

陈彦君,任梦云,关 潇,等. 转基因抗虫棉对根际土壤 Bt 蛋白残留和养分含量的影响[J]. 江苏农业科学,2017,45(6):305-307.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.06.078

# 转基因抗虫棉对根际土壤 Bt 蛋白残留和养分含量的影响

陈彦君<sup>1,2</sup>, 任梦云<sup>1</sup>, 关 潇<sup>2</sup>, 杜乐山<sup>2</sup>, 刘 方<sup>2</sup>, 戚春林<sup>1</sup>

(1. 海南大学环境与植物保护学院,海南海口 570228; 2. 中国环境科学研究院,北京 100012)

**摘要:**以转基因抗虫棉 SGK321 及其亲本常规棉石远 321 为研究对象,采用 ELISA 试剂盒法检测其在不同生育期根际土壤的 Bt 蛋白残留量,同时比较根际土壤速效养分含量的变化。结果表明:转基因抗虫棉 SGK321 根际土壤 Bt 蛋白残留量在整个生长期呈先上升后下降的趋势,且在各生育期均与亲本差异显著,其中蕾期转基因较亲本高 996.09%。在整个生长期,2 种棉花根际土壤各养分含量的变化不同,二者根际土壤硝态氮含量均呈下降趋势,仅在苗期、花铃期差异显著;转基因抗虫棉 SGK321 根际土壤中铵态氮含量呈下降趋势,在蕾期、花铃期与亲本差异显著;其速效磷含量呈先下降后上升趋势,亲本常规棉呈上升趋势,其中苗期转基因较亲本低 40.13%。研究发现,转基因抗虫棉 SGK321 根际土壤 Bt 蛋白残留量和养分含量主要受转基因棉花种植及生育期的影响。

**关键词:**转基因抗虫棉;Bt 蛋白;根际土壤;土壤养分;生育期

**中图分类号:** S181 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)06-0305-03

据国际农业生物技术应用服务局(International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications,简称 ISAAA)最新报道,从 1996 年到 2015 年的 20 年期间全球转基因作物累计种植面积达到 20 亿  $\text{hm}^2$ 。20 年的商业化种植充分证明,转基因作物已经实现了先前的承诺,为农民乃至全社会带来了农业、环境、经济、健康和社会效益。

棉花是全球主要经济、纤维作物之一,是我国种植面积最大的转基因作物。2015 年,我国棉花总种植面积为 380 万  $\text{hm}^2$ ,其中 370 万  $\text{hm}^2$  为转基因棉花。转基因棉花在为社会带来巨大经济效益的同时,对生态环境潜在的安全风险也越来越多地被关注<sup>[1-4]</sup>。到目前为止,转基因抗虫棉的大面积种植是否会破坏原有生态环境和动态平衡,是转基因棉生态安全性研究的重点。

土壤生态系统是转基因植物外源基因及其产物表达的主要场所,已有研究表明,转基因抗虫作物释放的 Bt 蛋白可通过根系分泌物、花粉飘落、秸秆还田等多种途径进入土壤生态系统,在作物生长过程中,根系分泌是杀虫晶体蛋白进入土壤的重要方式<sup>[5]</sup>。土壤速效养分是植物生长发育过程中必不可少的营养物质来源,可直接参与土壤的生物化学转化过程<sup>[6]</sup>,是衡量土壤各项水平的重要指标。转基因抗虫棉的外源基因及其表达产物可通过不同途径进入土壤生态系统,引起一系列生态过程的变化,从而影响土壤养分转化过程<sup>[7-8]</sup>。

目前,国内外对转基因抗虫棉环境安全评价的研究主要

集中在基因漂移、土壤微生物数量种类和结构及对非靶标动物的影响等方面,对土壤 Bt 蛋白的残留降解和速效养分含量变化的研究尚未得到明确结论<sup>[6-9]</sup>,不利于为农民田间种植提供科学指导。本研究以转基因抗虫棉 SGK321(以下简称 SGK321)及其亲本常规棉石远 321(以下简称石远 321)为研究对象,重点讨论两者在不同生育期根际土壤 Bt 蛋白残留及对根际土壤速效养分含量的影响,旨在指导农民田间作业,提高棉花产量。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区域概况

