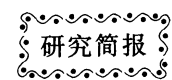


DOI: 10.3724/SP.J.1006.2013.00184



## 蕾期低温及湿度胁迫对 Bt 棉杀虫蛋白表达量的影响

陈 源 顾 超 王桂霞 吕春花 刘晓飞 张 祥 陈德华\*

扬州大学江苏省作物遗传生理重点实验室, 江苏扬州 225009

**摘 要:** 以 Bt 基因来源于美国和我国的常规棉花品种 DP410B 和泗抗 1 号、杂交种岱杂 1 号和泗抗 3 号为材料, 应用盆栽试验, 探讨蕾期 18℃ 低温及不同相对湿度不同时间胁迫对叶片 Bt 杀虫蛋白表达量的影响。结果表明, 蕾期 18℃ 下不同湿度 6 h 胁迫对叶片 Bt 蛋白的含量都没有显著影响, 但胁迫 48 h 导致 2 个不同 Bt 来源常规品种的叶片 Bt 杀虫蛋白表达量显著下降, 与对照相比, 下降 6.8%~7.2%, 杂交种泗抗 3 号也明显下降, 岱杂 1 号则未受影响; 18℃ 下高湿度与低湿度胁迫间没有显著影响。因此蕾期长时低温会对 Bt 棉抗虫性有一定影响, 影响程度与品种及类型密切相关。  
**关键词:** Bt 棉; 低温; 相对湿度; Bt 蛋白含量

## Effect on Stresses of 18°C and Different Relative Humidities on Bt Protein Expression at Squaring Stage in Bt Cotton

CHEN Yuan, GU Chao, WANG Gui-Xia, LÜ Chun-Hua, LIU Xiao-Fei, ZHANG Xiang, and CHEN De-Hua\*

Jiangsu Provincial Key Laboratory of Crops Genetics and Physiology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China

**Abstract:** The objective of this study was to investigate the effect of stresses of 18°C and different relative humidities on the leaf resistance to the insect at squaring stage in Bt cotton. The two conventional cultivars (DP410B and Sikang 1) and two hybrids (Daiza 1 and Sikang 3) from the US and China, respectively, were used. The potted cotton plants were stressed at 18°C and different relative humidities (90%, 70%, and 50%) for 6 hours and 48 hours, respectively, then we determined leaf Bt protein contents. The results showed that the short period (6 hours) stress of 18°C and different relative humidities obviously had no effect on the leaf Bt protein contents, but the leaf Bt protein contents sharply reduced in the two Bt conventional cultivars after the longer period (48 hours) stress of 18°C and different relative humidities compared with the control, with the reduction from 6.8% to 7.2%. The leaf Bt protein content of hybrid Sikang 3 markedly decreased while that of hybrid Daiza 1 remained unchanged. There was no difference in the effect between the high relative humidity and low relative humidity at 18°C, so the low temperature duration may affect the Bt cotton resistance to insect at squaring stage, which is closely related to cultivars.

**Keywords:** Bt cotton; Low temperature; Relative humidity; Bt protein content

转 Bt 基因棉花在我国棉花生产上虽已广泛应用<sup>[1-2]</sup>, 但其 Bt 基因表达的抗虫性在发育过程中表现不稳定, 从而影响其对棉铃虫及相关害虫的杀虫效果<sup>[3-4]</sup>。究其原因, 除认为 Bt 棉遗传本身在不同生育阶段抗虫性表达差异较大, 在时间上呈前期强, 后期弱的特征外<sup>[5-7]</sup>, 还认为不良环境具较大影响<sup>[8-9]</sup>。低温和水分是对棉花生长发育有重要影响的环境因子, 其对 Bt 转基因棉花 Bt 蛋白表达量及抗虫性的影响在国内外已有报导<sup>[10-11]</sup>, 且低温的影响主要集中在苗期阶段或以棉铃虫饲喂来确定低温对抗虫性的影响; 水分研究主要集中在土壤干旱及涝渍对 Bt 转

