

转基因水稻对土壤性质及土壤生物的影响*

谷荣辉, 成 功, 李建钦, 刘 博**
(中央民族大学 生命与环境科学学院, 北京 100081)

摘要: 土壤生态系统是整个生态系统中物质循环和能量转化的重要场所, 土壤生态系统的稳定直接关系到整个农业系统的稳定性。随着转基因技术发展与商业应用, 转基因水稻种植面积逐年扩大, 虽然带来了一定的经济效益, 但也引发了人们对转基因水稻生态安全和生物安全的思考, 包括对土壤生物存在的潜在危害以及对土壤生态系统的影响。根据国内外近年来对转基因水稻的最新研究, 本文综述了转基因水稻外源物质在土壤中的残留, 及其对土壤理化性质、土壤动物和土壤微生物的影响, 分析了转基因水稻对土壤生态系统的潜在风险。最后提出能更全面评价转基因水稻对土壤生态系统影响的建议。

关键词: 转基因水稻; 土壤生态系统; 生态安全; 生物安全

中图分类号: X 171 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004 - 390X (2014) 03 - 0448 - 10

Effects of Transgenic Rice on Properties and Soil Organisms

GU Ronghui, CHENG Gong, LI Jianqin, LIU Bo

(College of Life and Environmental Sciences, Minzu University of China, Beijing 100081, China)

Abstract: Soil-ecosystem has done much with material cycle and energy conversion in the ecological system, the stability of the soil ecosystem directly related to agricultural production. With the development of transgenic technology and the applications in commercialize, transgenic rice growing area has expanded each year. Although it may produce some economic benefits, the severely consideration of ecological safety and biosafety have been sparked, such as potential hazards of soil organisms and effects on soil ecosystem. Based on the latest research of transgenic rice in recent years at home and abroad, this article have reviewed exogenous substance from transgenic rice residues in soil, and its effect on soil properties, soil fauna and microbes, analyzed the potential risks of transgenic rice on soil ecosystem. Finally, a more comprehensive evaluation of transgenic rice on soil ecosystem effects suggestions has been put forward.

Key words: transgenic rice; soil-ecosystem; ecological safety; biosafety

自从 1983 年首次成功获得转基因植物——烟草^[1]之后, 人类对转基因植物研究的热情从未退却, 这也推动了转基因作物开发利用的迅猛发展。根据国际农业生物应用研究机构 (ISAAA) 的最

新报道^[2], 2012 年全球转基因作物已达到 1.703 亿 hm^2 。我国已成为转基因种植大国之一, 2012 年的种植面积为 400 万 hm^2 , 排名第六, 虽然目前我国转基因作物以转基因抗虫棉为主, 且没有

收稿日期: 2013 - 10 - 10 修回日期: 2013 - 12 - 18 网络出版时间: 2014 - 04 - 24 09:36

* 基金项目: 中央民族大学高等学校学科创新引智计划 (B08044)。

作者简介: 谷荣辉 (1987 -), 男, 湖南常宁人, 硕士研究生, 主要从事民族植物学和植物化学研究。
E-mail: guronghui0812@163.com

** 通信作者 Corresponding author: 刘博 (1984 -), 男, 内蒙古呼和浩特人, 博士, 讲师, 主要从事民族植物学研究。E-mail: liubo. leo@gmail.com

网络出版地址: http://www.cnki.net/kcms/detail/53.1044.S.20140425.1108.023.html

对转基因水稻进行商品化种植, 但随着科学研究的深化扩展, 转基因水稻的种植面积可能呈上升趋势, 特别是在2009年由华中农业大学研发的抗虫转基因水稻“华恢1号”和“Bt汕优63”获得农业转基因生物生产应用安全证书以后。

转基因水稻的大面积种植很可能对农田生态系统带来危害, 因此对其释放后的生态安全性评价就显得极为必要。按照风险评价的原则, 转基因生物导致的生态环境风险是其危害性和发生概率的函数, 即: $\text{风险}(\%) = \text{危害性} \times \text{暴露率}$ 。该公式中的危害性是指其对环境带来的实际危害或负面影响, 而暴露率则是指在特定时空环境条件下发生危害的可能性^[3]。目前普遍认同的转基因作物可能存在的风险主要包括: 靶标害虫的抗性风险; 对非靶标生物生长发育产生直接或间接影响; 外源基因逃逸的风险; 外源基因在生态系统中积累的风险; 转基因生物入侵改变物种多样性的风险等^[4]。近年来, 国内外很多科研工作者针对上述问题进行了相关研究^[3-8]。

土壤生态系统是整个生态系统的重要组成部分, 土壤为生态系统中的物质循环和能量流动提供了重要场所, 土壤生态系统的稳定与否直接关系到赖以生存的作物的生长和发育, 并最终影响到整个农业系统的稳定性。转基因水稻大面积推广种植, 使得收割前后的植株残体、植物根系分泌物和花粉等释放的外源物质不断进入土壤, 被土壤黏粒吸附而不易被微生物降解, 从而在土壤中大量累积, 改变根际土壤微生态环境, 打破植物、土壤及土壤生物三者间的平衡, 进而影响土壤生态系统的稳定。因此, 依据近年来国内外对转基因水稻的研究现状, 综述转基因水稻外源物质在土壤中的残留规律, 以及其对土壤理化性质、土壤动物和土壤微生物的影响特点, 分析转基因水稻对土壤生态系统的潜在风险, 可以为转基因水稻的安全性评价提供依据。

1 转基因水稻概况

水稻是重要的粮食作物, 全球约一半以上的人口以稻米为主食。水稻也是我国最大的粮食作物, 在我国农业生产中占有举足轻重的地位。但由于受到严重病虫害、各种环境因子(如干旱、耕地减少等)以及世界人口的不断增加, 水稻的

