

转基因抗虫是怎么回事？

将一种细菌体内的抗虫基因，通过生物技术的手段转入植物体内表达，就能让植物得到抗虫性状，免受特定害虫的侵扰。这种抗虫基因是哪里来的，如何发挥出作用的？到底对人体有没有害处呢？

撰文/周子珊 张杰

苏云金芽胞杆菌（又称苏云金杆菌，*Bacillus thuringiensis*），简称Bt，是一类可产生芽胞的革兰氏阳性细菌。Bt被广泛用于农业，特别是有机农业，以及转基因农业。它们广泛分布于世界各地的土壤、尘埃中，无论在海滩、沙漠还是冻土带，均有它们的活动踪迹。当周围环境中的营养物质缺乏的时候，营养期的Bt就开始形成芽胞，并在体内产生伴胞晶体。这种晶体主要由被称为“Cry内毒素”的蛋白质组成；而Cry内毒素，则得名于英文Crystal（晶体）的字头“Cry”。

如今，人们已经发现了上万株Bt菌株，但是它们产生的杀虫蛋白只针对很有限的害虫种类，对其他的生物都是安全的。这些蛋白可以高效地杀死特定种类的害虫，而不对人类健康和环境产生危害。基于Bt毒素的杀虫剂已经被安全使用了超过70年，它可以减少人工合成化学农药的使用量。用苏云金芽胞杆菌为基础制作的生物杀虫剂和可以自主表达Cry内毒素的转基因作物，已经彻底改变了农业的面貌。

发现过程

1901年，日本生物学家石渡繁胤首次从猝死的家蚕体内分离出了致病菌，这种细菌曾造成大量的家蚕死亡。他将这种细菌命名为猝倒杆菌（*Bacillus sotto*）。1911年，德国的生物学家恩斯特·贝尔林纳（Ernst Berliner）在德国图林根州（Thüringen，曾被译为苏云金省）发现的染病的地中海粉螟的体内，也发现了一种致病菌，以发现地点的名字命名为“*Bacillus thuringiensis*”。其实，这和之前发现的猝倒杆菌是同一种细菌。1915年，他公开发表了这个发现，并称Bt体内还存在晶体。但是直到很多年以后人们才发现，其实这种晶体才是杀虫的利器。

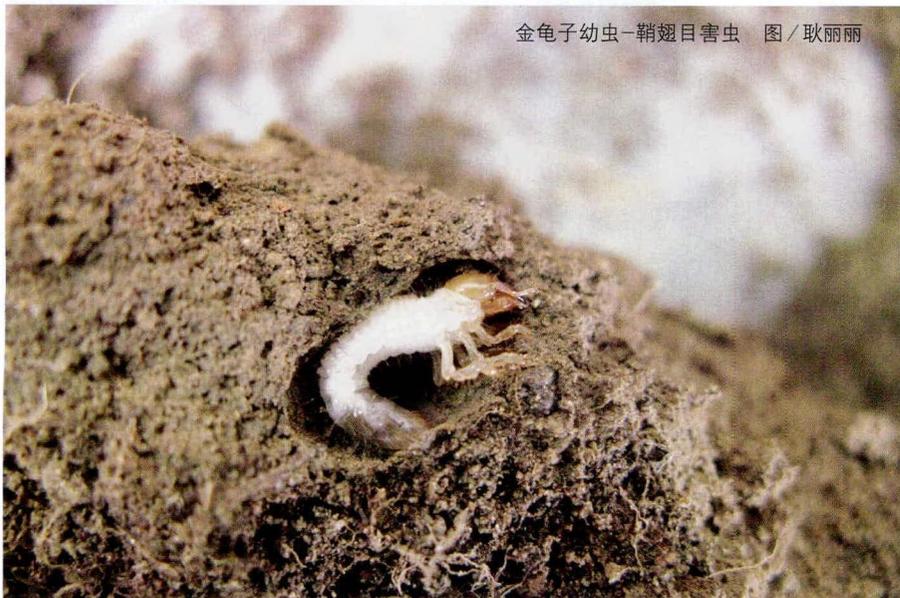
1938年，法国首先尝试通过细菌发酵的手段来生产这种能高效杀灭害虫（主要是粉螟）、却对人类健康和环境无害的细菌，并制作基于Bt的杀虫剂，由此开创了“以菌治虫”的先河。

