

# 抗虫转 *Bt* 基因植物的环境安全研究进展

刘 标

(环境保护部南京环境科学研究所, 江苏 南京 210042)

[摘要] 抗虫性状转 *Bt* 基因植物是目前世界上商业化种植规模仅次于耐除草剂性状的的第二大类转基因植物。本文从对非靶标生物的影响、基因漂移、靶标生物的抗性和杂草化演化 4 个方面简介了抗虫转 *Bt* 基因植物环境安全研究的主要进展, 并就今后应该继续研究的问题提出了建议。

[关键词] 抗虫, 转 *Bt* 基因植物, 环境安全, 进展

[中图分类号] Q945 [文献标志码] A [文章编号] 1001-4616(2016)03-0001-09

## Research Progresses on the Environmental Safety of Transgenic *Bt* Plants with Insect-resistant Trait

Liu Biao

(Nanjing Institute of Environmental Sciences, Ministry of Environmental Protection, Nanjing 210042, China)

**Abstract:** At present, the commercial planting scale of transgenic *Bt* plants with insect-resistant trait is the second biggest in the world, being next only to that with herbicide-resistant trait. The research progresses on the environmental safety of transgenic *Bt* plants are summarized briefly from four aspects, i.e. the effects on non-target organisms, gene flow, resistance development of the target organisms and potential weediness. Suggestions for the future research issues on the environmental safety of transgenic *Bt* plants are put forwards.

**Key words:** insect-resistant, transgenic *Bt* plants, environmental safety, progresses

根据国际农业生物技术应用服务组织 (ISAAA) 发布的年度报告, 全球转基因作物的种植面积从 1996 年的 170 万公顷上升至 2015 年的 1.797 亿公顷, 20 年时间取得了 100 多倍的增长, 让转基因技术成为近年来应用最为迅速的农业生物技术。据估计, 自 1996 年起, 多达 28 个国家的农民已从转基因作物中获益超过 1 500 亿美元。从 1996 年转基因作物首次商业化以来, 耐除草剂性状始终是商业化种植转基因作物的主要性状, 其次是抗虫性状, 耐除草剂性状所涉及的主要外源基因是耐草甘膦的 5-烯醇丙酮莽草酸-3-磷酸合成酶 (EPSPS) 基因和耐草铵膦的草铵膦乙酰转移酶 (BAR) 基因, 抗虫性状主要为来自苏云金芽胞杆菌 (*Bacillus thuringiensis*, *Bt*) 的不同类型 *Bt* 基因<sup>[1]</sup>。在政府的大力支持下, 我国在转基因水稻、棉花、玉米、大豆等大宗作物以及转基因鱼、猪、牛、羊等转基因动物的研发方面都取得了巨大进展, 转 *Bt* 基因抗虫棉自 1997 年商业化种植以来, 近几年的种植面积已经占我国棉花总种植面积的 90% 以上, 大大降低了化学杀虫剂的用量, 为棉花增产和农民增收做出了重要贡献<sup>[2]</sup>。

任何事物都是一分为二的, 如核能等许多重大技术进步一样, 转基因生物在给人类带来福利的同时, 也存在安全性风险, 即生物安全 (biosafety) 问题<sup>[3-4]</sup>。转基因生物的安全性主要包括食品安全和环境安全 2 个方面。为保障转基因产业的持续、健康发展, 转基因植物的安全性研究成为近 20 年来科学界的热点研究领域之一, 并取得了很多重要进展。下面从对非靶标生物的影响、基因漂移、靶标生物的抗性发展、杂草化 4 个方面, 简要介绍抗虫转 *Bt* 基因植物环境安全研究的进展。

收稿日期: 2016-05-10.

基金项目: 国家自然科学基金 (31370544)、国家转基因新品种培育重大专项之重大课题 (2016ZX08012-005)。

通讯联系人: 刘标, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 转基因生物安全和生物多样性保护。E-mail: liubiao@nies.org

## 1 抗虫转 *Bt* 基因植物对非靶标生物的影响

目前全世界范围内应用规模最大的转 *Bt* 基因抗虫植物所针对的靶标害虫主要是直接取食转 *Bt* 基因棉花、玉米、水稻的棉铃虫(*Helicoverpa armigera* Hubner)、棉红铃虫(*Pectinophora gossypiella* Saunders)、玉米螟(*Ostrinia furnacalis*)、棉造桥虫(*Anomis flava*)、二化螟(*Chilo suppressalis* Walker)等鳞翅目昆虫,而生态系统中除了靶标昆虫之外的其他生物(非靶标生物)也可能直接或者间接地取食抗虫转基因植物,从而受到抗虫转基因植物的影响.抗虫转基因植物对非靶标生物的影响一直是转基因生物安全评价和研究的主要内容之一,研究的重点包括转 *Bt* 基因抗虫玉米、水稻、棉花的叶片、花粉、根等对直接取食转 *Bt* 基因植物的非靶标生物如家蚕和帝王斑蝶等鳞翅目昆虫<sup>[5]</sup>、传粉蜂类<sup>[6-9]</sup>、蚜虫和盲蝽等刺吸式害虫<sup>[10-11]</sup>、蚯蚓等土壤生物<sup>[12-13]</sup>、大型蚤和鱼类等水生生物<sup>[14-15]</sup>、鹤鹑等鸟类、鼠类<sup>[16]</sup>等非靶标生物的生长发育和繁殖的影响,以及通过“抗虫转 *Bt* 基因植物-害虫-天敌”食物链而间接取食抗虫转 *Bt* 基因植物的捕食性天敌(如蜘蛛、瓢虫和草蛉)和寄生性天敌(寄生蜂)的生长发育和繁殖的影响.从已有的研究结果看,如果非靶标生物在转 *Bt* 基因抗虫植物产生的 *Bt* 蛋白的作用范围内且取食了足够剂量的 *Bt* 蛋白,则转 *Bt* 基因抗虫植物可能对该非靶标生物产生显著的不利影响.例如在美国,黑脉金斑蝶(*Danaus plexippus*)幼虫在取食了足够高剂量的转 *Bt* 基因玉米花粉的情况下,其发育迟缓、死亡率显著增高<sup>[17]</sup>;但是,农田条件下的黑脉金斑蝶幼虫不可能取食到如此高剂量的转 *Bt* 基因玉米花粉,因此,转 *Bt* 基因玉米在实际情况下不会对黑脉金斑蝶种群产生显著的不利影响<sup>[18-19]</sup>.除了鳞翅目非靶标生物之外的其他非靶标生物,由于其肠道内缺乏 *Bt* 蛋白的受体,所以,大量的研究和评价结果表明,转 *Bt* 基因抗虫植物对这些非靶标生物的生长发育和繁殖一般不会产生显著的不利影响.

