

转 Bt 基因水稻对土壤跳虫、线虫和螨类种群数量的影响

吴刚¹ 李俊生² 肖能文² 戈峰³ 刘向辉³

(1.华中农业大学植物科技学院 武汉 430070 ;

2.中国环境科学研究院环境基准与风险评估国家重点实验室 北京 100012 ;

3.中国科学院动物研究所农业虫鼠害综合治理研究国家重点实验室 北京 100101)

中图分类号 S-3 文献标识码 :A 文章编号 :1005-6114(2012)05-006-005

摘要 土壤是生态系统中物质循环和能量转化过程的重要场所,转基因作物外源基因对土壤地下生物的影响已经引起人们的广泛关注。本文以农业部批准发放的转 Bt 基因抗虫水稻“华恢 1 号”为实验材料,研究转 Bt 基因水稻对土壤跳虫、线虫和螨类种群数量的影响。实验结果表明,转 Bt 基因水稻可显著降低长角跳科长角跳属跳虫、中杆属线虫和尖棱甲螨科尖棱甲螨属螨类种群数量,而显著增加等节跳科原等属跳虫、钩唇属线虫种群数量,但转 Bt 基因水稻对其它属的跳虫、线虫和螨类种群数量无显著影响。研究转基因水稻不同生育期对土壤动物种群数量的影响,可构建转基因水稻对土壤动物的安全性评价,为转 Bt 基因水稻未来的商业化生产提供的理论依据。

关键词 转 Bt 基因水稻 ;土壤 ;安全性评价 ;跳虫 ;线虫 ;螨类

1 前言

土壤是生态系统中物质循环和能量转化过程的重要场所,转基因植物释放的外源基因是通过其表达蛋白残留在土壤中^[1]。转基因作物在生长过程中会通过植物残体和根系分泌物产生外源基因表达蛋白,这些毒蛋白与土壤活性颗粒结合在一起并不断富集而持续产生毒性,因而有可能对土壤中其他的非目标生物产生影响。线虫是土壤中数目最多的生物体,是土壤指示生物中的典型代表。Saxena 和 Stotzky(2001)研究发现,转 Bt 玉米和其亲本常规玉米的根际线虫数量没有明显的差异^[2]。然而,温室试验研究转 Bt 基因

玉米对土壤动物区系影响时发现,Bt的特性导致了土壤中含有较多的线虫^[3]。在转几丁质酶基因白桦(*Betula pendula*)的土壤中发现,线虫数量显著低于对照^[4]。Griffiths 等(2007)分析了转 Bt 玉米对土壤线虫群落结构影响,表明影响线虫群落结构的主要因素是作物品种的差异^[5]。Höss 等(2008)研究了 Bt 玉米及其纯化蛋白对 *Caenorhabditis elegans* 的作用,表明在采集自大田土壤中的 *C. elegans* 的繁殖率与死亡率显著降低并与土壤中 Bt 蛋白的含量相关^[6]。跳虫(弹尾目昆虫)种类和个体数量在土壤中都很多,它们作为分解者在参与土壤物质循环、提高土壤肥力、改善土壤理化特性、维护土壤生物群落,以及在土壤

收稿日期 2012-03-25

项目基金 :转基因生物新品种培育重大专项 2011ZX08012-005 2009ZX08011-013B 2012ZX08011002

作者简介 :吴刚(1976-),男,华中农业大学副教授博士,主要从事昆虫生态学及转基因生物安全评价研究。

质量评价、污染监测、污染土壤的生物修复等方面都具有重要作用。Bakonyi 等(2006)进行了3种跳虫对 Bt 玉米和非 Bt 玉米的趋向试验,结果表明 *F. candida* 趋向于取食非 Bt 玉米^[7]。Bitzer 等(2005)报道转 Bt 玉米对跳虫的丰度无影响,对跳虫的物种多样性指数影响也较小^[8]。目前,针对螨类对转 Bt 作物反应的研究主要集中于田间的调查实验,且研究结果尚未发现显著的影响。如 Yu(1997)通过研究表明 Bt 棉和 Bt 马铃薯的杀虫蛋白对 *Oppia nitens* 无显著副作用^[9]。Oliveira 等(2007)测定了 Bt 棉对 *Scheloribates praecincisus* 的毒性,结果也没有发现 *S. praecincisus* 受到任何影响。