试验地位于天津市武清区梅厂镇周庄村我国农业部环境保护所基地(117°11'38"E,39°21'08"N),属暖温带半湿润大陆季风型气候,年均气温 14.0℃,年日照时数 2 750 h,年均降水量为 606.8 mm,无霜期 212 d,供试土壤类型为潮土。

### 1.2 供试材料

所试棉花为转基因抗虫棉 SGK321(*GFMcryIA/CpTI* 双价基因)及其亲本常规棉石远 321,2 个棉花品种均由中国农业科学院棉花研究所提供。试验采用随机区组设计,每个处理 4 个重复。2015 年 4 月播种,水肥管理采用常规管理。

### 1.3 样品采集

分别在各块棉田棉花生长的苗期、蕾期、花铃期、吐絮期进行样品采集。按五点取样法混合取样,同时避开道路等可能影响因素,采样时去除表面杂草,用“抖根法”取根际土壤,用冰盒保存,带回实验室,进行 Bt 蛋白残留检测及土壤速效养分含量测定。

### 1.4 各项指标测定方法

**1.4.1 Bt 蛋白残留的测定** 采用美国 Envirologix 公司的 ELISA 试剂盒 AP003,测定棉花根际土壤的 Bt 蛋白残留量。

**1.4.2 土壤养分含量的测定** 土壤养分含量的测定参照已

收稿日期:2016-09-20

基金项目:环保公益性行业科研专项(编号:201509044)。

作者简介:陈彦君(1992—),女,山东淄博人,硕士研究生,主要从事农业生态学研究。E-mail:1006414990@qq.com。

通信作者:戚春林,硕士,副教授,主要从事农业生态学研究。E-mail:chunlinqu@163.com。

有的方法<sup>[10]</sup>;硝态氮含量的测定采用紫外分光光度法;铵态氮含量的测定采用靛酚蓝比色法;速效磷含量的测定采用钼锑抗比色法。

### 1.5 数据统计与分析

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析,采用单因素方差分析(One-way ANOVA)和 LSD 多重比较分析试验数据的差异显著性。采用 Origin 9.0 软件制图。

## 2 结果与分析

### 2.1 转基因抗虫棉根际土壤中 Bt 蛋白含量

由图 1 可知,石远 321 在 4 个生育期的根际土壤中均未检测到 Bt 蛋白残留(检测所得值低于试剂盒的检测限 0.1 ng/g)。SGK321 根际土壤 Bt 蛋白残留量在整个生育期呈现先升高后降低的趋势,且在各个生育期均与亲本差异显著( $P < 0.05$ )。其中,苗期残留量 0.319 9 ng/g,较亲本同期高 429.64%;蕾期残留量 0.504 2 ng/g,较亲本同期高 996.09%;花铃期残留量 0.349 7 ng/g,较亲本同期高 648.82%;吐絮期残留量 0.255 0 ng/g,较亲本同期高 246.94%。

### 2.2 转基因抗虫棉对根际土壤速效养分含量的影响

2.2.1 转基因抗虫棉对根际土壤硝态氮含量的影响 由图 2 可知,在棉花的整个生育期,SGK321 与石远 321 根际土壤硝态氮含量均呈下降趋势,二者在苗期、花铃期差异显著( $P < 0.05$ ),苗期 SGK321 较亲本同期低 10.75%,花铃期较亲本同期高 18.37%;而在蕾期和吐絮期,二者差异不显著( $P > 0.05$ )。

