

DOI: 10.5846/stxb201105170640

祝向钰,李志毅,常亮,袁一扬,戈峰,吴刚,陈法军.转 Bt 水稻土壤跳虫群落组成及其数量变化.生态学报,2012,32(11):3546-3554.

Zhu X Y, Li Z Y, Chang L, Yuan Y Y, Ge F, Wu G, Chen F J. Community structure and abundance dynamics of soil collembolans in transgenic Bt rice paddyfields. Acta Ecologica Sinica 2012, 32(11): 3546-3554.

转 Bt 水稻土壤跳虫群落组成及其数量变化

祝向钰¹,李志毅¹,常亮²,袁一扬²,戈峰²,吴刚³,陈法军^{1,*}

(1. 南京农业大学植物保护学院昆虫学系,昆虫信息生态研究室,南京 210095;

2. 中国科学院动物研究所,北京 100101; 3. 华中农业大学植物保护系,武汉 430070)

摘要:以转 Bt 水稻恢复系“克螟稻”(Cry1Ab 纯合基因型)和“华恢 1 号”(Cry1Ab+Cry1Ac 融合基因型)以及融合基因型转 Bt 水稻杂交系“Bt 汕优 63”及其对照亲本水稻“秀水 11”、“明恢 63”和“汕优 63”稻田土壤跳虫类群为对象,系统研究转 Bt 水稻种植下土壤跳虫群落组成及其数量动态变化,以评价不同基因型和不同育种品系转 Bt 水稻种植下稻田土壤生态安全性。结果表明,转 Bt 水稻种植导致土壤跳虫个别稀有类群的消失,并显著影响半土生和真土生类群以及土壤跳虫总量,但对群落多样性、均匀度和种类丰富度等影响不显著。与对照亲本相比,Cry1Ab 转 Bt 稻田半土生类群和土壤跳虫总量及其种类丰富度指标显著增加了 54.7%、44.4% 和 26.7%;Cry1Ab+Cry1Ac 转 Bt 杂交稻田球角跳属百分比和真土生跳虫数量显著增加了 212.3% 和 180.4%。就恢复系处理而言,与 Cry1Ab 转 Bt 水稻相比,Cry1Ab+Cry1Ac 转 Bt 水稻种植导致棘跳属、球角跳属和原等跳属百分比以及半土生跳虫数量分别显著降低了 62.1%、56.7%、61.8% 和 43.4%,同时,显著提高了裔符跳属百分比达 88.2%。就 Cry1Ab+Cry1Ac 融合基因型转 Bt 水稻而言,与恢复系相比,转 Bt 杂交稻种植导致球角跳属和原等跳属百分比,半土生类群和土壤跳虫总量及其种类丰富度和群落多样性显著增加了 312.9% 和 171.6%、302.4% 和 233.2%,以及 54.0% 和 26.7%,同时,显著降低了裔符跳属百分比达 65.5%。

关键词:转基因水稻;土壤指示物种;功能类群;群落指标;生态安全

Community structure and abundance dynamics of soil collembolans in transgenic Bt rice paddyfields

ZHU Xiangyu¹, LI Zhiyi¹, CHANG Liang², YUAN Yiyang², GE Feng², WU Gang³, CHEN Fajun^{1,*}

1 Department of Entomology, College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Laboratory of Insect Information and Ecology, Nanjing 210095, China

2 Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

3 Department of Plant Protection, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract: Rice is the most important food crop in the world, which feeds half of the world's human population. However the potentially ecological risk of transgenic Bt crops has been being one of the most important issues since the first biotech Bt crop was developed in 1986. Collembolan, one of the key functional groups of soil animals, has been widely used as bioindicator to monitoring soil environmental quality and ecological safety, owing to its large quantity of species and abundances, and the sensitive response to environmental disturbance. The effects of transgenic Bt rice on the community composition and abundance dynamics of soil collembolans were investigated by using the restorer lines, Keminngdao with Cry1Ab and Huahui-1 with Cry1Ab+Cry1Ac, and the hybrid Bt-SY63 with Cry1Ab+Cry1Ac in Shandong, China in 2010.

基金项目:转基因生物新品种培育重大专项课题(2009ZX08012-005B, 2011ZX08012-005, 2011ZX08011-002);教育部霍英东基金(122033);高等院校基本科研业务费项目(KYZ201140)

收稿日期:2011-05-17; 修订日期:2012-01-10

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: fajunchen@njau.edu.cn

Their respective nontransgenic parent control lines, Xiushuidao, Minghui-63 and Shanyou-63, were used as control. Some specifically rare groups of soil collembolan (e.g., Arrhopalites, Cribrochirus and Isotoma for the pure-transgene restorer, Arrhopalites for the dual-transgene restorer, and Isotoma for the dual-transgene hybrid) were disappeared due to the planting of Bt rice. There were significant effects of Bt rice on the abundances dynamics of the hemiedaphic and euedaphic groups and total soil collembolans. However there was no significant effect on the genus richness and community diversity and evenness. Compared with nontransgenic control rice, the *Cry1Ab* Bt rice significantly increased the abundances of hemiedaphic group and total soil collembolans, and genus richness by 54.7%, 44.4%, 26.7%, respectively. The proportion of Hypogastrura and the abundance of Euedaphic group in the paddyfields of hybrid of *Cry1Ab+Cry1Ac* Bt rice increased by 212.3% and 180.4%, compared with its nontransgenic parent control line. Comparison between the two restorer lines with *Cry1Ab* or *Cry1Ab+Cry1Ac* showed that the proportion of Onychiurus, Hypogastrura Proisotoma, and the abundance of hemiedaphic group decreased by 62.1%, 56.7%, 61.8% and 43.4% respectively, and Folsomides increased by 88.2% in the paddyfields of *Cry1Ab+Cry1Ac* Bt rice. Comparison between the restorer line and hybrid with *Cry1Ab+Cry1Ac*, *Cry1Ab+Cry1Ac* rice increased the proportion of Hypogastrura and Proisotoma by 312.9%, and 171.6%, the abundances of Hemiedaphic groups by 302.4%, the total soil collembolans 233.2%, as well as genus richness 54.0% and community diversity 26.7%, respectively. However it significantly decreased proportion of Folsomides by 65.5%. The results indicated that the adoption of transgenic Bt rice hybrid can improve the community stability and individual abundances of soil collembolan flora in paddyfield.

