

耐草甘膦转基因大豆对土壤线虫多样性的影响

杨志国^{1,2}, 赵建宁², 李刚², 修伟明², 章秋艳^{1,2}, 常泓¹, 杨殿林^{2*}

(1.山西农业大学生命科学学院, 山西 太谷 030801; 2.农业部环境保护科研监测所 农业部产地环境质量重点实验室/天津市农业环境与农产品安全重点实验室, 天津 300191)

摘要:为了评价耐草甘膦转基因大豆对土壤线虫的影响,在网室盆栽试验条件下,研究了成熟期耐草甘膦转基因大豆 M88 根际土壤线虫丰度、营养类群组成和生态学指数以及土壤环境因子和线虫群落之间的相关性。结果表明:试验共分离鉴定出 23 个土壤线虫属,8 个功能群,其中非转基因大豆中黄 13(Z13)种植条件下分离鉴定出土壤线虫 23 属,耐草甘膦转基因大豆 M88 种植条件下分离鉴定出土壤线虫 21 属;耐草甘膦转基因大豆 M88 的土壤线虫平均丰度为 $(1\ 143.42 \pm 135.04) \cdot 100\text{ g}^{-1}$ 干土,显著高于 ($P < 0.05$) 非转基因大豆中黄 13 $[(756.83 \pm 141.33) \cdot 100\text{ g}^{-1}$ 干土];耐草甘膦转基因大豆 M88 显著升高了杂食捕食性线虫拟桑尼属(*Thorneella*)的相对丰度($P < 0.01$)。虽然非转基因大豆中黄 13 种植条件下的自由生活线虫成熟度指数 *MI* 和结构指数 *SI* 显著低于耐草甘膦转基因大豆 M88 ($P < 0.05$),但是两种大豆种植条件下土壤线虫的 Shannon-Wiener 多样性指数 *H'*、属丰富度指数 *GR* 和营养多样性指数 *TD* 均无显著差异,说明耐草甘膦大豆 M88 对线虫群落结构多样性影响不显著。冗余分析 RDA 排序图显示:线虫功能组 Om4 和土壤有机质 OM 呈显著的正相关,而与硝态氮 NN 呈显著的负相关。

关键词:耐草甘膦大豆;土壤线虫;生态指数;冗余分析

中图分类号:X826 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2013)11-2199-07 doi:10.11654/jaes.2013.11.014

Effect of Glyphosate-tolerant Soybean on Diversity of Soil Nematodes

YANG Zhi-guo^{1,2}, ZHAO Jian-ning², LI Gang², XIU Wei-ming², ZHANG Qiu-yan^{1,2}, CHANG Hong¹, YANG Dian-lin^{2*}

(1.College of Life Science, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China; 2.Key Laboratory of Original Agro-Environment Quality of Ministry of Agriculture/Tianjin Key Laboratory of Agro-Environment and Agro-Product Safety, Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture, Tianjin 300191, China)

Abstract: Transgenic plants may affect microbial community structure and functions in soil ecosystems. A pot culture experiment was conducted to study the responses of soil nematodes to herbicide-tolerant soybean by analyzing the abundance, trophic group composition, ecological indices of soil nematodes and the relationship between soil environmental factors and soil nematode communities using non-transgenic soybean Z13 as the control. Nematodes in the rhizosphere of herbicide-tolerant soybean M88 and non-transgenic soybean Z13 were separated by the Baermann tray method and identified to genus level using an inverted compound microscope. Twenty-three genera and twenty-one genera were found in the rhizosphere of the Z13 and M88, respectively. The average abundance of nematodes was $(1\ 143.42 \pm 135.04)$ individuals per 100 g dry soil for the M88, whereas (756.83 ± 141.33) individuals per 100 g dry soil for the Z13. They were significantly different ($P < 0.05$). Compared with the Z13, the M88 significantly increased the relative abundance of *Thorneella* genus ($P < 0.01$). Although the maturity index (*MI*) and structure index (*SI*) of free-living nematodes were significantly higher in the M88 than in the Z13, but no significant differences were found in Shannon-Wiener diversity index *H'*, Genus richness Index *GR* and Trophic diversity Index *TD* between the M88 and Z13. The redundancy analysis (RDA) diagram showed that the functional guilds Om4 had significant positive correlation with organic matter (OM), but significant negative correlation with nitrate nitrogen (NN). These results suggest that herbicide-tolerant soybean M88 has no significant effects on the diversity of soil nematode community.

