

转 Bt 基因抗虫棉根际微生物区系和 细菌生理群多样性的变化

沈法富¹, 韩秀兰¹, 范术丽²

(1. 山东农业大学农学院, 山东泰安 271018; 2. 中国农业科学院棉花研究所, 河南安阳 455112)

摘要:在大田栽培条件下,以转 Bt 基因抗虫棉 GK-12 和常规棉花泗棉 3 号作为材料,在棉花不同发育时期,于 2001 和 2002 连续两年测定棉花根际土壤细菌、放线菌和真菌数量的变化,并在 2002 年棉花的花铃期和吐絮期对根际细菌生理群的数量和多样性进行了分析,结果表明:虽然不同年份和生育期棉花根际微生物数量存在差异,但是,年度间和相同的发育时期棉花根际微生物的数量变化趋势一致。在棉花的苗期和吐絮期,转 Bt 基因抗虫棉根际微生物的数量与对照差异不显著;在棉花的花铃期,转 Bt 基因抗虫棉根际细菌的数量比对照增加,放线菌的数量差异不显著,而真菌的数量变化没有规律。在棉花发育的花铃期和吐絮期,Bt 棉根际细菌生理群的总数量比常规棉增加,但是根际细菌生理群的 Simpson 指数、Shannon-Wiener 指数和细菌生理群分布的均匀度下降。

关键词:转 Bt 基因抗虫棉;根际微生物;风险评价

Changes in microbial flora and bacterial physiological group diversity in rhizosphere soil of transgenic Bt cotton

SHEN Fa-Fu¹, HAN Xiu-Lan¹, FAN Shu-Li² (1. College of Agronomy, Shandong Agricultural University, Shandong Taian 271018, China; 2. Cotton Research Institute, CAAS, Anyang, He'nan, 455112, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(3): 432~437.

Abstract: The environment release of transgenic plants may be accompanied by ecological effects including changes in plant-associated with micro flora. Transgenic cotton containing gene to produce the insecticidal toxin from *Bacillus thuringiensis* (Bt) has been widely planted. Most research on Bt cotton has focus on invasiveness, gene flow to indigenous organisms, development of resistance in target pests, and direct or indirect effects on non-target organisms and ecosystem. A few studies have been published to evaluate the ecological effects of Bt cotton on microbial flora.

A field release of Bt cotton grown under normal agricultural practice was monitored for changes in total bacterial, actinomycetic and fungal populations in 2001 and 2002. Although there were difference in the colony-forming unites of culturable bacteria, actinomycetes and fungi of rhizosphere soil between Bt cotton and non-Bt cotton in different growing period and different years. The trend of annual differences was basically consistent at the same development stage of cotton. Few significant differences were observed and none of the differences were persistent in microbial population in rhizosphere soil between Bt cotton and non-Bt cotton at seedling and boll-opening stage. Total bacterial populations in rhizosphere soil of Bt cotton were significantly higher than that of non-Bt cotton at flower and boll stage. Total actinomycete populations in rhizosphere soil of Bt cotton differed minimally from that of non-Bt cotton at flower and boll stage. Total fungi populations in rhizosphere soil between Bt cotton and non-Bt cotton in 2001 were not consistent with that in 2002 at flower and boll stage. Total fungi populations in rhizosphere soil of Bt cotton were significantly higher than that of non-Bt cotton in 2001. On the

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30270246);国家转基因植物研究与产业化专项资助项目(JY03-B-05-01)

收稿日期:2003-06-04; **修订日期:**2003-09-10

作者简介:沈法富(1965~),男,山东枣庄人,博士,教授,主要从事转基因植物研究。E-mail: ffshen@sdau.edu.cn

Foundation item: the National Natural Science Foundation of China (No. 30270246) and Project of Plant Transformation Research and Application (No. JY03-B-05-01)

Received date: 2003-06-04; **Accepted date:** 2003-09-10

Biography: SHEN Fa-Fu, Ph. D., Professor, mainly engaged in transgenic plant biology. E-mail: ffshen@sdau.edu.cn

contrary, total fungi populations in rhizosphere soil of Bt cotton were significantly lower in 2002.

