转 Bt-cry1Ab 玉米花粉对异色瓢虫生长发育及体内 三种代谢酶活性的影响

张永军'孙 毅'袁海滨'3 吴孔明'* 彭于发'郭予元'

(1. 中国农业科学院植物保护研究所 植物病虫害生物学国家重点实验室 北京 100094; 2. 东北农业大学生命科学学院 哈尔滨 150030; 3. 吉林农业大学植物保护系 ,长春 130000)

摘要:用转 Bt-cry1Ab 基因玉米花粉饲喂异色瓢虫,初步研究了转基因玉米花粉对瓢虫的影响。结果显示,异色瓢虫取食混有适量蚜虫的转 Bt-cry1Ab 基因玉米花粉时与取食混有适量蚜虫的非转基因亲本玉米花粉时相比,各虫态发育历期没有显著差异 取食转 Bt-cry1Ab 基因玉米花粉对异色瓢虫的体重增加无明显影响。多数龄期内取食转基因玉米花粉的异色瓢虫体内的 α -乙酸萘酯酶活性、乙酰胆碱酯酶活性以及谷光甘肽-S-转移酶活性与对照组相比没有显著差异。用酶联免疫(ELISA)方法在取食转 Bt-cry1Ab 基因玉米花粉的瓢虫体内未检测到 Bt 杀虫蛋白。转 Bt-cry1Ab 玉米花粉对异色瓢虫生长发育没有显著负面影响,初步证明 Bt 玉米 MON810 花粉对异色瓢虫是安全的。

关键词:转 Bt-cry1Ab 基因玉米;花粉;异色瓢虫;生长发育;代谢解毒酶;酶活性中图分类号:Q968 文献标识码:A 文章编号:0454-6296(2005)06-0898-05

Effects of transgenic Bt- $cry\,1Ab$ corn pollen on the growth and development and the activity of three metabolic enzymes in $Harmonia\ axyridis$ (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae)

ZHANG Yong-Jun¹, SUN Yi², YUAN Hai-Bin¹³, WU Kong-Ming¹*, PENG Yu-Fa¹, GUO Yu-Yuan¹(1. State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094, China; 2. College of Life Science, Northeast Agricultural University, Haerbin 150030, China; 3. Department of Plant Protection, Jilin Agricultural University, Changchun 130000, China)

Abstract: In order to explore the effects of transgenic Bt-cry1Ab corn pollen on the multicolored Asian lady beetle (MALB), $Harmonia\ axyridis$ (Pallas), a series of experiments were conducted with a non-Bt isoline as the control in the laboratory. The H. axyridis beetles were fed with transgenic Bt-cry1Ab corn pollen mixed with a certain proportion of pea aphids $Acyrthosiphon\ pisum$ (Harris) in the laboratory, and changes in their developmental duration and body weight at different stages were observed. The activity changes of three metabolic enzymes (α -naphthylacetate esterase, acetylcholinesterase and glutathione-S-transferase) in H. axyridis reared on transgenic Bt-cry1Ab corn pollen were also determined. Moreover, we monitored the sediment of Bt-Cry1Ab toxin protein in the bodies of H. axyridis by ELISA method. The results indicated that there was no marked difference in the developmental duration at each stage between these beetles fed on transgenic Bt-cry1Ab corn pollen and those on non-Bt isoline corn pollen. The transgenic Bt-cry1Ab corn pollen also had no notable side effects on the body weight of H. axyridis at different stages. The activities of metabolic enzyme activities in H. axyridis fed on transgenic Bt-cry1Ab corn pollen changed slightly compared with the control, which had no visible effect on the growth of H. axyridis. The sediment of Bt-Cry1Ab toxin protein in the bodies of H. axyridis at different developmental stages was so scarce that it could not been detected by ELISA method. It was concluded that there was no significantly harmful effect of transgenic Bt-cry1Ab corn on the growth and development of the beetle.