我国于 2009 年根据《农业转基因生物安全管理条例》规定和农业转基因生物安全委员会评价结果,农业部批准发放了转基因抗虫水稻“华恢 1 号”的生产应用安全证书,这是我国首度为转基因粮食作物颁发安全证书。由于土壤生态系统是植物和动物进行代谢和循环的重要载体,土壤生态过程(功能)的发挥在很大程度上决定着是陆地生态系统对人类的生态系统服务功能,因此近年来有关转基因作物对土壤地下生物的影响也受到了极大的关注。本研究拟开展转 Bt 基因水稻对土壤线虫、跳虫和螨类种群数量的影响,其研究结果可为转 Bt 基因水稻对土壤地下生物的安全性评价提供理论参考。

2 材料与方法

2.1 试验地点与水稻材料

试验地点为湖北省武汉市武湖农场滨湖分场,转 Bt 基因水稻“华恢 1 号”及其亲本水稻“明恢 63”由华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室提供。

2.2 土壤跳虫、线虫和螨类种群数量调查

在湖北省武汉市武湖农场滨湖分场分别种植分别转 Bt 基因水稻“华恢 1 号”及其亲本水稻“明恢 63”,于 2011 年 6 月 9 日、7 月 10 日、8 月 9 日、9 月 10 日和 10 月 9 日用环刀和土钻采

集土壤样品,将 5 次采样的土壤中的跳虫、线虫和螨类种类进行分离,并统计其种群数量。

3 统计分析

用 SAS6.12 (SAS Institute Inc. USA, 1996) 统计分析软件分析处理间试验数据的差异显著性。单因素方差分析比较不同水稻品种对土壤跳虫、线虫和螨类种群数量的差异,处理间的差异显著性采用 LSD 检验。

4 实验结果

4.1 土壤跳虫

表 1 转 Bt 基因水稻对土壤跳虫种群数量影响

跳虫类别	水稻品种	
	华恢 1 号	明恢 63
长角跳科长角跳属	2.14 ± 0.35 b	4.61 ± 0.93 a
长角跳科镰跳属	0.10 ± 0.06 a	0.21 ± 0.11 a
长角跳科裸长角跳属	0.13 ± 0.06 a	0.18 ± 0.09 a
等节跳科原等跳属	5.62 ± 1.54 a	2.49 ± 0.40 b
棘跳科棘跳属	1.31 ± 0.29 a	2.03 ± 0.40 a
等节跳科裔符跳属	0.17 ± 0.07 a	0.19 ± 0.11 a
等节跳科等节跳属	0.38 ± 0.12 a	0.21 ± 0.09 a
等节跳科似等跳属	0.48 ± 0.13 a	0.42 ± 0.15 a
等节跳科符跳属	0.35 ± 0.13 a	0.38 ± 0.15 a
等节跳科德跳属	0.23 ± 0.09 a	0.21 ± 0.08 a
钩圆跳科钩圆跳属	0.29 ± 0.09 a	0.30 ± 0.12 a
齿棘圆跳科齿棘圆跳属	0.19 ± 0.09 a	0.18 ± 0.07 a
球角跳科球角跳属	0.39 ± 0.14 a	0.34 ± 0.15 a

备注:表中数据为平均数±标准误;在每一行中不同的小写字母表示不同水稻品种间的差异达到了显著水平(LSD 检验, $P < 0.05$)。

从表 1 可以看出,转 Bt 基因水稻可显著降低长角跳科长角跳属($F=6.19$, $d.f.=1, 54$, $P=0.016$)种群数量,而显著增加等节跳科原等跳属($F=4.22$, $d.f.=1, 76$, $P=0.0433$)种群数量,但转 Bt 基因水稻对长角跳科镰跳属($F=0.93$, $d.f.=1, 56$, $P=0.3395$)、长角跳科裸长角跳属($F=0.19$, $d.f.=1, 54$, $P=0.9053$)、棘跳科棘跳属($F=0.49$, $d.f.=1, 55$, $P=0.2248$)、等节跳科裔符跳属($F=0.04$, $d.f.=1$,

