•研究报告•

转*BPH9*和*Bar*基因抗褐飞虱耐除草剂水稻‘H23’对非靶标生物的影响

李三和, 刘凯, 阚雯俊, 徐华山, 李培德, 周雷, 游艾青*

湖北省农业科学院粮食作物研究所/粮食作物种质创新与遗传改良湖北省重点实验室, 武汉 430064

摘要: 为探明转*BPH9*和*Bar*基因抗褐飞虱耐除草剂水稻‘H23’对非靶标生物安全性的影响, 本文以‘H23’的非转基因亲本改良的‘广占63-4S’为对照, 比较二者对二化螟(*Chilo suppressalis*)、大型蚤(*Daphnia magna*)和赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*)的影响。其中, 对二化螟采用水稻稻苗饲养法, 观察接虫后6 d二化螟的存活情况, 并称取活虫体重; 对大型蚤采用水稻粉液饲喂法, 考察28 d大型蚤的存活率、繁殖数等指标; 对赤子爱胜蚓则用添加水稻秸秆的人工土壤培养法, 考察28 d内赤子爱胜蚓的存活、体重和行为情况。结果表明, 与受体对照‘广占63-4S’相比, 转*BPH9*和*Bar*基因抗褐飞虱耐除草剂水稻‘H23’对二化螟、大型蚤和赤子爱胜蚓均无显著影响, 可以认为, 短期内转*BPH9*和*Bar*基因水稻‘H23’对这3种非靶标生物无明显的生态风险。

关键词: 转基因水稻‘H23’; 二化螟; 大型蚤; 赤子爱胜蚓; 生态风险

李三和, 刘凯, 阚雯俊, 徐华山, 李培德, 周雷, 游艾青 (2021) 转*BPH9*和*Bar*基因抗褐飞虱耐除草剂水稻‘H23’对非靶标生物的影响. 生物多样性, 29, 488–494. doi: 10.17520/biods.2020295.

Li SH, Liu K, Zha WJ, Xu HS, Li PD, Zhou L, You AQ (2021) Effects of transgenic rice H23 with *BPH9* and *Bar* genes resistant to brown planthopper and herbicide on non-target organisms. Biodiversity Science, 29, 488–494. doi: 10.17520/biods.2020295.

Effects of transgenic rice H23 with *BPH9* and *Bar* genes resistant to brown planthopper and herbicide on non-target organisms

Sanhe Li, Kai Liu, Wenjun Zha, Huashan Xu, Peide Li, Lei Zhou, Aiqing You*

Food Crops Institute, Hubei Academy of Agricultural Sciences / Hubei Key Laboratory of Food Crop Germplasm and Genetic Improvement, Wuhan 430064

ABSTRACT

Aim: In order to investigate the effects of transgenic rice H23 with *BPH9* and *Bar* genes resistant to brown planthopper and herbicide on the safety of non-target organisms, we used *Chilo suppressalis*, *Daphnia magna* and *Eisenia foetida* as environmental bio-indicators.

Methods: The survival and weight of *C. suppressalis* was examined on the 6th day after infestation at the tillering and jointing stage. Under indoor conditions, the survival rate and reproduction number of *D. magna* was investigated by feeding them H23 rice powder. We also measured the survival, weight and behavior of *E. foetida* after being fed with transgenic rice straw in artificial soil for 28 days. As control for these trials, we fed each species non-transgenic rice Guangzhan 63-4S.

Results: The survival and single weight of *C. suppressalis*, the survival rate and reproduction number of *D. magna*, the survival, weight and behavior of *E. foetida* had no significant difference between H23 and Guangzhan 63-4S. H23 had no significant effect on the growth of all three organisms, as compared with that of the nontransgenic control.

Conclusion: Transgenic rice H23 did not pose an ecological risk to *C. suppressalis*, *D. magna* and *E. foetida* after short-term exposure.

