

转 Bt 基因玉米根际微生物和细菌生理群多样性*

王 敏^{1,2} 孙红炜² 武海斌² 杨崇良² 李宝笃¹ 路兴波^{2**}

(¹ 青岛农业大学农学与植物保护学院, 山东青岛 266109; ² 山东省农业科学研究院植物保护研究所, 济南 250100)

摘 要 大田栽培条件下,以转 Bt 玉米 Mon810 及其亲本非转基因玉米为研究对象,在玉米的不同生育期测定根际土壤微生物的数量变化,并对细菌群落结构及多样性进行了分析。结果表明,各生育期内 Bt 玉米与对照相比根际土壤真菌无显著差异,但细菌在抽丝期,放线菌在苗期二者有显著差异。同种细菌功能群的数量变化在 Bt 玉米和对照各生育期内趋势一致,不同的菌群表现不同。亚硝化细菌、好气固氮菌、氨化细菌和钾细菌的数量变化波动较大,其中 Bt 玉米和对照相比好气固氮菌的数量在生育期内有 5 个生育期有显著差异,而氨化细菌、钾细菌和亚硝酸菌仅分别在乳熟期、喇叭口期及拔节期和抽雄期差异显著。好气纤维分解菌和硝化细菌在苗期、拔节期和喇叭口期差异显著,无机磷分解菌在乳熟期和完熟期数量差异显著。整个生育期内 3 种群落特征参数均保持基本稳定,除乳熟期和完熟期外 Bt 玉米根际微生物群落特征参数均高于对照。

关键词 Bt 玉米;根际微生物;田间试验;多样性

中图分类号 S154 文献标识码 A 文章编号 1000-4890(2010)3-0511-06

Quantity of culturable microorganisms and diversity of bacterial physiological groups in transgenic Bt corn rhizosphere. WANG Min^{1,2}, SUN Hong-wei², WU Hai-bin², YANG Chong-liang², LI Bao-du¹, LU Xing-bo²(¹College of Agriculture and Plant Protection, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, Shandong, China; ²Plant Protection Research Institute, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Ji'nan 250100, China). *Chinese Journal of Ecology* 2010 29(3) 511-516.

Abstract: The transgenic Bt corn Mon810 and its parental non-transgenic corn (the control) were grown in field to study the quantitative changes of culturable microorganisms and the diversity of bacterial functional groups in their rhizosphere at different growth stages. There was no significant difference in the colony-forming of cultivable fungi in the rhizosphere of Bt corn and the control across the whole growth period, but significant differences were detected for bacteria at silking stage and actinomycetes at seeding stage. The diversity of the same bacterial functional groups in the rhizosphere of Bt corn and the control was similar, but the diversity of different bacterial functional groups varied. The number of aerobic nitrogen-fixing bacteria in the rhizosphere of Bt corn was significantly different from that of the control at five growth stages of the whole growth period, while the numbers of ammonifying bacteria, potassium-solubilizing bacteria, and nitrosation bacteria were only significantly different at milking stage, trumpet stage and jointing stage, and tasselling stage, respectively. The numbers of aerobic cellulose-decomposing bacteria and nitrobacteria were significantly different at seedling stage, jointing stage, and trumpet stage, and that of phosphorus-decomposing bacteria was significantly different at milking stage and full-ripe stage. Across the whole growth period except at silking stage and full-ripe stage, the population characteristic parameters of the microorganisms in Bt corn rhizosphere were higher than those in non-Bt corn rhizosphere.

Key words: Bt corn; rhizospheric microorganism; field experiment; diversity.

