

转双价基因棉花对根际土壤酶活性和养分含量的影响

风春^{1,2}, 赵建宁², 李刚², 杨志国³, 王慧², 吴冬梅⁴, 红雨^{1*}, 杨殿林^{2*}

(1. 内蒙古师范大学生命科学与技术学院, 呼和浩特 010022; 2. 农业部环境保护科研监测所, 农业部产地环境质量重点实验室 / 天津市农业环境与农产品安全重点开放实验室, 天津 300191; 3. 山西农业大学生命科学院, 山西 太谷 030801; 4. 中国农业科学院棉花研究所, 河南 安阳 455000)

摘要: 在田间试验条件下, 以 3 种转双价基因棉和常规棉石远 321 为研究对象, 比较分析转双价基因棉和常规棉石远 321 根际土壤酶活性及养分的变化。结果表明, 转双价 *Cry1Ac+CpTI* 基因棉 sGK321 与石远 321 根际土壤速效磷和铵态氮含量无显著差异, 而硝态氮含量则显著高于石远 321; 转双价 *Cry1Ac+Cry2Ab* 基因棉(双 *Bt* 抗虫棉) 速效磷和铵态氮含量均显著低于石远 321, 而硝态氮含量与石远 321 无显著差异; 转双价 *Cry1Ac+Epsps* 基因棉(抗虫抗除草剂棉) 速效磷和硝态氮含量均显著高于石远 321, 而铵态氮含量显著低于石远 321。sGK321 棉与石远 321 根际土壤脲酶、碱性磷酸酶和过氧化氢酶活性均无显著差异; 双 *Bt* 抗虫棉土壤脲酶活性显著低于石远 321, 碱性磷酸酶和过氧化氢酶活性与石远 321 均无显著差异; 抗虫抗除草剂棉与石远 321 土壤脲酶活性无显著差异, 碱性磷酸酶活性显著高于石远 321, 而过氧化氢酶活性显著低于石远 321。表明 sGK321 棉与石远 321 根际土壤养分(硝态氮除外) 含量和酶活性无显著差异, 而双 *Bt* 抗虫棉和抗虫抗除草剂棉所呈现的差异是因不同品种所致。

关键词: 转双价基因棉; 根际土壤; 土壤酶活性; 土壤养分

中图分类号: S562.048 **文献标志码:** A

文章编号: 1002-7807(2013)02-0178-06

Effects of Transgenic Double Gene Cotton on the Enzyme Activity and Nutrient Content in the Rhizosphere Soil

FENG Chun^{1,2}, ZHAO Jian-ning², LI Gang², YANG Zhi-guo³, WANG Hui², WU Dong-mei⁴, HONG Yu^{1*}, YANG Dian-lin^{2*}

(1. College of Life Science and Technology, Inner Mongolia Normal University, Hohhot 010022, China; 2. Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture; Key Laboratory of Original Agro-environment Quality of Ministry of Agriculture and Tianjin Key Laboratory of Agro-environment and Agro-product Safety, Tianjin 300191, China; 3. College of Life Science, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi 030801, China; 4. Institute of Cotton Research of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Anyang, Henan 455000, China)

Abstract: Through field experiment, the enzyme activity and nutrient content in the rhizosphere soil of transgenic cotton sGK321 (*Cry1Ac+CPTI*), transgenic cotton with double insect-resistant genes (*Cry1Ac+Cry2Ab*), transgenic cotton with insect-resistant and herbicide-resistant genes (*Cry1Ac+Epsps*) and non-transgenic cotton were analyzed. The results showed that the available phosphorus and ammonium nitrogen in the rhizosphere soil had no significant difference between transgenic cotton sGK321 and non-transgenic cotton, while the nitrate nitrogen significantly higher than non-transgenic cotton. The available phosphorus and ammonium nitrogen of transgenic cotton with double insect-resistant genes were both significantly lower than non-transgenic cotton while the nitrate nitrogen showed no difference. The available phosphorus and nitrate nitrogen of transgenic cotton with insect-resistant and herbicide-resistant genes were both significantly higher than non-transgenic cotton, but nitrate nitrogen was significantly lower than non-transgenic cotton. The urease, alkaline phosphatase and catalase activities in the rhizosphere soil

