

“十一五”国家重点图书

生态农业与农业生态丛书

转基因作物的生态风险评价

——以转Bt基因玉米为例

ZHUANJIYIN ZUOWU DE SHENGTAI FENGXIAN PINGJIA

王建武 冯远娇 聂呈荣 著



化学工业出版社

“十一五”国家重点图书

生态农业与农业生态丛书

转基因作物的生态风险评价

——以转Bt基因玉米为例

ZHUANJIYIN ZUOWU DE SHENGTAI FENGXIAN PINGJIA

王建武 冯远娇 聂呈荣 著



化学工业出版社

·北京·

本书是《生态农业与农业生态丛书》之一。全书共分为9章,内容主要包括Bt作物对土壤生态系统的影响及化学防御反应研究进展、Bt玉米秸秆释放的Bt蛋白在土壤中的降解、环境因素对Bt玉米秸秆中Bt蛋白降解动态的影响、种植Bt玉米对土壤生态系统功能的影响、Bt玉米秸秆分解对土壤生态系统功能的影响、Bt玉米生理生态特性和产量的变化、Bt玉米中化学防御物质含量的变化、机械损伤和害虫取食对Bt玉米化学防御反应的系统诱导、外源茉莉酸对Bt玉米化学防御反应的影响及机理初探。

本书是转基因作物及生态风险评价领域技术人员、科研人员的重要参考书,也可供高等院校生态环境、生物农业等专业师生阅读使用。

图书在版编目(CIP)数据

转基因作物的生态风险评价——以转Bt基因玉米为例/
王建武,冯远娇,聂呈荣著. —北京:化学工业出版社,
2009.9

“十一五”国家重点图书. 生态农业与农业生态丛书
ISBN 978-7-122-06397-7

I. 转… II. ①王…②冯…③聂… III. 作物-外源-遗传工程-生态环境-风险分析 IV. S33 X171.1

中国版本图书馆CIP数据核字(2009)第131532号

责任编辑:刘兴春

文字编辑:荣世芳

责任校对:陈静

装帧设计:周遥

出版发行:化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街13号 邮政编码100011)

印装:三河市延风印装厂

787mm×1092mm 1/16 印张8¼ 字数176千字 2010年1月北京第1版第1次印刷

购书咨询:010-64518888(传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

定 价:38.00元

版权所有 违者必究

序

随着生物技术的发展,转基因生物很快进入到人们的生活中,分别形成了支持和反对的两种不同意见。这背后有信仰和信念的原因,也有政治和经济的原因,然而最重要的还是对转基因生物安全性的科学认识不足。转基因生物的安全性可以分为食物安全性和生态安全性两个方面。作为人类食物的安全性,可以通过实验动物进行研究,而生态安全涉及面则很广,如花粉扩散后与同源或近缘种杂交可能引起“基因污染”,转基因植物抗性引起目标生物种群的下降可能导致食物链其它种群数量变化,抗性基因通过生物残体和排泄物可能对土壤和水体的其它生物造成影响,基因导入抗性可能对原有的逆境抗性起增强或削弱的作用……这些都涉及转基因的生态安全性。

由于转基因农业生物转入的基因不同、转入的方法不同、转入对象本身不同以及基因转入位置的差异,严格来说转基因生物的安全性只能够采取一个事件进行一个评价的方式开展。

该书总结了我国近年来开展的转 Bt 基因玉米生态安全性研究的一些主要成果,读者除了可以直接了解 Bt 玉米生态安全的研究成果外,还可以从中了解到转基因作物安全性评价的一些方法和途径,并通过文中引用和对比的大量国内外转基因安全性研究成果更加广泛地了解转基因生物的生态风险研究现状。

农业部生态农业重点开放实验室主任 骆世明
华南农业大学热带亚热带生态研究所所长

2009 年 5 月 11 日

前 言

随着植物基因工程技术的迅速发展,已成功培育出一批抗虫、抗病、耐除草剂和高产优质的转基因农作物新品种,并取得了巨大的经济效益、环境效益和社会效益。据统计,2008年全球转基因作物种植面积达1.25亿公顷,其中转基因玉米种植3730万公顷,占全球转基因作物总播种面积的30%。转Bt(*Bacillus thuringiensis*)基因玉米是全球商品化程度最快的抗虫转基因作物之一,它通过表达来源于土壤苏云金芽孢杆菌的杀虫蛋白基因,从而对鳞翅目害虫产生杀虫活性,已有17个国家批准其大面积商品化种植。然而,Bt作物商品化种植可能带来的生态风险问题也一直是国内外学者关注的焦点。我国也非常重视转基因作物的生态风险问题,转基因重大专项的重要内容之一就是转基因作物的生态风险评价与生物安全管理。系统探讨Bt作物大面积商品化可能产生的生态风险,可以为转Bt基因作物的生物安全管理和基因工程技术的健康、有序发展提供科学依据。

本书是汇集了华南农业大学热带亚热带生态研究所Bt玉米生态风险评价研究课题组2000~2007年的研究成果并参考国内外最新文献总结而成。全书共分9章,重点对Bt玉米对土壤生态系统的影响及其化学防御反应等方面进行了深入探讨。第1章概述了国内外Bt作物生态风险评价研究的进展,尤其是土壤生态系统、Bt作物生理生态特性变化及其化学防御反应的最新进展。第2章介绍了Bt玉米秸秆分解释放的Bt蛋白在土壤中的降解规律。第3章探讨了环境因素和秸秆还田方式对Bt玉米秸秆中Bt蛋白降解动态的影响。第4章和第5章分别分析了种植Bt玉米以及其秸秆分解对土壤生态系统的影响。第6章比较了Bt玉米及其同源常规玉米在光合作用、干物质积累、产量构成因素方面的异同。第7章对比了Bt玉米及常规玉米化学防御物质含量的异同以及外源Bt蛋白和内源丁布的相互关系。第8章研究机械损伤和玉米螟取食对Bt玉米以及同源常规玉米的系统诱导作用。第9章探讨了茉莉酸对Bt玉米和常规玉米防御反应的影响及机理。