生产面临巨大挑战。针对这些挑战, ZHANG^[9]提出了培育绿色超级稻的设想, 围绕水稻抗病虫、抗旱、营养高效利用、优质、高产等五大重要性状, 对水稻品种进行全面改良以实现农业的可持续发展。转基因技术的发展, 为实现绿色超级稻的目标发挥了重要作用^[10]。转基因水稻的研究始于20世纪80年代, 迄今已有大量的报道。对转基因水稻的研究大部分集中在抗虫、抗病和抗除草剂的性状改良上, 主要研究成果见表1。

此外, 关于抗旱和优质高产的转基因也有报道, HOU等人^[43]报道的一个调控抗旱性的基因OsSKIPa。在水稻中超量表达OsSKIPa使转基因植株在成株期对于旱胁迫的耐受性比对照增强2~4倍。SHRAWAT等人^[44]在水稻的根中特异性表达大麦来源的丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, AlaAT), 使转基因水稻的生物学产量和谷粒产量相比于非转基因的对照均显著增加。将水仙花来源的八氢番茄红素合成酶(phytoene synthase)和细菌来源的八氢番茄红素去饱和酶(phytoene desaturase)导入到水稻中去, 在水稻胚乳中建立原本没有的 β -胡萝卜素的合成途径^[45], 培育出富含 β -胡萝卜素的黄金稻米。

尽管转基因水稻的研究, 能为农业生产的稳定和持续发展提供重要保障, 减轻世界人口对水稻需求的压力。但是其可能存在的生物安全风险也不容忽视, 在其进行商品化生产前, 非常有必要对可能存在的风险进行全面的评估。目前关于这方面的研究主要集中在转抗虫(Bt)基因水稻上, 因此本文主要以转Bt基因水稻为例进行综述。

2 转基因水稻外源物质在土壤中的存留规律

目前普遍认为转基因作物外源物质进入土壤的途径主要有2条: 一是通过转基因作物遗留在田间的植株残体及花粉向土壤中释放, 这是外源蛋白进入土壤的主要途径。二是通过转基因植物根系分泌物进入土壤。如秸秆还田的耕作方式为外源蛋白进入土壤提供了有利的条件^[46-55]。Bt蛋白通过根分泌作用而进入土壤, 已经在很多转基因作物(如Bt抗虫棉, 抗虫玉米等)的研究中有报道, 并且其在土壤中的含量各不相同^[5,7,47,56-57]。

表 1 不同抗虫、抗病和抗除草剂转基因水稻

Tab. 1 Different insect resistance, disease resistance and herbicide resistance of transgenic rice

类型 genres	表现型 (或基因型) phenotype (or genotype)	基因或蛋白质 gene or protein	主要作用 main effects	文献 literatures	
抗虫 insect resistant	转 Bt 基因水稻 Bt-transgenic rice	cry1Ab cry1Ac cry1Ab/Ac	对二化螟、三化螟和稻纵卷叶螟高度的杀虫活性 high-effective insecticidal activity on <i>chilo suppressalis</i> , <i>tryporyza incertulas</i> and <i>cnaphalocrocis medinalis</i>	[11 - 13] [11, 14 - 16] [17]	
		GNA①	刺吸式 (同翅目) 害虫 (如稻飞虱) piercing-sucking (homoptera) insect (such as planthoppers)	[18-20]	
	转植物或动物来源抗虫基因 trans-insect-resistant genes from plants or animals	ASAL② pin II③ CpTI④	褐飞虱和叶蝉, “tungro” 病害 brown planthopper and cicadellidae, ‘tungro’ disease	[21] [22] [23]	
		SKTI⑤ BTI-Cme⑥	褐飞虱、二化螟、稻纵卷叶螟以及线虫等有一定抗性 Having some resistance on brown planthopper, <i>chilo suppressalis</i> and <i>cnaphalocrocis medinalis</i>	[24] [25]	
		SpI⑦	二化螟、稻纵卷叶螟具有杀虫性 insecticidal activity on <i>chilo suppressalis</i> and <i>cnaphalocrocis medinalis</i>	[26]	
		抗细菌性病害 anti-bacterial disease	Xa21	抗白叶枯病 bacterial blight	[27]
		抗病 disease resistant	抗真菌性病害 anti-fungal disease	几丁质酶 chitinase	抗纹枯病 resistance to sheath blight 抗稻瘟病 resistance to rice blast
过表达 β -1, 3-葡聚糖酶 Overexpress β -1, 3-glucanase	抗稻瘟病 resistance to rice blast			[31]	
过量表达类甜蛋白 overexpress thaumatin-like protein	抗纹枯病 resistance to sheath blight			[32]	
harpin 蛋白⑧ harpin protein	抗稻瘟病 resistance to rice blast			[33]	
抗除草剂 herbicide resistance	草丁膦 (PPT) phosphinothricin (PPT)	Bar	抗草丁膦除草剂 resistance to phosphinothricin herbicide	[34 - 35]	
	草甘膦 glyphosate	EPSP	抗草甘膦除草剂 resistance to glyphosate herbicide	[36]	
	广谱除草剂 broad-spectrum herbicide	细胞色素 P450 和单 氧酶 cytochrome P450 and monooxygenase	抗广谱除草剂 resistance to broad-spectrum herbicide	[37 - 39]	
	除草剂 herbicide	原卟啉原氧化酶 protoporphyrinog-en oxidase	抗以原卟啉原氧化酶为靶标的除草剂 resistance to herbicide target on protoporphyrinog-en oxidase	[40 - 41]	
		乙酰乳酸合成酶 acetolactate synthetase	抗以乙酰乳酸合成酶为靶标的除草剂 resistance to herbicide target on acetolactate synthetase	[42]	