收稿日期: 2012-09-18

作者简介: 风春(1988-), 女, 硕士研究生, fengchun2006@163.com; * 通讯作者: hongyu@imnu.edu.cn; yangdianlin@caas.cn

基金项目: 转基因生物新品种培育重大专项(2011ZX08011-002); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(农业部环境保护科研监测所) 和农业部产地环境质量重点实验室 / 天津市农业环境与农产品安全重点实验室开放基金项目

showed no significant difference between transgenic cotton sGK321 and non-transgenic cotton. Except that the urease was significantly lower than non-transgenic cotton, the alkaline phosphatase and catalase activities of the transgenic cotton with double insect-resistant genes showed no difference. For the transgenic cotton with insect-resistant and herbicide-resistant genes, the urease showed no significant difference compared with non-transgenic cotton, with the alkaline phosphatase significantly higher and the catalase activities significantly lower than non-transgenic cotton. The soil nutrient content(except nitrate nitrogen) and soil enzyme activity in the rhizosphere soil of transgenic double gene cotton sGK321 and non-transgenic cotton had no significant difference, but difference among transgenic cotton with double insect-resistant genes and transgenic cotton with insect-resistant and herbicide-resistant genes were mainly influenced by the cotton varieties.

Key words: transgenic double gene cotton; rhizosphere soil; soil enzyme activity; soil nutrient

根据国际农业生物技术应用服务组织 (ISAAA) 的最新报告, 1996 年全球转基因作物的种植面积为 170 万 hm^2 , 2011 年已达到 1.6 亿 hm^2 , 增长了 94 倍。我国转基因棉花于 1996 年田间种植试验成功, 到 2011 年种植面积已达 390 万 hm^2 ^[1], 占棉花种植总面积的 71.5%, 是我国目前种植面积最大的转基因作物。

土壤是生态系统中物质循环和能量转化的重要场所, 在农业生态系统中居于核心地位^[2]。土壤酶是土壤代谢的动力, 既参与包括土壤生物化学过程在内的自然界物质循环, 又是植物营养元素的活性库^[3], 其活性能较敏感地反映土壤中各种生物化学过程的强度和方向^[4]。因而, 土壤酶和土壤速效养分已成为评价土壤养分平衡、土壤化学肥力、生物化学肥力保持的重要指标。研究表明, 转基因作物种植过程中其外源基因的表达产物有可能进入土壤生态系统而引起土壤微生物、酶活性的改变, 也可能通过改变根系分泌物的组成和含量, 直接或间接地影响土壤营养元素转化的相关过程^[5]。目前, 国内外关于转基因棉花对土壤酶活性和养分含量的影响研究已有一些报道, 但结果不尽一致^[6-11], 而针对转双价基因棉对土壤生态系统的影响研究还较少。鉴于此, 本文以转双价基因棉为研究对象, 通过比较分析转双价基因棉和非转基因棉石远 321 根际土壤酶活性及养分的变化, 揭示不同转双价基因棉对根际土壤酶活性及养分含量的影响, 从而为转双价基因棉生态风险评价提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验地概况

试验地位于天津市武清区梅厂镇周庄村

(N 39°21', E 117°12', Altitude 6.3 m)。地处华北平原东北部, 地势平缓, 属暖温带湿润气候。供试土壤为潮土, 部分理化性质如下: 全氮含量 $0.56 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全磷含量 $0.66 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 有机质含量 $11.42 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