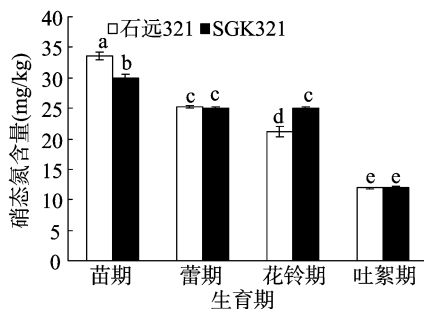


图2 转基因抗虫棉 SGK321 对根际土壤硝态氮含量的影响

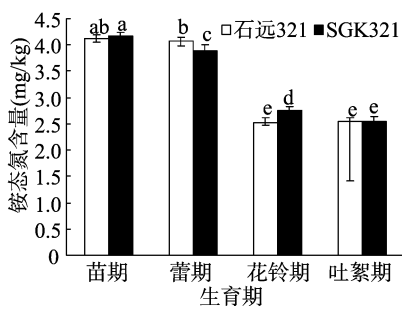


图3 转基因抗虫棉 SGK321 对根际土壤铵态氮含量的影响

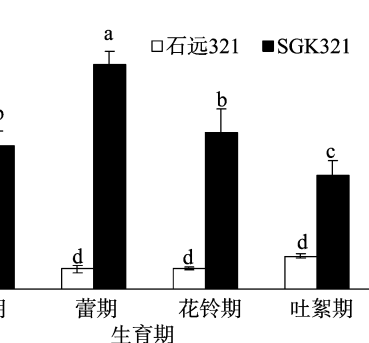


图1 转基因抗虫棉 SGK321 根际土壤 Bt 蛋白残留量

2.2.2 转基因抗虫棉对根际土壤铵态氮含量的影响 由图 3 可知,在棉花的整个生育期,SGK321 根际土壤中铵态氮含量呈下降趋势,石远 321 呈先下降后上升的趋势,但前期下降幅度与后期上升幅度均不显著,其中花铃期含量最低。在蕾期、花铃期,SGK321 与石远 321 根际土壤中铵态氮含量差异显著( $P < 0.05$ ),蕾期 SGK321 较亲本同期低 4.49%,花铃期较亲本同期高 9.18%。而在苗期和吐絮期,二者差异不显著( $P > 0.05$ )。

2.2.3 转基因抗虫棉对根际土壤速效磷含量的影响 在棉花的整个生育期,SGK321 根际土壤速效磷含量呈上升趋势,石远 321 呈先下降后上升的趋势。SGK321 根际土壤中速效磷的含量始终低于石远 321,在苗期、蕾期二者差异显著( $P < 0.05$ ),苗期 SGK321 较亲本同期低 40.13%,蕾期较亲本同期低 13.45% (图 4)。

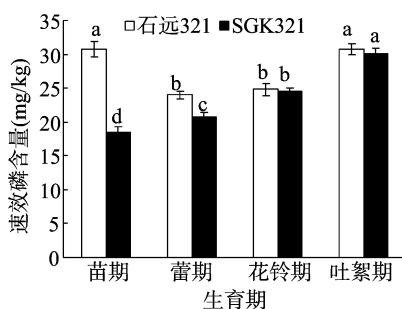


图4 转基因抗虫棉 SGK321 对根际土壤速效磷含量的影响

## 3 结论与讨论

通过对武清区试验站 SGK321 根际土壤中 Bt 蛋白残留量的检测发现,在棉花整个生育期呈先升高后降低的趋势,最高残留量出现在蕾期,而石远 321 根际土壤的 Bt 蛋白残留量均低于试剂盒检测限。在各个生育期 SGK321 根际土壤中 Bt 蛋白残留量均显著高于石远 321,这与已有研究结果<sup>[11-13]</sup>一致。但也有试验得出了不同的结果,如张莉等检测不同地区不同生育期 Bt-SY63 稻田土壤 Bt 蛋白的残留,大部分都未检测到 Bt 蛋白<sup>[14]</sup>;刘莞苑检测经 3 种不同方法处理过的转基因抗虫棉土壤,均未检测到 Bt 蛋白的残留<sup>[15]</sup>。造成试验结果差异的可能原因:试验所用不同 ELISA 试剂盒的检测限不同,低于检测限的浓度都不能被准确检测;试验选用的棉花品种不同,Bt 蛋白的表达规律也不尽相同;试验地不同,土壤

微生物组成、土壤水分、环境条件等均可能影响土壤中 Bt 蛋白的降解;土壤粒径成分不同对土壤的吸附程度不同,进而造成蛋白残留量的不同<sup>[16-17]</sup>。