基因棉抗虫性的影响<sup>[12-13]</sup>。由于干旱和涝渍与棉田小气候特别是田间湿度密切相关, 此外, 低温与相对湿度往往存在互作效应, 因此进一步探讨低温及相对湿度变化对蕾期 Bt 棉杀虫蛋白表达量影响, 有利于明确低温及相对湿度逆境对 Bt 棉蕾期抗虫性的影响及其程度, 从而为及时防治棉铃虫等相关害虫提供诊断依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试验设计

试验于 2010—2011 年在扬州大学江苏省作物遗传生

本研究由国家自然科学基金项目(30971727, 31171479), 江苏省重点实验室重大项目(10KJA210057), 教育部博导基金(20113250110001), 江苏省青蓝工程和扬州大学新世纪学术带头人基金, 江苏省三新工程项目[Sx(2011)099]和江苏高校优势学科建设工程资助项目基金资助。

\* 通讯作者(Corresponding author): 陈德华, E-mail: dehuachen2002@yahoo.com.cn, Tel: 0514-87979357

第一作者联系方式: E-mail: nxx@yzu.edu.cn

Received(收稿日期): 2012-04-18; Accepted(接受日期): 2012-09-05; Published online(网络出版日期): 2012-11-14.

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20121114.1645.018.html>

理重点实验室进行,以来源于美国的 Bt 转基因棉常规品种 DP410B 和杂交种岱杂 1 号、我国 Bt 转基因棉常规品种泗抗 1 号和杂交种泗抗 3 号为供试材料,2 年试验均于 4 月 6 日播种,5 月 17 日移植于已装好土的盆钵中并及时浇水。每品种移栽 50 盆。其他管理措施与大田相同。2 年均设温度和相对湿度两试验因子,温度设低温 18℃,以常温为对照;湿度设高湿(90%)、低湿(50%),以正常湿度(70%)为对照。

2010 年于盛蕾期选择生长一致的盆栽棉株置 18℃,相对湿度分别为 90%、70%和 50%的气候箱内胁迫 6 h,同时设常温下,相对湿度为 70%的处理为对照,每个处理放 3 株,胁迫处理后取棉株倒 4 叶;2011 年于盛蕾期选择生长一致的盆栽棉株放入温度为 18℃,相对湿度分别为 90%和 50%的气候箱内分别胁迫棉株 12、24、36 和 48 h,每 12 h 取棉株倒四叶一次,同时设常温下,相对湿度为 70%的处理为对照,每个处理放 3 株。取样的叶片经液氮冷冻,用于测定棉株叶片中 Bt 杀虫蛋白的含量。

1.2 测定内容

参见王保民等<sup>[14]</sup>的测定方法,按设置时间的低温及相对湿度处理后取棉花的功能叶,经液氮冷冻,应用酶联免疫分析法(ELISA)测定 Bt 蛋白含量。药盒由中国农业大学提供。

1.3 数据分析

采用 Microsoft Excel 和 SPSS 处理和统计分析数据,应用 Microsoft Excel 绘制图表。由于在本试验中温度与相对湿度间未发现互作效应,因此在本文表图中仅列出温度和相对湿度的测定结果。

2 结果与分析

2.1 短时(6 h) 18℃下不同相对湿度对叶片杀虫蛋白含量的影响

表 1 表明,4 个品种与各自对照相比,叶片 Bt 蛋白含量基本上表现为稍有升高或下降,但都无显著差异,说明蕾期 18℃下不同湿度短时胁迫对 Bt 棉抗虫性无显著影响。品种间 Bt 蛋白含量差异较大,且达极显著以上水平(表 2)。其中美国 Bt 基因的常规种 DP410B 与我国常规种泗抗 1 号相差不大,但都显著低于 2 个杂交种。其中又以 Bt 基因来源于美国的岱杂 1 号最高。

