

泥鳅对饲料中添加转融合基因 *Cry1Ab/Ac* 水稻花粉的响应*

李菲¹ 刘雨芳^{1**} 孙远东¹ 莫书银¹ 肖璐¹ 谭树华¹ 刘文海¹ 桂芳艳¹
戈峰²

(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, 湖南湘潭 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 以转 *Cry1Ab/Ac* 抗虫水稻华恢 1 号 (HH1) 花粉为添加剂, 配制 4 种不同花粉含量 (1%、5%、10%、20%) 的饲料, 以非转基因亲本水稻明恢 63 (MH63) 花粉为对照, 常规泥鳅饲料 (不添加花粉) 为阴性对照, 投喂 100 d, 通过泥鳅的生长指标和肝脏生理酶活性评价转 *Cry1Ab/Ac* 抗虫水稻 HH1 号花粉对泥鳅的安全性。结果表明, 在饲料中分别添加相同比例的 HH1 与 MH63 花粉, 两组泥鳅的增重率、脏器比和肝体比指数均无显著差异, 同时对泥鳅的肝脏抗氧化保护酶 SOD、CAT 活性与解毒酶 GST 活性也均无显著影响。饲料中花粉含量为 20% 时, 在饲养 100 d 后, 转 *Cry1Ab/Ac* 水稻花粉对泥鳅的生长性能与肝脏生理酶代谢功能没有明显影响。因此, 转 *Cry1Ab/Ac* 抗虫水稻 HH1 号花粉对泥鳅无明显的生态风险。

关键词 生长性能; SOD; CAT; GST

中图分类号 S962 文献标识码 A 文章编号 1000-4890(2014)10-2727-06

Response of *Misgurnus anguillicaudatus* to feed with transgenic *Cry1Ab/Ac* rice pollen added. LI Fei¹, LIU Yu-fang^{1**}, SUN Yuan-dong¹, MO Shu-yin¹, XIAO Lu¹, TAN Shu-hua¹, LIU Wen-hai¹, GUI Fang-yan¹, GE Feng² (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, Hunan, China; ² Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China). *Chinese Journal of Ecology*, 2014, 33(10): 2727–2732.

Abstract: As an additive, the pollen of transgenic *Cry1Ab/Ac* insect-resistant rice (HH1) was added to the normal feed of *Misgurnus anguillicaudatus*, which made the artificial feed containing 1%, 5%, 10% and 20% pollen, respectively. *M. anguillicaudatus* were cultured in laboratory for 100 days fed on one of the artificial feeds mentioned above. Feed with the pollen of non-*Cry1Ab/Ac* parent rice (MH63) added was used as a control, while the regular feed without any pollen was used as a negative control. The ecological safety of transgenic *Cry1Ab/Ac* rice pollen on *M. anguillicaudatus* was evaluated by testing the growth performance and activities of physiological enzymes in liver of *M. anguillicaudatus*. The results showed that no significant differences were found in the weight gain rate, viscera somatic index and liver somatic index of *M. anguillicaudatus* feeding transgenic *Cry1Ab/Ac* rice pollen compared to that in the control groups. The activities of two antioxidant protective enzyme, SOD and CAT, and detoxification enzyme GST of *M. anguillicaudatus* had no significant difference either. With up to 20% pollen content of transgenic *Cry1Ab/Ac* rice in feed, no obvious influences on the growth performance and physiological metabolism of liver function of *M. anguillicaudatus* were found after feeding 100 days. The results suggested that the pollen of transgenic *Cry1Ab/Ac* rice would have no obvious ecological risk on *M. anguillicaudatus*.

Key words: growth performance; SOD; CAT; GST.

* 国家转基因生物新品种培育重大专项 (2012ZX08011002) 和湖南科技大学优秀学位论文培育项目 (S120029) 资助。

** 通讯作者 E-mail: yfliu2011@126.com

收稿日期: 2014-03-24 接受日期: 2014-06-23

泥鳅 (*Misgurnus anguillicaudatus*) 为亚洲本土小型温水性鱼类, 广布于稻田、渠沟和池塘等水生生态系统, 喜居于底层, 以水域中腐殖质、植物碎屑及浮游动物等为食 (雷逢玉和王宾贤, 1990), 因其具有良好的食用、药用市场潜力, 我国南方各地多将泥鳅养殖于稻田中, 形成稻-鱼共作的经济种养模式。Wang 等 (2008) 研究了不同饵料水蚤与小球藻对泥鳅生长情况的影响, 证明增重率等生长性能指数可较好地反映泥鳅对饲料的利用及饲料对泥鳅健康的影响。同时, 泥鳅作为一种灵敏的毒性检测指示生物, 常用于监测环境的污染程度, 如焦传珍 (2009) 研究了稀土元素铈对镉染毒泥鳅肝脏抗氧化酶活性的影响。

