

温度胁迫对转 Bt 基因抗虫棉毒蛋白的表达和棉铃虫死亡率的影响

周桂生^{1,2}, 周福才³, 谢义明⁴, 封超年^{1,2}, 杨益众³

(1. 扬州大学江苏省作物遗传生理重点实验室, 江苏 扬州 225009;

2. 扬州大学农业部长江中下游作物生理生态栽培重点实验室, 江苏 扬州 225009;

3. 扬州大学园艺与植物保护学院, 江苏 扬州 225009; 4. 扬州市气象局, 江苏 扬州 225009)

摘要:于花铃期对科棉 1 号棉株进行连续 48 h 的不同温度处理, 用处理后的叶片饲喂棉铃虫, 研究叶片活性、毒蛋白和棉铃虫死亡率之间的关系。结果表明, 游离氨基酸含量一直增加, 12 h 内增加最快; 可溶性蛋白含量一直下降, 12 h 内降幅最大。毒蛋白含量 24 h 内显著下降, 12 h 内降幅最大。25 °C 处理下的死亡率明显高于 20 °C 和 35 °C 处理。同一温度下, 胁迫时间越长, 棉铃虫取食后的死亡率越低。棉铃虫取食 72 h 后的死亡率明显低于 144 h 后的死亡率。取食 72 h 后的死亡率与可溶性蛋白、游离氨基酸和毒蛋白含量呈显著或极显著相关, 与可溶性蛋白和毒蛋白变化量之间呈显著相关。

关键词:温度; 胁迫; 转 Bt 基因棉; 棉铃虫; 死亡率

中图分类号: S562.01 **文献标识码:** A

文章编号: 1002-7807(2009)04-0302-05

Effects of Temperature Stress on Bt Insecticidal Protein Expression in Bt Transgenic Cotton Leaves and Death Rate of Cotton Bollworm

ZHOU Gui-sheng^{1,2}, ZHOU Fu-cai³, XIE Yi-ming⁴, FENG Chao-nian^{1,2}, YANG Yi-zhong³

(1. Key Laboratory of Jiangsu Provincial Crop Genetics and Physiology of Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China; 2. Laboratory of Crop Physiology, Ecology and Cultivation in Middle and Lower Reaches of Yangtze River of Ministry of Agriculture, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China; 3. School of Horticulture and Plant Protection, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China; 4. Yangzhou Meteorological Bureau, Yangzhou, Jiangsu 225009, China)

Abstract: With Bt transgenic cotton plants of Kemian 1 as the testing material, temperature stress experiments (20 °C, 25 °C, 35 °C, and 40 °C) were carried out in temperature and light controlled compartments to investigate Bt insecticidal protein content in cotton leaves at flowering stage, the death rate of bollworm fed on cotton leaves, and the relationship between them. The results indicated that free amino acid content increased under temperature stress, with the biggest increment during the first 12 h. The content of soluble protein decreased, presenting a sharp decrement during the first 12 h. Bt insecticidal protein content in leaves subjected to temperature stress decreased significantly during the first 24 h, and the biggest decrements occurred during the first 12 h. The death rate of bollworm fed on the leaves subjected to 25 °C was higher than the death rates of bollworm eating the leaves subjected to 20 °C and 35 °C. Under the same temperature, the longer the leaves were subjected to temperature stress, the lower the death rate of bollworm fed on these leaves was. The death rate of bollworm 72 h

收稿日期: 2008-10-31 **作者简介:** 周桂生(1971-), 男, 副教授, 博士, gszhou@yzu.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金项目(30771272)、江苏省高校自然科学基金项目(011CJB210002、MK0410196)、国家转基因重大专项课题(2008ZX08012-004)和江苏省自然科学基金项目(BK2008207)

after eating the leaves was significantly higher than the death rate of bollworm 144 h after eating the leaves. Correlation analyses showed that the contents of Bt insecticidal protein, free amino acid, soluble protein and the death rate of bollworm 72 h after eating the leaves were significantly correlated at 0.05 level or at 0.01 level. The increment of free amino acid, the decrement of Bt insecticidal protein, and the death rate of bollworm 72 h after eating the treated leaves were significantly correlated at 0.05 level.