Key words: transgenic rice H23; *Chilo suppressalis*; *Daphnia magna*; *Eisenia foetida*; ecological risk

收稿日期: 2020-07-23; 接受日期: 2020-09-16

基金项目: 国家转基因重大专项(2018ZX0800101B)

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: aq_you@163.com

水稻是我国第一大粮食作物, 产量占整个粮食作物产量的40%以上, 我国2/3的人口以稻米为主食。我国水稻面积约占世界总面积的23%, 仅次于印度而居第二位; 总产量约占世界总产量的30%, 居世界第一(FAOSTAT, 2018)。水稻的安全、稳定生产是保障我国乃至世界粮食安全的关键。

病虫害的发生严重影响水稻的产量和品质, 采用转基因的方法使水稻获得病虫害的抗性是一个比较有效的解决途径。但是, 转基因水稻对环境和人类健康可能造成潜在生态风险, 因此, 在转基因作物推向市场大面积生产应用前都要经过严格的环境安全风险评价(EFSA, 2010; Li et al, 2014; 路献勇等, 2017), 其中转基因抗虫水稻对农田非靶标生物的影响是生态环境风险评价的重要内容(Ramirez-Romero et al, 2008; 杨艳等, 2014; 周霞等, 2018)。

褐飞虱(*Nilaparvata lugens*)是为害水稻生长的主要害虫, 在我国各稻区均有发生。抗褐飞虱转基因水稻因缺乏高效基因而发展缓慢, 已报道的转GNA基因水稻可显著提高对褐飞虱的抗性, 但一般难以达到高抗水平(唐克轩等, 2001; 左示敏等, 2004)。BPH9基因克隆于籼稻品种‘Pokkali’, 对褐飞虱具有较好的抗性(Zhao et al, 2016), 利用该基因培育抗褐飞虱水稻品种是一条有效的途径。湖北省农业科学院培育的转BPH9和Bar基因水稻‘H23’显著提高了对褐飞虱的抗性, 进一步探明‘H23’对非靶标生物的生态风险具有重要意义。

为此, 本研究拟在室内条件下, 研究转BPH9和Bar基因抗褐飞虱耐除草剂水稻‘H23’及其非转基因对照改良的‘广占63-4S’对非靶标生物二化螟(*Chilo suppressalis*)、大型蚤(*Daphnia magna*)和赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*)的影响, 以期为该转基因水稻的安全性评价提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

本研究所用抗虫耐除草剂水稻‘H23’为湖北省农业科学院粮食作物研究所自主研发的品系, 是以亲本对照水稻品种改良的‘广占63-4S’为受体材料, 插入外源抗褐飞虱基因BPH9和草铵膦抗性基因Bar, 同时具有褐飞虱抗性和草铵膦除草剂抗性。

二化螟虫源由江西省农业科学院提供, 大型蚤

和赤子爱胜蚓由国家环境保护部生物安全重点实验室提供。

1.2 试验方法

1.2.1 ‘H23’水稻对二化螟的影响

试验参考《转基因植物及其产品环境安全检测抗虫水稻 第一部分: 抗虫性》中对二化螟幼虫室内生测的方法研究转化体对二化螟存活和生长发育的影响, 具体方法: 从田间采集二化螟幼虫, 经羽化配产卵后孵化所得1代幼虫用于试验。转化体和受体对照水稻单粒播种于温室种植池中, 种植池用网罩隔离以防其他害虫为害, 从播种至试验开始前不施用任何化学农药, 水肥常规管理。分别在分蘖盛期(播种后57 d)和拔节期(播种后69 d), 每份水稻材料随机抽取10株, 设3个重复, 共计测定30株。每株选取3~4片倒1叶, 剪取中间约6 cm的一段, 两端用浸过1%苯并咪唑液的滤纸保湿, 放于小试管中(长10 cm, 直径1.2 cm), 每管接12头1日龄幼虫后用棉球塞紧管口, 平放, 试管两端约2 cm用黑布遮光, 置于环境温度为 $27 \pm 1^\circ\text{C}$ 的养虫室内。第3天添加2~3片同一株的新鲜叶片, 6 d后检查试验幼虫的存活(幼虫存活数和存活率)与发育(每试管存活幼虫总体重)情况。称量存活幼虫的体重。