本书的主要内容是以骆世明教授和王建武教授及其研究生的研究成果为主线。本书的主要策划组织者及著者为王建武,负责本书整体结构和内容安排,拟定撰写提纲,并完成书稿统稿、定稿。第1章由王建武、冯远娇、聂呈荣著,第2章由王建武、冯远娇著,第3章由冯远娇、范慧芝、王建武著,第4章和第5章由王建武、冯远娇、孔海兰著,第6章和第7章由聂呈荣著,第8章和第9章由冯远娇、金琼、王建武著。首先,感谢骆世明教授长期以来对王建武教授研究工作的指导,王建武教授对转基因作物生态风险问题的关注就是源于骆教授推荐获得全球高等农业教育研究联合会(GCHERA)I-HELP计划资助于2001年秋天在美国PURDUE大学的三个月访问期间的学术交流。感谢全球高等农业教育研究联合会(GCHERA)I-HELP计划和国家留学基金的资助,使王建武教授能够在2001年和2004年两次到美国PURDUE大学农学系Cindy Nakatsu博士的实验室工作15

个月。纽约大学生物系的 Guenther Stotzky 教授、美国洛克菲勒兄弟基金会的项目官员 Peter Riggs 和 Walter Paharm 博士在王建武教授访美期间提供了诸多方便。广东省科学技术厅马宪民副厅长、农村处的刘家平处长和黄江康副处长、国际交流处的姚化荣处长和董茗项目官员一直关注和支持转基因作物风险方面的研究工作，并促成了王建武教授 2005 年 11 月对瑞士联邦农业与农业生态研究所（Swiss Federal Research station for Agroecology and Agriculture）的访问以及与 Jorg Romeis 博士和 France Widmer 博士在该领域的合作。华南农业大学农学院苏雄武书记、张桂权院长、年海副院长、陈勇副院长、蔡昆争副教授在著者科研工作繁重的情况下分担了许多行政事务。华南农业大学热带亚热带生态研究所的全体同仁为本项目的开展提供了重要支撑。华南农业大学农学院教学实验农场陈益培和陈培寿老师、华南农业大学教务处陈建军副处长为本项目的开展提供了场地保证。骆世明教授和聂呈荣博士、冯远娇博士，邱会峰、孔海兰、范慧芝、金琼等硕士研究生出色地完成了项目研究工作，华南农业大学农学院 2002~2008 届的本科毕业生也参与了大量的研究工作。华南农业大学农学院的谈凤笑老师、苏怡娟老师为实验室的运转和样品分析做出了贡献。谨此一并致以诚挚的谢意。

文中研究工作先后得到国家自然科学基金（30270270、30770402）、广东省自然科学基金（000569、021043、06025813）和广东省科技计划项目（2006B50104002、2007A020300009-1）的资助，谨此致谢。

Bt 玉米对土壤生态系统的影响及其化学防御反应的研究涉及生态学、土壤学、化学、分子生物学等众多的学科，知识面广、研究发展迅速，限于作者的知识水平和研究深度，书中难免有疏漏与不当之处，敬请读者批评指正。

著者

2009 年 5 月 10 日于广州华南农业大学

目 录

1 Bt 作物对土壤生态系统的影响及化学防御反应研究进展	1
1.1 引言	1
1.2 Bt 作物对土壤生态系统的影响	2
1.2.1 Bt 作物释放的 Bt 蛋白在土壤中的残留与降解	2
1.2.2 Bt 作物的种植对土壤生态系统的影响	3
1.2.3 Bt 作物秸秆分解对土壤生态系统的影响	5
1.3 Bt 作物生理生态特性变化及其化学防御反应研究	5
1.3.1 Bt 作物生理生态特性变化研究	5
1.3.2 Bt 作物化学防御反应研究	6
参考文献	7
2 Bt 玉米秸秆释放的 Bt 蛋白在土壤中的降解	13
2.1 引言	13
2.2 材料与方法	13
2.2.1 试验材料	13
2.2.2 试验设计	14
2.2.3 测定方法	14
2.2.4 数据分析	15
2.3 结果	15
2.3.1 不同 Bt 玉米品种秸秆中 Bt 蛋白的土壤降解动态	15
2.3.2 降解动态的动力学模型拟合	16
2.4 小结	17
参考文献	18
3 环境因素对 Bt 玉米秸秆中 Bt 蛋白降解动态的影响	20
3.1 引言	20
3.2 材料与方法	21
3.2.1 试验材料	21
3.2.2 试验设计	21
3.2.3 测定方法	22
3.2.4 数据分析	23
3.3 结果	23

