

植物内生细菌在防治植物病害中的应用研究^{*}

闫孟红 蔡正求 韩继刚 孙磊 宋未^{**}

(首都师范大学生物系,北京 100037)

摘 要: 许多报道已证明在不同的植物体内都存在多种内生细菌。本文综述了内生细菌的概念、种群密度等方面的内容,着重叙述了内生细菌在生物防治植物病害上的作用,并对内生细菌的研究现状及应用提出了自己的见解。

关键词: 内生细菌 种群密度 生物防治 拮抗作用 诱导系统抗性

The Applied Research of Endophytic Bacteria in Biological Control of Plant Disease

Yan Menghong Cai Zhengqiu Han Jigang Sun Lei Song Wei

(Department of biology Capital Normal University, Beijing 100037)

Abstract: Most healthy plants are colonized by communities of endophytic bacteria, including a wide variety of species and genera. This review summarizes part of work have been done on endophytic bacteria, including their definition and population density, as well as their roles of biological control in plant diseases. In addition, some questions and opinions are raised on the present status and application.

Key words: Endophytic bacteria Population density Biological control Antagonism Induced systemic resistance

目前,利用微生物进行植物病害的生物防治已经逐渐受到世界各国的关注。化肥、农药虽然在短期之内能够提高产量、控制病害,但从生态和环境保护的角度来看,存在很大的弊端,并不是所有的病害都有行之有效的化学药剂。

内生细菌存在于植物体内,生存环境稳定,不易受到外界环境的影响,在生物防治病害中比叶际、根际的细菌具有更大潜力。现在已对内生细菌进行研究的植物有多年生木本、草本、农作物、蔬菜等,而且对不同植物的不同发育阶段及不同的组织器官也有所研究。表 1 列出了部分植物中内生细菌的定殖情况及其生物学作用。

1 内生细菌的概念

内生体 (Endophyte) 来源于希腊语“在…内”(endo)和植物 (phyton)^[1]。Pasteur 在 1876 年从无

菌葡萄果汁中提取出了内生细菌,从此内生细菌逐渐引起了人们的关注^[2]。直到 1992 年 Kloepper 第一次提出了“植物内生细菌”(endophytic bacteria)的概念^[3]。1995 年 Wilson 将内生菌的概念概括定义为:在整个或部分生活周期中感染活的植物体,但对植物组织不引起明显症状的微生物,包括真菌和细菌^[4]。1997 年 Hallmann 等又对植物内生细菌的概念进行了补充,认为植物内生细菌是从表面消毒的植物组织中分离而得到或从植物内部获得的,但它们的存在并未使植物的表型特征和功能有任何改变^[5]。

根据植物与内生细菌的关系可以将内生细菌分为专性内生细菌 (obligate endophytic bacteria) 和兼性内生细菌 (facultative endophytic bacteria)。大多数内生细菌属于兼性内生细菌,它们既可以在植物

^{*} 国家自然科学基金资助项目(批准号:30170035)和北京市自然科学基金资助项目(批准号:5012004)

作者简介:闫孟红(1978~),女,山东泰安人,硕士

^{**} 联系作者:宋未 Email: songwei@mail.cnu.edu.cn

体内存活也可以在根际或土壤中存活^[6]。根据内生细菌对宿主植物生长发育的影响可以分成三类:一类是中性的,对植物生长发育没有明显影响或尚未发现其作用;第二类对植物生长发育有促进作用的,

如内生固氮菌;第三类对植物生长具有抑制作用^[7]。然而,有些细菌在一种植物中促进生长,而在另一种植物中可能没有作用或抑制其生长。

表 1 植物物种与其内生细菌的相互作用^[8~10]

