昆虫知识 *Chinese Bulletin of Entomology* 2010,47(5):841 ~ 847

外源抗虫基因与植物自身抗虫防御体系的互作*

施敏娟 陆佩玲 陈 建 杨益众**

(扬州大学园艺与植物保护学院 扬州 225009)

The interaction between the insertion of external genes and the defence system of plant itself. SHI Min-Juan, LU Pei-Ling, CHEN Jian, YANG Yi-Zhong** (*School of Horticulture and Plant Protection, Yangzhou University*, Yangzhou 225009, China).

Abstract The introduction of exogenous genes will cause physiological and metabolic changes and affect the defense system of plants against insect pests. This paper reviews the influence of exogenous genes on external morphological structure, internal biochemical resistance and induced resistance after introduction. It provides a basis for combining exogenous and endogenous plant pest resistance systems and research on the use of transgenic plants in the future.

Key words exogenous genes insertion, defence system of plant itself, morhological resistance, biochemical resistance, induced resistance, interaction

摘 要 外源抗虫基因的导入将导致植株本身生理代谢等方面发生改变,从而对植物原有抗虫防御体系产生影响。本文综述了外源基因导入对植株外部形态结构、内在生化抗性以及诱导抗性的影响,为外源、内源抗虫体系的相互利用以及抗性植物的研制与推广提供参考依据。

关键词 外源抗虫基因,自身抗虫防御体系,形态抗性,生化抗性,诱导抗性,互作

1 前言

植物与昆虫在长期的进化过程中形成了相互适应和协同进化机制,害虫对寄主植物进行选择适应,而植物为抵抗害虫的侵害也发展了一套抗虫防御体系[1]。其防御体系中的抗虫性按抗虫基础可以分为生物化学基础和形态学基础两大类[2,3],而植物的生化特性在抗虫性方面扮演着重要角色,如植物的次生代谢产物,包括生物碱、非蛋白氨基酸、芥子油、萜类、酚类等;植物的一些营养物质在抗性方面也起着一定作用;植物的形态抗性包括植株的颜色、形状、大小、高度、硬度、紧密度、解剖特性、表面的毛状体、矿物质沉积物等也对植食性昆虫产生拒避作用[3]。按植物对植食性昆虫的防御策略则可以分为静态防御(static plant defence)和诱导防御(induced plant defence)[4]。其中,植物的诱导防御是指在遭受植食性昆虫取食后植物本身诱导产生的一种抗虫特性,它涉及到植物的形态特征、生理生化等多个方面。根据对昆虫不同世代的影响,诱导抗性又可分为快速的诱导抗性和滞后的诱导抗性[5]。这些抗虫性共同构成了植物的抗虫防御体系。

随着现代分子生物学技术的发展,利用基因工程技术培育抗虫植物的研究取得了重大进展[6,7]。自1987年首次成功将Bt杀虫基因导入烟草获得抗虫植株以来[8],利用Bt杀虫基因、蛋白酶抑制剂、凝集素及其它一些抗虫基因转入植物获得了一系列对靶标害虫具抗性的植物,部分转基因抗虫作物已经商业化,取得了较高的经济效益[9]。转基因抗虫植物自身在不同程度上产生了抗虫物质,提高了自身防御能力,从而减少了化学农药的使用、环境污染和农药残留,为害虫的治理做出了贡献[10,11]。Mao

* 资助项目:国家重大转基因专项(2008ZX08012-004)。

**通讯作者,E-mail: yzyang@yzu.edu.cn

收稿日期:2009-10-19,修回日期:2010-04-12

等利用植物自身表达昆虫基因的双链 RNA，抑制植食性昆虫防御基因的表达，从而抑制害虫的生长[12]。但由于导入的外源基因并非来自于植株本身的基因库，其对植株本身的抗虫防御体系将产生一定的影响。为了有效地利用外源抗虫资源与植株本身的抗虫优势，本文对导入的外源基因与植物自身抗虫防御体系的互作关系做了综述。

2 外来基因插入对植物原有形态抗性的影响

植物的形态抗虫性是植物在长期的自然进化过程中为适应不利的环境而产生的。近年来，随着转基因抗虫植物的问世，导入的一些外源抗虫基因对植株原有的生长发育、形态构造产生了一定影响。

