

任梦云, 陈彦君, 关 潇. 转 *Cry1Ah* 基因抗虫玉米对无脊椎动物多样性影响研究[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(10): 2287–2296.

REN Meng-yun, CHEN Yan-jun, GUAN Xiao. Effects of transgenic insect-resistant maize harboring *Cry1Ah* on invertebrate biodiversity[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(10): 2287–2296.

转 *Cry1Ah* 基因抗虫玉米对无脊椎动物多样性影响研究

任梦云^{1,2}, 陈彦君^{1,3}, 关 潇^{1*}

(1. 中国环境科学研究院, 北京 100012; 2. 浙江省农业科学院作物与核技术利用研究所, 杭州 310021; 3. 海南大学热带农林学院, 海口 570228)

摘要:为探讨转基因玉米对生物多样性的影响,本研究以转基因抗虫玉米(HGK60)(Bt *Cry1Ah*)及对照常规玉米(郑58)为研究对象,采用五点取样法、直接观察法、陷阱调查法进行转基因抗虫玉米田间昆虫群落、线虫群落调查和田间虫害的影响研究。结果表明:与亲本郑58相比,HGK60对田间昆虫的数量和群落结构没有显著影响($P>0.05$)。转基因玉米HGK60与对应的非转基因对照郑58相比,对钻蛀类害虫具有明显抗性。HGK60对土壤中线虫群落结构无显著影响($P>0.05$)。研究表明转基因抗虫玉米HGK60的种植对虫害具有抗性作用,对田间昆虫和线虫无显著影响。

关键词:转基因玉米;昆虫群落;线虫;生物多样性

中图分类号:X820.3 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2019)10-2287-10 doi:10.11654/jaes.2019-0322

Effects of transgenic insect-resistant maize harboring *Cry1Ah* on invertebrate biodiversity

REN Meng-yun^{1,2}, CHEN Yan-jun^{1,3}, GUAN Xiao^{1*}

(1. Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China; 2. Institute of Crops and Nuclear Technology Utilization, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China; 3. College of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Haikou 570228, China)

Abstract: In order to assess the effects of transgenic maize (HGK60) with *Cry1Ah* and non-transgenic maize (Zheng 58) on biodiversity, insect community, nematode community, and field insect pests, a five-point sampling method, pitfall traps, and direct observation were used. The results showed that compared with the non-transgenic maize ‘Zheng 58’ as control, in HGK60, the insect communities sampled showed no significant difference in abundance and structure ($P>0.05$). Compared with the non-transgenic maize ‘Zheng 58’, HGK60 showed obvious resistance to borer pests. HGK60 showed no significant effect on the structure of the nematode community in soil ($P>0.05$). Our results indicate that the transgenic insect-resistant maize HGK60 is resistance to insect pests but showed negative non-significant effects on the diversity of insect and nematode communities.

Keywords: transgenic maize (*Zea mays*); insect community; nematode; biodiversity

利用生物工程手段,将某些外源基因转移到其他生物物种中去,使其表现出原物种不具有的产物和性状,这种新的生物体称为遗传修饰生物体(Genetically modified organisms, GMO)。为满足人们的生产、生活所需,大多数转基因作物具有重大的社会和经济价值,

如转基因棉花的商业化推广,有效地降低了棉铃虫等靶标害虫的数量,降低了对化学杀虫剂的依赖,缓解了害虫的抗药性压力,减缓了杀虫剂对环境生态的影响^[1]。

节肢动物群落作为自然生态系统重要的组成部

收稿日期:2019-03-25 录用日期:2019-05-28

作者简介:任梦云(1991—),女,安徽淮北人,博士,助理研究员,主要从事种质资源与生态安全评估研究。E-mail:renmengyun@zaas.ac.cn

*通信作者:关 潇 E-mail:cynthia815@126.com

基金项目:国家科技重大专项(2016ZX08012005)

Project supported: The National Science and Technology Major Project of the Ministry of Science and Technology of China (2016ZX08012005)

分,是维持农田生态环境正常生态功能的重要因素^[2-3],被广泛用作农田生态系统功能研究的对象之一。此外,昆虫群落的多样性体现了一定范围内生物之间、生物与环境之间的关系,因此,昆虫群落多样性也是转基因作物环境安全评价的重要指标之一。

近年来,针对转基因作物对于田间昆虫多样性影响以及虫害调查开展了一系列研究。有研究表明,转基因抗虫玉米对田间节肢动物群落多样性无显著影响^[4-6];而 *Cry* 杀虫蛋白基因对亚洲玉米螟表现出一定毒力^[7],已被广泛地应用于生产生物农药和植物转基因工程。近年来,由于转基因技术的发展,转 *Bt* 基因抗虫玉米因可以有效降低玉米螟的危害而被广泛应用^[8]。

线虫是土壤生态系统中种类最多、数量最为丰富的主要功能种群之一,能够充分反映土壤食物网结构和功能的综合性状^[9],并参与土壤物质分解、养分循环和土壤肥力保持等相关过程^[10-11]。目前已被当作农业生态系统是否受到干扰的灵敏性指示生物,具有独特的优势^[12-14]。现如今有关于转基因作物种植对土壤中线虫影响的报道结果存在一定差异,有研究证明转基因作物种植对土壤中线虫的群落多样性无显著性差异^[15-17],同时也有研究表明转基因作物的种植对线虫的数量存在一定程度的影响^[18]。

玉米是我国研究较多的转基因作物,目前我国获得生产应用安全证书转基因玉米是转植酸酶基因玉米,转 *Bt* 基因抗虫玉米(*CryIAc-M*、*CryIIe*、*CryIAh*等)现在已进入生物安全评价的生产性或环境释放试验阶段,在转基因作物种植带来巨大社会经济效益的同时,其潜在的环境安全问题也需引起人类的高度重视,因此我们有必要对其可能造成的生态环境影响进行评估^[19-20]。本研究于2018年玉米生育期间系统地调查了转 *Bt CryIAh* 基因玉米(HGK60)田间昆虫的种类,主要分析了转基因玉米对田间昆虫群落多样性、玉米主要虫害以及对土壤线虫群落多样性的影响,以期对转基因抗虫玉米的生态安全性评价提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验地位于海南省乐东黎族自治县中国农业科学院试验基地,试验采取随机区组设计,试验组为转基因抗虫玉米 HGK60(*CryIAh*),对照组为其对照常规玉米郑 58,每个处理 4 个重复,每个小区 150

m²(10 m×15 m)。不同品种间设置 1 m 宽空白隔离带(图 1)。种植方式为一穴一粒、一穴两粒循环,行距 60 cm,株距 25 cm。本试验全生育期所需水肥同常规种植,记录施肥、除草剂的用量和周期。2018 年 3 月播种。

