

转耐盐碱基因棉花生长发育及其对生物多样性的影响

朱香镇 雒珺瑜 张 帅 吕丽敏 王春义 崔金杰*

(中国农业科学院棉花研究所, 棉花生物学国家重点实验室, 河南 安阳 455000)

摘要: 为明确新型转基因棉花的生长发育、产量性状、生理生化指标及其对棉田生物多样性的影响, 于2014—2015年对新型转耐盐碱基因棉花(13018)在施药和不施药条件下与其亲本对照中9807的生长发育及棉田生物多样性进行了系统调查和分析。结果表明, 在棉花生长的关键时期苗期、蕾期和花铃期, 无论施药与否, 转耐盐碱基因棉花与亲本对照棉花间的单株叶面积、叶片干重、株高、主茎叶片数、主要生理生化物质含量均无显著差异, 2种棉田中节肢动物个体总数、群落多样性指数、均匀性指数、优势集中性也均无显著差异。与亲本对照相比, 在施药和不施药条件下, 转耐盐碱基因棉花的单株大铃数在2014年分别增加了4.47%和12.65%, 在2015年分别显著增加了59.51%和81.94%, 表明转耐盐碱基因棉花较非转基因亲本棉花有较高的产量潜力。由此可见, 新型转耐盐碱基因棉花在生长发育方面没有竞争优势, 对棉田生物多样性无明显影响, 产量构成性状在部分时期增强, 具有较好的发展潜力。

关键词: 转耐盐碱基因棉花; 棉花; 生长发育; 生物多样性

Effects of transgenic cotton harboring salt-tolerant gene on the growth of cotton and biological diversity in the field

Zhu Xiangzhen Luo Junyu Zhang Shuai Lü Limin Wang Chunyi Cui Jinjie*

(State Key Laboratory of Cotton Biology, Institute of Cotton Research, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Anyang 455000, Henan Province, China)

Abstract: To clarify the effect of novel exogenous gene on the cotton growth and development, yield traits, physiological and biochemical indexes and biological diversity, a systematic investigation and analysis were conducted between the transgenic cotton harboring the salt-tolerant gene and its parental cotton under the conditions with or without pesticide spraying in 2014—2015. The results showed that, in the critical period of cotton seedling, budding and boll stages, compared with non-transgenic cotton, the salt-tolerant gene group had no significant differences in leaf area, dry weight, plant height, leaf number, the main content of biochemical substances, the number of individual, community diversity index, evenness index and dominance between pesticide spraying or no pesticide treatment. In 2014, the number of big bolls of novel transgenic cotton increased by 4.47% and 12.65% under the conditions of pesticide spraying and the negative control, respectively, but there were no significant differences between them. In 2015, the novel transgenic cotton significantly increased the number of big bolls by 59.51% and 81.94% under the conditions of pesticide spraying and the control, respectively. It indicated that the novel transgenic cotton had higher yield potential than its parental cotton. The study suggested that the salt-tolerant cotton variety did not have a competitive advantage in cotton growth and development and biological diversity, but have a good potential for future development.

基金项目: 国家转基因生物新品种培育重大专项(2016ZX08011002)

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

收稿日期: 2017-03-21

Key words: transgenic cotton harboring salt-tolerant gene; cotton; growth and development; biological diversity

随着全球气候暖化问题的日益加剧,土壤盐渍化问题已经成为全球性问题,当前全球约有7%的土地受到盐渍化的威胁,而且这个数字还在上升(李建国等,2012)。我国是土壤盐渍化比较严重的国家,盐渍化土壤面积大、分布广,对区域农业发展构成了严重的威胁。盐胁迫严重抑制植物的生长和发育,是造成作物产量降低的重要原因(Zhu et al., 2002; Munns & Tester, 2008)。棉花是盐碱地的先锋作物,我国也较早地开始关注盐渍土问题,并开展了一系列棉花耐盐碱方面的研究(Zhang et al., 2012)。利用基因工程技术对棉花进行遗传改良是棉花分子育种的主要途径,有效弥补了传统育种不能解决的问题,快速地培育出包括抗逆、抗除草剂、纤维品质改良和抗旱等农艺性状改良的品种。在不能种植粮食作物的盐碱地上进行棉花栽培生产,培育具有优质、高产、耐旱、耐盐碱、抗病、抗旱等农艺性状的新型转基因棉花材料已成为当前棉花遗传改良的研究热点(郭三堆等,2015)。

已有研究表明,植物基因型的改变会引起自身一系列的敏感性和营养成分的改变,从而间接影响植食性昆虫,甚至捕食性天敌(Yue et al., 2012)。Fitt et al. (1994)研究表明, Bt 棉田比常规棉田靶标害虫锐减,有益生物增加,但一些次要的刺吸式害虫增加,可能与天敌的抑制作用有关,之后转 Bt 棉的研究证实了上述猜测(刘万学等,2002; Lu et al., 2008; 2012)。目前,对转基因棉田昆虫群落的研究多集中在转 *Cry1Ac*、*Cry1Ac*+*CpTI*、*Cry1Ac*+*Cry2Ab* 等抗虫基因方面。如 Xu et al. (2012) 于 2009—2011 年连续 3 年对转 *Cry1Ac*+*CpTI* 基因棉田的 5 类主要害虫和 5 类主要天敌进行了调查,结果显示外源基因的转入对棉田昆虫多样性指数无显著影响; 雒珺瑜等 (2014a) 研究表明转 *Cry1Ac*+*Cry2Ab* 棉花的生长势与转 *Cry1Ac* 棉花和非转基因棉花基本相当,没有表现出明显的竞争优势; 产量构成参数在成铃和脱落等方面比非转基因棉表现出良好的优势,同时对靶标害虫棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 具有良好的控制效果。

除转基因抗虫棉外,抗病、抗逆、高产等转基因非抗虫棉花品种也正快速发展。然而,新基因新性状的转基因棉花其田间生长发育状况、产量潜力以及种植转基因植物是否影响农业生态系统中生物多样性或有益天敌生物的种类和种群数量问题已经成