据报道，与常规棉花相比，转基因抗虫棉的棉苗长势较弱，株型偏紧，苗型偏矮，茎杆细弱。据此推测这些转基因棉花品种所含的营养物质以及口感可能不及常规棉，从而会增强植株的抗虫性[13,14]。刘海涛等在分析了转基因抗虫棉叶片形态并与常规对照品种比较后发现，抗虫棉品系“R93 - 4”叶形较皱缩，叶片薄，缺刻较深，叶面积较小，但叶栅栏组织所占比例较大，叶上表皮角质层较厚，叶绿素含量较高，叶色较深，由此影响棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 在抗虫棉上产卵。抗虫棉“R93 - 4”的落卵量比常规棉“中棉所 12”减少 30% 以上[13]。这些因外源基因导入引起的棉株形态结构的变化增强了棉株的形态抗性效果。

早期的转基因棉花有一个共同的特点就是铃小、结铃性强[15~20]。棉铃小，其铃壳可能就比较薄，将适合高龄棉铃虫——棉红铃虫 *Pectinophora gossypiella* 的钻蛀，从而导致抗性的降低；也有报道转基因水稻的植株矮小，花期推迟及可育性降低，这也可能导致水稻原有抗病、抗虫特性发生变化[21]。

3 外来抗虫基因的插入与植株内在生化抗性的相互影响

钦俊德认为，植物通过一系列的防御机制来抵抗害虫的侵害[1]。其中植物的生化特性起着关键性作用，这种作用一般是以量变的次生物质和营养成分来影响昆虫的取食行为[3]。已有的研究发现，棉花富含单宁类化合物、萜烯类化合物和黄酮类化合物等次生物质，使得棉铃虫生长缓慢、取食受抑[22]。单宁含量高的棉花品种还能显著降低棉蚜 *Aphis gossypii* Glover、朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus* Boisduval、棉叶蝉 *Empoasca biguttula* Ishida 等害虫的种群增长。此外，棉花植株挥发性它感信息化合物对棉花害虫的产卵、取食行为具调节功能，在害虫治理中具有重要作用。然而，在转基因抗虫作物的培育中，外源基因的随机插入有可能会引起作物某些物质组分或含量产生非预期效应，从而影响非靶标害虫的生长和繁殖，以及植物 - 害虫 - 天敌三级营养链的结构和化学信息联系，进而影响到天敌昆虫的亚群落结构[23]。

3.1 外源抗虫基因与植株体内部分次生物质之间的互作效应

3.1.1 外源抗虫基因与单宁类次生物质之间的互作效应 Arteel 和 Lindroth 研究发现，单宁酸与 Bt 杀虫蛋白联合作用时，可以增加鳞翅目害虫的死亡率[24]。Gibson 等研究认为，单宁类化合物可导致昆虫中肠上皮细胞破损，丧失再生能力，直至中肠死亡，δ - 内毒素与单宁复配可提高毒效[25]；王琛柱和钦俊德研究后也认为苏云金杆菌 δ - 内毒素和大豆胰蛋白酶抑制素分别与单宁联合使用后对棉铃虫有增效作用[26]。但 Navon 等进行饲料剂量试验时发现，缩合单宁与 δ - 内毒素存在拮抗效应，并推测 Bt 制剂或转 Bt 基因抗虫植物与高含量的缩合单宁不兼容[27]。另外一些学者通过研究也发现单宁的存在能够减少 Bt 杀虫蛋白的毒性[28,29]。Carisey 等研究发现，在摄取 Bt 晶体蛋白后，云杉蚜虫 *Choristoneura fumiferana* 若虫的死亡率会随着摄取单宁量的增加而降低[29]；张永军和郭予元在饲料剂量反应试验中也发现棉花缩合单宁和 Bt 杀虫蛋白之间表现出一定的交互拮抗作用[30]。

