

## Cry1Ab 蛋白在不同土壤中的吸附与解吸\*

姚艳玲 崔海瑞<sup>†</sup> 卢美贞 金基强

(浙江大学原子核农业科学研究所, 杭州 310029)

**摘要** 以转 *cry1Ab* 基因高粱为材料提取 Cry1Ab 蛋白, 测定了 Cry1Ab 蛋白在 6 种土壤中的吸附与解吸, 分析了 Cry1Ab 蛋白溶液浓度、土壤理化性质对 Cry1Ab 蛋白吸附与解吸的影响。结果表明, 不同类型的土壤对 Cry1Ab 的吸附与解吸存在明显的差异, 吸附量表现为红泥土 > 灰化土 > 青紫泥田 > 黄筋泥 > 黄松田 > 红砂土, 解吸量表现为灰化土 > 青紫泥田 > 红砂土 > 黄筋泥 > 红泥土 > 黄松田; Cry1Ab 蛋白溶液的浓度与吸附量和解吸量呈显著正相关, 相关系数分别为 0.86 和 0.99; 土壤有机质、pH 值与土壤吸附 Cry1Ab 蛋白的能力呈显著正相关, 相关系数分别为 0.83 和 0.82; 土壤全氮、有效磷的含量与土壤吸附 Cry1Ab 蛋白呈正相关, 土壤全氮、有效磷和速效钾的含量与解吸均呈负相关。土壤吸附、解吸 Cry1Ab 蛋白是加入 Cry1Ab 蛋白溶液的浓度及不同土壤的理化性质共同作用的结果。

**关键词** Cry1Ab 蛋白; 土壤类型; 吸附; 解吸

**中图分类号** S154; X171 **文献标识码** A

苏云金芽孢杆菌 (*Bacillus thuringiensis*, Bt) 在芽孢形成时可产生具有杀虫活性的晶体蛋白质<sup>[1]</sup>, 被称为杀虫晶体蛋白 (insecticidal crystal protein, ICP) 或  $\delta$ -内毒素 ( $\delta$ -endotoxin)<sup>[2]</sup>。自从 1981 年 Schnepf 等<sup>[3]</sup>首次成功地克隆了第一个编码 Bt 杀虫晶体蛋白基因以来, 到 2005 年 4 月, 人们已经分离了 333 个杀虫晶体蛋白基因, 其中 327 个已定名<sup>[4]</sup>。大量 Bt 基因的克隆, 为利用转基因技术进行植物品种改良提供了丰富和有效的抗虫基因资源, 它已成为目前植物抗虫基因工程中应用最广泛的抗虫基因。抗虫玉米、棉花、马铃薯、番茄等已实现商品化应用<sup>[5]</sup>, 2005 年全球种植抗虫转基因作物的面积已达到  $1.63 \times 10^7 \text{hm}^2$ , 占转基因作物总种植面积的 29%<sup>[6]</sup>。

与此同时, 种植转 Bt 基因作物后残留在土壤中的 Bt 毒素蛋白对环境产生的风险性效应越来越引起人们的重视<sup>[7]</sup>。已有研究结果表明, 影响着肥力因素和土壤耕性的粘土矿物、腐质酸、有机矿物聚合物等可吸附 Bt 毒素并致使其保持残留<sup>[8-13]</sup>, 土壤 pH 值对其吸附 Bt 毒素也有明显的影响<sup>[14]</sup>。结合态毒素仍保持杀虫活性<sup>[8,9,12]</sup>, 对土壤生物和土壤酶产生不同程度的影响<sup>[7,15,16]</sup>。这些研究结果为转

Bt 基因植物的安全性评价提供了参考依据。但值得注意的是, 目前这方面研究报道中所用 Bt 毒素多是从 Bt 直接提取纯化的, 所研究的也多是单一土壤成分与 Bt 毒素的结合, 尚未涉及不同类型土壤与 Bt 蛋白的结合情况。为此, 本研究从转 *cry1Ab* 基因高粱中直接提取 Cry1Ab 蛋白, 比较和分析了 6 种浙江省常见水稻土壤及其理化性质对 Cry1Ab 蛋白结合的影响, 以期为合理评价 Bt 蛋白在土壤中的环境行为提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 转 *cry1Ab* 基因高粱与 Cry1Ab 蛋白提取

