

文章编号:1003-8701(2010)06-0016-05

水稻抗虫转基因研究进展

于志晶,张文娟,李淑芳,金峰学,林秀峰*,马瑞*

(吉林省农业科学院生物技术研究中心,长春 130033)

摘要:水稻虫害是影响产量提高的主要限制因素,常常造成水稻减产,品质下降。半个多世纪以来,化学农药的使用对减少水稻虫害起到了重要的作用。然而,长期大量施用化学农药造成严重的环境污染,破坏生态平衡,同时,许多害虫也产生了抗药性。利用基因工程培育抗虫水稻品种是解决这一问题的有效途径。经过近20多年的发展,国内外水稻抗虫基因工程已经取得了很大的进展。本文就抗虫基因的克隆、水稻遗传转化等方面的最新研究进展进行了综述。

关键词:水稻;抗虫基因;基因工程

中图分类号:S511

文献标识码:A

Advances in Studies on Insect Resistant Transgenic Rice

YU Zhi-jing, ZHANG Wen-juan, LI Shu-fang, JIN Feng-xue, LIN Xiu-feng, MA Rui

*(Biotechnology Research Center, Academy of Agricultural Sciences of Jilin Province,**Changchun 130033, China)*

Abstract: Rice pest, which often resulting in grain losses and the quality decline, is the main limiting factor for rice yield. During the last fifty years chemical pesticides have played an important role in rice pest control. However, large quantities of chemical pesticides utilization in long term caused serious environmental pollution, destruction of ecological balance, while many insects have developed resistance. Genetic engineering is an effective alternative to solve the problem. In recent twenty years great progress has been made in genetic engineering of rice for insect resistant. In this paper the progress in cloning of insect resistant genes and genetic transformation in rice were reviewed.

Keywords: Rice; Insect resistant gene; Genetic engineering

水稻(*Oryza sativa*)是世界主要的粮食作物之一,全球半数以上的人口以稻米为主食。在我国水稻是最重要的粮食作物,播种面积和总产量均占粮食作物首位。水稻虫害是影响产量提高的主要限制因素,不仅会造成水稻减产,而且也使品质下降。水稻螟虫(二化螟、三化螟)和稻纵卷叶螟等是水稻的主要害虫,世界各地稻区均有发生,特别是近年来,二化螟等蛀茎害虫的发生逐年加重,对水

稻生产造成严重威胁。全球每年因螟虫造成的产量损失达1 000万t。在我国水稻螟虫发生面广、危害性大且损失严重。据统计,我国仅二化螟和三化螟年发生危害面积就达1 500万hm²以上,防治约3 800万hm²,防治代价50亿元左右,残虫造成经济损失约64.5亿元,总经济损失达115亿元左右。长期以来,化学农药的使用对减轻虫害的危害,提高水稻的产量起到了重要的作用。然而,长期大量施用化学农药不但增加生产成本,对环境造成了严重的污染,且生态平衡受到了严重的破坏,同时,许多害虫也产生了抗药性。

通过遗传改良提高水稻的抗虫性是解决这一农业问题的最经济、最有效的途径之一,因此,提高水稻的抗虫能力是水稻育种工作急需解决的关键问题。然而由于现有抗虫水稻种质资源极为匮

收稿日期:2010-10-02

基金项目:农业部转基因专项(2008ZX08001-001)

