

抗虫转基因植物对非靶标节肢动物生态影响的研究进展

王园园, 李云河, 陈秀萍, 武红巾, 彭于发

中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193

摘要: 重组 DNA 技术的发展为培育高效的抗虫作物提供了前所未有的便利条件。通过转基因技术, 全世界已培育出众多转基因抗虫植物品种。其中, 表达苏云金芽孢杆菌(*Bt*)基因的作物品种如 *Bt* 棉花和 *Bt* 玉米已在很多国家大规模种植, 在害虫控制方面发挥了重要的作用。转基因抗虫作物可能带来的生态风险问题, 如对农田非靶标节肢动物的潜在影响, 一直受到相关研究者及民众的广泛关注。至今, 已有大量研究论文发表。本文在总结、归纳前人研究的基础上, 阐述了从实验室到田间多层次评价转基因抗虫作物对非靶标生物影响的一般研究程序和方法, 并简要综述了 *Bt* 玉米和 *Bt* 棉花 2 种已商业化种植的转基因抗虫作物对农田非靶标节肢动物生态影响的研究进展。现有研究表明: 当前种植的 *Bt* 作物所表达的 Cry 蛋白杀虫专一性非常强, 对农田非靶标节肢动物没有毒性; 且 *Bt* 作物的利用降低了广谱化学杀虫剂的施用量, 从而提高了非专一性害虫天敌的种群密度, 加强了对害虫的控制, 并有效地保护了生态环境和农民健康。因此, *Bt* 作物可以作为害虫综合防治(IPM)的一个策略, 结合其他防治措施可加强对害虫的有效控制。

关键词: 风险评价; 非靶标影响; *Bt* 玉米; *Bt* 棉花; 综合防治

Progress in the assessment of ecological effects of insect-resistant plants on non-target arthropods

Yuan-yuan WANG, Yun-he LI, Xiu-ping CHEN, Hong-jin WU, Yu-fa PENG

State Key Laboratory for Biology of Plant Disease and Insect Pests, Institute of Plant Protection,

Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing 100193, China

Abstract: Development of recombinant DNA technology has resulted in creating several lines of insect-resistant crop plants. Various crops expressing Cry toxins derived from *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) have been grown on a wide scale in the world, and they are playing an important role in pest control. However, one ecological concern regarding the potential effects of insect-resistant GE plants on non-target organisms (NTOs) has been continued to be debated. An increasing body of laboratory and field studies is now available on this topic. By summarizing previous research, we here briefly elaborated the general procedure for assessing non-target effects of insect-resistant GE plants, and analyzed the potential effects of *Bt* maize and *Bt* cotton on non-target arthropods. The results indicated that the currently available *Bt* crops rarely had direct, acute toxicity on non-target arthropods. In addition, the use of *Bt* maize and *Bt* cotton often resulted in reductions of insecticide application, thus increasing the abundance of at least some beneficial insects and improving their potential to provide natural control of specific pests at a reduced damage to the environment. Consequently, *Bt* crops can be a useful component of IPM systems to protect these crops from some targeted pests.

Key words: risk assessment; non-target effect; *Bt* maize; *Bt* cotton; IPM

在害虫综合防治(IPM)技术中, 利用传统育种方法发展抗虫作物, 如小麦、玉米、水稻、苜蓿等, 曾发挥了巨大的作用(Dhaliwal & Singh, 2005), 主要体现在减少农药施用量、保护生态环境、降低投入、增加农民收入等方面(Barfoot & Brookes, 2010)。据估计, 在美国, 抗虫小麦的利用每年可以为农民

增加 1.9 亿美元的收入(Smith, 2005)。但是, 利用传统育种方法获得抗性品种有很大局限性。第一, 抗性基因的转移仅限于异花授粉的植物物种之间; 第二, 一些自然发生的抗性基因仅限于目标植物的远源物种或近缘野生物种, 几乎没有可能或很难有效地把这些基因通过异花授粉方式转入目标植物,

并使其稳定遗传和表达;第三,难以获得较高的抗虫特性。另外,传统育种过程非常复杂、费时费力。

基因重组技术(recombination DNA technology)的出现,使作物育种更简单、快捷。1987年Vaeck *et al.*首次将土壤苏云金杆菌*Bacillus thuringiensis*杀虫蛋白基因导入烟草,获得具有抗烟草天蛾*Manduca sexta* L.的转基因Bt烟草品系。自此,转基因生物技术得到了突飞猛进的发展,许多编码杀虫蛋白(如Cry蛋白、蛋白酶抑制剂和植物凝集素等)的抗虫基因被转入不同植物中(Malone *et al.*, 2008)。自1996年转基因Bt作物在美国首次商业化种植以来,转基因抗虫作物在全球的种植面积持续快速增长(James, 2010)。转Bt抗虫植物的种植能有效减少广谱化学杀虫剂的施用,保护人类健康和生态环境平衡(Barfoot & Brookes, 2010)。例如,Bt棉花在美国商业化种植后,用于控制棉花害虫的杀虫剂施用次数从平均每年4.6次(1992~1995年)下降到0.8次(1999~2001年)(FAOUN, 2004)。在我国,Bt棉花的种植使棉田农药总施用量下降了60%~80%(Fit, 2004)。