在棉花的整个生育期,SGK321 与石远 321 根际土壤中硝态氮、铵态氮、速效磷含量的变化趋势存在差异,具体变化幅度因生育期而异。二者根际土壤中硝态氮含量在苗期、花铃期差异显著,但在蕾期和吐絮期差异不显著,2 种棉花根际土壤硝态氮含量在生长后期低于前期,且二者均在吐絮期的硝态氮含量最低。这说明生育期是影响棉花根际土壤硝态氮含量的主要因素<sup>[9,18]</sup>,且随生育期推进,根际土壤硝态氮含量降低<sup>[19]</sup>。建议农民在棉花生长前期适当减少硝态氮肥的施用,吐絮期适当增加硝态氮肥的施用,为棉花植株生长提供充足养分,从而提高产量。SGK321 根际土壤硝态氮的含量在苗期显著低于亲本,可能是因为棉花生长初期外源基因的导入

促进根系更多地吸收土壤中的硝态氮<sup>[19]</sup>,从而提高了对硝态氮的利用。

在棉花的整个生育期,SGK321 根际土壤铵态氮含量呈下降趋势。这表明,随棉花生育期的推进,对铵态氮的需求量不断增加<sup>[9]</sup>。为减少浪费和污染,建议农民在棉花生长前期适当减少铵态氮肥的施用量。在棉花生长的蕾期、花铃期,SGK321 与石远 321 根际土壤铵态氮含量差异显著。但有研究得出了与本试验不一致的结论,娜日苏研究发现,在山东省、山西省棉花播种后的 60、90 d,2 种棉花铵态氮含量无显著差异<sup>[20]</sup>。根际土壤铵态氮含量可能通过土壤微生物的氨化强度或根系分泌物化学成分的变化这 2 个途径发生改变,本试验与其他研究结论不同,可能是因为不同的气候和土壤状况对根系分泌的 *Bt* 外源基因及其表达产物产生了影响,从而影响了这 2 个途径,使根际土壤铵态氮的含量发生了变化<sup>[21]</sup>。

在整个生育期中,SGK321 根际土壤速效磷含量呈上升趋势,亲本则呈先下降后上升的趋势。建议农民在转基因抗虫棉的生长前期适当加强、后期适当减少磷肥的施用。试验结果也得出,SGK321 根际土壤速效磷的含量在苗期、蕾期显著低于亲本,在其他 2 个时期与亲本差异不显著,这与赵云丽等的研究结果部分一致<sup>[22]</sup>。但也有研究得出了不同的结论,Yang 等通过盆栽试验得出,转基因棉花的种植可显著降低花铃期根际土壤中速效磷的含量<sup>[23]</sup>。孙彩霞等通过盆栽试验得出,转 *Bt* 基因棉花土壤中速效磷含量在苗期和吐絮期与亲本均无显著差异<sup>[6]</sup>,本试验结果与其存在差异,造成差异的原因可能是不同地区、不同年份土壤状况和气候状况等不同,使种植转基因作物对土壤营养物质转化的影响不同<sup>[24]</sup>。

综上所述,转基因抗虫棉 SGK321 的种植对棉花根际土壤 *Bt* 蛋白的残留和土壤养分含量都有一定程度的影响,但生育期也是重要影响因素之一。根据目前已有研究,关于转基因抗虫棉种植对土壤 *Bt* 蛋白残留量及土壤养分含量影响的研究结果存在不同程度的差异,这可能与棉田生态条件、材料选取等因素有关,缺少一定的可比性。在未来的研究中,仍需通过长期田间试验进行跟踪研究,保证这一系列试验条件的统一,增加试验重复性,更好地解释转基因作物对土壤生态系统的影响,从而为农民田间耕作提供更科学的指导。

#### 参考文献:

- [1] 吴孔明,郭予元,王武刚. 部分 GK 系列 *Bt* 棉对棉铃虫抗性的田间评价[J]. 植物保护学报,2000,27(4):317-321.
- [2] Sarkar B, Patra A K, Purakayastha T J. Transgenic *Bt* - cotton affects enzyme activity and nutrient availability in a sub-tropical inceptisol[J]. Journal of Agronomy and Crop Science, 2008, 194(4):289-296.
- [3] Shen R F, Cai H, Gong W H. Transgenic *Bt* cotton has no apparent effect on enzymatic activities or functional diversity of microbial communities in rhizosphere soil[J]. Plant and Soil, 2006, 285(1/2):149-159.
- [4] 丁志勇,许崇任,王戎疆. 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[J]. 生态学报,2001,21(2):332-336.
- [5] Saxena D, Flores S, Stotzky G. *Bt* toxin is released in root exudates