Key Words: Biotech rice; soil bioindicator; functional group; community index; environmental safety

水稻是我国主要的粮食作物之一 2009 年 11 月 27 日中国通过了对转 Bt 抗虫水稻的生物安全认证 这一举措具有里程碑意义 对转基因作物在中国、亚洲乃至全世界的应用产生重大影响。转 Bt 基因抗虫水稻因其自身能合成杀虫蛋白 从而有效地降低了农药施用量 展现出广泛的应用前景。但是 随着转 Bt 基因抗虫作物大面积商品化推广使用 使得大量外源杀虫蛋白以植株残体、根系分泌物或花粉等形式进入土壤环境 进而延长土壤生物与转基因代谢产物的接触时间^[1]。虽然 Bt 蛋白在短期内对土栖动物无负面作用 但由于外源 Bt 蛋白的杀虫特性不同 以及复合基因代谢产物在土壤中的降解及其与土壤腐殖质酸、蒙脱石或铝羟基等的聚合物多样 进而对土壤生物产生诸多直接或间接的不确定性影响^[2] 这也是转基因作物生态风险评估亟待明确的问题。

跳虫是一类广泛分布的小型节肢动物 大多喜好阴凉潮湿的土壤环境以及地表枯枝落叶层等。跳虫种类和数量极其丰富 与线虫和螨类一样是土壤生态系统中的主要功能类群 并参与物质的分解^[3-4]。跳虫对土壤环境污染十分敏感 能敏感指示土壤环境的变化程度^[5-7]。国外常用来开展土壤污染的生态风险评价 如利用土壤跳虫的丰富度和多样性等来开展污染物对土壤环境的影响评估^[8] 利用土壤跳虫的死亡率、繁殖率、生物富集以及行为效应等作为评估被污染土壤修复成功与否的生物标志物等^[9-12]。Al-Deeb 等^[13]对转 *Cry3Bb* 基因棉田土壤弹尾虫的调查显示 转基因棉田和亲本对照棉田的弹尾虫数量没有差异。国内 应用土壤动物进行土壤生态风险评价的研究很少 仅见于转 Bt 基因作物的环境风险研究 如 Yu 等^[14]报道转 *Cry1Ab* 和转 *Cry1Ac* 基因棉花以及转 *Cry III* 基因马铃薯的外源 Bt 毒蛋白对土栖弹尾虫 *Folsomia candida* 和奥甲螨 *Oppianitens* 无显著影响。白耀宇等^[15]研究指出生活在转 Bt 水稻残体环境中的跳虫体内检测有微量 Bt 杀虫蛋白 但这对跳虫的发生量并无不良影响 相反 转 Bt 水稻稻田中跳虫数量反而显著高于对照亲本田。

与室内试验研究相比 大田试验研究是在开放的野外环境下进行的 因此 研究结果更具实用性 并能切实反映实际情况。目前 在大田层次上进行的转基因植物安全性研究报道较少 Wolfenbarger 等^[16]认为转基因植物对非目标生物的影响取决于作物被改造的特征及其与生态系统其它部分复杂的关系。因此 大田环境下转基因水稻的安全性是目前急需解决的问题。本研究选取不同基因型(*Cry1Ab* vs. *Cry1Ab+Cry1Ac*)和不同

类型(恢复系和杂交系)的转 Bt 水稻为研究材料,开展稻田土壤跳虫群落组成及数量动态研究,以进一步明确转 Bt 作物的土壤环境安全性。

1 材料与方法

1.1 供试转 Bt 水稻

试验所用转 Bt 水稻为 3 个转 *Cry1A* 抗虫水稻品系及其对照亲本,包括:转 Bt 水稻恢复系“克螟稻”(*Cry1Ab* 纯合基因型;简称 KMD)及其亲本“秀水 11”(简称 XSD)稻种由浙江大学原子能研究所提供;转 Bt 水稻恢复系“华恢 1 号”(*Cry1Ab+CryAc* 融合基因型;简称 HH1)及其亲本“明恢 63”(简称 MH63)转 Bt 水稻杂交系“Bt 汕优 63”(*Cry1Ab+CryAc* 融合基因型;简称 Bt-SY63)及其对照亲本“汕优 63”(简称 SY63)稻种均由华中农业大学植物科技学院提供。

1.2 试验地布局及耕种

试验地设在山东省宁津县南京农业大学植物保护学院气候变化创新研究基地(37.64°N,116.8°E)。试验地由面积相等的 6 块相邻样地组成,KMD 与 XSD、HH1 与 MH63、Bt-SY63 与 SY63 各东西向两块相邻样地,转基因及其对照亲本由西向东排列,3 个水稻品系自南往北依次排列,这样由南向北,前两个水稻品系为恢复系的纯和基因型和融合基因型,后两个品系为融合基因型的恢复系和杂交系;每样地划分为 4 个小区,每小区 5 m × 20 m,且小区东西向和南北向玉米隔离带均为 5 m。水稻于 5 月 15 日旱作直播,播种前按每亩 50 kg 氮肥、30 kg 磷肥和 20 kg 钾肥施底肥,大田漫灌 1 次,并于水稻拔节期和孕穗期分别追施 N 肥(20 kg/666.7 m²)、P 肥(12 kg/666.7 m²)和 K 肥(8 kg)各 1 次;此外,播种后间隔 3 周人工除草和灌溉各 1 次。

