

Bt 抗虫棉秸秆还田对土壤养分特征的影响

张富丽^{1,2*}, 尹全^{1,2}, 王东^{1,2}, 杨晓凤^{1,2}, 刘文娟^{1,2}, 郭灵安^{1,2}, 雷绍荣^{1,2}, 宋君^{1,2}, 罗苹^{1,2}

¹四川省农业科学院分析测试中心, 四川成都 610066;

²四川省农业科学院质量标准与检测技术研究所, 四川成都 610066

摘要:【目的】研究转基因作物秸秆或残茬还田可能对土壤养分特性造成的影响。【方法】以不同抗虫水平 *Bt* 棉花和常规棉花(泗棉 3 号)为研究材料,分别在经过一、二个生长周期后将秸秆机械粉碎后原位还田,40 d 后测定分析土壤中 *Bt* 蛋白含量及肥力相关的养分含量变化。【结果】*Bt* 棉秸秆还田后,所有品种棉花土壤中 *Bt* 蛋白含量与还田前无显著增加,且转 *Bt* 基因棉与非转基因棉还田对土壤 *Bt* 蛋白含量的影响并无显著差异。同时,棉秸秆还田可显著提高土壤有机质、速效磷、碱解氮、速效钾、全氮、全磷和全钾含量,提升土壤 pH 值;增加幅度在不同抗虫水平 *Bt* 棉花间及与非转基因常规棉花品种间皆无显著性差异。【结论】秸秆还田对土壤肥力的提升与 *Bt* 棉的抗虫水平无关。“转 *Bt* 基因”不成为 *Bt* 棉秸秆还田提高土壤肥力的限制性因素,其秸秆还田不会对土壤肥力质量产生负面影响,可使土壤养分含量增加,有效提升土壤肥力。秸秆原位还田简单、无害又提升肥力,有条件作为转 *Bt* 基因植物秸秆无害化处理的理想方式。

关键词: *Bt* 棉; 秸秆还田; 土壤肥力; 灰色关联分析



开放科学标识码
(OSID 码)

Effects of returning *Bt* cotton straw on soil nutrient characteristics

ZHANG Fuli^{1,2*}, YIN Quan^{1,2}, WANG Dong^{1,2}, YANG Xiaofeng^{1,2}, LIU Wenjuan^{1,2},
GUO Ling'an^{1,2}, LEI Shaorong^{1,2}, SONG Jun^{1,2}, LUO Ping^{1,2}

¹Analysis and Determination Center, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu, Sichuan 610066, China; ²Institute of Quality Standard and Testing Technology Research, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu, Sichuan 610066, China

Abstract:【Aim】To study the impact of returning residues of genetically modified crops to soil on fertility characters.【Method】Several *Bt* cotton varieties with different resistance to insect and non-transgenic conventional cotton (Simian no. 3) were used as research materials in this study. All the plants were mechanically smashed and returned in site after one or two growth cycles. 40 days later, *Bt* protein content and the nutrient contents in soil were detected and analyzed to reveal the effects of *Bt* cotton straw returning on the soil fertility characters.【Result】The results showed that straw returning would not distinctly result in the increasing of *Bt* protein contents in soil for all cotton species. And moreover, there was no significant difference between *Bt* transgenic cottons and non-transgenic cotton in content variation of soil *Bt* protein. The amount of organic matter, available phosphorus, alkali-hydrolyzed nitrogen, available potassium, total nitrogen, total phosphorus and total potassium can be significantly increased by cotton straw mulching, and the soil pH value can be improved too. No significant differences in change scope were found between *Bt* cotton and non-transgenic cotton. The above results are further confirmed by the grey relation analysis, and the effect of straw returning on soil fertility was not related to the insect resistance of *Bt* cotton.【Conclusion】The improvement of soil fertility by straw mulching had nothing to do with the insect resistance of *Bt* cotton. "*Bt* gene" does not become a restrictive factor for *Bt* cotton straw returning to improve soil fertility. The soil fertility quality was not adversely affected by the straw returning. Instead, it can increase soil nutrient content and effectively improve soil fertility. In sum, straw returning is so simple and harmless that could be used as a potential optimal choice for transgenic plants disposal.

Key words: *Bt* cotton; straw returning; fertilizer characteristics; grey relation analysis

收稿日期(Received): 2019-11-12 接受日期(Accepted): 2019-12-21

基金项目: 四川省创新能力提升工程论文基金项目(2016LWJJ-010); 四川省创新能力提升工程公益深化项目(2016GYSH-032)

作者简介: 张富丽, 女, 副研究员。研究方向: 转基因成分检测与环境影响评价分析

* 通信作者(Author for correspondence), E-mail: zhang_fannie@163.com

全球转基因作物种植面积在逐年扩大 (James, 2017)。目前对于外源转基因在受体生物遗传背景下的环境安全风险尚无准确预测和评估,大面积种植转基因作物的潜在环境安全性问题一直备受关注 (卢宝荣, 2013, 2014), 其中转基因秸秆的利用及其风险也是一个重要的科学命题。

