

转基因抗虫棉根系分泌物对棉花黄萎病菌生长的影响*

李孝刚^{1,2} 刘 标^{2**} 刘菟菟¹ 韩正敏¹ 周可新² 郑央萍²

(¹ 南京林业大学森林资源与环境学院, 南京 210037; ² 环境保护部南京环境科学研究所, 南京 210042)

摘 要 转基因抗虫棉的抗病性下降已成为制约我国棉花生产的重要因素之一。以转基因抗虫棉及其亲本非转基因棉花对照为材料, 研究转基因抗虫棉根系分泌物对棉花黄萎病菌孢子萌发和菌丝生长的影响, 并对其根系分泌物中氨基酸及糖类的组成和含量进行了测定。结果表明: 与亲本非转基因棉相比, 2种转基因抗虫棉对棉花黄萎病菌的抗性下降, 转基因抗虫棉的根系分泌物对黄萎病菌孢子萌发和菌丝生长均具有促进作用。与亲本常规棉中 23 相比, 转基因双价抗虫棉中 41 根系分泌物中多了甲硫氨酸和赖氨酸, 并且天冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、酪氨酸的含量显著升高。泗棉三号与单价抗虫棉 GK12 的根系分泌物中虽然含有相同的氨基酸组分, 但 GK12 的根系分泌物中酪氨酸、缬氨酸、亮氨酸的含量显著下降。中 41 根系分泌物中检测出 4 种糖类, 而中 23 中仅检测出葡萄糖。抗虫棉 GK12 和泗棉三号根系分泌物中都检测出 4 种糖类, 但其含量差异明显。

关键词 转基因抗虫棉 根系分泌物 黄萎病菌 抗病性

文章编号 1001-9332(2009)01-0157-06 中图分类号 S436 文献标识码 A

Effects of transgenic insect-resistant cotton root exudates on the growth of *Verticillium dahliae* Kleb. LI Xiao-gang^{1,2}, LIU Biao², LIU Dou-dou¹, HAN Zheng-min¹, ZHOU Ke-xin², ZHENG Yang-ping²(¹ College of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; ² Nanjing Institute of Environmental Sciences, Ministry of Environmental Protection, Nanjing 210042, China). -Chin. J. Appl. Ecol. 2009 20(1): 157-162.

Abstract: The decline of disease resistance of transgenic insect-resistant cotton has become one of the important factors restricting China cotton production. With two transgenic insect-resistant cotton varieties and their parental conventional cotton lines as test materials, the effects of their root exudates on the spore germination and mycelial growth of *Verticillium dahliae* Kleb were studied, and the components and contents of the amino acids and sugars in the exudates were determined. Comparing with their parental lines, the two transgenic insect-resistant varieties had a declined resistance against *V. dahliae*, and their root exudates had promotion effects on *V. dahliae* spore germination and mycelial growth. The root exudates of transgenic cotton Zhong-41, compared with those of its parent line Zhong-23, contained two additional amino acids Met and Lys, and the contents of Asp, Glu, Ser, Ala, Val, Leu, and Tyr were significantly higher. Though the components of amino acids in the root exudates of Simian-3 and transgenic cotton GK-12 were the same, the Tyr, Val, and Leu contents in the root exudates of transgenic cotton GK-12 were significantly lower. Four kinds of sugar were detected in the root exudates of Zhong-41, while only glucose was detected in the root exudates of Zhong-23. These four kinds of sugar were also detected in the root exudates of Simian-3 and GK12, but their contents differed significantly.

Key words: transgenic insect-resistant cotton; root exudates; *Verticillium dahliae* Kleb; disease resistance.

* 江苏省自然科学基金项目(BK2006501)、环保公益性行业科研专项项目(200709047)和“转基因生物检测和监测新技术”国家重大课题资助项目(2008ZX08012-005)。

** 通讯作者。E-mail: 85287064@163.com

2008-05-14 收稿, 2008-10-22 接受。

1997年,我国正式批准转基因抗虫棉的商业化种植,目前转基因抗虫棉的种植面积占我国棉花总面积的比例已超过60%。转基因抗虫棉不仅有效地控制了棉铃虫等鳞翅目害虫,而且显著降低了化学杀虫剂的用量,保护了环境和农民的健康,产生了巨大的社会效益。但是,与常规棉相比,转基因抗虫棉也产生了一些非预期效应^[1](unintended effects),其中最突出的问题之一是其抗病性较常规棉显著降低。

