

# 土壤酶活性对大田单季种植转 Bt 基因及转双价棉花的响应

陈振华<sup>1,3</sup>, 孙彩霞<sup>2</sup>, 郝建军<sup>2</sup>, 陈利军<sup>1\*</sup>, 武志杰<sup>1</sup>

(1 中国科学院沈阳应用生态研究所 辽宁沈阳 110016; 2 东北大学理学院 辽宁沈阳 110004;  
3 中国科学院研究生院 北京 100039)

摘要: 利用田间试验, 以转 Bt 基因棉花 Z30、转双价(Bt + CpTI)棉花 SGK321 及其相应的等价基因 Z16、SY321 作为供试对象, 研究棉花种植后对土壤水解/氧化还原酶类活性的影响。结果表明, 转 Bt 棉花及转双价棉花的种植对各种土壤酶活性的影响不一致, 转 Bt 棉花及转双价棉花种植显著降低了土壤蛋白酶和脱氢酶活性( $P < 0.05$ )。转 Bt 棉花还显著降低了土壤脲酶活性( $P < 0.05$ ); 转双价棉花种植同时显著降低土壤磷酸二酯酶、 $\beta$ -葡萄糖苷酶、过氧化氢酶和硝酸还原酶活性( $P < 0.05$ )。棉花品种及转基因行为(转入基因类型)均未给土壤酸性磷酸单酯酶和 FDA 活性带来影响; 土壤芳基硫酸酯酶所受的影响主要来自于棉花品种自身。

关键词: 转基因作物; 棉花; 土壤酶; Bt; CpTI

中图分类号: S154.2      文献标识码: A      文章编号: 1008-505X(2009)05-1226-05

## Responses of soil enzymes to one-year planting transgenic Bt and Bt + CpTI cottons under field condition

CHEN Zhen-hua<sup>1,3</sup>, SUN Cai-xia<sup>2</sup>, HAO Jian-jun<sup>2</sup>, CHEN Li-jun<sup>1\*</sup>, WU Zhi-jie<sup>1</sup>

(1 Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China;  
2 School of Science, Northeastern University, Shenyang 110004, China;  
3 Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

**Abstract:** With “Z16” and “SY321” as near-isogenic counterparts respectively, soil hydrolase and oxidoreductase activities were studied in a field experiment by planting transgenic Bt cotton “Z30” and transgenic Bt + CpTI cotton “SGK321”. The results show that there are no consistent influences of transgenic Bt cotton and transgenic Bt + CpTI cotton on each soil enzyme activity. The activities of soil protease and dehydrogenase are both significantly reduced in the two transgenic cottons’ fields ( $P < 0.05$ ). Moreover, the activity of soil urease is significantly reduced in the transgenic Bt cotton field as well. The activities of soil phosphodiesterase,  $\beta$ -glucosidase, catalase and nitrate reductase are significantly reduced in the transgenic Bt + CpTI cotton field, while those in the transgenic Bt cotton field are not obviously changed. Neither cotton cultivars nor transgenic events (difference of modified genes) have effects on soil acid phosphomonoesterase and FDA hydrolysis activities; however, the effect on soil arylsulphatase activity is mainly from the difference of cotton cultivars.

**Key words:** transgenic crops; cotton; soil enzyme; Bt; CpTI

根据农业生物技术应用国际服务组织 (ISAAA) 公布, 中国转基因棉花生产面积在 2007 年达 380 × 10<sup>4</sup> hm<sup>2</sup>, 占全国棉花种植面积的 69%。商业化种植规模的扩大使公众更加关注转基因作物可能给环境

收稿日期: 2008-08-01      接受日期: 2008-10-06  
基金项目: 财政部农业部国家公益性行业科研专项计划项目“绿色农业科学研究与示范”(2007-3); 国家重点基础研究发展计划项目(2007CB109307)资助。  
作者简介: 陈振华(1978—), 女, 河南新乡人, 博士研究生, 主要从事土壤植物营养及酶学研究。  
Tel: 024-83970357, E-mail: eliachch@hotmail.com. \* 通讯作者 Tel: 024-83970355, E-mail: legendchen@yahoo.com.cn  
感谢沈阳农业大学齐华教授提供试验地并在棉花栽培管理上给予帮助, 特致谢意。