植物秸秆中含有大量的新鲜有机物料, 是一种重要的生物质资源 (潘剑玲等, 2013)。还田可避免秸秆焚烧引发的负面效应, 是秸秆回收利用的一种重要方式 (赵其国和钱海燕, 2009)。理论上, 秸秆经过机械粉碎后还田可有效破坏植株活体生命力, 避免基因逃逸, 同时还可转化成有机质和速效养分, 提升土地肥力, 是转基因植物秸秆处理的理想途径选择。然而, 转 *Bt* 基因植物秸秆直接还田将导致 *Bt* 杀虫晶体蛋白直接暴发式进入土壤生态系统中。研究认为, 土壤中大量 *Bt* 蛋白滞留可能会导致土壤特异生物类群和生物多样性发生改变 (张美俊等, 2014), 进而引发一系列土壤生态过程变化, 最终影响土壤养分含量和肥力 (颜世磊等, 2011; 张占等, 2014; Tang *et al.*, 2014)。据报道, *Bt* 作物持续种植可能导致土壤中酶活性和微生物数量显著降低 (Chen *et al.*, 2011), *Bt* 基因作物种植或还田亦可能提高土壤细菌、真菌数量 (Donegan *et al.*, 1995; Wartrud *et al.*, 1998; Tang *et al.*, 2014)。但也有研究表明, *Bt* 蛋白释放到土壤后对土壤微生物类群 (叶慧香等, 2015; Donegan *et al.*, 1996; Fang *et al.*, 2012)、微生物多样性 (Zhou *et al.*, 2016)、土壤酶活性 (Fang *et al.*, 2012) 及养分含量 (曾萍等, 2014; 张美俊和杨武德, 2008) 的影响不明显。由此可见, 研究对象、方法不同, 得到的结论不同, 不

同转基因作物、不同外源基因的表达蛋白在土壤中的行为与归趋亦不尽相同 (张燕飞等, 2011)。因此, 有必要根据具体条件进行研究和评价。

本文拟通过研究转 *Bt* 棉秸秆还田后土壤养分含量的变化, 了解和掌握 *Bt* 蛋白置入后对土壤肥力特性的影响, 同时也为明确秸秆还田作为大规模转基因植物秸秆无害化处理措施的可靠性和科学性提供数据参考。本文以几种不同抗性水平的转 *Bt* 基因棉花品种和 1 个非转基因棉花常规品种为研究材料, 连续 2 年跟踪测试植株残茬 (秸秆) 机械粉碎并原位还田后土壤养分含量的变化, 从土壤肥力营养学的角度诠释 *Bt* 蛋白暴发式释放对土壤养分特性的影响, 为转 *Bt* 基因棉的环境生态风险评价和管理提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验中所用的鄂抗虫棉 1 号 (GK19)、棉种 183 (C20160032)、棉种 184 (C20160033)、棉种 202 (C20160053)、棉种 206 (C20160058)、棉种 212 (C20160064)、棉种 214 (C20160066)、棉种 221 (C20160073)、棉种 222 (C20160074)、棉种 228 (C20160097) 均为转 *Bt* 基因抗虫棉, 来自不同棉种研究单位, 不具有亲缘关系。泗棉 3 号 (Simian3) 为非转基因棉品种。以上材料均由农业部科技发展中心提供。GK19 为商业化种植转基因抗虫棉品种, 其余 9 个转基因抗虫棉品系截至试验结束还未进入商业化, 为保护商业机密, 文中采用自编号表示。研究材料相关信息见表 1, 相关指标数据由原农业部转基因植物环境安全监督检验测试中心 (成都) 提供。

表 1 研究材料相关信息
Table 1 Some informations about the test materials

| 材料编号 Material No. | 档案编号 File Locator | 代码 Code | 苗期叶片 <i>Bt</i> 蛋白表达量 Bt protein in seeding leaves/(mg · kg ⁻¹) | 生测抗性级别 Insect resistibility |
|----------------------|----------------------|------------|---|--------------------------------|
| 棉种 202 | C20160053 | H | ≥1400 | 高抗 High resistance |
| 棉种 206 | C20160058 | H | | |
| 棉种 212 | C20160064 | H | | |
| 棉种 183 | C20160032 | M | 680~1000 | 中抗 Middle resistance |
| 棉种 221 | C20160073 | M | | |
| 棉种 222 | C20160074 | M | | |
| 棉种 184 | C20160033 | L | 250~350 | 抗 Low resistance |
| 棉种 214 | C20160066 | L | | |
| 棉种 228 | C20160097 | L | | |
| 鄂抗虫棉 1 号 | GK19 | Cp | 220~300 | 抗 Low resistance |
| 泗棉 3 号 | Simian3 | Cn | 20~40 | - |

1.2 田间种植管理

试验地点位于四川省农业科学院植物高新技术试验基地(彭州市濠阳镇)。该基地位于中国四川盆地西部的成都平原,气候湿润,雨量充沛,长期作为转基因抗虫棉的安全评价检测工作的试验基地。土壤为龙门山冲积土,肥力水平中等、均匀,前茬作物为非转基因玉米常规品种。试验中按照转基因植物环境安全相关条例规定设置围墙、保护带和相应隔离设施。每年 4 月下旬播种,试验小区采用单因素随机区组设计,每个品种种植 3 个重复,每个小区 30 m²(5 m×6 m),宽窄行种植(窄行+宽行:0.3 m+0.7 m),株距 0.3~0.4 m,每个小区植株定植约 100 株。常规田间水肥管理。于棉花结铃盛期后,将棉花植株整株原位机械粉碎后,将碎渣就地翻耕覆于棉花植株所在小区的土层中。

1.3 土壤样品采集和处理

在棉花种植前茬收割后将田块闲置并采集一次土壤样品;次年再分别于 2016 年 9 月中旬及 2017 年 9 月中旬待棉花秸秆还田 40 d 后采集土壤样品。将棉花种植出苗开始到棉花秸秆还田截止称为 1 个生长周期(one growth cycle)。次年重复,为 2 个生长周期(two growth cycles)。每个小区采用五点取样法进行取样。采样前清理干净地上植物和地表残渣,用内径 5 cm 的土钻采集 0~20 cm 耕作层土壤。将同一个小区中 5 个取样点同一土层的土样混合后,采用四分法缩分,保留约 1 kg 土样作为一个样品,然后一分为二,平行分装成一式两份,保鲜袋密封,随即放冷藏保温箱中,迅速带回实验室登记编号,一份送四川省农业科学院土壤肥料测试中心进行肥力质量相关指标测定,一份由本中心低温保存备用用于土壤中 Bt 蛋白含量测定。