吴征彬^[2]分析湖北省转基因抗虫棉品系的抗病性,发现各参试品系的抗病性较差,均为感病类型。朱荷琴等^[3]2005年对中国抗虫棉品种(系)的抗病性研究发现,无论是抗枯萎病、黄萎病性还是兼抗性,转基因抗虫棉均较常规棉差。另据河北、山东、江西、安徽、新疆、山西、湖北、江苏等地的报道,转基因抗虫棉在田间对棉花黄萎病等棉花主要病害的发病程度普遍高于常规棉^[4-8]。目前,转基因抗虫棉抗病性下降在我国各棉区已经越来越普遍,对我国棉花生产造成了越来越严重的影响,并且会因为防治该病害的需要而导致化学农药用量的增加。为了探寻转基因抗虫棉抗病性下降的原因,本试验以转基因抗虫棉根系分泌物对棉花黄萎病菌(*Verticillium dahliae* Kleb)生长的影响为例,研究了转基因抗虫棉在微生态抗病机制方面发生的非预期变化。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试棉花(*Gossypium hirsutum* Linn.)品种包括转双价Bt+CpTI基因抗虫棉中41、常规棉中23(中41的亲本)、转单价Bt基因抗虫棉GK12和常规棉泗棉三号(GK12的亲本)。中41、中23由中国农业科学院棉花研究所提供,GK12、泗棉三号由中国农业科学院植物保护研究所提供。

本研究使用的棉花黄萎病菌为广泛分布于长江和黄河流域棉区,属于生理型Ⅲ号的安阳菌系,由中国农业科学院棉花研究所提供。菌种经PDA斜面活化后,转入PDA液体培养基,25℃、120 r·min⁻¹振荡培养7 d后,用灭菌的4层纱布滤去菌丝得到孢子悬浮液。

1.2 转基因抗虫棉和常规棉品种对棉花黄萎病菌的抗性测定

按20:1的比例(质量比)混合土样和有机肥,放入灭菌锅湿热灭菌(121℃ 3 h),制成无菌土。棉种经浓硫酸脱绒放入装有无菌土的花盆中,在棉种

上铺2~3 cm的无菌土,然后放在温室培养。当棉苗长到3叶期时,用无菌刀片划切伤根并喷洒5 ml棉花黄萎病菌孢子悬液(浓度 1×10^7 个孢子·ml⁻¹)。接种后在划切处盖土保墒,每天浇水,保持一定湿度以利发病。35 d后,按照棉花黄萎病的苗期分级标准^[9],调查发病率和病情指数。

1.3 转基因抗虫棉和常规棉品种根系分泌物的收集和处理

将棉种用浓硫酸脱绒后,用酒精(75%)消毒10 min、HgCl₂(0.1%)溶液消毒3 min,置于PDA平板上,在25℃生化培养箱中催芽4 d。待根长至3 cm左右时,选择长势一致的棉芽移至盛有10 ml无菌Hoagland营养液小试管中,在生化培养箱进行培育,光暗比为14 h:10 h,光照强度为12000 lx。定期观察苗的生长状况,添加Hoagland营养液。

在棉苗生长的第40天,将棉苗从试管中轻轻取出,先用蒸馏水淋洗根系4次,然后用去离子水淋洗2次,最后将每株幼苗植入500 ml去离子水中培养12 h,收集培养液,再将收集液于真空旋转蒸发器(Eppendorf Concentrator 5301,德国)中浓缩,每个品种最后得到100 ml根系分泌物浓缩液,其中50 ml用于氨基酸和糖类成分的测定,50 ml用于测定对棉花黄萎病菌生长的影响。

1.4 棉花黄萎病菌孢子萌发试验

采用凹玻片法。将50 μl根系分泌物加入凹槽中,再加入孢子悬浮液50 μl,然后将凹片放入培养皿中,培养皿底部铺有湿润的滤纸。每个棉花品种重复3次。培养皿在25℃温箱中培养8 h后镜检孢子萌发的情况,每个凹槽随机检查10个视野,计算孢子萌发率。

