

高温胁迫对 *Bt* 棉铃壳中 *Bt* 蛋白含量及氮代谢的影响*

王 俊¹ Eltayib H.M.A. Abidallah^{1,2} 花明明¹ 衡 丽¹ 吕春花¹ 陈德华^{1**}

(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喀土穆大学森林管理系林学院, 苏丹喀土穆 13314)

摘 要 以 *Bt* 基因来源于中国的棉花品种泗抗 1 号(常规种)、泗抗 3 号(杂交种)和来源于美国的棉花品种 99B(常规棉)、岱杂 1 号(杂交棉)为材料,研究了不同高温水平下 *Bt* 棉盛铃期铃壳中 *Bt* 蛋白含量变化及氮代谢生理特征.结果表明:铃壳中 *Bt* 蛋白含量随温度升高而降低,与对照相比(32 ℃),常规棉品种在 38 ℃、杂交棉品种在 40 ℃以上时,铃壳中 *Bt* 蛋白含量大幅度下降.其中,常规种泗抗 1 号和 99B 在 38 ℃时分别下降 53.0%和 69.5%;杂交种泗抗 3 号和岱杂 1 号在 40 ℃时下降 64.8%和 54.1%.铃壳 *Bt* 杀虫蛋白含量下降显著时,其可溶性蛋白含量明显下降,游离氨基酸含量明显提高,GPT 活性显著下降,蛋白酶活性显著增加.高温影响铃壳的氮代谢引起 *Bt* 蛋白的分解加剧,合成减弱,从而造成 *Bt* 蛋白含量减少,抗性下降.

关键词 *Bt* 棉; 高温; *Bt* 蛋白; 氮代谢

文章编号 1001-9332(2015)10-3202-05 **中图分类号** S317; X705 **文献标识码** A

Effects of high temperature on *Bt* protein content and nitrogen metabolic physiology in boll wall of *Bt* cotton. WANG Jun¹, Eltayib H.M.A. Abidallah^{1,2}, HUA Ming-ming¹, HENG Li¹, LYU Chun-hua¹, CHEN De-hua¹ (¹*Jiangsu Province Key Laboratory of Genetics and Physiology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, Jiangsu, China*; ²*Faculty of Forestry, Department of Forest Management, Khartoum University, Khartoum 13314, Sudan*). -*Chin. J. Appl. Ecol.*, 2015, **26** (10): 3202-3206.

Abstract: *Bt* cotton cultivar Sikang 1 (a conventional cultivar) and Sikang 3 (a hybrid cultivar) from China, and 99B (a conventional cultivar) and Daiza 1 (a hybrid cultivar) from USA were selected as experimental materials, the boll wall *Bt* protein content and nitrogen metabolic physiology were investigated under different high temperature levels at peak boll stage. The results showed that the *Bt* protein content of boll wall decreased with the increasing temperature. Compared with the control (32 ℃), the boll wall *Bt* protein content decreased significantly when the temperature was above 38 ℃ for the conventional cultivars and above 40 ℃ for the hybrid cultivars. The *Bt* protein contents of cultivar Sikang 1 and 99B decreased by 53.0% and 69.5% respectively with the temperature at 38 ℃, and that of cultivar Sikang 3 and Daiza 1 decreased by 64.8% and 54.1% respectively with the temperature at 40 ℃. Greater reductions in the boll wall soluble protein contents and GPT activities, larger increments for the boll wall free amino acid contents and proteinase activities were also observed when the boll wall *Bt* protein content was significantly reduced. Therefore, high temperature resulted in the reduction of *Bt* protein synthesis and increase of the insecticidal protein degradation in the boll wall significantly, which caused the reductions in boll wall *Bt* protein content and insect resistance.

Key words: *Bt* cotton; high temperature; *Bt* protein; nitrogen metabolic physiology.

* 国家自然科学基金项目(31171479, 31301263, 31471435)、高等学校博士学科点专项科研基金博导项目(20113250110001)、江苏省高校优势学科建设工程项目、江苏省三新工程项目[SXGC(2014)317]、扬州大学科技创新培育基金项目(2012CXJ053, 2012CXJ055)和国家产业化体系棉花岗位专家项目(CARS-18-18)资助.