Key words: temperature; stress; Bt transgenic cotton; bollworm; death rate

转 Bt (*Bacillus thuringiensis*) 基因抗虫棉对第 2、3 代棉铃虫 (*Helicoverpa armigera*) 具有较为理想的控制效果,在一定程度上降低了棉铃虫的危害,减少了杀虫剂的使用和棉田污染^[1-3]。近 10 年来,转 Bt 基因抗虫棉在我国的种植面积逐年扩大,种植面积已经超过整个棉花种植面积的 50%,部分省市超过了 70%。但转 Bt 基因抗虫棉在生长发育的中、后期抗虫性下降,从而影响抗虫效果^[4-8],同时抗虫性受温度、干旱等外界气候条件的影响也很大^[9-14]。目前相关研究主要集中在高温对棉花氮代谢和杀虫蛋白的影响方面,认为高温胁迫后,棉叶的生理活性下降,毒蛋白表达量明显降低^[9-12],但这些研究仅限于对棉株生理活性和毒蛋白表达量之间的生理推导和相关分析,没有将胁迫条件下棉株生理活性、毒蛋白的变化和对棉铃虫的实际毒杀效果联系起来,试验结果对指导实际生产缺乏应有的说服力。本文在先前研究^[10, 12]的基础上,对棉株进行不同持续时间的高温和低温处理,研究叶片生理活性、毒蛋白含量的变化及棉铃虫取食后的死亡率,以期为提高转 Bt 基因棉花生育中、后期抗虫性和指导生产提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验于 2004—2005 年在扬州大学江苏省作物遗传生理重点实验室进行。试验土壤为粘壤土,0~20 cm 土壤有机质 1.27%、全氮 1.09 g·kg⁻¹、速效磷 14.0 mg·kg⁻¹、速效钾 75.3 mg·kg⁻¹。试验品种为转 Bt 基因抗虫棉科棉 1 号。为了便于控制温度,试验采用盆栽进行。盆高 60 cm、直径 40 cm,每个盆栽过筛的细土 20 kg。棉苗采用营养钵育苗方式培育,4 月 5 日播种,5 月 15 日移栽。管理措施与一般大田生产一致。试验用棉铃虫由扬州大学园艺与植物保护学院昆虫课题组提供。试验虫态为未受任何杀虫剂影响的敏感品系二龄幼虫。

1.2 胁迫方法和测定项目

1.2.1 胁迫方法。选择 7 月 23 日和 8 月 5 日两个时期利用恒温光照培养箱对棉株进行温度胁迫。根据扬州市气象台 20 年统计资料,7 月 23 日和 8 月 5 日的日平均气温为 30℃左右,因此采用的 4 个温度分别为 20℃、25℃、35 和 40℃,即两个低温分别比日平均气温低约 10℃和 5℃,两个高温分别比日平均气温高约 5℃和 10℃。胁迫持续进行 48 h,其间每 12 h 取棉株顶部果枝上的叶片进行试验。叶片分成两个部分,一部分用于可溶性蛋白、游离氨基酸和毒蛋白含量的测定,另一部分用于室内棉铃虫抗虫效果的生物测定。

1.2.2 测定项目和方法。可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝 G-250 法测定^[15],游离氨基酸含量的测定方法采用 Yemm 的方法进行^[16],毒蛋白含量测定采用 Elisa 酶联免疫法进行^[17]。药盒由中国农业大学提供。

棉铃虫死亡率测定:对 7 月 23 日进行胁迫的处理,于胁迫开始后每 12 h 将棉花叶片放入长 15 cm、直径 2.5 cm 玻璃试管中,每个试管饲养幼虫 10 头,每 5 管为一重复,重复 3 次。接虫后用湿纱布封住试管,防止幼虫逃逸并保持管内湿度,置于温度 28℃、光照周期 16:8(光:暗)的养虫室中。分别于 72 h 和 144 h 后检查各个处理的幼虫死亡情况,计算死亡率^[8],比较不同处理的叶片对棉铃虫的控制效果。

1.3 数据分析

数据采用 Excel 2003 处理,统计分析采用 DPS v 7.05 统计软件进行。

2 结果与分析

2.1 温度胁迫对叶片游离氨基酸和可溶性蛋白含量的影响

由表 1 可知,温度胁迫后叶片中游离氨基酸含量呈增加趋势,以胁迫后 12 h 内增量最大,12 h 后的增量比较平稳。从胁迫温度看,高温胁迫对游离氨基酸含量的影响比低温胁迫大;且胁迫

