

# 泥鳅生长及抗氧化-解毒酶系统对水体中转 *Cry1Ab/Ac* 基因水稻残遗物的响应\*

孙远东<sup>1</sup> 刘雨芳<sup>1\*\*</sup> 李菲<sup>1</sup> 肖璐<sup>1</sup> 谭树华<sup>1</sup> 桂芳艳<sup>1</sup>  
莫书银<sup>1</sup> 孙丽川<sup>1</sup> 刘文海<sup>1</sup> 戈峰<sup>2\*\*</sup>

(1. 湖南科技大学生命科学院/园艺作物病虫害治理湖南省重点实验室 湘潭 411201;  
2. 中国科学院动物研究所/农业虫害综合治理研究国家重点实验室 北京 100101)

**摘要** 在泥鳅养殖水体中添加稻秆粉模拟水稻残遗物生境,研究了泥鳅生长和肝脏抗氧化酶(SOD、CAT)与解毒酶(GST)活性对转 *Cry1Ab/Ac* 基因水稻‘华恢1号’(HH1)的响应。设计以 HH1 稻秆粉 10 mg·L<sup>-1</sup>、50 mg·L<sup>-1</sup>、100 mg·L<sup>-1</sup> 和 200 mg·L<sup>-1</sup> 4 个梯度浓度处理泥鳅为试验组,以非转 *Bt* 基因水稻‘明恢63’(MH63)稻秆粉处理组为阴性对照,不加稻秆粉的基础饲养组为空白对照。结果显示:在 4 种稻秆粉浓度下,HH1 组与 MH63 对照组泥鳅的特定生长率、肥满度、内脏系数及 SOD、CAT 和 GST 酶活性均无显著差异( $P>0.05$ );与空白对照比较,稻秆粉浓度升高对泥鳅生长的抑制逐渐增强,当浓度达到 200 mg·L<sup>-1</sup> 时,HH1 组和 MH63 对照组泥鳅的特定生长率、内脏系数与 CAT 活性降低。研究结果表明,水体中低含量的转融合基因 *Cry1Ab/Ac* 水稻 HH1 稻秆粉对泥鳅的生长与生理酶活性没有明显影响,高浓度 HH1 和 MH63 稻秆粉均使泥鳅的生长和生理酶活性显著降低,这可能与养殖水体中浓度较高的悬浮稻秆粉妨碍了泥鳅的呼吸和滤食,及稻秆粉的分解降低了水体 pH 和溶氧量有关。

**关键词** 转 *Cry1Ab/Ac* 基因水稻 水稻残遗物 泥鳅 生长 抗氧化酶 解毒酶  
**中图分类号**: Q958.8 **文献标识码**: A **文章编号**: 1671-3990(2015)01-0095-07

## Responses of growth and activities of antioxidant and detoxification enzymes of *Misgurnus anguillicaudatus* to transgenic *Cry1Ab/Ac* rice residues in water

SUN Yuandong<sup>1</sup>, LIU Yufang<sup>1</sup>, LI Fei<sup>1</sup>, XIAO Lu<sup>1</sup>, TAN Shuhua<sup>1</sup>, GUI Fangyan<sup>1</sup>,  
MO Shuyin<sup>1</sup>, SUN Lichuan<sup>1</sup>, LIU Wenhai<sup>1</sup>, GE Feng<sup>2</sup>

(1. College of Life Science, Hunan University of Science and Technology/Hunan Province Key Laboratory for Integrated Management of the Pests and Diseases on Horticultural Crops, Xiangtan 411201, China; 2. Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences/State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects & Rodents, Beijing 100101, China)

**Abstract** A loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) aquaculture experiment was conducted in phytotron with aquatic water added with straw power in different concentrations (10 mg·L<sup>-1</sup>, 50 mg·L<sup>-1</sup>, 100 mg·L<sup>-1</sup>, 200 mg·L<sup>-1</sup>) of different rice varieties, which were transgenic *Cry1Ab/Ac* rice variety of ‘Huahui 1’ (HH1) and non-*Bt* control rice variety of ‘Minghui 63’ (MH63). In the experiment, the loach basal fed without rice straw powder was set as the blank control. The specific growth rate, condition factor, and viscera somatic index as well as activities of antioxidant enzymes of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT), and detoxification enzyme of glutathione-s-transferase (GST) of loach were investigated after culture for 100 days. The aim of the study was to explore effects of transgenic *Bt* rice on aquatic animal through simulating rice residues in paddy water. The results showed no significant differences ( $P > 0.05$ ) in specific growth rate, condition factor, viscera somatic, and activities of SOD, CAT and GST between loaches cultured in aquatic water added with HH1 and MH63 straw powders with four concentrations. Compared with the blank

\* 国家转基因生物新品种培育重大专项(2012ZX08011002)资助

\*\* 通讯作者: 刘雨芳, 主要从事农业生态学与环境安全评价研究, E-mail: yfliu2011@126.com; 戈峰, 主要从事动物生态学研究, E-mail: gef@ioz.ac.cn

