

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

张美俊, 杨武德*

(山西农业大学农学院, 山西太谷 030801)

摘要: 通过盆栽试验, 比较了转 Bt 基因棉 Bt 新彩 1 和 Bt 基因的受体棉新彩 1 根际土壤可培养微生物种群数量、酶活性及养分含量的变化。结果表明, Bt 新彩 1 根际土壤可检测到 Bt 蛋白, 且花期达到峰值 56.14 ng/g; 与对照新彩 1 相比, Bt 新彩 1 根际土壤更有利于细菌和真菌的生长和繁殖, 放线菌数量没有显著变化。Bt 新彩 1 的根际土壤碱性磷酸酶活性受到抑制, 在生长旺盛期脱氢酶活性受到激活, 而根际土壤蛋白酶、脲酶和蔗糖酶活性无显著变化; 苗期、花期 Bt 新彩 1 根际土壤有机质、全氮、速效氮和钾含量没有显著变化, 且苗期速效磷含量也没有显著改变, 花期其含量显著降低。

关键词: 转 Bt 基因棉; Bt 蛋白; 生物特性; 养分含量

中图分类号: S154

文献标识码: A

文章编号: 1008-505X(2008)01-0162-05

Effect of transgenic Bt cotton planting on biological characteristics and nutrient content in rhizosphere soil

ZHANG Mei-jun, YANG Wu-de*

(College of Agronomy, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China)

Abstract: A pot experiment with a transgenic Bt cotton BtXincai1 and an acceptor cultivar of Bt gene Xincai1 was conducted to investigate the effect of transgenic Bt cotton planting on the biological characteristics and nutrient contents in rhizosphere soil at different growth stages. Biological characteristics were assessed by measuring the number of culturable microorganisms and enzymes activity in rhizosphere soil. Results showed that Bt protein could be detected in the rhizosphere soil of Bt Xincai1, and reached the peak value of 56.14 ng/g at flowering stage of cotton growth. Compared with Xincai1, BtXincai1 stimulated the proliferation of bacteria and fungi. However, no significant effect on actinomycete was observed. BtXincai1 showed a significant inhibition effect on alkaline phosphatase activity and no significant effect on protease, urease and sucrase activity over the growing season, but a significant stimulation effect on dehydrogenase activity at fast growth stages. BtXincai1 had no significant influence on the content of organic matter, total N, available-N and K at seedling and flowering stages as well as available-P at seedling, but decreased the content of available-P at flowering stage significantly.

Key words: transgenic Bt cotton; Bt protein; biological characteristics; nutrient content

随着转 Bt 基因作物的大面积推广应用, 其对农业生态系统健康与稳定产生的影响, 开始越来越多的受到关注^[1-2]。土壤是生态系统中物质循环和能量转化过程的重要场所, 转 Bt 基因作物的外源基因表达产物—Bt 蛋白可通过不同途径如根系分泌物、残茬分解、秸秆还田或花粉飘落等进入土壤生态系统^[3-4]。

进入土壤中的 Bt 蛋白能迅速结合到土壤活性颗粒表面, 避免生物降解而保持杀虫活性数周或数月^[5-8], 这样可能会导致土壤特异生物类群和生物多样性发生改变, 进而引发一系列土壤生态过程的变化, 最终影响土壤肥力^[9]。国内外关于转 Bt 基因作物对土壤生态系统物质循环起重要作用的土壤微生物和酶活性

收稿日期: 2006-11-30

接受日期: 2007-04-25

基金项目: 山西省自然科学基金项目(20031075; 20051073)资助。

作者简介: 张美俊(1970—), 女, 山西河曲人, 博士研究生, 主要从事作物生态研究。Tel: 0354-6286398, E-mail: zmeijunz@126.com

* 通讯作者 Tel: 0354-6286398, E-mail: sxauywd@126.com

影响的研究已有报道,但结果不一^[10-12],而对其引起的土壤养分元素含量变化的研究却少有报道。为此,对转 Bt 基因棉 Bt 新彩 1 种植后根际土壤可培养微生物数量、酶活性和养分含量变化进行了较系统研究,旨在为转 Bt 基因作物种植的土壤生态风险评价提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

供试转 Bt 基因棉为 Bt 新彩 1 (BtXincai1),对照为常规棉新彩 1 (Xincai1)。Bt 新彩 1 是通过农杆菌介导技术将 Bt 基因 (*cry1Ac*) 导入新彩 1 选育的转 Bt 基因棉品系,种子均由山西省农业科学院棉花研究所提供。