1.4 土壤肥力测定

土壤样品送四川省农业科学院土壤肥料测试中心,参照行业相关标准测定肥力养分指标的相关因子:土壤水分含量、pH 值,有机质、全氮、全磷、全钾、碱解氮、有效磷、速效钾含量。

1.5 土壤中 Bt 蛋白含量的测定

将土壤样品研磨均匀后充分混合,称取 1 g,加入 10 mL 0.01 mol·L⁻¹磷酸盐缓冲液(PBS,pH7.2~7.4)进行匀浆振动混匀。4 ℃,3000 r·min⁻¹离心 20 min,取上清,于 4 ℃低温保存备用。

采用 EnviroLogix Cry1Ab/Cry1Ac 检测试剂盒

(EnviroLogix Inc, USA)对土壤样品中 Bt 蛋白含量进行测定。将标准蛋白稀释成 1.00、0.80、0.64、0.46、0.28、0.10 ng·mL⁻¹ 6 个浓度梯度建立标准曲线。分别取 50 μL 标准液和待测样品按操作指南进行处理和检测。吸光值测定方法同上。插值法计算土壤样品中单位鲜物质质量 Bt 蛋白的含量。每个待测样品设 2 个平行孔,其平行孔测定值均值作为该样品测定值。

1.6 数据处理

每个品种样品 3 个重复,平均值作为该品种样本的测定值。棉种 202、棉种 206、棉种 212 的各参数测定值均值作为高抗品种的测定值。棉种 183、棉种 221、棉种 222 的各参数测定值均值作为中抗品种的测定值。棉种 184、棉种 214、棉种 228 的各参数测定值均值作为低抗品种的测定值。商业化抗虫棉品种 GK19 及非转基因棉品种 3 个小区重复测定值平均值作为该样本的测定值。根据各个样品水分含量,将土壤酶活性的测定值换算为干基含量。数据初级计算以及灰色关联分析(grey relation analysis, GRA)、层次分析过程采用 Excel 2010 软件完成,利用 SPSS 13.0 软件对样品数据进行描述性分析、多重比较、相关性分析等数据处理和统计分析。采用 GraphPad Prism 5 进行数据统计分析和图形绘制。

参考王维等(2018)和胡瑞文等(2018)的方法,采用灰色关联分析方法对秸秆还田后土壤肥力质量变化进行评价分析。将土壤环境系统视为一个灰色系统,选取有机质、全氮、全磷、全钾、速效氮、速效磷和速效钾作为肥力参评因子。采用层次分析法(analytic hierarchy process, AHP)(Jiang *et al.*, 2012)确定本研究中各土壤肥力评价指标权重 W_k ,即各个肥力因子对土壤肥力的重要性和贡献。土壤肥力评价关键环节是确定比较数列和参考数列。取各肥力指标最佳值组合为参考数列,其中全氮、全钾、有效磷、碱解氮取最大测定值的数值上限,全磷、有机质和速效钾的最佳值参照土壤适宜性评价指标分级标准上限值(Li *et al.*, 2018)。以各肥力指标的实测值组合为比较数列。对比较数列和参考数列进行无量纲化处理,计算参考数列和比较数列之间的差序列。根据公式(1)求取关联系数:

$$\zeta_i(k) = \frac{\min \min |x_0(k) - x_i(k)| + \rho \max \max |x_0(k) - x_i(k)|}{\min |x_0(k) - x_i(k)| + \rho \max \max |x_0(k) - x_i(k)|}, \quad (1)$$

式中 $\min |x_0(k) - x_i(k)|$ 为二级最小差, $\max |x_0(k) - x_i(k)|$ 为二级最大差。ρ 为分辨系数, 取值 0.5。

最后采用加乘法计算各评价指标(比较序列)与参考序列对应元素的加权关联系数之和, 得出各样品土壤肥力与秸秆还田前肥力最差的水平的关联度。计算公式为(2):

$$r_{0i} = \frac{1}{m} \sum_{k=1}^m W_k \cdot \zeta_i(k) \quad (1, \dots, m), \quad (2)$$

式中 W_k 为各指标的权重。

按照灰色关联分析原理, 与土壤最优肥力参比关联度越大, 表明该数列与参考数列愈接近, 其土壤肥力越高; 相反, 关联度越小, 其土壤肥力越低。

2 结果与分析

2.1 转 Bt 基因抗虫棉秸秆还田后土壤中 Bt 蛋白含量的变化特征分析

本研究中, 在测定土壤 Bt 蛋白时, 均得到线性关系良好的标准曲线 ($R^2 > 0.99$)。在棉花种植前所有土壤中 Bt 蛋白检测值均值为 $(0.87 \pm 0.22) \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。分别经过 1、2 个生长周期后, 在各小区的土壤样品中 Bt 蛋白检测值均值分别为 (1.21 ± 0.25) 、 $(1.22 \pm 0.07) \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 甚至转基因棉品种还田土壤检测值还低于非转基因棉品种。

采用单因素方差分析法——Tukey 多重比较 ($P < 0.05$) 分析比较 H、M、L、Cp 土壤中 Bt 蛋白检测值与 Cn 检测值, 发现所有转 Bt 基因抗虫棉小区土壤中 Bt 蛋白含量与常规非转基因棉之间无显著差异(图 1)。结果表明, 不论经过 1 个生长周期还是 2 个生长周期后, 转 Bt 基因抗虫棉秸秆还田并未造成土壤中 Bt 蛋白含量的显著增加, 且转 Bt 基因棉与非转基因棉还田对土壤 Bt 蛋白含量的贡献无显著差异。

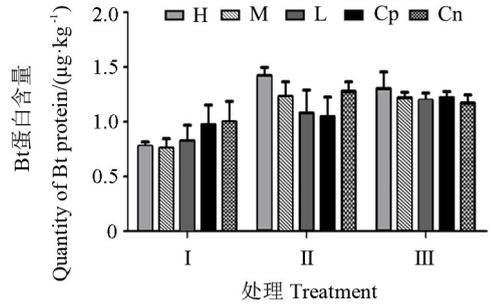


图 1 土壤中 Bt 蛋白摄入情况分析

Fig.1 Analysis on the detected amount of Bt proteins in soil

I : 土壤初始背景值; II : 1 个生长周期后; III : 2 个生长周期后。
I : Original; II : One growth cycle later; III : Two growth cycles later.