1.5 棉花黄萎病菌菌丝生长试验

按每100 ml培养基中添加25 ml根系分泌物的比例配制PDA培养基,湿热灭菌待用。在PDA平板中央接直径为0.5 cm的棉花黄萎病菌同龄菌片,每个棉花品种重复6皿,在28℃温箱中培养,分别在培养的第3、6、9、12、15、17天测量菌落直径。

1.6 棉花根系分泌物中氨基酸和糖类的测定

将上述根系分泌物浓缩液过0.45 μm微空滤膜后,用氨基酸专用高效液相色谱仪(HP1100,美国)测定其中氨基酸的含量,分析条件为:色谱柱:4.0 × 125 mm C₁₈;柱温:40℃;流速:1.0 ml·min⁻¹;波长338 nm[测定除脯氨酸(Pro)外的其他氨基酸],262 nm(Pro);流动相:A 20 mmol 醋酸钠液,B 20 mmol 醋酸钠液:甲醇:乙腈=1:2:2(体积

比)。每个品种重复测定 3 次。

用分析/半制备高效液相色谱仪(Waters 600/650E 美国)测定其中糖类的含量。色谱条件:色谱柱 Sugarpakl 6.5 mm, 内径 300 mm; 流动相:纯水; 流速 $0.4 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$; 柱温 $85 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 。每个品种重复测定 3 次。

1.7 数据处理

参照马存等^[9]的方法,根据调查结果计算各品种棉花的发病率和病情指数。计算公式为:

$$\text{发病率} = \frac{\text{发病总株数}}{\text{调查总株数}} \times 100\%$$

$$\text{病情指数} = \frac{\sum \text{级数} \times \text{每级的病株数}}{\text{调查总株数} \times 4} \times 100$$

试验原始数据的处理采用 Excel 2003 软件完成,差异显著性检验采用 SAS (v6.12) 软件完成,图表绘制采用 Excel 软件。

2 结果与分析

2.1 转基因抗虫棉和常规棉花对棉花黄萎病菌的抗性

对不同品种棉苗在统一条件下进行黄萎病菌接种鉴定。接种 35 d 后各棉花品种的病情指数和发病率结果见表 1。在 3 次不同时间的调查结果中,转基因双价棉中 41 的病情指数和感病率均高于亲本常规棉中 23,其中 7 月 12 号和 7 月 23 号,中 41 和中 23 之间在病情指数和发病率方面的差异达到显著水平 ($P < 0.05$);与亲本常规棉泗棉三号相比,抗虫

棉 GK12 的病情指数和感病率也明显较高,其中在 7 月 12 号和 8 月 2 号差异达显著水平 ($P < 0.05$)。总之,与各亲本非转基因棉花相比,2 种转基因抗虫棉对棉花枯萎病的抗病性均下降甚至显著下降。

2.2 转基因抗虫棉和常规棉花根系分泌物对棉花黄萎病菌孢子萌发的影响

采用凹玻片法测定了不同棉花品种根系分泌物对棉花黄萎病菌孢子萌发的影响(表 2)。从测定结果来看,抗虫棉中 41 的孢子萌发率极显著高于其亲本中 23 ($P < 0.01$)。抗虫棉 GK12 的孢子萌发率高于亲本常规棉泗棉三号,但差异不显著 ($P > 0.05$)。说明与亲本常规棉相比,2 种转基因抗虫棉的根系分泌物对棉花黄萎病菌孢子萌发具有一定的促进作用,其中双价棉中 41 的根系分泌物对棉花黄萎病菌孢子萌发具有极显著的促进作用。

2.3 转基因抗虫棉和常规棉花根系分泌物对棉花黄萎病菌菌丝生长的影响

采用平皿培养法对两个转基因抗虫棉花品种及其亲本常规棉的根系分泌物对黄萎病菌菌丝生长的影响进行了测定。从表 2 可以看出,在整个培养阶段,含有转基因抗虫棉中 41 根系分泌物成分的 PDA 培养基上菌落直径都显著大于含有亲本常规棉中 23 根系分泌物 PDA 培养基,并且在培养第 3、9、12、15 和 17 天时二者差异极显著 ($P < 0.01$);同样,含有抗虫棉 GK12 根系分泌物成分的 PDA 培养基上的菌落直径也都大于含有亲本泗棉三号根系分

表 1 不同棉花品种对棉花黄萎病菌的抗性

Tab.1 Pathogeny of different cottons to *V. dahliae* Kleb (mean \pm SD)