1.2 供试材料

供试棉花品种为转双价 (*Cry1Ac+CpTI*) 基因 sGK321 棉 (简称为 sGK321)、转双价 (*Cry1Ac+Cry2Ab*) 基因双 *Bt* 抗虫棉 (简称为双 *Bt* 抗虫棉)、转双价 (*Cry1Ac+Epsps*) 基因抗虫抗除草剂棉 (简称为抗虫抗除草剂棉) 及常规棉石远 321, 其中石远 321 为 sGK321 的亲本棉。试验材料 sGK321 棉和石远 321 棉由中国农业科学院植物保护研究所提供; 双 *Bt* 抗虫棉和抗虫抗除草剂棉由中国农业科学院棉花研究所提供。

1.3 试验设计

基肥: 施氮量为 $200 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$, 钾肥 $100 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$, 磷肥 $60 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 。氮肥基施 60%, 追施 40%。磷钾肥全部做基肥施入。4 个棉花品种种植面积均为 600 m^2 ($20 \text{ m} \times 30 \text{ m}$), 每个品种间种植宽度为 10 m 的玉米保护行。

1.4 土壤样品采集

2011 年 5 月 4 日播种, 在棉花生长吐絮期采集土壤样品。采样时, 去除表面杂草和落叶, 采用随机取样方式 3 点采集, 用“抖落法”取根际土^[12], 每次每个重复选取 3 株棉花将其根际土壤混合, 置于冰盒中带回实验室。棉花水肥管理采用常规管理, 不施用农药。

1.5 测定指标及方法

1.5.1 土壤养分含量测定。土壤养分含量的测定参照鲍士旦《土壤农化分析》的方法^[13]进行。土壤速效磷含量测定采用 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaHCO}_3$ 浸提 - 钼锑抗比色法; 土壤硝态氮采用 CaCl_2 浸提 - 紫

外分光光度法;铵态氮含量测定采用 CaCl_2 浸提-靛蓝比色法。

1.5.2 土壤酶活性测定。土壤酶活性指标测定参照《土壤酶及其研究方法》^[14]进行。土壤脲酶活性、磷酸酶活性和过氧化氢酶活性分别用靛酚蓝比色法、磷酸苯二钠比色法、高锰酸钾滴定法测定。脲酶活性以培养 24 h 后每克风干土壤经尿素水解出的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的量(mg)来表示;磷酸酶活性以风干土加甲苯和 0.5%磷酸苯二钠震荡、培养,取滤液,再依次加入缓冲液、4-氨基安替吡啉液和铁氰化钾液,2 h 后 100 g 土壤中 P_2O_5 的量(mg)表示;过氧化氢酶活性以每克风干土壤经加入 0.3%过氧化氢溶液震荡后,再加入 $3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 H_2SO_4 溶液过滤,以滤液滴定所需 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ KMnO_4 的量(mL)来表示。

1.6 数据统计与分析

采用 Microsoft Excel 2003 和 SPSS 16.0 软件

对试验数据进行方差分析 (Duncan 法)。

2 结果与分析

2.1 转双价基因棉对根际土壤养分含量的影响

土壤速效磷是土壤磷库中对作物最为有效的成分之一,是表征土壤供磷能力、确定磷肥用量和农田磷环境风险的重要指标^[15]。3 种转双价基因棉对土壤速效磷含量的影响因棉花品种而异(表 1)。与石远 321 相比,sGK321 棉根际土壤速效磷含量没有显著差异($P>0.05$),双 *Bt* 抗虫棉速效磷含量显著下降了 11.7%($P<0.05$),而抗虫抗除草剂棉显著上升了 20.9%($P<0.05$)。

硝态氮是一种有效氮素,易被植物直接吸收^[16]。sGK321 棉和抗虫抗除草剂棉与石远 321 相比,根际土壤硝态氮含量分别显著上升了 11.1%和 35.6% ($P<0.05$),而双 *Bt* 抗虫棉根际土壤硝态氮含量没有显著差异($P>0.05$)(表 1)。