* 农业部转基因重大专项项目(2009ZX0811-020B)和中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助项目(农业部环境保护科研监测所 2009-ZJN-11)。

** 通讯作者 E-mail: luxb99@126.com

收稿日期:2009-08-21 接受日期:2009-12-11

近年来,随着转 Bt 玉米在全球大规模商品化,其潜在生态风险成为国际社会质疑的焦点(Alstad & Andow, 1995; 钱迎倩和马克平, 1998; 魏伟等, 1999; James, 2003)。转 Bt 玉米长期种植, Bt 毒蛋白可通过根系分泌物、秸秆还田、残茬分解以及花粉飘落等进入土壤生态系统并积累和富集(McGaughey & Whalon, 1992; 樊龙江等, 2001), 可能会影响土壤微生物区系的组成和结构, 改变土壤的微生物多样性。土壤微生物是土壤生态系统中物质循环和能量转化的动力来源(王忠华, 2005), 因此, 研究转 Bt 玉米对土壤微生物群落及多样性的影响对 Bt 玉米的生态风险评价有着极为重要的意义。

目前, 国内外关于转 Bt 基因作物对土壤根际微生物可能产生影响的原因的认识主要有 2 个方面。一方面, 转 Bt 作物外源基因的表达产物即 Bt 蛋白通过根系分泌物等进入土壤微生态系统, 直接或间接的促进或抑制了微生物的生长繁殖, Saxena 等(1999) 证明 Bt 玉米根系向土壤中持续分泌 Bt 蛋白, 游离的 Bt 蛋白易于被微生物降解, 但 Bt 蛋白与土壤中特定成分结合后, 大大减缓了土壤微生物和非生物因素对 Bt 蛋白的降解; 另一方面, 外源 Bt 基因插入受体植物后可能会引起植物体一系列生理生化反应改变, 进而引起根际分泌物的数量或化学组成发生改变。Donegan 等(1996) 发现, 美国 247 和 249 系 Bt(CryIAC 基因) 抗虫棉土壤中的微生物数量、种类和组成与常规棉的差异显著, 土壤中好氧细菌和真菌的数量显著增加, 可能是由于遗传修饰后的植株生理生化特性发生变化而对土壤微生物产生影响, 并非表达产物的直接影响。Watrud 和 Seidler(1998) 研究发现, 转 Bt 棉提高了土壤中细菌和真菌的数量; Donegan 等(1997) 发现, 抗虫棉土壤中的微生物数量、种类和组成与常规棉差异; Stotzky(2000) 报道, 转 Bt 玉米根系分泌、残茬分解释放的 Bt 毒素与非 Bt 玉米相比, 可培养的细菌、放线菌和真菌数量和种类统计学上没有显著差异。

国内外大部分转 Bt 玉米的研究多局限于温室或人工培养条件下, 在自然条件下研究较少, 而土壤是复杂的基质, 不同地域的土壤生态环境有可能对研究结果产生影响, 故难以真实地反映 Bt 玉米与根际微生物间的关系。本试验主要在田间自然条件下进行了转 Bt 玉米对土壤根际可培养微生物和细菌生理群多样性影响的研究, 有助于直观地表现土壤微生态系统中的群落结构和稳定性及从群落角度

科学评价转 Bt 基因玉米种植的土壤生态风险, 以期对转 Bt 玉米土壤生态安全风险评价提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试玉米品种为孟山都公司的 Mon810(品种为 DK647BTY 表达 CryIAb 杀虫蛋白), 以其非转 Bt 亲本玉米 DK647 作为对照。

1.2 试验设计

田间试验位于农业部转基因植物监督检测中心(济南) 试验田内, 土壤为褐土, 有机质含量 $22.09 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 碱解氮含量 $32.44 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 速效磷含量 $9.82 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 速效钾含量 $90.56 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, pH 为 8.3。随机区组设计, 设 Bt 玉米 Mon810、非转基因亲本玉米 DK647 和空白(不种植作物) 3 个处理, 除空白外各重复 3 次, 小区面积 $15 \text{ m} \times 15 \text{ m}$, 株距 20 cm, 行距 60 cm。玉米生长过程中不施肥, 不喷洒农药, 其他按常规管理。