1.2.2 ‘H23’水稻对大型蚤的影响

试验参照张莉等(2018)的方法进行, 通过考察28 d内大型蚤的存活率和新生数, 评价‘H23’水稻对大型蚤的影响。试验选用的大型蚤均为培养3代以上、遗传背景相同的6~24 h孤雌生殖的幼蚤。试验蚤20℃时对重铬酸钾的24h-EC50 = 1.218 mg/L, 符合大型蚤敏感性的试验要求(0.9~1.7 mg/L)。将‘H23’和受体对照水稻种子分别粉碎至粒径10~15 μm , 称取粉碎后的粉末, 用大型蚤培养液(OECD, 2012)配制成浓度为1.2 g/L的水稻粉液, -80°C 储存备用。试验设置小球藻(*Chlorella vulgaris*)组、‘广占63-4S’组、转基因水稻‘H23’组共3组, 每处理3个平行样, 每平行样均设置10只试验蚤, 共90只受试蚤。试验在温度 $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 、光强为4,800 lx、光暗比为16 h : 8 h的恒温培养室中进行。试验过程中, 每隔2天更换一次大型蚤培养液以保证水质新鲜。试验时选用50 mL烧杯, 每杯盛放40 mL大型蚤培养液, 放置1只幼蚤。大型蚤每日饲喂1次。小球藻组饲喂浓缩藻液, 喂食终密度约为 5×10^5 个/mL, 米粉组饲喂量为1.2 g/L的水稻粉液1 mL。试验过程

中, 每天上午9:00定时观察记录试验蚤的生长繁殖情况, 记录试验蚤死亡率、试验期间产幼蚤总数等。当试验蚤开始繁殖后, 每天统计新生大型蚤数目并及时将其移出。试验共持续28 d。

1.2.3 ‘H23’水稻对赤子爱胜蚓的影响

试验参照Liu等(2009)的方法进行, 通过考察28天内赤子爱胜蚓的存活、体重和行为情况, 评价转基因水稻‘H23’对赤子爱胜蚓的影响, 具体为: 水稻植株自然晾干至恒重。选择二月龄以上、大小一致、健康、平均体重0.274 g左右、具有生殖环的赤子爱胜蚓作为试验对象。试验处理分4组: 转基因水稻‘H23’茎秆组; 非转基因水稻‘广占63-4S’茎秆组; 发酵牛粪组(阴性对照组); 混入氯乙酰胺的发酵牛粪组(阳性对照组, 氯乙酰胺浓度为30 mg/kg)。分别粉碎转基因水稻‘H23’、非转基因水稻‘广占63-4S’和发酵牛粪备用。用石英砂: 高岭土: 泥炭藓灰按照7: 2: 1的比例配制干人工土壤。按照120 g水稻秸秆: 880 g人工土壤的比例(此比例为赤子爱胜蚓在农田条件下对转基因水稻可能暴露剂量的20倍)配制成处理组赤子爱胜蚓的土壤基质, 并添加去离子水, 使得含水量占土壤总重的33%, 调节pH值至6.0左右。发酵牛粪处理组土壤也按上述配置(120 g发酵牛粪: 880 g干土)。将配制好的土壤按每圆形玻璃杯750 g分装, 玻璃杯内径9 cm, 高度18 cm。将受试赤子爱胜蚓放置在未添加其他成分的人工土壤中24 h适应环境。将挑选出的赤子爱胜蚓用去离子水洗净, 用灭菌纱布吸干后称重, 随机分配, 每处理设置3个平行样, 每平行样10条蚯蚓, 放入相应处理的圆形玻璃杯中, 并封上纱布。将装有赤子爱胜蚓的圆形玻璃杯放入人工气候箱中, 设定培养温度 $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 相对湿度为 $80\% \pm 5\%$, 连续提供光照, 光照强度为400–600 lx。在试验的第7、14、28天, 将每个圆形玻璃杯中的土壤倒在搪瓷盘上, 观察所有赤子爱胜蚓死亡情况和生存状态。每组所有

赤子爱胜蚓用去离子水洗净后称重并记录。然后土壤被倒回相应处理组容器中, 并将赤子爱胜蚓重新放到土壤表面, 观察钻洞行为, 继续试验。

1.3 数据处理与分析

采用Excel 2003进行数据整理, 试验数据以3个生物学重复的平均值 $\pm$ 标准差($\pm\text{SD}$)表示, Sigmaplot 10.0绘图。使用SPSS 17.0软件ANOVA程序进行单因子方差分析, Tukey’s test进行比较, 以0.05作为统计学上检验的显著性水准。

2 结果

2.1 ‘H23’水稻对二化螟幼虫存活和生长发育的影响

如表1所示, 在分蘖期接虫后6 d检查, 饲养于‘H23’上二化螟的平均存活率为82.5%, 与对照‘广占63-4S’上平均存活率80.6%无显著差异; ‘H23’上存活二化螟的单头平均体重为0.27 mg, 与对照亦无显著差异(0.31 mg)。与此相似, 拔节期接虫后6 d的‘H23’上二化螟的存活率和单头体重与对照‘广占63-4S’上二化螟的均无显著差异。可以认为, 与非转基因受体对照相比, 转基因水稻‘H23’对二化螟的存活和生长发育均无明显影响。