用于提取 Cry1Ab 蛋白的转 *cry1Ab* 基因高粱系采用农杆菌介导恢复系 115 培育而成, 目前已进入中间试验阶段 (农基安办字 2003-T005、农基安办字 2004-T106)。收集 2003 年春种于浙江大学华家池校区现代农业示范中心的转 *cry1Ab* 基因高粱叶片和茎秆, 在液氮中研磨成粉状, 加入 Bt 蛋白提取液 (成分与试剂盒提供的相同) 4 °C 下提取 3 h, 浓缩纯化后置 -70 °C 冰箱保存、备用。

\* 国家自然科学基金项目 (30270273) 资助

<sup>†</sup> 通讯作者, E-mail: hrcui@zju.edu.cn

作者简介: 姚艳玲 (1980~), 女, 硕士研究生, 从事转 Bt 基因表达产物的环境行为与效应研究

收稿日期: 2005-12-31; 收到修改稿日期: 2006-04-20

## 1.2 供试土壤与理化性质测定

本实验所用土壤由浙江大学环境与资源学院提

供,分别为红砂土、灰化土、红泥土、青紫泥田、黄筋泥及黄松田,按常规方法测定土壤的基本性质<sup>[7]</sup>,见表1。

表1 6种土壤的理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of 6 types of soils used in the experiment

土壤发生分类 Soil genetic classification	土壤系统分类 Soil taxonomy	有机质 OM (g kg <sup>-1</sup> )	阳离子交				pH	全氮 Total N (g kg <sup>-1</sup> )	有效磷 Available phosphorus (μg g <sup>-1</sup> )	速效钾 Available potassium (μg g <sup>-1</sup> )
			换量 CEC (cmol kg <sup>-1</sup> )	砂粒 Sand (%)	粉粒 Silt (%)	粘粒 Clay (%)				
红砂土 Paddy soil derived from red sandstone	红色正常新成土 Rougr Orthic Primosols	13.21	5.90	71.82	10.50	18.68	5.23	0.62	0.33	11.01
灰化土 Typic podzolic soil	筒育正常灰土 Haplir Orthic Spodosols	21.61	14.94	16.10	58.60	25.30	7.60	1.13	0.21	40.02
红泥土 Paddy soil from red clay	铝质湿润淋溶土 AlrUdic Argosols	24.42	7.51	21.94	22.48	55.58	6.92	1.30	4.31	11.09
青紫泥田 Blue purple clay soil	铁渗水耕人为土 Feleachr Stagnic Anthrosols	24.14	17.18	14.60	29.28	56.12	6.81	1.93	2.10	76.13
黄筋泥 Paddy soil from quaternary red clay	筒育湿润富铁土 HaplirUdic Ferralsols	18.32	6.13	19.00	50.20	30.80	5.84	0.90	4.13	13.21
黄松田 Yellow loamy paddy soil	筒育水耕人为土 Haplir Stagnic Anthrosols	19.20	9.30	16.18	62.24	21.58	5.68	2.29	2.40	92.04

## 1.3 不同土壤对 Cry1Ab 蛋白吸附及解吸的测定

参考 Crecchio 等报道的方法<sup>[9]</sup>,并有所改动,具体如下:土壤自然风干后过筛(100目),不同类型土壤各称 0.1 g 于 5 ml 离心管中,添加不同浓度 C<sub>0</sub> (750 ng ml<sup>-1</sup>, 600 ng ml<sup>-1</sup>, 450 ng ml<sup>-1</sup>, 300 ng ml<sup>-1</sup>, 150 ng ml<sup>-1</sup>) Cry1Ab 蛋白溶液各 4 ml,摇匀后振荡培养 24 h (恒温 25 ± 1 °C, 150 r min<sup>-1</sup>),达到吸附平衡后,12 000 r min<sup>-1</sup>离心,取出上清液,记录倾出上清液体积 V<sub>1</sub>,并测定其中的 Cry1Ab 蛋白的浓度为 C<sub>1</sub>,加入 Cry1Ab 蛋白量与此上清液中测定量的差值即土壤吸附的 Cry1Ab 蛋白量,用吸附量来衡量土壤对 Cry1Ab 蛋白的吸附能力,吸附量以每克土壤吸附 Cry1Ab 蛋白的量(μg g<sup>-1</sup>)来表示,即吸附量 = {(C<sub>0</sub> - C<sub>1</sub>) × 4} / 0.1;在上一系列步骤中倾出上清液后的离心管里加入双蒸水至原来体积 4 ml,摇匀后振荡培养 24 h (恒温 25 ± 1 °C,

