

转双价基因 (Bt + *CpTI*) 棉对棉铃虫中肠 羧酸酯酶活性的诱导作用*

李秀霞 范银君 亓永凤 宋敦伦 高希武 史雪岩**

(中国农业大学农学与生物技术学院 北京 100193)

摘要 为了明确棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner) 取食转双价基因 (Bt + *CpTI*) 棉叶以及取食一段时间转基因棉叶后,再取食常规棉叶,对棉铃虫取食量、体重增长量及中肠羧酸酯酶活性的影响,本研究分别用转双价基因棉叶和常规棉叶饲喂 4 龄棉铃虫幼虫 5 d,比较考察了棉铃虫的取食量、体重增长量及中肠羧酸酯酶的活性;另外分别考察了棉铃虫取食转基因棉叶 1 d 及 3 d 后再取食常规棉叶,其中肠羧酸酯酶的变化。结果表明,持续取食常规棉花叶片 5 d 的棉铃虫,其中肠羧酸酯酶的活性持续升高;而持续取食转基因棉叶 5 d 的棉铃虫,其中肠羧酸酯酶的活性先升高后降低。取食转基因棉花叶片 1 d 后,取食常规棉叶的棉铃虫,其中肠羧酸酯酶的活性,随着换取常规棉叶时间的延长,活性逐渐降低;而棉铃虫在取食 3 d 转基因棉叶后再取食常规棉叶,其中肠羧酸酯酶活性却一直保持较高。可见,棉铃虫在取食转基因棉花后,其羧酸酯酶活性可以被诱导,这应与棉铃虫对转基因棉的抗性及其防御性有一定关系。

关键词 棉铃虫, 羧酸酯酶, 转基因棉花

Effects of transgenic *Cry1Ac* + *CpTI* cotton on carboxylesterase activity in *Helicoverpa armigera*

LI Xiu-Xia FAN Yin-Jun QI Yong-Feng SONG Dun-Lun GAO Xi-Wu SHI Xue-Yan**

(College of Agriculture and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract In order to clarify changes in the carboxylesterase (CarEs) activity of *Helicoverpa armigera* (Hübner) feeding on transgenic cotton, and the recovery of carboxylesterase activity in *H. armigera* that fed on non-transgenic cotton after feeding on transgenic cotton for 1 to 3 days, transgenic and non transgenic cotton leaves were fed to some fourth-instar *H. armigera* larva for 5 days, after which some were fed with non-transgenic cotton leaves for a few days after feeding on transgenic cotton leaves for 1 day or 3 days. Midgut CarEs activity was examined every 24 hours. The results show that CarEs activity in *H. armigera* fed on non-transgenic cotton leaves increased over time, whereas that of *H. armigera* fed on transgenic cotton leaves first increased then decreased. The enzyme activity of cotton bollworms fed on non-transgenic cotton leaves after feeding on transgenic cotton leaves for one day decreased gradually over time, whereas that of those fed on non-transgenic cotton leaves after feeding on transgenic cotton leaves for three days remained higher than the control. These results indicate that CarEs activity in *H. armigera* can be induced by feeding on transgenic cotton leaves and that this plays a role in the resistance of *H. armigera* to the *Cry1Ac* toxin.

Key words cotton bollworm, CarE, transgenic cotton

棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner) 是一种很重要的农业害虫,为害棉花、玉米、小麦等多种主要农作物。为了控制棉铃虫的危害,全球广泛

