

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20140120001

谭树华, 刘雨芳, 孙远东, 等. 中华圆田螺抗氧化-代谢酶系统对转 *cry1Ab/Ac* 基因抗虫水稻的响应[J]. 生态毒理学报, 2014, 9(3): 517-523

Tan S H, Liu Y F, Sun Y D, et al. The response of antioxidant system and metabolic enzyme of *Cipangopaludina cathayensis* to transgenic Bt gene rice [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2014, 9(3): 517-523 (in Chinese)

## 中华圆田螺抗氧化-代谢酶系统对转 *cry1Ab/Ac* 基因抗虫水稻的响应

谭树华<sup>1</sup>, 刘雨芳<sup>1,\*</sup>, 孙远东<sup>1</sup>, 肖璐<sup>1</sup>, 李菲<sup>1</sup>, 桂芳艳<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 北京 100101

收稿日期: 2014-01-20 录用日期: 2014-02-26

**摘要:** 对生长在不施农药转 Bt 基因抗虫水稻华恢 1 号(HH1)、非 Bt 稻明恢 63(MH63)及施药的明恢 63(MH63C)3 种稻田生境中的中华圆田螺抗氧化系统物质(SOD、CAT、GSH-PX、GSH)及代谢酶(GST、ACP)差异进行了研究。结果表明: HH1 稻田生境田螺肝脏和鳃 SOD、CAT、GSH-PX 活性均高于 MH63 稻田, 其中 SOD 和 CAT 活性差异极显著( $p < 0.01$ ); 肝脏 GSH 含量和 GST 活性在 HH1 和 MH63 稻田生境中差异不显著; HH1 稻田生境中田螺肝脏 ACP 活性显著高于 MH63 稻田生境组( $p < 0.01$ )。对于 MH63C 和 MH63 组, MH63C 稻田生境田螺肝脏中 SOD、CAT 和 GST 活性均显著提高, 而鳃 GSH-PX、GST 活性和 GSH 含量在 MH63C 生境组表现为明显提高。由此可见, 转 Bt 水稻生境可提高田螺抗氧化能力, 对解毒酶系统活性没有明显影响, 即对田螺未产生明显的毒副作用; 而施用农药明显激活田螺抗氧化系统和解毒代谢酶活性。

**关键词:** 中华圆田螺; 转基因水稻; 抗氧化酶活性; 代谢酶活性

文章编号: 1673-5897(2014)3-517-07 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

## The Response of Antioxidant System and Metabolic enzyme of *Cipangopaludina cathayensis* to Transgenic Bt Gene Rice

Tan Shuhua<sup>1</sup>, Liu Yufang<sup>1,\*</sup>, Sun Yuandong<sup>1</sup>, Xiao Lu<sup>1</sup>, Li Fei<sup>1</sup>, Gui Fangyan<sup>1</sup>, Liu Wenhai<sup>1</sup>, Ge Feng<sup>2</sup>

1. School of Life Sciences, The Key Laboratory of Horticultural Crops Pest Management in Hunan Province, Huan University of Science and Technology, Xiangtan 411201, China

2. Institute of Zoology, Chinese Academy of Science, Beijing 100101, China

Received 20 January 2014 accepted 26 February 2014

**Abstract:** The activities of antioxidative (SOD, CAT, GSH-Px, GSH) and metabolic enzymes (GST, ACP) of *Cipangopaludina cathayensis* that grown in three kinds of rice habitat including insect-resistant transgenic Bt rice "Huahui No 1" (HH1), non-Bt conventional rice "Minghui63" (MH63) without pesticides, and non-Bt rice (MH63C) with pesticide were detected in this study. The results showed that the activities of SOD, CAT, GSH-Px of livers and gills of *C. cathayensis* grown in HH1 rice habitat were all higher than that in MH63 habitat. The difference of SOD and CAT activities between HH1 and MH63 habitat were significant ( $p < 0.01$ ), while GSH

基金项目: 国家转基因生物新品种培育重大专项(2012ZX08011002)

作者简介: 谭树华(1972-)男, 湖南隆回人, 博士, 副教授, 主要从事细胞生物学教学和生态毒理学研究, E-mail: hstan@126.com

\* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: yfliu2011@126.com

content and GST activities of livers of *C. cathayensis* showed no significant difference between HH1 and MH63 rice habitat. The activities of ACP in HH1 rice habitat were higher than in MH63 rice habitat significantly ( $p < 0.01$ ). As for MH63 and MH63C habitat, the activities of SOD, CAT and GST of livers in MH63C habitat increased significantly, meanwhile GSH-Px, GST activities and GSH content of gills in MH63C habitat were activated significantly. It suggested that the antioxidative enzymes and detoxification metabolic enzymes of *C. cathayensis* under pesticides were activated significantly, while antioxidative enzymes and metabolic enzymes were induced in HH1 transgenic Bt rice habitat. It could be concluded that the toxic effect of Bt rice on *C. cathayensis* was apparently lower than that of the pesticides.