3.3.1	温度、pH 值和光照对秸秆中 Bt 蛋白在水体降解动态的影响	23
3.3.2	淹水对秸秆在室内地表覆盖条件下 Bt 蛋白降解动态的影响	34
3.3.3	不同还田方式对秸秆中 Bt 蛋白田间降解动态的影响	35
3.4	小结	36
	参考文献	38
4	种植 Bt 玉米对土壤生态系统功能的影响	40
4.1	引言	40
4.2	材料与方法	41
4.2.1	试验材料	41
4.2.2	试验设计	41
4.2.3	测定方法	41
4.2.4	数据分析	42
4.3	结果	43
4.3.1	对根际土壤微生物群落的影响	43
4.3.2	对根围土壤酶活性的影响	46
4.3.3	对根围土壤主要生物化学过程的影响	49
4.3.4	对根围土壤养分含量的影响	50
4.4	小结	51
	参考文献	52
5	Bt 玉米秸秆分解对土壤生态系统功能的影响	55
5.1	引言	55
5.2	材料与方法	56
5.2.1	试验材料	56
5.2.2	试验设计	56
5.2.3	测定方法	57
5.2.4	数据分析	57
5.3	结果	57
5.3.1	对土壤微生物群落的影响	57
5.3.2	对土壤酶活性的影响	59
5.3.3	对土壤养分含量的影响	62
5.4	小结	62
	参考文献	64
6	Bt 玉米生理生态特性和产量的变化	67
6.1	引言	67
6.2	材料与方法	68
6.2.1	试验材料	68
6.2.2	试验设计	68

6.2.3	测定方法	68
6.2.4	数据分析	69
6.3	结果	69
6.3.1	Bt 玉米光合作用的变化	69
6.3.2	Bt 玉米植株地上部生长性状的变化	70
6.3.3	Bt 玉米根系活力的变化	71
6.3.4	Bt 玉米地下部生长性状的变化	71
6.3.5	单株干物重和各器官干物重的变化	71
6.3.6	产量性状的变化	73
6.3.7	子粒氨基酸含量的变化	74
6.4	小结	75
	参考文献	77
7	Bt 玉米中化学防御物质含量的变化	79
7.1	引言	79
7.2	材料与方法	80
7.2.1	试验材料	80
7.2.2	试验设计	80
7.2.3	测定方法	80
7.2.4	数据分析	82
7.3	结果	82
7.3.1	玉米叶片中 DIMBOA 的 HPLC 图谱	82
7.3.2	不同玉米品种叶片中 DIMBOA 的时空分布	83
7.3.3	Bt 玉米中 Bt 蛋白含量与 DIMBOA 含量的相关关系	85
7.3.4	不同胁迫条件下 Bt 玉米的 DIMBOA 含量	85
7.3.5	酚酸标样的 HPLC 检测图谱	87
7.3.6	Bt 玉米中酚酸类物质含量的变化	87
7.4	小结	88
	参考文献	90
8	机械损伤和害虫取食对 Bt 玉米化学防御反应的系统诱导	93
8.1	引言	93
8.2	材料与方法	94
8.2.1	试验材料	94
8.2.2	试验设计	94
8.2.3	测定方法	94
8.2.4	数据分析	95
8.3	结果	96
8.3.1	机械损伤对 Bt 玉米化学防御反应的系统诱导	96

8.3.2 害虫取食对 Bt 玉米化学防御反应的系统诱导	99
8.4 小结	102
参考文献	104
9 外源茉莉酸对 Bt 玉米化学防御反应的影响及机理初探	107
9.1 引言	107
9.2 材料与方法	108
9.2.1 试验材料	108
9.2.2 试验设计	108
9.2.3 测定方法	109
9.2.4 数据分析	109
9.3 结果	110
9.3.1 茉莉酸处理对直接防御物质含量及其相关基因表达的影响	110
9.3.2 茉莉酸在玉米诱导防御反应中的作用	111
9.4 小结	116
参考文献	117

1 Bt 作物对土壤生态系统的影响 及化学防御反应研究进展

1.1 引言

自 1983 年首次获得转基因烟草和马铃薯以来,植物基因工程技术发展迅速,已成功培育出一批抗虫、抗病、耐除草剂和高产优质的农作物新品种,转基因作物的种植取得了巨大的经济效益、环境效益和社会效益。在转基因作物商品化的第一个 13 年(1996~2008)中,农民种植转基因作物量逐年增加。2008 年,全世界上百万小型和资源匮乏型农户继续种植转基因作物,种植面积有了较大增长(James, 2009)。据统计(James, 2009),2008 年批准种植转基因作物的国家从 1996 年的 6 个增加到 2003 年的 18 个,2008 年达到 25 个(15 个发展中国家和 10 个发达国家),种植转基因作物的农户数量达到 1330 万户,实现转基因作物种植面积累计达到第二个十亿英亩(8 亿公顷),这和 2005 年第一个十亿英亩的种植面积仅相隔三年时间。2008 年全球转基因作物种植面积增长率达 9.4%,即增加 1070 万公顷,达到 1.25 亿公顷,其中转基因玉米种植 3730 万公顷,占全球转基因作物总播种面积的 30%(James, 2009)。