所用玉米材料为转基因抗虫玉米 HGK60(*CryIAh*)及其对照常规玉米郑 58,均由中国农业科学院生物技术研究所提供。

1.2 样品采集

1.2.1 田间昆虫的采集

在玉米生长的苗期(4月18)、喇叭口期(5月11)、抽穗期(6月11)、完熟期(7月6号)进行昆虫样品采集,每次采样时间为昆虫活动频繁的 16:00—18:00,使用五点取样法、直接观察法、陷阱调查法进行调查。

直接观察法:用于植株上节肢动物种类数量的调查。每小区调查 10 株玉米。记录玉米植株上所有的节肢动物的种类及数量。

陷阱调查法:用于地表节肢动物的调查。每点埋设 5 个直径 7.5 cm 的塑料杯,间隔 0.5 m,杯中放有 5% 的洗涤剂水(防冻液),水量为杯容积的 1/3,过夜后调查杯中的节肢动物种类和数量。

线虫的采集:分别于苗期、喇叭口期、抽穗期、完熟期进行 4 次土壤样本的采集。使用土钻在玉米植株根际周围 5 cm 处钻取 0~20 cm 耕土层,每个小区采用五点取样法,土样带回室内剔除杂物后分离土壤线虫。

1.2.2 虫害玉米样品的采集与鉴定

于玉米成熟后收获前调查一次,采用五点取样法,每小区 3 株玉米。采用纵剖茎秆的方法,调查茎秆内部是否有钻蛀类害虫,记录玉米秸秆的危害状况(钻蛀空道长度、受害穗尖长度等)。

1.2.3 土壤线虫的分离与鉴定

(1)线虫的分离:采用浅盘分离法^[21],具体步骤如下:将 200 mL 土样倒在平铺两张纸巾的筛盘上,并将此筛盘缓慢套放于盛有 1/3 清水的浅盘上,须使水面淹没材料。处理过的浅盘在室温下保持 24 h,24 h 后

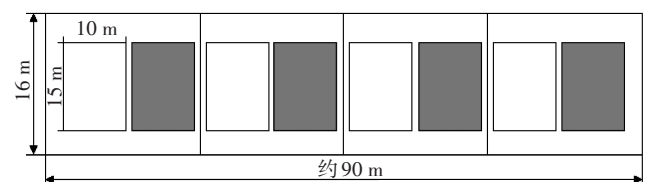


图1 样地设置

Figure 1 Sample plot

收集浅盘中的线虫滤液。每个浅盘共收集一次线虫。除去过多的水和杂物,用600目筛过滤3次,收集过滤筛上的线虫,置于桌上静置待镜检。

(2)植物线虫临时玻片的制作^[22]:先在洗净的载玻片上用打孔器打一个蜡圈,再在打有蜡圈的载玻片中央用移液枪滴一滴水,在体视解剖镜下用挑针挑取目标线虫于水滴中,加盖玻片后转移至控温电热板上,待蜡圈融化后便可拿下。冷却后标注信息置于玻片盒中,待镜检。

(3)线虫鉴定及数量统计:根据形态学将线虫鉴定到属,再分属在解剖镜上计数线虫数量。线虫鉴定参考《植物线虫分类学》^[22]和《中国土壤动物检索图鉴》^[23]。将线虫分为4个营养类群:食细菌线虫(Bacterivores)、食真菌线虫(Fungivores)、植食性线虫(Plant-parasites)和杂食/捕食性线虫(Omnivores-predators)^[24]。

1.3 数据统计与分析

统计分析各个调查时期节肢动物群落的结构与组成,计算各时期各群落的多样性指数、均匀性指数、优势集中性指数。

1.3.1 节肢动物生态指标

香农多样性指数: $H = -\sum P_i \ln P_i$

群落均匀度采用均匀度指数测度: $J = H / \ln S$

Simpson 优势集中性指数: $C = \sum P_i^2$

式中: P_i 为第 i 种物种的比例多度; S 为群落中物种总数目。

1.3.2 线虫生态指标

香农多样性指数: $H' = -\sum P_i \ln P_i$

优势度指数: $\lambda = \sum P_i^2$

物种的丰富度 Margalef 指数: $D = (S-1) / \ln N$

式中: S 为群落中的物种总数目; N 为观察到的所有物种的个体总数。

均匀度指数: $J = H' / H_{\max}$ (其中 $H_{\max} = \ln S$)

式中: H' 为实际观察的物种多样性指数; $H_{\max}$ 为最大的物种多样性指数。

线虫通道指数(Nematode channel ratio, NCR):

$NCR = BF / (BF + FF)$

式中: BF 为食细菌线虫数量; FF 为食真菌线虫数量。 NCR 为 0, 表明完全依靠真菌分解途径; NCR 为 1, 则表明完全依靠细菌分解途径^[25]。

瓦斯乐斯卡指数(Wasilewska index, WI):

$WI = (BF + FF) / PP$

式中: PP 为植食性线虫数量。

植食性线虫成熟指数(Plant-parasitic index, PPI):

$PPI = \sum (c-p_i) p_i$ (仅包括植食), 评价外界影响土壤稳定性。

式中: $c-p_i$ 为赋予某一类线虫的 $c-p$ 值; p_i 为某一类个体数占所调查的总个体数的比例。

自由生活线虫成熟指数(Maturity index of free-living nematodes, MI):

$MI = \sum (c-p_i) p_i$ (仅包括自由生活线虫)

利用 Excel 2003 进行数据整理, 利用 SPSS 16.0 软件对实验数据进行统计分析。使用 Duncan 法进行多重分析。

2 结果与分析

2.1 转基因玉米对田间昆虫的影响

对供试玉米材料在 2018 年全生育期内田间昆虫种类进行调查, 结果显示, 玉米植株田地的昆虫群落由 7 目 19 科 67 种昆虫组成(表 1)。

香农多样性指数计算结果显示, HGK60 田间昆虫的群落多样性仅在苗期显著低于郑 58 ($P < 0.05$), 其他生育期差异不显著 ($P > 0.05$)。均匀度指数计算结果显示, HGK60 仅在苗期显著低于郑 58 ($P < 0.05$), 其他生育期差异不显著 ($P > 0.05$)。优势集中性指数计算结果显示, HGK60 与郑 58 在各个生育期差异均不显著 ($P > 0.05$), 但随生育期的推进, 优势集中性逐渐下降(图 2)。

2.2 转基因作物种植对玉米主要虫害的影响

HGK60 的植株茎秆上蛀孔平均数量为 0.5 个·15 株⁻¹, 最长隧道长度为 7.1 cm, 植株上活虫数量为 0.75 头·15 株⁻¹; 而郑 58 茎秆上蛀孔平均数量为 7 个·15 株⁻¹, 最长隧道长度为 18.3 cm, 植株上活虫数量为 4.75 头·15 株⁻¹。HGK60 在蛀孔数量、隧道长度、活虫数量上低于郑 58, 表现出对钻蛀类害虫具有明显的抗性。