150 r min<sup>-1</sup>),达到平衡后,12 000 r min<sup>-1</sup>离心,测得上清液中 Cry1Ab 蛋白浓度为 C<sub>2</sub>,以每克土壤被解吸的 Cry1Ab 蛋白量来表示解吸量(μg g<sup>-1</sup>),即解吸量 = {C<sub>2</sub> × 4 - C<sub>1</sub> × (4 - V<sub>1</sub>)} / 0.1。测定时 3 个平行样,并对结果进行统计分析。

## 1.4 Cry1Ab 蛋白的测定

将 100 μl 待测样品液加入到已包埋抗体的 96 孔板中,同时加入不同浓度 (0, 0.5 ng ml<sup>-1</sup>, 2.5 ng ml<sup>-1</sup>, 5.0 ng ml<sup>-1</sup>) 的 Cry1Ab 蛋白标准溶液,按 Cry1Ab/Cry1Ac 板式试剂盒(美国 ENVIROLOGIX 公司)提供的方法进行测定,最后根据酶标仪 (SpectronMax 190, 德国)在波长为 450 nm 下的 OD 读数,参照标准曲线和稀释倍数计算出待测样品的 Cry1Ab 蛋白量。

## 1.5 数据处理

对各处理的 3 个平行样数据进行加权平均,然

后利用 Excel 进行方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同土壤类型对 Cry1Ab 蛋白的吸附与解吸

不同类型土壤对 Cry1Ab 蛋白的吸附能力不同, 结果见表 2。以红泥土对 Cry1Ab 蛋白的吸附能力最强, 达到  $5.22 \mu\text{g g}^{-1}$ , 占添加 Cry1Ab 蛋白的 25.33%, 其他由高到低依次是灰化土、青紫泥田、黄筋泥、黄松田和红砂土, 分别占加入 Cry1Ab 蛋白量的 21.36%、21.13%、13.85%、28.17% 和 15.91%。统计测验的结果表明, 红泥土的吸附量显著大于红砂土、黄松田和黄筋泥, 但未达到极显著水平, 而其他各土壤之间均未达到显著水平。

6 种不同类型土壤中 Cry1Ab 蛋白的解吸量也有很大差别, 灰化土被解吸出来的 Cry1Ab 蛋白最多, 为  $0.048 \mu\text{g g}^{-1}$ , 黄松田被解吸的最小, 只有  $0.011 \mu\text{g g}^{-1}$ , 其他依次为青紫泥田、红砂土、黄筋泥和红泥土。但从上述 6 种土壤解吸出的 Cry1Ab 蛋白总量来看, 分别占吸附总量的 1.99%、2.23%、1.37%、1.66%、0.35% 和 0.98%, 所占比例很小, 说明绝大多数 Cry1Ab 蛋白被土壤吸附后, 能与土壤结合而不易再“释放”。统计分析显示, 6 种不同土壤被解吸出的 Cry1Ab 蛋白的量差异大都达到显著水平; 除青紫泥田外, 灰化土与其余 4 种土壤间的差异均达到极显著水平, 红泥土与红砂土、灰化土和青紫泥田间也均达到极显著差异。

表 2 不同类型土壤中 Cry1Ab 蛋白的吸附及解吸

Table 2 Adsorption and desorption of Cry1Ab protein in different types of soils

土壤类型 Types of soils	吸附量 Amount of adsorption ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	解吸量 Amount of desorption ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
红砂土 Paddy soil derived from red sandstone	2.76(15.91% <sup>1)</sup> a <sup>3)</sup>	0.028(1.66% <sup>2)</sup> bBC
黄松田 Yellow Loamy paddy soil	2.79(28.17%) a	0.011(0.35%) adAB
黄筋泥 Paddy soil from quaternary red clay	2.90(13.85%) a	0.026(1.37%) bdAC
青紫泥田 Blue purple clay soil	4.05(21.13%) ab	0.039(1.99%) cBD
灰化土 Typic podzolic soil	4.16(21.36%) ab	0.048(2.23%) cD
红泥土 Paddy soil from clay red soil	5.22(25.33%) b	0.016(0.98%) aA

