

转基因玉米 C63-1 种植对土壤跳虫的影响*

王柏凤^{1,2} 宋新元¹ 常 亮^{2**} 吴东辉²

(1. 吉林省农业科学院农业生物技术研究所, 长春 130033; 2. 中国科学院东北地理与农业生态研究所, 长春 130102)

摘 要 【目的】转基因玉米种植在吉林已经开展环境释放试验, 但是对土壤动物影响并不清楚。【方法】本文通过一年野外实验, 研究了转植酸酶玉米田间种植对土壤跳虫的影响。【结果】研究结果发现, 转植酸酶玉米种植对跳虫多度、类群丰富度、群落多样性指数及群落结构均未产生显著影响。但是可以使其中一些稀有类群消失。而不同的玉米生长期显著影响了跳虫的群落结构。同时玉米生长期也显著影响了跳虫的多度, 跳虫多度在玉米成熟期最高。这可能与玉米凋落物对跳虫的食物供应有关。【结论】转植酸酶玉米 C63-1 田间种植一年, 对跳虫并未产生显著影响, 但是未来还需要进行长期野外监测试验和室内控制实验最终确定转基因玉米的环境安全性。

关键词 转基因玉米, 跳虫, 群落结构, 多度, 多样性

Effect of transgenic corn (C63-1) cultivation on soil Collembola

WANG Bai-Feng^{1,2} SONG Xin-Yuan¹ CHANG Liang^{2**} WU Dong-Hui²

(1. Agro-Biotechnology Research Institute, Jilin Academy of Agriculture Sciences, Changchun 130033, China;

2. Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130102, China)

Abstract [Objectives] To investigate the effect of an experimental release of transgenic corn in Jilin Province on soil fauna. [Methods] Field experiments including two corn varieties (transgenic corn C63-1 and its Control) were conducted to investigate the effects of transgenic corn on soil Collembola in 2012. [Results] Our results showed that density, species richness, diversity and community structure were not impacted by transgenic corn cultivation but some rare species disappeared in transgenic corn plots. Collembola community structure was significantly affected by different corn growth periods; Density of Collembola was highest in the mature corn stage, possibly because of abundant corn litter (a food resource of Collembola) during that growth stage. [Conclusion] Transgenic corn cultivation did not have a significant effect on soil Collembola over the course of a one year experiment. However, longer-term, controlled experiments should be done to ascertain the environmental safety of transgenic corn cultivation.

Key words transgenic corn, Collembola, community structure, density, biodiversity

玉米 (*Zea mays* L.) 是世界三大谷类作物之一, 在世界农业生产中占有相当重要的地位。转植酸酶玉米 “C63-1” 是通过转基因技术将来源于微生物黑曲霉 (*Aspergillus niger*) 的植酸酶基因 (*phyA2*) 导入玉米中, 使其能在根部高效表达植酸酶并分泌到根外, 提高作物对植酸态等有

机磷的吸收利用 (李余良和胡建广, 2006; Chen *et al.*, 2008)。而转植酸酶玉米的种植通过根系分泌物在土壤中的积累必然会影响到地下生态系统的土壤微生物及土壤动物。吉林省作为黄金玉米带, 未来必将成为转基因玉米种植的主要区域, 然而转植酸酶玉米对土壤生物影响的研究却

* 资助项目: 国家自然科学基金青年基金 (31200331 和 31301329); 中国科学院转基因生物新品种培育重大专项 (2012ZX08011002)

**通讯作者, E-mail: springtail@iga.ac.cn

收稿日期: 2014-08-21, 接受日期: 2014-09-02

没有开展。

跳虫作为一种弹尾纲土壤节肢动物,分布于全世界,在地下土壤动物生物量中占据较大的比率,与线虫、螨类合称三大土壤动物(Moore, 2002; 陈建秀等, 2007; Fierer *et al.*, 2009)。跳虫分布于土壤的不同层面,包含了地上生类群,半土生类群和真土生类群;跳虫食性广泛,几乎与腐生食物网的所有元素都有紧密联系(Christiansen, 1964; Rusek, 1998)。跳虫可以通过对微生物、凋落物和植物根系的直接取食,直接或间接影响地下生态系统的碳转化(Filser, 2002; Petersen, 2003; Chamberlain *et al.*, 2005)。同时,跳虫还会随着作物生长的时期和环境的变化转换自己的取食特性,是环境变化非常理想的指示类群(Filser, 2002; Endlweber and Scheu, 2006)。因此,一些控制实验经常用跳虫代表整个具有分解功能的土壤动物网(Johnson *et al.*, 2005)。

