

抗虫棉外源 Cry1A 融合杀虫蛋白在土壤中的降解动态

雒珺瑜, 崔金杰*, 张帅, 赵清

(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:以转 Bt 基因棉 GK12 和转 Bt+CpTI 基因棉中棉所 41 为试验材料, 以其亲本材料(泗棉 3 号、中棉所 23) 为对照, 采用 ELISA 测定方法, 研究了抗虫棉外源 Bt 杀虫蛋白在土壤中的降解动态。结果表明: 在土壤掩埋条件下, 转 Bt 基因棉和转双价基因棉叶片中 Bt 杀虫蛋白的降解动态基本一致, 降解周期达 6 个月; 叶片掩埋后 1~3 个月, 杀虫蛋白降解最迅速, 4~6 个月降解缓慢, 第 7 个月已检测不到。不同生育期两者根系中 Bt 杀虫蛋白含量变化趋势基本一致, 5 月最高, 6~9 月迅速下降, 10 月至次年 3 月逐渐下降, 至次年 4 月已检测不到。土壤中 Bt 杀虫蛋白的降解动态基本一致, 两类抗虫棉播种前土壤中均检测不到 Bt 杀虫蛋白, 苗期开始 Bt 杀虫蛋白的含量逐渐增加, 至花期均达到最高峰, 铃期以后逐渐下降。棉花收获后 6 个月内, 两类抗虫棉田土壤中 Bt 杀虫蛋白含量迅速降低, 到次年 4 月已检测不到。

关键词: 转基因抗虫棉; 外源杀虫蛋白 Cry1A; ELISA 测定; 蛋白含量; 降解动态

中图分类号: S435.622 **文献标志码:** A

文章编号: 1002-7807(2011)04-0364-05

Studies on Degradation Dynamics of Cry1Ac Protein from Different Types of Transgenic Bt Cotton in Soil

LUO Jun-yu, CUI Jin-jie*, ZHANG Shuai, ZHAO Qing

(Cotton Research Institute of CAAS / State Key Laboratory of Cotton Biology, Anyang, Henan 455000, China)

Abstracts: The degradation dynamics of toxin protein released by transgenic Bt cotton in soil were studied by the ELISA method, using Bt transgenic cotton cultivar GK 12 and transgenic Bt plus CpTI gene cultivar CCRI 41 as materials, and their parents (Simian 3, CCRI 23, respectively) as controls. The results showed that the degradation dynamics of Bt insecticidal protein in GK 12 was the same as that in CCRI 41 in leaves buried in soil. The degradation period was six months, and the Bt insecticidal protein degraded rapidly after being buried into soil for one to three months, and slowly from the fourth to the sixth month, and it could not be detected after seven months. The dynamics of Bt insecticidal protein of GK 12 and CCRI 41 in the roots in different growing stages were almost the same: the contents of insecticidal protein reached the peak in May (715.55 ng·g⁻¹ and 531.23 ng·g⁻¹, respectively), but decreased rapidly from June, fell to 45.63 ng·g⁻¹ and 42.33 ng·g⁻¹ in September, and decreased continually from October to next March, could not be detected after next April. The degradation dynamics of Bt insecticidal protein in GK 12 and CCRI 41 in soil were almost the same: the Bt insecticidal protein could not be detected before sowing, began to increase after the seedling stage, and reached the peak (324.06 ng·g⁻¹ and 355.50 ng·g⁻¹, respectively) in the flowering stage, then gradually decreased from the boll stage, dropped to 50.25 ng·g⁻¹ and 65.76 ng·g⁻¹, respectively, in the harvest period. Within six months after cotton harvest, the insecticidal protein decreased rapidly, but Bt insecticidal proteins could be detected until the following year in April.