2.2 转 Bt 基因棉花秸秆还田对土壤养分含量的影响

在转 Bt 基因棉结铃盛期将秸秆机械粉碎后原位还田, 连续 2 年定位试验, 并对土壤养分含量进行统计分析, 结果表明, 棉花秸秆原位还田使土壤耕作层中全氮、全磷、全钾、有机质、有效磷、速效钾和碱解氮含量提高, 测定值较秸秆还田前皆显著增加, 且 1、2 个生长周期后均有不同程度增幅(表 2)。试验地土质本身为弱酸性, pH 值为 6.02 ~ 6.81。棉花秸秆原位还田后土壤 pH 值有不同程度的提升, 部分地块土壤 pH 值达 7.00 以上。

采用 Tukey 多重比较 ($P < 0.05$) 的方法对土壤肥力各养分含量变化值分析, 在经过 1、2 个生长周期后, 无论是 H、M、L、Cp 几种不同抗虫性水平的转 Bt 基因棉种间, 还是转 Bt 基因棉花与非转基因棉花品种(泗棉 3 号)之间, 秸秆原位还田后其土壤有机质、碱解氮、有效磷、有效钾以及全氮、全磷、全钾等肥力养分含量变化幅度均无显著差异(图 2)。以上结果表明, 秸秆还田可使土壤肥力显著增加, 且在转基因品种与非转基因品种间无显著差异。由此可见, 转 Bt 基因棉秸秆还田不会导致土壤肥力相关因子的负面性改变, 也不会改变秸秆还田提升土壤肥力的效能。

表 2 转 Bt 基因棉花秸秆还田对土壤肥力质量的影响

Table 2 The effect of Bt transgenic cotton straw returning on the soil fertility quality

| 抗虫性 Insect-resistibility | 全氮含量 Total nitrogen/(g · kg ⁻¹) | | | 全磷含量 Total phosphorus/(g · kg ⁻¹) | | |
|-----------------------------|---|---------------------------------|----------------------------------|---|---------------------------------|----------------------------------|
| | 基数值 Initial value | 1 个生长期后 One life cycle later | 2 个生长期后 Two life cycles later | 基数值 Initial value | 1 个生长期后 One life cycle later | 2 个生长期后 Two life cycles later |
| | H | 1.02±0.04a | 1.20±0.03b | 1.30±0.07c | 0.59±0.03a | 0.69±0.02bc |
| M | 1.05±0.05a | 1.19±0.04bc | 1.26±0.01c | 0.59±0.01a | 0.72±0.03bc | 0.75±0.03c |
| L | 1.07±0.02a | 1.22±0.06b | 1.36±0.05c | 0.65±0.02a | 0.72±0.02bc | 0.76±0.01c |
| Cp | 0.99±0.06a | 1.13±0.09b | 1.36±0.08c | 0.68±0.05a | 0.75±0.02bc | 0.79±0.02c |
| Cn | 0.97±0.01a | 1.08±0.05b | 1.23±0.09c | 0.60±0.09a | 0.69±0.08b | 0.78±0.01c |

续表 2

| 抗虫性 Insect- resistibility | 全钾含量 Content of total potassium/(g · kg ⁻¹) | | | 有机质含量 Content of organic matter/(g · kg ⁻¹) | | |
|---------------------------------|---|------------------------------------|-------------------------------------|---|------------------------------------|-------------------------------------|
| | 基数值 Initial value | 1 个生长期后 One life cycle later | 2 个生长期后 Two life cycles later | 基数值 Initial value | 1 个生长期后 One life cycle later | 2 个生长期后 Two life cycles later |
| H | 14.44±0.82a | 16.19±0.36b | 19.78±0.12c | 17.40±0.85a | 21.98±1.27b | 30.93±0.41c |
| M | 14.73±0.71a | 16.26±0.46b | 20.01±0.50c | 16.51±1.82a | 22.12±1.55b | 29.19±0.44c |
| L | 15.25±0.10a | 16.13±0.13b | 20.14±0.23c | 18.34±1.75a | 21.93±1.36b | 30.10±0.93c |
| Cp | 14.90±0.74a | 16.56±0.03b | 20.50±0.16c | 18.69±2.17a | 23.02±0.94b | 29.14±0.56c |
| Cn | 14.80±0.91a | 17.04±0.57b | 19.92±0.34c | 18.18±0.55a | 22.29±1.11b | 29.67±1.03c |

| 抗虫性 Insect- resistibility | 有效磷含量 Content of available phosphate/(mg · kg ⁻¹) | | | 速效钾含量 Content of available potassium/(mg · kg ⁻¹) | | |
|---------------------------------|---|------------------------------------|-------------------------------------|---|------------------------------------|-------------------------------------|
| | 基数值 Initial value | 1 个生长期后 One life cycle later | 2 个生长期后 Two life cycles later | 基数值 Initial value | 1 个生长期后 One life cycle later | 2 个生长期后 Two life cycles later |
| H | 11.25±4.35a | 56.03±7.29b | 82.95±1.25c | 52.50±6.50a | 101.48±7.27b | 140.68±6.66c |
| M | 3.25±0.95a | 52.47±2.49b | 83.90±3.12c | 58.50±5.50a | 97.88±11.62b | 139.59±9.92c |
| L | 10.00±0.80a | 58.01±1.38b | 80.95±1.85c | 57.00±1.00a | 96.86±8.65b | 126.18±3.24c |
| Cp | 10.55±7.25a | 51.04±1.00b | 86.49±0.26c | 87.00±12.00a | 110.25±5.89b | 148.91±1.04c |
| Cn | 10.42±7.08a | 53.12±1.65b | 76.75±0.39c | 62.08±0.35a | 97.68±1.46b | 128.49±7.96c |