Keywords: glyphosate-tolerant soybean; soil nematode; ecological index; redundancy analysis (RDA)

收稿日期:2013-04-01

基金项目:转基因生物新品种培育重大专项(2013ZX08012-005);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(农业部环境保护科研监测所);农业部产地环境质量重点实验室/天津市农业环境与农产品安全重点实验室开放基金项目

作者简介:杨志国(1987—),男,山西运城人,硕士研究生,主要从事转基因植物生态安全研究。E-mail:muyiyangzhiguo@sina.com

*通信作者:杨殿林 E-mail:yangdianlin@caas.cn

2012 年全世界转基因作物的种植面积达到 1.703 亿 hm^2 ^[21], 17 年间增长了 100 倍。转基因大豆(大多是耐草甘膦大豆)仍然是主要的转基因作物, 2011 年的种植面积为 7540 万 hm^2 , 占全球转基因作物种植面积的 47%^[2]。

随着全世界对土壤生态环境的日益关注^[3], 转基因作物大量商业化种植对土壤生态环境潜在的不利影响, 一直为研究者们所担忧^[4]。在众多土壤评价指标中, 生物指标因其能够反映土壤生物特性和生物过程, 而成为评价和解释自然或人为因素对土壤生态系统影响的高效工具。土壤线虫是土壤中数量最丰富的后生动物, 在土壤生态系统的物质循环和能量流动中扮演重要角色。土壤线虫广泛分布于土壤间隙水中, 分离技术成熟, 鉴定比较容易, 营养类群和功能组多样性高^[5], 世代周期适中, 对外界干扰条件的响应灵敏、全面、准确, 是土壤生物指标的典型代表^[6-7]。因此, 土壤线虫被广泛应用于不同生境条件下土壤生态环境的评价^[6-8]。

土壤线虫亦被用来评价转基因作物土壤生态环境安全。Griffiths 等^[9]的盆栽试验表明转 Bt 玉米对土壤线虫数量无显著影响, 但大田试验却发现转 Bt 玉米种植条件下土壤线虫丰度短暂性显著低于非转基因玉米^[9]。Manachini 和 Lozzia^[10]的研究表明, 与非转基因玉米相比, 转 Bt 玉米根际土壤含有较多的食真菌线虫和较少的食细菌线虫。有研究亦表明, Bt 蛋白对某些线虫种属有一定的负面影响^[11-12]。这些研究多集中在可分泌毒性 Cry 蛋白的转 Bt 作物对土壤线虫的影响方面, 而关于分泌 EPSPS 蛋白的耐草甘膦转基因作物对土壤线虫影响的研究却少有报道。同时这些报道很少关注土壤线虫的重要生态学指数以及线虫群落和土壤环境因子之间的相关性。因此, 有必要以线虫为生物学指标, 评价耐草甘膦转基因作物对土壤生态环境的影响。本研究通过网室盆栽试验比较了耐草甘膦转基因大豆 M88 和非转基因常规大豆中黄 13 种植下对土壤线虫群落的影响, 旨在为转基因大豆的土壤生态环境评价及进一步研究提供必要的数据支撑。

1 材料和方法

1.1 试验设计

试验在农业部环境保护科研监测所(天津市南开区)(39°5'8.28"N, 117°8'39.12"E)网室内进行。试验区属温带大陆性季风气候, 年平均气温和年平均降水量分别为 11.6~13.9 °C 和 360~970 mm。供试土壤取自

农业部环境保护科研监测所武清基地, 质地为潮土, 试验前常年种植非转基因小麦, 其 0~20 cm 深土壤基本性质为含有机质 12.23 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 全氮 0.50 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 全磷 0.65 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 碱解氮 28.25 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 速效磷 18.84 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 速效钾 38.21 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, pH7.30。

试验始于 2011 年, 随机区组设计, 设耐草甘膦转基因大豆 M88 和非转基因大豆中黄 13(Z13)两个处理, 每个处理 20 盆。供试盆上部直径 20 cm, 底部直径 16 cm, 高 23 cm。每盆装 5.6 kg 过 2 mm 筛并充分混匀的供试土壤, 埋于 0~20 cm 的地下, 以保证与周围环境一致。2011 年 5 月 16 日播种, 每盆 5 粒大豆种子, 待四叶期时, 间苗至 3 株。在种植及管理过程中均不施农药, 6 月 20 日施 N、P、K 各 30 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 以 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 和 KH_2PO_4 配成液体形式施入。

1.2 样品采集

2011 年 8 月 25 日采集成熟期土壤样品, 每 5 盆混为一个样品, 每个处理 4 个重复。土壤样品混匀后过 5 mm 筛, 以除去植物根系、残渣等。样品于 4 °C 保存, 并在两周内完成线虫分离。

1.3 土壤环境因子测定

土壤环境因子的测定参照鲍士旦《土壤农化分析》的方法进行^[13]。土壤全氮采用半微量凯氏法; 全磷采用钼锑抗比色法; 有机质含量采用重铬酸钾-氧化外加热法; 硝态氮采用紫外分光光度法; 铵态氮采用靛酚蓝比色法; 速效磷采用钼锑抗比色法; 速效钾采用 NH_4OAc 浸提-火焰光度计法; 碱解氮采用碱解扩散法; pH 值采用 pH 计测定(水土比为 2.5:1)。

