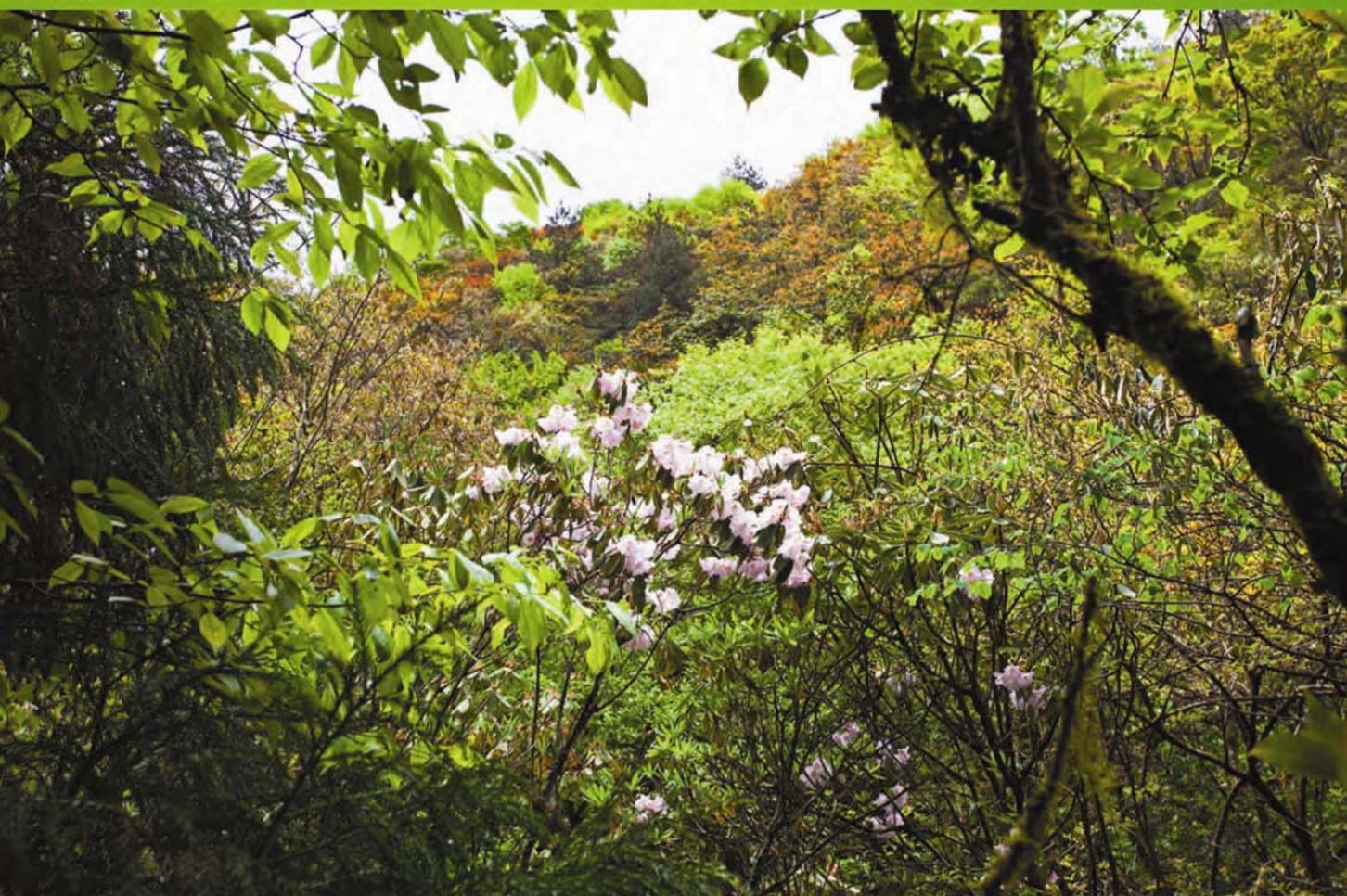


ISSN 1000-0933  
CN 11-2031/Q

# 生态学报

## Acta Ecologica Sinica



第 33 卷 第 21 期 Vol.33 No.21 **2013**

中国生态学学会  
中国科学院生态环境研究中心  
科学出版社

主办  
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

# 生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 33 卷 第 21 期      2013 年 11 月 (半月刊)

## 目 次

### 前沿理论与学科综述

- 生态系统生产总值核算:概念、核算方法与案例研究····· 欧阳志云,朱春全,杨广斌,等 (6747)
- 气候变化对传染病爆发流行的影响研究进展····· 李国栋,张俊华,焦耿军,等 (6762)
- 好氧甲烷氧化菌生态学研究进展····· 负娟莉,王艳芬,张洪勋 (6774)
- 氮沉降强度和频率对羊草叶绿素含量的影响····· 张云海,何念鹏,张光明,等 (6786)
- 世界蜘蛛的分布格局及其多元相似性聚类分析····· 申效诚,张保石,张 锋,等 (6795)
- 风向因素对转基因抗虫棉花基因漂移效率的影响····· 朱家林,贺 娟,牛建群,等 (6803)

### 个体与基础生态

- 长江口及东海春季底栖硅藻、原生动物和小型底栖生物的生态特点····· 孟昭翠,徐奎栋 (6813)
- 长江口横沙东滩围垦潮滩内外大型底栖动物功能群研究····· 吕巍巍,马长安,余 骥,等 (6825)
- 沔河沿岸土壤和优势植物重金属富集特征和潜在生态风险····· 杨 阳,周正朝,王欢欢,等 (6834)
- 盐分和底物对黄河三角洲区土壤有机碳分解与转化的影响····· 李 玲,仇少君,檀菲菲,等 (6844)
- 短期夜间低温胁迫对秋茄幼苗碳氮代谢及其相关酶活性的影响····· 郑春芳,刘伟成,陈少波,等 (6853)
- 32 个切花菊品种的耐低磷特性····· 刘 鹏,陈素梅,房伟民,等 (6863)
- 年龄和环境条件对泥蚶富集重金属镉和铜的影响····· 王召根,吴洪喜,陈肖肖,等 (6869)
- 角倍蚜虫瘿对盐肤木光合特性和总氮含量的影响····· 李 杨,杨子祥,陈晓鸣,等 (6876)
- 多噬伯克霍尔德氏菌 WS-FJ9 对草甘膦的降解特性····· 李冠喜,吴小芹,叶建仁 (6885)
- 金龟甲对蓖麻叶挥发物的触角电位和行为反应····· 李为争,杨 雷,申小卫,等 (6895)

### 种群、群落和生态系统

- 白洋淀生态系统健康评价····· 徐 菲,赵彦伟,杨志峰,等 (6904)
- 珠海鹤洲水道沿岸红树林湿地大型底栖动物群落特征····· 王 卉,钟 山,方展强 (6913)
- 典型森林和草地生态系统呼吸各组分间的相互关系····· 朱先进,于贵瑞,王秋风,等 (6925)
- 抚育间伐对油松人工林下大型真菌的影响····· 陈 晓,白淑兰,刘 勇,等 (6935)
- 百山祖自然保护区植物群落 beta 多样性····· 谭珊珊,叶珍林,袁留斌,等 (6944)
- 土霉素对堆肥过程中酶活性和微生物群落代谢的影响····· 陈智学,谷 洁,高 华,等 (6957)

### 景观、区域和全球生态

- 兴安落叶松针叶解剖结构变化及其光合能力对气候变化的适应性····· 季子敬,全先奎,王传宽 (6967)
- 盐城海滨湿地景观演变关键土壤生态因子与阈值研究····· 张华兵,刘红玉,李玉凤,等 (6975)

半干旱区沙地芦苇对浅水位变化的生理生态响应 ..... 马赞花,张铜会,刘新平 (6984)

SWAT 模型融雪模块的改进 ..... 余文君,南卓铜,赵彦博,等 (6992)

科尔沁沙地湖泊消涨对气候变化的响应 ..... 常学礼,赵学勇,王 玮,等 (7002)

贝壳堤岛 3 种植被类型的土壤颗粒分形及水分生态特征 ..... 夏江宝,张淑勇,王荣荣,等 (7013)

