

转基因抗虫棉对赤子爱胜蚓生长、生殖及 SOD 活性的影响*

冷春龙^{1,2} 俞元春^{1,3**} 吴电明^{1,4} 舒洪岚⁵ 刘标^{6**}

(1. 南京林业大学森林资源与环境学院 南京 210037; 2. 江西省武宁县环境保护局 武宁 332300; 3. 中国科学院南京土壤研究所 土壤与农业可持续发展国家重点实验室 南京 210008; 4. 中国科学院遗传与发育生物学研究所农业资源研究中心 石家庄 050022; 5. 江西财经大学 南昌 330032; 6. 环境保护部南京环境科学研究所 南京 210042)

摘要 转基因抗虫棉给人类带来经济效益的同时,也存在生物安全性问题。蚯蚓通过影响土壤的物理和生物性质使土壤肥力发生变化。目前国内针对转基因抗虫棉对蚯蚓的影响研究十分有限,本研究通过室内喂养试验研究了转基因抗虫棉对赤子爱胜蚓生长、生殖及超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响。试验设置5个处理:100 g 牛粪+500 g 土壤(CK)、50 g 转基因抗虫棉叶+550 g 土壤(50T)、100 g 转基因抗虫棉叶+500 g 土壤(100T)、50 g 非转基因抗虫棉叶+550 g 土壤(50NT)、100 g 非转基因抗虫棉叶+500 g 土壤(100NT)。结果表明,喂养同等剂量转基因抗虫棉叶与非转基因抗虫棉叶的蚯蚓体重变化趋势基本一致,总体来说喂养100 g 棉叶(100T和100NT处理)的蚯蚓体重高于喂养50 g 棉叶(50T和50NT处理)和喂养牛粪(CK)的蚯蚓。在培养试验结束时,喂养100 g 转基因抗虫棉叶(100T处理)蚯蚓体重下降为前一次测定时的23.8%。喂养同等剂量的转基因抗虫棉叶和非转基因抗虫棉叶的蚯蚓茧数和新产生的小蚓数无显著差异(在0~27和0~57之间变化),但喂养100 g 转基因抗虫棉叶(100T处理)的小蚓数低于其他处理。在大多数培养时间内,同等剂量转基因抗虫棉叶处理对蚯蚓体内SOD活性的影响与非转基因抗虫棉叶处理差异不显著,但是在试验结束时(201 d),喂养50 g 棉叶(50T和50NT处理)的蚯蚓体内SOD活性显著高于喂养100 g 棉叶(100T和100NT处理)的蚯蚓。

关键词 转基因抗虫棉 赤子爱胜蚓 体重 蚯蚓茧数 小蚯蚓数 SOD

中图分类号: S154.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-3990(2012)07-0927-05

Effect of transgenic pest-resistant cotton on the growth, reproduction and SOD activity of *Eisenia foetida*

LENG Chun-Long^{1,2}, YU Yuan-Chun^{1,3}, WU Dian-Ming^{1,4}, SHU Hong-Lan⁵, LIU Biao⁶

(1. College of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 2. Jiangxi Wuning Environment Protective Bureau, Wuning 332300, China; 3. Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Nanjing 210008, China; 4. Center for Agricultural Resources Research, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Shijiazhuang 050022, China; 5. Jiangxi University of Economics and Finance, Nanchang 330032, China; 6. Nanjing Institute of Environmental Sciences, Ministry of Environmental Protection, Nanjing 210042, China)

Abstract While as much as transgenic pest-resistant cotton cultivation economically benefits humanity, it also affects ecosystem bio-safety. Studies have shown that earthworm improves soil fertility via enriching soil physical and biological properties. However, few studies have reported on the effects of transgenic pest-resistant cotton on soil earthworms. This work studied the effects of transgenic pest-resistant cotton on the growth, reproduction and superoxide dismutase (SOD) activity of field-fed earthworms (*Eisenia foetida*). The five treatments of the experiment included 100 g cow manure + 500 g soil (CK), 50 g transgenic cotton leaf + 550 g soil (50T), 100 g transgenic cotton leaf + 500 g soil (100T), 50 g non-transgenic cotton leaf + 550 g soil (50NT), and 100 g