Diversity, composition and distribution of bacterial physiological groups in rhizosphere soil between Bt cotton and non-Bt cotton was analyzed with Simpson index, Shannon-Wiener index and evenness index at flower, boll and boll-opening stage in 2002. Although the total numbers of bacterial physiological groups in rhizosphere soil of Bt cotton were significantly higher than that of non-Bt cotton, Simpson index, Shannon-Wiener index and evenness index of bacterial physiological groups decreased in rhizosphere soil of Bt cotton, compared with non-Bt cotton. The results indicated that Bt cotton appeared to have effect on total bacteria and diversity of bacterial physiological groups. The effect of Bt crop on microbial communities of rhizosphere soil should be carried out before commercial release. However, these results should be considered as being preliminary, as only one Bt cotton variety and only total numbers of culturable rhizosphere microbes were evaluated. More studies on other Bt varieties and un-culturable microbes are necessary to confirm the effect of Bt cotton on biodiversity in soil.

Key words:Bt cotton; rhizosphere microbes; risk assessment

文章编号:1000-0933(2004)03-0432-06 中图分类号:Q143 文献标识码:A

随着转基因植物商品化进程的加快,转基因植物的风险评价倍受人们的关注^[1~3],目前,转基因植物风险评价主要集中在转基因植物与近缘物种的基因流^[4]、目标害虫的抗性^[5]以及对非目标动植物的多样性和生态系统^[1,2,6]的影响,而转基因植物对土壤微生物的影响还未引起足够的重视。土壤微生物是土壤有机质和土壤养分(C、N、P 和 S 等)转化和循环的动力,参与有机质的分解、腐殖质的形成、养分的转化和循环等多种土壤生化过程,因此,评价转基因植物对土壤微生物的影响具有重要的生态学意义。

转 Bt 基因抗虫棉是我国批准进行大规模商品化种植的转基因植物,2002 年我国转基因抗虫棉的种植面积占全国棉花种植面积的接近 50%,是我国种植面积最大的转基因植物。国内对转基因抗虫棉的基因流^[7]、不同遗传背景^[8]和环境条件^[9]下 Bt 基因的表达及其 Bt 基因对棉花同工酶^[10]和挥发性气味化学成分^[11]的影响进行了研究,没有进行转基因抗虫棉对土壤微生物影响研究的报道,Donegan 等^[12]研究发现,美国种植的转 Bt 基因抗虫棉土壤微生物的数量与种类与常规棉花差异显著,Watrud 等^[13]也报道转 Bt 基因棉花提高了土壤细菌和真菌的数量,但是,这些研究未对细菌生理群进行分析。由于土壤微生物分布的特异性,国外少数转基因植物对微生物的种类、数量和组成研究也不适应我国的情况,因此,本研究比较了不同发育时期的 Bt 棉花和常规棉花根际土壤细菌、放线菌和真菌以及不同细菌生理群数量的变化,以期为建立转基因植物对土壤生态风险评价体系提供参考。

1 材料与方法

1.1 棉花品种

供试转基因抗虫棉品种 GK-12(简称 Bt cotton)和常规棉花品种泗棉 3 号(简称 non-Bt cotton)都是陆地棉(*Gossypium hirsutum* L.)品种,GK-12 是通过花粉管通道技术将 Bt 基因转化泗棉 3 号选育的抗虫棉品种。泗棉 3 号由中国农业科学院棉花研究所提供,GK-12 由该品种选育单位之一山东省梁山县种子公司提供。为提高转基因抗虫棉 GK-12 的纯度,于 2000 年利用本实验室建立的转基因抗虫棉检测技术^[14]进行提纯,提纯棉株自交的种子用于 2001 和 2002 年的试验。

1.2 试验地

试验地为沙壤土,肥力中等偏上,土壤有机质含量 1.64%,速效氮含量 115 mg·kg⁻¹,速效磷含量 18 mg·kg⁻¹,速效钾含量 86 mg·kg⁻¹,土壤的 pH 值为 7.2。试验地无黄萎病和枯萎病,前茬种植作物为棉花。播种前将 30cm 土壤过筛并混合均匀,剔除石块、杂草和未腐烂的有机肥,以避免它们对土壤微生物的干扰。

