

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2020.03.007

Bt 蛋白 Vip3Aa19、Cry1Ab 和 Cry1Ah 对玉米蚜的效应评价

孙丹丹, 陈 瑜, 王月琴, 王振营, 何康来*
中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100193

摘要:【目的】探讨转基因玉米表达的 3 种 Bt 蛋白对非靶标害虫玉米蚜的影响效应,为农田生态系统中转基因玉米的环境安全评价提供依据。【方法】在玉米蚜全纯人工饲料中分别添加 Bt 蛋白 Vip3Aa19、Cry1Ab 和 Cry1Ah 饲养玉米蚜,并以 PBS 缓冲液或 Na₂CO₃ 溶液为阴性对照,添加酪蛋白(casein, CS)为中性对照,添加印楝素(neem oil)为阳性对照,比较分析 Bt 蛋白等各处理对玉米蚜存活率、发育历期、有翅蚜率及繁殖力的影响。【结果】低浓度印楝素(Neem-L)处理后玉米蚜半数个体生存时间(ST₅₀)为 3.2~4.0 d,高浓度印楝素(Neem-H)处理后,玉米蚜在第 4 天全部死亡,这 2 个处理均没有子代若蚜产生。添加 Bt 蛋白和 CS 对玉米蚜的生存时间没有显著影响,ST₅₀ 在 8.3~9.6 d 之间。与阴性对照相比,3 个 Bt 蛋白和 CS 处理的若蚜期显著短 1.0~2.9 d,产出的下一代若蚜数显著增多。Vip3Aa19、Cry1Ab 以及 CS 处理后,有翅蚜比例显著高于其阴性对照。【结论】饲料中分别添加 3 种 Bt 蛋白 Vip3Aa19、Cry1Ab 和 Cry1Ah 对玉米蚜的存活率没有显著影响,但具有与添加 CS 等同提高饲料营养质量的效果;与阴性对照相比,添加 3 种 Bt 蛋白对玉米蚜的生长发育和繁殖具有显著的促进效应。

关键词: Bt 杀虫蛋白; 非靶标; 玉米蚜; 风险评估



开放科学标识码
(OSID 码)

Effects of *Bacillus thuringiensis* Vip3Aa19, Cry1Ab and Cry1Ah proteins on corn leaf aphid

SUN Dandan, CHEN Yu, WANG Yueqin, WANG Zhenying, HE Kanglai*
Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China

Abstract:【Aim】Three *Bacillus thuringiensis* Berliner insecticidal proteins were assessed to explore their effects on non-target insect corn leaf aphid (CLA), *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) to provide scientific evidence on the environmental safety of Bt maize in the agroecosystem.【Method】Bioassays on the CLA were conducted using three insecticidal proteins, Vip3Aa19, Cry1Ab and Cry1Ah, added to an artificial diet. Accordingly, phosphate buffered saline (PBS) and Na₂CO₃ were used as buffer-base controls (negative control), casein (CS) was used as a neutral control, and two levels concentrations of neem oil (Neem-L and Neem-H) were used as positive controls. Four life table parameters, i.e. survival rate, developmental duration, percentage of alatae, and number of offspring were recorded.【Result】The ST₅₀ (media survival time) value (8.3–9.6 d) of the CLA was not affected by the treatments with either individual Bt protein or CS in comparison with the negative control. The development time of the nymphs was shorter (1.0–2.9 d) and number of offspring was greater on the diet incorporated with CS, and individual Bt protein, respectively when compared to the negative control. High percentage of alatae developed on the diet incorporated with Vip3Aa19, Cry1Ab and CS than that on the negative control. with the positive controls had significant insecticidal activity against corn leaf aphid. ST₅₀ was 3.2–4 days after challenge at Neem-L. No nymphs could survival at day 4 at Neem-H. There were also no offspring produced in two positive controls.【Conclusion】Three Bt proteins, Vip3Aa19, Cry1Ab and Cry1Ah, did not show any significant effects on the CLA in terms of survival/mortality, but they did show remarkable positive (nutritional) effects as same as CS on growth rate and reproduction of the CLA comparing with their buffer-based control.

