

转基因棉花不同生物量对土壤微生物群落结构的影响

范巧兰, 陈耕, 李永山*, 张冬梅, 柴永峰, 李燕娥

(山西省农业科学院棉花研究所, 山西运城 044000)

摘要:用磷脂脂肪酸图谱分析方法评价了3个转基因棉花品种(晋棉26、晋棉44、中棉所41)和它们相应的近等位非转基因棉花品种(晋棉7、冀合492、中棉所23)不同生物量对土壤微生物群落结构的影响。每个品种生物量为0 g, 2 g, 4 g, 6 g, 8 g 粉碎棉株与200 g土混匀, 在28℃培养箱中培养45 d后进行分析。结果表明, 随着棉花生物量的增加, 土壤微生物总量显著增加, 而且土壤微生物群落结构发生明显变化, 细菌和放线菌所占比例明显减少, 真菌比例显著增加。转基因棉花与非转基因棉花的差异因品种和还田量而表现不同。

关键词:生物量; 土壤微生物; 磷脂脂肪酸图谱分析; 群落结构; 转基因棉花

中图分类号: S562.01 文献标志码: A

文章编号: 1002-7807(2012)01-0085-06

Effects of Transgenic Bt Cotton Biomass on Soil Microbial Community Structure, Based on Phospholipid Fatty Acid Analysis

FAN Qiao-lan, CHEN Geng, LI Yong-shan*, ZHANG Dong-mei, CHAI Yong-feng, LI Yan-e

(Cotton Research Institute, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Yuncheng, Shanxi 044000, China)

Abstract: We evaluated the effects of transgenic Bt cotton biomass on soil microbial communities using soil incubation and phospholipid fatty acid (PLFA) analysis. We used three transgenic Bt cotton lines (Jinmian 26, Jinmian 44, and CCRI 41) and their isogenic non-Bt cotton lines (Jinmian 7, Jihe 492, and CCRI 23). Different plant biomasses (0, 2, 4, 6, and 8 g) were mixed with 200 g of soil for each line, and incubated at 28 °C for 45 days. The total concentration of PLFAs significantly increased with increasing cotton biomass, and the microbial community was characterized by a predominance of fungi in the soil amended with cotton biomass in comparison with the control (soil without cotton biomass). In contrast, the microbial community was characterized by a predominance of bacteria and actinomycetes in the control soil. Differences between Bt-cotton and non-Bt soils depended on cotton lines and cotton biomass in the soil.

Key words: community structure; soil microbes; Bt cotton; phospholipid fatty acid analysis; cotton biomass

转基因作物从1996年商品化以来,全世界种植转基因作物面积迅速扩大。Perlak等^[1]首次成功地将苏云金杆菌的杀虫基因(Bt)转入棉花获得抗虫植株以后,抗虫棉进入应用阶段。转Bt基因抗虫棉是我国批准进行大规模商品化种植的转基因植物,2009年全国转基因抗虫棉种植面积达370万hm²,占棉花总面积的68%^[2]。随着转基因植物商品化进程的加快,转基因植物的风险评价备受人们的关注^[3-5]。转基因的评价主要集中在地上生态系统^[6-12],而对土壤微生物的影响还未引起足够的重视。随着种植年限的增加,根系分泌物

和作物残体不断进入土壤系统,毒蛋白被土壤吸附并在土壤中积累,影响着土壤生态系统。国内外对转Bt基因抗虫棉土壤微生物的数量与种类进行了研究^[13-21],但对不同生物量对土壤微生物的影响研究很少。这些研究多采用传统的微生物的培养方法,这些传统方法培养的微生物只占总数的0.1%~10%,不能全面反映土壤微生物多样性信息。磷脂脂肪酸(Phospholipid fatty acid, PLFA)图谱分析,是近几年来发展的一种研究土壤微生物群落结构的新方法,它可定量分析微生物群落的生物量和群落结构,能不通过微生物的

收稿日期:2011-06-06 作者简介:范巧兰(1965-),女,助理研究员, sxqlfan@126.com; * 通讯作者, sxysli@126.com
基金项目:国家自然科学基金(30871601)