利用转 *Bt* 杀虫水稻分泌杀虫晶体蛋白使靶标害虫瘫痪或死亡来解决水稻生产中的虫害及化学药剂污染等问题虽然不断取得进步, 但公众更关注其环境释放后可能会带来的潜在生态风险 (梁革梅等 2003; Clark *et al.* 2005)。在水稻扬花期, 稻田及其周边环境有花粉飘落, 但花粉数量随距离增加而减少, 且易受风向、降雨等自然因素的影响, 这与非转基因水稻花粉飘移没有差异 (姚洪渭等 2005; Kanya *et al.* 2009)。转 *Bt* 杀虫水稻花粉能表达一定量的 *Bt* 蛋白, 王忠华等 (2001) 将 *Bt* 水稻花粉抖落在桑叶上饲养家蚕 (*Bombyx mori*), 研究了不同龄期家蚕的死亡率和体重变化。Yao 等 (2006) 调查了转 *Cry1Ab/Ac* 基因水稻田周边桑叶上花粉的密度, 并以家蚕为受试对象, 研究了不同浓度 *Bt* 水稻花粉对其生存率、幼虫发育历期和茧壳重量的影响。袁艳华等 (2007) 研究了转 *Bt-cry1Ab/Ac* 水稻花粉对家蚕生长发育的影响, 探索转 *Bt* 水稻花粉对家蚕的安全性。Bai 等 (2005) 分别以转 *Bt* 水稻 KMD1 和 KMD2 花粉为实验材料, 秀水 11 做对照, 研究了转 *Cry1Ab* 基因水稻花粉对龟纹瓢虫 (*Proylea japonica*) 雌雄成虫的生存及健康状况的影响。Wang 等 (2012) 评估了转 *Cry2Aa* 水稻花粉对中华通草蛉 (*Chrysoerla sinica*) 生存、产卵量及成虫干重的影响。而这些评价研究均集中在地面以上部分生境中的非靶标生物, 对稻田水体及水生动物的安全评价研究报道较少。转 *Bt* 水稻花粉对其稻田水生生境中的非靶标动物的生态风险评估也是转基因水稻生态安全性评价的重要内容。

本文检测了转融合基因 *Cry1Ab/Ac* 杀虫水稻华恢 1 号花粉中 *Bt* 毒蛋白的田间表达, 并在泥鳅常规

饲料中添加转融合基因 *Cry1Ab/Ac* 水稻花粉, 检测了泥鳅的生理响应, 旨在为转融合基因 *Cry1Ab/Ac* 抗虫水稻对泥鳅等水生动物的生态安全性评价提供科学实验数据。

1 材料与方法

1.1 供试稻种与花粉采集

以转融合基因 *Cry1Ab/Ac* 抗虫水稻华恢 1 号 (简称 HH1) 为材料, 非转基因亲本籼稻品种明恢 63 (简称 MH63) 为对照, 2012 年 6 月单季种植于大田。在水稻扬花期, 用盆拍法采集花粉 (蒋彩英 2004), 具体方法是用手在水稻稻穗一侧轻轻拍打, 用干净的白色瓷盘在稻穗另一侧收集被振落的花粉, 分别收集 HH1 和 MH63 水稻花粉后, 用干净毛笔将花粉轻轻扫出, 保鲜袋封装带回实验室, 于 250 μm 孔径 (60 目) 过筛后, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷藏备用。

1.2 供试泥鳅与实验饲料

实验泥鳅为湖南省湘潭市润田水产养殖有限公司的规格泥鳅, 用曝气 1 d、充分除氯的自来水于水族箱 (70 cm \times 65 cm \times 50 cm) 内驯养, 挑选健康活跃泥鳅 45 尾, 测得初始体长 (7.18 \pm 0.08) cm, 体质量 (1.51 \pm 0.06) g, 5 尾 1 组, 随机分为 9 组备用。

