

Study on Potential Impacts of Genetically Modified Cultivation on Soil Physical and Chemical Properties

Mingyun Luo, Hui Chen

Institute of Land and Resources, China West Normal University, Nanchong
Email: lmy69@126.com

Received: Nov. 13th, 2012; revised: Nov. 17th, 2012; accepted: Dec. 5th, 2012

Abstract: With the application and promotion of genetically modified crops, the safe of Bt-transgenic crops on soil had become one of the hot spot. In present study, two parallel experiments were conducted to compare the impacts of transgenic cotton on the rhizosphere soil properties in northern China. Research results show that: the cotton rhizosphere pH value most rise; soil organic matter in a full carbon, total nitrogen, available nitrogen in addition to a sampling point upward, the rest were decreased; available P, K content shows ascendant trend. In addition, the soil pH value, total carbon, total nitrogen, available nitrogen in inter-specific differences with the strain variation, and the available P, available K does not exist for this change.

Keywords: Transgenic; Cotton; Rhizosphere; Soil Properties

转基因种植对土壤理化性质的潜在影响

罗明云, 陈 慧

西华师范大学国土资源学院, 南充
Email: lmy69@126.com

收稿日期: 2012 年 11 月 13 日; 修回日期: 2012 年 11 月 17 日; 录用日期: 2012 年 12 月 5 日

摘 要: 转 Bt 基因作物的释放对土壤的功能影响近年来已成为生物安全研究中的热点问题, 弄清其对土壤功能的具体影响对于生物安全保护至关重要。本文以华北棉区为研究区, 通过实验来试图弄清转基因棉对棉区棉花根际土壤性质的影响。研究表明: 棉花根际土壤 pH 值大部分上升; 土壤有机质中的全碳、全氮, 碱解氮除一取样点上升外, 其余均下降; 速效 P、速效 K 含量则呈上升趋势。另外, 土壤 pH 值、全碳、全氮、碱解氮在种间差异随品系变化而变化, 而速效 P, 速效 K 则不存在此变化。

关键词: 转基因; 棉花; 根际; 土壤性质

1. 引言

基于 DNA 重组技术和植物细胞、组织培养技术的逐步成熟, 在 1983 年诞生了第一例转基因植物——转基因烟草。随后, 人们对许多作物都进行了转基因改良的尝试, 使用外源基因包括除草基因、抗病、抗虫基因等以改善作物性状。转基因植物的种植也从实

验室转向田间试验, 到 1995 年多种转基因植物进入大规模商业化应用阶段。转基因作物一旦在生态环境中稳定下来, 随着时间的推移可能会在生态系统中积累和产生级联效应。转基因生物体对人类和环境的影响将会是长期的, 很多影响可能产生时滞效应, 而不像非生物影响那样随时间而减小, 随距离而减弱。随

着转基因作物的应用和推广,转基因生态风险评估体系也越来越完善。目前,转 Bt 基因作物的释放对生态系统中物质循环和能量转化过程的重要场所——土壤的功能影响已经成为生物安全性研究的热点之一^[1-3]。有研究表明根际是围绕于植物活根的土壤微域,由于受根系生理活动的影响,在物理、化学和生物特性上有不同于原土体的特殊土区,是土壤水分和矿物质进入根系参与生物循环的门户,同时也是根系自身生命活动和代谢对土壤影响最直接最强烈的区域^[4]。因此,研究转基因作物对于土壤性质的影响,根际土壤就成为学者们的首选,这有效推动了根际生态学的发展。

对于转基因作物对养分及其理化性质的影响,过去已有报道^[5-21]。然而,国内外已有的研究,往往是针对纯化毒素或实验室内的单因子研究,而转基因作物释放的现实环境为大田,作物产量的形成亦是土、肥、气、热、水等多因子综合作用的结果,因而有必要开展大田条件下的综合研究,将室内与大田研究相结合,更真实地反映转 Bt 作物对土壤的潜在影响。因此,本研究着眼于华北 Bt 棉棉田及其亲本常规棉田苗期根际土壤养分及其理化性质变化,以及不同品种 Bt 棉田的差异,旨在为我国转基因抗虫棉生态安全评价提供科学依据,同时为我国土地的可持续利用提供理论指导。

2. 材料与方法

2.1. 供试材料

由于近等基因系(Near isogenic lines, NIL)具有相近的遗传背景。因此,本研究采用 Bt 棉花品种及与相对应的非转基因近等基因系常规棉为材料,常规棉除了没有外源 Bt 基因外,其遗传基因与 Bt 棉品种基本相同的。