带来的负面效应,土壤生态系统是其所考虑的环境因素之一。转基因作物的外源基因及其表达产物通过根系分泌物或作物残茬进入土壤后,土壤中的特异生物功能类群以及土壤生物多样性都可能因此而发生改变;土壤中的生物体通过捕食、竞争或共生等相互影响,敏感生物的快速反应达到一定程度后,会引起其他生物的连锁反应,从而影响整个土壤生态系统<sup>[1]</sup>。遗传性状的多效性可能影响到植物的分解速率和碳、氮水平,进而影响土壤生物、生态过程和肥力水平<sup>[2]</sup>;转基因作物的长期种植会改变微生物新陈代谢途径,这关系到植物残茬的分解作用(C、N、P、S的矿化作用)、氨化作用、硝化作用、反硝化作用、酶合成和活性<sup>[3]</sup>。上述性状的变化均可以直接或间接地导致土壤生物学特性发生改变。

土壤酶活性与土壤生物学性质密切相关,由于其容易测定及其能够快速并灵敏地反映土壤管理和环境因素的变化,因此常被作为衡量土壤质量的有效指标<sup>[4-5]</sup>。有研究指出,如果转基因作物表达产物是蛋白质并且进入土壤,其在土壤中的去向、稳定性及土壤胞外酶的活性都应加以研究<sup>[6]</sup>。Jepson等<sup>[7]</sup>认为,土壤脲酶、脱氢酶和磷酸酶活性可以用作衡量转基因作物所表达的杀虫蛋白对土壤微生物产生影响的指标。实验室条件下,发现土壤脱氢酶对转基因行为反应敏感,其活性可以作为转 Bt 基因水稻生态安全风险评价的潜在指标<sup>[8]</sup>。种植转 Bt 基因水稻后,土壤脲酶、酸性磷酸酶、芳基硫酸酯酶和脱氢酶活性显著变化,变化幅度与土壤类型及水稻生长发育时间有关,但土壤蔗糖酶活性则无显著变化<sup>[9]</sup>。添加 Bt 棉花残体后,土壤脲酶、酸性磷酸单酯酶、蔗糖酶和木质素酶活性增高;但土壤芳基硫酸酯酶活性降低<sup>[10]</sup>。水稻土中添加转 Bt 基因水稻残体不影响土壤磷酸酶活性,但脱氢酶活性增加<sup>[11]</sup>。与亲本对照比,转基因 Bt 玉米添加培养前期显著提高了土壤脲酶活性,后期差别不大,而酸性磷酸酶、蛋白酶活性差异不显著<sup>[12]</sup>。盆栽试验苗期,转 Bt 基因 Z30 和双价(Bt + CpTI)基因棉花 Z41 的种植并未使土壤脲酶、蛋白酶、磷酸单酯酶、脱氢酶、过氧化氢酶和硝酸还原酶活性发生显著变化,而另外转双价(Bt + CpTI)棉花 SGK321 的种植使土壤磷酸单酯酶、脱氢酶、过氧化氢酶和硝酸还原酶活性显著下降<sup>[13-14]</sup>。与亲本对照比,转 Bt 基因水稻秸秆的添加对土壤蛋白酶、中性磷酸酶、脲酶没有显著影响<sup>[8]</sup>;添加 Bt 作物残体并未改变土壤蛋白酶、酸性和碱性磷酸酶、芳基硫酸酯酶及脱氢酶的活

性<sup>[15]</sup>。Bt 棉花添加残体或种植对土壤脲酶、磷酸酶、脱氢酶、酚氧化酶及蛋白酶没有显著影响<sup>[16]</sup>。转 Bt 基因水稻田间试验发现,不同生育期 Bt 水稻根际土壤脱氢酶、中性磷酸酶活性和对照间没有显著差别<sup>[17]</sup>。

综上所述,一方面转基因作物对土壤酶活性的影响目前尚无定论;另一方面这类研究缺乏田间条件下的研究结果。基于此,本试验选择转 Bt 基因和转双价(Bt + CpTI)基因棉花作为研究对象,探讨田间种植后它们对与碳、氮、磷、硫转化相关的土壤酶活性的影响,以期从土壤酶学角度为转基因作物土壤生态安全性评价提供信息。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验设计