1.3 试验设计

采取随机区组设计,每个处理重复 3 次,小区面积为 15×15 m²,株距为 30cm,行距为 80cm。种子经硫酸脱绒后播种,2001 年的播种日期为 4 月 18 日,2002 年的播种日期为 4 月 21 日。棉田的管理同生产条件下的大田管理。处理为转基因抗虫棉 GK-12,全生育期不施用任何农药防治害虫。对照常规棉花泗棉 3 号,采取综合防治措施防治害虫,利用化学杀虫剂防治害虫。按照常规进行棉花的生育期调查,并根据试验要求,在棉花的不同发育时期,采集棉花的根际土壤。

1.4 根际土壤取样方法

按照对角线法间行取样,每小区取棉株根系 10 株。根系土壤采集方法为:轻轻去除 2cm 表层土壤,再挖出全部根系,抖落根系上多余的土壤,剪下根系,放入已经灭菌的三角瓶中,定量加入无菌水,然后在振荡机上振荡 20min,取出根系,利用无菌水冲洗 3 次,将三角瓶内水溶液振动均匀后,即成为根际土壤悬浮液。

土壤重量的测定。取 50ml 混合均匀的土壤悬浮液,放入蒸发皿中烘干,计算每毫升土壤悬浮液根际土壤的重量,最后计算

每克干土根际微生物的数量。

1.5 根际微生物的培养与记数

根际细菌、放线菌和真菌数量的测定采用稀释平板测数法,混菌接种培养,培养基分别为牛肉膏蛋白胨、高氏 1 号和马丁培养基。在 12 种土壤细菌功能群中,好气固氮菌、好气性纤维分解菌、氨化细菌、有机磷分解菌、无机磷分解菌和硅酸盐细菌用稀释平板法分离记数;厌氧纤维素分解菌、亚硝酸菌、硝化细菌、反硝化细菌、硫化细菌和反硫化细菌用 MPN(most probable number)法分离计数,其中厌氧纤维素分解菌、反硝化细菌和反硫化细菌利用厌氧培养箱在 26℃ 温度下培养 16d 后进行记数。细菌生理群的培养基参照《土壤微生物的研究方法》介绍的方法进行配制^[15]。

1.6 根际细菌生理群的多样性

各细菌生理群数量等级的划分 根据各个生理群的数量与各细菌生理群的总数量的比值 P_i 的大小确定,优势生理群类的 P_i 值 $\geq 10\%$,常见类群为 $10\% < P_i \leq 5\%$,较常见类群为 $5\% < P_i \leq 1\%$, $P_i < 1\%$ 为稀有类群。

土壤细菌生理群的多样性指数计算方法^[16]采用:

Simpson 指数 $D = 1 - \sum_{i=1}^S P_i^2$, 其中, P_i 为第 i 种占总个体数的比例(n_i / N), S 为生理群数。

Shannon-Wiener 指数 $H' = - \sum_{i=1}^S P_i \ln P_i$

土壤细菌生理群分布的均匀度 $R = H' / \ln S$

1.7 统计分析

本实验测定的数据均为 3 次重复的平均值,统计分析利用软件 SYSTAT5.01 进行。

2 结果与分析

2.1 转基因抗虫棉根际微生物区系的变化

在棉花生育期的进程中,Bt cotton 和 non-Bt cotton 根际细菌、放线菌和真菌的数量(表 1)变化趋势一致,表现为苗期根际微生物的数量少,蕾期开始上升,到花铃期根际微生物的数量达到高峰,吐絮期下降。尽管不同年份这两个棉花品种根际细菌、放线菌和真菌的数量有变化,但是,棉花生育进程根际微生物数量变化趋势一致,这一结果与前人研究棉花生育期中棉田土壤细菌、放线菌和真菌的变化相同^[17]。