此后，越来越多的Bt制品进入市场，但往往都有不少的限用条件。例如，喷洒在植物上的Bt

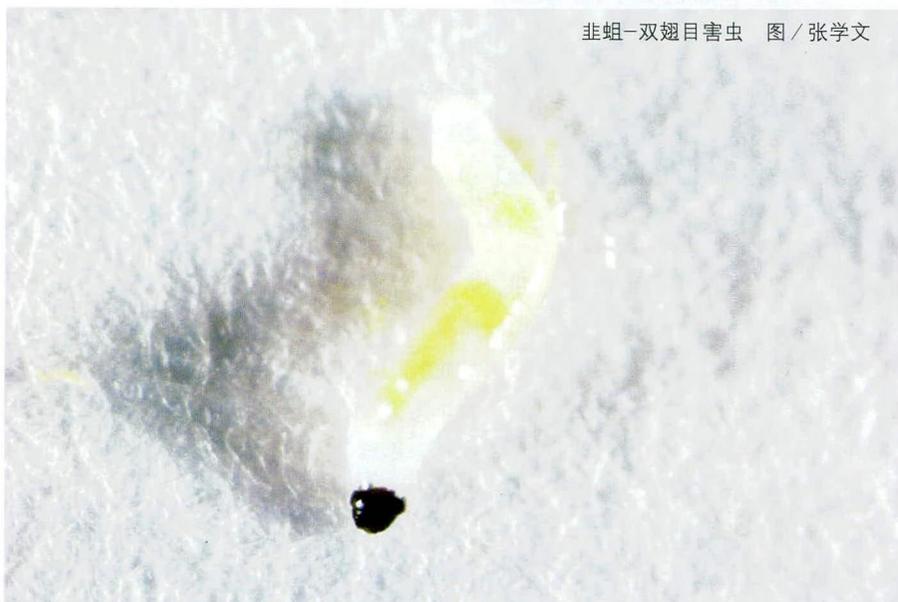


棉铃虫—鳞翅目害虫 图/毛志明

金龟子幼虫-鞘翅目害虫 图/耿丽丽



韭蛆-双翅目害虫 图/张学文



抗虫并非Bt的独门绝技

“优胜劣汰、适者生存”是自然界的生存法则。生物系统中的每个成员都是相互影响、相互制约的。自然界的生物在长期进化的过程中，拥有自己的防御系统，在生长发育过程中会产生一些抗虫物质，才能抵抗害虫的危害。而产生什么样的抗虫物质，什么时候产生，都是由生物体内的基因决定的。

植物来源的抗虫基因

一些高等植物为了适应环境，抵抗害虫的侵害，自身往往含有抗虫基因，比如：蛋白酶抑制剂基因、淀粉酶抑制剂基因、外源凝集素基因等。这些基因的表达物可以通过抑制或影响昆虫对蛋白、淀粉或其他营养物质的吸收与利用，进而导致昆虫死亡。

动物来源的抗虫基因

蝎子和蜘蛛产生的蛋白，可以特异性地作用于昆虫。一些害

虫的天敌的基因中也含有抗虫基因，如菜青虫的天敌——蝶蛹金小蜂，就能够产生昆虫免疫抑制因子，可以通过抑制菜青虫的免疫系统而影响菜青虫的生长和发育。

微生物来源的抗虫基因

微生物为了“抢占”更多的资源，促进自身的生长与繁殖，抑制其他生物的生长，会产生一些抑制其他生物生长的物质，抗生素就是其中的一种。它可以抑制某些细菌或真菌的生长，所以我们可以将其提取出来，帮助人类治愈疾病。而有些微生物，为了在寄生的昆虫体内繁殖而不被昆虫的防御系统“消灭”，还可以产生某种抗虫物质，例如：苏云金芽胞杆菌、蜡样芽胞杆菌、白僵菌、绿僵菌等等。这些微生物含有抗虫基因，在生长过程中可以产生能够毒杀昆虫的物质。



