳虫在 20℃喂养 28 d 后的体长（图 3）表明，跳虫在明恢 63、华恢 1 号和转 *cry1C* 基因水稻 3 个品种中的体长没有显著差异，转 *cry2A* 基因水稻中的跳虫体长明显高于其他 3 个水稻品种。4 个水稻品种中的跳虫体长都显著小于对照组酵母。说明转 *cry2A* 基因水稻品种相对于其他 2 种转基因水稻和非转基因亲本水稻更有利于跳虫的生长，同时，也说明相对于非转基因亲本水稻，3 种转 Bt 基因水稻对白符跳虫的体长无不利影响。而对于理想食物酵母而言，4 种水稻品种都能显著降低白符跳虫的体长。

2.1.3 对白符跳虫繁殖率的影响 白符跳虫在 20℃喂养 28 d 后，跳虫在 3 种转 Bt 基因水稻和非转基因亲本水稻中的繁殖率无明显差异，但对照组酵母中的繁殖率显著高于 4 个水稻品种（图 4）。说明 3 种转 Bt 基因水稻相对于非转基因亲本水稻，对白符跳虫的存活率无负影响。相对于对照组酵母，4 种水稻品种都能显著降低白符跳虫的繁殖率。

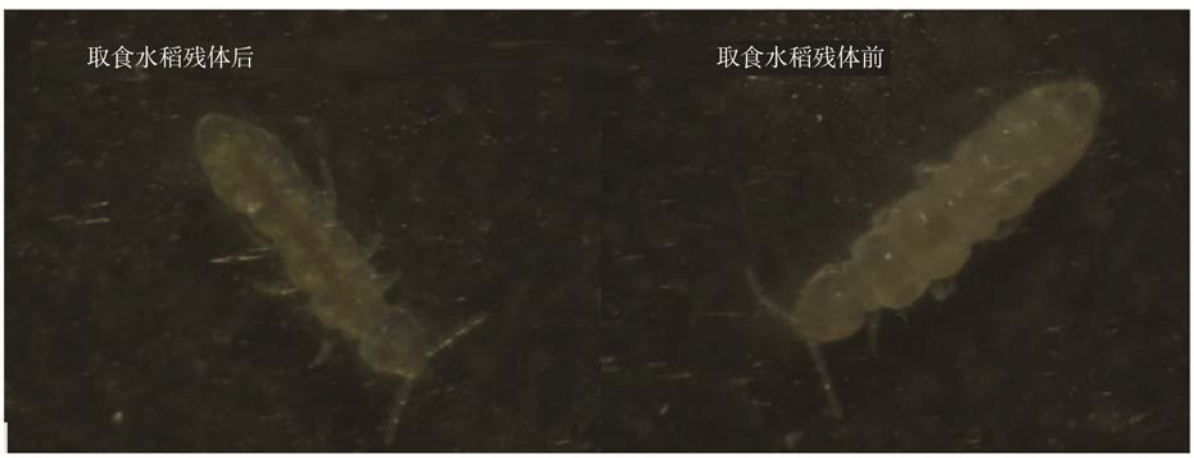


图 **1** 白符跳虫取食水稻残体前后肠道颜色变化

Fig. 1 ***Folsomia candida*'s body color change in the gut after feeding rice residue**

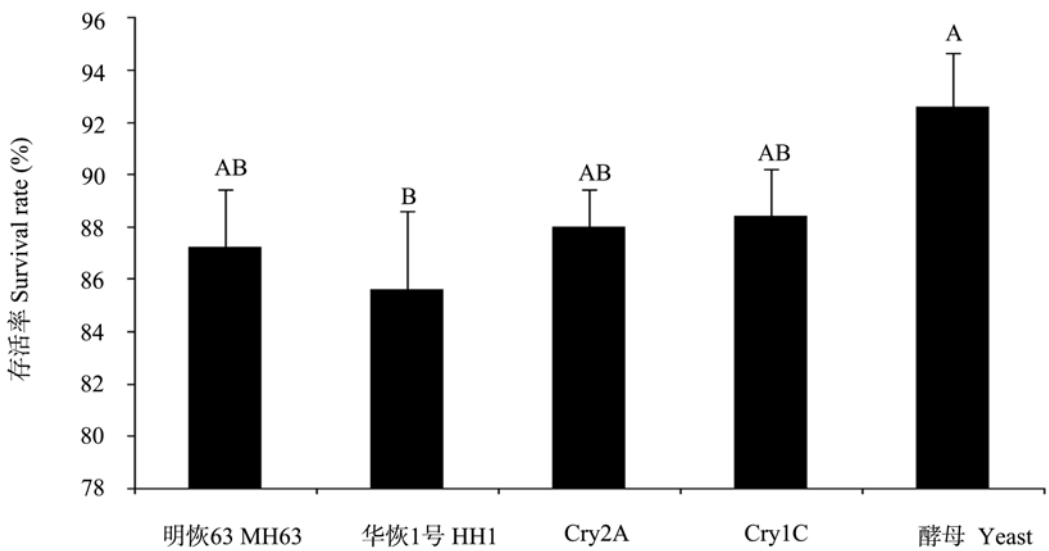


图 2　20℃下喂养 28 d 后白符跳虫存活率

Fig. 2　The survival rate of *Folsomia candida* after feeding 28 days at 20　℃

柱上标有不同字母表示白符跳虫在 3 种转 Bt 水稻和非转基因亲本水稻中的存活率在 $P < 0.05$ 水平上与酵母有差异显著。下图同。

Histograms with different letters show survival rate of *F. candida* fed Bt rice and non-Bt rice significant different at 0.05 level. The same below.