三峡库区古夫河着生藻类叶绿素 a 的时空分布特征及其影响因素 ..... 吴述园,葛继稳,苗文杰,等 (7023)

**资源与产业生态**

煤炭开发对矿区植被扰动时空效应的图谱分析——以大同矿区为例 ..... 黄 翌,汪云甲,李效顺,等 (7035)

**学术信息与动态**

《中国当代生态学研究》新书推介 ..... 刘某承 (7044)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q \* 1981 \* m \* 16 \* 300 \* zh \* P \* ¥90.00 \* 1510 \* 30 \* 2013-11



**封面图说:** 百山祖保护区森林植物群落——百山祖国家级自然保护区位于浙西南闽浙交界处,由福建武夷山向东北伸展而成,主峰海拔 1856.7m,为浙江省第二高峰。其独特的地形和水文地理环境形成了中亚热带气候区中一个特殊的区域,保存着十分丰富的植物种质资源以及国家重点保护野生动植物种,尤其是 1987 年由国际物种保护委员会列为世界最濒危的 12 种植物之一的百山祖冷杉,是第四纪冰川的孑遗植物,素有“活化石”之称。随着海拔的升高,其植被为常绿阔叶林、常绿-落叶阔叶混交林、针阔混交林、针叶林、山地矮林和山地灌草丛。

彩图及图说提供: 陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites.chenjw@163.com

DOI: 10.5846/stxb201207040932

朱家林, 贺娟, 牛建群, 张青文, 刘小侠. 风向因素对转基因抗虫棉花基因漂移效率的影响. 生态学报, 2013, 33(21): 6803-6812.

Zhu J L, He J, Niu J Q, Zhang Q W, Liu X X. The influence of wind direction on pollen-mediated gene flow in transgenic insect-resistant cotton. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(21): 6803-6812.

## 风向因素对转基因抗虫棉花基因漂移效率的影响

朱家林, 贺娟, 牛建群, 张青文, 刘小侠\*

(中国农业大学昆虫学系, 北京 100193)

**摘要:**在转基因作物获准进行环境释放并实行大面积商品化推广的同时, 基因漂移所引起的生态环境安全问题不容忽视。以含有双价抗虫基因(*Bt/CpTI*)的转基因棉花 SGK321 为花粉供体材料, 以常规非转基因棉花品种石远 321、中棉 35、吉扎 1 号为花粉受体材料, 在温室中人工创造定向风和非定向风条件, 应用 PCR 与蛋白检测相结合的方法, 检测外源基因发生基因漂移的效率。结果表明: 随着与转基因棉花 SGK321 距离的增加, 外源基因转移至非转基因棉花的基因漂移频率呈现波动性变化。在定向风处理中, 基因漂移频率在距离转基因棉花 6.4m 处达到峰值 33.33%, 在测定范围内基因漂移最远距离为 25.6m; 而在非定向风处理中, 基因漂移频率在距离转基因棉花 12.8m 处达到峰值 36.67%, 在测定范围内基因漂移最远距离为 36m。非定向风可显著提高转移至海岛棉吉扎 1 号的基因漂移频率。外源基因从 SGK321 转移至其非转基因亲本石远 321 的基因漂移频率显著高于转移至陆地棉中棉 35 和海岛棉吉扎 1 号的漂移频率。为转基因棉花的生态安全性分析提供一定的理论参考价值。

**关键词:**转基因棉花; *Bt* 基因; 基因逃逸; 定性 PCR; 生物安全性

## The influence of wind direction on pollen-mediated gene flow in transgenic insect-resistant cotton

ZHU Jialin, HE Juan, NIU Jianqun, ZHANG Qingwen, LIU Xiaoxia\*

Department of Entomology, China Agricultural University, Beijing 100193, China

**Abstract:** With the extensive environment release and large scale cultivation of genetically modified (GM) crops, the ecological environment security problems, caused by transgene escape from GM crop to its non-GM counterpart and wild relatives, have appeared gradually. During the early years of breeding and seed increase, there are some uncertainty among regulators about containment measures needed to prevent the movement of regulated GM traits into adjacent fields and possibly into the human or animal food chain. Cotton, one of the wind-pollinated and highly outcrossing cash crops, is planted on millions of hectares annually and is the third most abundant GM crop.

This study investigated the occurrence of gene flow from transgenic cotton to non-transgenic cottons under closed conditions using an insect-resistant gene as a tracer marker. The selectable marker used in this study was the synthetic *GFM Cry I A(C)* gene which encoded *Bt* insecticidal protein with resistance to cotton bollworm. In order to determine the impacts of wind direction on pollen-mediated gene flow (PGF), two greenhouse experiments under different wind conditions (directed and indirected) were established. The growth area for each treatment was 480m<sup>2</sup>, and the row and plant spacing was 80cm×30cm. To observe the frequency and distance of gene flow, the transgenic cotton, SGK321 (*Gossypium hirsutum* L.), was used as a pollen donor, and conventional varieties Shiyuan321 (*Gossypium hirsutum* L.), Zhongmian35 (*Gossypium hirsutum* L.) and Jizha1 (*Gossypium barbadense* L.) were applied as pollen recipients, separately. Following

基金项目: 转基因生物新品种培育科技重大专项(2011ZX0811-002)

收稿日期: 2012-07-04; 修订日期: 2012-10-26

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: liuxiaoxia611@cau.edu.cn

natural pollination under the wind conditions, the seeds were collected from each conventional varieties at varying distances and sown in pot culture. DNAs were extracted by the CTAB procedure during cotyledon period, then screened for *Cry IA (C)* gene by PCR assays. The positive samples in the PCR assays were identified for Bt insecticidal protein by dipstick assay. The results showed that there was a variation of PGF with increasing distances from the donor plots. The highest frequencies of gene flow were  $(33.33 \pm 12.02)\%$  at 6.4m in thg directed-wind treatment and  $(36.67 \pm 6.67)\%$  at 12.8 m in the indirected-wind treatment. The maximal gene flow distance observed were 25.6m in the directed-wind treatment and 36m in the indirected-wind treatment. PGF to the island cotton (Jizha1) was higher under the indirected-wind treatment than that under the directed-wind treatment, associated with the possibility that the gargantuan island cotton could hinder the wind, leading to cross pollination. PGF to non-transgenic counterpart (Shiyuan321) was obviously higher than those to the island cotton (Jizha1) and the upland cotton (Zhongmian35), indicating that genetic relationship played an important role in cross-pollination with non-GM crops.

Such control by individual factor (wind direction) under closed conditions in affecting the occurrence of gene flow rather than open-field trial designs could also be proved very useful in studying the influence of a certain factor on the gene flow. Our research may provide some reference value for the ecological safety assessment of transgenic cotton with the aim of establishing strategies to prevent pollen dispersal.

**Key Words:** transgenic cotton; *Bt* gene; transgene escape; qualitative PCR; biosafety

转基因生物技术的迅速发展和转基因作物的不断培育推广,为全球特别是第三世界国家的粮食保障和经济发展带来了新的机遇<sup>[1]</sup>。但是,转基因作物的环境释放和商品化生产同时引起了全世界对其潜在的环境生物安全问题的极大关注和争议<sup>[2-3]</sup>,如外源基因向非转基因植物逃逸的生态风险<sup>[4-7]</sup>、转基因作物长期种植导致靶标生物的抗性进化<sup>[8-11]</sup>、以及转基因作物对非靶标生物<sup>[12-13]</sup>、土壤生物群落<sup>[13-15]</sup>、农业生态系统及系统外生物多样性<sup>[16-17]</sup>、转基因产品食品安全性<sup>[18]</sup>的潜在影响等。