武予清等研究了转 Bt 基因棉花品系 R93

-4 及 R93-1 中缩合单宁和总酚的变化情况,发现两种次生物质的含量与对照相比有显著差异[31];张永军和郭予元采用高效液相色谱法测定转 Bt 基因棉花中缩合单宁的变化,发现 3 叶期到花铃期转 Bt 基因棉花的缩合单宁含量显著低于对照品种,在一些组织器官中缩合单宁含量减少达 30%[30]。这说明 Bt 杀虫蛋白的表达已影响到棉花中缩合单宁的合成。而棉花中缩合单宁的含量与对刺吸性害虫(棉蚜、棉叶螨等)的抗性有关[32,33]。外源基因的导入降低了棉花中缩合单宁的含量,这也许是转基因抗虫棉田刺吸类害虫发生为害加重的一个原因[15,34]。另外,王琛柱和钦俊德研究发现大豆胰蛋白酶抑制剂与植株体内单宁酸的协同作用比二者的单独作用更能有效地抑制棉铃虫幼虫的发育和中肠蛋白酶活性[35]。

3.1.2　外源抗虫基因与黄酮类次生物质之间的互作效应　黄酮类化合物大量存在于高等植物中,它与植物的抗虫性密切相关[36]。例如,从棉花植株中分离出的很多黄酮类化合物对昆虫具有毒性或阻食作用[22];棉花组织中的芸香苷、槲皮素和异槲皮苷等黄酮类物质能够抑制美洲棉铃虫 *Helicoverpa zea* 和烟芽夜蛾 *Helicoverpa virescens* 的生长及化蛹[37],对棉铃虫生理代谢中的酶活性也有部分影响[38]。

Fitt 等研究发现,花青苷能够增加 Bt 杀虫蛋白的杀虫功效[39]。Williams 等也得到了类似结论[40]。张永军等比较了不同生育阶段转 Bt 基因棉及其对照受体亲本不同器官中主要抗虫黄酮类物质含量的差异,发现外源 Bt 杀虫蛋白的导入对棉花原有的芸香苷、槲皮素和异槲皮苷等抗虫黄酮类化合物的含量无不利影响;饲料复合剂量反应试验表明,随着芸香苷浓度的提高,Bt 杀虫蛋白对棉铃虫幼虫的杀虫效果得到增强[41]。原因可能是芸香苷等黄酮类化合物酚羟基数目较少,鞣化 Bt 杀虫蛋白的功能不强[30],同时,芸香苷对棉铃虫幼虫生长的抑制作用可能也有利于 Bt 杀虫蛋白毒性的发挥[41]。

3.1.3　外源抗虫基因与萜烯类次生物质之间的互作效应　棉花植株中的萜烯类化合物包括棉酚、半棉酚酮、杀实夜蛾素 H_1、H_2、H_3、H_4 以及甲氧基半棉酚酮等,它们广泛存在于棉花各种器官组织中的色素腺内,是棉花中除缩合单宁、黄酮类化合物之外又一类重要的抗性次生物质,对棉花害虫具较强的抗性作用[22,42~45]。

Fitt 等研究认为,萜烯类化合物同样能够增加 Bt 杀虫蛋白的杀虫功效[39]。Sachs 等发现,如果转 Bt 基因抗虫棉花品种(系)中萜烯类物质含量高,对烟芽夜蛾的抗性要比那些不含萜烯类物质或萜烯类物质含量低的转 Bt 基因棉花品种(系)明显要高。据此认为萜烯类化合物能增强转 Bt 基因作物的抗虫性,并可以维持 δ-内毒素的持久性[46]。王琛柱和饮俊德曾报道 δ-内毒素与棉酚共用对棉铃虫有协同增效作用[35]。张永军等比较了不同生育期转 Bt 基因棉花及其对照亲本棉花植株不同器官中抗虫萜烯类物质含量的差异,指出外源 Bt 杀虫蛋白的导入对棉花原有的棉酚、总杀实夜蛾素及总抗虫萜烯类合成量无不利影响;用棉酚和 Bt 杀虫蛋白的复合剂量对棉铃虫幼虫进行反应试验,结果表明棉酚对棉铃虫幼虫的毒性作用达到极显著水平,棉酚和 Bt 杀虫蛋白之间没有交互作用,由此说明饲料中棉酚和 Bt 杀虫蛋白对棉铃虫的抗虫作用是相加的[47]。究其原因可能是:① 棉酚等化合物的酚羟基远较棉花缩合单宁少,鞣化蛋白的功能不强,因而对 Bt 杀虫蛋白的负面影响较小[47];② 棉酚在棉铃虫幼虫消化道内的靶标受体不同于 Bt 杀虫蛋白,不会在幼虫消化道内干扰 Bt 杀虫蛋白与受体蛋白的结合[48];③ 棉酚对棉铃虫幼虫生长的抑制作用有利于 Bt 杀虫蛋白毒性的发挥[47]。