1.4 线虫分离与鉴定

线虫分离采取贝尔曼浅盘法, 即用浅盘代替贝尔曼漏斗法中的漏斗^[14]。从 50 g 鲜土中分离出来的线虫经 60 °C 水浴杀死后, 保存于 4% 的福尔马林溶液中^[15]。线虫总数通过体式显微镜直接观察得到, 并折算成 100 g 干土中线虫的数量。每一样品随机抽取至少 150 条线虫, 在倒置显微镜下鉴定到属^[16], 并划分为不同的营养类群^[17]: (1) 植物寄生线虫(Plant parasites, PP); (2) 食细菌线虫(Bacterivores, Ba); (3) 食真菌线虫(Fungivores, Fu); (4) 杂食捕食性线虫(Omnivore-carnivores, Om-Ca), 以及不同的生活史 cp 值^[18]。

1.5 生态指数计算

研究采用的生态学指数有以下几种:

①Shannon-Wiener 多样性指数: $H' = -\sum P_i(\ln P_i)$; 式中 P_i 为第 i 个分类单元中个体所占线虫总数的比例。

②营养多样性指数(Trophic diversity Index): $TD=1/\sum P_i^2$ 。式中 P_i 为第*i*个分类单元中个体所占线虫总数的比例。

③属丰富度指数(Genus richness Index): $GR=(S-1)/\ln N$ 。*S*为线虫属的数量,*N*为线虫总数^[19]。

④线虫通道指数(Nematode channel ratio): $NCR=B/(B+F)$ 。*B*和*F*分别为食细菌线虫和食真菌线虫的数量或相对丰度^[7]。

⑤成熟度指数(Maturity Index): $MI,PPI=\sum v_i f_i$ 。*MI*、*PPI*分别代表自由生活线虫、植物寄生线虫的成熟度指数, v_i 和 f_i 分别为上述分类中某一属(*i*)的*cp*值及其在分类中所占比例^[20]。

⑥富集指数(Enrichment Index): $EI=100 \times e/(e+b)$;结构指数(Structure Index): $SI=100 \times s/(s+b)$ 。其中 $b=(Ba_2+Fu_2)$, $e=(Ba_1W_1)+(Fu_2W_2)$, $s=(Ba_nW_n)+(Ca_nW_n)+(Fu_nW_n)+(Om_nW_n)$,其中 $n=3\sim5$,*W*为各类群加权数, $W_1=3.2$, $W_2=0.8$, $W_3=1.8$, $W_4=3.2$, $W_5=5.0$,各类群字母代表各类群线虫丰度^[5]。

1.6 数据分析

两种大豆种植条件下的差异比较均采用独立样本*T*检验,线虫丰度经 $\ln(x+1)$ 转换,线虫各属相对丰度和营养类群相对丰度经反正弦转换。土壤线虫群落与土壤因子之间的关系采用冗余分析(Redundary Analysis,RDA)。*T*检验分析使用SPSS20.0统计软件处理,RDA分析利用CANOCO 4.5软件完成。

2 结果与分析

2.1 土壤环境因子

两种大豆种植条件下土壤环境因子测定结果(表1)显示:与非转基因大豆 Z13 相比,耐草甘膦转基因大豆 M88 土壤速效磷、铵态氮和全磷的含量均降低,但无显著差异;全氮及有机质含量均升高,但也无显著差异。土壤硝态氮含量非转基因大豆 Z13 显著高于耐草甘膦转基因大豆 M88($P<0.05$)。

2.2 线虫群落结构

2.2.1 线虫种属和丰度

通过贝尔曼浅盘法,本研究共分离出 23 个线虫属,8 个功能组,其中 Z13 种植条件下的土壤样品中分离得到 23 个线虫属,M88 分离得到 21 个线虫属(表 2)。其中螺旋属(*Helicotylenchus*)是优势属,且相对丰度达 30%以上;常见属中头叶属(*Cephalobus*)、真滑刃属(*Aphelenchus*)和矮化属(*Tylenchorhynchus*)在两种大豆种植条件下的相对丰度均大于 5%。绕线属(*Plectus*)和小杆属(*Rhabditis*)仅出现于 Z13 种植条件下的根际土壤中。拟桑尼属(*Thorneella*)在 M88 种植条件下的相对丰度为 $11.4\% \pm 3.7\%$,显著高于 Z13($2.5\% \pm 2.1\%$)($P<0.01$);其余线虫属的相对丰度在两种大豆种植条件下,差异不显著($P>0.05$)。

M88 种植条件下分离得到土壤线虫平均丰度为 $(1\,143.42 \pm 135.04)$ 条 $\cdot 100\text{ g}^{-1}$ 干土(图 1),显著高于 Z13(756.83 ± 141.33)条 $\cdot 100\text{ g}^{-1}$ 干土($P<0.05$)。