本研究通过大田进行转植酸酶玉米 C63-1 及其对照种植,通过田间取样调查,旨在评价转植酸酶玉米对土壤跳虫密度、类群丰富度及群落结构的影响,为未来转基因玉米在东北黑土区种植的生态安全评价及后续推广种植提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验地处理

本次试验共选取 2 个品种,分别是转基因玉米品种 C63-1 及其对照,玉米种子来源于中国农业科学院生物技术研究所。

实验样地从公主岭农科院样地(总面积 2.67 hm², 43°30'N, 124°49'E)划取,样地采用随即区组设计,每个品种样地选取 3 个重复,土壤类型为典型黑土,土壤性质中有机质含量为(27.08±0.07) g/kg;土壤碱解氮含量为(77.54±0.07) mg/kg;土壤速效磷含量为(10.68±0.07) mg/kg;速效钾为(154.10±0.76) mg/kg;pH 值为 5.36±0.02。划出 6 个地块(Plot, 20 m×20 m),5 月 25 号播种,样地中留出 2 m 隔离带。样地除草和施肥的处理同普通

农事耕作,但是不使用杀虫剂。

1.2 土壤及跳虫取样

2012 年 C63-1 及其对照各取样 4 次,分别是苗期(6 月 7 日),拔节期(7 月 2 日),抽丝期(7 月 25 日)和成熟期(9 月 15 日);每个地块每个品种分别随机选取 5 个根际位置,根际用抖根法取根际 2 mm 之内的土壤 200 mL,根周用直径 5 cm 土钻取土一钻(10 cm 深,共约 200 mL 土),取好后的土壤置于 -20℃ 冰柜冷冻保存,用于以后土壤性质测定。跳虫取样方法具体如下:每个地块每个品种分别随机选取 5 个根际位置,根际用抖根法取根际 2 mm 之内的土壤 200 mL,用于分离土壤跳虫,分离跳虫时采用 Macfadyen 的方法(1961),分离出的标本用 95% 酒精保存,清洗退色后,用霍氏液(Hoyer's medium)制成玻片鉴定。

1.3 土壤性质测定

土壤 pH 值采用 pH 计测定,土样称重后,室温下干燥 12 h,用 5 倍体积的 1 mol/L KCl 或者 0.01 mol/L CaCl₂ 制成悬浮液,然后震荡 5 min,再静置 2~24 h 读数。土壤氮含量利用凯氏定氮仪进行测定;土壤钾和磷含量参见鲁如坤《土壤农业化学分析方法》进行测试。

1.4 统计分析

采用 SPSS 数据处理系统分析转基因玉米种植对跳虫多度和类群丰富度的影响,整体分析采用重复测量分析方法(Repeated measures ANOVA),不同玉米品种作为组间因素,不同取样月份作为重复水平,利用 CANOCO-version 4.5 (ter Braak and Šmilauer, 2002) 软件对调查数据进行典范对应分析,分析不同环境因子对跳虫群落结构的影响。

群落多样性指数用香浓威纳指数(Shannon-Wiener index),如下式:

$$H' = -\sum p_i \log_e p_i$$

p_i 第 i 个个体所占总体取样数量的比例。

2 结果与分析

2.1 跳虫群落组成

2012 年的 4 次采样中 ,C63-1 及其对照玉米田中共采集土壤跳虫标本 4 科 ,6 属 12 种(表 1)。其中优势种类 (>10%) 5 个 , 分别是 : 棘跳物种 1 (*Thalassaphorura macrospinta* , 25.3%) 棘跳物种 2 (*Thalassaphorura tamurai* , 10.7%)、棘跳物种 3 (*Allonychiurus songi* , 20.2%)、符跳