为关注焦点(张永军等,2002)。同时,外源基因的导入可能改变作物非预期潜在的多效性或诱变效应(Ren et al., 2009),也可能会改变植物生理特性或次生代谢。研究表明,在转几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶基因抗病棉花生育期的大部分阶段,主要害虫和天敌与常规棉田相比无明显差异(孙红炜等,2012); 转 *PCD* 基因棉花与受体品种相比,苗蚜和棉盲蝽的发生为害显著减轻,对伏蚜、棉铃虫等害虫及天敌均无显著影响,说明转 *PCD* 基因棉花对棉田昆虫的影响较小或无影响(冯自力等,2015); 转 *RRM2* 基因棉田害虫亚群落及天敌亚群落的结构与组成未受到明显影响,其多样性指数、均匀性指数和优势集中性指数与常规棉田均无显著差异(雒珺瑜等,2014b); 外源乙烯合成基因导入棉花后,对棉田昆虫发生及其群落结构没有影响,棉花生长势无明显优势,但产量构成性状在部分时期增强(雒珺瑜等,2016a); 外源新型天麻抗真菌蛋白基因 *GAFP* 导入棉花后,营养生长增强,产量构成性状整体无显著变化,未引起棉田昆虫群落变化(雒珺瑜等,2016b); 在棉花子叶期、3~4 片真叶期、现蕾期和盛花期喷施草铵膦对转基因抗草铵膦棉花的农艺性状、花粉育性、产量及纤维品质无显著影响(姜伟丽等,2016)。本试验于 2014—2015 年对转耐盐碱基因棉花田间生长发育、产量构成性状、主要生理生化指标及对棉田生物多样性的影响进行系统调查和研究,拟明确新型耐盐碱基因导入对棉花生长发育及棉田生物多样性可能产生的影响,以期为评估该新型耐盐碱基因棉花的商业化应用价值以及新型转基因棉花环境安全评价积累科学数据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试棉花: 转耐盐碱基因棉花 13018 及其亲本对照非转基因棉花中 9807 均由中国农业科学院棉花研究所抗逆鉴定课题组提供。试验于 2014—2015 年在位于河南省安阳市的中国农业科学院棉花研究所东场进行,采用随机区组试验,重复 3 次,小区面积 58 m²,行长 8 m,棉花南北方向种植,小区东西方向宽 7.25 m,株距 25 cm,行距 80 cm。每年在 4 月 28—30 日播种,10 月上旬收获。所有小区的棉花在整个生长周期均不使用化学除草剂。

药剂: 70% 吡虫啉(imidacloprid)水分散粒剂, 陕西恒田化工有限公司; 45% 马拉硫磷(malathion)乳油, 济南绿霸农药有限公司; 40% 辛硫磷(phoxim)乳油, 湖北仙隆化工股份有限公司; 25 g/L 高效氯氟氰菊酯(lambda-cyhalothrin)乳油, 西安常隆正华作物保护有限公司; 350 g/L 硫丹(endosulfan)乳油, 印度伊克胜作物护理有限公司; 30% 氯吡硫磷(chlorpyrifos)乳油、20% 氰戊菊酯乳油(fenvalerate)乳油, 杭州颖泰生物科技有限公司。

试剂及仪器: 牛血清蛋白、考马斯亮蓝 G-250、福林酚溶液等, 北京索莱宝科技有限公司; 棉酚标准品, 美国 Sigma-Aldrich 公司; 其余试剂均为国产分析纯。Varian Cary 100 紫外可见分光光度计, 美国 Varian 公司。

1.2 方法

1.2.1 棉花叶片叶面积及干重的测定

为明确施药处理对棉花主要农艺性状、生理生化指标及棉田生物多样性的影响, 设置施药小区和不施药小区进行试验。施药处理小区和不施药处理小区完全随机排列。在 5 月中旬棉蚜发生高峰期喷施吡虫啉治理蚜虫 2 次, 用药间隔 7 d; 在 6 月中旬第 2 代棉铃虫产卵高峰期用药 1 次, 喷施马拉硫磷、辛硫磷、高效氯氟氰菊酯和硫丹的混合液, 兼防绿盲蝽 *Apolygus lucorum*、棉叶螨和棉蓟马 *Thrips flavus*; 7 月和 8 月中旬分别用药 1 次, 喷施马拉硫磷、辛硫磷、氯吡硫磷和氰戊菊酯的混合液。各农药的使用剂量参照说明书上的推荐剂量, 若推荐剂量为一个范围, 则使用推荐的最大剂量。棉花各参数调查与喷药的间隔最小天数为 3 d, 分别于棉花苗期(2014 年 6 月 14 日、2015 年 6 月 20 日)、蕾期(2014 年 7 月 18 日、2015 年 7 月 20 日)和花铃期(2014 年 8 月 24 日、2015 年 8 月 20 日)在试验小区分别采集转基因棉花 13018 及其亲本对照中 9807 植株顶部嫩叶测量叶面积后, 105℃ 杀青 30 min 后移至 80℃ 烘干, 称量干重。每小区随机选择具有代表性的棉花 5 株, 每小区采集 5 片叶片测定叶面积(叶长×叶宽)。

1.2.2 棉花农艺性状的调查

于棉花苗期、蕾期和花铃期, 在 1.2.1 中处理的每小区随机选择长势基本一致的连续 10 株棉花, 测定株高, 调查并统计单株棉花的主茎叶片数、果枝数、大铃数、小铃数和蕾数。每年 9 月 20 日左右, 每小区选择长势基本一致的、连续的 10 株棉花, 调查其单株大铃数和小铃数, 用于间接反映棉花产量。

1.2.3 棉叶主要生理生化指标含量的测定

从 1.2.1 处理的每个小区采集棉花的 20 片倒二

叶, 用酒精消毒后的剪刀将叶片剪碎, 用于后续各生理生化指标含量测定。取 3 g 新鲜叶片, 用 0.1 mol/L pH 6.8 的磷酸缓冲液 3 mL 进行匀浆抽提, 在 4℃ 下浸泡 4 h, 4℃ 下以 10 000 r/min 离心 15 min, 上清液为蛋白质粗提液。采用 Bradford(1976)方法, 以牛血清蛋白为标准品, 在 595 nm 处测定吸光度, 绘制标准曲线并计算待测样品的可溶性蛋白质含量。

采用蒽酮比色法(刘海英等, 2013)测定可溶性糖含量。取棉花叶片 0.5 g 放入试管中, 加入 10 mL 蒸馏水, 塑料薄膜封口, 于沸水中提取 30 min, 提取 2 次, 提取液过滤到 25 mL 容量瓶中, 反复漂洗试管及残渣, 定容至刻度, 吸取样品提取液 0.1 mL 于 20 mL 刻度试管中, 加蒸馏水 1.9 mL, 然后向试管中加入 0.5 mL 蒽酮乙酸乙酯试剂和 5 mL 浓硫酸, 充分振荡, 自然冷却至室温, 以空白作参比, 在 630 nm 处测定吸光度, 用不同浓度葡萄糖溶液制作标准曲线, 计算可溶性糖含量。

氨态氮含量的测定采用靛酚蓝比色法(吕伟仙等, 2004), 准确称取烘干后的棉叶样品 0.5 g, 置于凯氏烧瓶底部, 加入浓硫酸 6 mL, 混匀浸润放置过夜。在恒温器上慢慢加热至开始冒白烟, 控温稍冷(约 1 min), 逐滴加入 20 滴 H₂O₂, 继续加热微沸几分钟, 再放冷, 滴加数滴 H₂O₂, 反复多次直至消煮液完全清亮为止, 最后一次应微沸 5 min, 以除尽剩余 H₂O₂, 冷却后加入无氨水 10 mL, 移入 50 mL 容量瓶中, 定容。将消煮液用无氨水准确稀释 10 倍, 吸取稀释液 0.5 mL(含 NH₄⁺ 0.5~2.5 mg)于 50 mL 比色管中, 加入 1 mL EDTA-甲基红溶液, 用 0.3 mol/L NaOH 调节 pH 至 6(即甲基红由红色变为黄色), 再依次加入 5 mL 酚溶液和 5 mL 次氯酸钠溶液, 摇匀, 用水定容, 放置 1 h 以上, 在 625 nm 处测定吸光度, 用稀释同样倍数和加入各种试剂的空白消煮溶液调节吸收值的零点, 计算氨态氮含量。