植物物种	植物组织部分	细菌的菌属	植物与细菌的相互作用	参考文献
卷心菜	叶	克吕沃尔氏菌属、产碱菌属	防治甘蓝黑腐病菌甘蓝致病变种	Assis 等, 1998
三叶草	叶、茎、根、根瘤	泛菌属、土壤杆菌属、根瘤菌属、芽胞杆菌属、短小杆菌属	促生作用	Sturz 等, 1997
棉花	根、茎	金杆菌属、芽胞杆菌属、叶瘤杆菌属、假单胞菌属、伯克霍尔德氏菌属	防治棉花枯萎病和棉花立枯病	Chen 等, 1995
棉花	种子	芽胞杆菌属	防治棉花立枯病和整齐小核菌	Pleban 等, 1995
棉花	根	叶瘤杆菌属、伯克霍尔德氏菌属	防治南方根结线虫	Hallman 等, 1999
马铃薯	块茎	短小杆菌属、泛菌属、	防治胡萝卜软腐欧文氏菌	Sturz 和 Metheson, 1996
马铃薯	块茎	短小杆菌属、假单胞菌属	拮抗镰孢菌和蔓延疫霉病菌	Sturz 等, 1999
红三叶草	根、茎、叶	泛菌属、土壤杆菌属、假单胞菌属、芽胞杆菌属、短小杆菌属	促生作用	Sturz 等, 1997
水稻	茎	假单胞菌属	防治棉花立枯病	Krishnamurthy 和 Gnanamanickam, 1997
马铃薯	根	假单胞菌属、芽胞杆菌属、节杆菌属、丛毛单胞菌属、金杆菌属、金黄杆菌属、微球菌属、寡养单胞菌属	拮抗立枯丝核菌、大丽花轮枝孢、防治南方根结线虫	Krechel 等, 2002
黑松	根	芽胞杆菌属	固氮作用	Chanway, 1998
水稻	根、茎	假单胞菌属、鞘氨醇单胞菌属	促生作用、防治异丝绵霉和具刺腐霉	Adhikari 等, 2001
鹰嘴豆、向日葵、红辣椒、辣椒	根、茎	假单胞菌属、芽胞杆菌属	拮抗潮湿镰孢菌、立枯丝核菌和整齐小核菌	Rangeshwaran 等, 2002
橡树	茎	假单胞菌属、芽胞杆菌属	防治栎枯萎病	Brooks 等, 1994

2 内生细菌的种群密度

植物内生细菌的种群密度与植物的物种、植物的基因型、植物组织、生长阶段和环境条件有关。总体上,内生细菌的种群密度在根组织内最高,大约 10⁵个菌落形成单位/克鲜重,茎内的内生细菌的密度平均约为 10⁴个菌落形成单位/克鲜重,叶组织内的内生细菌的密度平均约为 10³个菌落形成单位/克鲜重,生殖器官(如:花、果实、种子)中内生细菌的种群密度最低^[8]。作者从辣椒品种“海丰 12”的根内分离到的内生细菌密度约 1.09 × 10⁴ 个菌落形成单位/克鲜重,叶内约 6.4 × 10³ 个菌落形成单位/克鲜重。但也有例外,何红等报道从辣椒叶内分离到内生细菌的数量高于从根内分离到的细菌^[11]。

3 内生细菌对植物病虫害的防治作用及可能的机制

3.1 对病虫害的防治作用

3.1.1 对植物细菌病害的防治作用

内生细菌对植物细菌病害具有防治作用的例子很多。例如:Van Buren 等^[12]发现来自马铃薯块茎的 192 株细菌中有 61 株是拮抗密执安邦杆菌腐朽亚种(*Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonius*)有效的生物防治菌株。其中有一种荧光假单胞菌(CICA90)能够定殖在根、茎的内部和外部,对病害有一定的防治作用。Assis 等^[13]从马铃薯组织内筛选到的内生细菌对密执安棍状杆菌坏腐亚种(*Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*)和胡萝卜软腐欧文氏菌黑腐致病变种(*Erwinia carotovora* var. *atroseptica*)有拮抗性。

3.1.2 对植物真菌病害的防治作用

研究表明,内生细菌能够防治豌豆上的枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *pisii*),马铃薯上的黄

萎病菌 (*Verticillium albo-atrum*) 和立枯病菌 (*Rhizoctonia solani*), 大豆上的菌核病菌 (*Sclerotium rolfsii*) 和橡树上的黑斑病菌 (*Ceratocystis fagacearum*)^[8]。Chen 等^[14]表明, 分离自棉花组织内的 170 株菌中, 40 株具有拮抗棉花立枯病菌的活性, 25 株能诱导黄瓜对炭疽病菌 (*Colletotrichum orbiculare*) 产生抗性。