Key words: Bt insecticidal protein; non-target; *Rhopalosiphum maidis*; risk assessment

1996 年转基因玉米在美国开始商业化种植,随后转基因作物在全球的种植范围迅速扩展,转 *Bt* 基因玉米是目前生产发展最快的转基因抗虫作物之一。转 *Bt* 基因玉米通过持续表达外源 *Bt* 蛋白,在整个生育期都可以对靶标害虫产生防治效果,目前商业化应用中,以 *Cry* 和 *Vip* 抗虫蛋白居多 (ISAAA, 2018)。如欧洲唯一法定可种植抗虫玉米是 MON810, 表达 *Cry1Ab* *Bt* 杀虫蛋白 (EFSA Panel on Genetically Modified Organisms, 2010)。转 *Bt* 基因玉米种植可区域性降低害虫种群密度 (Dively, 2018), 经济效益明显,同时对非靶标生物,尤其是昆虫天敌及非靶标害虫等存在潜在生态风险,主要体现在两方面 (叶恭银等, 2011): 一是 *Bt* 作物可能直接对 *Bt* 蛋白不敏感的其他节肢动物害虫产生影响,如棉蚜 *Aphis gossypii* (Glover)、盲蝽、烟蓟马 *Thrips tabaci* (Lindeman) 等 (Kumar *et al.*, 2014; Lu *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2012); 二是可能影响自然生态系统的服务功能,如对生物防治、动物传粉和废弃物分解等的影响 (Zeilinger *et al.*, 2016)。

玉米蚜 *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) 广泛存在于多种农田生态系统中,是影响玉米生产的重要害虫之一。它除了刺吸植物组织汁液,还传播植物病毒,进而造成更为严重的间接危害和产量损失 (Anway *et al.*, 2005)。在农田生态系统中,玉米蚜既是捕食性天敌昆虫、寄生性天敌昆虫,也是其他节肢动物的食物来源。这表现为两方面:一方面其虫体本身是草蛉、食蚜蝇和瓢虫等昆虫主要甚至是专一的食物 (Romeis & Meissle, 2011), 另一方面其排泄物 (蜜露) 是一些节肢动物的重要能量来源 (Zhang *et al.*, 2012)。当其种群严重波动时,将会对与其相关的整条食物链造成扰动,进而影响农田生态系统的平衡。因此,玉米蚜虫是用于转基因作物环境风险评价的重要指示性生物 (任少鹏等, 2018)。有关蚜虫取食转基因抗虫玉米引起的食物网中非靶标天敌昆虫等直接或间接暴露于 *Bt* 蛋白的安全风险已有很多研究报道,总的结论是没有显著影响 (刘慧等, 2012; Digilio *et al.*, 2012; Duan *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2008; Lövei *et al.*, 2009; Romeis *et al.*, 2014; Tian *et al.*, 2014)。转基因玉米植株活体生测研究对蚜虫的影响不尽一致。研究表明,表达 *Cry1Ab* 蛋白的转基因玉米 (*Bt*11, MON810 和 Event 176) 比其非转基因对照近等杂交种更感玉米蚜

(Bourguet *et al.*, 2002; Dutton *et al.*, 2002; Faria *et al.*, 2007; Lumbierres *et al.*, 2004; Pons *et al.*, 2005); 另有研究表明,表达 *Cry1Ab* 转基因抗虫玉米对麦长管蚜 *Sitobion avenae* (Fabricius) 的生长发育和繁殖没有影响 (Ramirez-romero *et al.*, 2008)。此外,一些 *Bt* 杀虫蛋白对蚜虫有低水平的毒力 (Porcar *et al.*, 2009; Walters & English, 1995; Walters *et al.*, 1994)。

本研究采用饲料添加法及自制的生测装置,研究国产转基因抗虫玉米表达的 3 种 *Bt* 杀虫蛋白 *Vip3Aa19*、*Cry1Ab* 和 *Cry1Ah* 对玉米蚜的生长发育及存活、有翅蚜率等的影响,以期为农田生态系统中转基因玉米的环境安全评价提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试蚜虫

玉米蚜种群采自中国农业科学院植物保护研究所廊坊科研中试基地玉米田,室内用大麦在人工培养箱 (宁波江南 RXZ-500D-LED) 中饲养数代后备用。培养箱内环境条件: 温度 (22 ± 1) $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 $60\% \pm 5\%$, 光周期 16L : 8D。玉米蚜 1 日龄若蚜用于实验。

1.2 供试蛋白及试剂

本实验所用的 *Vip3Aa19*、*Cry1Ab* 蛋白由北京大北农生物技术有限公司提供, *Cry1Ah* 蛋白由北京奥瑞金种业股份有限公司提供。酪蛋白 (casein, CS), 购于碧迪医疗器械 (上海) 有限公司。PBS 缓冲液 (1×PBS Buffer) 为北京酷来搏科技有限公司生产, pH 7.2~7.4。印楝素 (C35H44O16, neem oil) 为内蒙古清源保生物科技有限公司生产, 含量 3.0%。其他常见试剂皆为分析纯。通过饲料混合生测法 (He *et al.*, 2005; Yang *et al.*, 2018) 分别明确了实验用 *Vip3Aa19* 杀虫蛋白对靶标害虫黏虫 *Mythimna separata* (Walker)、*Cry1Ab* 和 *Cry1Ah* 杀虫蛋白对靶标害虫亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* (Guenée) 的毒力, 致死中浓度 LC_{50} 分别为 1.64、0.10、0.40 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 表明供试的 3 种 *Bt* 蛋白对其相应的靶标害虫都具有很高的杀虫活性。