供试土壤为石灰性褐土,取自山西农业大学农场试验地地表 0—15 cm 土层,土壤过 2 mm 筛并混合均匀。其养分含量为:有机质 17.80 g/kg,全氮 0.90 g/kg,碱解氮 58.40 mg/kg,速效磷 70.80 mg/kg,速效钾 184.50 mg/kg。

试验用盆高 30 cm,直径 35 cm,每盆装土 20 kg,化肥做底肥一次施用,用量为尿素 0.3125 g/kg, KH_2PO_4 0.2425 g/kg。盆栽分三组排列放置,每组每品种重复 8 次,4 月 28 日播种,三叶定苗,每盆留苗 1 株。全生育期除在苗期统一进行一次苗蚜化学防治外,没有使用任何杀虫剂,其它栽培管理措施按常规进行。

1.2 测定项目与方法

在棉株生长的苗期(播后 30 d)、蕾期(播后 60 d)、花期(播后 82 d)、盛铃期(播后 110 d)、吐絮期(播后 136 d)和收花结束期(播后 157 d),仅测 Bt 蛋白,各组每品种随机取样 1 株,采用“抖根法”收集紧附于根系 0~0.5 cm 范围内土壤作为根际土样。测 Bt 蛋白的土样保存于 -20℃ 冰箱中。土壤可培养微生物数量和酶活性的测定采用新鲜土样。其他土样立即风干,除去根系,研磨、过筛、装瓶,用于养分测定。

根际土壤 Bt 蛋白测定:采用 ELISA 试剂盒。试剂盒购置于中国农业大学作物化控中心。具体步骤参照王保民等的方法^[13]。

根际土壤可培养微生物测定:采用稀释平板计数法。细菌采用牛肉膏蛋白胨琼脂培养基;放线菌采用改良高氏 1 号琼脂培养基+重铬酸钾;真菌采用马丁氏琼脂培养基+孟加拉红+硫酸链霉素^[14]。

根际土壤酶活性测定:蛋白酶活性用比色法,脲酶活性用靛酚蓝比色法,碱性磷酸酶活性用磷酸苯二

钠法,蔗糖酶活性用磷钼酸比色法,脱氢酶活性用氯代三苯基四氮唑法^[14]。

根际土壤养分测定:有机质用重铬酸钾容量法,全氮用开氏法,碱解氮用碱解扩散法,速效磷用联合浸提剂浸提、钼蓝比色法,速效钾用火焰光度法^[15]。

试验数据采用 Microsoft Excel 和 SAS9.0 (SAS Institute Inc., Carry, NC, USA) 统计软件分析。显著性比较采用 t 检验。

2 结果与分析

2.1 转 Bt 基因棉根际土壤 Bt 蛋白含量

不同生育期棉株根际土壤 Bt 蛋白的测定结果表明,Bt 新彩 1 根际土壤可以检测到 Bt 蛋白的存在,而对照新彩 1 根际土壤却检测不到,这和国内外许多报道结果一致^[3,16]。图 1 看出,Bt 新彩 1 根际土壤 Bt 蛋白含量由苗期到花期逐渐增加,花期达到峰值 56.14 ng/g,然后逐渐减少;收花结束期 Bt 蛋白降到最低,仅为 16.12 ng/g。这和棉株生长密切相关,前期 Bt 新彩 1 生长代谢旺盛,棉株根系分泌的 Bt 蛋白较多,后期根系进入衰退期,分泌进入根际土壤的 Bt 蛋白减少,同时随着微生物的利用与降解使 Bt 蛋白含量下降。

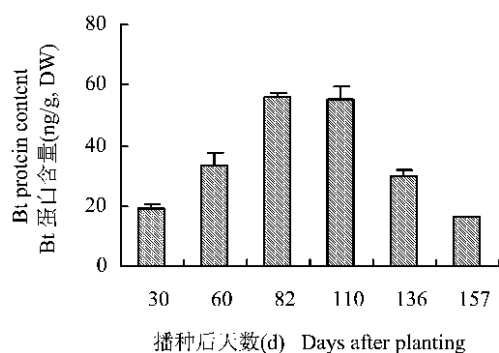


图 1 Bt 新彩 1 根际土壤 Bt 蛋白含量

Fig.1 Content of Bt protein in rhizosphere soil from the BtXincai1

2.2 转 Bt 基因棉根际土壤可培养微生物数量

不同生育期棉株根际土壤可培养微生物数量的测定结果(表 1)表明,无论 Bt 新彩 1 还是新彩 1 根际土壤三大类微生物种群数量均随棉株生长发育逐渐增加,花期达到峰值,而后有所下降,这说明微生物种群数量变化趋势主要受棉苗生长发育和地温的影响。Bt 新彩 1 根际土壤细菌数量和真菌数量全生育期均高于新彩 1,其中细菌除苗期差异不显著外,其余生育

