

梁晋刚,辛龙涛,栾颖,等.转基因抗虫玉米对根际土壤主要有机元素含量和酶活性的影响[J].江苏农业科学,2019,47(5):196-199.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.05.048

转基因抗虫玉米对根际土壤主要有机元素含量和酶活性的影响

梁晋刚^{1,2}, 辛龙涛², 栾颖², 宋新元³, 张正光²

(1. 农业部科技发展中心, 北京 100176; 2. 南京农业大学, 江苏南京 210095; 3. 吉林省农业科学院, 吉林长春 130124)

摘要:为评估转基因抗虫玉米 IE09S034 对土壤生态系统的影响,开展转基因玉米 IE09S034 对土壤主要有机元素含量和酶活性影响的试验研究。连续 2 年,在玉米苗期、花期和成熟期,采用抖落法采集根际土壤样品,通过室内测定,分析转基因玉米 IE09S034 对根际土壤含水量、pH 值、主要有机元素含量和酶活性的影响。结果表明,转基因玉米 IE09S034 较对应的非转基因玉米根际土壤含水量、pH 值、主要有机元素含量和酶活性无显著性差异,但不同生育期对各指标有显著性影响。结果可为转基因玉米 IE09S034 的环境安全提供新的依据。

关键词:转基因抗虫玉米;土壤有机元素;土壤酶活性;土壤生态系统

中图分类号: S153.6⁺2; S154.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)05-0196-03

随着转基因作物在全球范围内的大规模种植,其对土壤生态系统的安全性问题逐渐得到重视^[1]。土壤微生物是土壤生态系统的重要组成部分,对生态系统内的植物多样性及其健康状况具有较大的影响^[2-3]。转基因作物可能会通过直接或间接的方式对土壤营养代谢循环产生影响,进而威胁土壤生态系统的安全性,因此评价转基因作物对土壤生态系统的影响具有十分重要的意义^[4-5]。

转基因作物可通过其凋落物残体或根际分泌物等影响土壤理化性质、微生物群落结构及功能酶活性,从而在一定程度上对土壤生态系统中的生物化学反应进程产生影响^[6-11]。土壤理化性质对土壤酶活性具有深刻的影响,土壤水分、矿质元素含量和 pH 值等影响着土壤酶的活性及稳定性^[12]。土壤酶是土壤新陈代谢的重要因素,对土壤中的营养元素循环具有重要的作用,其活性受地域差异、植物品种、土壤类型、土壤理化性质等多种环境因素的影响^[13-14]。由于土壤中包含了多种多样的酶,因此在研究时有必要选取具有代表性的酶进行分析^[15-17]。前人研究报道表明,转基因作物的种植可能导致根际土壤营养状况和酶活性发生变化^[18-19]。梁晋刚等前期研究发现,转基因高蛋氨酸大豆 ZD91 对根际土壤碳、氢、氮等有机元素含量和蔗糖酶、碱性磷酸酶等酶活性均没有显著性的影响^[5,20]。

按照个案分析原则,本研究以转基因抗虫玉米 IE09S034 和其对应的非转基因玉米 Zong31 为试验材料,对玉米根际土壤主要有机元素含量和酶活性进行 2 年的监测,以期对转基因抗虫玉米 IE09S034 的环境安全性提供新的依据。

收稿日期:2017-12-02

基金项目:国家转基因生物新品种培育科技重大专项(编号:2016ZX08011-003)。

作者简介:梁晋刚(1987—),男,山西阳泉人,博士,农艺师,主要从事转基因生物安全评价与检测研究。E-mail:382408162@qq.com。

通信作者:张正光,博士,教授,主要从事转基因生物安全评价与检测研究。E-mail:zhgzhang@njau.edu.cn。

1 材料与方法

1.1 试验材料与设计

试验材料为转 *cryIle* 基因抗虫玉米 IE09S034 (IE) 以及与其对应的非转基因玉米 Zong31 (IECK),由转基因抗虫玉米 IE 的研发单位(中国农业科学院作物科学研究所)提供。试验地点为吉林省农业科学院转基因植物环境安全研究试验圃场(43°30'N, 124°49'E),试验年份为 2014—2015 年,采用随机区组设计,每个品种设置 3 次重复。整个试验期间按照当地普通农事操作进行田间管理。