转基因抗虫植物的利用是作物害虫防治技术的一次巨大绿色变革。然而,像其他害虫防治措施一样,其为人类带来利益的同时,也可能会对环境造成潜在的生态风险。转基因抗虫作物的环境风险问题主要包括杂草性问题、基因漂移、非靶标生物影响、靶标害虫抗性进化、对生物多样性的影响等。近20年来,国内外已开展了大量的实验室和田间试验,来评价转基因抗虫植物对生态环境的潜在风险。其中,转基因抗虫作物的非靶标生物影响一直是相关研究者关注的焦点(Romeis *et al.*, 2008; Wolfenbarger *et al.*, 2008),研究工作主要集中在对农田生态体系发挥重要功能的害虫天敌(捕食者和寄生者)、传粉者(蜜蜂和蝴蝶)和经济昆虫(家蚕)等方面。因此,在任何转基因作物商业化利用之前都必须通过系统深入的环境安全性评价(Romeis *et al.*, 2008; 彭于发等, 2008)。本文就评价转基因作物对农田有益节肢动物影响方面的试验方法、程序和技术做简要概括和分析,并对当前已经商业化种植的2例转基因抗虫作物(Bt玉米和Bt棉花)的非靶标生物影响方面的研究进行综合分析和探讨,以期为我国相关科研工作者提供参考,并为完善我国的转基因作物风险评价理论及

风险管理方法提供依据。

1 风险评价一般原理

风险是由危险和实现这种危险的可能性组成的,两者缺一,风险就不能确立。因此,风险评价就是鉴定某个危险对人类或环境的危害性及该危害发生的可能性(Garcia-Alonso *et al.*, 2006)。具体到评价转基因抗虫作物的非靶标生物影响,就是鉴定转基因表达的杀虫蛋白对该生物的毒性(toxicity)和该生物暴露(exposure)于杀虫蛋白的途径和程度,然后根据2个方面的研究数据综合分析转基因作物的种植对该非靶标生物产生的生态后果(Dutton *et al.*, 2003; Garcia-Alonso *et al.*, 2006; Romeis *et al.*, 2008)。

1.1 杀虫蛋白对非靶标生物的毒性鉴定

研究转基因作物外源杀虫蛋白对某生物的毒性,先要收集现有信息,弄清杀虫蛋白的作用方式、毒理特性(如引起生物死亡和延迟发育等),确定潜在的敏感生物和外源杀虫蛋白可能的释放环境等因素。根据这些信息,设计合适的试验方法,选择具有代表性的受试生物,确立受试生物在生测体系中暴露于杀虫蛋白的时间以及选择合适的评价指标(assessment endpoints)等(USEPA, 2007; Romeis *et al.*, 2008)。例如,不同的Bt蛋白作用机制可能有所不同,但其毒理特性基本一致。通过综合分析现有数据,就可以选择合适的受试生物,制定合适的试验方案。

1.2 非靶标生物暴露于杀虫蛋白的程度鉴定

鉴定非靶标节肢动物暴露于外源杀虫蛋白的途径和程度是一个复杂的过程,需要综合考虑和评价抗虫转基因作物的生理生化、遗传特性、生存环境及其与非靶标生物的直接和间接关系等因素(USEPA, 2007)。一个非靶标生物暴露于植物外源杀虫蛋白的程度取决于其所接触杀虫蛋白的浓度、时间和频率。非靶标生物暴露于转基因植物表达的外源杀虫蛋白的途径有直接和间接2种方式。直接方式如通过直接取食转基因植物组织(Li *et al.*, 2008);间接方式如害虫天敌(捕食者和寄生者)通过捕食和寄生取食过转基因作物组织的植食性害虫等(Li & Romeis, 2010)。因此,评价非靶标生物暴露于转基因植物外源杀虫蛋白的程度,不但要弄清杀虫蛋白在转基因植物组织中的时空表达

模式、表达浓度和所释放的环境,还要弄清楚这些外源杀虫蛋白在环境中的传递、降解、累积、存在方式和状态 (Li *et al.*, 2007; Zurbrügg & Nentwig, 2009),以及目标生物的生物学特性。

2 分层次的评价程序

目前,在研究转基因植物对非靶标生物的影响方面,被风险评价工作者和相关转基因植物管理部

门广泛接受的是分层次评价体系 (Garcia-Alonso *et al.*, 2006; Romeis *et al.*, 2008; USEPA, 2007)。简单地说,该研究体系就是先选择合适的受试生物,然后依次开展从实验室试验 (lower-tier) 到半田间试验 (middle-tier),再到田间试验 (higher-tier) 的分层次、分阶段进行的系统评价(图 1)。