** 通讯作者. E-mail: cdh@yzu.edu.cn

2014-12-31 收稿, 2015-06-04 接受.

Bt 转基因棉花是针对危害棉花生产的主要害虫棉铃虫的生物技术产物^[1-3],它具有明显的杀虫效果,能减少农药的使用^[4-5],近年来其全球种植面积不断扩大,目前我国种植面积已占棉花生产面积的 80% 以上^[6-8].但 *Bt* 棉的抗虫性表现不稳定,温度、水分等逆境对其抗虫性表达具有较大的影响^[9-11].王留明等^[12] 研究指出,土壤干旱和涝渍显著降低棉株各器官的 *Bt* 蛋白含量,而且干旱对 *Bt* 蛋白含量影响更大.周冬生等^[13] 通过棉铃虫饲喂研究了温度对 *Bt* 棉的抗虫性影响,指出高低温都影响 *Bt* 棉抗虫性,且低温对抗虫棉抗虫性影响更大.夏兰芹等^[14] 发现,高温使 *Bt* 基因表达沉默的时间提前.上述结果主要是以叶片为研究对象,由于棉铃虫危害棉花首选对象为蕾铃等生殖器官,因此生殖器官的 *Bt* 杀虫蛋白的表达更能反映 *Bt* 棉抗虫性变化.为此,探讨逆境对 *Bt* 棉蕾铃抗虫性更为重要.前期研究表明,盛蕾期 38 ℃ 以上的高温显著影响蕾的抗虫性^[15].在此基础上本文进一步研究盛铃期高温对棉铃抗虫性影响,特别是棉铃虫危害棉铃的第一器官铃壳的抗虫性影响及相关的生理机制,对于高温逆境下棉铃虫防治的预警和防治决策具有重要意义.

1 材料与方法

1.1 试验材料与试验设计

试验于 2011—2012 年在扬州大学江苏省遗传栽培生理重点实验室进行.

试验材料为:*Bt* 基因来源于中国的棉花品种泗抗 1 号(常规种)、泗抗 3 号(杂交种),以及 *Bt* 基因来源于美国的棉花品种 99B(常规种)、岱杂 1 号(杂交种).两年试验均为盆栽棉花.供试土壤为沙壤土,含有机质 1.9%、水解氮 134.7 mg·kg⁻¹,速效磷 22.5 mg·kg⁻¹,速效钾 81.3 mg·kg⁻¹.试验所用盆钵直径 30 cm,高 27 cm,每盆装土 11 kg,将取自大田的土壤自然风干、过筛去杂后装盆,用水沉实.每年的 4 月 7 日营养钵育苗,5 月 20 日移栽盆中,每

天保持盆中土壤含水量接近田间持水量,定期浇水,肥料与其他管理措施按照当地高产栽培要求进行.

2011 年试验以品种泗抗 1 号、泗抗 3 号、99B 和岱杂 1 号为材料,于盛铃期(7 月 20 日),在人工气候室设 4 个高温处理,分别为 34、36、38、40 ℃,以温度 32 ℃ 作为对照.空气湿度均保持在 70%,每品种每个处理重复 4 次.在人工气候箱达到预定温度后,移入盆栽棉花并开始计时,24 h 的高温逆境胁迫后取样.2012 年试验以品种泗抗 1 号和泗抗 3 号为材料,设 6 个高温处理,分别为 34、36、38、40、42、44 ℃,以 32 ℃ 作为对照.其他管理措施与 2011 年相同.

于 7 月 10 日选取长势一致的棉花植株,标记 1~2 果节位当日花,花后 10 d 进行高温处理,胁迫 24 h 后,取标记过的铃,液氮速冻后放入-40 ℃ 超低温冰箱中保存待测.

1.2 测定项目与方法

1.2.1 *Bt* 蛋白含量 采用酶联免疫法(ELISA)测定,试剂盒由中国农业大学提供.测定方法参见文献[16].

1.2.2 氮代谢相关物质和酶活性测定 谷氨酸丙酮酸转氨酶(GPT)活性采用赖氏比色法测定^[17],游离氨基酸含量应用茚三酮比色法测定^[18],可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝比色法^[19].蛋白酶活性的测定方法参见文献[19].