单宁含量的测定采用 Folin 酚还原法(Folin & Denis, 1915; 王朝生等, 1987)。称取棉叶 3 g 放到研钵中液氮研磨, 加入 75% 酒精 100 mL, 研成匀浆, 放入烧杯中提取 3 h 后过滤, 乙醇蒸发后, 定容至 50 mL, 并过滤至新烧杯中, 即为样品溶液。准确量取 5 mL 样品溶液至 50 mL 容量瓶中, 分别加入 30 mL 水、2 mL 福林酚溶液、5 mL 9% 碳酸钠溶液, 定容显色, 40℃ 放置 1 h 后, 在 770 nm 处测定吸光度, 根据标准曲线求出样品溶液的浓度。分别将 0、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 浓度为 100 mg/L 的单宁酸标准溶液加入 50 mL 容量瓶中, 重复上述操作, 得到标准曲线。

棉酚含量的测定采用苯胺比色法(Pons et al., 1958)。吸取3-氨基-1-丙醇2 mL和冰乙酸10 mL于100 mL容量瓶中,冷却至室温,用N-N二甲基甲酰胺定容至刻度,即为混合试剂。准确量取0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 mL标准棉酚溶液于50 mL容量瓶中,分别用混合试剂补充至10 mL,同时用10 mL混合试剂作为空白对照,将全部容量瓶于100℃水浴30 min,冷却后用异丙醇-己烷混合液(体积比3:2)定容至刻度并充分混匀。量取双份上述稀释液(包括空白)各2 mL于25 mL容量瓶中,其中一份加入苯胺2 mL,于100℃水浴中放置30 min,冷却至室温,然后将2份溶液再各用异丙醇-己烷混合液(体积比3:2)定容至刻度,混匀后于室温下放置1 h,在440 nm处测定吸光度,以不含苯胺的空白溶液作为参比溶液,测定各试剂的空白吸光度,以加入苯胺的空白液为参比溶液,测定各标准溶液的吸光度。每个标准溶液的吸光度减去对应空白液的吸光度得到校正吸光度。称量1 g棉叶样品于研钵中,液氮研磨后置于250 mL具塞玻璃瓶中,加入50 mL混合试剂,塞紧瓶塞,摇匀后静置过夜。中性滤纸过滤,滤液收集于具塞玻璃瓶中为待测溶液。取2 mL待测溶液用于棉酚含量的测定,步骤同标准曲线的制备至校正吸光度的获得。查标准曲线得到样品中棉酚含量。

1.2.4 棉田昆虫种类和数量的调查

棉田昆虫群落主要包括害虫亚群落和天敌亚群落。试验采用对角线五点取样方法(Deguine et al., 2008),各处理棉田从5月上旬开始至8月底,每5 d

调查1次主要害虫及其天敌的种群数量。每小区每次调查5个样点,每点随机顺行连续调查5株棉花。详细调查取样范围内地面和植株上昆虫的种类和数量。棉田昆虫参照昆虫分类学标准进行分类,并统计分析各棉田昆虫群落的结构与组成(科、目、种和个体数量);个体总数用 N 表示, $N=\sum N_i$,其中 N_i 表示第 i 个物种的总数;多样性指数(H)用Shannon-Wiener多样性指数表示: $H=-\sum P_i \ln P_i$,式中 P_i 为第 i 种物种个体数占群落个体数的比例;均匀性指数(J), $J=H/\ln S$, H 为实际观察的物种多样性指数, S 为群落中总物种数;优势集中性指数 $C=\sum P_i^2$ 。

1.3 数据分析

运用SPSS 17.0软件对所有数据进行单因素方差分析,应用Duncan氏新复极差法检验同一时期不同处理间(包括转基因处理和亲本对照、施药处理和不施药处理)棉花的生长参数、生理生化指标和昆虫相关参数的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 转耐盐碱基因和施药对棉花农艺性状的影响

在棉花生长的关键时期苗期、蕾期和花铃期,与非转基因棉花相比,无论是否施药,耐盐碱基因的转入对棉花叶面积均无显著影响;与施药处理相比,不施药条件下2种棉花的叶面积也未发生明显变化(表1)。表明耐盐基因转入后,未引起棉花叶面积的变化;棉花害虫防治过程中的施药措施也对棉花叶面积无显著影响。

表1 转耐盐碱基因和施药对棉花叶面积的影响

Table 1 Effects of the salt-tolerant transgenic cotton and pesticide treatment on cotton leaf area

cm²

棉花品种 Cotton variety	施药处理 Pesticide treatment	2014			2015		
		苗期 Seedling stage	蕾期 Budding stage	花铃期 Flowering and bollforming stage	苗期 Seedling stage	蕾期 Budding stage	花铃期 Flowering and bollforming stage
13018 中9807 Zhong 9807	不施药 No	16.09±1.03 a	79.16±4.58 a	91.39±1.41 a	20.10±4.67 a	62.15±8.35 a	73.50±8.57 a
		18.20±1.33 a	81.24±2.58 a	78.42±10.83 a	20.08±1.71 a	62.97±3.13 a	78.03±8.79 a
13018 中9807 Zhong 9807	施药 Yes	19.38±2.24 a	83.13±9.13 a	93.17±3.36 a	24.88±4.03 a	70.21±7.45 a	80.32±6.75 a
		19.36±0.20 a	81.93±2.08 a	87.11±7.01 a	26.97±4.35 a	74.59±7.24 a	80.22±8.54 a

表中数据为平均数±标准差。同列数据后不同字母表示经Duncan氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SD. Different letters in the same column indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

在棉花生长的苗期、蕾期和花铃期,与非转基因棉花相比,无论是否施药,转耐盐碱基因棉花叶片干重均没有显著变化;与施药处理相比,不施药

条件下2种棉花的叶片干重也均无显著差异(表2)。表明转耐盐碱基因和施药处理对棉花叶片干重的影响较小。

表2 转耐盐碱基因和施药对棉花叶片干重的影响

Table 2 Effects of the salt-tolerant transgenic cotton and pesticide treatment on leaf dry weight

g

棉花品种 Cotton variety	施药处理 Pesticide treatment	2014			2015		
		苗期 Seedling stage	蕾期 Budding stage	花铃期 Flowering and bollforming stage	苗期 Seedling stage	蕾期 Budding stage	花铃期 Flowering and bollforming stage
13018	不施药 No	0.09±0.01 a	0.32±0.02 a	0.37±0.01 a	0.09±0.03 a	0.29±0.03 a	0.31±0.03 a
中9807		0.08±0.01 a	0.32±0.00 a	0.33±0.05 a	0.07±0.03 a	0.27±0.03 a	0.31±0.02 a
Zhong 9807							
13018	施药 Yes	0.09±0.01 a	0.33±0.02 a	0.37±0.02 a	0.17±0.09 a	0.37±0.09 a	0.32±0.04 a
中9807		0.09±0.01 a	0.32±0.01 a	0.36±0.03 a	0.20±0.03 a	0.40±0.03 a	0.29±0.02 a
Zhong 9807							