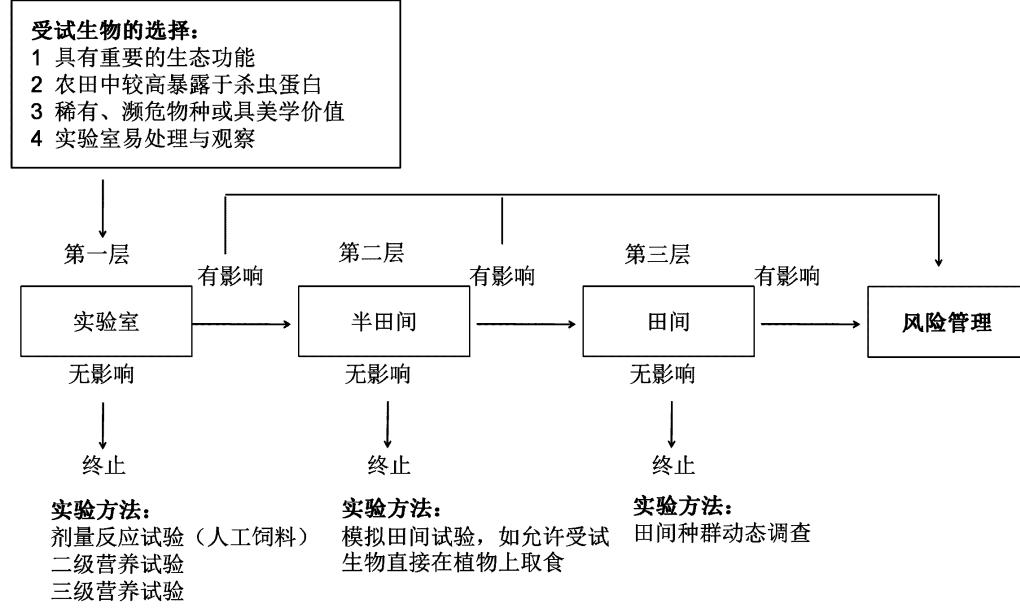


图 1 评价转基因抗虫作物对非靶标生物影响的一般程序

Fig. 1 General procedure for assessing the non-target effects of insect-resistant transgenic plants

2.1 非靶标受试生物的选择

农田有益节肢动物种类繁多,不可能对每个物种都进行安全性评价。因此,选择合适的具有农田生态和经济重要性的节肢动物物种作为指示生物 (indicator species) 是评价转基因植物非靶标生物影响的重要环节 (Romeis *et al.*, 2008)。选择指示性生物一般可遵循几个标准:(1)所选择的受试物种应该具有重要生态功能,如对害虫具有控制作用的天敌、传粉昆虫、土壤中的腐殖生物等;(2)具有美学价值和被鉴定为稀有或濒危的生物物种;(3)评价转基因植物对非靶标生物的影响,主要关注的是转基因植物表达的外源杀虫蛋白对某生物的直接毒性,因此,在农田系统中较多暴露于杀虫蛋白的非靶标生物更应该成为评价对象;(4)在试验操作中应具有便利性和可行性,一般来说,易于在实验室饲养、在试验中易处理和观察的非靶标生物应该被优先考虑作为指示性

生物 (USEPA, 2007; Romeis *et al.*, 2008)。

2.2 实验室试验

实验室试验的主要目的是研究转基因植物表达的杀虫蛋白对受试生物是否具有毒性。试验一般要求在可控的环境条件下进行,对试验设计要求较高,试验应该完全可以被重复 (Romeis *et al.*, 2011)。受试生物一般被暴露在比其在田间环境中实际接触的杀虫蛋白浓度高的条件下 (worst-case situation)。在生物测定试验中,研究者一般采用的杀虫蛋白剂量高于植物组织中最高表达浓度的 10 倍 (USEPA, 2001)。如有合适的人工饲料,一般采用将纯化后的杀虫蛋白加入人工饲料直接饲喂受试生物的方法进行试验 (Romeis *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2008; Duan *et al.*, 2008)。如果没有合适的人工饲料,可以考虑通过三级营养体系进行试验,即把高剂量的杀虫蛋白饲喂给受试生物的猎物或寄主,通过猎物或寄主把高浓度的杀虫蛋白传递给其

天敌(Dutton *et al.*, 2003; Chen *et al.*, 2008)。在这样的试验体系中,必须要弄清猎物或寄主传递给天敌的实际剂量和杀虫蛋白的生物活性状况。另外,研究中发现的负面影响可能是源于杀虫蛋白的直接毒性(direct toxicity),也可能是源于取食了杀虫蛋白的猎物或寄主营养质量下降(prey/host-mediated effect)(Dutton *et al.*, 2002; Hilbeck *et al.*, 1998; Romeis *et al.*, 2006)。因此,很多研究者建议选择对杀虫蛋白不敏感或已经产生抗性的昆虫作为猎物或寄主(Chen *et al.*, 2008; Li & Romeis, 2010)。

2.3 半田间试验

如果实验室试验能确定受试非靶标生物对转基因植物表达的杀虫蛋白不敏感,一般来说,评价工作可以就此终止;但如果检测到负面影响,或者对研究结论不完全确定,应该重新设计,开展更严格的实验室试验,或者进入下一个评价阶段,开展与大田环境接近的半田间试验(Dutton *et al.*, 2003; Romeis *et al.*, 2008、2011)。这类试验一般在玻璃室、网室等环境中进行。试验中,需要充分考虑受试生物在自然条件下实际暴露于杀虫蛋白的途径和程度,使试验结果更能体现自然实际情况。试验可以通过直接饲喂受试生物转基因植物组织如花粉(Li *et al.*, 2008)或取食过转基因植物的猎物或寄主(Li & Romeis, 2010; Álvarez-Alfageme *et al.*, 2011)的方式进行。研究中要弄清受试生物实际暴露于杀虫蛋白的浓度,一般通过生化试验手段(ELISA & Western-blotting)追踪和鉴别杀虫蛋白在整个食物链中的传递和生物活性状态(Li & Romeis, 2009、2010; Álvarez-Alfageme *et al.*, 2011)。