2.2 盛蕾期 18℃下不同相对湿度胁迫 48 h 对叶片杀虫蛋白含量的影响

图 1 表明,国产 Bt 转基因棉品种泗抗 1 号在胁迫 12 h 内叶片 Bt 蛋白含量低于对照,但无显著差异,且高湿与低湿之间也无显著差异。胁迫持续至 24 h,低温高湿和低温低湿不但与对照差异显著,且二者之间也有显著差异。但至 36 h 后,低温高湿和低温低湿度二者无显著差异,且低温高湿的叶片 Bt 蛋白含量与对照也无显著差异。至胁迫 48 h,低温低湿处理的叶片 Bt 蛋白含量明显低于对照(下降 6.8%),但与低温高湿处理间无明显差异。以上结果说明盛蕾期 2 个极端逆境 48 h 长时间胁迫会使该品种抗虫性有所下降,特别以低温低湿度胁迫至 48 h 尤为明显。图 2 表明,胁迫 36 h 内,处理与对照间及 2 个温湿度胁迫处理间都无显著差异。但胁迫至 48 h,2 个逆境胁迫处理叶片 Bt 蛋白含量已显著低于对照。因此,盛蕾期低温条件下的温湿度逆境长时胁迫已对该品种的抗虫性产生显著影响。

表 1 盛蕾期 18℃下不同湿度 6 h 胁迫叶片 Bt 蛋白含量  
Table 1 Leaf Bt protein contents under stress of 18℃ and different relative humidities for six hours at squaring stage (ng g<sup>-1</sup> FW)

相对湿度 Relative humidity	DP410B	岱杂 1 号 Daiza 1	泗抗 1 号 Sikang 1	泗抗 3 号 Sikang 3
90%	984.6 aA	1085.2 aA	971.2 aA	1075.3 aA
70%	987.3 aA	1081.3 aA	980.1 aA	1051.2 aA
50%	987.1 aA	1080.9 aA	973.6 aA	1063.7 aA
对照 Control	985.1 aA	1086.7 aA	989.8 aA	1072.6 aA
F 值 F-value	0.02	0.29	1.49	2.73

相同字母为不显著,小写字母为  $\alpha=0.05$ ; 大写字母为  $\alpha=0.01$  显著性( $F_{0.05}=4.76$ ,  $F_{0.01}=9.78$ )。  
Values followed by different letters are significantly different at the 0.01 (capital letters) or 0.05 (small letters) probability levels.

表 2 盛蕾期叶片 Bt 蛋白含量方差分析及新复极差显著性测验  
Table 2 ANOVA and SSR test of leaf Bt protein content at 18℃ and different relative humidifies for six hours at squaring stage (ng g<sup>-1</sup> FW)

相对湿度 Relative humidity	Bt 蛋白含量 Bt protein content	品种 Cultivar	Bt 蛋白含量 Bt protein content
90%	1029.1 aA	DP410B	986.0 cC
70%	1025.0 aA	岱杂 1 号 Daiza 1	1083.5 aA
50%	1026.3 aA	泗抗 1 号 Sikang 1	978.7 cC
对照 Control	1033.6 aA	泗抗 3 号 Sikang 3	1065.7 bB
F 值 F-value	1.05		194.5

相同字母为不显著,小写字母为  $\alpha=0.05$ ; 大写字母为  $\alpha=0.01$  显著性 ( $F_{0.05}=2.92$ ,  $F_{0.01}=4.51$ )。  
Values followed by different letters are significantly different at the 0.01 (capital letters) or 0.05 (small letters) probability levels.

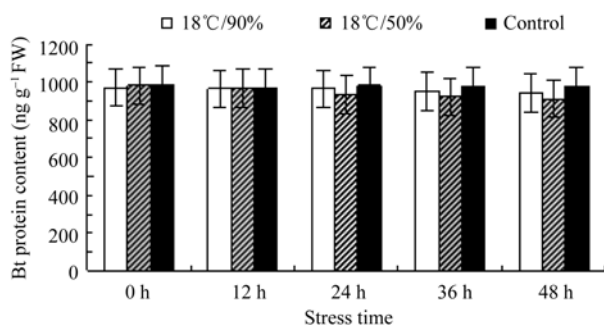


图 1 盛蕾期低温高湿和低温低湿对泗抗 1 号叶片 Bt 蛋白含量的影响

Fig. 1 Effect of stress treatments on leaf Bt protein contents in Sikang 1 at squaring stage