孙远东, 研究方向为水生生物与转基因作物安全性评价。E-mail: syd@hnust.edu.cn

收稿日期: 2014-07-10 接受日期: 2014-11-12

control, the growth performance gradually decreased with increasing concentration of rice straw powder of both varieties. Furthermore, the specific growth rate, viscera somatic index and CAT activity of loach decreased obviously when loach was cultured in aquatic water with 200 mg·L<sup>-1</sup> of HH1 and MH63 straw powder. These results indicated that aquatic water with lower concentration of transgenic *Cry1Ab/Ac* rice straw powder had no obvious effect on growth performance and activities of antioxidant and detoxification enzymes of loach. When the concentration of rice straw powder was up to 200 mg·L<sup>-1</sup>, the growth performance and activities of physiologic enzymes of loach decreased significantly, regardless of rice variety. It was suggested that higher level of rice straw powder in water hindered breathing of loach. In addition, the decomposition of rice straw powder in water induced decreasing of pH and dissolved oxygen.

**Keywords** Transgenic *Cry1Ab/Ac* rice; Rice residues; *Misgurnus anguillicaudatus*; Growth; Antioxidant enzyme; Detoxification enzyme

(Received Jul. 10, 2014; accepted Nov. 12, 2014)

转 *Bt* 基因抗虫水稻通过植株组织表达 *Bt* 蛋白控制靶标害虫<sup>[1]</sup>, 效果显著, 已有许多相关报道, 如转 *Cry1Ab/Ac* 融合基因抗虫水稻‘华恢 1 号’对靶标害虫二化螟 (*Chilo suppressalis*)<sup>[2]</sup>、稻纵卷叶螟 (*Cnaphalocrocis medinalis*) 幼虫<sup>[3]</sup>等均具有较强致死力。然转基因水稻的大规模环境释放, 可能给农业生态系统带来影响<sup>[4]</sup>, 公众也十分关注其环境释放可能产生的安全问题。因此, 任何一种转基因作物在环境释放前均需经过广泛而严格的风险评估<sup>[5]</sup>, 其中对非靶标生物的生态安全评估是风险评估的重要内容之一。虽已有研究表明, ‘华恢 1 号’对非靶标动物白符跳 (*Folsomia candida*) 的存活率和繁殖率没有影响<sup>[6]</sup>, 对土壤动物跳虫群落的影响不显著, 但其种植导致球角跳属 (*Hypogastrura*) 和原等跳属 (*Proisotoma*) 百分比、半土生类群和土壤跳虫总量及其种类丰富度和群落多样性显著增加, 同时显著降低裔符跳属 (*Folsomides*) 百分比<sup>[7]</sup>。李修强等<sup>[8]</sup>的研究表明: 与对应亲本相比, 转 *Bt* 水稻对土壤可溶性有机碳、可溶性有机氮和微生物生物量氮的影响不显著, 而对土壤微生物的生物量碳、基础呼吸和微生物代谢熵的影响在大田种植第 1 年某些时段达到显著水平, 且 3 种转 *Bt* 水稻(‘克螟稻’、‘华恢 1 号’和‘*Bt* 汕优 63’)稻田之间微生物学性质的差异比亲本之间的差异大。

水稻收割后有大量水稻残遗物(稻秆、稻叶、稻根等)留在稻田中, 稻田水生动物以及底栖动物将直接或间接接触到这些物质或他们的分解物, 转 *Bt* 水稻残遗物存于田间, 将对稻田水生动物包括底栖动物的生长与生理活动产生何种影响, 目前少见研究报道。然这是转 *Bt* 水稻田间安全评价的重要内容之一。泥鳅 (*Misgurnus anguillicaudatus*) 是水稻田中常见的底栖动物, 其在生境中有潜穴、游动、觅食等行为<sup>[9]</sup>, 常被作为指示生物, 广泛应用于评价如氨氮<sup>[10]</sup>、重金属<sup>[11]</sup>、杀虫剂<sup>[12]</sup>等对水生生物的急性毒性、组织结构与 DNA 损伤、生理酶活性等影响的毒

理检测研究中。已有研究表明, ‘华恢 1 号’的稻秆表达 *Bt* 蛋白量最高<sup>[13]</sup>。因此, 本研究以泥鳅为指示动物, 以转 *Cry1Ab/Ac* 基因抗虫水稻‘华恢 1 号’稻秆粉为材料, 模拟研究转 *Cry1Ab/Ac* 基因抗虫水稻‘华恢 1 号’稻秆残遗物对泥鳅生长及抗氧化-解毒酶系统的影响, 以期深入了解转 *Bt* 抗虫水稻对稻田水生动物的影响, 为全面评价转 *Bt* 抗虫水稻的安全性提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试水稻品种、稻秆收集与稻秆粉制备