1.3 数据处理

采用 Excel 2003 软件进行数据处理和作图,采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析.采用单因素方差分析(one-way ANOVA)和最小显著差异法(LSD)比较同一品种不同处理间的差异显著性($\alpha=0.05$).图表中数据为平均值±标准误.

2 结果与分析

2.1 高温对铃壳中 *Bt* 杀虫蛋白含量的影响

由表 1 可见,与对照(32 ℃)相比,4 个不同类型 *Bt* 棉品种在不同高温胁迫 24 h 后,铃壳中 *Bt* 杀

表 1 不同高温处理下铃壳 *Bt* 杀虫蛋白含量(2011 年)
Table 1 *Bt* protein contents in cotton boll wall under different high temperature treatments in 2011 (ng·g⁻¹ FM)

温度 Temperature (℃)	泗抗 1 号 Sikang 1	泗抗 3 号 Sikang 3	岱杂 1 号 Daiza 1	99B
32 (CK)	324.81±5.46a	328.71±1.04a	364.16±1.95a	345.83±0.64a
34	303.60±2.05ab	315.58±0.51ab	357.53±2.11ab	334.57±1.23ab
36	283.53±0.38b	301.96±1.32bc	348.80±3.60ab	319.94±2.51b
38	152.59±1.97c	281.81±0.83c	334.27±1.16b	191.94±0.96c
40	99.24±0.31d	115.85±0.90d	167.15±0.53c	118.24±0.54d

同列不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$) Different small letters in the same column meant significant difference at 0.05 level.

虫蛋白含量均随着温度的升高,其下降幅度明显增大.其中,常规种棉泗抗1号和99B在38℃下降幅明显加大,显著减少了53.0%和44.5%;杂交种棉泗抗3号和DZ-1的*Bt*杀虫蛋白含量在40℃下降幅明显加大,显著减少了64.8%和54.1%.

可以推测,常规种棉棉铃*Bt*蛋白含量大幅降解的高温临界点可能是38℃,而杂交种棉棉铃*Bt*蛋白含量大幅降解的高温临界点可能是40℃,常规种的下降速度大于杂交种,这说明杂交种棉*Bt*蛋白稳定性对高温的抗性强于常规种棉.

2012年试验结果(图1)与2011年趋势一致,2个不同类型*Bt*棉品种在不同高温水平下胁迫24h后,铃壳中*Bt*杀虫蛋白含量都有明显下降,且随着温度的升高,下降幅度增大.其中,常规种泗抗1号在34、36、38、40、42和44℃胁迫24h后,*Bt*杀虫蛋白的表达量与对照相比分别下降了3.0%、13.0%、53.3%、65.5%、66.2%、68.6%,杂交种泗抗3号的*Bt*杀虫蛋白表达量与对照相比分别下降了4.7%、8.1%、13.9%、57.8%、61.2%、62.8%.其中,常规棉泗抗1号的*Bt*蛋白含量在38℃下降幅明显加大;杂交棉泗抗3号的*Bt*杀虫蛋白含量在40℃下降幅明显加大.可见,38℃可能是常规种棉棉铃*Bt*蛋白大幅降解的高温临界点,而40℃可能是杂交种棉棉铃*Bt*蛋白大幅降解的高温临界点.常规种棉在38℃以上、杂交种棉在40℃以上时,*Bt*蛋白含量下降缓慢可能与相关合成或降解酶活性相应地降低或上升缓慢有关.

2.2 高温对铃壳中游离氨基酸含量的影响

由图1可见,在不同高温胁迫24h后,泗抗1号和泗抗3号铃壳中游离氨基酸含量比对照均有所增加,且随着温度的升高,增加幅度增大.常规种泗抗1号在38℃时铃壳中游离氨基酸含量上升速度明显加快,比36℃显著上升120.2%;杂交种泗抗3号在40℃时铃壳中游离氨基酸含量上升速度明显加快,比38℃显著上升121.1%.说明常规种游离氨基酸含量在38℃及以上下降较快,杂交种在40℃及以上下降较快.