3.1.3 对植物寄生线虫的防治作用

植物寄生线虫的防治要比病原真菌和病原细菌的防治困难得多。世界上最具破坏力的线虫是根结线虫和泡囊线虫。近年来很多地区线虫病为害十分严重, 目前还没有对线虫病很有效的药剂出售。

植物内生细菌对植物寄生线虫的防治研究目前还不多。植物寄生线虫能提高内生菌的总量, 而且内生细菌也出现在被线虫感染所形成的瘤组织内。有些内生细菌能够减少由于根结线虫而形成的瘿状物。J. Hallmann 等^[15]研究发现棉花内生细菌与线虫相互作用过程中, 一种内生细菌在线虫侵染部位的种群数量明显增加。线虫的侵入可能增加了内生细菌的进入位点。研究表明, 荧光假单胞菌 89B-61 (*Pseudomonas fluorescens* 89B-61)^[15], 泡囊假单胞菌 N884 (*Brevundimonas vesicularis* IN884)^[16]和粘质沙雷氏菌 90-43 (*Serratia marcescens* 90-43)^[16]的代谢物能够持续的防治南方根结线虫 (*Meloidogyne incognita*)。

3.1.4 利用基因重组防治植物病虫害

近年来, 重组 DNA 技术作为一种新的工具已经开始被应用在植物内生细菌中。将目的基因转移到内生菌中, 再利用浸种、喷雾等方法将带有目的基因的内生菌转移到植物中去。例如: Turner 等^[17]利用同源重组的方法将带有苏云金芽孢杆菌 (*Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*) *cryIA* (c) δ -内毒素基因和木质棍状杆菌犬齿亚种 (*Clavibacter xyli* spp. *cynodontis*) 的基因组 DNA 片段的质粒整合到 *C. xyli* subsp. *cynodontis* 的染色体中构建成工程菌。然而这一工程菌虽在人工培养时表现出杀虫活性但在植物体内却没有这种活性。Lampel 等^[18]利用一种改良的载体使工程菌在植物体内产生了杀虫毒素, 但其效果不是很稳定。徐静等^[19]以能定殖在玉米维管束系统的内生菌为宿主菌, 将苏云金芽孢杆

菌的 δ -内毒素基因 *cryIA* (c) 整合到其染色体上构建了内生工程菌 12 # Bt/ CXC, 以玉米螟 (*Ostrinia furnacalis* Guenée) 为供试昆虫的生物测定结果表明: 在同一浓度下, 工程菌对玉米螟的毒力均高于野生型 Bt 菌株和空白对照 (最低浓度除外)。而且以注射法将工程菌株注射入玉米茎秆进行温室试验, 结果显示: 应用该工程菌可有效减少玉米螟成活率, 抑制其生长发育。可见, 对内生细菌进行基因工程改造防治病虫害已显示出一定的应用前景。

3.2 内生细菌防治病害的作用机制

在自然界中微生物与微生物之间, 微生物与病原物之间存在着相互抑制或相互促进的复杂关系。利用微生物防治植物病害就是利用微生物对病原物的抑制作用。内生细菌防治植物病害的机制主要有竞争 (competition)、溶菌作用 (lysis)、诱导抗性 (induced resistance)、抗生 (antibiosis) 和重寄生作用 (hyperparasitism) 等。内生细菌可能以一种机制为主, 同时也依赖于其它几种。以下着重讨论拮抗作用和诱导抗性。

3.2.1 拮抗作用

拮抗作用 (antagonism) 是指一种微生物的活动抑制或杀死另一种微生物的现象, 对另一种微生物具有拮抗作用的微生物叫拮抗体。根据拮抗体对病原菌的作用机制的不同, 拮抗作用又分为抗生、竞争和重寄生作用 3 种不同的类型。