虫害是制约农作物高产、稳产的重要因素。全球每年因虫害对农业生产所造成的损失高达 20%~30%。随着现代分子生物学技术的发展,利用基因工程培育抗虫植物的研究取得了重大进展。其中转 Bt (*Bacillus thuringiensis*) 基因作物是全球商品化程度最快的抗虫转基因作物,它通过表达来源于土壤苏云金芽孢杆菌的杀虫蛋白基因,从而对鳞翅目害虫产生杀虫活性。全球 Bt 作物主要包括棉花、玉米、马铃薯、烟草、水稻、番茄等,我国也自主获得了高效表达 Bt 蛋白的烟草、棉花、玉米、水稻等作物(郭三堆, 1995)。玉米是世界三大谷类作物之一,在世界农业生产中占有举足轻重的地位,对粮食、饲料生产和工业加工等起着非常重要的作用。商品化种植的 Bt 玉米主要包括 Bt11、Mon810 和 Event176 等(US EPA, 2000)。Bt 玉米自 1996 年在美国被批准商业化种植以来,到 2008 年已有 17 个国家批准大面积种植,种植面积不断增加,欧盟在转基因作物的释放上是很严格的,但 2008 年 27 个欧盟成员国有 7 个国家正式商业化种植 Bt 玉米,7 个国家的 Bt 玉米播种从 2007 年的 88673 公顷增加到 2008 年的 107719 公顷,年增长率达 21%(James, 2009)。孟山都公司的 Mon810 已于 1998 年获准在我国辽宁、吉林、黑龙江 3 省进行环境释放;先正达公司的 Bt11 也已获准在我国进行环境释放。同样地,我国在 Bt 杀虫蛋白基因的修饰与改造、表达载体的构建、抗虫植物的培育等方面也进行了大量的研究工作,其中由中国农业大学和中国农业科学院生物技术研究等单位培育的 Bt 玉米对亚

洲玉米螟有良好的控制效果。

然而, Bt 作物的商品化种植虽然在不同程度上增强了作物对害虫的抗性, 为害虫的防治做出了贡献, 但由于转入的外源基因并非来自于传统基因库, 目前的科学水平还不能完全精确地预测一个外源基因在新的遗传背景中会产生什么样的相互作用, Bt 基因作物大规模商品化种植可能带来的生态安全和环境问题一直是国内外学者关注的焦点问题(钱迎倩和田彦, 1998; US EPA, 2000; Wolfenbarger 和 Phifer, 2000; 钱迎倩等, 2001; Scriber, 2001; 王建武等, 2002; 聂呈荣等, 2003ab; Icoz 和 Stotzky, 2008)。这些潜在生态风险可以分为两个方面: 第一个方面是 Bt 作物环境释放后对生态系统会带来哪些风险? 第二个方面则是外源 Bt 基因导入后会对受体植物本身生理特性及化学防御产生什么影响? 近年来, 对 Bt 作物生态风险评价的研究不仅仅包括 Bt 作物与近缘物种的基因漂移(David 和 Chapela, 2001; 沈法富等, 2001)、Bt 作物对非靶标害虫(Wu 等, 2002; 万鹏等, 2003)和有益昆虫(Arpaia 等, 1997; Losey 等, 1999; Wraight 等, 2000; 王忠华等, 2001; Li 等, 2003、2005)的影响、Bt 作物对非靶标捕食性天敌(Arpaia, 1997; Hilbeck 等, 1998; 崔旭红等, 2002; 董亮等, 2003)和寄生性天敌(崔金杰和夏敬源, 1999; Schuler 等, 2004; 姜永厚等, 2004; 任璐等, 2004)的影响, 还不断关注 Bt 作物对土壤生态系统的影响(Morra, 1994; US EPA, 2000; 王建武等, 2002, 2003; 白耀宇等, 2003; 李云河等, 2005a; 孙彩霞等, 2005; 王忠华, 2005; Baumgarte 和 Tebbe, 2005; Hopkins 和 Gregorich, 2005; Birch 等, 2007; Zwahlen 等, 2007; Icoz 和 Stotzky, 2008)、Bt 作物本身生理特性变化(Graeber 等, 1999; Lauer 和 Wedberg, 1999; 田晓莉等, 1999; 董合忠等, 2000; 秦新敏等, 2000; 田晓莉等, 2000ab; 田晓莉和杨培珠, 2000; Traore 等, 2000; 丁志勇等, 2001; 李付广, 2003; 田晓莉等, 2003ab; Zhang 等, 2004; Ma 和 Subedi, 2005)、Bt 作物的化学防御(武予清等, 2000; 张永军和郭予元, 2000; 张永军等, 2002ab; 阎凤鸣等, 2002; Turlings 等, 2005)及诱导防御(张永军等, 2002c; Dean 和 Moraes, 2006)研究, 但对 Bt 玉米的研究缺乏系统性, 而国内除了有部分 Bt 玉米秸秆分解释放的 Bt 蛋白在土壤中降解动态的报道外, 有关 Bt 玉米对土壤生态系统的影响及化学防御反应的研究尚未见报道。

为了系统探讨 Bt 玉米对土壤生态系统的影响及其化学防御反应, 为 Bt 玉米大面积商品化种植的生态风险评价和管理提供科学依据, 本章综述了除本课题组以外的国内外学者关于 Bt 作物对土壤生态系统影响、Bt 作物生理生态特性变化及其化学防御研究情况, 为更好开展 Bt 玉米及其它转基因作物的生态风险评价提供充足的背景知识。

1.2 Bt 作物对土壤生态系统的影响

1.2.1 Bt 作物释放的 Bt 蛋白在土壤中的残留与降解

土壤是生态系统中物质循环和能量转化过程的重要场所。Bt 作物释放到土壤中的 Bt 蛋白能否快速降解是评价其对土壤生态系统影响的最重要参数(Morra, 1994)。作物中