期差异均达显著水平,上升幅度范围在 30.39%~53.13%之间。真菌仅蕾期和花期达显著水平,增幅分别为 24.24%和 29.07%,其余生育期差异不显著,表明 Bt 新彩 1 根际微环境更有利于细菌和真菌的生

长繁殖。根际土壤放线菌数量生育期 Bt 新彩 1 与新彩 1 无明显差异,表明 Bt 新彩 1 对根际土壤放线菌数量影响不大。

表 1 不同生育期棉株根际土壤可培养微生物数量

Table 1 Number of culturable microorganisms in rhizosphere soil at different growth stages of cottons

微生物 Microorganisms	处理 Treatments	苗期 Seedling	蕾期 Budding	花期 Flowering	盛铃期 Bolling	吐絮期 Boll-opening
细菌($\times 10^6$ cfu/g) Bacteria	BtXincai1 Xincai1	89.97 \pm 3.200 86.07 \pm 3.166	191.93 \pm 2.254** 147.20 \pm 4.996	1144.37 \pm 7.465** 850.76 \pm 4.921	677.60 \pm 4.564** 442.50 \pm 8.551	216.40 \pm 2.652** 152.10 \pm 2.982
放线菌($\times 10^5$ cfu/g) Actinomycete	BtXincai1 Xincai1	20.49 \pm 1.403 21.93 \pm 1.393	28.01 \pm 2.547 26.36 \pm 2.822	35.11 \pm 0.925 35.62 \pm 1.144	31.47 \pm 1.912 30.46 \pm 0.676	19.90 \pm 2.042 18.90 \pm 0.642
真菌($\times 10^3$ cfu/g) Fungi	BtXincai1 Xincai1	4.78 \pm 0.100 4.58 \pm 0.075	11.43 \pm 0.390* 9.20 \pm 0.227	17.76 \pm 0.975* 13.76 \pm 1.102	6.24 \pm 0.117 6.15 \pm 0.025	5.87 \pm 0.235 5.81 \pm 0.240

注(Note): *, ** 分别表示同一生育期处理间差异达 5% 和 1% 显著水平,下同。* and ** mean difference between treatments at 5% and 1% significant level in the same growth stage, respectively. The same below.

2.3 转 Bt 基因棉根际土壤酶活性

Bt 新彩 1 与新彩 1 不同生育期棉株根际土壤酶活性,除蔗糖酶活性的变化为花期或盛铃期降到最低,而后有所回升外,其它几种酶活性变化规律基本一致,均随棉株生长在蕾期或花期活性达到峰值后有所下降,表明酶活性的变化主要与棉苗生长发育有关(表 2)。其中根际土壤蛋白酶和脲酶活性 Bt 新彩 1

与常规棉比较差异不显著;蔗糖酶活性仅在花期 Bt 新彩 1 显著降低;而根际土壤碱性磷酸酶活性,除苗期外,其它生育期 Bt 新彩 1 均显著低于新彩 1,降幅范围在 10.78%~26.35%之间。根际土壤脱氢酶活性在生长旺盛的蕾期、花期和盛铃期 Bt 新彩 1 均显著高于新彩 1,且在花期增幅最大,达 56.32%。