棉花品种 Varieties of cotton	7 月 12 号 July 12		7 月 23 号 July 23		8 月 2 号 August 2	
	病情指数 Disease index	发病率 Incidence rate (%)	病情指数 Disease index	发病率 Incidence rate (%)	病情指数 Disease index	发病率 Incidence rate (%)
中 23 Zhong 23	32.4 \pm 7.6a	36.7 \pm 10.3a	42.5 \pm 4.1a	45.3 \pm 7.2a	61.3 \pm 10.6a	68.1 \pm 8.3a
中 41 Zhong 41	52.8 \pm 8.2b	55.1 \pm 4.7b	64.3 \pm 2.3b	67.3 \pm 2.3b	77.2 \pm 3.8a	80.6 \pm 5.7a
泗棉三号 Simian 3	38.5 \pm 5.3A	45.3 \pm 6.5a	54.5 \pm 11.7a	58.8 \pm 8.9a	60.4 \pm 1.7a	67.1 \pm 7.3a
GK12	60.4 \pm 3.8B	68.4 \pm 9.1b	69.5 \pm 10.8a	74.3 \pm 7.6a	82.3 \pm 6.5b	88.1 \pm 9.6b

同列不同英文小、大写字母分别表示转基因抗虫棉与亲本常规棉之间差异显著 ($P < 0.05$) 或极显著 ($P < 0.01$)。The small and capital letters in the same column showed significant difference between transgenic cotton and its parent control cotton at 0.05 or 0.01 levels. 下同 The same below.

表 2 不同棉花品种根系分泌物对棉花黄萎病菌孢子萌发、菌丝生长的影响

Tab.2 Effects of root exudates of different cottons on spore germination and mycelial growth of *V. dahliae* Kleb (mean \pm SD)

棉花品种 Varieties of cotton	平均孢子萌发率 Average spore germination rate(%)	平均菌落直径 Average colony diameter (cm)					
		第 3 天 Third day	第 6 天 Sixth day	第 9 天 Ninth day	第 12 天 Twelfth day	第 15 天 Fifteenth day	第 17 天 Seventeenth day
中 23 Zhong 23	12.73 \pm 7.31A	1.40 \pm 0.01A	2.50 \pm 0.10a	3.23 \pm 0.06A	4.20 \pm 0.01A	5.43 \pm 0.06A	5.97 \pm 0.06A
中 41 Zhong 41	53.59 \pm 3.70B	1.88 \pm 0.07B	2.72 \pm 0.08b	3.81 \pm 0.07B	4.82 \pm 0.14B	6.00 \pm 0.03B	6.62 \pm 0.05B
泗棉三号 Simian 3	73.11 \pm 3.70a	1.65 \pm 0.11a	2.59 \pm 0.13a	3.56 \pm 0.12a	4.70 \pm 0.15a	5.85 \pm 0.11a	6.36 \pm 0.12a
GK12	79.04 \pm 1.52a	1.84 \pm 0.12a	2.67 \pm 0.10a	3.79 \pm 0.17a	4.78 \pm 0.12a	5.88 \pm 0.13a	6.49 \pm 0.20a

泌物 PDA 培养基,但在整个培养时期二者差异不显著 ($P > 0.05$),这与根系分泌物对孢子萌发影响的现象一致.与亲本常规棉相比,转基因抗虫棉根系分泌物对棉花黄萎病菌菌丝生长具有一定的促进作用,其中双价棉中 41 的根系分泌物对棉花黄萎病菌丝生长具有极显著的促进作用.

2.4 转基因抗虫棉和常规棉根系分泌物中氨基酸和糖类的含量

采用氨基酸专用高效液相色谱仪(HP1100,美国)对4种不同棉花品种根系分泌物中氨基酸种类及含量进行检测(图1).在4种不同棉花品种根系分泌物中共检测出16种氨基酸组分:苏氨酸(Thr)、丙氨酸(Ala)、缬氨酸(Val)、异亮氨酸(Ile)、天冬氨酸(Asp)、亮氨酸(Leu)、苯丙氨酸(Phe)、甘氨酸(Gly)、甲硫氨酸(Met)、组氨酸(His)、谷氨酸(Glu)、酪氨酸(Tyr)、赖氨酸(Lys)、丝氨酸(Ser)、精氨酸(Arg)和脯氨酸(Pro).其中含量最大的前6种氨基酸为甘氨酸、谷氨酸、丝氨酸、异亮氨酸、天冬氨酸、苏氨酸.与亲本常规棉中23相比,双价抗虫棉中41根系分泌物中多了甲硫氨酸和赖氨酸组分,并且中41根系分泌物中的天冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、酪氨酸含量都明显高于其亲本中23,其余氨基酸组分的含量无显著差异;泗棉三号 and GK12 的根系分泌物中的氨基酸组分相同,其中酪氨酸、缬氨酸、亮氨酸的含量差异显著,其他组分含量则无显著差异.