表中数据为平均数±标准差。同列数据后不同字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SD. Different letters in the same column indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

不施药条件下,转耐盐碱基因棉花在2014年花铃期的蕾数较非转基因棉花显著减少72.19%,花铃期大铃数显著增加86.97%;在2015年蕾期的蕾数较非转基因棉花显著增加115.67%。施药条件下,转耐盐碱基因棉花在2014年花铃期的蕾数较非转基因

棉花显著减少84.77%,小铃数显著减少66.87%,而大铃数则显著增加64.76%;在2015年蕾期的蕾数较非转基因棉花显著增加59.93%,花铃期大铃数显著增加45.06%(表3)。其余时期和参数在施药和不施药、转耐盐碱基因和非转基因棉花间均无显著差异。

表3 转耐盐碱基因和施药对单株棉花产量构成性状的影响

Table 3 Effects of the salt-tolerant transgenic cotton and pesticide treatment on agronomic characters of the plant

年份 Year	棉花品种 Cotton variety	施药处理 Pesticide treatment	苗期 Seedling stage		蕾期 Budding stage			花铃期 Flowering and bollforming stage			
			株高 Plant height (cm)	叶片数 No. of leaves	株高 Plant height (cm)	叶片数 No. of leaves	蕾数 No. of buds	果枝数 No. of fruiting branches	蕾数 No. of buds	大铃数 No. of big bolls	小铃数 No. of young bolls
2014	13018	不施药 No	25.77±	11.10±	81.30±	14.47±	13.03±	11.13±	1.41±	12.77±	1.57±
	中9807		0.35 a	0.80 a	1.31 a	0.29 a	1.65 a	0.76 a	0.62 b	1.03 a	0.68 ab
	Zhong 9807		27.83±	10.80±	82.13±	14.00±	10.20±	9.00±	5.07±	6.83±	2.93±
			1.37 a	0.30 a	3.75 a	0.30 a	0.95 a	0.53 a	1.74 a	2.92 b	0.23 a
	13018	施药 Yes	28.10±	11.03±	83.73±	14.63±	11.23±	11.23±	0.67±	13.23±	1.07±
	中9807		1.01 a	0.40 a	3.37 a	0.29 a	0.80 a	0.74 a	0.49 b	2.14 a	0.35 b
	Zhong 9807		28.17±	10.57±	81.33±	14.47±	10.03±	10.13±	4.40±	8.03±	3.23±
			2.82 a	0.31 a	0.76 a	1.17 a	2.28 a	1.11 a	0.92 a	2.48 b	0.42 a
年份 Year	棉花品种 Cotton variety	施药处理 Pesticide treatment	苗期 Seedling stage		蕾期 Budding stage			花铃期 Flowering and bollforming stage			
			株高 Plant height (cm)	叶片数 No. of leaves	株高 Plant height (cm)	叶片数 No. of leaves	蕾数 No. of buds	果枝数 No. of fruiting branches	蕾数 No. of buds	大铃数 No. of big bolls	小铃数 No. of young bolls
2015	13018	不施药 No	11.11±	8.23±	62.07±	9.13±	19.13±	11.70±	11.00±	5.53±	5.90±
	中9807		3.94 a	1.20 a	13.66 a	2.11 a	3.25 a	2.43 a	3.11 a	2.76 bc	1.18 a
	Zhong 9807		9.97±	7.33±	49.70±	6.10±	8.87±	8.60±	8.00±	2.40±	4.67±
			2.20 a	0.67 a	9.88 a	1.76 a	3.19 c	1.05 a	0.72 a	0.35 c	0.61 a
	13018	施药 Yes	14.11±	8.27±	63.30±	13.67±	23.03±	12.00±	6.50±	8.37±	6.27±
	中9807		1.40 a	0.58 a	5.87 a	3.20 a	0.23 a	3.46 a	5.99 a	1.14 a	1.40 a
	Zhong 9807		12.65±	7.40±	57.83±	11.97±	14.40±	10.27±	7.53±	5.77±	6.57±
			1.27 a	0.61 a	8.56 a	3.65 a	1.14 b	3.16 a	1.50 a	0.81 b	0.38 a

表中数据为平均数±标准差。同列数据后不同字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SD. Different letters in the same column indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

2.2 转耐盐碱基因和施药对棉花单株成铃的影响

2014年和2015年的9月对不同处理棉田的测产结果表明,与非转基因棉花相比,在施药和不施药条件下,2014年转耐盐碱基因棉花的单株大铃数分别增加4.47%和12.65%,单株小铃数分别增加

18.39%和128.46%,但差异不显著;2015年转耐盐碱基因棉花的单株大铃数分别显著增加59.51%和81.94%,而单株小铃数则无显著差异(表4)。表明转耐盐碱基因棉花较非转基因棉花具有较高的产量潜力。

表4 转耐盐碱基因和施药对棉花单株成铃的影响

Table 4 Effects of the salt-tolerant transgenic cotton and pesticide treatment on the cotton boll

棉花品种 Cotton variety	施药处理 Pesticide treatment	2014		2015	
		大铃数	小铃数	大铃数	小铃数
		No. of big bolls	No. of young bolls	No. of big bolls	No. of young bolls
13018	不施药	16.03±1.18 a	2.97±1.53 a	17.83±1.36 a	0.90±0.61 a
中9807 Zhong 9807	No	14.23±0.65 a	1.30±0.36 a	9.80±2.71 b	2.37±0.65 a
13018	施药	16.37±1.08 a	1.03±0.25 a	18.20±3.29 a	0.53±0.31 a
中9807 Zhong 9807	Yes	15.67±1.32 a	0.87±0.06 a	11.41±1.14 b	0.41±0.10 a

表中数据为平均数±标准差。同列数据后不同字母表示经Duncan氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SD. Different letters in the same column indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

2.3 转耐盐碱基因和施药对棉花生理生化指标的影响

在棉花生长的苗期、蕾期和花铃期,与非转基因棉花相比,转耐盐碱基因棉花叶片中蛋白质、可溶性糖、氨态氮、单宁和棉酚含量均无显著差异;与施药处理相比,不施药条件下这几种生理生化指标的含量也未发生显著变化(表5)。表明外源耐盐碱基因的导入和化学农药的使用,对棉花叶片中蛋白质、可溶性糖、氨态氮、单宁和棉酚含量影响较小。

2.4 转耐盐碱基因和施药对棉田生物多样性的影响

在棉花生长的苗期、蕾期和花铃期,与非转基因棉花相比,转耐盐碱基因棉田节肢动物个体总数、群落多样性指数、均匀性指数、优势集中性指数和物种数在施药和不施药条件下均无显著差异。2014年和2015年,施药处理的13018、中9807棉田的昆虫群落的多样性指数分别为0.67、0.68和0.62、0.49,分别显著低于相应不施药处理棉田的0.80、0.77和0.72、0.64。害虫亚群落与昆虫群落相似,施药后多样性指数也显著降低,表明施药能导致2种棉田昆虫群落和害虫亚群落多样性指数显著降低。2014年和2015年,施药处理的13018、中9807棉田昆虫群落的优势集中性指数分别为0.37、0.35和0.48、0.59,分别显著高于相应不施药处理棉田的0.25、0.27和0.38、0.43,害虫亚群落与昆虫群落相似,施药后优势集中性指数显著升高,说明施药处理后优势集中性指数显著升高(表6)。表明施药对棉田害虫的杀伤力较大,对整个节肢动物群落稳定性影响较大,而不施药棉田节肢动物群落的稳定性较高。