表 2 不同生育期棉株根际土壤酶活性

Table 2 Enzyme activity in rhizosphere soil at different growth stages of cotton

酶活性 Enzymes activity	处理 Treatments	苗期 Seedling	蕾期 Budding	花期 Flowering	盛铃期 Bolling	吐絮期 Boll-opening
蛋白酶活性 [$\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$] Protease activity	BtXincai1 Xincai1	4.71 \pm 0.233 4.79 \pm 0.193	7.24 \pm 0.062 7.36 \pm 0.204	12.42 \pm 0.357 12.31 \pm 0.323	10.45 \pm 0.295 10.30 \pm 0.440	7.24 \pm 0.320 7.39 \pm 0.236
脲酶活性 [$\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$] Urease activity	BtXincai1 Xincai1	86.42 \pm 2.779 89.26 \pm 4.614	96.20 \pm 0.397 96.46 \pm 1.408	97.99 \pm 1.312 100.10 \pm 0.098	81.96 \pm 1.878 82.89 \pm 1.840	76.20 \pm 2.381 79.36 \pm 0.676
碱性磷酸酶活性 [$\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$] Alkaline phosphatase activity	BtXincai1 Xincai1	30.43 \pm 0.624 32.10 \pm 1.556	41.91 \pm 1.976* 54.86 \pm 1.723	37.41 \pm 1.015* 41.95 \pm 1.997	30.72 \pm 0.938** 41.71 \pm 0.263	22.26 \pm 0.788* 24.95 \pm 1.288
蔗糖酶活性 [$\text{mg}/(\text{g}\cdot\text{h})$] Sucrase activity	BtXincai1 Xincai1	1.16 \pm 0.036 1.42 \pm 0.157	1.11 \pm 0.104 1.17 \pm 0.040	0.62 \pm 0.020* 0.97 \pm 0.084	0.71 \pm 0.080 0.74 \pm 0.040	1.12 \pm 0.111 1.24 \pm 0.186
脱氢酶活性 [$\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$] Dehydrogenase activity	BtXincai1 Xincai1	0.33 \pm 0.041 0.29 \pm 0.015	0.73 \pm 0.022* 0.59 \pm 0.021	1.36 \pm 0.059* 0.87 \pm 0.047	0.74 \pm 0.036* 0.57 \pm 0.015	0.42 \pm 0.027 0.41 \pm 0.026

2.4 转 Bt 基因棉根际土壤养分含量

表 3 看出, Bt 新彩 1 和新彩 1 根际土壤有机质、全氮、速效养分含量花期均低于苗期,表明棉株生长

发育过程中,对养分的需求量增大,对速效养分吸收增强,但品种间无显著差异。Bt 新彩 1 在花期速效磷明显下降,比新彩 1 下降了 20.13%。

表 3 不同生育期棉株根际土壤养分含量

Table 3 Nutrient contents in rhizosphere soil at different growth stages of cotton

生育期 Growth stages	处理 Treatments	有机质 (g/kg) OM	全氮 (g/kg) Total N	碱解氮 (mg/kg) Avail. N	速效磷 (mg/kg) Avail. P	速效钾 (mg/kg) Avail. K
苗期	BtXincai1	17.49 ± 0.421	0.86 ± 0.025	84.20 ± 3.559	95.04 ± 3.810	202.03 ± 2.854
Seedling	Xincai1	17.75 ± 0.845	0.87 ± 0.015	84.57 ± 3.636	96.28 ± 2.974	198.30 ± 2.000
花期	BtXincai1	16.66 ± 0.995	0.83 ± 0.026	64.86 ± 3.592	68.81 ± 2.915**	173.53 ± 2.811
Flowering	Xincai1	16.85 ± 0.822	0.85 ± 0.010	65.87 ± 3.855	86.15 ± 4.910	172.13 ± 3.089

3 讨论

转 Bt 基因作物合成的 Bt 蛋白可随根系分泌物进入土壤,导入土壤中的 Bt 蛋白的生物活性及其残留特性是评价其对非目标物种潜在风险和环境命运的最重要参数^[16]。本试验研究表明,转 Bt 新彩 1 根际土壤可检测到 Bt 蛋白,花期含量达到峰值 56.14 ng/g,随后逐渐下降,说明随时间推移 Bt 蛋白在土壤中有一个不断降解的过程。对 Bt 新彩 1 根际土壤可培养微生物种群数量的研究表明,整体趋势上 Bt 新彩 1 根际微环境更有利于细菌和真菌的生长繁殖,对放线菌没有显著影响,这和 Donegar^[10]等观测到 2 种转 Bt 基因棉花促使了土壤中细菌和真菌数量发生短暂性的显著增加,以及 Watrud 和 Seidler^[17]报道转 Bt 基因棉花提高了土壤细菌和真菌的数量的研究结果一致。Christopher 和 Jeffrey^[18]通过 CLPR(群落水平生理特性)分析也表明,转 Bt 基因玉米根际土壤微生物对氨基酸和胺的利用率显著增加,但并没有伴随对其它化合物利用率的显著减少,认为 Bt 蛋白的存在诱导了根际土壤某些微生物生理代谢活性,最终使某些微生物种群增殖。但也有转 Bt 基因作物对土壤微生物没有影响的报道,如转 Bt 基因玉米对土壤细菌、放线菌、真菌、藻类以及原生动物的生长通常没有影响^[19]。