注: ①雪花莲凝集素基因; ②大蒜叶片凝集素; ③马铃薯蛋白酶抑制剂基因; ④豇豆胰蛋白酶抑制剂基因; ⑤大豆胰蛋白酶抑制剂基因; ⑥大麦胰蛋白酶抑制剂基因; ⑦蜘蛛来源的杀虫基因; ⑧白叶枯菌来源的蛋白激发子。

Note: ① *Galanthus Nivalis* agglutinin (GNA) gene; ② *Allium sativum* agglutinin from leaf, (ASAL); ③ potato protease inhibitor gene (pin II); ④ cowpea trypsin inhibitor gene (CpTI); ⑤ soybean trypsin inhibitor gene (SKTI); ⑥ barley trypsin inhibitor gene (BTI-Cme); ⑦ the spider source of insecticidal genes (SpI); ⑧ bacterial leaf blight fungus sources of protein elicitor.

WANG 等^[58]通过3年的田间和水培实验, 利用酶联免疫反应的方法, 研究了两个转 Bt 水稻“明恢 63”和“汕优 63”中释放的 Cry1Ab/1Ac 蛋白在土壤中的积累和转移变化。研究发现在水稻生长期, 种植转 Bt 基因水稻的稻田水中能检测到 Cry1Ab/1Ac 蛋白, 而种植非 Bt 水稻稻田水中未检测到该蛋白, 并且在转 Bt 水稻根际土壤中该蛋白的含量达到 1.49 ng/g, 明显高于非 Bt 水稻根际土壤中基本水平。盆栽种植实验结果也证明了转 Bt 基因水稻能通过根系分泌物向土壤中输入杀虫晶体蛋白, 而且不同生长期的含量不同^[49,51-52,54,59]。另外, 王洪兴等^[60]在实验室条件下将转 Bt 基因水稻秸秆埋入土壤后发现在其降解过程中, Bt 毒蛋白浓度在前两周迅速下降, 随后降解速度变慢, 17~53 d 期间 Bt 浓度基本维持在 6.728~6.196 ng/g 的水平^[61-62], 说明了转基因外源物质可以通过植物残体进入土壤, 而且其导入量明显大于根系分泌的导入量, 这也验证了转基因作物植株残体向土壤中释放外源物, 这是外源物进入土壤的主要途径。也有报道 Cry1Ab 蛋白在转 Bt 水稻整个生长过程中, 会在根际土壤中积累^[63]。

3 转基因水稻对土壤理化性质的影响特点

土壤是植物生长发育的主要载体, 土壤理化性质是评价土壤质量的重要指标^[64]。土壤的理化性质一般分为土壤物理性质和土壤化学性质, 土壤物理性质包括土壤 pH 值, 含水率, 电导率等; 土壤化学性质则包括土壤中各元素的含量(其中最主要是 N, P, K 这三大养分)和土壤酶性质^[65]。根际是植物与土壤最直接的相作区域, 土壤中很多难溶的养分元素, 可通过植物根系分泌物的作用转化为有效养分。当外源基因插入后, 转基因植物根系分泌物的化学组分和含量极有可能发生变化^[66], 从而对土壤理化性质如团聚体的大小和分布、pH、阳离子交换量及吸附性能产生影响^[50,52,54]。另外, 转基因植物在农艺性状和化学成分等方面与亲本非转基因植物之间也会存在较大甚至显著差异^[55,67-69], 这些差异可能会使植物组织在土壤中的自然降解、土壤有机质含量等方面发生变化, 从而影响土壤理化性质^[50,52,54]。

有研究表明, 与非转基因亲本相比, 克螟稻(转 Bt 水稻)根系分泌物中有机酸(主要为酒石

酸)的含量显著降低^[70], 导致作物根系土壤 pH 值升高, 进而影响对酸性 pH 值敏感的微生物调控过程(如硝化作用)的速率和土壤营养元素的释放^[52,54]。此外, 种植转 Bt 基因水稻后, 土壤酶活性发生了显著变化, 且变化幅度与土壤酶的类型以及转 Bt 基因水稻所处的生长发育的阶段有关^[59]; 与非转基因对照组相比, 转 Bt 基因水稻种植 15 d, 土壤脲酶活性降低了 2.47%, 土壤酸性磷酸酶活性提高了 8.91%, 土壤芳基硫酸酯酶活性有所下降, 而脱氢酶活性有所增加, 但差异不显著^[49,53,55,59,69]。吴伟祥等^[71-74]相继报道了水淹条件下转 Bt 基因水稻(克螟稻)秸秆还田对土壤酶活性的影响, 其研究结果表明, 与同期的亲本水稻秸秆相比, 孕穗期和成熟期克螟稻秸秆对磷酸酶活性的影响不大, 但对脱氢酶活性的影响非常显著, 并且存在差异; 而在非水淹条件下, 克螟稻秸秆还田对土壤蛋白酶、中性磷酸酶、脲酶活性和土壤呼吸强度虽然没有显著性影响, 但在培养过程中前 63 d 内土壤脱氢酶活性明显高于对照处理, 之后两种秸秆处理间的土壤脱氢酶活性差异逐渐消失^[49]。也有一些文献报道, 转基因水稻对土壤理化性质没有明显影响。LIU 等^[75]报道, 在整个生长过程中, 转基因水稻植株对根际土壤酶活性和微生物组成没有影响。WEI 等^[76]利用 DGGE 法, 通过分析了转 Bt 基因和非转基因水稻生长发育各时期的土样, 结果表明, 转基因水稻对土壤脱氢酶、蔗糖酶、多酚氧化酶、酸性磷酸酶、脲酶以及酵素均没有显著性影响。从以上的这些研究结果可以看出, 转基因水稻对土壤理化性质的影响还没有确切性的结论, 这也体现了转基因水稻对土壤理化性质影响的复杂性以及对这方面风险评价的必要性。