1.3 实验设计

玉米蚜取食生测方法采用全纯人工饲料添加法, 即在玉米蚜的全纯人工饲料中分别添加测试的 *Bt* 蛋白。每天观察记录蚜虫的蜕皮、死亡及产蚜情

况,直至蚜虫死亡,每天去除母蚜所产若蚜。玉米蚜的全纯人工饲料由本实验制备,饲料配方参考 Kieckhefer & Derr (1967),其中含有 23 种氨基酸,总浓度为 $21.575 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。饲料制备在实验前 5~7 d 完成,饲料制备完成后分装放置 -20°C 保存。

玉米蚜取食生测分别进行 3 组实验。每组实验 5 个处理:(1)抗虫蛋白实验组,向全纯人工饲料中添加供试 Bt 蛋白,分别为 PBS 缓冲液溶解的 Vip3Aa19 蛋白溶液(终浓度 $31.2 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、 Na_2CO_3 溶液溶解的 Cry1Ab 蛋白溶液(终浓度 $15.8 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)或 Na_2CO_3 溶液溶解的 Cry1Ah 蛋白溶液(终浓度 $15.7 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$);(2)中性对照组,分别为 PBS 缓冲液溶解的 CS 溶液或 Na_2CO_3 溶液溶解的 CS 溶液,CS 浓度与其对应的 Bt 蛋白实验浓度相同;(3)阴性对照组,PBS 缓冲液或者 Na_2CO_3 溶液;(4)低浓度阳性对照 (Neem-L),3.0% 的 Neem 稀释 1000 倍的溶液;(5)高浓度阳性对照 (Neem-H),3.0% 的 Neem 稀释 200 倍的溶液。玉米蚜生测实验中添加的 Vip3Aa19、Cry1Ab 和 Cry1Ah 的浓度分别是引起靶标害虫半致死浓度的 19、166、39 倍。每个处理 6 次重复,每次重复测试 30 头蚜虫。

蚜虫取食装置结构参考 Mittler & Dadd (1964) 的三明治膜取食器制作而成,即高 30 mm、直径 10 mm,两端开口的玻璃管,一端用不锈钢纱网封口,另一端用双层封口膜夹饲料滴(0.1 mL)做成供食室。在每个处理的全纯人工饲料取食器中,接入玉米蚜 1 日龄若蚜 30 头。将蚜虫连同取食器放置在人工培养箱内饲养观察(培养箱内环境条件同 1.1),第 8 天换饲料 1 次,每天观察并记录生长发育和死亡蚜虫数、新产若蚜数和有翅蚜数。

1.4 数据统计分析

根据各处理每天存活蚜虫数、有翅蚜数、产子代蚜日期、产蚜数等分别计算存活率等生物学参数。种群生存曲线采用逻辑斯蒂模型分析,统计计算采用 PoloPlus 软件,得到半数生存时间 ST_{50} 、回归系数、卡方值、异质因子。不同处理的 ST_{50} 之间差异性比较根据其置信区间是否重叠判断。取食不同处理饲料各虫态玉米蚜的发育历期(若虫期、成虫期、繁殖期)、存活率、有翅蚜率及产蚜量的变异采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA),使用 GraphPad Prism 5 软件进行统计计算。

2 结果与分析

2.1 3 种 Bt 蛋白处理下玉米蚜的存活率

Neem-L 和 Neem-H 处理全纯人工饲料饲养玉米蚜,分别在取食 1 和 2 d 出现显著死亡,取食 2 和 4 d 时死亡率接近 50%,取食 4 和 7 d 时全部死亡,且没有繁殖下一代若蚜;而取食分别添加了 Vip3Aa19、Cry1Ab、Cry1Ah、CS、PBS、 Na_2CO_3 的全纯人工饲料的玉米蚜,在取食 5 d 时开始繁殖下一代若蚜,6~7 d 时出现显著死亡,最长可存活 14 d 以上(图 1)。

Neem-H 处理因在取食 4 d 时全部死亡,没有足够的数据点进行曲线拟合计算,其余取食不同饲料处理的蚜虫生存时间符合逻辑斯蒂曲线模型(表 1)。取食添加了 Vip3Aa19、CS、PBS 的全纯人工饲料的玉米蚜,其 50% 个体生存时间为 8.3~8.6 d,不同处理间差异不显著,各处理种群生存趋势(回归系数)间差异不显著(表 1)。与之相比,Neem-L 处理 50% 个体生存时间为 3.2 d,显著低于其他处理,且种群生存趋势(回归系数显著小)下降显著。