3.1.4　外源抗虫基因与植株其他一些抗虫性物质之间的互作效应　植株体内的其他一些抗虫性物质也会与外源抗虫基因产生互作效应。一些学者通过研究 δ-内毒素与植物抗虫次生物的相互关系后认为,植物中次生物质氯原酸和多酚氧化酶作用可形成邻苯醌,使蛋白质 -SH 和 $-NH_2$ 基团烷基化,从而加强了 Bt 晶体

蛋白在活体条件下的溶解和活性。因为他们发现氯原酸和多酚氧化酶能够提高 δ－内毒素对美洲棉铃虫的毒力[49,50]。另外，没食子酸和间苯二酚能引起棉铃虫的畸形发育[51]；L－刀豆氨酸具有抗代谢活性，可提高 Bt 的毒效[52]；烟草植株中富含抗虫活性的酚类化合物，酚类化合物通过叶组织受伤而被氧化成醌类化合物，从而与蛋白酶抑制剂结合，降低其抗虫活性[53]。

3.2 外源抗虫基因的导入对植株挥发性次生物质的影响

近年来的研究表明，植物中的挥发性化合物在植物－植食性昆虫－天敌三级营养关系中发挥重要作用，它不仅可以刺激植食性昆虫的取食、产卵等行为，而且还能引诱捕食性和寄生性天敌寻找寄主[54]。因此，植物中的挥发性化合物在抗虫防御体系中起着重要作用。例如玉米释放的乙烯可延缓棉铃虫的产卵行为[55]，而柠檬烯、香叶烯等挥发物可对某些昆虫起忌避或抗生作用[56]。

张永军等采用气－质联用技术，初步探讨了转 Bt 基因棉及其受体品种在不同生育期以及不同器官内主要挥发性它感物质的含量变化，发现外源 Bt 杀虫蛋白的导入对棉花自身主要挥发性它感物质的合成不会造成不利影响，对植物－害虫－天敌之间的化学信息传递不会存在潜在干扰作用[57]。这与棉铃虫在转基因棉田和常规棉田的落卵量没有差异的结论吻合[58,59]。阎凤鸣等的研究也认为外源 Bt 基因的插入对棉花次生性挥发物的组成和含量没有显著影响，但同时指出，转 Bt 基因棉的 α－蒎烯和 β－蒎烯的相对含量都显著高于常规棉，而这两种化合物均可引起棉铃虫的触角电位反应；Bt 棉的挥发性气体中，有一种常规棉所没有的、含量很低的化合物，也对棉铃虫有生理活性[60]。Sanford 在比较了转基因油菜与对照油菜挥发性物质的组分后认为，基因的导入可以改变植株原有的气味[61]。

3.3 外源抗虫基因的导入对植株体内酶系的影响

已有研究发现，转基因棉株前期长势较常规棉弱，且生长过程中赘芽丛生。究其原因可能是转入的 Bt 基因影响了生长素 IAA、脱落酸 ABA 的酶系活性，导致 IAA、ABA 绝对含量及其比值发生变化，从而影响了转基因植株的生长[13,14]。

单宁、黄酮类物质的生物合成过程中必须通过苯丙烷代谢途径。苯丙氨酸裂解酶（PAL）是此代谢途径的关键酶，它在植物抗性的系统诱导、交叉保护以及单宁、黄酮类等多酚物质的生物合成中起着至关重要的作用[62]。张永军研究表明，转 Bt 基因棉花 33B、GK2 和中棉所 30 的 PAL 活性水平与其对照亲本相比没有显著差异，说明外源 Bt 杀虫基因的导入不会影响棉花原有 PAL 的活性水平。因此推测转 Bt 基因棉花缩合单宁的较少与 PAL 活性水平的变化无关[63]。

白素芬等对萌发种子的酯酶同工酶酶谱进行了分析，发现转基因抗虫棉后代的酶带与亲本的酶带存在较大差异[64]。说明外源基因的导入对棉花酯酶同工酶有影响。丁志勇等发现转 Bt 基因棉的可溶性过氧化物酶的活性显著高于常规棉，而且转 Bt 基因棉中酯酶的酶谱和活性与常规棉明显不同[65]。