Key words: transgenic Bt cotton; insecticidal Cry1A protein; ELISA; protein contents; degradation dynamics

转 Bt 基因植物的问世, 毋庸置疑给害虫防治工作开辟了一条崭新的途径。到 20 世纪 90 年

代中后期, Bt 植物已在世界范围内商业化种植。我国自 1997 年开始 Bt 棉花的商业化种植以来,

收稿日期: 2010-07-27

作者简介: 雒珺瑜 (1978-), 女, 助理研究员, luojunyu1818@126.com; * 通讯作者, cuiji@cicaas.com.cn

基金项目: 国家重大专项 (2011ZX08011-002); 转基因生物安全监测技术 (2011ZX08012-004); 国家棉花产业技术体系

转基因抗虫棉的种植面积迅猛增长。至 2009 年,我国转基因抗虫棉的种植面积达到 400 多万 hm^2 ,占棉花种植面积的 76%。其中黄河流域棉区抗虫棉面积达到 98% 以上^[1]。转基因抗虫棉的大面积种植,有效控制了棉铃虫的暴发危害,降低了植棉成本,增加了棉农收入,减少了化学农药对环境的污染,降低了棉农的劳动强度,获得了显著的经济、社会和生态效益。但是,转基因抗虫棉在为人类做出巨大贡献的同时,其环境安全性问题也备受关注^[2]。

转基因抗虫棉田土壤中杀虫蛋白的残留与降解动态是转基因棉花环境安全评价的重要内容,也是各国专家学者关注的重点和焦点^[3]。本文主要研究了转 Bt 基因棉残叶收获后埋入土壤后的降解动态;转基因棉根际吸附 Bt 杀虫蛋白在两个转基因品种种植土壤中的降解规律;转基因棉在整个生育期 Bt 杀虫蛋白的动态变化规律;棉花根系 Bt 蛋白含量随时间的变化规律,旨在为我国转基因生物安全性评价积累科学数据、为我国转基因植物生物安全管理提供相关的科学依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

转 Bt 基因(Cry1A)抗虫棉品种 GK12,亲本对照品种泗棉 3 号;转双价基因(Bt+CpTI)抗虫棉品种中棉所 41(简称“中 41”)、亲本对照品种中棉所 23(简称“中 23”),均由中国农业科学院棉花研究所遗传育种研究室提供;Cry1Ab/1Ac plate kit 酶联免疫试剂盒(购于中国农业大学作物化学控制室)的定量检测极限(Limit of quantification, LOQ)为 $0.5 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ (Cry1A)。

1.2 试验方法

1.2.1 材料种植。试验于 2008—2009 年进行。试验材料种植在河南省安阳市中国农业科学院棉花研究所试验农场。播种日期均为 4 月 28 日,株行距分别为 0.27 cm 和 0.80 cm。棉花全生育期不使用任何化学农药,其它管理按常规操作。

1.2.2 棉花叶片埋土处理试验。棉花吐絮后(9 月 15 日),分别从田间采集衰老程度一致的不同转基因抗虫棉及其对照品种叶片,自然风干,分别

装入尼龙网袋(大小 $15 \text{ cm} \times 15 \text{ cm}$,孔径 2 mm)中。每袋 20 g 左右,每个品种 30 袋,每 10 袋埋一穴,埋入土面下 20 cm 处。处理土壤为没有种植过转基因棉花的土壤,各穴间距 1 m,每隔 30 d 随机取出 3 穴标号记录,用液氮速冻后放入 -70°C 冰箱保存。待取样完毕后统一检测叶片样品中 Bt 杀虫蛋白的含量。

1.2.3 棉花根系采集与处理。分别在棉花种植前、苗期、蕾期、花期、铃期、吐絮期,采集根系。采用随机取样方式约 3 点采集根系,每品种采样 3 棵,重复处理 3 次。采集完后迅速对根部进行处理,具体方法:首先轻微抖掉采集回的根系周围土壤,用蒸馏水将残留在根系上的土冲洗干净,用吸水纸吸干根系表面的水,用灭菌的剪刀剪下侧根和主根根尖,将其放入保鲜袋中,放入 -80°C 超低温冰柜保存、待测。