表 1 土壤养分含量的变化

Table 1 Changes of soil nutrients

棉花品种 Cotton variety	速效磷 Available P / ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	硝态氮 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ / ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	铵态氮 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ / ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)
石远 321 Shiyuan321	21.75±0.52 b	7.26±0.16 c	1.97±0.09 a
sGK321	20.73±0.22 b	8.17±0.09 b	2.16±0.08 a
Transgenic double genes cotton			
双 <i>Bt</i> 抗虫棉	19.20±0.37 c	7.28±0.33 c	1.42±0.23 b
Transgenic cotton with double insect-resistant genes			
抗虫抗除草剂棉	27.50±0.30 a	11.27±0.07 a	1.43±0.06 b
Transgenic cotton with insect-resistant and herbicide-resistant genes			

注:同一列不同字母表示差异显著水平($P<0.05$)。

Note: Different letters in the same column behind data indicate significant difference at $P<0.05$.

铵态氮也是一种有效态氮素,可被植物直接吸收利用,其含量变化显著影响土壤氮素的迁移转化过程和植物生产力^[17]。sGK321 棉与石远 321 相比,根际土壤铵态氮含量无显著差异 ($P>0.05$),而双 *Bt* 抗虫棉和抗虫抗除草剂棉铵态氮含量分别显著下降了 28.2%和 27.5% ($P<0.05$) (表 1)。

2.2 转双价基因棉对根际土壤酶活性的影响

2.2.1 转双价基因棉对根际土壤脲酶活性的影响。脲酶广泛存在于土壤中,是评价土壤肥力状况的重要指标,其高低在一定程度上反映了土壤的供氮水平^[13-14]。3 种转双价基因棉脲酶活性主要受棉花品种的影响。试验结果(图 1)表明,sGK321

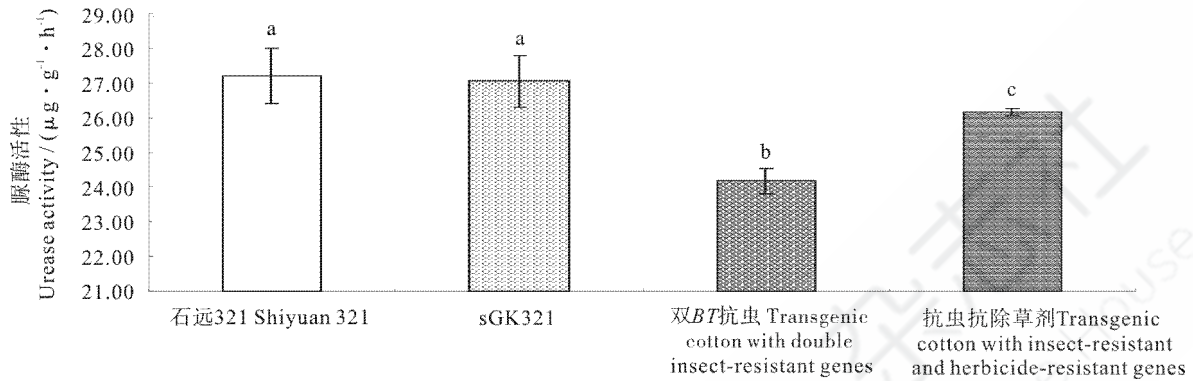
棉和抗虫抗除草剂棉与石远 321 相比,土壤脲酶活性均无显著差异($P>0.05$),但是双 *Bt* 抗虫棉脲酶活性显著低于石远 321 ($P<0.05$)。

2.2.2 转双价基因棉对根际土壤碱性磷酸酶活性的影响。碱性磷酸酶可以促进有机磷的矿化,提高土壤磷素的有效性,其活性是评价土壤磷素转化方向与强度的指标^[18-19]。3 种转双价基因棉土壤碱性磷酸酶活性测定结果见图 2。研究表明,与常规棉石远 321 相比,sGK321 棉和双 *Bt* 抗虫棉对土壤碱性磷酸酶活性均没有显著影响 ($P>0.05$),而抗虫抗除草剂棉活性显著上升 18.2% ($P<0.05$)。