3 讨论

生长发育和产量的潜力,是一个新型性状棉花的重要发展指标。本试验中,在棉花生长的关键时期苗期、蕾期和花铃期,无论是否施药,耐盐碱基因的转入对棉花叶面积、叶片干重、株高以及产量构成性状中的叶片数、果枝数均无显著影响,虽然部分参数在2个棉花品种间有显著差异,如2014年,在施药和不施药2种处理下,转耐盐碱基因棉田中花铃期的蕾数均显著低于亲本对照棉田,而2015年,转耐盐碱基因棉田中花铃期的蕾数与亲本对照棉田无显著差异;2014年,在施药和不施药2种处理下,转耐盐碱基因棉田中花蕾期的蕾数与对照棉田无显著差异,而2015年,则显著高于对照棉田,本研究结果表明,耐盐碱基因转入棉花后,棉花的生长势没有表现出明显的优势,对产量构成性状只在蕾期或花铃期表现出蕾数显著增加,可见在耐盐碱品种培育方面具有一定的应用潜力。

外源基因的导入可能会打破植物原有的代谢程序和代谢途径,从而可能会改变植株内其它主要生化物质含量。如武予清等(2000)研究了转*Bt*基因棉花品系R93-4及R93-1中缩合单宁和总酚的变化情况,发现2种次生物质的含量与对照相比存在显著差异;张永军和郭予元(2000)采用高效液相色谱法测定转*Bt*基因棉花中缩合单宁的变化,发现3叶期到花铃期转*Bt*基因棉花的缩合单宁含量显著低于对照品种,在一些组织器官中缩合单宁含量减少达30%,上述结果表明*Bt*基因转入后能显著影响棉

株体内次生物质的合成与代谢。雒珺瑜等(2017)对转 *Cry1Ac*、转 *Cry1Ac*+*Cry2Ab*、非转基因棉花叶片中蛋白质、铵态氮、脯氨酸3种营养物质和棉酚、单宁2种次生代谢物质含量进行测定,未发现上述5种物质在3种棉花叶片中存在显著差异,表明外源基

因导入未引起棉花营养物质和次生代谢物质的显著变化。由于转基因棉花品种的多样性以及外源基因导入方式的不同,转基因棉花体内营养物质与次生物质的含量也不尽相同。

表5 转耐盐碱基因和施药对棉花叶片主要生理生化指标含量的影响

Table 5 Effects of the salt-tolerant transgenic cotton and pesticide treatment on the main physiological and biochemical indexes of cotton leaves

生长期 Growing stage	棉花品种 Cotton variety	施药处理 Pesticide treatment	2014					2015				
			蛋白 Protein (mg/g)	可溶性糖 Soluble sugar (mg/g)	铵态氮 Ammonia nitrogen (g/100 g)	单宁 Tannin (mg/g)	棉酚 Gossypol (mg/g)	蛋白 Protein (mg/g)	可溶性糖 Soluble sugar (mg/g)	铵态氮 Ammonia nitrogen (g/100 g)	单宁 Tannin (mg/g)	棉酚 Gossypol (mg/g)
苗期 Seedling stage	13018	不施药	26.36±	13.56 ±	0.07 ±	0.83 ±	0.56 ±	28.59±	5.83±	0.04±	1.03±	0.71±
	中9807	No	3.43 a	0.41 a	0.03 a	0.27 a	0.21 a	2.31 a	1.40 a	0.01 a	0.33 a	0.09 a
	Zhong		27.86±	14.96±	0.09±	1.13±	0.57±	29.18±	5.47±	0.04±	1.24±	0.84±
	9807		1.87 a	0.68 a	0.01 a	0.13 a	0.15 a	1.05 a	1.40 a	0.01 a	0.32 a	0.23 a
	13018	施药	24.12±	15.63±	0.07±	0.93±	0.56±	29.67±	4.56±	0.03±	1.33±	0.82±
	中9807	Yes	4.29 a	2.88 a	0.03 a	0.53 a	0.18 a	1.14 a	1.60 a	0.00 a	0.12 a	0.20 a
	Zhong		26.08±	16.37±	0.09±	1.26±	0.53±	29.29±	5.62±	0.04±	1.30±	0.81±
	9807		1.86 a	0.56 a	0.01 a	0.26 a	0.01 a	0.53 a	1.34 a	0.01 a	0.40 a	0.20 a
蕾期 Budding stage	13018	不施药	22.31±	11.47±	0.04±	5.27±	0.69±	25.04±	16.44±	0.05±	2.64±	0.82±
	中9807	No	1.23 a	0.41 a	0.02 a	1.37 a	0.09 a	0.44 a	6.61 a	0.01 a	0.22 a	0.14 a
	Zhong		24.00±	12.36±	0.04±	6.12±	0.76±	24.05±	12.76±	0.04±	3.53±	0.80±
	9807		1.28 a	0.95 a	0.02 a	1.19 a	0.28 a	5.28 a	4.19 a	0.02 a	0.46 a	0.14 a
	13018	施药	19.84±	9.73±	0.04±	4.88±	0.70±	26.76±	14.26±	0.06±	2.87±	0.74±
	中9807	Yes	4.89 a	1.15 a	0.02 a	0.68 a	0.08 a	0.52 a	2.96 a	0.00 a	0.42 a	0.15 a
	Zhong		18.74±	11.00±	0.04±	5.92±	0.67±	25.23±	16.97±	0.04±	3.10±	0.74±
	9807		0.93 a	0.06 a	0.00 a	0.58 a	0.07 a	0.85 a	5.02 a	0.01 a	0.47 a	0.12 a
花铃期 Flowering and boll-forming stage	13018	不施药	27.39±	13.47±	0.14±	2.38±	0.57±	26.05±	12.68±	0.05±	3.66±	0.89±
	中9807	No	0.69 a	2.48 a	0.04 a	0.86 a	0.31 a	3.70 a	0.96 a	0.02 a	0.36 a	0.11 a
	Zhong		24.84±	16.11±	0.16±	3.39±	0.43±	24.09±	14.0±	0.06±	3.77±	0.88±
	9807		2.06 a	0.70 a	0.03 a	1.41 a	0.19 a	1.82 a	1.36 a	0.01 a	0.36 a	0.09 a
	13018	施药	28.54±	16.39±	0.15±	2.89±	0.60±	29.96±	13.74±	0.06±	2.84±	0.89±
	中9807	Yes	2.20 a	4.83 a	0.03 a	0.94 a	0.38 a	1.08 a	3.06 a	0.01 a	0.28 a	0.10 a
	Zhong		30.40±	16.44±	0.21±	2.19±	0.73±	27.40±	12.81±	0.05±	3.39±	0.82±
	9807		2.94 a	1.18 a	0.04 a	0.70 a	0.65 a	1.46 a	1.59 a	0.01 a	0.17 a	0.07 a