在转基因作物商品化推广的过程中,基因漂移是引起生态环境安全问题的最主要风险。基因漂移,又称为基因流(gene flow),是指遗传物质(一个或多个基因)从某一个生物群体(或居群)转移到另一个生物群体(或居群)的过程<sup>[19-21]</sup>,是生物进化的一个重要过程和非常普遍的自然现象。在植物中,基因漂移的途径大致分为自然杂交和基因水平转移两种<sup>[21-22]</sup>。花粉介导,作为自然杂交的主要途径,会引起不同的植物个体之间发生杂交和渗入,从而导致一系列的生态学和进化生物学反应。由于通过花粉介导的基因漂移有其规律性可循,其研究成果既具有重要的理论意义,又具有指导生产实践的应用价值,因而是植物基因漂移研究中最受关注的焦点<sup>[23-26]</sup>。

棉花是常异花授粉,花朵较大,易造成外媒传粉的发生。虽然棉花花粉自身的传播距离十分有限<sup>[27]</sup>,但是如果借助昆虫和风力的传播就可使漂移距离明显提高。目前关于转基因棉花基因漂移的研究主要集中在棉花品种间的异花传粉的杂交亲和性<sup>[28-31]</sup>、自然条件下基因漂移的可能性和空间范围<sup>[29,32]</sup>、昆虫传粉对基因漂移的影响<sup>[31-32]</sup>等方面。在我国,除新疆地区外,棉花种植区多属于季风气候区<sup>[33]</sup>。转基因棉花体内的外源基因在风力条件下向周围漂移的距离和频率以及是否受到风向的影响引起我们的关注。明确这些问题,充分利用气候条件,从而有效地设置隔离带,减少甚至杜绝基因漂移的发生。目前有关这方面的报道并不多见。因此,为初步确定风向和基因漂移的关系,本研究通过设置定向风和非定向风不同处理,对温室内转基因棉花基因漂移效率进行分子生物学检测,从而有效评估转基因抗虫棉花环境释放的生态风险性。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

花粉供体材料为转基因抗虫棉花 SGK321, SGK321 具有人工合成的 *GFM Cry IA(C)* 和经过修饰的 *CpTI* 的高效双价杀虫基因。花粉受体材料为 SGK321 的非转基因亲本陆地棉石远 321 和陆地栽培种中棉 35。鉴

于海岛棉与陆地棉可以杂交,故本试验常规棉品种选用了世界栽培种海岛棉吉扎 1 号。以上材料均由中国农业科学院棉花研究所提供。

### 1.2 试验设计

试验于 2010 年在北京市中国农业大学上庄试验基地(40°08'22.92"N, 116°12'16.98"E)的温室(60m×8m)内进行。试验分别在两个温室内进行,见图 1。温室 1 设置 A、C 处理区,温室 2 设置 B、C 处理区,A 为定向风处理区,B 为非定向风处理区,C 为对照处理区,均自北向南依次种植非转基因品种中棉 35、石远 321、吉扎 1 号。不同常规棉品种种植区域之间用透明薄膜隔开,以防止非转基因棉花之间发生传粉。转基因棉花 SGK321 分别种植于两个温室的中部,种植面积为 32m<sup>2</sup>。株距 30cm,行距 80cm。栽培方法和田间管理均按常规棉花生产方式进行。

在 SGK321 种植区各设置了 3 台落地电风扇(FS40-8A2 型,广东美的环境电器制造公司),扇叶 5 片,其直径约为 50cm,高度约为 2m,面向 A、B 处理区用于鼓风,以使转基因棉花花粉充分扩散。A、B 处理区在每个品种分布区的上方分别设置了 8 台风程约为 5m 的电风扇(FB40-1205 型,上海华生电器有限公司),扇叶 3 片,其直径约为 50cm。电风扇设置于距地面垂直高度 2m 的栏杆处,水平倾角约为 25°,每隔 4.5m 设置 1 台,以使处理区内均匀持久受风。由于棉花仅白天开花,电风扇工作时间设置为每天 6:00—21:00。A 处理为定向风处理,风向垂直于棉花栽种行的方向,自西向东,保持恒定不变;B 处理为非定向风处理,风向以棉花栽种行的垂直方向为中心,左右呈 90°匀速变化;C 处理为对照处理,仅作种植,不设人工风力条件。

风速测定使用热球微风仪(ZRQF F303 型,北京检测仪器有限公司),在 A、B、C 三个处理区内,每隔 4.5m 为一个测量点,水平测定处理区的风速数值。为了避免误差,于当天的上午、下午各测量两次,记录数值并分析汇总测定结果。

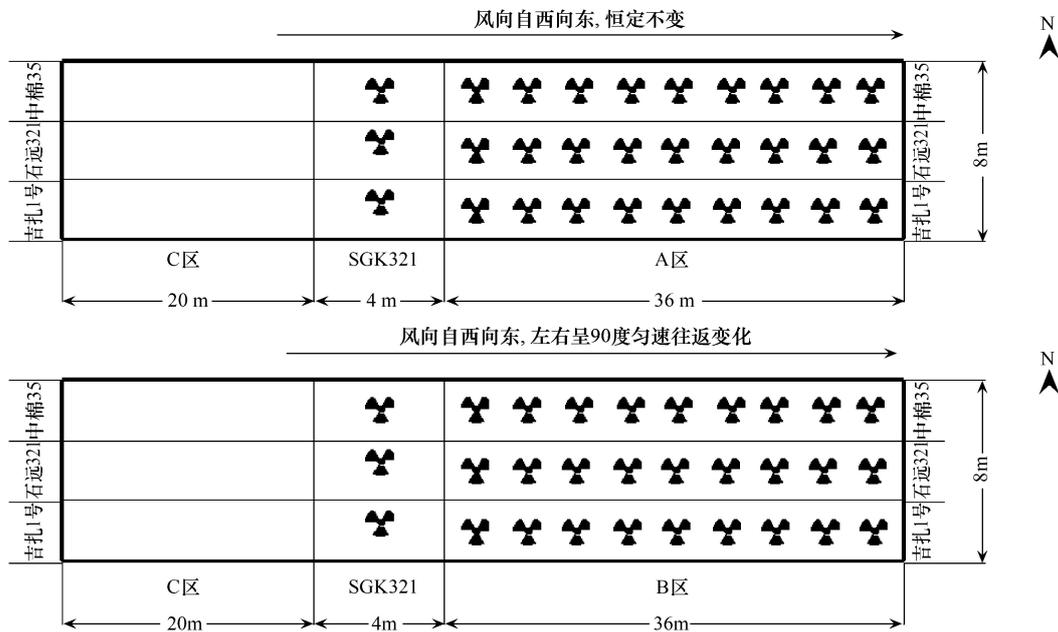


图 1 温室各处理的种植布局

Fig.1 Field design

### 1.3 研究方法

#### 1.3.1 非转基因棉花 F1 代种子采集处理

棉花吐絮后,对非转基因棉花 F1 代种子进行采集。各处理以与转基因棉田交界处记为 0m,A、B 处理在距离转基因棉田 0.8、1.6、3.2、6.4、12.8、19.2、25.6、36m 处进行取样;C 处理在距离转基因棉田 0.8、1.6、3.2、6.4、12.8、19.2m 处进行取样。有研究表明转基因棉花的异交率与所采种子在其植株上的位置基本不存在相

关性<sup>[29]</sup>,因此,每个取样点分别自常规棉品种的上、中、下部各摘取棉桃,作为3次重复,分别置于低温干燥环境下保存。待轧花脱绒后,采用土培法(蛭石:草炭=3:1)室内种植,每个样点每个品种随机选择F1代棉苗30株,用于棉叶总DNA提取,取样共计2520株棉苗。

### 1.3.2 PCR分析

取1cm<sup>2</sup>幼嫩棉花叶片,采用改良的CTAB抽提法提取样品的总DNA<sup>[34]</sup>,利用NanoDrop2000测定DNA的浓度和质量,将DNA稀释到40ng/ $\mu$ L,置于-20℃冰箱中保存,待PCR时使用。

选用特异性引物对样品内的*Cry I A(c)*基因进行PCR定性检测。上下游引物分别为5' GAAGGATGAGCAATCTCTAC 3'和5' CAATCAGCCTAGTAAGGTCGT 3'。PCR反应体系:2 $\times$ Taq PCR Master Mix(PC0902,北京艾德莱生物科技有限公司)10 $\mu$ L,上下游引物(10u/mol)各0.5 $\mu$ L(上海生工生物技术有限公司合成),DNA模板2 $\mu$ L,双蒸水7 $\mu$ L。