2.2.3 转双价基因棉对根际土壤过氧化氢酶活

性的影响。土壤过氧化氢酶是参与土壤中物质和能量转化的一种重要氧化还原酶,在一定程度上可以反映土壤微生物氧化过程的强度,是土壤肥力的重要指标^[20]。3种转双价基因棉土壤过氧化

氢酶活性测定结果见图3。与石远321相比,sGK321棉和双Bt抗虫棉的过氧化氢酶活性均无显著差异($P > 0.05$),而抗虫抗除草剂棉活性显著下降57.6%($P < 0.05$)。

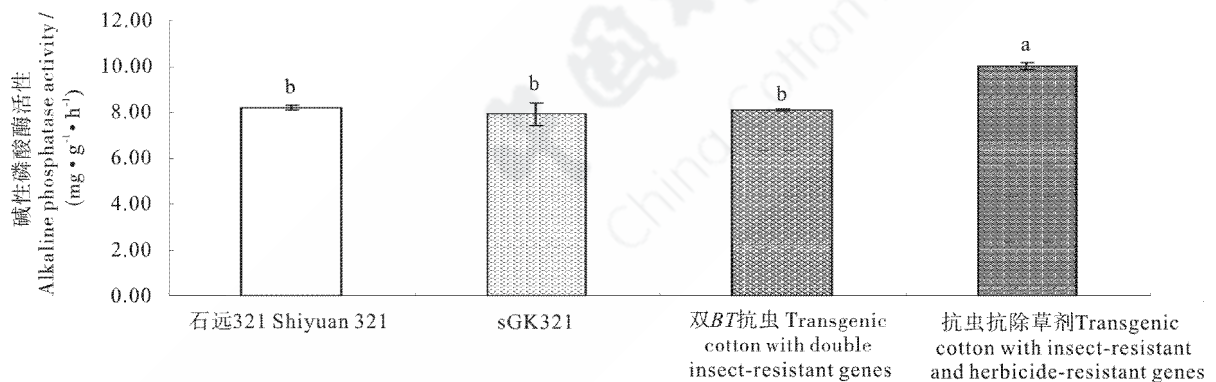


注:直方柱上标不同字母表示差异显著水平($P < 0.05$)。

Note: Different letters of the straight side column indicate significant difference at $P < 0.05$.

图1 转双价基因棉对土壤脲酶活性的影响

Fig. 1 Effects of transgenic double genes cotton on soil urease activity

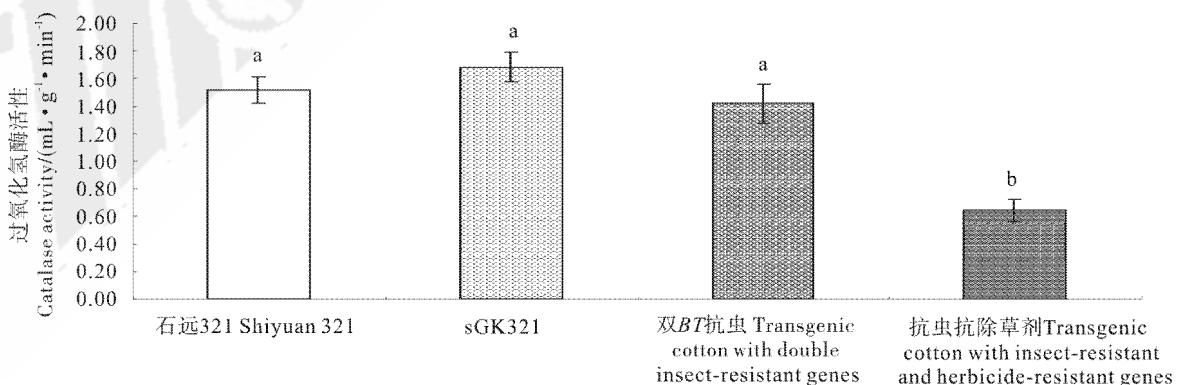


注:直方柱上标不同字母表示差异显著水平($P < 0.05$)。

Note: Different letters of the straight side column indicate significant difference at $P < 0.05$.