2.4 田间试验

同样,如果在半田间试验中未检测到转基因作物对受试生物的负面影响,或者影响微弱至可以忽略不计,即可终止评价工作(Romeis *et al.*, 2008; USEPA, 2007)。但有些研究者认为,实验室和半田间试验不能代表田间实际环境,其研究结论有待田间试验的验证(Andow & Hilbeck, 2004)。在田间试验中,一般通过调查转基因植物和非转基因亲本植物田间非靶标生物的群体动态如种群密度、种群多样性等参数,研究转基因植物的种植可能造成的生态风险。值得说明的是,由于田间生物种群动态受到生物或非生物、直接或间接等多种复杂因素的影响,很难把生物群体的改变与某个单一影响因素联

系起来。因此,很难对田间调查数据进行准确的分析和合理的解释。这样的研究一般需要多年的重复试验(Perry *et al.*, 2009; Wu *et al.*, 2008; Lu *et al.*, 2010)。

3 商业化种植的转基因抗虫作物对非靶标节肢动物的生态影响

3.1 *Bt* 玉米的非靶标影响

当前,根据所表达杀虫蛋白的靶标害虫种类,将全球已注册的转*Bt*基因抗虫玉米品种分为2类。(1)表达Cry1、Cry2或Cry9类杀虫蛋白。如孟山都公司(Monsanto)生产的MON810表达Cry1Ab蛋白,DeKalb Genetics公司生产的CBH351表达Cry9C蛋白,Pioneer-Hi-Bred生产的TC1507表达Cry1F蛋白等(Hellmich *et al.*, 2008)。这些*Bt*蛋白对鳞翅目害虫如亚洲玉米螟*Ostrinia furnacalis* Guenée等有杀虫活性。(2)表达Cry3、Cry34或Cry35类杀虫蛋白。如Monsanto公司生产的MON88017和MON863表达Cry3Bb1蛋白,Pioneer Hi-Bred公司生产的DAS-59122-7表达Cry34/35Ab1蛋白。这类杀虫蛋白对鞘翅目如玉米根萤甲虫*Diabrotica virgifera* LeConte具有杀虫活性(Hellmich *et al.*, 2008)。转*Bt*玉米于1996年在美国开始商业化种植,至2008年,全球种植*Bt*玉米的国家已有13个,种植总面积达3.5千万hm²(James, 2010)。研究表明,转基因*Bt*玉米的种植有效地控制了玉米重要害虫,提高了玉米产量。另外,由于化学农药施用量的减少,降低了玉米生产成本,提高了农民收入,同时也改善了农田生态环境,保护了种植者的健康(Barfoot & Brookes, 2010)。

转基因抗虫玉米对非靶标节肢动物,特别是对在农田系统中起到重要生态功能的功能团,如害虫天敌、传粉者、经济昆虫等的影响,引起了生物学家和环境风险评价者的广泛关注(Romeis *et al.*, 2006、2008)。大量的研究数据表明,*Bt*玉米表达的Cry杀虫蛋白对害虫天敌没有毒性(Hellmich *et al.*, 2008);同时,田间试验也证实,与施用农药的非转基因玉米相比,*Bt*玉米的种植能提高玉米田的生物多样性(Romeis *et al.*, 2006; Marvier *et al.*, 2007; Hellmich *et al.*, 2008)。由于玉米花粉产量很高,在一些玉米品种如MON88017花粉中,*Bt*杀虫蛋白的表达量很高,一些以玉米花粉为食的有益生物就会

因取食玉米花粉而暴露于 *Bt* 杀虫蛋白 (Li *et al.*, 2008; Li & Romeis, 2010)。但实验室生测结果表明, *Bt* 玉米花粉对瓢虫 *Coleomegilla maculata* De-Geer (Duan *et al.*, 2002; Lundgren & Wiedenmann, 2002)、普通草蛉 *Chrysoperla carnea* Stephen 成虫 (Li *et al.*, 2008)、蜜蜂幼虫和成虫 (Duan *et al.*, 2008) 均没有毒性。