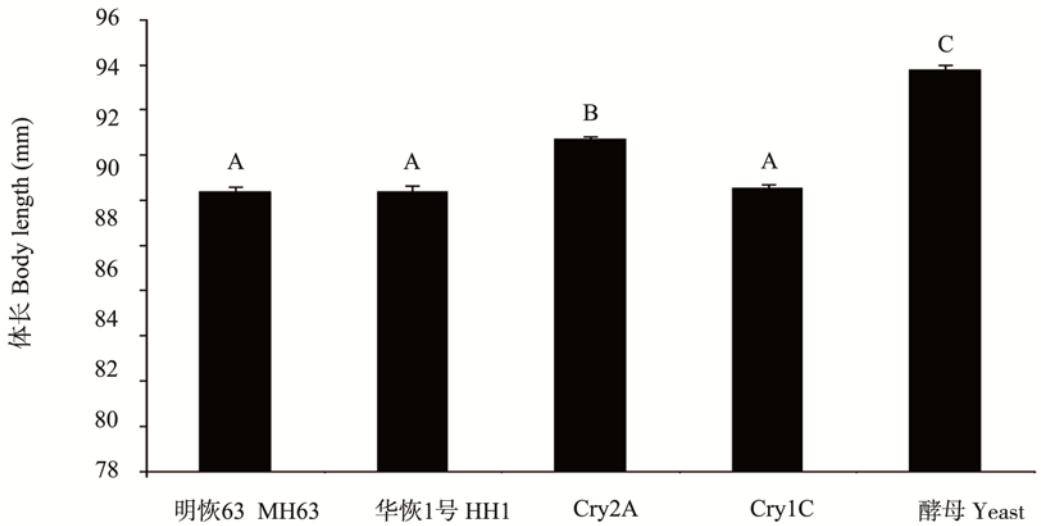


图 3　20℃下喂养 28 d 后白符跳虫体长

Fig. 3　The body length of *Folsomia candida* after feeding 28 days at 20℃

2.2　阶梯低温处理试验

2.2.1　阶梯低温对白符跳虫存活率的影响　通过阶梯低温对白符跳虫存活率影响的结果（图 5）显示，在 5℃处理 28 d 之后非转基因亲本水稻品种明恢 63、转基因水稻华恢 1 号、转 *cry1C* 基因水稻中的存活率与酵母对照组中存活率相比有显著降低，但转 *cry2A* 基因水稻中的存活率与酵母对照组中存活率无明显差异。3 种转 Bt 基因水稻品种中的存活率都与非转基因亲本水稻品种华恢 1 号无差异，说明在 5℃处理 28 d 后 3 种转基因水稻品种相对于非转基因亲本水稻对存活率没有产生负作用。在 0℃处理 28 d 之后转 *cry2A* 基因水稻的存活率显著高于另外两种转 Bt 基因水稻品种转 *cry1C* 基因水稻和华恢 1 号中的存活率，而且转 *cry1C* 基因水稻中的存活率也明显低于酵母对照组中的存活率。3 组水稻品种中的存活率与非转基因亲本水稻明恢 63 中的存活率并无显著差异性。说明在 0℃处理 28 d 之后，不同的转 Bt 基因水稻之间会对白符跳虫的存活产生差异，但是相对于非转基因亲本水稻品种并无显著差异。产生差异的原因可能是由于插入