2.2.2 线虫营养类群

两种大豆根际土壤 4 种线虫营养类群的平均相对丰度(图 2)均表现为植物寄生线虫 PP>食细菌线虫 Ba>食真菌线虫 Fu $\approx$ 杂食捕食性线虫 Om-Ca。植

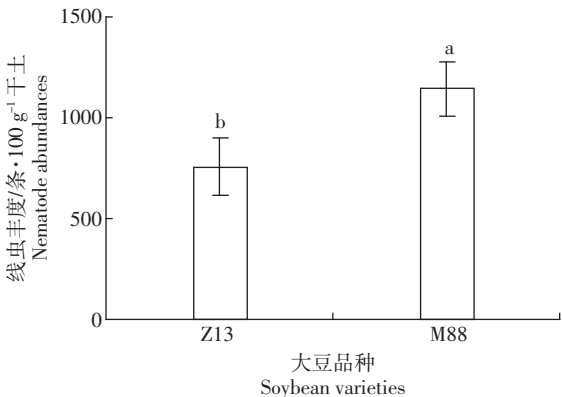


图 1 耐草甘膦转基因大豆 M88 和非转基因大豆 Z13 种植条件下土壤线虫丰度

Figure 1 Abundance of soil nematodes under soybean M88 and Z13

表 1 转基因大豆 M88 和非转基因大豆 Z13 种植条件下土壤环境因子

Table 1 The properties of soils used for soybean M88 and Z13

大豆品种 Soybean varieties	速效磷 Available phosphorus/ mg·kg ⁻¹	铵态氮 Ammonium nitrogen/ mg·kg ⁻¹	硝态氮 Nitrate nitrogen/ mg·kg ⁻¹	全氮 Total nitrogen/ g·kg ⁻¹	全磷 Total phosphorus/ g·kg ⁻¹	有机质 Organic matter/ g·kg ⁻¹
Z13	24.89±1.21a	7.81±1.14a	7.21±1.98a	0.49±0.03a	0.70±0.03a	10.81±0.93a
M88	22.87±4.15a	7.38±0.69a	4.16±0.26b	0.53±0.01a	0.69±0.01a	12.41±0.92a

注:Z13:非转基因大豆中黄 13 Non-transgenic soybean Z13;M88:耐草甘膦转基因大豆 M88 Herbicide-tolerance transgenic soybean M88。同列不同小写字母表示品种间差异显著($P<0.05$)。

Note: Different letters within a column indicate significant differences at 0.05 level.

表 2 转基因大豆 M88 和非转基因大豆 Z13 种植条件下土壤线虫属组成及相对丰度
Table 2 Composition and relative abundances of soil nematode genus under soybean M88 and Z13

土壤线虫属 Genus of soil nematode	功能组 Functional guilds	Z13		M88	
		相对丰度 Relative abundances/%	优势度 Dominance	相对丰度 Relative abundances/%	优势度 Dominance
食细菌线虫 Ba		23.6±10.3a		20.3±8.1a	
拟丽突属 <i>Acrobeloides</i>	Ba2	3.1±3.0a	++	3.3±3.0a	++
无咽属 <i>Alaimus</i>	Ba4	0.1±0.3a	+	1.6±1.0a	++
头叶属 <i>Cephalobus</i>	Ba2	6.7±3.5a	++	6.1±3.6a	++
鹿角唇属 <i>Cervidellus</i>	Ba2	0.6±0.4a	+	1.4±0.9a	++
板唇属 <i>Chiloplacus</i>	Ba2	8.5±7.1a	++	3.3±2.2a	++
真头叶属 <i>Eucephalobus</i>	Ba2	3.1±1.4a	++	3.8±1.5a	++
地单宫属 <i>Geomonhystera</i>	Ba2	0.3±0.3a	+	0.4±0.5a	+
中杆属 <i>Mesorhabditis</i>	Ba1	0.4±0.5a	+	0.5±0.4a	+
绕线属 <i>Plectus</i>	Ba2	0.3±0.6a	+	0.0±0.0a	
小杆属 <i>Rhabditis</i>	Ba1	0.4±0.8a	+	0.0±0.0a	
食真菌线虫 Fu		12.3±3.6a		12.9±5.0a	
茎属 <i>Ditylenchus</i>	Fu2	1.7±1.3a	++	2.9±2.2a	++
滑刃属 <i>Aphelenchoides</i>	Fu2	3.7±2.1a	++	2.5±3.9a	++
真滑刃属 <i>Aphelenchus</i>	Fu2	7.0±3.3a	++	7.5±4.1a	++
植寄生性线虫 PP		59.0±10.6a		52.5±4.4a	
丝尾垫刃属 <i>Filenchus</i>	PP2	1.4±0.3a	++	1.8±1.4a	++
螺旋属 <i>Helicotylenchus</i>	PP3	41.9±9.6a	+++	36.8±4.9a	+++
短体属 <i>Pratylenchus</i>	PP3	3.4±2.0a	++	3.7±2.0a	++
裸矛属 <i>Psilenchus</i>	PP2	0.1±0.3a	+	0.2±0.2a	+
矮化属 <i>Tylenchorhynchus</i>	PP3	6.6±2.6a	++	5.7±1.3a	++
垫刃属 <i>Tylenchus</i>	PP2	5.6±3.1a	++	4.3±1.6a	++
杂食捕食性线虫 Om-Ca		5.3±1.3b		14.1±4.1a	
孔咽属 <i>Aporcelaimus</i>	Om5	0.4±0.5a	+	0.4±0.1a	+
真矛线属 <i>Eudorylaimus</i>	Om4	1.9±1.0a	++	1.5±0.4a	++
微矛线属 <i>Microdorylaimus</i>	Om4	0.6±0.5a	+	0.8±0.5a	+
拟桑尼属 <i>Thorneella</i>	Om4	2.5±2.1b	++	11.4±3.7a	+++
总线虫属 Total nematode		23		21	

