

转 Bt 基因棉花中 Cry1Ac 蛋白经烟粉虱途径向龟纹瓢虫的传递^{*}

周福才^{**} 顾爱祥 杨益众^{***} 苏宏华 胡其靖 杨爱民

(扬州大学园艺与植物保护学院, 扬州 225009)

摘 要 【目的】烟粉虱 *Bemisia tabaci* 是转基因棉的非靶标害虫, 对棉花生产造成严重影响。本文探讨转 Bt 基因棉花中 Cry1Ac 蛋白在棉花-烟粉虱-龟纹瓢食物链中的传递规律, 以期为转基因棉的环境安全评价提供科学依据。【方法】在实验室条件下, 以常规棉 SM3 号、33、SY321 为对照, 分析转 Bt 基因棉花 GK12、XM33B、SGK321 叶片、在这些棉花上取食的烟粉虱、以及捕食烟粉虱的瓢虫体内 Cry1Ac 蛋白含量。同时, 将取食转 Bt 基因棉花上的烟粉虱的瓢虫转接到对应的受体亲本棉花上, 分析瓢虫体内 Cry1Ac 蛋白含量变化规律。【结果】在转 Bt 基因棉花上取食的烟粉虱成虫和若虫以及它们的蜜露中均能检测到 Cry1Ac 蛋白, 以转 Bt 基因棉花上的烟粉虱若虫为食料的龟纹瓢虫体 *Propylaea japonica* 内也能检测到 Cry1Ac 蛋白。龟纹瓢虫取食转 Bt 基因棉花上的烟粉虱若虫 1 d 后体内即能检测到 Cry1Ac 蛋白, 并且随着取食时间的延长, 体内 Cry1Ac 蛋白的含量逐渐增加, 但到第 6~8 天后 Cry1Ac 蛋白的含量相对稳定。取食 3 个不同品种棉花上烟粉虱若虫的龟纹瓢虫体内 Cry1Ac 蛋白的含量存在明显差异, 这种差异与棉花叶片上表达的 Cry1Ac 蛋白量呈正相关。但取食后 6 d, 在 3 个品种棉花上取食的龟纹瓢虫体内的 Cry1Ac 蛋白含量之间没有明显的差异。以转 Bt 基因棉花上的烟粉虱若虫为食料的龟纹瓢虫转移到对应的常规棉亲本上以后, 体内的 Cry1Ac 蛋白的含量迅速下降, 但 10 d 后仍能检测到微量的 Cry1Ac 蛋白。

【结论】转 Bt 基因棉花中的 Cry1Ac 蛋白可以通过烟粉虱途径传递到龟纹瓢虫体内, 龟纹瓢虫对食料中的 Cry1Ac 蛋白具有富集作用, 并且 Cry1Ac 蛋白的富集存在饱和现象, 富集饱和量和食料中的 Cry1Ac 含量无关; 龟纹瓢虫脱离含有 Cry1Ac 蛋白的食料环境后, 体内的 Cry1Ac 蛋白可以消减, 但在 10 d 时间内龟纹瓢虫体内仍会有 Cry1Ac 残留。

关键词 转 Bt 基因棉花, 烟粉虱, 龟纹瓢虫, Cry1Ac 蛋白, 传递

Transmission of Cry1Ac from transgenic Bt cotton to the predatory ladybug *Propylaea japonica* via the whitefly *Bemisia tabaci*

ZHOU Fu-Cai^{**} GU Ai-Xiang YANG Yi-Zhong^{***} SU Hong-Hua
HU Qi-Jing YANG Ai-Min

(School of Horticulture and Plant Protection College of Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract [Objectives] The whitefly, *Bemisia tabaci*, is an economically important, non-target pest of Bt transgenic cotton. In this study, we examined the transmission of Cry1Ac from transgenic Bt cotton to the predatory ladybug, *Propylaea japonica*, (a natural enemy of the whitefly) in an effort to better evaluate the ecological safety of transgenic Bt cotton. [Methods] We used an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) to compare Cry1Ac levels in *B. tabaci* fed on the leaves of the conventional cotton cultivars SM3, SM33, and SY321 to those fed on the Bt transgenic cotton lines GK12, XM33B, and SGK321. [Results] Cry1Ac was detected in the adults, nymphs and honeydew of *B. tabaci* fed on Bt transgenic cotton. Cry1Ac was also detected in *P. japonica* that fed on these *B. tabaci* after just one day of feeding on *B. tabaci* nymphs that had