根据试验方案, 每个小区最终检视 15 株植株, 每个处理共 60 株。HGK60 材料上共有 6 株的穗尖受到虫害, 而对郑 58 则有 26 株的穗尖受害。这些数量上的差异表明 HGK60 对害虫具有明显的抗性(表 2)。

2.3 转基因玉米对线虫的影响

2.3.1 线虫总数的统计

从线虫总数的动态分析, 转基因玉米和非转基因玉米根分泌物对根围土壤线虫的总数影响并不明显,

表1 玉米田间昆虫群落的目的、科、种分布
Table 1 Patterns of insect from maize field in different orders,families and species

目 Order	科 Family	种 Species
鳞翅目 Lepidoptera	螟蛾科 Pyralidae	二化螟 <i>Chilo suppressalis</i> 、三化螟 <i>Scirpophaga incertulas</i> 、显纹纵卷叶螟 <i>Susumia exigua</i> 、褐边螟 <i>Catagela adjurella</i> 、玉米螟 <i>Pyrausta nubilalis</i>
	弄蝶科 Hesperidae	姬黄斑弄蝶 <i>Ochlodes ochracea rikuchina</i> 、小黄斑弄蝶 <i>Ampittia dioscorides</i>
	毒蛾科 Lymantriidae	素毒蛾 <i>Laelia coenosa</i>
	夜蛾科 Noctuidae	小地老虎 <i>Agrotis ypsilon</i> 、大螟 <i>Sesamia inferens</i> 、列星大螟 <i>Sesamia vutera</i> 、条纹螟蛉 <i>Jaspidia Listinguenda</i> 、劳氏黏虫 <i>Leucanialoryi Duponchel</i> 、白脉黏虫 <i>Leucania venalba</i> 、黏虫 <i>Mythimna separata</i>
半翅目 Hemiptera	蝽科 Pentatomidae	斑须蝽 <i>Dolycoris baccarum</i> 、细毛蝽 <i>Dolycoris baccarum</i> 、小黄蝽 <i>Piezodorus rubrofasciatus</i> 、梭形蝽 <i>Megarrhamphus hastatus</i> 、二星蝽 <i>Eysacoris guttiger</i> 、尖角二星蝽 <i>Eysarcoris parvus</i>
	缘蝽科 Coreidae	条蜂缘蝽 <i>Riptortus linearis</i> 、点蜂缘蝽 <i>Riptortus pedestris</i>
	盲蝽科 Miridae	华氏卵盲蝽 <i>Cyrtorrhinus chinesis</i> 、小赤须盲蝽 <i>Tenuis</i>
	姬蝽科 Nabidae	华姬蝽 <i>Nabis sinoferus</i>
同翅目 Homoptera	飞虱科 Delphacidae	白背飞虱 <i>Sogatella furcifera</i> 、白脊飞虱 <i>Unkanodes sapporona</i> 、黑边黄脊飞虱 <i>Toya propinqua</i> 、瘤飞虱 <i>Tropidocephala brunnipennis</i> 、长绿飞虱 <i>Saccharosydne procerus</i> 、白条飞虱 <i>Terthron albobittata</i> 、褐飞虱 <i>Nilaparvata lugens</i> 、拟褐飞虱 <i>Nilaparavata bakeri</i> 、伪褐飞虱 <i>Nilaparvata muiri</i> 、灰飞虱 <i>Laodelphax striatellus</i>
	叶蝉科 Cicadellidae	黑尾叶蝉 <i>Nephotettix bipunctatus</i> 、二点黑尾叶蝉 <i>Nephotettix virescens</i> 、二条黑尾叶蝉 <i>Nephotettix apicalis</i> 、电光叶蝉 <i>Inazuma dorsalis</i> 、白翅叶蝉 <i>Thaia rubiginosa</i> 、一点叶蝉 <i>Erythroneura sudra</i> 、四点叶蝉 <i>Macrostesles quadrimaculata</i> 、二点叶蝉 <i>Cotton leafhopper</i> 、黑唇斑叶蝉 <i>Erythroneura maculifrons</i> 、紫黑叶蝉 <i>Macrostesles fuscinervis</i> 、双纹斑叶蝉 <i>Erythroneua limbata</i> 、小绿叶蝉 <i>Jacobiasca formosana</i> 、大白叶蝉 <i>Tettigoniella spectra</i> 、大青叶蝉 <i>Cicadella viridis</i> 、四纹角顶叶蝉 <i>Jassargus obtusivalvis</i>
	蚜科 Aphidoidea	玉米蚜 <i>Rhopalosiphum maidis</i>
	蟋蟀科 Gryllidae	油葫芦 <i>Gryllus testaceus wallker</i>
直翅目 Orthoptera	蝗科 Acrididae	云斑车蝗 <i>Gastrimargus marmoratus</i> 、日本黄脊蝗 <i>Patanga japonica</i> 、中华蚱蜢 <i>Acrida cinerea</i> 、东亚飞蝗 <i>Locusta migratoria</i>
	蚱科 Tetrigoidea	花胫绿纹蝗 <i>Aiolopus tamulus</i> 、短额负蝗 <i>Atractomorpha sinensis</i> 、菱蝗 <i>Tetrigid</i> 、平背棘菱蝗 <i>Eucrietettix oculatus</i>
脉翅目 Neuroptera	螽斯科 Tettigoniidae	普通草螽 <i>Conocephalus discolor</i> Thunb、螽斯 <i>Longhorned grasshoppers</i>
	草蛉科 Chrysopidae	中华通草蛉 <i>Chrysoperla sinica</i>
鞘翅目 Coleoptera	铁甲科 Hispidae	玉米铁甲虫 <i>Dactylispa setifera chapuis</i>
	瓢虫科 Coccinellidae	二星瓢虫 <i>Adalia bipunctata</i>
缨翅目 Thysanoptera	蓟马总科 Thripodea	禾蓟马 <i>Frankiniella tenuicornis</i>

二者在玉米不同生长期对线虫总数的影响差异不显著($P>0.05$)(图3)。

在整个玉米生长周期中, HGK60根围共发现25个属线虫, 郑58共发现26个属线虫, 总数差异不大; 但值得关注的是, 其中对玉米根围存在潜在危险性的植食性线虫, 郑58有9属, HGK60仅有7属, 且HGK60的杂食捕食性线虫比郑58多2个属(表3)。不同玉米的根围分泌物是否对根围土壤线虫种群结构造成影响有待进一步研究。

2.3.2 线虫生态指数分析

HGK60在栽培早期(苗期)干扰了根围土壤线虫的多样性, 与郑58间呈显著差异($P<0.05$)。该试验田整体上以细菌分解途径为主, 仅在栽培早期HGK60处理NCR与郑58差异显著。在本研究中, HGK60PPI持续上升, 郑58呈现先上升, 生长后期下