取食添加了 Cry1Ab、CS、 Na_2CO_3 的全纯人工饲料的玉米蚜,其 50% 个体生存时间为 9.0~9.6 d,不同处理间差异显著。Cry1Ab 蛋白处理的生存时间显著长于 Na_2CO_3 处理,而 CS 处理与 Cry1Ab 蛋白或 Na_2CO_3 处理间差异均不显著(表 1)。与之相比,Neem-L 处理 50% 个体生存时间为 4.0 d,显著降低。Cry1Ab、CS、 Na_2CO_3 处理种群生存趋势(回归系数)间差异不显著,但显著大于 Neem-L 处理。

取食添加了 Cry1Ah、CS、 Na_2CO_3 的全纯人工饲料的玉米蚜,其 50% 个体生存时间为 8.3~8.5 d,不同处理间差异不显著(表 1)。与之相比,Neem-L 处理 50% 个体生存时间为 4.0 d,显著降低。Cry1Ah、CS、 Na_2CO_3 处理种群生存趋势(回归系数)间差异不显著,但显著大于 Neem-L 处理。

2.2 3 种 Bt 蛋白处理下玉米蚜的发育历期

不同处理间,玉米蚜若蚜期、繁殖期及成蚜期存在显著差异(表 2)。与取食添加 PBS 饲料处理相比,取食 Vip3Aa19 或 CS 蛋白饲料处理的若蚜发育历期显著缩短,成蚜期显著增长,繁殖期显著增长(Vip3Aa19 处理)。而 Vip3Aa19 与 CS 蛋白饲料处理的若蚜期、繁殖期和成蚜期之间差异不显著。取食添加 Cry1Ab 和 CS 蛋白饲料 2 个处理间的若蚜发育历期、繁殖期和成蚜期差异均不显著。与之

相比,取食添加 PBS 或 Na_2CO_3 饲料处理的若蚜发育历期显著增长,繁殖期和成蚜期则显著缩短。取食添加 Cry1Ah 和 CS 蛋白饲料 2 个处理间的若蚜

发育历期、繁殖期和成蚜期差异均不显著。而取食添加 Na_2CO_3 比添加 CS 饲料处理的若蚜发育历期显著增长,成蚜期则显著缩短。

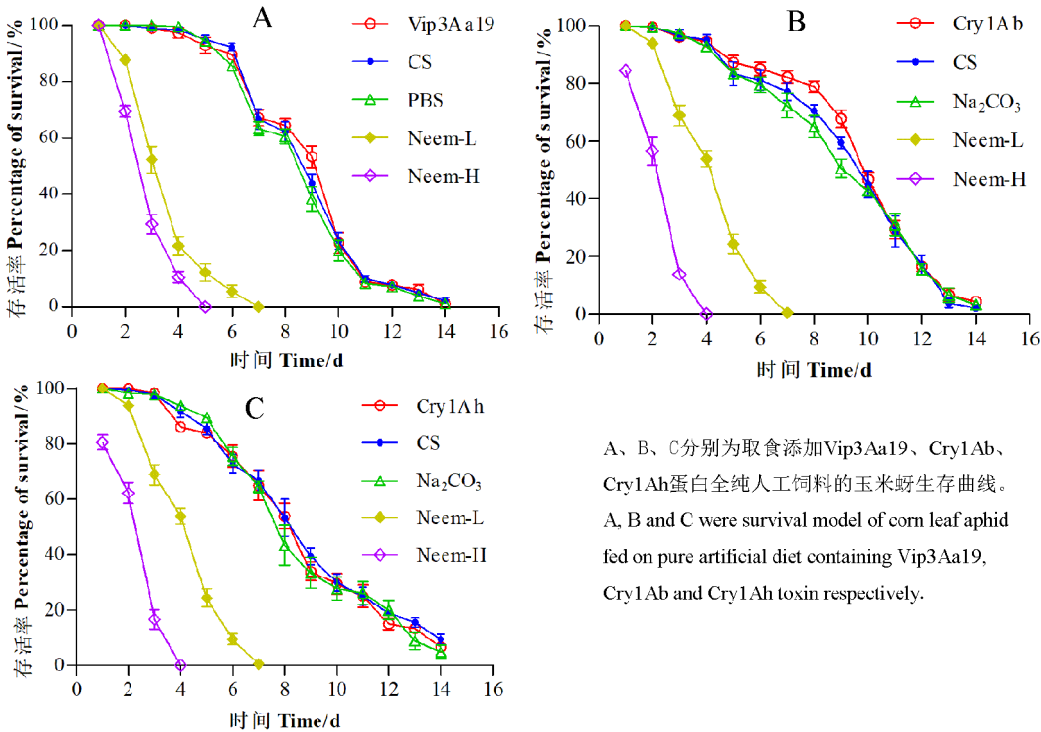


图 1 玉米蚜取食分别添加 3 种 Bt 蛋白全纯人工饲料的生存曲线
Fig.1 Survival model of corn leaf aphids fed on pure artificial diet incorporated with each of 3 Bt proteins