1.3 土壤取样、跳虫分离及其鉴定

自水稻播种后一个月,即 6 月 11 日开始,每 30 d 进行一次土壤采样,试验于 11 月 8 日结束,共采样 6 次。采样时,用 100 mL 环刀按照品种顺序逐个小区(重复)进行,每小区按 S 形取样方法取 6 环刀,每 2 环刀随机放入一自封袋中,做好标记后带回实验室分别进行分离鉴定。土壤跳虫的分离采用 Tullgren 干漏斗法,干漏斗上部为 40W 灯泡,干漏斗中部为金属网筛,网眼 2 mm,干漏斗下部用装有浓度为 75% 酒精的白色塑料小瓶收集跳虫^[17]。将带回的每个土样混匀后,用 100 mL 标准环刀量取一环刀(即 100 mL)土样置于干漏斗上,每次分离时间为 48 h。将分离得到的跳虫按土样标号分别用酒精清洗,然后用霍式封固液封片,玻片做好标号后置于 50—60 °C 的烘箱中干燥 1 周,使虫体透明、肢体展开,以便进行分类鉴定。土壤跳虫鉴定由中国科学院动物所担任,鉴定到属,同时记录跳虫数量,转化为每平方米土壤跳虫数量,并进一步统计跳虫类群的多样性(*H'*)、种类丰富度(*SR*)和均匀度(*J*)等指数^[18]。此外,按照殷秀琴等^[19]的方法,将土壤跳虫划分为优势类群(即个体数占总捕获量 10% 以上者)、常见类群(即个体数占总捕获量 1%—10% 者)和稀有类群(即个体数占总捕获量 1% 以下者)。同时,按照其活动位置,将土壤跳虫划分为土上生(地表活动)、真土生(土下活动)和半土生(地上地下活动)三类(表 1)。

1.4 统计分析

用 SPSS16.0 统计软件进行试验数据的分析。对 6 月 11—11 月 8 日期间,共计 6 次采样的数据采用“双因子重复测量方差分析”(即 Two-way Repeated Time ANOVA),分别比较 2 对恢复系的不同基因型(*Cry1Ab* 纯合基因型 KMD vs. *Cry1Ab+Cry1Ac* 融合基因型 HH1)或 *Cry1Ab+Cry1Ac* 融合基因型的 2 对育种品系(即恢复系 HH1 和杂交系 Bt-SY63)转 Bt 水稻及其对照亲本大田土壤跳虫不同类群百分比组成、密度、多样性指数、种类丰富度和均匀性指数的差异。并进一步通过“群体成对 *T* 检验”(即 Group-paired *T* test)统计分析调查期间转 Bt 水稻及其对照亲本间,以及不同水稻品种、不同功能群间以上指标数量动态的显著性差异($P < 0.05$)。数据分析前,对绝对值数据进行对数转换,对百分比数据进行反正弦平方根转化,以符合正态分布假设。

2 结果与分析

2.1 不同基因型和不同育种品系转 Bt 水稻大田土壤跳虫群落结构

2.1.1 土壤跳虫科(属)及其类群组成

2009 年 6 月 15 日—11 月 15 日期间,转 Bt 水稻及其对照亲本稻田共发现 6 科 12 属土壤跳虫(表 1)。其

表 1 摇不同基因型 (*Cry1Ab* 纯合基因型 vs. *Cry1Ab+Cry1Ac* 融合基因型) 和不同育种品系 (恢复系 vs. 杂交系 转 Bt 水稻大田土壤跳虫优势类群 (>10%)、常见类群 (介于 1% 和 10%) 和稀有类群 (<1%) 组成

Table 1 Composition and structure of the dominant (>10%), common (≥1% and <10%) and rare (<1%) groups of soil collembolan genus in transgenic Bt rice with different types of transgenes (pure *Cry1Ab* transgene vs. dual *Cry1Ab+Cry1Ac* transgenes) and cultivar lines (restorer vs. hybrid)

科 Family	属 Genus	分布习性 Distribution habitat	<i>Cry1Ab</i> 纯合基因型恢复系 Restorer of pure-transgene		<i>Cry1Ab+Cry1Ac</i> 融合基因型恢复系 Restorer of dual-transgenes		<i>Cry1Ab+Cry1Ac</i> 融合基因型杂交系 Hybrid of dual-transgenes	
			Bt-rice (cv. KMD)	non-Bt rice (cv. XSD)	Bt-rice (cv. HHI)	non-Bt rice (cv. MH63)	Bt-rice (cv. Bt-SY63;10)	non-Bt rice (cv. SY63; 9)
长角跳科 Entomobryidae	长角跳属 <i>Entomobrya</i>	土上生	13.43±7.04	8.60±2.60 b	17.72±7.14	28.94±10.36 a,A	18.94±6.63	13.82±4.78 B
钩圆跳科 Bourletelliidae	钩圆跳属 <i>Bourletella</i>	土上生	1.66±1.66	5.06±4.93	4.58±4.58	2.80±1.76	0.83±0.83	0.22±0.22
齿棘圆跳科 Arrhopalitidae	齿棘圆跳属 <i>Arrhopalites</i>	土上生		0.46±0.46		0.71±0.65		0.22±0.22
棘跳科 Onychiuridae	棘跳属 <i>Onychiurus</i>	真土生	9.44±5.98 a	10.26±6.25 a	3.58±2.34 b	1.25±1.14 b	4.07±1.82	4.18±3.71
	原棘跳属 <i>Probolaphorura</i>		4.17±4.17	6.36±4.02	6.39±4.31	1.92±1.75	1.95±1.95	1.24±1.24
	<i>Gribochiurus</i>	真土生		0.76±0.76				
球角跳科 Hypogastruridae	球角跳属 <i>Hypogastrura</i>	真土生	7.53±3.12 a	9.68±3.73 a	3.26±1.57 b,B	3.42±3.12 b	* 13.46±3.58 A	* 4.31±3.13
等节跳科 Isotomidae	高符跳属 <i>Folsomites</i>	半土生	23.63±7.35 b	30.53±12.42	44.48±13.09 a,A	34.93±10.52 A	15.37±5.77 B	23.08±15.61 B
	原等跳属 <i>Proisotoma</i>	半土生	37.97 ±12.40 a	26.29±13.26	14.50±9.08 b,B	25.28±4.05 B	39.38±13.17 A	48.10±15.14 A
	等节跳属 <i>Isotoma</i>	半土生		0.46±0.46		2.08±2.08		2.51±2.51
	似等跳属 <i>Isotomodes</i>	半土生	2.18±2.18	1.52±1.37	3.41±2.17	0.75±0.68	4.44±2.18	2.35±2.35
	类符跳属 <i>Folsomina</i>	半土生					1.35±0.95	0.42±0.42