4 转基因水稻对土壤动物的影响特点

土壤动物是土壤生态系统的重要成员, 扮演着土壤物质循环、提高土壤肥力、改善土壤理化性质、维护土壤生物群落的角色, 同时也在土壤质量评价、污染监测、污染土壤的生物修复等方面发挥着重要作用。然而, 转基因作物向土壤中产生的外源物质(如 Bt 蛋白)很容易与土壤活性颗粒集合, 在土壤中持续保留^[77], 并且 Bt 毒素能够从非靶标物种传递到更高营养级生物^[78], 因而可能对土壤动物产生毒害, 进而影响土壤生

态系统的稳定。吴刚^[79]等以“华恢 1 号”为实验材料,研究了转 Bt 基因水稻对土壤跳虫、线虫和螨类种群数量的影响,结果表明,转 Bt 基因水稻可显著降低长角跳科长角跳属跳虫、中杆属线虫和尖棱甲螨科尖棱甲螨属螨类种群数量,能显著增加等节跳科原等属跳虫、钩唇属线虫种群数量,而对其他属的跳虫、线虫和螨类种群数量无显著影响。戚琳^[80]等通过研究转基因水稻 HH1, T2A-1, T1C-19 对土壤微生物学性质及线虫数量群落组成和生态指标的影响,指出不同转 Bt 水稻品种对土壤线虫数量营养类群组成、植物寄生线虫成熟度指数均没有显著影响;而转 Bt 水稻 T2A-1 和 HH1 结构指数 SI 均显著增加,这些结果表明,转 Bt 水稻对土壤生态系统结构和功能在短期内有显著影响。BAI 等^[81]进行了大田和实验室评价后,揭示转 Bt 水稻对弹尾目昆虫及其天敌没有负面影响。从目前的研究结果可以看出,转 Bt 水稻对土壤动物的影响可能存在选择性,不同类型的土壤动物所受影响各异。

5 转基因水稻对土壤微生物的影响特点

土壤微生物是维持土壤生物功能的重要组成部分,参与有机质分解、腐殖质形成、养分转化和循环等多种土壤生化过程。微生物功能和群落结构的变化是土壤环境评价不可缺少的重要生物学指标^[49]。ANGLE 曾强调转基因作物风险评价的重点是土壤微生物,因为它们是检测土壤生物种群变化的最敏感指标^[82-84]。当土壤中的生物体通过捕食、竞争或共生等相互影响,使敏感生物的快速反应达到一定程度后,会引起其他生物物的连锁反应,从而影响整个土壤生态系统^[69,82-83]。目前最常用于土壤微生物多样性和生态学的技术主要有:变性梯度凝胶电泳(denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE)^[6,85]、扩增性核糖体 DNA 限制酶切片分析(amplified ribosomal DNA restriction analysis, ARDRA)^[86]和末端限制性酶切片长度多态性(terminal restriction fragment length polymorphism, T-RFLP)^[87]。这些技术和方法的采用,使得在土壤微生物多样性、微生物种群的结构和功能、土壤微生物与污染土壤的相互作用及影响等多领域的研究上得以突破,为评价转基因作物对土壤微生物的影响提供了有力的技术支撑。

近年来,转基因水稻对土壤微生物的影响常见报道。陈晓雯等^[88]通过 PCR-DGGE 和 Biolog 技术分析了转 Bt 基因水稻对土壤微生物群落结构及功能的影响,结果表明,在水稻不同生育期,转 Bt 基因水稻与其对照对土壤细菌数量、土壤微生物遗传多样性及功能多样性的影响存在一定差异,但这种差异并不持久。GLANDORF 等^[89]研究发现,由于抗真菌和细菌蛋白会残留在根际土壤中,腐生型土壤细菌的数量会受到影响,导致转 Bt 基因作物在一定程度上改变土壤微生物的群落构成、微生物数量及其活性^[49]。王洪兴等^[60]研究了转 Bt 基因水稻秸秆降解对土壤真菌和细菌所产生的影响,结果表明转 Bt 基因水稻秸秆降解会显著增加这两种菌类,而会显著降低放线菌和反硝化细菌活性。此外,还有研究表明转 Bt 基因水稻秸秆对水田土壤反硝化细菌和产甲烷细菌种群的抑制作用显著,对厌氧发酵细菌种群具有明显的刺激作用,但对厌氧固氮细菌种群的刺激作用却低于显著水平^[90]。转基因作物之所以会对特定微生物产生显著影响,可能是因为转基因植株的生理生化特性以及表达产物化学和生物学特性的改变而造成的^[91-93]。

有些研究表明,转基因水稻对土壤微生物没有影响或影响不显著。CHUN 等^[94]通过 T-RFLP 的方法对原卟啉氧化酶抑制剂类除草剂转基因水稻(PPO-transgenic rice)有关细菌和真菌群体进行了评价,研究发现在转基因稻和非转基因稻间并未发现存在微生物群落组成和多样性指数差异,从而表明转基因作物对稻田土壤微生物群落没有负面影响。吕新等^[95]研究表明外源抗真菌基因的导入对水稻根际土壤中真菌群落数量和群落结构均没有明显影响。也有报道虽然转 Bt 水稻对微生物没有负面影响,但是对土壤真菌群落的组成有显著差异,意味着转 Bt 水稻对非靶标微生物有潜在的影响^[75,96-97]。

6 结语

土壤是生态系统中物质循环和能量流动的主要载体,为农业生产提供了最原始的生产资料。随着转基因技术的快速发展,转基因水稻的研究虽取得了巨大的进步,获得了一大批抗虫、抗病、抗除草剂和优质高产的品种,但由于种植面积的不不断扩大,转基因水稻的外源表达产物能够通过