| 抗虫性 Insect- resistibility | 碱解氮含量 Content of alkali-hydrolyzale nitrogen/(mg · kg ⁻¹) | | | pH 值 pH value | | |
|---------------------------------|---|------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|
| | 基数值 Initial value | 1 个生长期后 One life cycle later | 2 个生长期后 Two life cycles later | 基数值 Initial value | 1 个生长期后 One life cycle later | 2 个生长期后 Two life cycles later |
| H | 111.03±6.05a | 125.81±5.94bc | 135.07±5.10c | 6.56±0.08a | 6.81±0.12ac | 7.02±0.04bc |
| M | 103.36±2.95a | 118.94±5.33b | 131.78±2.56c | 6.13±0.05a | 6.28±0.15ac | 6.52±0.17bc |
| L | 107.17±4.27a | 122.78±1.59bc | 131.01±1.99c | 5.93±0.15a | 6.37±0.11b | 6.80±0.19c |
| Cp | 103.29±10.14a | 116.68±12.61b | 132.94±5.82c | 5.65±0.09a | 6.08±0.09b | 6.55±0.31c |
| Cn | 98.33±0.55a | 110.17±2.68b | 123.32±6.30c | 5.65±0.09a | 6.02±0.30b | 6.62±0.18c |

同列数据(平均值±标准误)后不同小写字母者表示在 5%水平上差异显著。

The data (means±SD) in the same column with the different letters mean significant differences at 5% level.

2.3 转 *Bt* 基因棉花秸秆还田对土壤养分含量影响与其抗虫性的相关性分析

对土壤养分含量变化与棉花抗虫性水平相关性进行分析,不论经过 1 个生长周期还是 2 个生长周期,棉花秸秆还田后,土壤中全氮、全钾、有机质、有效磷、速效钾、碱解氮等养分含量的变化与棉花抗虫性水平皆无显著相关。换言之,土壤养分含量的变化仅源于植株残体中大量生源物质补充进入到土壤,而与还田的棉品种是否为转 *Bt* 基因棉及其抗虫性为高、中、低哪种水平都无确切统计学关系。

2.4 转 *Bt* 基因棉花秸秆还田对土壤肥力质量影响的综合分析

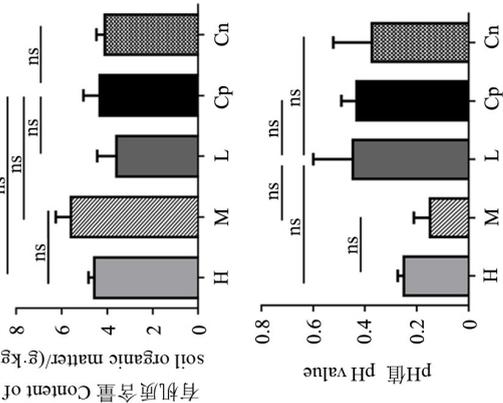
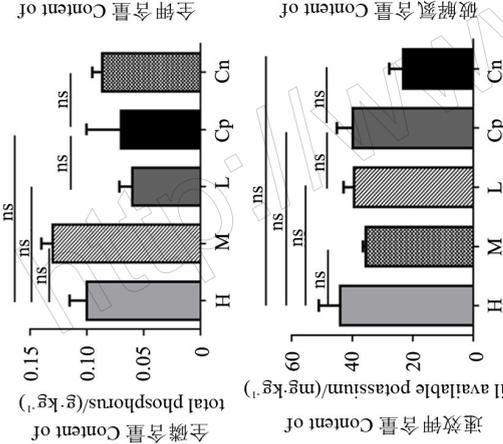
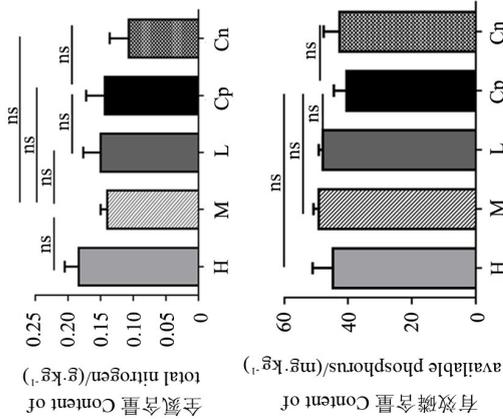
采用层次分析法得到有机质、碱解氮、速效磷、速效钾、全氮、全磷、全钾的权重 W_k 分别为: 0.3165、0.1999、0.1273、0.0851、0.1999、0.0418、0.0296。经过一致性检验,其层次总排序的一致性

指标 CI 为 0.0693,与随机一致性指标 RI 比率 CR = 0.0525 < 0.10,通过一致性检验,判断矩阵合理,得到的权向量值可信。

按公式(1)得到 H、M、L、Cp、Cn 所在小区土壤各肥力参数关联系数。按公式(2)得到各抗性级别棉种所在试验小区的土壤肥力分别在秸秆还田前、经过 1、2 年生长期 3 个不同时间点与土壤优质水平的肥力参考序列的关联度,继而将各小区关联度的平均值作为该次土壤样本综合关联度。通过比较分析各阶段综合关联度之间的差异,评价秸秆还田对土壤肥力质量的影响。结果表明,在秸秆还田前、经过 1、2 年生长期秸秆还田后的 3 个不同时间点与参考序列的综合关联度分别为 0.528、0.626 和 0.781,采用加权关联度排序,秸秆还田前 < 经过一年生长期秸秆还田 < 2 年生长期秸秆还田,三者之间综合关联度在 P < 0.01 水平上具极显著差异(表 3)。