试验一所用棉花品种分别是中国农业科学院生物所采用花粉管导入技术将人工合成 Bt 基因导入泗棉 3 号培育而成的高抗棉铃虫棉花品种(含 Cry 1 Ac)(种名为国抗 12,简称 GK-12)及与相对应的非转基因近等基因系常规棉(泗棉 3 号,简称 SM-3)。其中 GK-12,含 Bt 基因 Cry 1 A(Cry 1 Ac 和 Cry 1 Ab 的融合基因),中国农业科学院生物技术研究所廊坊科研基地

提供;泗棉 3 号由江苏省泗阳棉花原种厂提供。

试验二所用新棉 33B 是美国岱字棉公司与孟山都公司合作,利用现代高科技手段将 Bt 基因导入由柯字 312 与 DP5415 杂交而育成的高抗鳞翅目害虫的抗虫棉新品种,其相对应的非转基因近等基因系常规棉(DP5415)。其中新棉 33B 含 Bt 基因 Cry1Ac,杀菌剂包衣;常规棉 DP5415,含杀菌剂包衣,均由美国孟山都公司河北省冀岱棉花种子生产有限公司提供。

2.2. 试验设计

试验地设在河北省廊坊市中国农业科学院廊坊中试基地农场,棉花种植均为地膜覆盖栽培,膜宽 100 cm,膜间距 100 cm。棉花于 2009 年 5 月 4 日播种,种植时每膜种 2 行,行距 50 cm,株距 30 cm。Bt 与非转 Bt 棉分小区种植,每个品种 4 个重复小区,每个小区面积约 100 m²,各小区随机排列,小区间留 1 m 种玉米作为保护行。

2.3. 土样采集与分析

取样:采用混合取样法(每个土样由对角线 X 形 5 个样点混合)。每个样点采样深度为 0~15 cm, 15~30 cm 两个层次,用环刀采集土样;将混合土样装入袋中,带回实验室,风干,以备测定土壤 pH 值、有机质、总 N、速效 N、速效 P 和速效 K。

测定:先将土样中的植物根系、石块等除去,混匀,风干后过 2 mm 筛,用于各项指标测定。土壤 pH 值用甘汞复合电极 pH 计测定;土壤有机质含量用浓硫酸-重铬酸钾氧化,硫酸亚铁滴定法;土壤有机碳采用元素分析仪(Vario El 3,德国)测定,土壤全氮用 Flash EA1112 型元素分析仪测定;土壤碱解性氮含量(1 mol·L⁻¹ NaOH, 40℃, 24 h)采用碱解扩散法测定;土壤速效 N 用凯氏定氮分析仪测定;土壤速效 P 用盐酸-氟化氢提取,钼锑抗比色法测定;土壤速效 K 用醋酸铵提取,火焰光度计测定。

2.4. 数据分析与绘制

用 DPS(DPS 9.05 唐启义)的两组平均数 student T 检测分析棉花品种对于土壤性质的影响差异,并用 origin7.5 绘制柱状图,同时处理间差异的显著水平设定为 P < 0.05。

3. 结果

3.1. 土壤 pH 值的变化

由于棉花适宜生长在通气排水良好、土层深厚肥沃的土壤上，而且以 pH6.5~8.0 为宜。因此，pH 的剧烈变化会影响棉花的生长。本实验结果(图 1)在棉花苗期，不同品种棉田根际土壤 pH 值的变化差异显著。对于转 Bt 棉 GK-12 与其近交系亲本 SM-3 而言，苗期根际土壤 pH 均成上升趋势，不同品种之间的 pH 值变化差异显著($F = 0.6429$, $DF = 1.4$, $P = 0.0146$)；对于转 Bt 棉 33B 与其近交系亲本 DP5415 而言，苗期根际土壤 pH 变化趋势相反，33B 棉田根际土壤 pH 值下降，而 DP5415 棉田根际土壤 pH 值上升，不同品种之间的 pH 值变化差异极显著($F = 2.3269$, $DF = 1.4$, $P = 0.0001$)

3.2. 土壤有机质

土壤有机物质改善了土壤结构、持水性和通气性，是土壤微生物和细菌的重要营养来源。由于其具有高度特殊的表面积和离子交换能力，是植物营养素、重金属和有机物质(例如杀虫剂)的重要吸附剂。本实验结果(图 2)表明，棉花苗期，不同品种棉田根际

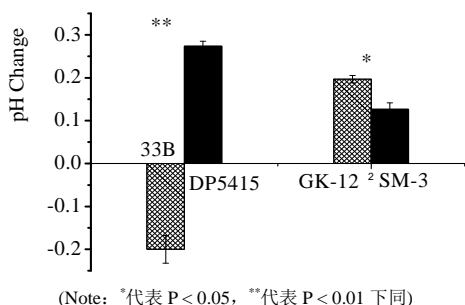


Figure 1. The pH change of different cotton cultivars in seedling
图 1. 不同品种棉田根际 pH 值变化