各品种棉花根系分泌物中糖类物质测定结果表明(图2)转基因抗虫棉与亲本常规棉根系分泌物中糖的种类和含量都存在明显差异.双价抗虫棉中41根系分泌物中检测出4种糖类,分别为葡萄糖、

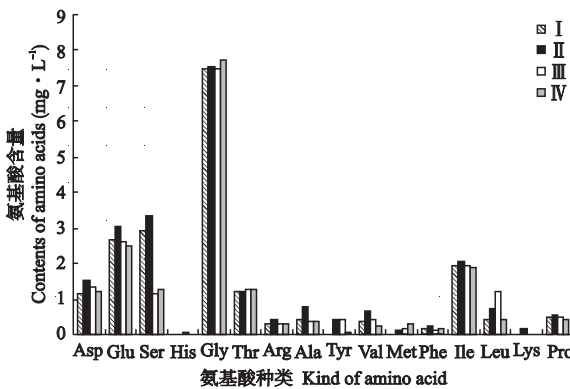


图1 不同棉花品种根系分泌物中各种氨基酸的含量
Fig.1 Contents of amino acids in the root exudates of different cottons.

I : 中23 Zhong 23 ; II : 中41 Zhong 41 ; III : 泗棉三号 Simian 3 ; IV : GK12. 下同 The same below.

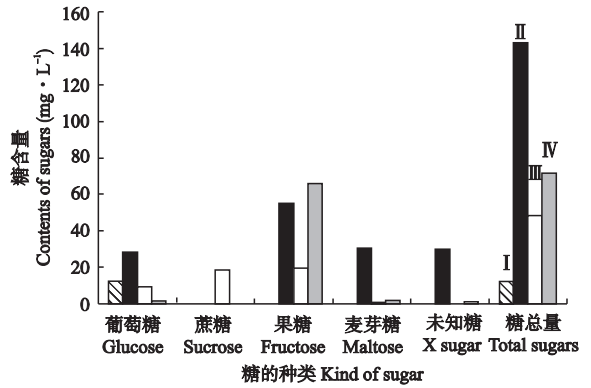


图2 不同棉花品种根系分泌物中各种糖类的含量
Fig.2 Content of sugar in the root exudates of different cottons.

果糖、麦芽糖和一种未知糖,而在其亲本常规棉中23中仅检测出葡萄糖.抗虫棉GK12和常规棉泗棉三号根系分泌物中都检测出葡萄糖、果糖和麦芽糖3种糖类,在泗棉三号根系分泌物中检测出蔗糖,而GK12中没有检测出蔗糖但多了一种未知糖.从糖类总量来看,转基因抗虫棉中41和GK12的糖类含量(分别为143.25和71.49 mg · L⁻¹)都显著高于其亲本中23和泗棉三号(分别为12.30和48.59 mg · L⁻¹, $P < 0.05$).

3 讨论

转基因抗虫棉对棉花黄萎病菌等病原菌的抗性下降问题已成为制约我国棉花生产的重要因素.本研究在温室条件下测试了两组4种棉花在苗期对棉花黄萎病菌的抗病性.结果显示,与亲本非转基因棉花相比,单价抗虫棉(GK12)和双价转基因抗虫棉(中41)对棉花黄萎病菌的抗性均下降,这与在大田条件下的研究结果一致^[2-5].棉花黄萎病菌从根部入侵,因此,从根系分泌物的角度探讨转基因抗虫棉花抗病性下降的原因十分必要.