物种 1 (*Folsomia* sp.1 , 22.6%) 和符跳物种 2 (*Folsomia* sp.2 , 16.6%)。

CCA 分析表明 ,不同生长期 (苗期、拔节期、抽丝期和成熟期) 对跳虫群落结构产生了显著影响 (图 1 和表 2 , 蒙特卡罗检验 , $P < 0.05$) , 解释了跳虫群落结构变化的 29%。而土壤有机质、磷、钾、土壤 pH、含水量和玉米品种 (C63-1 和对照) 对跳虫群落也没有显著影响 ; 不同玉米品种对跳虫群落结构的变异度解释量最小 , 仅为 2%。

表 1 2012 年 4 次采样转植酸酶玉米和对照玉米田间跳虫密度 (个/ m²)。
Table 1 Total density of collembolans (ind./m²) of the four sampling times in different corn variety (transgenic C63-1 and Control) fields of a Chinese black soil in 2012

跳虫 Collembola (缩写 Abbreviation)	2012	
	转基因 C63-1 Transgenic C63-1	对照 Control
棘跳物种 1 <i>Thalassaphorura macrospinta</i> (TH.ma)	1 269	1 148
棘跳物种 2 <i>Allonychiurus songi</i> (AL.so)	423	604
棘跳物种 3 <i>Thalassaphorura tamurai</i> (TH.ta)	770	1 163
符跳物种 1 <i>Folsomia</i> sp.1 (FO.sp.1)	1 314	846
符跳物种 2 <i>Fosomia</i> sp.2 (FO. sp.2)	906	680
刺齿跳物种 1 <i>Homidia phjongiangica</i> (HO.ph)	0	30
长跳物种 2 <i>Entomobrya</i> sp.1 (EN.sp.1)	15	45
长跳物种 3 <i>Entomobrya</i> sp.2 (EN.sp.2)	0	76
朝鲜长跳 <i>Entomobrya koreana</i> (EN.ko)	0	30
圆跳物种 1 <i>Sminthurides</i> sp.1 (SM.sp1)	45	0
圆跳物种 2 <i>Sminthurides</i> sp.2 (SM.sp2)	15	15
鳞长跳物种 1 <i>Lepidocyrtus felipei</i> (LE.fe)	60	76
总计 Total	4 817	4 712