摇摇不同小写字母和不同大写字母分别表示转 Bt 水稻及其对照亲本之间,不同基因型转 Bt 水稻恢复系 KMD (*Cry1Ab* 纯和基因型) 与 HHI (*Cry1Ab+Cry1Ac* 融合基因型) (或其对照亲本 XSD 与 MH63) 之间,以及 *Cry1Ab+Cry1Ac* 融合基因型育种品系恢复系 HHI 与杂交系 Bt+SY63 (或其对照亲本 MH63 与 SY63) 之间差异显著;成对 *T* 检验;*P*<0.05

中,长角跳科的长角跳属、钩圆跳科的钩圆跳属以及齿棘圆跳科的齿棘圆跳属为土上生类群;棘跳科的棘跳属、原棘跳属和 *Cribrachiurus*,以及球角跳科的球角跳属为真土生类群;等节跳科的裔符跳属、原等跳属、等节跳属、似等跳属和类符跳属为半土生类群。由表 1 可见,裔符跳属和原等跳属为转 Bt 水稻及其对照亲本大田优势类群,长角跳属是除 XSD 外其它水稻大田优势类群;此外,棘跳属还是 XSD 大田优势土壤跳虫类群,球角跳属还是 Bt-SY63 大田优势土壤跳虫类群;XSD 的稀有类群为齿棘圆跳属, *Cribrachiurus* 和等节跳属, MH63 的稀有类群为齿棘圆跳属和似等跳属, SY63 的稀有类群为类符跳属;除了优势类群和稀有类群外,其它为常见类群。相对于纯合基因型恢复系(如齿棘圆跳属、*Cribrachiurus* 和等节跳属)、融合基因型恢复系(如齿棘圆跳属)和融合基因型杂交系(如等节跳属)而言,转 Bt 水稻种植导致个别土壤跳虫稀有类群的消失(表 1)。

统计分析进一步显示,对转 Bt 水稻恢复系处理而言,不同基因型对棘跳属 ($F=17.25, P<0.001$) 和球角跳属 ($F=6.95, P<0.05$) 影响显著(表 2);与 *Cry1Ab* 转 Bt 水稻相比, *Cry1Ab+Cry1Ac* 转 Bt 水稻可显著降低棘跳属、球角跳属和原等跳属百分比的 62.1%、56.7% 和 61.8% ($P<0.05$; 表 1), 并显著增加裔符跳属百分比达 88.2% ($P<0.05$; 表 1)。对 *Cry1Ab+Cry1Ac* 处理而言,不同育种品系可显著影响钩圆跳属 ($F=4.76, P=0.049<0.05$)、球角跳属 ($F=17.02, P=0.0009<0.001$) 和原等跳属 ($F=10.96, P=0.0079<0.01$) 百分比,且转基因处理还可显著影响球角跳属百分比 ($F=6.63, P=0.024<0.05$; 表 2);与对照亲本相比,转 Bt 杂交稻种植可显著增加球角跳属百分比的 212.3%;与转 Bt 水稻恢复系相比,转 Bt 杂交稻种植可显著提高球角跳属和原等跳属百分比的 312.9% 和 171.6%,并显著降低裔符跳属百分比的 65.5% ($P<0.05$; 表 1)。

表 2 转 Bt 水稻恢复系的基因型(纯合基因型 vs. 融合基因型)和转基因处理(转 Bt 基因 vs. 非转 Bt 基因),以及融合基因型育种品系类型(恢复系 vs. 杂交系)和转基因处理(转 Bt 基因 vs. 非转 Bt 基因)对土壤跳虫属类组成、数量和群落参数等影响的两因子重复测量方差分析(P 值)

Table 2 Two-way Repeated ANOVAs to clarify the effects of different genotypes (Pure *Cry1Ab* vs. Dual *Cry1Ab+Cry1Ac*) or breed (Restorer vs Hybrid) cultivars of transgenic Bt rice on the genus components, abundance and community indexes of soil collembolans (P)

测定指标 Measured indexes	转 Bt 水稻恢复系 (纯合基因型 vs. 融合基因型) Restorers of Bt rice (Pure genotype vs. Dual genotype)			融合基因型育种品系 (恢复系 vs. 杂交系) Breeding cultivars of dual Bt rice (Restorer vs. Hybrid)		
	基因型 Genotype	转基因 Transgenic	基因型× 转基因 Genotype× Transgenic	育种系 IBreeding	转基因 Transgenic	育种系× 转基因 Breeding× Transgenic
属类组成 / % Genus components						
	钩圆跳属 <i>Bourletiella</i>			0.049*	0.50	0.93
	棘跳属 <i>Onychiurus</i>	0.0009***	0.84	0.15		
	球角跳属 <i>Hypogastrura</i>	0.022*	0.67	0.47	0.0009***	0.024*
	原等跳属 <i>Proisotoma</i>				0.0079**	0.15
数量动态 Abundances' dynamics	土上生类群 <i>Epedaphic</i>	0.51	0.60	0.37	0.72	0.62
	真土生类群 <i>Euedaphic</i>	0.001***	0.18	0.055	0.006**	0.019*
	半土生类群 <i>Hemiedaphic</i>	0.000***	0.009**	0.17	0.001***	0.85
	总类群 <i>Total</i>	0.000***	0.012*	0.038*	0.001***	0.48
科属丰富度 <i>Genus richness (S)</i>		0.000***	0.70	0.097	0.001***	0.19
群落多样性 <i>Community diversity (H')</i>		0.006**	0.33	0.39	0.027*	0.54
群落均匀度 <i>Community evenness (J)</i>		0.015*	0.37	0.19	0.19	0.63

* $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

2.2 不同基因型和不同育种品系转 Bt 水稻大田土壤跳虫数量差异

2.2.1 土壤跳虫总发生量

对转 Bt 水稻恢复系处理而言,不同基因型 ($F=41.0, P=0.000<0.001$) 及转 Bt 处理 ($F=8.7, P=0.012$) 都显著影响土壤跳虫总量,且存在显著的交互作用 ($F=5.5, P=0.038<0.05$) (表 2)。其中,与对照亲本水稻相比, *Cry1Ab* 转 Bt 水稻土壤跳虫累计发生量显著降低了 44.4% ($P<0.05$; 图 1D)。与 *Cry1Ab* 转 Bt 水稻相