在“抗虫转 *Bt* 基因植物-非鳞翅目昆虫-捕食性天敌”食物链的研究中,*Bt* 蛋白或者转 *Bt* 基因植物对非鳞翅目昆虫(如蚜虫)和捕食性天敌(如蜘蛛、瓢虫和草蛉)的生长发育不会产生显著的不利影响<sup>[20-22]</sup>;但是,在“转 *Bt* 基因植物-鳞翅目昆虫-寄生性天敌”方面的研究结果表明,虽然 *Bt* 蛋白对寄生蜂的生长发育没有显著的不利影响,由于鳞翅目昆虫取食 *Bt* 蛋白或者转 *Bt* 基因植物后生长发育受到显著抑制甚至死亡,间接地对该鳞翅目昆虫的寄生蜂产生了显著的不利影响<sup>[23-25]</sup>.例如,CryI $\text{Ac}$  蛋白能有效抑制棉铃虫幼虫的生长、显著降低其蛹重;与寄生在没有取食 CryI $\text{Ac}$  蛋白的棉铃虫幼虫对照相比,寄生在取食了 CryI $\text{Ac}$  的棉铃虫幼虫上的中红侧沟茧蜂(*Microplitis mediator* Haliday)的卵-幼虫历期延长,茧重和成虫体重降低,成虫寿命缩短.但是,从感染了 CryI $\text{Ac}$  蛋白的寄主体内繁殖的  $F_1$  代寄生蜂能够寄生健康棉铃虫,  $F_2$  代寄生蜂的生物学特性与对照相比没有显著差异.新羽化的中红侧沟茧蜂成虫取食含 CryI $\text{Ac}$  杀虫蛋白的蜂蜜水后,寄生蜂的雌蜂和雄蜂寿命均没有被影响,而且取食含 CryI $\text{Ac}$  蛋白蜂蜜水的中红侧沟茧蜂能够产卵寄生健康棉铃虫,子代寄生蜂的卵-幼虫历期、茧期、茧重和成虫体重、成虫寿命均没有被影响<sup>[24]</sup>.

最近,由于转 *Bt* 基因植物的应用而导致农业管理方式改变而间接地对非靶标生物产生影响也引起了科学家们的关注.例如,由于转 *Bt* 基因棉花和玉米产生的 *Bt* 蛋白可以杀死棉铃虫和玉米螟等鳞翅目害虫,导致防治这些害虫的化学杀虫剂用量大幅度下降,一方面使得以前被这些化学杀虫剂所兼治的蚜虫、红蜘蛛、盲蝽等非靶标刺吸式害虫爆发成灾,另一方面,转 *Bt* 基因抗虫棉花和玉米的大规模种植不仅有效地控制了棉花和玉米田及其周围农田的靶标害虫种群数量,降低化学杀虫剂的用量也显著有利于瓢虫、蜘蛛等非靶标天敌生物的生长,有利于农业生物多样性保护<sup>[26-29]</sup>.

## 2 抗虫转 *Bt* 基因植物的基因漂移

基因漂移(gene flow)是指遗传物质从某一个生物群体(或居群)进入到另一个生物群体(或居群)的过程<sup>[30]</sup>,是自然界普遍存在的生物过程,也是生物进化的基本驱动力之一.转基因植物的基因漂移主要指外源基因通过花粉在转基因植物同一品种的不同个体之间、该植物种类的不同品种之间以及在该植物与野生近缘种之间的移动<sup>[31]</sup>.开展转基因植物基因漂移研究和评价的主要目的是明确其基因漂移的规律,防止和控制外源基因在生态系统中扩散到其他非转基因植物之中,尤其是具有重要价值的野生玉米、大豆、水稻等野生生物资源中.例如,玉米是美洲土著人最重要的粮食作物,被印地安人亲切地称为“玉米妈

妈”,墨西哥是世界野生玉米的主要生物多样性起源地.加利福尼亚大学伯克利分校的科学家在 2001 年 11 月 29 日的《Nature》杂志上报道了在墨西哥南部 Oaxaca 地区采集的 6 个地方玉米品种样本中,发现有花椰菜镶嵌病毒的启动子(CaMV 35S)及 Novartis 公司培育的 *Bt* 抗虫玉米 Bt11 中的 *CryIAb* 基因相似序列,表明在美国种植的转 *CryIAb* 基因玉米的外源基因已经渗入到墨西哥玉米的起源地与品种多样性集中地,对玉米的野生种和土著种构成了威胁,该论文的发表引起了转基因污染野生生物资源的世界性关注和讨论<sup>[32-33]</sup>.目前转 *Bt* 基因植物基因漂移研究的主要对象是玉米、大豆、棉花、油菜等已经大规模商业化种植以及水稻、小麦等即将进行商业化生产的转基因作物,研究的结果表明:外源基因通过花粉的基因漂移是必然会发生的自然过程,而不同种类植物的基因漂移频率和距离存在较大差异.例如,农田混种条件下抗虫转 *Bt/CpTI* 基因从栽培稻向非转基因水稻的基因漂移频率为 0.05%~0.79%;转基因水稻与非转基因水稻之间的空间距离为 0.2 m 的情况下,最大基因漂移频率为 0.28%;在距离增加到 6.2 m 之后,基因漂移频率即下降至 0.001%以下<sup>[34-35]</sup>.