植物残体和根系分泌物进入土壤生态系统中, 可能影响生态系统的稳定性。近年来国内外也有很多转基因水稻对土壤生态系统的影响的相关的报道, 因此本文从转基因水稻外源物质在土壤中的存留规律, 以及对土壤理化性质、土壤动物和土壤微生物的影响特点等方面进行了综述。结果发现, 转基因水稻对土壤生态系统是否会产生显著影响仍没有确切定论。产生这种现象的可能原因有: (1) 转入水稻的基因有所不同, 不同的外源基因所表达的外源产物可能对土壤生态系统的影响各异; (2) 现有研究的条件不同, 有的在实验室条件下而有的在大田环境下, 这也可能导致不同的结果; (3) 转基因水稻不同时期表现的特征存在差异, 从而出现不同的研究结果。

综上所述, 今后研究转基因水稻对土壤生态系统影响时, 应该长期跟踪和监测转基因水稻释放在土壤中的外源物质的存留和积累规律, 根据《农业转基因生物安全评价管理程序》, 一般要监测3~6年; 扩大土壤理化性质的研究范围, 这些理化性质还应该包括土壤结构、持水性、侵蚀性以及盐碱化等方面。进而更为全面的评价转基因水稻对土壤理化性质的影响; 转基因水稻对土壤生物的影响方面, 对土壤微生物进行的长期定位研究, 对土壤动物进行生殖毒理学研究, 通常需要检测4代。只有通过这样全方位、系统化的评价转基因水稻对土壤生态系统的影响, 才可能使转基因水稻对其负面影响减少到最低限度

[参考文献]

- [1] HORSCH R B, FRALEY R T, ROGERS S G, et al. Inheritance of functional foreign genes in plants [J]. *Science*, 1984, 223 (4635): 496-498.
- [2] ISAAA. Global status of commercialized biotech/GM crop: 2012 [R/OL]. [2013-10-10]. <http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/44/executivesummary/>
- [3] 卢宝荣, 傅强, 沈志成. 我国转基因水稻商品化应用的潜在环境生物安全问题 [J]. *生物多样性*, 2008, 16 (5): 426-436.
- [4] 薛达元. 转基因生物安全与管理 [M]. 北京: 科学出版社, 2009: 86-89.
- [5] SAXENA D, FLORES S, STOTZKY G. Bt toxin is released in root exudates from 12 transgenic corn hybrids representing three transformation events [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34 (1): 133-137.
- [6] GELSOMINO A, CACCO G. Compositional shifts of bacterial groups in a solarized and amended soil as determined by denaturing gradient gel electrophoresis [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38 (1): 91-102.
- [7] ICOZ I, STOTZKY G. Fate and effects of insect-resistant Bt crops in soil ecosystems [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40 (3): 559-586.
- [8] 袁一杨, 戈峰. 转 Bt 基因作物对非靶标土壤动物的影响 [J]. *应用生态学报*, 2010, 21 (5): 1339-1345.
- [9] ZHANG Q F. Strategies for developing Green Super Rice [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104 (42): 16402-16409.
- [10] CHEN H, LIN Y J, ZHANG Q F. Review and prospect of transgenic rice research [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2009, 54 (22): 4049-4068.
- [11] CHENG X, SARDANA R, KAPLAN H, et al. Agrobacterium-transformed rice plants expressing synthetic cryIA (b) and cryIA (c) genes are highly toxic to striped stem borer and yellow stem borer [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1998, 95 (6): 2767-2772.
- [12] ALAM M F, DATTA K, ABRIGO E, et al. Transgenic insect-resistant maintainer line (IR68899B) for improvement of hybrid rice [J]. *Plant Cell Reports*, 1999, 18 (7/8): 572-575.
- [13] WU G, CUI H, YE G, et al. Inheritance and expression of the cry1Ab gene in Bt (*Bacillus thuringiensis*) transgenic rice [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2002, 104 (4): 727-734.
- [14] NAYAK P, BASU D, DAS S, et al. Transgenic elite indica rice plants expressing CryIAc delta-endotoxin of *Bacillus thuringiensis* are resistant against yellow stem borer (*Scirpophaga incertulas*) [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1997, 94 (6): 2111-2116.
- [15] THI LOC N, TINJUANGJUN P, GATEHOUSE A R, et al. Linear transgene constructs lacking vector backbone sequences generate transgenic rice plants which accumulate higher levels of proteins conferring insect resistance [J]. *Molecular Breeding*, 2002, 9 (4): 231-244.
- [16] 曾千春, 吴茜, 周开达, 等. 修饰的 cry1Ac 基因导入水稻明恢 81 获得抗虫纯合系 [J]. *遗传学报*, 2002, 29 (6): 519-524.
- [17] RAMESH S, NAGADHARA D, PASALU I C, et al.