表 1 玉米蚜取食分别添加 3 种 Bt 蛋白全纯人工饲料的生存时间

Table 1 Survival time of corn leaf aphid fed on pure artificial diet incorporated with each of 3 Bt proteins

处理 Treatment	测试蚜虫数/头 No. of aphids tested	回归系数 Sloop	ST ₅₀ /d (95% fiducial limits)	X ²	异质因子 Heterogeneity
Vip3Aa19	1680	-0.675±0.031b	8.6 (8.3, 8.8) a	65.458	1.212
CS	1800	-0.727±0.032b	8.5 (8.3, 8.7) a	51.435	0.887
PBS	1650	-0.727±0.034b	8.3 (8.1, 8.4) a	40.904	0.772
Neem-L	810	-1.167±0.083a	3.2 (3.0, 3.4) b	41.164	1.647
Cry1Ab	1980	-0.542±0.023b	9.6 (9.4, 9.8) a	62.556	0.948
CS	1890	-0.503±0.023b	9.2 (8.9, 9.5) ab	87.671	1.437
Na ₂ CO ₃	1980	-0.487±0.022b	9.0 (8.8, 9.2) b	53.972	0.843
Neem-L	900	-1.099±0.072a	4.0 (3.8, 4.1) c	27.782	0.885
Cry1Ah	2040	-0.458±0.020b	8.3 (8.0, 8.5) a	65.541	0.993
CS	2070	-0.445±0.020b	8.5 (8.3, 8.7) a	61.864	0.923
Na ₂ CO ₃	2100	-0.502±0.021b	8.3 (8.0, 8.6) a	117.09	1.722
Neem-L	900	-1.099±0.072a	4.0 (3.8, 4.1) b	27.782	0.885

各组实验中同列数据后不同小写字母者表示在 0.05 水平上差异显著。
Different lowercase letters in the same column of each group indicated significant difference at 0.05 level.

2.3 3 种 Bt 蛋白处理下玉米蚜的有翅率及产蚜量

玉米蚜取食添加 Vip3Aa19 与 CS 蛋白处理间相比,其有翅蚜率及产蚜量均无显著性差异,但均显著高于取食添加 PBS 处理(表 3)。说明添加 Vip3Aa19 和 CS 比 PBS 利于玉米蚜繁殖。取食添加 Cry1Ab 与 CS 蛋白处理间相比,其产蚜量差异不

显著,但均显著高于添加 Na_2CO_3 处理。而取食添加 Cry1Ab 和 PBS 处理的有翅蚜率间无显著差异,但均显著低于添加 CS 蛋白处理。取食添加 Cry1Ab、CS 蛋白及 Na_2CO_3 处理间相比,有翅蚜率差异不显著,仅 Na_2CO_3 处理的产蚜量显著低于前二者。

表 2 玉米蚜取食分别添加 3 种 Bt 蛋白全纯人工饲料的发育历期
Table 2 Developmental time of corn leaf aphid fed on pure artificial diet incorporated with each of 3 Bt proteins

处理 Treatment	若蚜期 Nymph period/d	繁殖期 Reproductive period/d	成蚜期 Adult duration/d
Vip3Aa19	3.8±0.2b	5.3±0.2a	9.2±0.3a
CS	4.2±0.2b	4.5±0.3ab	9.3±0.2a
PBS	5.2±0.2a	3.5±0.5b	8.2±0.3b
	$F_{2,15} = 17.33; P < 0.001$	$F_{2,15} = 6.15; P = 0.011$	$F_{2,15} = 5.12; P = 0.020$
Cry1Ab	3.8±0.2b	6.3±0.2a	9.8±0.2a
CS	4.2±0.2b	6.7±0.2a	9.8±0.2a
Na ₂ CO ₃	6.7±0.6a	3.5±0.6b	6.7±0.8b
	$F_{2,15} = 19.62; P < 0.001$	$F_{2,15} = 22.40; P < 0.001$	$F_{2,15} = 15.83; P < 0.001$
Cry1Ah	4.3±0.2ab	7.5±0.4a	9.8±0.2ab
CS	4.2±0.2b	7.4±0.3a	9.8±0.2a
Na ₂ CO ₃	5.2±0.4a	6.3±0.4a	8.8±0.4b
	$F_{2,15} = 3.69; P = 0.0497$	$F_{2,15} = 1.62; P = 0.231$	$F_{2,15} = 3.69; P = 0.0497$

各组实验中同列数据后不同小写字母者表示在 0.05 水平上差异显著。
Different lowercase letters in the same column of each group indicated significant difference at 0.05 level.