外源基因通过基因漂移进入非转基因植物后的表达状况及其对受体植物生态适合度的影响是评价基因漂移可能产生环境风险的重要内容之一.研究结果表明,通过基因漂移进入某些非转基因植物中的外源基因是可以正常地表达和遗传的<sup>[31]</sup>.例如,转 *Bt* 基因水稻中的 *Bt* 基因通过花粉基因漂移进入普通栽培稻和野生稻之后,*Bt* 基因在栽培稻和多个株系的普通野生稻杂交后代杂种  $F_1$  和  $F_2$  代植株中可正常表达,且表达量不低于其抗虫转 *Bt* 基因水稻亲本,开花期  $F_1$  和  $F_2$  的 *Bt* 转基因表达量还显著高于栽培稻亲本,能够很好地发挥抗虫作用<sup>[36]</sup>.

那么可以正常表达的外源基因会对受体植物的适合度产生什么影响呢?根据张宏彬等人 and Xia 等人用抗虫转 *Bt/CpTI* 基因栽培稻与 5 个不同来源杂草稻的杂种  $F_1$  和  $F_2$  群体适合度效应的研究结果,在有靶标害虫虫压的条件下,含转基因的分离群体比不含转基因的分离群体均具有适合度优势,但是不同的杂交组合之间有较大的差异;另外,在包含转基因与不包含转基因植株的混种实验小区,不仅虫压水平有不同程度的下降,抗虫转基因因为杂种植株带来的适合度优势也显著下降,表明抗虫转基因栽培稻的种植会降低稻田靶标虫害水平以及导致抗虫转基因杂草稻适合度优势下降,证明抗虫转基因的适合度效应受环境虫压的动态和基因漂移受体的遗传背景影响<sup>[37-38]</sup>.

根据目前在转基因植物基因漂移方面的研究结果可以得到的初步结论是:一般情况下,外源基因可以通过花粉向非转基因植物发生基因漂移,而且能够在受体非转基因植物中进行正常的表达和遗传,并对受体非转基因植物的生态适合度产生影响.为了阻止和控制基因漂移,可以采取的主要措施包括:1)在转基因植物与基因漂移对象之间设置足够长的隔离带;2)在转基因植物与基因漂移对象之间设置足够的花期隔离时间.这是目前已经被广泛采用的控制基因漂移的 2 个可行的措施,我国 2002 年实施的《农业转基因生物安全评价管理办法》明确规定了防止基因漂移发生的玉米、小麦、大豆等主要农作物田间隔离距离或者花期隔离时间.3)生物技术措施,包括将外源基因插入叶绿体或线粒体基因组中,使外源基因只能通过母体进行遗传;以及花粉不育、种子不育、终止子技术和利用特定启动子使外源基因在花粉中不表达等技术措施,但是这些措施仍处于研究阶段,没有在生产上大规模应用<sup>[39-40]</sup>.

### 3 靶标生物对抗虫转 *Bt* 基因植物的抗性发展

研制抗虫转基因植物的最重要原因之一是某些靶标害虫容易对化学杀虫剂产生抗性,导致害虫的肆虐和爆发,但是,抗虫转基因植物进行大规模的环境释放,也将对靶标害虫产生强大的选择压力,从而导致靶标害虫产生抗性.从理论上说,自然界生物与生物之间以及生物与非生物因子之间的协同进化最终将导致适应或被淘汰 2 种可能的结果.因此,如果抗虫转基因植物不能完全控制靶标害虫,就必然会出现靶标害虫对抗虫转基因植物产生抗性的问题<sup>[41]</sup>.靶标害虫对 *Bt* 杀虫蛋白的抗性发展是转 *Bt* 基因作物能否长期应用所面临的最主要问题之一.目前商业化种植的转 *Bt* 基因抗虫植物由于能够在全植株、整个生育期连续合成 *Bt* 蛋白,使农田靶标害虫长时间地接受 *Bt* 蛋白施加的选择压力,*Bt* 蛋白在杀死大部分敏感个体的同时,也可能使小部分耐受性的昆虫个体得以出现和发展,并在群体水平上对转 *Bt* 基因抗虫植物产生抗性,导致靶标害虫抗性种群的发展甚至爆发<sup>[42-43]</sup>.

### 3.1 实验室条件下靶标害虫对 Bt 蛋白的抗性发展

在实验室条件下,用加入各种 Bt 蛋白的人工饲料或转 Bt 基因作物组织喂饲靶标昆虫,可以筛选出多种靶标昆虫的抗性个体,如棉铃虫(*Helicoverpa armigera* Hubner)、烟芽夜蛾(*Heliothis virescens*)、红铃虫(*Pectinophora gossypiella*)、粉斑螟(*Cadra cautella*)、欧洲玉米螟(*Ostrinia nubilalis* Hubner)、粉纹夜蛾(*Spodoptera litura*)、棉贪夜蛾(*Spodoptera littoralis*)。例如,经过室内 87 代筛选之后,抗性棉铃虫对 Cry1Ac 蛋白的抗性倍数可以提高到 2 893.3 倍。这说明在适当的选择压下,棉铃虫等靶标害虫是可以对 Bt 蛋白产生生理抗性的<sup>[44-48]</sup>。

### 3.2 Bt 杀虫蛋白抗性对抗性昆虫适合度的影响

虽然靶标害虫可以对 Bt 杀虫蛋白产生生理抗性,但是,抗性昆虫往往会伴随着一定的适合度代价,主要表现为抗性品系在生长发育、繁殖和抗逆(如越冬、滞育)等生物学特性方面的不利影响<sup>[49-51]</sup>。例如,抗性倍数分别为 170 倍、209.6 倍和 2 893.3 倍的抗性棉铃虫的相对适合度分别降低到 0.79、0.64 和 0.59,抗性倍数越高,适合度代价越大,抗性棉铃虫的适合度代价主要表现为产卵量、卵孵化率、幼虫体重、蛹重降低,幼虫历期明显延长<sup>[47]</sup>。抗性昆虫的适合度代价不利于其抗性发展,可以作为靶标害虫的抗性治理措施加以利用。