表 1 转基因抗虫棉根际微生物区系的变化($\times 10^6$ 可培养活菌落数 $\cdot g^{-1}$ 干土)*

Table 1 Changes in microbial flora of rhizosphere soil of Bt cotton and non-Bt cotton ($\times 10^6$ colony-forming unites $\cdot g^{-1}$ dry soil)*						
微生物区系 Microbial flora	年份 Year	处理 Treatment	苗期 Seedling	现蕾期 Squaring	花铃期 Flower and boll	吐絮期 Boll-opening
细菌 Bacteria	2001	Bt cotton	53.9a	186.7c	1575.1C	189.3ab
		non-Bt cotton	45.7a	141.3b	1262.8B	160.5a
	2002	Bt cotton	48.9a	116.7a	1241.2B	146.2b
		non-Bt cotton	50.3a	101.2a	916.7A	180.7ab
放线菌 Actinomycetes	2001	Bt cotton	1.51a	8.64a	10.05a	2.34a
		non-Bt cotton	1.24a	9.75a	9.83a	2.17a
	2002	Bt cotton	1.37a	8.63a	9.37a	3.15a
		non-Bt cotton	1.48a	8.24a	8.76a	2.47a
真菌 Fungi	2001	Bt cotton	0.068a	0.874B	0.948A	0.375a
		non-Bt cotton	0.076a	0.485bA	1.477B	0.346a
	2002	Bt cotton	0.074a	0.286a	1.567B	0.748b
		non-Bt cotton	0.093a	0.332ab	1.031A	0.780b

* 字母相同的表示差异不显著,字母不同的表示有差异,大写字母不同表示显著差异 The same letter in one column showed that the difference between Bt-cotton and non-Bt cotton are not statically significant, the varied small letters showed little difference in difference degree, and the varied capital letters showed the difference obviously in different degree (LSD: $P < 0.05$, $P < 0.01$; $n = 3$)

尽管 Bt cotton 和 non-Bt cotton 根际细菌的数量随生育变化一致,但是,在不同生育期,两个品种根际细菌的数量存在差异。2001 年,两个品种苗期和吐絮期根际细菌的数量差异不显著;现蕾期 Bt cotton 根际细菌的数量高于 non-Bt cotton,差异达显著水平;花铃期 Bt cotton 根际细菌的数量大大高于 non-Bt cotton,差异达到极显著水平。2002 年两个品种根际细菌的数量比上一年下降,除棉花发育的现蕾期细菌数量的变化与 2001 年细菌数量的变化存在差异外,其余各生育期两个品种根际细菌数量的变化趋势与 2001 年一致。

Bt cotton 和 non-Bt cotton 生育期根际放线菌的数量(表 1)差异不显著,并且 2001 年和 2002 年的年度间两个品种放线菌

的数量也没有差异,这说明棉花根际放线菌的数量变化比较稳定。

在苗期和吐絮期,Bt cotton 和 non-Bt cotton 根际真菌的数量变化差异不显著,且两年的变化趋势一致。在现蕾期,2001 年 Bt cotton 根际真菌的数量比 non-Bt cotton 上升,差异达到极显著水平,2002 年两个品种根际真菌的数量差异则不显著。在花铃期,2001 年 Bt cotton 根际真菌的数量比 non-Bt cotton 下降,差异达到极显著水平,2002 年 Bt cotton 根际真菌的数量则比 non-Bt cotton 升高,差异亦达到极显著水平。转基因抗虫棉根际真菌的数量变化复杂,且年度间变化不一致。

由于转基因抗虫棉在花铃期根际细菌的数量幅度变化大,且年度间变化一致,因此,于 2002 年对 Bt cotton 和 non-Bt cotton 的花铃期根际细菌的生理群进行分析,同时也对细菌数量差异不显著的吐絮期进行分析,并以此作为对照。

2.2 转基因抗虫棉根际细菌生理群的数量变化

在花铃期,虽然 Bt cotton 根际细菌的总数比 non-Bt cotton 增加,但是,这两个品种根际细菌生理群的变化(表 2)却不相同;Bt cotton 根际好气性纤维分解菌、氨化细菌、硝化细菌、反硝化细菌、硫化细菌和硅酸盐菌的数量比 non-Bt cotton 增加,差异达极显著水平;Bt cotton 根际厌氧纤维素分解菌、有机磷分解菌和反硫化细菌的数量比 non-Bt cotton 增加,差异达显著水平;Bt cotton 根际好气固氮菌的数量比 non-Bt cotton 减少,差异达到极显著水平;两个品种根际亚硝酸菌和无机磷分解菌的差异不显著。