图2 转双价基因棉对土壤碱性磷酸酶活性的影响

Fig. 2 Effects of transgenic double genes cotton on soil alkaline phosphatase activity



注:直方柱上标不同字母表示差异显著水平($P < 0.05$)。

Note: Different letters of the straight side column indicate significant difference at $P < 0.05$.

图3 转双价基因棉对土壤过氧化氢酶活性的影响

Fig. 3 Effects of transgenic double genes cotton on soil catalase activity

3 讨论

土壤中的铵态氮、硝态氮和速效磷可直接被作物吸收利用,它们的变化能够影响到土壤氮循环中的氨化和硝化作用以及磷元素的代谢,其含量是评价土壤供肥能力的主要指标,对土壤生态系统有重要的代表意义。目前,针对转基因作物对土壤养分含量影响的研究已有一些报道。孙彩霞等^[21]通过盆栽试验表明,转 *Bt* 基因水稻和转 *Bt* 基因棉土壤中速效磷含量与非转 *Bt* 基因棉对照均无显著差异;张美俊等^[22]通过盆栽试验发现,转 *Bt* 基因棉 *Bt* 新彩 1 和常规棉新彩 1 根际土壤铵态氮和硝态氮含量没有显著变化。本研究表明,sGK321 棉与石远 321 根际土壤速效磷和铵态氮含量均无显著差异,这与娜布其等^[10]铵态氮含量、刘红梅等^[11]速效磷含量和乌兰图雅等^[23]sGK321 棉根际土壤速效磷和铵态氮含量与石远 321 差异不显著的研究结果一致。其它 2 种转双价基因棉根际土壤速效磷和铵态氮含量变化趋势却完全不同,其中双 *Bt* 抗虫棉速效磷含量显著低于石远 321,抗虫抗除草剂棉含量显著高于石远 321。双 *Bt* 抗虫棉和抗虫抗除草剂棉土壤铵态氮含量均显著低于石远 321。对土壤硝态氮含量的分析结果发现 sGK321 棉显著高于石远 321,这与乌兰图雅等^[23]和娜日苏等^[24]的研究结果一致;而另外 2 种转双价基因棉的土壤硝态氮含量变化却并不相同,其中双 *Bt* 抗虫棉根际土壤硝态氮含量与石远 321 没有差异,但抗虫抗除草剂棉根际土壤硝态氮含量却显著高于石远 321。本研究结果说明 sGK321 棉与石远 321 相比,对土壤养分(硝态氮除外)含量无显著影响,但双 *Bt* 抗虫棉和抗虫抗除草剂棉与石远 321 有一定差异。

土壤酶活性之所以被选择用来评价转基因作物安全性,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^[25]。陈振华等^[7]、万小羽等^[9]、张美俊等^[22]研究发现,转基因棉与石远 321 相比根际土壤脲酶活性没有显著变化。马丽颖等^[8]研究发现,sGK321 棉与石远 321 根际土壤碱性磷酸酶活性没有显著变化。张丽莉等^[6]研究表明,sGK321 棉与石远 321 过氧化氢酶活性没有显著差异。本研究结果表明,sGK321 棉根际土壤脲酶

活性、碱性磷酸酶活性和过氧化氢酶活性与石远 321 均无显著差异,这一结果与乌兰图雅等^[23]、娜日苏等^[24]的研究结果一致;但双 *Bt* 抗虫棉和抗虫抗除草剂棉对这 3 种土壤酶活性的影响却各不相同,表明不同转双价基因棉品种间存在差异。

另外,随着转基因作物种植面积的扩大以及转基因作物新品种的释放,田间种植转基因作物对土壤环境的影响越来越复杂^[21],因此要科学评价转双价基因棉对土壤养分及酶活性的影响仍需要进行综合的、长期的研究和监测,才有可能探明其机理,并对转基因作物环境安全性做出全面的、科学和公正的评价。