* 土壤与农业可持续发展国家重点实验室开放基金(Y052010006)、转基因生物新品种培育科技重大专项(2011ZX08012-005)和江苏高校优势学科建设工程项目资助

** 通讯作者:俞元春(1961—),男,教授,博士生导师,主要从事土壤生态研究, E-mail: ycyu@njfu.edu.cn; 刘标,男,研究员, E-mail: 85287064@163.com

冷春龙(1980—),男,硕士研究生,主要从事环境保护工作。 E-mail: 450410554@qq.com

收稿日期: 2011-11-22 接受日期: 2012-02-08

non-transgenic cotton leaf + 500 g soil (100NT). Results showed similar varied trends in the body weights of earthworms fed on the same doses transgenic and non-transgenic cotton leaves. In general, the body weights of earthworms fed on 100 g cotton leaf (100T and 100NT) were higher than those fed on 50 g cotton leaf (50T and 50NT) and cow dung (CK). At the end of the experiment, however, the body weights of earthworm fed on 100 g transgenic cotton leaf dropped to 23.8% of the previous measurement. There were no significant differences in numbers of earthworm cocoons (0~27) and new earthworms (0~57) between earthworms fed on the same doses of transgenic and non-transgenic cotton leaf. However, the number of new earthworms fed on 100 g transgenic cotton leaf (100T) was lower than those for the other treatments. For the most incubation period, SOD activity of earthworms fed on transgenic cotton leaf was not significantly different from those fed on the same doses of non-transgenic cotton leaf. At the end of the experiment after 201 days, SOD activity of earthworms in the 50T and 50NT treatments were significantly higher than those in the 100T and 100NT treatments.

Key words Transgenic pest-resistant cotton, Earthworm *Eisenia foetida*, Body weight, Cocoon number, New earthworm number, Superoxide dismutase (SOD)

(Received Nov. 22, 2011; accepted Feb. 8, 2012)

转基因抗虫棉给人类带来经济效益的同时,也存在生物安全性问题^[1-3]。转基因抗虫棉的外源基因可能来自植物、动物或微生物,例如转 Bt 基因棉花中的外源基因来自于微生物。这些可能出现的新组合、新性状是否会改变原有的生态环境,并影响到生态系统稳定性,已引起各方面的关注^[4-6]。转基因抗虫棉的抗虫基因表达蛋白进入土壤生态系统后,可以进入昆虫(包括靶标害虫和非靶标害虫)体内被降解^[7],但也会残留在土壤中^[8],改变土壤的特异生物功能类群以及土壤的生物多样性^[9-11]。蚯蚓通过影响土壤的物理和生物性质而影响对植物养分的供应,它在土壤肥力上的重要性已为大家所公认^[12-14]。Saxena 等^[15]研究表明种植转 Bt 基因玉米和非转基因母本玉米的土壤对大蚯蚓(*Lumbricus terrestris*)的死亡率和体重方面的影响没有显著差异,但在其肠道和排出的泥土中检测到了 Bt 毒素。如果把蚯蚓放到没有种植过转基因玉米的新鲜土壤中 2~3 d 后,其肠道内的毒素就检测不到了。Zwahlen 等^[16]研究表明转基因玉米对成年和幼年大蚯蚓都没有致死效应,但室内培养 200 d 后,在含有转基因玉米叶片土壤中成年大蚯蚓的体重比初始体重降低 18%,而在含有非转基因玉米叶片土壤中成年大蚯蚓的体重比

初始体重仅降低 4%^[16]。Vercesi 等^[17]研究也表明转基因玉米对蚯蚓的存活率、繁殖和生长情况均没有显著影响,只是在高剂量 Bt 玉米组织处理下的蚯蚓孵化显著低于非 Bt 玉米组织处理。目前国内外针对转基因抗虫棉对蚯蚓的影响研究十分有限^[18],而且大多数研究表明转基因植物对蚯蚓的影响不显著。本文通过室内饲养试验,研究了转基因抗虫棉对蚯蚓生长、生殖及超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响,以期揭示转基因抗虫棉对蚯蚓的影响机理提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 基质的准备