泥鳅基础饲料购自湖南省湘潭市润田水产养殖有限公司, 其营养成分及组成百分比为: 粗蛋白 (34%)、粗纤维 (17%)、灰分 (17%)、食盐 (4%)、总磷 (2.2%)、钙 (4%)、赖氨酸 (1.5%)、蛋氨酸 (0.2%)、水分 (10%)。将基础饲料粉碎后, 分别添加占干重 1%、5%、10% 和 20% 的 HH1、MH63 水稻花粉, 加水混匀后制成直径约 1.5 mm 的实验饲料, 风干后包装, 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存备用。

1.3 饲养设计与取材

将供试泥鳅单尾饲养在容积 1 L 的烧杯中, 盛曝气 24 h 的自来水 800 mL, 初始水质: pH 8.02, 溶解氧 9.51 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。置于温度为 (23 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$, L:D = 10:14 的人工气候箱内, 每 24 h 换饲养水并投食, 日投饵量为泥鳅初始体重的 4%。其中, 投喂添加转融合基因 *Cry1Ab/Ac* 抗虫水稻 HH1 花粉饲料的为试验组, 添加非转基因 MH63 花粉饲料的为对照组, 投喂常规泥鳅饲料的为阴性对照。饲养持续 100 d 后, 测量各组泥鳅的体重与体长, 活体解剖取出内脏称重, 用于计算泥鳅的增重率、脏体比与肝体比等参数。将肝脏冰浴匀浆制成粗酶液, 离心取上清液于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存待测。

1.4 水稻花粉中 *Cry1Ab/Ac* 杀虫蛋白的 ELISA 检测

分别取 HH1 和 MH63 花粉 10 mg,加液氮研磨后,移入 2 mL 离心管内,加 2 mL 提取液静置 5 min 后离心,取上清液,用试剂盒方法,通过 Biolek 酶标仪,在波长 450 nm 下检测 *Cry1Ab/Ac* 蛋白含量,检测设 3 次重复。*Cry1Ab/Ac* 试剂盒购自美国 Envio-Logix 公司。

1.5 酶活测定

泥鳅肝脏的超氧化物歧化酶(SOD)活力测定采用邻苯三酚自氧化法(邹国林等,1986),过氧化氢酶(CAT)活力测定采用紫外分光光度法(蒋传葵,1982),谷胱甘肽硫转移酶(GST)活力测定采用 CDNB 比色法(毛德寿等,1986),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(Bradford,1976)。

1.6 参数计算与数据分析

增重率、脏体比与肝体比等生长性能参数(谭肖英等,2009)计算公式如下:

$$\text{增重率(WGR)} = \frac{(W_1 - W_0)}{W_0} \times 100\%$$

$$\text{脏体比(VSI)} = \frac{V_1}{W_1} \times 100\%$$

$$\text{肝体比(HSI)} = \frac{H_1}{W_1 - V_1} \times 100\%$$

式中: W_0 、 W_1 分别为泥鳅初重与末重(g); V_1 为泥鳅内脏重(g); H_1 为泥鳅肝脏重(g)。

实验结果为平均值 ± 标准误,采用 Excel 2007 和 SPSS 13.0 统计软件进行试验数据分析和制图,应用独立样本 *t* 检验对试验组和对照组进行差异性分析;应用 Duncan 多重比较检验同种花粉但不同花粉含量(%)的组内差异性。

2 结果与分析

2.1 花粉与混合饲料中 *Cry1Ab/Ac* 蛋白含量

经 ELISA 定量测定,HH1 水稻花粉表达了

Cry1Ab/Ac 杀虫蛋白,在对照 MH63 花粉中没有检测到 *Cry1Ab/Ac* 蛋白。结合人工花粉饲料混合比例,测算出添加了不同含量的 HH1 花粉饲料中的 *Cry1Ab/Ac* 蛋白含量,结果见表 1。

2.2 转 *Bt* 抗虫水稻花粉对泥鳅生长性能的影响

在饲料中添加相同含量的 HH1 与 MH63 水稻花粉,100 d 饲喂实验结束后,2 组泥鳅均无死亡,泥鳅的增重率、脏体比与肝体比情况如表 2 所示。经独立样本 *t* 检验,饲料中添加各比例含量的花粉,HH1 组泥鳅的增重率、脏体比与肝体比均与对照 MH63 组无显著差异(表 3)。