表中数据为平均数±标准差。同一生育期同列不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SD. Different letters in the same column at same growing stage indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

新型转基因棉花种植后,为了表达目的性状,植株体内其它营养物质、次生代谢产物可能会因此而改变,从而引起植食性昆虫的变化,由于食物链关系必然会引起昆虫群落内部害虫和天敌种群动态的变化,进而引起昆虫群落的种类发生时空变化及优势种群的演替,本试验对5种生理生化指标的含量进行了测定,以明确耐盐碱基因的转入对棉花体内生

理生化指标的影响规律,进而解释棉田昆虫群落的变化,结果表明,新型转耐盐碱基因棉花苗期、蕾期和花铃期叶片中可溶性蛋白、可溶性糖、铵态氮、棉酚和单宁的含量与非转基因棉花无显著差异。植食性昆虫主要的物质来源是其经常取食的寄主植物,且每个昆虫在食物网和食物链中都是一个很关键的节点和生态位点,一种昆虫种群或生态位如果发生

改变,则可能会引起昆虫群落内部种间和种内种群动态的时空及生态位上的变化(雒珺瑜等,2016c)。因此转入耐盐基因后,对原有棉花植株体内其它物

质包括次生代谢物质的影响规律及其代谢机制需要进一步研究分析,以便更系统、更充分地阐述棉田昆虫群落内各种优势种群演替的规律。

表 6 转耐盐碱基因和施药对棉田生物多样性的影响

Table 6 Effects of the salt-tolerant transgenic cotton and pesticide treatment on biological diversity

参数 Parameter	营养层 Nutritional layer	2014				2015			
		不施药		施药		不施药		施药	
		Non-pesticide		Pesticide		Non-pesticide		Pesticide	
		13018	中 9807 Zhong 9807	13018	中 9807 Zhong 9807	13018	中 9807 Zhong 9807	13018	中 9807 Zhong 9807
个体总数 No. of individuals	昆虫群落 Insect community	67 350± 3 807 a	66 751± 4 124 a	49 696± 4 517 a	56 899± 2 187 a	171 492± 7 296 a	177 750± 27 527 a	157 575± 55 362 a	152 978± 4 733 a
	害虫亚群落 Pest sub-community	62 151± 3 115 a	60 883± 3 979 a	44 578± 4 399 a	51 939± 2 017 a	154 812± 6 437 a	167 638± 27 257 a	146 436± 54 362 a	142 605± 4 708 a
	天敌亚群落 Natural enemy sub-community	5 200± 693 a	5 868± 208 a	5 118± 339 a	4 960± 187 a	16 680± 4 496 a	10 112± 643 a	11 139± 1 001 a	10 373± 71 a
多样性指数 Diversity index	昆虫群落 Insect community	0.80± 0.02 a	0.77± 0.01 a	0.67± 0.02 b	0.68± 0.04 b	0.72± 0.02 a	0.64± 0.04 a	0.62± 0.10 b	0.49± 0.01 b
	害虫亚群落 Pest sub-community	0.62± 0.02 a	0.60± 0.01 a	0.51± 0.01 b	0.53± 0.02 b	0.58± 0.03 a	0.51± 0.03 ab	0.47± 0.08 bc	0.37± 0.01 c
	天敌亚群落 Natural enemy sub-community	1.09± 0.04 a	1.08± 0.71 a	0.98± 0.01 a	1.07± 0.03 a	1.04± 0.06 a	1.02± 0.04 a	1.01± 0.02 a	1.00± 0.04 a
均匀性指数 Evenness index	昆虫群落 Insect community	0.17± 0.01 a	0.16± 0.00 a	0.14± 0.01 a	0.14± 0.01 a	0.14± 0.01 a	0.12± 0.01 a	0.12± 0.02 a	0.09± 0.00 a
	害虫亚群落 Pest sub-community	0.13± 0.01 a	0.13± 0.00 a	0.11± 0.00 a	0.11± 0.00 a	0.11± 0.01 a	0.10± 0.01 a	0.09± 0.02 a	0.07± 0.00 a
	天敌亚群落 Natural enemy sub-community	0.29± 0.02 a	0.28± 0.20 a	0.26± 0.00 a	0.28± 0.01 a	0.25± 0.00 a	0.26± 0.01 a	0.25± 0.00 a	0.25± 0.01 a
优势集中性指数 Dominant concentration	昆虫群落 Insect community	0.25± 0.02 b	0.27± 0.01 b	0.37± 0.02 a	0.35± 0.01 a	0.38± 0.03 b	0.43± 0.02 b	0.48± 0.01 a	0.59± 0.01 a
	害虫亚群落 Pest sub-community	0.31± 0.02 b	0.33± 0.01 b	0.43± 0.02 a	0.40± 0.03 a	0.43± 0.03 b	0.48± 0.02 b	0.59± 0.06 a	0.66± 0.01 a
	天敌亚群落 Natural enemy sub-community	0.11± 0.01 a	0.12± 0.01 a	0.14± 0.01 a	0.17± 0.37 a	0.15± 0.02 a	0.14± 0.01 a	0.13± 0.00 a	0.14± 0.01 a
物种数 Species number	昆虫群落 Insect community	46.67± 0.58 a	51.00± 2.00 a	43.33± 0.58 a	45.00± 1.00 a	65.34± 1.53 a	65.0± 1.00 a	62.67± 2.65 a	62.67± 2.31 a
	害虫亚群落 Pest sub-community	17.67± 0.58 a	19.33± 1.53 a	18.00± 1.00 a	19.33± 1.15 a	31.67± 2.08 a	33.33± 1.15 a	30.67± 4.04 a	32.00± 2.00 a
	天敌亚群落 Natural enemy sub-community	29.00± 1.00 a	31.67± 1.53 a	25.33± 0.58 a	25.67± 0.58 a	33.67± 1.53 a	31.67± 2.89 a	32.00± 1.00 a	30.67± 1.15 a

表中数据为平均数±标准差。同一年份下同行不同小写字母表示不同处理间经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SD. Different letters in the same row among different treatments in the same year indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

从群落能流学角度考虑,昆虫群落多样性越高,其食物链和食物网关系越复杂,群落内能流途径越

多,即使某条能流途径受到干扰而被堵塞,其它能流线路也会及时给予补偿,这样的昆虫群落优势种不

太突出,不容易造成害虫大发生。本试验条件下,与非转基因亲本棉花田相比,转耐盐碱基因棉田节肢动物群落生物多样性无显著差异,这与有关转 *Bt*(刘万学等,2002)、*Bt+CpTI*(张征田等,2007)、*CryIAc+Cry2Ab*(雒珺瑜等,2011;2014a)、*RRM2*(雒珺瑜等,2014b)、*ACO2*(雒珺瑜等,2016a)、*GAFP*(雒珺瑜等,2016b)基因棉花对棉田节肢动物群落影响的研究结果一致。本试验对昆虫群落、害虫亚群落和天敌亚群落的生物多样性参数进行了比较和分析,但是这些参数的比较均是建立在整个调查时期的数据之上,是一个总体上的比较,因此没有具体地反应出每种昆虫的发生动态和消长动态。不同昆虫(害虫和天敌)的动态变化在转基因和非转基因植株间可能会有差异,如果概括地统计昆虫群落的动态变化可能会掩盖不同昆虫的差异,即分析尺度的大小也有可能不同程度地影响不同昆虫的差异。如抗虫棉田中虽然靶标害虫数量显著下降,但生境内其它害虫的种群数量有可能会上升,如蚜虫种群数量(Hagenbucher et al., 2013)、绿盲蝽种群数量(Lu et al., 2008; 2010; Lu & Wu, 2011)。因此,对生态系统中昆虫的影响研究不仅要开展群落演替研究,还需要对该生态系统中的主要物种或者稀有物种进行深入调查,同时还需要结合不同地区棉田小气候、常规农事操作等因素分析各个物种在不同时间和空间上的变化。