田间试验于 2007 年于沈阳农业大学学生试验基地进行。该农场地处沈阳市东郊的天柱山南麓,土壤类型为草甸土,试验前连续种植多年玉米,未曾种植过任何转基因作物。试验处理包括转 Bt 基因(Z30)转双价(Bt + CpTI)基因(SGK321)棉花及其等价基因对照 Z16、SY321;供试棉花品种 Z16、Z30、SY321、SGK321 由中国农科院棉花种质资源中期库提供。Z30 转入苏云金芽孢杆菌基因片段,生长过程中表达 Bt 杀虫晶体蛋白;SGK321 转入苏云金芽孢杆菌及豇豆蛋白酶抑制剂基因片段,棉花生长过程中表达 Bt 杀虫晶体蛋白及豇豆蛋白酶抑制剂。4 次重复,随机排列。4 月 25 日进行催芽,然后点播于试验小区,种植期间按抗虫基因棉花栽培方法进行田间管理。

### 1.2 样品的采集与分析

棉花收获后,2007 年 11 月 2 日每个小区采集 8~10 株棉花的根际土壤,混合后于 4℃ 冷藏,3 个月内完成酶活性测定。

脲酶、酸性磷酸单酯酶、磷酸二酯酶、芳基硫酸酯酶、 $\beta$ -葡萄糖苷酶和脱氢酶活性测定分别以尿素、对硝基苯磷酸钠、双对硝基苯磷酸钠、对硝基苯硫酸钾、 $\beta$ -D-葡萄糖苷、2,3,5-氯代三苯基四氮唑为底物,测定方法参照文献[18];蛋白酶以酪蛋白钠为底物,参照文献[19]测定;FDA 水解活性以荧光素二乙酸酯为底物,参照文献[20]测定;硝酸还原酶以硝酸钾为底物,参照文献[21]测定;过氧化氢酶以过氧化氢为底物,参照文献[22]测定。

数据处理采用 Excel 2003,多重比较使用 SPSS10.0 软件按单因素 one-way ANOVA 进行统计。

2 结果与分析

试验结果(图 1)表明,转基因棉花种植对土壤中典型的水解酶及氧化还原酶产生的影响不一致,影响因棉花品种及转基因行为而异。与相应等价基因对照 Z16 相比,转 Bt 基因棉花 Z30 几种土壤酶活

性,如土壤酸性磷酸单酯酶(图 1C)、FDA 水解活性(图 1G)、硝酸还原酶(图 1J),略有增加,但土壤脲酶活性降低。转双价基因棉花 SGK321 与其对照 SY321 的土壤酶活性相当或较对照有所降低。多重比较显示,对于土壤酸性磷酸单酯酶(图 1C)和 FDA 水解活性(图 1G),无论转基因棉花与其等价基因对