基金项目:国家自然科学基金项目(30270902);国家重点基础研究发展规划项目(001CB109004)

作者简介:张永军,男、1970年生,博士,副研究员,研究方向为昆虫与植物的关系及转基因植物生物安全, E-mail: yjippc@yahoo.com.cn

^{*} 通讯作者 Author for correspondence, E-mail:wkm@caascose.net.cn

收稿日期 Received: 2005-03-03;接受日期 Accepted: 2005-09-14

Key words: Transgenic Bt-cry1Ab corn; pollen; *Harmonia axyridis*; growth and development; metabolic enzymes; enzyme activity

目前转基因抗虫玉米等作物已经进入了商业化 生产或田间释放阶段。这些转基因植物的种植在不 同程度上增强了作物对害虫的抗性,但同时可能带 来的生态安全和环境问题也引起了国际上广泛的关 注(Cowgill $et\ al.$, 2002;Baur and Boethel, 2003; Schuler et al., 2004)。其中有关转基因植物花粉对 害虫天敌潜在的影响是倍受瞩目的焦点之一(李文 东等,2003)。有报道指出转大豆胰蛋白酶抑制剂 (sovbean trypsin inhibitor, SBTI)基因植物对蜜蜂 Apis mellifera 生长发育有威胁(Henrik et al., 2003)。草 蛉 Chrysoperla carnea 捕食饲喂了 Bt 玉米的玉米螟 Ostrinia nubilalis 后死亡率比对照高(Hilbeck et al., 1998)。转 Bt 基因马铃薯田间的瓢虫 Adalia bipunctata 发育较对照受到负面影响,被认为与摄入 Bt 杀虫蛋白有关(Birch et al., 1999)。室内研究发 现家蚕 Bombyx mori 幼虫取食撒有 Bt 水稻花粉的桑 叶时体重增加受到不利影响 但对存活率无影响(王 忠华等,2001)。瓢虫等天敌在农田害虫治理中有 着重要的作用,并且具有摄食花粉习性(Wold and Burkness, 2001),在取食转基因玉米花粉时可能摄 入杀虫蛋白 从而影响其发育和存活。这种影响可 能打破农田系统中害虫与天敌之间的生态平衡,对 物种多样性造成长远的影响。鉴于此,我们开展了 转 Bt-cry1Ab 基因抗虫玉米花粉对异色瓢虫 Harmonia axyridis 生长发育及体内代谢酶影响等方 面的研究 以期对转基因玉米生物安全性的科学评 估提供理论依据,从而更好地发挥转基因抗虫作物 在害虫可持续治理中的优势。

1 材料与方法

1.1 供试玉米花粉

转 Bt-cry1Ab 抗虫玉米 MON810(简称 Bt 玉米)及其亲本 DK647(简称非 Bt 玉米)来自美国 Monsanto 远东有限公司 ,由本所玉米害虫研究组提供。玉米 种植于本所廊坊转基因生物安全试验基地。在扬花盛期的玉米雄穗上套袋 ,分别收集 Bt 玉米和非 Bt 玉米的花粉 ,迅速带回实验室转移至密封的塑料离心管中用液氮速冻 ,置于 -80%冰箱备用。

1.2 供试昆虫及饲养方法

异色瓢虫 H. axyridis 卵和豌豆蚜 Acyrthosiphon

pisum 由北京市农林科学院植保环保所提供。瓢虫卵放在透明塑料盒内 ,盒盖上有透气孔并置一块纱布保湿 ,置于光照培养箱(温度 26% ,RH 60% ~ 70% L:D=13:11)待孵化。豌豆蚜饲养在蚕豆苗上 ,并置于罩纱网笼($100~cm\times100~cm\times100~cm$)中。初孵的异色瓢虫幼虫单头转移至指形管($\Phi1.5~cm\times10~cm$)内在光照培养箱内饲养 ,指形管内事先放入清洁纸条和保湿的棉球 ,每天更换一次。幼虫每天饲喂蚜虫一次 ,加食量 100~mg ,并提供 1% 的蔗糖液。

1.3 转基因玉米花粉对异色瓢虫生长发育影响的 室内测定

每30头初孵瓢虫幼虫为一组,共8组。其中4组用Bt 玉米花粉与蚜虫按2:1(重量比)混合喂养,作为处理;4组用非Bt 玉米花粉与蚜虫按2:1混合喂养,作为对照。瓢虫幼虫在指形管中单头饲养,每天观察其生长发育情况,记录不同龄期瓢虫的发育历期,在幼虫至成虫前期每隔一天称重一次,并在成虫期(45天,从1龄起算)最后一次称重。