表 3 玉米蚜取食分别添加 3 种 Bt 蛋白全纯人工饲料的有翅率及产蚜量
Table 3 Percentage of alatae and reproduction of corn leaf aphid fed on pure artificial diet incorporated with each of 3 Bt proteins

处理 Treatment	有翅率 Alatae rate/%	产蚜量/个 No. of offspring
Vip3Aa19	10.0±1.2a	44.0±3.4a
CS	9.4±1.3a	37.8±2.6a
PBS	3.9±1.0b	17.0±1.4b
	$F_{2,15} = 7.91; P = 0.005$	$F_{2,15} = 29.3; P < 0.001$
Cry1Ab	8.9±3.4b	20.7±3.5a
CS	17.2±1.6a	28.2±5.7a
Na ₂ CO ₃	1.7±1.7b	6.50±1.1b
	$F_{2,15} = 10.72; P = 0.001$	$F_{2,15} = 7.82; P = 0.005$
Cry1Ah	4.4±1.6a	20.7±2.7a
CS	5.6±1.4a	22.3±2.3a
Na ₂ CO ₃	2.2±0.7a	10.2±1.2b
	$F_{2,15} = 1.67; P = 0.222$	$F_{2,15} = 9.16; P = 0.003$

各组实验中同列数据后不同小写字母者表示在 0.05 水平上差异显著。
Different lowercase letters in the same column of each group indicated significant difference at 0.05 level.

3 讨论

饲料添加法测定某一物质(化学杀虫剂、Bt 蛋白等)对昆虫尤其是天敌的影响被广泛采用(Romeis *et al.*, 2008),以甄别供测试物质对测试对象(多为天敌)是否存在“毒力”活性,因此设置已知具有毒力活性物质的阳性对照和溶解所测试物质(如 Bt 蛋白)溶剂或缓冲液为阴性对照(Li *et al.*, 2008; Porcar *et al.*, 2009; Walters & English, 1995),验证生测体系能够灵敏的检测出处理间真实存在的显著差异。本研究表明,不同浓度处理引起蚜虫死亡率间存在显著差异。说明这一生测体系能够真实检测出不同

供试物质处理间毒力活性差异。
有研究报道,马铃薯蚜 *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas)对 Cry2、Cry3A 和 Cry4 晶体悬浮液敏感,而对其溶液不敏感(Walters & English, 1995; Walters *et al.*, 1994),这可能与晶体的非完全溶解和生测时对照没有添加溶解晶体的缓冲液有关(Walters & English, 1995)。Porcar *et al.* (2009) 研究报道了豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* (Harris)对 Cry3A、Cry4Aa、Cry11Aa 和 Cyt1Aa 有低水平的敏感性,且必须是以溶解这些 Bt 蛋白的缓冲液为对照进行比较。本研究结果表明,与阴性对照相比,饲料中分别添加 3 种 Bt 蛋白有利于玉米蚜的生长发育和繁殖。此外,考虑到生测用玉米蚜全纯人工饲料,其营养成分含量一定,而测试的 Bt 蛋白为蛋白质,除考虑其杀虫活性之外,还应考虑其营养成分属性,饲料中添加或提高饲料的营养质量。因此,本实验中增加了等量的 CS 为中性对照。而全纯人工饲料中分别添加 3 种 Bt 蛋白处理的玉米蚜存活率和生存时间、若蚜期、繁殖期和成蚜期以及产蚜量与添加 CS 蛋白处理没有显著差异,而与阴性对照相比差异显著。说明玉米蚜全纯人工饲料中分别添加 3 种 Bt 蛋白或 CS 蛋白,起到了相同的作用,即提高了饲料营养质量。由于转基因作物表达的 Bt 蛋白在韧皮部组织汁液中检测不到或含量极低(Dutton *et al.*, 2002; Raps *et al.*, 2001)。实际生产中转基因玉米表达的 Bt 蛋白量远达不到本实验中的浓度,因此,这种有益于玉米蚜生长发育的现象在实际中并不一定能体现。虽有研究报道,6 个

表达 *Bt Cry1Ab* 转基因玉米中的 5 个比其常规对照玉米上玉米蚜种群数量增加,且与 *Bt* 玉米韧皮部组织汁液的氨基酸表达量高相关 (Faria *et al.*, 2007),但不能完全排除是由品种间差异引起。