生活在一起的两种微生物, 如果其中一种微生物所产生的物质对另一种微生物具有毒害作用, 称为抗生 (antibiosis)。拮抗微生物在代谢活动中通过分泌抗菌物质直接对病原物产生抑制是自然界普遍存在的现象。拮抗微生物产生的抗菌物质主要有两类: 小分子的多糖物质和大分子的抗菌蛋白或细胞壁降解酶类。内生细菌能够定殖在皮层组织并能产生抑制病原菌的代谢物。这种代谢物包括某些抗生素如: 双乙酰藤黄酚 (Phl)、吩嗪羧酸 (PCA)、藤黄绿脓素 (pyoluterin) 等。

竞争 (competition) 是指存在于同一微小生物环境中的两个或两个以上微生物之间争夺这一生物环境内的空间、营养、氧气等的现象。由于亲缘关系相近的微生物对环境的需要也比较相近, 所以竞争较易发生。利用内生细菌来防治细菌病原菌的机制之

一可能是内生细菌与病原细菌具有相同的生态位,内生细菌先定殖在植物组织内部并且占据病原菌所需的生态位。例如:利用放射形土壤杆菌(*Agrobacterium radiobacter*)防治根癌农杆菌(*A. tumefaciens*),用荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)防治丁香假单胞菌(*P. syringae*),用肠杆菌(*Enterobacter spp.*)防治梨火疫病菌(*Erwinia amylovora*)等^[8]。Bacon 分离的玉米内生枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)与玉米病原真菌串珠镰孢(*Fusarium moniliforme* Sheldon)有相同的生态位,该菌能在玉米体内迅速定殖和繁殖,可有效降低该病原菌及其毒素的积累^[20]。

植物病原菌被其它生物寄生的现象叫重寄生作用(hyperparasitism)。在植物病生防中研究和应用最多的是真菌对真菌的寄生和病毒对真菌的寄生。内生细菌利用这种机制防病的例子较少见。

3.2.2 诱导抗性

Van Loon 等^[21]提出诱导抗性(induced resistance)是植物与细菌相互作用的主要生防机制。1933 年 Chester 首次报道诱导植物产生免疫力^[22]。诱导系统抗性或系统获得性抗性作为一种保护植物的新机制已经逐渐引起人们的重视^[23]。诱导抗性是指利用物理的、化学的以及生物的方法,预先处理植物,诱导植物启动自身的防御机制,增强对后续病原物的抵抗力。研究表明,植物具有避免微生物侵害的多种潜在的保护机制。Sturz 等^[24]证明,植物自身的保护反应可能与内生细菌在宿主内的定殖相关。内生细菌诱导植物对病原菌的抗性不一定是内生细菌自身产生的代谢物,也可能是内生细菌发出一种信号使植物产生抗性。Smith 和 Méraux 的研究表明,用丁香假单胞菌丁香致病变种(*Pseudomonas syringae* pv. *Syringae*)预接种长出一片真叶的水稻苗,能够诱导水稻自身对稻瘟病菌(*Pyricularia oryzae*)的抗性,这表明最初接种能使作物产生交叉保护反应,对随后的感染产生了抗性^[25]。

4 内生细菌在病害生物防治上的应用研究

植物生物防治(biological control of plant disease)是利用一种或多种生物或其代谢产物来降低植物病原菌的数量或抑制其致病能力而减轻植物病害的一类措施。

4.1 内生细菌作为生物防治菌株在植物病害上的应用研究

生物防治在农业中作为减少化学药剂的一种方式,在防治病害上,已经逐渐受到人们的关注。随着生物防治理论和应用研究的不断深入,生物防治已经在巴西和南美洲得到应用。农业化学药剂的应用虽然能够降低病害,但是对农田工作者和消费者存在很大的隐患。杀菌剂虽然能够防治植物病原真菌,但也能杀死在环境中起重要作用的非靶微生物。植物内生细菌作为生物防治菌株有多方面的优势^[26],而且在防治真菌、细菌引起的病害以保护宿主植物中起着非常重要的作用。