饲料中添加同种不同比例(0%、1%、5%、10%和 20%)花粉,HH1 组内与 MH63 组内泥鳅的增重率、脏体比、肝体比两两之间均无显著差异($P > 0.05$)。

2.3 转 *Bt* 抗虫水稻花粉对泥鳅肝脏超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响

饲料中添加不同比例花粉时,HH1 组泥鳅肝脏的 SOD 活性与对照 MH63 组均无显著差异($P > 0.05$)(图 1,表 4)。与阴性对照比较,HH1 与 MH63 花粉饲料均有诱导泥鳅肝脏 SOD 活性升高的现象,其中,除饲料中添加 10% HH1 花粉时,泥鳅肝脏 SOD 活性显著高于阴性对照组($P < 0.05$)外,饲料中添加 1%、5%、20% 的 HH1 花粉与 MH63 花粉及添加 10% MH63 花粉,泥鳅肝脏 SOD 活性均与

表 1 水稻花粉及加入花粉后混合饲料中 *Cry1Ab/Ac* 蛋白的含量

Table 1 Concentration of *Cry1Ab/Ac* protein in pollen of rice and mixed-pollen-feed

供试花粉	<i>Cry1Ab/Ac</i> 蛋白含量 ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	饲料中花粉比例 (%)	饲料中 <i>Cry1Ab/Ac</i> 蛋白含量 ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	
			HH1	MH63
HH1	12.52 ± 0.28	0	0	0
MH63	0	1	0.13	0
		5	0.63	0
		10	1.25	0
		20	2.50	0

表 2 饲料中添加 HH1、MH63 花粉后泥鳅的生长性能比较

Table 2 Comparison of growth performance of *Misgurnus anguillicaudatus* feeding with different proportions of HH1 and MH63 rice pollen

花粉含量 (%)	增重率 (%)		脏体比 (%)		肝体比 (%)	
	HH1	MH63	HH1	MH63	HH1	MH63
0	65.67 ± 26.51	65.67 ± 26.51	4.76 ± 0.69	4.76 ± 0.69	0.85 ± 0.23	0.85 ± 0.23
1	42.24 ± 15.02	68.77 ± 22.88	3.77 ± 0.18	4.96 ± 0.79	0.77 ± 0.05	1.17 ± 0.31
5	61.27 ± 5.74	78.65 ± 26.44	4.32 ± 0.75	4.54 ± 0.37	1.20 ± 0.28	0.85 ± 0.05
10	79.00 ± 14.35	63.22 ± 17.84	4.91 ± 0.56	4.47 ± 0.34	0.96 ± 0.20	0.96 ± 0.14
20	85.69 ± 9.60	57.30 ± 12.50	4.74 ± 0.38	3.82 ± 0.35	1.00 ± 0.15	0.66 ± 0.16

表 3 HH1 与 MH63 组间泥鳅生长性能参数的 *t* 检验 ($n = 5$)

Table 3 *t*-test on the growth performance of *Misgurnus anguillicaudatus* between HH1 and MH63

花粉含量 (%)	增重率		脏体比		肝体比	
	<i>t</i>	<i>P</i>	<i>t</i>	<i>P</i>	<i>t</i>	<i>P</i>
1	0.97	0.36	1.45	0.18	1.24	0.28
5	0.64	0.55	0.25	0.81	1.20	0.26
10	0.69	0.51	0.67	0.52	0.00	0.99
20	1.80	0.11	1.78	0.11	1.51	0.17

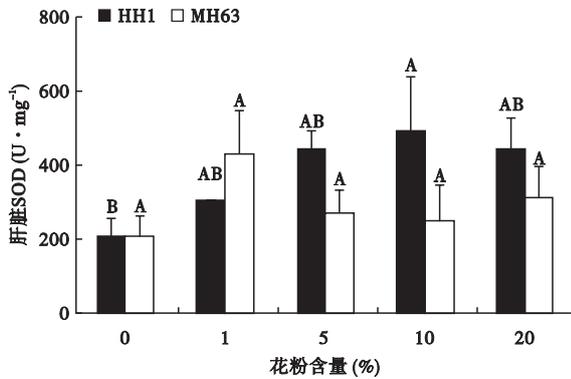


图 1 转 *Bt* 抗虫水稻花粉对泥鳅肝脏 SOD 活性的影响
Fig. 1 Effects of pollen of HH1 on SOD activity in lever of *Misgurnus anguillicaudatus*