**Keywords:** *Cipangopaludina cathayensis*; biotech rice; antioxidative enzyme activities; detoxification metabolic enzyme enzymes

水稻是受害虫侵袭最为严重的粮食作物,选育抗虫水稻是防治害虫最经济有效的方法。目前,应用于植物抗虫性改良的外源基因主要是编码苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)杀虫晶体蛋白基因(Bt基因),已获得的转 Bt 抗虫植物有水稻、玉米、棉花、番茄等 50 多种,其中转 Bt 棉花在我国已大面积种植<sup>[1]</sup>。已有大量研究报道转 Bt 水稻对靶标害虫有显著的杀虫效果<sup>[2-5]</sup>,对土壤微生物组成及酶活性<sup>[6]</sup>、稻田节肢动物群落多样性<sup>[7,8]</sup>、非靶标生物<sup>[9,10]</sup>没有明显影响。转 cry1Ab/cry1Ac 融合 Bt 基因水稻华恢 1 号(HH1)作为首批获得农业部批准安全证书(农基安证字(2009)第 072 号)的转基因水稻品种,对其生态安全性评价虽已有初步研究:如 HH1 对二化螟有较强致死力<sup>[11]</sup>、对白符跳(*Folsomia candida*)存活率和繁殖率<sup>[12]</sup>与根际土壤微生物数量和种类没有明显影响<sup>[13]</sup>。这些均无例外地集中在转 Bt 水稻对靶标害虫杀虫有效性与对土壤生物、节肢动物的安全性评价,尚未涉及水环境中的生物安全影响评价,不利于从整体全面评价其生态安全。

中华圆田螺(*Cipangopaludina cathayensis*)俗称田螺,是淡水腹足类中的优势种群,也是南方稻田中常见的底栖软体动物,分布广、生长迅速、食物类型多样,能以各种藻类、水生植物、浮游植物、水体有机碎屑为食,也食轮虫、微生物、水蚤、剑蚤等浮游动物。它能积累用常规方法检测不出的底泥或水中污染物,是多种污染物的生物积累者,是环境监测的理想生物种类<sup>[14,15]</sup>。它们在水中移动性小,可以真实地反映周围底泥的实际污染状况<sup>[16]</sup>,是一种理想的底泥重金属毒性和生物可给性指示生物<sup>[17]</sup>。据报道,田螺肝胰脏 CAT 活性的变化可作为间接检测环境的污染程度的指标<sup>[18]</sup>。因此,本实验以中华圆田螺为对象,探讨转基因水稻对水生环境中软体动物抗

氧化-代谢酶系统的影响,旨在转基因水稻对水生生态系统的的影响研究积累数据,为转基因水稻的全面生态风险评价提供科学依据。

## 1 材料和方法(Materials and methods)

### 1.1 实验材料与试验设计

水稻品种:供试转 Bt 基因水稻品种为转 cry1Ab/Ac 复合基因抗虫水稻恢复系华恢 1 号(HH1),以其亲本非转基因品种明恢 63(MH63)为对照,稻种均由华中农业大学生命科学技术学院相关实验室提供。

田间种植设计:于 2012 年 6 月至 9 月单季种植于湖南湘潭的项目实验基地内,手工单本移栽,试验田 1 530 m<sup>2</sup>,间隔为 9 个小区,每小区面积 170 m<sup>2</sup>,并随机相间分成 3 组,每组 3 小区(3 次重复)。其中 1 组种植华恢 1 号(HH1),全生育期不施任何化学杀虫剂;另外 2 组均种植非转基因水稻明恢 63,其中 1 组全生育期不施任何化学杀虫剂,为阴性对照(MH63),另 1 组稻田则按当地生产用药习惯喷施农药作为阳性对照(MH63C)。水肥管理相同且均按常规生产操作。

MH63C 组施药:全生育期施药 3 次,7 月 2 日施用阿维菌素、纹曲清与吡虫啉;7 月 21 日施用阿维菌素 2%、水胺硫磷 35%、甲硫乙唑醇 27%、曹达 5 s 与吡蚜酮 25%;8 月 12 日施用阿维菌素 2%、丙溴辛硫磷 25%、速虱灵 30% 与噻嗪酮 25%。施用方法均按说明常规混合施用。

指示动物:以中华圆田螺为实验检测指示动物,均采自湘乡市东郊乡稻田及相邻水沟,挑选螺龄相近、体重约 2.5 g 的健康个体于室内驯养后用于实验。在稻田平整后水稻移栽前,每小区稻田中以对角线法设置样方池 3 个(长×宽=50 cm×100 cm),样方间距约 8 m,将池内泥清空置入尼龙纱网框后,