温度与日平均气温差异越大,对游离氨基酸含量的影响也越大。从不同生育期看,7月23日胁迫前含量较高,胁迫后增量较小,8月5日胁迫前含量较低,胁迫后增量较大,说明8月5日温度胁迫对氨基酸含量的影响更为明显。

由表2可知,温度胁迫后叶片中可溶性蛋白质含量一直呈下降趋势,绝大多数处理胁迫后12h内下降最快,在12~24h内仍然保持较快的下降速度,24h后下降的速度比较平稳。与低温相比,高温胁迫对可溶性蛋白质的影响较大。从不同生育期看,7月23日含量较高,胁迫后降幅较大,

而8月5日含量较低,胁迫后降幅较小。

2.2 温度胁迫对叶片毒蛋白表达量的影响

由表3可知,在胁迫进行的各个阶段均能检测到毒蛋白的存在,但无论是高温胁迫还是低温胁迫均对毒蛋白表达量有明显的抑制作用,毒蛋白含量的下降主要出现在胁迫后24h内,尤以12h内的下降最为明显,24h后的下降较小,表明温度胁迫对毒蛋白表达具有快速效应。7月23日和8月5日的抑制效应基本一致。从胁迫温度看,40℃和20℃两个处理12h内毒蛋白的降幅大于35℃和25℃两个处理。

表1 温度胁迫后叶片中游离氨基酸的含量(干重)

Table 1 The content of free amino acid in cotton leaves after temperature stress

日期	温度/℃	胁迫后含量/(mg·g ⁻¹)				
		0 h	12 h	24 h	36 h	48 h
07-23	40	6.86±0.15a	18.10±0.15a	19.11±0.08a	20.01±0.06a	20.98±0.16a
	35	6.86±0.15a	11.27±0.15b	15.01±0.13b	17.36±0.24b	19.87±0.14b
	25	6.86±0.15a	9.16±0.21d	13.14±0.07d	14.62±0.14c	16.44±0.17d
	20	6.86±0.15a	10.28±0.13c	14.12±0.13c	16.76±0.19b	17.22±0.18c
08-05	40	5.46±0.10a	16.76±0.15a	19.21±0.12a	21.01±0.50a	23.08±0.18a
	35	5.46±0.10a	11.35±0.36b	14.89±0.09b	16.96±0.26b	21.54±0.17b
	25	5.46±0.10a	10.12±0.18c	13.54±0.26c	14.78±0.16c	17.89±0.23c
	20	5.46±0.10a	9.89±0.19c	13.88±0.23c	16.29±0.25b	17.05±0.13c

注:不同小写字母表示在0.05水平上差异显著,下同。

表2 温度胁迫后叶片中可溶性蛋白质的含量(干重)

Table 2 The content of soluble protein in cotton leaves after temperature stress

日期	温度/℃	胁迫后含量/(mg·g ⁻¹)				
		0 h	12 h	24 h	36 h	48 h
07-23	40	27.19±0.72a	17.09±0.20b	5.41±0.09c	4.38±0.15c	4.16±0.09c
	35	27.19±0.72a	18.46±0.42a	13.17±0.14a	13.01±0.20a	12.06±0.46a
	25	27.19±0.72a	16.41±0.15b	13.10±0.31a	12.99±0.11a	11.00±0.39ab
	20	27.19±0.72a	14.32±0.27c	11.09±0.27b	10.74±0.37b	10.23±0.20c
08-05	40	23.17±0.68a	15.43±0.18bc	5.32±0.19c	4.26±0.13c	3.78±0.11b
	35	23.17±0.68a	18.76±0.11a	12.17±0.53ab	11.57±0.11a	10.36±0.52a
	25	23.17±0.68a	16.25±0.31b	13.54±0.23a	10.26±0.21b	9.19±0.13a
	20	23.17±0.68a	14.53±0.29c	11.52±0.48b	10.35±0.33b	9.45±0.03a

表3 温度胁迫后毒蛋白含量的表达量(干重)

Table 3 The expression content of Bt insecticidal protein hours after temperature stress