2.2 ‘H23’水稻对大型蚤的影响

小球藻组、亲本水稻‘广占63-4S’组和转基因水稻‘H23’组1–28 d内试验蚤的存活率变化结果表明(图1), 试验蚤的存活率随试验天数的增加而下降, 但同一时间, 两个水稻组间及其与小球藻空白对照组间均无显著差异($P > 0.05$)。

不同处理下大型蚤的繁殖情况见图2, 至第28天试验结束时, 小球藻组、亲本水稻‘广占63-4S’组和转基因水稻‘H23’组新生大型蚤总数分别为 124.00 ± 15.62 只、 84.67 ± 10.26 只、 90.67 ± 9.07 只, 两个水稻组间无显著差异($P > 0.05$)。与小球藻组相比差异显著, 主要是因为大型蚤生存就是以水中浮游藻类等为主要食物, 而水稻种子粉末并不是大型

表1 ‘H23’水稻对二化螟幼虫存活和生长发育的影响

Table 1 Effects of H23 on the survival rate and growth of *Chilo suppressalis* nymph

材料 Material	分蘖期 Tillering stage		拔节期 Jointing stage	
	存活率 Survival rate (%)	单头体重 Single weight (mg)	存活率 Survival rate (%)	单头体重 Single weight (mg)
‘H23’	82.5 ± 3.0^a	0.27 ± 0.00^a	69.2 ± 9.5^a	0.28 ± 0.06^a
‘广占63-4S’ Guangzhan 63-4S	80.6 ± 6.7^a	0.31 ± 0.06^a	71.4 ± 10.9^a	0.31 ± 0.02^a

同一列相同上标字母表示不同材料间没有显著性差异

Same lowercase letters in the same column indicate no significant difference

图1 不同处理组大型蚤存活率变化趋势

Fig. 1 Survival rate of *Daphnia magna* in different treatment groups

图2 不同处理新生大型蚤总数。相同小写字母表示不同处理间无显著差异($P > 0.05$)。

Fig. 2 Number of new born *Daphnia magna* in different treatments. Same lowercase letters indicate that there is no significant difference between different treatments ($P > 0.05$).

蚤合适的食物, 因而造成在繁殖能力方面的差异。

可以认为, 转基因水稻‘H23’与对照受体对大型蚤的存活率和繁殖的影响无显著差异。

2.3 ‘H23’水稻对赤子爱胜蚓的影响

试验第14 d, 氯乙酰胺发酵牛粪组赤子爱胜蚓平均死亡率为 $63\% \pm 12\%$, 说明本试验体系能够对毒物做出灵敏的反应(表2)。试验的第7、14、28 d, 转基因水稻‘H23’秸秆组、非转基因水稻‘广占63-4S’秸秆组和发酵牛粪组赤子爱胜蚓死亡率均为0, 且赤子爱胜蚓的体征、对机械刺激反应敏感性、钻洞行为均表现正常。

转基因水稻‘H23’秸秆组、受体对照‘广占

表2 不同处理赤子爱胜蚓死亡率

Table 2 Death rate of *Eisenia foetida* in different treatments

处理 Treatment	第7天 The 7th day (%)	第14天 The 14th day (%)	第28天 The 28th day (%)
发酵牛粪 + 30 mg/kg氯乙酰胺 Fermented cow dung + 30 mg/kg Chloroacetamide	33 ± 12	63 ± 12	93 ± 4.3
发酵牛粪 Fermented cow dung	0	0	0
转基因水稻‘H23’秸秆 Straw of transgenic rice H23	0	0	0
非转基因水稻‘广占63-4S’秸秆 Straw of non-transgenic rice Guangzhan 63-4S	0	0	0

图3 不同处理组赤子爱胜蚓体重变化。同一时间不同处理间具相同小写字母者表示无显著差异($P > 0.05$)。

Fig. 3 Weight changes of *Eisenia foetida* in different treatment groups. Same lowercase letters indicate that there is no significant difference between different treatments in the same time ($P > 0.05$).