土壤酶活性反映了土壤中各种生物化学过程的强度和方向,是土壤重要的生物学特性,也是敏感的生物化学指标。转 Bt 基因水稻盆栽种植,土壤脲酶、酸性磷酸酶、硫酸酯酶和脱氢酶的活性发生了显著变化,蔗糖酶活性无显著变化^[20]。转 Bt 基因水稻秸秆添加对土壤蛋白酶、脲酶、磷酸酶活性没有影响,而脱氢酶活性对转 Bt 基因水稻秸秆添加极其敏感^[21]。本试验对 Bt 新彩 1 根际土壤酶活性的测定结果表明,酶活性的变化与土壤酶类型和 Bt 新彩 1 生长发育时间有关,主要表现为对根际土壤碱性磷酸酶活性有抑制作用,而对脱氢酶活性在生长旺盛期有促进作用,对

蛋白酶、脲酶和蔗糖酶活性没有显著影响。从 Bt 新彩 1 影响微生物种群数量角度看,转 Bt 新彩 1 提高了根际土壤可培养微生物种群总数量。但大量研究表明,微生物种群数量的变化也包含了微生物种群群落结构和功能的多样性变化,因此可能波及到土壤不同类型酶活性的多样性变化^[22]。另有研究表明,土壤酶较少游离在土壤溶液中,主要吸附在土壤有机和矿质胶体上,并以复合体状态存在于土壤中,土壤酶活性与土壤粘粒和腐殖质含量密切相关^[23];纯化 Bt 蛋白与土壤性质的研究也表明,导入土壤中的 Bt 蛋白能与土壤矿物质、土壤腐殖酸、土壤有机矿质复合体吸附和结合^[6,7,24],因而导入土壤中的 Bt 蛋白可能通过与土壤酶竞争土壤活性颗粒表面的结合位点而对土壤酶活性产生影响^[20]。

转 Bt 基因作物对土壤养分循环和平衡的影响与 Bt 蛋白直接或间接地使土壤微生物群落、功能及土壤酶活性发生变化,进而可能影响土壤微生物及土壤酶相关的营养转化过程,以及转 Bt 基因作物对土壤营养元素吸收利用能力^[25]。本试验结果表明,转 Bt 新彩 1 根际土壤速效磷含量苗期略低于新彩 1,花期表现显著降低,而 Bt 新彩 1 对其它养分含量苗期和花期均没有显著影响。Bt 基因作物对养分含量的影响较小的结果可能是由于该试验是在盆栽条件下进行的,因此需进行长期试验并需结合作物地上部分对养分吸收情况进一步验证。

土壤生态系统复杂异质,微生物种群种类繁多,组成复杂,酶活性是土壤中敏感的生物化学指标,而养分含量的多少可直接指导农业耕作栽培措施。目前,转 Bt 基因作物对土壤生物特性及养分是否具有直接或间接的激活和抑制作用尚无定论。另外土壤中 Bt 蛋白活性大小以及降解与土壤中粘土矿物质含量、土壤 pH 值、土壤含水量等密切相关^[6-8],因此有必要在不同生态区结合不同土壤类型,采用不同研究方法和长期试验去监测转 Bt 基因作物对土壤生态环境的影响,从而揭示其变化规律。

参考文献:

- [1] Trevors J T, Kuikman P, Watson B. Transgenic plants and biogeochemical cycles[J]. Mol. Ecol., 1994, 3(1):57-64.
- [2] Kathen A. The impact of transgenic crop releases on biodiversity in developing countries[J]. Biotech. Devel. Monitor, 1996, 28:10-15.
- [3] Saxena D, Flores S, Stotzky G. Insecticidal toxin in root exudates from Bt corn[J]. Nature, 1999, 402:480.
- [4] 白耀宇, 蒋明星, 程家安, 姜永厚. 转 Bt 基因作物 Bt 毒蛋白在土壤中的安全性研究[J]. 应用生态学报, 2003, 14(11):2062-2066.
Bai Y Y, Jiang M X, Cheng J A, Jiang Y H. Advances in safety studies of soil Bt toxin proteins released from transgenic Bt crops[J]. Chin. J. Appl. Ecol., 2003, 14(11):2062-2066.
- [5] Venkateswerlu G, Stotzky G. Binding of the protoxin and toxin proteins of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* on clay minerals[J]. Curr. Microbiol., 1992, 25:1-9.
- [6] Tapp H, Stotzky G. Insecticidal activity of the toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* and subsp. *tenebrionis* adsorbed and bound on pure and soil clays[J]. Appl. Environ. Microbiol., 1995, 61(5):1786-1790.
- [7] Crecchio C, Stotzky G. Insecticidal activity and biodegradation of the toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* bound to humic acids from soil[J]. Soil Biol. Biochem., 1998, 30(4):463-470.
- [8] Stotzky G. Persistence and biological activity in soil of insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* and of bacterial DNA bound on clays and humic acid[J]. J. Environ. Qual., 2000, 29:691-705.
- [9] Morra M J. Assessing the impact of transgenic plant products on soil organisms[J]. Mol. Ecol., 1994, 3:53-55.
- [10] 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]. Appl. Soil Ecol., 1995, 2:121-124.
- [11] 徐晓宇, 叶庆富, 吴伟祥, 闵航. 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.
Xu X Y, Ye Q F, Wu W X, Min H. Effects of transgenic Bt rice straw on anaerobic microbial populations and enzyme activities in paddy soil[J]. Plant Nutr. Fert. Sci., 2004, 10(1):63-67.
- [12] 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 F F, Han X L, Fan S L. Changes in microbial flora and bacterial physiological group diversity in rhizosphere soil of transgenic Bt cotton[J]. Acta Ecol. Sin., 2004, 24(3):432-437.
- [13] 王保民, 李召虎, 李斌, 等. 转 Bt 抗虫棉各器官毒蛋白的含量及表达[J]. 农业生物技术学报, 2002, 10(3):215-219.
Wang B M, Li Z H, Li B *et al.* Content and expression of *Bacillus thuringiensis* insecticidal protein in transgenic cotton[J]. J. Agric. Biotech., 2002, 10(3):215-219.
- [14] 许光辉, 郑洪元. 土壤微生物分析方法手册[M]. 北京:农业出版社, 1986.
Xu G H, Zheng H Y. Handbook of methods for edaphon analyzing[M]. Beijing: Agric. Press, 1986.
- [15] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京:农业出版社, 2000.
Bao S D. Soil agricultural-chemical analysis[M]. Beijing: Agric. Press, 2000.
- [16] 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, 4(5):761-765.
Sun C X, Chen L J, Wu Z J. Persistence of Bt toxin in soil and its effects on soil phosphatase activity[J]. Acta Pedol. Sin., 2004, 4(5):761-765.
- [17] Watrud L S, Seidler R J. Nontarget ecological effects of plants, microbial, and chemical introductions to terrestrial system[A]. Soil chemistry and ecosystem health, Special publication 5[C]. Madison, Wisconsin: SSSA, 1998. 313-340.
- [18] Christopher B B, Jeffrey S B. Soil microbial communities associated with Bt and no-Bt corn in three soil[J]. J. Environ. Qual., 2004, 33:832-836.
- [19] Saxena D, Stotzky G. Insecticidal toxin from *Bacillus thuringiensis* is released from roots of transgenic Bt corn *in vitro* and *in situ*[J]. FEMS Microbiol. Ecol., 2000, 33:35-39.
- [20] 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.
- [21] 吴伟祥, 叶庆富, 闵航, 陈华儿. 克螟稻秸秆 *cryIAb* 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.
Wu W X, Ye Q F, Min H, Chen H E. Effect of *CryIAb* toxin release from straw of Bt-transgenic rice on microflora and enzymatic activities in upland soil[J]. Acta Pedol. Sin., 2003, 40(4):606-612.
- [22] 张薇, 魏海雷, 高洪文, 胡跃高. 土壤微生物多样性及其环境影响因子研究进展[J]. 生态学杂志, 2005, 24(1):48-52.
Zhang W, Wei H L, Gao H W, Hu Y G. Advance of studies on soil microbial diversity and environmental impact factors[J]. Chin. J. Ecol., 2005, 24(1):48-52.
- [23] 林大仪. 土壤学[M]. 北京:中国林业出版社, 2002.
Lin D Y. Soil science[M]. Beijing: China Forestry Press, 2002.
- [24] Crecchio C, Stotzky G. Biodegradation and insecticidal activity of the toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* bound to complexes of montmorillonite-humic acids-Al hydroxypolymers[J]. Soil Biol. Biochem., 2001, 33:573-581.
- [25] 孙彩霞, 张玉兰, 缪璐, 等. 转 Bt 基因作物种植对土壤养分含量的影响[J]. 应用生态学报, 2006, 17(5):943-946.
Sun C X, Zhang Y L, Miao L *et al.* Changes of nutrients in soil of transgenic Bt crops[J]. Chin. J. Appl. Ecol., 2006, 17(5):943-946.