采集转基因抗虫棉(“中棉所 41”,携带 Bt 和 CpTI 双价外源基因)和非转基因抗虫棉(“中棉所 35”)的衰老棉叶,用蒸馏水清洗干净,60 °C 烘干至恒重,用剪刀剪成宽 0.5 cm 左右的小叶片,放在保鲜袋中,-20 °C 保存备用。其基本化学性质如表 1。

土壤基质采自南京林业大学树木园,没有种植过转基因抗虫棉,风干,过 2 mm 筛备用;牛粪采自南京环境科学研究所试验专用牛粪,其基本理化性质见表 2。

表 1 试验用棉叶基质的基本化学性质

Table 1 Chemical properties of cotton leaves used in the test

棉花品种 Cotton variety	外源基因 Exogenous gene	总蛋白 Total protein	可溶性糖 Soluble sugar	全碳 Total C	全氮 Total N	全磷 Total P	全钾 Total K
中棉所 41 Zhongmiansuo 41	Bt, CpTI	317.07	123.42	722.74	14.58	7.72	12.90
中棉所 35 Zhongmiansuo 35	—	205.00	51.13	711.01	7.71	2.18	4.88

表 2 土壤基质和牛粪的基本化学性质

Table 2 Chemical properties of soil and cow dung used in the test

基质 Matrix	pH	有机质 Organic matter (g·kg ⁻¹)	全氮 Total N (g·kg ⁻¹)	全磷 Total P (g·kg ⁻¹)	全钾 Total K (g·kg ⁻¹)	水解氮 Hydrolyzable N (mg·kg ⁻¹)	有效磷 Available P (mg·kg ⁻¹)	速效钾 Available K (mg·kg ⁻¹)
土壤 Soil	6.09	19.20	1.30	0.47	9.12	47.56	0.11	46.21
牛粪 Cow manure	8.57	317.30	12.71	8.81	19.51	1 157.00	117.40	6 109.00

1.2 供试蚯蚓

试验蚯蚓为赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*), 来自南京环境科学研究所的试验用蚯蚓。收集的蚯蚓在实验室培育一段时间后, 选取带有生殖环带、大小较一致的健康蚯蚓, 用蒸馏水冲洗干净并在滤纸上吸干水分, 称重(约为 0.20~0.40 g), 将其放在测试基质表面, 即可用于正式试验。

1.3 试验设计

设 5 个处理: 100 g 牛粪+500 g 土壤(对照)、50 g 转基因抗虫棉叶+550 g 土壤、100 g 转基因抗虫棉叶+500 g 土壤、50 g 非转基因抗虫棉叶+550 g 土壤、100 g 非转基因抗虫棉叶+500 g 土壤, 重复 3 次。各处理分别用 CK、50T、100T、50NT 和 100NT 表示。

称取 500 g(或 550 g)土壤置于高 15 cm、直径 13 cm、总体积约 2 L 的培养瓶中, 加少量水, 放入高压灭菌锅中灭菌杀死土壤基质中的有机体, 冷却后按设计加入牛粪(已灭菌)和棉叶, 混匀, 用去离子水调节水分至土壤最大持水量的 30%。在每个培养瓶中各放入健康蚯蚓 10 条, 用纱布扎好瓶口, 将培养瓶置于温度为(20±2)℃、湿度为 80%~85%的培养箱内, 试验过程中不提供光照。为了研究转基因抗虫棉对蚯蚓的长期影响, 试验过程中约每 2 个月添加 1 次棉叶, 其添加量为原始加入量的 1/2。

在试验过程中, 每隔 14 d 检查培养瓶中蚯蚓条数、卵数、重量(小心清除蚯蚓体表泥土), 检查完毕后全部放回原来的培养瓶中。等有第 2 代蚯蚓出现时(42 d), 开始随机采 1 条蚯蚓, 以后每隔 2 个星期(分别在 56 d、70 d、84 d、98 d、112 d 和 201 d)随机采 1 条蚯蚓, 采集的蚯蚓称重后放入装有 2 mL 0.86%冷生理盐水的 5 mL 离心管中, 存于冰箱冷冻以测定 SOD 酶活性。