不同抗虫性棉花 *Different insect-resistant cotton varieties*

A



B

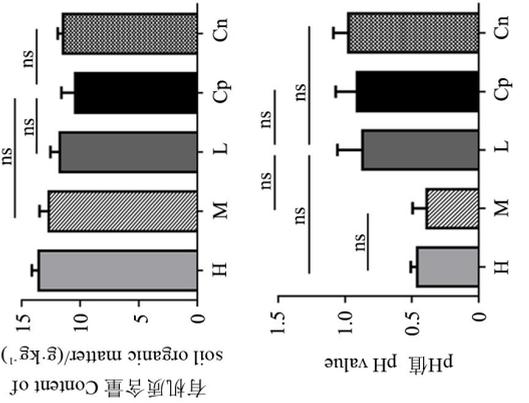
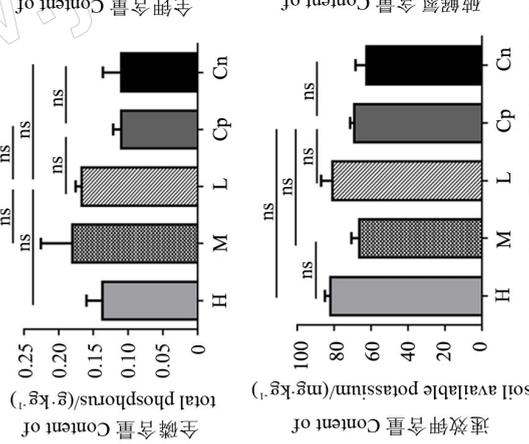
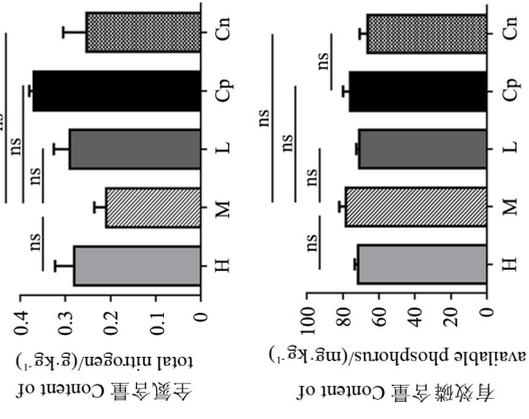


图 2 转 *Bt* 基因棉花抗虫性与其秸秆还田后土壤肥力变化的关系
A: 经过 1 个生长周期后; B: 经过 2 个生长周期后; ns: 无显著性差异。

A: One growth cycle later; B: Two growth cycles later; ns: Not significant.

表 3 土壤肥力质量变化综合关联分析
Table 3 Grey relational total analysis of soil fertility

| 项目 Items | 抗性 Resis- tance | 关联系数 Correlation coefficient | | | | | | | 综合关联度 Integrated relating degree | 平均值 Mean | 与种植前土壤肥 力关联度差值 Correlation difference |
|-------------|-----------------------|------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---|---|-------------|--|
| | | 全氮 Total nitrogen | 全磷 Total phosphoru | 全钾 Total potassium | 有机质 Organic matter | 有效磷 Available phosphate | 速效钾 Available potassium | 碱解氮 Alkali- hydrolyzale nitrogen | | | |
| I | H | 0.621 | 0.513 | 0.609 | 0.462 | 0.357 | 0.423 | 0.703 | 0.532±0.004 | 0.528A | / |
| | M | 0.640 | 0.510 | 0.620 | 0.452 | 0.335 | 0.438 | 0.650 | 0.521±0.009 | | / |
| | L | 0.649 | 0.545 | 0.639 | 0.472 | 0.353 | 0.434 | 0.675 | 0.538±0.003 | | / |
| | Cp | 0.604 | 0.556 | 0.626 | 0.477 | 0.355 | 0.528 | 0.653 | 0.534±0.016 | | / |
| | Cn | 0.595 | 0.517 | 0.623 | 0.470 | 0.355 | 0.447 | 0.620 | 0.515±0.005 | | / |
| II | H | 0.741 | 0.567 | 0.679 | 0.518 | 0.566 | 0.585 | 0.830 | 0.644±0.006 | 0.626B | 0.112±0.008a |
| | M | 0.732 | 0.583 | 0.683 | 0.520 | 0.538 | 0.571 | 0.765 | 0.626±0.014 | | 0.105±0.006a |
| | L | 0.756 | 0.581 | 0.677 | 0.517 | 0.577 | 0.565 | 0.798 | 0.640±0.011 | | 0.102±0.008a |
| | Cp | 0.691 | 0.600 | 0.696 | 0.533 | 0.528 | 0.628 | 0.754 | 0.624±0.011 | | 0.090±0.011a |
| | Cn | 0.654 | 0.565 | 0.721 | 0.522 | 0.542 | 0.567 | 0.695 | 0.599±0.004 | | 0.084±0.003a |
| III | H | 0.826 | 0.592 | 0.893 | 0.680 | 0.861 | 0.843 | 0.935 | 0.800±0.019 | 0.781C | 0.268±0.015a |
| | M | 0.790 | 0.606 | 0.913 | 0.641 | 0.880 | 0.837 | 0.893 | 0.775±0.021 | | 0.254±0.018a |
| | L | 0.889 | 0.611 | 0.923 | 0.661 | 0.829 | 0.723 | 0.883 | 0.783±0.017 | | 0.246±0.017a |
| | Cp | 0.888 | 0.628 | 0.954 | 0.640 | 0.926 | 0.925 | 0.910 | 0.813±0.016 | | 0.279±0.007a |
| | Cn | 0.762 | 0.626 | 0.905 | 0.651 | 0.767 | 0.742 | 0.806 | 0.733±0.032 | | 0.218±0.031a |

I: 秸秆还田前; II: 1 个生长期后; III: 2 个生长期后; 平均值列不同大写字母表示差异显著 ($P < 0.001$); 关联度差列相同小写字母表示无显著差异 ($P < 0.05$)。

I: Before straw returning; II: One growth cycle later; III: Two growth cycles later. Different capital letters in the same row for the mean value meant significant difference at 0.001 level. Same lower case in the same row for value difference of the grey comprehensive relationship degree meant no significant difference at 0.05 level.