根系分泌物与抗病性的关系主要体现在根系分泌物成分对根际微生物(包括黄萎病菌)的影响^[10-11].植物根系分泌物中同时含有能够促进和抑制病原菌生长的物质,植物对病原菌的抗性是根系分泌物中这2类物质综合作用的总体结果.抗病品种根系分泌物中可能对病菌提供的营养成分少^[12-14],或含有一些抑菌物质^[15].韩雪等^[16]和袁虹霞等^[17]分别以黄瓜和棉花为材料研究了其根系分泌物对枯萎病菌、黄萎病菌的影响,结果发现抗病品种根系分泌物对病原菌孢子萌发、菌丝生长有一定的抑制作用,而感病品种根系分泌物则有促进病

原菌生长的作用. 本文采用无菌水培的方法收集棉花根系分泌物, 研究了其对棉花黄萎病菌生长的影响. 结果表明, 与亲本常规棉相比, 2 种转基因抗虫棉根系分泌物对棉花黄萎病菌孢子萌发和菌丝生长均具有促进作用, 其中双价棉中 41 的根系分泌物对棉花黄萎病菌孢子萌发和菌丝生长具有极显著的促进作用, 这可能是转基因抗虫棉对棉花黄萎病菌抗性下降的重要原因之一.

冯洁等^[18]研究发现, 感病品种棉花根系分泌物中丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸的含量都比抗病品种高, 且丙氨酸、丝氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸、缬氨酸对孢子萌发具有明显的刺激作用. Booth^[19]比较了抗感黄萎病品种棉花根系分泌物中的氨基酸含量, 在所分析的 8 种氨基酸中, 差异最大的是丙氨酸, 其余 7 种差异不明显; 吴玉香等^[20]也发现丙氨酸成分对病菌孢子具有明显的促进作用. 本研究结果表明, 与亲本常规棉中 23 相比, 双价抗虫棉中 41 根系分泌物中多了甲硫氨酸和赖氨酸, 并且天冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、酪氨酸含量都明显升高, 其中丙氨酸的增幅最大. 这个结果与冯洁等^[18]和 Booth^[19]的研究结果一致, 说明根系分泌物中含有更高的能够刺激黄萎病菌萌发的氨基酸成分是中 41 对棉花黄萎病抗性下降的可能原因之一. 泗棉三号和 GK12 根系分泌物中的氨基酸组成相同, 虽然两者的酪氨酸、缬氨酸、亮氨酸含量差异较大, 但其他氨基酸组分(特别是能够刺激黄萎病菌萌发的氨基酸成分)的含量没有明显差异, 这不仅与冯洁等^[18]和 Booth^[19]的研究结果一致, 也解释了这 2 种棉花的根系分泌物对黄萎病菌孢子萌发和菌丝生长的影响没有显著差异的原因. 这说明转基因抗虫棉在导入外源基因后, 造成其根系分泌物中对黄萎病菌生长具有刺激作用的氨基酸成分增加, 可能是引起转基因抗虫棉抗病性降低的原因之一.

吴玉香等^[20]和刘素萍等^[21]等研究发现, 感病品种棉花根系分泌物中糖的含量和种类都高于抗病品种. 本研究结果显示, 双价抗虫棉中 41 根系分泌物中糖的含量和种类都多于亲本非转基因棉中 23; 虽然在抗虫棉 GK12 和亲本泗棉三号根系分泌物中都检测出 4 种糖类, 但二者之间糖类的总含量差异明显. 这说明转基因抗虫棉在导入外源基因后, 造成其根系分泌物中糖的种类和含量都有一定程度的增加, 为棉花黄萎病菌生长提供了更为丰富的碳源物质, 进而引起转基因抗虫棉抗病性降低.

已有的研究结果表明, 外源基因的导入会使转基因植物在表型、生理生化等方面产生意料之外的变化, 并对农业生产和转基因植物的环境安全产生影响^[22-26]. 本研究中, 2 种转基因抗虫棉不仅对黄萎病的抗病性均较其亲本下降, 而且两者根系分泌物中的氨基酸和糖类物质也有显著不同, 这也是外源基因导入使转基因植物产生非预期性状变化的又一例证. 另外, 本研究还发现 2 种转基因抗虫棉在抗枯萎病方面也发生了降低, 其根系分泌物对枯萎病菌生长具有一定的促进作用(另文发表). 但转基因抗虫棉对棉花黄萎病以及其他主要病害的抗病性是否较其亲本非转基因棉都普遍下降, 还需在更多转基因棉花品种范围内进一步检验.