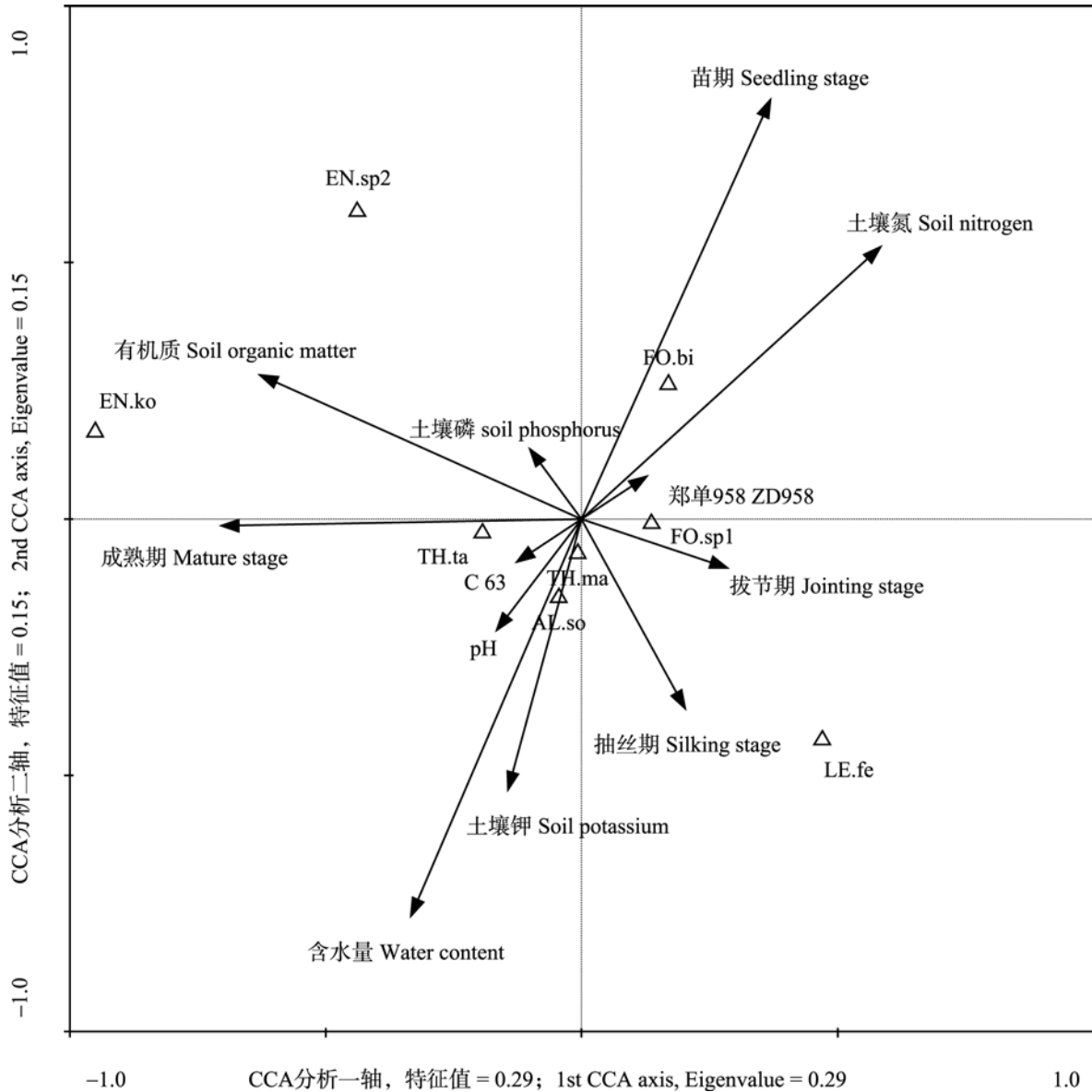


图 1 典范对应分析 C63-1 和对照玉米田中跳虫平均数与环境因子之间的关系

Fig. 1 Ordination biplot of canonical correspondence analysis (CCA), with the mean abundances of soil Collembola in the different corn variety fields (transgenic Bt corn C 63-1 and its near-isolines Control)

跳虫的全名参见表 1。The binomial nomenclature of the soil Collembola is given in Table 1.

土壤跳虫的类群主要由真土栖的棘跳类群和半土栖的符跳类群, 这些类群的主要食物是植物根系、凋落物和土壤中微生物。群落结构的变化说明控制跳虫群落变化的主要因素是不同作物生长期, 不同的生长期植物的根系生物量、凋落物数量和根系分泌物的量都在发生变化, 进而决定了跳虫的食物质量和数量, 因此改变了整个跳虫的群落组成。

2.2 跳虫密度、类群丰富度和多样性指数

2012 年成熟期跳虫密度、类群丰富度和香浓指数均最大。主要是由于成熟期时玉米根系并未完全退化, 同时, 开始有老熟叶片凋落到地面上, 为跳虫提供了来自根系和凋落物两方面的食物, 因此使得跳虫数量达到了最大值。

不同玉米品种(转基因和对照)对跳虫密度、

类群丰富度和多样性指数都没有显著影响(重复方差分析, $df = 1, 24$; $P < 0.05$; 图 2)。主要是由于转植酸酶玉米影响的是磷元素的再分配, 可能对微生物等影响不如氮等营养元素大, 因而并未影响土壤动物的食物质量。

2012 年, 在玉米不同生长期, 转 Bt 基因玉米种植对跳虫同样没有产生显著影响, (单因素方差分析, $P < 0.05$; 图 2)。

表 2 典范对应分析公主岭 C63-1 与对照玉米样地中环境因素对跳虫群落结构解释度 (%) 的影响
Table 2 The total amount of variation explained by Ordination biplot of the canonical correspondence analysis (CCA) with mean abundance of Collembola species in C63-1 and Control corn fields in 2012 in China.