注:功能组所附数字为 cp 值^[18]。Numbers following the functional guilds indicate the cp values^[18].+++ :RA>10%,优势属 Dominal genera; ++ :1%≤RA≤10%,常见属 Common genera; + :RA<1%,稀有属 Rare genera.

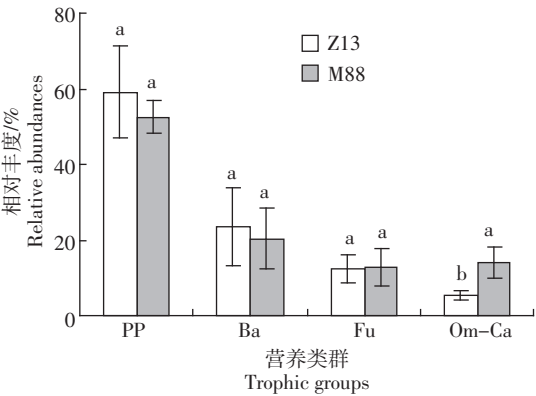


图 2 耐草甘膦转基因大豆 M88 和非转基因大豆 Z13 种植条件下土壤线虫营养类群相对丰度
Figure 2 Relative abundance of soil nematode trophic groups under soybean M88 and Z13

物寄生线虫为主要营养类群,相对丰度高达 50%以上。与 Z13 相比,M88 根际土壤杂食捕食性线虫的相对丰度显著升高($P<0.01$),而植物寄生线虫和食细菌线虫的相对丰度降低,但两品种间均无显著差异($P>0.05$)。

2.2.3 线虫生态指数

本研究采用 8 个生态指数描述线虫群落。由表 3 可知:M88 种植条件下土壤线虫群落的 Shannon-Wiener 多样性指数 H' 、属丰富度指数 GR 和营养多样性指数 TD 高于 Z13,说明 M88 种植条件下的土壤线虫群落多样性高于 Z13,但差异并不显著($P>0.05$)。线虫通道指数 NCR 能反映出不同分解通道在分解过

表 3 转基因大豆 M88 和非转基因大豆 Z13 种植条件下线虫生态指数
Table 3 Ecological indices of soil nematodes under soybean M88 and Z13

大豆品种 Soybean varieties	<i>H'</i>	<i>TD</i>	<i>GR</i>	<i>NCR</i>	<i>MI</i>	<i>PPI</i>	<i>EI</i>	<i>SI</i>
Z13	2.09±0.23a	2.33±0.40a	2.38±0.19a	0.64±0.14a	2.26±0.12b	2.88±0.04a	27.90±8.27a	34.85±9.42b
M88	2.25±0.15a	2.77±0.19a	2.59±0.10a	0.60±0.14a	2.67±0.25a	2.88±0.03a	30.11±5.24a	61.81±11.51a

注:*H'*:Shannon–Wiener 多样性指数;*TD*:营养多样性指数 Trophic diversity Index;*GR*:属丰富度指数 Genus richness Index;*NCR*:线虫通道指数 Nematode channel ratio;*MI*,*PPI*:成熟度指数 Maturity Index;*EI*:富集指数 Enrichment Index;*SI*:结构指数 Structure Index。

程中的相对重要性,两种大豆种植条件下的 *NCR* 值都靠近 1,说明土壤分解过程主要由细菌控制。两种大豆种植条件下植寄生性线虫成熟度指数 *PPI* 相似,而自由生活线虫的成熟度指数 *MI* 均较小,且两品种差异显著($P<0.05$)。