关于外源抗虫基因的导入对植株体内酶系的影响，目前的研究还需要深入，因为它关系到转基因植株内部物质代谢的变化与外源抗性基因的协调利用。

4 外来基因插入对植物诱导抗性影响

除害虫为害能够诱导植物产生抗性外，其它多种生物（真菌、细菌、病毒等）和非生物（植物生长调节剂、除草剂、机械损伤、某些无机化合物等）因子也能诱导植物的抗虫性[66]。诱导抗性是植物抗虫防御体系中的重要组成部分，也是众多学者研究的热点。Campbell 发现，缩节胺（PIX）能显著提高棉花对烟芽夜蛾的抗虫能力，因为缩节胺能够诱导棉花中缩合单宁、花青苷和萜类物质含量的明显增加[67]。研究表明，适当浓度的水杨酸和缩节胺共同处理能够

显著提高转 Bt 基因棉花顶端嫩叶中缩合单宁和芸香苷的含量,适当浓度的水杨酸处理还能够明显提高转 Bt 基因棉花顶端嫩叶中总抗虫萜烯物质的含量,但缩节胺处理对转 Bt 基因棉花顶端嫩叶中总抗虫萜烯物质的含量影响不大。由此看来,水杨酸和缩节胺能够在一定程度上调节转基因棉花抗虫次生物质的表达[68]。自从转基因植物问世后,植物诱导抗性的概念在逐渐更新、范畴在逐渐扩大,甚至将外源抗虫基因的导入也纳入了诱导抗性范畴。Qin 研究报道,Bt 基因抗虫棉使用的启动子中就有一段受水杨酸激活的 asl 序列[69];Gatz 研究认为,水杨酸可以诱导转基因抗性的表达[4]。但也有研究认为,水杨酸和缩节胺处理不能明显地影响转 Bt 基因棉花顶端嫩叶中 Bt 杀虫蛋白的表达[68]。

Willians 等在培育转基因烟草过程中,曾将与烟草病程相关蛋白的 PR-1a 启动子与 *cry1Ab* 基因构建在一起,其中 PR-1a 的激活与烟草病菌的感染有关,但水杨酸、聚丙稀酸等化学物质也可诱导其表达。正常情况下,转基因烟草并不产生 Bt 杀虫蛋白,昆虫可以任意取食。但当烟草发病或人为喷施水杨酸后,它们就会作用于 PR-1a 启动子使 Bt 基因得以表达,从而激活 Bt 杀虫蛋白,导致侵食植株的害虫死亡[40]。生产上,在害虫发生量较小的情况下,可以不喷施水杨酸,使 Bt 基因不表达活性,但当害虫数量达到一定阈值时,喷施水杨酸,使 Bt 基因迅速表达,它能在较短时间内积累大量的杀虫蛋白将害虫杀死。由于接触 Bt 杀虫蛋白非连续,害虫不易产生抗性和适应性,这样可有效地提高转基因植株的抗虫性和抗性的持久性。

当然,特异性诱导启动子的研究还有待于加强,以便为提高转基因抗虫植物的表达效果和抗虫能力提供更加充分的依据。

参 考 文 献

1 钦俊德. 昆虫与植物的关系 - 论昆虫与植物的相互作用及其演化. 北京:科学出版社. 1987. 12 ~ 35.

2 房建军,韩一凡. 植物化学抗虫性的遗传学研究进展. 林业科学,2000,**36**(5):92 ~ 99.

3 周明牂. 作物抗虫性原理及应用. 北京:北京农业大学出版社. 1992. 329 ~ 337.

4 Gatz C. Chemical inducible promoters in transgenic plants. *Curr. Opin. Biot.*,1996,**7**:168 ~ 172.

5 刘兴平,陈春平,王国红,等. 我国松树诱导抗虫性研究进展. 林业科学,2003,**39**(5):119 ~ 128.

6 张洪瑞,朱其松,高苓昌,等. Bt 基因及其在转基因抗虫植物中的研究进展. 河北农业科学,2008,**12**(6):87 ~ 89.

7 温四民,董合忠,辛呈松,等. Bt 棉抗虫性差异表达的研究进展. 河南农业科学,2007,**1**:9 ~ 12.