比, *Cry1Ab+Cry1Ac* 转 Bt 水稻恢复系土壤跳虫累计发生量显著降低了 51.4% ($P<0.05$; 图 1D)。对 *Cry1Ab+Cry1Ac* 处理而言, 不同育种品系间土壤跳虫发生动态差异显著 ($F=17.0, P=0.001$; 表 2); 其中, 与转 Bt 水稻恢复系相比, 转 Bt 杂交稻土壤跳虫发生量增加显著, 调查期间累计发生量增加 233.2% ($P<0.05$; 图 1D)。

2.2.2 土上生、真土生和半土生土壤跳虫发生量

不同基因型 ($F=21.2, P=0.001$ 和 $F=27.1, P<0.001$) 和不同育种品系 ($F=11.0, P=0.006$ 和 $F=18.0, P=0.001$) 稻田真土生和半土生跳虫类群发生动态差异显著, 且转 Bt 处理可显著影响融合基因型转 Bt 水稻处理真土生跳虫 ($F=7.3, P=0.019<0.05$) 和转 Bt 水稻恢复系处理半土生跳虫发生动态 ($F=9.9, P=0.009<0.001$; 表 2)。与对照亲本相比, *Cry1Ab* 转 Bt 水稻显著降低了半土生跳虫发生动态, 其累计发生量减少达 54.7% ($P<0.05$; 图 1C); *Cry1Ab+Cry1Ac* 转 Bt 水稻杂交系显著提高了真土生类群土壤跳虫发生动态, 其累计发生量增加达 180.4% ($P<0.05$; 图 1B)。此外, 与 *Cry1Ab* 转 Bt 水稻相比, *Cry1Ab+Cry1Ac* 转 Bt 水稻恢复系显著降低了半土生土壤跳虫发生动态, 其累计发生量降低达 43.4% ($P<0.05$; 图 1C); 与 *Cry1Ab+Cry1Ac* 转 Bt 水稻恢复系相比, *Cry1Ab+Cry1Ac* 转 Bt 杂交稻显著提高了半土生跳虫发生量, 其累计发生量增幅达 302.4% ($P<0.05$; 图 1C)。

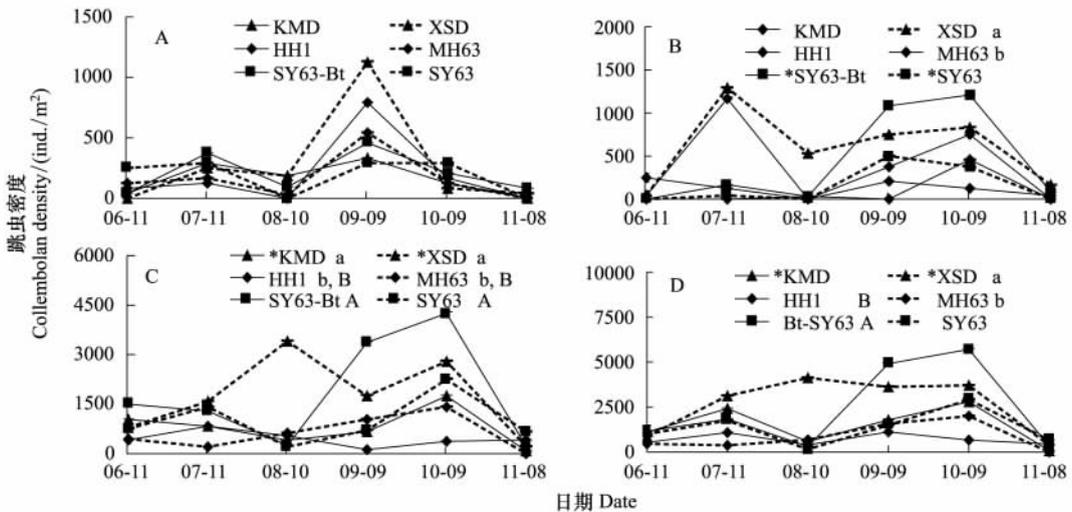


图 1 不同基因型(纯合基因型 vs. 融合基因型)和不同品系(恢复系 vs. 杂交系)转 Bt 水稻与对照亲本大田土壤跳虫土上生(A)、真土生(B)和半土生(C)类群及其总类群(D)发生动态

Fig. 1 Abundance dynamics of the epedaphic (A), euedaphic (B), hemiedaphic (C) and total groups (D) of soil collembolans occurred in paddyfields of different genotype (pure *Cry1Ab* cv. KMD vs. dual *Cry1Ab+Cry1Ac* cv. HH1) and different breeding lines (Restorer cv. HH1 vs Hybrid cv. Bt-SY63) of Bt rice and the respective controls of parental lines (cv. XSD, MH63 and SY63) of non-transgenic rice

不同小写字母和不同大写字母分别表示转 Bt 水稻及其对照亲本之间, 以及不同基因型转 Bt 水稻 *Cry1Ab* 纯合基因型 KMD 与 *Cry1Ab+Cry1Ac* 融合基因型 HH1 (或其对照亲本 XSD 与 MH63) 之间, 以及不同 *Cry1Ab+Cry1Ac* 融合基因型育种品系恢复系 HH1 与杂交系 Bt-SY63 (或其对照亲本 MH63 与 SY63) 之间差异显著; 群体成对 *T* 检验: $P<0.05$

2.3 土壤跳虫种类丰富度 群落多样性以及群落均匀性指标

在土壤跳虫种类丰富度方面, 对转 Bt 水稻恢复系处理而言, 不同基因型可显著影响土壤跳虫种类丰富度 ($F=26.38, P<0.001$; 表 2)。其中, 与对照亲本相比, *Cry1Ab* 转 Bt 水稻显著降低了土壤跳虫种类丰富度, 发生期平均降幅达 26.7% ($P<0.05$; 图 2A)。此外, 对 *Cry1Ab+Cry1Ac* 融合基因型处理而言, 不同育种品系间土壤跳虫种类丰富度差异也达显著水平 ($F=20.3, P=0.001$; 表 2)。与转 Bt 水稻恢复系相比, 转 Bt 水稻杂交系显著增加了土壤跳虫种类丰富度, 发生期平均增幅达 54.0% ($P<0.05$; 图 2A)。