供试水稻品种为转 *Cry1Ab/Ac* 基因水稻‘华恢 1 号’(简称 HH1), 以非转基因亲本水稻‘明恢 63’(简称 MH63)为对照。于 2012 年 6 月至 10 月单季种植, 水稻成熟期, 随机选取稻株, 去除稻穗, 留下水稻植株远根处 10 cm 稻秆, 保鲜袋封装, 带回实验室, 晾干粉碎, 制成稻秆粉, -20 °C 冷藏备用。

### 1.2 水稻稻秆残遗物养殖水体的构建

在养殖水体中添加制备好的稻秆粉适量梯度浓度, 模拟构建指示动物生活的水稻稻秆残遗物养殖水体, 同时, 泥鳅也可取食稻秆粉。

### 1.3 供试泥鳅与试验设计

泥鳅购自湖南省湘潭市润田水产养殖有限公司的繁育基地, 系当年人工繁育的泥鳅子代 F<sub>1</sub>。用 10 mg·L<sup>-1</sup> 的 KMnO<sub>4</sub> 溶液浸泡 10 min 杀菌消毒后, 移入 70 cm×65 cm×50 cm 水族箱内, 用曝气 1 d、充分除氯的自来水及常规泥鳅饲料饲养备用。

挑选健康活跃、体色正常、体表无损伤的泥鳅 45 尾, 体长(7.69±0.08) cm, 体重(1.70±0.07) g, 单尾记录体长、体重初始数据并编号后, 随机分成 9 组, 每组 5 尾, 单尾移入容积 1 000 mL 烧杯中(盛已曝气自来水 800 mL), 分组编号, 其中 4 组加 HH1 稻秆粉为试验组, 4 组加 MH63 稻秆粉作对照组, 1 组不添加稻秆粉为空白对照。

将泥鳅置于温度为(23±1) °C, L : D = 10 : 14

的人工气候室内, 饲养 100 d。每 24 h 定时更换水体、喂食并添加同量稻秆粉, 投饵量为泥鳅初始体重的 4%。稻秆粉设 4 个浓度, 分别为  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (根据国家渔业水质标准 GB 11607—89, 渔业标准悬浮物质  $\leq 10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 这 4 个浓度分别为标准浓度的 1 倍、5 倍、10 倍、20 倍)。

#### 1.4 pH 和溶氧量测定

试验初始时及投放稻秆粉饲养泥鳅 24 h 后测定养殖水体 pH 和溶氧量(DO)。pH 测定采用 PH-033 waterproof Pen-type pH Meter 测量, 溶氧量测定采用碘量法<sup>[14]</sup>。

#### 1.5 生长性能测定指标与计算

培养 100 d 后, 测量每尾泥鳅的体重与体长, 活体解剖取出内脏称重。计算特定生长率(SGR)<sup>[15]</sup>、肥满度(CF)<sup>[15]</sup>与内脏系数(VSI)<sup>[16]</sup>等生长性能参数, 其计算公式如下:

$$\text{SGR}=[100\times(\ln W_1-\ln W_0)]/T \quad (1)$$

$$\text{CF}=100\times W_1/L^3 \quad (2)$$

$$\text{VSI}=100\times V/W_1 \quad (3)$$

式中:  $W_0$  和  $W_1$  分别为泥鳅初重和末重(g),  $T$  为饲养时间(d),  $L$  和  $V$  分别为饲养试验结束时泥鳅体长(cm)和内脏重(g)。

#### 1.6 酶液制备与酶活力测定

从培养 100 d 的泥鳅活体取出肝胰脏冰浴匀浆制成粗酶液, 离心取上清液测定泥鳅肝胰脏中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽硫转移酶(GST)活性。其中 SOD 活性测定采用邻苯三酚自氧化法<sup>[17]</sup>, CAT 活性测定采用紫外分光光度法<sup>[18]</sup>, GST 活性测定采用 CDNB 比色法<sup>[19]</sup>; 酶液蛋白含量采用考马斯亮蓝法测定, 以牛血清蛋白为标准物<sup>[20]</sup>。

#### 1.7 数据统计分析

试验数据用 Excel 2003 与 SPSS 13.0 version 统计软件计算和分析, 采用独立样本  $t$  检验和 Duncan's 多重比较检验差异显著性。

## 2 结果与分析

### 2.1 养殖水体 pH 和溶氧量变化

加入 HH1、MH63 稻秆粉 24 h 后, 养殖水体 pH 与溶氧量(DO)变化趋势一致, 且在同一稻秆粉浓度下, HH1 与 MH63 两种水体中的 pH 与 DO 值均无显著差异。但不论是 HH1 还是 MH63, 随着稻秆粉浓度的增加, 均呈现 pH 降低, 水体由弱碱性变为接近中性环境, 溶氧量(DO)均显著降低(表 1)。

表 1 稻秆粉处理 24 h 后养殖水体 pH 和溶氧量的变化

Table 1 Changes of pH and dissolved oxygen in the culture water after 24 hours added with rice straw powder