反应程序采用:预变性95℃4min,变性94℃1min、退火56℃1min、延伸72℃1.5min,30个循环,循环结束后总延伸72℃5min,4℃保存。扩增基因*Cry I A(c)*的目的片段长度大约为340bp,使用2%的琼脂糖凝胶电泳检测<sup>[35]</sup>。出现相应条带的样本记为阳性结果,其余样本记为阴性结果。

### 1.3.3 蛋白检测

对PCR检测出含有*Cry I A(c)*基因的F1代样品进行Bt蛋白表达的定性检测<sup>[36]</sup>。取所测样品幼嫩叶片1cm<sup>2</sup>,按1g叶片组织对10ml水的比例加入蒸馏水,充分研磨,3000r/min离心5min,取上清,插入蛋白试纸条(金标BT-*Cry1Ab/Ac*免疫检测试剂盒,北京银土地生物技术有限公司),5min后观察结果。检测线和质控线均出现紫红色条带的样本记为阳性结果,说明Bt蛋白在F1代植株体内正常表达;检测线未出现条带,质控线出现紫红色条带的样本记为阴性结果,说明Bt蛋白在转入*Bt*基因的F1代植株体内未表达;检测线和质控线均未出现条带,说明纸条存在质量问题或试验中操作不当,需重新测量。

## 1.4 数据处理

将PCR检测结果和蛋白试纸检测结果均呈阳性的样本记为阳性结果,将PCR检测结果呈阳性、蛋白试纸检测结果呈阴性的样本记为假阳性结果,将PCR检测结果和蛋白试纸检测结果均呈阴性的样本均计为阴性结果。记录阳性结果和假阳性结果的取样位点和数目。

基因漂移频率=(含外源*Bt*基因并表达的F1代个体数,即阳性结果个数/总检测个数) $\times$ 100%

假阳性频率=(假阳性结果个数/PCR检测阳性结果个数) $\times$ 100%

所得数据采用Duncan法多重比较常规棉品种之间和与转基因棉不同距离之间的差异水平,采用多因素方差分析方法比较风向和与转基因棉花的距离二者对基因漂移影响的大小,采用独立样本*t*检验比较定向风和非定向风之间的差异水平。 $P < 0.05$ 视为有显著差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 处理区风速测定结果

通过风速测定可知(图2),定向风区(A区)最高风速为0.78m/s,最低风速为0.39m/s;非定向风区(B区)最高风速为0.74m/s,最低风速为0.39m/s,对照区(C区)最高风速为0.04 m/s,最低风速为0.01 m/s。结果表明,在不同的测量位点,A区和B区全程风速均显著高于C区( $P < 0.05$ ),而二者之间无显著性差异( $P > 0.05$ ),二者的区别在于前者风向恒定,后者风向不恒定,因而达到了实验设计的风速相近而风向不同的预期效果。

### 2.2 转基因棉花的基因漂移

#### 2.2.1 定向风对转基因棉花基因漂移的影响

定向风区(A区)存在阳性结果共计32个,对照区(C区)全部取样位点基因漂移频率皆为0,A定向风处理区发生的基因漂移频率显著地高于C对照处理区( $P < 0.05$ )。

对转移至不同常规棉品种的基因漂移频率进行比较分析(表1),结果表明在距离转基因棉区1.6、6.4、

19.2m 处,SGK321 的非转基因亲本石远 321 相对于中棉 35 和吉扎 1 号存在显著差异,转移至前者的基因漂移频率显著地高于转移至后两个常规棉品种。转移至亚洲棉中棉 35 和海岛棉吉扎 1 号的基因漂移频率在所有的取样位置并未出现显著差异。

对转移至不同距离位点常规棉的基因漂移频率进行比较分析(表 1),结果表明在距转基因棉区的不同距离发生的基因漂移频率呈较大波动性变化。石远 321 在距转基因棉区 1.6、6.4、19.2、25.6m 处检测到基因漂移的发生,在 6.4m 处达到最高值 33.33%,最远漂移距离为 25.6m,漂移频率在不同距离间呈现显著差异( $F_{7,16}=5.481, P<0.05$ )。中棉 35 在距转基因棉区 6.4、19.2m 处检测到基因漂移的发生,频率均为 3.33%,最远漂移距离为 19.2m,漂移频率在不同距离间差异不显著( $F_{7,16}=0.857, P>0.05$ )。吉扎 1 号在距转基因棉区 0.8、3.2、6.4、12.8m 处检测到基因漂移的发生,漂移频率均为 3.33%,最远漂移距离为 12.8m,漂移频率在不同距离间差异不显著( $F_{7,16}=0.571, P>0.05$ )。

表 1 定向风区(A区)SGK321 发生的基因漂移频率

Table 1 Frequencies of pollen-mediated gene flow from SGK321 in the directed-wind treatment (A)

样品距离 Distance of sampling plot/m	漂移率 Frequency of gene flow/%			df		F	P
	石远	中棉	吉扎	组间 df <sub>1</sub>	组内 df <sub>2</sub>		
0.8	0 ± 0 a	0 ± 0 a	3.33 ± 3.33 a	2	6	1.000	0.422
1.6	23.33 ± 3.33 b	0 ± 0 a	0 ± 0 a	2	6	49.000	<0.001
3.2	0 ± 0 a	0 ± 0 a	3.33 ± 3.33 a	2	6	1.000	0.422
6.4	33.33 ± 12.02 b	3.33 ± 3.33 a	3.33 ± 3.33 a	2	6	5.400	0.046
12.8	0 ± 0 a	0 ± 0 a	3.33 ± 3.33 a	2	6	1.000	0.422
19.2	13.33 ± 3.33 b	3.33 ± 3.33 a	0 ± 0 a	2	6	6.500	0.031
25.6	16.67 ± 8.82 a	0 ± 0 a	0 ± 0 a	2	6	3.571	0.095
36	0 ± 0 a	0 ± 0 a	0 ± 0 a	—	—	—	—

平均值(±标准误)为 3 次重复的均值,不同的小写字母表示不同品种在相同距离的取样位点差异显著( $P<0.05$ )

## 2.2.2 非定向风对转基因棉花基因漂移的影响

非定向风区(B区)存在阳性结果共计 40 个,对照区(C区)全部取样位点基因漂移频率皆为 0, B 非定向风处理区发生的基因漂移频率显著地高于 C 对照处理区( $P<0.05$ )。

对转移至不同常规棉品种的基因漂移频率进行比较分析(表 2),结果表明在距离转基因棉区 3.2、12.8、36m 处,SGK321 的非转基因亲本石远 321 相对于中棉 35 和吉扎 1 号存在显著差异,转移至前者的基因漂移频率显著地高于转移至后两个常规棉品种;在距离转基因棉区 0.8、6.4m 处,海岛棉吉扎 1 号相对于石远 321 和中棉 35 存在显著差异,转移至前者的基因漂移频率显著地高于转移至后两个常规棉品种;在距离转基因棉区 25.6m 处,转移至石远 321 和吉扎 1 号的基因漂移频率差异不显著,并在此处显著地高于转移至中棉 35 的漂移频率。中棉 35 在 B 区并未检测出基因漂移的样本。

对转移至不同距离位点常规棉的基因漂移频率进行比较分析(表 2),结果表明在距转基因棉区的不同距离发生的基因漂移频率呈较大波动性变化。石远 321 在距转基因棉区 3.2、12.8、25.6、36m 处检测到基因漂移的发生,在 12.8m 处达到最高值 36.67%,最远漂移距离为 36m,漂移频率在不同距离间呈现显著差异( $F_{7,16}=15.121, P<0.05$ )。中棉 35 在所有设定的取样位置均未检测出基因漂移的样本。吉扎 1 号在距转基因棉区 0.8、6.4、12.8、25.6m 处检测到基因漂移的发生,在 6.4m 处达到最高值 23.33%,最远漂移距离为 25.6m,漂移