种植转基因棉花。由于转 Bt 基因棉的毒素能在棉株体内持续表达,使得棉铃虫在棉花的整个生长期都受到了 Bt 毒蛋白的高压选择,随着转 Bt 棉

* 资助项目:转基因生物新品种培育重大专项(2008ZX08012-04)、农业部行业专项农药高效安全科学施用技术(200903033-02)。

** 通讯作者, E-mail: shixueyan@cau.edu.cn

收稿日期:2011-02-20, 接受日期:2011-03-02

种植面积的快速增长,棉铃虫对转 Bt 基因棉花产生了一定的抗性(梁革梅等,2000; Meng *et al.*, 2004)。昆虫对 Bt 毒素产生抗性的机理尚不明确,目前主要报道了 2 种机制与昆虫对 Bt 毒素抗性产生有关。一种机制是昆虫中肠蛋白酶的改变导致了昆虫对 Bt 毒素的抗性,这包括昆虫中肠蛋白酶对原毒素的活化活性降低(Oppert *et al.*, 1996, 1997)和对毒素的降解作用上升(梁革梅等,2001);另一种机制是昆虫中肠 Bt 毒素受体的改变导致了抗性的产生,包括受体发生突变而导致的亲和力下降(苏建亚等,2004)和中肠受体位点浓度降低(Wang *et al.*, 2003)。Gunning 等(2005)在澳大利亚棉铃虫抗 Bt 品系中发现了一种新的抗性机制,即抗性品系棉铃虫的酯酶能够和 CryI_{Ac} 原毒素蛋白以及活化毒蛋白结合,使得抗性品系棉铃虫由于其酯酶能贮存较多 CryI_{Ac}, 而导致毒蛋白不能发挥毒性。

为防止棉铃虫对转基因棉花抗性的快速产生,“高剂量/庇护所”是当前世界上广为接受的抗性治理策略(Shehon *et al.*, 2002)。在我国虽然没有要求种植常规棉花作为庇护所,但玉米、花生、大豆等多种作物均可以作为棉铃虫的天然庇护所。因此,棉铃虫在取食转基因棉花一段时间后,有可能取食非转基因植物。

羧酸酯酶作为一种重要的解毒代谢酶,在昆虫对外源化合物的解毒代谢和对杀虫剂的抗性机制中起着重要作用。目前,虽有一些研究考察了昆虫羧酸酯酶活性与取食转基因棉叶的关系,但是所报道的结果有较大不同。梁革梅等(2001)研究发现棉铃虫 Bt 抗性品系的 α -乙酸萘酯酶活性比敏感品系的活性显著高。而杨进等(2008)研究发现,斜纹夜蛾取食转基因棉花叶片后,其体内 α -NA 羧酸酯酶活性与取食非转基因棉花的斜纹夜蛾羧酸酯酶活性没有显著性差异。

目前,对于取食一段时间转基因棉叶后,再取食非转基因植物,棉铃虫中肠羧酸酯酶活性变化趋势,几乎没有研究报道。研究棉铃虫取食转基因棉花后其羧酸酯酶活性的变化,能够为明确羧酸酯酶在棉铃虫对 Bt 毒素的抗性发展中的作用提供依据。因此,本研究在转双价基因(Bt + *CpII*)棉叶饲喂 4 龄棉铃虫幼虫 5 d 的过程中,考察了棉铃虫中肠羧酸酯酶活性的变化。并考察了棉铃虫取食一段时间转双价基因棉后,再取食常

规棉叶,棉铃虫中肠羧酸酯酶活性的变化。

1 材料与方法

1.1 材料

棉铃虫于 1998 年采自河北邯郸,于室内用人工饲料饲养至今,不接触任何药剂。饲养温度:(26 ± 1) $^{\circ}\text{C}$,光周期为 L:D = 16:8,相对湿度为 70% ~ 80%。供试棉花转双价基因棉花品种 SGK321 及其亲本棉石远 321 均由中国农业科学院植物保护研究所提供。棉种催芽后播种在直径 25 cm 花盆中。试验所用材料为六叶期的棉花叶片。考马斯亮蓝 G-250、固蓝 B 盐(fast blue B salt)、十二烷基硫酸钠(SDS)和毒扁豆碱(*serine*)均为美国 Sigma 公司产品;牛血清白蛋白(BSA)为北京同正生物公司产品, α -乙酸萘酯(α -NA)等其余分析纯试剂均为北京化学试剂公司产品。