1.2.4 棉花根际土样采集与处理。在棉花盛絮期(10 月下旬)开始,采用随即取样方式约 3 点取样,田间以植株为中心向 2 个不同方向取根际土样,具体取样位置为距离主茎约 5 cm 距离地表深度约为 15 cm,用取样器取土样约 100 g;每品种采样 3 株,每株采 6 个不同部位的土样,重复处理 3 次。采完后将土样放入 -80°C 超低温冰柜保存、待测。

1.3 数据处理

数据均为 2 年检测的平均值,采用 DPS 7.05,以 LSD 法进行多重比较分析。

2 结果与分析

2.1 埋土棉花叶片中 Bt 杀虫蛋白降解规律

中 41 和 GK12 叶片埋入土壤后,从 9 月到次年 4 月检测的外源杀虫蛋白含量变化趋势基本一致(表 1):9—11 月降解迅速,中 41 从 $41.13 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 下降到 11 月的 $15.65 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$,GK12 从 $49.02 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 下降到 11 月的 $15.94 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$;12 月至次年 3 月降解趋于平缓,中 41 从 12 月的 $7.65 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 下降到次年 3 月的 $5.02 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$,GK12 从 12 月的 $7.73 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 下降到次年 3 月的 $1.54 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$;至次年 4 月,中 41 和 GK12 叶片中均检测不到外源杀虫蛋白。2 个转基因抗虫棉品种的亲本对照品种泗棉 3 号和中棉所 23 埋土叶片各次检测结果均低

于检测试剂盒的最低检测限($<0.5 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$),表明埋土试验的初始土壤不含外源 Bt 蛋白。

和中 41 相比,9-12 月 GK12 掩埋叶片中外源杀虫蛋白的含量分别增加 19.19%,-26.28%,

1.82%,-22.92%,但差异均未达显著水平;次年 1-3 月份,GK12 掩埋叶片中外源杀虫蛋白的含量分别降低 49.52%,41.61%,69.41%,差异均达极显著水平。

表 1 GK12 和中 41 掩埋叶片中外源杀虫蛋白检测结果

Table 1 The contents of Bt insecticidal protein in the buried leaves of GK12 and CCRI 41

日期 Date	Bt 杀虫蛋白含量 Contents of Bt insecticidal protein/($\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$)	
	GK 12	中 41 CCRI41
09-15(埋土前 Before buried in soil)	49.02±8.10aA	41.13±7.39aA
06-15	20.78±3.79aA	28.19±7.77aA
11-15	15.94±3.23aA	15.65±2.78aA
12-15	7.73±2.15aA	10.03±1.35aA
01-15(次年 Next year)	3.86±0.47aA	7.65±1.02bB
02-15(次年 Next year)	3.26±0.71aA	5.58±0.95bB
03-15(次年 Next year)	1.54±0.65aA	5.02±0.78bB
04-15(次年 Next year)	Nd	Nd

注:Nd 表示外源杀虫蛋白含量低于检测限($<0.5 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$);数据后大小写字母分别代表横向比较 0.01 和 0.05 水平。

Note: Nd represents that contents of Bt insecticidal protein is lower than detection limit($<0.5 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$); different capital or lowercase letters after data stand for transverse comparison at the level 0.01 or 0.05, respectively.

2.2 根系中外源杀虫蛋白的降解动态

从 5 月至次年 4 月,中 41 和 GK12 根系分泌外源杀虫蛋白含量变化趋势基本一致(表 2):5-10 月迅速下降,中 41 从 $531.23 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 下降到 10 月的 $31.02 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$,GK12 从 $715.55 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 下降到 10 月的 $22.44 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$;11 月至次年 3 月降解趋于缓慢,中 41 从 11 月的 $16.58 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 下降到次年 3 月的 $2.50 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$,GK12 从 11 月的 $17.78 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 下降到次年 3 月的 $1.51 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$;至次年 4 月,中 41 和 GK12 根系中均检测不到外源杀虫蛋白。