- 1.4 瓢虫体内代谢解毒酶和 Bt-Cry1Ab 毒蛋白含量的测定
- 1.4.1 酶提取液的制备:每 30 头初孵瓢虫幼虫为一组,共 12 组。其中 6 组用 Bt 玉米花粉与蚜虫按 2:1(重量比)混合喂养,作为处理 p 组用非 p 玉米花粉与蚜虫按 2:1 混合喂养,作为对照。分别取瓢虫 2 龄、3 龄、4 龄、蛹、成虫(40 天,从 1 龄起算)和成虫(50 天,从 1 龄起算)的虫体各 p 10 头,放入玻璃匀浆器中,加入 1 mL pH 8.0 的 0.1 mol/L 磷酸缓冲液(含0.1% Triton X-100),在冰浴上匀浆。匀浆液在 p 2 处理重复 3 次。
- 1.4.2 代谢解毒酶活性的测定: α -乙酸萘酯酶活性测定参照 Van Asperer(1962)的方法。乙酰胆碱酯酶活性测定参照 Ellmar(1961)的方法。谷胱甘肽-S-转移酶活性测定参照 Booth(1961)的方法。
- 1.4.3 瓢虫体内 Bt-Cry1Ab 毒蛋白含量的检测:参照张永军等(2001)的方法,采用美国 AGDIA 公司 Bt-Cry1Ab ELISA 检测试剂盒检测。分别取处理的 2 龄、3 龄、4 龄、蛹、成虫(40 天,从1龄起算)成虫(50 天,从1龄起算)成虫的虫体各 5 头放入经灭菌并预冷的 2 mL 玻璃匀浆器中,加入 0.8 mL 提取液,冰浴

上研磨成匀浆,匀浆液在 4%冰箱中振荡过夜后 4%、 $8000\times g$ 离心 10 min。按照试剂盒操作说明,取匀浆上清液 $100~\mu$ L 加入已用单克隆一抗包被的酶标板孔内(重复 $3~\chi$),在同一酶标板上其他两行孔中加不同梯度的 Bt 标准杀虫蛋白作标准曲线,然后每孔加入 $100~\mu$ L 过氧化氢酶偶联的二抗溶液,完成后置 4%冰箱过夜。用磷酸缓冲液洗板 $6~\chi$ 。拍除余液后每孔加 $200~\mu$ L TMB 底物,于 25%恒温箱黑暗孵育 $30~\min$ 后显色。在 BIO-RAD 680~ 酶标仪 650~ nm 处测定各个点样孔吸光值。另参照 Bradford (1976)的方法测定样品提取液中总可溶性蛋白含量。整理测定结果,依据标准曲线,确定瓢虫体内Bt 杀虫蛋白占总可溶性蛋白的比例。

1.5 数据处理

本试验数据均采用 SAS 9.0 中文版软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 瓢虫取食 Bt 玉米花粉和非 Bt 玉米花粉的生长发育情况

表 1 中数据显示取食转 Bt 玉米花粉和取食非 Bt 玉米花粉的异色瓢虫的各龄幼虫、蛹和成虫发育 历期均没有显著差异。

表 1 瓢虫取食 Bt 玉米花粉(处理组)和非 Bt 玉米花粉(对照组)后的发育历期

Table 1 Developmental duration for *Harmonia axyridis* fed on pollen of transgenic Bt corn (treatment groups) and non-Bt isoline (control groups)

| 虫期 Stage | 发育历期 Developmental duration(d) | | |
|----------------|--------------------------------|-------------------------|--|
| | 处理组 Treatment groups | 对照组 Control groups | |
| 1 龄 1st instar | 2.3 ± 0.1 a | 2.1 ± 0.1 a | |
| 2 崎 2nd instar | $1.8 \pm 0.1 \text{ a}$ | 1.6 ± 0.1 a | |
| 3 齿 3rd instar | 2.1 ± 0.1 a | 2.0 ± 0.1 a | |
| 4 齿 4th instar | 4.1 ± 0.1 a | 4.4 ± 0.1 a | |
| 合计 Total | 10.3 ± 0.2 a | 10.1 ± 0.1 a | |
| 蛹 Pupa | $5.0 \pm 0.0 \text{ a}$ | $5.0 \pm 0.0 \text{ a}$ | |
| 成虫寿命 Adult | 48.4 ± 5.4 a | 49.7 ± 4.3 a | |

表中数据为平均值 \pm 标准误,同行数据后有相同字母表示差异不显著(P>0.05,新复极差法)。下同。The data in the table are mean \pm SE, and those in the same row followed by the same letter show no significant difference at P>0.05 by Duncan's multiple range test. The same below.