本试验条件下,施药和不施药处理棉田昆虫差异不显著,表明棉田生物群落生态系统具有较好的生物链功能,同时未引起棉花生长发育和产量形成相关参数的显著差异。因此在“减肥减药”的大背景下,应在产量和效益基本相当的前提下考虑少用药。当然,本试验是在同一块试验地完成调查和测试的,试验面积相对较小,对于棉田小气候形成不利,可能干扰了棉田各类害虫的发生为害。而生产上是大面积连片种植,形成的棉田小气候容易使某些害虫发生为害或天敌保护增殖等,在一定程度上与小面积的试验田造成的影响有一定差异,需要实时监测和及时防治。

致谢:中国农业科学院棉花研究所抗逆鉴定课题组提供棉花品种并给予帮助,特此致谢!

参 考 文 献 (References)

- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1/2): 248–254
- Deguine JP, Ferron P, Russell D. 2008. Sustainable pest management for cotton production: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 28(1): 113–137
- Feng ZL, Li ZF, Shi YQ, Zhao LH, Zhu HQ. 2015. Effects of the *PCD* transgenic cotton on cotton main diseases, pests and natural enemies of insects. *Journal of Plant Protection*, 42(4): 671–672 (in Chinese) [冯自力, 李志芳, 师勇强, 赵丽红, 朱荷琴. 2015. 转 *PCD* 基因棉花对棉田主要病害、虫害及天敌的影响. *植物保护学报*, 42(4): 671–672]
- Fitt GP, Mares CL, Llewellyn DJ. 1994. Field evaluation and potential ecological impact of transgenic cottons (*Gossypium hirsutum*) in Australia. *Biocontrol Science and Technology*, 4(4): 535–548
- Folin O, Denis W. 1915. A colorimetric method for the determination of phenols (and phenol derivatives) in urine. *Journal of Biological Chemistry*, 22(2): 305–308
- Guo SD, Wang Y, Sun GQ, Jin SQ, Zhou T, Meng ZG, Zhang R. 2015. Twenty years of research and application of transgenic cotton in China. *Scientia Agricultura Sinica*, 48(17): 3372–3387 (in Chinese) [郭三堆, 王远, 孙国清, 金石桥, 周焄, 孟志刚, 张锐. 2015. 中国转基因棉花研发应用二十年. *中国农业科学*, 48(17): 3372–3387]
- Hagenbucher S, Wäckers FL, Wettstein FE, Olson DM, Ruberson JR, Romeis J. 2013. Pest trade-offs in technology: reduced damage by caterpillars in Bt cotton benefits aphids. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1758): 20130042
- Jiang WL, Ma XY, Ren XL, Peng J, Ma YJ, Ma Y. 2016. Effects of glufosinate on the growth and development of transgenic glufosinate-resistant cotton. *Journal of Biosafety*, 25(4): 286–290 (in Chinese) [姜伟丽, 马小艳, 任相亮, 彭军, 马亚杰, 马艳. 2016. 除草剂草铵膦对转基因抗草铵膦棉花生长发育的影响. *生物安全学报*, 25(4): 286–290]
- Li JG, Pu LJ, Zhu M, Zhang RS. 2012. The present situation and hot issues in the salt-affected soil research. *Acta Geographica Sinica*, 67(9): 1233–1245 (in Chinese) [李建国, 濮励杰, 朱明, 张润森. 2012. 土壤盐渍化研究现状及未来研究热点. *地理学报*, 67(9): 1233–1245]
- Liu HY, Wang HH, Cui CH, Wang M, Guo JJ, Wen ZP, Li AQ. 2013. Experiment improvement of the soluble sugar content determination by enthrone colorimetric method. *Laboratory Science*, 16(2): 19–20 (in Chinese) [刘海英, 王华华, 崔长海, 王曼, 郭净净, 文昭普, 李安琪. 2013. 可溶性糖含量测定(蒽酮法)实验的改进. *实验室科学*, 16(2): 19–20]
- Liu WX, Wan FH, Guo JY. 2002. Structure and seasonal dynamics of arthropods in transgenic Bt cotton field. *Acta Ecologica Sinica*, 22(5): 729–735 (in Chinese) [刘万学, 万方浩, 郭建英. 2002. 转 Bt 基因棉田节肢动物群落营养层及优势功能团的组成与变化. *生态学报*, 22(5): 729–735]
- Lu YH, Qiu F, Feng HQ, Li HB, Yang ZC, Wyckhuys KAG, Wu KM. 2008. Species composition and seasonal abundance of pestiferous plant bugs (Hemiptera: Miridae) on Bt cotton in China. *Crop Protection*, 27(3/4/5): 465–472
- Lu YH, Wu KM. 2011. Mirid bugs in China: pest status and management strategies. *Outlooks on Pest Management*, 22(6): 248–252
- Lu YH, Wu KM, Jiang YY, Guo YY, Desneux N. 2012. Widespread adoption of Bt cotton and insecticide decrease promotes biocon-