Bt 蛋白进入土壤的途径主要是通过根系分泌物 (Saxena 等, 1999、2002; Saxena 和 Stotzky, 2000; 孙彩霞等, 2003; 孙彩霞等, 2004; 张丽莉等, 2006、2007; 沈平等, 2008; 张美俊等, 2008; 张美俊和杨武德, 2008)、花粉飘落 (Fearing 等, 1997; Losey 等, 1999; 邢珍娟等, 2008a)、秸秆分解 (Palm 等, 1994、1996; Donegan 等, 1995、1996; Sims 和 Holden, 1996; Sims 和 Ream, 1997; 张运红等, 2007; 邢珍娟等, 2008b) 等方式, 其中秸秆分解是 Bt 蛋白进入土壤的主要途径, 尤其是作物秸秆还田在农业生产上的大面积应用, 为 Bt 蛋白进入土壤并在土壤中积累提供有利条件。研究发现, Bt 作物释放到土壤中的 Bt 蛋白能迅速和紧密地与黏土矿物和腐殖酸及土壤表面活性颗粒等结合, 其在土壤中的持留期可达 180d 以上, 且仍保留一定的杀虫活性, 并具有抗土壤微生物降解的作用 (Tapp 和 Stotzky, 1998; Donegan 和 Seidler, 1999; Saxena 和 Stotzky, 2001)。

酶联免疫定量 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒法用于检测土壤中 Bt 蛋白的研发, 使得对土壤 Bt 蛋白的直接测定准确易行, 也为 DT50 的估算提供了准确的基础数据, 大多数研究者均采用此方法检测土壤中 Bt 蛋白的含量。目前的研究表明, Bt 玉米 (Sims 和 Holden, 1996; Herman 等, 2002; Hopkins 和 Greorich, 2003; 张运红等, 2007)、Bt 棉花 (Palm 等, 1996; Sims 和 Ream, 1997; 孙彩霞等, 2004; 李云河, 2005b)、Bt 水稻 (吴立成等, 2004; 白耀宇等, 2005、2006) 秸秆还田释放的 Bt 蛋白均能在土壤中快速降解, 降解过程均呈现前期负指数大量快速降解和中后期极少量稳定两个阶段, 但在较长时间内还可在土壤中检测到 Bt 蛋白的存在。通过对 Bt 蛋白在土壤中降解过程运用方程进行拟合得出, Bt 玉米秸秆中的 Bt 蛋白在土壤中的消减半衰期 (DT_{50}) 为 1.2~7.2d (张运红等, 2007)、1.6d (Sims 和 Holden, 1996) 或 0.6d (Herman 等, 2002), Bt 水稻秸秆的 DT_{50} 为 1.8~4.0d (白耀宇等, 2006) 或 2.2~11.6d (白耀宇等, 2005)。然而, 在不同研究的后期均能检测到少量的 Bt 蛋白存在, 存在时间长短不一, 如 Zwahlen 等 (2003) 在 200d、Saxena 等 (2002) 在 350d 后还可检测到 Bt 玉米秸秆释放到土壤中的 Bt 蛋白, Bt 水稻和 Bt 棉花秸秆释放到土壤中的 Bt 蛋白检测到的时间分别长达 146d (吴立成等, 2004) 和 140d (Palm 等, 1996)。

Bt 作物释放到土壤中的 Bt 蛋白的降解受 Bt 蛋白的类型与浓度、Bt 作物品种及其它环境因素的影响 (Herman 等, 2002; Hopkins 和 Gregorich, 2003; Zwahlen 等, 2003)。现有的研究表明, 土壤微生物 (Palm 等, 1996; Tapp 和 Stotzky, 1998; 白耀宇等, 2005)、高 pH 值 (白耀宇等, 2006)、高温 (李云河等, 2005b; 白耀宇等, 2006) 以及淹水 (Sims 和 Holden, 1996; 白耀宇等, 2005) 均可加快 Bt 作物秸秆中 Bt 蛋白在土壤中的降解。另外, 有研究表明 (Douville 等, 2007; Rosi-Marshall 等, 2007), 离田间种植 Bt 玉米不远的河流环境中也可以检测到 Bt 蛋白的存在, 因此水体环境因素对 Bt 蛋白降解的影响值得深入研究。

1.2.2 Bt 作物的种植对土壤生态系统的影响

种植 Bt 作物会通过根系分泌物向土壤中释放 Bt 蛋白, 在作物生长过程中根际土壤就会检测到 Bt 蛋白的存在, 这在 Bt 玉米 (Saxena 等, 1999、2002; Saxena 和 Stotzky,

2000)、Bt 棉花 (孙彩霞等, 2004; 张丽莉等, 2006、2007; 沈平等, 2008; 张美俊等, 2008; 张美俊和杨武德, 2008) 和 Bt 水稻 (孙彩霞等, 2003) 的种植中均得到证实。因此, Bt 作物的种植对土壤生物、土壤酶活性、土壤主要生物化学过程、土壤主要营养元素含量的影响就受到广泛关注 (Morra, 1994; US EPA, 2000)。