从表 2 可以看出 在 2 个取样时期 即 3 日龄和 11 日龄)取食 Bt 玉米花粉的异色瓢虫体重显著高于取食非 Bt 玉米花粉的瓢虫的体重(P < 0.05),其余大部分时期取食 Bt 玉米花粉的异色瓢虫体重与取

表 2 瓢虫取食 Bt 玉米花粉(处理组)和非 Bt 玉米花粉(对照组)后的体重变化

Table 2 Body weight of *H*. axyridis fed on pollen of transgenic Bt corn (treatment groups) and non-Bt isoline (control groups)

| | • | • • | | | |
|--------|---------------------------------|----------------------------|--|--|--|
| 日龄 | 平均体重 Average body weight (mg) | | | | |
| Age(d) | 处理组 Treatment groups | 对照组 Control groups | | | |
| 1 | 0.33 ± 0.02 a | 0.27 ± 0.01 a | | | |
| 3 | 1.25 ± 0.00 a | $0.98 \pm 0.10 \text{ b}$ | | | |
| 5 | 5.80 ± 0.50 a | 4.51 ± 0.40 a | | | |
| 7 | 13.38 ± 0.80 a | 11.45 ± 0.90 a | | | |
| 9 | 28.00 ± 0.80 a | 26.48 ± 1.50 a | | | |
| 11 | 29.22 ± 0.50 a | $26.49 \pm 0.70 \text{ b}$ | | | |
| 13 | 28.17 ± 0.40 a | 26.66 ± 0.70 a | | | |
| 15 | 28.40 ± 0.80 a | 28.00 ± 0.90 a | | | |
| 17 | 27.98 ± 0.70 a | 26.81 ± 0.90 a | | | |
| 19 | 29.40 ± 0.60 a | 28.23 ± 0.80 a | | | |
| 21 | 30.09 ± 0.50 a | 28.48 ± 2.80 a | | | |
| 23 | 32.49 ± 1.00 a | 31.33 ± 1.10 a | | | |
| 25 | 31.91 ± 0.60 a | 31.22 ± 1.00 a | | | |
| 27 | 31.63 ± 0.90 a | 31.94 ± 1.00 a | | | |
| 29 | 31.88 ± 0.60 a | 31.01 ± 1.80 a | | | |
| 45 | 32.65 ± 1.00 a | 31.09 ± 1.40 a | | | |
| | | | | | |

食非 Bt 玉米花粉的无显著差别。

2.2 瓢虫取食 Bt 玉米花粉和非 Bt 玉米花粉时体 内主要代谢解毒酶的变化

表 3 结果显示 \mathbb{R} 取食 \mathbb{R} 玉米花粉的异色瓢虫 \mathbb{R} 乙酸奈酯酶活性在 2 龄期较取食非 \mathbb{R} 米花粉的异色瓢虫显著降低 ,在 3 龄期显著升高 ,在 4 龄期、蛹期、成虫期(\mathbb{R} 40、50 天)较对照均无显著变化。取食 \mathbb{R} 玉米花粉的异色瓢虫乙酰胆碱酯酶活性在 2 龄期较取食非 \mathbb{R} 玉米花粉的显著降低 ,而在 4 龄期显著升高 ,其他发育时期无明显变化。取食 \mathbb{R} 玉米花粉的异色瓢虫体内谷胱甘肽-S-转移酶活性在各个发育时期与对照均没有显著差异。

2.3 瓢虫体内 Bt-Cry1Ab 毒蛋白含量的检测

在所测定的样品中 转 Bt-cry1Ab 玉米花粉处理的 2 龄、3 龄、4 龄、蛹、成虫(40、50 天)体内均检测不到 Bt-Cry1Ab 杀虫蛋白(数据未列出)。

3 讨论

取食 Bt 玉米花粉的异色瓢虫与取食非 Bt 玉米花粉的异色瓢虫相比 ,各龄期历期均没有显著差异 ,初步说明转 Bt-cry1Ab 玉米花粉对异色瓢虫的发育历期无明显负面影响。