1.4 SOD 活性测定

按每 0.1 g 生物量加 0.9 mL 0.86%冷却过的生理盐水, 制成 10%匀浆液。在 2℃、3 000 r·min⁻¹条件下离心 12 min, 取上清液, 用南京建成生物工程研究所提供的超氧化物歧化酶试剂盒和考马斯亮兰蛋白试剂盒测定上清液中的 SOD 活性。

1.5 数据处理

利用 Microsoft Excel 软件、DPS 数据处理系统软件的 Duncan 新复极差法(简称 DMRT 法)进行各处理间的差异显著性检验($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 急性毒性试验

转基因抗虫棉叶和常规棉叶喂养蚯蚓试验过程中, 于第 14 d 和第 28 d 检查培养瓶中蚯蚓的生长情况, 记录蚯蚓的死亡数据(数据未列出)。结果表明,

本试验中作为对照的牛粪处理蚯蚓个体在 28 d 内无一死亡, 这说明本试验的条件比较可靠。与对照处理的结果一样, 50NT、100NT、50T 和 100T 处理的蚯蚓在 28 d 内均未出现致死现象, 这说明即使是高剂量的抗虫棉叶片, 也不会对蚯蚓产生急性毒杀效应。

2.2 转基因抗虫棉叶对蚯蚓生长与生殖的影响

在转基因棉花未对蚯蚓产生毒杀效应的前提下, 进一步开展转基因棉花对蚯蚓的生长和生殖影响的试验。不同时期蚯蚓平均体重的变化状况如图 1。

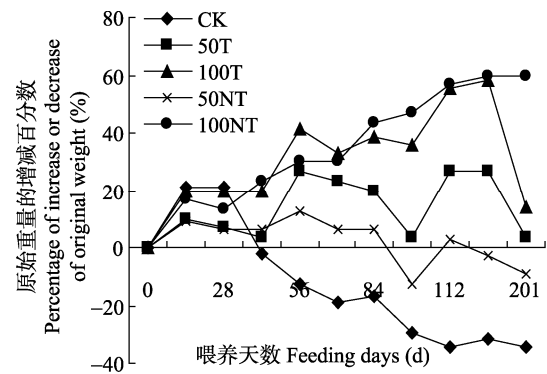


图 1 转基因抗虫棉对赤子爱胜蚓体重的影响
Fig. 1 Effect of transgenic pest-resistant cotton on body weight of *E. foetida*

对照: 100 g 牛粪+500 g 土壤; 50T: 50 g 转基因抗虫棉叶+550 g 土壤; 100T: 100 g 转基因抗虫棉叶+500 g 土壤; 50NT: 50 g 非转基因抗虫棉叶+550 g 土壤; 100NT: 100 g 非转基因抗虫棉叶+500 g 土壤。下同。CK: 100 g cow manure + 500 g soil; 50T: 50 g transgenic cotton leaf + 550 g soil; 100T: 100 g transgenic cotton leaf + 500 g soil; 50NT: 50 g non-transgenic cotton leaf + 550 g soil; 100NT: 100 g non-transgenic cotton leaf + 500 g soil. The same below.

从图 1 可以看出, 对照处理(无棉叶加牛粪)与其他处理有所不同, 在喂养前 28 d 内, 蚯蚓体重增加 21.28%; 但之后一直下降, 试验结束时下降到原始体重的 34.04%。50T 与 50NT 处理的蚯蚓在喂养 14 d 后, 净体重增加 10.0%, 而 100T 和 100NT 处理的净体重增加 20.0%; 之后, 50T 与 50NT 处理的蚯蚓净体重变化趋势一致, 试验结束后蚯蚓的体重与原始体重相差不大; 100T 除在 201 d 出现急速下降(降幅为 23.8%)外, 与 100NT 处理的变化趋势一致, 蚯蚓净体重一直处于上升趋势。在整个培养期内, 蚯蚓净体重总的变化趋势是 100T 和 100NT 高于 50T 和 50NT, CK 最低, 可能与添加棉叶的量、食物的适口性(棉叶和牛粪的区别)等原因密切相关。