1.2 实验方法

1.2.1 棉铃虫处理 实验在室内平均温度(26 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 70% ~ 80% 条件下进行。分别采摘石远 321 和 SGK321 的六叶期植株叶片带回室内,叶柄以湿棉花球包裹,置于直径 15 cm 的培养皿中。将 4 龄棉铃虫幼虫饥饿 4 h 之后,放入已装棉叶的培养皿中。一部分棉铃虫用转双价基因棉花 SGK321 的叶片喂食,持续 5 d;另一部分棉铃虫幼虫用常规棉花叶片持续喂食 5 d。在 5 d 的取食过程中,每隔 24 h,分别取各处理棉铃虫 15 头,5 头虫 1 个重复,分为 3 个重复,解剖获得中肠用于羧酸酯酶活性的测定。

1.2.2 棉铃虫取食量和体重的测定 针对取食不同棉叶的棉铃虫,考察了棉铃虫的取食量及相应的体重增长。首先将采回来的棉叶准确称重,将饥饿 4 h 的棉铃虫接到各棉叶上,分别于棉铃虫取食 24、48、72、96 和 120 h 后再次对棉叶称重,考察棉铃虫的取食量,并设置 5 个重复的对照不放入棉铃虫,用以消除由于自然风干失水造成的棉叶重量损失量。另外在棉铃虫取食 5 d 后,将各处理的棉铃虫分别取 5 头,饥饿 4 h 后,准确称重,以考察棉铃虫的体重增长。

1.2.3 酶液提取 将棉铃虫幼虫解剖,取中肠,5 头棉铃虫作为 1 个处理,共设 3 个重复。将解剖获得的棉铃虫中肠置于玻璃匀浆器中,加入 1 mL 磷酸缓冲液(0.04 mol/L pH 7.0),冰浴下匀浆。

匀浆液在 4℃ 下以 10 800 r/min 的速度离心 15 min 后,取上清液用脱脂棉过滤后作为原酶液,用于羧酸酯酶活性测定。

1.2.4 羧酸酯酶活性测定 羧酸酯酶活性的测定参照 Van 和 Sporn (1962) 的方法,略有改动。在每个试管中依次加入 0.45 mL 磷酸缓冲液(0.04 mol/L, pH 7.0)、1.8 mL 3×10^{-4} mol/L 的 α -NA 溶液(含有 3×10^{-4} mol/L 毒扁豆碱)、50 μ L 稀释后的酶液。混匀后于 30℃ 恒温水浴中反应 15 min,然后加入 0.9 mL 显色液(1% 固蓝 B 盐溶液:5% SDS 溶液 = 2:5, 现用现配),摇匀后静置 5 min,于 600 nm 下比色测定,对照试管在显色终止反应后补加酶液 50 μ L。

1.2.5 蛋白质含量测定 羧酸酯酶蛋白含量测定参考 Bradford (1976) 的方法。取 0.5 mL 稀释的酶液,加入 2.5 mL 考马斯亮蓝,加入 0.5 mL 磷酸缓冲液(0.04 mol/L pH 7.0)作为空白对照,在紫外分光光度计下测定 595 nm 波长下的吸光值,重复 3 次,根据 BSA 蛋白标准曲线计算羧酸酯酶蛋白含量值。

1.3 数据统计方法

计算所得数据值用 GraphPad InStat 3.00 数据处理软件进行 ANOVA 分析。

2 结果与分析

2.1 不同棉叶处理的棉铃虫取食量的差异

针对棉铃虫持续取食常规棉、持续取食转基因棉,以及取食 1 d 或 3 d 转基因棉后,再取食常规棉这 4 种处理,比较 5 d 内棉铃虫取食量的差异。结果如下:

图 1 的结果表明,不同棉叶饲喂棉铃虫 5 d,棉铃虫对常规棉叶的取食量最大,极显著的大于棉铃虫对转基因棉叶片的取食量;并且取食 1 d 或 3 d 转基因棉叶后,再取食常规棉叶的棉铃虫,其取食量也显著低于持续取食常规棉叶的棉铃虫的取食量。