分析 H、M、L、Cp 几种不同抗虫性的 *Bt* 棉及编号为 Cn 的非转基因棉花品种 (Simian 3) 秸秆还田后较之前土壤肥力综合关联度的变化, 结果表明, 土壤肥力综合关联度的变化在几种不同抗虫性的棉品种间无显著差异 (表 3), 该结果与之前的相关性分析结果一致。因此, *Bt* 棉秸秆还田对土壤肥力的影响与非转基因棉品种一样, 可使土壤肥力得到提升, 与其抗虫性水平无关。

3 讨论与结论

3.1 转 *Bt* 基因棉秸秆还田后外源 *Bt* 蛋白在土壤中残留特性

研究结果表明, 秸秆还田后土壤中 *Bt* 蛋白含量较之前未有显著增加, 且在转基因棉与非转基因棉间无显著差异。由此可见, *Bt* 蛋白在土壤中可快速降解, 在 *Bt* 基因棉还田 40 d 后土壤中 *Bt* 蛋白已快速分解至较低水平。该结果与王建武等 (2009)、曾萍等 (2014) 对 *Bt* 玉米秸秆研究结果基本一致。但目前对于转 *Bt* 基因棉秸秆还田后 *Bt* 蛋白降解的机制和规律, 以及是否与特定地域特性有关等问题还未完全清楚, 转基因棉秸秆还田后对土壤肥力质量的影响未显示与非转基因棉间的差异是否缘于

Bt 蛋白在土壤中快速降解, 而对土壤微生物群体结构及土壤生态系统平衡未产生不利影响, 有待进一步研究。

3.2 “转 *Bt* 基因”不成为 *Bt* 棉秸秆还田提高土壤肥力的限制性因素

本文采用 4 种不同遗传背景、不同抗性水平的转 *Bt* 棉品种及非转基因棉为研究对象, 以排除单一遗传背景的影响, 保证研究结果代表性。通过连续 2 年对转 *Bt* 基因棉秸秆还田后的土壤肥力监测, 直观地体现 *Bt* 作物秸秆还田对土壤养分特性的影响。结果表明, 秸秆还田后有机质、速效氮、速效磷、速效钾、全氮、全磷的含量都显著升高。通过关联度分析发现, 秸秆还田后土壤肥力逐年增加。且不同抗虫性转 *Bt* 基因棉间以及与非转基因棉间皆不具显著性差异。由此可见, 秸秆还田后土壤肥力的提升与棉花抗性水平无关, *Bt* 作物秸秆还田不会导致土壤肥力相关因子的负面性改变, 相反还可有效提高土壤肥力。因此, “转 *Bt* 基因”不成为 *Bt* 棉秸秆还田提高土壤肥力的限制性因素。

3.3 原位还田有条件作为转 *Bt* 基因植物秸秆无害化利用处理的理想方式

在本研究中, 棉花秸秆经过机械粉碎后还田,

在后续季节中未发现次生苗,这是秸秆还田作为转基因植株灭活处理有效措施的前提。研究表明,*Bt* 基因植物秸秆经粉碎后还田不会对土壤肥力等特性产生不利影响,其秸秆还田还可为土壤中补充大量的生源要素,提高土壤肥力。因此,现有数据表明原位秸秆还田是转 *Bt* 基因植物秸秆无害化利用处理的理想方式。但 2 年跟踪研究采集到的数据有限,要更准确客观地评估秸秆还田作为转 *Bt* 基因植物秸秆处理措施的合理性和科学性,还有必要在不同生态区开展定位研究与长期观测,结合自然环境条件特点和农业管理措施对土壤生态系统的影响。

对 *Bt* 棉秸秆还田对土壤肥力质量影响的相关研究是对转基因棉环境风险性评估的重要方向,也为明确秸秆还田可否作为转基因植株无害化处理的可靠途径提供依据。转基因生物安全管理是长期性的,对转基因植物环境安全风险定位亦需要越来越具象化,以对隔离措施、基因漂移侵权等问题作出更准确的前瞻性判断,从而增强转基因环境安全风险评估的准确性和管控措施的可行性。

参考文献

胡瑞文,黎娟,向德明,周清明,张黎明,田峰,田茂成,李强,2018. 湘西州花垣烟区植烟土壤肥力适宜性评价及影响因素. 云南农业大学学报(自然科学版), 33(3): 520-528.

卢宝荣,2013. 以科学知识和事实增进公众对转基因生物及其安全性的了解. 植物生理学报, 49(7): 615-625.

卢宝荣,2014. 转基因逃逸及其环境生物安全评价研究进展——抗虫水稻案例分析. 生物安全学报, 23(4): 217-223.

潘剑玲,代万安,尚占环,郭瑞英,2013. 秸秆还田对土壤有机质和氮素有效性影响及机制研究进展. 中国生态农业学报, 21(5): 526-535.

王建武,范慧芝,冯远娇,2009. 不同还田方式对 *Bt* 玉米秸秆中 *Bt* 蛋白田间降解的影响. 生态学杂志, 28(7): 1324-1329.