在 3 日龄和 11 日龄, 取食 Bt 玉米花粉的异色

表 3 瓢虫取食 Bt 玉米花粉(处理组)和非 Bt 玉米花粉(对照组)的主要代谢解毒酶活性比较

Table 3 The activity of metabolic enzymes in *H*. *axyridis* reared on pollen of transgenic Bt corn (treatment groups) and non-Bt isoline (control groups)

| | 酶活性 Enzyme activity(mmol·L ⁻¹ ·mg ⁻¹ ·min ⁻¹) | | | | | | | |
|----------------|--|-------------------|--------------------------------|----------------------------|---|-------------------|-------------------------|-----------------------|
| 龄期 Stage | α-乙酸奈酯酶 α-naphthylacetate esterase | | 乙酰胆碱酯酶 Acetylcholinesterase | | 谷胱甘肽-S-转移酶 Glutathione-S-transferase | | | |
| | | | | | | | 处理组 Treatment groups | 对照组 Control groups |
| | 2 齿 2nd instar | 0.06 ± 0.01 a | $0.08 \pm 0.00~\mathrm{b}$ | 0.26 ± 0.00 a | $0.27\pm0.00~\mathrm{b}$ | 0.00 ± 0.00 a | | |
| | 3 齿 3rd instar | 0.07 ± 0.01 a | $0.06 \pm 0.01 \text{ b}$ | 0.51 ± 0.00 a | 0.50 ± 0.02 a | 0.01 ± 0.00 a | 0.01 ± 0.00 a | |
| 4 齿 4th instar | 0.06 ± 0.01 a | 0.06 ± 0.00 a | 0.52 ± 0.02 a | $0.47 \pm 0.00~\mathrm{b}$ | 0.01 ± 0.00 a | 0.01 ± 0.00 a | | |
| 蛹 Pupa | 0.06 ± 0.00 a | 0.06 ± 0.01 a | 0.53 ± 0.01 a | 0.51 ± 0.01 a | 0.01 ± 0.00 a | 0.01 ± 0.00 a | | |
| 成虫 Adult(40 d) | 0.06 ± 0.00 a | 0.06 ± 0.00 a | 0.59 ± 0.01 a | 0.59 ± 0.01 a | 0.01 ± 0.00 a | 0.01 ± 0.00 a | | |
| 成虫 Adult(50 d) | 0.07 ± 0.01 a | 0.07 ± 0.00 a | 0.64 ± 0.02 a | 0.64 ± 0.00 a | 0.01 ± 0.00 a | 0.01 ± 0.00 a | | |

仅在同一种酶处理组和对照组之间进行差异显著性检验。

The difference between the treatment and control groups is tested only within an enzyme.

瓢虫的体重显著高于取食非 Bt 玉米花粉的瓢虫对应体重。Bt 玉米花粉是否有利于这两个时期的异色瓢虫体重增重($Sayyed\ et\ al\ .\ ,2003\)$ 有待进一步开展研究。总体上取食 Bt 玉米花粉的异色瓢虫体重与取食非 Bt 玉米花粉的没有显著差别,说明转 Bt-cry1Ab 玉米花粉对异色瓢虫的体重增重基本没有明显影响。

取食 Bt 玉米花粉的异色瓢虫的 α -乙酸奈酯酶活性在 2 龄期比取食非 Bt 玉米花粉的显著降低 ,在 3 龄期显著升高 ,而在 4 龄期、蛹期、成虫期(40、50 天)无显著变化。取食 Bt 玉米花粉的异色瓢虫乙酰胆碱酯酶活性在 2 龄期较取食非 Bt 玉米花粉的异色瓢虫乙酰胆碱酯酶活性在 2 龄期较取食非 Bt 玉米花粉的异色瓢虫显著降低 ,而在 4 龄期显著升高 ,其他发育时期无显著变化。另外 ,取食 Bt 玉米花粉的异色瓢虫体内谷胱甘肽-S-转移酶活性在各个发育时期与对照均没有显著差异。在特定发育时期 ,Bt 玉米花粉对异色瓢虫体内的某种代谢解毒酶活性有一定的影响 ,说明瓢虫体内代谢解毒酶系统与 Bt 杀虫蛋白相互作用的过程中 ,可以引起代谢酶活性的变化 ,但以上 3 种代谢酶活性的变化还不足以显著影响瓢虫的生长发育。

取食 Bt 玉米的花粉可能干扰瓢虫的代谢系统,但我们在对取食 Bt 玉米花粉的异色瓢虫的不同发育时期进行 ELISA 监测时,并没有在这些瓢虫体内检测到 Bt 杀虫蛋白,可能 Bt 杀虫蛋白在瓢虫体内已经被完全代谢降解,或者瓢虫体内 Bt 杀虫蛋白含量很低超出本试剂盒检测极限,需要采用更为灵敏的检测手段。