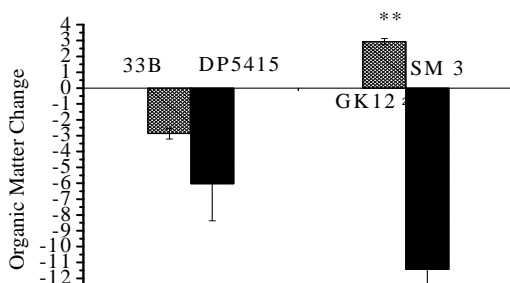


Figure 2. Organic matter change of different cotton cultivars in seedling
图 2. 不同品种棉田根际土壤有机质变化

土壤有机质变化趋势不同。对于转 Bt 棉 GK-12 与其近交系亲本 SM-3 而言，苗期根际土壤有机质成上升趋势，SM-3 根际土壤有机质成下降趋势，不同品种之间的有机质变化差异极显著($F = 0.0518$, $DF = 1.4$, $P = 0.0083$)；对于转 Bt 棉 33B 与其近交系亲本 DP5415 而言，苗期根际土壤 pH 变化均下降，不同品种之间的有机质变化差异显著($F = 7.1673$, $DF = 1.4$, $P = 0.0027$)。

3.3. 土壤全碳和全氮

土壤，作为陆地生态系统中碳和氮素的主要蓄积库之一，承担着碳和氮的源、汇或转化器的功能，在全球碳循环和氮循环中发挥着重要作用。土壤全碳和全氮含量也是土壤肥力和土壤质量(演变)评价的重要指标，其循环与平衡状况是系统稳定性和持续性的重要标志。

本文通过 2 个平行的试验，结果(图 3，图 4)表明棉花苗期，不同品种棉田根际土壤全碳和全氮变化趋势不同。对于转 Bt 棉 GK-12 与其近交系亲本 SM-3 而言，苗期 GK-12 根际土壤全碳、全氮上升，SM-3 根际土壤全碳、全氮下降，不同品种之间的全碳变化

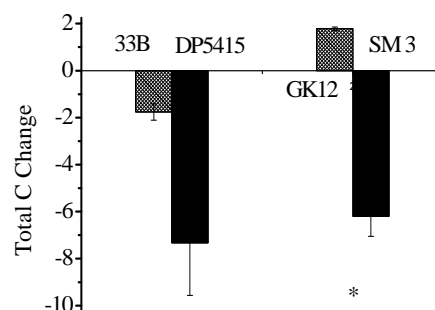


Figure 3. Total C change of different cotton cultivars in seedling
图 3. 不同品种棉田根际土壤全碳变化趋势

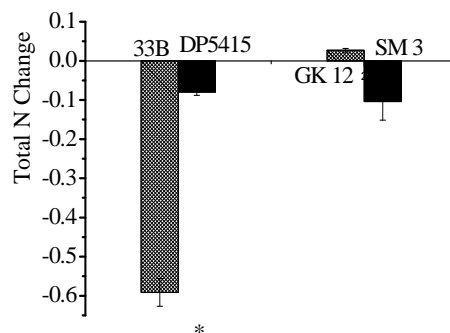


Figure 4. Total N change of different cotton cultivars in seedling
图 4. 不同品种棉田根际土壤全氮变化趋势

差异显著($F = 4.9140$, $DF = 1.4$, $P = 0.0010$)全氮变化差异不明显($F = 9.3227$, $DF = 1.4$, $P = 0.0523$); 对于转 Bt 棉 33B 与其近交系亲本 DP5415 而言, 苗期根际土壤全碳均下降, 但不同品种之间的全碳变化差异不显著($F = 6.7197$, $DF = 1.4$, $P = 0.0696$), 而全氮变化差异极显著($F = 5.3181$, $DF = 1.4$, $P = 0.0001$)。

3.4. 土壤中速效养分的变化

土壤碱解氮、速效磷和速效钾是转基因作物生长发育过程中可利用的土壤氮、磷和钾元素的重要来源。由于这些指标可以在土壤全量养分变化之前反映土壤的微小变化, 又直接参与土壤生物化学转化过程, 因而它们是评价土壤养分平衡和土壤化学、生物化学肥力保持的重要指标。