8 卞卫东. 转 Bt 基因抗虫棉经济效益分析. 安徽农业科学. 2006,**34**(4):641,643.

9 Vaeck M., Reynae A., Hofte H., *et al.* Transgenic plants protected from insect attack. *Nature*, 1987, **328**(2):33 ~ 37.

10 文学,张宝红. 转基因抗虫棉研究现状与展望. 农业生物技术学报,2000,**8**(2):194 ~ 199.

11 张永军,吴孔明,彭于发,等. 转抗虫基因植物生态安全性研究进展. 昆虫知识, 2002,**39** (5):321 ~ 327.

12 Mao Y. B., Cai W. J., Chen X. Y., *et al.* Silencing a cotton bollworm P450 monooxygenase gene by plant - mediated RNAi impairs larval tolerance of gossypol. *Nature Biotechnology*, 2007, **25**:1 307 ~ 1 313.

13 刘海涛,郭香墨,丰嵘. Bt 基因棉 R93 - 4 苗期形态识别及抗虫效果分析. 中国棉花,1996,**23**(12):24 ~ 25.

14 郭香墨,丰嵘,刘海涛,等. Bt 转基因抗虫棉激素动态变化研究. 中国棉花,1996,**23**(12):9 ~ 10.

15 丰嵘,张宝红,郭香墨. 外源 Bt 基因对棉花产量性状及抗虫性的影响. 棉花学报,1996,**8**(1):10 ~ 13.

16 田晓莉,何钟佩. 转 Bt 基因抗虫棉中棉所 30 的产量及其构成因素研究. 中国棉花,2000,**27**(6):9 ~ 10.

17 薛中立,黄殿成,郑文俊,等. 抗虫棉 R93 - 4 产量构成与结铃规律初探. 中国棉花,1996,**23**(3):13 ~ 14.

18 张宝红,丰嵘. 转基因抗虫棉研究的现状、问题与对策. 作物学报,1998,**24**(2):248 ~ 256.

19 Kerby T., Wofford T., Presley J., *et al.* Field performance of transgenic Bt cotton in multiple locations across the belt. Beltwide Cotton Conference, San Antonio, Texas. 1995. 574 ~ 576.

20 Wilson F. D., Flint H. M., Deaton W. R., *et al.* Yield, yield components, and fiber properties of insect-resistant cotton lines containing a *Bacillus thuringiensis* toxin gene. *Crop Sci.*, 1994,**34**:38 ~ 41.

21 Lynch P. T., Jones J., Eyles P. S. The phenotypic characterization of R2 generation transgenic rice plants under field glasshouse conditions. *Euphytica*, 1995,**85**:395 ~ 401.

22 张宝红,丰嵘. 棉花的抗虫性与抗虫棉. 北京:中国农业

科技出版社. 2000. 32 ~ 45.

23 李丽莉,王振营,何康来,等. 转基因抗虫作物对非靶标昆虫的影响. 生态学报,2004,**24**(8):1 797 ~ 1 806.

24 Arteel G. E., Lindroth R. L. Effect of aspenphenolic on gypsymoth (Lepidoptera: Lymantriidae) susceptibility to *Bacillus thuringiensis*. *Great Lakes Entomol.*, 1992,**25**:239 ~ 244.

25 Gibson D. M., Krasnoff S. B., Ketchum R. E. B., *et al*. Increased efficacy of *Bacillus thuringiensis* subsp kurstaki in combination with tannic acid. *J. Econ. Entomol.*, 1995,**88**(2):270 ~ 277.

26 王琛柱,钦俊德. 昆虫与植物相互作用的研究进展. 世界农业,1998,**228**(4):33 ~ 35.

27 Navon A., Hare J. D., Frederici B. A. Interaction among *Heliothis virescens* larvae, cotton condensed tanninand the Cry ⅠA(c) δ-endotoxin of *Bacillus thuringiensis*. *J. Chem. Ecol.*, 1993,**19**:2 485 ~ 2 499.

28 Appel H. M., Schultz J. C. Oak tannins reduce effectiveness of Thuricide (*Bacillus thuringiensis*) in the gypsymoth (Lepidoptera: Lymantriidae). *J. Econ. Entomol.*, 1994, **87**:1 736 ~ 1 742.