和中 41 相比,5-12 月 GK12 根系中外源杀虫蛋白的含量分别增加 34.70%,66.73%,32.08%,48.18%,7.80%,-27.66%,7.24%,0;除 7 月差异达显著水平外,其他月份的差异均未达显著水平。次年 1-3 月,GK12 根系中外源杀虫蛋白的含量分别降低 49.13%,48.64%,39.60%,差异均达显著水平。2 个转基因抗虫棉品种的亲本对照品种泗棉 3 号和中棉所 23 根系中外源杀虫蛋白的含量,各次检测结果均低于检测试剂盒的最低检测限($<0.5 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$)。

表 2 GK12 和中 41 根系中外源杀虫蛋白含量检测结果

Table 2 The contents of Bt insecticidal protein in the roots of GK 12 and CCRI 41

日期 Date	Bt 杀虫蛋白含量 Contents of Bt insecticidal protein/($\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$)	
	GK 12	中 41 CCRI 41
06-15	538.70±28.87 aA	323.09±27.86 aA
07-15	288.23±31.50 aA	218.23±17.85 bA
08-15	81.82±9.32 aA	54.88±4.92 aA
09-15	45.63±4.09 aA	42.33±2.20 aA
10-15	22.44±2.19 aA	31.02±1.88 aA
11-15	17.78±1.83 aA	16.58±2.36 aA
12-15	9.61±0.46 aA	9.61±0.46 aA
01-15(次年 Next year)	4.09±0.35 aA	8.04±0.42 bB
02-15(次年 Next year)	2.64±0.47 aA	5.14±0.11 bA
03-15(次年 Next year)	1.51±0.27 aA	2.50±0.47 bA
04-15(次年 Next year)	Nd	Nd

注:Nd 表示外源杀虫蛋白含量低于检测限($<0.5 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$);数据后大小写字母分别代表横向比较 0.01 和 0.05 水平。

Note: Nd represents that contents of Bt insecticidal protein is lower than detection limit($<0.5 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$); different capital or lowercase letters after data stand for transverse comparison at the level 0.01 or 0.05, respectively.

2.3 根际土壤中外源杀虫蛋白降解动态

GK12 和中 41 根际土壤中外源杀虫蛋白含量的检测结果见表 3。2 个转基因抗虫棉品种的亲本对照品种泗棉 3 号和中棉所 23 根际土壤中外源杀虫蛋白的含量,各次检测结果均低于检测试剂盒的最低检测限($<0.5 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$)。

从 5 月至次年 4 月中 41 和 GK12 根际土壤中外源杀虫蛋白含量变化趋势基本一致:5-7 月,迅速增加,中 41 从 $111.28 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 上升到 7 月的 $355.50 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$,GK12 从 $111.01 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 上升到 7 月的 $324.06 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$;8 月-12 月,迅速下降,中 41 从 $222.20 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 下降到 12 月的 $57.45 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$;GK12 根际土壤中外源杀虫蛋白含量从 $248.0 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$

g^{-1} 下降到 12 月份的 $40.85 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$;次年 1-3 月降解趋于缓慢,中 41 从 1 月的 $29.36 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 下降到次年 3 月的 $9.72 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$,GK12 从 1 月的 $25.41 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 下降到次年 3 月的 $9.81 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$;至次年 4 月,中 41 和 GK12 根际土壤中均检测不到外源杀虫蛋白。

和中 41 相比,5-12 月 GK12 根际土壤中外源杀虫蛋白的含量分别降低 0.24%,9.85%,8.84%,-11.628%,-8.778%,-3.83%,23.59%,28.89%;除 7,11,12 月差异达显著水平外,其他月份的差异均不显著。次年 1 月至次年 3 月,GK12 根际土壤中外源杀虫蛋白的含量分别降低 13.45%,46.70%,-0.93%,差异均达显著水平。

表 3 根际土中外源杀虫蛋白含量检测结果

Table 3 The contents of Bt insecticidal protein in the root-soil of GK 12 and CCRI 41