土壤微生物是土壤有机质和土壤养分转化和循环的动力, 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。到目前为止, 种植 Bt 作物 (主要是 Bt 棉花和 Bt 玉米) 对土壤微生物的影响得到广泛关注, 研究结果会因作物品种、生育期、检测指标不同而异。总的来说, Bt 棉的种植对土壤微生物影响较大, 而 Bt 玉米的种植对土壤微生物的影响较小, 表现在 Bt 棉的种植促使土壤中细菌和真菌数量发生短暂性增加 (Donegan 等, 1995), 其根际土壤更有利于细菌和真菌的生长和繁殖 (张美俊等, 2008; 张美俊和杨武德, 2008), 但对放线菌、好气固氮菌和钾细菌的数量则没有显著影响 (张美俊等, 2008)。Bt 棉的种植对土壤微生物的影响因生育期而异, 如苗期和吐絮期 Bt 棉根际细菌、放线菌和真菌的数量与常规棉差异不显著; 花铃期 Bt 棉根际细菌的数量比常规棉增加, 放线菌的数量差异不显著, 而真菌的数量变化没有规律; 但花铃期和吐絮期的 Bt 棉根际细菌生理群 Simpson 指数、Shannon-Wiener 指数和细菌生理群分布的均匀度均低于常规棉 (沈法富等, 2004)。也有研究表明 (Rui 等, 2005), Bt 棉花生长的早期和中期根际土壤中钾分解菌、无机磷分解菌和固氮菌的数量明显比常规棉低, 在生长后期两者则没有明显差异。然而对于 Bt 玉米来说, 其种植对土壤细菌、放线菌、真菌的生长没有影响 (Saxena 和 Stotzky, 2000), 对土壤中可培养细菌、革兰阴性菌、几丁质利用菌、纤维素利用菌、硝化细菌、反硝化细菌和真菌的数量也没有一致的影响, 同时也没有影响到细菌群落的多样性 (Icoz 等, 2008)。

土壤酶活性与土壤营养元素循环及植物营养状况的关系密切。目前的研究表明, 种植 Bt 作物对土壤酶活性的影响则与作物品种以及检测指标相关, 例如种植 Bt 棉后根际土壤碱性磷酸酶活性有所下降, 脱氢酶活性升高, 但土壤蛋白酶、脲酶和蔗糖酶活性无显著变化 (张美俊和杨武德, 2008); 孙彩霞等 (2004) 指出 Bt 棉种植过程中根际土壤的磷酸酶活性呈现出比非 Bt 棉低的趋势; 而 Shen 等 (2006) 研究的 Bt 棉和非 Bt 棉之间土壤脲酶、碱性磷酸酶、脱氢酶、酚氧化酶和蛋白酶活性则没有明显差异; 与常规棉相比, Bt 棉 (“中 30”) 和双抗棉 A (转 Bt+CpTI 棉 “中 41”) 的种植并未使土壤脲酶、蛋白酶磷酸单酯酶、过氧化氢酶、脱氢酶和硝酸还原酶活性发生显著变化, 而双抗棉 B (转 Bt+CpTI 棉 “双抗 321”) 的种植也没有使土壤脲酶、蛋白酶过氧化氢酶和硝酸还原酶的活性发生显著变化, 但使土壤磷酸单酯酶和脱氢酶活性显著下降 (张丽莉等, 2006、2007)。对 Bt 水稻的研究得出, 与常规水稻相比, 种植 Bt 水稻的土壤脲酶活性显著下降, 酸性磷酸酶活性显著升高, 而芳基硫酸酯酶、蔗糖酶和脱氢酶活性的变化差异不显著 (孙彩霞等, 2003)。然而 Bt 玉米的种植对土壤中芳基硫酸酯酶、酸性磷酸酶、碱性磷酸酶、脱氢酶和蛋白酶活性则没有一致的影响 (Icoz 等, 2008)。

土壤生物化学过程的强度也可以反映土壤生态系统中微生物活性和养分循环功能的状况, 而土壤化学肥力是反映土壤微生物活动的效果、土壤供肥能力和质量状况的重要指标。目前在这方面的研究相对较少报道, Devare 等 (2004, 2007) 研究指出, 种植 Bt 玉

米没有影响到氮的矿化作用、土壤硝化作用强度和土壤呼吸作用强度，孙彩霞等（2006）报道了 Bt 水稻短期种植 30d 和 Bt 棉花种植一个生长季后土壤中全碳和全氮以及碱解氮、速效磷、有效硫含量与常规棉相比均无显著差异，而苗期和花期 Bt 棉根际土壤有机质、全氮、速效氮和钾含量没有显著变化，但花期速效磷含量显著降低（张美俊和杨武德，2008）。

1.2.3 Bt 作物秸秆分解对土壤生态系统的影响

作物的秸秆还田是目前各国普遍采用的可持续农业技术之一。Bt 作物释放的 Bt 蛋白进入土壤的主要途径就是通过秸秆分解。研究表明（Donegan 等，1996；Saxena 和 Stotzky，2001），Bt 玉米和棉花秸秆分别在培养后 45d 和 56d，与相应的非转基因秸秆相比，土壤中细菌、放线菌和真菌的数量没有显著差异。但在 Bt 水稻中，王洪兴等（2004）发现，Bt 水稻秸秆的添加明显增加了真菌的数量，而细菌、放线菌和反硝化细菌明显降低；培养初期（3~5 周）Bt 水稻秸秆的添加对淹水土壤厌氧发酵性细菌、产氢产乙酸细菌、反硝化细菌和产甲烷细菌的数量产生一定影响，但培养后期（11 周）这种显著性差异基本消失（任馨等，2004）；吴伟祥等（吴伟祥等，2003b；Wu 等，2003）的研究结果表明，与亲本对照相比，Bt 水稻秸秆的添加对土壤好氧性细菌、放线菌和真菌的数量无显著性影响，对土壤氨化细菌、自生固氮菌和纤维素降解菌的数量在培养中期有些差异，但这种差异也不持续；徐晓宇等（2004）则得出 Bt 水稻秸秆还田 84d 内对水田土壤反硝化细菌和产甲烷细菌种群有显著的抑制作用，对厌氧发酵细菌种群有显著的刺激作用，而对厌氧固氮细菌种群没有显著影响。