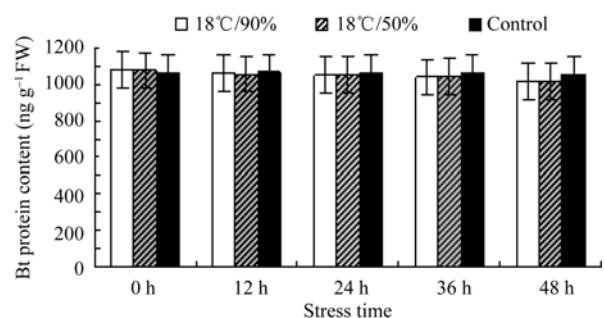


图 2 盛蕾期低温高和湿低温低湿对泗抗 3 号叶片 Bt 蛋白含量的影响

Fig. 2 Effect of stress treatments on leaf Bt protein contents in Sikang 3 at squaring stage

图 3 表明, 盛蕾期低温高湿和低温低湿, 对美国的 Bt 基因常规棉品种 DP410B 叶片 Bt 蛋白含量影响表现在 24 h 内, 与对照间差异未达显著水平; 且低温高湿和低温处理间差异也未达显著差异。36~48 h 低温低湿处理的叶片 Bt 蛋白含量显著低于对照, 低温高湿处理虽在胁迫 36 h 叶片 Bt 蛋白含量与对照差异显著, 但至 48 h 又无差异。说明盛蕾期低温低湿胁迫 36 h 以上会造成该品种抗虫性下降。

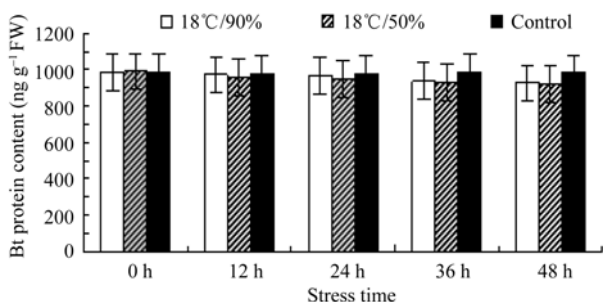


图 3 盛蕾期低温高湿和低温低湿对 DP410B 叶片 Bt 蛋白含量的影响

Fig. 3 Effect of stress treatments on leaf Bt protein contents in DP410B at squaring stage

图 4 表明, 2 个温湿度逆境处理胁迫 48 h, 美国 Bt 基因的杂交棉品种岱杂 1 号的叶片 Bt 蛋白含量及其与对照

在统计学上都未达显著差异, 且 2 个处理间也无显著差异。即盛蕾期长时间低温及湿度逆境胁迫对该品种抗虫性基本无影响。

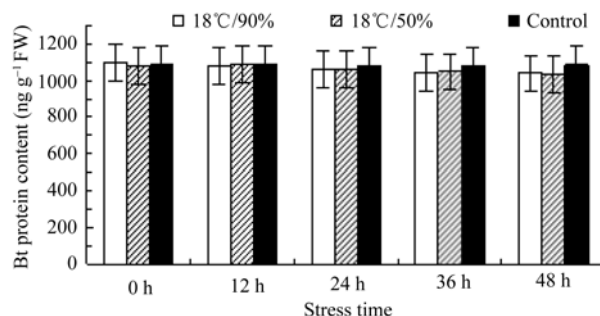


图 4 盛蕾期低温高湿和低温低湿对岱杂 1 号叶片 Bt 蛋白含量的影响

Fig. 4 Effect of stress treatments on leaf Bt protein contents in Daiza 1 at squaring stage

表 3 和表 4 表明, 在胁迫持续 12 h 内, 低温条件下的温湿度逆境对盛蕾期叶片 Bt 蛋白含量没有明显影响。但持续胁迫 24 h 后, 低温高湿度和低温胁迫使得叶片 Bt 蛋白含量与对照间都有显著差异。但低温条件下高湿和低湿间无显著差异(24 h 胁迫仅在 0.05 水平上有差异, 0.01 水平上无差异)。说明蕾期叶片 Bt 蛋白下降主要受低温影响, 高湿度和低湿度间无差异。