纯培养,在属的水平上鉴别微生物种类,是一种快速、可靠的检测方法。因此,本研究采用磷脂脂肪酸图谱分析转 Bt 基因棉花不同生物量对土壤微生物多样性的影响,旨在为转基因安全评价提供依据和方法。

1 材料和方法

1.1 供试品种

转 Bt 基因抗虫棉晋棉 26 号(Jinmian 26)、晋棉 44 号(Jinmian 44)和中棉所 41(CCRI 41)和相应的近等位基因常规棉品种晋棉 7 号(Jinmian 7)、冀合 492(Jihe 492)和中棉所 23(CCRI 23)。

在棉花开花期分别挖出棉株(带根系)用蒸馏水冲洗干净,在 105 °C 杀青 30 min,然后 70 °C 烘干。粉碎棉花秸秆。每个品种分别称取粉碎样品 2 g,4 g,6 g,8 g,与 200 g 未种植过棉花的风干土壤混匀,装在 250 mL 的纸杯中。每个处理 18 杯。同时用不加棉花秸秆的土壤作空白对照。每杯加蒸馏水 150 mL 浸透土壤,放进培养箱在昼夜 28 °C 条件下培养,每 3 d 加 1 次水,保持培养时的重量,45 d 后进行微生物分析。

1.2 PLFA 试验方法

PLFA 的提取参考 Wu 等^[20]方法:称 3 g 冷冻干燥土壤,用单相氯仿-甲醇-柠檬酸缓冲液(体积比 1:2:0.8)进行总脂类提取,并将提取液在硅胶上进行磷脂分离,将得到的磷脂进行甲基化,然后用气相色谱法进行分析。

PLFA 的命名一般采用以下原则:X:Y ω Z(c/t),其中 X 表示总碳数,后面跟一个“:”;Y 表

示双键数; ω 表示甲基末端;Z 表示距离甲基端的距离;c 表示顺式;t 表示反式;a 和 i 分别表示支链的反异构和异构,10 Me 表示一个甲基团在距分子末端第 10 个碳原子上,环丙烷脂肪酸用 cy 表示。

细菌生物量从 i15:0,a15:0,15:0,i16:0,16:1 ω 7 t,i17:0,a17:0,17:0,18:1 ω 7 和 cy19:0 的总浓度估算;真菌的生物量由 18:2 ω 6,9 c 浓度估算;放线菌的生物量由 10 Me16:0,10 Me 17:0,10 Me18:0 的总浓度估算;所有的磷脂脂肪酸的总和代表微生物的生物量。

1.3 统计分析

所有数据用 DPS 统计软件进行分析。处理间平均数用 LSD 法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 不同生物量对土壤微生物量的影响

3 个转基因棉花品种与其相应的近等位基因的 3 个非转基因棉花品种的土壤微生物生物量均随着棉花生物量的增加而增加(图 1)。不同生物量(棉花秸秆还田量,下同)的土壤微生物生物量分别比空白对照增加 0.45~3.77 倍。转基因棉花晋棉 26 号与非转基因的亲本晋棉 7 号在生物量 2 g,4 g,8 g 时土壤微生物生物量差异达到显著水平;转基因棉花晋棉 44 号与非转基因的亲本冀合 492 在生物量 2 g,4 g 时土壤微生物生物量差异达到显著水平;转基因棉花中棉所 41 与非转基因的亲本中棉所 23 在生物量 2 g,6 g,8 g 时土壤微生物生物量差异达到显著水平。