59, $P=0.8358$)、等节跳科等节跳属($F=1.36$, $d.f.=1, 53$, $P=0.2493$)、等节跳科似等跳属($F=0.09$, $d.f.=1, 60$, $P=0.7716$)、等节跳科符跳属($F=0.03$, $d.f.=1, 53$, $P=0.8634$)、等节跳科德跳属($F=0.01$, $d.f.=1, 57$, $P=0.9240$)、钩圆跳科钩圆跳属($F=0.01$, $d.f.=1, 62$, $P=0.9343$)、齿棘圆跳科齿棘圆跳属($F=0.01$, $d.f.=1, 62$, $P=0.9196$)、球角跳科球角跳属($F=0.05$, $d.f.=1, 55$, $P=0.8165$)种群数量无显著影响。

4.2 土壤线虫

表2 转 Bt 基因水稻对土壤线虫种群数量的影响

线虫类别	水稻品种	
	华恢 1 号	明恢 63
盘绕属	0.89 ± 0.25 a	0.93 ± 0.28 a
丝尾垫刃属	18.1 ± 2.1 a	22.7 ± 2.6 a
裸矛属	3.4 ± 0.7 a	2.8 ± 0.4 a
伪垫刃属	1.3 ± 0.4 a	1.8 ± 0.6 a
根结属	21.4 ± 4.2 a	21.9 ± 3.3 a
滑刃属	1.2 ± 0.3 a	0.7 ± 0.2 a
真滑刃属	1.6 ± 0.4 a	1.0 ± 0.4 a
拟丽突属	21.3 ± 1.6 a	22.2 ± 1.9 a
无咽属	1.1 ± 0.3 a	0.9 ± 0.3 a
真头叶属	5.8 ± 0.7 a	4.4 ± 0.5 a
绕线属	2.4 ± 0.4 a	2.4 ± 0.3 a
钩唇属	6.5 ± 2.0 a	1.5 ± 0.4 b
中杆属	1.5 ± 0.3 b	2.7 ± 0.4 a
假丽突属	1.3 ± 0.2 a	0.8 ± 0.2 a
头叶属	3.8 ± 0.5 a	3.5 ± 0.5 a
原矛属	7.1 ± 0.6 a	7.9 ± 0.7 a
矛线属	2.8 ± 0.3 a	2.3 ± 0.4 a
孔咽属	2.4 ± 0.4 a	1.7 ± 0.2 a
颚针属	2.1 ± 0.4 a	2.6 ± 0.4 a
潜根属	4.2 ± 0.5 a	5.5 ± 0.6 a

备注:表中数据为平均数±标准误;在每一行中不同的小写字母表示不同水稻品种间的差异达到了显著水平(LSD 检验, $P < 0.05$)。

从表2可以看出,转Bt基因水稻可显著降低中杆属($F=5.15$, $d.f.=1, 78$, $P=0.0262$)种群数量,而显著增加钩唇属($F=5.72$, $d.f.=1, 70$, $P=0.0195$)种群数量,但转Bt基因水稻对盘绕属($F=0.01$, $d.f.=1,$

53, $P=0.9153$)、丝尾垫刃属($F=1.91$, $d.f.=1, 106$, $P=0.1693$)、裸矛属($F=0.63$, $d.f.=1, 83$, $P=0.4295$)、伪垫刃属($F=0.66$, $d.f.=1, 59$, $P=0.41965$)、根结属($F=0.01$, $d.f.=1, 62$, $P=0.9303$)、滑刃属($F=1.25$, $d.f.=1, 62$, $P=0.2685$)、真滑刃属($F=1.89$, $d.f.=1, 60$, $P=0.1746$)、拟丽突属($F=0.19$, $d.f.=1, 106$, $P=0.6599$)、无咽属($F=0.16$, $d.f.=1, 33$, $P=0.6934$)、真头叶属($F=2.58$, $d.f.=1, 103$, $P=0.1114$)、绕线属($F=0.01$, $d.f.=1, 90$, $P=0.9695$)、假丽突属($F=2.16$, $d.f.=1, 48$, $P=0.1483$)、头叶属($F=0.15$, $d.f.=1, 78$, $P=0.6993$)、原矛属($F=0.67$, $d.f.=1, 104$, $P=0.4145$)、矛线属($F=0.88$, $d.f.=1, 102$, $P=0.3506$)、孔咽属($F=2.69$, $d.f.=1, 102$, $P=0.1039$)、颚针属($F=0.80$, $d.f.=1, 96$, $P=0.3725$)、潜根属($F=2.87$, $d.f.=1, 105$, $P=0.93$)种群数量无显著影响。