2.3 高温对铃壳中可溶性蛋白含量的影响

由图1可见,在不同高温胁迫24h后,泗抗1号和泗抗3号铃壳中可溶性蛋白含量比对照均有所降低,随着温度的升高,降低幅度增大.常规种泗抗1号在38℃时铃壳中可溶性蛋白含量下降速度明显加快,比36℃显著降低44.4%;杂交种泗抗3号在40℃时铃壳中可溶性蛋白含量降低速度明显加快,

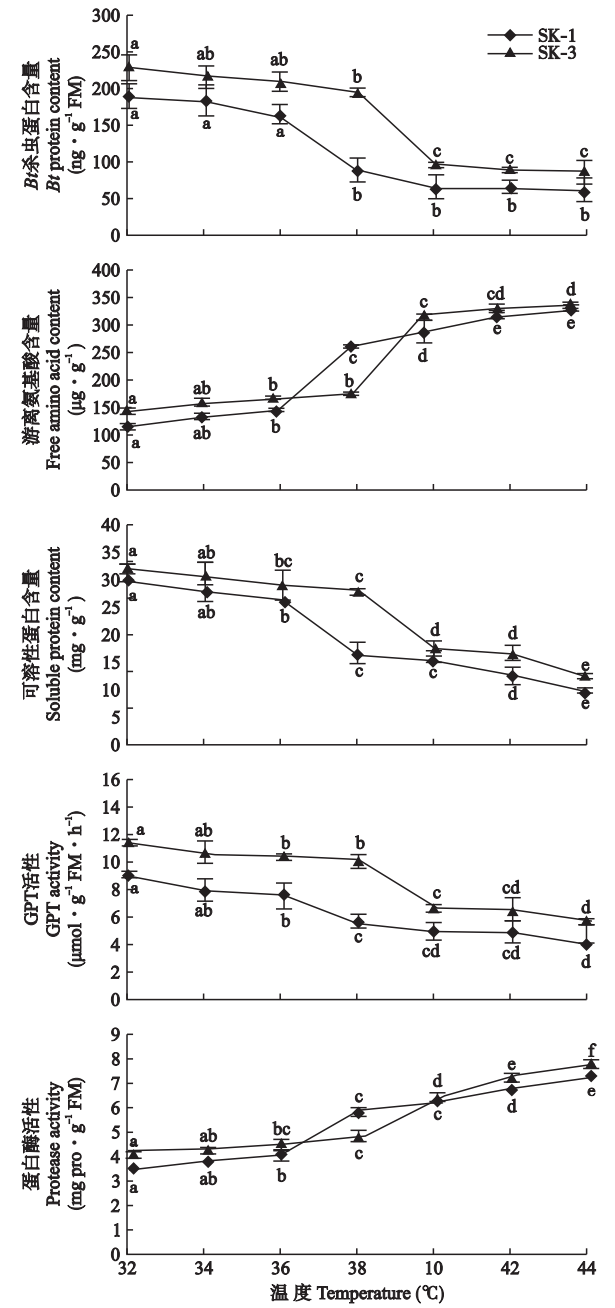


图1 不同高温处理下铃壳*Bt*杀虫蛋白含量、游离氨基酸含量、可溶性蛋白含量、GPT活性和蛋白酶活性(2012)
Fig.1 *Bt* protein contents, free amino acid content, soluble protein contents, GPT activity and protease activity in cotton boll wall under different high temperature treatments in 2012.
SK-1: 泗抗1号 Sikang 1; SK-3: 泗抗3号 Sikang 3. 不同字母表示同一品种不同温度处理间差异显著($P<0.05$) Different small letters meant significant difference among different temperature treatments in the same cultivar at 0.05 level.

比38℃显著降低44.9%.说明常规种可溶性蛋白含量在>38℃时下降较快,杂交种在>40℃时下降较快.