表 2 转 Bt 基因抗虫棉根际细菌生理群数量的分布($\times 10^6$ 可培养活菌落数 $\cdot g^{-1}$ 干土)*

Table 2 The distribution of bacterial physiological groups in rhizosphere soil of Bt cotton and non-Bt cotton ($\times 10^6$ colony-forming unites $\cdot g^{-1}$ dry soil) *

细菌生理群 Bacteria physiological group	花铃期 Flower and boll		吐絮期 Boll opening	
	Bt-cotton	non-Bt cotton	Bt-cotton	non-Bt cotton
好气纤维分解菌 Aerobic cellulose-decomposing bacteria	2.76B	0.84A	1.91B	0.57A
厌氧纤维分解菌 Anaerobic cellulose-decomposing bacteria	0.13b	0.08a	0.17B	0.05A
氨化细菌 Ammonifying bacteria	10.55B	2.75A	5.24B	1.53A
好气固氮菌 Aerobic nitrogen fixing bacteria	0.02A	0.32B	0.01A	0.20B
亚硝酸细菌 Nitrite bacteria	0.0018a	0.0015a	0.0008a	0.0011a
硝化细菌 Nitrobacteria	2.53B	0.67A	1.27B	0.54A
反硝化细菌 Denitrifying bacteria	1.27B	0.01A	0.66B	0.07A
硫化细菌 Sulfurizing bacteria	0.23B	0.014A	0.14B	0.011A
反硫化细菌 Desulfurizing bacteria	0.046b	0.012a	0.012a	0.010a
有机磷分解菌 Organic phosphorus-decomposing bacteria	1.97b	1.25a	1.69B	0.74A
无机磷分解菌 Inorganic phosphorus-decomposing bacteria	0.83a	1.17a	0.36a	0.79b
硅酸盐菌 Silicate bacteria	2.46B	0.68A	1.03B	0.46A
总计 Total	22.798	7.728	12.673	4.909

* 同表 1 the same as table 1

在吐絮期,尽管 Bt cotton 根际细菌的总数与 non-Bt cotton 差异不显著,但是它们根际细菌生理群的差异(表 2)却比较大。Bt cotton 根际好气纤维分解菌、厌氧纤维分解菌、氨化细菌、反硝化细菌、硫化细菌、有机磷分解菌和硅酸盐菌的数量比 non-Bt cotton 增加,差异达到极显著水平;Bt cotton 根际好气性自生固氮菌和有机磷分解菌的数量比 non-Bt cotton 下降,差异达到极显著水平;两个品种根际亚硝酸菌和反硫化细菌差异不显著。

2.3 转基因抗虫棉根际细菌生理群的多样性变化

根据各细菌生理群数量等级的划分,在花铃期和吐絮期,Bt cotton 和 non-Bt cotton 根际细菌生理群共同的优势类群(表 3)为氨化细菌和好气性纤维分解菌,共同的稀有类群为亚硝酸菌和反硫化细菌;两个品种根际其它细菌生理群则存在较大差异,如:好气性自生固氮菌在 non-Bt cotton 根际为较常见类型,而在 Bt cotton 根际则为稀有类群,反硝化细菌在 non-Bt cotton 根际为稀有类群,而在 Bt cotton 根际为较常见类群,硫化细菌由 non-Bt cotton 根际稀有类群变化为 Bt cotton 根际的较常见类群,有机磷分解菌由 non-Bt cotton 根际优势类群变为 Bt cotton 根际的较常见类群。其它细菌生理群数量等级的变化在花铃期和吐絮期不同。上述结果说明,Bt cotton 和 non-Bt cotton 不仅细菌的数量发生变化,而且细菌生理群的数量等级也发生变化,棉花不同发育时期,两个品种根际细菌生理群数量等级的变化有些一致,有些不一致。