电子显微镜下拍到的苏云金芽胞杆菌的芽胞和杀虫晶体蛋白。放大倍数为10000倍

杀虫剂很容易被雨水冲刷掉；在阳光中的紫外线照射下，药效会逐渐降低等等。另外，当时已知的Bt菌株很少，因此开发出的生物农药的种类也很有限，而每种Bt杀虫剂的杀虫谱非常窄，对更多种类的害虫难以起到作用。当时所用的Bt制剂都是针对鳞翅目昆虫的幼虫的，但这样的生物农药对藏在土壤里的害虫也奈何不得。这个时候，人工合成的化学农药出现了，它们可以快速有效地杀死各种害虫，具有明显的优势。所以，基于Bt制作的生物农药并没有被广泛使用。

1953~1955年，综合汉内（Hannay）、菲茨-詹姆斯（Fitz-James）和安格斯（Angus）三位科学家的研究成果，人们认识到Bt制剂之所以能杀死鳞翅目害虫（螟虫），主要是Bt产生的伴胞晶体的功效，并证实了这种伴胞晶体是由蛋白质组成的。人们对Bt重新燃起了兴趣，开始研究它的晶体结构、生物化学性质以及杀灭害虫的作用模式。

在美国，Bt产品于1958年开始商业化。1961年，Bt作为农药通过了美国环保署的认证。1977年以前，被报道的Bt菌株只有13种，它们都是用于杀灭鳞翅目害虫的幼虫的。1977年，科学家们发现了第一种能杀灭双翅目害虫的菌株。到1983

年，人们也发现了第一种能毒杀鞘翅目类害虫的Bt菌株。

20世纪70年代后，许多科学家和环保主义者认为，人工合成的化学农药会让昆虫产生抗性，会越来越难以奏效，而且还会破坏环境，产生深远的影响。Bt可以在有机农业中使用，而且不会在环境中残留，相比之下具有明显优势。因此，政府和企业开始加大投资研究Bt。

我国科学家自20世纪50年代开始引进和自主分离Bt菌株，研究创新发酵工艺，并开展Bt制剂防治蔬菜、水稻、玉米、棉花等农作物害虫和杨树、松树等林业害虫的试验示范。迄今为止，Bt依然是全球产量最大、应用最广的微生物杀虫剂，广泛应用于全球农业林业和卫生害虫的防治。

全副武装的Bt

苏云金芽胞杆菌在生长过程中可以产生多种抗虫和抗菌物质，例如杀虫晶体蛋白、营养期杀虫蛋白、几丁质酶、抗菌多肽、蛋白酶、免疫抑制因子、Sip蛋白。其中，杀虫晶体蛋白和营养期杀虫蛋白是应用最为广泛的杀虫物质。苏云金芽胞杆菌中含有的抗虫基因被统称为“Bt抗虫基因”。