### 3 讨论

低温对 Bt 转基因棉花抗虫性的影响国内外已有报导。但对低温的影响国外研究主要集中于苗期阶段<sup>[15]</sup>, 并认为低温会引起 Bt 基因沉默<sup>[16-17]</sup>, 从而导致抗虫性下降。国内虽在蕾花期有低温影响的研究, 但主要以棉铃虫饲喂来确定低温对抗虫性的影响, 无直接对 Bt 基因表达影响的研究<sup>[11,18]</sup>。对于土壤水分对 Bt 棉抗虫性研究则有较多的报导, 土壤淹水对 Bt 棉抗虫性有明显的抑制作用, 但当涝渍解除后, Bt 棉的抗虫性仍可得到恢复<sup>[19-20]</sup>, 有关棉田小气候田间相对湿度变化对 Bt 棉抗虫性的影响则少见研究。

本研究表明, 低温及其相对湿度胁迫对 Bt 转基因棉花蕾期叶片 Bt 蛋白表达量有一定的影响, 且影响程度与胁迫时间长短及品种密切相关。在 18°C 低温条件下, 室内相对湿度从 50% 增加至 90%, 对 4 个来源于美国和国产的 Bt 转基因品种短时胁迫(6 h), 不同相对湿度间叶片 Bt 蛋白含量无显著差异, 且与对照也无显著差异。说明 Bt 转基因棉花在蕾期短时低温及其相对湿度的变化不会影响 Bt 蛋白表达量, 这与 Olsen 等<sup>[16]</sup>低温对 Bt 棉苗期抗虫性影响的结果一致。究其原因, Ian 等<sup>[20]</sup>认为短期的非生物胁迫包括光强、水分、调节剂胁迫不会影响 CryIAC 的表达, Adamczyk 等<sup>[21-22]</sup>通过不同位点的田间试验认为, Bt 棉抗虫性差异主要与品种本身有关, 环境的差异对 Bt 抗虫性表达没有显著的影响, 以环境因子作为处理或处理时间

表 3 盛蕾期温湿度胁迫对叶片 Bt 蛋白含量的方差分析  
Table 3 ANOVA of leaf Bt protein content under different relative humidities at 18℃ at squaring stage (ng g<sup>-1</sup> FW)

处理 Treatment (℃/RH)	胁迫时间 Stress time			
	12 h	24 h	36 h	48 h
18℃/90%	1019.5 aA	1010.8 bB	981.5 bB	981.5 bB
18℃/50%	1019.4 aA	999.3 cB	970.8 bB	970.8 bB
对照 Control	1027.6 aA	1027.2 aA	1025.7 aA	1025.7 aA
F 值 F-value	1.57	13.7	6.9	6.9

温、湿度处理间 Bt 蛋白含量在 0.05 和 0.01 水平上显著,  $F$  值分别为  $F_{0.05}=3.44$ ,  $F_{0.01}=5.72$ 。  
 $F$ -values of the Bt protein content at  $P\leq 0.05$  and  $P\leq 0.01$  among treatments are 3.44 and 5.72, respectively.

表 4 不同品种盛蕾期温湿度胁迫对叶片 Bt 蛋白含量的新复极差显著性测验  
Table 4 SSR test of leaf Bt protein content under different relative humidities at 18℃ at squaring stage (ng g<sup>-1</sup> FW)

品种 Cultivar	胁迫时间 Stress time			
	12 h	24 h	36 h	48 h
DP410B	970.2 cC	965.5 bB	951.6 bB	942.5 bB
岱杂 1 号 Daiza 1	1084.6 aA	1065.7 aA	1055.6 aA	1051.5 aA
泗抗 1 号 Sikang 1	967.7 cC	959.5 bB	948.5 bB	943.3 bB
泗抗 3 号 Sikang 3	1066.2 bB	1058.8 aA	1050.8 aA	1033.4 aA
F 值 F-value	206.8	174.5	15.6	22.5

品种间 Bt 蛋白含量在 0.05 和 0.01 水平上显著,  $F$  值分别为  $F_{0.05}=3.05$ ,  $F_{0.01}=4.82$ 。  
 $F$ -values of the Bt protein content at  $P\leq 0.05$  and  $P\leq 0.01$  among cultivars are 3.05 and 4.82, respectively.

