

ẢNH HƯỞNG CỦA VIỆC TRÔI GEN *Bt* ĐẾN MỘT SỐ LOÀI CÔN TRÙNG THUỘC BỘ CÁNH VẢY TRÊN QUẦN THỂ LÚA HOANG

Ngô Lực Cường¹

SUMMARY

The impact Bt gene flow to some insect species of Lepidopterans on wild rice population

Transgenic rice varieties with Bt endotoxins are currently being evaluated for large - scale release in several Asian countries. There are important biosafety concerns regarding Bt rice release. One of the major environmental biosafety concerns is the consequence of transgene escape into wild or weedy rice populations. We conducted a two - year survey to document arthropod diversity, and abundance of non - target Lepidoptera and natural enemies in wild rice ecosystems in the Mekong Delta in Vietnam. We found significantly greater total species diversity and greater lepidopteran diversity in wild rice (*Oryza rufipogon*) than in cultivated rice (*Oryza sativa*), indicating greater diversity and community structure in wild rice. We identified the key Lepidopteran species and natural enemies associated with wild rice and examined the susceptibility of some non - target lepidoptera species to Cry1Ac, the form Bt endotoxin that will be most likely to be released. While there was variation in susceptibility among the lepidopteran species tested, the bioassays found that all three lepidoteran species were susceptible to the cry1Ac toxin. Therefore, Bt transgene flow has the potential to significantly impact lepidopteran - based food webs in wild rice.

I. MỞ ĐẦU¹

Cây lúa nước hiện nay (*Oryza sativa* L.) có nguồn gốc từ Châu Á và có quan hệ rất gần với loài *Oryza rufipogon*, là một loài lúa hoang rất phổ biến và dễ dàng tìm thấy trong ruộng lúa hoặc dọc theo bờ sông, kênh, mương... tại Việt Nam và một số nước châu Á (Lu, Snow, 2005; Cohen *et al.*, 2008). Do vậy, nếu những giống lúa chuyển gen *Bt* được trồng phổ biến tại những vùng này thì khả năng ảnh hưởng của việc thất thoát gen *Bt* vào trong quần thể lúa hoang là rất lớn. Hậu quả là có thể ảnh hưởng xấu đến những loài côn trùng thuộc bộ cánh vảy và mạng lưới thức ăn của chúng. Cho đến nay những công trình nghiên cứu về ảnh hưởng của gen *Bt* đến đa dạng sinh học và cấu trúc của quần thể côn trùng trên lúa hoang vẫn còn tương đối ít. Do vậy, đề tài nghiên cứu tiềm năng ảnh hưởng của việc trôi gen *Bt* đến mạng lưới thức ăn của loài côn trùng thuộc bộ cánh vảy trên quần thể lúa hoang tại Việt Nam được thực hiện nhằm mục tiêu: 1) Nghiên cứu sự phong phú và phổ biến

của loài côn trùng trên lúa hoang và loài không mục tiêu thuộc bộ cánh vảy (Lepidoptera) và thiên địch của chúng trên hệ sinh thái lúa hoang; 2) Đánh giá mức độ nhiễm của loài không mục tiêu thuộc bộ cánh vảy đối với độc tố Bt và tiềm năng ảnh hưởng đến mạng lưới thức ăn của côn trùng trên hệ sinh thái lúa hoang.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Nghiên cứu tính đa dạng và mức độ phổ biến của các loài côn trùng, loài thuộc bộ Lepidoptera và thiên địch của chúng trên lúa hoang

Điều tra thu thập mẫu côn trùng được tiến hành 2 lần trong một tháng trên ba điểm thuộc xã Phú Đức, Phú Hiệp và Phú Thành là những nơi có diện tích lúa hoang *O. rufipogon* lớn thuộc Vườn Quốc gia Tràm Chim, được thực hiện phối hợp bằng nhiều biện pháp như sử dụng máy hút côn trùng D - vac, bắt bằng vợt và thu mẫu bằng tay. Mồi mẫ được hút bằng D - vac tại mỗi ruộng. Bướm được thu thập trên 3 điểm tại mỗi ruộng lúa hoang, mỗi điểm 20 vợt. Tất cả các loài côn trùng thu thập được lưu giữ mẫ, làm tiêu bản và định danh đến loài. Số liệu côn

¹ Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long.

trùng được tổng hợp và phân tích chỉ số đa dạng Simpson's Diversity Index D (Simpson, 1949) và chỉ số cân bằng Equitability (E_D).