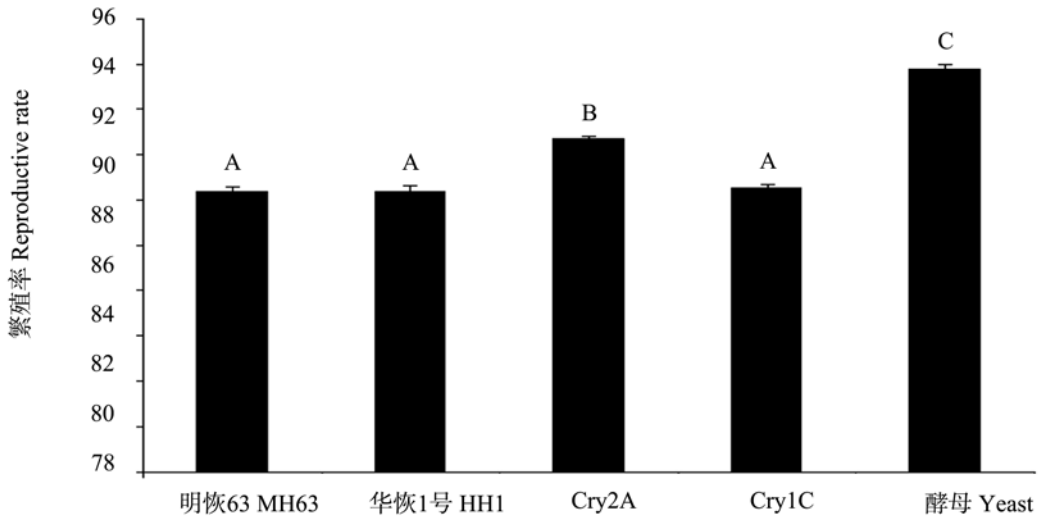


图 4 20℃下喂养 28 d 后白符跳虫繁殖率

Fig. 4 The reproductive rate of *Folsomia candida* after feeding 28 days at 20℃

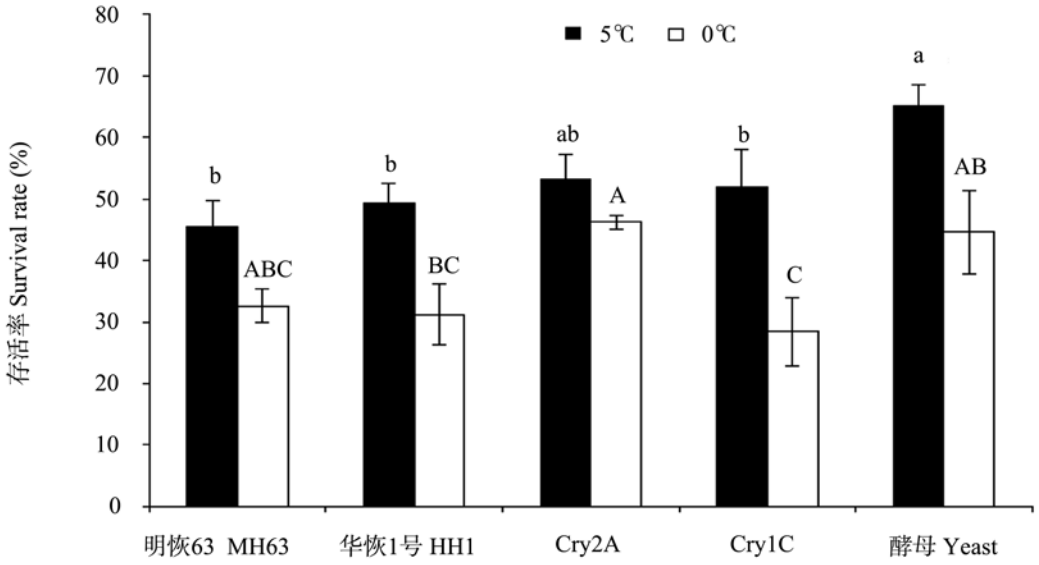


图 5 阶梯低温处理 28 d 后白符跳虫的存活率

Fig. 5 The survival rate of *Folsomia candida* after ladder cryogenic treated 28 days

Bt 基因引起了植物成分间的不同而引起。通过成对样本 *t*-检验的方法发现，5℃和 0℃的酵母对照组中的存活率出现了显著差异性，各水稻品种处理的 5℃和 0℃的存活率均无显著差异。在

* 资助项目：转基因生物新品种培育重大专项（2012ZX08011002）

**E-mail: youngx0311@foxmail.com

***通讯作者，E-mail: tieguang@21cn.com

收稿日期：2014-08-21，接受日期：2014-09-02

–5℃处理 28 d 后，未发现有存活的跳虫，可能在冰点以下暴露在土表层使跳虫无法存活，也可能是因为水分结冰干旱致死。

2.2.2　阶梯低温对白符跳虫体长的影响　在 5℃处理 28 d 后，转 Bt 基因水稻华恢 1 号处理中白符跳虫虫体体长显著小于酵母对照组中白符跳虫虫体体长，转 *cry2A* 基因水稻、转 *cry1C* 基因水稻和非转基因亲本水稻明恢 63 中白符跳虫虫体体长都无明显差异（图 6），说明转 Bt 基因水稻在 5℃下相对于非转基因亲本水稻对白符跳虫的体长无影响。在 0℃下 28 d 后，3 种转 Bt 基因水稻、非转基因亲本水稻以及酵母中的白符跳虫虫体体长无明显差异。通过配对样本 *t*-检验的方法发现，5℃和 0℃处理 28 d 之后的白符跳虫虫体体长无显著差异。

2.2.3　24 h 肠道清空试验　5℃、0℃白符跳虫 24 h 肠道清空数量（图 7）表明，将取食 7 d 后的白符跳虫放入 5℃、0℃低温 24 h 后 3 种转 Bt 基因水稻和非转基因亲本水稻品种处理之间肠道清空数量并无明显差异。在 20℃常温 24 h 后 4 个水稻品种之间白符跳虫的肠道均无出现清空现象。说明在 5℃和 0℃低温环境下有促进肠道内容物清空作用。

2.2.4　24 h 肠道速率试验　24 h 肠道速率试验结果如图 8 所示。在 5℃低温下 4 个水稻品种和酵母对照组对白符跳虫的排泄物排出相对于 20℃都具有明显的促进作用，而在 0℃下相对于 20℃均有抑制作用。白符跳虫在 0℃、5℃低温环境下排泄数量在 12 h 内都有不断增加的现象，但在 5℃环境中排泄数量明显多于 0℃环境中的排泄数量。而在 20℃常温环境中 24 h 内都有出现排泄数量上升趋势，在 12 h 后逐渐与 5℃低温环境中排泄数量接近甚至超越，与 0℃低温环境中的排泄数量相比则相反。