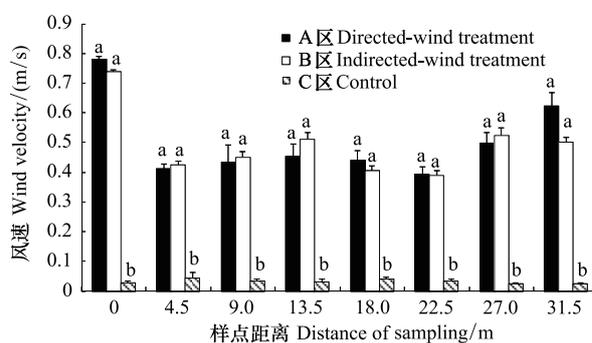


图 2 A、B、C 三个处理区的风速测定结果

Fig.2 The measurement of wind velocities in A, B, C treatments

小写字母表示特定样点距离 A、B、C 区之间风速差异的比较结果

频率在不同距离间呈现显著差异 ( $F_{7,16} = 9.143, P < 0.05$ )。

表 2 非定向风区(B区)SGK321发生的基因漂移频率

Table 2 Frequencies of pollen-mediated gene flow from SGK321 in the indirected-wind treatment (B)

样品距离 Distance of sampling plot/m	漂移率 Frequency of gene flow/%			df		F	P
	石远	中棉	吉扎	组间 df <sub>1</sub>	组内 df <sub>2</sub>		
0.8	0 ± 0 a	0 ± 0a	13.33 ± 3.33 b	2	6	16.000	0.004
1.6	0 ± 0 a	0 ± 0a	0 ± 0 a	—	—	—	—
3.2	33.33 ± 3.33 b	0 ± 0a	0 ± 0 a	2	6	100.000	<0.001
6.4	0 ± 0 a	0 ± 0a	23.33 ± 6.67 b	2	6	12.250	0.008
12.8	36.67 ± 6.67 b	0 ± 0a	13.33 ± 3.33 a	2	6	18.600	0.003
19.2	0 ± 0 a	0 ± 0a	0 ± 0 a	—	—	—	—
25.6	23.33 ± 3.33 b	0 ± 0a	16.67 ± 3.33 b	2	6	19.500	0.002
36	26.67 ± 8.82 b	0 ± 0a	0 ± 0 a	2	6	9.143	0.015

平均值(±标准误)为3次重复的均值,不同的小写字母表示不同品种在相同距离的取样位点差异显著( $P < 0.05$ )

### 2.2.3 定向风和非定向风处理间转基因棉花基因漂移频率的比较

对在定向风区和非定向风区所有取样位点的基因漂移频率进行比较分析,结果表明,对于常规棉石远321和中棉35,定向风区和非定向风区检测到的基因漂移频率之间没有显著差异;而对于常规海岛棉吉扎1号,定向风区和非定向风区检测到的基因漂移频率之间存在显著差异( $P < 0.05$ ),非定向风区的漂移频率显著地高于定向风区(表3)。由此推测,风向是否恒定对Bt基因漂移至海岛棉吉扎1号的影响较显著,且相对于定向风,非定向风可以显著提高转移至海岛棉吉扎1号的基因漂移频率。

表 3 不同风向因素下 SGK321 发生的基因漂移频率

Table 3 The frequencies for pollen-mediated gene flow from SGK321 under different models of wind direction

品种 Cultivars	漂移率 Frequency of gene flow/%		t	df	sig
	定向风区(A区)	非定向风区(B区)			
	Directed-wind Treatment	Indirected-wind Treatment			
石远 321	10.833 ± 3.00a	15.000 ± 3.46a	0.910	46	0.368
中棉 35	0.833 ± 0.58a	0 ± 0a	1.446	23.000	0.162
吉扎 1 号	1.67 ± 0.78a	8.33 ± 2.06b	-3.033	29.440	0.005

平均值(±标准误)为同一常规棉品种在该处理区内所有取样点的均值,不同的小写字母表示同一常规棉品种在定向风区和非定向风区差异显著( $P < 0.05$ )

### 2.2.4 风向和距离因素间的交互作用对转基因棉花基因漂移的影响

对于常规棉品种石远321,风向是否恒定对基因漂移频率影响不显著( $F_{石远风向} = 2.857, P > 0.05$ ),而与转基因棉田的距离对漂移频率存在显著影响( $F_{石远距离} = 3.706, P < 0.05$ ),风向和距离因素间的交互作用对漂移频率影响显著( $F_{石远交互} = 14.416, P < 0.05$ )。对于常规棉品种中棉35,风向是否恒定和与转基因棉田的距离对漂移频率均不存在显著影响( $F_{中棉风向} = 0.857, P > 0.05$ ;  $F_{中棉距离} = 0.857, P > 0.05$ )。对于常规棉品种吉扎1号,风向是否恒定和与转基因棉田的距离对漂移频率均存在显著影响( $F_{吉扎风向} = 23.273, P < 0.05$ ;  $F_{吉扎距离} = 7.065, P < 0.05$ ),且相对于与转基因棉田的距离,风向是否恒定对漂移频率的影响更大( $F_{吉扎风向} = 23.273 > F_{吉扎距离} = 7.065$ ),二者之间的交互作用显著影响漂移频率( $F_{吉扎交互} = 4.987, P < 0.05$ )。

由此可知,对于常规陆地棉(石远321)和海岛棉(吉扎1号),与转基因棉田的距离对转移至二者的基因漂移频率影响显著;且相对于与转基因棉田的距离,风向是否恒定对转移至常规海岛棉的基因漂移影响更大。

### 2.2.5 基因转入和蛋白表达的一致性分析

试验检测常规棉F1代样本共2520株,测得阳性结果72株,假阳性结果3株,阴性结果2445株,假阳性

频率为 4.17%。假阳性样本全部为石远 321 的 F1 代,中棉 35 和吉扎 1 号未测得假阳性结果。定向风处理检测 F1 代样本共计 720 株,阳性结果 32 株,假阳性结果 3 株,阴性结果 685 株,假阳性频率为 9.38%;非定向风处理未测得假阳性结果。对定向风处理和非定向风处理的假阳性频率使用独立样本  $t$  检验,结果表明,不同风向对假阳性频率影响不显著( $P>0.05$ )。

### 3 结论与讨论

本研究发现,转基因抗虫棉花基因漂移的频率最高为 36.67% (非定向风区、石远 321、距转基因棉花 12.8m 处),其他研究者得到的最高漂移频率均低于本研究结果<sup>[29,35,37-39]</sup>。在本试验测定范围内,转基因抗虫棉花基因漂移最远检测距离为 36m (非定向风区、石远 321、此处漂移频率为 26.67%)。不同研究者所得到的转基因棉花基因漂移最远距离存在明显差异,大都介于 20m 至 100m 之间<sup>[29,35,37-39]</sup>,但也有研究发现最远可达 1625m<sup>[32]</sup>。本试验采用相对封闭的温室环境,设置充足集中的风力条件,可能导致温室内空气花粉密度的相对提高。同时相对于大田环境,温室内部的温度略高,加剧了花粉微粒的布朗运动,增加了花粉的扩散速率,导致基因漂移频率在一定程度上增加。另外,不同转基因花粉供体所携带不同目的基因的第二效应(如在自然状态下的发芽率和生存能力)所选用的不同转基因花粉受体的品种特性(如自身花粉量、自交进程速度及接受外源花粉能力)均可以在一定程度上影响基因漂移结果<sup>[40]</sup>。其他因素,诸如实验进行的自然条件(风力、降雨、温湿度)、虫媒的种类和数量、转基因作物释放的面积<sup>[41]</sup>等都会影响基因漂移的最远距离。