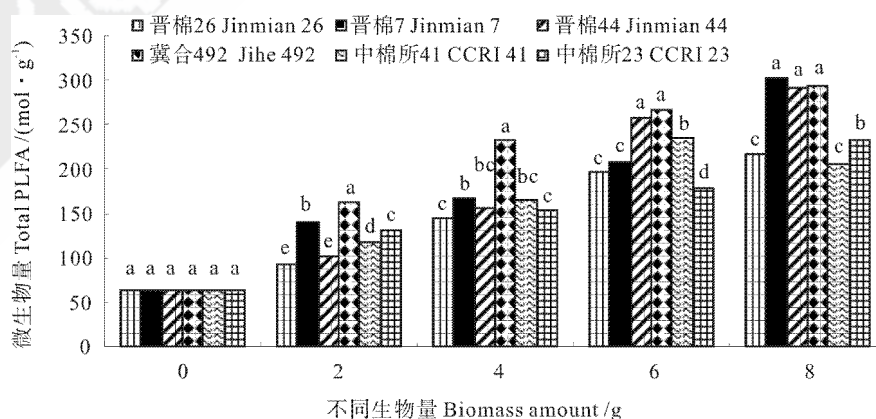


图 1 转基因棉花不同生物量对土壤微生物生物量的影响

Fig. 1 Effects of transgenic cotton biomass on soil microbial biomass

2.2 转基因棉花对土壤微生物各种磷脂脂肪酸 (PLFA)分布的影响

在 25 个处理中得到一系列 PLFA, 共计 78 个, 包括饱和的磷脂脂肪酸、不饱和的磷脂脂肪酸、甲基磷脂脂肪酸和环丙烷磷脂脂肪酸。PLFA 的链上包含 10~20 个碳原子。测定的土壤微生物群落结构成分中, 优势种群有 a15:0、i15:0、16:0、10 Me16:0、i16:0、16:1 ω 7c、18:1 ω 7c、18:1 ω 9c、18:2 ω 6,9c、cy19:0 ω 8c、i17:0、cy17:0、a17:0、20:1 ω 9c、10 Me18:0、18:0 等。其中 16:0 为最大的优势种群, 占总 PLFA 含量的 10.0%~22.7%, 其次为 18:1 ω 7c, 占 8.32%~12.97%, 10 Me16:0 占 5.31%~8.23%, 18:1 ω 9c 占 0%~8.76%, cy19:0 ω 8c 占 3.92%~6.18% 和 18:2 ω 6,9c 占 4.86%~

19.42%。

2.2.1 不同生物量对土壤细菌的影响。 试验表明, 不管是转基因棉花品种还是非转基因品种, 随着生物量的增加, 土壤细菌的百分数有降低的趋势。转基因棉花中棉所 41 的 2 g、4 g、6 g 和 8 g 生物量的细菌比例比非转基因的中棉所 23 分别增加 0.32%、6.10%、-4.56% 和 25.55%; 转基因棉花晋棉 26 号的 2 g、4 g、6 g 和 8 g 生物量的细菌比例比非转基因的晋棉 7 号分别增加 2.93%、4.46%、2.19% 和 17.30%; 转基因棉花晋棉 44 号的 2 g、4 g、6 g 和 8 g 生物量的细菌比例比非转基因的冀合 492 分别增加 10.91%、-11.88%、-1.43% 和 -0.39% (表 1)。

表 1 不同生物量对土壤细菌比例的影响

Table 1 Effects of cotton biomass on soil bacteria

品种(品系) Variety(Lines)	生物量 Biomass amount/g					%
	0	2	4	6	8	
中棉所 41 CCRI41	38.49	37.11 a	38.07 a	37.25 a	40.69 a	
中棉所 23 CCRI23	38.49	36.99 a	35.88 b	39.03 a	32.41 d	
晋棉 26 号 Jinmian 26	38.49	38.00a	38.43a	36.83 a	38.10 b	
晋棉 7 号 Jinmian 7	38.49	36.92 a	36.79 a	36.04 a	32.48 d	
晋棉 44 号 Jinmian 44	38.49	37.82a	33.67 b	36.58 a	35.92 c	
冀合 492 Jihe492	38.49	34.10 b	38.21 a	37.11 a	36.05 bc	

注: 同一列中 a,b,c 表示处理间在 0.05 水平上的差异显著性。

Note: Letter a,b,c show significance at 0.05 level.