培养时间 Culture time (h)	稻秆粉浓度 Straw powder concentration ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	pH		溶氧量 Dissolved oxygen ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	
		HH1 ( <i>Bt</i> rice)	MH63 (CK)	HH1 ( <i>Bt</i> rice)	MH63 (CK)
0	0	8.02±0.01a	8.02±0.01a	9.51±0.00a	9.51±0.00a
24	0	7.56±0.01b	7.56±0.01b	6.17±0.36b	6.17±0.36b
	10	7.52±0.07bc	7.44±0.06c	6.51±0.42b	5.13±0.19bc
	50	7.31±0.02c	7.26±0.03d	5.65±0.33bc	4.66±0.24c
	100	7.26±0.05c	7.14±0.02e	4.92±0.12cd	4.42±0.55cd
	200	7.13±0.01d	6.90±0.02f	4.09±0.18d	3.93±0.44d

同列数据后不同小写字母表示不同处理之间差异显著( $P<0.05$ ), 表 2 同。HH1 为转 *Bt* 水稻‘华恢 1 号’, MH63 为非转基因对照‘明恢 63’, 下同。Values in the same column with different lowercase letters are significantly different ( $P<0.05$ ). The same as the table 2. HH1 is transgenic *Bt* rice ‘Huahui 1’, MH63 is non-*Bt* control rice ‘Minghui 63’. The same below.

### 2.2 各处理的泥鳅生长性能

在养殖水体中分别添加相同浓度的 HH1 和 MH63 稻秆粉, 当稻秆粉浓度为  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时, HH1 组泥鳅特定生长率略低于 MH63 组泥鳅的特定生长率, 但均无显著差异( $P>0.05$ ); 稻秆粉浓度为  $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时, HH1 组泥鳅的特定生长率与 MH63 组的相同(表 2)。

在养殖水体中添加 HH1 稻秆粉, 泥鳅的特定生长率随稻秆粉浓度增加而逐渐下降, 但稻秆粉浓度达到  $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 泥鳅的特定生长率显著低于同组其他低浓度的特定生长率( $P<0.05$ ), 同组内 4 组

低浓度处理间无显著差异。添加对照 MH63 稻秆粉后, 泥鳅的特定生长率也随稻秆粉浓度增加而逐渐下降, 但 5 组处理间并无显著差异。

由表 2 还可知, 养殖水体中添加相同浓度的 HH1 和 MH63 稻秆粉, 两组泥鳅的肥满度值相近, 其中稻秆粉浓度为  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时, HH1 组泥鳅肥满度值略低于 MH63 组; 稻秆粉浓度为  $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时, HH1 组泥鳅肥满度值略高于 MH63 组, 但均无显著差异( $P>0.05$ )。

在养殖水体中分别添加  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  与  $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的 HH1 与 MH63 稻秆粉, HH1 组泥鳅内

表 2 稻秆粉处理对泥鳅特定生长率、饱满度和内脏系数的影响

Table 2 Effects of rice straw powder on specific growth rate, condition factor and viscera somatic index of *Misgurnus anguillicaudatus*

稻秆粉浓度 Straw powder concentration (mg·L <sup>-1</sup> )	特定生长率 Specific growth rate			饱满度 Condition factor			内脏系数 Viscera somatic index		
	HH1 ( <i>Bt</i> rice) (%, g·d <sup>-1</sup> )	MH63 (CK) (%, g·d <sup>-1</sup> )	<i>P</i> 值 <i>P</i> value	HH1 ( <i>Bt</i> rice) (%, g·cm <sup>-3</sup> )	MH63 (CK) (%, g·cm <sup>-3</sup> )	<i>P</i> 值 <i>P</i> value	HH1 ( <i>Bt</i> rice) (%)	MH63 (CK) (%)	<i>P</i> 值 <i>P</i> value
0	0.71±0.09a	0.71±0.09a	—	0.46±0.03	0.46±0.03	—	11.23±3.02	11.23±3.02	—
10	0.61±0.06ab	0.62±0.21a	0.976 9	0.41±0.01	0.48±0.00	0.112 4	8.86±3.78	12.84±4.21	0.520 5
50	0.51±0.19ab	0.51±0.08a	0.995 1	0.46±0.05	0.44±0.04	0.857 8	14.14±5.60	9.32±2.15	0.467 3
100	0.37±0.09ab	0.38±0.18a	0.977 1	0.38±0.02	0.43±0.02	0.131 8	8.56±0.94	9.30±0.69	0.564 7
200	0.27±0.18b	0.33±0.22a	0.833 2	0.42±0.05	0.38±0.02	0.530 6	5.18±0.72	5.32±0.39	0.876 7

脏系数均略低于 MH63 组; 稻秆粉浓度为 50 mg·L<sup>-1</sup> 时, HH1 组泥鳅内脏系数略高于 MH63 组, 但均无显著差异( $P>0.05$ )(表 2)。

### 2.3 各处理的泥鳅肝胰脏超氧化物歧化酶(SOD)活性

由图 1a 可知, 在养殖水体中添加 10 mg·L<sup>-1</sup> 稻秆粉时, HH1、MH63 组泥鳅肝胰脏 SOD 活性最高, 且 SOD 活性表现为 HH1 组略高于 MH63 组; 添加