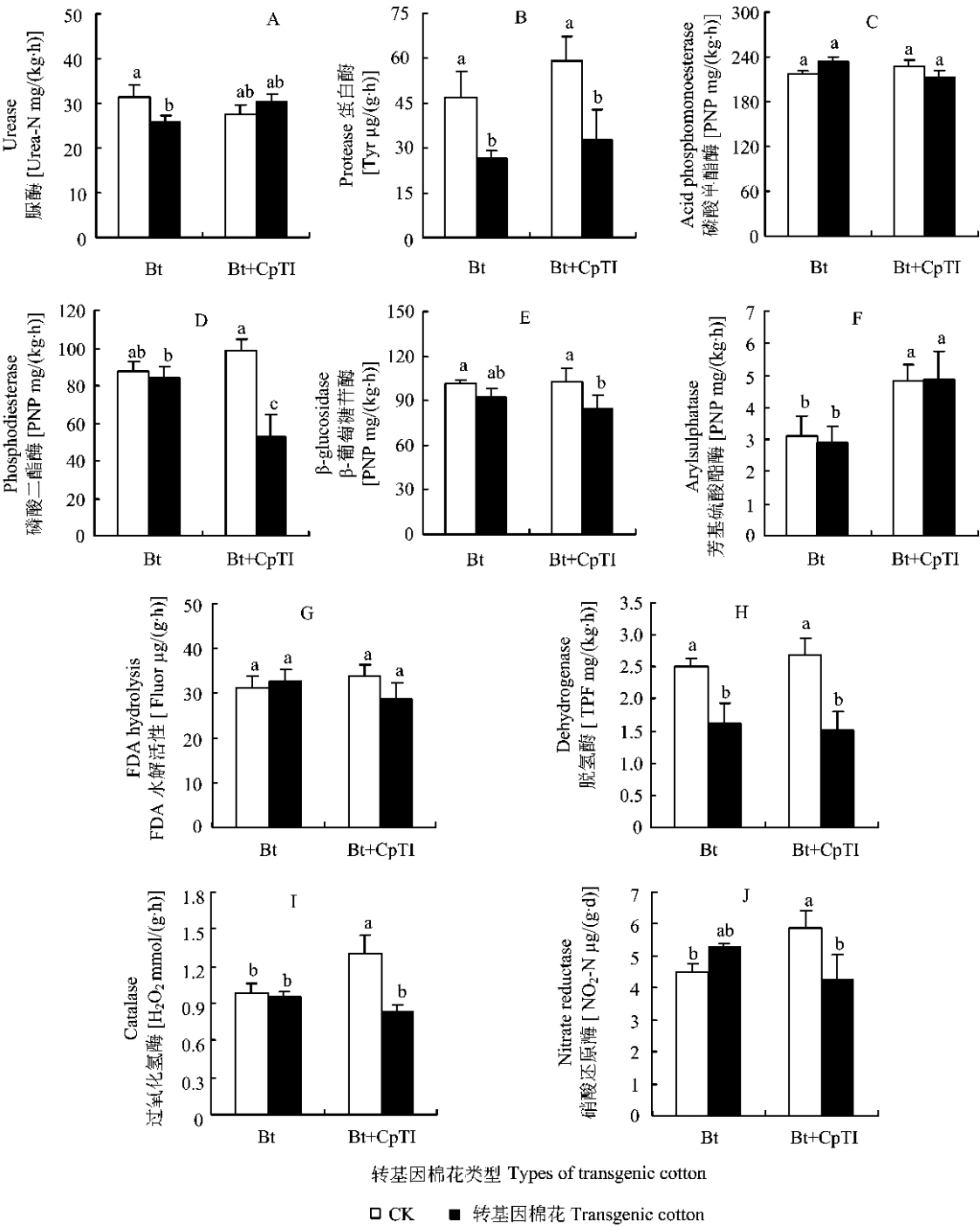


图 1 转基因棉花根际土壤的酶活性

Fig.1 Soil enzyme activities in rhizosphere of transgenic cottons

(Try—酪氨酸 Tyrosine ; PNP—对硝基苯酚 p-nitrophenol ; Fluor.—荧光素 Fluorescein ; TPF—三苯基甲 Triphenyl formazan )

照还是两种转基因类型间都无显著差异。说明对于这三种酶活性来说,无论是棉花品种还是转基因行为,所产生的影响均较小。但是两种转基因棉花根际土壤蛋白酶(图 1B)及脱氢酶(图 1H)活性显著低于相应的等价基因对照( $P < 0.05$ )。酶活性在转 Bt + CpTI 棉花 SGK321 上的下降幅度均大于转 Bt 基因棉花 Z30,两品种间无明显差异。表明转基因行为可以显著影响土壤蛋白酶和脱氢酶活性,转双价棉花较转 Bt 棉花影响大,而棉花品种并未对这些酶的活性产生显著影响。转 Bt 基因棉花显著降低了土壤脲酶(图 1A)活性( $P < 0.05$ )。土壤磷酸二酯酶(图 1D)、 $\beta$ -葡萄糖苷酶(图 1E)、过氧化氢酶(图 1I)和硝酸还原酶(图 1J)中,转 Bt 基因棉花 Z30 与其等价基因对照 Z16 间无显著差异,但是转双价基因 SGK321 酶活性显著( $P < 0.05$ )低于其等价基因对照。表明不同转基因行为对土壤酶活性产生的影响有所差别,转双价基因棉花 SGK321 的种植对这些酶活性产生的影响比转 Bt 基因棉花 Z30 产生的影响大。芳基硫酸酯酶活性,转基因棉花和相应等价基因对照间无显著差异,但是两种转基因类型间差异显著,转双价基因棉花及其对照显著高于转 Bt 棉花及其对照。说明转基因行为对土壤芳基硫酸酯酶的影响远不如棉花品种本身的影响大。