玉米于 2008 年 6 月 23 日播种, 2008 年 9 月 22 日收获。期间在玉米的不同生长期苗期(7 月 7 日)、拔节期(7 月 16 日)、喇叭口期(7 月 31 日)、抽雄期(8 月 12 日)、抽丝期(8 月 20 日)、乳熟期(9 月 12 日) 和完熟期(9 月 17 日) 分别取样。土样采集采用 S 形随机取样法, 每小区取玉米根系 9 株。根际土样采集方法为: 轻轻去除 2 cm 表层土, 再挖出全部根系, 抖落根系上多余土壤, 剪下根系放入灭菌封口袋中做好标记带回实验室。无菌操作台上将根际土壤尽可能多的抖落于封口袋中, $-4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。

1.3 测定方法

1.3.1 根际土壤微生物的分离培养与计数 根际真菌、细菌和放线菌数量测定采用稀释平板法, 混菌接种培养, 培养基分别为马丁氏培养基、牛肉膏蛋白胨培养基和改良高氏 1 号培养基。7 种土壤功能细菌群好气纤维分解菌、亚硝酸细菌、硝化细菌、好气固氮菌、氨化细菌、钾细菌和无机磷分解菌用最大或然数(most probable number, MPN) 法测定。培养基参照《土壤微生物分析方法手册》(许光辉和郑洪元, 1986) 配制。

1.3.2 根际细菌生理群的多样性分析 土壤细菌功能生理群的多样性指数计算方法参考《土壤微生物生态学及其实验技术》(姚槐应等, 2006)。公式如下:

P_i 多度指数 :

$$P_i = N_i/N$$

式中 N_i 为第 i 种的个体数, N 为所在群落所有物种的个体数之和。

Shannon-Wiener 群落多样性指数 :

$$H = - \sum P_i \times \ln P_i$$

Simpson 优势集中性指数 :

$$D = 1 - \sum P_i^2$$

Shannon 均匀度指数 :

$$E = H/\ln S$$

式中 S 为群落中的总物种数。

1.4 统计分析

试验测定数据采用统计软件 SPSS 16.0 进行方差分析(LSD 法),多重比较采用 Duncan 新复极差法。

2 结果与分析

2.1 田间自然条件下玉米根际土壤三大微生物数量的变化

2.1.1 土壤真菌数量变化 从图 1 可以看出,整体而言,空白地内真菌数量保持稳定,变化不大,而 Bt 玉米和亲本玉米根际土壤真菌的数量变化规律明显。对于 Bt 玉米和亲本玉米,真菌数量从苗期开始大体呈逐渐减少的趋势,且二者土壤根际真菌的数量均在生长发育后期有所增加,乳熟期出现除苗期外的第 2 个高峰。可见苗期根际土壤真菌最为活跃,后趋于平稳。总体看,Bt 玉米根际真菌的数量仅在抽丝期和乳熟期明显大于亲本玉米,其余各生育期内均小于亲本玉米,但整个生育期二者之间差异均不显著($P > 0.05$),可见,转 Bt 玉米的种植对土壤根际真菌的数量没有显著影响。

2.1.2 土壤细菌数量变化 不同于真菌数量的规律性变化,在玉米生育期内 Bt 玉米和亲本玉米根际细菌数量无明显变化规律,波动较大(图 1)。空白对照与玉米种植地相比,细菌数量总体低于 Bt 玉米和亲本玉米根际细菌数,并从拔节期开始递减,前期无显著差异($P > 0.05$),但从抽雄期开始均有显著差异($P < 0.05$)。在玉米各生育期内,Bt 玉米根际细菌数量从苗期开始减少,后期的生殖生长时期又逐渐增加,亲本玉米根际细菌数量变化趋势与 Bt 玉米相似,但在抽丝期其细菌数量明显下降,二者之间差异显著($P < 0.05$)。玉米其他各生长阶段 Bt 玉