2. Đánh giá khả năng nhiễm một số loài cánh vẩy đối với độc tố Bt (Cry1Ac)

Nhằm đánh giá khả năng miễn cảm của một số loài sâu cánh vẩy đối với độc tố Bt chúng tôi sử dụng sản phẩm MVP II (Mycogen Corporation, USA) có chứa nội độc tố Cry1Ac của dòng vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* Berliner var. *kurtaski* được bao bọc trong các tế bào vi khuẩn *Pseudomonas fluorescens*. Ưu điểm của MVP là rất bền vững và dễ sử dụng. Loài sâu dùng trong thí nghiệm là 2 loài bướm để thu thập và tương đối phổ biến trên ruộng lúa hoang tại Vườn Quốc gia Tràm Chim, đó là loài sâu cuốn lá *Cnaphalocrocis medinalis* và sâu đo ăn lá *Mocis frugalis*.

Phương pháp thí nghiệm nhúng lá (*leaf - dip bioassays*): Trước tiên lá lúa được nhúng vào dung dịch Triton X - 100, nồng độ 0,01% và sau đó rửa vài lần với nước cất để tẩy đi các chất sáp trên bề mặt lá lúa và cho phép dung dịch Bt có thể bám dính lên lá. Sau khi làm khô trong vài phút, lá lúa được nhúng vào dung dịch có độc tố Bt (MVP II) ở các nồng độ khác nhau, sau đó để khô. Lá lúa đã xử lý được chuyển qua đĩa petri có lót giấy giữ ẩm. Thả vào mỗi đĩa petri có lá lúa đã xử lý độc tố Bt 10 ấu trùng mới nở, dán lại bằng parafilm và đem ủ ở nhiệt độ 27°C. Mỗi nghiệm thức gồm 10 lần lặp lại. Ghi nhận các chỉ tiêu số sâu sống và số sâu chết mỗi ngày liên tục cho đến 4 - 5 ngày sau xử lý: Số liệu được phân tích bằng phần mềm IRRISTAT 5.0.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Tính đa dạng côn trùng trên lúa hoang *Oryza rufipogon* tại Vườn Quốc gia Tràm Chim

Kết quả điều tra bằng phương pháp hút mẫu D - vac có tổng số 34.492 cá thể côn trùng, thuộc 16 bộ (order) và 178 họ (family) và 223 loài (species) thu thập được tại các điểm điều tra trên ruộng lúa hoang. Số cá thể thuộc Hemiptera và Araneae chiếm tỷ lệ cao nhất trong tổng số côn trùng thu thập (Hemiptera chiếm 22% và Araneae chiếm 21%). Phần lớn các loài trong hai bộ côn trùng này trên lúa hoang đều thuộc nhóm ăn mồi (predator) và ký sinh (parasite). Dựa trên tổng số cá thể côn trùng phân bố trong từng họ, kết quả tính toán chỉ số đa dạng sinh học Simpson's Diversity Index (D) và chỉ số cân bằng Equitability (E_D) cho thấy quần thể côn trùng trên lúa hoang có chỉ số đa dạng cao hơn rất nhiều so với lúa trồng và mức độ phân bố cá thể của từng họ trong quần thể côn trùng trên lúa hoang có tính cân bằng cao hơn ($E_D = 0,2307$), trong tính ổn định khi quần thể côn trùng trên lúa trồng thấp ($E_D = 0,0740$) (bảng 1).

Kết quả điều tra cho thấy, thành phần loài và mật số của côn trùng thuộc bộ Lepidoptera rất đa dạng và phong phú. Có ít nhất 37 loài thuộc 14 họ của bộ Lepidoptera được xác định trên trên lúa hoang, trong đó có những loài là đối tượng côn trùng gây hại trên cây lúa như sâu cuốn lá *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenee) thường xuyên xuất hiện và chiếm tỷ lệ rất cao (54,4%). Ngoài ra các loài khác cũng thường xuyên xuất hiện nhưng với mật số thấp hơn như *Nola taeniata* (Snellen) (14,9%), *Scirpophaga nivella* (Fabricius) (6,6%).