一些研究者也报道了 *Bt* 玉米对非靶标节肢动物的负面影响。如 Hilbeck *et al.* (1998) 报道了 *Bt* 玉米表达的 Cry1Ab 蛋白对普通草蛉幼虫有负面影响。但该报道引起的一系列后续试验证明, Cry1Ab 对普通草蛉幼虫没有直接毒性 (Dutton *et al.*, 2002; Romeis *et al.*, 2004; Rodrigo-Simon *et al.*, 2006)。用取食过 *Bt* 玉米的二斑叶螨 (对 Cry1Ab 不敏感) 和海灰翅夜蛾 (对 Cry1Ab 敏感) 饲喂草蛉幼虫发现, 取食海灰翅夜蛾幼虫的草蛉生长发育受到负面影响, 而取食二斑叶螨的草蛉生长发育未受任何影响, 尽管 ELISA 检测结果显示二斑叶螨体内的 Cry1Ab 蛋白含量明显高于海灰翅夜蛾 (Dutton *et al.*, 2002)。这些结果说明, 此前发现的负面影响并不是 Cry1Ab 造成的, 而是由于试验中所用猎物对 Cry1Ab 蛋白敏感而使其生长发育受到影响, 进而间接地影响了捕食者的生长发育 (Romeis *et al.*, 2006; Lawo *et al.*, 2010)。此外, Losey *et al.* (1999) 也发现, 取食表面附有 *Bt* 玉米花粉的马利筋草的帝王斑蝶 *Danaus plexippus* Linnaeus 幼虫死亡率明显提高, 进而得出 *Bt* 玉米的种植可能会导致帝王斑蝶种群数量降低的结论。然而, 一系列更详细的研究发现, 由于帝王斑蝶幼虫暴露于玉米花粉的程度极其有限, 且 *Bt* 玉米花粉对斑蝶幼虫的毒性较低, *Bt* 玉米的种植几乎不会对帝王斑蝶种群数量产生负面影响 (Hellmich *et al.*, 2001; Oberhauser *et al.*, 2001; Sears *et al.*, 2001; Zangerl *et al.*, 2001; Wolt *et al.*, 2003)。尽管如此, 由于 *Bt* 玉米 event 176 花粉中 Cry1Ab 蛋白表达量很高, 可能会对帝王斑蝶幼虫产生急性毒性影响 (Zangerl *et al.*, 2001; Hellmich *et al.*, 2001), 该玉米品种已退出市场。另外, 最近有研究发现, 取食外壁包裹 Cry1Ab 或 Cry3Bb1 杀虫蛋白的地中海斑螟 *Ephestia kuhniella* Zeller 卵的二星瓢虫 *Adalia bipunctata* Linnaeus 幼虫死亡率明显提高 (Schmidt *et al.*, 2009)。然而, 由于该试验中受试昆虫暴露于杀虫蛋白的实际

浓度不明确及对照组中的高死亡率 (21%), 使得很多相关研究者对试验方法和结论产生质疑 (Ricroch *et al.*, 2010)。更系统的研究证明, Cry1Ab 和 Cry3Bb1 对二星瓢虫并没有毒性, 所报道的负面影响可能源于试验设计和方法的不完善 (Álvarez-Alfageme *et al.*, 2011)。

3.2 *Bt* 棉花的非靶标影响

目前, 全球种植的 *Bt* 棉花品种主要有 2 大类, 即表达 1 个外源 *Bt* 基因 (*cry1*) 的第 1 代转基因抗虫棉和表达 2 个外源基因 (*cry1 + cry2*) 的第 2 代转基因抗虫棉。第 1 代 *Bt* 棉的靶标害虫主要包括棉铃虫 *Helicoverpa armigera* Hübner、棉红玲虫 *Pectinophora gossypiella* Saunders 和多种棉金刚钻 *Earias* spp. 等。然而, 第 1 代单基因抗虫棉对甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* Hubner、斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* Fabricius 及小地老虎 *Agrotis ypsilon* Rottemberg 等的防治效果较差。转双基因的第 2 代抗虫棉对鳞翅目棉花害虫的杀虫谱增宽, 涵盖了多种一代抗虫棉不能有效控制的棉花害虫, 并提高了对棉铃虫的防效 (Naranjo *et al.*, 2008)。另外, 由于第 2 代转基因抗虫棉表达的 2 个 *Bt* 基因 (*cry1Ac* 和 *cry2Ab*) 与靶标害虫中肠的结合位点不同, 一般认为会产生交互抗性。因此, 双基因抗虫棉的利用可能会有效地延迟靶标害虫对 *Bt* 棉花的抗性进化 (Liu *et al.*, 2005)。自 1996 年 *Bt* 棉花在美国、澳大利亚和墨西哥商业化种植以来, 其在全球的种植面积逐年增加。2009 年, 全球有 11 个国家种植 *Bt* 棉花, 种植总面积达 1500 万 hm², 大约占全球棉花总种植面积的 50% (Naranjo, 2010)。*Bt* 棉花的利用有效地控制了棉花重要害虫的发生, 大大降低了化学农药的使用。据统计, 1996 ~ 2008 年, *Bt* 棉花的种植减少了 1.4 亿 kg 化学农药活性成分的施用 (Barfoot & Brooks, 2010)。

近 10 年来, 国内外风险评价工作者对转基因 *Bt* 棉花的非靶标生物影响做了较为充分的研究, 已有上百篇相关文章发表。通过综合分析这些研究数据发现, 转基因 *Bt* 棉花表达的外源杀虫蛋白的专一性非常强, 对非靶标生物没有直接的影响 (Romeis *et al.*, 2006; Naranjo *et al.*, 2008)。但也有极少部分研究报道了 *Bt* 棉花对捕食性天敌如花蝽 *Orius tristicolor* (White) (Ponsard *et al.*, 2002) 和寄生性天敌缘腹绒茧蜂 *Cotesia marginiventris*、佛州点