日期	温度/℃	胁迫后含量/(μg·g ⁻¹)				
		0 h	12 h	24 h	36 h	48 h
07-23	40	3.12±0.09a	1.91±0.06b	1.64±0.06b	1.57±0.14b	1.40±0.02c
	35	3.12±0.09a	2.63±0.08a	2.49±0.25a	2.36±0.20a	2.28±0.08a
	25	3.12±0.09a	2.31±0.14ab	2.16±0.08ab	1.90±0.05ab	1.76±0.06b
	20	3.12±0.09a	2.01±0.07b	1.76±0.13b	1.60±0.13b	1.51±0.04c
08-05	40	2.89±0.07a	2.01±0.12b	1.67±0.12b	1.47±0.13b	1.39±0.10b
	35	2.89±0.07a	2.47±0.06a	2.16±0.08a	1.95±0.05a	1.80±0.05a
	25	2.89±0.07a	2.15±0.11ab	1.72±0.08b	1.54±0.08b	1.36±0.04b
	20	2.89±0.07a	2.08±0.08ab	1.68±0.11b	1.47±0.05b	1.45±0.04b

2.3 高温胁迫后的叶片对棉铃虫死亡率的影响

试验过程中发现,在盛花期40℃持续高温条件下,经过72h和144h的处理后,棉花叶片缺

水萎缩,致使棉铃虫拒食死亡,所以对棉铃虫死亡率的影响没有代表性。表4表明,20℃、25℃和35℃三个温度相比,25℃条件处理下的幼虫死亡

率明显较高。从整体上看,在同一温度条件下,棉花叶片受到的胁迫时间越长,棉铃虫取食叶片后的死亡率就越低,但一些处理间的差异未达到显著水平。棉铃虫取食 72 h 后的死亡率明显低于 144 h 后的死亡率,表明棉叶对棉铃虫的毒杀效果要经过一段时间之后才能充分显现。

2.4 叶片毒蛋白含量表达与棉铃虫死亡率之间的关系

相关分析表明(表 5),棉铃虫取食胁迫叶片 72 h 后的死亡率与可溶性蛋白、游离氨基酸和毒蛋白含量之间的相关系数达到显著或极显著水平,死亡率与可溶性蛋白、毒蛋白变化量之间的相关系数也达到显著水平。棉铃虫取食胁迫叶片 144 h 后的死亡率与可溶性蛋白、游离氨基酸和毒蛋白含量及变化量之间也有一定相关性,但相关系数未达到显著水平。

表 5 棉铃虫死亡率和可溶性蛋白、游离氨基酸、毒蛋白含量和变化量之间的相关性分析

Table 5 Correlation analyses between the death rate of bollworm and the content and change of soluble protein, free amino acid and Bt insecticidal protein

饲喂后 时间/h	测定项目	含量		变化量	
		回归方程	相关系数	回归方程	相关系数
72	可溶性蛋白	$Y=14.936+3.015x$	0.5955*	$y=47.081-1.7888x$	-0.6499*
	游离氨基酸	$Y=99.897-3.124x$	-0.8137**	$y=44.752+3.468x$	0.3308
	毒蛋白	$Y=29.969+11.775x$	0.6078*	$y=46.966-3.028x$	-0.6166*
144	可溶性蛋白	$Y=31.337+3.464x$	0.5407	$y=71.326-1.296x$	-0.3721
	游离氨基酸	$Y=115.707-2.628x$	-0.5521	$y=64.174+4.503x$	0.3394
	毒蛋白	$Y=33.561+20.821x$	0.4860	$y=72.212-13.625x$	-0.2861

注:1. * 表示在 0.05 水平上差异显著, ** 表示在 0.01 水平上差异显著;2. 表中 y 值表示死亡率, x 表示各生理指标的测定值或变化量。

3 讨论与结论

转 Bt 基因抗虫棉毒蛋白的含量随着生育期的变化呈时空动态变化,在花铃期含量下降比较明显,抗虫性也有一定程度的下降^[17-18]。从现有的研究看,导致抗虫性下降的主要原因有这几个方面,一是棉花生育后期棉铃虫本身抗性较强^[6];二是棉花发育过程中 Bt-ICP 基因转录后加工效率不高或 mRNA 过快地运转;三是棉花生理活性降低导致 Bt 毒蛋白基因钝化,毒蛋白含量降低^[9-12];四是棉花体内毒蛋白与单宁鞣合失去活性^[19]。这些原因的出现均与棉株生理活性的下降密切相关。前人^[9-12]和本文研究均表明,高温和低温胁迫均抑制了可溶性蛋白的合成过程,加速了可溶性蛋白质的降解和游离氨基酸的生成,使得 Bt 棉叶片生理活性和 Bt 毒蛋白表达量严重受抑,杀虫效果明显下降。这表明在棉株体内可溶性蛋白和杀虫蛋白的合成的最适温度局限于一