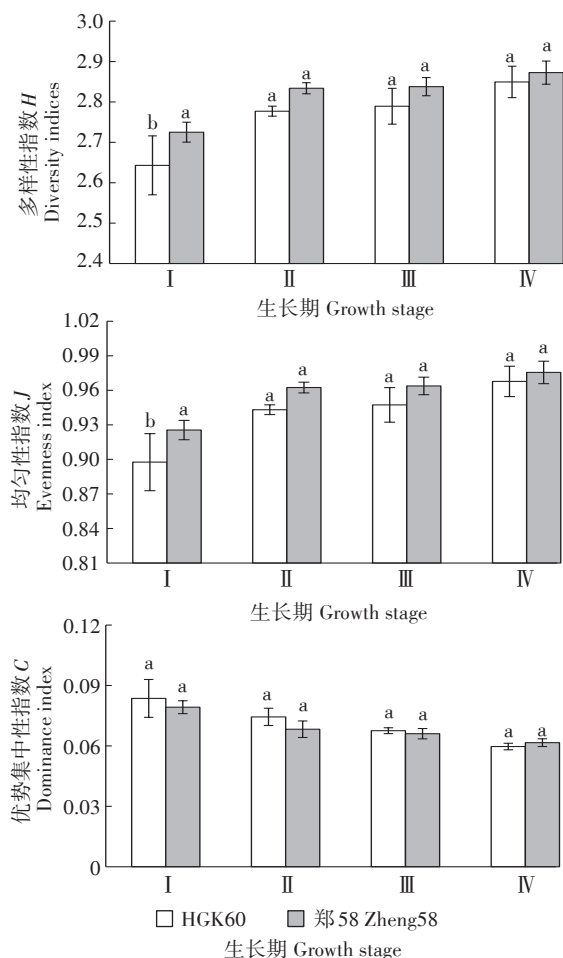
降的趋势; 但在栽培初期和末期两者间差异不显著($P>0.05$)(图4)。

优势度指数λ随着玉米生长逐渐减小, 玉米栽培初期, HGK60显著大于郑58处理($P<0.05$), 随着玉米生长逐渐减小, 且两者间差异不显著($P>0.05$)。随着玉米根系生长, 线虫丰富度指数D逐渐增高, 但HGK60、郑58之间差异不显著($P>0.05$)(图4)。

均匀度指数J在玉米初期, HGK60显著小于郑58($P<0.05$), 其他生育期差异不显著($P>0.05$)(图4)。

2.3.3 营养类群分析

在玉米栽种早期, HGK60的食细菌线虫数明显多于郑58, 但随后两者数量趋于相当。在整个玉米生长期, 根围食真菌线虫种群数量整体上变化不大, 仅在玉米栽种早期, HGK60的食真菌线虫数明显比亲本郑58少, 随后两者数量趋于相当(图5)。



I: 苗期; II: 喇叭口期; III: 抽穗期; IV: 完熟期。不同字母表示同一生育期转基因玉米与对照常规玉米间的差异显著 ($P < 0.05$)。下同
I: seedling stage; II: bell stage; III: heading stage; IV: physiological maturity stage. The different lowercase letters indicate significant differences among treatments in the same stage ($P < 0.05$).
The same below

图2 田间昆虫群落各指数动态图

Figure 2 Dynamic of biodiversity index of insect community in the fields

在本研究中, HGK60 植食性线虫数量持续上升, 郑58 呈先上升玉米生长后期下降的趋势。栽培初期, HGK60 显著高于郑58 ($P < 0.05$), 但在抽穗期调查发现两者间差异不显著 ($P > 0.05$)。到完熟期, HGK60 的植食性线虫数量显著多于郑58 ($P < 0.05$) (图5)。

表2 收获前期2种玉米材料危害情况统计

Table 2 Statistics on the hazardous situation of two kinds of maize materials in the early stage of harvesting

年份 Year	材料 Material	蛀孔数/个·15株 ⁻¹ Number of holes	活虫数/头·15株 ⁻¹ Number of alive pest	最长隧道长度 Maximum length of tunnel/cm	平均隧道长度 Average length of tunnel/cm	最长穗尖被害长度 Maximum length of damaged ear tip/cm	平均穗尖被害长度 Average length of damaged ear tip/cm
2018	HGK60	0.5±0.50b	0.75±0.83b	7.1	6.5±0.60b	7.2	5.1±1.84b
	郑58	7±0.71a	4.75±1.30a	18.3	10.86±4.63a	9.8	8.1±1.63a

注: 不同小写字母表示不同种间差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: The different lowercase letters indicate significant difference between different varieties ($P < 0.05$).

本试验田中, 杂食-捕食线虫占线虫总数比例最少, 在玉米栽培后期数量略有上升, 在栽培后期 HGK60 显著少于郑58 ($P < 0.05$) (图5)。

3 讨论

近年来国内外在转基因作物安全性方面的研究已经取得很大进展, 转基因抗虫棉花、转基因抗虫水稻以及转基因耐除草剂大豆等对节肢动物群落结构影响的研究均取得了一定的成果^[26-28]。目前中国批准的商业化生产的转基因作物只有棉花和番木瓜, 国内研究最多的是转 *Bt* 基因抗虫棉对害虫和天敌的影响, 由于转基因玉米在我国尚未被批准商业化种植, 所以有关转基因玉米对无脊椎动物的多样性影响研究相对较少。从目前已有的研究来看, 绝大多数的试验结果都支持转基因玉米对节肢动物、土壤动物群落多样性的影响较小的结论^[4, 29-31]。本研究以转基因抗虫玉米为研究对象, 对其全生育期田间节肢动物群落和线虫群落多样性进行调查分析, 结果显示 HGK60 与郑58 相比, 在物种丰富度、群落多样性、优势集中性和群落均匀性等几个指数表示的群落性质上不存在显著差异。这与前人的研究结果基本一致, 说明转基因作物的种植对田间节肢动物群落多样性、线虫群落多样性没有显著影响, 为转基因玉米的安全性评价提供了基本的数据支持^[32]。对 HGK60 与郑58 田间昆

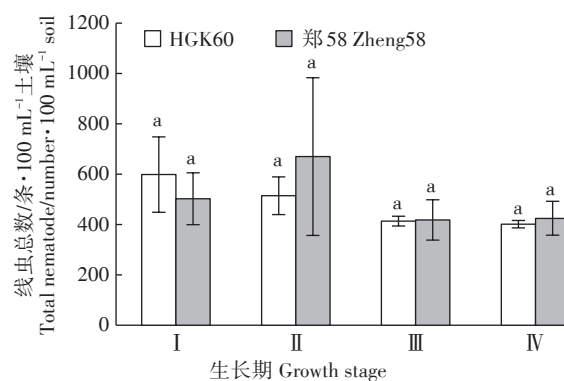


图3 线虫总数的统计

Figure 3 Statistics of nematodes

表3 玉米田间土壤线虫科属的分布
Table 3 Patterns of nematode in soil from maize field in different families and genuses