王维,史惠兰,田海宁,张泰然,李洪月,周双喜,吴蓉蓉,庞文豪,刘梦萍,孙晓露,2018. 基于灰色关联分析的高寒草地土壤适宜性评价——以三江源河南县为例. 科学通报, 34(11): 96-104.

颜世磊,赵蕾,孙红炜,赵辉,路兴波,2011. 转 *Bt* 基因作物对土壤酶活性和土壤肥力影响的研究进展. 山东农业科学(6): 76-81.

叶慧香,崔跃原,宋新元,马娟,万虎,李建洪,2015. 转 *cry1Ie* 基因抗虫玉米对土壤中细菌群落结构的影响. 生物安全学报, 24(1): 64-71.

曾萍,冯远娇,张婉纯,张燕菲,董文超,王建武,2014. 种植 *Bt* 玉米及秸秆还田后土壤中 *Bt* 蛋白的变化及其对土壤养分的影响. 应用生态学报, 25(7): 1997-2003.

张美俊,杨武德,2008. 转 *Bt* 基因棉种植对根际土壤生物学特性和养分含量的影响. 植物营养与肥科学报, 14(1): 162-166.

张美俊,杨武德,冯美臣,肖璐洁,2014. 转 *Bt* 基因棉粉碎叶对土壤微生物群落功能多样性的影响. 水土保持学报, 28(5): 228-234.

张燕飞,岳龙,张素芬,沈佳君,付秋果,李菊英,汪海燕,叶庆富,2011. *Bt* 水稻杀虫蛋白时空变化及秸秆还田后在土壤中的持留规律. 核农学报, 25(4): 779-784.

张占,朱青青,冯远娇,李梦姣,曾萍,王建武,2014. *Bt* 水稻秸秆还田对土壤养分含量的影响. 生态科学, 33(5): 845-850.

赵其国,钱海燕,2009. 低碳经济与农业发展思考. 生态环境学报, 18(5): 1609-1614.

CHEN Z H, CHEN L J, ZHANG Y L, WU Z J, 2011. Microbial properties, enzyme activities and the persistence of exogenous proteins in soil under consecutive cultivation of transgenic cottons (*Gossypium hirsutum* L.). *Plant, Soil and Environment*, 57(2): 67-74.

DONEGAN K K, PAL C J, FIELAND V J, PORTEOUS L A, 1995. Changes in levels, species and DNA fingerprints of soil microorganisms associated with cotton expressing the *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* endotoxin. *Applied Soil Ecology*, 2(2): 111-124.

DONEGAN K K, SCHALLER D L, STONE J K, GANIO L M, REED G, HAMM P B, 1996. Microbial populations, fungal species diversity and plant pathogen levels in field plots of potato plants expressing the *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* endotoxin. *Transgenic Research*, 5: 25-35.

FANG H, DONG B, YAN H, TANG F, WANG B, YU Y, 2012. Effect of vegetation of transgenic *Bt* rice lines and their straw amendment on soil enzymes, respiration, functional diversity and community structure of soil microorganisms under field conditions. *Journal of Environmental Sciences*, 24(7): 1259-1270.

JAMES C, 2017. *Global status of commercialized biotech/GM crops in 2017: biotech crop adoption surges as economic benefits accumulate in 22 years*. ISAAA Brief No. 53. Ithaca, NY: ISAAA.

JIANG G, YU F, ZHAO Y, 2012. An analysis of vulnerability

- to agricultural drought in china using the expand grey relation analysis method. *Procedia Engineering*, 28: 670–676.
- LI X, LI J, SUI H, HE L, CAO X, LI Y, 2018. Evaluation and determination of soil remediation schemes using a modified AHP model and its application in a contaminated coking plant. *Journal of Hazardous Materials*, 353: 300–311.
- TANG H M, XIAO X P, TANG W G, LIN Y C, WANG K, YANG G L, 2014. Effects of winter cover crops residue returning on soil enzyme activities and soil microbial community in double-cropping rice fields. *PLoS ONE*, 9: e100443.
- WARTRUD LS, SEIDLER R J, 1998. Non-target ecological effects of plant, microbial, and chemical introductions to terrestrial systems. *Soil Chemistry and Ecosystem Health*, 5: 313–340.
- ZHOU D L, GAO S, GUO J, LUO J, YOU Q, QUE Y, 2016. *CryIAc* transgenic sugarcane does not affect the diversity of microbial communities and has no significant effect on enzyme activities in rhizosphere soil within one crop season. *Frontiers in Plant Science*, 7: 265.

(责任编辑:郭莹)

(上接第 50 页)

- 宁静, 张宾, 田浩楷等, 2018. 携带与非携带松材线虫的松墨天牛 miRNA 表达谱比较分析. *生物安全学报*, 27(1): 20–30.
- 嘉思理, 1983. 中国天牛科检索表. 华立中, 译. 广州: 中山大学.
- 蒲富基, 1980. 中国经济昆虫志(第十九册), 鞘翅目天牛科. 北京: 科学出版社.
- 武三安, 2007. 园林植物病虫害防治. 2 版. 北京: 中国林业出版社.
- 谢广林, 王文凯, 2010. 中国坡天牛属一新记录种(鞘翅目: 天牛科). *长江大学学报(自然科学版)*, 7(2): 4–5.
- 萧刚柔, 1992. 中国森林昆虫. 2 版. 北京: 中国林业出版社.
- 中国检验检疫科学研究院, 2019. 动植物检验检疫信息资源共享服务平台. [2019-06-10]. <http://10.239.4.9>.
- 中国木材网, 2019. 2018 年我国原木进口量为 5975.10 万立方米. (2019-03-04) [2019-06-10]. <http://www.china-timber.org/price/68357.html>.

(责任编辑:郭莹)