环境因子 Environmental factor	2012		
	%	F	P
生长期 Growth period	29	7.32	0.002*
土壤氮 Soil nitrogen	7	1.94	0.094
有机质 Soil organic matter	6	1.21	0.138
土壤钾 Soil potassium	4	1.35	0.225
含水量 Soil water content	4	0.99	0.517
pH 值 pH	3	0.91	0.482
土壤磷 Soil phosphorus	3	0.79	0.674
玉米品种 Corn varieties (C63-1 and Control)	2	0.74	0.890
总变异度 Total percentage variance explained	58		

%为变异解释的百分比。P 值显示蒙特卡罗检验结果, * 表示 $P \leq 0.05$ 。
%= Percentage variation explained. P-values are based on a Monte Carlo permutation tests. * indicate $P \leq 0.05$.

3 结论与讨论

许多研究都表明转基因作物对非靶标动物无显著直接影响, 但是长期试验仍需要开展 (Collaghan *et al.*, 2005; Zwahlen *et al.*, 2007)。黑土区是东北典型农田土壤类型, 吉林也是我国重要的玉米产地, 转基因玉米一旦开始商业化种植, 吉林无疑是个重要的中心, 因此我们研究了

转植酸酶玉米种植对田间非靶标土壤跳虫的影响来评价转基因玉米种植的生态安全性。无论是总体还是不同生长期, 经过一年实验, 我们发现转基因玉米 C63-1 种植并未对跳虫产生显著影响, 这与前人研究结果一致。如 Bitzer 等 (2005) 发现, 转基因玉米种植 3 年中, 并未对跳虫产生显著影响。Cortet 等 (2007) 和 Vaufléury 等 (2007) 也发现转基因玉米种植对土壤腹足动物、微节肢动物和丛枝菌根均无显著影响。

在我国, 其他转基因作物对非靶标动物的风险评价研究中同样未发现显著影响。如 Chang 等 (2011, 2013) 发现, 转 Bt 基因棉通过根系和凋落物途径对跳虫多度和类群丰富度均无显著影响。

尽管如此, 在对一些稀有类群跳虫的分析中, 我们发现和常规与对照品种对比, 转基因玉米 C63-1 种植处理中没有稀有类群 (如刺齿跳 *Homidia phjongiangica* 和两种长跳物种 (*Entomobrya koreana* 和 *Entomobrya* sp.1)); Zwahlen 等 (2007) 发现转基因玉米种植对一些稀有类群产生了显著影响; Chang 等 (2011) 也发现与对照棉花品种相比, 转 Bt 基因棉中棘跳类群数量显著下降。这种影响可能是由于捕食作用或其他间接因素所引起的, 也可能是由于类群多度太小, 在本处理中未采集到标本所致, 后期应该加强对这种稀有的敏感类群进行进一步研究以确定转基因玉米的环境安全性。所以后续应该加强关于转基因玉米与稀有类群的研究。

跳虫在不同玉米生长期中存在季节动态, 主要表现为播种前期和成熟期物种丰富度和多度均呈现最高值。

玉米不同生长期, 环境温湿度变化显著, 对根系生物量及根分泌物也会产生显著的影响, 进而影响整个土壤跳虫群落; 本研究中我们发现跳虫的优势类群为棘跳类, 占据了跳虫总数量的 64%, 通过之前的研究我们发现棘跳类跳虫为真土栖类群, 主要生活在植物的根部, 以根系和根系周围的微生物为食 (Chang *et al.*, 2013), 因此跳虫群落在不同的玉米生长期产生了显著变化。