- Development of stem borer resistant transgenic parental lines involved in the production of hybrid rice [J]. *Journal of Biotechnology*, 2004, 111 (2): 131–141.
- [18] 孙小芬, 唐克轩, 万丙良, 等. 表达雪花莲凝集素 (GNA) 的转基因水稻纯系抗褐飞虱 [J]. *科学通报*, 2001, 46 (13): 1108–1113.
- [19] NAGADHARA D, RAMESH S, PASALU I C, et al. Transgenic indica rice resistant to sap-sucking insects [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2003, 1 (3): 231–240.
- [20] NAGADHARA D, RAMESH S, PASALU I C, et al. Transgenic rice plants expressing the snowdrop lectin gene (gna) exhibit high-level resistance to the white-backed planthopper (*Sogatella furcifera*) [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 109 (7): 1399–1405.
- [21] SAHA P, MAJUMDER P, DUTTA I, et al. Transgenic rice expressing *Allium sativum* leaf lectin with enhanced resistance against sap-sucking insect pests [J]. *Planta*, 2006, 223 (6): 1329–1343.
- [22] DUAN X, LI X, XUE Q, et al. Transgenic rice plants harboring an introduced potato proteinase inhibitor II gene are insect resistant [J]. *Nature Biotechnology*, 1996, 14 (4): 494–498.
- [23] XU D P, XUE Q, MCELROY D, et al. Constitutive expression of a cowpea trypsin inhibitor gene, CpTi, in transgenic rice plants confers resistance to two major rice insect pests [J]. *Molecular Breeding*, 1996, 2 (2): 167–173.
- [24] IN LEE S, LEE S H, CHOON KOO J, et al. Soybean kunitz trypsin inhibitor (SKTI) confers resistance to the brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stål) in transgenic rice [J]. *Molecular Breeding*, 1999, 5 (1): 1–9.
- [25] ALFONSO-RUBÍ J, ORTEGO F, CASTAÑERA P, et al. Transgenic expression of trypsin inhibitor CMe from barley in *indica* and *japonica* rice, confers resistance to the rice weevil *Sitophilus oryzae* [J]. *Transgenic Research*, 2003, 12 (1): 23–31.
- [26] HUANG J Q, WEL Z M, AN H L, et al. Agrobacterium tumefaciens-mediated transformation of rice with the spider insecticidal gene conferring resistance to leafhopper and striped stem borer [J]. *Cell Research*, 2001, 11 (2): 149–155.
- [27] ZHANG S P, SONG W Y, CHEN L L, et al. Transgenic elite India a rice varieties, resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* [J]. *Molecular Breeding: New Strategies in Plant Improvement*, 1998, 4: 551–558.
- [28] DATTA K, BAISAKH N, MAUNG THET K, et al. Pyramiding transgenes for multiple resistance in rice against bacterial blight, yellow stem borer and sheath blight [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2002, 106 (1): 1–8.
- [29] NANDAKUMAR R, BABU S, KALPANA K, et al. Agrobacterium-mediated transformation of indica rice with chitinase gene for enhanced sheath blight resistance [J]. *Biologia Plantarum*, 2007, 51 (1): 142–148.
- [30] NISHIZAWA Y, NISHIO Z, NAKAZONO K, et al. Enhanced resistance to blast (*Magnaporthe grisea*) in transgenic Japonica rice by constitutive expression of rice chitinase [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1999, 99 (3/4): 383–390.
- [31] NISHIZAWA Y, SARUTA M, NAKAZONO K, et al. Characterization of transgenic rice plants over-expressing the stress-inducible beta-glucanase gene Gns1 [J]. *Plant Molecular Biology*, 2003, 51 (1): 143–152.
- [32] DATTA K, VELAZHAHAN R, OLIVA N, et al. Over-expression of the cloned rice thaumatin-like protein (PR-5) gene in transgenic rice plants enhances environmental friendly resistance to *Rhizoctonia solani* causing sheath blight disease [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1999, 98 (6/7): 1138–1145.
- [33] SHAO M, WANG J H, DEAN R A, et al. Expression of a harpin-encoding gene in rice confers durable non-specific resistance to *Magnaporthe grisea* [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2008, 6 (1): 73–81.
- [34] OARD J H, LINScombe S D, BRAVERMAN M P, et al. Development, field evaluation, and agronomic performance of transgenic herbicide resistant rice [J]. *Molecular Breeding*, 1996, 2 (4): 359–368.
- [35] 朱冰, 黄大年, 杨炜, 等. 利用基因枪法获得可遗传的抗除草剂转基因水稻植株 [J]. *中国农业科学*, 1996, 29 (6): 16–21.
- [36] 胡利华, 吴慧敏, 周泽民, 等. 利用农杆菌介导法将柠檬酸合成酶基因 (CS) 导入籼稻品种明恢 86 [J]. *分子植物育种*, 2006, 4 (2): 160–166.
- [37] KAWAHIGASHI H, HIROSE S, INUI H, et al. Enhanced herbicide cross-tolerance in transgenic rice plants co-expressing human CYP1A1, CYP2B6, and CYP2C19 [J]. *Plant Science*, 2005, 168 (3): 773–781.
- [38] KAWAHIGASHI H, HIROSE S, OHKAWA H, et al. Phytoremediation of the herbicides atrazine and metolachlor by transgenic rice plants expressing human