杀虫晶体蛋白

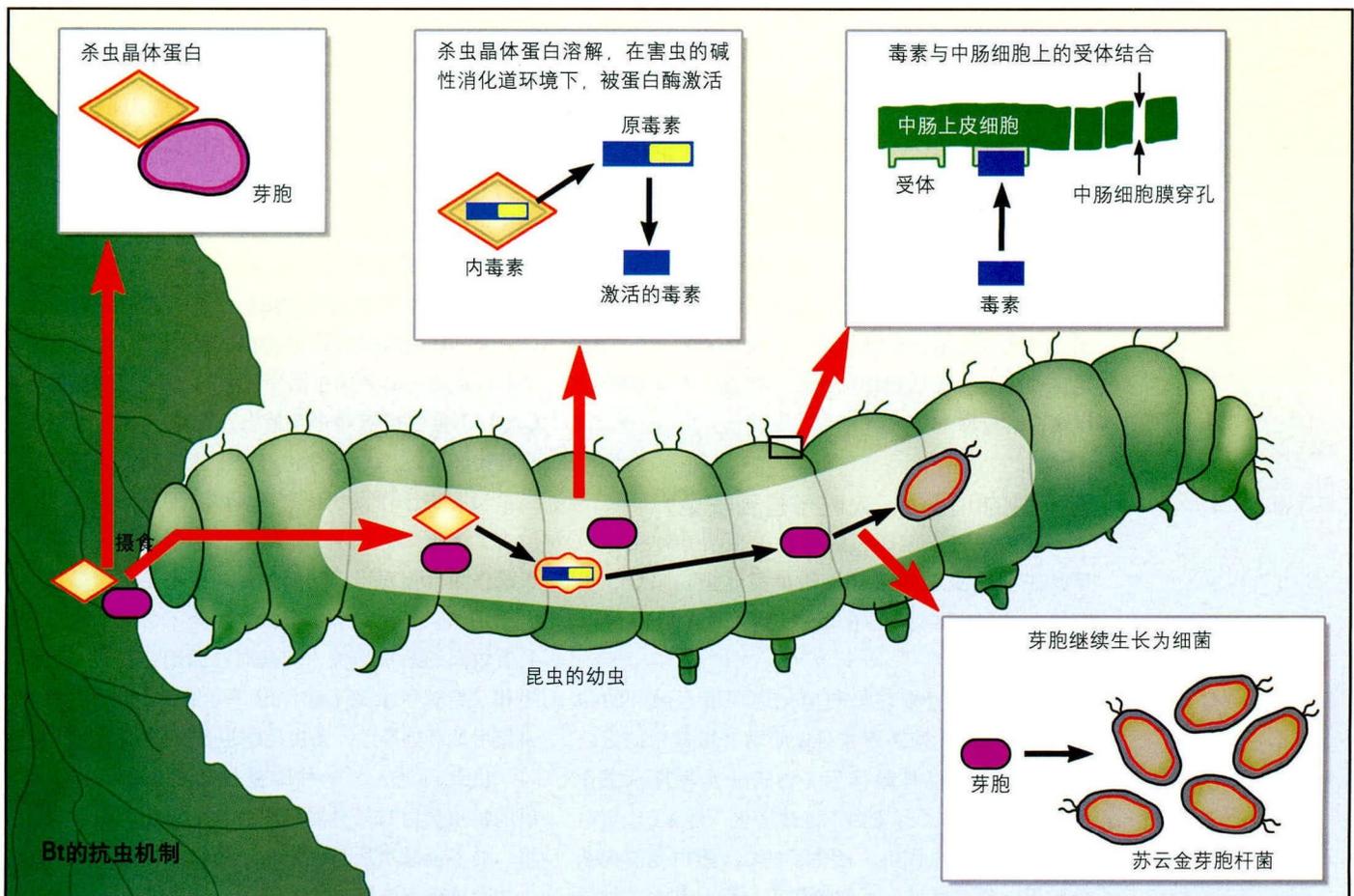
苏云金芽胞杆菌在生长代谢过程中，可以产生多种对昆虫有致病性的杀虫蛋白。按照其产生的部位，可以将其分为“内毒素”和“外毒素”两大类。其中，内毒素也称为“杀虫晶体蛋白”或“ δ -内毒素”，以蛋白质晶体的形式存在于细胞内，并随着芽胞的释放而排到体外，晶体形状主要有：菱形、方形、球形、无规则形、米粒形等。大部分Cry类杀虫晶体蛋白由N-端（氨基）活性区和C-端（羧基）非活性区组成，它们在被害虫肠道的蛋白酶消化激活的过程中，C-端非活性区被切除，剩下活性区片段——N-端活性区。如果非活性区的C-端不能被切除，那么Cry蛋白将不具备杀虫活性。另一类Cry蛋白只有N-端活性区部分，也需要经过酶解活化，才能发挥杀虫作用。