2.4 高温对铃壳中谷氨酸丙酮酸转氨酶(GPT)活性的影响

与对照相比,2个不同类型的*Bt*棉品种不同高

温胁迫 24 h 后铃壳中 GPT 活性都明显下降,且随着温度升高,下降幅度增大,其变化趋势与可溶性蛋白含量相似。常规种棉在 38 ℃ 及以上,铃壳中 GPT 活性显著低于 32、34、36 ℃ 3 个处理;杂交种棉在 40 ℃ 及以上,铃壳中的 GPT 活性显著低于 32、34、36、38 ℃ 4 个处理。

常规种棉在高温条件下 GPT 活性下降幅度较大,其中,常规种棉泗抗 1 号在 34、36、38、40、42、44 ℃ 高温胁迫 24 h 后,铃壳中 GPT 活性与对照相比分别下降了 11.3%、15.5%、37.6%、45.0%、45.7%、55.9%;杂交种棉泗抗 3 号的 GPT 活性则与相应对照相比分别下降了 5.8%、9.2%、11.1%、41.6%、43.1%、50.7%。杂交种棉泗抗 3 号活性始终高于常规种棉泗抗 1 号(图 1)。

2.5 高温对铃壳中蛋白酶活性的影响

与对照相比,2 个不同类型的 *Bt* 棉品种在不同高温胁迫 24 h 后铃壳中蛋白酶活性明显上升,且随着温度升高,上升幅度增大。常规种棉在 38 ℃ 及以上时,铃壳中的蛋白酶活性增加速度明显加快,且温度越高,增长幅度越大;杂交种棉在 40 ℃ 及以上时,铃壳中的蛋白酶活性增加速度明显加快,且温度越高,增长幅度越大。

常规种棉泗抗 1 号在 34、36、38、40、42、44 ℃ 高温胁迫 24 h 后,铃壳中蛋白酶活性与对照($3.55 \text{ mg pro} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FM} \cdot \text{h}^{-1}$)相比分别上升了 6.5%、14.5%、63.2%、75.4%、89.8%、104.4%;杂交种棉泗抗 3 号的蛋白酶活性则与对照($4.10 \text{ mg pro} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FM} \cdot \text{h}^{-1}$)相比分别上升了 5.8%、10.3%、18.5%、58.1%、77.4%、89.3%(图 1)。

3 讨 论

高温胁迫会引起 *Bt* 棉 *Bt* 蛋白含量下降。周冬生等^[20]通过棉铃虫饲喂发现高温条件下 *Bt* 棉抗虫性下降。本研究中,通过不同高温水平下胁迫棉株 24 h 生殖器官 *Bt* 蛋白含量的影响研究发现:不同高温水平下,不同来源 *Bt* 基因不同类型品种生殖器官中杀虫蛋白含量在盛铃期呈明显下降趋势,且随着温度升高,下降幅度越大。常规种棉棉铃中杀虫蛋白含量在 38 ℃ 以上时,温度越高,影响越大;杂交种棉棉铃中杀虫蛋白含量在 40 ℃ 以上高温处理下显著低于其他温度处理。由此推测,38~40 ℃ 可能是棉铃在高温胁迫下 *Bt* 杀虫蛋白含量下降的临界点。因此,在 *Bt* 棉生产上,特别要注意在棉花铃期可能出现的 38 ℃ 以上的高温天气,这会引起生殖器官抗虫性的大

幅度下降,从而引起棉铃虫危害程度的加大,对棉花生产造成损失。

高温对 *Bt* 棉抗虫性下降机理,目前有多种推断:一种推断认为,在不良逆境下,*Bt* 基因的启动子甲基化失活,使得 *Bt* 基因表达关闭^[21];第二种推断,*Bt* 蛋白在不良环境下可能与棉株体内产生的单宁等物质结合而失活^[22-23];第三种推断认为,在不良逆境下,蛋白质合成下降,从而 *Bt* 蛋白含量也下降^[24-25]。本研究发现,高温引起可溶性蛋白含量、GPT 活性大幅下降,游离氨基酸含量和蛋白酶活性大幅增加,下降趋势与 *Bt* 杀虫蛋白含量下降基本一致;相关分析表明,高温条件下,铃壳中可溶性蛋白含量、谷氨酸丙酮酸转氨酶(GPT)与杀虫蛋白含量呈显著正相关,游离氨基酸含量、蛋白酶活性与杀虫蛋白含量呈显著负相关。说明高温条件下,促进蛋白酶活性的增强,可能加快蛋白质的分解,导致游离氨基酸的积累,不利于 *Bt* 蛋白的稳定表达,导致抗虫性下降。4 个类型棉花品种的杀虫蛋白含量下降趋势有一定的差异,岱杂 1 号的抗虫性受高温影响小于泗抗 3 号、泗抗 1 号和 99B,杂交种棉小于常规种棉。这可能是由于不同品种抗逆性不同引起的。