同种花粉的不同比例处理间的差异性用不同大写字母表示 ($P < 0.05$), 下同。

阴性对照无显著差异 ($P > 0.05$)。饲料中添加同种不同比例 (0、1%、5%、10% 和 20%) 花粉, 同组内泥鳅肝脏 SOD 活性均无显著差异 ($P > 0.05$)。

2.4 转 *Bt* 抗虫水稻花粉对泥鳅肝脏过氧化氢酶 (CAT) 活性的影响

相同含量的 HH1 花粉组泥鳅肝脏的 CAT 活性与 MH63 组泥鳅肝脏 CAT 活性无显著差异 ($P > 0.05$) (表 4)。饲料中添加 HH1、MH63 花粉后, 均对泥鳅肝脏的 CAT 活性具有抑制作用, 其中, 饲料中添加 10%、20% HH1 花粉与 1%、5%、10%、20% MH63 花粉, 泥鳅肝脏 CAT 活性均显著低于阴性对照组 ($P < 0.05$) (图 2)。

表 4 HH1 与 MH63 组间泥鳅肝脏酶活性 *t* 检验 ($n = 5$)

Table 4 *t*-test on the activity of lever enzyme in *Misgurnus anguillicaudatus* between the group HH1 and MH63

花粉含量 (%)	SOD		CAT		GST	
	<i>t</i>	<i>P</i>	<i>t</i>	<i>P</i>	<i>t</i>	<i>P</i>
1	1.07	0.32	1.79	0.11	0.39	0.71
5	2.19	0.06	0.33	0.75	0.60	0.56
10	1.40	0.20	0.61	0.56	0.17	0.86
20	1.17	0.28	1.68	0.13	1.27	0.24

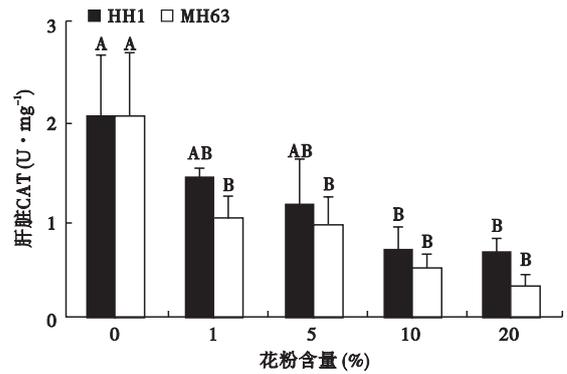


图 2 转 *Bt* 抗虫水稻花粉对泥鳅肝脏 CAT 活性的影响
Fig. 2 Effects of pollen of HH1 on CAT activity in lever of *Misgurnus anguillicaudatus*

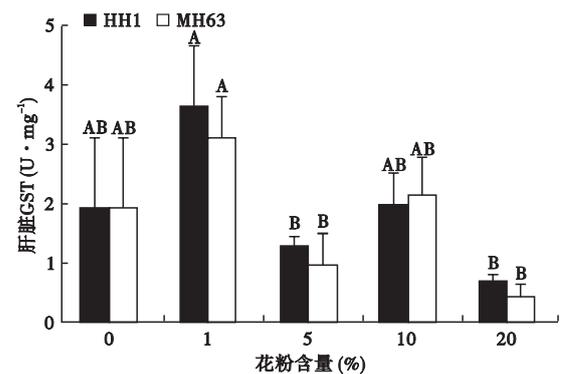


图 3 转 *Bt* 抗虫水稻花粉对泥鳅肝脏 GST 活性的影响
Fig. 3 Effects of pollen of HH1 on GST activity in lever of *Misgurnus anguillicaudatus*

2.5 转 *Bt* 抗虫水稻花粉对泥鳅肝脏谷胱甘肽硫转移酶 (GST) 活性的影响

如图 3 所示, 在饲料中添加不同比例的 2 种水稻花粉, HH1 组泥鳅肝脏 GST 活性与 MH63 组无显著差异; 由图 3 可以看出, 饲料中添加 1% HH1 花粉组泥鳅肝脏 GST 活性高于添加了 5% 和 20% HH1 花粉组 ($P < 0.05$), 饲料中添加不同比例 MH63 花粉, 对泥鳅肝脏 GST 活性的影响趋势与 HH1 花粉完全一致, 添加 1% MH63 花粉组显著高于 5% 和 20% MH63 花粉组 ($P < 0.05$), 其他各组间无显著差异 ($P > 0.05$)。