在土壤跳虫群落多样性方面, 尽管不同基因型可显著影响恢复系处理稻田土壤跳虫群落多样性 ($F=11.2, P=0.006<0.01$; 表 2) 但 *Cry1Ab* 转 Bt 水稻与 *Cry1Ab+Cry1Ac* 转 Bt 水稻恢复系稻田土壤跳虫群落多样性差异不显著 ($P>0.05$; 图 2B)。对 *Cry1Ab+Cry1Ac* 处理而言, 不同育种品系间土壤跳虫群落多样性差异

显著 ($F=6.4, P=0.027<0.05$; 表 2); 与转 Bt 水稻恢复系相比, 转 Bt 杂交稻显著提高了土壤跳虫群落多样性, 平均增幅达 16.9% ($P<0.05$; 图 2B)。

在土壤跳虫群落均匀性方面, 对转 Bt 水稻恢复系而言, 不同基因型处理可显著影响稻田土壤跳虫群落均匀性 ($F=8.0, P=0.015$; 表 2), 但 *Cry1Ab* 转 Bt 水稻与 *Cry1Ab+Cry1Ac* 转 Bt 水稻恢复系稻田土壤跳虫群落均匀性差异不显著 ($P>0.05$; 图 2C)。对 *Cry1Ab+Cry1Ac* 处理而言, 不同育种品系间及转 Bt 水稻与其对照亲本间土壤跳虫群落均匀性差异均不显著 ($P>0.05$; 表 2 和图 2C)。

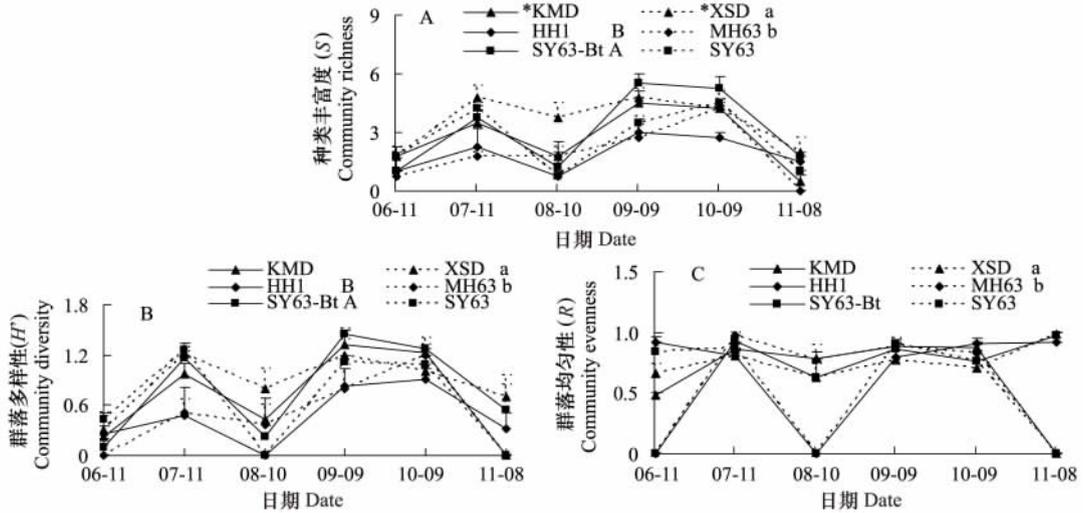


图 2 不同基因型(纯合基因型 vs. 融合基因型)和不同品系(恢复系 vs. 杂交系)转 Bt 水稻与对照亲本大田土壤跳虫种类丰富度(A), 群落多样性(B)和群落均匀性(C)

Fig. 2 Genus richness (A), community diversity (B) and evenness (C) of soil collembolans in paddyfields of different genotype (pure *Cry1Ab* cv. KMD vs. dual *Cry1Ab+Cry1Ac* cv. HH1) and different breeding lines (Restorer cv. HH1 vs Hybrid cv. Bt-SY63) of Bt rice and the respective controls of parental lines (cv. XSD, MH63 and SY63) of non-transgenic rice

不同小写字母和不同大写字母分别表示转 Bt 水稻及其对照亲本之间, 以及不同基因型转 Bt 水稻 *Cry1Ab* 纯合基因型 KMD 与 *Cry1Ab+Cry1Ac* 融合基因型 HH1 (或其对照亲本 XSD 与 MH63) 之间, 以及不同 *Cry1Ab+Cry1Ac* 融合基因型育种品系恢复系 HH1 与杂交系 Bt-SY63 (或其对照亲本 MH63 与 SY63) 之间差异显著; 群体成对 *T* 检验: $P<0.05$

3 讨论与展望

土壤是生态系统中物质循环和能量转化过程的重要场所, 而土壤生物又是土壤质量评价的重要生物指标。特定环境下的土壤动物群落结构通常是稳定的, 当环境发生变化时, 群落结构也随之发生相应改变。跳虫作为土壤动物的三大功能类群之一, 种类丰富, 个体密度大, 多样性高, 是评价土壤质量最重要的指示物种之一^[20-23]。本文通过研究 3 种转 *Cry1A* 品系水稻(即 *Cry1Ab* 纯合基因型恢复系“克螟稻”, *Cry1Ab+Cry1Ac* 融合基因型恢复系“华恢 1 号”和杂交系“Bt 汕优 63”)及其对照亲本(秀水 11、明恢 63 和汕优 63)稻田土壤跳虫群落组成和数量动态, 以期对转基水稻恢复系不同基因型(即 *Cry1Ab* 纯合基因型和 *Cry1Ab+Cry1Ac* 融合基因型)和 *Cry1Ab+Cry1Ac* 融合基因型不同育种类型(即恢复系和杂交系)转 Bt 水稻土壤生态安全性做出评价。结果显示, 不同基因型和不同育种方式都显著影响了大田土壤跳虫的群落组成, 发生量和相关群落指数; 但与对照亲本相比, 转 Bt 基因处理对土壤跳虫的影响大都表现不显著, 然而对不同生活类群的跳虫出现了不同的影响, 这可能与食物源有关; 其中, 土上生的类群主要为植食性的, 真土生的类群多为菌食性的, 半土生的类群多为腐食性的。由于转基因水稻是稻田生态系统的初级生产者, 产生的毒性物质通过植株残体和根系分泌物等进入土壤, 与土壤腐殖质酸、蒙脱石或铝羟基等的聚合, 进而延长土壤生物与转基因代谢产物的接触时间^[1], 改变根际微环境, 导致根际微生物群落结构发生变化^[24], 最终会破坏稻田土壤食物链, 因此食物源的变化最终导致了不同生活类群土壤跳虫的不同反应。James 等报道转 Bt 基因作物的 Bt 蛋白可通过根系分泌物