- trol services. *Nature*, 487(7407): 362–365
- Lu YH, Wu KM, Jiang YY, Xia B, Li P, Feng HQ, Wyckhuys KAG, Guo YY. 2010. Mirid bug outbreaks in multiple crops correlated with wide-scale adoption of Bt cotton in China. *Science*, 328(5982): 1151–1154
- Lü WX, Ge Y, Wu JZ, Chang G. 2004. Study on the method for the determination of nitric nitrogen, ammoniacal nitrogen and total nitrogen in plant. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 24(2): 204–206 (in Chinese) [吕伟仙, 葛建, 吴建之, 常杰. 2004. 植物中硝态氮、氨态氮、总氮测定方法的比较研究. *光谱学与光谱分析*, 24(2): 204–206]
- Luo JY, Cui JJ, Zhang S, Lu XJ. 2011. Effects of transgenic cotton with *cry1Ac* plus *cry2Ab* on arthropod communities. *Plant Protection*, 37(6): 90–92, 111 (in Chinese) [雒珺瑜, 崔金杰, 张帅, 陆雪君. 2011. 转 *cry1Ac+cry2Ab* 基因棉对棉田节肢动物群落的影响. *植物保护*, 37(6): 90–92, 111]
- Luo JY, Liu CL, Zhang S, Wang CY, Lü LM, Li CH, Li FG, Cui JJ. 2014b. Growth vigour and yield of transgenic *RRM2* (RNA recognition motif 2) cotton and their effects on arthropod community in cotton field. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 38(7): 785–794 (in Chinese) [雒珺瑜, 刘传亮, 张帅, 王春义, 吕丽敏, 李春花, 李付广, 崔金杰. 2014b. 转 *RRM2* 基因棉生长势和产量及对棉田节肢动物群落的影响. *植物生态学报*, 38(7): 785–794]
- Luo JY, Zhang S, Lü LM, Wang CY, Zhu XZ, Li CH, Cui JJ. 2014a. Effects of transgenic *Cry1Ac + Cry2Ab* on the cotton growth potential and arthropod species richness in cotton fields. *Journal of Biosafety*, 23(4): 256–264 (in Chinese) [雒珺瑜, 张帅, 吕丽敏, 王春义, 朱香镇, 李春花, 崔金杰. 2014a. 转 *Cry1Ac+Cry2Ab* 棉花生长势及其对棉田节肢动物物种丰富度的影响. *生物安全学报*, 23(4): 256–264]
- Luo JY, Zhang S, Lü LM, Wang CY, Zhu XZ, Li CH, Cui JJ. 2016a. Effects of transgenic *ACO2* cotton on growth characteristics and insect community. *Acta Ecologica Sinica*, 36(19): 6113–6121 (in Chinese) [雒珺瑜, 张帅, 吕丽敏, 王春义, 朱香镇, 李春花, 崔金杰. 2016a. 转 *ACO2* 基因优质棉生长特性及其对田间昆虫群落的影响. *生态学报*, 36(19): 6113–6121]
- Luo JY, Zhang S, Zhu XZ, Lü LM, Wang CY, Cui JJ. 2017. Effects of transgenic *Cry1Ac+Cry2Ab* cotton on biochemical substances and insects. *Journal of Biosafety*, 26(2): 144–151 (in Chinese) [雒珺瑜, 张帅, 朱香镇, 吕丽敏, 王春义, 崔金杰. 2017. 转 *Cry1Ac+Cry2Ab* 基因棉花主要生化物质含量变化及其对棉田昆虫的影响. *生物安全学报*, 26(2): 144–151]
- Luo JY, Zhang S, Zhu XZ, Lü LM, Wang CY, Li CH, Zhang LJ, Wang L, Cui JJ. 2016b. Ecological fitness and effects of transgenic *GFP* cotton on the growth of cotton and the field insect community. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 27(11): 3675–3681 (in Chinese) [雒珺瑜, 张帅, 朱香镇, 吕丽敏, 王春义, 李春花, 张利娟, 王丽, 崔金杰. 2016b. 转 *GFP* 基因棉花生态适合度及其对棉田昆虫群落的影响. *应用生态学报*, 27(11): 3675–3681]
- Luo JY, Zhang S, Zhu XZ, Wang CY, Lü LM, Li CH, Cui JJ. 2016c. Insect community diversity in transgenic *Bt* cotton in saline and dry soils. *Biodiversity Science*, 24(3): 332–340 (in Chinese) [雒珺瑜, 张帅, 朱香镇, 王春义, 吕丽敏, 李春花, 崔金杰. 2016c. 盐碱旱地转基因抗虫棉田昆虫群落多样性. *生物多样性*, 24(3): 332–340]
- Munns R, Tester M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59: 651–681
- Pons WA, Pittman RA, Hoffpauir CL. 1958. 3-amino-1-propanol as a complexing agent in the determination of total gossypol. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 35(2): 93–97
- Ren YF, Wang T, Peng YF, Xia B, Qu LJ. 2009. Distinguishing transgenic from non-transgenic *Arabidopsis* plants by ¹H NMR-based metabolic fingerprinting. *Journal of Genetics and Genomics*, 36(10): 621–628
- Sun HW, Li F, Yang SK, Lu XB. 2012. Effects of disease-resistance cotton modified with *Chi* and *Glu* gene on main pests and their natural enemies in cotton fields. *China Cotton*, 39(9): 23–26 (in Chinese) [孙红炜, 李凡, 杨淑珂, 路兴波. 2012. 转 *Chi* 和 *Glu* 基因抗病棉花对棉田主要害虫和天敌的影响. *中国棉花*, 39(9): 23–26]
- Wang CS, Dong SW, Gu MF, Chen SB. 1987. Analysis of tannin content in several insect resistant cotton lines. *China Cotton*, (2): 22–24 (in Chinese) [王朝生, 董顺文, 辜明芳, 陈素彬. 1987. 几组棉花抗虫品系单宁含量分析. *中国棉花*, (2): 22–24]
- Wu YQ, Guo YY, Zeng QL. 2000. Preliminary testing of contents of total phenolics and condensed tannins in the Bt cotton. *Journal of Henan Agricultural University*, 34(2): 134–135, 138 (in Chinese) [武予清, 郭予元, 曾庆龄. 2000. 转 Bt 基因棉单宁及总酚含量的初步测定. *河南农业大学学报*, 34(2): 134–135, 138]
- Xu Y, Wu KM, Li HB, Liu J, Ding RF, Wang F, Ahtam U, Li HQ, Wang DM, Chen XX. 2012. Effects of transgenic *Bt+CpTI* cotton on field abundance of non-target pests and predators in Xinjiang, China. *Journal of Integrative Agriculture*, 11(9): 1493–1499
- Yue YS, Zhang MC, Zhang JC, Tian XL, Duan LS, Li ZH. 2012. Overexpression of the *AtLOS5* gene increased abscisic acid level and drought tolerance in transgenic cotton. *Journal of Experimental Botany*, 63(10): 3741–3748
- Zhang H, Han B, Wang T, Chen SX, Li HY, Zhang YH, Dai SJ. 2012. Mechanisms of plant salt response: insights from proteomics. *Journal of Proteome Research*, 11(1): 49–67
- Zhang YJ, Guo YY. 2000. Interaction between condensed tannin and Bt crystal protein in cotton. *Acta Gossypii Sinica*, 12(6): 294–297 (in Chinese) [张永军, 郭予元. 2000. 棉花缩合单宁和 Bt 杀虫蛋白的交互关系. *棉花学报*, 12(6): 294–297]
- Zhang YJ, Wu KM, Peng YF, Guo YY. 2002. The ecological risks of genetically engineered plants. *Acta Ecologica Sinica*, 22(11): 1951–1959 (in Chinese) [张永军, 吴孔明, 彭于发, 郭予元. 2002. 转基因植物的生态风险. *生态学报*, 22(11): 1951–1959]
- Zhang ZT, Liang ZA, Wang MW, Du RQ. 2007. Time-space dynamic change of pests and their natural enemies in three types of cotton fields. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 35(22): 6856–6857, 6861 (in Chinese) [张征田, 梁子安, 王明伟, 杜瑞卿. 2007. 3 种不同类型棉田害虫与天敌时空动态变化. *安徽农业科学*, 35(22): 6856–6857, 6861]
- Zhu JK. 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 53(53): 247–273

(责任编辑:李美娟)