作者简介:于志晶(1982-),女,硕士,主要从事植物分子生物学、遗传转化与代谢工程研究。

通讯作者:林秀峰,女,硕士,研究员,E-mail:linxiufeng8581@163.com

马瑞,男,博士,研究员,E-mail:ruimaa@yahoo.com

乏,极大地限制了抗虫水稻育种。随着植物基因工程的飞速发展和应用,打破了物种间的界限,增加了水稻外源基因导入的途径和范围,对水稻育种有着深远的影响。抗虫基因的挖掘和利用已成为植物遗传资源与品种改良研究的热点,科研工作者已经克隆出一批抗虫相关基因,利用基因工程将外源抗虫基因导入水稻从而达到防治害虫的目的已成为现实。自从 Fujimoto 等 1993 年首次报道成功获得高表达的转 *Bt* 基因水稻以来,科研工作者相继将不同类型的 *Bt* 杀虫蛋白基因、蛋白酶抑制剂基因和植物或动物源凝集素基因转入不同水稻品种,获得一系列对靶标害虫控制效果显著的抗虫转基因水稻,近年来,利用基因工程培育抗虫水稻品种已经取得了很大的进展。本文综述了水稻外源抗虫基因的克隆、水稻遗传转化等方面的最新研究进展。

1 水稻外源抗虫基因

目前应用于水稻抗虫性改良的外源基因主要有 3 种:一是从微生物苏云金杆菌分离出来的苏云金杆菌杀虫结晶蛋白基因(*Bt* 基因),二是从植物中分离出来的豇豆胰蛋白酶抑制剂基因(*CpTI* 基因),三是植物凝集素基因(如雪花莲凝集素 GNA)。其中 *Bt* 基因是当前应用最为广泛的杀虫基因。

1.1 苏云金芽孢杆菌毒蛋白基因

苏云金芽孢杆菌 (*Bacillus thuringiensis*, *Bt*) 毒蛋白基因(*Bt* 基因)是目前世界上应用最为广泛的和有应用前景的抗虫基因,利用 *Bt* 毒蛋白基因在水稻中的表达来控制螟虫危害已有许多成功的报道。苏云金芽孢杆菌是一种广泛存在于土壤中的革兰氏阳性菌,在形成芽孢时会产生伴孢晶体蛋白质,它由一种或多种蛋白组成,由于该晶体蛋白具高度特异的杀虫活性,故称为杀虫晶体蛋白(insecticidal crystal proteins, ICPs 或 Cry)或 δ -内毒素(δ -endotoxin),其编码基因为杀虫晶体蛋白质基因。ICP 通常以原毒素形式存在,当被昆虫取食后,在昆虫消化道内中肠碱性和还原性条件下,经蛋白酶水解变成较小的毒性多肽,活化的毒素作用于中肠上皮细胞的特异受体,形成跨膜离子通道,致使细胞膜产生一些穿孔,破坏细胞的渗透平衡,引起细胞肿胀裂解,使害虫消化道丧失功能,引起昆虫减少或停止进食,最后昆虫肠壁细胞坏死导致昆虫死亡。*Bt* 毒素是较早被利用的杀虫剂,由于 ICP 作用于碱性环境,而人、哺乳动

物体内为酸性,因此具有专一性强、效果好、对人畜安全等优点。

早期 Hofte 和 Whiteley(1989)根据寄主范围及氨基酸序列的同源性将 *Bt* 晶体蛋白基因分为 5 大类 14 个族,即 Cry (鳞翅目昆虫专一性)、Cry (鳞翅目和双翅目昆虫专一性)、Cry (鞘翅目昆虫专一性)和 Cry (双翅目昆虫专一性)四大类,这四类为晶体蛋白家族 (crystal protein gene, Cry),类型 V 为溶胞蛋白基因 (cytolytic protein gene, Cyt)。随着新的杀虫蛋白基因的不断分离,发现原先分类系统中蛋白氨基酸序列同源性与杀虫特异性并不相关,因此新的分类系统以杀虫蛋白氨基酸序列同源性为唯一标准,不再考虑其杀虫谱,以 45%、78%和 95%为界,将基因划分为 4 个分类等级。

Bt 杀虫蛋白基因大部分编码一个 60kD 左右的胰蛋白酶抗性中心和分子量在 130~140kD 的蛋白。晶体蛋白中杀虫活性部分位于 N 末端的胰蛋白酶抗性中心,而 C 末端对于维持蛋白的晶状结构具有非常重要的作用。进一步研究表明:*Bt* 晶体蛋白由 3 个不同区域组成, I 区的 α -螺旋结构与微孔形成有关,疏水性 α -螺旋可以插入目标昆虫消化道表面细胞的膜上形成孔道; II 区顶端环状结构在蛋白与受体分子结合过程中有重要作用,而对 I 区功能目前则了解较少,推测其在稳定 ICPs 整体结构,决定 ICPs 专一性,形成离子通道及与中肠上皮细胞结合过程有关。