再将泥回填并使纱网高出水面上 20 cm 防逃。水稻移栽后每样方池中接入田螺 20 只,水稻收割前 10 d 全部捞出回收,用于室内生理生化指标测定。

### 1.2 田螺组织匀浆液制备

将回收的田螺每组随机取 5 只,解剖取其肝脏和鳃,用 0.86% 预冷生理盐水分别制成 10% 的肝、鳃组织匀浆液,检测各处理组田螺肝、鳃中的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、酸性磷酸酶(ACP)、谷胱甘肽-S 转移酶(GST)、还原型谷胱甘肽(GSH)与谷胱甘肽过氧化酶(GSH-PX)活性。

### 1.3 检测方法

SOD 用邻苯三酚自氧化法<sup>[19]</sup>测定,CAT 活性用紫外分光光度法<sup>[20]</sup>测定,ACP 用对硝基酚磷酸法<sup>[20]</sup>测定,SOD、CAT 与 ACP 的酶活性单位均为  $U \cdot mg^{-1} \cdot pro$ 。GST 活力用 CDNB 比色法<sup>[21]</sup>测定,GSH 含量、GSH-PX 活性用南京建成生物公司相应试剂盒测定。酶液蛋白质含量以牛血清蛋白为标准物,考马斯亮蓝法测定<sup>[22]</sup>,单位为  $mg \cdot mL^{-1}$ 。

### 1.4 数据处理

实验数据分析用 SPSS17.0 统计软件完成,采用单因素方差分析(ANOVA)、S-N-K、LSD 法进行多重比较检验与差异显著性分析。

## 2 结果(Results)

### 2.1 中华圆田螺的 SOD 响应

分别生长在 Bt 稻华恢 1 号(HH1)、非 Bt 稻明恢 63(MH63)及施药的非 Bt 稻明恢 63(MH63C)3 类稻田生境中的中华圆田螺肝脏与鳃 SOD 活性如图 1 所示。HH1 生境与 MH63C 生境中中华圆田螺肝脏 SOD 活性明显高于 MH63 生境,且以 HH1 生境中 SOD 活性最高。与对照 MH63 稻田生境相比,其 SOD 活性为 HH1 组极显著高于 MH63 组( $p < 0.01$ ),MH63C 组显著高于 MH63 组( $p < 0.05$ );其中 HH1 组 SOD 活性较 MH63 组增加了 111.95%、MH63C 组较 MH63 组增加了 41.40%,但 HH1 组仅稍高于 MH63C 组,差异不显著( $p > 0.05$ )。

与肝脏 SOD 活性表现不同,鳃 SOD 活性 MH63C 组略高于 HH1 组与 MH63 组,但 MH63 组和 MH63C 组、HH1 和 MH63C 组以及 HH1 组与 MH63 组间均无显著差异( $p > 0.05$ )。

### 2.2 中华圆田螺的 CAT 响应

3 种稻田生境中中华圆田螺 CAT 活性关系见图 2。其中鳃 CAT 活性太低,未能检出。HH1 与 MH63C 生境中中华圆田螺肝脏中 SOD 活性均极显

著高于 MH63 生境( $p < 0.01$ ),且以 HH1 生境中 CAT 活性最高,MH63C 组次之,但 HH1 与 MH63C 组之间 CAT 活性差异不显著。与对照 MH63 稻田生境相比,HH1 和 MH63C 生境组肝脏 CAT 活性分别提高了 2.513 倍和 1.357 倍。

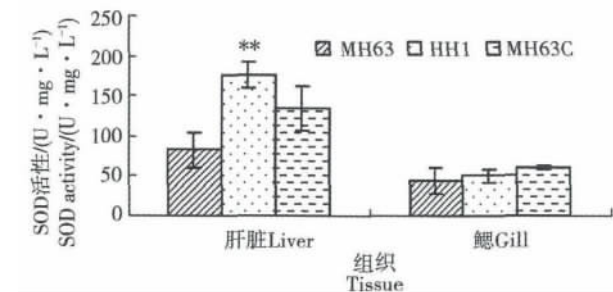


图 1 不同稻田生境中中华圆田螺 SOD 活性比较

注: \*\*  $p < 0.01$ , 下同。

Fig. 1 Comparison the activities of SOD of *Cipangopaludina cathayensis* in different rice fields

Note: \*\*  $p < 0.01$ , Same for below

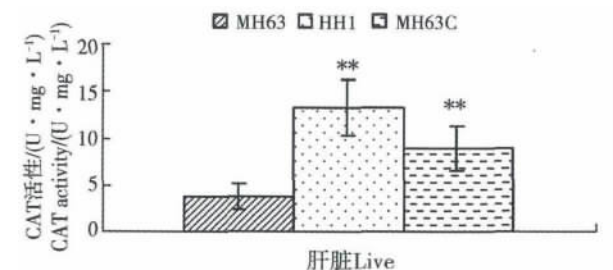


图 2 不同稻田生境中中华圆田螺 CAT 活性比较

Fig. 2 Comparison the activities of CAT of *Cipangopaludina cathayensis* in 3 different rice fields