### 3 讨论

土壤是生态系统中物质循环和能量转化过程的重要场所。研究表明,转 Bt 基因作物的外源基因表达产物 Bt 杀虫蛋白可通过根系分泌物、作物残茬、花粉等形式进入土壤生态系统<sup>[23-24]</sup>,而且 Bt 蛋白被土壤中的表面活性颗粒结合后不易被微生物降解并仍然保持杀虫活性<sup>[25]</sup>。Bt 蛋白通过根系分泌物不断进行释放,势必导致其在作物根际土壤中的含量高于非根际土壤。此外,重复并且大规模地种植 Bt 作物,其收获后的残体也可能导致 Bt 蛋白在土壤的积累及存活<sup>[26]</sup>。因此,转 Bt 基因作物可能对土壤中的非目标生物及微生物所调控的过程和功能产生潜在的副作用,从而引起土壤生物性质的改变。

土壤酶活性之所以被选择用来做转基因作物安全性评价,是因为它既可以间接反映转基因作物对土壤微生物的影响,又可以预测转基因作物对养分循环所产生的影响<sup>[26]</sup>。本研究表明,各种土壤酶活性对转 Bt 棉花及转双价棉花的种植响应不一致,差异体现在棉花品种和转基因行为两方面上。土壤蛋白酶和脱氢酶活性对转基因行为的反应最为敏

感,而土壤芳基硫酸酯酶活性则仅因棉花品种不同而不同;除此,转 Bt 基因棉花降低了土壤脲酶活性,转双价基因棉花对土壤磷酸二酯酶、 $\beta$ -葡萄糖苷酶、过氧化氢酶和硝酸还原酶活性的影响较转 Bt 棉花大;棉花品种及转基因行为均未对土壤酸性磷酸单酯酶和 FDA 活性产生影响。土壤蛋白酶活性被两种转基因棉花所降低可能是由于这些棉花表达了 Bt 杀虫蛋白或豇豆蛋白酶抑制剂的缘故,即便 Bt 杀虫蛋白本身对土壤蛋白酶这种非目标作用对象没有影响,它如果对微生物活性产生影响,也可能间接影响到土壤蛋白酶的活性;而豇豆蛋白酶抑制剂可以直接抑制蛋白酶活性,这也可能是转双价基因棉花土壤蛋白酶活性比转 Bt 基因作物下降幅度大的原因。脱氢酶是一种胞内酶,其活性多表征土壤微生物的瞬时代谢活性,由此可以推断这两种转基因棉花种植可能降低了根际土壤的微生物活性。转双价基因棉花与转 Bt 基因棉花对土壤磷酸二酯酶、 $\beta$ -葡萄糖苷酶、过氧化氢酶和硝酸还原酶活性影响上的差异,更多的可能是基因修饰上的差别,转入基因类型不同,因等价基因对照的不同各转入基因插入的位点也不同。盆栽试验曾表明,苗期转 Bt 基因棉花 Z30 和转双价基因棉花 Z41 的种植并未使土壤脲酶、蛋白酶、磷酸单酯酶、脱氢酶、过氧化氢酶和硝酸还原酶活性发生显著变化,而转双价棉花 SGK321 的种植使土壤磷酸单酯酶、脱氢酶、过氧化氢酶和硝酸还原酶活性显著下降<sup>[13-14]</sup>,多数和本试验结果吻合。但与本试验不同的是转 Bt 基因棉花残体培养试验曾发现,土壤脲酶活性变化增高,芳基硫酸酯酶活性降低<sup>[10]</sup>。这可能是试验方式和所选棉花品种不同的缘故。本试验结果更多的是反映根系分泌物的效应,而上述培养试验则反映棉花残体腐解后的效应,这种效应既包含了杀虫蛋白导入的差异,也包含了棉花残体物质组成的差异。研究转 Bt 棉花不同生育期土壤酶活性变化的试验表明,酶活性随棉株生长在蕾期和花期达到峰值而后有所下降,转 Bt 品种根际土壤碱性磷酸酶活性受到抑制,脱氢酶活性在生长旺期有所激活,而脲酶、蛋白酶、蔗糖酶活性整个生育期和对照没有显著差异<sup>[27]</sup>,Shen 等<sup>[16]</sup>报道,Bt 棉花残体添加或盆栽种植对土壤脲酶、磷酸酶、脱氢酶、酚氧化酶及蛋白酶均没有显著影响。上述试验中土壤脱氢酶与蛋白酶的结论和本试验不一致,原因可能是土壤类型及棉花品种的差异。