* 资助项目 Supported projects: 转基因生物安全监测技术 (2014ZX08012004-007) 和江苏高校优势学科建设工程项目

**第一作者 First author, E-mail: fczhou@yzu.edu.cn

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: yzyang@yzu.edu.cn

收稿日期 Received: 2015-06-23, 接受日期 Accepted: 2015-06-30

consumed Bt transgenic cotton. The Cry1Ac content of *P. japonica* increased with increased with the duration of feeding, then stabilized after 6 to 8 days. The Cry1Ac content of *P. japonica* differed depending on the transgenic cotton line on which *B. tabaci* had fed. Although the Cry1Ac content of *P. japonica* declined when these were no longer exposed to food containing Cry1Ac, it did not disappear completely. The results of this study suggest that Cry1Ac from Bt transgenic cotton can be transferred to *P. japonica* through *B. tabaci*, and that *B. tabaci* can accumulate Cry1Ac. Cry1Ac levels in *P. japonica* eventually plateau; the speed of Cry1Ac accumulation in *P. japonica*, but not its saturation capacity, is related to the Cry1Ac content of their food. **[Conclusion]** Cry1Ac from Bt transgenic cotton can be transferred to *P. japonica* through *B. tabaci*, and *B. tabaci* can accumulate Cry1Ac. Cry1Ac levels in *P. japonica* plateau after 6 to 8 days; the speed of Cry1Ac accumulation in *P. japonica*, but not its saturation capacity, is related to the Cry1Ac content of their food.

Key words Bt transgenic cotton, *Bemisia tabaci*, *Propylaea japonica*, Cry1Ac, transmission

随着转基因抗虫植物的大量种植,人们对转基因抗虫植物的生态安全性问题也越来越关注 (Masood, 1999; Saegusa, 1999; Poppy, 2000)。对于转基因抗虫植物,人们不仅要求其靶标害虫具有良好的控制作用,而且还要求其靶标害虫具有良好的协调性 (Gatehouse and Gatehouse, 1999)。室内生测发现,以转 Bt 基因抗虫植物上的靶标害虫或非靶标害虫为食的捕食性天敌,其个体发育、生殖、捕食行为等均未受到不良影响 (Dong *et al.*, 1996; Lozzia *et al.*, 1998; Cui and Xia, 2000),但也有研究发现,以此类害虫为猎物的捕食性昆虫却受到了不良影响 (Hilbeck *et al.*, 1998; Brich *et al.*, 1999; Schuler *et al.*, 1999; Dutton *et al.*, 2002)。由于转基因植物中的 Bt 蛋白通常在整个生长季节及植物的大部分组织中都能表达 (张桂芬, 2004),因而种植转基因植物对生态环境的影响引起了人们的关心和忧虑 (Williamson, 1992; Jepson *et al.*, 1994)。目前对转基因植物中的 Bt 蛋白在害虫和天敌体内的积累动态已有报道,如玉米、马铃薯和棉花中表达的 Bt 蛋白在害虫和天敌体内的积累动态 (Armer *et al.*, 2000; Head *et al.*, 2001; Raps *et al.*, 2001; Dutton *et al.*, 2002; Lundgren and Wiedenmann, 2002; Zhang *et al.*, 2004),但转 Bt 基因棉花表达的 Cry1Ac 毒蛋白经棉花-烟粉虱-龟纹瓢虫途径在龟纹瓢虫体内的积累动态尚未见报道。