在 5℃低温环境下排泄速率在 0~3 h 时间段为最快，排泄速率分别为：明恢 63：9.4 个/3h、华恢 1 号：10 个/3h、转 *cry1C*：11.6 个/3h、转 *cry2A*：17.6 个/3h、酵母：15 个/3h。转 *cry2A* 基因水稻品种处理后的最快排泄速率与明恢 63、华恢 1 号和转 *cry1C* 基因水稻品种处理后的最快排泄速率成显著性差异（*P* 值分别为：

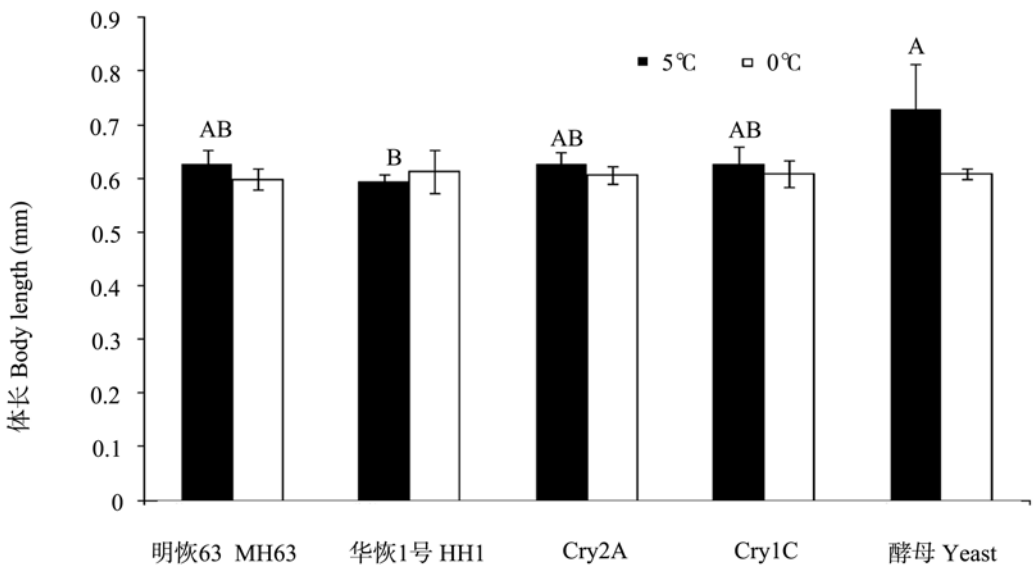


图 6 低温处理 28 d 后白符跳虫虫体体长

Fig. 6 The reproductive rate of *Folsomia candida* after low temperature treated 28 days