Bảng 1. So sánh chỉ số đa dạng của côn trùng trên lúa hoang và lúa trồng

	<i>O. rufipogon</i>		<i>O. sativa</i>	
	Số cá thể	P_i^2	Số cá thể	P_i^2
Tổng số	7037	0,0985	5666	0,3972
Chỉ số đa dạng Simpson's D =		10,151		2,517
Chỉ số cân bằng Equitability (E_D) =		0,2307		0,0740

2. Đánh giá khả năng miễn cảm một số loài cánh vẩy đối với độc tố Bt (Cry1Ac)

Đối với sâu cuốn lá *C. medinalis*, kết quả bảng 2 cho thấy ở nồng độ 2 ml/100 ml và 0,4 ml/100 ml dung dịch MVP chứa độc tố Cry1Ac có

thể gây ra tỷ lệ chết 100% và khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức khác ở giai đoạn 5 ngày sau khi xử lý; Ở các nồng độ Bt thấp hơn có tỷ lệ sâu sống từ 40 - 68% và tương đương so với đối chứng không xử lý Bt. Trong khi đó đối với sâu

non *M. frugalis*, xử lý Bt ở các nồng độ tương tự (từ 0,64 µl cho đến 2 ml/100 ml) cho tỷ lệ sống thấp ở 3 ngày sau khi xử lý; Hầu hết sâu không còn sống sót ở hai nghiệm thức có nồng độ Bt cao (0,04 và 2 ml/100 ml) ở giai đoạn 4 ngày sau khi xử lý (bảng 3). Điều này cho thấy có sự biến động về mức độ miễn cảm của độc tố CryIAc đối với từng loài sâu Lepidoptera khác nhau.

Loài lúa hoang *O. rufipogon* phân bố trên địa bàn cả nước nhưng nhiều nhất ở vùng Đồng Tháp Mười, dọc theo kênh rạch của các tỉnh thuộc vùng Đồng bằng sông Cửu Long (Watanabe *et al.*, 2000; Lu, Snow, 2005; Cohen *et al.*, 2008) và chúng cũng thường xuyên được tìm thấy ở gần các vùng trồng lúa. Khả năng tái tổ hợp giữa lúa hoang *O. rufipogon* và lúa trồng *O. sativa* đã được ghi nhận qua nhiều công trình nghiên cứu (Lu *et al.*, 2003; Chen *et al.*, 2004; Song *et al.*, 2004a; 2004b; Wang *et al.*, 2006). Hơn nữa, loài Lepidoptera là đối tượng bị tiêu diệt bởi độc tố Bt, do vậy nếu gen Bt xâm nhập vào quần thể lúa hoang và gia tăng tính thích nghi, thì những giống lúa chuyển gen Bt có thể đe dọa đến tính đa dạng của côn trùng trong quần thể lúa hoang, đặc biệt là loài Lepidoptera.

Cho đến nay, chưa có một công trình nghiên cứu nào có liên quan đến tính đa dạng sinh học của côn trùng hiện diện trên hệ sinh thái lúa hoang *O. rufipogon*, đặc biệt là loài

Lepidoptera (Barrion, Litsinger, 1994). Mặc dù các công trình nghiên cứu trước đây cho thấy loài Lepidoptera trên lúa trồng rất đa dạng. Tuy nhiên mạng lưới dinh dưỡng của hệ cây hoang dại có thể phức tạp hơn, do tính đa dạng sinh học của côn trùng trên cây hoang dại thường cao hơn trên hệ thống cây trồng (Teetes, Randolph, 1969; Chen, Welter, 2002). Điều này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu tính đa dạng của côn trùng trên lúa hoang trong hai năm 2007 và 2008 tại Vườn Quốc gia Tràm Chim, Đồng Tháp của đề tài. Theo Barrion và Litsinger (1994) và Letourneau và đồng tác giả (2003), có ít nhất 250 loài Lepidoptera thuộc 20 họ được tìm thấy trên lúa trồng *O. sativa*. Những loài Lepidoptera này đóng một vai trò rất quan trọng làm nguồn cung cấp thức ăn cho quần thể thiên địch trong ruộng lúa, thuộc 3 nhóm côn trùng: parasitoids (≈ 107 loài), parasites (≈ 5 loài) và predators (≈ 184 loài). Trong đó loài sâu cuốn lá *C. medinalis* cung cấp 70% nguồn thức ăn cho loài thiên địch bắt mồi (Kamal, 1981). Kết quả nghiên cứu gần đây cho thấy, các loài thiên địch ăn sâu non loài Lepidoptera đã bị nhiễm Bt có tỷ lệ chết cao, chậm phát triển và tuổi thọ ngắn hơn so với đối chứng (Romeis *et al.*, 2006). Hơn nữa do khả năng ảnh hưởng của độc tố, thiên địch của loài Lepidoptera có thể còn bị ảnh hưởng đến khả năng săn mồi của chúng.