1.2 蛋白酶抑制剂基因

植物蛋白酶抑制剂(proteinase inhibitor, PI)基因在抗虫基因工程中占有重要的地位,豇豆胰蛋白酶抑制剂已被广泛使用。蛋白酶抑制剂是一类普遍存在于植物、动物和微生物中的一种小分子蛋白质或多肽,它在植物对食草性害虫的防御中具有十分重要的作用。蛋白酶抑制剂在植物体内的作用机理非常复杂,可与昆虫消化道内的蛋白消化酶相互作用,形成酶-抑制剂复合物(EI),通过抑制蛋白消化酶的活性,并过度刺激胰腺合成和分泌大量对抑制剂敏感的蛋白酶,引起某些必需氨基酸的缺乏,扰乱昆虫的正常代谢,最终导致昆虫发育不正常甚至死亡。此外,蛋白酶抑制剂还可进入昆虫淋巴系统,干扰昆虫免疫功能和蜕皮过程。

根据蛋白酶抑制剂的同源性可将植物来源的蛋白酶抑制剂划分为 10 个家族。这些抑制蛋白的分子量一般较小,通常在 5~25kD 之间。根据蛋

白酶抑制剂所抑制的蛋白酶类型可将其划分为以下 4 大类:即丝氨酸蛋白酶抑制剂、巯基蛋白酶抑制剂、金属蛋白酶抑制剂和酸性蛋白酶抑制剂。不同的害虫对不同的蛋白酶抑制剂的敏感性不同,对食物比较专一的食草性害虫而言,由于其体内蛋白酶种类单一,容易受蛋白酶抑制剂作用。而杂食性害虫,其体内有多种蛋白水解酶,不易受蛋白酶抑制剂的抑制。蛋白酶抑制剂的作用受很多因素的影响,纯的蛋白酶抑制剂没有活性,它需要在别的小分子肽或其他蛋白质的协助下才具有活性,蛋白酶抑制剂的作用还与其在害虫体内的稳定性有关。由于多数昆虫(尤其是鳞翅目害虫包括烟草芽蛾、棉铃虫、粘虫和玉米螟等)幼虫肠道内蛋白消化酶主要是丝氨酸蛋白酶,鞘翅目昆虫幼虫肠道内以巯基蛋白酶为主,因此丝氨酸蛋白酶抑制剂和巯基蛋白酶抑制剂可以明显抑制这些植食性昆虫的生长和发育,是目前转基因研究中应用最多的两类蛋白酶抑制剂,其中丝氨酸蛋白酶抑制剂主要包括 Bowman-Birk、Kunitz、PI-I 和 PI-II 等 4 个家族。

1.3 植物凝集素基因

植物凝集素 (Phytohem agglutinin, PHA) 是一类能特异识别并可逆结合糖类复合物的非免疫性球蛋白,其最主要的特性是能和糖类结合,广泛分布于植物组织中,在各种组织器官中均有发现,尤以豆科植物种子中的含量最为丰富。当被昆虫吞食至消化道时,它能够与昆虫肠纹缘膜细胞的糖蛋白结合而影响昆虫对营养物质的消化吸收,并在消化道内诱发病变,促进消化道中细菌的繁殖,使昆虫致病而死亡。根据植物凝集素亚基的结构特征,植物凝集素被分成 4 种类型:部分凝集素 (merolectins)、全凝集素 (hololectins)、嵌合凝集素 (chimerolectins) 和超凝集素 (superlectins)。根据氨基酸序列的同源性及其在进化上的相互关系,植物凝集素可以分为 7 个家族:豆科凝集素、单子叶植物甘露糖结合凝集素、几丁质结合凝集素、型核糖体失活蛋白、木菠萝素 (jacalin) 家族、葫芦科韧皮部凝集素和苋科凝集素。