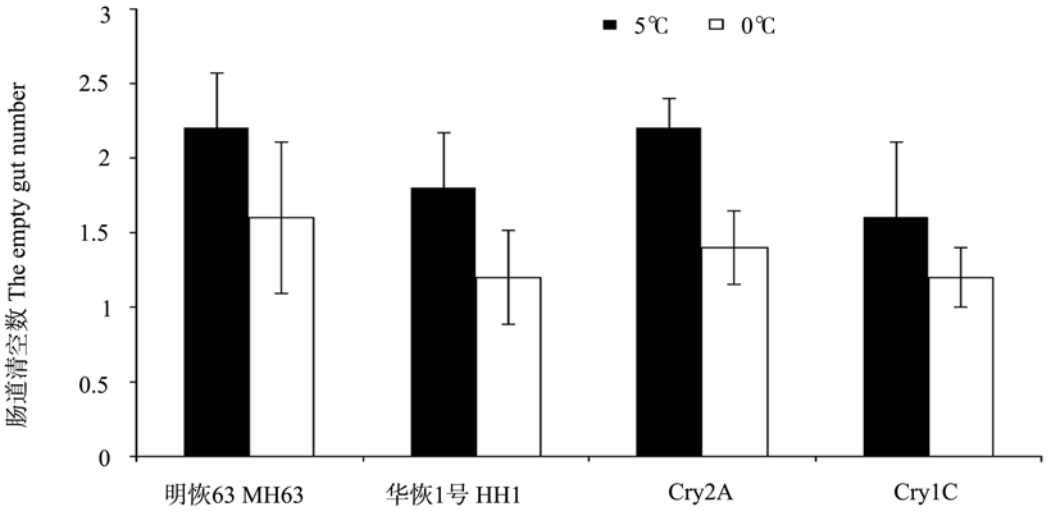


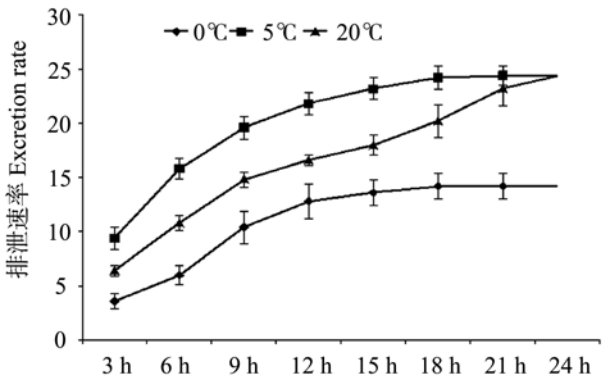
图 7 5℃、0℃白符跳虫 24 h 肠道清空数量

Fig. 7 The empty gut number of *Folsomia candida* in 5℃, 0℃ after 24 hours

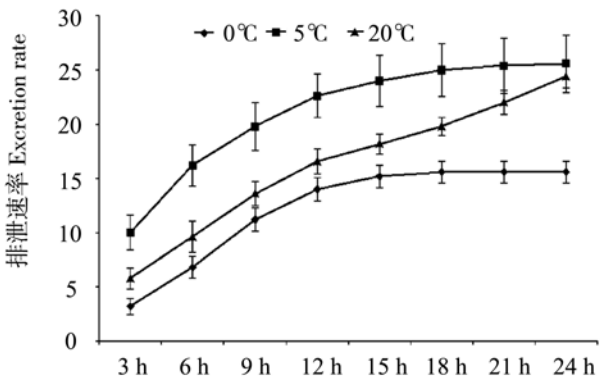
P=0.004、*P*=0.007、*P*=0.029），而与酵母处理后的最快排泄速率无显著性差异（*P*=0.319 > 0.05），酵母处理与明恢 63 处理后的最快排泄速率呈显著差异（*P*=0.04）。在 0℃低温环境下排泄速率则是在 6~9 h 时间段为最快，排泄速率分别为：明恢 63：4 个/3h、华恢 1 号：4.4 个/3h、转 *cry1C*：4.8 个/3h、转 *cry2A*：5.2 个/3h、酵母：6.8 个/3h。3 个转基因水稻品种和一个非转基因亲本水稻品种以及酵母对照组处理后的最快排泄速率之间均无显著性差异（*P* > 0.05）。20℃常温环境下的排泄速率同样也是在 0~3 h 时间段为最高，排泄速率分别为：明恢 63：6.4 个/3h、华恢 1 号：5.8 个/3h、转 *cry1C*：6.2 个/3h、转 *cry2A*：6.2 个/3h、酵母：7 个/3h。4 个水稻品种和酵母对照组之间的排泄速率并无显著差异性（*P* > 0.05）。说明在 5℃低温环境和 0℃低温环境下白符跳虫排泄反应时间段不同，而且转 *cry2A* 基因水稻品种在 5℃低温环境下的最快排泄速率明显大于另外两种转基因水稻品种以及非转基因亲本水稻品种，而与酵母对照组相比只有非转基因品种明恢 63 出现显著降低，证明 3 种转 Bt 基因水稻相对于非转基因亲本水稻品种以及酵母对照组对白符跳虫在低温环境下的排泄均无不利影响。

在 5℃和 0℃低温环境下白符跳虫的排泄数量在 12 h 内不断增加，之后趋于稳定。在 5℃低温环境下 12 h 内白符跳虫平均排泄数量分别为：明恢 63：21.6 个、华恢 1 号：22.6 个、转 *cry1C*：19.8 个、转 *cry2A*：34.4 个、酵母：28.8 个。转 *cry2A* 基因水稻品种处理的 12 h 排泄数量显著多于另外两种转 Bt 基因水稻品种和非转基因亲本水稻品种（*P* < 0.05），与酵母对照组无显著差异（*P* > 0.05）。而明恢 63 和转 *cry1C* 基因水稻品种相对于酵母对照组中的排泄数量均出现显著减少（*P*=0.037、*P*=0.011），但这两种水稻品种之间无显著差异性（*P* > 0.05）。在 0℃低温环境下 12 h 内白符跳虫平均排泄数量分别为：明恢 63：12.8 个、华恢 1 号：14 个、转 *cry1C*：

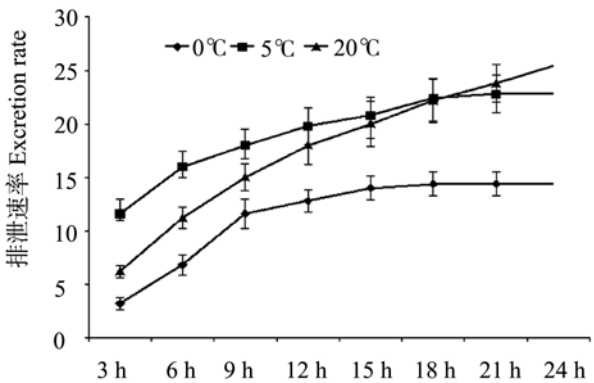
13.2 个、转 *cry2A*：15.6 个、酵母：15.2 个。3 种转 Bt 基因水稻品种和非转基因亲本水稻品种以及酵母对照组之间在 12 h 内的平均排泄数量并无显著差异性。说明在 5℃低温环境下 3 种转 Bt 基因水稻品种相对于非转基因亲本水稻品种在 12 h 内平均排泄数量没有不利影响，但相对于酵母对照组在 12 h 内排泄数量，转 *cry1C* 基因水稻品种存在负作用。而在 0℃低温环境下转 Bt 基因水稻相对于非转基因亲本水稻和酵母对照组中 12 h 平均排泄数量无不利影响。