综上所述,转 *Bt* 基因抗虫棉在盛铃期受到高温胁迫后引起铃壳氮代谢生理活性变化,导致 *Bt* 蛋白分解,从而引起杀虫蛋白含量下降。棉花的盛铃阶段既是产量品质形成关键时期,又经常遇到 38 ℃ 及以上的高温天气。因此,在栽培上应通过选择对高温逆境适应能力强的 *Bt* 棉品种,同时通过氮肥、喷施具有抗逆作用的调节剂^[26-28]等方式保持 *Bt* 蛋白的稳定、高效表达,提高 *Bt* 棉的抗虫性,减少高温逆境对转 *Bt* 基因棉的伤害,为转 *Bt* 基因棉的优质高产栽培提供有效保证。

参考文献

- [1] Ma W (马 威). Research and application of transgenic insect resistant cotton in China. *Crops* (作物), 2007, **15**(3): 24-26 (in Chinese)
- [2] Cheng Y-P (程焉平), Zhuang B-C (庄炳昌). Biosafety of transgenic products and their resolving strategies. *Hereditas* (遗传), 2001, **23**(6): 577-579 (in Chinese)
- [3] Brunke KJ, Meeusen RL. Insect control with genetically engineered crops. *Trends in Biotechnology*, 1991, **9**: 197-200
- [4] Cui H-Z (崔洪志), Guo S-D (郭三堆). Important progress on study of insect-resistance of transgenic cotton in China. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 1996, **29**(1): 93 (in Chinese)