缘跳小蜂 *Copidosoma floridanum*、棉铃虫齿唇姬蜂 *Campoletis chlorideae* Uchida (Baur & Boethel, 2003; Liu et al., 2005) 等的负面影响。分析发现,这些试验中采用的天敌猎物或寄主对 *Bt* 棉花所表达的杀虫蛋白敏感,而在利用对 *Bt* 蛋白不敏感的昆虫作为天敌猎物和寄主的研究中却未发现负面影响(Li & Romeis, 2010)。这说明其负面影响是由于试验中所利用的猎物或寄主对 *Bt* 蛋白敏感而营养质量下降,进而造成对昆虫天敌的间接影响,并不是 *Bt* 蛋白对昆虫天敌产生的直接毒性(Romeis et al., 2006; Naranjo, 2009)。除了实验室试验,研究者还开展了大量的田间试验,以研究 *Bt* 棉花对棉田体系中非靶标生物种群动态的影响(Naranjo, 2005)。大量的数据分析(meta-analysis)显示,与未施用杀虫剂的非 *Bt* 棉田相比, *Bt* 棉花对棉田非靶标节肢动物没有明显影响,而杀虫剂对棉田非靶标生物的影响远远超过 *Bt* 棉花(Wolfenbarger et al., 2008)。总之,综合大量的研究数据表明,转 *Bt* 棉花的种植对棉田害虫天敌不会造成直接的负面影响(Marvier et al., 2007; Wolfenbarger et al., 2008)。

当然,转基因抗虫作物引起的靶标害虫数量的下降、化学农药施用量的减少,将可能导致农田生物群落结构的变化。如 Wu et al. (2008) 报道, *Bt* 棉花的利用有效控制了棉铃虫的发生,但由于用于控制棉铃虫的化学农药施用量的下降,导致原本在棉田发生不严重的盲蝽象成为棉田主要害虫(Lu et al., 2010)。这说明,转基因抗虫作物不是,也不可能是一劳永逸的害虫控制措施,它只能作为 IPM 策略中的一个组成部分,应与其他害虫控制措施有机结合,对害虫群体进行有效调控。

4 小结

基因重组技术的发展为害虫控制提供了一个有效的途径。通过基因重组技术培育的转基因抗虫作物如 *Bt* 棉花和 *Bt* 玉米已经在全世界多个国家开始种植,种植面积也逐年增多,给种植者带来了巨大的利益,也改善了生态环境。但是,转基因作物对环境可能造成的生态风险也不容忽视。因此,在每例转基因作物商业化释放前都必须通过严格的环境安全评价。在评价转基因抗虫作物对非靶标生物风险时,需要充分考虑转基因作物及其表达的外源杀虫蛋白的特性,及其与非靶标受试生物的关系,制定出合理、完善、具有可操作性、可重复的

试验方案,进而得出可靠的、能真实体现客观事实的研究结论(Álvarez-Alfageme et al., 2011; Romeis et al., 2011)。大量的实验室和田间试验表明,当前已经商业化释放的转基因抗虫作物(*Bt* 棉花和 *Bt* 玉米)不会对农田非靶标有益生物产生直接的负面影响。同时,*Bt* 作物的种植减少了广谱化学农药的使用,这将提高农田有益生物如害虫天敌的种群密度,加强控制害虫的功能。因此,转基因抗虫作物将作为 IPM 策略中的一个组成部分,有望与其他害虫控制措施相结合,加强对害虫的有效控制。

参考文献

- 彭于发,吴孔明,王锡锋. 2008. 转基因生物安全学科发展//中国科学技术协会. 2007–2008 植物保护学学科发展报告. 北京:中国科学技术出版社,165–190.
- Álvarez-Alfageme F, Bigler F and Romeis J. 2011. Laboratory toxicity studies demonstrate no adverse effects of Cry1Ab and Cry3Bb1 to larvae of *Adalia bipunctata* (Coleoptera: Coccinellidae): the importance of study design. *Transgenic Research*, 20:467–479.
- Andow D A and Hilbeck A. 2004. Science-based risk assessment for non-target effects of transgenic crops. *BioScience*, 54:637–649.
- Barfoot P and Brookes G. 2010. GM crops: global socio-economic and environmental impacts 1996–2008. <http://fast-facts.intraspin.com/?fact=over-the-thirteen-years-1996-2008-the-cumulative-farm-income-gain-derived-by-developing-country-from-gm-crops-was-26-2-billion>.
- Baur M E and Boethel D J. 2003. Effect of *Bt*-cotton expressing Cry1A(c) on the survival and fecundity of two hymenopteran parasitoids (Braconidae, Encyrtidae) in the laboratory. *Biological Control*, 26:325–332.
- Chen M, Zhao J Z, Shelton A M, Cao J and Earle E D. 2008. Impact of single-gene and dual-gene *Bt* broccoli on the herbivore *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae) and its pupal endoparasitoid *Pteromalus puparum* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Transgenic Research*, 17:545–555.
- Dhaliwal G G and Singh R. 2005. *Host Plant Resistance to Insects: Concepts and Applications*. New Delhi: Panima Publishing Corporation.
- Duan J J, Head G, McKee M J, Nickson T E, Martin J W and Sayegh F S. 2002. Evaluation of dietary effects of transgenic corn pollen expressing Cry3Bb1 protein on a non-target ladybird beetle, *Coleomegilla maculata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 104:271–280.
- Duan J J, Marvier M, Huesing J, Dively G and Huang Z Y. 2008. A Meta-analysis of effects of *Bt* crops on honey bees