从图 1 还可以看出,取食一段时间转基因棉叶片后,再取食常规棉叶片的棉铃虫,其取食量相对于持续取食转基因棉的棉铃虫有所增加;并且取食 1 d 转基因棉叶后,换做取食常规棉叶 4 d 的棉铃虫,其取食量比取食 3 d 转基因棉叶后,换做取食常规棉叶 2 d 的棉铃虫的取食量要大。说明

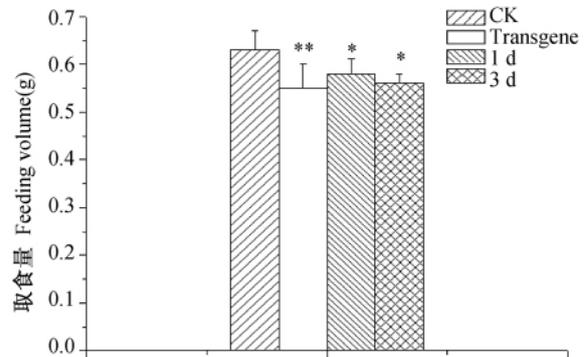


图 1 取食不同食物对棉铃虫取食量的影响

Fig. 1 The comparison of feeding volume of the *Helicoverpa armigera* larvae fed on different cotton leaves

注:* 表示方差分析的差异显著($P < 0.05$); **表示方差分析的差异极显著($P < 0.01$)。CK 表示持续取食常规棉 5 d 的棉铃虫, transgene 表示持续取食转基因棉 5 d 的棉铃虫, 1 d 和 3 d 分别表示取食 1 d 和 3 d 转基因棉花后再取食常规棉 4 d 和 2 d 的棉铃虫。下图同。

Histograms with * or ** mean significantly or extremely significantly differences at 0.05 or 0.01 level respectively. CK means the *H. armigera* larvae were fed on common cotton leaves for five days. Transgene means the *H. armigera* larvae were fed on transgenic cotton leaves for five days. 1 d and 3 d mean that *H. armigera* larvae were fed on common cotton leaves for 4 days and 2 days respectively after feeding on transgenic cotton leaves for 1 day and 3 days. The same below.

转基因棉明显影响了棉铃虫幼虫的取食,对棉铃虫幼虫有一定的拒食作用。并且当取食一段时间转基因棉叶后,再重新取食常规棉叶,棉铃虫的取食量又有所增加,但依然显著低于持续取食常规棉的棉铃虫的取食量。

2.2 不同棉叶处理的棉铃虫体重增长的差异

选取大小一致的棉铃虫幼虫饥饿 4 h 后,按照持续取食常规棉、持续取食转基因棉 5 d,以及取食 1 d 和 3 d 转基因棉后,再分别取食 4 d 和 2 d 常规棉这 4 种饲喂方式喂食棉铃虫 5 d,饥饿 4 h 后称其体重,比较不同棉叶处理的棉铃虫体重增长的差异,结果如图 2 所示。

由图 2 可以看出,大小一致的棉铃虫在取食不同棉叶 5 d 后,其体重增长具有显著的差异。持

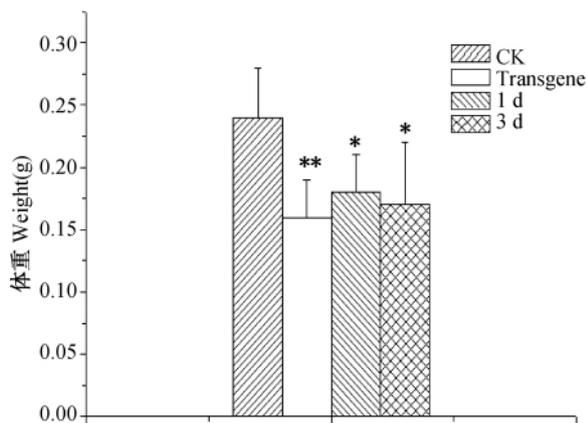


图2 取食不同食物对棉铃虫体重的影响
Fig. 2 The comparison of body weight increases of the cotton bollworm larvae fed on different cotton leaves