转基因棉花基因漂移频率变化的趋势是备受关注的焦点。相关研究证实,随着转基因作物种植区与非转基因作物之间距离的增加,基因漂移频率不断降低<sup>[42-43]</sup>。这是由于随着与转基因花粉源距离的增加,空气中的花粉密度逐渐降低<sup>[44]</sup>。同时,在非转基因花粉受体周围存在其他非转基因花粉时,不同来源的花粉相互竞争导致了基因漂移频率的迅速下降<sup>[45]</sup>。而本研究发现基因漂移频率并未出现随着与转基因棉花距离的增加而下降的趋势,而是呈现较大的波动性。不同取样位点微环境风速的差异可能影响基因漂移频率。为使转基因棉区花粉充分扩散,本试验在转基因棉区设置了 3 台电风扇,这造成了 A、B 处理区初始取样位点附近风速的相对提高。因此,3 个常规棉品种初始取样位点(0.8、1.6m)检测到的漂移频率较小,可能与该处风速较大有关。同时,本试验在定向风区和非定向风区每间隔 4.5m 设置一台电风扇以造成持续的风力条件,因此每隔 4.5m 都存在风速不恒定的梯度风场,造成基因漂移频率的波动性较大。这种波动性还可能是由于每个样点采集的种子范围和检测数量有限造成的。另外,有研究表明基因漂移 PCR 检测和蛋白检测结果不能完全吻合,存在基因转入但未表达的假阳性检测结果<sup>[46]</sup>。本研究发现假阳性样本 3 株,假阳性频率为 4.17%,基因转入和蛋白表达检测结果呈现较高的一致性。因此,检测方法的灵敏度也影响着基因漂移的结果。Rieger<sup>[47]</sup>等研究结果表明,在授粉媒介和花粉源的双重效应下,随着与花粉源距离的增加,花粉活力下降的趋势较不明显,基因漂移发生的分布性较为随机。

本试验设置了两种理想状况,即风向恒定不变和匀速变化,发现非定向风可以显著提高转移至海岛棉吉扎 1 号的基因漂移频率,且相对于与转基因棉田的距离,风向是否恒定对其基因漂移的影响更大。原因可能在于海岛棉植株茂密,株型大,对携带有外源基因的花粉和人工设置的风力在空间的传播形成了较大的阻力;而植株内部风速小,增加了授粉的可能性。另外,由于风向并不恒定,水平方向上缺少恒定气流,因而延长了花粉定向水平传送的时间,影响花粉颗粒的沉降速度和垂直扩散速度等一系列复杂的因子,取样位点外源花粉在空中滞留或下降,不易带出,致使花粉易杂交。

转基因作物与其亲缘种之间的杂交是基因漂移的主要形式,也是二者之间基因流动的证据。Dale 认为只有亲缘关系较近,即仅包含在同一个属的种之间才可能是亲和的<sup>[48]</sup>。本试验研究结果表明,外源基因转移至 SGK321 非转基因亲本石远 321 的基因漂移频率显著地高于转移至亚洲棉中棉 35 和海岛棉吉扎 1 号。沈法富等研究表明,在 6m 内陆地棉品种之间发生的基因流高于陆地棉和海岛棉品种间的基因流<sup>[39]</sup>,与本试验结果基本一致。这表明基因漂移的发生,不仅需要转基因棉花的花粉漂流,而且存在着不同花粉的竞争和授粉选择。原因可能与花粉活性及其识别、接受、杂交过程有关。与中棉 35 相比,石远 321 虽同为陆地棉,但

其为转基因棉花 SGK321 的非转基因亲本,即 SGK321 是由石远 321 转入双价抗虫基因所得,二者亲缘关系最近,花粉亲和性和接受程度最高,因而转移至石远 321 的基因漂移频率显著高于其他品种。SGK321 属于栽培陆地棉,是具有 A、D 两染色体组的异源四倍体,而海岛棉吉扎 1 号亦是分为 A、D 两组的异源四倍体,与 SGK321 的 F1 代形成配子时减数分裂正常,因此是可育的,但其后代会出现一些不孕植株,其原因是配对的染色体之间存在结构上的细微差异,或由于不同种间基因系统的不协调,即基因不育。由此推测,转基因棉花的外源基因漂移至亲缘关系较近的非转基因亲本的可能性较大。

通过花粉传播产生的基因漂移是自然界客观存在的事实。影响转基因棉花基因漂移的因素非常复杂,风向只是其中的一个重要因素。为了进一步明确风媒因素对基因漂移的影响,风速是不可忽视的因子。在未来的研究中,可利用相对封闭的条件设置不同的风速探索其对基因漂移的影响。另外,本试验选择 *Bt* 基因作为标记基因,*CpTI* 基因的基因漂移效率及其与 *Bt* 基因在漂移时的互作效应需要深入研究。

#### References:

- [ 1 ] Huang J K, Rozelle S, Pray C, Wang Q F. Plant biotechnology in China. *Science*, 2002, 295(5555): 674-677.
- [ 2 ] Ellstrand N C. When transgenes wander, should we worry?. *Plant Physiology*, 2001, 125(4): 1543-1545.
- [ 3 ] Zhang Y J, Wu K M, Peng Y F, Guo Y Y. The ecological risks of genetically engineered plants. *Acta Ecologica Sinica*, 2002, 22(11): 1951-1959.
- [ 4 ] Ellstrand N C. Current knowledge of gene flow in plants: implications for transgene flow. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Science*, 2003, 358(1434): 1163-1170.
- [ 5 ] Messeguer J. Gene flow assessment in transgenic plants. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 2003, 73(3): 201-212.
- [ 6 ] Lu B R, Snow A A. Gene flow from genetically modified rice and its environmental consequences. *BioScience*, 2005, 55(8): 669-678.
- [ 7 ] Mercer K L, Andow D A, Wyse D L, Shaw R G. Stress and domestication traits increase the relative fitness of crop-wild hybrids in sunflower. *Ecology Letters*, 2007, 10(5): 383-393.
- [ 8 ] Bates S L, Zhao J Z, Roush R T, Shelton A M. Insect resistance management in GM crops: past, present and future. *Nature Biotechnology*, 2005, 23(1): 57-62.
- [ 9 ] Dalecky A, Bourguet D, Ponsard S. Does the European corn borer disperse enough for a sustainable control of resistance to *Bt* maize via the high dose/refuge strategy?. *Cahiers Agricultures*, 2007, 16(3): 171-176.
- [ 10 ] Li G P, Wu K M, Gould F, Wang J K, Miao J, Gao X W, Guo Y Y. Increasing tolerance to *Cry 1Ac* cotton from cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*, was confirmed in *Bt* cotton farming area of China. *Ecological Entomology*, 2007, 32(4): 366-375.
- [ 11 ] Wu K M. Monitoring and management strategy for *Helicoverpa armigera* resistance to *Bt* cotton in China. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2007, 95(3): 220-223.
- [ 12 ] O'Callaghan M, Glare T R, Burgess E P J, Malone L A. Effects of plants genetically modified for insect resistance on non-target organisms. *Annual Review of Entomology*, 2005, 50: 271-292.
- [ 13 ] Oliverira A R, Castro T R, Capalbo D M F, Delalibera I. Toxicological evaluation of genetically modified cotton (Bollgard®) and Dipel® WP on the non-target soil mite *Schieloribates praecinctus* (Acari: Oribatida). *Experimental and Applied Acarology*, 2007, 41(3): 191-201.
- [ 14 ] Wu W X, Ye Q F, Min H, Duan X J, Jin W M. *Bt*-transgenic rice straw affects the culturable microbiota and dehydrogenase and phosphatase activities in a flooded paddy soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, 36(2): 289-295.
- [ 15 ] Giovannetti M, Sbrana C, Turrini A. The impact of genetically modified crops on soil microbial communities. *Rivista di Biologia*, 2005, 98(3): 393-417.
- [ 16 ] Conner A J, Glare T R, Nap J P. The release of genetically modified crops into the environment. Part II. Overview of ecological risk assessment. *The Plant Journal*, 2003, 33(1): 19-46.
- [ 17 ] Ammann K. Effects of biotechnology on biodiversity: herbicide-tolerant and insect-resistant GM crops. *Trends in Biotechnology*, 2005, 23(8): 388-394.
- [ 18 ] Deng X, Zhao Y C, Gao B D, Zhang Y J, Sun F Z. Advance on the biosafety assessment of insect-resistant transgenic cotton. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(12): 4244-4249.
- [ 19 ] Slatkin M. Gene flow in natural population. *Annual Review of Ecology & Systematics*, 1985, 16: 393-430.
- [ 20 ] Futuyma D. *Evolutionary Biology*, 3rd edn. Sunderland, MA: Sinauer, 1998.
- [ 21 ] Andow D A, Zwahlen C. Assessing environmental risks of transgenic plants. *Ecology Letters*, 2006, 9(2): 196-214.