综上所述 转 Bt-cry1Ab 玉米花粉对异色瓢虫生长发育没有显著负面影响,初步证明 Bt 玉米 MON810 花粉对异色瓢虫是安全的。

致谢 中国农业科学院植物保护研究所玉米害虫研究组王振营研究员提供玉米花粉,北京农林科学院植保环保所张帆研究员课题组提供异色瓢虫和豌豆蚜,谨致谢忱。

参考文献 (References)

Baur ME, Boethel DJ, 2003. Effect of Bt-cotton expressing Cry1 A(c) on the survival and fecundity of two Hymenopteran parasitoids (Braconidae, Encyrtidae) in the laboratory. Biological Control, 26:325-332.

Birch ANE, Geoghegan IE, Majerus MEN, McNicol JW, Hackett C, Gatehouse, AMR, Gatehouse JA, 1999. Tri-trophic interactions involving pest aphids, predatory 2-spot ladybirds and transgenic potatoes expressing snowdrop lectin for aphid resistance. *Molecular Breeding*, 5: 75–83.

Booth JE , 1961. An enzyme from rat liver catalyzing conjugation with glutathione. Biochem. J. , 79:516-524.

Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein unitizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.*, 72:248-254.

Cowgill SE, Wright C, Atkinson HJ, 2002. Transgenic potatoes with enhanced levels of nematode resistance do not have altered susceptibility to non-target aphids. *Molecular Ecology*, 11:821-827.

Ellman GL, 1961. A new and rapid colormetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem. Pharmacol., 7:88-94.

Henrik FB , Camilla JB , Henrik H , Gábor LL , Burgess E , 2003.

Environmental risk assessment of transgene products using honey bee (*Apis mellifera*) larvae. *Apidologie* , 34:139 – 145.

Hilbeck A , Baumgartner M , Fried PM , 1998. Effects of transgenic Bacillus thuringiensis corn-fed prey on mortality and development time of immature Chrysoperla carnea (Neutroptera: Chtysopidae). Environ . Entomol. , 27:480 – 487.

Li WD, Wu KM, Wang XQ, Guo YY, 2003. Evaluation of impact of pollen grains of Cry1Ac and Cry1A + CpTI transgenic cotton on the growth and development of Chinese tussah silkworm (Antheraea pernyi).

Journal of Agricultural Biotechnology, 11(5):488 – 493. [李文东, 吴孔明, 王小奇 郭予元 2003. 转 cry1Ac 和 cry1A + CpTI 基因棉

- 花花粉对柞蚕生长发育影响的评价.农业生物技术学报,11(5):488-493]
- Sayyed AH , Cerda H , Wright DJ , 2003. Could Bt transgenic crops have nutritionally favourable effects on resistant insects ? $Ecology\ Letters$, 6: 167-169.
- Schuler TH, Denholm I, Clark SJ, Stewart CN, Poppy GM, 2004. Effects of Bt plants on the development and survival of the parasitoid *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae) in susceptible and Bt-resistant larvae of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Insect Physiology*, 50:435-443.
- Van Asperen KA, 1962. Study of housefly esterase by means of a sensitive colormetric method. J. Insect Physiology, 8:401 406.
- Wang ZH, Ni XQ, Xu MK, Shu QY, Xia YW, 2001. The effect on the development of silkworm larvae of transgenic rice pollen with a synthetic cry1Ab gene from $Bacillus\ thuringiensis$. Hereditas (Beijing), 23(5):

- 463 466. [王忠华, 倪新强, 徐孟奎, 舒庆尧, 夏英武, 2001. Bt 水稻 克螟稻 "花粉对家蚕生长发育的影响. 遗传, 23(5): 463 466]
- Wold SJ, Burkness EC, Hutchinson WD, Venette RC, 2001. In-field monitoring of beneficial insect populations in transgenic corn expressing a Bacillus thuringensis toxin. Journal of Entomological Science, 36: 177 – 187.
- Zhang YJ, Wu KM, Guo YY, 2001. On the spatio-temporal expression of the contents of Bt insecticidal protein and the resistance of Bt transgenic cotton to cotton bollworm. *Acta Phytophylacica Sinica*, 28(1):1-6. [张永军 吴孔明 郭予元, 2001. 转 Bt 基因棉花杀虫蛋白含量的时空表达及对棉铃虫的毒杀效果. 植物保护学报, 28(1):1-6]

(责任编辑:袁德成)