4.3 土壤螨类

表3 转 Bt 基因水稻对土壤螨类种群数量的影响

螨虫类别	水稻品种	
	华恢 1 号	明恢 63
菌甲螨科菌甲螨属	0.69 ± 0.14 b	1.18 ± 0.19 a
厉螨科下盾螨属	1.14 ± 0.18 a	1.02 ± 0.19 a
若甲螨科合若甲螨属	1.05 ± 0.15 a	0.92 ± 0.14 a
囊螨科囊螨属	0.26 ± 0.11 a	0.36 ± 0.09 a
尖棱甲螨科尖棱甲螨属	3.64 ± 0.37 b	5.17 ± 0.35 a
盖头甲螨科盖头甲螨属	0.86 ± 0.17 a	0.90 ± 0.17 a
罗甲螨科毛罗甲螨属	0.41 ± 0.1 a	0.34 ± 0.11 a
微离螨科奇矮螨属	0.71 ± 0.16 a	0.78 ± 0.16 a
巨须螨科-拟巨须螨属	0.89 ± 0.13 a	0.80 ± 0.15 a
盾螨科盾螨属	0.68 ± 0.11 a	0.74 ± 0.14 a
长须螨科长须螨属	0.42 ± 0.12 a	0.59 ± 0.16 a

备注:表中数据为平均数±标准误;在每一行中不同的小写字母表示不同水稻品种间的差异达到了显著水平(LSD 检验, $P < 0.05$)。

从表3可以看出,转Bt基因水稻可显著降低菌甲螨科菌甲螨属($F=4.34$, $d.f.=1, 80$, $P=0.0405$)和尖棱甲螨科奥斯甲螨属($F=8.78$, $d.f.=1, 82$, $P=0.040$)螨类种群数量,但转Bt基因水稻对厉螨

科下盾螨属($F=0.22$, $d.f.=1, 82$, $P=0.6421$)、若甲螨科合若甲螨属($F=0.37$, $d.f.=1, 7$, $P=0.5439$)、囊螨科囊螨属($F=0.49$, $d.f.=1, 79$, $P=0.4880$)、盖头甲螨科盖头甲螨属($F=0.02$, $d.f.=1, 73$, $P=0.8795$)、罗甲螨科毛罗甲螨属($F=0.23$, $d.f.=1, 77$, $P=0.6318$)、微离螨科奇矮螨属($F=0.10$, $d.f.=1, 73$, $P=0.7471$)、巨须螨科-拟巨须螨属($F=0.22$, $d.f.=1, 76$, $P=0.6392$)、盾螨科盾螨属($F=0.11$, $d.f.=1, 71$, $P=0.7425$)、长须螨科长须螨属($F=0.69$, $d.f.=1, 60$, $P=0.4087$)螨类种群数量无显著影响。