两种大豆种植条件下土壤线虫富集指数 *EI* 均较低,并无显著差异($P>0.05$);结构指数 *SI* 在 Z13 种植条件下低于 M88,且差异显著($P<0.05$)。以富集指数 *EI* 对结构指数 *SI* 所得的线虫区系分析图(图 3)表明:M88 种植条件下,所有的点都处于 C 区,而 Z13 种植条件下,所有点处于 D 区。

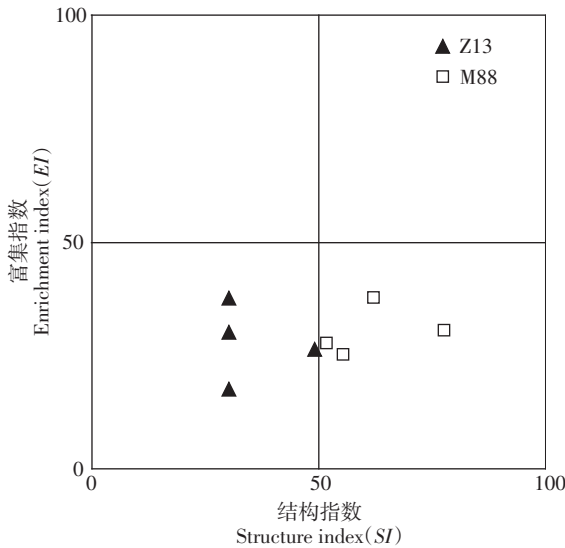
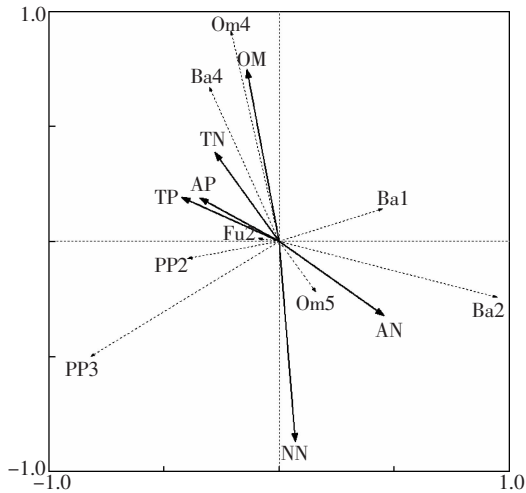


图 3 不同处理条件下线虫区系分析
Figure 3 Nematode fauna under soybean M88 and Z13

2.3 土壤线虫群落与土壤环境因子的相关性分析

除趋势对应分析(Detrended correspondence analysis, DCA)结果显示土壤线虫群落组成的梯度长度(Lengths of gradient)均小于 3,表明土壤线虫群落组成对土壤因子梯度的响应属于线性响应模式,应借助冗余分析(Redundancy analysis, RDA)研究土壤线虫群落与土壤环境因子之间的相关性。由表 4 可知:RDA 第一轴和第二轴的特征值分别为 0.584 和 0.242,种-环境相关系数分别为 0.999 和 0.983;RDA 的前两轴共解释了 82.5%的种变化率和 87.4%的种-环境变化率。由 RDA 排序图(图 4)可知,土壤有机质



实线箭头代表环境因子,虚线箭头代表线虫功能组
图 4 土壤线虫功能组与土壤环境因子之间相关性的冗余分析(RDA)排序图
Figure 4 Redundancy analysis(RDA) diagram of the relation between soil nematode functional guilds and soil factors

表 4 土壤线虫功能组与土壤环境因子之间相关性的冗余分析(RDA)结果

Table 4 Redundancy analysis(RDA) results of the relation between soil nematode functional guilds and soil factors

指标	第一轴 Axes1	第二轴 Axes2	第三轴 Axes3	第四轴 Axes4
特征值 Eigenvalues	0.584	0.242	0.098	0.018
种-环境相关系数 Species–environment correlations	0.999	0.983	0.842	0.868
种累积变化率 Cumulative percentage variance of species data/%	58.4	82.5	92.3	94.1
种-环境累积变化率 Cumulative percentage variance of species–environment relation/%	61.8	87.4	97.7	99.6

OM 和硝态氮 NN 对线虫群落的功能组组成影响较大。线虫功能组 Om4、Ba4 和土壤有机质 OM 呈显著的正相关,而与硝态氮 NN 呈显著负相关。Ba2、Om5 和铵态氮 AN 正相关,与全氮 TN、全磷 TP、速效磷 AP 负相关。Ba1、Fu2、PP2 和 PP3 与土壤环境因子之间的相关性较小。