转基因抗虫棉叶和常规棉叶喂养蚯蚓后, 不同时期蚯蚓生殖状况的变化如表 3 所示。在喂养 201 d 的过程中, 各处理的蚯蚓茧数目在 1~16 个范围内; 喂养 14 d 对照处理的蚯蚓茧数显著低于其他处理; 28 d 对照处理的蚯蚓茧数显著低于 100NT, 与其他处理差异不显著; 除 50T 喂养 56 d 外, 喂养 42 d 后

各处理的蚯蚓茧数没有显著差异。

各处理中新产生的小蚯蚓数目随喂养时间的延伸有增加趋势。喂养前 28 d 内, 各处理间均未发现新产生的小蚯蚓, 直到 42 d 后才开始发现; 而 100T 和 100NT 处理在喂养 56 d 后才检查到小蚓出现, 100T 处理小蚯蚓数第 56 d、70 d 和 84 d 显著低于 50T 和 50NT 处理, 但与 CK 及 100NT 处理没有显著差异。之后各处理间没有显著差异, 但 100T 处理有低于其他处理的趋势。

2.3 转基因抗虫棉叶对蚯蚓体内超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的影响

由图 2 所示, 在试验前期(前 70 d), CK 处理 SOD 活性高于其他处理, 42 d 时显著高于 50T 和 50NT 处理, 56 d 和 70 d 时显著高于其他处理; 84 d 后, CK 处理的 SOD 活性趋于降低, 201 d 时 CK 处理的 SOD 活性显著低于 50NT 处理。50T 处理的 SOD 活性 56 d 时显著低于 50NT 处理, 84 d 时显著高于 50NT 处理, 其他时期 50T 与 50NT 处理 SOD 活性无显著性

差异。100T 和 100NT 处理蚯蚓体内的 SOD 活性变化趋势与 50T 和 50NT 处理相同。培养 98 d 后, 50T 和 50NT 处理 SOD 活性有增加的趋势, 而 100T 和 100NT 处理则相反。在试验结束时 50T 和 50NT 处理 SOD 活性显著高于 100T 和 100NT 处理。

3 讨论与结论

28 d 的室内培养试验表明, 高含量的抗虫棉叶对蚯蚓没有急性毒杀效应。在 201 d 的蚯蚓喂养试验中, 与喂养非抗虫棉叶相比, 喂养 50 g 和 100 g 抗虫棉叶(50T 和 100T)在 126 d 内对蚯蚓的体重无显著影响, 但在 201 d 时, 100T 处理蚯蚓的体重相对前一次大幅度下降; 这与 Zwahlen 等^[16]的研究结果相一致, 其主要原因可能是转基因植物不但改变了土壤中微生物群落结构^[19], 而且影响到转基因植物中化学成分的结构^[16,20]。例如, Saxena 等^[20-21]发现转基因玉米维管束鞘及厚壁组织细胞中含有更高含量的木质素, 这可能减慢凋落物的分解速率, 也有

表 3 转基因抗虫棉叶对赤子爱胜蚓生殖的影响

Table 3 Effect of transgenic pest-resistant cotton leaves on reproduction of *E. foetida*

喂养天数 Feeding days (d)	蚯蚓茧数目 Cocoon number of earthworm					新生赤子爱胜蚓数目 Number of new earthworm				
	CK	50T	100T	50NT	100NT	CK	50T	100T	50NT	100NT
14	1±1d	11±1a	8±3bc	11±2ab	5±1c	—	—	—	—	—
28	6±2b	10±1ab	12±4ab	11±3ab	13±4a	—	—	—	—	—
42	14±6a	10±3a	6±3a	12±3a	14±9a	2±3a	5±2a	—	3±2a	—
56	14±1a	6±7b	4±3a	12±3a	7±4a	7±3ab	19±4a	2±2b	19±16a	3±4ab
70	7±6a	4±4a	11±5a	3±2a	12±4a	19±8abc	39±5a	7±7c	31±14ab	10±15bc
84	10±8a	6±3a	11±6a	8±7a	7±5a	26±20ab	34±5a	7±5b	32±10a	11±18ab
98	8±1a	5±4a	7±3a	4±3a	4±4a	26±20a	24±13a	4±3a	14±12a	9±14a
112	10±7a	7±1a	14±6a	6±3a	9±1a	31±27a	38±15a	9±9a	30±23a	18±29a
126	8±5a	6±4a	10±3a	7±1a	6±3a	24±16a	37±14a	15±12a	35±22a	22±28a
140	4±1a	3±1a	16±6a	10±3a	9±2a	22±16a	36±10a	11±11a	30±18a	25±35a
154	6±1a	6±1a	13±2a	8±2a	8±1a	28±13a	41±9a	17±12a	35±19a	27±35a
168	7±3a	4±2a	14±11a	9±4a	9±5a	30±15a	36±12a	13±8a	38±23a	31±28a
201	8±2a	4±1a	14±13a	9±4a	9±5a	35±14a	39±15a	20±6a	45±21a	33±31a