- CYP1A1, CYP2B 6, and CYP2C19 [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54 (8): 2985 - 2991.
- [39] KAWAHIGASHI H, HIROSE S, OHKAWA H, et al. Herbicide resistance of transgenic rice plants expressing human CYP1A1 [J]. *Biotechnology Advances*, 2007, 25 (1): 75 - 84.
- [40] JUNG S, BACK K. Herbicidal and antioxidant responses of transgenic rice overexpressing *Myxococcus xanthus* protoporphyrinogen oxidase [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2005, 43 (5): 423 - 430.
- [41] JUNG S, LEE Y, YANG K, et al. Dual targeting of *Myxococcus xanthus* protoporphyrinogen oxidase into chloroplasts and mitochondria and high level oxyfluorfen resistance [J]. *Plant Cell and Environment*, 2004, 27 (11): 1436 - 1446.
- [42] ENDO M, OSAKABE K, ONO K, et al. Molecular breeding of a novel herbicide-tolerant rice by gene targeting [J]. *Plant Journal*, 2007, 52 (1): 157 - 166.
- [43] KANNEGANTI V, GUPTA A K. Overexpression of OsSAP8, a member of stress associated protein (SAP) gene family of rice confers tolerance to salt, drought and cold stress in transgenic tobacco and rice [J]. *Plant Molecular Biology*, 2008, 66 (5): 445 - 462.
- [44] SHRAWAT A K, CARROLL R T, DEPAUW M, et al. Genetic engineering of improved Nitrogen use efficiency in rice by the tissue-specific expression of alanine aminotransferase [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2008, 6 (7): 722 - 732.
- [45] PAINE J A, SHIPTON C A, CHAGGAR S, et al. Improving the nutritional value of golden rice through increased pro-vitamin A content [J]. *Nature Biotechnology*, 2005, 23: 482 - 487.
- [46] TAPP H, STOTZKY G. Persistence of the insecticidal toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* in soil [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1998, 30 (4): 471 - 476.
- [47] BAUMGARTE S, TEBBE C C. 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 [J]. *Molecular Ecology*, 2005, 14 (8): 2539 - 2551.
- [48] ZWAHLEN C, HILBECK A, GUGERLI P, et al. Degradation of the cry1Ab protein within transgenic bacillus thuringiensis corn tissue in the field [J]. *Molecular Ecology*, 2003, 12 (3): 765 - 775.
- [49] 李俊生, 关潇, 吴刚, 等. 转基因作物对土壤生态系统影响的研究概况 [J]. *湖北植保*, 2012, 6 (6): 50 - 53.
- [50] 李孝刚, 刘标, 韩正敏, 等. 转基因植物对土壤生态系统的影响 [J]. *安徽农业科学*, 2008, 36 (5): 1957 - 1960.
- [51] 王文君. 转抗虫基因杨树对土壤微生物影响及分子检测 [D]. 南京: 南京林业大学, 2009.
- [52] 李孝刚. 转基因抗虫棉对土壤生态系统影响的研究 [D]. 南京: 南京林业大学, 2011.
- [53] 郭文文, 李建勇, 诸葛玉平, 等. 转基因作物对土壤生态安全的影响 [J]. *山东农业科学*, 2009 (10): 86 - 90.
- [54] 李孝刚. 转基因抗虫棉对土壤生物影响的研究 [D]. 南京: 南京林业大学, 2008.
- [55] 郭文文. 转基因番茄对土壤生物学性质及养分吸收的影响 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2010.
- [56] RUI Y K, YI G X, ZHAO J, et al. Changes of Bt toxin in the rhizosphere of transgenic Bt cotton and its influence on soil functional bacteria [J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2005, 21 (6/7): 1279 - 1284.
- [57] PERSISTENCE S G, STOTZKY G. Persistence and biological activity in soil of the insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis*. Especially from transgenic plants [J]. *Plant and Soil*, 2004, 266: 77 - 89.
- [58] WANG Y M, HU H W, HUANG J C, et al. Determination of the movement and persistence of Cry1Ab/1Ac protein released from Bt transgenic rice under field and hydroponic conditions [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 58: 107 - 114.
- [59] 孙彩霞, 陈利军, 武志杰, 等. 种植转 Bt 基因水稻对土壤酶活性的影响 [J]. *应用生态学报*, 2003, 14 (12): 2261 - 2264.
- [60] 王洪兴, 陈欣, 唐建军, 等. 转 Bt 基因水稻秸秆降解对土壤微生物可培养类群的影响 [J]. *生态学报*, 2004, 24 (1): 89 - 94.
- [61] 唐影, 李世东, 缪作清. 转基因作物对土壤微生物的影响 [J]. *中国生物防治*, 2007, 23 (4): 383 - 390.
- [62] 唐影. 转基因抗虫棉对根区土壤细菌多样性影响的初步研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2007.
- [63] WANG H Y, YE Q F, WANG W, et al. Cry1Ab protein from Bt transgenic rice does not residue in rhizosphere soil [J]. *Environmental Pollution*, 2006, 143 (3): 449 - 455.
- [64] JIAO Y M, YANG L P. The fractal characteristics of Hani terrace in Ailao Mountain [J]. *Acta Ecologica*