2.2.2 不同生物量对土壤真菌的影响。 18:2 ω 6,9c 是真菌的生物标记。试验表明, 不管是转基因棉花品种还是非转基因品种, 随着生物量的增加, 土壤真菌所占的比例百分数显著增加, 由空白对照的 4.86% 增加到 11.96%~19.42%。转基因中棉所 41 的 6 g 和 8 g 生物量的土壤真菌的百分数比中棉所 23 分别增加 16.35% 和 38.22%,

2 g 和 4 g 的差异不显著; 转基因棉花晋棉 26 号的 2 g、4 g、6 g 和 8 g 生物量的真菌百分比比非转基因的晋棉 7 号分别降低 6.27%、26.40%、10.76% 和 14.26%; 转基因棉花晋棉 44 号的 2 g、4 g、6 g 和 8 g 生物量的真菌比例比非转基因的冀合 492 分别增加 6.03%、-2.6%、2.41% 和 1.68% (表 2)。

表 2 不同生物量对土壤真菌比例的影响

Table 2 Effects of cotton biomass on soil fungal

品种(品系) Variety(Lines)	生物量 Biomass amount/g					%
	0	2	4	6	8	
中棉所 41 CCRI41	4.86	7.50c	10.05 c	13.38 a	19.42 a	
中棉所 23 CCRI23	4.86	7.57c	10.26 c	11.50 b	14.05 b	
晋棉 26 号 Jinmian 26	4.86	8.27bc	7.86 d	9.29 c	11.96 c	
晋棉 7 号 Jinmian 7	4.86	8.77bc	10.68bc	11.11b	13.95 b	
晋棉 44 号 Jinmian 44	4.86	10.20a	11.60ab	12.32ab	12.69 c	
冀合 492 Jihe492	4.86	9.62ab	11.91a	12.03b	12.48 c	

注: 同一列中 a,b,c 表示处理间在 0.05 水平上的差异显著性。

Note: Letter a,b,c show significance at 0.05 level.

2.2.3 不同生物量对土壤放线菌的影响。放线菌常在羧基端第十个碳原子上有一个甲基支链,因此 10 Me16:0、10 Me17:0、10 Me18:0 作为放线菌的生物标记。试验表明,不管是转基因棉花品种还是非转基因品种,随着生物量的增加,土壤放线菌所占的比例明显降低,由空白对照的 12.89%降低到 6.62%~8.59%。转基因棉花中棉所 41 的 2 g、4 g、6 g 和 8 g 生物量的放线菌比例比

非转基因的中棉所 23 分别增加 2.88%、18.39%、-13.32%和 23.07%;转基因棉花晋棉 26 号的 2 g、4 g、6 g 和 8 g 生物量的放线菌比例比非转基因的晋棉 7 号分别增加 9.49%、-1.54%、14.56%和 19.64%;转基因棉花晋棉 44 号的 2 g、4 g、6 g 和 8 g 生物量的放线菌比例比非转基因的冀合 492 分别增加 14.69%、3.39%、-7.59%和 -1.89% (表 3)。

表 3 不同生物量对土壤放线菌比例的影响

Table 3 Effects of cotton biomass on soil actinomycetes %

品种(品系) Variety(Lines)	生物量 Biomass amount/g				
	0	2	4	6	8
中棉所 41 CCRI41	12.89	8.94a	9.59a	6.90 d	8.59 a
中棉所 23 CCRI23	12.89	8.68a	8.10b	7.96 b	6.98 c
晋棉 26 号 Jinmian 26	12.89	9.34a	8.30b	8.81 a	7.92 b
晋棉 7 号 Jinmian 7	12.89	8.53a	8.43b	7.69 bc	6.62 c
晋棉 44 号 Jinmian 44	12.89	8.51a	7.31c	6.70 d	6.73 c
冀合 492 Jihe492	12.89	7.42b	7.07c	7.25 cd	6.86 c

注:同一列中 a,b,c,表示处理间在 0.05 水平上的差异显著性。

Note: Letter a,b,c show significance at 0.05 level.