同行不同小写字母表示处理间在 0.05 水平上差异显著 Values followed by different lowercase letters in the same line are significantly different at 0.05 level.

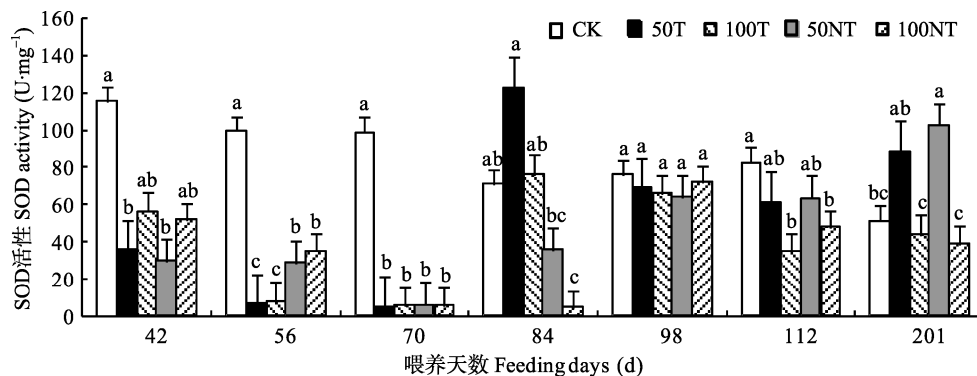


图 2 转基因抗虫棉叶对赤子爱胜蚓 SOD 活性的影响

Fig. 2 Effect of transgenic pest-resistant cotton leaves on SOD activity of *E. foetida*

可能向蚯蚓提供低质量的食物, 从而不利于其生长生殖, 但更长时间的喂养试验及转基因植物叶片成分组成等数据的获得还需要进一步的研究。

喂养 14 d 对照处理的蚯蚓茧数显著低于其他处理; 28 d 对照处理的蚯蚓茧数显著低于 100NT, 与其他处理差异不显著; 除 50T 喂养 56 d 外, 喂养 42 d 后各处理的蚯蚓茧数没有显著差异。各处理直到 42 d 才开始发现新产生的小蚯蚓, 100T 和 100NT 处理直到 56 d 才检查到小蚯蚓, 100T 处理 56 d、70 d 和 84 d 的小蚓数显著低于 50T 和 50NT 处理, 但与 CK 和 100NT 处理没有显著差异。56 d 后其他处理间没有显著差异, 但 100T 处理有低于其他处理的趋势, 可能是由于高剂量的抗虫棉叶片对蚯蚓的生殖有抑制作用^[17], 但尚需要更多的数据支持。

超氧化物歧化酶(SOD)是一种含有金属元素的活性蛋白酶, 广泛分布于各种生物体内, 如动物、植物、微生物等。SOD 具有特殊的生理活性, 是生物体内清除自由基的首要物质, SOD 在生物体内的水平高低意味着衰老与死亡的直观指标。现已证实, 由氧自由基引发的疾病多达 60 多种。它可对抗与阻断因氧自由基对细胞造成的损害, 并及时修复受损细胞, 复原因自由基造成的对细胞的伤害^[22]。生物体内 SOD 含量不是恒定的, 当生物所生存的环境出现逆境时, 生物体内会诱导 SOD 的产生。反过来说如果 SOD 活性越低, 生物生存的环境越理想^[23]。本试验中, 除 56 d 和 84 d 外, 其他时期同等剂量抗虫棉叶和非抗虫棉叶对蚯蚓体内 SOD 活性的影响不显著。但是在试验结束时, 50T 和 50NT 处理的 SOD 活性显著高于 100T 和 100NT 处理。