50 mg·L<sup>-1</sup>、100 mg·L<sup>-1</sup>、200 mg·L<sup>-1</sup> 稻秆粉时, 泥鳅的 SOD 活性有所降低, 且 HH1 组泥鳅的 SOD 活性均略低于 MH63 组泥鳅的 SOD 活性, 但均无显著差异( $P>0.05$ )。同时, 试验结果也表明, 与空白对照比较, HH1 与 MH63 稻秆粉在 10 mg·L<sup>-1</sup> 低浓度时均有诱导泥鳅肝胰脏 SOD 升高的现象, 但均无显著差异( $P>0.05$ )(表 3)。

### 2.4 各处理的泥鳅肝胰脏过氧化氢酶(CAT)活性

由图 1b 可知, 养殖水体中添加各浓度稻秆粉后, HH1 组泥鳅肝胰脏 CAT 活性与 MH63 组泥鳅肝胰脏 CAT 活性变化趋势基本相同, 稻秆粉浓度为 10 mg·L<sup>-1</sup> 与 50 mg·L<sup>-1</sup> 时, HH1 组泥鳅肝胰脏 CAT 活性略高于 MH63 组; 稻秆粉浓度为 100 mg·L<sup>-1</sup> 与 200 mg·L<sup>-1</sup> 时, HH1 组泥鳅肝胰脏 CAT 活性低于 MH63 组, 但均无显著差异( $P>0.05$ )(表 3)。

稻秆粉浓度为 10 mg·L<sup>-1</sup> 与 50 mg·L<sup>-1</sup> 时, HH1 组和 MH63 组泥鳅肝胰脏 CAT 活性均高于空白对照组; 稻秆粉浓度为 100 mg·L<sup>-1</sup> 时, HH1 组泥鳅肝胰脏 CAT 活性低于空白对照组, 而 MH63 组泥鳅肝胰脏 CAT 活性高于空白对照组, 但均无显著差异( $P>0.05$ )。稻秆粉浓度为 200 mg·L<sup>-1</sup> 时, HH1 组和 MH63 组泥鳅肝胰脏 CAT 活性显著低于空白对照组( $P<0.05$ )(图 1b, 表 3)。

### 2.5 各处理的泥鳅肝胰脏谷胱甘肽硫转移酶(GST)活性

由图 1c 可知, 添加不同浓度的稻秆粉, HH1 组与 MH63 组泥鳅肝胰脏的 GST 活性在各相同浓度组间均表现为 HH1 组略低于 MH63 组, 但均无显著差异( $P>0.05$ )。且稻秆粉浓度从 10 mg·L<sup>-1</sup>、50 mg·L<sup>-1</sup> 到 100 mg·L<sup>-1</sup>, HH1 组和 MH63 组泥鳅肝胰脏 GST 活性均呈升高趋势, 当稻秆粉浓度为 200 mg·L<sup>-1</sup> 时, HH1 组和 MH63 组泥鳅肝胰脏 GST 活性明显降低。

稻秆粉浓度为 10 mg·L<sup>-1</sup> 与 200 mg·L<sup>-1</sup> 时, HH1 组与 MH63 组泥鳅肝胰脏 GST 活性均低于空白对照组; 稻秆粉浓度为 50 mg·L<sup>-1</sup> 与 100 mg·L<sup>-1</sup> 时, HH1

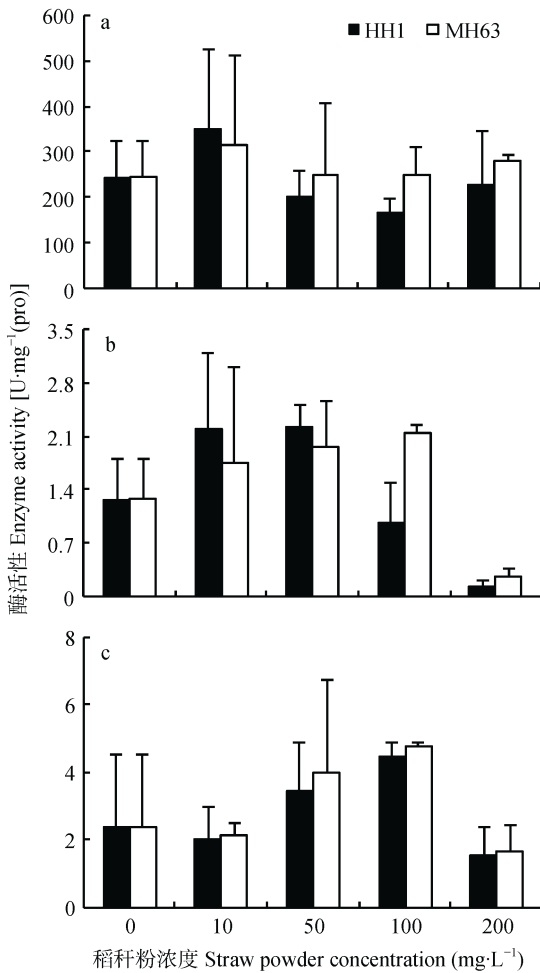


图 1 稻秆粉处理对泥鳅肝胰脏 SOD(a)、CAT(b)与 GST(c)酶活性的影响

Fig. 1 Effects of rice straw powder on SOD (a), CAT (b) and GST (c) activities in hepatopancreas of *Misgurnus anguillicaudatus*