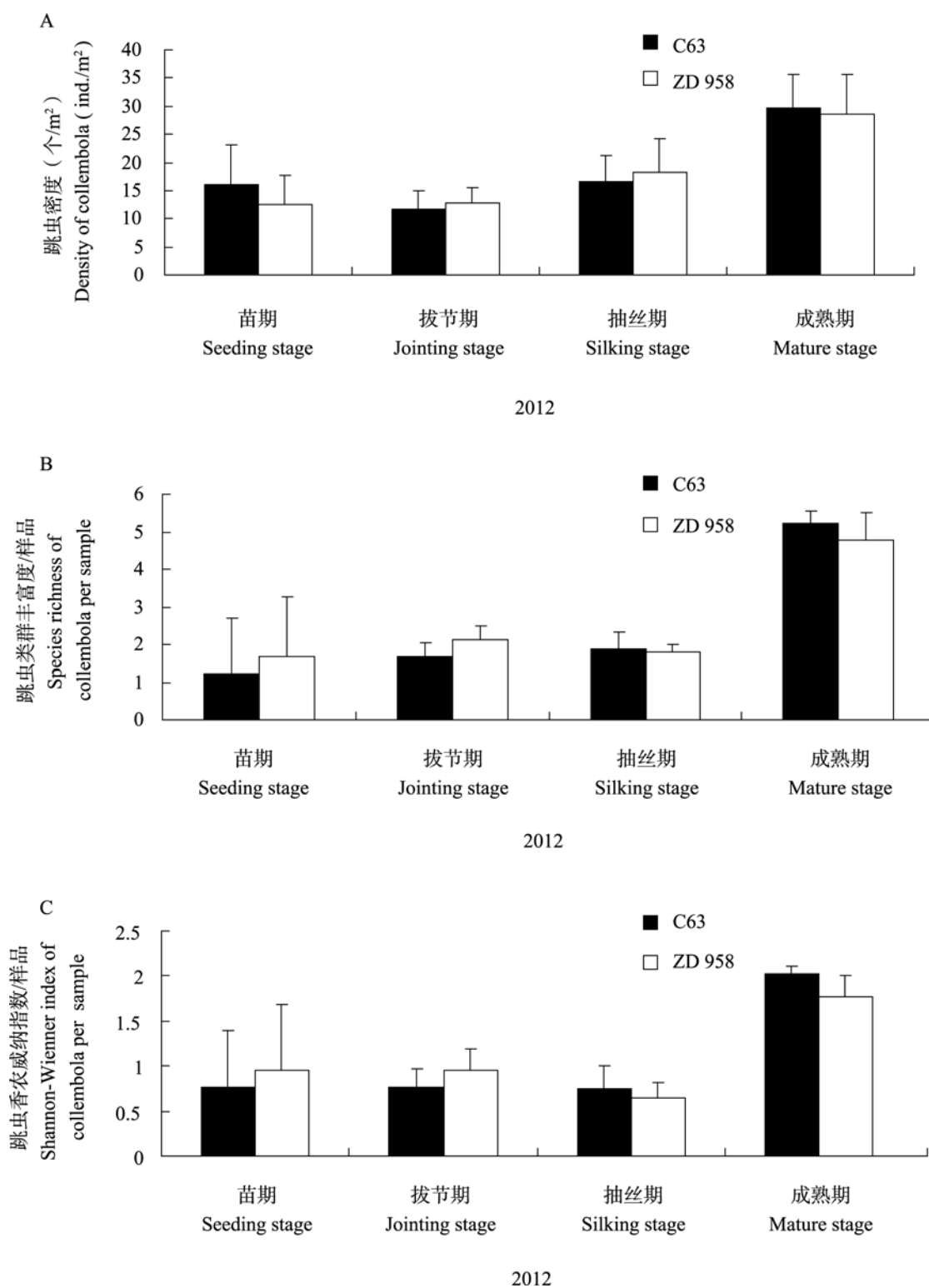


图2 2012年公主岭黑土区不同玉米品种(C63-1和对照)中跳虫密度、类群丰富度和香农威纳指数
Fig. 2 Density, species richness and Shannon-Weiner index of Collembola (mean $\pm$ SE) in different corn variety fields (transgenic corn C63-1 and its near-isolines Control) fields of a Chinese black soil in 2012

参考文献 (References)