### 3.3 大田水平上靶标昆虫的抗性发展

靶标害虫在大田水平上对转 Bt 基因植物的抗性发展受到 Bt 蛋白在转 Bt 基因植物的表达水平、靶标害虫的其他可取食植物的种类和面积、化学农药的使用、气候等诸多因素的影响,其实际的抗性发展状况与受控制的实验室条件下的抗性发展规律有很大不同。我国转 Bt 基因抗虫棉在经过近 20 年的大规模商业种植之后,南京农业大学、中国农业科学院植物保护研究所的多年监测结果表明,虽然已经发现在大田水平上出现了某些靶标害虫(如棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 和红铃虫 *Pectinophora gossypiella*)对 Cry1Ac 蛋白的抗性显著上升<sup>[52-53]</sup>,但是,我国商业化种植的转 Bt 基因抗虫棉依然可以有效地控制棉铃虫等主要鳞翅目害虫。然而,其他国家的靶标害虫抗性问题的严重性比我国要严重得多。例如,印度棉田已经出现了抗 Cry1Ac 蛋白的红铃虫抗性种群<sup>[54-55]</sup>;在美国,转 *Cry1F* 基因玉米在波多黎各种植了 3 年之后,靶标害虫草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)就对其产生了明显的抗性,导致该转基因玉米于 2011 年撤出当地市场<sup>[56]</sup>;转 *Cry3Bb* 基因玉米在经过 7 年大规模种植后,其鞘翅目靶标害虫玉米根萤叶甲(*Diabrotica virgifera virgifera*)已经在大田水平上产生了显著抗性,造成玉米产量显著下降<sup>[57-58]</sup>。转 *Cry1Ab* 基因玉米在南非连续 8 年种植后,已经导致靶标害虫玉米茎蛀褐夜蛾(*Busseola fusca*)对其产生了显著的抗性,使得该转 *Cry1Ab* 基因玉米无法在南非继续种植<sup>[59-60]</sup>;转 *Cry1F* 基因玉米 TC1507 于 2009 年开始在巴西种植,但是 2011 年就在部分种植区出现了显著抗性的草地贪夜蛾种群<sup>[61-62]</sup>。最新调查结果表明,虽然大部分靶标害虫种群依然对转 Bt 基因作物保持很高的敏感性,但是 5 大洲的 13 种主要靶标害虫中已经有 5 种靶标害虫出现了大田抗性种群,而 2005 年只有一种大田靶标害虫抗性种群,表明靶标害虫的抗性一直在随着抗虫转基因作物种植面积扩大、种植时间的延长而稳定地发展<sup>[63-64]</sup>。对于我国来说,如果今后转 Bt 基因的玉米、水稻、杨树、大豆等植物都进行商业化大规模种植,其与已经商业化种植的转 Bt 基因抗虫棉将对农田多种靶标害虫施加强大的选择压力,这些靶标害虫的抗性进化风险将比目前只种植转 Bt 基因抗虫棉要大得多,必须引起高度重视<sup>[65]</sup>。

### 3.4 靶标害虫对转 Bt 基因抗虫植物产生抗性的治理

高剂量/庇护所策略是根据昆虫种群遗传学和昆虫生态学等理论,经过计算机模拟研究结果而提出的,已经成为目前世界范围内应用最为广泛的靶标害虫对转 Bt 基因作物产生抗性的治理策略<sup>[66-67]</sup>。其主要做法是:首先要确保被批准进行商业化种植的转 Bt 基因作物产生足够高剂量的 Bt 蛋白,使得靶标害虫对 Bt 杀虫蛋白的抗性表现型为功能性完全隐性或近于完全隐性,进而使得转 Bt 基因作物可以杀死几乎所有的抗性杂合个体和所有的敏感性个体;其次,在种植转 Bt 基因作物的同时,必须在转 Bt 基因作物田附近种植一定比例的非转基因作物(庇护所),使得源自转 Bt 基因作物田的抗性个体可以与源自非转基因作物田的敏感个体在田间随机混合并交配,最大限度地避免纯合抗性个体的出现。例如,美国环保局规定设立 4%面积的不使用任何化学杀虫剂的非 Bt 转基因棉花,或设立 20%~30%面积的可使用化学杀虫

剂的非 *Bt* 转基因<sup>[68]</sup>。除棉花之外,我国棉铃虫的寄主还包括小麦、玉米、蓖麻、大豆、谷、甘薯和蔬菜等多种作物,而且转基因棉花多与其他作物(如玉米、大豆和落花生)连片种植,这些作物作为天然避难所,可有效控制靶标害虫的抗性发展<sup>[66-72]</sup>。

基因叠加是第二种治理靶标害虫抗性产生的策略。基因叠加是将两种或两种以上作用方式不同的 *Bt* 抗虫基因或者其他抗虫基因同时转入同一种作物,形成双价或多价抗虫作物,能有效的延缓害虫抗性的产生。例如, *Cry1Ac* 和 *Cry2Ab* 这两种蛋白在昆虫中肠上有不同的结合受体,昆虫必须同时对两种蛋白产生相应突变才有可能存活,因此产生抗性的可能性大大降低,将 *Cry1Ac* 和 *Cry2Ab* 同时转入棉花而育成的同时表达两种杀虫蛋白的转基因棉花 Bollgard II,可以更有效地杀死靶标害虫,降低其抗性产生的概率<sup>[73]</sup>。由 MON89034、TC1507、MON88017 和 DAS-59122-7 共 4 个转基因玉米通过常规杂交手段而育成的转基因抗虫耐除草剂玉米 SmartStax 甚至可以同时表达 *Cry1F*、*Cry1A105*、*Cry2Ab2*、*Cry3Bb1*、*Cry35Ab1* 和 *Cry34Ab1* 共 6 种不同的 *Bt* 蛋白,任何一种靶标害虫都很难在短期内对 SmartStax 产生生理抗性。为了有效地管理和控制靶标害虫的抗性发展,美国、澳大利亚、印度等国商业化种植的转基因抗虫棉已经由只表达一种 *Bt* 基因的单价抗虫棉逐渐过渡到含有 2 种不同 *Bt* 基因的双价抗虫棉<sup>[74-75]</sup>。