表 3 稻秆粉对泥鳅 SOD、CAT 和 GST 活性影响的 *t* 检验  
Table 3 *t*-test of the effect of straw powder on the SOD, CAT and GST of *Misgurnus anguillicaudatus*

稻秆粉浓度 Straw powder concentration (mg·L <sup>-1</sup> )	SOD		CAT		GST	
	<i>t</i>	<i>P</i>	<i>t</i>	<i>P</i>	<i>t</i>	<i>P</i>
10	0.127 1	0.905 0	0.278 2	0.794 6	0.093 2	0.930 2
50	0.276 9	0.795 6	0.385 0	0.719 8	0.173 6	0.870 6
100	1.197 6	0.297 2	2.198 4	0.148 2	0.731 9	0.504 8
200	0.456 2	0.671 9	0.944 4	0.398 4	0.154 5	0.884 7

组泥鳅肝胰脏 GST 活性高于空白对照组, 但均无显著差异( $P>0.05$ )(图 1c, 表 3)。

### 3 讨论

#### 3.1 泥鳅生长性能对转 *Bt* 水稻残遗物的响应

在泥鳅养殖水体中加入 HH1 和 MH63 稻秆粉, 相同浓度的两品种间泥鳅的特定生长率、肥满度、内脏系数没有显著差异。但均随稻秆粉浓度增加而降低。泥鳅属杂食性鱼类, 通过鳃呼吸与滤食, 小于 5 cm 的个体喜食动物性饵料, 体长在 6~9 cm 时, 动植物饲料均喜食, 体长超过 10 cm 时以植物性饲料为主。本试验中泥鳅体长均为 7~10 cm, 当水环境中稻秆粉含量较低时, 稻秆粉作为食源可能会促进泥鳅的生长, 当稻秆粉浓度过高时, 水体中悬浮稻秆粉可能影响泥鳅鳃呼吸与滤食。同时, 因稻秆粉在养殖水体中发酵腐解, 使养殖水体 pH 发生变化、溶氧量降低等可能影响泥鳅的摄食与生长, 且随稻秆粉浓度增加, 这种影响增强。因 pH 是制约泥鳅消化酶活性的重要因素<sup>[21]</sup>, 溶氧量减少对鱼类的生长有明显的负作用, 低溶氧量可限制水生动物生命活动<sup>[22]</sup>。即高浓度的稻秆粉, 不管是转基因水稻 HH1 还是非转基因水稻 MH63, 都对泥鳅的生长产生明显影响, 而与是否为转 *Bt* 基因水稻无直接关联。

#### 3.2 泥鳅肝胰脏 SOD、CAT、GST 酶活性对 *Bt* 水稻残遗物影响的响应

SOD、CAT 是生物体内普遍存在的具有抗氧化功能的防御性酶, SOD 可将 O<sub>2</sub><sup>-</sup>歧化为 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 O<sub>2</sub>, 免除超氧阴离子自由基对机体的伤害, CAT 可作用于 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 使其分解为 H<sub>2</sub>O 和 O<sub>2</sub>, 阻断 OH<sup>-</sup> 自由基的生成途径。在氧化与抗氧化平衡中, 泥鳅肝胰脏的 SOD、CAT 酶活性变化能够灵敏地反映机体抗氧化系统对环境胁迫的响应<sup>[23-24]</sup>。本试验中, 稻秆粉浓度为 10 mg·L<sup>-1</sup> 时, 泥鳅肝胰脏 SOD 活性即被诱导达到最大值, 对低浓度的稻秆粉胁迫表现出敏锐的生理调节效应。当浓度大于 10 mg·L<sup>-1</sup>, 泥鳅肝胰脏抵抗外源污染物的能力受到抑制开始下降, 且这种

影响在 HH1 和 MH63 两种稻秆粉处理后是相同的, 表明稻秆粉含量较多时会降低 SOD 酶活性, 可能与水体受稻秆粉作用后 pH、溶氧量、有机酸等多种因素改变的程度有关。

水体添加 10~200 mg·L<sup>-1</sup> 的 HH1、MH63 稻秆粉对泥鳅肝胰脏 CAT 活性的影响差异不显著, 表明转基因水稻 HH1 稻秆粉对泥鳅 CAT 没有显著影响。与不添加稻秆粉的空白对照比较, HH1 和 MH63 组泥鳅通过 CAT 活性表现的“兴奋效应”相似。稻秆粉含量较低时, CAT 活性随 SOD 活性增加呈增加趋势, 随稻秆粉浓度逐渐升高, 水体悬浮物不断增多, 这些不利因子导致 SOD、CAT 活性受抑制程度加深。本试验中 200 mg·L<sup>-1</sup> HH1 组、MH63 组的泥鳅 CAT 活性均明显低于其他 3 个浓度组的泥鳅 CAT 活性, 表明稻秆粉含量超出一定限度可使泥鳅机体发生一定程度的氧化损伤, HH1 与 MH63 引起的这种氧化损伤在程度上是一致的。