参考文献:

- [1] JAMES C. 2011 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,2012,32(1):1-14.
JAMES C. Global status of commercialized Biotech/ GM crops: 2011[J]. China Biotechnology,2012,32(1): 1-14.
- [2] 唐影,李世东,缪作清. 转基因作物对土壤微生物的影响[J]. 中国生物防治,2007,23(4):383-390.
TANG Ying, Li Shi-dong, Miao Zuo-qing. Impact of transgenic crops on soil microbial community [J]. Chinese Journal of Biological Control,2007,23(4): 383-390.
- [3] 薛立,邝立刚,陈红跃,等. 不同林分土壤养分、微生物与酶活性的研究[J]. 土壤学报,2003,40(2):280-285.
XUE Li, Kuang Li-gang, Chen Hong-yue, et al. Soil nutrients, microorganisms and enzyme activities of different stands [J]. Acta Pedologica Sinica,2003,40(2): 280-285.
- [4] 周礼恺. 土壤酶学[M]. 北京:科学出版社,1987:263-281.
ZHOU Li-kai. Soil enzymes[M]. Beijing: Science Press,1987: 263-281.
- [5] 蔡红,沈仁芳. 转基因棉花对土壤生态环境的影响[J]. 土壤,2005,37(5):487-491.
CAI Hong, Shen Ren-fang. Effects of transgenic cotton on soil ecological environment[J]. Soil,2005,37(5): 487-491.
- [6] 张丽莉,武志杰,陈利军,等. 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 Li-li, Wu Zhi-jie, Chen Li-jun, et al. Effect of transgenic cotton planting on soil oxidoreductases[J]. Chinese Journal of Soil Science,2007,38(2): 277-280.
- [7] 陈振华,孙彩霞,郝建军,等. 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[J]. 植物营养与肥料学报,2009,15(5):1226-1230.
CHEN Zhen-hua, Sun Cai-xia, Hao Jian-jun, et al. Responses of soil enzymes to one-year planting transgenic *Bt* and *Bt+CpTI* cottons under field condition[J]. Plant Nutrition and Fertilizer