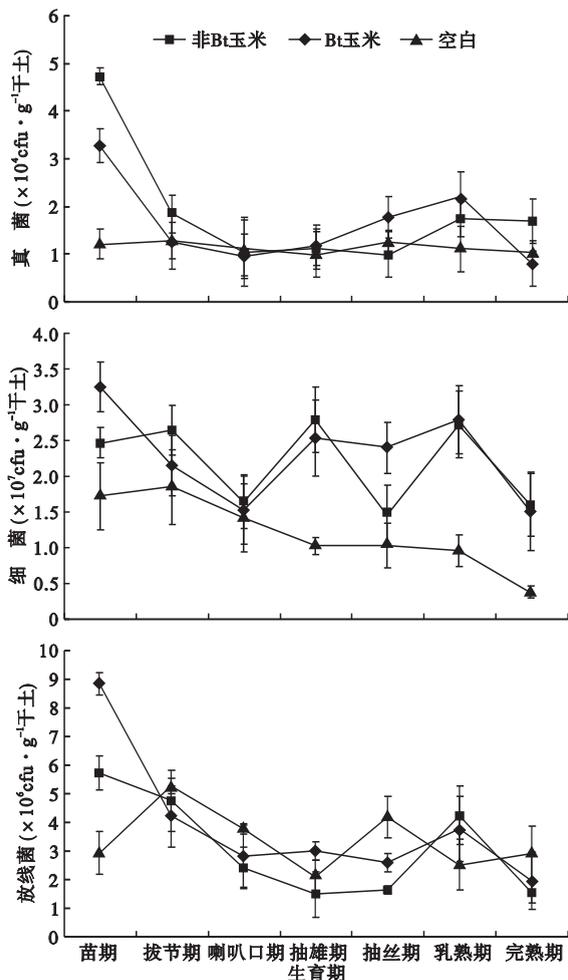


图 1 田间条件下玉米生育期内根际土壤真菌、细菌和放线菌的数量变化

Fig. 1 Population number of fungi, bacteria and actinomycetes in the corn rhizosphere at different growth stages in field condition

米和亲本玉米细菌数量有所不同,但除抽丝期外,差异均不显著($P > 0.05$)。

2.1.3 土壤放线菌数量变化 图 1 显示,空白地块的放线菌数量除在玉米拔节、抽丝 2 个时期有较大增加外,其余各时期基本稳定,且其数量在玉米拔节、喇叭口、抽丝和完熟期均大于 Bt 玉米和亲本玉米,这与根际真菌、细菌的变化有明显不同。Bt 玉米和亲本玉米根际土壤放线菌的数量变化趋势一致,苗期数量最大,二者之间有显著差异($P < 0.05$)继而减少,乳熟期又有增加,完熟期继续减少,且亲本玉米根际放线菌数量减少幅度更大。其他生育期内均无显著差异($P > 0.05$),Bt 玉米对土壤根际放线菌数量的影响也不显著。

2.2 田间自然条件下玉米根际细菌功能生理群的数量变化

2.2.1 好气纤维分解菌数量变化 表1所示,好气纤维分解菌数量在玉米生育期内变化稳定,Bt玉米和亲本玉米该菌数量变化趋势相似,苗期开始锐减,后趋稳定,抽丝期又有较大幅度的增长,后又下降,二者在苗期、拔节期和喇叭口期数量差异显著($P < 0.05$),但生育后期差异不显著($P > 0.05$)。

2.2.2 亚硝酸细菌数量变化 玉米生育期内,根际亚硝酸细菌数量波动较大,Bt玉米和亲本玉米二者均在拔节和抽雄期有增长高峰,其中亲本玉米的数量增加幅度要大于Bt玉米,且在拔节期达到最大(表1)。统计结果显示,二者数量差异在拔节期达极显著水平($P < 0.01$),抽雄期达显著水平($P < 0.05$),其他时期均无显著差异($P > 0.05$)。