3 讨论

土壤线虫因其特有的生物特性,成为评价转基因作物对土壤生态环境影响的重要指示生物。本研究表明:盆栽条件下,成熟期耐草甘膦转基因大豆 M88 显著增加了根际土壤线虫丰度及杂食捕食性线虫的相对丰度。李修强等两年的大田试验结果表明:虽然转基因水稻 Bt 汕优 63 对土壤线虫丰度无显著影响,但在个别时期显著增加了杂食捕食性线虫的相对丰度^[21]。Manachini 和 Lozzia 发现,转 Bt 玉米分别增加和降低了食真菌线虫和食细菌线虫的相对丰度^[10]。Icoz 和 Stotzky 综述了近年来转基因作物对土壤线虫群落影响的研究,发现不同研究所得结果分歧较大^[4]。Griffith 等指出土壤类型和植物生长期对土壤线虫的影响远大于品种即转基因的影响^[22]。Carpenter 认为不同地理环境、温度、植物品种和土壤类型,导致不同研究结果的差异^[23]。

本研究中,杂食捕食性线虫的显著差异来源于拟桑尼属 (*Thorneella*) 线虫的显著差异。拟桑尼属 (*Thorneella*) 线虫是杂食性线虫,取食范围较广,耐草甘膦大豆可能通过影响土壤养分、土壤微生物和无脊椎动物,增加其食物来源,促进其繁殖,导致相对丰度升高。有研究表明,秀丽隐杆线虫 (*Caenorhabditis elegans*) 可能对 Bt 蛋白敏感,转 Bt 玉米对其生长、产卵量和繁殖率有一定抑制作用,从而降低其丰度^[24-25]。本研究发现的拟桑尼属 (*Thorneella*) 线虫对耐草甘膦转基因大豆 M88 敏感,这种敏感性是否具有普遍性和长期性,需要进一步深入研究和长期监测。

为了更好地发挥土壤线虫的生物指示作用,综合各种生态学指数,才能有效地揭示线虫群落结构的变化^[26]。本研究发现成熟期耐草甘膦转基因大豆 M88 对土壤线虫群落的 Shannon-Wiener 多样性指数 H' 、属丰富度指数 GR 和营养多样性指数 TD 均无显著影响,表明成熟期耐草甘膦转基因大豆 M88 对线虫群落结构多样性影响不显著。但成熟度指数 MI 和结构指数 SI 却差异显著。自由生活线虫的成熟度指数 MI 和植物寄生线虫成熟度指示 PPI 均由 Bongers 提出,

并用来评价外界扰动对土壤线虫的影响^[20]。本研究中,耐草甘膦转基因大豆 M88 种植条件下土壤线虫的成熟度指数 MI 升高,说明所受干扰较小。

本研究借助冗余分析 RDA 探讨土壤线虫群落与土壤环境因子的相关性,发现线虫功能组 Om4 和土壤有机质 OM 呈显著正相关,说明土壤线虫功能组 Om4 对土壤有机质 OM 含量的变化比较敏感。前人的研究也表明杂食捕食性线虫对外界各种干扰的响应相对敏感。Li 等研究发现增加有机质输入可提高杂食捕食性线虫食物资源的可用性,从而升高其相对丰度^[27]。因此,结合环境因子结果推测,耐草甘膦大豆可能通过升高土壤有机质 OM 和降低硝态氮 NN,影响与其相关性较强的 Om4 功能组线虫的相对丰度,尤其是拟桑尼属 (*Thorneella*) 线虫的相对丰度,进一步影响线虫营养类群、成熟度指数 MI 和结构指数 SI 等。

4 结论

盆栽条件下,成熟期耐草甘膦转基因大豆 M88 显著升高土壤线虫丰度、拟桑尼属 (*Thorneella*) 线虫的相对丰度、杂食捕食性线虫的相对丰度、成熟度指数 MI 和结构指数 SI 。但 Shannon-Wiener 多样性指数 H' 、属丰富度指数 GR 和营养多样性指数 TD 却无显著差异,说明成熟期耐草甘膦转基因大豆 M88 对线虫群落结构多样性影响不显著。冗余分析 RDA 表明线虫功能组 Om4 和土壤有机质 OM 有较强正相关,而与硝态氮 NN 呈较强负相关。基于种属水平和生态学指数研究以及土壤环境因子和土壤线虫群落之间的相关性分析,可以为评价转基因作物对土壤生态环境影响提供有用信息。但是转基因作物与土壤生物的相互作用是一个长期过程,且受到多种环境及非环境因素的影响,今后应开展长期的盆栽和大田试验,以期更全面地评价转基因作物对土壤生态环境的影响。

参考文献:

- [1] James C. Global status of commercialized biotech/GM Crops:2012[R]. ISAAA Brief No44 ISAAA; Ithaca, NY, 2012.
- [2] James C. Global status of commercialized biotech/GM Crops:2011[R]. ISAAA Brief No43 ISAAA; Ithaca, NY, 2011.
- [3] Yan S K, Singh A N, Fu S L, et al. A soil fauna index for assessing soil quality[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2012, 47: 158-165.
- [4] Icoz I, Stotzky G. Fate and effects of insect-resistant Bt crops in soil ecosystems[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2008, 40(3): 559-586.
- [5] Ferris H, Bongers T, de Goede R G M. A framework for soil food web di-