- Science, 2009, 15(5): 1226-1230.
- [8] 马丽颖, 崔金杰, 陈海燕. 种植转基因棉对 4 种土壤酶活性的影响[J]. 棉花学报, 2009, 21(5): 383-387.
MA Li-ying, Cui Jin-jie, Chen Hai-yan. Effects of transgenic cotton planting on four kinds of soil enzyme activity[J]. Cotton Science, 2009, 21(5): 383-387.
- [9] 刘立雄. 转基因棉花种植对根际土壤氮转化相关酶的影响[J]. 作物杂志, 2010(3): 69-71.
LIU Li-xiong. Effects of transgenic cotton planting on rhizosphere soil N transformation related soil enzyme activities[J]. Crops, 2010(3): 69-71.
- [10] 娜布其, 赵建宁, 李 刚, 等. 转双价(*Bt+CpTI*)棉种植对土壤速效养分和酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(5): 930-937.
NA Bu-qi, Zhao Jian-ning, Li Gang, et al. Effects of transgenic (*Bt+CpTI*) cotton planting on the soil available nutrients and enzyme activities[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2011, 30(5): 930-937.
- [11] 刘红梅, 赵建宁, 黄永春, 等. 种植转双价基因(*Bt+CpTI*)棉对主要土壤养分和酶活性的影响[J]. 棉花学报, 2012, 24(2): 133-139.
LIU Hong-mei, Zhao Jian-ning, Huang Yong-chun, et al. Effects of transgenic(*Bt+CpTI*) cotton planting on the soil main nutrients and enzyme activities[J]. Cotton Science, 2012, 24(2): 133-139.
- [12] BRUSETTI L, Francia P, Bertolini C, et al. Bacterial communities associated with the rhizosphere of transgenic Bt 176 maize (*Zea mays*) and its non transgenic counterpart[J]. Plant and Soil, 2005, 266(12): 11-21.
- [13] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
BAO Shi-dan. Agricultural chemical analysis of soil[M]. 3 ed. Beijing: China Agriculture Press, 2000.
- [14] 关松荫. 土壤酶及其研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1986.
GUAN Song-yin. Study method of soil enzymes[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1986.
- [15] MAGUIRE R O, Sims J T. Soil testing to predict phosphorus leaching [J]. Journal of Environment Quality, 2002, 31(5): 1601-1609.
- [16] 黄 亮, 周启星, 张倩茹. 有机酸去除污泥重金属前后硝态氮和铵态氮浓度变化[J]. 应用生态学报, 2007, 18(9): 2085-2090.
HUANG Liang, Zhou Qi-xing, Zhang Qian-ru. Changes of NO_3^- -N and NH_4^+ -N concentrations in sewage sludge before and after heavy metals removal by organic acids[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2007, 18(9): 2085-2090.
- [17] 王长庭, 龙瑞军, 王启基, 等. 高寒草甸不同海拔梯度土壤有机质氮磷的分布和生产力变化及其与环境因子的关系[J]. 草业学报, 2005, 14(2): 15-20.
WANG Chang-ting, Long Rui-jun, Wang Qi-ji, et al. Distribution of organic matter, nitrogen and phosphorus along an altitude gradient and productivity change and their relationships with environmental factors in the Alpine meadow [J]. Acta Pratacul Turea Sinica, 2005, 14(2): 15-20.
- [18] 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): 761-766.
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): 761-766.
- [19] 王小羽, 梁永超, 李忠佩, 等. 种植转 *Bt* 基因抗虫棉对土壤生物学活性的影响[J]. 生态学报, 2007, 27(12): 5414-5410.
WAN Xiao-yu, Liang Yong-chao, Li Zhong-pei, et al. Effect of planting transgenic *Bt* cotton on soil enzymatic and microbial activities[J]. Acta Ecologica Sinica, 2007, 27(12): 5414-5420.
- [20] 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, 16(3): 524-528.
WANG Jian-wu, Feng Yuan-jiao, Luo Shi-ming. Effects of *Bt* corn straw decomposition on soil enzyme activities and soil fertility[J]. Chinese Journal Applied Ecology, 2005, 16(3): 524-528.
- [21] 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 Cai-xia, Zhang Yu-lan, Miao Lu, et al. Changes of nutrients in soil of transgenic *Bt* crops[J]. Chinese Journal Applied Ecology, 2006, 17(5): 943-946.
- [22] 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 Mei-jun, Yang Wu-de. Effect of transgenic *Bt* cotton planting on biological characteristics and nutrient content in rhizosphere soil[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2008, 14(1): 162-166.
- [23] 乌兰图雅, 李 刚, 赵建宁, 等. 不同生育期转双价(*Bt+CpTI*)基因抗虫棉根际土壤酶活性和养分含量变化[J]. 生态学杂志, 2012, 31(7): 1733-1737.
WULAN Tu-ya, Li Gang, Zhao Jian-ning, et al. Changes of enzyme activities and available nutrients in rhizosphere soil of transgenic *Bt+CpTI* cotton during its growth period[J]. Chinese Journal of Ecology, 2012, 31(7): 1733-1737.
- [24] 娜日苏. 黄河流域棉区 *Bt* 基因棉种植对土壤微生物生态学特性的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古师范大学, 2011.
NA Ri-su. Effects of transgenic *Bt* cotton on the ecological characteristics of soil microorganism in the cotton region of Yellow River Basin[D]. Huhhot: Inner Mongolia Normal University, 2011.
- [25] ICOZ I, Stotzy G. Fate and effects of insect-resistant *Bt* crops in soil ecosystems [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2008, 40: 559-586. ●