2.2.3 硝化细菌数量变化 硝化细菌数量随玉米不同生育阶段而有明显变化规律,苗期数量开始增加,Bt玉米和亲本玉米分别在喇叭口期和抽雄期达到最大,至成熟期又开始下降(表1)。Bt玉米和亲本玉米相比在拔节期、喇叭口期、抽雄期和完熟期二者间均差异显著($P < 0.05$)。

2.2.4 好气固氮菌数量变化 从表1可以看出,Bt玉米和亲本玉米好气固氮菌均在抽雄期有一个明显增长高峰,Bt玉米菌数在苗期和抽雄期极显著高于亲本玉米($P < 0.01$),拔节和喇叭口期二者差异不显著($P > 0.05$),但在抽丝、乳熟和完熟期,Bt玉米显著低于亲本玉米($P < 0.05$)。

2.2.5 氨化细菌数量变化 表1显示,氨化细菌是所测4种细菌功能群中的优势种群,数量最多。Bt玉米和亲本玉米土壤中该菌在玉米各生育期内波动较大,变化规律不明显。亲本玉米根际氨化细菌数量除抽雄期、乳熟期外均多于Bt玉米,但二者仅在乳熟期差异显著($P < 0.05$)。

2.2.6 钾细菌数量变化 钾细菌在玉米生育周期内的变化比较稳定(表1),Bt玉米和亲本玉米均呈现出苗期开始增加,抽雄期达到最大,而后又开始减少的趋势,二者仅在喇叭口期有显著差异($P < 0.05$)。

2.2.7 无机磷分解菌数量变化 Bt玉米和亲本玉米根际无机磷分解菌数量在乳熟期和完熟期有显著差异($P < 0.05$) (表1),二者变化相似,Bt玉米该菌数量在抽丝期之前小于或接近亲本玉米,抽丝期之后则Bt玉米大于亲本玉米。

2.3 转Bt基因玉米根际细菌功能类群的多样性特征

由表2看出,在玉米各生育期,Bt玉米与亲本玉米相比,乳熟期和完熟期亲本玉米的群落多样性、均匀度和优势集中性指数均高于Bt玉米,此时亲本玉米土壤微生物种类更多样,优势集中性不明显,分布更均匀,其他生长期则呈现相反趋势。Bt玉米在苗期时各项群落特征指数最高,群落最稳定丰富,成熟期各指数均大幅下降,完熟期达到最低。亲本玉米在完熟期各项指数出现最小值。

表1 玉米生育期内根际细菌生理群的数量分布($\times 10^4$ cfu \cdot g $^{-1}$ 干土)

Tab.1 Quantity of bacterial physiological groups in the corn rhizospheric at different growth stages in field condition($\times 10^4$ cfu \cdot g $^{-1}$ dry soil)

生育期	处理	好气纤维分解菌	亚硝酸细菌	硝化细菌	好气固氮菌	氨化细菌	钾细菌	无机磷分解菌
苗期	Bt玉米	2.70 a	0.44 a	351 a	52.2 A	1716 a	106 a	311 a
	非Bt玉米	1.74 b	0.17 a	406 a	3.97 B	2348 a	122 a	324 a
拔节期	Bt玉米	0.16 b	2.29 B	729 a	12.1 a	2286 a	196 a	228 a
	非Bt玉米	0.43 a	5.32 A	516 b	11.3 a	2452 a	184 a	261 a
喇叭口期	Bt玉米	0.03 b	0.21 a	982 a	6.49 a	719 a	282 b	395 a
	非Bt玉米	0.37 a	1.00 a	831 b	4.52 a	885 a	396 a	387 a
抽雄期	Bt玉米	0.02 a	2.72 b	710 b	33.6 A	2511 a	455 a	686 a
	非Bt玉米	0.19 a	3.05 a	895 a	13.2 B	2322 a	517 a	724 a
抽丝期	Bt玉米	0.85 a	1.80 a	823 a	0.95 b	525 a	182 a	714 a
	非Bt玉米	0.68 a	1.72 a	769 a	3.77 a	1243 a	216 a	647 a
乳熟期	Bt玉米	0.58 a	1.32 a	429 a	1.20 b	3818 a	163 a	528 a
	非Bt玉米	0.36 a	0.31 a	483 a	7.48 a	2694 b	118 a	402 b
完熟期	Bt玉米	0.04 a	0.09 a	211 b	2.34 b	518 a	153 a	483 a
	非Bt玉米	0.03 a	0.26 a	431 a	8.48 a	1170 a	184 a	302 b