Note: \*\*  $p < 0.01$ , Same for below

### 2.3 中华圆田螺的 GSH-Px 响应

田螺肝脏中 GSH-Px 活性以 HH1 组最高,MH63 组次之,MH63C 组最低,但经多重比较与差异显著性分析,彼此之间均未出现显著差异( $p > 0.05$ );鳃中 GSH-Px 活性以 MH63C 组最高,HH1 最低,且 MH63C 组极显著高于 HH1 和 MH63 组( $p < 0.01$ ),而 HH1 与 MH63 之间 GSH-Px 活性差异不显著( $p > 0.05$ )(图 3)。

### 2.4 中华圆田螺的 GSH 响应

GSH 含量比较如图 4 所示,HH1 和 MH63C 生境中田螺肝脏 GSH 含量略高于 MH63 组,但均无显著差异( $p > 0.05$ )。与对照组 MH63 比较,MH63C 组田螺鳃 GSH 含量是 MH63 组的 GSH 含量的 1.69 倍,差异显著( $p < 0.05$ ),而 HH1 组田螺鳃 GSH 含量略低于 MH63C 组,略高于 MH63 组,但均无显著差异。

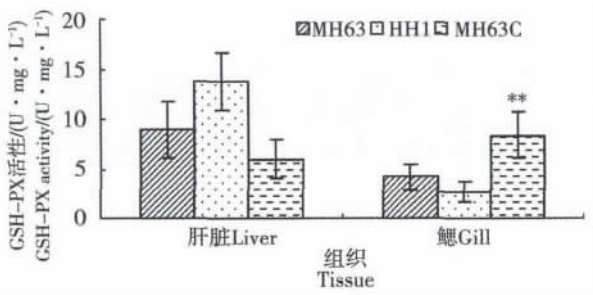


图3 不同稻田生境中中华圆田螺肝脏 GSH-Px 活性

Fig. 3 The activities of GSH-Px of

Cipangopaludina cathayensis in 3 different rice fields

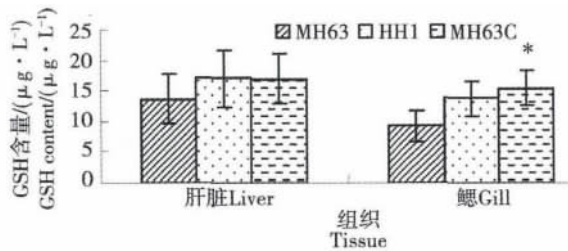


图4 不同稻田中中华圆田螺 GSH 含量

注: \*  $p < 0.05$

Fig. 4 The GSH content of

Cipangopaludina cathayensis in 3 different rice fields

Note: \*  $p < 0.05$

### 2.5 中华圆田螺的 ACP 响应

HH1 生境中田螺肝脏 ACP 活性均极显著高于 MH63 和 MH63C 组 ( $p < 0.01$ )。HH1 生境组肝脏 ACP 活性较 MH63 和 MH63C 生境组分别提高了 112.4% 和 98.8%，而 MH63C 和 MH63 组活性则差异不明显。鳃 ACP 活性以 MH63C 组最高，HH1 次之，对照 MH63 生境组最低，但 3 种生境中田螺鳃 ACP 活性差异不显著 ( $p > 0.05$ ) (图 5)。

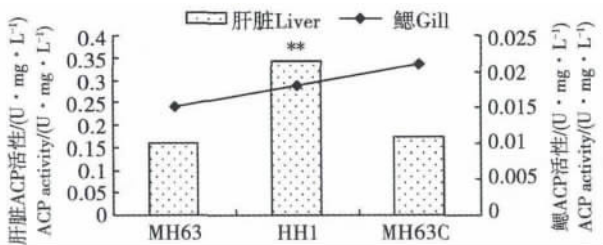


图5 不同稻田中中华圆田螺 ACP 活性

Fig. 5 The activities of ACP of

Cipangopaludina cathayensis in 3 different rice fields

### 2.6 中华圆田螺的 GST 活性响应

MH63C 生境中田螺肝脏 GST 活性最高，极显

著高于 MH63 和 HH1 生境组 ( $p < 0.01$ )，其中 MH63C 组较 MH63 组 GST 活性提高了 66.16%，而 HH1 和 MH63 组间活性差异不显著 ( $p > 0.05$ )。与肝脏 GST 活性表现相似，鳃 GST 活性以 MH63C 组最高，MH63C 组鳃 GST 活性分别是 HH1 组与对照 MH63 组活性的 1.7 倍与 2.02 倍，差异极显著 ( $p < 0.01$ )；HH1 组鳃 GST 活性略高于 MH63 组，但无显著差异 ( $p > 0.05$ ) (图 6)。