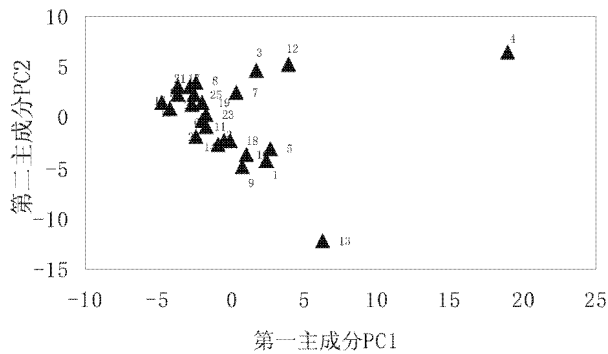
2.3 主成分分析

对 6 个品种 25 个处理的 PLFA 百分数进行主成分分析结果表明,前 8 个主成分可解释 80.37%的 PLFA 变异。第一主成分可解释 PLFA 的 28.16%的变异,表现正效应主要有 10:03OH、12:0、16:1 ω 7c、a 17:1 ω 9c、11Me 18:1 ω 7c,表现负效应主要有 11:0 3OH、a 15:0、a17:1、i17:0 3OH。第二主成分可解释 PLFA 的 19.49%的变异,表现正效应主要有 12:0 3OH、16:0 2OH、18:0、i17:0 3OH、20:1 ω 9c,表现负效应主要有 13:0、16:1 ω 7c、16:0、10 ME 16:0、cy17:0、20:4 ω 6,9,12,15c。第三主成分可解释 PLFA 的 8.75%的变异,表现正效应主要有 14:1 ω 5c、16:1 ω 9c、a17:1 B/i I、i16:0 3OH、20:4 ω 6,9,12,15c,表现负效应主要有 11:0 3OH、i13:0、a15:0、a17:1 ω 9c、cy19:0 ω 8c。第四主成分可解释 PLFA 的 7.83%的变异,表现正效应主要有 10:0、15:1 ω 6c、15:0、17:0 2OH、a17:0、17:1 ω 8c、i17:0 3OH,表现负效应主要有 17:1 ANTEISO B/i I、cy17:0、16:0 2OH。第 5 主成分可解释 PLFA 的 4.66%的变异,表现正效应主要有 12:0 2OH、16:1 ω 7c、10ME16:0、18:00、20:4 ω 6,9,12,15c 表现负效应主要 11:0 3OH、12:0

3OH、12:0、a16:0、16:1 ω 5c、18:1 2OH。第 6 主成分可解释 PLFA 的 4.22%的变异,表现正效应的主要有 i11:0 OH、13:0、16:1 ω 5c、a17:0、18:0,表现负效应的主要为 10:0 2OH、11:0 3OH、a 17:1 ω 9c、10Me18:0。从图 2 可看出,6 个品种 25 个处理,空白对照明显与其它处理不在一起,说明棉花秸秆还田明显改变土壤微生物的群体结构。

3 结论与讨论

转基因抗虫棉对土壤中微生物数量的影响,主要是 Bt 棉的外源基因表达产物 Bt 杀虫晶体蛋白通过根系分泌物或作物残茬进入土壤生态系统^[23-24]。Donegan 等^[11]研究发现,美国种植的转 Bt 基因抗虫棉土壤微生物的数量与种类在不同品种中表现不一致,有的品种与常规棉花差异显著,有的不显著。Watrud 等^[12]也报道转 Bt 基因棉花提高了土壤细菌和真菌的数量。也有学者认为转 Bt 基因棉可能是由于遗传修饰后的植株的生理生化特性发生了变化,从而对土壤微生物产生影响,而不是表达产物的直接影响^[11]。Shen 等通过研究不同生育期、收获后以及转基因棉花不同秸秆还田量修饰土壤后,土壤微生物的群落结构



注:1.中棉所 41, 2 g, 2.中棉所 41, 4 g, 3.中棉所 41, 6 g, 4.中棉所 41, 8 g, 5.中棉所 23, 2 g, 6.中棉所 23, 4 g, 7.中棉所 23, 6 g, 8.中棉所 23, 8 g, 9.晋棉 26 号, 2 g, 10.晋棉 26 号, 4 g, 11.晋棉 26 号, 6 g, 12.晋棉 26 号, 8 g, 13.空白对照, 14.晋棉 7 号, 2 g, 15.晋棉 7 号, 4 g, 16.晋棉 7 号, 6 g, 17.晋棉 7 号, 8 g, 18.冀合 492, 2 g, 19.冀合 492, 4 g, 20.冀合 492, 6 g, 21.冀合 492, 8 g, 22.晋棉 44 号, 2 g, 23.晋棉 44 号, 4 g, 24.晋棉 44 号, 6 g, 25.晋棉 44 号, 8 g。