参考文献

- [1] 文学, 张宝红. 转基因抗虫棉研究现状与展望[J]. 农业生物技术学报, 2000, 8(2): 194-199
- [2] 郭建英, 万方浩, 韩召军. 转基因植物的生态安全性风险[J]. 中国生态农业学报, 2008, 16(2): 515-522
- [3] 冷春龙, 俞元春, 刘标. 转基因抗虫植物对土壤质量影响的研究进展[J]. 环境保护, 2007(13): 44-47
- [4] 白耀宇, 蒋明星, 程家安, 等. 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
- [5] Snow A A, Palma P M. Commercialization of transgenic plants: potential ecological risks[J]. Bioscience, 1997, 47(2): 86-96
- [6] 郭三堆, 崔洪志, 夏兰芹, 等. 双价抗虫转基因棉花研究[J]. 中国农业科学, 1999, 32(3): 3-9
- [7] Koskella J, Stotzky G. Microbial utilization of free and clay-bound insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* and their retention of insecticidal activity after incubation with microbes[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1997, 63(9): 3561-3568
- [8] 熊珺瑜, 崔金杰, 张帅, 等. 抗虫棉外源 Cry1A 融合杀虫蛋白在土壤中的降解动态[J]. 棉花学报, 2011, 23(4): 364-368
- [9] 俞元春, 冷春龙, 舒洪岚, 等. 转基因抗虫棉对土壤养分和酶活性的影响[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2011, 35(5): 21-24
- [10] 马艳. 转基因抗虫棉生物安全研究进展[J]. 棉花学报, 2003, 15(1): 59-64
- [11] 李孝刚, 刘标, 徐文华, 等. 转 Bt 基因抗虫棉对土壤微生物群落生物多样性的影响[J]. 生态与农村环境学报, 2011, 27(1): 17-22
- [12] 张宝贵, 李贵桐. 土壤生物在土壤磷有效化中的作用[J]. 土壤学报, 1998, 35(1): 104-111
- [13] 乔玉辉, 曹志平, 吴文良. 华北高产农田生态系统中蚯蚓种群次生演替规律[J]. 生态学报, 2004, 24(10): 2307-2311
- [14] 张卫信, 陈迪马, 赵灿灿. 蚯蚓在生态系统中的作用[J]. 生物多样性, 2007, 15(2): 142-153
- [15] 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 Biology and Biochemistry, 2001, 33(9): 1225-1230
- [16] Zwahlen C, Hilbeck A, Howald R, et al. Effects of transgenic Bt corn litter on the earthworm *Lumbricus terrestris*[J]. Molecular Ecology, 2003, 12(4): 1077-1086
- [17] Vercesi M L, Krogh P H, Holmstrup M. Can *Bacillus thuringiensis* (Bt) corn residues and Bt-corn plants affect life-history traits in the earthworm *Aporrectodea caliginosa*?[J]. Applied Soil Ecology, 2006, 32(2): 180-187
- [18] Koskella J, Stotzky G. Larvicidal toxins from *Bacillus thuringiensis* subspp. *kurstaki*, *morrisoni* (strain *tenebrionis*), and *israelensis* have no microbicidal or microbiostatic activity against selected bacteria, fungi, and algae in vitro[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2002, 48(3): 262-267
- [19] 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]. Applied Soil Ecology, 1995, 2(2): 111-124
- [20] Saxena D, Stotzky G. Bt corn has a higher lignin content than non-Bt corn[J]. American Journal of Botany, 2001, 88(9): 1704-1706
- [21] Escher N, Käch B, Nentwig W. Decomposition of transgenic *Bacillus thuringiensis* maize by microorganisms and woodlice *Porcellio scaber* (Crustacea: Isopoda)[J]. Basic and Applied Ecology, 2000, 1(2): 161-169
- [22] Mccord J M, Fridovich I. Superoxide dismutase[J]. Journal of Biological Chemistry, 1969, 244(22): 6049-6055
- [23] Beauchamp C, Fridovich I. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels[J]. Analytical Biochemistry, 1971, 44(1): 276-287