同一生育期同一微生物种群不同字母表示差异显著($P < 0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)。

表 2 不同生育期玉米根际细菌功能类群的多样性参数
Tab. 2 Parameters of bacterial functional diversity in rhizosphere soil at different growth stages of corns

处理	群落多样性指数		均匀度指数		优势集中性指数	
	Bt 玉米	非 Bt 玉米	Bt 玉米	非 Bt 玉米	Bt 玉米	非 Bt 玉米
苗期	1.75	0.66	0.86	0.74	0.42	0.08
拔节期	0.82	0.79	0.68	0.61	0.16	0.14
喇叭口期	0.64	0.53	0.52	0.49	0.19	0.15
抽雄期	0.84	0.61	0.63	0.42	0.31	0.17
抽丝期	0.58	0.46	0.52	0.45	0.16	0.12
乳熟期	0.24	0.56	0.31	0.33	0.07	0.13
完熟期	0.17	0.24	0.15	0.26	0.04	0.06

3 讨 论

3.1 转 Bt 基因玉米对土壤微生物群落的影响

真菌、细菌和放线菌是土壤微生物群落的主体,其数量庞大,能直接表现土壤微生物群落结构和多样性。本试验结果表明,田间自然条件下,Bt 玉米对根际微生物的影响程度为细菌 > 放线菌 > 真菌,转基因玉米的根际环境发生一定变化,影响了三大微生物的数量,但该影响尚未改变根际微生物群落结构。Devare 等(2004)研究转 cry3Bb 玉米根际土壤对细菌群落结构的影响,结果表明转基因与非转基因玉米对细菌群落多样性没有显著性影响。Baumgalte 和 Tebbe(2005)对大面积种植的转 Bt 玉米根际土壤细菌群落分子生态进行研究,结果表明,尽管 cry1Ab 基因在整个生育期都能持续表达会对土壤细菌群落多样性产生影响,但是这种影响与环境因素相比是微不足道的。本试验结果与之相似,细菌的数量最多,与真菌、放线菌的变化较平稳相比波动性更大,这是因为细菌个体小,分布广,基数大,对根际环境变化最为敏感,反馈速度快。但是,Bt 玉米与非转基因玉米相比,细菌仅在抽丝期,放线菌仅在苗期,二者间有显著差异,真菌在各生育期均未出现差异。

土壤微生物系统中,特定微生物类群所占比例及其数量变化往往对其所在的生态条件具有一定的指示意义(沈法富等,2004)。本试验选取了氨化细菌、好气固氮菌、亚硝酸细菌、硝化细菌、好气纤维分解菌、钾细菌和无机磷分解菌 7 种细菌功能生理群进行研究。它们能够影响到土壤中氨化、固氮、硝化、亚硝化作用,以及碳-氮循环,磷、钾元素的代谢等,对土壤微生态系统有重要的代表意义。氮素在植物营养中占有极其重要的地位,作物利用 NH_4^+ 和