表 4 饲喂胁迫棉叶后棉铃虫的死亡率

Table 4 The death rate of bollworm fed on the temperature-stressed leaves %

温度/°C	胁迫时间/h	72 h	144 h
20	12	61.33±2.73a A	74.67±4.12a A
	24	55.33±2.73a A	72.67±4.73a A
	36	40.00±2.76b B	53.33±3.33b B
	48	37.33±2.78b B	46.67±3.86b B
25	12	80.63±3.00a A	95.33±1.33a A
	24	69.33±3.30a AB	94.67±1.65a A
	36	56.67±2.52b BC	90.66±2.48a A
	48	54.67±3.50b C	88.00±2.96a A
35	12	56.00±3.49a A	82.67±3.30a A
	24	48.67±2.74ab A	77.33±4.30a A
	36	46.67±2.87ab A	71.33±4.66a A
	48	44.67±2.56b A	69.33±2.48a A

注:不同大写字母表示在 0.01 水平上显著。

个相对较窄的范围内,超过这个温度范围杀虫蛋白的合成和杀虫效果都会受到影响。在花铃期棉铃虫监测时,不仅要考虑到棉铃虫的生长发育,也要考虑到棉花的生长发育状况,同时还要考虑到突发性天气所带来的影响。需要指出的是,温度的变化往往和湿度的变化是同步进行的,在长江中下游地区,高温往往伴随着干旱,低温往往和阴雨相随。如江苏棉区往往在 7 月和 8 月会出现连续高温的天气,最高温度达 37~40°C,但有时又会出现短时间的台风和暴雨天气,温度在短时间下降 10~15°C。因此,需进一步研究高温干旱和低温淹水条件下棉株的生理活性、毒蛋白含量的变化和对杀虫效果的影响。

参考文献:

- [1] JENKINS J N, McCarty J C, Wofford T. Bt cotton a new era in cotton production [C]//American Proceedings of Beltwide Cotton Conferences. Memphis,