63-4S’秸秆组和发酵牛粪组三个试验组赤子爱胜蚓的体重均随着培养时间延长而增加, 但同一时间段(0、7、14或28 d), 各组赤子爱胜蚓的平均体重均无显著差异($P > 0.05$)(图3)。

综上所述, 转基因水稻‘H23’和对照受体间大型蚤的存活、体重均无显著差异。

3 讨论

自1999年关于转基因玉米花粉对帝王蝶的影响被报道后(Losey et al, 1999), 转基因作物对非靶标生物的影响引起了研究人员的广泛关注。

转基因抗虫作物使用最广泛的是Bt基因, 该基因表达产生的蛋白对鳞翅目昆虫具有较强的毒杀作用, 因此, 二化螟也是转Bt基因作物的靶标害虫, 转基因作物对二化螟的影响也是作为靶标害虫进

行研究,且一般都因抗虫转基因作物表达的Bt蛋白对二化螟产生相应的毒害而对二化螟具有较好的抗性(姜永厚等,2005;赖凤香,2009^①;傅强等,2013;徐雪亮等,2013),未见其作为转基因作物非靶标昆虫的研究报道。本研究中BPH9基因针对的靶标昆虫是半翅目的褐飞虱,属于鳞翅目的二化螟是其非靶标害虫。研究转BPH9基因水稻对二化螟的影响具有重要意义。本研究结果表明,转BPH9和Bar基因植株‘H23’和非转基因受体对照上二化螟的存活率和体重均无显著差异,可以认为,转BPH9和Bar基因水稻‘H23’对二化螟的存活和生长发育不会产生显著影响。

大型蚤为浮游动物的重要类群,是水中细菌、单细胞藻类、有机物碎屑的主要消费者,也是鱼类等水生生物的天然饵料,且其生活周期短、室内培养简易、对污染物反应灵敏(Sturm & Hansen, 1999; Rosa et al, 2006),已具备成熟的环境物质监测评价方法,是转基因作物常用的非靶标生物。张莉等(2018)用抗虫耐除草剂转基因玉米C0030.3.5 (外源基因Cry1Ab和epsps)玉米粉饲喂大型蚤,饲喂结果显示与非转基因对照DBN318相比,大型蚤体长、存活率、新生幼蚤总数等指标均没有显著性差异;张莉等(2019)以抗虫耐除草剂玉米ZZM030饲喂大型蚤28 d,ZZM030转基因玉米并没有对大型蚤产生不良影响;Mendelsohn等(2003)用转Cry1Ab花粉和转cry1F基因玉米花粉饲喂大型蚤,测试期间大型蚤没有出现不良反应。我们的试验结果与这些研究一致。但Bøhn等(2008, 2010)使用转Cry1Ab基因玉米饲喂大型蚤42 d,发现与对照组相比Bt玉米组的大型蚤适合度下降,使用转基因玉米饲喂的大型蚤死亡率增加、试验蚤性成熟时间延长、新生幼蚤总数下降;Cuhra等(2015)的研究发现转基因大豆饲喂大型蚤的存活率、生长繁殖能力都不如常规大豆或有机大豆,这些负面影响的产生可能跟作物品种的差异和试验处理不完全相同有一定关系。

蚯蚓是土壤中常见的杂食性环节动物,在土壤生态系统中占有重要地位,对土壤物理性状改良和植物营养循环具有重要作用(Cortez & Bouché, 2001; 乔玉辉等,2004; 张卫信等,2007)。由于蚯蚓直接暴露于土壤的污染物中,对多种污染物较敏感,因此

常被作为指示生物,成为土壤污染生态毒理诊断的重要指标,也常被作为转基因作物安全评价的非靶标动物。周蕾等(2017)报道转Cry1c基因抗虫水稻1c-5对赤子爱胜蚓存活率、繁殖率和体重变化率的影响与受体‘吉粳88’无显著差异,认为转Cry1c基因水稻1c-5对赤子爱胜蚓无生态风险。肖能文等(2005)通过将不同浓度的Cry1Ac杀虫蛋白加入试验土壤处理赤子爱胜蚓,明确Cry1Ac杀虫蛋白对蚯蚓存活率、体重变化等均没有不利影响。丁帅等(2012)和冷春龙等(2012)报道转基因棉花与非转基因棉花对赤子爱胜蚓体重变化的影响趋势基本一致,蚓茧数、新产生的幼蚓数等均无显著差异。Ahmad等(2006)在土壤中添加转Cry3Bb1基因玉米植株残体,未对普通蚯蚓的生存和体重产生显著影响。Vercesi等(2006)将表达Cry1Ab蛋白的转基因玉米叶研磨成细粉与土壤混合,没有发现转基因玉米组织在降解过程中对蚯蚓的存活、生长和繁殖产生影响。本研究结果与以上试验均一致,即转基因作物对赤子爱胜蚓无明显不良影响。