NO_3^- 离子作为合成氨基酸和核酸等含氮化合物的氮源以完成生命过程。徐立华等(2005)对比了转 Bt 抗虫棉与常规棉氮素代谢的差异,结果显示,转基因抗虫棉主茎功能叶片中的全 N 含量、可溶性蛋白含量、硝酸还原酶活性以及主要氨基酸总量和游离氨含量均高于常规棉,其氮代谢十分旺盛。本研究发现,Bt 玉米与亲本玉米相比,氮代谢活动也有一定的差异,好气固氮菌数量在 7 个玉米生育期中有 5 个生育期间有显著差异,苗期和抽雄期差异达极显著,表明转 Bt 玉米的根系分泌物环境影响到土壤中的固氮作用。硝化和亚硝酸细菌的变化也显示土壤中硝态氮的转化也受到转基因玉米的影响。玉米营养生长发育时期对碳氮元素需求较大,而该时期好气纤维分解菌数量在 Bt 玉米和亲本玉米间有明显差异,说明转基因玉米营养生长期靠微生物降解利用土壤碳氮的能力与非转基因玉米明显不同。钾细菌和氨化细菌相对受玉米不同基因型的影响不大,这可能取决于细菌本身的耐受性。而无机磷分解菌在玉米成熟期,Bt 玉米和亲本玉米间产生差异,可能与成熟期不同玉米对磷素的利用程度及根系活力大小不同有关。已有试验证明,外源 Bt 基因的导入有可能引起受体在其他生理生态特征方面的改变(Hopkins *et al.* 2001),Kay 等(2002)在土壤中检测到转基因作物插入的目的片段通过基因水平转移与土壤中细菌发生重组,由于 Bt 玉米和亲本玉米基因型的不同,可能直接导致了玉米生理生化性状的改变,从而使根系分泌物与非转基因玉米存在一定差异。而土壤根际微生物能够直接受根系分泌物的影响或诱导,从而数量上产生变化,继而一定程度上影响到土壤中碳、氮、磷、钾元素的循环利用。

3.2 转 Bt 基因玉米对根际细菌功能类群多样性的影响

细菌群落多样性、均匀度和优势集中性 3 种群落特征参数能够从不同角度比较微生物群落的多样性差异。群落多样性与均匀度参数值越大,优势集中性值越小,则群落结构越复杂,其反馈系统也就越强,对于环境条件变化或来自群落内部种群波动的缓冲作用越强,群落也就越稳定(柏立新等,2003)。Fang 等(2007)研究了转 Bt 基因玉米桔秆还田对土壤微生物的影响,认为转 Bt 基因玉米显著影响土壤微生物群落结构,但土壤质地和采样时间也起了重要作用。本试验结果表明,Bt 玉米和亲本玉米在成熟之前的各生育期内 3 种群落特征参数均

保持基本稳定,变化幅度不大,反映了该阶段土壤细菌微生物群落丰富而稳定,对整个根际微生物群落也有代表意义。在成熟期各项指数出现明显的减小,微生物群落开始出现萎缩衰落迹象,这可能和玉米接近生长末期,根部逐渐老化,根系分泌物逐渐减少有关。Bt玉米与亲本玉米相比,Bt玉米仅在乳熟和完熟期群落指数低于亲本玉米,但各时期内二者差别均不大。

植物与土壤生态环境是一个相互作用的整体,土壤微生物间的平衡既可能受到植物不同基因型的影响,也可能受到复杂环境条件的影响,但无论是Bt蛋白残留还是根际分泌物的变化其终究通过根系进入土壤,首先便会影响到土壤微生物的数量和组成分布。然而,由于因而人工条件下的研究难以真实地反映自然条件下转Bt玉米对根际土壤微生物有无影响或影响的大小,本试验正是在田间自然条件下进行研究,试验结果更能贴近实际情况。同时,本试验研究的土壤微生物仅在可人工培养种类上,在结果解释方面存在一定难度,今后的研究将加强分子生物学方法的应用,以便了解整个土壤微生物群落的变化。

参考文献

柏立新,张龙娃,陈小波,等. 2003. 转Bt基因保铃棉对棉田杂草群落组成与多样性的影响. *植物生态学报*, **27**(5):610-616.

樊龙江,周雪平,胡秉民,等. 2001. 转基因植物的基因漂流风险. *应用生态学报*, **12**(4):630-632.

李云河,王桂荣,吴孔明,等. 2005. 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*, **11**(4):504-508.