植物对病原菌的抗病机制包括组织结构机制、生理生化机制、微生态机制等^[27-30]. 本研究结果说明, 转基因抗虫棉与亲本常规棉之间在根系分泌物的氨基酸和糖类组成及含量方面存在显著差异, 这可能是导致转基因抗虫棉对黄萎病菌抗性降低的重要原因之一. 但棉花根系分泌物中不仅包括氨基酸类和糖类, 还有有机酸、酚类、生长调节物质等成分, 还应该研究转基因抗虫棉相对亲本常规棉根系分泌物的其他成分发生了什么变化, 根系分泌物中哪些成分对病原菌的生长和入侵起主要作用. 此外, 还应该从组织结构机制、生理生化机制等方面研究转基因抗虫棉抗病性下降的原因, 以更全面地揭示转基因抗虫棉抗病性降低的机制.

参考文献

- [1] Chen DH, Ye GY, Yang CQ, et al. Effect after introducing *Bacillus thuringiensis* gene on nitrogen metabolism in cotton. *Field Crops Research*, 2004, **87**: 235-244
- [2] Wu Z-B(吴征彬). Analysis on resistance of anti-insect and hybrid cotton cultivars(lines) at test area in Hubei Province. *Hubei Agricultural Science*(湖北农业科学), 2000(5): 36-38(in Chinese)
- [3] Zhu H-Q(朱荷琴), Feng Z-L(冯自力). Analysis on disease resistance in anti-insect cotton cultivars(lines) in China. *China Cotton*(中国棉花), 2005, **32**(4): 23(in Chinese)
- [4] Wu A-M(吴蔼民), Gu B-K(顾本康), Xia Z-J(夏正俊) et al. Disease index correction of cotton variety resistance to cotton *Fusarium* wilt and identification of insect-resistant cotton in disease resistance. *China Cotton*(中国棉花), 1998, **25**(2): 16-17(in Chinese)
- [5] Fang H-Y(房慧勇), Zhang G-Y(张桂真), Ma Z-Y(马峙英). Disease dynamic and resistance identification to *Verticillium* wilt of transgenic cotton. *Cotton Science*(棉花学报), 2003, **15**(4): 210-214(in Chi-