- agnostics: Extension of the nematode faunal analysis concept[J]. *Applied Soil Ecology*, 2001, 18(1): 13–29.
- [6] Bongers T, Ferris H. Nematode community structure as a bioindicator in environmental monitoring[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 1999, 14(6): 224–228.
- [7] Yeates G W. Nematodes as soil indicators: functional and biodiversity aspects[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2003, 37(4): 199–210.
- [8] Zhang X K, Li Q, Zhu A N, et al. Effects of tillage and residue management on soil nematode communities in North China[J]. *Ecological Indicators*, 2012, 13(1): 75–81.
- [9] Griffiths B S, Caul S, Thompson J, et al. A comparison of soil microbial community structure, protozoa and nematodes in field plots of conventional and genetically modified maize expressing the *Bacillus thuringiensis* is CryIAb toxin[J]. *Plant and Soil*, 2005, 275(1–2): 135–146.
- [10] Manachini B, Lozzia G C. First investigations into the effects of Bt corn crop on Nematofauna[J]. *Bollettino di Zoologia Agrariae Bachicoltura*, 2002, 34(1): 85–96.
- [11] Hoss S, Arndt M, Baumgarte S, et al. Effects of transgenic corn and CryIAb protein on the nematode, *Caenorhabditis elegans*[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2008, 70(2): 334–340.
- [12] Griffiths B S, Caul S, Thompson J, et al. Soil microbial and faunal community responses to Bt maize and insecticide in two soils[J]. *J Environ Qual*, 2006, 35(3): 734–741.
- [13] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
BAO Shi-dan. Analysis of soil agriculture chemistry[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000.
- [14] Goodfriend W L, Olsen M W, Frye R J. Soil microfloral and microfaunal response to *Salicornia bigelovii* planting density and soil residue amendment[J]. *Plant and Soil*, 2000, 223(1–2): 23–32.
- [15] Liu M, Chen X, Griffiths B S, et al. Dynamics of nematode assemblages and soil function in adjacent restored and degraded soils following disturbance[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2012, 49: 37–46.
- [16] 尹文英. 中国土壤动物检索图鉴[M]. 北京: 科学出版社, 1998.
YIN Wen-ying. Pictorial keys to soil animals of China[M]. Beijing: Science Press, 1998.
- [17] Yeates G W, Bongers T, de Goede R G, et al. Feeding habits in soil nematode families and genera—an outline for soil ecologists[J]. *J Nematol*, 1993, 25(3): 315–331.
- [18] Bongers T, Bongers M. Functional diversity of nematodes[J]. *Applied Soil Ecology*, 1998, 10(3): 239–251.
- [19] Yeates G W, King K L. Soil nematodes as indicators of the effect of management on grasslands in the New England Tablelands (NSW): Comparison of native and improved grasslands[J]. *Pedobiologia*, 1997, 41(6): 526–536.
- [20] Bongers T. The maturity index: An ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition[J]. *Oecologia*, 1990, 83(1): 14–19.
- [21] 李修强, 陈法军, 刘满强, 等. 转基因水稻 Bt 汕优 63 种植两年对土壤线虫群落的影响[J]. 应用生态学报, 2012, 23(11): 3065–3071.
LI Xiu-qiang, CHEN Fa-jun, LIU Man-qiang, et al. Effects of two years planting transgenic Bt rice (BtSY63) on soil nematode community[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2012, 23(11): 3065–3071.
- [22] Griffiths B S, Caul S, Thompson J, et al. Soil microbial and faunal responses to herbicide tolerant maize and herbicide in two soils[J]. *Plant and Soil*, 2008, 308(1–2): 93–103.
- [23] Carpenter J E. Impact of GM crops on biodiversity[J]. *GM Crops*, 2011, 2(1): 7–23.
- [24] Manachin B, Lozzia G C. Biodiversity and structure on Nematofauna in Bt corn (Presentation)[M]. Accona, Switzerland, Biodiversity Implications of Genetically Modified Plants. 2003: 32.
- [25] Lang A, Arndt M, Beck R, et al. Monitoring of the environmental effects of the Bt gene[M]. Freising-Weihenstephan, Germany: Bavarian State Research Center for Agriculture, 2006.
- [26] 李 琪, 梁文举, 姜 勇. 农田土壤线虫多样性研究现状及展望[J]. 生物多样性, 2007, 15(2): 134–141.
LI Qi, LIANG Wen-ju, JIANG Yong. Present situation and prospect of soil nematode diversity in farmland ecosystems[J]. *Biodiversity Science*, 2007, 15(2): 134–141.
- [27] LI Q, JIANG Y, LIANG W J, et al. Long-term effect of fertility management on the soil nematode community in vegetable production under greenhouse conditions[J]. *Applied Soil Ecology*, 2010, 46(1): 111–118.