目前在转基因工程方面应用最多的有雪花莲凝集素 (GNA) 和半夏凝集素 (PTA) 等。

1.4 其它抗虫基因

目前,除上述几种抗虫基因以外还有营养杀虫蛋白基因、淀粉酶抑制剂基因、昆虫毒素基因、几丁质酶基因等,这些基因具有一定的应用潜力。

2 水稻遗传转化

2.1 *Bt* 基因的遗传转化

Bt 基因是目前最为广泛应用的杀虫基因,科研工作者利用 *Bt* 毒蛋白基因转化水稻,控制螟虫危害,已经取得了很大的突破。目前克隆的 *Bt* 杀虫晶体蛋白基因已超过 400 多个,但在水稻上使用较多的基因主要是 *cryIA* 基因。1989 年中国农科院生物技术中心杨虹等首次报道了用原生质体电融合技术将 *Bt* 基因导入水稻台梗 209^[1],1991 年谢道昕用花粉管通道成功地将 *cryIAb* 基因导入水稻栽培品种中花 11 号中^[2]。Fujimoto (1993) 等用原生质体电激法将经修饰的 *cryIAb* 基因导入粳稻,首次获得高表达的 *Bt* 水稻植株,其中的毒蛋白含量约占可溶性总蛋白的 0.05%,转基因植株对二化螟幼虫的致死率为 10%~50%,对稻纵卷叶螟二龄幼虫的致死率最高为 55%^[3]。Wunn 等利用基因枪法成功地将 *cryIAb* 基因导入籼稻中获得转基因植株,经抗虫性测试表明转基因植株对二化螟、三化螟初孵幼虫致死率高达 100%,对稻纵卷叶螟致死率为 50%~60%^[4]。Ghareyazie 等将 *cryIAb* 基因导入香稻中获得转基因植株,转基因植株对二化螟、三化螟初孵幼虫致死率约为 70%~90%^[5]。Wu 等也将 *cryIAb* 基因导入台梗 309 水稻中并获得转基因植株,转基因植株对三化螟初孵幼虫致死率达 100%^[6]。成雄鹰等以 *Ubi* 基因为启动子,利用农杆菌介导法将 *cryIAb* 和 *cryIAc* 基因导入各种水稻中,已获得一系列转基因植株,转基因植株中毒蛋白含量占植株总可溶性蛋白的 3%,转基因植株对二化螟、三化螟幼虫致死率约为 97%~100%^[7]。Maqbool 等 (1999 年) 首次报道获得了双价的 *Bt* 水稻,使用的两个 *Bt* 基因为 *cryIAc*+*cry2A*^[8]。浙江大学利用农杆菌介导法将经修饰的 *cryIAb* 基因导入粳稻品种秀水 11 中,获得遗传性高度稳定的克螟稻及其一系列衍生品种,能够抵抗包括二化螟、三化螟、稻纵卷叶螟和大螟等 8 种水稻害虫的危害,初孵幼虫的致死率高达 100%^[9],1999 年克螟稻已进入环境释放试验,目前,该品种经农业部审批在浙江省已进入生产性试验阶段^[10]。华中农业大学与中国农业科学院合作,将在单子叶植物中高效表达的融合型 *Bt* 杀虫基因 *cryIA(b)/cryIA(c)* 成功地转化到籼稻中,获得了高抗虫的明恢 63 恢复系 T51-1 及由它配制而成的汕优 63 杂交稻。T51-1 植株的毒蛋白含量为 20 ng/mg,室内抗虫性测定结果表