Note: 1.CCRI 41, 2 g; 2.CCRI 41, 4 g; 3.CCRI 41, 6 g; 4.CCRI 41, 8 g; 5.CCRI 23, 2 g; 6.CCRI 23, 4 g; 7.CCRI 23, 6 g; 8.CCRI 23, 8 g; 9.Jinmian 26, 2 g; 10.Jinmian 26, 4 g; 11.Jinmian 26, 6 g; 12.Jinmian 26, 8 g; 13.CK; 14.Jinmian 7, 2 g; 15.Jinmian 7, 4 g; 16.Jinmian 7, 6 g; 17.Jinmian 7, 8 g; 18.Jihe 492, 2 g; 19.Jihe 492, 4 g; 20.Jihe 492, 6 g; 21.Jihe 492, 8 g; 22.Jinmian 44, 2 g; 23.Jinmian 44, 4 g; 24.Jinmian 44, 6 g; 25.Jinmian 44, 8 g。

图 2 不同生物量对土壤微生物群落结构的主成分分析
Fig. 2 Principal component (PC) analysis of PLFA of soil microbe

没有发生变化^[25]。本单位用 PLFA 方法研究了 3 个转基因棉花品种对土壤微生物群落结构有明显影响^[26]。Li 研究发现多年种植转基因棉花对土壤微生物没有影响^[27], 而 Chen 等结果则相反^[28]。本试验研究表明, 随着棉花生物量的增加, 土壤微生物总量明显增加, 土壤微生物群落结构发生变化, 细菌和放线菌所占比例减少, 真菌比例明显增加, 转基因棉花与非转基因的差异因品种和还田量而表现不同。随着种植年限和棉花残茬进入土壤生态系统, 可能造成土壤微生物群落结构的变化, 有待于进一步深入研究。

参考文献:

[1] PERLAK F J, Deaton R W, Armstrong T A, et al. Insect-resistant cotton plants [J]. *Bio Technology*, 1990, 8: 939-943.

[2] CLIVE J. 2009 年全球生物技术 / 转基因作物商业化发展态势 [J]. *中国生物工程杂志*, 2010, 30(2): 1-22.

CLIVE J. Global status of commercialized Biotech/GM crops: 2009 [J]. *China Biotechnology*, 2010, 30(2): 1-22.

[3] 钱迎倩, 马克平. 经遗传修饰生物体的研究进展及其释放后对环境的影响 [J]. *生态学报*, 1998, 18(1): 1-9.

QIAN Ying-qian, Ma Ke-ping. Progress in the studies on genetically modified organisms, and the impact of its release on environment [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 1998, 18(1): 1-9.

[4] WOLFENBARGER L L, Phifer P R. The ecological risks and benefits of genetically engineered plants [J]. *Science*, 2000, 290: 2088-2093.

[5] ANGLE J S. Release of transgenic plants: biodiversity and population-level considerations [J]. *Molecular Ecology*, 1994, 3: 45-50.

[6] 沈法富, 于元杰, 张学坤, 等. 转基因抗虫棉的基因流 [J]. *遗传学报*, 2001, 28(6): 562-567.

SHEN Fa-fu, Yu Yuan-jie, Zhang Xue-kun, et al. Bt gene flow of transgenic cotton [J]. *Acta Genetica Sinica*, 2001, 28(6): 562-567.

[7] 李汝忠, 沈法富, 王宗文, 等. 转 Bt 基因抗虫棉抗性遗传研究 [J]. *棉花学报*, 2001, 13(5): 268-272.

LI Ru-zhong, Shen Fa-fu, Wang Zong-wen, et al. Study on the inheritance of bollworm resistance in transgenic Bt cotton [J]. *Cotton Science*, 2001, 13(5): 268-272.