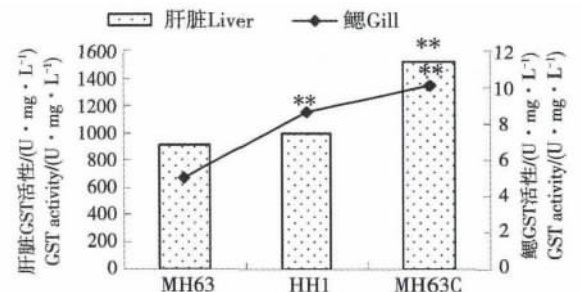


图6 不同稻田中中华圆田螺 GST 活性

Fig. 6 The activities of GST of

Cipangopaludina cathayensis in 3 different rice fields

### 3 讨论 (Discussion)

酶在机体代谢中发挥重要作用，对环境变化响应敏感而迅速，一定程度上能反映环境变化。张巍等<sup>[23]</sup>用转 Cry1Ab/Cry1Ac 基因水稻的叶片饲喂稻纵卷叶螟 *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) 幼虫，发现 Bt 毒蛋白在幼虫体内积累，扰乱了稻纵卷叶螟幼虫体内 SOD、CAT 和 POD 3 种保护酶的动态平衡，使虫体内自由基的清除遇到障碍，从而对其产生了毒害作用。本试验中，田螺的代谢酶和抗氧化酶系统对种植转 Cry1Ab/Cry1Ac 基因稻“华恢 1 号”(HH1) 及在田间施用杀虫剂均有响应。与对照组 MH63 生境相比，HH1 生境中田螺肝脏和鳃 SOD、CAT、GSH-Px 活性均高于 MH63 稻田，其中 SOD 和 CAT 活性极显著提高，而此 3 种酶的功能即为清除活性氧自由基  $O_2 \cdot$  和  $H_2O_2$ ，表明 HH1 生境中田螺通过提高相关抗氧化酶活性以清除 Bt 毒蛋白胁迫产生的自由基，清除活性氧自由基  $O_2 \cdot$  和  $H_2O_2$  的能力提升了。Bt 毒蛋白对稻纵卷叶螟与田螺二者作用存在差异，可能与 Bt 毒蛋白含量有关，稻纵卷叶螟直接食用 Bt 毒蛋白，而田螺通过土壤、水体的传递接触 Bt 毒蛋白而非直接食用；另外也可能与动物类群及其体内的生理环境有关。而 Bt 毒蛋白主要在土壤中吸附，因而土壤酶活性受影响更大，田螺酶系统受影响程度会低得多。

GSH 和 GST 在生物的解毒代谢中发挥重要作用。GSH 为 GSH-Px 和 GST 的特有底物, GST 催化 GSH 与一些化学物质和亲电子化合物结合, 生成无毒性或毒性小的 GSH 硫结合物; 同时能催化有机过氧化物还原成相应的醇, 与硒谷胱甘肽过氧化物酶 (Se-GPx) 协同作用起抗氧化作用, 从而减少这些物质与细胞内生物大分子结合的可能性, 减少有害物质对组织的损伤<sup>[24]</sup>。熊燕飞等<sup>[25]</sup>报道转 Bt 基因杂交水稻汕优 63 配制的饲料对昆明种雄性小白鼠体内的保护酶和解毒酶活性影响不明显, 转基因水稻对昆明种雄性小白鼠的生理代谢无明显副作用。本实验中生长在 HH1 和 MH63 稻田生境中的中华圆田螺肝组织匀浆液中 GSH 含量和 GST 酶活性差异不显著, 表明中华圆田螺通过提升抗氧化酶活性对多余的氧自由基进行有效清除, 因而解毒代谢相关酶 GST 活性和 GSH 含量变化不明显, 说明 HH1 号产生的 Bt 毒蛋白对田螺没有明显的毒副作用。

ACP 是巨噬细胞溶酶体的标志酶, 与机体物质代谢关系密切, 它通过催化磷蛋白中磷酸键的水解, 直接参与磷酸基团的转移和代谢, 在免疫反应中发挥重要作用, 并可被外源物质诱导<sup>[26]</sup>。俞超等<sup>[27]</sup>报道转 Bt 基因水稻在种子萌发和幼苗抗逆性以及水稻的生长能力等方面都要优于原亲本, 其淀粉酶和过氧化氢酶含量及根系活力均高于对照秀水 11。HH1 稻田生境中中华圆田螺肝脏 ACP 酶活性显著高于 MH63 稻田生境对照组, 表明 HH1 号稻田生境中中华圆田螺 DNA、蛋白质和脂质代谢能力明显增强, 与其抗氧化能力显著提高相类似, 可能与肝脏作为主要的解毒器官和脂肪代谢场所, 其抗氧化酶和代谢酶类活性通常较高有关。与肝脏组织匀浆液中所测的各类酶活性情况不同, HH1 号生境中中华圆田螺鳃组织匀浆液中所测的各类酶活性与对照组 MH63 生境比较, 均无显著差异, 说明 HH1 对中华圆田螺鳃组织没有明显毒副作用。