5 讨论

转 Bt 水稻在降低农药使用量、增加作物产量和增加种植收益等方面都具有明显优势^[11]。然而,鉴于其在大范围、长时间的商业化推广中对农业生态系统存在的潜在影响,利用非靶标土壤动物进行 Bt 水稻的环境风险评价尤为重要。Griffiths 等(2005)研究结果显示,所有三个地点中转 Bt 玉米品种的线虫种群较小,且线虫的群落结构在每个地点都不相同,Bt 效应并未局限在某一个线虫类群中,Bt 玉米的影响很小且在农业系统的正常变化范围之内^[12]。Höss 等(2008)在研究中发现纯 Cry1Ab 蛋白以及表达 Cry1Ab 蛋白的玉米会对其非靶标土壤线虫 *Caenorhabditis elegans* 产生负面影响^[6]。Manachini 和 Lozzia(2002)发现在黏土中种植的 Bt 作物会对线虫群落产生负面影响^[13]。Bt 水稻(克螟稻 1 号和克螟稻 2 号)均不会对跳虫群落产生影响,且田间实验的结果也显示两种稻田中的主要跳虫(灰橄榄长角跳虫 *Entomobrya griseoolivata* Packard 和钩圆跳虫 *Bourletiella christianseni* Banks)也未受到 Bt 水稻的影响^[14-15]。

从本实验结果可以看出,转 Bt 基因水稻“华恢 1 号”可显著降低长角跳科长角跳属种群数量,而显著增加等节跳科原等跳属跳虫种群数量,但对其它属的跳虫种群数量无显著影响,这有可能是水稻植株导入外源 Bt 基因后,其农艺

性状及一些与植株组织降解有关的理化性状发生了变化,使转 Bt 基因水稻植株组织残体更易于降解,形成了对土壤部分跳虫种群易于生长的腐生环境。另外,转 Bt 基因水稻“华恢 1 号”可显著降低中杆属线虫和尖棱甲螨科尖棱甲螨属螨类种群数量,而显著增加钩唇属线虫种群数量,但对其它属的线虫和螨类种群数量无显著影响,同时,丝尾垫刃属、根结属、拟丽突属线虫在土壤线虫中占据优势种群地位,但与对照水稻品种土壤相比,其种群数量无显著差异,而尖棱甲螨科尖棱甲螨属螨类种群数量在土壤螨类中居于优势种群地位,转 Bt 基因水稻“华恢 1 号”可显著降低尖棱甲螨科尖棱甲螨属螨类种群数量,上述结果表明,转 Bt 基因水稻“华恢 1 号”对土壤跳虫、线虫和螨类种群数量因种类的不同而存在着极大的差异,由于本实验开展周期较短仅测定一年的数据,其结果可能有一定的局限性,不能全面而又真实地反应转 Bt 基因水稻“华恢 1 号”对土壤跳虫、线虫和螨类种群数量的影响,因此,后期实验需要经过多年实验进行长期跟踪研究。

参考文献

- [1] 曹慧,孙辉,杨浩,等. 土壤酶活性及其对土壤质量的指示研究进展. 应用与环境生物学报, 2005, 9(1): 105-109.
- [2] Saxena D, Stotzky G. Bacillus thuringiensis (Bt) toxin released from root exudates and biomass of Bt corn has no apparent effect on earthworms, nematodes, protozoa, bacteria, and fungi in soil. Soil Biology and Biochemistry, 2001, 33: 1225-1230.
- [3] Griffiths BS, Caul S, Thompson J, et al., 2006. Soil microbial and faunal community responses to Bt maize and insecticide in two soils. Journal of Environmental Quality, 35(3): 734-741.
- [4] Kotilainen T, Setälä H, Alatalo I. 2005. Impacts of chitinase-transformed silver birch on leaf decomposition and soil organisms. European Journal of Soil Biology, 40: 155-161.
- [5] Griffiths BS, Heckmann LH, Caul S, et al., 2007. Varietal effects of eight paired lines of transgenic Bt maize and near-isogenic non-Bt maize on soil microbial and nematode community structure. Plant Biotechnology Journal, 5:60-68.
- [6] Höss S, Arndt M, Baumgarte S, et al., 2008. Effects of transgenic corn and Cry1Ab protein on the nematode, *Caenorhabditis elegans*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 70:334-340.