苗期 GK-12 根际土壤碱解氮上升, SM-3 根际土壤碱解氮下降, 不同品种之间的碱解氮变化差异极显著($F = 4.9140$, $DF = 1.4$, $P = 0.0010$)全氮变化差异不明显($F = 9.3227$, $DF = 1.4$, $P = 0.0523$); 对于转 Bt 棉 33B 与其近交系亲本 DP5415 而言, 苗期根际土壤碱解氮均下降, 但不同品种之间的碱解氮变化差异不显著($F = 6.7197$, $DF = 1.4$, $P = 0.0696$), 而碱解氮变化差异极显著($F = 5.3181$, $DF = 1.4$, $P = 0.0001$)(见图 5)。

研究表明(图 6)根际土壤速效磷变化趋势一致, 但变化幅度不一样。GK-12 与 SM-3 根际土壤速效磷均上升, 而且不同品种之间的速效磷变化差异不显著($F = 0.1737$, $DF = 1.4$, $P = 0.0212$); 对于转 Bt 棉 33B 与其近交系亲本 DP5415 而言, 苗期根际土壤速效磷均上升, 但不同品种之间的全碳变化差异不显著($F = 0.4200$, $DF = 1.4$, $P = 0.0059$)。

研究表明(图 7)根际土壤速效钾变化趋势一致, 但

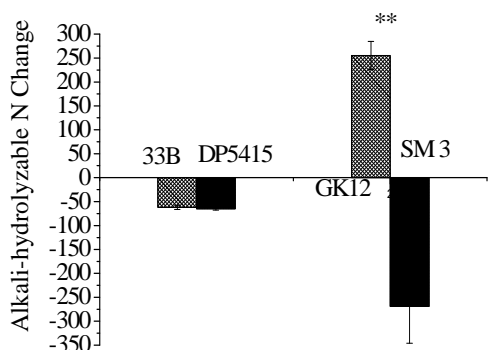


Figure 5. Alkali-hydrolyzable N change of different cotton cultivars in seedling
图 5. 不同品种之间的碱解氮变化

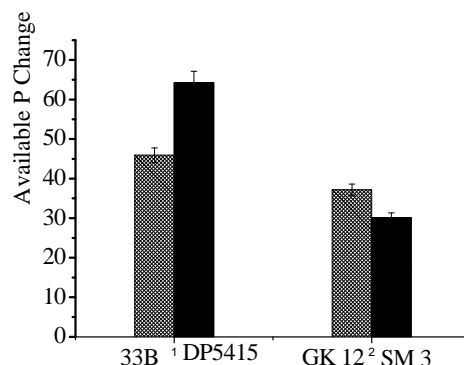


Figure 6. Available P change of different cotton cultivars in seedling
图 6. 根际土壤速效磷变化趋势

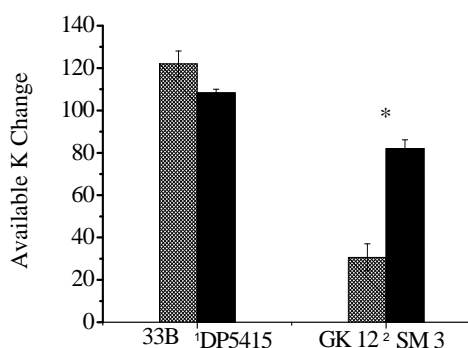


Figure 7. Available K change of different cotton cultivars in seedling
图 7. 根际土壤速效钾变化趋势

变化幅度不一样。GK-12 与 SM-3 根际土壤速效磷均上升, 而且不同品种之间的速效钾变化差异显著($F = 0.3289$, $DF = 1.4$, $P = 0.0025$); 对于转 Bt 棉 33B 与其近交系亲本 DP5415 而言, 苗期根际土壤速效钾均上升, 但不同品种之间的全碳变化差异不显著($F = 5.9168$, $DF = 1.4$, $P = 0.0972$)。

4. 讨论

本文的研究表明: 棉花根际土壤 pH 值除 33B 外均上升, 而且转 Bt 基因抗虫棉与非 Bt 棉品种间的差异随品系变化而变化; 土壤养分中的有机质全碳、全氮, 碱解氮除 GK-12 外均下降; 转 Bt 基因抗虫棉与非 Bt 棉品种间的差异显著程度随品系变化而变化; 速效 P, 速效 K 在所有供试品种根际土壤中含量均上升, 而且转 Bt 基因抗虫棉与非 Bt 棉之间差异不显著, 这与孙彩霞等^[21]的结论一致。