施用杀虫剂明显激活中华圆田螺肝脏和鳃中抗氧化酶系统和解毒代谢酶活性, MH63C 组田螺解毒代谢酶活性明显高于 HH1 组, 说明 Bt 毒蛋白对田螺的影响明显弱于杀虫剂产生的胁迫作用。采用转 Bt 基因水稻防治害虫对环境生物的毒性影响更小。与 Bt 水稻对稻田节肢动物群落的影响明显弱于化学杀虫剂的研究相似<sup>[28]</sup>。MH63C 和 MH63 生境中田螺 ACP 活性并未表现出明显差异, 则与农药作为强毒性化学物质主要产生毒性作用, 因而主要影响

解毒代谢酶有关。

转 Bt 基因作物的大部分 Bt 毒素可通过根系分泌物、花粉飘落及作物残体释放到农田土壤中<sup>[29]</sup>, Bt 毒蛋白质分子所带电荷或极性基团, 会借助于静电引力吸附到土壤表面上相应的阳离子或阴离子基团上, 这种结合态仍有较强的杀虫活性并能抵抗土壤微生物的降解<sup>[30]</sup>, 土壤中的水稻植株残体内的 Cry1Ab 可持续作用于土壤微生物、土壤动物与土壤酶等<sup>[31-34]</sup>。同时, 转 Bt 作物中 Bt 杀虫蛋白的表达及在环境中的降解存在时空动态<sup>[35]</sup>, 因而在其周围环境传递过程中也可能存在时空动态。在后续研究中可综合考虑, 以便为更全面充分地评价转 Bt 基因水稻的安全性提供更多信息。

通讯作者简介: 刘雨芳 (1964—), 女, 博士, 教授, 硕士生导师。主要研究方向为农业生态学、环境生态安全评价, 发表论文 50 多篇。

#### 参考文献:

- [1] 周震, 程家安, 胡阳, 等. 转 Bt 基因水稻克螟稻对黑尾叶蝉种群增长的影响[J]. 中国水稻科学, 2005, 19(1): 74-78  
Zhou X, Cheng J A, Hu Y, et al. Effects of transgenic Bt rice on the population development of *Nephotettix cincticeps* [J]. Chinese Journal of Rice Science, 2005, 19(1): 74-78 (in Chinese)
- [2] 刘雨芳, 王锋, 尤民生, 等. 转基因水稻及其杂交后代对稻纵卷叶螟的田间抗性检测[J]. 中国农业科学, 2005, 38(4): 725-729  
Liu Y F, Wang F, You M S, et al. Resistance of cry1Ac + SCK transgenic rice and its filial generation to the rice leaf roller *Cnaphalocrocis medinalis* [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2005, 38(4): 725-729 (in Chinese)
- [3] 张巍, 张志罡, 付秀芹, 等. 转 Bt 基因水稻对稻纵卷叶螟幼虫体内三种保护酶活性的影响[J]. 昆虫学报, 2008, 51(10): 1022-1027  
Zhang W, Zhang Z G, Fu X Q, et al. Effects of transgenic Bt rice on the activities of three protective enzymes in larvae of the rice leaf folder, *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera: Pyralidae) [J]. Acta Entomologica Sinica, 2008, 51(10): 1022-1027 (in Chinese)
- [4] Ye G Y, Shu Q Y, Yao H W, et al. Field evaluation of resistance of transgenic rice containing a synthetic cryAb gene from *Bacillus thuringiensis* Berliner to two stem borers [J]. Journal of Economic Entomology, 2001, 94: 271-276