3 讨论

3.1 转 *Bt* 抗虫水稻花粉对泥鳅生长性能的影响

转 *Bt* 抗虫水稻华恢 1 号的不同组织在不同的生长期间能高效地表达 *Cry1Ab/AC* 蛋白 (王园园, 2012; Yuan *et al.* 2013), 本研究也表明 HH1 水稻花粉可以有效地表达 *Cry1Ab/AC* 蛋白。研究表明,

HH1 对鳞翅目靶标害虫的生长发育具有显著的抑制作用(Xu *et al.* 2011;李志毅等 2012),但 HH1 水稻对非靶标生物的生存及安全性研究还处于初级阶段(祝向钰等 2012;戚琳等 2013)。

本研究表明,饲料中添加相同比例的 HH1 花粉和 MH63 花粉,即使饲料中花粉含量已高达 20% 时,泥鳅的生长性能参数如增重率、脏体比、肝体比均无显著差异,说明转 *Bt* 抗虫水稻华恢 1 号花粉对泥鳅的生长性能没有明显的生态影响。这与王忠华等(2001)关于转 *Bt* 水稻花粉对不同龄期家蚕的生长发育无显著影响的研究结果一致。转 *Bt* 水稻 TT9-3 花粉表达的 *Cry1Ab/Cry1Ac* 蛋白对幼龄家蚕的存活、生长和发育也没有明显影响(Yao *et al.*, 2006)。用 KMD1、KMD2 花粉饲喂龟纹瓢虫,其蛹和成虫重量与饲喂非转 *Bt* 水稻 XS11 花粉没有显著差异(Bai *et al.* 2005)。转 *Bt* 玉米花粉在室内生测条件下也对茄二十八星瓢虫、小萤叶甲的存活和生长没有明显影响(Shirai 2006)。Rose 等(2007)研究表明,转 *Cry1Ab* 基因玉米花粉饲喂蜜蜂 35 d 后,对蜜蜂的存活率和体重也未见毒性作用和显著影响,均与本文的研究结果相似。

有研究报道,田间花粉浓度为 0 ~ 200 粒· cm^{-2} 的概率较高(姚洪渭等 2005;Yao *et al.* 2006;Kanya *et al.* 2009),但在自然稻田环境中,水稻扬花期 1 周左右,水稻花粉释放多集中在扬花期的前 5 d(胡凝等 2010),因此在自然生态环境下,泥鳅暴露于转 *Bt* 水稻花粉环境中的时长明显短于本实验用花粉饲喂泥鳅的时长(本研究用花粉饲喂泥鳅 100 d)。研究结果说明,华恢 1 号水稻花粉的大田释放对田间及周边水域泥鳅的生长无明显不利影响。

本研究也发现,泥鳅生长的不同参数对饲料中不同含量 HH1 花粉的响应趋势略有不同。表现为取食不同含量的 HH1 花粉饲料后,泥鳅的增重率和花粉含量呈正比,且 10%、20% HH1 组泥鳅增重率明显高于阴性对照,这表明和常规泥鳅饲料相比,适量的 HH1 花粉可能会促进泥鳅的生长。Shirai (2006)研究表明,玉米叶片上不同密度转 *Bt* 玉米花粉对小萤叶甲幼虫的体重没有影响。然而,张蕾等(2011)直接将 *Cry1Ab* 蛋白添加到饲料中喂食淡足侧沟茧蜂,发现其成虫体重、蛹重均显著下降;钟勇等(2009)在饲料中混合 *Bt* 杀虫蛋白饲养甜菜夜蛾,也表明随 *Bt* 蛋白浓度增加夜蛾幼虫的生长发育明显受到抑制。本实验测试过程中,泥鳅脏体比的变

化趋势和增重率比较接近,一般情况下动物的脏体比值都比较稳定,这说明 HH1 花粉量的增多并没有影响泥鳅内脏的发育。

3.2 转 *Bt* 抗虫水稻花粉对泥鳅 SOD、CAT、GST 活性的影响

生理酶活性的变化可以表现有机体内部化学反应的能力和有序性,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 通过将 O_2^- 歧化为 H_2O_2 和 O_2 ,以避免超氧阴离子自由基对机体的伤害;CAT 将 H_2O_2 分解为 H_2O 和 O_2 ,阻断了 OH^- 自由基的生成途径;GST 具有消除自由基和解毒作用,促进有害物质代谢,从而保护机体免受损伤(Kappus,1985;Ding *et al.* 2010)。