- TN: National Cotton Council, 1995:171-173.
- [2] GOULD F. Evolutionary biology and genetically engineered crops [J]. *Bioscience*, 1988, 38(1):26-33.
- [3] 郭香墨, 刘海涛, 张永山, 等. 我国转 Bt 棉育种技术与成就[J]. *中国棉花*, 1999, 26(7):2-5.
GUO Xiang-mo, Liu Hai-tao, Zhang Yong-shan, et al. The technique and achievement of Bt transgenic cotton breeding in China [J]. *China Cotton*, 1999, 26(7):2-5.
- [4] 卢美光, 赵建周, 范贤林, 等. 华北地区棉铃虫对 Bt 杀虫蛋白的抗性监测[J]. *棉花学报*, 2000, 12(4):180-183.
LU Mei-guang, Zhao Jian-zhou, Fan Xian-lin, et al. Resistance monitoring of *Helicoverpa armigera* (Hübner) to *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins in North China [J]. *Acta Gossypii Sinica*, 2000, 12(4):180-183.
- [5] 崔金杰, 夏敬源. 转 Bt 基因棉对棉铃虫抗性的时空动态[J]. *棉花学报*, 1999, 11(3):141-146.
CUI Jin-jie, Xia Jing-yuan. Studies on the resistance dynamic of the Bt transgenic cotton on cotton bollworm [J]. *Acta Gossypii Sinica*, 1999, 11(3):141-146.
- [6] 束春娥, 孙洪武, 孙以文, 等. 转基因棉 Bt 毒性表达的时空动态及对棉铃虫生存、繁殖的影响[J]. *棉花学报*, 1998, 10(30):131-135.
SHU Chun-e, Sun Hong-wu, Sun Yi-wen, et al. Toxic response of cotton bollworm to various parts of Bt-transgenic cotton in different growing stages [J]. *Acta Gossypii Sinica*, 1998, 10(3):131-135.
- [7] 王武刚, 姜永幸, 杨雪梅, 等. 转基因棉花对棉铃虫抗性鉴定及利用研究初报[J]. *中国农业科学*, 1997, 30(1):7-12.
WANG Wu-gang, Jiang Yong-xing, Yang Xue-mei, et al. Study on evaluation and utilization of Bt transgenic cotton resistance to cotton bollworm [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 1997, 30(1):7-12.
- [8] 张永军, 吴孔明, 郭予元, 等. 转 Bt 基因棉花杀虫蛋白含量的时空表达及棉铃虫的毒杀效果[J]. *植物保护学报*, 2001, 28(1):1-6.
ZHANG Yong-jun, Wu Kong-ming, Guo Yu-yuan, et al. On the spatio-temporal expression on the contents of Bt insecticidal protein and the resistance of Bt transgenic cotton to cotton bollworm [J]. *Acta Phytolacica Sinica*, 2001, 28(1):1-6.
- [9] 陈德华, 杨长琴, 陈源, 等. 高温胁迫对 Bt 棉叶片杀虫蛋白表达量和氮代谢影响的研究[J]. *棉花学报*, 2003, 15(5):288-292.
CHEN De-hua, Yang Chang-qin, Chen Yuan, et al. The effects of the high temperature stress on the leaf Bt protein content and nitrogen metabolism of Bt cotton [J]. *Acta Gossypii Sinica*, 2003, 15(5):288-292.
- [10] 周桂生, 张网定, 封超年, 等. 高温胁迫对 Bt 转基因棉叶片毒蛋白含量的影响[J]. *扬州大学学报: 农业与生命科学版*, 2003, 24(4):75-77.
ZHOU Gui-sheng, Zhang Wang-ding, Feng Chao-nian, et al. Effects of heat stress on toxin protein content in Bt transgenic cotton leaves [J]. *Journal of Yangzhou University: Agricultural and Life Sciences Edition*, 2003, 24(4):75-77.
- [11] CHEN De-hua, Ye Guo-you, Yang Chang-qin, et al. The effect of high temperature on the insecticidal properties of Bt Cotton [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2005, 53(3):333-342.
- [12] ZHOU Gui-sheng, Feng Chao-nian, Zhou Qing. Physiological activities and expression of insecticidal protein in *Bacillus thuringiensis* transgenic cotton leaves subjected to high and low temperatures [J]. *Front Agric China*, 2007, 1(4):382-388.
- [13] ZHAO Du-Li, Oosterhuis D. Physiological response of growth chamber-grown cotton plants to the plant growth regulator PGR-IV under water-deficit stress [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 1997, 38(1):7-14.
- [14] 张宝红, 丰嵘. 转基因抗虫棉研究的现状问题与对策[J]. *作物学报*, 1998, 24(2):248-256.
ZHANG Bao-hong, Feng Rong. Achievements, problems and strategies of transgenic insect resistant cotton [J]. *Cotton Science*, 1998, 24(2):248-256.
- [15] BRADFORD M. A rapid method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Anal Biochem*, 1976, 72:248-254.
- [16] YEMM E W, Cocking E C. Determination of amino acid with ninhydrin [J]. *Analyst*, 1955, 80:209-213.
- [17] 陈松, 吴敬音, 周宝良, 等. 转 Bt 基因棉 Bt 毒蛋白表达量的时空变化[J]. *棉花学报*, 2000, 12(4):189-193.
CHEN Song, Wu Jing-yin, Zhou Bao-liang, et al. On the temporal and spatial expressions of Bt toxin protein in Bt transgenic cotton [J]. *Cotton Science*, 2000, 12(4):189-193.
- [18] 赵奎军, 赵建周, 范贤林, 等. 我国转 Bt 抗虫基因棉杀虫活性的时间与空间动态分析[J]. *农业生物技术学报*, 2000, 8(1):49-52.
ZHAO Kui-jun, Zhao Jian-zhou, Fan Xian-lin, et al. Temporal and spatial dynamics of transgenic Bt cotton toxins to cotton bollworm in North China [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2000, 8(1):49-52.
- [19] 张永军. 外源 Bt 杀虫蛋白与棉花抗虫次生物物的相互作用关系及转 Bt 基因棉花诱导抗虫性的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2000.
ZHANG Yong-jun. Study on the interactions between exogenous Bt-ICP and cotton secondary metabolites as well as induced resistance in Bt transgenic cotton [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2000. ●