目前克隆得到并命名的杀虫晶体蛋白基因超过750个，按照命名规则分为76个大类。Cry蛋白具有各自独特的杀虫谱，如Cry1、Cry3、Cry4、Cry5可分别杀灭鳞翅目、鞘翅目、双翅目的昆虫

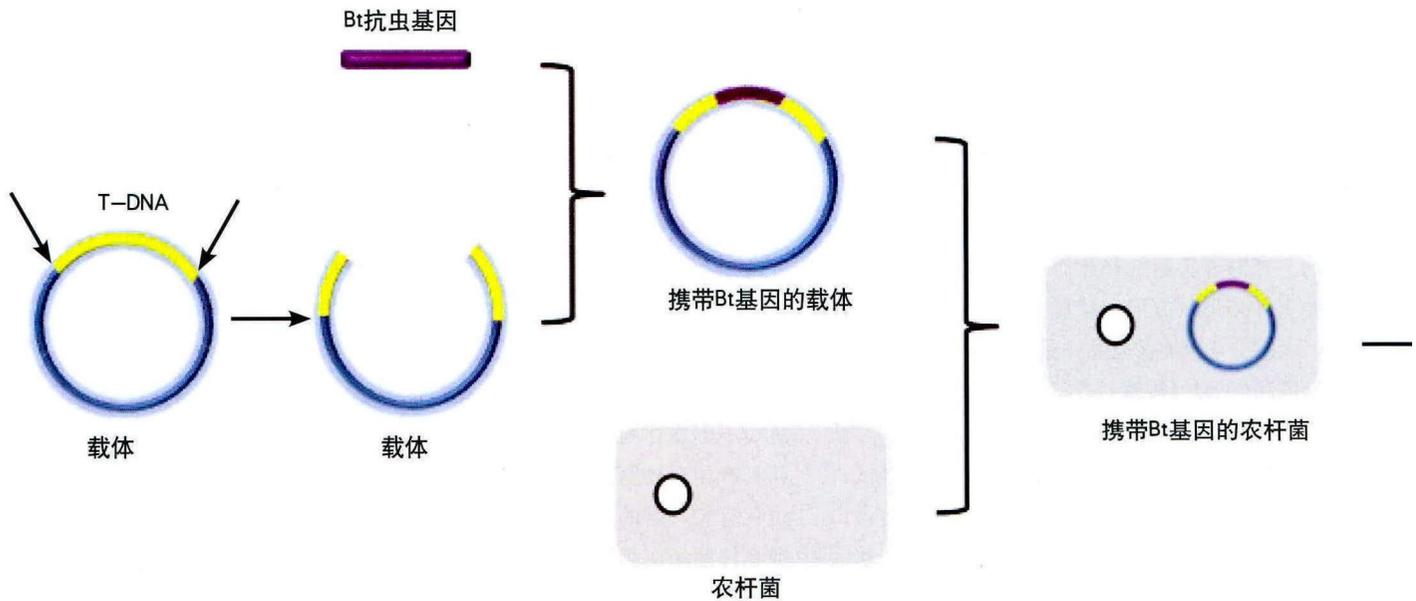
以及线虫和肝吸虫等；Cry2对鳞翅目及双翅目昆虫有杀虫活性；Cry1B、Cry1I对鞘翅目和鳞翅目昆虫有杀虫活性。