GST 具有消除自由基和解毒作用, 易被异源物质诱导催化还原谷胱甘肽(GSH)和一些亲电子化学物质结合, 促进有害物质代谢; 此外, GST 可作为结合蛋白, 以高亲和力结合、转运多种疏水性污染物, 从而保护机体免受损伤。在试验过程中发现, 水中稻秆粉含量较低时可诱导泥鳅 GST 活性升高, 保护泥鳅避免机体过氧化, 当稻秆粉含量过高时可能影响泥鳅的正常呼吸、取食, 可能会促进泥鳅肝胰脏解毒过程中底物 GSH 被大量消耗, 产生的中间代谢物改变 GST 亚基组成引起 GST 活性降低。随着稻秆粉含量的变化, HH1 组与 MH63 组泥鳅的 GST 活性变化趋势一致, 且差异不显著, 说明与对照 MH63 比较, 转基因水稻 HH1 稻秆粉对泥鳅肝胰脏解毒酶 GST 活性没有显著影响。

然而, 本文只是在养殖水体中加入适量稻秆粉来模拟水稻残遗物生境完成的初步研究, 且每 24 h 更换 1 次养殖水体, 因此, 其测定环境、条件与实际的水稻残遗物生境有较大差异, 建议在此基础上开展田间放养后的实地评价研究。

## 参考文献

- [1] Clark B W, Phillips T A, Coats J R. Environmental fate and effects of *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) proteins from transgenic crops: A review[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(12): 4643–4653
- [2] 李志毅, 隋贺, 徐艳博, 等. 转 *Cry1Ab* 和 *Cry1Ac* 融合基因型抗虫水稻对田间二化螟和大螟种群发生动态的影响[J]. 生态学报, 2012, 32(6): 1783–1789  
Li Z Y, Sui H, Xu Y B, et al. Effects of insect-resistant transgenic *Bt* rice with a fused *Cry1Ab+Cry1Ac* gene on population dynamics of the stem borers, *Chilo suppressalis* and *Sesamia inferens*, occurring in paddy field[J]. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(6): 1783–1789
- [3] Xu X L, Han Y, Wu G, et al. Field evaluation of effects of transgenic *Cry1Ab/Cry1Ac*, *Cry1C* and *Cry2A* rice on *Cnaphalocrocis medinalis* and its arthropod predators[J]. Science China: Life Sciences, 2011, 54(11): 1019–1028
- [4] Velkov V V, Medvinsky A B, Sokolov M S, et al. Will transgenic plants adversely affect the environment?[J]. Journal of Biosciences, 2005, 30(4): 515–548
- [5] Wolt J D, Keese P, Raybould A, et al. Problem formulation in the environmental risk assessment for genetically modified plants[J]. Transgenic Research, 2010, 19(3): 425–436
- [6] Yuan Y Y, Xiao N W, Krogh P H, et al. Laboratory assessment of the impacts of transgenic *Bt* rice on the ecological fitness of the soil non-target arthropod, *Folsomia candida* (Collembola: Isotomidae)[J]. Transgenic Research, 2013, 22(4): 791–803
- [7] 祝向钰, 李志毅, 常亮, 等. 转 *Bt* 水稻土壤跳虫群落组成及其数量变化[J]. 生态学报, 2012, 32(11): 3546–3554  
Zhu X Y, Li Z Y, Chang L, et al. Community structure and abundance dynamics of soil collembolans in transgenic *Bt* rice paddy fields[J]. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(11): 3546–3554
- [8] 李修强, 陈法军, 刘满强, 等. 转 *Bt* 水稻对土壤可溶性有机碳氮及微生物学性质的影响[J]. 应用生态学报, 2012, 23(1): 96–102  
Li X Q, Chen F J, Liu M Q, et al. Effects of transgenic *Bt* rice on soil dissolved organic carbon and nitrogen contents and microbiological properties[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2012, 23(1): 96–102
- [9] 孙刚, 房岩, 胡佳林, 等. 泥鳅对稻田土壤动物的扰动效应[J]. 生态与农村环境学报, 2011, 27(1): 100–103  
Sun G, Fang Y, Hu J L, et al. A preliminary study on bioturbation effects of *Misgurnus anguillicaudatus* on soil animals in paddy field[J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2011, 27(1): 100–103
- [10] 郝小凤, 刘洋, 凌去非. 氨氮对泥鳅的急性毒性及其对肝、鳃组织超微结构的影响[J]. 水生态学杂志, 2012, 33(5): 101–105  
Hao X F, Liu Y, Ling Q F, et al. Acute toxicity test of ammonia nitrogen and effects of ammonia-N stress on the ultrastructure of gill and liver of *Misgurnus anguillicaudatus*[J]. Journal of Hydroecology, 2012, 33(5): 101–105
- [11] 张迎梅, 王叶菁, 虞闰六, 等. 重金属  $Cd^{2+}$ 、 $Pb^{2+}$  和  $Zn^{2+}$  对泥鳅 DNA 损伤的研究[J]. 水生生物学报, 2006, 30(4): 399–403  
Zhang Y M, Wang Y J, Yu R L, et al. Effects of heavy metals  $Cd^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  and  $Zn^{2+}$  on DNA damage of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*)[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2006, 30(4): 399–403
- [12] 李娟, 陈洁文, 甘居利, 等. 三氯杀螨醇对泥鳅血清 GST 和 AchE 活力的影响[J]. 生态毒理学报, 2011, 6(5): 551–556  
Li J, Chen J W, Gan J L, et al. Effects of dicofol on activities of GST and ache in blood serum of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*)[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2011, 6(5): 551–556
- [13] 王园园. 转 *Cry2Aa* 基因抗虫水稻对中华通草蛉的潜在影响[D]. 北京: 中国农业科学院, 2012  
Wang Y Y. The protectial impact of transgenic *Cry2Aa* rice on *Chrysoperla sinica tjedar*[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2012
- [14] 梁秀丽, 潘忠泉, 王爱萍, 等. 碘量法测定水中溶解氧[J]. 化学分析计算, 2008, 17(2): 54–56  
Liang X L, Pan Z Q, Wang A P, et al. Determination of dissolved oxygen in water by iodometric method[J]. Calculation of Chemical Analysis, 2008, 17(2): 54–56
- [15] 孙瑞健, 张文兵, 徐玮, 等. 饲料蛋白质水平与投喂频率对大黄鱼生长、体组成及蛋白质代谢的影响[J]. 水生生物学报, 2013, 37(2): 281–289  
Sun R J, Zhang W B, Xu W, et al. Effects of dietary protein level and feeding frequency on the growth performance, body composition and protein metabolism of juvenile large yellow croakers, *Pseudosciaena crocea* R.[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2013, 37(2): 281–289
- [16] 吕耀平, 成永旭, 吴旭干, 等. 紫苏子提取物对异育银鲫存活、生长以及体生化组成的影响[J]. 水生生物学报, 2008, 32(2): 258–260  
Lü Y P, Cheng Y X, Wu X G, et al. Effects of extractives of perilla seed on survival, growth and body biochemical composition of *Carassius auratus gibelio*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2008, 32(2): 258–260
- [17] 邹国林, 桂兴芬, 钟晓凌, 等. 一种 SOD 的测活方法——邻苯三酚自氧化法的改进[J]. 生物化学与生物物理进展, 1986, 13(4): 71–73  
Zou G L, Gui X F, Zhong X L, et al. Improvement of measuring method for SOD — The adjacent benzene three phenolic autoxidation method[J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 1986, 13(4): 71–73
- [18] 蒋传葵. 工具酶的活力测定[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1982: 36–37  
Jiang C K. Activity Determination of Tool Enzymes[M].

- Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1982: 36-37
- [19] 毛德寿, 同宗灿, 王志远, 等. 环境生化毒理学[M]. 沈阳: 辽宁大学出版社, 1986: 151
- Mao D S, Tong Z C, Wang Z Y, et al. Environmental Toxicology and Chemistry[M]. Shenyang: Liaoning University Publishing House, 1986: 151
- [20] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1/2): 248-254
- [21] 丁茜, 田宝军, 耿丽娜, 等. 温度、pH 对泥鳅肠道消化酶活性的影响[J]. 齐鲁渔业, 2009, 26(6): 4-6
- Ding Q, Tian B J, Geng L N, et al. Effects of temperature and pH on digestive enzyme activities in the intestine of *Misgurnus anguillicaudatus*[J]. Shandong Fisheries, 2009, 26(6): 4-6
- [22] 刘世英. 溶氧量与鱼类关系的研究概况[J]. 国外水产, 1988(1): 17-25
- Liu S Y. Overview of research on the relationship between dissolved oxygen and fish[J]. Foreign Fisheries, 1988(1): 17-25
- [23] Li H C, Luo W R, Tao Y, et al. Effects of nanoscale quantum dots in male Chinese loaches (*Misgurnus anguillicaudatus*): Estrogenic interference action, toxicokinetics and oxidative stress[J]. Science in China Series B: Chemistry, 2009, 52(10): 1683-1690
- [24] 陆雷达, 金叶飞, 施维林, 等. LAS 与  $\text{Cu}^{2+}$  单一及复合污染对泥鳅肝脏 SOD、CAT 活性的影响[J]. 水产科学, 2007, 26(12): 648-651
- Lu L D, Jin Y F, Shi W L, et al. Effects of single and complex pollutions of linear alkylbenzene sulfonates (LAS) and  $\text{Cu}^{2+}$  on activities of SOD and CAT in liver of oriental weatherfish *Misgurnus anguillicaudatus*[J]. Fisheries Science, 2007, 26(12): 648-651