## 4 抗虫转 *Bt* 基因植物的杂草化演化

由于被转入的抗虫基因可以杀死生态系统中的特定昆虫,抗虫转基因植物的适合度(fitness)可能因此得以提高而演化为杂草。国内外科学家在抗虫转基因植物的杂草化演化方面开展了很多研究,目前得到的研究结果是:农田生态系统中抗虫转 *Bt* 基因植物的杂草化演化很大程度上与环境中的靶标害虫虫压密切相关,在低虫压农田生态系统中的抗虫转 *Bt* 基因植物的适合度低于非转基因植物,表现为适合度负效应;而在高虫压条件下,抗虫转 *Bt* 基因植物在生长发育和繁殖方面优于非转基因植物,从而表现为适合度优势<sup>[76-80]</sup>。例如, Yang 等将转 *Bt* 基因水稻和转 *Bt/CpTI* 基因水稻分别与杂草稻(*Oryza sativa* Linnaeus)杂交,对  $F_2$  和  $F_3$  后代进行了研究,结果显示:在自然虫压下,含有转基因的杂交后代的虫害程度极显著低于不含转基因的杂交后代,而种子数量则极显著高于不含转基因的杂交后代;在低虫压下,含有转基因的杂交后代的虫害程度和种子数量都低于不含转基因的杂交后代,但是差异并不显著<sup>[81]</sup>。

随着抗虫转基因植物种植面积的逐渐扩大和种植时间的不断增加,农田生态系统中的抗虫转基因植物可能通过种子扩散等方式进入自然生态系统,而自然生态系统在病虫害发生、土壤质量、农药化肥的使用等方面与农田生态系统之间存在显著差异,评价抗虫转基因植物在自然生态系统中的生态适合度表现也是十分必要的。但是,目前还没有关于抗虫转基因植物在自然生态系统中杂草化演化研究和评价方面的系统报道。

## 5 抗虫转基因植物环境安全研究展望

目前世界上大规模商业化种植的抗虫转 *Bt* 基因植物主要是棉花、玉米、大豆,这也是抗虫转 *Bt* 基因植物环境安全研究的主要对象。已经公开发表的抗虫转 *Bt* 基因植物环境安全研究和评价数据不仅为其安全应用提供了科学依据,促进了转基因产业的健康发展,同时也指出了抗虫转 *Bt* 基因植物可能存在的、需要高度重视的环境安全问题,如靶标昆虫的抗性发展和基因漂移对野生物种资源的长期影响问题。虽然全球科学家已经在抗虫转 *Bt* 基因植物的环境安全方面开展了大量的研究,加深了人类对转基因生物环境安全问题的科学认识,但是,为了更好地认识转基因生物环境安全问题的科学本质,为了转基因产业的长期、持续、健康发展,为了保护和生物多样性,以科学、高效地管理和控制转基因植物可能产生的环境安全风险,今后该领域仍然需要在以下几个方面开展进一步的研究、评价和监测工作。

### 5.1 建立转基因植物环境安全评价技术标准

虽然已经有大量的转基因植物环境安全报告和数据被发表,但是,公众仍然对转基因植物的环境安全性持有相当大的担心和疑虑。造成这种现象的原因是多方面的,其中很重要的原因之一是:这些发表的数据、报告和论文不是建立在统一的评价技术方法的基础上,不仅使得对同一对象的评价结果可能出现不一致的结果,不同研究的结果之间缺乏可比性,难以得出一致性的评价结论,不同专家对同一结果的解

释也存在很大差别,公众无法从这些评价和研究结果中得到某转基因植物是否安全的结论。虽然中国、欧盟和联合国环境规划署各自都发布了一些转基因植物环境安全评价方面的技术标准,但是,这些技术标准之间存在较大差异。因此,各国政府和科学家应共同努力,早日建立受到全球一致认可和接受的转基因植物环境安全评价技术标准<sup>[82]</sup>。

## 5.2 开展其他类型抗虫基因和基因叠加性状转基因植物的环境安全研究

目前的抗虫转基因植物主要是表达不同类型 *Bt* 基因的转基因植物,随着靶标昆虫的抗性进化不断发展,仅仅局限于不同类型 *Bt* 基因是不够的,因为这些 *Bt* 基因所表达的不同类型杀虫蛋白毕竟拥有较高的同源序列,抗一种 *Bt* 蛋白的靶标害虫可能对另一种 *Bt* 蛋白产生交叉抗性,需要尽早开发具有抗虫功能的其他种类的杀虫基因。例如,对 Cry1Ab 蛋白产生抗性亚洲玉米螟种群也可以对 Cry1Ac、Cry1Ah 和 Cry1F 蛋白产生一定程度的交互抗性<sup>[83]</sup>。另外,随着转基因技术的不断进步,同时具有抗虫和耐除草剂功能的多价转基因植物已经开发出来并投入了商业化生产,前文所述的多价转基因玉米 SmartStax 除了表达 6 个抗虫基因,同时还表达 PAT 和 EPSPS 两种耐除草剂基因。因此,开展其他类型抗虫基因和基因叠加性状转基因植物的环境安全研究是十分必要的<sup>[7]</sup>。

## 5.3 评价抗虫转基因植物对自然生态系统的影响

目前已经发表的抗虫转基因植物的环境安全性研究结果主要是在农田生态系统或者模拟农田生态系统的条件下得到的。随着转基因植物商业化环境释放规模的不断扩大,转基因植物自身越来越可能通过种子扩散等方式进入自然生态系统,外源基因也会通过基因漂移进入自然生态系统中的野生近缘种,从而对自然生态系统产生影响<sup>[84]</sup>。农田生态系统与自然生态系统之间在物种多样性、土壤肥力、化学品投入等方面存在巨大差异,需要对转基因植物或者表达抗虫外源基因的转基因野生近缘种在自然生态系统条件下的环境安全性进行评价和研究。

## 5.4 对抗虫转基因植物环境影响进行长期监测

虽然抗虫转基因植物在商业化生产之前已经开展了大量的环境安全评价,但是,在短时间、小规模条件下得到的评价结果无法完全反映其长时间、大规模环境释放所产生的实际环境影响,开展抗虫转基因植物环境影响的长期监测已经成为联合国环境规划署、欧盟的共识,并发布了有关技术规范<sup>[82]</sup>。我国政府高度重视和支持转基因技术的研发,在转基因生物产业化方面也取得了很大进展,不仅转基因棉花、番木瓜已经投入大规模商业化生产,转基因水稻、玉米、大豆和转基因猪、牛、羊也具备了商业化生产的技术条件,应对已经商业化生产的转基因生物的长期环境影响进行持续监测,为我国转基因产业的持续、健康发展提供安全保障。