续取食常规棉叶的棉铃虫,其体重增长最大,极显著的大于持续取食转基因棉叶片的棉铃虫体重增长;并且取食1 d或3 d转基因棉叶后,再取食

常规棉叶的棉铃虫,其体重增长也显著低于持续取食常规棉叶的棉铃虫。

结果还表明,取食一段时间转基因棉叶片后,再取食常规棉叶片的棉铃虫,其体重增长相对于持续取食转基因棉的棉铃虫有所增加;并且取食1 d转基因棉叶后换取食常规棉叶4 d的棉铃虫,其体重增长也大于取食3 d转基因棉叶后再换做取食常规棉叶2 d的棉铃虫的体重增长。

这说明取食转基因棉影响了棉铃虫幼虫的生长发育,虽然取食一段时间转基因棉叶后,重新取食常规棉叶,棉铃虫的体重增长又有所加快,但依然要显著低于一直取食常规棉的棉铃虫。

2.3 不同棉叶处理的棉铃虫 α -NA 活性的差异比较

对于持续取食常规棉叶和转基因棉叶的棉铃虫,在5 d内,分别测定了其每隔24 h的中肠羧酸酯酶的活性;而对于取食1 d或3 d转基因棉叶后,换做取食常规棉叶的棉铃虫,分别于换做常规棉叶后1、2、3、4及(或)5 d,测定了其换食物后每隔24 h的中肠羧酸酯酶活性,结果见表1。

表1 取食不同食物的棉铃虫幼虫中肠羧酸酯酶活性

Table 1 The carboxylesterase activity in the mid-gut of *Helicoverpa armigera* larvae after feeding on different cotton leaves

	羧酶酯酶活性 Carboxylesterase activity (mmol/mg·protein)						
	取食时间 Feeding time						
	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
常规棉 Common cotton	1.83 ± 0.31	2.20 ± 0.13	2.74 ± 0.50	2.80 ± 0.35	3.37 ± 0.67	—	—
转基因棉 Transgenic cotton	2.01 ± 0.31	2.50 ± 0.12*	2.95 ± 0.55	3.82 ± 0.06**	2.42 ± 0.24	—	—
1 d 转基因棉 1 day Bt cotton	—	2.30 ± 0.38	3.59 ± 0.60	3.50 ± 0.45	3.31 ± 0.61	2.77 ± 0.23	—
3 d 转基因棉 3 day Bt cotton	—	—	—	4.14 ± 0.16**	2.74 ± 0.18	4.10 ± 0.75*	4.73 ± 0.30

注:表中数字为平均值 ± SD,数据后标有* 表示方差分析的差异显著 ($P < 0.05$); **表示方差分析的差异极显著 ($P < 0.01$);—表示对应时间的羧酸酯酶的酶比活力未进行测定。

Data are mean ± SD, and followed with * or ** mean significantly or extremely significantly different at 0.05 or 0.01 level respectively. — means that the activities of CarEs were not assayed.

棉铃虫持续取食常规棉叶5 d,在5 d内,其中肠羧酸酯酶的活性出现了随着取食时间的加长而增加的变化趋势;而持续取食转基因棉叶5 d的棉铃虫,随着取食时间的加长,棉铃虫中肠羧酸酯酶的活性出现了先升高后降低的变化趋势。并且在

取食转基因棉叶第2天时,棉铃虫中肠羧酸酯酶的活性显著高于相应取食常规棉的棉铃虫的羧酸酯酶活性;至取食第4天时,取食转基因棉的棉铃虫中肠羧酸酯酶的活性极显著高于取食常规棉的棉铃虫。