表 5 低温条件下高湿度和低湿度胁迫对盛蕾期叶片 GPT 活性的影响  
Table 5 Leaf GPT activity exposed under different humidities at 18℃ at squaring stage (μmol g<sup>-1</sup> FW h<sup>-1</sup>)

品种 Cultivar	处理 Treatment (℃/RH)	胁迫时间 Stress time				
		0 h	12 h	24 h	36 h	48 h
泗抗 1 号 Sikang 1	18℃/90%	16.47 a	16.57 a	15.07 b	15.02 b	14.64 b
	18℃/50%	16.54 a	16.99 a	14.75 c	14.07 c	13.44 c
	对照 Control	16.73 a	16.61 a	16.45 a	16.52 a	16.39 a
泗抗 3 号 Sikang 3	18℃/90%	17.49 a	17.60 a	15.82 b	16.05 b	15.65 b
	18℃/50%	17.49 a	16.52 a	15.43 b	15.82 b	14.96 b
	对照 Control	17.56 a	16.94 a	17.21 a	17.33 a	17.67 a
DP410B	18℃/90%	17.39 a	17.26 a	17.01 a	15.91 b	14.16 b
	18℃/50%	17.39 a	17.66 a	16.96 a	14.55 b	13.80 b
	对照 Control	17.45 a	17.30 a	17.51 a	17.43 a	17.47 a
岱杂 1 号 Daiza 1	18℃/90%	18.38 a	18.62 a	17.42 b	17.06 b	16.94 b
	18℃/50%	18.38 a	17.94 a	17.77 b	16.13 b	16.24 b
	对照 Control	18.26 a	18.35 a	18.47 a	18.33 a	18.29 a

RH: relative humidity.

表 6 低温条件下高湿度和低湿度胁迫对盛蕾期叶片 Protease 活性的影响  
Table 6 Leaf protease activity exposed under different relative humidities at 18℃ at squaring stage (U mg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>)

品种 Cultivar	处理 Treatment (℃/RH)	胁迫时间 Stress time				
		0 h	12 h	24 h	36 h	48 h
泗抗 1 号 Sikang 1	18℃/90%	0.73 a	0.77 a	0.76 a	0.76 a	0.76 a
	18℃/50%	0.73 a	0.75 a	0.76 a	0.83 a	0.86 a
	对照 Control	0.73 a	0.74 a	0.77 a	0.75 a	0.74 a
泗抗 3 号 Sikang 3	18℃/90%	0.96 a	0.97 a	0.96 a	0.97 a	0.97 a
	18℃/50%	0.93 a	0.91 a	0.94 a	0.96 a	0.96 a
	对照 Control	0.94 a	0.95 a	0.96 a	0.95 a	0.95 a
DP410B	18℃/90%	0.78 a	0.84 a	0.72 a	0.80 a	0.84 a
	18℃/50%	0.80 a	0.77 a	0.79 a	0.80 a	0.81 a
	对照 Control	0.81 a	0.79 a	0.79 a	0.80 a	0.81 a
岱杂 1 号 Daiza 1	18℃/90%	0.97 a	1.08 a	0.96 a	1.00 a	1.01 a
	18℃/50%	0.99 a	1.01 a	1.00 a	1.07 a	1.09 a
	对照 Control	0.99 a	0.98 a	0.98 a	0.98 a	0.99 a

RH: relative humidity.

短, 或在不同自然环境条件下进行田间试验研究环境影响时, 由于温度等的日夜周期变化, 实际上是一种短期胁迫, 因而有可能在白天或晚上短期的环境胁迫解除后, Bt 棉的抗虫性表达具有不同程度的恢复。