日期 Date	Bt 杀虫蛋白含量 Contents of Bt insecticidal protein/($\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$)	
	GK 12	中 41 CCRI 41
04-25	Nd	Nd
05-25	$111.01 \pm 7.69 \text{ aA}$	$111.28 \pm 8.92 \text{ aA}$
06-25	$229.32 \pm 10.46 \text{ aA}$	$254.39 \pm 28.98 \text{ aA}$
07-25	$324.06 \pm 19.36 \text{ aA}$	$355.50 \pm 20.17 \text{ bB}$
08-25	$248.01 \pm 2.23 \text{ aA}$	$222.20 \pm 20.75 \text{ aA}$
09-25	$145.45 \pm 18.39 \text{ aA}$	$133.72 \pm 12.19 \text{ aA}$
10-25	$100.13 \pm 5.68 \text{ aA}$	$96.44 \pm 2.58 \text{ aA}$
11-25	$50.25 \pm 3.05 \text{ aA}$	$65.76 \pm 4.16 \text{ bB}$
12-25	$40.85 \pm 6.06 \text{ aA}$	$57.45 \pm 2.53 \text{ bA}$
01-25(次年 Next year)	$25.41 \pm 4.82 \text{ aA}$	$29.36 \pm 4.41 \text{ aA}$
02-25(次年 Next year)	$12.05 \pm 1.68 \text{ aA}$	$22.61 \pm 6.7 \text{ aA}$
03-25(次年 Next year)	$9.81 \pm 1.09 \text{ aA}$	$9.72 \pm 1.33 \text{ aA}$
04-25(次年 Next year)	Nd	Nd

注:Nd 表示外源杀虫蛋白含量低于检测限($<0.5 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$);数据后大小写字母分别代表横向比较 0.01 和 0.05 水平。

Note: Nd represents that contents of Bt insecticidal protein is lower than detection limit($<0.5 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$); different capital or lowercase letters after data stand for transverse comparison at the level 0.01 or 0.05, respectively.

3 小结与讨论

研究表明,转单价基因棉(GK12)棉田残叶中 Bt 杀虫蛋白含量和转双价基因棉(中棉所 41 号)棉田残叶中 Bt 杀虫蛋白含量在土壤中连续 2 年的降解趋势一致,变化范围也大体相同。明确了转基因棉残叶埋入土壤中随时间的动态变化及其降解规律:抗虫棉残叶中 Bt 杀虫蛋白均是 10-11 月降解迅速,随后进入缓慢降解阶段,但一直处于降解状态,到次年 4 月已检测不到。同张永军^[4]研究结果相比,外源 Bt 蛋白无论是棉花

生长季节还是残叶埋土,整体降解趋势一致。

系统地研究了单价抗虫棉(GK12)和双价抗虫棉(中 41)根系中含量的变化规律,初步明确了抗虫棉的根系 Bt 杀虫蛋白在整个生育期和收获后期的降解动态及规律:转基因棉根系中 Bt 杀虫蛋白含量在整个生育期均迅速下降;收获后前 2 个月(10 月、11 月)根系中 Bt 杀虫蛋白含量急剧下降,之后几个月内缓慢下降,到次年 4 月已检测不到 Bt 杀虫蛋白。这与李云河等^[5]、Zwahlen 等^[6]的研究结果一致。单价抗虫棉和双价抗虫棉的 Bt 杀虫蛋白表达含量在各生育期变化不明

显,但二者根系中Bt杀虫蛋白的降解趋势基本一致,在次年的播种前均未检测到Bt杀虫蛋白,对下一茬作物的生长不会造成影响,在实际生产中有重要的意义。

抗虫棉残叶中的高浓度的Bt杀虫蛋白在土壤中持留期并不长,但低浓度的Bt杀虫蛋白能在土壤中持留几个月。这与Palm等^[7]在Bt棉花(Bt杀虫蛋白在土壤中最长持留140d),Saxena等^[8-9](Bt杀虫蛋白在土壤中最长持留234d)和Sims等^[10](根茬中Bt杀虫蛋白在土壤中最长持留期1447d)在Bt玉米中得出的结论一致,与芮玉奎^[11]研究的降解规律相同。