Bảng 2. Ảnh hưởng của độc tố Bt (CryIAc) đến loài sâu non *Cnaphalocrocis medinalis*

STT	Nghiệm thức	Tỷ lệ sâu sống (%)				
		1 NSXL	2 NSXL	3 NSXL	4 NSXL	5 NSXL
1	Bt 2/100 ml	84	16,0 c	4,0 c	4,0 c	0,0 c
2	Bt 0,4/100 ml	100	48,0 b	20,0 c	12,0 c	0,0 c
3	Bt 0,08/100 ml	84	72,0 a	48,0 b	44,0 b	40,0 ab
4	Bt 0,016/100 ml	100	80,0 a	80,0 a	76,0 a	64,0 ab
5	Bt 0,0032/100 ml	88	84,0 a	84,0 a	72,0 ab	64,0 ab
6	Bt 0,00064/100 ml	96	88,0 a	76,0 a	68,0 ab	68,0 a
7	Đối chứng	84	84,0 a	84,0 a	76,0 a	68,0 a
	<i>F_{Tính}</i>	<i>ns</i>	**	**	**	**
	<i>CV%</i>	13,3	25,4	31,8	40,8	42,6

Ghi chú: NSXL: Ngày sau xử lý.

Bảng 3. Ảnh hưởng của độc tố Bt (*CryIAc*) đến loài sâu non *Mocis frugalis*

STT	Nghiệm thức	Tỷ lệ sâu sống (%)			
		1 NSXL	2 NSXL	3 NSXL	4 NSXL
1	Bt 2/100 ml	60,0 b	12,0 b	4,0 b	0,0 c
2	Bt 0,4/100 ml	52,0 b	16,0 b	12,0 b	0,0 c
3	Bt 0,08/100 ml	7,0 ab	40,0 ab	16,0 b	0,0 c
4	Bt 0,016/100 ml	96,0 a	68,0 a	28,0 b	8,0 c
5	Bt 0,0032/100 ml	96,0 a	52,0 ab	24,0 b	5,0 c
6	Bt 0,00064/100 ml	88,0 a	64,0 a	36,0 ab	16,0 bc
7	Đối chứng	96,0 a	80,0 a	72,0 a	36,0 b
	F_{Tinh}	**	**	**	**
	CV%	22,4	57,1	84,3	107,7

Ghi chú: NSXL: Ngày sau xử lý.

Cũng như trên lúa trồng, loài sâu cuốn lá *Cnaphalocrocis medinalis* trên lúa hoang rất phong phú (chiếm 54,4% trong tổng số loài Lepidoptera), do vậy việc gen *Bt* có tác dụng tiêu diệt hầu hết loài côn trùng này, sẽ làm ảnh hưởng đến cấu trúc và tính ổn định của mạng lưới dinh dưỡng của côn trùng trên hệ sinh thái lúa hoang. Hậu quả là nhóm thiên địch ăn mồi (predators) và nhóm ký sinh (parasitoids) là những loài bị ảnh hưởng nhiều nhất. Kết quả này cũng đã được chứng minh qua nhiều công trình nghiên cứu trước đây (Vojtech *et al.*, 2005; Romeis *et al.*, 2006; Obrist *et al.*, 2006).

IV. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy, loài côn trùng hiện diện trên hệ sinh thái lúa hoang *Oryza rufipogon* rất đa dạng và phong phú. Trái với tính đa dạng và phong phú về thành phần của côn trùng trên hệ sinh thái lúa hoang, có sự suy giảm đáng kể về thành phần và số lượng của các loài côn trùng trên ruộng lúa trồng do hậu quả của việc thâm canh tăng vụ, sử dụng nhiều loại hóa chất bảo vệ thực vật trong canh tác lúa, dẫn đến việc mất cân bằng sinh thái và gây bộc phát nhiều loại dịch hại trầm trọng trên cây lúa. Hầu hết những loài thuộc bộ Lepidoptera đem thử nghiệm đều rất mẫn cảm với độc tố *CryIAc*, đây là loại độc tố thường được sử dụng cho cây lúa chuyển gen *Bt*. Việc gen *Bt* trong cây lúa chuyển gen *Bt* có khả năng di chuyển vào quần thể lúa hoang qua quá trình lai xa tự nhiên, có thể làm ảnh hưởng đến cấu trúc quần thể và mạng lưới dinh

dưỡng của côn trùng trên lúa hoang, đặc biệt là loài thuộc bộ Lepidoptera là đối tượng tiêu diệt bởi độc tố *Bt* trong cây lúa chuyển gen *Bt*, nhưng chúng cũng đóng một vai trò quan trọng trong mạng lưới dinh dưỡng của hệ sinh thái lúa hoang cũng như lúa trồng. Do vậy bên cạnh những nghiên cứu có tính dự đoán về tiềm năng ảnh hưởng việc trôi gen đến đa dạng sinh học của hệ côn trùng trên lúa hoang, cần có những nghiên cứu xa hơn như xác định những thay đổi về áp lực của sâu hại trong điều kiện trôi gen có thể làm ảnh hưởng thế nào đến môi trường và hệ sinh thái canh tác lúa. Trên cơ sở đó, việc đưa ra quyết định phóng thích những giống lúa chuyển gen sẽ được cân nhắc một cách cẩn thận giữa lợi ích và rủi ro có thể xảy ra.