及作物残体进入土壤中 影响土壤中的无脊椎动物以及养分循环^[25]。

与融合基因型转 Bt 水稻恢复系相比 融合基因型转 Bt 水稻杂交系显著提高了稻田球角跳属百分比。此外 与对照亲本相比 融合基因型转 Bt 水稻也显著提高了稻田真土生类群土壤跳虫数量。白耀宇等^[15] 研究表明 在 Bt 稻残体环境中生活的跳虫有微量 Bt 杀虫蛋白 但这对其数量的增长并无不良影响 ,Bt 稻田中跳虫数量反而显著高于对照田的。可见 转 Bt 水稻大田土壤跳虫功能类群对不同基因型和不同育种类型的反应不同。纯合基因型恢复系对大田土壤跳虫的负面作用较大 而融合基因杂交系对大田土壤跳虫不但没有不良影响 相反还能促进土壤跳虫类群数量增加。另一方面融合基因型中的杂交系较恢复系在半土生类群和总跳虫数量 以及群落多样性和均匀度上影响较小。可见 生产中转 Bt 水稻杂交系的推广有利于提高土壤跳虫数量和种类丰富度 增加土壤跳虫群落的稳定性 进而有利于其土壤生态功能的发挥。

本研究结果还表明 不同类型土壤跳虫对不同基因型和不同育种类型的转 Bt 水稻的响应不同。各种跳虫对环境扰动所表现出的不一致性可能与跳虫自身的环境适应能力及其生态可塑性 以及种间竞争能力等相关。Benedict 等^[26] 和 Sachs 等^[27] 认为温度、土壤湿度及肥料等环境因素可影响转 Bt 基因植物外源蛋白的表达量。周冬生等^[28] 的试验结果也证明了这一点。Hagvar^[29] 指出环境胁迫下竞争可能对群落组成起着一定的作用。但仅仅通过土壤跳虫群落生态学研究很难对转 Bt 水稻的环境安全性做出正确而清晰的评价。国内外已开展了相关土壤跳虫的生态毒性测试来评价土壤污染的生态风险研究^[30-31] 包括利用同工酶凝胶电泳和酶活性检测的方法^[32] 对酯酶同工酶进行研究 并以此作为评价转基因植物对昆虫等环境生物影响的检测和监测手段。另外 近年来 在跳虫繁殖率抑制实验评估基础上兴起的跳虫分子生态效应研究也逐渐被关注 而将土壤跳虫生物毒性测试与新技术 如跳虫芯片技术^[33] 等相结合进行土壤生态风险评价则是未来研究发展的重要方向。相信 随着土壤学、生态学、分子生物学和环境科学等学科间的交叉渗透和发展 对土壤跳虫生态毒理学研究将会有更深层次的认识和发展 而利用土壤跳虫作为环境指示生物将是开展转基因作物环境风险评价的重要研究手段和有利工具。

致谢:本研究在土壤样品的分离和鉴定工作中得到了中国科学院动物研究所种群生态与全球变化研究组的支持与协助 在土壤样品采集与分离过程中得到本实验室党志浩和万贵钧同学的帮助 特此致谢。

References:

- [1] Saxena D, Stotzky G. Bt toxin uptake from soil by plants. *Nature Biotechnology*, 2001, 19(3): 199-199.
- [2] Crecchio C, Stotzky G. Biodegradation and insecticidal activity of the toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* bound on complexes of montmorillonite-humic acids-Al hydroxypolymers. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33(4/5): 573-581.
- [3] Chen J X, Ma Z C, Yan H J, Zhang F. Roles of springtails in soil ecosystem. *Biodiversity Science*, 2007, 15(2): 154-161.
- [4] Ge F. *Advanced Ecology*. 2nd ed. Beijing: Science Press, 2008: 417-418.
- [5] Ke X, Liang W J, Yu W T, Xie R D, Weng C L, Yang Y M, Yin W Y. Community structure and seasonal change of soil micro-arthropodes in the Lower Reaches of Liaohe River Plain under different land utilization. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15(4): 600-604.
- [6] Ponge J F, Gillet S, Dubs F, Fedoroff E, Haese L, Sousa J P, Lavelle P. Collembolan communities as bioindicators of land use intensification. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, 35(6): 813-826.
- [7] Wu D H, Zhang B, Chen P. Community structure of soil collembolas in the middle and west plains of Jilin Province. *Acta Entomologica Sinica*, 2005, 48(6): 935-942.
- [8] Fountain M T, Hopkin S P. *Folsomia candida* (Collembola): a standard soil arthropod. *Annual Review of Entomology*, 2005, 50: 201-222.
- [9] ISO (International Standard Organization). No. ISO11267. Soil Quality-Inhibition of Reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by Soil Pollutants. Geneva: International Standard Organization, 1999.
- [10] Fava F, Di Gioia D, Marchetti L. Role of the reactor configuration in the biological detoxification of a dump site-polychlorobiphenyl-contaminated soil in lab-scale slurry phase conditions. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2000, 53(2): 243-248.
- [11] Juvonen R, Martikainen E, Schultz E, Joutti A, Ahtiainen J, Lehtokari M. A battery of toxicity tests as indicators of decontamination in composting oily waste. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2000, 47(2): 156-166.
- [12] Diez J A, De la Torre A I, Cartagena M C, Carballo M, Vallejo A, Muñoz M J. Evaluation of the application of pig slurry to an experimental crop using agronomic and ecotoxicological approaches. *Journal of Environmental Quality*, 2001, 30(6): 2165-2172.
- [13] Al-Deeb M A, Wild G E, Blair J M, Todd T C. Effect of Bt corn for corn rootworm control on nontarget soil microarthropods and nematodes.