我国陈延熙教授等曾从植物体内筛选出有益的芽孢杆菌并将其制成植物微生态制剂,1986 年开始示范至今已在水稻、小麦、棉花、油菜、牧草等 50 多种植物上接种应用,对作物具有增产、防病、改善品质、抗旱、防寒等作用^[2]。杨海莲等^[27]利用从水稻中分离的内生阴沟肠杆菌(*Enterobacete cloacae*)的菌液喷洒水稻叶片,结果表明能够明显提高水稻对白叶枯病、稻瘟病、纹枯病的抗性。

Brooks 等^[28]已经证明分离自橡树的内生芽孢杆菌、假单胞菌对橡树枯萎病菌(*Ceratocystis fagacearum*)有拮抗活性。Brooks 等还用内生的脱氮假单胞菌(*Pseudomonas denitrificans*)处理橡树(live oaks)然后再接种病原菌,研究表明,能够将发病率降低到 50%。Sayonara 等^[29]从甘蓝、白菜叶子中分离的 3 种内生细菌对甘蓝黑腐病原菌甘蓝致病变种有拮抗活性,小区试验结果表明这些内生菌能够成功的抑制病症的发展。Tika B. Adhikari 等^[9]从水稻体内分离的细菌中有三株菌能够在体外抑制病原菌的生长,而且温室试验表明,可以减少病害的发生。

4.2 内生细菌对收获后果实及蔬菜具有病害防治作用

农作物的种子、果实,一些蔬菜(包括叶菜和根菜)和水果如果不能及时的售出或食用会储藏一段时间。植物内生细菌对这个时期的病害防治有很大的优势。人们常常对应用微生物杀菌剂的安全性持怀疑态度。内生细菌广泛的存在于蔬菜和果实的体内,直接从蔬菜和果实体内分离到的生防菌易被接受,营养竞争的拮抗菌比分泌抗菌素的微生物更容

易被认可。Pratella 等^[30]从黄瓜、茄子、辣椒、西红柿、番瓜、杏、桃、李中分离出 122 株内生菌中,有 20 株对果蔬采后病原菌桃褐腐病念珠霉 (*Monilinia laxa*) 和葡枝根霉 (*Rhizopus stolonifer*) 的防治效率高于 90 %。

5 内生细菌生物防治的研究现状及几个值得探讨的问题

目前植物内生细菌的研究已从生防菌的筛选和鉴定、定殖、温室接种实验、小规模田间试验扩展到内生菌在植物体内的自然存在的多样性和数量等方面,但是关于它对整个生态及人类身体健康影响的报道较少。在防治病害方面,多数生防制剂的防治效果还不能令人满意,内生细菌的应用潜力还没有完全开发出来。从整体上看,利用内生细菌防治病害还存在一些问题。

首先,内生细菌的分离方法尚待改进和完善。内生细菌传统的分离方法是用各种消毒剂(如:次氯酸钠、酒精、双氧水、氯化汞)中的一种或几种对植物组织表面进行灭菌,然后用无菌水或缓冲液冲洗数次,研磨。灭菌时间和消毒剂的浓度视植物的种类、年龄、组织而定,理论上应该是杀死植物表面最后一个细菌的时间和浓度最为合适,但这是很难掌握的。灭菌时间的长短、消毒剂的渗入、细菌对植物的吸附作用、培养基的选择等都会影响所分离的内生细菌的数量。

其次,生防菌的筛选通常是先在实验室内的平板上进行的,这就具有很大的局限性,除了拮抗、寄生等作用方式外,许多通过其它方式起作用的菌株不能被筛选到。在平板对峙试验中,往往是单独采用一株病原菌作为筛选的目标,而大田防治对象是多种病原菌,宿主植物可能会同时受到几种病原菌的侵害。

土壤的组成、营养成分、pH 值、温度、水分、微生物区系等对生防菌都有重要的影响,而且土壤本身具有生物缓冲作用。如果人为地向土壤中施加微生物,微生物的数量可能会因为土壤的这种缓冲作用而减少。而有些内生细菌通常需要形成优势种群才能发挥作用。

生物防治也并非是全能的,生态学结果有时是

令人困惑的。一种生物在一个地方有益,在另一个地方可能就有害。所以我们不仅要考虑内生细菌对人畜的安全性问题,还要考虑引入土壤后对周围环境(土壤微生物、植物、动物等)的影响。