1.2 根际土壤样品采集

土壤样品采集分为 3 个阶段,即苗期 (seedling stage, 简称 SS)、花期 (flowering stage, 简称 FS) 和成熟期 (maturity - setting stage, 简称 MS),采用抖落法采集根际土壤^[20]。采用 5 点取样法进行取样,将每个小区 5 点的土壤样品混合为 1 个重复,过 2 mm 筛, -20 ℃ 保存备用。

1.3 根际土壤含水量、pH 值和有机元素含量的测定

土壤含水量采用烘干称质量法测定^[21]:取土壤样品于 105 ℃ 烘干至恒质量,利用以下公式来计算土壤含水量:含水量 = (湿土质量 - 干土质量) / 干土质量 × 100%。

土壤 pH 值测定:取风干土壤样品 10 g 置于 50 mL 锥形瓶中(水土体积比 2.5 : 1),间歇性搅拌或摇动 30 min,静置 30 min,待澄清后,用 pH 计测定悬液液的 pH 值^[22]。

土壤主要有机元素含量测定:根际土壤全碳含量、全氮含量测定委托南京大学现代分析中心完成,运用 Vario MICRO 元素分析仪进行检测。

1.4 土壤主要酶活性测定

根际脲酶和碱性磷酸酶分别参照关松荫等的方法^[14,23]进行测定。脲酶活性以反应中释放出的游离态氮含量表示,碱性磷酸酶活性以反应中释放出的酚含量表示,单位为 mg/(g · d)。

1.5 数据分析

所有数据通过 SPSS 17.0 软件进行统计分析,多处理间

差异分析采用单因素方差分析 (One - way ANOVA) 和 Duncan's 多重比较。另外,在不同生育期、不同栽培品种间,选择单因素方差分析对土壤酶进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 根际土壤主要理化性质变化

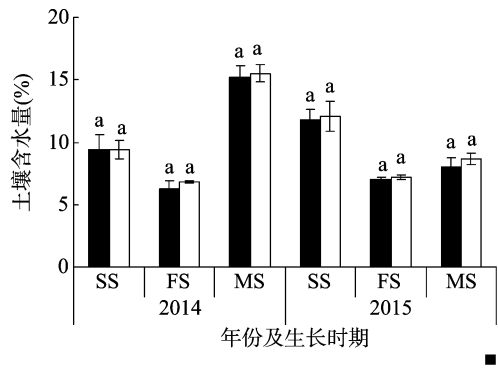


图1 玉米根际土壤含水量、土壤 pH 值

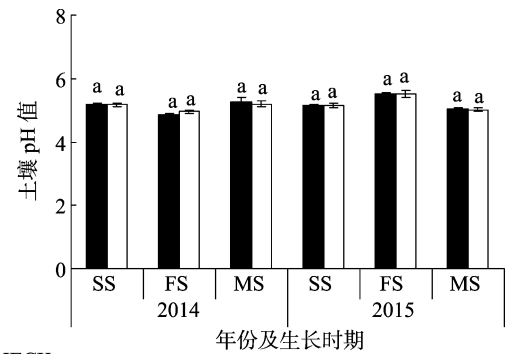


表1 ANOVA 分析转基因处理及生长时期对土壤含水量、土壤 pH 值的影响

年份	指标	影响因子	F 值	P 值
2014	含水量	生长时期	232.38	0.00
		品种	0.02	0.89
	pH 值	生长时期	29.91	0.00
		品种	0.04	0.84
2015	含水量	生长时期	75.13	0.00
		品种	1.13	0.31
	pH 值	生长时期	85.91	0.00
		品种	0.02	0.89