[8] 王留明, 王家宝, 沈法富, 等. 渍涝与干旱对不同转 Bt 基因抗虫棉的影响 [J]. *棉花学报*, 2001, 13(2): 87-90.

WANG Liu-ming, Wang Jia-bao, Shen Fa-fu, et al. Influences of waterlogging and drought on different transgenic Bt cotton cultivars [J]. *Cotton Science*, 2001, 13(2): 87-90.

[9] 丁志勇, 许崇任, 王戎疆. 转基因抗虫棉与常规棉几种同工酶的比较 [J]. *生态学报*, 2001, 21(2): 332-336.

DING Zhi-yong, Xu Chong-ren, Wang Rong-jiang. Comparison of several important isoenzymes between Bt cotton and regular cotton [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2001, 21(2): 332-336.

[10] 阎凤鸣, 许崇任, Bengtsson M, 等. 转 Bt 基因棉挥发性气味的化学成分及其对棉铃虫的电生理活性 [J]. *昆虫学报*, 2002, 45(4): 425-429.

YAN Feng-ming, Xu Chong-ren, Bengtsson M, et al. Volatile compositions of transgenic Bt cotton and their electrophysiological effects on the cotton bollworm [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2002, 45(4): 425-429.

[11] 沈平, 林克剑, 张永军, 等. 转 Bt 基因棉不同品种杀虫蛋白季节性表达及其对棉铃虫的控制作用 [J]. *棉花学报*, 2010, 22(5): 393-397.

SHEN Ping, Lin Ke-jian, Zhang Yong-jun, et al. Seasonal expression of *Bacillus thuringiensis* insecticidal protein and the control to cotton bollworm in different varieties of transgenic