本研究明确转基因作物‘H23’对二化螟、大型蚤、赤子爱胜蚓等非靶标生物无明显不利影响,但对其对其他更多的非靶标生物、生物多样性和生存竞争力等方面的影响还有待进一步研究,以确保转基因作物的安全性。

参考文献

- Ahmad A, Wilde GE, Zhu KY (2006) Evaluation of effects of Coleopteran-specific Cry3Bb1 protein on earthworms exposed to soil containing corn roots or biomass. *Environmental Entomology*, 35, 976–985.
- Bøhn T, Primicerio R, Hessen DO, Traavik T (2008) Reduced fitness of *Daphnia magna* fed a Bt-transgenic maize variety. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 55, 584–592.
- Bøhn T, Traavik T, Primicerio R (2010) Demographic responses of *Daphnia magna* fed transgenic Bt-maize. *Ecotoxicology*, 19, 419–430.
- Cortez J, Bouché M (2001) Decomposition of Mediterranean leaf litters by *Nicodrilus meridionalis* (Lumbricidae) in laboratory and field experiments. *Soil Biology and Biochemistry*, 33, 2023–2035.
- Cuhra M, Traavik T, Bøhn T (2015) Life cycle fitness differences in *Daphnia magna* fed Roundup-Ready soybean or conventional soybean or organic soybean. *Aquaculture Nutrition*, 21, 702–713.
- Ding S, Fang ZX, Liu B, Shen WJ, Meng J (2012) Effects of

① 赖凤香 (2009) 转基因抗虫水稻生态安全性评价. 硕士学位论文, 中国农业科学院水稻研究所, 杭州.