农业部基因工程安全管理办公室. 1999. 1998年农业生物基因安全性评价申报审批结果. *生物技术通报*, (1):38-40.

钱迎倩,马克平. 1998. 经遗传修饰生物体的研究进展及其释放后对环境的影响. *生态学报*, **18**(1):1-9.

沈法富,韩秀兰,范术丽. 2004. 转Bt基因抗虫棉根际微生物区系和细菌生理群多样性的变化. *生态学报*, **24**(3):432-437.

王忠华. 2005. 转Bt基因水稻对土壤微生态系统的潜在影响. *应用生态学报*, **16**(12):2469-2472.

魏伟,钱迎倩,马克平. 1999. 转基因植物的生态风险评估. *生物多样性*, **7**(4):1-6.

徐立华,李国峰,杨长琴,等. 2005. 转Bt基因抗虫棉33B的氮素代谢特征. *江苏农业学报*, **21**(3):150-154.

许光辉,郑洪元. 1986. *土壤微生物分析方法手册*. 北京:中国农业出版社.

姚槐应,黄昌勇. 2006. *土壤微生物生态学及其实验技术*. 北京:科学出版社.

Alstad DN, Andow DA. 1995. Managing the evolution of insect resistance to transgenic plants. *Science*, **268**:1894-1896.

Baumgarte S, Tebbe CC. 2005. Field studies on the environmental fate of the Cry1Ab Bt-toxin produced by transgenic maize (MON810) and its effect on bacterial communities in the maize rhizosphere. *Molecular Ecology*, **14**:2539-2551.

Devare MH, Jones CM, Thies JE. 2004. Effect of Cry3Bb transgenic corn and tefluthrin on the soil microbial community: Biomass, activity and diversity. *Journal of Environmental Quality*, **33**:837-843.

Donegan K, Schaller DL, Stone JK, et al. 1996. Microbial populations, fungal species diversity and plant pathogen levels in field plots of potato plants expressing the *Bacillus thuringiensis* var. *tenbrionis* endo toxin. *Transgenic Research*, **5**:25-35.

Donegan K, Seidler RJ, Fieland VJ, et al. 1997. Decomposition of genetically engineered tobacco under field conditions: Persistence of the proteinase inhibitor I product and effects on soil microbial respiration and protozoa, nematode and microarthropod populations. *Journal of Applied Ecology*, **34**:767-777.

Fang M, Kremer RJ, Motavalli PP, et al. 2005. Bacterial diversity in rhizospheres of nontransgenic and transgenic corn. *Applied and Environmental Microbiology*, **71**:4132-4136.

Hopkins DW, Webster EA, Chudek JA, et al. 2001. Decomposition in soil of tobacco plants with genetic modifications to lignin biosynthesis. *Soil Biology and Biochemistry*, **33**:1455-1462.

James C. 2003. Global review of commercialized transgenic crops:2002. ISAAA Briefs, No. 25. Ithaca:ISAAA, 1-6.

Kay E, Vogel TM, Bertolla F, et al. 2002. In situ transfer of antibiotic resistance genes from transgenic tobacco plants to bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, **68**:3345-3351.

McCaughy WH, Whalon ME. 1992. Managing insect resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin. *Science*, **258**:1451-1455.

Saxena D, Flores S, Stotzky G. 1999. Insecticidal toxin in root exudates from Bt corn. *Nature*, **420**:480.

Stotzky G. 2000. Persistence and biological activity in soil of insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* and of bacterial DNA bound on clays and humic acids. *Journal of Environmental Quality*, **29**:691-705.

Watrud LS, Seidler RJ. 1998. Nontarget ecological effects of plant, microbial and chemical introductions to terrestrial systems. *Soil Chemistry and Ecosystem Health*. Special Publication 52. Madison, Wisconsin: Soil Science Society of America:313-340.

作者简介 王敏,女,1985生,硕士研究生。主要从事转基因植物生态安全评价与土壤微生物研究。E-mail:wangmin36@hotmail.com
责任编辑 魏中青