生态系统中,蚜虫以刺吸式口器刺入植物韧皮部吸食组织汁液,与土壤芽孢杆菌 *Bt* 的生态位差异较大。因此,基本不存在相互协同进化的可能。Kieckhefer & Derr (1967)曾指出,适宜蚜虫存活和繁殖的全纯人工饲料其蔗糖含量应为 10%~30%,最适为 20%。虽然 Porcar *et al.* (2009)报道了 *Cry3A*、*Cry4Aa*、*Cry11Aa* 和 *Cyt1Aa* 等 *Bt* 蛋白对豌豆蚜有低水平的毒力活性,然而其使用浓度都非常高,在 $125 \sim 500 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度下才能观测到低水平的影响,实验虽然设置了缓冲液作为阴性对照,但缺乏中性蛋白对照。同时,其生测方法亦是添加 *Bt* 蛋白到全纯人工饲料,即营养成分有一定的均衡性,大量增加单一 *Bt* 蛋白的合理性,是否会对饲料营养适宜性及蚜虫取食消化产生不利影响有待商榷。本研究中以添加 CS 蛋白作为中性对照,测试浓度是 Porcar *et al.* (2009)测试浓度的 3%~25%,饲料的氮含量提高了 0.7%~1.4%,无论是 *Bt* 蛋白还是 CS 蛋白都有利于玉米蚜的生长发育和繁殖,即实质等同性,可解释为 *Bt* 蛋白和 CS 蛋白一定程度上提高了全纯人工饲料的营养质量,但最高可添加量有待于进一步研究探讨。

参考文献

刘慧,何康来,白树雄,王振营,2012. 转 *cry1Ab* 基因玉米对瓢虫科天敌种群动态的影响. 生物安全学报, 21(2): 130-134.

任少鹏,杨帆,高明清,蒲德强,叶恭银,时敏,陈学新,2018. 抗虫、耐除草剂转基因水稻对非靶标害虫玉米蚜取食行为影响的评价. 应用昆虫学报, 55(3): 368-373.

叶恭银,陈洋,田俊策,彭于发,2011. 转 *Bt* 基因抗虫作物对非靶标生物的影响. 植物保护, 37(6): 1-10.

ANWAY M D, CUPP A S, UZUMCU M, SKINNER M K, 2005. Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Reproductive Toxicology*, 31(3): 337-343.

BOURGUET D, CHAUFAX J, MICOUD A, DELOS M, NAIBO B, BOMBARDE F, MARQUE G I, EYCHENNE N, PAGLIARI C, 2002. *Ostrinia nubilalis* parasitism and the field abundance of non-target insects in transgenic *Bacil-*

lus thuringiensis corn (*Zea mays*). *Environmental Biosafety Research*, 1: 49-60.

DIGILIO M C, SASSO R, DI LEO M G, IODICE L, MONTI M M, SANTERAMO R, ARPAIA S, GUERRIERI E, 2012. Interactions between *Bt*-expressing tomato and non-target insects: the aphid *Macrosiphum euphorbiae* and its natural enemies. *Journal of Plant Interactions*, 7(1): 71-77.

DIVELY G P, VENUGOPAL P D, BEAN D, WHALEN J, HOLMSTROM K, KUHAAR T P, DOUGHTY H B, PATTON T, CISSEL W, HUTCHISON W D, 2018. Regional pest suppression associated with widespread *Bt* maize adoption benefits vegetable growers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115: 3320-3325.

DUAN J J, LUNDGREN J G, NARANJO S, MARVIER M, 2010. Extrapolating non-target risk of *Bt* crops from laboratory to field. *Biology Letters*, 6: 74-77.

DUTTON A, KLEIN H, ROMEIS J, 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.

EFSA Panel on Genetically Modified Organisms, 2010. Scientific opinion on the assessment of potential impacts of genetically modified plants on non-target organisms. *EFSA Journal*, 8(11): 1-72.

FARIA C A, WÄCKERS F L, PRITCHARD J, BARRETT D A, TURLINGS T C J, 2007. High susceptibility of *Bt* maize to aphids enhances the performance of parasitoids of lepidopteran pests. *PLoS ONE*, 2(7): e600.

HE K, WANG Z, WEN L, BAI S, MA S, YAO Z, 2005. Determination of baseline susceptibility to *Cry1Ab* protein for Asian corn borer (Lep. Crambidae). *Journal of Applied Entomology*, 129(8): 407-412.

ISAAA, 2018. *Biotech crops continue to help meet the challenges of increased population and climate change. ISAAA Brief 54-2018: Executive Summary*. Ithaca, New York: ISAAA.

KIECKHEFER R W, DERR R F, 1967. Rearing three species of cereal aphids on artificial diets. *Journal of Economic Entomology*, 60(3): 663-665.