- wild-shepherd's-purse-agglutinin (WSA) transgenic cotton on *Eisenia foetida*. Journal of Ecology and Rural Environment, 28, 389–393. (in Chinese with English abstract) [丁帅, 方志翔, 刘标, 沈文静, 孟军 (2012) 转基因芥菜凝集素基因棉花对赤子爱胜蚓的影响. 生态与农村环境学报, 28, 389–393.]
- EFSA (European Food Safety Authority) (2010) Guidance on the environmental risk assessment of genetically modified plants. The EFSA Journal, 8, 1879.
- FAOSTAT (2018) Production Quantities of Rice in 2011–2016 [DB/OL]. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>. (accessed on 2018-07-04)
- Fu Q, Lai FX, Chen Y, Li KL (2013) A review of the ecological safety of the insect-resistant transgenic rice to non-target organisms. Plant Physiology Journal, 49, 655–663. (in Chinese with English abstract) [傅强, 赖凤香, 陈洋, 李凯龙 (2013) 抗虫转基因水稻对非靶标生物的生态安全性研究进展. 植物生理学报, 49, 655–663.]
- Jiang YH, Fu Q, Cheng JA, Zhu ZR, Jiang MX, Zhang ZT (2005) Effect of transgenic *sck* + *cryIaC* rice on the survival and growth of *Chilo suppressalis* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae) and its parasitoid *Apanteles chilonis* (Munakata) (Hymenoptera: Braconidae). Acta Entomologica Sinica, 48, 554–560. (in Chinese with English abstract) [姜永厚, 傅强, 程家安, 祝增荣, 蒋明星, 张志涛 (2005) 转*sck* + *cryIaC* 基因水稻对二化螟及二化螟绒茧蜂存活和生长发育的影响. 昆虫学报, 48, 554–560.]
- Leng CL, Yu YC, Wu DM, Shu HL, Liu B (2012) Effect of transgenic pest-resistant cotton on the growth, reproduction and SOD activity of *Eisenia foetida*. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 20, 927–931. (in Chinese with English abstract) [冷春龙, 俞元春, 吴电明, 舒洪岚, 刘标 (2012) 转基因抗虫棉对赤子爱胜蚓生长、生殖及SOD活性的影响. 中国生态农业学报, 20, 927–931.]
- Li YH, Romeis J, Wu KM, Peng YF (2014) Tier-1 assays for assessing the toxicity of insecticidal proteins produced by genetically engineered plants to non-target arthropods. Insect Science, 21, 125–134.
- Liu B, Wang L, Zeng Q, Meng J, Hu WJ, Li XG, Zhou KX, Xue K, Liu DD, Zheng YP (2009) Assessing effects of transgenic *CryIaC* cotton on the earthworm *Eisenia foetida*. Soil Biology and Biochemistry, 41, 1841–1846.
- Losey JE, Rayor LS, Carter ME (1999) Transgenic pollen harms monarch larvae. Nature, 399, 214.
- Lu XY, Li SY, Zhu JB, Luo JY, Ma Y, Cui JJ, Cheng FR (2017) Population dynamics of the cotton aphid (*Aphis gossypii*) and its natural enemies on the transgenic *RRM2* cotton and its parental cultivar in Anhui Province, China. Journal of Biosafety, 26, 152–158. (in Chinese with English abstract) [路献勇, 李淑英, 朱加保, 雒珺瑜, 马艳, 崔金杰, 程福如 (2017) 转*RRM2*基因棉和其亲本苗蚜种群数量及其优势天敌的动态规律. 生物安全学报, 26, 152–158.]
- Mendelsohn M, Kough J, Vaituzis Z, Matthews K (2003) Are *Bt* crops safe? Nature Biotechnology, 21, 1003–1009.
- OECD (Organization for Economic Co-Operation and Development) (2012) OECD Guideline for the Testing of Chemicals, *Daphnia magna* Reproduction Test. OECD Guideline 211. OECD Publishing, Paris.
- Qiao YH, Cao ZP, Wu WL (2004) Secondary succession of earthworm population in high production agro-ecosystem in North China. Acta Ecologica Sinica, 24, 2307–2311. (in Chinese with English abstract) [乔玉辉, 曹志平, 吴文良 (2004) 华北高产农田生态系统中蚯蚓种群次生演替规律. 生态学报, 24, 2307–2311.]
- Ramirez-Romero R, Desneux N, Chaufaux J, Kaiser L (2008) *Bt*-maize effects on biological parameters of the non-target aphid *Sitobion avenae* (Homoptera: Aphididae) and *CryIaB* toxin detection. Pesticide Biochemistry and Physiology, 91, 110–115.
- Rosa E, Barata C, Damásio J, Bosch MP, Guerrero A (2006) Aquatic ecotoxicity of a pheromonal antagonist in *Daphnia magna* and *Desmodesmus subspicatus*. Aquatic Toxicology, 79, 296–303.
- Sturm A, Hansen PD (1999) Altered cholinesterase and monooxygenase levels in *Daphnia magna* and *Chironomus riparius* exposed to environmental pollutants. Ecotoxicology and Environmental Safety, 42, 9–15.
- Tang KX, Wan BL, Sun XF, Qi HX, Lu XG (2001) *GNA* confers resistance to rice brown planthopper in transgenic rice pure lines by both bioassay and feeding tests. Journal of Fudan University (Natural Science), 40, 108–111, 116. (in Chinese with English abstract) [唐克轩, 万丙良, 孙小芬, 戚华雄, 卢兴桂 (2001) 生物鉴定和喂养试验证明*GNA* 赋予转基因水稻纯系对褐飞虱的抗性. 复旦学报(自然科学版), 40, 108–111, 116.]
- Vercesi ML, Krogh PH, Holmstrup M (2006) Can *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) corn residues and *Bt*-corn plants affect life-history traits in the earthworm *Aporrectodea caliginosa*? Applied Soil Ecology, 32, 180–187.
- Xiao NW, Ge F, Liu XH (2005) Effects of *Bt* toxin *CryIaC* on biochemical responses of *Eisenia foetida* in an artificial soil. Chinese Journal of Applied Ecology, 16, 1523–1526. (in Chinese with English abstract) [肖能文, 戈峰, 刘向辉 (2005) *Bt*毒蛋白*CryIaC*在人工土壤中对赤子爱胜蚓毒理及生化影响. 应用生态学报, 16, 1523–1526.]
- Xu XL, Yao YJ, Chen DZ, Xiao YQ, Hu LX (2013) Impact of transgenic *Bt* gene rice to *Chilo suppressalis* (Walker) larvae and arthropod community under field conditions. Journal of Huazhong Agricultural University, 32(5), 50–54. (in Chinese with English abstract) [徐雪亮, 姚英娟, 陈大洲, 肖叶青, 胡兰香 (2013) 转基因抗虫水稻对二化螟幼虫和田间节肢动物群落的影响. 华中农业大学学报, 32(5), 50–54.]
- Yang Y, Li YH, Cao FQ, Cheng LS, Peng YF (2014) Progress in the assessment of ecological effects of insect-resistant *Bt*