(下转第 11 页)

25日)为晴天,第一次施药至末次调查期间有3次降雨,气象资料见表2。

3 调查与计算

3.1 调查时间

于第1次药前(6月18日)调查基数,第2次药后10d(7月5日)作最终病情结果调查。每小区随机取5点,每点调查5株,如小区不足30株应全区调查,以株为分级单位,调查总数、各级病株数。按照0~9级分级标准进行调查。

3.2 病情分级方法

0级:无任何症状;

1级:心叶明脉或轻花叶;

3级:心叶及中部叶片花叶,部分叶片出现坏死斑;

5级:多数叶片花叶,少数叶片畸形、皱缩,有时叶片或茎部出现坏死斑,或茎部出现短条斑;

7级:多数叶片畸形、细长,茎杆、叶脉产生系统坏死,植株矮化;

9级:植株花叶、畸形严重、危害严重时系统坏死,植株明显矮化,甚至死亡。

3.3 计算公式

$$\text{病指} = \frac{\sum(\text{病株数} \times \text{相对级数值})}{(\text{调查总株数} \times 9)} \times 100$$

$$\text{防治效果}(\%) = \frac{1 - CK_0 \times PT_1}{(CK_1 \times PT_0)} \times 100$$

注:CK₀——药前空白对照病指

CK₁——药后空白对照病指

PT₀——药前施药处理病指

PT₁——药后施药处理病指

4 结果与分析

采用DMRT生物统计方法对防治效果进行分析,结果见表3。

表3 1.8%辛菌胺醋酸盐水剂防治效果

处理	平均病指		平均防效/%	差异显著性
	药前	第2次药后10d14		
1	2.33	3.11	75.5	aA
2	2.22	3.56	70.2	abA
3	2.11	4.11	63.3	abA
4	2.22	5	55.9	bA
5(ck)	2.11	11.44	/	/

试验结果表明,第2次药后10d,1.8%辛菌胺醋酸盐水剂各剂量处理间无显著差别,1.8%辛菌胺醋酸盐水剂商品用量300倍与对照病毒A间存在显著差别。

建议在辣椒病毒零星病斑时开始施药,使用1.8%辛菌胺醋酸盐水剂300倍~450倍进行喷雾防治,隔7d施药1次,连续2次~3次。

(上接第9页)

[7] Bak.onyi G, Szira F, Kiss I, et al., 2006. Preference tests with collembolas on isogenic and Bt-maize. *European Journal of Soil Biology*, 42: 132-135.

[8] Bitzer RJ, Rice ME., Pilcher CD, et al., 2005. Biodiversity and community structure of epedaphic and euedaphic springtails (Collembola) in transgenic rootworm Bt corn. *Environmental Entomology*, 34:1346-1376.

[9] Yu L, Berry RE, Croft BA. 1997. Effects of *Bacillus thuringiensis* toxins in transgenic cotton and potato on *Folsomia candida* (Collembola: Isotomidae) and *Oppia nitens* (Acari: Oribatidae). *Journal of Economic Entomology*, 90:113-118.

[10] Oliveira A, Castro T, Capalbo D, et al., 2007. Toxicological evaluation of genetically modified cotton (Bollgard?) and Dipel? WP on the non-target soil mite *Scheloribates praeincisus* (Acari: Oribatida). *Experimental and Applied Acarology*, 41:191-201.

[11] High SM, Cohen MB, Shu QY, et al., 2004. Achieving successful deployment of Bt rice. *Trends in Plant Science*, 9:286-292.

[12] Griffiths BS, Caul S, Thompson J, et al., 2005. A comparison of soil microbial community structure, protozoa and nematodes in field plots of conventional and genetically modified maize expressing the *Bacillus thuringiensis* CryIAb toxin. *Plant and Soil*, 275: 135-146.

[13] Manachini B, Lozzia GC. 2002. First investigations into the effects of Bt corn crop on Nematofauna. *Bollettino di Zoologia Agraria e di Bachicoltura*, 34: 85-96.

[14] 白耀宇, 蒋明星, 程家安. 2005. 转Bt基因水稻对两种弹尾虫及尖钩宽尾螨捕食作用的影响. *昆虫学报*, 48: 42-47.

[15] Bai YY, Yan RH, Ye GY, et al., 2010. Effects of Transgenic Rice Expressing *Bacillus thuringiensis* CryIAb Protein on Ground-Dwelling Collembolan Community in Postharvest Seasons. *Environmental Entomology*, 39: 243-251.