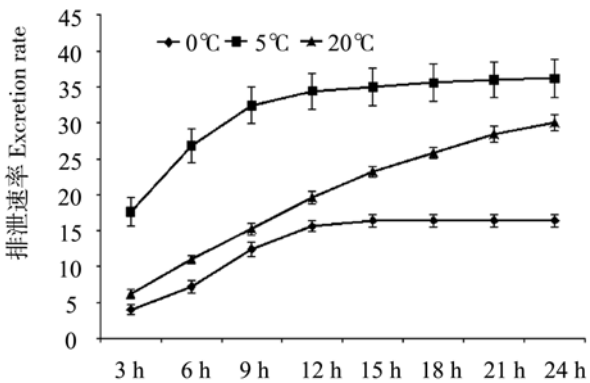
明恢 63 处理 Feeding MH63



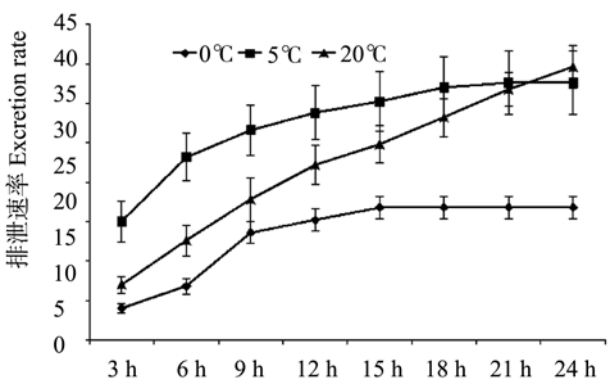
华恢 1 号处理 Feeding HH1



转 *cry1C* 处理 Feeding *cry1C* rice



转 *cry2A* 处理 Feeding *cry2A* rice



酵母处理 Feeding yeast

图 **8** 不同处理后白符跳虫 **24 h** 排泄速率
Fig. 8 The excretion rate of *Folsomia candida* after different treatments

3 讨论

非靶标生物灰飞虱在对转 *cry2A* 基因水稻、转 c*ry1C* 基因水稻及其非转基因亲本水稻“明恢 63”选择性取食试验中通过其对水稻取食刺痕数目发现：在转 *cry2A* 基因水稻、非转基因亲本水稻“明恢 63”基部的刺痕数目显著低于转 c*ry1C* 基因水稻基部刺痕数目。在水稻中部和上部的刺痕数目没有明显差异。同时，通过观察 24 h 灰飞虱排泄的蜜露量并未发现差异性（张岚等，2011)。本研究发现，在 20℃常温饲养白符跳虫 28 d 后，转 *cry2A* 基因水稻品种中的跳虫虫体体长显著大于另外两种转 Bt 基因水稻品种及其非转基因亲本水稻品种，但都显著小于酵母对照组中的跳虫虫体体长。而 3 种转 Bt 基因水稻品种中的存活率与非转基因亲本水稻品种中的存活率相比无显著差异性，但华恢 1 号中的存活率相对于酵母对照组出现了显著降低。

非靶标生物灰飞虱在转 *cry2A* 基因水稻、转 c*ry1C* 基因水稻及其非转基因亲本水稻明恢 63 中的羽化率的研究发现，转 *cry2A* 基因水稻中的羽化率显著高于转 c*ry1C* 基因水稻中的羽化率，但是这两种转 Bt 基因水稻中的羽化率都与非转基因亲本水稻无显著差异。灰飞虱对转 *cry2A* 基因水稻的种群适合度显著高于非转基因亲本水稻明恢 63，而转 c*ry1C* 基因水稻却显著低于亲本水稻（张岚等，2011)，转 *cry2A* 基因水稻和转 c*ry1C* 基因水稻对黑尾叶蝉的若虫期、产卵前期、产卵持续时间以及产卵量等均出现了差异（王伟，2012）。本研究同样也在 5℃低温下处理 28 d 后观察到，转 *cry2A* 基因水稻中的白符跳虫存活率显著高于转 c*ry1C* 基因水稻中的存活率，华恢 1 号中的跳虫虫体体长也显著低于酵母对照组中跳虫虫体体长，但白符跳虫在 3 种转 Bt 基因水稻品种中的低温下存活率和虫体体长相对于非转基因亲本水稻品种并无显著变化。不同 Bt 基因的插入引起的植物自身变化对非靶标生物能产生影响，这可能是品种差异引起。

王伟（2012）认为通过非靶标生物对转 Bt 基因水稻的取食后产生的排泄物数量一直是一种用以评价水稻品种安全性的重要指标，研究非靶标害虫黑尾叶蝉对转 *cry2A* 基因水稻、转 c*ry1C* 基因水稻及其非转基因亲本水稻“明恢 63”的选择性取食试验中发现，在短时间内会出现差异性，长时间后差异性消失，说明这两种转 Bt 基因水稻对黑尾叶蝉的选择性取食行为并无影响。同时，通过 24 h 对黑尾叶蝉的排泄蜜露量进行分析得到，转 *cry1C* 基因水稻上的蜜露量明显低于非转基因亲本水稻“华恢 63”但与转 *cry2A* 基因水稻上的蜜露量无显著差异。本研究在 5℃低温环境下白符跳虫 24 h 排泄速率发现，转 *cry2A* 品种水稻中的最快排泄速率和 12 h 内平均排泄数量都显著高于另外两种转 Bt 基因水稻品种以及非转基因亲本水稻品种。这可能是由于转 *cry2A* 基因水稻的分解更快从而引起白符跳虫对转 *cry2A* 基因水稻残体取食更适。