KRAISS H, CULLEN E M, 2008. Insect growth regulator effects of azadirachtin and neem oil on survivorship, development and fecundity of *Aphis glycines* (Homoptera: Aphididae) and its predator, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *Pest Management Science*, 64(6): 660-668.

KUMAR R, TIAN J C, NARANJO S E, SHELTON A M, 2014. Effects of *Bt* cotton on *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae) and its predator, *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae).

- Journal of Economic Entomology*, 107(3): 927–932.
- LI Y, MEISSLE M, 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(8): e2909.
- LÖVEI G L, ANDOW D A, ARPAIA S, 2009. Transgenic insecticidal crops and natural enemies: a detailed review of laboratory studies. *Environmental Entomology*, 38(2): 293–306.
- LU Y H, WU K M, JIANG Y Y, XIA B, LI P, FENG H Q, WYCKHUYS K A G, GUO Y Y, 2010. Mirid bug outbreaks in multiple crops correlated with wide-scale adoption of Bt cotton in China. *Science*, 328: 1151–1154.
- LUMBIERRES B, ALBAJES R, PONS X, 2004. Transgenic *Bt* maize and *Rhopalosiphum padi* (Hom., Aphididae) performance. *Ecological Entomology*, 29: 309–317.
- MITTLER T E, DADD R, 1964. An improved method for feeding aphids on artificial diets. *Annals of the Entomological Society of America*, 57: 139–140.
- PONS X, LUMBIERRES B, LOPEZ C, ALBAJES R, 2005. Abundance of non-target pests in transgenic *Bt*-maize: a farm scale study. *European Journal of Entomology*, 102: 73–79.
- PORCAR M, GRENIER A-M, FEDERICI B, RAHBÉ Y, 2009. Effects of *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxins on the pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*). *Applied and Environmental Microbiology*, 75(14): 4897–4900.
- RAMIREZ-ROMERO R, DESNEUX N, CHAUFAX J, KAISER L, 2008. *Bt*-maize effects on biological parameters of the non-target aphid *Sitobion avenae* (Homoptera: Aphididae) and Cry1Ab toxin detection. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 91(2): 110–115.
- RAPS A, KEHR J, GUGERLI P, MOAR W J, BIGLER F, HILBECK A, 2001. Immunological analysis of phloem sap of *Bacillus thuringiensis* corn and of the nontarget herbivore *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: Aphididae) for the presence of Cry1Ab. *Molecular Ecology*, 10: 525–533.
- ROMEIS J, BARTSCH D, BIGLER F, CANDOLFI M P, GIELKENS M M C, HARTLEY S E, HELLMICH R L, HUESING J E, JEPSON P C, LAYTON R, QUEMADA H, RAYBOULD A, ROSE R, SCHIEMANN J, SEARS M K, SHELTON A M, SWEET J, VAITUZIS Z, WOLT J D, 2008. Assessment of risk of insect-resistant transgenic crops to non-target arthropods. *Nature Biotechnology*, 26(2): 203–208.
- ROMEIS J, MEISSLE M, 2011. Non-target risk assessment of Bt crops-Cry protein uptake by aphids. *Journal of Applied Entomology*, 135(1/2): 1–6.
- ROMEIS J, MEISSLE M, NARANJO S E, LI Y H, BIGLER F, 2014. The end of a myth — *Bt* (*Cry1Ab*) maize does not harm green lacewings. *Frontiers in Plant Science*, 5: 391.
- TIAN J C, WANG X P, LONG L P, ROMEIS J, NARANJO S E, HELLMICH R L, SHELTON A M, 2014. Eliminating host-mediated effects demonstrates *Bt* maize producing Cry1F has no adverse effects on the parasitoid *Cotesia marginiventris*. *Transgenic Research*, 23(2): 257–264.
- WALTERS F S, ENGLISH L H, 1995. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxins toward the potato aphid in an artificial diet bioassay. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 77: 211–216.
- WALTERS F S, KULESZA C A, PHILLIPS A T, ENGLISH L H, 1994. A stable oligomer of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin, CryIIIA. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 24(10): 963–968.
- YANG J, QUAN Y D, SIVAPRASATH P, SHABBIR M Z, WANG Z Y, FERRÉ J, HE K L, 2018. Insecticidal activity and synergistic combinations of ten different Bt toxins against *Mythimna separata* (walker). *Toxins*, 10(11): 454.
- ZEILINGER A R, OLSON D M, ANDOW D A, 2016. Competitive release and outbreaks of non-target pests associated with transgenic *Bt* cotton. *Ecological Applications*, 26(4): 1047–1054.
- ZHANG J H, GUO J Y, XIA J Y, WAN F H, 2012. Long-term effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* cotton on the non-target *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) maintained for multiple generations. *African Journal of Biotechnology*, 11: 9873–9880.

(责任编辑:郑姗姗)