- (Hymenoptera: Apidae). *PLoS ONE*,3:e1415.
- Duan J J, Teixeira D, Huesing J E and Jiang C. 2008. Assessing the risk to nontarget organisms from *Bt* corn resistant to corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae): Tier-I testing with *Orius insidiosus* (Heteroptera: Anthocoridae). *Environmental Entomology*,37:838–844.
- Dutton A, Klein H, Romeis J and Bigler F. 2002. Uptake of *Bt*-toxin by herbivores feeding on transgenic maize and consequences for the predator *Chrysoperla carnea*. *Ecological Entomology*,27:441–447.
- Dutton A, Romeis J and Bigler F. 2003. Assessing the risks of insect resistant transgenic plants on entomophagous arthropods: *Bt*-maize expressing Cry1Ab as a case study. *Biological Control*,48:611–636.
- Fit G P. 2004. Global status and impacts of biotech cotton// *Report of the Second Expert Panel on Biotechnology of Cotton*. Washington DC: International Cotton Advisory Committee,72.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAOUN) . 2004. *The State of Food and Agriculture*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Garcia-Alonso M, Jacobs E, Raybould A, Nickson T E, Sowig P, Willekens H, Kouwe P V D, Layton R, Amijee F, Fuentes A M and Tencalla F. 2006. A tiered system for assessing the risk of genetically modified plants to non-target organisms. *Environmental Biosafety Research*,5:57–65.
- Hellmich R L, Albajes R, Bergvinson D, Prasifka J R, Wang Z Y and Weiss M J. 2008. The present and future role of insect-resistant genetically modified maize in IPM// Romeis J, Shelton A M and Kennedy G G. *Intergation of Insect-resistant Genetically Modified Crops with IPM Systems*. Berlin: Springer,119–158.
- Hellmich R L, Siegfried B D, Sears M K, Stanley-Horn D E and Daniels M J. 2001. Monarch larvae sensitivity to *Bacillus thuringiensis* purified proteins and pollen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*,98:11925–11930.
- Hilbeck A, Baumgartner M, Fried P M and Bigler F. 1998. Effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on mortality and development time of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environmental Entomology*,27:480–487.
- James C. 2010. *Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops in 2009*. ISAAA Briefs. No.41:Preview ISAAA, Ithaca, NY.
- Lawo N C, Wäckers F L and Romeis J. 2010. Characterizing indirect prey-quality mediated effects of a *Bt* crop on predatory larvae of the green lacewing, *Chrysoperla carnea*. *Journal of Insect Physiology*,6:1702–1710.
- Li Y and Romeis J. 2009. Impact of snowdrop lectin (*Galanthus nivalis* agglutinin; GNA) on adult *Chrysoperla carnea*. *Journal of Insect Physiology*,55:135–142.
- Li Y H and Romeis J. 2010. *Bt* maize expressing Cry3Bb1 does not harm the spider mite, *Tetranychus urticae*, or its ladybird beetle predator, *Stethorus punctillum*. *Biological Control*,53:337–344.
- Li Y, Meissle M and Romeis J. 2008. Consumption of *Bt* maize pollen expressing Cry1Ab or Cry3Bb1 does not harm adult green lacewings, *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *PLoS ONE*,3:e2909.
- Li Y, Wu K, Zhang Y and Yuan G. 2007. Degradation of Cry1Ac protein within transgenic *Bacillus thuringiensis* rice tissues under field and laboratory conditions. *Environmental Entomology*,36:1275–1282.
- Liu X X, Sun C G and Zhang Q W. 2005. Effects of transgenic Cry1A + CpTI cotton and Cry1Ac toxin on the parasitoid, *Campoletis chlorideae* (Hymenoptera: ichneumonidae). *Insect Science*,12:101–107.
- Losey J E, Rayor L S and Carter M E. 1999. Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature*,399:214.
- Lu Y H, Wu K M, Jiang Y Y, Xia B, Li P, Feng H Q, Wychhuy K A G and Guo Y Y. 2010. Mirid bug outbreaks in multiple crops correlated with wide-scale adoption of *Bt* cotton in China. *Science*,328:1151–1154.
- Lundgren J G and Wiedenmann R N. 2002. Coleopteran-specific Cry3Bb toxin from transgenic corn pollen does not affect the fitness of a nontarget species, *Coleomegilla maculata* De Geer (Coleoptera: Coccinellidae). *Environmental Entomology*,31:1213–1218.
- Malone L A, Gatehouse A M R and Barratt B I P. 2008. Beyond *Bt*: alternative strategies for insect-resistant genetically modified crops// Romeis J, Shelton A M and Kennedy G G. *Intergation of Insect-resistant Genetically Modified Crops with IPM Systems*. Berlin: Springer,357–417.
- Marvier M, McCrae C, Regetz J and Kareiva P. 2007. A meta-analysis of effects of *Bt* cotton and maize on nontarget invertebrates. *Science*,316:1475–1477.
- Naranjo S E. 2005. Long-term assessment of the effects of transgenic *Bt* cotton on the function of the natural enemy community. *Environmental Entomology*,34:1211–1223.
- Naranjo S E. 2009. Impacts of *Bt* crops on non-target invertebrates and insecticide use patterns. *CAB review: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*,4:1–23.
- Naranjo S E. 2010. Impact of *Bt* transgenic cotton on integrated pest management. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, DOI:10.1021/jf102939c.
- Naranjo S E, Ruberson J R, Sharma H C, Wilson L and Wu K