## [参考文献]

- [1] JAMES C. 20th anniversary (1996 to 2015) of the global commercialization of biotech crops and biotech crop highlights in 2015[R]. Ithaca, NY: ISAAA, 2015.
- [2] 范存会, 黄季焜, 胡瑞法, 等. Bt 抗虫棉的种植对农药施用的影响[J]. 中国农村观察, 2002, 5: 2-10.
- [3] SNOW A A, PALMA P M. Commercialization of transgenic plants: potential ecological risks[J]. BioScience, 1997, 47(2): 86-96.
- [4] WOLFENBARGER L L, PHIFER P R. The ecological risks and benefits of genetically engineered plants[J]. Science, 2000, 290: 2 088-2 093.
- [5] LI W D, WU K M, WANG X Q, et al. Impact of POLLEN GRains from Bt transgenic corn on the growth and development of Chinese tussah silkworm, *Antheraea pernyi* (Lepidoptera: Saturniidae)[J]. Environmental entomology, 2005, 34(4): 922-928.
- [6] DAI P L, JIA H R, GENG L L, et al. Bt toxin CryIIe causes no negative effects on survival, pollen consumption, or olfactory learning in worker honey bees (Hymenoptera: Apidae)[J]. Journal of economic entomology, 2016, in press.
- [7] STEIJVEN K, STEFFAN-DEWENTER I, Stephan H. Testing dose-dependent effects of stacked Bt maize pollen on in vitro-reared honey bee larvae[J]. Apidologie, 2016, 47: 216-226.
- [8] LIU B, XU C R, YAN F M, et al. The impacts of the pollen of insect-resistant transgenic cotton on honeybees[J]. Biodiversity and conservation, 2005, 14: 3 487-3 496.
- [9] LIU B, SHU C, XUE K, et al. The oral toxicity of the transgenic Bt+CpTI cotton pollen to honey bees (*Apis mellifera*)[J].

- Ecotoxicology and environmental safety, 2009, 72(4): 1 163–1 169.
- [10] 李进步, 方丽平, 张亚楠, 等. 不同类型品种棉花上棉蚜适生性及种群动态[J]. 昆虫学报, 2007, 50(10): 1 027–1 033.
- [11] 赵秋剑, 吴 敌, 林凤敏, 等. 绿盲蝽在不同棉花品种(系)上取食行为的 EPG 解析及田间验证[J]. 中国农业科学, 2011, 44(11): 2 260–2 268.
- [12] LI X G, LIU B, WANG X X, et al. Field trials to evaluate effects of continuously planted transgenic insect-resistant cottons on soil invertebrates[J]. Journal of environmental monitoring, 2012, 14: 1 055–1 063.
- [13] LIU B, WANG L, ZENG Q, et al. Assessing effects of transgenic Cry1Ac cotton on the earthworm *Eisenia fetida*[J]. Soil biology & biochemistry, 2009, 41: 1 841–1 846.
- [14] 陈松, 黄骏麒, 周宝良, 等. 转 *Bt* 基因抗虫棉种子安全性评价-鲤鱼慢性毒性试验[J]. 棉花学报, 1996, 8(5): 241–245.
- [15] BOHN T, ROVER C M, SEMENCHUK P R. *Daphnia magna* negatively affected by chronic exposure to purified Cry-toxins [J]. Food and chemical toxicology, 2016, 91: 130–140.
- [16] 陈松, 黄骏麒, 周宝良, 等. 转 *Bt* 基因抗虫棉棉籽安全性评价-大鼠、鹌鹑毒性试验[J]. 江苏农业学报, 1996, 12(2): 17–22.
- [17] LOSEY J E, RAYOR L S, CARTER M E. Transgenic pollen harms monarch larvae[J]. Nature, 1999, 399: 214.
- [18] PLEASANTS J M, HELLMICH R L, DIVEY G P, et al. Corn pollen deposition on milkweeds in and near cornfields [J]. Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America, 2001, 98(21): 11 919–11 924.
- [19] SEARS M K, HELLMICH R L, STANLEY-HORN D E, et al. Impact of *Bt* corn pollen on monarch butterfly populations: a risk assessment[J]. Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America, 2001, 98(21): 11 937–11 942.
- [20] BAHAR M H, STANLEY J N, GREGG P C, et al. Comparing the predatory performance of green lacewing on cotton bollworm on conventional and *Bt* cotton[J]. Journal of applied entomology, 2012, 136(4): 263–270.
- [21] HAN Y, CHEN J, WANG H, et al. Prey-mediated effects of transgenic cry2Aa rice on the spider *Hylyphantes graminicola*, a generalist predator of *Nilaparvata lugens*[J]. BioControl, 2015, 60: 251–261.
- [22] ZHANG G F, WAN F H, LIU W X, et al. Early instar response to plant-delivered *Bt*-toxin in a herbivore (*Spodoptera litura*) and a predator (*Propylaea japonica*) [J]. Crop protection, 2006, 25: 527–533.
- [23] GENG J H, SHEN Z R, SONG K, et al. Effect of pollen of regular cotton and transgenic *Bt*+*CpTI* cotton on the survival and reproduction of the parasitoid wasp *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in the laboratory [J]. Environmental entomology, 2006, 35(6): 1 661–1 668.
- [24] LIU X X, ZHANG Q W, ZHAO J Z, et al. Effects of *Bt* transgenic cotton lines on the cotton bollworm parasitoid *Microplitis mediator* in the laboratory [J]. Biological control, 2005, 35: 134–141.
- [25] WANG Z X, LI Y H, HE K L, et al. Does *Bt* maize expressing Cry1Ac protein have adverse effects on the parasitoid *Macrocentrus cingulum* (Hymenoptera: Braconidae) [J]. Insect science, 2016, in press.
- [26] LU Y H, WU K M, JIANG Y Y, et al. Mirid bug outbreaks in multiple crops correlated with wide-scale adoption of *Bt* cotton in China [J]. Science, 2010, 328: 1 151–1 154.
- [27] LU Y H, WU K M, JIANG Y Y, et al. Widespread adoption of *Bt* cotton and insecticide decrease promotes biocontrol services [J]. Nature, 2012, 487(7 407): 362–365.
- [28] WU K, LU Y H, FENG H, et al. Suppression of cotton bollworm in multiple crops in China in areas with *Bt* toxin-containing cotton [J]. Science, 2008, 321(5 896): 1 676–1 678.
- [29] HUTCHISON W D, BURKNESS E C, MITCHELL P D, et al. Areawide suppression of european corn borer with *Bt* maize reaps savings to non-*Bt* maize growers [J]. Science, 2010, 330: 222–225.
- [30] SLATKIN M. Gene flow in natural populations [J]. Annual review of ecology and systematic, 1985, 16: 393–430.
- [31] LU B R, WANG L, WANG Z. Can transgene flow lead to environmental biosafety impacts in rice [J]. Sci Sin Vitae, 2016, 46: 420–431.
- [32] QUIST D, CHAPELA I H. Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca, Mexico [J]. Nature, 2001, 414(6 863): 541–543.
- [33] PIÑEYRO-NELSON A, VAN HEERWAARDEN J, PERALES H R, et al. Transgenes in Mexican maize: molecular evidence and methodological considerations for GMO detection in landrace populations [J]. Molecular ecology, 2009, 18(4): 750–761.
- [34] RONG J, LU B R, SONG Z P, et al. Dramatic reduction of crop-to-crop gene flow within a short distance from transgenic rice fields [J]. New phytologist, 2007, 173: 346–353.
- [35] RONG J, SONG Z P, SU J, et al. Low frequency of transgene flow from *Bt*/*CpTI* rice to its nontransgenic counterparts planted at close spacing [J]. New phytologist, 2005, 168: 559–566.
- [36] XIA H, LU B R, SU J, et al. Normal expression of insect-resistant transgene in progeny of common wild rice crossed with genetically modified rice: its implication in ecological biosafety assessment [J]. Theoretical and applied genetics, 2009, 119:

- 635–644.
- [37] XIA H, ZHANG H B, WANG W, et al. Ambient insect pressure and recipient genotypes determine fecundity of transgenic crop-weed rice hybrid progeny: implications for environmental biosafety assessment[J]. Evolutionary applications, 2016, in press.
- [38] 张宏彬, 夏辉, 杨箫, 等. 种植密度对抗虫转基因杂草稻分离后代适合度的影响[J]. 复旦学报(自然科学版), 2013, 52: 419–427.
- [39] 贾婕, 张金凤, 王斌, 等. 植物防范转基因逃逸的分子策略[J]. 农业资源与环境科学, 2008, 24(4): 390–393.
- [40] GRESSEL J. Dealing with transgene flow of crop protection traits from crops to their relatives[J]. Pest management science, 2015, 71(5): 658–667.
- [41] 张永军, 吴孔明, 彭于发, 等. 转抗虫基因植物生态安全性研究进展[J]. 昆虫知识, 2002, 5: 321–327.
- [42] TABASHNIK B E, CARRIERE Y, DENNEHY T J, et al. Insect resistance to transgenic Bt crops: lessons from the laboratory and field[J]. Journal of economic entomology, 2003, 96(4): 1 031–1 038.
- [43] TABASHNIK B E, PATIN A L, DENNEHY T J, et al. Frequency of resistance to *Bacillus thuringiensis* in field populations of pink bollworm[J]. Proceedings of the national academy of science of the United States of America, 2000, 97(24): 12 980–12 984.
- [44] 赵建周, 赵奎军, 卢美光, 等. 华北地区棉铃虫与转 Bt 杀虫蛋白基因棉花间的互作研究[J]. 中国农业科学, 1998, 31(15): 1–6.
- [45] HUANG F, BUSCHMAN L L, HIGGINS R A, et al. Inheritance of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin (Dipel ES) in the European corn borer[J]. Science, 1999, 284: 965–967.
- [46] GOULD F, ANDERSON A, REYNOLDS A, et al. Selection and genetic analysis of a *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) strain with high levels of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins[J]. Journal of economic entomology, 1995, 88: 1 545–1 559.
- [47] LIANG G M, WU K M, YU H K, et al. Changes of inheritance mode and fitness in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) along with its resistance evolution to Cry1Ac toxin[J]. Journal of invertebrate pathology, 2008, 97(2): 142–149.
- [48] RAHARDJA U, WHALON M E. Inheritance of resistance to *Bacillus thuringiensis* subsp tenebrionis Cry III A delta-endotoxin in Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae)[J]. Journal of economic entomology, 1995, 88: 21–26.
- [49] CARRIÈRE Y, ELLERS-KIRK C, LIU Y B, et al. Fitness costs and maternal effects associated with resistance to transgenic cotton in the pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae)[J]. Journal of economic entomology, 2001, 94: 1 571–1 576.
- [50] ZHANG W N, MA L, ZHONG F, et al. Fitness costs of reproductive capacity and ovarian development in a Bt-resistant strain of the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. Pest management science, 2015, 71: 870–877.
- [51] HACKETT S C, BONSALE M B. Type of fitness cost influences the rate of evolution of resistance to transgenic Bt crops[J]. Journal of applied ecology, 2016, in press.
- [52] WAN P, HUANG Y X, WU H H, et al. Increased frequency of pink bollworm resistance to Bt toxin Cry1Ac[J]. PLoS ONE, 2012, 7: e29975.
- [53] ZHANG H N, YIN W, ZHAO J, et al. Early warning of cotton bollworm resistance associated with intensive planting of Bt cotton in China[J]. PLoS ONE, 2011, 6: e22874.
- [54] DHURUA S, GUJAR G T. Field-evolved resistance to Bt toxin Cry1Ac in the pink bollworm, *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae), from India[J]. Pest management science, 2011, 67: 898–903.
- [55] FABRICK J A, PONNURAJ J, SINGH A, et al. Alternative splicing and highly variable cadherin transcripts associated with field-evolved resistance of pink bollworm to Bt cotton in India[J]. PLoS One, 2014, 9(5): e97900.
- [56] STORER N P, KUBISZAK M E, KING J E, et al. Status of resistance to Bt maize in *Spodoptera frugiperda*: lessons from Puerto Rico[J]. Journal of invertebrate pathology, 2012, 110: 294–300.
- [57] Gassmann A J, Petzold-Maxwell J L, Keweshan R S, et al. Field-evolved resistance to Bt maize by western corn rootworm[J]. PLoS ONE, 2011, 6: e22629.
- [58] GASSMANN A J. Field-evolved resistance to Bt maize by western corn rootworm: predictions from the laboratory and effects in the field[J]. Journal of invertebrate pathology, 2012, 110: 287–293.
- [59] VAN RENSBURG J B J. First report of field resistance by stem borer, *Busseola fusca* (Fuller) to Bt-transgenic maize [J]. South african journal of plant and soil, 2007, 24: 147–151.
- [60] VAN DEN BERG J, HILBECK A, BØHN T. Pest resistance to Cry1Ab Bt maize: field resistance, contributing factors and lessons from South Africa[J]. Crop protection, 2013, 54: 154–160.
- [61] FARIAS J R, ANDOW D A, HORIKOSHI R J, et al. Field-evolved resistance to Cry1F maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil[J]. Crop protection, 2014, 64: 150–158.
- [62] SANTOS-AMAYA O F, CLEBSON S T, HUGO M M, et al. Genetic basis of Cry1F resistance in two Brazilian populations of

- fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* [J]. Crop protection, 2016, 81: 154–162.
- [63] TABASHNIK B E, BRÉVAULT T, CARRIÈRE Y. Insect resistance to Bt crops: lessons from the first billion acres [J]. Nature biotechnology, 2013, 31(6): 510–521.
- [64] HERRERO S, YOLANDA B, PATRICIA H M, et al. Susceptibility, mechanisms of response and resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins in *Spodoptera spp* [J]. Current opinion in insect science, 2016, 15: 89–96.
- [65] HAN L Z, JIANG X F, PENG Y F. Potential resistance management for the sustainable use of insect-resistant genetically modified corn and rice in China [J]. Current opinion in insect science, 2016, in press.
- [66] GOULD F. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: integrating pest genetics and ecology [J]. Annual review of entomology, 1998, 43(1): 701–726.
- [67] CASTANERA P, FARINÓS GP, ORTEGO F, et al. Sixteen years of Bt maize in the EU hotspot: why has resistance not evolved? [J]. PLoS ONE, 2016, 11(5): e0154200.
- [68] GOULD F. Testing Bt refuge strategies in the field [J]. Nature biotechnology, 2000, 18(3): 266–267.
- [69] GAO Y, WU K, GOULD F. Frequency of Bt resistance alleles in *H. annigera* during 2006–2008 in Northern China [J]. Environmental entomology, 2009, 38(4): 1 336–1 342.
- [70] WU K, GUO Y. The evolution of cotton pest management practices in China [J]. Annual review of entomology, 2005, 50: 31–52.
- [71] WU K. Monitoring and management strategy for *Helicoverpa armigera* resistance to Bt cotton in China [J]. Journal of invertebrate pathology, 2007, 95(3): 220–223.
- [72] WU K, GUO Y, GAO S. Evaluation of the natural refuge function for *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) within *Bacillus thuringiensis* transgenic cotton growing areas in north China [J]. Journal of economic entomology, 2002, 95(4): 832–837.
- [73] Zhao J Z, Cao J, Li Y, et al. Transgenic plants expressing two *Bacillus thuringiensis* toxins delay insect resistance evolution [J]. Nature biotechnology, 2003, 21(12): 1 493–1 497.
- [74] CARRIÈRE Y, FABRICK J A, TABASHNIK B E. Can pyramids and seed mixtures delay resistance to Bt crops? [J]. Trends in biotechnology, 2016, 34(4): 291–302.
- [75] 刘晨曦, 李云河, 高玉林, 等. 棉铃虫对转 Bt 基因抗虫棉花的抗性机制及治理 [J]. 中国科学(生命科学), 2010, 40(10): 920–928.
- [76] CHEN L Y, SNOW A A, WANG F, et al. Effects of insect-resistance transgenes on fecundity in rice (*Oryza sativa*, Poaceae): a test for underlying costs [J]. American journal of botany, 2006, 93(1): 94–101.
- [77] LIU Y, GE F, LIANG Y, et al. Characterization of competitive interactions in the coexistence of Bt-transgenic and conventional rice [J]. BMC biotechnology, 2015, 15(27): 1–12.
- [78] WANG Y, ZHANG G, DU J, et al. Influence of transgenic hybrid rice expressing a fused gene derived from cry1Ab and cry1Ac on primary insect pests and rice yield [J]. Crop protection, 2010, 29(2): 128–133.
- [79] KIM S, KIM C, LI W, et al. Inheritance and field performance of transgenic Korean Bt rice lines resistant to rice yellow stem borer [J]. Euphytica, 2008, 164(3): 829–839.
- [80] XIA H, CHEN L, WANG F, et al. Yield benefit and underlying cost of insect-resistance transgenic rice: implication in breeding and deploying transgenic crops [J]. Field crops research, 2010, 118(3): 215–220.
- [81] Yang X, Wang F, Su J, et al. Limited fitness advantages of crop-weed hybrid progeny containing insect-resistant transgenes (Bt/CpTI) in transgenic rice field [J]. PLoS One, 2012, 7: e41220.
- [82] 刘标, 韩娟, 薛堃. 转基因植物环境监测进展 [J]. 生态学报, 2016, 9: 2 490–2 496.
- [83] XU L N, WANG Z Y, ZHANG J, et al. Cross-resistance of Cry1Ab-selected Asian corn borer to other Cry toxins [J]. Journal of applied entomology, 2010, 134(5): 429–438.
- [84] GREENE S L, KESOUJ S R, MARTIN R C, et al. Occurrence of transgenic feral alfalfa (*Medicago sativa* subsp. *sativa* L.) in alfalfa seed production areas in the United States [J]. PLoS One, 2015, 10(12): e0143296.

[责任编辑:黄 敏]