际土壤碳元素、氮元素含量与受体玉米 IECK 之间均没有显著性差异,说明转基因抗虫玉米对根际土壤碳元素、氮元素含量无显著性影响。通过表 2 的 ANOVA 分析发现,2014 年,玉米不同生育期之间土壤碳元素含量存在显著性差异。

2.2 根际土壤主要功能酶活性变化

由图 3 可知,在相同生长时期内,转基因抗虫玉米 IE 的根际土壤脲酶、碱性磷酸酶活性与受体玉米 IECK 之间均没有显著性差异,说明转基因抗虫玉米 IE 对根际土壤脲酶、碱性磷酸酶活性无显著性影响。通过表 3 中的 ANOVA 分析发现,玉米根际土壤脲酶、碱性磷酸酶活性均受玉米生长时期的显著性影响。

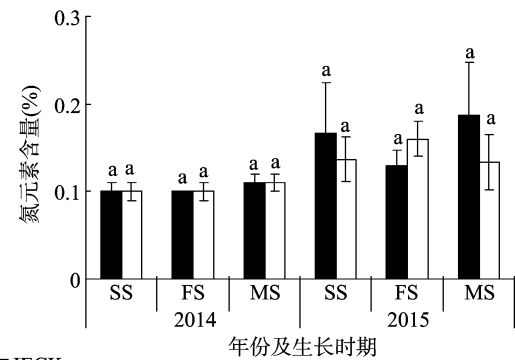
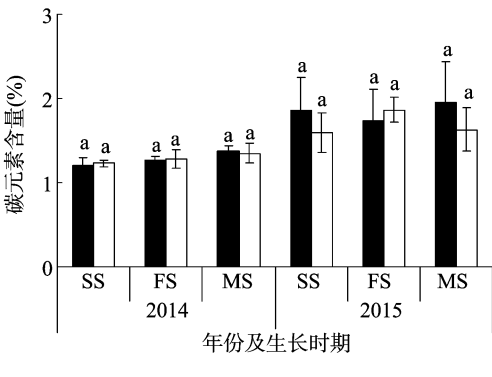


图2 玉米根际土壤碳、氮元素含量

3 结论与讨论

本研究发现转基因抗虫玉米 IE 与受体玉米 IECK 之间土壤含水量、pH 值、碳元素含量、氮元素含量等主要理化性质没有显著性差异,土壤脲酶、碱性磷酸酶活性等主要功能酶活性没有显著性差异,说明转基因抗虫玉米 IE 对土壤主要理化性质和酶活性没有产生显著性影响。此外,进一步通过 ANOVA 分析发现,玉米不同生长时期之间,根际土壤含水量、土壤 pH 值、酶活性具有显著性差异,说明玉米生长时期是主要影响因素。

有研究报道,转基因作物与受体作物相比可能会在养分组成以及残体降解方面存在一定的差异,进而对土壤理化性质产生影响^[21]。然而,杜鹃等发现,转基因作物对根际土壤理化性质各指标无显著性影响^[24]。本研究发现,转基因抗虫玉米 IE 与对应的非转基因受体玉米 IECK 之间根际土壤含水量、pH 值以及碳、氮元素含量等均没有显著性差异。

目前,已有很多研究将土壤酶作为衡量土壤健康状况的一个重要参量,并将其应用到转基因作物的环境安全评价中,大量研究结果表明,转基因作物对土壤主要功能酶活性没有产生显著性影响^[25-30]。土壤功能酶活性主要受土壤类型和

表 2 ANOVA 分析转基因处理及生长时期对土壤碳、氮含量的影响 ($P < 0.05$)

年份	指标	影响因子	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
2014	碳含量	生长时期	6.43	0.01
		品种	0.01	0.94
	氮含量	生长时期	2.26	0.14
		品种	0.00	1.00
2015	碳含量	生长时期	0.09	0.92
		品种	0.97	0.34
	氮含量	生长时期	0.22	0.81
		品种	0.90	0.36