- M. 2008. The present and future role of insect-resistant genetically modified cotton in IPM // Romeis J, Shelton A M and Kennedy G G. *Intergation of Insect-resistant Genetically Modified Crops with IPM Systems*. Berlin: Springer, 159 – 194.
- Oberhauser K S, Prysby M, Mattila H R, Stanley-Horn D E, Sears M K, Dively G, Olson E, Pleasants J M, Lam W K and Hellmich R L. 2001. Temporal and spatial overlap between monarch larvae and corn pollen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98:11913 – 11918.
- Perry J N, Ter Braak C J F, Dixon P M, Duan J J and Hails R S. 2009. Statistical aspects of environmental risk assessment of GM plants for effects on non-target organisms. *Environmental Biosafety Research*, 8:65 – 78.
- Ponsard S, Gutierrez A P and Mills N J. 2002. Effect of *Bt*-toxin (Cry1Ac) in transgenic cotton on the adult longevity of four heteropteran predators. *Environmental Entomology*, 31: 1197 – 1205.
- Ricroch A, Bergé J B and Kuntz M. 2010. Is the German suspension of MON810 maize cultivation scientifically justified. *Transgenic Research*, 19:1 – 12.
- Rodrigo-Simon A, Maagd R A and Avilla C. 2006. Lack of detrimental effects of *Bacillus thuringiensis* Cry toxins on the insect predator *Chrysoperla carnea*: a toxicological, histopathological, and biochemical analysis. *Applied and Environmental Microbiology*, 72:1595 – 1603.
- Romeis J, Bartsch D, Bigler F, Candolfi M, Gielkens M M C, Hartley S E, Hellmich R L, Huesing J E, Jepson P C, Layton R, Quemada H, Raybould A, Rose R I, Schiemann J, Sear M K, Shelton A M, Sweet J, Vaituzis Z and Wolt J D. 2008. Non-target arthropod risk assessment of insect resistant GM crops. *Nature Biotechnology*, 26:203 – 208.
- Romeis J, Dutton A and Bigler F. 2004. *Bacillus thuringiensis* toxin (Cry1Ab) has no direct effect on larvae of the green lacewing *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). *Journal of Insect Physiology*, 50:175 – 183.
- Romeis J, Hellmich R L, Candolfi M P, Carstens K, De Schrijver A, Gatehouse A M R, Herman R A, Huesing J E, McLean M A, Raybould A, Shelton A M and Waggoner A. 2011. Recommendations for the design of laboratory studies on non-target arthropods for risk assessment of genetically engineered plants. *Transgenic Research*, 20:1 – 22.
- Romeis J, Meissle M and Bigler F. 2006. Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. *Nature Biotechnology*, 24:63 – 71.
- Schmidt J E U, Braun C U, Whitehouse L P and Hilbeck A. 2009. Effects of activated *Bt* transgene products (Cry1Ab, Cry3Bb) on immature stages of the ladybird *Adalia bipunctata* in laboratory ecotoxicity testing. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 56:221 – 228.
- Sears M K, Hellmich R L, Stanley-Horn D E, Oberhauser K S, Pleasants J M, Mattila H R, Siegfried B D and Dively G P. 2001. Impact of *Bt* corn pollen on monarch butterfly populations: a risk assessment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98:11937 – 11942.
- Smith C M. 2005. *Plant Resistance to Arthropods: Molecular and Conventional Approaches*. Dordrecht: Springer Science & Business Media.
- United States Environmental Protection Agency [USEPA]. 2001. Biopesticide registration action document. *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) plant-incorporated protectants. <http://www.epa.gov/oppbppd1/biopesticides/pips/bt Brad.htm>.
- United States Environmental Protection Agency [USEPA]. 2007. *White Paper on Tier-Based Testing for the Effects of Proteinaceous Insecticidal Plant-incorporated Protectants on Non-target Arthropods for Regulatory Risk Assessment*. Washington, DC: U. S. Environmental Protection Agency.
- Vaeck M, Reynaerts A, Hofte H, Jansens S, De Beuckeleer M, Dean C, Zabeau M, Van Montagu M and Leemans J. 1987. Transgenic plants protected from insect attack. *Nature*, 328:33 – 37.
- Wolfenbarger L L, Naranjo S E, Lundgren J G, Bitzer R J and Watrud L S. 2008. *Bt* crop effects on functional guilds of non-target arthropods: a meta-analysis. *PLoS ONE*, 3:e2118.
- Wolt J D, Peterson R K D, Bystrak P and Meade T. 2003. A screening level approach for non-target insect risk assessment: transgenic *Bt* corn pollen and the monarch butterfly (Lepidoptera: Danaidae). *Environmental Entomology*, 32: 237 – 246.
- Wu K M, Lu Y H, Feng H Q, Jiang Y Y and Zhao J Z. 2008. Suppression of cotton bollworm in multiple crops in China in areas with *Bt* toxin containing cotton. *Science*, 321:1676 – 1678.
- Zangerl A R, McKenna D, Wraight C L, Carroll M, Ficarella P, Warner R and Berenbaum M R. 2001. Effects of exposure to event 176 *Bacillus thuringiensis* corn pollen on monarch and black swallowtail caterpillars under field conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98:11908 – 11912.
- Zurbrügg C and Nentwig W. 2009. Ingestion and excretion of two transgenic *Bt* corn varieties by slugs. *Transgenic Research*, 18:215 – 225.