明,其抗虫率达 100%,大田人工接虫示范抗虫效果也极为显著。未转基因的明恢 63 及其配制的汕优 63 杂交稻对三化螟受害率达 100%,而转基因植株则降至 10%以下。从转 *Bt* 基因水稻室内及田间抗虫鉴定结果来看,其兼具抗虫性和丰产性^[11]。中科院遗传所将 *cry1Ac* 和经修饰的 *CpTI* 基因共同转入水稻明恢 86,获得对靶标害虫具有较强抗性的双价抗虫水稻^[12],目前该品种已批准在北京和福建进入环境释放,且产业化形势良好。Breitler 等将修饰后的 *cry1B* 基因转化到两个地中海主栽品种中,部分 T2-T4 代转基因材料叶片 *Cry1B* 毒蛋白含量占总可溶性蛋白的 0.4%,转基因材料对 3 龄和 4 龄二化螟抗性为 100%^[13]。Khanna 和 Raina 将修饰后的 *cry1Ac* 基因导入籼稻优良品种 IR-64 中,获得了对三化螟具有抗性的转基因植株^[14]。Chen 等将人工改造后的 *cry2A** 基因导入籼稻恢复系明恢 63 中,后代纯合转基因株系的 *Cry2A** 毒蛋白含量为 9.65-12.11 μ g/g 鲜叶,室内和田间试验结果表明,转基因材料对水稻鳞翅目害虫抗性显著^[15]。Tang 等将修饰改造后的 *cry1C** 基因导入籼稻良种恢复系明恢 63 中,转基因后代材料及其杂交种对稻纵卷叶螟和水稻螟虫表现为高度抗性^[16]。Ye 等将特异性启动子(*rbcS* promoter)驱动的 *cry1C** 基因导入粳稻中华 11 中,后代筛选的材料不仅对稻纵卷叶螟和水稻螟虫具有很好的抗性,而且胚乳中 *Cry1C** 蛋白含量极低(2.6 ng/g 胚乳重)^[17]。

2.2 蛋白酶抑制剂基因的遗传转化

蛋白酶抑制剂是一类常用的植物来源抗虫蛋白,目前,也有较多成功地应用于水稻抗虫性改良的报道。早在 1993 年美国康奈尔大学就成功地将豇豆胰蛋白酶抑制剂基因 *CPTI* 导入水稻,转基因植株对二化螟、三化螟具有一定的抗性^[18]。Duan 等通过农杆菌介导法将马铃薯蛋白酶抑制剂 *pin* 基因导入水稻,获得了抗螟虫的转基因植株^[19]。Vain 等将半胱氨酸蛋白酶抑制剂基因导入水稻,转基因植株使线虫的孵化率下降 55%^[20]。张良佑等将大豆胰蛋白酶抑制剂基因 *skti* 基因转化到水稻品种台北 309 中,获得对稻纵卷叶螟和三化螟具有抗性的转基因植株^[21]。Alfonso-Rubi 等将大麦胰蛋白酶抑制剂基因 *bti-Cme* 导入水稻中,转基因植株对水稻米象甲有很好的抗性^[22]。蛋白酶抑制剂虽然具有抗谱较广,大多来源于植物,对人及哺乳动物无害等优点,但其抗虫作用也有一定的缺陷,其抗虫性没有 *Bt* 毒蛋白强,而且昆

虫容易产生适应性。

2.3 植物凝集素基因的遗传转化

植物凝集素基因是抗虫效果相对较好的植物来源的基因。其中雪花莲凝集素(*Galanthus Nivalis* agglutinin, GNA)基因在抗虫基因工程中使用比较广泛。Gatehouse 等 (1997) 报道了雪花莲凝集素 (GNA) 基因在水稻抗褐飞虱的改良中的应用^[23]。孙小芬等将 GNA 基因转入到水稻中,转基因纯合家系显著降低褐飞虱的存活率和繁殖力、延缓褐飞虱发育进度并减少褐飞虱进食量^[24]。其他科研工作者的研究结果也表明转 GNA 基因水稻对稻飞虱、叶蝉以及蚜虫等均表现出明显的抗性^[25-26]。张红宇等 (2003) 利用农杆菌介导法将半夏凝集素 *pta* 基因转入粳稻品种鄂宜 105、中花 12 和籼稻品种 E 优 532 中获得了对水稻褐飞虱抗性的转基因植株^[27]。