Bt 作物的秸秆分解可能会改变土壤酶的活性（Jepson 等，1994）。对土壤酶的研究主要集中在 Bt 玉米、Bt 水稻和 Bt 棉花中。研究表明，Bt 玉米的秸秆分解对土壤磷酸酶、脱氢酶、蛋白酶和芳香基硫酸酯酶的活性没有明显影响（Stotzky，2000）。Bt 水稻的秸秆分解对土壤磷酸酶（Stotzky，2000；吴伟祥等，2003a）、脱氢酶（Stotzky，2000）、蛋白酶（Stotzky，2000；吴伟祥等，2003a）、脲酶（吴伟祥等，2003b）和芳香基硫酸酯酶（Stotzky，2000）的活性没有明显影响，但也有提高纤维素酶（徐晓宇等，2004）、磷酸酶（吴伟祥等，2003b；徐晓宇等，2004）和脱氢酶（吴伟祥等，2003ab；Wu 等，2003；徐晓宇等，2004）的报道，另外 Bt 棉花的秸秆分解也能提高土壤磷酸酶的活性（孙彩霞等，2004）。

然而，Bt 作物的秸秆分解对土壤主要生物化学过程影响的报道较少，只有吴伟祥等（2003a）报道了 Bt 水稻秸秆在培养期间 93d 内，对土壤呼吸强度没有显著影响。尚未见 Bt 作物秸秆还田对土壤养分含量影响的报道。

1.3 Bt 作物生理生态特性变化及其化学防御反应研究

1.3.1 Bt 作物生理生态特性变化研究

外源 Bt 基因的插入有可能获得一些额外的性状，或使原有的一些性状丧失，这种效

应称为“非预期效应”。对 Bt 作物环境释放的生态风险评价中也必须包括对这类“非预期效应”的检测（沈孝宙，2001；Cellini 等，2004），主要目的之一是比较 Bt 作物及其同源常规作物之间生理生态特性的差异。Ma 和 Subedu 在加拿大的试验发现，Bt 玉米的产量均小于其相应的同源常规玉米或差异不显著，其中 1 个 Bt 玉米品种的产量比其同源常规玉米减少 12%；而 Bt 玉米种子的含水量却高于其相应的非转基因近等基因系。在美国 Wisconsin 州进行的一个为期两年的试验中，Lauer 和 Wedberg（1999）发现，在接种欧洲玉米螟的情况下，Bt 玉米的产量比对照种增产 4%~8%，然而在使用杀虫剂防治玉米螟的情况下，Bt 玉米的产量比对照种减产 8%。因此，国外的研究普遍认为，外源 Bt 基因的导入，只是提高了 Bt 玉米对玉米螟的抗性，而对于其它农艺性状却没有改善；在没有欧洲玉米螟危害或危害较轻的情况下，Bt 玉米却没有产量上的优势，一些农艺性状甚至还会变差（Graeber 等，1999；Lauer 和 Wedberg，1999；Traore 等，2000；Ma 和 Subedi，2005）。国内主要是对 Bt 棉进行了系统研究，得出 Bt 棉前期出苗慢、幼苗素质差，后期红叶茎枯病发病率上升的结论（秦新敏等，2000）。在源库关系方面，田晓莉等发现（田晓莉等，1999；田晓莉等，2000ab；田晓莉和杨培珠，2000；田晓莉等，2003ab），Bt 棉营养生长势弱、结铃性强，源库关系失调，容易早衰；转 Bt 棉中棉所 30 的光合叶面积、侧根数量以及根系活力均低于对照品种中棉所 16，侧根的分布局限在 0~20cm 的上层土壤；Bt 棉叶片和根系这两大源器官数量的减少会导致其截获光能和吸收矿质元素方面受到明显的限制，另一方面，转 Bt 棉源器官的功能较为低下，果枝叶输出的蔗糖、可溶性糖和氨基酸以及输入棉铃的蔗糖、可溶性糖和全氮含量较中棉所 16 大幅度下降，单株根系活力、根系吸收、合成和运输能力也全面下降，根系与地上部的协调性差，容易导致早衰。

另外目前也有大量 Bt 作物与其同源常规玉米秸秆之间的化学成分有无差异的研究，例如 Bt 玉米秸秆中木质素的含量明显高于同源常规玉米（Masoero 等，1999；Saxena 和 Stotzky，2001；Flores 等，2005；Poerschmann 等，2005），相反 Escher 等（2000）则报道 Bt 玉米秸秆的木质素含量低于同源常规玉米，而也有两者之间木质素含量没有显著差异的报道（Jung 和 Sheaffer，2004）；对于其它指标的研究表明，Bt 玉米秸秆中淀粉含量和可溶性碳水化合物含量高于同源常规玉米，而碳氮比、蛋白质和可溶性氮含量则低于同源常规玉米的结果（Masoero 等，1999；Escher 等，2000）。