注: 1) 占加入 Cry1Ab 蛋白量的百分数; 2) 表示占吸附总量的百分数; 3) 小写和大写字母分别表示差异显著性水平为 0.05 和 0.01  
Note: 1) Percentage of Cry1Ab adsorbed against Cry1Ab added; 2) Percentage of Cry1Ab desorbed against Cry1Ab adsorbed; 3) Lowercase and uppercase letters represent significant difference at the levels of 0.05 and 0.01, respectively

### 2.2 添加 Cry1Ab 蛋白溶液的浓度对吸附和解吸的影响

添加 Cry1Ab 蛋白溶液的浓度对吸附和解吸具有明显的影响, 结果见表 3。Cry1Ab 蛋白溶液浓度为  $750 \text{ ng ml}^{-1}$  时, 土壤对 Cry1Ab 蛋白的吸附量最大为  $5.30 \mu\text{g g}^{-1}$ , 占加入 Cry1Ab 蛋白总量的 17.89%,  $450 \text{ ng ml}^{-1}$  浓度下的吸附量为最小, 吸附量为  $1.54 \mu\text{g g}^{-1}$ , 占加入 Cry1Ab 总蛋白的 10.62%, 其余按添加 Cry1Ab 蛋白浓度大小顺序依次占加入总 Cry1Ab 蛋白的 22.74%、14.67% 和 34.50%。经统计分析

后, 在  $750 \text{ ng ml}^{-1}$  与  $600 \text{ ng ml}^{-1}$  浓度时被吸附量无显著差异, 但极显著高于浓度为  $450 \text{ ng ml}^{-1}$ 、 $300 \text{ ng ml}^{-1}$ 、 $150 \text{ ng ml}^{-1}$  时的被吸附量。

土壤解吸 Cry1Ab 蛋白的量随着加入 Cry1Ab 蛋白溶液浓度的增加而增加, 其中浓度为  $750 \text{ ng ml}^{-1}$  时土壤中 Cry1Ab 蛋白被解吸的量最大为  $0.048 \mu\text{g g}^{-1}$ , 占吸附总蛋白的 1.21%, 浓度为  $150 \text{ ng ml}^{-1}$  时解吸量最小为  $0.010 \mu\text{g g}^{-1}$ , 占吸附总蛋白的 0.61%, 前者是后者的 4.8 倍; 其余按加入浓度大小依次占吸附总蛋白的 1.67%、3.02% 和 1.72%, 可

见解吸出来的 Cry1Ab 蛋白均较少。统计分析结果表明,各处理浓度间解吸量差异均达到显著水平,且 750 ng ml<sup>-1</sup>、600 ng ml<sup>-1</sup> 浓度下的解吸量极显著高于其他浓度,150 ng ml<sup>-1</sup> 浓度下解吸量与其他各浓度均有极显著差异。

进一步对 Cry1Ab 蛋白浓度与土壤吸附量和解吸量的相关性进行了分析,吸附量和解吸量都与 Cry1Ab 蛋白溶液的浓度呈正相关,相关系数为 0.86 和 0.99,分别达到显著水平和极显著水平。因此,Cry1Ab 蛋白溶液的浓度是影响土壤吸附、解吸 Cry1Ab 蛋白的重要因素,且对土壤解吸 Cry1Ab 蛋白影响更大。

表 3 不同浓度下 Cry1Ab 蛋白的吸附及解吸

Table 3 Adsorption and desorption of Cry1Ab protein in relation to concentration of Cry1Ab

添加 Bt 蛋白浓度 Concentration of Cry1Ab (ng ml <sup>-1</sup> )	吸附量 Amount of adsorption ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	解吸量 Amount of desorption ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
750	5.30(17.89%) aA <sup>3)</sup>	0.048(1.21%) aA
600	4.20(22.74%) abAB	0.035(1.67%) bA
450	1.54(10.62%) bB	0.027(3.02%) cB
300	1.69(14.67%) bB	0.018(1.72%) dB
150	1.86(34.50%) bB	0.010(0.61%) eC