科 Family	属 Genus	c-p 值 c-p value	HGK60	郑 58 Zheng 58
食细菌线虫 Bacterivores (BF)				
小杆科 Rhabditidae	中杆属 <i>Mesorhabditis</i>	1	+	+
	小杆属 <i>Rhabditis</i>	1	+	+
头叶科 Cephalobidae	真头叶属 <i>Eucephalobus</i>	2	+	+
食真菌线虫 Fungivores (FF)				
垫刃科 Tylenchidae	丝尾垫刃属 <i>Filenchus</i>	2	+	+
	茎属 <i>Ditylenchus</i>	2	+	+
真滑刃科 Aphelenchoididae	真滑刃属 <i>Aphelenchus</i>	2	+	+
拟滑刃科 Paraphelenchidae	拟滑刃属 <i>Paraphelenchus</i>	2	+	+
植食性线虫 Plant-parasites (PP)				
垫刃科 Tylenchidae	垫刃属 <i>Tylenchus</i>	2	+	+
	细纹垫刃属 <i>Lelenchus</i>	2	-	+
纽带科 Hoplolaimidae	肾属 <i>Rotylenchulus</i>	3	+	+
	螺旋属 <i>Helicotylenchus</i>	3	-	+
短体科 Pratylenchidae	短体属 <i>Pratylenchus</i>	3	+	+
异皮科 Heteroderidae	根结线虫属 <i>Meloidogyne</i>	3	+	+
环科 Criconematidae	小环属 <i>Criconemella</i>	3	+	+
毛刺科 Trichodorisae	拟毛刺属 <i>Paratrichodorus</i>	4	+	+
	毛刺属 <i>Trichodorus</i>	4	+	+
杂食捕食线虫 Omnivores-predators (OP)				
单齿科 Mononchidae	锯齿属 <i>Prionchulus</i>	4	+	+
	锉齿属 <i>Mylonchulus</i>	4	-	+
	单齿属 <i>Mononchus</i>	4	+	+
	基齿属 <i>Lotonchus</i>	4	+	-
矛线科 Dorylaimidae	拟桑尼属 <i>Thorneella</i>	4	+	+
	真矛线属 <i>Eudorylaimus</i>	4	+	+
	前矛线属 <i>Prodorylaimus</i>	4	+	+
	盘咽属 <i>Discolaimus</i>	5	+	+
三孔科 Tripylidae	三孔属 <i>Tripyla</i>	3	+	+
嘴刺科 Enoplidae	嘴刺属 <i>Enoplodes</i>	4	+	+
	拱唇属 <i>Labronema</i>	4	+	-
刺咽科 Oncholaimidae	单棘属 <i>Mononchulus</i>	4	+	+
线虫总属数 (G 或 S)			25	26

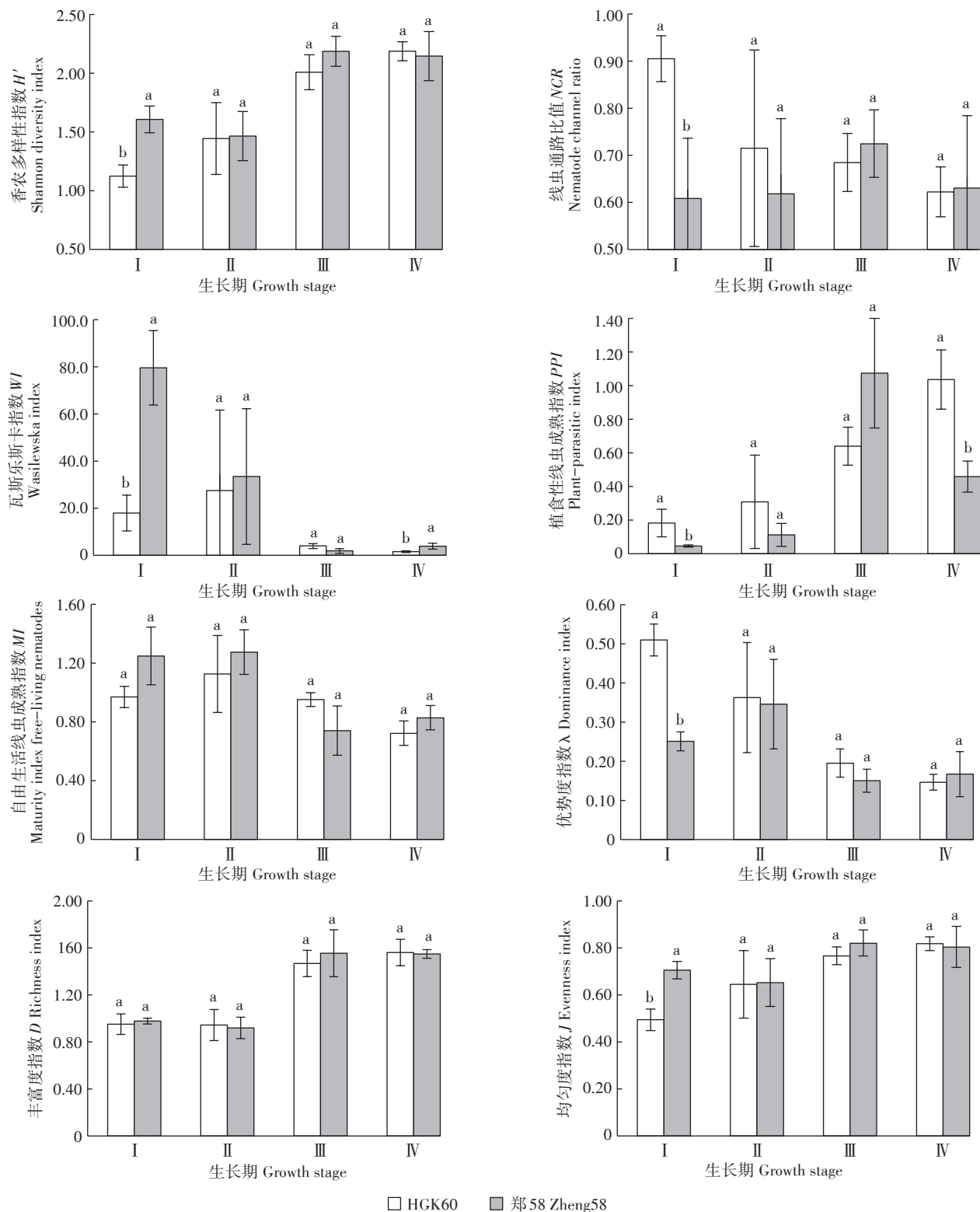
注: +代表有, -代表无。
Note: + indicates yes, - indicates no.