1.3.2 Bt 作物化学防御反应研究

在对 Bt 作物的“非预期效应”的研究中，作物原本的直接防御和间接防御性的次生代谢产物的变化也必须给予足够的重视。因为在长期的协同进化过程中，植物产生能抵制包括其它有害生物等各种逆境条件的复杂的化学防御体系（Mauricio 等，1997）。通过对以次生代谢物质为媒介的植物与其它生物间化学生态关系的研究，可为可持续农业发展过程中有害生物的治理提供可行的技术和途径。Bt 基因导入对害虫的防治是一种外源人工导入抗性，那么人工导入抗性会不会影响到作物本身的化学防御物质的含量及其诱导防御呢？此方面引起了广泛关注（钟珍梅等，2007）。目前国内外有少量关于此方面的报道。例如 Bt 棉的缩合单宁（武予清等，2000；张永军和郭予元，2000）、总酚含量（武予清

等, 2000) 显著低于对照亲本, 芸香苷、槲皮素和异槲皮苷等抗虫黄酮类化合物的含量无显著差异 (张永军等, 2002a), 棉酚、总杀实夜蛾素及总抗虫萜烯类化合物的含量也无显著差异 (张永军等, 2002b), 但也有 Bt 棉中挥发物 α -蒎烯和 β -蒎烯的相对含量显著增加, 且多一种含量很低的挥发物的报道 (阎凤鸣等, 2002); Bt 玉米挥发物的组成和含量与亲本也没有显著差异 (Turlings 等, 2005)。在 Bt 作物的诱导防御方面, Dean 和 Moraes (2006) 得出相同数量的玉米夜蛾取食后 Bt 玉米的挥发物含量显著高于常规玉米。另外, 张永军等 (2002c) 发现, 水杨酸和缩节胺处理 Bt 棉后, 棉花中的 Bt 杀虫蛋白的表达无显著变化, 但用这两种物质处理能提高棉花中的抗虫物质——单宁和芸香苷的含量, 同时适宜浓度的水杨酸处理能提高转 Bt 基因棉的抗虫萜烯类化合物的含量, 而缩节胺没有这种效果。

参 考 文 献

- [1] 白耀宇, 蒋明星, 程家安等. Bt 水稻 Cry1Ab 杀虫蛋白表达的时间动态及其在水稻土中的降解. 生态学报, 2005, 25 (7): 1583-1590.
- [2] 白耀宇, 蒋明星, 程家安等. 转 Bt 基因作物 Bt 毒蛋白在土壤中的安全性研究. 应用生态学报, 2003, 14 (11): 2062-2066.
- [3] 白耀宇, 蒋明星, 程家安. 影响 Bt 稻离体叶中 Cry1Ab 杀虫蛋白降解的环境因子研究. 中国农业科学, 2006, 39 (4): 721-727.
- [4] 崔金杰, 夏敬源. 转 Bt 基因棉对天敌种群动态的影响. 棉花学报, 1999, 11 (2): 84-91.
- [5] 崔旭红, 焦晓国, 张国安等. 转 Bt 基因水稻对稻飞虱及蜘蛛种群数量的影响. 华中农业大学学报, 2002, 21 (4): 356-358.
- [6] 丁志勇, 许崇任, 王成疆. 转 Bt 基因抗虫棉与常规棉中几种同工酶的比较——转基因植物安全性评价生理指标初探. 生态学报, 2001, 21 (2): 332-336.
- [7] 董合忠, 李维江, 李振怀等. 转 Bt 基因抗虫杂交棉与其亲本的光合能力比较. 核农学报, 2000, 14 (5): 284-289.
- [8] 董亮, 万方浩, 张桂芬等. 转 Bt 基因抗虫棉对中华草蛉发育及繁殖的影响研究. 中国生态农业学报, 2003, 11 (3): 16-18.
- [9] 郭三堆. 植物 Bt 抗虫基因工程研究进展. 中国农业科学, 1995, 28 (5): 8-13.
- [10] 姜永厚, 傅强, 程家安等. 转 Bt 基因水稻对二化螟蚁蚕生物学特性的影响. 昆虫学报, 2004, 47 (1): 124-129.
- [11] 李付广. 双价基因抗虫棉生理生化特征研究. 棉花学报, 2003, 15 (3): 131-137.
- [12] 李云河, 王桂荣, 吴孔明等. Bt 作物杀虫蛋白在农田土壤中残留动态的研究进展. 应用与环境生物学报, 2005a, 11 (4): 504-508.
- [13] 李云河, 张永军, 吴孔明等. 转 Bt-cry1Ac 基因棉花叶片中杀虫蛋白在环境中的降解动态. 中国农业科学, 2005b, 38: 714-718.
- [14] 聂呈荣, 骆世明, 王建武等. GMO 生物安全评价进展. 应用生态学报, 2003b, 14 (8): 1369-1373.
- [15] 聂呈荣, 王建武, 骆世明. 转基因植物对农业生物多样性的影响. 应用生态学报, 2003a, 14 (8): 1369-1373.
- [16] 钱迎倩, 田燕. 转基因植物的生态风险评价. 植物生态学报, 1998, 22 (4): 289-299.
- [17] 钱迎倩, 魏伟, 桑卫国. 转基因作物对生物多样性的影响. 生态学报, 2001, 21 (3): 337-343.
- [18] 秦新敏, 于凤玲, 宋燕青等. 新棉 33B 生物学特性及配套栽培技术. 中国棉花, 2000, 27 (5): 37-38.
- [19] 任璐, 杨益众, 李萱等. 转基因抗虫棉对棉铃虫及其内寄生蜂的双重效应. 昆虫学报, 2004, 47 (1): 1-7.
- [20] 任馨, 吴伟祥, 叶庆富等. 转 Bt 基因克螟稻秸秆对淹水土壤细菌群落的影响. 环境科学学报, 2004, 24 (4): 871-877.