注: 1) 占加入 Cry1Ab 蛋白量的百分数; 2) 表示占吸附总量的百分数; 3) 小写和大写字母分别表示差异显著性水平为 0.05 和 0.01  
Note: 1) Percentage of Cry1Ab adsorbed against Cry1Ab added; 2) Percentage of Cry1Ab desorbed against Cry1Ab adsorbed; 3) Lowercase and uppercase letters represent significant difference at the levels of 0.05 and 0.01, respectively

### 2.3 土壤理化性质对吸附与解吸的影响

土壤理化性质也影响着不同土壤对 Cry1Ab 蛋白的吸附与解吸,结果见表 4。土壤对 Cry1Ab 蛋白的吸附作用与土壤有机质、粘粒、土壤 pH 值呈正相关,相关系数分别为 0.83、0.77 和 0.82,其中吸附量与有机质和土壤 pH 值均达到显著相关,说明有机质含量高、土壤酸碱度为中性或偏碱性的土壤吸附 Cry1Ab 蛋白的能力越强;土壤颗粒成分中的粘粒含量越高也越有利于 Cry1Ab 蛋白的吸附。土壤中 Cry1Ab 蛋白的解吸量与土壤阳离子交换量有一定正相关,但未达到显著水平。另外,土壤全氮、有效磷含量与土壤吸附 Cry1Ab 蛋白呈正相关,而土壤全氮、有效磷和速效钾的含量与解吸都呈负相关,可以推知,土壤中 N、P、K 含量越高可能越有利于土壤吸附 Cry1Ab 蛋白而不利于解吸。综上所述,土壤吸

附、解吸 Cry1Ab 蛋白是土壤各理化性质共同作用的结果,其中以土壤有机质含量和土壤酸碱度对 Cry1Ab 蛋白的吸附与解吸影响最大。

表 4 土壤的理化性质与吸附、解吸的相关性分析

Table 4 Analysis of correlation between soil properties and Cry1Ab adsorption/desorption

土壤理化性质 Physical and chemical properties of soils	相关系数 Correlation coefficient	
	吸附量 Amount of adsorption	解吸量 Amount of desorption
有机质 OM	0.83*	0.14
阳离子交换量 CEC	0.36	0.69
砂粒 Sand	-0.39	-0.06
粉粒 Powder	-0.22	0.05
粘粒 Clay	0.77	0.02
pH 值 pH of soils	0.82*	0.57
全氮 Total N	0.05	-0.31
有效磷 Readily available P	0.26	-0.6
速效钾 Readily available K	-0.17	-0.03

注: \* 表示差异显著性水平为 0.05 Note: \* represents significant difference at the level of 0.05

## 3 讨论

Venkateswerlu 等报道<sup>[13]</sup>从 Bt 提取的毒素能快速被土壤吸附并紧紧地结合;Tapp 等报道<sup>[10]</sup>土壤中的蒙脱石和高岭石可快速吸附 Bt 毒素,蒙脱石对 Bt 毒素的吸附作用明显高于高岭石,其最大吸附量分别为 790  $\mu\text{g mg}^{-1}$  和 280  $\mu\text{g mg}^{-1}$ ,分别占加入毒素量的 38% 和 13.5%。这些结果说明土壤颗粒如粘土矿物、腐质酸、有机矿物聚合体等可吸附 Bt 毒素,但不同成分的吸附能力不同。本研究结果表明不同类型的土壤对 Bt 蛋白的吸附量与被解吸 Bt 蛋白的量有明显的差异,而这种差异与其组成和理化性质相关联。Stotky 等报道<sup>[11,12]</sup>,Bt 毒素浓度一定时,吸附量与腐质酸含量成正比;当腐质酸含量一定时,腐质酸的吸附量与 Bt 毒素的浓度成正比。Saxena 等报道<sup>[18]</sup>Bt 蛋白与土壤结合的量随着土壤粘粒含量的增加而增加,Aronson 等报道<sup>[14]</sup>土壤 pH 值对其吸附 Bt 毒素也有明显的影响。本研究发现有有机质含量和 pH 值与土壤吸附 Bt 蛋白的能力呈显著正相关,土壤粘粒含量也对其有较大影响,与以上这些报道的结论是一致的。