虫的多样性指数、均匀度数和优势度指数进行分析比较,其在个别生理时期略有波动,苗期转基因玉米 HGK60 的多样性指数 *H* 和均匀性指数 *J* 显著低于非转基因玉米郑 58,在其他 3 个时期,转基因玉米也倾向于低于非转基因玉米,随着生育期的推进,总体趋势趋于一致。这与其他学者的研究结果较为一致^[33-35],转基因抗虫作物与亲本相比,具有抗虫性,在作物的各个发育期,可有效防治害虫的发生,降低田间昆虫群落多样性,但总体无显著性差异。

转基因抗虫玉米 HGK60 在蛀孔数量、隧道长度、活虫数量上显著低于对照常规玉米郑 58,表现出对

钻蛀类害虫具有明显的抗性。穗尖被害情况亦表明 HGK60 对害虫具有明显的抗性。转基因抗虫玉米体内稳定表达的 Bt 毒蛋白可能能够通过对非靶标昆虫产生直接(如通过植食性昆虫取食)或者间接(如通过食物链)的影响^[36-37],从而有效地控制玉米螟数量,进而降低作物的虫害程度。

转基因植物的非靶标效应是生态安全评估和环境监测的重要组成部分^[38-39]。土壤线虫群落分析目前已成为指示土壤生态系统结构和功能变化的有力工具^[9]。对线虫的数量动态变化研究结果显示,转基因玉米的种植对土壤线虫的总数影响并不明显,不同



□ HGK60 ■ 郑58 Zheng58

图4 线虫生态指数分析

Figure 4 Analysis of nematode ecological index

生长期转基因玉米与非转对照对线虫总数的影响差异不显著,转基因玉米的种植未对线虫的生态指标和群落结构造成显著影响,这与前人的研究结果相

似^[40-44]。但也有部分学者认为,转基因作物的种植会对生物群落的结构及功能带来一定的影响^[45-46]。

本研究发现,转 *Bt* 基因 (*Cry1Ah*) 抗虫玉米的田

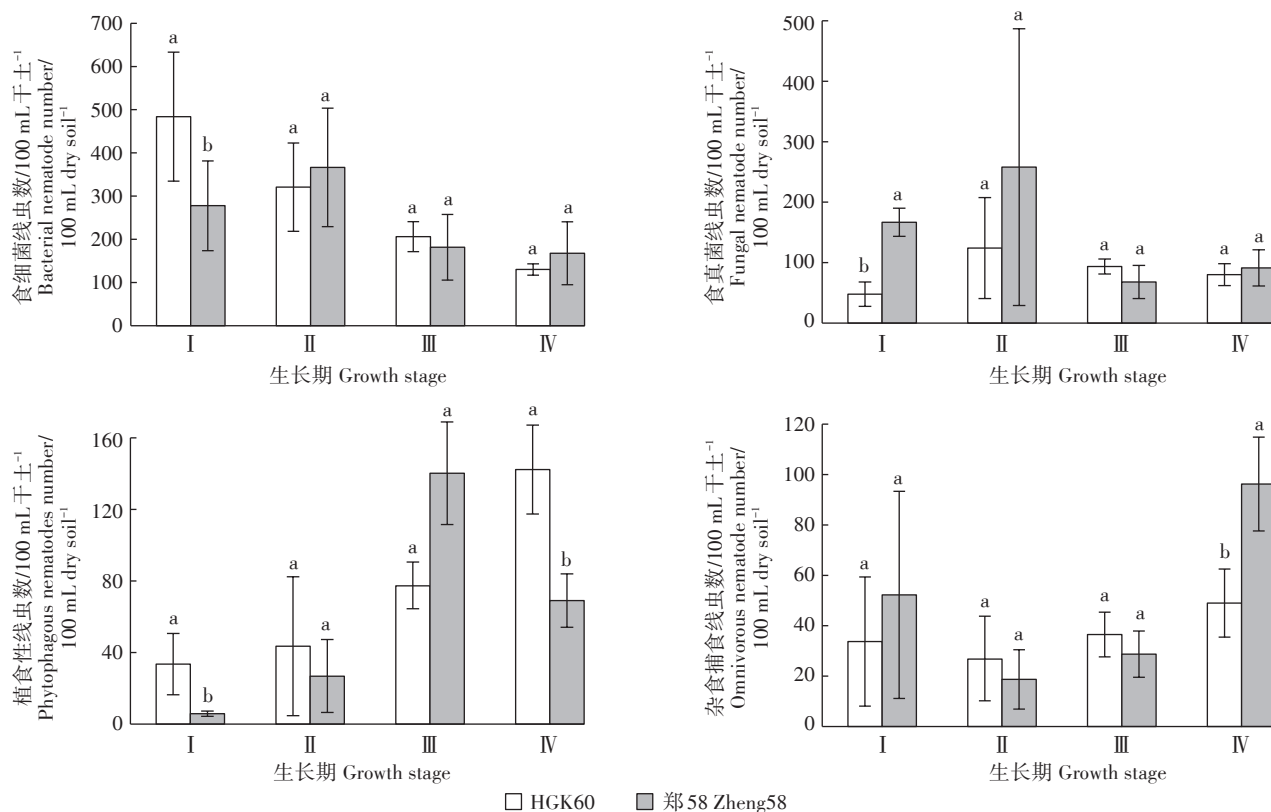


图5 线虫营养类群分析

Figure 5 Analysis of nematode nutrition groups

间种植降低了植食性线虫的比例,也降低了植食线虫和杂/捕食线虫的比例,这与其他学者关于转 *Bt* 油菜的田间种植研究结果类似^[47],整个生育期转基因玉米田和对照亲本玉米田土壤线虫数量差异不显著 ($P>0.05$)。对线虫生态指数和营养类群分析中发现,在栽培初期和抽穗期, HGK60 植食性线虫数量、植食性线虫成熟指数与亲本郑 58 相比差异不显著 ($P>0.05$)。完熟期, HGK60 的植食性线虫数量又显著多于郑 58 ($P<0.05$)。本文推测转基因抗虫玉米 HGK60 可能会加快植食性线虫生长繁殖,提高植食性线虫的比例,但其是通过何种手段和途径得以加快植食性线虫生长繁殖,是否受土壤速效钾、速效磷、碱解氮、有机碳和有机质含量影响,还需要进一步的野外试验验证加以明确。

综上所述,与对照常规玉米郑 58 相比,转基因抗虫玉米具有一定的抗虫性,且并未对田间昆虫动物群落多样性产生显著影响。该研究结果为转基因抗虫玉米的进一步研究提供一定基础数据。然而由于本实验仅为单年单点实验,试验规模较小,存在着一定的欠缺,接下来需连续多年多点进行试验,以获得更加准确、全面且可靠的研究结果,更好地为转基因玉

米的生态环境安全进行评估。

4 结论

(1) 转基因抗虫玉米 HGK60 对田间非靶标昆虫动物的数量和群落结构没有显著影响。

(2) 与对照常规玉米郑 58 相比,转基因抗虫玉米 HGK60 对田间虫害表现出明显的抗性。

(3) 转基因抗虫玉米 HGK60 与对照常规玉米郑 58 在玉米整个生长周期对土壤线虫的总数没有显著影响。线虫的生态指数及营养类群主要受玉米生育期的影响,本研究为转基因作物的环境释放提供理论参考依据。

参考文献:

- [1] 杨晓怀, 阮兆英, 李永红, 等. 转基因棉的应用现状及风险评价综述[J]. 安徽农学通报, 2015, 21(15): 22-23.
YANG Xiao-huai, RUAN Zhao-ying, LI Yong-hong, et al. Application status and risk assessment of transgenic cotton[J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2015, 21(15): 22-23.
- [2] 王 尚, 王柏凤, 严杜升, 等. 转 *EPSPS* 基因抗除草剂玉米 CC-2 对田间节肢动物多样性的影响[J]. 生物安全学报, 2014, 23(4): 271-277.