非靶标生物在转基因作物环境下虽无致死性，但还是会受到转基因作物与非转基因作物间的差异而产生变化。如 Yuan 等（2011）发现 Bt 汕优 63 和汕优 63 处理、克螟稻和秀水稻处理的白符跳虫 T-SOD 活性有显著升高。吴刚等（2012）研究表明转 Bt 基因水稻华恢 1 号相比

其亲本水稻明恢 63 能显著减少尖棱甲螨科尖棱甲螨属螨类种群数量。Hönemann 等（2009）观察到转 *cry1Ab* 玉米中线蚓的存活率明显高于亲本非转基因玉米，而繁殖率却明显降低；Höss 等（2008）指出秀丽隐杆线虫在转 *cry1Ab* 玉米的根际土壤中的繁殖和生长比同源非转基因中的有明显减少而且与土壤中 Bt 蛋白 Cry1Ab 的浓度显著相关。Karuri 等（2013）认为转 *cry1Ac* 和 *cry2Ab2* 的 Bt 棉中食菌线虫的丰富度明显提高。插入不同 Bt 基因后植物产生的变化是转 Bt 基因作物对生态安全性的重要研究内容之一，本研究中在不同转 Bt 基因水稻品种对白符跳虫在低温下排泄速率和排泄数量产生了不同的影响，但相对于非转基因亲本品种水稻都无负作用。

终上所述，本研究以同一非转基因亲本水稻的 3 种转 Bt 基因水稻叶片残体饲养白符跳虫后放入低温环境，观察其存活率以及粪便排泄速率以分析白符跳虫对 Bt 水稻的取食选择行为。结果表明，转 Bt 基因水稻品种相对于其非转基因亲本水稻品种并不会影响白符跳虫适应低温环境，可为评估转 Bt 水稻对土壤生态系统影响提供参考价值，为转 Bt 水稻安全性评价提供科学的依据。

参考文献 (References)

Bakonyi G, Szira F, Kiss I, 2006. Preference tests with collembolas on isogenic and Bt-maize. *Eur. J. Soil Biol.* , 42: S132–S135.

Betz FS, Hammond BG, Fuchs RL, 2000. Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis*-protected plants to control insect pests. *Reg. Tox. Pharm*., 32(2): 156–173.

Chernova NM, Balabina IP, Ponomareva ON, 1995. Changes in population growth rate of springtails (Collembola) under the influence of herbicides. *Pol. Pis. Entomol*., 64: 91–98.

Denlinger DL, Lee RE, 2010. Low Temperature Biology of Insects. Cambridge: Cambridge University Press. 1–406.

Hönemann L, Nentwig W, 2009. Are survival and reproduction of *Enchytraeus albidus* (Annelida: Enchytraeidae) at risk by feeding on Bt-maize litter? *Eur. J. Soil. Biol*. , 45(4): 351–355.

Höfte H, Whiteley HR, 1989. Insecticidal Crystal Proteins of *Baillus thuringiensis*. *Microbiol. Rev.*, 53(2) :242–255.

Icoz I, Stotzky G, 2008. Fate and effects of insect-resistant Bt crops in soil ecosystems. *Soi. Biol. Biochem*., 40(3): 559–586.

Karuri HW, Amata RL, Amugune NO, Waturu CN, 2013. Nematode diversity in soil from a field trial with decomposing Bt cotton expressing Cry1Ac and Cry2Ab2 protein. *Spa. J. Agr. Res*., 1(4): 968–979.

Qiu J, 2008. Agriculture: is China ready for GM rice? *Nature (Lond.)*, 455(7215): 850–852.

Sabatini MA, Innocenti G, 2001. Effects of Collembola on plant-pathogenic fungus interactions in simple experimental systems. *Biol. Fert. Soils*, 33(1)：62–66.

Wandeler H, Bahylova J, Nentwig W, 2002 . Consumption of two Bt and six non-Bt corn varieties by the woodlouse *Porcellio scaber* Bas. *Appl. Ecol.*, 3(4): 357–365.

Worland MR, Block W, 2003. Desiccation stress at sub-zero temperatures in polar terrestrial arthropods. *J. Insect Physiol.*, 49(3): 193–203.

Yuan Y, Xiao N, Krogh PH, Chen F, Ge F, 2013. Laboratory assessment of the impacts of transgenic Bt rice on the ecological fitness of the soil non-target arthropod, *Folsomia candida* (Collembola: Isotomidae). *Transgenic Res*., 22(4): 791–803.

Yuan Y, Krogh PH, Bai X, Roelofs D, Chen FJ, Zhu-Salzman K, Liang Y, Sun Y, Ge F, 2014. Microarray detection and qPCR screening of potential biomarkers of *Folsomia candida* (Collembola: Isotomidae) exposed to Bt proteins(Cry1Ab and Cry1Ac). *Environ. Pollut.*, 184: 170–178.