取食 1 d 转基因棉叶后再取食常规棉叶 5 d 的棉铃虫,其中肠羧酸酯酶的活性出现了先升高后降低的变化趋势,其中棉铃虫在取食转基因棉 1 d 后再取食常规棉第 4 天时,棉铃虫中肠羧酸酯酶的活性基本与持续取食常规棉第 5 天时的棉铃虫的中肠羧酸酯酶活性一致。而取食 3 d 转基因棉后,再取食常规棉 1 d 时的棉铃虫,其中肠羧酸酯酶的活性极显著的高于持续取食常规棉第 4 天时的棉铃虫中肠羧酸酯酶的活性;而且取食转基因棉 3 d 后再换食常规棉第 3 天时,棉铃虫羧酸酯酶活性显著高于取食 1 d 转基因棉后再取食常规棉 5 d 时的棉铃虫中肠羧酸酯酶的活性。

上述结果表明,棉铃虫在取食转基因棉叶后其羧酸酯酶的活性会被诱导。并且在短时间喂食棉铃虫转基因棉(1 d)后,换用常规棉饲喂,棉铃虫中肠羧酸酯酶的活性可以恢复到正常水平,而较长时间取食转基因棉(3 d)后,再换为取食常规棉,棉铃虫羧酸酯酶的活性难以恢复。

3 讨论

转双价基因棉 SGK321 中转入了 2 种基因,即杀虫 Bt 基因和豇豆胰蛋白酶抑制剂基因。前者能够表达一种伴孢晶体蛋白,当被鳞翅目昆虫取食后,能够被降解成 60 kd 左右的活性小肽并能和受体结合,随之插入细胞膜并形成穿孔,从而导致昆虫瘫痪或死亡;后者能够抑制昆虫消化食物所需要的胰蛋白酶活性来干扰昆虫的消化作用,使昆虫产生厌食作用。由于转单价基因棉更容易导致抗性的产生,生产上更多的是使用转双价基因棉(范贤林等,2001)。

本研究结果表明,取食转双价基因棉的棉铃虫取食量显著低于取食常规棉的棉铃虫取食量,这应该与棉铃虫受到了 Bt 毒蛋白的影响有密切关系,还与其受到了豇豆胰蛋白酶抑制剂的影响有关。至于 Bt 的毒害作用与 CpTI 的拒食作用,哪种基因表达的产物对棉铃虫的取食量产生了更大的影响作用,还需要通过进一步分别研究 2 种蛋白对棉铃虫的影响而获知。

本研究表明,取食转双价基因棉的棉铃虫取食量和体重增长均显著低于取食常规棉的棉铃虫取食量,说明棉铃虫对转基因棉的取食量与其体重增长密切相关。

尽管取食转基因棉的棉铃虫体重增长较取食

常规棉的棉铃虫要小,但在取食时间一致的情况下(4 d 内),取食转基因棉叶的棉铃虫中肠羧酸酯酶活性却显著高于取食常规棉的棉铃虫。这应该与羧酸酯酶作为一种解毒代谢酶,在昆虫受到外来胁迫时,其活性可以被诱导有关。羧酸酯酶活性增高有利于昆虫抵御外来胁迫。但本研究结果也表明取食 5 d 转基因棉后,棉铃虫中肠羧酸酯酶的活性比取食 5 d 常规棉的棉铃虫活性低,这可能是棉铃虫在长期受到胁迫后,致使本身身体机能下降,从而导致其羧酸酯酶活性降低。

Gunning 等(2005)的研究结果表明,棉铃虫对 Bt 毒蛋白产生抗性是由于酯酶与 Bt 毒素结合所致。在本研究中也观察到,棉铃虫取食转基因棉叶后其羧酸酯酶活性显著升高,这种增高一方面可能是与其解毒能力增高所致,另一方面也可能是与羧酸酯酶为了与 Bt 毒素蛋白结合,而过量表达有关。至于 Bt 蛋白能不能与羧酸酯酶结合,又或者这种结合只存在于对 Bt 毒素产生抗性的某些棉铃虫品系中,还需要进一步研究。