- Bitzer RJ, Rice ME, Pilcher CD, Pilcher CL, Lam WKF, 2005. Biodiversity and community structure of epedaphic and euedaphic springtails (Collembola) in transgenic rootworm Bt corn. *Environ. Entomol.*, 34(5): 1346–1376.
- Chamberlain PM, Bull ID, Black HIJ, Ineson P, Evershed RP, 2005. Fatty acid composition and change in Collembola fed differing diets: identification of trophic biomarkers. *Soil Biol. Biochem.*, 37(9): 1608–1624.
- Chang L, Liu XH, Ge F, 2011. Effect of elevated O₃ associated with Bt cotton on the abundance, diversity and community structure of soil Collembola. *Appl. Soil Ecol.*, 47(1): 45–50.
- Chang L, Wang BF, Liu XH, Ge F, 2013. Ecological consequences of elevated CO₂ and Bt cotton on soil Collembola. *J. Agric. Sci. Tech.*, 3(9): 737–744.
- Chen R, Xue G, Chen P, Yao B, Yang W, Ma Q, Fan Y, Zhao Z, Tarczyski MC, Shi J, 2008. Transgenic maize plants expressing a fungal phytase gene. *Transgenic Res.*, 17(4): 633–643.
- Callaghan MO, Glare TR, Burgess EPJ, Malone LA, 2005. Effects of plants genetically modified for insect resistance on nontarget organisms. *Annu. Rev. Entomol.*, 50: 271–292.
- Christiansen K, 1964. Bionomics of Collembola. *Annu. Rev. Entomol.*, 9: 147–178.
- Cortet J, Griffiths BS, Bohanec M, Demsar D, Andersen MN, Caul S, Birch AN, Pernin C, Tabone E, Vauflery AD, Ke X, Krogh PH, 2007. Evaluation of effects of transgenic Bt maize on microarthropods in a European multi-site experiment. *Pedobiologia*, 51(3): 207–218.
- Endlweber K, Scheu S, 2006. Effects of Collembola on root properties of two competing ruderal plant species. *Soil Biol. Biochem.*, 38(8): 2025–2031.
- Fierer N, Strickland MS, Liptzin D, Bradford MA, Cleveland CC, 2009. Global patterns in belowground communities. *Ecol. Lett.*, 12(11): 1238–1249.
- Filser J, 2002. The role of Collembola in carbon and nitrogen cycling in soil. *Pedobiologia*, 46(3/4): 234–245.
- Johnson D, Krsek M, Wellington EMH, Stott AW, Cole L, Bardgett RD, Read DJ, Leake JR, 2005. Soil invertebrates disrupt carbon flow through fungal networks. *Science*, 309(5737): 1047.
- Macfadyen A, 1961. Improved funnel-type extractors for soil arthropods. *J. Anim. Ecol.*, 30(1): 171–184.
- Moore PD, 2002. Biogeography: springboards for springtails. *Nature a-z Index*, 418: 381.
- Petersen H, 2002. General aspects of collembolan ecology at the turn of the millennium. *Pedobiologia*, 46(3/4): 246–260.
- Rusek J, 1998. Biodiversity of Collembola and their functional role in the ecosystem. *Biodivers Conserv.*, 7(9): 1207–1219.
- ter Braak CJF, Šmilauer P, 2002. CANOCO Reference Manual and CanoDraw for Windows User's Guide: Software for Canonical Community Ordination (Version 4.5). Microcomputer Power, Ithaca, NY. 1–14.
- Vauflery AD, Kramarz PE, Binet P, Cortet J, Caul S, Andersen MN, Plumey E, Coeurdassier M, Krogh PH, 2007. Exposure and effects assessments of Bt-maize on non-target organisms (gastropods, microarthropods, mycorrhizal fungi) in microcosms. *Pedobiologia*, 51(3): 185–194.
- Zwahlen C, Hilbeck A, Nentwig W, 2007. Field decomposition of transgenic Bt maize residue and the impact on non-target soil invertebrates. *Plant Soil*, 300(1/2): 245–257.
- 陈建秀, 麻智春, 严海娟, 张峰, 2007. 跳虫在土壤生态系统中的作用. 生物多样性, 15(2): 154–161. [CHEN JJ, MA ZC, YAN HJ, ZHANG F, 2007. Roles of springtails in soil ecosystem. *Biodiversity Sciences*, 15(2): 154–161].
- 李余良, 胡建广, 2006. 转基因玉米研究进展. 中国农学通报, 22(2): 71–75. [LI YL, HU JG, 2006. Research advance of transgenic maize. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 22(2): 71–75.].
- 鲁如坤, 2000. 土壤农业化学分析方法. 北京. 中国农业科学院出版社. 1–195. [LU RK, 2000. Analysis method of soil and agro-chemistry. Beijing. *Chinese Academy of Agricultural Sciences press*, 1–195]