使用植物来源的抗虫基因有其独特的优点,如抗谱较广等,特别是凝集素类基因 GNA,对 *Bt* 基因不能毒杀的同翅目害虫具有一定的抗性,对稻飞虱等刺吸式害虫(同翅目)有一定的抗虫效果,主要表现出对害虫的生长、发育以及生殖能力造成负面的影响。然而,由于植物来源的抗虫基因的抗虫效果比较有限,因而限制了其在转基因植物上的应用。

3 水稻抗虫基因工程展望

经过 20 多年的发展,水稻抗虫转基因研究取得了巨大的进展。建立了成熟的水稻遗传转化体系,在植物、动物甚至微生物中已鉴定并克隆了许多有用的抗虫基因。一些抗虫基因已转入水稻并且获得了一大批有重要应用价值的抗虫转基因材料或品系,而且有一些已进行了大田试验,展现出巨大的应用潜力美好前景。

出于对公众转基因植物安全性的顾虑,科研工作者在抗虫基因水稻进行大面积商业化推广应用之前,对其抗虫性,大田生态风险以及对人类的安全性进行全面评价,建立了科学的评价体系,以保障抗虫基因水稻的安全合理的应用。特别是一些特异性启动子的使用,会打消人们对食品安全性方面的疑虑。

目前,*Bt* 基因因为水稻上应用最成功的抗虫基因,2005 年,转 *Bt* 水稻在伊朗开始商品化生产,虽然种植面积只有几千公顷,但为转基因水稻大规模商品化迈出了一大步。2009 年,中国做出一项里程碑式的决定,农业部批准了自主研发的 *Bt*

转基因水稻华恢 1 号和 *Bt* 汕优 63 的生产应用安全证书,其意义重大,标志着转基因水稻在我国已经向商业化生产迈出了实质性一步。*Bt* 水稻能提高产量、减轻贫困,同时降低杀虫剂的使用,有利于环境的可持续性。可以预料,在不久的将来,转 *Bt* 基因水稻和转 *Bt* 基因棉花一样,会在全世界范围内大规模产业化。

参考文献:

- [1] 杨虹,李家新,郭三堆,等. 苏云金芽孢杆菌 δ -内毒素基因导入水稻原生质体后获得转基因植株[J]. 中国农业科学, 1989, 22(6):1-5.
- [2] 谢道昕,范云六,倪丕冲. 苏云金芽孢杆菌杀虫基因导入中国栽培品种中花 11 号获得转基因植株[J]. 中国科学(B 辑), 1991(8):830-834.
- [3] Fujimoto H. Insect resistant rice generated by introduction of a modified endotoxin gene from bacillus thuringiensis [J]. Bio Technology, 1993, 11(10):1151-1155.
- [4] Wunn. Transgenic indica rice breeding line IR58 expressing a synthetic cryIA (b) gene from bacillus thuringiensis provides effective insect pest control [J]. Biotechnology, 1996, 14(2):171-176.
- [5] Ghareyazie B. Enhanced resistance to two stem borers in an aromatic rice containing a synthetic cryIA(b) gene[J]. Molecular Breeding, 1997(3):401-414.
- [6] Wu C, Fan, Zhang C, Oliva N, et al. Datta S K. Transgenic fertile japonica rice plants expressing a modified cryIA(b) gene resistant to yellow stem borer [J]. Plant Cell Rep, 1997, 17:129-132.
- [7] Xiong Ying Cheng. Agrobacterium transformed rice plants expressing synthetic cryIA(b) and cryIA(c) genes are highly toxic to striped stem borer and yellow stem borer[J]. Proc Natl Acad Sci, 1998, 95:2767-2772.
- [8] Maqbool S B, Christou P. Multiple traits of agronomic importance in transgenic indica rice plants: analysis of transgene integration patterns, expression levels and stability [J]. Mol Breed, 1999, 5:471-480.
- [9] Ye G Y, Shu Q Y, Yao H W, et al. Field evaluation of resistance of transgenic rice containing a synthetic cryIAb gene from Bacillus thuringiensis Berliner to two stem borers [J]. J Econ Entomol, 2001, 94:271-276.
- [10] 王丽冰,刘立军,颜亨梅. 转 *Bt* 抗虫基因水稻的研究进展和生物安全性及其对策[J]. 生命科学研究, 2009, 13(2):182-188.
- [11] Jumin Tu, Guoan Zhang, Karabi Datta, et al. Field Performance of transgenic elite commercial hybrid rice expressing Bacillus thuringiensis δ -endotoxin [J]. Nature Biotechnology, 2000, 18:1101-1104.
- [12] 朱 祯. 高效抗虫转基因水稻的研究与开发[J]. 中国科学院院刊, 2001, 16(5):353-357.
- [13] Breitler J C, Marfa V, Royer M, et al. Expression of a Bacillus thuringiensis cry1B synthetic gene protects Mediterranean rice against the striped stem borer [J]. Plant Cell Rep, 2000, 19:1195-1202.
- [14] Khanna H K, Raina S K E. Indica transgenic rice plants expressing modified Cry1Ac endotoxin of Bacillus thuringiensis show enhanced resistance to yellow stem borer (*Scirpophaga incertulas*)[J]. Transgenic Res, 2002, 11:411-423.
- [15] Hao Chen, Wei Tang, Caiguo Xu, et al. Transgenic indica rice plants harboring a synthetic cry2A* gene of Bacillus thuringiensis exhibit enhanced resistance against lepidopteran rice pests [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2005, 111(7):1330-1337.
- [16] Tang W, Chen H, Xu CG, et al. Development of insect-resistant transgenic indica rice with a synthetic cry1C gene[J]. Mol Breed, 2006(18):1-10.
- [17] Ye Rongjian, Haiqun Huang, Zhou Yang, et al. Development of insect-resistant transgenic rice with Cry1C-free endospore[J]. Pest Manag Sci, 2009, 65:1015-1020.
- [18] 莽克强. 植物基因工程研究进展 [J]. 生物工程进展, 1993, 13(5):128.
- [19] Xiaolan Duan, Xiaogang Li, Qingzhong Xue, et al. Transgenic rice plants harboring an introduced potato proteinase inhibitor II gene are insect resistant Nature Biotech, 1996, 14:494-498.
- [20] Vain P. Expression of an engineered cysteine proteinase inhibitor (Oryzacy stain-IND86) for nematode resistance in transgenic rice plants [J]. Theor Appl Genet, 1998, 96:266-271.
- [21] 张良佑,吴洪基,萧整玉,等. 转基因水稻的抗虫性初探[J]. 华南农业大学学报, 1998, 19(2):4-7.
- [22] Alfonso-Rubi J, Ortego F, Castanera P, et al. Transgenic expression of trypsin inhibitor CMe from barley in indica and japonica rice, confers resistance to the rice weevil Sitophilus oryzae[J]. Transgenic Res, 2003, 12:23-31.
- [23] Gatehouse. Genetic engineering of rice for resistance to homopteran insect pests resistance to rice insect by gene engineering[J]. Theor Appl Genet, 1997, 25:189-200.
- [24] 孙小芬,唐克轩,万丙良,等. 表达雪花莲凝集素(GNA)的转基因水稻纯系抗褐飞虱[J]. 科学通报, 2001, 46:1108-1113.
- [25] Rao K V, Rathore K S, Hodges T K, et al. Expression of snowdrop lectin (GNA) in transgenic rice plants confers resistance to rice brown planthopper [J]. Plant J, 1998, 15:469-477.
- [26] 王 玲,于恒秀,黄世文,等. 抗褐飞虱和抗除草剂转基因粳稻新品系的选育及其中间试验[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2008, 29(3):23-27.
- [27] 张红宇,吴先军,唐克轩,等. 半夏凝集素基因(pta)导入水稻及其表达的初步研究[J]. 遗传学报, 2003, 30(11):1013-1019.