Crecchio 等研究发现<sup>[9]</sup>, 添加的 Bt 蛋白中 70% 左右在 1h 内被吸附, 8h 内达到最大吸附量, 而更长时间的接触对吸附总量影响不大, 而被吸附的 Bt 蛋白相当稳定, 且 SDS-PAGE 测定结果显示被解吸出来的 Bt 蛋白结构和大小并没有因为与土壤结合而有显著的改变, 与自由态 Bt 蛋白相同。因此本实验设计培养时间为 24 h, 使样品充分吸附或解吸后达到平衡, 实验反映的是系统达到平衡状态后土壤对 Cry1Ab 蛋白的最大吸附量和最大解吸量。实验结果发现从不同类型土壤中解吸的 Cry1Ab 蛋白量大多都在结合 Cry1Ab 蛋白的 2% 以下, 这也进一步说明了 Cry1Ab 蛋白与土壤颗粒的结合是紧密的, 不易再解吸, 这将可能导致土壤 Cry1Ab 蛋白的积累。土壤中的 Cry1Ab 蛋白存在的量取决于其积累和降解的速率, 因此, 对种植转 Bt 基因作物释放 Bt 毒素的土壤环境行为需要进行长期的定位检测与研究, 才能做出客观、合理的评价。

在目前有关 Bt 蛋白与土壤结合及其行为的研究报道中, 所采用的 Bt 蛋白多是从 Bt 直接提取和纯化的, 而在转化时为了提高 Bt 基因的表达水平, 不同研究者往往对 Bt 基因进行了密码子修饰, 使得不同转 Bt 基因植物间以及与 Bt 本身的杀虫晶体蛋白在化学结构和性质等方面可能存在差异; 另一方面, 土壤是一种复杂的混合物, 而研究者大多采用土壤有机质或矿物质等为实验材料, 考虑因素较为简单。在本研究中所用的 Bt 蛋白是从种植于田间的转基因高粱中提取的, 而且研究的对象是不同类型土壤, 因此, 与以往类似的研究报道相比, 本研究的结果更能全面反映目前转基因作物释放 Bt 毒素与土壤结合及其行为的田间实际情况, 将为合理评价转 Bt 基因植物的安全性提供更有力的依据。