Yuan Y, Xiao N, Krogh PH, Chen F, Ge F, 2013. Laboratory assessment of the impacts of transgenic Bt rice on the ecological fitness of the soil non-target arthropod, *Folsomia candida* (Collembola: Isotomidae). *Transgenic Res*., 22(4): 791–803.

Yuan Y, Ke X, Chen F, Krogh PH, Ge F, 2011. Decrease in catalase activity of *Folsomia candida* a Bt rice diet. *Environ. Pollut.*, 159(12): 3714–3720.

白耀宇, 蒋明星, 程家安, 2005. 转 Bt 基因水稻对两种弹尾虫及尖钩宽龟蝽捕食作用的影响. 昆虫科学, 48(1):42-47. [BAI YY, JIANG MX, CHENG JA, 2005. Impacts of transgenic cry1Ab rice on two collembolan species and predation of *Microvelia horvathi* (Hemiptera: Veliidae). *Acta Entomologica Sinica*, 48(1) :42-47.]

白耀宇, 蒋明星, 程家安, 王敦, 2006. 转 Bt cry1Ab 基因水稻对稻田弹尾虫种群数量的影响. 应用生态学报, 17(5): 903–906. [BAI YY, JIANG MX, CHENG JA, WANG D, 2006. Effects of transgenic Bt cry1Ab rice on collembolan population in paddy

field. *Chinese Journal of applied ecology*, 17(5) :903-906.]

陈建秀, 麻智春, 严海娟, 张峰, 2007. 跳虫在土壤生态系统中的作用. 生物多样性, 15(2): 154–161. [CHEN JX, MA ZC, YAN HJ, ZHANG F, 2007. Roles of springtails in soil ecosystem. *Biodiversity Science*, 15(2) :154-161.]

黄玉梅, 2004. 土壤动物群落多样性研究进展. 西部林业科学, 33(3): 63–68. [HUANG YM, 2004. Research Progress on Community Diversity of Soil Invertebrate. *Journal of West China Forestry Science*, 33(3) :63-68.]

李黎红, 叶卫军, 郭龙彪, 2012. 我国转基因水稻研究进展和商业化前景分析. 中国稻米, 18(6): 1–4. [LI LH, YE WJ, GUO LB, 2012. Research progress and Analysis on the prospects of commercialization of transgenic rice research in China. *China Rice*, 18(6) :1-4.]

李修强, 陈法军, 刘满强, 胡峰, 2012 . 转 Bt 水稻对土壤可溶性有机碳氮及微生物学性质的影响. 应用生态学报, 23(1): 96–102. [LI XQ, CHEN FJ, LIU MQ, HU F, 2012. Effects of transgenic Bt rice on soil dissolved organic carbon and nitrogen contents and microbiological properties. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 23(1) :96-102.]

王伟, 2012. 转 Cry2A 和 Cry1C 基因水稻对非靶标害虫黑尾叶蝉生态适合度影响的评价. 硕士学位论文. 浙江: 浙江大学. [WANG W, 2012. Biological assessments of transgenic cry2A and cry1C rice on ecological fitness of non-target insect green leafhopper. Master Dissertation, Zhejiang University.]

肖能文, 戈峰, 刘向辉, 2005. Bt 毒蛋白 Cry1Ac 在人造土壤中对赤子爱胜蚓毒理及生化影响. 应用生态学报, 16(8): 1523–1526. [XIAO NW, GE F, LIU XH, 2005. Effects of Bt toxin Cry1Ac on biochemical responses of *Eisenia fetida* in an artificial soil. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 16(8) :1523-1526.]

袁一杨, 戈峰, 2010. 转 Bt 基因作物对非靶标土壤动物的影响. 应用生态学报, 21 (5): 1339–1345. [YUAN YY, GE F, 2010. Effects of transgenic Bt crops on non-target soil animals. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 21(5) :1339-1345.]

张岚, 林克剑, 李飞, 侯茂林, 2011. 转 Cry1C 和 Cry2A 不同抗虫基因水稻品种对非靶标害虫灰飞虱生物学特性的影响. 植物保护, 37(6): 120–125. [ZHANG L, LIN KJ, LI F, HOU ML, 2011. The biology effects of transgenic rice varieties with cry1C and cry2A on the non-target insect pest *Laodelphax striatellus*. *Plant Protection*, 37(6) :120-125.]

周永学, 刘宁, 赵曼, 李河, 周浪, 唐宗文, 曹裴, 李巍, 2011. 转 Bt 基因作物释放杀虫晶体蛋白对土壤生态安全的影响. 遗传, 33(5): 443–448. [ZHOU YX, LIU N, ZHAO M, LI H, ZHOU L, TANG ZW, CAO F, LI W, 2011. Advances in effects of insecticidal crystal proteins released from transgenic Bt crops on soil ecology. *Hereditas*, 33(5) :443-448.]

吴刚, 李俊生, 肖能文, 戈峰, 刘向辉, 2012. 转 Bt 基因水稻对土壤跳虫、线虫和螨类种群数量的影响. 湖北植保, 5: 6–9. [WU G, LI JS, XIAO NW, GE F, LIU XH, 2012. Effects of transgenic Bt rice on collembolan, nematode and mite population. *Hubei Plant Protection*, 133(5) :6-11.]