本文 2011 年研究结果表明, 2 个国产 Bt 抗虫棉在胁迫至 48 h、美棉常规种 DP410B 在胁迫至 36 h, 18℃/50% 处理已显著低于对照。胁迫至 48 h, 泗抗 1 号、泗抗 3 号和 DP410B 分别比对照下降 6.8%、5.3% 和 7.2%。但持续 48 h 的长时胁迫, 4 个不同来源的 Bt 棉品种表现不一致, 其中 2 个常规种 Bt 抗虫性都受到影响, 且 Bt 蛋白表达量的下降程度也较大; 2 个杂交种表现虽不一致, 但在胁迫 36 h 前都未见到显著影响, 只是在胁迫至 48 h, 泗抗 3 号 Bt 蛋白表达量显著下降。此外, 低温下高湿度和低湿度对蕾期叶片的 Bt 蛋白表达量也没有明显的影响。表 3 和表 4 统计分析表明, 胁迫 12 h 后, 品种与温湿度处理间存在互作效应, 但仍以常规棉品种泗抗 1 号与低温低湿度有最大的互作效应, 导致叶片 Bt 蛋白含量最低。究其生理机制, 盛蕾期胁迫 48 h 主要对国产 2 个 Bt 棉品种和美棉常规种有明显影响, 2 个极端温湿度逆境在胁迫至 48 h 引起 GPT 活性下降, 且叶片中 GPT 活性变化与 Bt 蛋白含量的变化基本一致(图 1、图 4 和表 5); 在胁迫 48 h 内, 盛蕾期 2 个逆境处理的 Protease 活性变化不大, 且与对照也无差异, 因此蕾期 Bt 蛋白含量的下降主要与氨基酸、蛋白质合成有关(表 6)。从而说明在蕾期蛋白质的合成能力下降是叶片 Bt 蛋白含量下降的主要原因, 这与前人认为的不良逆境下, 蛋白质合成下降, 从而 Bt 蛋白表达量下降的结论一致<sup>[7,23-24]</sup>。因此, Bt 棉的生产过程中在蕾期如遇长时间的低温, 应密切注意其抗虫性的变化, 以防止二代棉铃虫的发生。

## References

- [1] Guo X-M(郭香墨), Fan S-L(范术丽), Wang H-M(王红梅), Yang G-T(严根土). Achievements of technical innovation about cotton genetics and breeding in China. *Cotton Sci* (棉花学报), 2007, 19(5): 323-330 (in Chinese with English abstract)
- [2] Li D-J(李德军). The development of transgenic Bt cotton, the survey of insect pest occurrence and the opportunity of pesticide industry. *China Agrochems* (中国农药), 2007, 6: 29-36 (in Chinese)
- [3] Zhang J(张俊), Guo X-M(郭香墨), Ma L-H(马丽华). Study on effects of different foreign Bt and Bt+CpTI insect-resistant genes on bollworm resistance in upland cotton (*G. Hirsutum* L.). *Cotton Sci* (棉花学报), 2002, 14(3): 158-161 (in Chinese with English abstract)
- [4] Finnegan E J, Liewellyn D J, Fitt G P. What's Happening to the expression of the insect protection in field-grown ingard cotton? In: the 11th Australian Cotton Conference, 2002. pp 291-297
- [5] Chen S(陈松), Wu J-Y(吴敬音), Zhou B-L(周宝良), Huan J-Q(黄骏麒), Zhang R-X(张荣铎). On the temporal and spatial expression of Bt toxin protein in Bt transgenic cotton. *Acta Gossypii Sin* (棉花学报), 2000, 12(4): 189-193 (in Chinese with English abstract)
- [6] Xing C-Z(邢朝柱), Jing S-R(靖深蓉), Cui X-F(崔学芬), Guo L-P(郭立平), Wang H-L(王海林), Yuan Y-L(袁有禄). The spation-temporal distribution of Bt insecticidal protein and the effect of transgenic Bt cotton on bollworm resistance. *Acta Gossypii Sin* (棉花学报), 2001, 13(1): 11-15(in Chinese with English abstract)
- [7] Chen D H, Ye G Y, Yang C Q, Chen Y, Wu Y K. Effect of introducing *Bacillus thuringiensis* gene on nitrogen metabolism in cotton. *Field Crops Res*, 2005: 1: 1-9
- [8] Benedict J H, Sachs E S, Altman D W, Deaton W R, Kohel R J, Ring D R, Berberich S A. Field performance of cottons expressing transgenic CryIA insecticidal proteins for resistance to *Helicoverpa*. *J Econ Entomol*, 1996, 89: 230-238
- [9] Pettigrew W T, Adamczyk J J. Nitrogen fertility and planting date effects on lint yield and CryIAc (Bt) endotoxin production. *Agron J*, 98: 691-697
- [10] Zhou D-S(周冬生), Wu Z-T(吴振廷), Wang X-L(王学林), Zheng H-J(郑厚今), Xia J(夏静). Influence of soil stress and temperature on resistance to cotton bollworm of transgenic Bt cotton. *Cotton Sci* (棉花学报), 2001, 13(4): 290-292 (in Chinese with English abstract)
- [11] Zhou D-S(周冬生), Wu Z-T(吴振廷), Wang X-L(王学林), Ni C-G(倪春耕), Zheng H-J(郑厚今), Xia J(夏静). Effect of temperature and nitrogen fertilizer on insect resistance of Bt cotton. *J Anhui Agric Univ* (安徽农业大学学报), 2000, 27(4): 352-357 (in Chinese with English abstract)
- [12] Luo Z, Dong H Z, Li W J, Zhao M, Zhu Y Q. Individual and combined effects of salinity and waterlogging on CryIAc expression and insecticidal efficacy of Bt cotton. *Crop Protect*, 2008, 27: 1485-1490
- [13] Wang L-M(王留明), Wang J-B(王家宝), Shen F-F(沈法富), Zhang X-S(张学坤), Liu R-Z(刘任重). Influences of waterlogging and drought on different transgenic Bt cotton cultivars. *Acta Gossypii Sin* (棉花学报), 2001, 13(2): 87-90 (in Chinese with English abstract)
- [14] Wang B-M(王保民), He Z-P(何钟佩), Tian X-L(田晓莉). Preparation of monoclonal antibodies of CryIA insecticidal crystal protein and its application in determining toxin level in Bt cotton. *Acta Gossypii Sin* (棉花学报), 2000, 12(1): 34-39 (in Chinese with English abstract)
- [15] Gasser C S, Fraley R T. Genetically engineering plants for crop improvement. *Science*, 1989, 244: 1293-1299
- [16] Olsen K M, Daly J C. Plant-toxin interactions in transgenic Bt cotton and their effect on mortality of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *J Econ Entomol*, 2000, 4: 1293-1299
- [17] Stam M, Mol J N M, Kooter J M. The silence of genes in transgenic plants. *Annal Bot*, 1997, 79: 3-12
- [18] Adamczyk J J, Meredith W R. Genetic basis for the variability of CryIAc expression among commercial transgenic *Bacillus thuringiensis* (Bt) cotton cultivars in the United States. *J Cotton Sci*,