营养期杀虫蛋白

营养期杀虫蛋白（Vegetative Insecticidal Proteins，简称Vip蛋白），是苏云金芽胞杆菌营养生长期分泌的杀虫蛋白。从Bt的对数生长期中期开始表达，分泌到细胞外，一直到稳定前期达到最高峰。Vip蛋白不同于Bt的杀虫晶体蛋白，Vip蛋白不形成伴胞晶体，且具有热不稳定性；但是其具有相对较宽的杀虫谱，对鳞翅目、鞘翅目昆虫具有较广谱的杀虫活性，甚至对一些对苏云金芽胞杆菌杀虫晶体蛋白有强抗性的昆虫（比如小地老虎）都有较强的杀虫活性。Vip蛋白的发现，使得Bt杀虫剂在杀虫活性和杀虫范围上得到很大的提升，苏云金芽胞杆菌杀虫蛋白也因而具有更为广阔的应用前景。就杀虫活性来说，Vip蛋白是一个极为丰富且具有巨大潜力的资源。



抗虫基因转入到作物中的过程



分泌型杀虫蛋白

分泌型杀虫蛋白 (Secreted Insecticidal protein, 简称Sip), 是2006年发现的苏云金芽胞杆菌中新类型的杀虫蛋白, 对马铃薯甲虫等鞘翅目昆虫具有较好的杀虫活性, 但杀虫机理尚不清楚。

几丁质酶

几丁质是自然界中除纤维素外储量最大的生物多聚糖, 昆虫从体表到中肠, 都覆盖着一层几丁质。在昆虫中肠上有一层膜, 叫做围食膜。它主要对昆虫中肠起保护作用, 这种膜的主要成分是几丁质和蛋白。从Bt中发现的几丁质酶 (Chitinase) 主要作用于昆虫围食膜上的几丁质层, 从而导致围食膜结构破坏, 可能有助于Bt侵染昆虫幼虫, 从而加速幼虫死亡。因此, 几丁质酶对Bt蛋白具有增效作用。

能杀虫的Bt蛋白, 人吃了是否安全?

虽然Bt可以编码合成多种杀虫活性物质, 但是其主要杀虫功能来自于杀虫晶体蛋白 (Cry蛋白), 这种蛋白需要在碱性条件下才可以溶解激活。

昆虫等无脊椎动物的消化道环境是碱性的, Cry蛋白在碱性条件下才可以溶解并被其中的蛋白酶活化, 形成活性单体后, 再进一步发挥杀虫作用。相反, 如果Cry蛋白不能被活化, 那么Cry蛋白就不能发挥杀虫作用。活化了的Cry蛋白要发挥杀虫作用, 需要经过一系列的作用过程, 其中关键步

骤, 也是决定Cry蛋白杀虫特异性的步骤是: 活化的Cry蛋白与昆虫消化道上的受体结合, 然后插入细胞膜, 形成孔洞, 最终导致昆虫死亡。

人和其他脊椎动物的胃液的pH值在1.5~2.5之间, 属于强酸性环境, 并且含胃蛋白酶, Cry蛋白在这样的环境中不但不会被活化, 反而会被迅速降解, 失去功能。所以, 人吃了Bt蛋白不会中毒。

Bt蛋白的专一性非常强。不同的Bt菌株可以产生针对不同昆虫的毒素。这主要取决于受体的识别, 只有毒素和受体结合起来才能起到毒杀昆虫的作用。每种昆虫体内有许多种受体, 但是这种毒蛋白仅仅对特定的受体有效, 就像一把钥匙开一把锁。由于不同种类的害虫的受体存在差异, 所以Cry蛋白只能对少数特定种类的昆虫发生作用, 对非靶标昆虫不具备杀虫活性。例如, Cry1Ac蛋白和Cry1Ab蛋白虽然对小菜蛾、玉米螟和棉铃虫等害虫具有较高的杀虫活性, 但对于蜜蜂和瓢虫等有益昆虫没有毒杀作用; 还有Cry1Ah蛋白, 虽然对棉铃虫、玉米螟、水稻二化螟等多种鳞翅目害虫具有毒杀作用, 但对于同为鳞翅目的经济昆虫家蚕是安全无毒的。还有Cry8C蛋白, 对地下害虫铜绿金龟具有较高的杀虫活性, 但是对同属鞘翅目的大猿叶甲和马铃薯甲虫却不起作用。可见, Cry蛋白的杀虫作用具有选择性, 杀虫范围也很有限。