- Sinica, 2007, 27 (11): 4583 – 4589.
- [65] FU Y, ZHUANG L, WANG Z K, et al. On the physical chemical and soil microbial properties of soils in the habitat of wild *Ferula* in Xinjiang [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32 (10): 3279 – 3287.
- [66] DONG G K, SEIDLER R J, FIELAND V J, et al. Decomposition of genetically engineered tobacco under field condition: Persistence of the proteinase inhibitor I product and effects on soil microbial respiration and protozoa, nematode and microarthropod populations [J]. *Journal of Applied Ecology*, 1997, 34: 767 – 777.
- [67] ESHER N, KACH B, NENTWIG W. Decomposition of transgenic *Bacillus thuringiensis* maize by microorganisms and woodlice *Porcello scaber* (Crustacea: Isopoda) [J]. *Basic and Applied Ecology*, 2000, 1 (2): 161 – 169.
- [68] MASOERO F, MOSCHINI M, ROSSI F, et al. Nutritive value, myco-toxin contamination and invitrorumen fermentation of normal and genetically modified corn (cryIA (b)) grown in northern Italy [J]. *Maydica*, 1999, 44: 205 – 209.
- [69] 冷春龙. 转基因抗虫棉对土壤肥力质量的影响 [D]. 南京: 南京林业大学, 2007.
- [70] 王忠华. 转 Bt 基因水稻对土壤微生态系统的潜在影响 [J]. *应用生态学报*, 2005, 16 (12): 2469 – 2472.
- [71] 吴伟祥, 叶庆富, 闵航. 不同生长期转 Bt 基因水稻秸秆还土对淹水土壤酶活性的影响 [J]. *生态学报*, 2003, 23 (11): 2353 – 2358.
- [72] 吴伟祥, 叶庆富, 闵航, 等. 克螟稻秸秆 cry1Ab 基因表达产物对土壤生物学活性的影响 [J]. *土壤学报*, 2003, 40 (4): 606 – 612.
- [73] WEI X W, QING F Y, HANG M, et al. Bt-transgenic rice straw affects the culturable microbiota and dehydrogenase and phosphatase activities in a flooded paddy soil [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36 (2): 289 – 295.
- [74] WU W X, YE Q F, MIN H. Effect of straws from Bt-transgenic rice on selected biological activities in water-flooded soil [J]. *European Journal of Soil Biology*, 2004, 40 (1): 15 – 22.
- [75] LIU W, LU H H, WU W W, et al. Transgenic Bt rice does not affect enzyme activities and microbial composition in the rhizosphere during crop development [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2008, 40 (2): 475 – 486.
- [76] WEI M, TAN F, ZHU H, et al. Impact of Bt-transgenic rice (SHK601) on soil ecosystems in the rhizosphere during crop development [J]. *Plant Soil and Environment*, 2012, 58 (5): 217 – 223.
- [77] SIMS S R, REAM J E. Soil inactivation of the *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* CryIIA insecticidal protein within transgenic cotton tissue: Laboratory microcosm and field studies [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1997, 45 (4): 1502 – 1505.
- [78] OBRIST L B, DUTTON A, ALBAJES R, et al. Exposure of arthropod predators to CryIAb toxin in Bt maize fields [J]. *Ecological Entomology*, 2006, 31 (2): 143 – 154.
- [79] 吴刚, 李俊生, 肖能文, 等. 转 Bt 基因水稻对土壤跳虫、线虫和螨类种群数量的影响 [J]. *湖北植保*, 2012 (5): 6 – 9, 11.
- [80] 戚琳, 陈法军, 刘满强, 等. 三种转 Bt 水稻短期种植对土壤微生物生物量和线虫群落的影响 [J]. *生态学杂志*, 2013, 32 (4): 975 – 980.
- [81] BAI Y Y, YAN R H, YE G Y, et al. Effects of transgenic rice expressing *Bacillus thuringiensis* CryIAb protein on ground-dwelling collembolan community in post-harvest seasons [J]. *Environmental Entomology*, 2010, 39 (1): 243 – 251.
- [82] ANGLE J S. Release of transgenic plants: Biodiversity and population-level considerations [J]. *Molecular Ecology*, 1994, 3 (1): 45 – 50.
- [83] 傅云霞. 转 SrMV-P₁ 基因甘蔗的土壤环境安全性研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2008.
- [84] 曹阳. 转 DREB3 基因抗旱大豆对土壤微生物的影响 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2011.
- [85] SHARMA S, SZELE Z, SCHILLING R, et al. Influence of freeze-thaw stress on the structure and function of microbial communities and denitrifying populations in soil [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72 (3): 2148 – 2154.
- [86] STEVEN B, BRIGGS G, MCKAY C P, et al. Characterization of the microbial diversity in a permafrost sample from the Canadian high Arctic using culture-dependent and culture-independent methods [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2007, 59 (2): 513 – 523.
- [87] LUKOW T, DUNFIELD P F, LIESACK W. Use of the T-RFLP technique to assess spatial and temporal changes in the bacterial community structure within an agricultural soil planted with transgenic and non-transgenic potato plants [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2000, 32 (3): 241 – 247.
- [88] 陈晓雯, 林胜, 尤民生, 等. 转基因水稻对土壤微

- 生物群落结构及功能的影响 [J]. 生物安全学报, 2011, 20 (2): 151 - 159.
- [89] GLANDORF D C M, BAKKER P, VAN LOON L C, et al. Influence of the production of antibacterial and antifungal proteins by transgenic plants on the saprophytic soil microflora [J]. Acta Botanica Neerlandica, 1997, 46 (1): 85 - 104.
- [90] 徐晓宇, 叶庆富, 吴伟祥, 等. 转 Bt 基因“克螟稻” 秸秆还田对稻田厌氧微生物种群和酶活性的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 2004, 10 (1): 63 - 67.
- [91] MELNITCHOUCK A, LEINWEBER P, BROER I, et al. Pyrolysis-field ionization mass spectrometry of rhizodeposits-a new approach to identify potential effects of genetically modified plants on soil organisms [J]. Environmental Biosafety Research, 2006, 5 (1): 37 - 46.
- [92] MACGREGOR A N, TURNER M A. Soil effects of transgenic agriculture: Biological processes and ecological consequences [J]. NZ Soil News, 2000, 48 (6): 166 - 169.
- [93] KREMER R J, MEANS N E, KIM S J. Glyphosate affects soybean root exudation and rhizosphere microorganisms [J]. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 2005, 85 (15): 1165 - 1174.
- [94] CHUN Y J, KIM H J, PARK K W, et al. Two-year field study shows little evidence that PPO-transgenic rice affects the structure of soil microbial communities [J]. Biology and Fertility of Soils, 2012, 48 (4): 453 - 461.
- [95] 吕新, 陈丽华, 刘兰英, 等. 抗真菌转基因水稻根际土壤真菌群落结构的动态变化 [J]. 中国生态农业学报, 2012, 20 (10): 1340 - 1346.
- [96] LU H H, WU W X, CHEN Y X, et al. Soil microbial community responses to Bt transgenic rice residue decomposition in a paddy field [J]. Journal of Soils and Sediments, 2010, 10 (8): 1598 - 1605.
- [97] LU H H, WU W X, CHEN Y X, et al. Decomposition of Bt transgenic rice residues and response of soil microbial community in rapeseed-rice cropping system [J]. Plant and Soil, 2010, 336 (1/2): 279 - 290.