- WANG Shang, WANG Bo-feng, YAN Du-sheng, et al. Impacts of transgenic herbicide-resistant maize with *EPSPS* gene on arthropod biodiversity in the fields[J]. *Journal of Biosafety*, 2014, 23(4): 271-277.
- [3] 戈 峰, 欧阳芳, 赵紫华. 基于服务功能的昆虫生态调控理论[J]. 应用昆虫学报, 2014, 51(3): 597-605.
- GE Feng, OUYANG Fang, ZHAO Zi-hua. Ecological management of insects based on ecological services at a landscape scale[J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2014, 51(3): 597-605.
- [4] 何浩鹏, 任振涛, 沈文静, 等. 耐除草剂转基因玉米对田间节肢动物群落多样性的影响[J]. 生态与农村环境学报, 2018, 34(4): 333-341.
- HE Hao-peng, REN Zhen-tao, SHEN Wen-jing, et al. Effects of transgenic herbicide-tolerant maize on biodiversity of arthropod communities in the fields[J]. *Journal of Ecology and rural Environment*, 2018, 34(4): 333-341.
- [5] Bhatti M A, Duan J, Head G P, et al. Field evaluation of the impact of corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae)-protected Bt corn on foliar-dwelling arthropods[J]. *Environmental Entomology*, 2005, 34(5): 1336-1345.
- [6] Devos Y, Schrijver A D, Clercq P D, et al. Bt-maize event MON88017 expressing *Cry3Bb1* does not cause harm to non-target organisms[J]. *Transgenic Research*, 2012, 21(6): 1191-1214.
- [7] 康 乐, 陈 明. 我国转基因作物安全管理体系介绍、发展建议及生物技术舆论导向[J]. 植物生理学报, 2013, 49(7): 637-644.
- KANG Le, CHEN Ming. GMO biosafety management, suggestions and biotech public acceptance in China[J]. *Plant Physiology Journal*, 2013, 49(7): 637-644.
- [8] 张利娟, 高雪珂, 雒珺瑜, 等. 澳大利亚抗虫棉抗性风险治理策略[J]. 中国棉花, 2018, 45(3): 3-6, 43.
- ZHANG Li-juan, GAO Xue-ke, LUO Jun-yu, et al. Strategy for resistance risk management of Bt transgenic cotton in Australia[J]. *China Cotton*, 2018, 45(3): 3-6, 43.
- [9] Ferris H, Bongers T, Goede R. A framework for soil food web diagnostics: Extension of the nematode faunal analysis concept[J]. *Applied Soil Ecology*, 2001, 18(1): 13-29.
- [10] 陈小云, 刘满强, 胡 锋, 等. 根际微型土壤动物——原生动物和线虫的生态功能[J]. 生态学报, 2007, 27(8): 3132-3143.
- CHEN Xiao-yun, LIU Man-qiang, HU Feng, et al. Contributions of soil micro-fauna (protozoa and nematodes) to rhizosphere ecological functions[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(8): 3132-3143.
- [11] Crecchio C, Stotzy G. Biodegradation and insecticidal activity of the toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* bound on complexes of montmorillonite-humic acids-Al hydroxypolymers[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33(4): 573-581.
- [12] Neher D A. Role of nematodes in soil health and their use as indicators[J]. *Journal of Nematology*, 2001, 33(4): 161-168.
- [13] Fiscus D A, Neher D A. Distinguishing sensitivity of freeliving soil nematode genera to physical and chemical disturbances[J]. *Ecological Applications*, 2002, 12(2): 565-575.
- [14] Ferris H, Bongers T. Nematode indicators of organic enrichment[J]. *Journal of Nematology*, 2006, 38(1): 3-12.
- [15] 胡 锋, 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.
- HU Feng, 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.
- [16] Li X G, Liu B. A 2-year field study shows little evidence that the long-term planting of transgenic insect-resistant cotton affects the community structure of soil nematodes[J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): e61670.
- [17] 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* *CryIAb* Toxin[J]. *Plant and Soil*, 2005, 275(1/2): 135-146.
- [18] Griffiths B S, Sandra C, Jacqueline T, et al. Soil microbial and faunal community responses to maize and insecticide in two soils[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2006, 35(3): 734-741.
- [19] Gilbert N. A hard look at GM crops[J]. *Nature*, 2013, 497(7447): 24-26.
- [20] 吴孔明. 中国转基因作物的环境安全评估与风险管理[J]. 华中农业大学学报, 2014, 33(6): 112-114.
- WU Kong-ming. Environmental safety evaluation and risk management of GM crops in China[J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2014, 33(6): 112-114.
- [21] 冯志新. 植物线虫学[M]. 北京: 中国农业出版社. 2000: 29-70, 170-177.
- FENG Zhi-xing. Plant nematology[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 29-70, 170-177.
- [22] 谢 辉. 植物线虫分类学[M]. 二版. 北京: 高等教育出版社, 2005: 90-384.
- XIE Hui. Taxonomy of plant nematology[M]. 2nd Edition. Beijing: Higher Education Press, 2005: 90-384.
- [23] 尹文英, 胡圣豪, 沈韞芬. 中国土壤动物检索图鉴[M]. 北京: 科学出版社, 1998: 51-89.
- YI Wen-ying, HU Sheng-hao, SHEN Yun-fen. Pictorial keys to soil animals of China[M]. Beijing: Science Press, 1998: 51-89.
- [24] 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.
- [25] 邓绍欢, 叶成龙, 刘 婷, 等. 南方地区冷浸田土壤线虫的分布特征[J]. 土壤, 2015, 47(3): 564-571.
- DENG Shao-huan, YE Cheng-long, LIU Ting, et al. Distribution of soil nematodes in cold waterlogged paddy soil of southern region[J]. *Soils*, 2015, 47(3): 564-571.
- [26] 姜伟丽, 马小艳, 彭 军, 等. 转基因抗草甘膦抗虫棉田害虫群落多样性季节动态研究[J]. 棉花学报, 2014, 26(5): 105-112.
- JIANG Wei-li, MA Xiao-yan, PENG Jun, et al. Seasonal dynamics of diversity of insect communities in transgenic Glyphosate-insect-resistant cotton[J]. *Cotton Science*, 2014, 26(5): 105-112.
- [27] Mcpherson R M, Johnson W C, Mullinix B G, et al. Influence of herbicide tolerant soybean production systems on insect pest-induced crop damage[J]. *Journal Economic Entomology*, 2003, 96(3): 690-698.
- [28] 季香云, 徐雪亮, 蒋杰贤, 等. 转 Bt 基因水稻“赣绿 1 号”对田间节肢动物群落的影响[J]. 应用昆虫学报, 2014, 51(3): 827-833.
- JI Xiang-yun, XU Xue-liang, JIANG Jie-xian, et al. Impact of transgenic Bt rice “Ganly 1” on an arthropod community[J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2014, 51(3): 827-833.