- cotton[J]. Cotton Science, 2010, 22(5): 393-397.
- [12] 肖留斌, 孙厚俊, 柏立新. 人工模拟“庇护所”和“非庇护所”条件下棉铃虫对 Bt 棉的抗性演变[J]. 棉花学报, 2011, 23(1): 52-57.
- XIAO Liu-bin, Sun Hou-jun, Bai Li-xin. Studies on resistance evolution of cotton bollworm to Bt transgenic cotton in artificial simulating "refuges" and "non-refuges" conditions[J]. Cotton Science, 2011, 23(1): 52-57.
- [13] DONEGAN K K, Palm C J, Fieland V J, et al. Changes in levels, species, and DNA fingerprints of soil microorganisms associated with cotton expressing the *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* endotoxin[J]. Applied Soil Ecology, 1995, 2: 111-124.
- [14] WATRUD L S, Seidler R J. Nontarget ecological effects of plant, microbial, and chemical introductions to terrestrial system[M]. Soil Chemistry and Ecosystem Health; Special Publication 52. Madison, Wisconsin; Soil science society of America, 1998; 313-340.
- [15] 崔金杰, 雒珺瑜, 李树红, 等. 转基因抗虫棉对土壤微生物影响的初步研究[J]. 河北农业大学学报, 2005, 28(6): 73-75.
- CUI Jin-jie, Luo Jun-yu, Li Shu-hong, et al. Preliminary study in the effects of transgenic cotton fields on the soil microbe[J]. Journal of Agricultural University of Hebei, 2005, 28(6): 73-75.
- [16] 张金国, 刘翔, 崔金杰, 等. 转基因(Cry1Ac)抗虫棉对土壤微生物的影响[J]. 中国生物工程杂志, 2006, 26(5): 78-80.
- ZHANG Jin-guo, Liu Xiang, Cui Jin-jie, et al. Effects of transgenic Cry1Ac cotton on soil microbes[J]. China Biotechnology, 2006, 26(5): 78-80.
- [17] 沈法富, 韩秀兰, 范术丽. 转 Bt 基因抗虫棉根际微生物区系和细菌生理群多样性的变化[J]. 生态学报, 2004, 24(3): 432-437.
- SHEN Fa-fu, Han Xiu-lan, Fan Shu-li. Changes in microbial flora and bacterial physiological group diversity in rhizosphere soil of transgenic Bt cotton[J]. Acta Ecologica Sinica, 2004, 24(3): 432-437.
- [18] 李永山, 范巧兰, 陈耕, 等. 转 Bt 基因棉花对土壤微生物的影响[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(增刊): 533-536.
- LI Yong-shan, Fan Qiao-lan, Chen Geng, et al. Effects of transgenic Bt cotton on soil microbial population [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2007, 26(Suppl): 533-536.
- [19] 雒珺瑜, 崔金杰, 李树红, 等. 不同棉花品种对土壤微生物的影响[J]. 中国棉花, 2005, 32(9): 10.
- LUO Jun-yu, Cui Jin-jie, Li Shu-hong, et al. Effects of different cotton varieties on soil microbe[J]. China Cottons, 2005, 32(9): 10.
- [20] 范巧兰, 陈耕, 李永山, 等. 转 Bt 基因棉花不同生育期对土壤微生物的影响[J]. 山西农业科学, 2010, 38(12): 34-36.
- FAN Qiao-lan, Chen Geng, Li Yong-shan, et al. Effects of transgenic cotton on soil microbial populations in different growth stages[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2010, 38(12): 34-36.
- [21] 娜布其, 红雨, 杨殿林, 等. 利用根箱法解析转双价(Bt + CpTI) 基因棉花对土壤微生物数量及细菌多样性的影响[J]. 棉花学报, 2011, 23(2): 160-166.
- NA Bu-qi, Hong Yu, Yang Dian-lin, et al. Effects of transgenic Bt + CpTI cotton on the soil microbial amount and bacterial diversity by rhizobox method[J]. Cotton Science, 2011, 23(2): 160-166.
- [22] WU Yu-ping, Ding Na, Wang Gang, et al. Effects of different soil weights, storage time and extraction methods on soil phospholipid fatty acids analyses[J]. Geoderma, 2009, 150: 171-178.
- [23] 王忠华, 叶庆富, 舒庆尧, 等. 转基因植物根系分泌物对土壤微生态的影响[J]. 应用生态学报, 2002, 13(3): 373-375.
- WANG Zhong-hua, Ye Qing-fu, Shu Qing-yao, et al. Impact of root exudates from transgenic plants on soil micro-ecosystems [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2002, 13(3): 373-375.
- [24] 孙彩霞, 陈利军, 武志杰. Bt 杀虫晶体蛋白的土壤残留及其对土壤磷酸酶活性的影响[J]. 土壤学报, 2004, 41(5): 761-765.
- SUN Cai-xia, Chen Li-jun, Wu Zhi-jie. Persistence of Bt toxin in soil and its effects on soil phosphatase activity[J]. Acta Pedologica Sinica, 2004, 41(5): 761-765.
- [25] SHEN Ren-fang, Cai Hong, Gong Wan-he. Transgenic Bt cotton has no apparent effect on enzymatic activities or functional diversity of microbial communities in rhizosphere soil[J]. Plant and Soil, 2006, 285: 149-159.
- [26] 李永山, 范巧兰, 陈耕, 等. 利用 PLFA 研究转 Bt 基因棉花对土壤微生物群落结构变化的影响[J]. 棉花学报, 2009, 21(6): 503-507.
- LI Yong-shan, Fan Qiao-lan, Chen Geng, et al. Soil microbial community structure change analysis of transgenic Bt cotton based on phospholipid fatty acid method[J]. Cotton Science, 2009, 21(6): 503-507.
- [27] LI Xiao-gang, Liu Biao, Cui Jin-jie, et al. No evidence of persistent effects of continuously planted transgenic insect-resistant cotton on soil microorganisms[J]. Plant and Soil, 2011, 339: 247-257.
- [28] CHEN Zhen-hua, Chen Li-jun, Zhang Yu-lan, et al. Microbial properties, enzyme activities and the persistence of exogenous proteins in soil under consecutive cultivation of transgenic cottons (*Gossypium hirsutum* L.)[J]. Plant and Soil Environment, 2011, 57(2): 67-74. ●