- [5] Khanna H K, Raina S K. Elite Indica transgenic rice plants expressing modified Cry1Ac endotoxin of *Bacillus thuringiensis* show enhanced resistance to yellow stem borer (*Scirpophaga incertulas*) [J]. *Transgenic Research*, 2002, 11: 411 – 423
- [6] Liu W, Hao L H, Wu W, et al. Transgenic Bt rice does not affect enzyme activities and microbial composition in the rhizosphere during crop development [J]. *Soil Biology Biochemistry*, 2008, 40(2): 475 – 486
- [7] Bai Y Y, Yan R H, Ye G Y, et al. Field response of aboveground non-target arthropod community to transgenic Bt-Cry1Ab rice plant residues in postharvest seasons [J]. *Transgenic Research*, 2012, 21: 1023 – 1032
- [8] 刘雨芳, 贺玲, 汪琼, 等. 转 cry1Ac/sck 基因抗虫水稻对稻田寄生蜂群落影响的评价[J]. *昆虫学报* 2006 49(6): 955 – 962
- Liu Y F, He L, Wang Q, et al. Evaluation of the effects of insect-resistant cry1Ac/sck transgenic rice on the parasitoid communities in paddy fields [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2006, 49(6): 955 – 962 (in Chinese)
- [9] 高明清, 侯守鹏, 蒲德强, 等. 田间转 Bt 基因水稻上稻飞虱卵量、孵化率及天敌作用[J]. *昆虫学报*, 2011, 54(4): 467 – 476
- Gao M Q, Hou S P, Pu D Q, et al. Effects of Bt rice on the number and hatch rate of planthopper eggs and their attack by natural enemies in paddy fields [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2011, 54(4): 467 – 476 (in Chinese)
- [10] 刘雨芳, 贺玲, 汪琼, 等. 转 cry1Ac/sck 基因抗虫水稻对稻田主要非靶标害虫的田间影响评价[J]. *中国农业科学*, 2007, 40(6): 1181 – 1189
- Liu Y F, He L, Wang Q, et al. Effects of and ecological safety insect-resistant Cry1Ac/sck transgenic rice on key non-target pests in paddy fields [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2007, 40(6): 1181 – 1189 (in Chinese)
- [11] Li Y Z, Sui H, Chen F J, et al. Effects of insect-resistant transgenic Bt rice with a fused Cry1Ab + Cry1Ac gene on population dynamics of the stem borers, *Chilosuppressalis* and *Sesamia inferens*, occurring in paddy field [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32(6): 1783 – 1789
- [12] Yuan Y Y, Xiao N W, Ge F, 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: 791 – 803
- [13] 徐林, 黄启星, 左娇, 等. 南繁条件下转基因水稻对根际土壤微生物的影响[J]. *生物安全学报*, 2012, 21(1): 61 – 66
- Xu L, Huang Q X, Zou J, et al. Study of the effects of transgenic rice to the rhizosphere microorganisms in the Plant Breeding Base of Hainan [J]. *China journal of biosafety* 2012, 21(1): 61 – 66 (in Chinese)
- [14] Livingstone P R. Accumulation of heavy metals in invertebrates and its ecological aspects [J]. *Comparative Biochemistry & Physiology*, 1991, 100: 151 – 155.
- [15] Burbidge F J, Jacey D J, Webb J, et al. A comparison between particulate (elemental) zinc and soluble zinc ( $ZnCl_2$ ) uptake and effects in the mussel, *Mytilus edulis* [J]. *Archives of Environmental Contamination. Toxicology*, 1994, 26: 446 – 472
- [16] Walsh K, Dunstan R H, Murdoch R N, et al. Bioaccumulation of pollutants and changes in population parameters in the Gastropod Mollus *Austocochlea Constricta* [J]. *Archives of Environmental Contamination. Toxicology*, 1994, 26: 367 – 373
- [17] 郭明新, 林玉环. 用中华圆田螺作为底泥重金属毒性和生物可给性的指示生物[J]. *环境与开发*, 1997, 12(2): 8 – 11
- Guo M X, Lin R H. River Snail *Cipangopaludina cathayensis* as an indicator for toxicity and bioavailability of heavy metals in sediment [J]. *Environment and Development*, 1997, 12(2): 8 – 11 (in Chinese)
- [18] 雷艳丽, 尹文政, 张玉, 等. 镉和汞对中华圆田螺过氧化氢酶活性的影响[J]. *内江师范学院学报*, 2012, 27(4): 37 – 40
- Lei Y L, Yin W Z M, Zhang Y, et al. Effect of cadmium and mercury on catalase activity of the mudsnail [J]. *Journal of Neijiang Normal University*, 2012, 27(4): 37 – 40 (in Chinese)
- [19] 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*, 1985, 13(4): 71 – 73
- Zou G L, Gui X F, Zhong X L, et al. Determination method of SOD pyroglolol autoxidation improvement [J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 1986, 13(4): 71 – 73 (in Chinese)
- [20] 蒋传葵. 工具酶活性测定[M]. 上海, 上海科学技术出版社, 1985, 36 – 37, 62 – 64
- [21] Luca-Abbott S B D, Richardson B J, McClellan K E, et al. Field validation of antioxidant enzyme biomarkers in mussels (*Perna perna*) and clams (*Ruditapes philippinarum*) transplanted in Hong Kong coastal waters [J]. *Marine Environment Research*, 2005, 51: 694 – 707
- [22] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72: 248 – 254