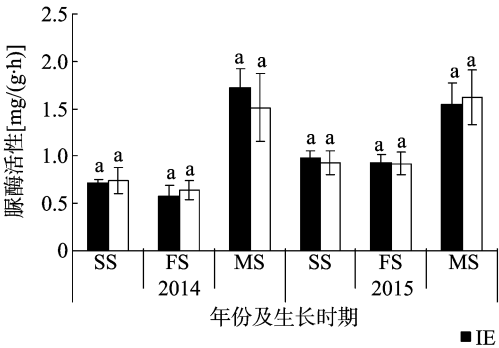


图3 玉米根际土壤脲酶、碱性磷酸酶活性变化

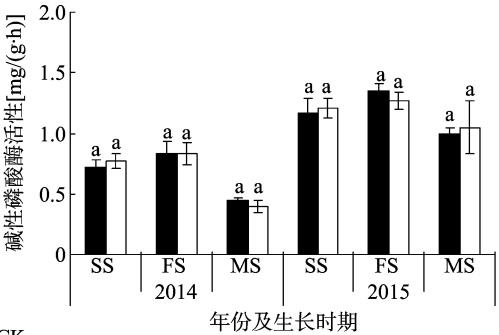
表 3 ANOVA 分析转基因处理及生长时期对土壤脲酶、碱性磷酸酶活性的影响 ($P < 0.05$)

年份	指标	影响因子	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
2014	脲酶活性	生长时期	54.96	0.00
		品种	0.03	0.87
	碱性磷酸酶活性	生长时期	69.28	0.00
		品种	0.00	0.99
2015	脲酶活性	生长时期	26.46	0.00
		品种	0.00	0.97
	碱性磷酸酶活性	生长时期	8.92	0.00
		品种	0.00	0.98

作物生长时期的影响^[31]。本研究结果表明,转基因抗虫玉米 IE 对土壤脲酶、碱性磷酸酶活性没有产生显著性影响,且发现不同生育期是造成土壤酶活性产生差异的主要因素,这与之前转基因作物对酶活性影响研究的结果相似。

参考文献:

[1] Liu N, Zhu P, Peng C, et al. Effect on soil chemistry of genetically modified (GM) vs. non - GM maize [J]. GM Crops, 2010, 1 (3): 157 - 161.
[2] 梁晋刚, 张秀杰. 转基因作物对土壤微生物多样性影响的研究策



resistant wheat - canola rotations under low - disturbance direct seeding and conventional tillage [J]. Soil Biol Biochem, 2007, 39 (7): 1418 - 1427.

[11] Sun C X, Chen L J, Wu Z J, et al. Soil persistence of *Bacillus thuringiensis* (Bt) toxin from transgenic Bt cotton tissues and its effect on soil enzyme activities [J]. Biol Fert Soils, 2007, 43: 617 - 620.
[12] 张咏梅, 周国逸, 吴 宁. 土壤酶学的研究进展 [J]. 热带亚热带植物学报, 2004, 12 (1): 83 - 90.
[13] Heuer H, Kroppenstedt R M, Lottmann J, et al. Effects of T₄ lysozyme release from transgenic potato roots on bacterial rhizosphere communities are negligible relative to natural factors [J]. Appl Environ Microbiol, 2002, 68 (3): 1325 - 1335.
[14] 关松荫. 土壤酶及其研究法 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1986: 294 - 298.
[15] Flores S, Saxena D, Stotzky G. Transgenic Bt plants decompose less in soil than non - Bt plants [J]. Soil Biol Biochem, 2005, 37 (6): 1073 - 1082.
[16] Das S K, Varma A. Role of enzymes in maintaining soil health [M]. Berlin: Springer - Verla, 2010: 27 - 37.
[17] Rao M A, Sannino F, Nocerino G, et al. Effect of air - drying treatment on enzymatic activities of soils affected by anthropogenic activities [J]. Biol Fert Soils, 2003, 38 (5): 327 - 332.
[18] Flie B A, Messmer M, Nietlisbach B, et al. Effects of conventionally bred and *Bacillus thuringiensis* (Bt) maize varieties on soil microbial biomass and activity [J]. Biology and Fertility of Soils, 2012, 48 (3): 315 - 324.
[19] 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]. J Environ Qual, 2004, 33 (3): 816 - 824.
[20] Liang J G, Shi S, Jun J, et al. Comparison of the rhizosphere bacterial communities of zigongdongdou soybean and a high -