在转 *Bt* 水稻胁迫下,非靶标动物不同机体组织的生理酶活性做出如何响应呢?熊燕飞等(2011)以 20 日龄昆明雄性小白鼠为对象,研究了小鼠血液、肝组织的保护酶(SOD、CAT、POD、GH-Px)和解毒酶(AChE、GST)活性在转 *Bt* 水稻汕优 63 稻米饲喂下的响应趋势,结果表明,转 *Bt* 基因水稻对小鼠的生理代谢活动没有明显的危害作用。Wang 等(2013)用转 *Cry1Ab* 水稻饲喂雌性瑞士小鼠 90 d 后,分析了其不同脏器(脑、肾、肝脏、脾脏和骨髓)的 SOD、CAT、GSH、AChE 活性,明确了转 *Bt* 水稻对小鼠的生理特征酶系统没有毒性作用。本研究结果表明,泥鳅取食转 *Bt* 水稻花粉饲料 100 d 后,肝脏抗氧化保护酶(SOD、CAT)和解毒酶(GST)活性较非转基因对照而言,在同一花粉水平下没有显著差异,说明 HH1 水稻花粉对泥鳅肝脏的正常代谢活动没有产生明显的负作用。

为全面评估 HH1 水稻对泥鳅的生态风险与安全性,本研究组将从 *Bt* 杀虫蛋白在泥鳅各组织内的富集、对组织毒理学以及性腺发育的影响等多角度多层次进一步开展相关研究。

致 谢 转基因水稻稻种华恢 1 号由华中农业大学林拥军教授、华红霞教授提供。

参考文献

- 胡 凝,陈万隆,刘寿东,等. 2010. 水稻花粉扩散的模拟研究. 生态学报,30(14): 3665 - 3671.
- 焦传珍. 2009. 镉对镉染毒泥鳅肝胰脏中超氧化物歧化酶和过氧化物酶活性的影响. 水产科学,28(12): 786 - 788.
- 蒋传葵. 1982. 工具酶的活力测定. 上海: 科学技术出版社.
- 蒋彩英. 2004. *Bt* 水稻花粉对家蚕安全性评价及对家蚕安全的 *Bt* 菌株生物学的研究(博士学位论文). 杭州: 浙