- 2004, 8: 17–23
- [19] Hallikeri S S, Halemani H L, Katageri I S, Patil B C, Patil V C, Palled Y B. Influence of sowing time and moisture regimes on cry protein concentration and related parameters of Bt-cotton. *Karnataka J Agric Sci*, 2009, 22: 995–1000
- [20] Ian J R. Effect of genotype, edaphic, environmental conditions, and agronomic practices on CryI $\Delta$ c protein expression in transgenic cotton. *J Cotton Sci*, 2006, 10: 252–262
- [21] Adamczyk J J, Hardee D D, Adams L C, Sumerford D V. Correlating differences in larval survival and development of bollworms (Lepidoptera: Noctuidae) and fall armyworms (Lepidoptera: Noctuidae) to differential expression of CryI $\Delta$ c delta-endotoxin in various plant parts among commercial cultivars of transgenic *Bacillus thuringiensis* cotton. *J Econ Entomol*, 2001, 94: 284–290
- [22] Adamczyk J J, Meredith W R. Genetic basis for the variability of CryI $\Delta$ c expression among commercial transgenic *Bacillus thuringiensis* (Bt) cotton cultivars in the United States. *J Cotton Sci*, 2004, 8: 17–23
- [23] Chen D H, Ye G Y, Yang C Q, Chen Y, Wu Y K. The effect of high temperature on the insecticidal properties of Bt cotton. *Environ Exp Bot*, 2005, 53: 333–342
- [24] Zhang X, Ye G Y, Zhang L, Wang Y H, Chen Y, Chen D H. The impact of introducing the *Bacillus thuringiensis* gene into cotton on boll nitrogen metabolism. *Environ Exp Bot*, 2007, 61: 175–180