略 [J]. 生物技术通报, 2017, 33 (9): 1 - 6.
[3] 梁晋刚, 张正光. 转基因高蛋氨酸大豆对根际真菌群落碳代谢功能的影响 [J]. 江苏农业学报, 2017, 33 (5): 993 - 997.
[4] 梁晋刚, 张正光. 转基因作物种植对土壤生态系统影响的研究进展 [J]. 作物杂志, 2017 (4): 1 - 6.
[5] 梁晋刚, 孟 芳, 张正光. 转基因高蛋氨酸大豆对根际土壤主要有机元素和酶活性的影响 [J]. 生物安全学报, 2017, 26 (4): 301 - 306.
[6] 刘根林. 转基因大豆对根际土壤微生物群落的影响及其多样性指数的度量 [D]. 南京: 南京大学, 2012: 10 - 14.
[7] 刘根林, 戚金亮, 喻德跃, 等. 根际箱种植富含硫氨基酸转基因大豆对土壤硫转化酶活性及微生物功能多样性的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2014, 33 (1): 103 - 110.
[8] 李孝刚. 转基因抗虫棉对土壤生态系统影响的研究 [D]. 南京: 南京林业大学, 2011: 5 - 10.
[9] Chen Z H, Chen L J, Zhang Y L, et al. Microbial properties, enzyme activities and the persistence of exogenous proteins in soil under consecutive cultivation of transgenic cottons (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. Plant Soil Environ, 2011, 57 (2): 67 - 74.
[10] Lupwayi N Z, Hanson K G, Harker K N, et al. Soil microbial biomass, functional diversity and enzyme activity in glyphosate -

袁 斌,吕美云,刘紫英. 宜春温泉中嗜热菌的分子鉴定及系统发育分析[J]. 江苏农业科学,2019,47(5):199–203.
doi:10.15889/j.issn.1002–1302.2019.05.049

宜春温泉中嗜热菌的分子鉴定及系统发育分析

袁 斌¹, 吕美云², 刘紫英²

(1. 宜春学院生命科学与资源环境学院,江西宜春 336000; 2. 宜春学院化学与生物工程学院,江西宜春 336000)

摘要:分离纯化宜春温泉水中的嗜热菌并鉴定分析其系统发育多样性。将宜春温泉水在嗜热菌分离培养基上进行多次分离纯化,液体扩大培养,提取 DNA、16S rRNA 进行 PCR 扩增,将其序列送往公司检测,经 Blast 分析和比对,对检测结果进行系统发育分析。结果表明,宜春温泉水中分离并鉴定 42 株中度嗜热细菌。宜春温泉菌群系统发育中,以芽孢杆菌类群为主;其中,解硫胺素芽孢杆菌属(*Aneurinibacillus*)和土样芽孢杆菌属(*Geobacillus*)占主导,其次是短芽孢杆菌属(*Brevibacillus*)、无氧芽孢杆菌属(*Anoxybacillus*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)。

关键词:温泉;嗜热菌;分子鉴定;系统发育分析

中图分类号: S182 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002–1302(2019)05–0199–05

嗜热微生物是指生长温度上限高于 50 ℃ 的微生物,研究嗜热菌可以探索高温环境中微生物的种类和多样性^[1],更重要的是可以利用和开发嗜热菌在耐热机制、环境保护、工业应用、资源开发等方面应用^[2],使其具有非常重要的意义。