- Environmental Entomology, 2003, 32(4): 859–865.
- [14] Yu L, Berry R E, Croft B A. Effects of *Bacillus thuringiensis* toxins in transgenic cotton and potato on *Folsomia candida* (Collembola: Isotomidae) and *Oppia nitens* (Acari: Oribatidae). *Journal of Economic Entomology*, 1997, 90(1): 113–118.
- [15] Bai Y Y, Jiang M X, Cheng J A. Impacts of transgenic *cryI Ab* rice on two collembolan species and predation of *Microvelia horvathi* (Hemiptera: Veliidae). *Acta Entomologica Sinica*, 2005, 48(1): 42–27.
- [16] Wolfenbarger L L, Phifer P R. The ecological risks and benefits of genetically engineered plants. *Science*, 2000, 290(5499): 2088–2093.
- [17] Yin W Y. Subtropical Soil Animals of China. Beijing: Science Press, 1992: 1–95.
- [18] Wu D H, Yin W Y, Yan R Q. Influence of vegetation reclamation type on the characteristics of soil collembola community in seriously alkalinized and degraded grasslands of Songnen Plain. *China Environmental Science*, 2008, 28(5): 466–470.
- [19] Yin X Q, Wang H X, Zhou D W. Characteristics of soil animals' communities in different agricultural ecosystem in the Songnen Grassland of China. *Acta Ecologica Sinica*, 2003, 23(6): 1071–1078.
- [20] Urzelai A, Hernández A J, Pastor J. Biotic indices based on soil nematode communities for assessing soil quality in terrestrial ecosystems. *The Science of the Total Environment*, 2000, 247(2/3): 253–261.
- [21] Schloter M, Dilly O, Munch J C. Indicators for evaluating soil quality. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2003, 98(1/3): 255–262.
- [22] Parisi V, Menta C, Gardi C, Jacomini C, Mozzanica E. Microarthropod communities as a tool to assess soil quality and biodiversity: a new approach in Italy. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2005, 105(1/2): 323–333.
- [23] Li Y J, Wu J H, Chen H L, Chen J K. Nematodes as bioindicator of soil health//methods and applications. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2005, 16(8): 1541–1546.
- [24] Oger P, Petit A, Dessaux Y. Genetically engineered plants producing opines alter their biological environment. *Nature Biotechnology*, 1997, 15(4): 369–372.
- [25] James R R. Utilizing a social ethic toward the environment in assessing genetically engineered insect-resistance in trees. *Agric Human Values*, 1997, 14(3): 237–249.
- [26] Benedict J H, Sachs E S, Altman D W, Deaton W R, Kohel R J, Ring D R, Berberich S A. Field performance of cottons expressing transgenic CryIA insecticidal proteins for resistance to *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea*. *Journal of Economic Entomology*, 1996, 89(1): 230–238.
- [27] Sachs E S, Benedict J H, Stelly D M, Taylor J F, Altman D W, Berberich S A, Davis S K. Expression and segregation of genes encoding CryIA insecticidal proteins in cotton. *Crop Science*, 1998, 38(1): 1–11.
- [28] Zhou D S, Wu Z T, Wang X L, Ni C G, Zheng H J, Xia J. Influence of fertilization and environmental temperature on the resistance of Bt transgenic cotton to cotton bollworm. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2000, 27(4): 352–357.
- [29] Hågvær S. Effects of liming and artificial acid rain on Collembola and Protura in coniferous forest. *Pedobiologia*, 1984, 27(5): 341–354.
- [30] Scott-Fordsmand J J, Krogh P H, Weeks J M. Responses of *Folsomia fimetaria* (Collembola: Isotomidae) to copper under different soil copper contamination histories in relation to risk assessment. *Environmental Toxicity and Chemistry*, 2000, 19(5): 1297–1303.
- [31] Eom I C, Rast C, Veber A M, Vasseur P. Ecotoxicity of a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2007, 67(2): 190–205.
- [32] Benton M J, Guttman S I. Electrophoretic evidence of esterase inhibition in larval caddisflies exposed to inorganic mercury. *Water Environment Research*, 1997, 69(2): 240–243.
- [33] Van Straalen N M. Community structure of soil arthropods as bioindicator of soil health. Pankhurst C E, Double B M, Gupta V V S R, eds. *CAB International*, 1997: 235–264.

参考文献:

- [3] 陈建秀, 麻智春, 严海娟, 张峰. 跳虫在土壤生态系统中的作用. *生物多样性*, 2007, 15(2): 154–161.
- [4] 戈峰. 现代生态学(第二版). 北京: 科学出版社, 2008: 417–418.
- [5] 柯欣, 梁文举, 宇万太, 谢荣栋, 翁朝联, 杨毅明, 尹文英. 下辽河平原不同土地利用方式下土壤微节肢动物群落结构研究. *应用生态学报*, 2004, 15(4): 600–604.
- [7] 吴东辉, 张柏, 陈鹏. 吉林中、西部平原区土壤弹尾虫群落结构的比较. *昆虫学报*, 2005, 48(6): 935–942.
- [15] 白耀宇, 蒋明星, 程家安. 转 Bt 基因水稻对两种弹尾虫及尖钩宽尾蜻捕食作用的影响. *昆虫学报*, 2005, 48(1): 42–47.
- [17] 尹文英. 中国亚热带土壤动物. 北京: 科学出版社, 1992: 1–95.
- [18] 吴东辉, 尹文英, 阎日青. 植被恢复方式对重度退化草原土壤跳虫群落的影响. *中国环境科学*, 2008, 28(5): 466–470.
- [19] 殷秀琴, 王海霞, 周道玮. 松嫩草原区不同农业生态系统土壤动物群落特征. *生态学报*, 2003, 23(6): 1071–1078.
- [23] 李玉娟, 吴纪华, 陈惠丽, 陈家宽. 线虫作为土壤健康指示生物的方法及应用. *应用生态学报*, 2005, 16(8): 1541–1546.
- [28] 周冬生, 吴振廷, 王学林, 倪春耕, 郑厚今, 夏静. 施肥量和环境温度对转 Bt 基因棉抗虫性的影响. *安徽农业大学学报*, 2000, 27(4): 352–357.