通过比较不同品系的转 Bt 棉与其近交非 Bt 棉棉苗期根际土壤性质的差异, 结果表明转 Bt 棉对土壤

性质的影响随棉花品系不同而不同。因而, 广泛开展转 Bt 对土壤养分的研究是必要的。同时, 在评价特定条件下转基因作物种植的潜在影响时, 需要获得足够的不同条件下的生态系统的基本信息; 转基因作物种植对土壤营养元素的影响也需要开展针对不同种植条件的广泛研究。但转基因作物种植对土壤中上述养分及其它营养元素含量的影响仍需长期试验进一步验证。

参考文献 (References)

- [1] F. S. Betz, B. G. Hammond and R. L. Fuchs. Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis* protected plants to control insect pest. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2000, 32(2): 156-173.
- [2] C.-X. Sun, L.-J. Chen and Z.-J. Wu. Research advances in soil persistence characteristics of toxins released by transgenic Bt crops and their relationships with soil properties. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2002, 13(11): 1478-1482.
- [3] P. P. Motavili, R. J. Kremer, M. Fang, et al. Impact of genetically modified crops and their management on soil microbially plant nutrient transformations. *Journal of Environmental Quality*, 2004, 33(3): 816-824.
- [4] 孙向阳主编. 土壤学[M]. 北京: 中国林业出版社, 2005.
- [5] A. I. Aronson, W. Beckman and P. Dunn. *Bacillus thuringiensis* and related insect pathogens. *Microbiological Reviews*, 1986, 50(1): 1-24.
- [6] H. Bietlot, P. R. Carey, C. Choma, et al. Facile preparation and characterization of the toxin from *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki. *Biochemical Journal*, 1989, 260(1): 81-97.
- [7] C. Crecchio, G. Stotzky. Insecticidal activity and biodegradation of the toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. kurstaki bound to humic acids from soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 1998, 30(4): 463-470.
- [8] C. Crecchio, G. Stotzky. Biodegradation and insecticidal activity of the toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. kurstaki bound to complexes of montmorillonite-humic acids-Al hydroxypolymers. *Journal of Environmental Quality*, 2001, 33(4-5): 573-581.
- [9] P. Fusi, G. Ristori, L. Calamai, et al. Adsorption and binding to protein on "clean" (homoionic) and "dirty" (coated with Fe hydroxides) montmorillonite illite and kaolinite. *Soil Biology & Biochemistry*, 1989, 21: 911-920.
- [10] J. Koskella, G. Stotzky. Microbial utilization of free and clay bound insecticidal toxins from and their retention of insecticidal activity after incubation with microbes. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(9): 3561-3568.
- [11] F. J. Stevenson. *Humus chemistry: Genesis, composition, reactants*. New York: Wiley, 1982.
- [12] G. Stotzky. Influence of soil mineral colloids on metabolic processes, growth, adhesion, and ecology of microbes and viruses. In: P. M. Huang, M. Schnitzer, Eds., *Interactions of Soil Minerals with Natural Organics and Microbes*, Madison: Soil Science Society America, 1986: 305-428.
- [13] G. Stotzky. Persistence and biological activity in soil of insecticidal proteins from and of bacterial DNA bound on clays and humic acids. *Journal of Environmental Quality*, 2000, 29(3): 691-705.
- [14] H. Tapp, Calamai, G. Stotzky. Adsorption and binding of the insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* subsp. kurstaki and subsp. Tenebrionis on clay. *Soil Biology & Biochemistry*, 1994, 26: 663-679.
- [15] H. Tapp, G. Stotzky. Dot blot enzyme-linked immunosorbent assay for monitoring the fate of *Bacillus thuringiensis* in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 1995, 61(2): 602-609.
- [16] H. Tapp, G. Stotzky. Insecticidal activity toxins from *Bacillus thuringiensis* subsp. kurstaki and tenebrionis absorbed and bound on pure and soil clays. *Applied and Environmental Microbiology*, 1995, 61(5): 1786-1790.
- [17] H. Tapp, G. Stotzky. Monitoring of insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* in soil by flow cytometry. *Canadian Journal of Microbiology*, 1997, 43(11): 1074-1078.
- [18] H. Tapp, G. Stotzky. Persistence of the insecticidal toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. kurstaki in soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 1998, 30(4): 471-476.
- [19] R. J. Van, W. H. McGaughey, D. E. Johnson, et al. Mechanism of insect resistance to the microbial insecticide of *Bacillus thuringiensis*. *Science*, 1987, 247(4938): 72-74.
- [20] J.-W. Wang, Y.-J. Feng and S.-M. Luo. Effects of transgenic crops on soil ecosystem. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2002, 13(4): 491-494.
- [21] C.-X. Sun, et al. Changes of nutrients in soil of transgenic Bt crops. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17(5): 943-946.