对热泉中的微生物资源研究国内外已有相关报道^[3–5]。我国南部、西部和北部地区的热泉中嗜热微生物等资源已探索^[6–8],根据厦门温泉不同于内陆温泉和深海热液喷口的特点,杨波等发现了一些新的嗜热菌,为探索厦门地区新的微生物资源提供依据^[9]。辽宁鞍山温泉的水样表明,中温环境中以中度嗜热菌芽孢杆菌属(*Bacillus*)为主,对其嗜热酶进行了

定性分析^[10]。以上研究表明,国内的温泉中蕴藏着丰富的嗜热菌,为开发相关嗜热酶提供了前景。

宜春温泉水温常年维持在 68 ~ 72 ℃ 之间,具有独特的高硒低硫水质,是迄今全球仅有的高硒且低硫的温泉^[11]。泉水中的嗜热菌更是具有对泉水的净化和维稳作用。嗜热菌对高温有着较强适应性,通过对温泉中嗜热微生物的分析,能够充分了解高温环境中微生物的多样性及其功能多样性,使其具有重大的意义。本试验将宜春温泉水中嗜热菌的多样性进行研究分析,并且对各菌种之间的相关性进行比对。这一分析为了解温泉中的生态平衡提供了有力的证据,同时也为进一步开发、利用内陆温泉中的嗜热微生物提供可靠依据。

1 材料与方法

1.1 材料来源

样品来自于江西省宜春市宜春镇富硒温泉,宜春富硒温

收稿日期:2017–11–06

基金项目:江西省科技厅青年科学基金(编号:20142BA214011)。

通信作者:刘紫英(1979—),女,江西万年人,硕士,副教授,从事微生物工程技术研究。E-mail:yingziliu2008@163.com。

methionine transgenic line of this cultivar[J]. PLoS One,2014,9(7):e103343.

[21] 陈 丰,彭 欣,华小梅,等. 富含硫氨基酸转基因大豆对根际土壤有机元素含量和微生物群落多样性的影响[J]. 大豆科学,2012,31(2):259–265.

[22] 吴建平,梁国华,熊 鑫,等. 鼎湖山季风常绿阔叶林土壤微生物量碳和有机碳对模拟酸雨的响应[J]. 生态学报,2015,35(20):1–10.

[23] Wang G H, Jin J, Chen X L, et al. Biomass and catabolic diversity of microbial communities with long-term restoration, bare fallow and cropping history in Chinese Mollisols[J]. Plant Soil & Environment, 2007,53(4):177–185.

[24] 杜 娟,吴季荣,俞明正,等. 转基因小麦根际土壤中荧光假单胞菌数量的变化[J]. 麦类作物学报,2014,34(3):345–350.

[25] Caldwell B A. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: a review[J]. Pedobiologia,2005,49(6):637–644.

[26] Cheng F, Peng X B, Zhao P, et al. Soil microbial biomass, basal respiration and enzyme activity of main forest types in the Qinling Mountains[J]. PLoS One,2013,8(6):e67353.

[27] Fang H, Dong B, Yan H, et al. Effect of vegetation of transgenic Bt rice lines and their straw amendment on soil enzymes, respiration, functional diversity and community structure of soil microorganisms under field conditions[J]. J Environ Sci,2012,24(7):1259–1270.

[28] Lahl K, Unger C, Emmerling C, et al. Response of soil microorganisms and enzyme activities on the decomposition of transgenic cyanophycin-producing potatoes during overwintering in soil[J]. European Journal of Soil Biology,2012,53(6):1–10.

[29] Monkiedje A, Olusoji M, Spiteller M. Soil quality changes resulting from the application of the fungicides mefenoxam and metalaxyl to a sandy loam soil[J]. Soil Biol Biochem,2002,34(12):1939–1948.

[30] 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 Soil,2006,285(1/2):149–159.

[31] Wu J R, Yu M Z, Xu J H, et al. Impact of transgenic wheat with wheat yellow mosaic virus resistance on microbial community diversity and enzyme activity in rhizosphere soil[J]. PLoS One, 2014,9(6):e98394.