- [29] 郭井菲, 张 聪, 袁志华, 等. 转 *cryIIe* 基因抗虫玉米对田间节肢动物群落多样性的影响[J]. 植物保护学报, 2014, 41(4):482-489.
GUO Jing-fei, ZHANG Cong, YUAN Zhi-hua, et al. Impacts of transgenic corn with *cryIIe* gene on arthropod biodiversity in the fields[J]. *Acta Phytophylacica Sinica*, 2014, 41(4):482-489.
- [30] 姜 莹, 王柏凤, 周 琳. 转 *EPSPS* 基因抗除草剂玉米‘CC-2’对土壤动物群落的短期影响[J]. 植物保护, 2017, 43(1):34-39, 45.
JIANG Ying, WANG Bai-feng, ZHOU Lin, et al. Impacts of transgenic herbicide-resistant maize with *EPSPS* gene on soil fauna community[J]. *Plant Protection*, 2017, 43(1):34-39, 45.
- [31] Čerevková A, Cagán L. Effect of transgenic insect-resistant maize to the community structure of soil nematodes in two field trials[J]. *Helminthologia*, 2015, 52(1):41-49.
- [32] Skoková Habuštová O, Svobodová Z, Spitzer L, et al. Communities of ground-dwelling arthropods in conventional and transgenic maize: Background data for the post-market environmental monitoring[J]. *Journal of Applied Entomology*, 2015, 139(1/2):31-45.
- [33] 宋 苗, 汪 海, 张 杰, 等. 转 *Bt cryIAh* 基因抗虫玉米对亚洲玉米螟、棉铃虫和黏虫的抗性评价[J]. 生物技术通报, 2016, 32(6):69-75.
SONG Miao, WANG Hai, ZHANG Jie, et al. Resistance evaluation of *Bt cryIAh*-transgenic maize to Asian corn bore, cotton bollworm and oriental armyworm[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2016, 32(6):69-75.
- [34] Chang L, Liu X H, Ge F. Effect of elevated O₃ associated with *Bt* cotton on the abundance, diversity and community structure of soil Collembola[J]. *Applied Soil Ecology*, 2011, 47(1):45-50.
- [35] 李 凡, 孙红炜, 杨淑珂, 等. 转植酸酶基因玉米对田间节肢动物群落多样性的影响[J]. 生物安全学报, 2014, 23(4):265-270.
LI Fan, SUN Hong-wei, YANG Shu-ke, et al. Effects of phytase transgenic maize on biodiversity of arthropod communities under field conditions[J]. *Journal of Biosafety*, 2014, 23(4):265-270.
- [36] Hilbeck A, Baumgartner M, Fried P M, et al. Effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on mortality and development time of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) [J]. *Environmental Entomology*, 1998, 27(2):480-487.
- [37] 任振涛, 沈文静, 刘 标, 等. 转基因玉米对田间节肢动物群落多样性的影响[J]. 中国农业科学, 2017, 50(12):2315-2325.
REN Zhen-tao, SHEN Wen-jing, LIU Biao, et al. Effects of transgenic maize on biodiversity of arthropod communities in the fields[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2017, 50(12):2315-2325.
- [38] Graef F, Zühart W, Hommel B, et al. Methodological scheme for designing the monitoring of genetically modified crops at the regional scale[J]. *Environmental Monitoring*, 2005, 111(1/2/3):1-26.
- [39] Sanvido O, Widmer F, Winzeler M, et al. A conceptual framework for the design of environmental post-market monitoring of genetically modified plants[J]. *Environment Biosafety Research*, 2005, 4(1):13-27.
- [40] Höss S, Nguyen H T, Menzel R, et al. Assessing the risk posed to free-living soil nematodes by a genetically modified maize expressing the insecticidal *Cry3Bb1* protein[J]. *Science of the Total Environment*, 2011, 409(13):2674-2684.
- [41] George T S, Richardson A E, Li S S, et al. Extracellular release of a heterologous phytase from roots of transgenic plants: Does manipulation of rhizosphere biochemistry impact microbial community structure? [J]. *Fems Microbiology Ecology*, 2009, 70(3):433-445.
- [42] Saxena D, Stotzky G. *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) toxin released from root exudates and biomass of *Bt*-corn has no apparent effect on earthworms, nematodes, protozoa, bacteria and fungi in soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33(9):1225-1230.
- [43] Manachini B, Lozzia G C. First investigations into the effects of *Bt* corn crop on Nematofauna[J]. *Bollettino di Zoologia Agraria e di Bachicoltura*, 2002, 34(1):85-96.
- [44] 郭维维, 赵宗潮, 苏 营, 等. 转植酸酶基因玉米种植对土壤线虫群落的影响[J]. 应用生态学报, 2014, 25(4):1107-1114.
GUO Wei-wei, ZHAO Zong-chao, SU Ying, et al. Effects of phytase transgenic corn planting on soil nematode community[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2014, 25(4):1107-1114.
- [45] Zwahlen C, Hilbeck A, Howald R, et al. Effects of transgenic *Bt* corn litter on the earthworm *Lumbricus terrestris*[J]. *Molecular Ecology*, 2003, 12(4):1077-1086.
- [46] 刘 微, 王树涛, 陈英旭, 等. 转 *Bt* 基因水稻根际土壤微生物多样性的磷脂脂肪酸 (PLFAs) 表征[J]. 应用生态学报, 2011, 22(3):727-733.
LIU Wei, WANG Shu-tao, CHEN Ying-xu, et al. Microbial diversity in rhizosphere soil of transgenic *Bt* rice based on the characterization of phospholipids fatty acids[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2011, 22(3):727-733.
- [47] Manachini B, Landi S, Flore M C, et al. First investigations on the effects of *Bt*-transgenic *Brassica napus* L. on the trophic structure of the nematofauna[J]. *IOBC-WPRS Bulletin*, 2004, 27(3):103-108.