- from 12 transgenic corn hybrids representing three transformation events[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2002, 34(1):133-137.
- [6] 孙彩霞,张玉兰,缪璐,等. 转 *Bt* 基因作物种植对土壤养分含量的影响[J]. 应用生态学报,2006,17(5):943-946.
- [7] Motavalli P P, Kremer R J, Fang M, et al. Impact of genetically modified crops and their management on soil microbially mediated plant nutrient transformations[J]. Journal of Environmental Quality, 2004, 33(3):816-824.
- [8] Nardi S, Concheri G, Pizzeghello D, et al. Soil organic matter mobilization by root exudates[J]. Chemosphere, 2000, 41(5):653-658.
- [9] 张美俊,杨武德. 转 *Bt* 基因棉种植对根际土壤生物学特性和养分含量的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2008,14(1):162-166.
- [10] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3 版. 北京:中国农业出版社,2000:14-24,70-97.
- [11] Chen Z H, Chen L J, Wu Z J. Relationships among persistence of *Bacillus thuringiensis* and *Coupea trypsin* inhibitor proteins, microbial properties and enzymatic activities in rhizosphere soil after repeated cultivation with transgenic cotton[J]. Applied Soil Ecology, 2012, 53(2):23-30.
- [12] 曾萍,冯远娇,张婉纯,等. 种植 *Bt* 玉米及秸秆还田后土壤中 *Bt* 蛋白的变化及其对土壤养分的影响[J]. 应用生态学报,2014,25(7):1997-2003.
- [13] 孙彩霞,陈利军,武志杰. *Bt* 杀虫晶体蛋白的土壤残留及其对土壤磷酸酶活性的影响[J]. 土壤学报,2004,41(5):761-766.
- [14] 张莉,胡文军,沈文静,等. 多年连续种植转基因 *Bt* 汕优 63 稻田水体和土壤中 Cry1Ab/c 蛋白残留调查[J]. 生态与农村环境学报,2015,31(4):534-539.
- [15] 刘苑苑. 转基因抗虫棉 *Bt* 蛋白残留及对土壤生物的影响[D]. 南京林业大学,2009:39-40.
- [16] James R R. Utilizing a social ethic toward the environment in assessing genetically engineered insect-resistance in trees[J]. Agriculture and Human Values, 1997, 14(3):237-249.
- [17] Mayeno A N, Gleich G J. Eosinophilia-myalgia syndrome and tryptophan production: a cautionary tale[J]. Trends in Biotechnology, 1994, 12(9):346-352.
- [18] 马丽颖,崔金杰,陈海燕. 种植转基因棉对 4 种土壤酶活性的影响[J]. 棉花学报,2009,21(5):383-387.
- [19] 娜布其,赵建宁,李刚,等. 转双价 (*Bt* + *CpTI*) 棉种植对土壤速效养分和酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报,2011,30(5):930-937.
- [20] 娜日苏. 黄河流域棉区转 *Bt* 基因棉种植对土壤微生物生态学特性的影响[D]. 内蒙古师范大学,2011:29-30.
- [21] 王建武,冯远娇. 种植 *Bt* 玉米对土壤微生物活性和肥力的影响[J]. 生态学报,2005,25(5):1213-1220.
- [22] 赵云丽,赵建宁,李刚,等. 转基因 (*Bn* - *csRRM2*) 高产棉花对土壤速效养分和酶活性的影响[J]. 棉花学报,2015,27(2):143-148.
- [23] Yang W, Zhang M, Ding G. Effect of transgenic *Bt* cotton on bioactivities and nutrients in rhizosphere soil[J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2012, 43(4):689-700.
- [24] 乌兰图雅,李刚,赵建宁,等. 不同生育期转双价 (*Bt* + *CpTI*) 基因抗虫棉根际土壤酶活性和养分含量变化[J]. 生态学杂志,2012,31(7):1733-1737.