- nese)
- [6] Liu X-L (刘巷禄), Zhang Z-B (张战备), Duan G-Q (段国琪), *et al.* The effects of cotton varieties and soil nutrition on red leaf blight. *Plant Protection* (植物保护), 2005, **31**(4): 69-71 (in Chinese)
- [7] Li Y-H (李银花), Cai Y-S (蔡印水), Wang W-M (万文明). Reason of red leaf blight breaking out at Xingzi County in Jiangxi Province and its countermeasures. *China Cotton* (中国棉花), 2005, **32**(6): 40 (in Chinese)
- [8] Zhang B-W (章炳旺), Li K-Q (李恺求), Luo D-R (罗定荣), *et al.* Survey on occurrence and evolvement of cotton disease and insect and reason analysis in recent 30 years in Anqing, Anhui Province. *Anhui Agricultural Science Bulletin* (安徽农学通报), 2006, **12**(5): 178-179 (in Chinese)
- [9] Ma C (马存). Study on *Fusarium oxysporum* f. sp and *Verticillium dahliae* Kleb. Beijing: China Agricultural Press, 2007 (in Chinese)
- [10] Bais HP, Weir TL, Perry LG, *et al.* The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*, 2006, **57**: 233-266
- [11] Bertin C, Yang X, Weston LA. The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. *Plant and Soil*, 2003, **256**: 67-83
- [12] Siegrid S, Roswitha M, Horst V. Germination of *Fusarium oxysporum* in root exudates from tomato plants challenged with different *Fusarium oxysporum*. *European Journal of Plant Pathology*, 2008, DOI 10. 1007/s10658-008-9306-1
- [13] Naqvi SMA, Chauhan SK. Effect of root exudates on the spore germination of rhizosphere and rhizoplane mycoflora of chilli (*Capsicum annum* L.) cultivars. *Plant and Soil*, 1980, **55**: 397-402
- [14] Claudius GR, Mehrotra RS. Root exudates from lentil (*Lens culinaris medic*) seedlings in relation to wilt disease. *Plant and Soil*, 1972, **38**: 315-320
- [15] Nóbrega FM, Santos IS, Cunha MD, *et al.* Antimicrobial proteins from cowpea root exudates: Inhibitory activity against *Fusarium oxysporum* and purification of a chitinase-like protein. *Plant and Soil*, 2005, **272**: 223-232
- [16] Han X (韩雪), Wu F-Z (吴凤芝), Pan K (潘凯). Review on the relation between the root exudates and soil-spread disease. *Chinese Agricultural Science Bulletin* (中国农学通报), 2006, **22**(2): 316-318 (in Chinese)
- [17] Yuan H-X (袁虹霞), Li H-L (李洪连), Wang Y (王焯), *et al.* The root exudates of cotton cultivars with the different resistance and their effects on *Verticillium dahliae*. *Acta Phytopathologica Sinica* (植物病理学报), 2002, **2**(2): 127-131 (in Chinese)
- [18] Feng J (冯洁), Chen Q-Y (陈其瑛), Shi L-Y (石磊岩). Study on root exudates of cotton seedling related to the cotton *Fusarium* wilt disease. *Cotton Science* (棉花学报), 1991, **3**(1): 89-96 (in Chinese)
- [19] Booth JA. *Gossypium hirsutum* tolerance to *Verticillium dahliae* infection. I. Amino acids exudation from aseptic roots of tolerant and susceptible cotton. *Phytopathology*, 1969, **59**: 43-46
- [20] Wu Y-X (吴玉香), Shen X-J (沈晓佳), Fang W-P (房卫平). The effects of cotton root exudates on growth and development of *Verticillium dahliae*. *Cotton Science* (棉花学报), 2007, **19**(4): 286-290 (in Chinese)
- [21] Liu S-P (刘素萍), Wang R-X (王汝贤), Zhang R (张荣), *et al.* Effects of sugar and amino acid in root exudation of different resistant cotton cultivars oil cotton *Fusarium* wilt pathogen. *Journal of Northwestern Agricultural University* (西北农业大学学报), 1998, **26**(6): 30-35 (in Chinese)
- [22] Han X (韩雪), Pan K (潘凯), Wu F-Z (吴凤芝), *et al.* Effect of root exudates from cucumber cultivars on pathogen of *Fusarium* wilt. *China Vegetables* (中国蔬菜), 2006(5): 13-15 (in Chinese)
- [23] Yan F-M (阎凤鸣), Xu C-R (许崇任), Marie B, *et al.* Volatile compositions of transgenic Bt cotton and their electrophysiological effects on the cotton bollworm. *Acta Entomologica Sinica* (昆虫学报), 2002, **45**(4): 425-429 (in Chinese)
- [24] Ammann K. Effects of biotechnology on biodiversity: Herbicide-tolerant and insect-resistant GM crops. *Trends in Biotechnology*, 2005, **23**: 387-394
- [25] Wolfenbarger LL, Phifer PR. The ecological risks and benefits of genetically engineered plants. *Science*, 2000, **290**: 2088-2092
- [26] Steinberg C, Whipps JM, Wood D, *et al.* Mycelial development of *Fusarium oxysporum* in the vicinity of tomato roots. *Mycological Research*, 1999, **103**: 769-778
- [27] Steinkellner S, Mammeler R, Vierheilig H. Microconidia germination of the tomato pathogen *Fusarium oxysporum* in the presence of root exudates. *Journal of Plant Interactions*, 2005, **1**: 23-30
- [28] Huang B-L (黄奔立), Xu Y-D (许云东), Wu Y (伍焯), *et al.* Effects of root exudates from cucumber and squash on *Fusarium* wilt occurrence. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2007, **18**(3): 559-563 (in Chinese)
- [29] Scheffknecht S, Mammeler R, Steinkellner S, *et al.* Root exudates of mycorrhizal tomato plants exhibit a different effect on microconidia germination of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* than root exudates from non-mycorrhizal tomato plants. *Mycorrhiza*, 2006, **16**: 365-370
- [30] Zhang F-L (张凤丽), Zhou B-L (周宝利), Wang R-H (王茹华), *et al.* Allelopathic effects of grafted eggplant root exudates. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2005, **16**(4): 750-753 (in Chinese)

作者简介 李孝刚,男,1984年生,博士研究生.主要从事转基因植物的生物安全及植物病理研究,发表论文2篇.
E-mail: sdjnglxg@163.com

责任编辑 肖红