## 参考文献

- [ 1 ] Hannay C L. Crystalline inclusions in aerobic spore forming bacteria. *Nature*, 1953, 172(4387): 1004
- [ 2 ] Hannay C L. The protein crystals of *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Canadian Journal of Microbiology*, 1955, 1(8): 694~ 710
- [ 3 ] Schnepf H E, Whiteley H R. Cloning and expression of the *Bacillus thuringiensis* crystal protein gene in *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 1981, 78: 2893~ 2897
- [ 4 ] <http://www.biols.susx.ac.uk/home/NeilCrickmore/Bt>
- [ 5 ] 吴刚, 崔海瑞, 舒庆尧, 等. Bt 杀虫晶体蛋白基因及其转基因育种研究进展. *生物工程进展*, 2000, 20(2): 45~ 48. Wu G, Cui H R, Shu Q Y, *et al.* Advances in the study of Bt insecticidal crystal protein gene and its application in transgenic plant breeding (In Chinese). *Progress in Biotechnology*, 2000, 20(2): 45~ 48
- [ 6 ] Clive J. Global status of commercialized transgenic crops: 2005, ISAAA Briefs, 2005, 34: 1~ 12 ([http://www.isaaa.org/Resources/Publications/briefs/isaaa\\_briefs.htm](http://www.isaaa.org/Resources/Publications/briefs/isaaa_briefs.htm))
- [ 7 ] 姚艳玲, 崔海瑞, 卢美贞, 等. 转基因植物释放 Bt 毒素的土壤环境行为与生物学效应. *土壤学报*, 2006, 42(6): 1024~ 1029. Yao Y L, Cui H R, Lu M Z, *et al.* Environmental behavior and biological effects of Bt toxins released from Bt transgenic plants in soil (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2006, 42(6): 1024~ 1029
- [ 8 ] Crecchio C, Stotzky G. Insecticidal activity and biodegradation of the toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* bound to humic acids from soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 1998, 30(4): 463~ 470
- [ 9 ] 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. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33: 573~ 581
- [ 10 ] Tapp H, Calamai L, Stotzky G. Adsorption and binding of the insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* and subsp. *Tenebrionis* on clay. *Soil Biology and Biochemistry*, 1994, 26: 663~ 679
- [ 11 ] Saxena D, Stotzky G. Insecticidal toxin from *Bacillus thuringiensis* is released from roots of Bt corn *in vitro* and *in situ*. *FEMS Microbiology Ecology*, 2000, 33(1): 35~ 39
- [ 12 ] Stotzky G. Persistence and biological activity in soil of insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* and of bacterial DNA bound on clays and humic acids. *Journal of Environmental Quality*, 2000, 29: 691~ 705
- [ 13 ] Venkateswerlu G, Stotzky G. Banding of the protoxin and toxin proteins from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* on clay minerals. *Current Microbiology*, 1992, 25(4): 225~ 233
- [ 14 ] Aronson A I, Beckman W, Dunn P. *Bacillus thuringiensis* and related insect pathogens. *Microbiological Reviews*, 1986, 50: 1~ 24
- [ 15 ] 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. *土壤学报*, 2004, 41(5): 761~ 766. Sun C X, Chen L J, Wu Z J. Persistence of Bt toxin in soil and its effects on soil phosphatase activity (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2004, 41(5): 761~ 766
- [ 16 ] 吴伟祥, 叶庆富, 闵航, 等. 克螟稻秸秆 Cry1Ab 基因表达产物对土壤生物学活性的影响. *土壤学报*, 2003, 40(4): 606~ 611. Wu W X, Ye Q F, Min H, *et al.* Effect of Cry1Ab toxin released from straw of Bt transgenic rice on microflora and enzymatic activities in upland soil (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2003, 40(4): 606~ 611
- [ 17 ] 南京农业大学. 土壤农化分析. 北京: 农业出版社, 1992. 29~ 117. Nanjing Agricultural University. *Agricultural Chemical Analysis of Soil* (In Chinese). Beijing: Agricultural Press, 1992. 29~ 117
- [ 18 ] Saxena D, Flores S, Stotzky G. Vertical movement in soil of insecticidal Cry1Ab protein from *Bacillus thuringiensis*. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34: 111~ 120

## ADSORPTION/ DESORPTION OF CRY1AB CRYSTAL PROTEIN IN DIFFERENT SOILS

Yao Yanling Cui Hairui<sup>†</sup> Lu Meizhen Jin Jiqiang

(*Institute of Nuclear-Agricultural Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China*)

**Abstract** Adsorption/ desorption of Cry1Ab crystal protein extracted from *cry1Ab* transgenic sorghum in six types of soils were determined, and effects of concentration of Cry1Ab protein in the solution and physical and chemical property of 6 types of soils on adsorption/ desorption of the protein were studied. Results show that adsorption and desorption of Cry1Ab protein in the 6 soils were obviously different. Paddy soil from red clay was the highest in Cry1Ab adsorption, and followed by typic podzolic soil, blue purple clay soil, paddy soil from quaternary red clay, yellow loamy paddy soil and paddy soil derived from red sandstone in a decreasing order, while typic podzolic soil was found the highest in Cry1Ab desorption and followed by blue purple clay soil, paddy soil derived from red sandstone, paddy soil from quaternary red clay, paddy soil from red clay and yellow loamy paddy soil. A significant positive correlation was found between the concentration of Cry1Ab in the solution added and the adsorption or desorption of the protein by the soils, with coefficients being 0.86 and 0.99, respectively. Effects of organic matter content and pH of the soil on adsorption were positive and significant, with coefficients being 0.83 and 0.82, respectively. The correlation between the adsorption and the content of total nitrogen or readily available phosphorus was positive, while it was negative between the desorption and the content of total nitrogen, readily available phosphorus or readily available potash. Consequently the adsorption and desorption of Cry1Ab in the soils were controlled jointly by concentration of Cry1Ab protein and physical and chemical properties of the soil.

**Key words** Cry1Ab crystal protein; Soil type; Adsorption; Desorption