29 Carisey N., Bauce E., Dupont A., *et al*. Effect of bud phenology and foliage chemistry of balsam fir and white spruce trees on the efficacy of *Bacillus thuringiensis* against the spruce budworm *Choristoneura fumi* ferana. *Agri. Forest Entomol.*, 2004,**6**:55 ~ 69.

30 张永军,郭予元. 棉花缩合单宁和 Bt 杀虫蛋白的交互关系. 棉花学报,2000,**12**(6):294 ~ 297.

31 武予清,郭予元,曾庆龄. 转 Bt 基因棉单宁及总酚含量的初步测定. 河南农业大学学报,2000,**34**(2):134 ~ 138.

32 武予清. 棉花品种抗螨机制的研究. 中国农业科学,1996, **29**(3):1 ~ 7.

33 Lane H. C.,Schuster A. Condensed tannins of cotton leaves. *Phytochemistry*, 1981,**20**(3):425 ~ 427.

34 王武刚,李修立. Bt 棉对主要棉虫发生的影响及防治对策. 植物保护,1999,**25**(1):3 ~ 5.

35 王琛柱,钦俊德. 大豆胰蛋白酶抑制剂与棉酚或单宁混用对棉铃虫中肠蛋白酶和生长率的影响. 昆虫学报,1996, **39**(4):337 ~ 341.

36 武予清,郭予元,杨舰. 棉株中抗虫物质黄酮类化合物的高效液相色谱分析. 植物保护,2000,**26**(5):1 ~ 3.

37 Chan B. G., Waiss A. C., Binder J. R., *et al*. Inhibition of lepidoterous larval growth by cotton constitutents. *Entomol. Exp. Appl.*, 1978,**24**(3):294 ~ 300.

38 董向丽. 植物次生物质与棉铃虫抗药性的关系. 硕士学位论文. 北京:中国农业大学,1996.

39 Fitt G., Olsen K., Lawvence L. Factors affecting the efficacy of Bt cotton. *Aust. Cottongrower*, 1999,**20**:28 ~ 30.

40 Williams S., Friedrich L., Dincher S. Chemical regulation of *Bacillus Thuringiensis* δ-endoxtion expression in transgenic plants. *Bio/Technology*, 1992,**10**:540 ~ 543.

41 张永军,郭予元,吴孔明,等. 外源 Bt 杀虫蛋白和棉花抗虫黄酮类化合物的互作关系. 应用与环境生物学报, 2002,**8**(4):371 ~ 377.

42 张金发,孙济中. 棉花对朱砂叶螨抗性的鉴定和抗性机制研究. 植物保护学报,1993,**20**(2):155 ~ 161.

43 Bottger G. T., Sheehan E. T., Lukefahr M. T. Relation of gossypol content of content plants to insect resistance. *J. Econ. Entomol.*, 1964,**57**(2):283 ~ 285.

44 Bell A. A., Stipanivic R. D., O´Brien D. H., *et al*. Sesquiterpenoid aldehyde quinines and derivatives in pigment glands of *Gossypium*. *Phytochemistry*, 1978,**17**(8):1 297 ~ 1 305.

45 Stipanovic R. D., Alois A. B., Maurice J. L. Natural insecticides from cotton: host plant resistance to pests. ACS Publications(Washington), 1997,**62** (14):117 ~ 124.

46 Sachs E. S., Benedict J. H., Taylor J. F., *et al*. Pyramiding CryIA(b) insecticidal protein and terpenoids in cotton to resistant tobacco budworm(Lepidoptera: Noctuidae). *Environ. Entomol.*, 1996,**25**:1 257 ~ 1 266.

47 张永军,杨舰,郭予元,等. 外源 Bt 杀虫蛋白和棉花抗虫黄酮类化合物的互作关系. 中国农业科学,2002,**35**(5):514 ~ 519.

48 Muehleisen D. P., Plapp F. W., Benedict J. R., *et al*. High-affinity juvenile hormone binding to fat body cytosolic proteins of the bollworm, *Heliothis zea*: characterization and interaction with allelochemicals and xenobiotics. *Pestic. Biochem. Physio.*, 1990,**37**(1):64 ~ 73.

49 Ludlum C. T., Felton G. M., Duffey S. S. Plant defenses: chorogenic acid and polyphenol oxidase enhance toxicity of *Bacillus thuringiensis* subsp. Kurstaki to *Heliothis zea*. *J. Chem. Ecol.*, 1991, **17**:217 ~ 237.