对转基因 Bt cotton 和 non-Bt cotton 根际细菌生理群的多样性变化分析结果(表 4)表明:Bt cotton 根际细菌生理群的 Simpson 指数、Shannon-Wiener 指数和细菌生理群分布的均匀度比 non-Bt cotton 下降,且在花铃期和吐絮期表现一致,这表明尽管转基因 Bt cotton 根际细菌的数量比 non-Bt cotton 高,但是,它根际细菌生理群的多样性比 non-Bt cotton 下降。

3 讨论 万方数据

土壤微生物的数量是对土壤生态条件的综合反应,由于细菌、放线菌和真菌的不同生态属性,因此,它们的数量变化和在土

壤微生物中所占的比例对其栖息的生态条件具有一定的指示意义。2a 的试验结果表明,棉花根际细菌、放线菌和真菌随棉花生育期变化的趋势一致,在现蕾期和花铃期根际微生物的数量达到最高,这可能与棉花在花铃期生长旺盛,棉花根系分泌物和脱离物比较多,刺激棉花根际微生物的生长有关。转基因抗虫棉对根际微生物的影响程度表现为:细菌 > 真菌 > 放线菌,这说明细菌对根际环境的变化最敏感,可能是由于细菌的菌体小、生活期短,对环境变化反映快的原因。本研究结果与国外转基因抗虫棉对土壤微生物影响的结果一致^[12,13]。

表 3 转 Bt 基因抗虫棉根际细菌生理群数量等级的变化*

Table 3 Changes in amount grade of bacteria physiology groups of rhizosphere soil between Bt cotton and non-Bt cotton*				
细菌生理群 Bacteria physiological group	花铃期 Flower and boll		吐絮期 Boll opening	
	Bt-cotton	non-Bt cotton	Bt-cotton	non-Bt cotton
好气纤维分解菌 Aerobic cellulose-decomposing bacteria	++++	++++	++++	++++
厌氧纤维分解菌 Anaerobic cellulose-decomposing bacteria	+	++	++	++
氨化细菌 Ammonifying bacteria	++++	++++	++++	++++
好气固氮菌 Aerobic nitrogen fixing bacteria	+	++	+	++
亚硝酸细菌 Nitrite bacteria	+	+	+	+
硝化细菌 Nitrobacteria	++++	+++	++++	++++
反硝化细菌 Denitrifying bacteria	+++	+	+++	+
硫化细菌 Sulfurizing bacteria	++	+	++	+
反硫化细菌 Desulfurizing bacteria	+	+	+	+
有机磷分解菌 Organic phosphorus-decomposing bacteria	+++	++++	++++	++++
无机磷分解菌 Inorganic phosphorus-decomposing bacteria	++	++++	++	++++
硅酸盐菌 Silicate bacteria	++++	+++	+++	++++

* +++++ 优势类群 Dominance groups; ++++ 常见类群 Common groups; ++ 较常见类群 Relative common groups; + 稀有类群 Rare groups

本研究在试验设计时,Bt cotton 全生育期不施用农药防治害虫,non-Bt cotton 采取农药综合防治措施防治害虫。主要有两方面的原因:①如果 non-Bt cotton 不利用农药防治害虫,在生育早期 non-Bt cotton 蕾、花、铃受害严重,后期植株疯长,不能完成正常生育进程。这样由于 non-Bt cotton 本身生理因素的变化,将影响其根际微生物。②在棉花的实际生产种植过程中,通常 Bt cotton 全生育期不施用农药防治害虫,non-Bt cotton 利用农药综合防治措施防治害虫。本研究虽然不能排除农药对棉花根际微生物的影响,但是,试验条件接近棉田的实际生态状况,有利于说明目前种植农艺措施下 Bt cotton 和 non-Bt cotton 根际微生物的差异。