内生细菌在植物病害上的应用虽然面临许多问题,但是作为生物防治菌株依然具有广阔的前景。

参考文献

- 1 Chanway CP. Canadian Journal of Microbiology, 1995, 74: 321~322.
- 2 刘云霞. 植物保护, 1994, 20 (5): 30~32.
- 3 Kloepper JW, Beauchamp CJ. Canadian Journal of Microbiology, 1992, 38: 1219~1232.
- 4 Wilson D. Oikos, 1995, 73: 274~276.
- 5 Hallmann J, Quadt-Hallmann A. Canadian Journal of Microbiology, 1997, 43(10): 895~914.
- 6 冯永君, 宋未. 自然杂志, 2001, 5: 249~252.
- 7 Sturz AV, Christie BR, Nowak J. Critical Review in Plant Science, 2000, 19(1): 1~30.
- 8 M J Jeger, Biotic Interactions in Plant-Pathogen Associations. CABI, 2001, 87~119.
- 9 Tika B Adhikari, Joseph CM, et al. Canadian Journal of Microbiology, 2001, 47: 916~924.
- 10 Krechel A, Faupel A, Hallmann J, et al. Canadian Journal of Microbiology, 2002, 48: 772~786.
- 11 何红, 蔡学清, 等. 中国生物防治, 2002, 18 (4): 171~175.
- 12 Van Buren AM, Andren C, Ishimaru CA. Phytopathology, 1993, 83: 1406.
- 13 Assis SMP, da Silveira EB, de Mariano LR, et al. Summa Phytopathologica, 1998, 24: 216~220.
- 14 Chen C, Bauske EM, Musson G, et al. Biological Control, 1995, 5: 83~91.
- 15 Hallmann J, Quadt-Hallmann A, Rodríguez Kábana R, et al. Soil Biology and Biochemistry, 1998, 30: 925~937.
- 16 Hallmann J, Rodríguez Kábana R and Kloepper J W. Plant Growth-promoting Rhizobacteria: Present status and Future Prospects. Sapporo: Nakanishi Printing, 1997(c), 243~245.
- 17 Azevedo JL, Jr WM, Pereira JO, et al. Electronic Journal of Biotechnology, 2000, 3(1): 40~64.
- 18 Lampell JS, Canter GL, Dimock MB, et al. Applied and Environmental Microbiology, 1994, 60: 501~508.
- 19 徐静, 张青文, 等. 昆虫学报(增刊), 1998, 41(S1): 126~131.
- 20 Charles W Bacon, Ida E Yates, Dorothy M. Hinton, et al. Environmental Health Perspectives, 2001, 109(S2): 325~332.
- 21 Van Loon LC, Bakker PAHM, Pieterse CMJ. Annual Review of Phytopathology, 1998, 36: 453~483.

(下转第 22 页)

被裂解。在昆虫蜕皮时几丁质酶半衰期很短这可能有利于昆虫的存活,但是我们在转基因植物中则希望延长其半衰期,这可以通过对昆虫几丁质酶这一“PEST”片段进行缺失而降低对蛋白裂解酶的敏感性来实现。另外在转基因植物中表达的昆虫几丁质酶大多数被截短,这可能是由于外源几丁质酶对寄主体内的蛋白水解酶的敏感性而造成的,通过定点突变和缺失或功能区交换可能有助于提高几丁质酶在植物体内的活性和稳定性。

植物的抗性归因于编码一系列抗性因子的多类基因的共同作用,两个或者多个抗虫基因共同作用以增强抗虫效果,扩大抗虫谱以及避免昆虫很快产生抗性。因此,多基因的抗性体系是利用遗传转化技术培育抗虫农作物新品种的一个重要策略。