值得指出的是,本试验只是对转基因棉花在田

间种植后的一个初步研究,而转基因作物在环境中释放所带来的影响很难说是否是一种短暂的效应。国内外,针对转 Bt 玉米根际及残体释放对土壤生态系统的影 响已开展了一系列研究,但并未得到统一的结论,归因于杀虫蛋白类型、转基因作物品种、试验方法、土壤类型和环境因素的差别。总结跟土壤生物学性质相关的研究,认为所产生的影响是短暂行为,并且和杀虫蛋白的存在无关<sup>[26]</sup>。但是转基因棉花所开展的相关的研究较少,尤其是田间试验,所以没有强有力的证据支持作出相关结论。因此,应开展田间试验进行长期跟踪研究。

参 考 文 献:

[ 1 ] Angle J S. Release of transgenic plants : Biodiversity and population-level consideration[ J ]. Mol. Ecol. , 1994 , 3 : 45-50.

[ 2 ] Donegan K K , Seidler R J , Fieland V J *et al.* Decomposition of genetically engineered tobacco under filed condition : Persistence of the proteinase inhibitor I product and effects on soil microbial respiration and protozoa , nematode and microarthropod populations [ J ]. J Appl. Ecol. , 1997 , 34 : 767-777.

[ 3 ] Trevors J T , Kuikman P , Watson B. Transgenic plants and biogeochemical cycles[ J ]. Mol. Ecol. , 1994 , 3 : 57-64.

[ 4 ] Dick R P. Soil enzyme activities as indicators of soil quality[ A ]. Doran J W , Coleman D C , Bezdicek D F , Stewart B A ( eds. ). Defining soil quality for a sustainable environment [ M ]. Madison WI , USA : Soil Science Society of America , 1994. 107-124.

[ 5 ] Marx M C , Wood M , Jarvis S C. A microplate fluorimetric assay for the study of enzyme diversity in soils[ J ]. Soil Biol. Biochem. , 2001 , 33 : 200-210.

[ 6 ] Tabatabai M A , Fu M. Extraction of enzymes in soils[ A ]. Stotzky G , Bollag J M ( eds ). Soil biochemistry ( Vol. 7 ) [ M ]. New York : Marcel Dekker , 1992. 197-227.

[ 7 ] Jepson P C , Croft B A , Pratt G E. Test systems to determine the ecological risks posed by toxin release from *Bacillus thuringiensis* genes in crop plant [ J ]. Mol. Ecol. , 1994 , 3 : 81-89.

[ 8 ] 吴伟祥 , 叶庆富 , 闵航. 不同生长期转 Bt 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.

Wu W X , Ye Q F , Min H. Enzyme activities variation in flooded soils amended with Bt transgenic rice straws at different stages of plant development[ J ]. Acta Ecol. Sin. , 2003 , 23( 11 ) : 2353-2358.

[ 9 ] 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.

Sun C X , Chen L J , Wu Z J *et al.* Effect of transgenic Bt rice planting on soil enzyme activities[ J ]. Chin. J. Appl. Ecol. , 2003 , 14( 12 ) : 2261-2264.

[ 10 ] Sun CX , Chen LJ , Wu ZJ *et al.* Soil persistence of *Bacillus thuringiensis*( Bt ) toxin from transgenic Bt cotton tissues and its effects on soil enzyme activity[ J ]. Boil Fert. Soils , 2007 , 43 617-620.

[ 11 ] Wu W X , Ye Q F , Mn H. Effect of straws from Bt-transgenic rice on selected biological activities in water-flooded soil [ J ]. Eur. J. Soil Biol. , 2004 , 40 : 15-22.

[ 12 ] 王建武 , 冯远娇 , 骆世明. Bt 玉米秸秆分解对土壤酶活性和土壤肥力的影响[ J ]. 应用生态学报 2005 , 3( 16 ) : 524-528.