关于转基因抗虫棉根际微生物和细菌生理群变化的原因可能是转基因棉花的代谢产物渗透到土壤微生物的生存环境中造成的,一方面,转基因植物外源基因的表达产物可通过根系分泌物进入土壤中。Saxena 等^[18]研究发现,转 Bt 基因玉米种植 25d 后,Bt 毒蛋白可以通过根系分泌物进入土壤,并保持较高的生化特性;在特定的土壤环境中,Bt 毒蛋白的活性至少可以保持 234d。另一方面,外源基因插入受体植物后,除改变受体植物的目标性状外,还可以引起受体植物其它性状的变化。转基因抗虫棉由于外源基因的插入,引起受体棉花同工酶谱^[10]和挥发性气味的化学成分改变^[11]。Grayston 等^[19]研究发现转基因植物改变了其根系分泌物和化学成分。由于植物不同基因型和环境的相互作用,转基因植物产生了不同的化学成分,并输入到土壤后,首先影响到根际微生物的数量变化。至于不同发育时期转基因抗虫棉根际微生物区系和细菌生理群的差异,可能与转基因抗虫棉 Bt 基因表达的时间和空间动态有关,利用酶联免疫技术^[20]对转基因抗虫棉不同发育时期的 Bt 杀虫蛋白分析表明:在棉花的现蕾期和花铃期,转基因抗虫棉叶片 Bt 杀虫蛋白的表达量最高,而吐絮期叶片 Bt 杀虫蛋白的含量最低。由于转基因抗虫棉所使用的不是专一性启动子,因此,转基因抗虫棉根际杀虫蛋白表达的时空变化可能与叶片的变化一致,从而导致转基因抗虫棉发育的花铃期根际微生物和细菌生理群的急剧变化。

由于转基因抗虫棉根际微生物和细菌生理群的数量发生了变化,根际细菌生理群数量等级发生了改变,细菌生理群的多样性指数下降,细菌生理群分布的均匀度降低,因此,在进行转基因植物的安全性评价时,需要对土壤微生物进行评价。

References 万方数据

[1] Qian Y Q, Ma K P. Progress in the studies on genetically modified organism, and the impact of its release on environment. *Acta Ecology*

Table 4 Changes in bacteria physiological groups diversity indices of rhizosphere soil between Bt cotton and non-Bt cotton				
生育期 Development stage	处理 Treatment	多样性指数 Diversity index		
		D	H'	R
花铃期 Flower and boll stage	non-Bt cotton	0.811	1.825	0.734
	Bt cotton	0.735	1.684	0.678
吐絮期 Boll-opening stage	non-Bt cotton	0.818	1.872	0.753
	Bt cotton	0.756	1.727	0.695

Sinica, 1998, **18**(1):1~9.

[2] Wolfenbarger L L, Phifer P R. The ecological risks and benefits of genetically engineered plants. *Science*, 2000, **290**:2088~2093.

[3] Angle J S. Release of transgenic plants: biodiversity and population considerations. *Mol. Ecol.*, 1994, **3**:45~50.

[4] Wei W, Qian Y Q, Ma K P. Gene flow between transgenic crops and their wild relate species. *Acta Bot. Sin.*, 1999, **41**(4):343~348.

[5] Hilder V A, Boulter D. Genetic engineering of crop plants for insect resistance: a critical reviews. *Crop Prot.*, 1999, **18**:177~191.

[6] Qian Y Q, Wei W, Sang W G, *et al.* Effects of transgenic crop on biodiversity. *Acta Ecologica Sinica*, 2001, **21**(3):337~343.

[7] Shen F F, Zhang X K, Yu Y J, *et al.* Bt gene flow of transgenic cotton. *Acta Genetica Sinica*, 2001, **28**(6):562~567.

[8] Li R Z, Shen F F, Wang Z W, *et al.* Studies on the inheritance of bollworm resistance in transgenic Bt cotton. *Acta Gossypii Sinica*, 2001, **13**(5):268~272.

[9] Wang L M, Wang J B, Shen F F, *et al.* Influence of water logging and drought on different transgenic cotton cultivars. *Acta Gossypii Sinica*, 2001, **13**(2):87~90.

[10] Ding Z Y, Xu C R, Wang R J. Comparison of several important isoenzymes between Bt cotton and regular cotton. *Acta Ecologica Sinica*, 2001, **21**(2):332~336.