50 Felton G. W., Donato K., Del Vecchio R. J., *et al*. Activation of plant foliar oxidases by feeding reduces the nutritive quality of foliage for noctuid herbivores. *J. Chem. Ecol.*, 1989,**15**:2 667 ~ 2 694.

51 Sivamani E., Rajendran N. Influence of some plant phenolies on the activity of δ-endotoxin of *Bacillus Thuringiensis* var. Galleiae on *Heliothis armigera*. *Entomol. Exp. Appl.*, 1992, **63**:243 ~ 248.

52 Felton G. W., Dahlman D. L. Allelochemical induced stress: Effects of L-canavanine on the pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* in Manduca Sexta. *J. Invert. Pathol.*, 1984, **44**:187 ~ 191.

53 Felton G. W., Broadway R. W., Duffey S. S. Inactivation of protease inhibitor activity by plant- derived quinines complications for host- plant resistance against Noctuid herbivores. *J. Insect Physiol.*, 1989, **12**: 981 ~ 990.

54 周琼,梁广文. 植物挥发性次生物质对昆虫的行为调控及其机制. 湘潭师范学院学报自然科学版, 2003, **25**(4): 56 ~ 60.

55 Raina A. K., Kingum T. G., Matloo A. K. Chemical signals from host and sexual behavior in a moth. *Science*, 1992, **255**: 592 ~ 594.

56 Bruin J., Sabelis M. W., Dicke M. Do plants tap SOS signals from their infested neighbours. *Trends Ecol. Evol.*, 1995, **10**(4): 167 ~ 170.

57 张永军,徐广,郭予元,等. 转 Bt 基因棉花及其受体品种主要挥发性物质的测定. 生态学报, 2001, **21**(12): 2 051 ~ 2 056.

58 崔金杰,夏敬源. 转 Bt 基因棉对棉田主要害虫及其天敌种群消长的影响. 河南农业大学学报, 1997, **31**(4): 351 ~ 356.

59 王武刚,等. 转基因 Bt 棉对棉铃虫的抗虫性表现及利用研究. 中国植物保护研究进展. 北京:中国科学技术出版社. 1996. 442 ~ 446.

60 阎凤鸣,许崇任,Marie B.,等. 转 Bt 基因棉挥发性气味的化学成分及其对棉铃虫的电生理活性. 昆虫学报, 2002, **45**(4): 425 ~ 429.

61 Sanford M. T. Transgenic oilseed rape-the honey bee connection. *Apis*, 1997, **15**(4): 2 ~ 3.

62 谢灵玲,赵武玲,沈黎明. 光照对大豆叶片苯丙氨酸裂解酶(PAL)基因表达及异黄酮合成的调节. 植物学通报, 2000, **17**(5): 443 ~ 449.

63 张永军. 外源 Bt 杀虫蛋白与棉花抗虫次生物的互作关系及转 Bt 基因棉花诱导抗虫性的研究. 博士学位论文. 北京:中国农业大学. 2000.

64 白素芬,牛永章,张原根,等. 外源基因导入对棉花同工酶的影响. 山西农业大学学报, 2001, **21**(3): 239 ~ 240.

65 丁志勇,许崇任,王戎疆. 转 Bt 基因抗虫棉与常规棉中几种同工酶的比较及转基因植物安全性评价生理指标初探. 生态学报, 2001, **21**(2): 332 ~ 336.

66 杨广,关雄,Wang-Pruski G. F.,等. 植物诱导抗虫基因研究进展. 农业生物技术学报, 2007, **15**(1): 157 ~ 166.

67 Campbell B. C. Host plant resistance of sorghum: differential hydrolysis of sorghum pectic substances by polysaccharides of greenbug biotype. *Arth. Insect Biochem. Physiol.*, 1985, **2**: 203 ~ 215.

68 张永军,郭予元,吴孔明,等. 化学调节剂诱导转 Bt 基因棉花杀虫蛋白和主要抗虫次生物的变化. 棉花学报, 2002, **14**(3): 131 ~ 133.

69 Qin X. F. Immediate early transcription activation by salicylic acid via the cauliflower mosaic virusas-1 element. *Plant Cell*, 1994, **6**: 863 ~ 874.