参考文献

- 1 Kramer KJ, Muthukrishnan S. *Insect Biochem Molec Biol*, 1997, 27 (11): 87~900.
- 2 Kenichi Mikitani, Toshiyuki Sugasaki, Toru Shimada, et al. *The Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275(48): 37725~37732.
- 3 Zhicheng Shen, Marcelo Jacobs-Lorena. *The Journal of Biological Chemistry*, 1997, 272(46): 28895~28900.
- 4 Anuradha Krishnan, Prakash NNair, Davy Jones. *The Journal of Biological Chemistry*, 1994, 269(33): 20971~20976.
- 5 Yasuyuki Arakane, Qingsong Zhu, Masahiro Matsumiya, et al. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2003, 33: 631~648.
- 6 Royer V, Fraichard S, Bouhin H. *Biochem J*, 2002, 366: 921~928.
- 7 Xin Huang, Hong Zhang, Kuo-Chen Zen. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2000, 30: 107~117.
- 8 Yimin Lu, Kuo-Chang Zen, Subbaratnam Muthukrishnan. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2002, 33: 1369~1382.
- 9 Hong Zhang, Xin Huang, Tamo Fukamizo. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2002, 32: 1477~1488.
- 10 Babiker MA, Abdel-Banat, Daizo Koga. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2001, 31: 497~508.
- 11 Karl J Kramer, Lolita corpus, Hee K Choi, et al. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 1993, 23(6): 691~701.
- 12 MG Kim, et al. K-S. Bae, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 1998, 28: 163~167.
- 13 Xiaohui Zhu, Hong Zhang, Tamo Fukamizo, et al. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2001, 31: 1221~1230.
- 14 Babiker MA, Abdel-Banat, Yuko Kameyama, Takanori Yoshioka, et al. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 1999, 29: 537~547.
- 15 Babiker MA, Abdel-Banat, Daizo Koga. *The Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(34), Issue of August 23: 30524~30534.
- 16 Hee Kyung Choi, Kyung Hyun Choi, Karl J Kramer, et al. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 1997, 27, (1): 37~47.
- 17 曾艳, 赵南明, 等. *生物工程进展*, 1997, 17: 31~34.
- 18 Matteo Iorito, Shenridan L Woo, Irene Garcia Fernandez, et al. *PNAS*, 1998, 95(14): 7860~7865.
- 19 刘伟华, 李文雄, 等. *西北植物学报*, 2003, 23(1): 54~59.
- 20 许明辉, 唐祥舜, 等. *遗传学报*, 2003, 30(4): 330~334.
- 21 许明辉, 李成云, 等. *中国水稻科学*, 2003, 17(4): 207~310.
- 22 冯道荣, 许新萍, 等. *作物学报*, 2001, 27(3): 293~300.
- 23 Wang X, Ding X, Gopalakrishnan B, et al. *Insect Biochem Mol Biol*, 1996, 26: 1055~1064.
- 24 Hilder VA, Boulter D. *Crop Prot*, 1999, 18: 177~191.
- 25 Avital Regev, Menachem Keller, Nicolai Strizhov, et al. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, 10: 3581~3586.
- 26 Xiongfei Ding, Bhuvana Gopalakrishnan, Lowell B. Johnson. *Transgenic Research*, 1998, 7: 77~84.
- 27 杨海莲, 孙晓璐, 等. *植物病理学报*, 2001, 31: 92~93.
- 28 Brooks DS, Gonzalez CF, Appel DN, et al. *Biological Control*, 1994, 4: 373~381.
- 29 Sayonara MPA, Rosa LRM, Sami J, et al. In *Advance in biological control of Plant Diseases (C)*. Beijing: China Agricultural University Pressing, 1996, 347~353.
- 30 Pratella GC, Mari M, Guizzardi M, et al. *Postharvest Biology and Technology*, 1993, 3: 361~368.

(上接第 12 页)

- 22 Chester KS. *Q Rev Bio*, 1933, 8: 275~324.
- 23 杨海莲, 孙晓璐, 等. *植物病理学报*, 2000, 30(2): 106~110.
- 24 Sturz AV, Matheson BG. *Plant and Soil*, 1996, 184: 265~271.
- 25 Smith JA, Méraux JP. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 1991, 39: 451~461.
- 26 孔庆科, 丁爱云. *山东农业大学学报(自然科学版)*, 2001, 32(2): 256~260.