[11] Yan F M, Xu C R, Marie B, *et al.* Volatile comparison of transgenic Bt cotton and their electrophysiological effect on cotton bollworm. *Acta Entomologica Sinica*, 2002, **45**(4):425~429.

[12] Donegan K K, Palm C J, Fieland V J, *et al.* Changes in levels, species and DNA fingerprints of soil microorganisms associated with cotton expressing the *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki* δ -endotoxin. *Applied Soil Ecology*, 1995, **2**:111~124.

[13] Watrud L S, Seidler R J. Non-target ecological ecological effects of plant, microbial, and chemical introductions to terrestrial system. *Soil Chemistry and Ecosystem Health*. Special Publication 52. Soil science society of America, Madison, Wisconsin, 1988. 313~340.

[14] Shen F F, Yu Y J, Yin C Y, *et al.* Detection of Bt toxin protein in transgenic cotton by Dot-ELISA. *Scientia Agricultura Sinica*, 1999, **32**(1):15~19.

[15] Soil Research Institute of Chinese Academy of Science. *Research methods of edaphon*. Beijing: China Science Press, 1985. 40~65.

[16] Magurran A E. *Ecological diversity and its measurement*. New Jersey: Princeton University press, 1998. 86~97.

[17] Fan J H, Liu M, Weng Y J, Studies on the characteristic of soil microbiology of high production field of seaisland cotton. *Acta Gossypii Sinica*, 2001, **13**(5):297~299.

[18] Saxena D, Flores S, Stotzky G, Insecticidal toxin in root exudates from Bt corn. *Nature*, 1999, **402**: 480.

[19] Grayston S J, Wang S, Campbell C D, *et al.* Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere. *Soil Biol Biochem.*, 1998,**30**:369~378.

[20] Li R Z, Shen F F, Wang Z W, *et al.* Temporal and spatial dynamics of Bt gene expression in transgenic Bt cotton. *Shangdong Agricultural Sciences*, 2002,**21**(2):2~9.

参考文献:

[1] 钱迎倩, 马克平. 经遗传修饰生物体的研究进展及其释放后对环境的影响. *生态学报*, 1998, **18**(1):1~9.

[4] 魏伟, 钱迎倩, 马克平. 转基因作物与其野生近缘种间基因流. *植物学报*, 1999, **41**(4):343~349.

[6] 钱迎倩, 魏伟, 桑卫国, 等. 转基因作物对生物多样性的影响. *生态学报*, 2001, **21**(3):337~343.

[7] 沈法富, 张学坤, 于元杰, 等. 转基因抗虫棉的基因流. *遗传学报*, 2001, **28**(6):562~567.

[8] 李汝忠, 沈法富, 王宗文, 等. 转 Bt 基因抗虫棉抗虫性遗传研究. *棉花学报*, 2001, **13**(5):268~272.

[9] 王留明, 王家宝, 沈法富, 等. 渍涝与干旱对不同转 Bt 基因抗虫棉的影响. *棉花学报*, 2001, **13**(2):87~90.

[10] 丁志勇, 许崇任, 王戎疆. 转基因抗虫棉与常规棉几种同工酶的比较. *生态学报*, 2001, **21**(2):332~336.

[11] 阎凤鸣, 许崇任, Marie B, 等. 转 Bt 基因棉挥发性气味的化学成分及其对棉铃虫的电生理活性. *昆虫学报*, 2002, **45**(4):425~429.

[14] 沈法富, 于元杰, 尹承侗, 等. 利用 Dot-ELISA 检测 Bt 棉杀虫蛋白的研究. *中国农业科学*, 1999, **32**(1):15~19.

[15] 中国科学院土壤研究所. 土壤微生物研究方法. 北京: 科学出版社, 1985. 40~65.

[17] 范君华, 刘明, 翁永江. 高产海岛棉田土壤微生物学特性的研究. *棉花学报*, 2001, **13**(5):297~299.

[20] 李汝忠, 沈法富, 王宗文, 等. 转基因抗虫棉 Bt 基因表达的时空动态. *山东农业科学*, 2002, **21**(2):7~9.