Wang J W , Feng Y J , Luo S M. Effect of Bt corn straw decomposition on soil enzyme activities and soil fertility[ J ]. Chin. J. Appl. Ecol. , 2005 , 3( 16 ) : 524-528.

[ 13 ] 张丽莉 , 武志杰 , 陈利军 , 孙彩霞. 转基因棉种植对土壤水解酶活性的影响[ J ]. 生态学杂志 , 2006 , 23( 11 ) : 1348-1351.

Zhang L L , Wu Z J , Chen L J , Sun C X. Effects of transgenic cotton planting on soil hydrolase activity [ J ]. Chin. J. Ecol. , 2006 , 25( 11 ) : 1348-1351.

[ 14 ] 张丽莉 , 武志杰 , 陈利军 , 孙彩霞. 转基因棉种植对土壤氧化还原酶活性的影响[ J ]. 土壤通报 , 2007 , 38( 2 ) : 277-280.

Zhang L L , Wu Z J , Chen L J , Sun C X. Effects of transgenic cotton planting on soil oxidoreductases[ J ]. Chin. J. Soil Sci. , 2007 , 38( 2 ) : 277-280.

[ 15 ] Flores S , Saxena D , Stotzky G. Transgenic Bt plants decompose less in soil than non-Bt plants[ J ]. Soil Biol. Biochem. , 2005 , 37 : 1073-1082.

[ 16 ] Shen R F , Cai H , Gong W H. Transgenic Bt cotton has no apparent effect on enzymatic activities or functional diversity of microbial communities in rhizosphere soil [ J ]. Plant Soil , 2006 , 285 : 149-159.

[ 17 ] Liu W , Lu H H , Wu W X *et al.* Transgenic Bt rice does not affect enzyme activities and microbial composition in the rhizosphere during crop development [ J ]. Soil Biol. Biochem. , 2008 , 40 : 475-486.

[ 18 ] Tabatabai M A. Soil enzymes[ A ]. Weaver RW , Angle J S , Bottomley PS ( eds. ). Methods of soil analysis. Part II : Microbiological and biochemical properties [ M ]. Madison WI , USA : Soil Science Society of America , 1994. 775-833.

[ 19 ] Ladd J N , Butler J H A. Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates [ J ]. Soil Biol. Biochem. , 1972 , 4 : 19-30.

[ 20 ] Adam G , Duncan H. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate ( FDA ) in a range of soils [ J ]. Soil Biol. Biochem. , 2001 , 33 : 943-951.

[ 21 ] Abdelmagid H M , Tabatabai M. Nitrate reductase activity of soils [ J ]. Soil Biol. Biochem. , 1987 , 19 : 421-427.

[ 22 ] Trasar-Cepeda C , Camina F , Leirós C *et al.* An improved method to measure catalase activity in soils [ J ]. Soil Biol. Biochem. , 1999 , 31 : 483-485.

[ 23 ] Saxena D , Flores S , Stotzky G. Insecticidal toxin in root exudates from Bt corn [ J ]. Nature , 1999 , 402 : 480-485.

[ 24 ] Saxena D , Stotzky G. *Bacillus thuringiensis* ( Bt ) toxin released from root exudates and biomass of Bt corn has no apparent effect on earthworms , nematodes , protozoa , bacteria , and fungi in soil [ J ]. Soil Biol. Biochem. , 2001 , 33 : 1225-1230.

[ 25 ] Koskella J , Stotzky G. Microbial utilization of free and clay-bound insecticidal toxins from and their retention of insecticidal activity after incubation with microbes [ J ]. Appl. Environ. Microbial , 1997 , 63 : 3561-3568.

[ 26 ] Icoz I , Stotzky G. Fate and effects of insect-resistant Bt crops in soil ecosystems [ J ]. Soil Biol. Biochem. , 2008 , 40 : 559-586.

[ 27 ] 张美俊 , 杨武德. 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[ J ]. 植物营养与肥料学报 , 2008 , 14( 1 ) : 162-166.

Zhang M J , Yang W D. Effect of transgenic Bt planting on biological characteristics and nutrient content in rhizosphere soil [ J ]. Plant Nutr. Fert. Sci. , 2008 , 14( 1 ) : 162-166.