- 江大学.
- 梁革梅,王桂荣,徐广,等. 2003. 昆虫 *Bt* 毒素受体蛋白的研究. *昆虫学报*, **46**(3): 390–396.
- 雷逢玉,王宾贤. 1990. 泥鳅繁殖和生长的研究. *水生生物学报*, **14**(1): 60–67.
- 李志毅,隋贺,徐艳博,等. 2012. 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. *生态学报*, **32**(6): 1783–1789.
- 毛德寿,同宗灿,王志远,等. 1986. 环境生化毒理学. 沈阳:辽宁大学出版社.
- 戚琳,陈法军,刘满强,等. 2013. 三种转 *Bt* 水稻短期种植对土壤微生物生物量和线虫群落的影响. *生态学杂志*, **32**(4): 975–980.
- 谭肖英,罗智,王为民,等. 2009. 饥饿对小规格斑点叉尾鲴体重及鱼体生化组成的影响. *水生生物学报*, **33**(1): 39–43.
- 王忠华,倪新强,徐孟奎,等. 2001. *Bt* 水稻“克螟稻”花粉对家蚕生长发育的影响. *遗传*, **23**(5): 463–466.
- 王园园. 2012. 转 *cry2Aa* 基因抗虫水稻对中华通草蛉的潜在影响(硕士学位论文). 北京:中国农业科学院.
- 熊燕飞,覃铜城,陈超,等. 2011. 转 *Bt* 基因水稻对雄性小白鼠体内酶活性的影响. *湖北农业科学*, **50**(24): 5200–5205.
- 袁艳华,杨妮娜,胡华伟,等. 2007. 转 *Bt-cry1Ab/Ac* 水稻花粉对家蚕生长发育及体内酶活性的影响//成卓敏. 植物保护与现代农业——中国植物保护学会2007年学术年会论文集. 北京:中国农业科学技术出版社: 902.
- 姚洪渭,蒋彩英,叶恭银,等. 2005. 转 *Bt* 基因水稻花粉的田间飘移分布研究//成卓敏. 农业生物灾害预防与控制研究. 北京:中国农业科学技术出版社: 32–36.
- 邹国林,桂兴芬,钟晓凌,等. 1986. 一种SOD的测活方法——邻苯三酚自氧化法的改进. *生物化学与生物物理进展*, **13**(4): 71–73.
- 张蕾,蒋善军,江幸福,等. 2011. *Cry1Ab* 杀虫蛋白对淡足侧沟茧蜂生长发育的影响. *植物保护*, **37**(6): 107–111.
- 祝向钰,李志毅,常亮,等. 2012. 转 *Bt* 水稻土壤跳虫群落组成及其数量变化. *生态学报*, **32**(11): 3546–3554.
- 钟勇,陈国华,刘小侠,等. 2009. *Bt*s 杀虫蛋白对甜菜夜蛾生长发育的影响. *云南农业大学学报*, **24**(2): 195–198.
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, **72**: 248–254.
- Bai YY, Jiang MX, Cheng JA. 2005. Effects of transgenic *cry1Ab* rice pollen on fitness of *Propylea japonica* (Thunberg). *Journal of Pest Science*, **78**: 123–128.
- Clark BW, Phillips TA, Coats JR. 2005. Environmental fate and effects of *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) proteins from transgenic crops: A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**: 4643–4653.
- Ding J, Sun W, Liu ZM, et al. 2010. The effect of 0# Diesel oil on the activity of three kinds of immune enzymes of clam *Meretrix meretrix*. Conference on Environmental Pollution and Public Health, **9**: 810–815.
- Kanya JI, Kinyamario JI, Amugune NO, et al. 2009. Dispersal distance of rice (*Oryza sativa* L.) pollen at the Tana River delta in the coast province, Kenya. *African Journal of Biotechnology*, **8**: 2265–2270.
- Kappus H. 1985. Lipid peroxidation: Mechanisms, analysis, enzymology and biological relevance// Sies H, ed. Oxidative Stress. London: Academic Press: 273–310.
- Rose R, Dively GP, Pettis J. 2007. Effects of *Bt* corn pollen on honey bees: Emphasis on protocol development. *Apidologie*, **38**: 368–377.
- Shirai Y. 2006. Laboratory evaluation of effects of transgenic *Bt* corn pollen on two non-target herbivorous beetles, *Epilachna vigintioctopunctata* (Coccinellidae) and *Galerucella vittaticollis* (Chrysomelidae). *Applied Entomology and Zoology*, **41**: 607–611.
- Wang YJ, Hu MH, Cao L, et al. 2008. Effects of daphnia (*Moina micrura*) plus chlorella (*Chlorella pyrenoidosa*) or microparticle diets on growth and survival of larval loach (*Misgurnus anguillicaudatus*). *Aquaculture International*, **16**: 361–368.
- Wang YY, Li YH, Romeis J, et al. 2012. Consumption of *Bt* rice pollen expressing *cry2Aa* does not cause adverse effects on adult *Chrysoperla sinica* Tjeder (Neuroptera: Chrysopidae). *Biological Control*, **61**: 246–251.
- Wang Y, Wei BY, Tian YX, et al. 2013. Evaluation of the potential effect of transgenic rice expressing *Cry1Ab* on the hematology and enzyme activity in organs of female Swiss Rats. *PLoS One*, **11**: 1–9.
- Xu XL, Han Y, Wu G, et al. 2011. Field evaluation of effects of transgenic *cry1Ab/cry1Ac*, *cry1C* and *cry2A* rice on *Cnaphalocrocis medinalis* and its arthropod predators. *Science China Life Science*, **54**: 1019–1028.
- Yuan YY, Xiao NW, Krogh PH, et al. 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 Research*, **22**: 791–803.
- Yao HW, Ye GY, Jiang CY, et al. 2006. Effect of the pollen of transgenic rice line, TT9-3 with a fused *cry1Ab/cry1Ac* gene from *Bacillus thuringiensis* Berliner on non-target domestic silkworm, *Bombyx mori* Linnaeus (Lepidoptera: Bombyxidae). *Applied Entomology and Zoology*, **41**: 339–348.

作者简介 李菲,女,1988年硕士,主要从事转 *Bt* 抗虫水稻的安全性评价研究. E-mail: lifei212@126.com
责任编辑 张敏