- [23] 张巍, 张志罡, 付秀芹, 等. 转 Bt 基因水稻对稻纵卷叶螟幼虫体内三种保护酶活性的影响[J]. 昆虫学报, 2008, 51(10): 1022 - 1027  
Zhang W, Zhang Z G, Fu X Q, et al. Effects of transgenic Bt rice on the activities of three protective enzymes in larvae of the rice leaffolder, *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera: Pyralidae) [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2008, 51 (10): 1022 - 1027 (in Chinese)
- [24] 程元恺. 谷胱甘肽的解毒作用与毒性代谢物[J]. 生物化学与生物物理进展, 1994, 21(5): 395 - 399  
Chen Y K. Detoxication and toxic metabolite of glutathione [J]. *Progress in biochemistry and Biophysics*, 1994, 21(5): 395 - 399
- [25] 艾春香, 陈立侨, 温小波, 等. 转 Bt 基因水稻对雄性小白鼠体内酶活性的影响[J]. 湖北农业科学, 2011, 50 (24): 5200 - 5205  
Xiong Y F, Qin T C, Chen C, et al. Effects of transgenic Bt rice on the activities of protective enzymes and detoxification enzymes in Kunming male mouse [J]. *Hubei Agricultural Sciences*. 2011, 50(24): 5200 - 5205 (in Chinese)
- [26] 艾春香, 陈立侨, 温小波, 等.  $V_E$  对河蟹血清和组织中超氧化物歧化酶及磷酸酶活性的影响. 台湾海峡, 2002 21(4): 431 - 438  
Ai C X, Chen L Q, Wen X B, et al. Effect of vitamin E on SOD, ALP and ACP activities of Chinese mitten-handed crab, *Eriocheir sinensis* [J]. *Journal of Oceanography in Taiwan Strait*, 2003, 22(1): 24 - 31 (in Chinese)
- [27] 俞超, 张吉, 叶生晖, 等. Bt 转基因水稻生理生化特性研究初报[J]. 江苏农业科学, 2008, 4: 31 - 33  
Yu C, Zhang J, Ye S H, et al. A preliminary study on the physiological and biochemical characteristics of Bt rice [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2008, 4: 31 - 33 (in Chinese)
- [28] 刘志诚, 叶恭银, 胡萃. 抗虫转基因水稻和化学杀虫剂对稻田节肢动物群落的影响[J]. 应用生态学报, 2004, 15(12): 2309 - 2314  
Liu Z C, Ye G Y, Hu C, et al. Effects of *Bacillus thuringiensis* transgenic rice and chemical insecticides on arthropod communities in paddy-fields [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15(12): 2309 - 2314 (in Chinese)
- [29] James R. Utilizing a social ethic toward the environment in assessing genetically engineered insect-resistance in trees. *Agriculture and Human Values*, 1997, 14(3): 237 - 249
- [30] Saxena D, Flores S, Stotzky G. Vertical movement in soil of insecticidal Cry1Ab protein from *Bacillus thuringiensis* [J]. *Soil Biology Biochemistry*, 2002, 34: 111 - 120
- [31] 白耀宇, 蒋明星, 程家安, 等. 转 Bt 基因水稻 Cry1Ab 杀虫蛋白在水稻土中的降解. 中国水稻科学, 2004, 18(3): 255 - 261  
Bai Y Y, Jiang M X, Cheng J A, et al. Degradation of Cry1Ab toxin protein expressed by Bt transgenic rice in paddy soils. *Chinese Journal Rice Science*, 2004, 18 (3): 255 - 261 (in Chinese)
- [32] 刘立军, 黄毅, 段妍慧, 等. 转基因水稻表达的 Bt 蛋白对拟环纹豹蛛(*Pardosa Psoudoannulata*)生长发育的影响[J]. 激光生物学报, 2011, 20(1): 45 - 49  
Liu L J, Huang Y, duan Y H, et al. Effects of Bt protein expressed by transgenic rice on the development of wolf spider (*Pardosa pseudoannulata*) [J]. *Acta Laser Biology Sinica*, 2011, 20(1): 45 - 49 (in Chinese)
- [33] 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 (in Chinese)
- [34] 李修强, 陈法军, 刘满强, 等. 转基因水稻 Bt 汕优 63 种植两年对土壤线虫群落的影响[J]. 应用生态学报, 2012, 23(11): 3065 - 3071  
Li X Q, Chen F J, Liu M Q, et al. Effects of two years planting transgenic Bt rice (BtSY63) on soil nematode community [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2012, 23 (11): 3065 - 3071 (in Chinese)
- [35] 白耀宇, 蒋明星, 程家安. Bt 水稻 Cry1Ab 杀虫蛋白表达的时间动态及其在水稻土中的降解[J]. 生态学报, 2005, 25(7): 1583 - 1590  
Temporal expression patterns of Cry1Ab insecticidal protein in Bt rice plants and its degradation in paddy soils [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(7): 1583 - 1590 (in Chinese)