棉铃虫在取食一段时间转基因棉叶后取食常规棉叶,其取食量和体重均低于持续取食常规棉的棉铃虫,而高于持续取食转基因棉的棉铃虫。尤其是取食 1 d 转基因棉叶后,再取食常规棉 4 d 的棉铃虫,其中肠羧酸酯酶活性与取食常规棉叶 5 d 的棉铃虫基本一致,这表明短时间摄取转基因棉后,再摄取常规棉,棉铃虫受到的转基因棉的危害可以得到减轻与缓解;而受到较重胁迫(取食转基因棉 3 d)后,再取食常规棉,其受到转基因棉的危害则难以恢复。在棉花实际生产中,有“庇护所”存在的情况下,棉铃虫短时间取食转基因棉后取食常规棉是有可能发生的,从而可以减轻转基因植物对害虫的高压选择作用,延缓棉铃虫对 Bt 毒蛋白抗性的产生。

通过研究,可以明确取食转双价基因棉的棉铃虫在取食量、体重增长量和中肠羧酸酯酶 3 个方面均会发生相应变化。取食转基因棉叶会诱导棉铃虫羧酸酯酶活性的增高,并且当解除转基因棉胁迫后,其活性可以得到一定程度的恢复。

参考文献(References)

- Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the

- principle of protein-day binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248—252.
- Gunning RV, Dang HT, Kemp FC, Nicholson IC, Moores GD, 2005. New resistance mechanism in *Helicoverpa armigera* threatens transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71 (5): 2558—2563.
- Meng F, Shen J, Zhou W, Cen H, 2004. Long-term selection for resistance to transgenic cotton expressing *Bacillus thuringiensis* toxin in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest Manage. Sci.*, 60: 167—172.
- Oppert B, Kramer KJ, Beeman RW, Johnson D, McGaughey WH, 1997. Proteinase-mediated insect resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins. *J. Biol. Chem.*, 272 (38): 23473—23476.
- Oppert B, Kramer KJ, Johnson D, 1996. Luminal proteinases from *Plodia interpunctella* and the hydrolysis of *Bacillus thuringiensis* Cry1A (c) protoxin. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 26 (6): 571—583.
- Shehon AM, Zhao JZ, Roush RT, 2002. Economic ecological food safety and social consequences of the deployment of Bt transgenic plants. *Annu. Rev. Entomol.*, 47: 845—881.
- Van A, Sporn K, 1962. A study of housefly esterase by means of a sensitive colorimetric method. *Insect Physiol.*, 8: 401—406.
- Wang GR, Liang GM, Wu KM, 2003. Cloning and sequencing of a gene encoding aminopeptidase N in the mid-gut of *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Agricultural Sciences in China*, 2 (7): 760—767.
- 范贤林, 芮昌辉, 许崇任, 孟香清, 郭三堆, 赵建周, 2001. 转双价基因棉对棉铃虫的抗性. *昆虫学报*, 44 (4): 582—585.
- 梁革梅, 谭维嘉, 郭予元, 2000. 棉铃虫对 Bt 的抗性筛选及交互抗性的研究. *中国农业科学*, 33 (4): 46—53.
- 梁革梅, 谭维嘉, 郭予元, 2001. 棉铃虫 Bt 抗感种群间数种解毒酶和中肠蛋白酶活性的比较. *植物保护学报*, 28 (2): 133—138.
- 苏建亚, 周晓梅, 沈晋良, 2004. 抗 Bt 棉棉铃虫幼虫 Bt 受体氨肽酶 N (APN2) 基因克隆. *中国生物工程杂志*, 24 (10): 59—62.
- 杨进, 杨益众, 包杨滨, 陆佩玲, 2008. 转基因棉花对斜纹夜蛾生长发育、营养指标及 α -NA 羧酸酯酶活性的影响. *江苏农业学报*, 24 (2): 210—212.