- [22] Lu B R, Xia H, Yang X, Jin X, Liu P, Wang W. Evolutionary theory of hybridization-introgression; its implication in environmental risk assessment and research of transgene escape. *Biodiversity Science*, 2009, 17(4): 362-377.
- [23] Messeguer J, Fogher C, Guiderdoni E. Field assessment of gene flow from transgenic to cultivated rice (*Oryza sativa* L.) using a herbicide resistance gene as tracer marker. *Theoretical and applied genetics*, 2001, 103(8): 1151-1159.
- [24] Zhang K, Li Y, Lian L. Pollen-mediated transgene flow in maize grown in the Huang-huai-hai region in China. *Journal of Agricultural Science*, 2011, 149(2): 205-216.
- [25] Pasquet R S, Peltier A, Hufford M B, Oudin E, Saulnier J, Paul L, Knudsen J T, Herren H R, Gepts P. Long-distance pollen flow assessment through evaluation of pollinator foraging range suggests transgene escape distances. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(36): 13456-13461.
- [26] Ahmed S, Compton S G, Butlin R K. Wind-borne insects mediated directional pollen transfer between desert fig trees 160 kilometers apart. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(48): 20342-20347.
- [27] Ma J, Gao B D, Wan F H, Guo J Y. Ecological risk of *Bt* transgenic cotton and its management strategy. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, 3(14): 443-446.
- [28] Llewellyn D, Fitt G. Pollen dispersal from two field trials of transgenic cotton in the Namoi Valley, Australia. *Molecular Breeding*, 1996, 2(2): 157-166.
- [29] Umbeck P F, Barton K A, Nordheim E V, Mccarty J C, Parrott W L, Jenkins J N. Degree of pollen dispersal by insects from a field-test of genetically engineered cotton. *Journal of Economic Entomology*, 1991, 84(6): 1943-1950.
- [30] Zhang B H, Pan X P, Guo T L, Wang Q L, Anderson T A. Measuring gene flow in the cultivation of transgenic cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Molecular Biotechnology*, 2005, 31(1): 11-20.
- [31] Llewellyn D, Tyson C, Constable G. Containment of regulated genetically modified cotton in the field. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 2007, 121(4): 419-429.
- [32] Van Deynze A E, Sundstorm F J, Bradford K J. Pollen-mediated gene flow in California cotton depends on pollinator activity. *Crop Science*, 2005, 45(4): 1565-1570.
- [33] Zhang H Q. A study on comparative advantage in cotton-growing regions of China[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Science, 2004.
- [34] Ma X, Du X M. Preliminary study on the methods of extracting cotton genomic DNA. *Cotton Science*, 2004, 16(1): 40-43.
- [35] Wang C Y, Liu Y, Zhou J, Chen J Q, Qin P. Monitoring of pollen-mediated gene flow from transgenic *Bt* cotton. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18(4): 801-806.
- [36] He S P, Zhao J, Yi G X, Liu X, Deng A X, Nan T G, Li Z H, He Z P, Wang B M. Development of a dipstick assay for detection of transgenic *Bt*-cotton. 2006 Annal Conference and the 7th congress of the China Cotton Association, China, 2006: 189-220.
- [37] Zhang B H, Guo T L. Frequency and distance of pollen dispersal from transgenic cotton. *Chinese Journal Applied Environmental Biology*, 2000, 6(1): 39-42.
- [38] Zhang C Q, Lv Q Y, Wang Z X, Jia S R. Frequency of 2, 4-D resistant gene flow of transgenic cotton. *Scientia Agricultura Sinica*, 1997, 30(1): 92-93.
- [39] Shen F F, Yu Y J, Zhang X K, Bi J J, Yin C Y. *Bt* gene flow of transgenic cotton. *Acta Genetica Sinica*, 2001, 28(6): 562-567.
- [40] Wang T Y, Zhao Z H, Yan H B, Li Y, Zhu X H, Shi Y S, Song C Y, Ma Z Y, Darmency H. Gene flow from cultivated herbicide-resistant foxtail millet to its wild relatives: a basis for risk assessment of the release of transgenic millet. *Acta Agronomica Sinica*, 2001, 27(6): 681-687.
- [41] Scheffer J A, Parkinson R, Dale P J. Evaluating the effectiveness of isolation distances for field plots of oilseed rape (*Brassica napus*) using a herbicide-resistance transgene as a selectable marker. *Plant Breeding*, 1995, 114(4): 317-321.
- [42] Goggi A S, Caragea P, Lopez-Sanchez H. Statistical analysis of outcrossing between adjacement maize grain production fields. *Field Crops Research*, 2006, 99(2/3): 147-157.
- [43] Ma B L, Subedi K D, Reid L M. Extent of cross-fertilization in maize by pollen from neighbouring transgenic hybrids. *Crop Science*, 2004, 44(4): 1273-1282.
- [44] Song Z P, Li B, Chen J K. Genetic diversity and conservation of common wild rice (*Oryza rufipogon*) in China. *Plant Species Biology*, 2005, 20(2): 83-92.
- [45] Rong J. Pollen-mediated gene flow and its modeling in rice (*Oryza sativa* L.)[D]. Shanghai: Fudan University, 2006.
- [46] He J, Zhu J L, Liu X X, Zhang Q W. Comparison between two methods for detecting gene flow and analysis on the influencing factors. *Agricultural Science & Technology*, 2011, 12(6): 840-841, 861.
- [47] Rieger M A, Micheal L, Christopher P. Pollen-mediated movement of herbicide resistance between commercial fields. *Science*, 2002, 296(5577): 2386-2388.

[48] Dale P J. Spread of engineered genes to wild relatives. *Plant Physiology*, 1992, 100(1): 13-15.

#### 参考文献:

- [3] 张永军, 吴孔明, 彭于发, 郭予元. 转基因植物的生态风险. *生态学报*, 2002, 22(11): 1951-1959.
- [18] 邓欣, 赵延昌, 高必达, 张永军, 孙福在. 转基因抗虫棉生物安全评价研究进展. *生态学报*, 2006, 26(12): 4244-4249.
- [22] 卢宝荣, 夏辉, 杨箫, 金鑫, 刘苹, 汪魏. 杂交-渐渗进化理论在转基因逃逸及其环境风险评价和研究中的意义. *生物多样性*, 2009, 17(4): 362-377.
- [27] 马骏, 高必达, 万方浩, 郭建英. 转 *Bt* 基因抗虫棉的生态风险及治理对策. *应用生态学报*, 2003, 3(14): 443-446.
- [28] 刘谦, 朱鑫泉. *生物安全*. 北京: 科学出版社, 2001.
- [33] 张海清. 中国棉花产区比较优势研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2004.
- [34] 马轩, 杜雄明. 提取棉花基因组 DNA 的一点探讨. *棉花学报*, 2004, 16(1): 40-43.
- [35] 王长永, 刘燕, 周骏, 陈建群, 钦佩. 花粉介导的转 *Bt* 基因棉花田间基因流监测. *应用生态学报*, 2007, 18(4): 801-806.
- [36] 何素平, 赵静, 羿国香, 刘威, 邓艾兴, 南铁贵, 李召虎, 何钟佩, 王保民. *Bt* 毒蛋白免疫金标试纸条的制备与应用. *中国棉花学会 2006 年年会暨第七次代表大会, 中国*, 2006: 189-220.
- [37] 张宝红, 郭腾龙. 转基因棉花基因花粉散布频率及距离的研究. *应用与环境生物学报*, 2000, 6(1): 39-42.
- [38] 张长青, 吕群燕, 王志兴, 贾士荣. 抗 2, 4-D 转基因棉花基因漂流频率的研究. *中国农业科学*, 1997, 30(1): 92-93.
- [39] 沈法富, 于元杰, 张学坤, 毕建杰, 尹承脩. 转基因棉花的 *Bt* 基因流. *遗传学报*, 2001, 28(6): 562-567.
- [40] 王天宇, 赵治海, 闫洪波, 黎裕, 朱学海, 石云素, 宋燕春, 马峙英, H.Darmency. 谷子抗除草剂基因从栽培种向其近缘野生种漂移的研究. *作物学报*, 2001, 27(6): 681-687.
- [45] 戎俊. 花粉介导的水稻 (*Oryza sativa* L.) 基因漂移及其模型的研究[D]. 上海: 复旦大学, 2006.