- [5] Lin Y (林毅), Zheng H-J (郑后今), Gao Y-M (高用民), *et al.* Study on characteristics and yield traits of cotton insect resistance. *Journal of Anhui Agricultural University* (安徽农业大学学报), 1998, **25**(2): 174–177 (in Chinese)
- [6] Yu S-X (喻树迅), Wang Z-S (王子胜). The future development of strategic conception China cotton technology. *Journal of Shenyang Agricultural University* (沈阳农业大学学报), 2012, **14**(1): 3–10 (in Chinese)
- [7] Wei Y-L (魏艳丽), Huang Y-J (黄玉杰), Li H-M (李红梅), *et al.* A survey of cotton transgene technology. *Shandong Science* (山东科学), 2008, **21**(3): 38–41 (in Chinese)
- [8] Liu Q-Y (刘铨义), Wang W-B (王文博), Guo T-F (郭天凤), *et al.* Present situation and trend of development of transgenic insect resistant cotton in China. *Shihezi Science and Technology* (石河子科技), 2007(3): 8–9 (in Chinese)
- [9] Benedict JH, Sachs ES, Altman DW, *et al.* Field performance of cottons expressing transgenic CryIA insecticidal proteins for resistance to *Helicoverpa zea*. *Journal of Economic Entomology*, 1996, **89**: 230–238
- [10] Wu J-Y (吴敬音), He X-L (何小兰), Shu C-E (束春娥), *et al.* Influence of waterlogging on the bollworm resistance of *Bt* cotton. *Jiangsu Journal of Agricultural Science* (江苏农业学报), 1997, **11**(4): 231–235 (in Chinese)
- [11] Chen Y (陈源), Gu C (顾超), Wang G-X (王桂霞), *et al.* Effect on stresses of 18 °C and different relative humidities on *Bt* protein expression at squaring stage in *Bt* cotton. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 2013, **39**(1): 184–189 (in Chinese)
- [12] Wang L-M (王留明), Wang J-B (王家宝), Shen F-F (沈法富), *et al.* Influences of waterlogging and drought on different transgenic *Bt* cotton cultivars. *Cotton Science* (棉花学报), 2001, **13**(2): 87–90 (in Chinese)
- [13] Zhou D-S (周冬生), Wu Z-T (吴振廷), Wang X-L (王学林), *et al.* Influence of fertilization and environmental temperature on the resistance of *Bt* transgenic cotton to cotton bollworm. *Journal of Anhui Agricultural University* (安徽农业大学学报), 2000, **27**(4): 352–357 (in Chinese)
- [14] Xia L-Q (夏兰芹), Guo S-D (郭三堆). The expression of *Bt* toxin gene under different thermal treatments. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 2004, **37**(11): 1733–1737 (in Chinese)
- [15] Chen Y (陈源), Han Y (韩勇), Wang J (王俊), *et al.* Effects of high temperature on *Bt* proteins expression and nitrogen metabolic physiology in square of *Bt* cotton at the peak squaring stage. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2014, **25**(9): 2623–2628 (in Chinese)
- [16] Chen S (陈松), Wu J-Y (吴敬音), He X-L (何小兰), *et al.* Quantification using ELISA of *Bacillus thuringiensis* insecticidal protein expressed in the tissue of transgenic insect-resistant cotton. *Jiangsu Journal of Agricultural Science* (江苏农业学报), 1997, **13**(3): 154–156 (in Chinese)
- [17] Wu L-H (吴良欢), Jiang S-H (蒋式洪), Tao Q-N (陶勤南). Plant aminotransferase (GOT and GPT) determination method and its application of activity colorimetric. *Chinese Journal of Soil Science* (土壤学报), 1998, **29**(3): 136–138 (in Chinese)
- [18] Institute of Shanghai Plant Physiology, Chinese Academy of Sciences (中国科学院上海植物生理研究所). Guide to the Experiment of Modern Plant Physiology. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1999 (in Chinese)
- [19] Zou Q (邹琦). Experimental Guide of Plant Physiology. Beijing: China Agriculture Press, 2000 (in Chinese)
- [20] Zhou D-S (周冬生), Wu Z-Y (吴振廷), Wang X-L (王学林), *et al.* Progress and prospects of the resistance to cotton boll worm and physiological action of *Bt* transgenic cotton. *Journal of Anhui Agricultural Sciences* (安徽农业科学), 2000, **28**(1): 65–69 (in Chinese)
- [21] Stam M, Mol JNM, Kooter JM. The silence of genes in transgenic plants. *Annals of Botany*, 1997, **79**: 3–12
- [22] Finnegan EJ, Liewellyn DJ, Fitt GP. What's happening to expression of the insect protection in field-grown ingard cotton. 11th Australian Cotton Conference, Brisbane, 2002; 291–297
- [23] Helen EH. Season-long monitoring of transgenic cotton plants development of an assay for the quantification of *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal protein. 10th Australian Cotton Conference, Brisbane, 2000; 331–335
- [24] Chen DH, Ye GY, Yang CQ, *et al.* Effect of introducing *Bacillus thuringiensis* gene on nitrogen metabolism in cotton. *Field Crops Research*, 2005, **92**: 1–9
- [25] Chen DH, Ye GY, Yang CQ, *et al.* The Effect of high temperature on the insecticidal properties of *Bt* cotton. *Environmental and Experimental Botany*, 2005, **53**: 333–342
- [26] Zhang X, Ye GY, Zhang L, *et al.* The impact of introducing the *Bacillus thuringiensis* gene into cotton on boll nitrogen metabolism. *Environmental and Experimental Botany*, 2007, **61**: 175–180
- [27] Li X-R (李晓荣), Zhang M-J (张美俊), Yang W-D (杨武德), *et al.* Response of nitrogen metabolism in functional leaf to *Bt* protein expression and nitrogen fertilizer adjustment for *Bt* cotton. *Journal of Shanxi Agricultural University* (山西农业大学学报), 2014, **34**(4): 301–308 (in Chinese)
- [28] Zhang X (张祥), Ma A-L (马爱丽), Fang J (房静), *et al.* Effect of GA3 and DPC on *Bt* protein expression and boll nitrogen metabolism of *Bt* transgenic cotton. *Cotton Science* (棉花学报), 2010, **22**(2): 150–156 (in Chinese)

作者简介 王俊,男,1991年生,硕士研究生.主要从事棉花栽培生理相关研究. E-mail: 505417379@qq.com

责任编辑 孙菊