由此可见, 某一种Bt菌株的抗虫基因编码合成的抗虫蛋白只是针对特定种类的昆虫具有毒杀作用, 并不能杀灭所有的昆虫, 更不会对害虫以外的生物造成毒杀作用。

农杆菌感染植物



作物

Bt抗虫基因转移到作物的遗传物质中

将抗虫基因转移到植物中

用Bt制作的生物杀虫剂可以直接喷洒到作物上发挥杀虫作用。虽然通过基因改造和多基因联用等手段，可以弥补Bt工程菌杀虫谱窄及毒力有限等不足，但Bt产生的杀虫物质持效期短、热稳定性差和紫外条件下易降解等问题仍然不容忽视。因此，科学家们设想，如果可以让植物自己生产这种杀虫物质，那么既可以提高杀虫物质的稳定性，又可以让植物长期表现出杀虫特性，不仅降低了化学农药的使用，同时减少了农业操作，达到低碳环保的效果。因此，科学家们利用生物技术手段，也就是转基因技术，将杀虫基因从细菌转移到植物中，使其获得杀虫特性。

既然Bt杀虫基因存在于苏云金芽胞杆菌的遗传物质中，那么如何将其转移到植物中呢？这就要借助另一种同样来自土壤的细菌——根癌农杆菌的特性了。根癌农杆菌能将自身的一段遗传物质（T-DNA，质粒）整合到植物的遗传物质中，是一种天然的植物基因转化系统。利用根癌农杆菌的这种神奇的功能，科学家可以通过简单的操作，使根癌农杆菌首先携带上Bt杀虫基因，再通过根癌农杆菌作用于植物，最终，将Bt杀虫基因整合到植物的遗传物质中。

但是将Bt杀虫基因转入到植物中并不意味着植物就此获得了杀虫性状，这仅仅是一个开始。将杀虫基因导入到植物细胞中，目的是让植株能够成功、高效地表达出对应的杀虫蛋白质，所以，导入杀虫基因成功的植株还要经过层层筛选。科学家要选取杀虫

还能够稳定地遗传给后代。如果植株获得了杀虫基因，那么在植株的遗传物质中，就能检测到杀虫基因的存在，反之亦然。在确定植株获得了杀虫基因后，植株还要经过杀虫实验的检测、农艺性状的评价、遗传稳定性的分析等等一系列的检测筛选过程。每一次筛选过程都会淘汰许多植株。假设我们一开始获得了1000棵导入杀虫基因的植株，最后可能仅有1棵能通过严格的层层筛选脱颖而出，满足我们的要求。

自1996年首例转基因作物商业化以来，全球转基因作物的种植面积逐年攀升，截止到2013年年底，全球商业化的转基因作物种植面积已达1.75亿公顷，其中40%（约7000万公顷）具有杀虫功能。2013年全球转基因作物种子市场价值就高达156亿美元，转基因作物产值更是超过1700亿美元。1996~2012年，在转基因作物种植的17年中，由于杀虫转基因作物的推广使用，累计减少使用人工合成的化学农药49.7万吨，对环境保护和生态平衡发挥了巨大的作用。

由此可见，转基因杀虫作物实际上是利用天然的基因转化系统，通过纯生物学的方法，将自然界普遍存在的Bt杀虫基因整合到植物中，在保证其优良的农艺性状的基础上，增强了其对害虫的“抵抗力”，同时减少了化学农药的使用，保护了自然环境。

苏云金芽胞杆菌是自然界赋予我们人类的珍贵礼物，它为人类从大自然获取充足的、安全的食物提供了重要的保障。■

（作者单位：中国农业科学院植物保护研究所，植物病虫害生物学国家重点实验室）

责任编辑/闫凯