**ACTA ECOLOGICA SINICA Vol.33, No.21 Nov., 2013 (Semimonthly)**  
**CONTENTS**

**Frontiers and Comprehensive Review**

- Gross ecosystem product: theory framework and case study ..... OUYANG Zhiyun, ZHU Chunquan, YANG Guangbin, et al (6747)
- Advances in impacts of climate change on infectious diseases outbreak ..... LI Guodong, ZHANG Junhua, JIAO Gengjun, et al (6762)
- Ecology of aerobic methane oxidizing bacteria (methanotrophs) ..... YUN Juanli, WANG Yanfen, ZHANG Hongxun (6774)
- Nitrogen deposition and *Leymus chinensis* leaf chlorophyll content in Inner Mongolian grassland .....  
..... ZHANG Yunhai, HE Nianpeng, ZHANG Guangming, et al (6786)
- Worldwide distribution and multivariate similarity clustering analysis of spiders .....  
..... SHEN Xiaocheng, ZHANG Baoshi, ZHANG Feng, et al (6795)
- The influence of wind direction on pollen-mediated gene flow in transgenic insect-resistant cotton .....  
..... ZHU Jialin, HE Juan, NIU Jianqun, et al (6803)

**Autecology & Fundamentals**

- Ecological characteristics of benthic diatoms, protozoa and meiobenthos in the sediments of the Changjiang Estuary and East China  
Sea in spring ..... MENG Zhaoctui, XU Kuidong (6813)
- Macrobenthic functional groups at the reclamation and natural tidal flats of Hengsha East Shoal, the Estuary of Changjiang River .....  
..... LV Weiwei, MA Chang'an, YU Ji, et al (6825)
- Enrichment and ecological risk of heavy metal in soils and dominant plants in the riparian of the Fenghe River .....  
..... YANG Yang, ZHOU Zhengchao, WANG Huanhuan, et al (6834)
- Effects of salinity and exogenous substrates on the decomposition and transformation of soil organic carbon in the Yellow River  
Delta ..... LI Ling, QIU Shaojun, TAN Feifei, et al (6844)
- Effects of short-term dark chilling on leaves carbon and nitrogen metabolism and involved activities of enzymes in mangrove *Kandelia  
obovata* seedling ..... ZHENG Chunfang, LIU Weicheng, CHEN Shaobo, et al (6853)
- Preliminary evaluation on tolerance to phosphorous deficiency of 32 cultivars of cut chrysanthemum .....  
..... LIU Peng, CHEN Sumei, FANG Weimin, et al (6863)
- Effects of age and environmental conditions on accumulation of heavy-metals Cd and Cu in *Tegillarca granosa* .....  
..... WANG Zhaogen, WU Hongxi, CHEN Xiaoxiao, et al (6869)
- Effects of Chinese gallnut on photosynthetic characteristics and total nitrogen content of *Rhus chinensis* .....  
..... LI Yang, YANG Zixiang, CHEN Xiaoming, et al (6876)
- The characterization of glyphosate degradation by *Burkholderia multivorans* WS-FJ9 ..... LI Guanxi, WU Xiaoqin, YE Jianren (6885)
- Electroantennographic and behavioural responses of scarab beetles to *Ricinus communis* leaf volatiles .....  
..... LI Weizheng, YANG Lei, SHEN Xiaowei, et al (6895)

**Population, Community and Ecosystem**

- Ecosystem health assessment in Baiyangdian Lake ..... XU Fei, ZHAO Yanwei, YANG Zhifeng, et al (6904)
- Characteristics of macrobenthic communities in mangrove wetlands along the waterways of North Hezhou, Zhuhai, South China .....  
..... WANG Hui, ZHONG Shan, FANG Zhanqiang (6913)
- The interaction between components of ecosystem respiration in typical forest and grassland ecosystems .....  
..... ZHU Xianjin, YU Guirui, WANG Qiufeng, et al (6925)
- Effects of thinning on macro fungi and their relationship with litter decomposition in *Pinus tabulaeformis* plantations .....  
..... CHEN Xiao, BAI Shulan, LIU Yong, et al (6935)

- Beta diversity of plant communities in Baishanzu Nature Reserve ..... TAN Shanshan, YE Zhenlin, YUAN Liubin, et al (6944)
- Effect of Oxytetracycline (OTC) on the activities of enzyme and microbial community metabolic profiles in composting .....  
 ..... CHEN Zhixue, GU Jie, GAO Hua, et al (6957)

### Landscape, Regional and Global Ecology

- Variations in leaf anatomy of *Larix gmelinii* reflect adaptation of its photosynthetic capacity to climate changes .....  
 ..... JI Zijiang, QUAN Xiankui, WANG Chuankuan (6967)
- The studying of key ecological factors and threshold of landscape evolution in Yancheng Coastal wetland .....  
 ..... ZHANG Huabing, LIU Hongyu, LI Yufeng, et al (6975)
- Eco-physiological response of *Phragmites communis* to water table changes in the Horqin Sand Land .....  
 ..... MA Yunhua, ZHANG Tonghui, LIU Xinpeng (6984)
- Improvement of snowmelt implementation in the SWAT hydrologic model ... YU Wenjun, NAN Zhuotong, ZHAO Yanbo, et al (6992)
- Responses of lake fluctuation to climate change in Horqin Sandy Land .....  
 ..... CHANG Xueli, ZHAO Xueyong, WANG Wei, et al (7002)
- Water ecology and fractal characteristics of soil particle size distribution of three typical vegetations in Shell Island .....  
 ..... XIA Jiangbao, ZHANG Shuyong, WANG Rongrong, et al (7013)
- Spatio-temporal distribution of epilithic algal chlorophyll a in relation to the physico-chemical factors of Gufu River in Three Gorges Reservoir .....  
 ..... WU Shuyuan, GE Jiwen, MIAO Wenjie, et al (7023)

### Resource and Industrial Ecology

- Graphic analysis of spatio-temporal effect for vegetation disturbance caused by coal mining: a case of Datong Coal Mine Area .....  
 ..... HUANG Yi, WANG Yunjia, LI Xiaoshun, et al (7035)

# 《生态学报》2014 年征订启事

《生态学报》是由中国科学技术协会主管,中国生态学学会、中国科学院生态环境研究中心主办的生态学高级专业学术期刊,创刊于 1981 年,报道生态学领域前沿理论和原始创新性研究成果。坚持“百花齐放,百家争鸣”的方针,依靠和团结广大生态学科工作者,探索生态学奥秘,为生态学基础理论研究搭建交流平台,促进生态学研究深入发展,为我国培养和造就生态学科人才和知识创新服务、为国民经济建设和发展服务。

《生态学报》主要报道生态学及各分支学科的重要基础理论和应用研究的原始创新性科研成果。特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评价和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,280 页,国内定价 90 元/册,全年定价 2160 元。

国内邮发代号:82-7,国外邮发代号:M670

标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

本期责任副主编 余新晓 编辑部主任 孔红梅 执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报

(SHENGTAI XUEBAO)

(半月刊 1981 年 3 月创刊)

第 33 卷 第 21 期 (2013 年 11 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 33 No. 21 (November, 2013)

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add: 18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel: (010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	王如松	Editor-in-chief	WANG Rusong
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add: 18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717	Published by	Science Press Add: 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail: journal@cspg.net	Distributed by	Science Press Add: 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel: (010)64034563 E-mail: journal@cspg.net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add: P.O.Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许 可 证	京海工商广字第 8013 号		



ISSN 1000-0933  
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 90.00 元