- crops on non-target of Lepidopteran insects. *Journal of Biosafety*, 23(4), 224–237, 214. (in Chinese with English abstract) [杨艳, 李云河, 曹凤勤, 程立生, 彭于发 (2014) 转*Bt*基因抗虫作物对鳞翅目非靶标昆虫生态影响的研究进展. *生物安全学报*, 23(4), 224–237, 214.]
- Zhang L, Han J, Liu B (2018) Ecotoxicological effects of genetically modified maize C0030.3.5 with *cryIAb* and *epsps* gene on *Daphnia magna*. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 13(3), 122–128. (in Chinese with English abstract) [张莉, 韩娟, 刘标 (2018) 转*cryIAb*和*epsps*基因玉米C0030.3.5对大型蚤(*Daphnia magna*)的生态毒性研究. *生态毒理学报*, 13(3), 122–128.]
- Zhang L, Shen WJ, Fang ZX, Liu B (2019) Effect of transgenic maize ZZM030 on growth and reproduction of *Daphnia magna*. *Journal of Agro-Environment Science*, 38, 2074–2079. (in Chinese with English abstract) [张莉, 沈文静, 方志翔, 刘标 (2019) 转基因玉米ZZM030对大型蚤(*Daphnia magna*)生长和繁殖的影响. *农业环境科学学报*, 38, 2074–2079.]
- Zhang WX, Chen DM, Zhao CC (2007) Functions of earthworm in ecosystem. *Biodiversity Science*, 15, 142–153. (in Chinese with English abstract) [张卫信, 陈迪马, 赵灿灿 (2007) 蚯蚓在生态系统中的作用. *生物多样性*, 15, 142–153.]
- Zhao Y, Huang J, Wang ZZ, Jing SL, Wang Y, Ouyang YD, Cai BD, Xin XF, Liu X, Zhang CX, Pan YF, Ma R, Li QF, Jiang WH, Zeng Y, Shangguan XX, Wang HY, Du B, Zhu LL, Xu X, Feng YQ, He SY, Chen RZ, Zhang QF, He GC (2016) Allelic diversity in an NLR gene *BPH9* enables rice to combat planthopper variation. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 113, 12850–12855.
- Zhou L, Jing LG, Zhou L, Wang BF, Feng SD, Song XY (2017) Effects of transgenic rice leaf residues on *Folsomia candida* and *Eisenia foetida*. *Journal of Agro-Environment Science*, 36, 1978–1983. (in Chinese with English abstract) [周蕾, 井乐刚, 周琳, 王柏凤, 冯树丹, 宋新元 (2017) 转基因水稻叶片残体对白符跳和赤子爱胜蚓的影响. *农业环境科学学报*, 36, 1978–1983.]
- Zhou X, Xie X, Zuo J, Tan YH, Cao Y, Huo SS, Yi XP, Zhao H, Zhang LL, Guo AP (2018) The advance on the effects of transgenic crops on natural enemies. *Journal of Environmental Entomology*, 40, 1021–1026. (in Chinese with English abstract) [周霞, 谢翔, 左娇, 谭燕华, 曹扬, 霍姗姗, 易小平, 赵辉, 张丽丽, 郭安平 (2018) 转基因作物对天敌的影响研究进展. *环境昆虫学报*, 40, 1021–1026.]
- Zuo SM, Zhang P, Zhu SD, Chen ZX, Tian WZ, Zhu Z, Pan XB (2004) Resistance to brown planthopper in progenies of *GNA* transgenic rice. *Acta Agronomica Sinica*, 30, 371–375. (in Chinese with English abstract) [左示敏, 张平, 祝树德, 陈宗祥, 田文忠, 朱祯, 潘学彪 (2004) 水稻转*GNA*基因后代对褐飞虱的抗性研究. *作物学报*, 30, 371–375.]

(责任编辑: 万方浩 责任编辑: 闫文杰)