在抗虫棉根际土壤环境中,Bt杀虫蛋白的降解也表现为初期快、后期慢,但一直处于降解状态。这可能和土壤中含水量较大及土壤微生物的降解有关。在湿度较大土壤条件下,Bt杀虫蛋白在不稳定的环境中受各种物理、化学和生物因素的作用更容易被降解^[12-13]。因此,抗虫棉土壤中Bt杀虫蛋白的降解速率及对生态和环境影响仍需要进一步的研究。

参考文献:

- [1] 朱再清,张献龙. 我国转基因抗虫棉推广与生产优势区域变化实证分析[J]. 华中农业大学学报:社会科学版,2010(2): 12-17.
ZHU Zai-qing, Zhang Xian-long. An empirical analysis on transgenic cottons planting and dominant regions change of cotton production in China[J]. Journal of Huazhong Agricultural University: Social Sciences Edition, 2010(2): 12-17.
- [2] 蒋高明. 试论转基因作物的生态风险[J]. 科学对社会的影响,2010(2):42-47.
JIANG Gao-ming. Genetically modified crops ecological risks[J]. Impact of Science on Society, 2010(2): 42-47.
- [3] 崔金香,王帅. 土壤微生物多样性研究进展[J]. 河南农业科学,2010(6):165-169.
CUI Jin-xiang, Wang Shuai. Research progress of diversity in soil microbial[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2010(6): 165-169.
- [4] 沈平,张永军,陈洋,等. Bt棉不同种植年限土壤中Bt基因及其蛋白的残留测定[J]. 棉花学报,2008,20(1):79-81.
SHEN Ping, Zhang Yong-jun, Chen Yang, et al. Detection for persistence of Bt gene and Bt insecticidal proteins in soil after multiple years of Bt cotton planting[J]. Cotton Science, 2008, 20(1): 79-81.
- [5] 李云河,张永军,吴孔明,等. 转Bt-Cry1Ac基因棉花叶片中杀虫蛋白在环境中的降解动态[J]. 中国农业科学,2005,38(4): 714-718.
LI Yun-he, Zhang Yong-jun, Wu Kong-ming, et al. Degradation dynamics of Cry1Ac insecticidal protein in leaves of Bt cotton under different environments[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2005, 38(4): 714-718.
- [6] ZWAHLEN C W, Nemtwig F B, Bigler F, et al. Tritrophic interactions of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn, *Anaphothrips obscures* (Thysanoptera: Thripidae), and the predator *Orius majusculus*(Heteroptera: Anthocoridae)[J]. Environ Entomol, 2000, 29(4): 846-850.
- [7] PALM C J, Schaller D L, Donegan K K, et al. Persistence in soil of transgenic plants produced *Bacillus thuringiensis* var. kurstari δ -endotoxin[J]. Can J Microbiol, 1996, 42: 1258-1262.
- [8] SAXENA D, Flores S, Stotzky G. Insecticidal toxin in root exudates from Bt corn[J]. Nature, 1999, 420: 480.
- [9] 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.
- [10] SIMS S R, Holden L R. Insect bioassay of determining soil degradation of *Bacillus thuringiensis* ssp. Kurstaki Cry1A (b) protein in corn tissue[J]. Environmental Entomology, 1996, 25: 659-664.
- [11] 芮玉奎. Bt棉与常规棉根际土壤Bt毒蛋白和植物激素变化动态[J]. 生物技术通讯,2005,16(5):515-517.
RUI Yu-kui. Dynamics of Bt toxin and plant hormones in Rhizosphere system of transgenic insecticidal cotton (*Gossypium L.*)[J]. Letters in Biotechnology, 2005, 16(5): 515-517.
- [12] TAPP H, Stotzky G. Insecticidal activity of the toxins from *Bacillus thuringiensis* subsp. kurstaki and tenebrionis adsorbed and bound on pure and soil clays[J]. Appl Environ Microbiol, 1995, 61: 1786-1790.
- [13] 王忠华. 转Bt基因水稻对土壤微生态系统的潜在影响[J]. 应用生态学报,2005,16(12):2469-2472.
WANG Zhong-hua. Potential effects of Bt transgenic rice on soil micro-ecosystem[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2005, 16(12): 2469-2472.