Lời cảm ơn: Dự án này thuộc chương trình Programs for Biosafety Systems - Biodiversity and Biotechnology Interface Program được tài trợ bởi USAID.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Barrion AT, Litsinger JA (1994), Taxonomy of rice insect pests and their arthropod parasites and predators. In: Biology and Management of Rice Insects (ed. Heinrichs, E. A.). Wiley Eastern Limited, New Delhi: 13 - 359.
- Chen LJ, Lee DS, Song ZP, Suh HS, Lu BR (2004), Gene flow from cultivated rice (*Oryza sativa*) to its weedy and wild relatives. *Ann Bot* 93: 67 - 73.
- Chen Y H, Welter SC (2002), Abundance of a native moth, *Homoceros electellum* (Lepidoptera: Pyralidae), and activity of indigenous parasitoids in

- native and agricultural sunflower habitats. *Environ Entomol* 31: 626 - 636.
- Cohen MB, Arpaia S, Lan LP, Chau LM, Snow AA (2008), Shared flowering phenology, insect pests, and pathogens among wild, weedy, and cultivated rice in Mekong Delta, Vietnam: Implications for transgenic rice. *Environ Biosafety Res* 7: 73 - 85.
- Kamal QN (1981), Suppression of whitebacked planthopper *Sogatella furcifera* (Horvath) and rice leafhopper, *Cnaphalacrocis medinalis* (Guenee), populations by natural enemies, PhD thesis, Gregoria Araneta University Foundation, Manila.
- Letourneau DK, Robinson GS, Hagen JA (2003), Bt crops: Predicting effects of escaped transgenes on the fitness of wild plants and their herbivores. *Environ Biosafety Res* 2: 219 - 246.
- Lu BR, Snow AA (2005), Gene flow from genetically modified rice and its environmental consequences. *Bioscience* 55: 669 - 678.
- Lu BR, Song ZP, Chen JK (2003), Can transgenic rice cause ecological risks through transgene escape? *Prog Nat Sci* 13: 17 - 24.
- Obrist LB, Dutton A, Romeis J, Bigler F (2006), Biological activity of Cry1Ab toxin expressed by Bt maize following ingestion by herbivorous arthropods and exposure of the predator *Chrysoperla carnea*. *Biocontrol* 51: 31 - 48.
- Romeis J, Meissle M, Bigler F (2006), Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control, *Nat Biotechnol* 24: 63 - 71.
- Simpson E (1949), Measurement of diversity, *Nature* 163 - 688.
- Song ZP, Lu BR, Chen JK (2004a), Pollen flow of cultivated rice measured under experimental conditions, *Biodivers Conserv* 13: 579 - 590.
- Song ZP, Lu BR, Wang B, Chen JK (2004b), Fitness estimation through performance comparison of F₁ hybrids with their parental species *Oryza rufipogon* and *O. sativa*, *Ann Bot* 93: 311 - 316.
- Teetes GL, Randolph NM (1969), Seasonal abundance and parasitism of the sunflower moth, *Homoeosoma electellum*, in Texas, *Ann Entomol Soc Am* 62: 1461 - 1464.
- Vojtech E, Meissle M, Poppy GM (2005), Effects of Bt maize on the herbivore *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) and the parasitoid *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae), *Transgenic Res* 14: 133 - 144.
- Wang F, Yuan QH, Shi L, Qian Q, Liu WG, Kuang BG, Zeng DL, Liao YL, Cao B, Jia SR (2006), A large scale field study of transgene flow from cultivated rice (*Oryza sativa*) to common wild rice (*O. rufipogon*) and barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*), *Plant Biotechnol J* 4: 667 - 676.
- Watanabe H, Vaughan DV, Tomooka N (2000), Weedy rice complexes: Case studies from Malaysia, Vietnam, and Surinam, In: Baki BB, Chin DV, Mortimer M, eds, *Wild and weedy rice in rice ecosystems in Asia - a review*, Los Baños, Philippines: International Rice Research Institute, 25 - 34.