烟粉虱 *Bemisia tabaci* (Gennadius) 是转

Bt 基因棉花上发生为害较严重的非靶标害虫之一。近十多年来,烟粉虱已成为我国大部分棉区棉花上的重要害虫。龟纹瓢虫 *Propylaea japonica* (Thunberg) 是长江流域棉区重要的捕食性天敌,对包括烟粉虱在内的多种害虫有较强的捕食作用。本文采用酶联免疫吸附法 (ELISA),研究转 Bt 基因棉花中 Cry1Ac 蛋白经烟粉虱途径向捕食性天敌龟纹瓢虫的传递规律,以及在龟纹瓢虫体内的代谢,以期探讨转 Bt 基因棉花对龟纹瓢虫的生态安全性提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试棉花:国抗 12 (文中简称 GK12,转 Bt 基因棉,表达 Cry1 Ab/Ac 融合蛋白)、新棉 33B (文中简称 XM33B,转 Bt 基因棉,表达 Cry1 Ab/Ac 融合蛋白)、SGK321 (转 Bt+CpTI 基因棉,表达 Cry1 Ac 和 CpTI 蛋白)、泗棉 3 号 (文中简称 SM3,常规棉品系, GK12 的受体亲本)、33 (常规棉品系, XM33B 的受体亲本)、石远 321 (文中简称 SY321,常规棉品系, SGK321 的受体亲本) (张桂芬等, 2004)。棉花种子均由中国农业科学院植物保护研究所提供。棉花盆栽,常规管理,试验期间不使用化学农药。

烟粉虱在实验室网室中分别用 SM3 号、33 和 SY321 3 个品种棉花饲养繁殖,不同棉花品种之间用 60 目纱网隔离,以防止烟粉虱的混杂。

龟纹瓢虫采自扬州大学园艺与植物保护学院实验田的常规棉上。在实验室内用番茄烟粉虱为食料饲养 1 代后供试。试验前供水饥饿 12 h。

1.2 试验方法

1.2.1 棉花叶片中 Cry1Ac 蛋白测定 取 8 片真叶期棉花的第 4、第 5、第 6 叶 500 mg, 迅速加液氮研磨成粉, -70°C 冻存, 待测。Cry1Ac 蛋白含量采用 Cry1Ab/Cry1Ac 检测试剂盒(美国 Envirologix 公司)测定。试验重复 10 次。

1.2.2 烟粉虱及其蜜露和龟纹瓢虫体内 Cry1Ac 蛋白含量的测定 从 3 种常规棉受体亲本上各取生长天数相同、个体大小基本一致的烟粉虱成虫 1 000 头, 分别接到对应的转 Bt 基因棉花 GK12、XM33B 和 SGK321 上, 取食 5 d 后, 采用 1.2.3 的方法收集烟粉虱蜜露。蜜露收集结束后, 用吸虫管将烟粉虱全部转移到 10 mL 的离心管内, 用液氮快速冻死, 取出烟粉虱放入研钵中加液氮研磨成粉, 在 -70°C 冻存备用。Cry1Ac 蛋白的测定方法同 1.2.1。试验重复 10 次。

将个体大小基本一致的龟纹瓢虫雌性成虫分别接到 3 种转基因棉花上取食烟粉虱, 每株棉花接 2 头, 7 d 后每个处理取瓢虫 20 头, 加液氮研磨成粉, -70°C 冻存, 待测。Cry1Ac 蛋白的测定方法同 1.2.1。

1.2.3 烟粉虱蜜露的收集 参考 Byrne 和 Miller (1990) 的方法。取铝箔纸一张, 称重, 放在有烟粉虱的棉花叶片下方, 48 h 后取出, 再称重, 用去离子水洗脱铝箔纸上的烟粉虱蜜露, 洗脱液用玻璃纤维滤纸进行过滤, 去除其中的杂质, 滤液用冷冻干燥法去除水分。取冻干的蜜露, 用去离子水配成 0.02 g/mL 的溶液, 置 -70°C 冰箱中保存, 待测。

1.2.4 Cry1Ac 蛋白在龟纹瓢虫体内的富集和消减动态测定 取 8 片真叶期的盆栽转 Cry1Ac 基因棉花 240 盆, 每盆棉花保留中部 4 张叶片, 平均每张叶片上有烟粉虱若虫 1 000 头左右, 每盆接用对应的常规棉上烟粉虱饲养的龟纹瓢虫雌性成虫 2 头, 每 24 h 取瓢虫成虫 20 头, 按 1.2.2

方法测定 Cry1Ac 蛋白含量, 同时测定烟粉虱若虫体内 Cry1Ac 蛋白含量。连续测定 10 d。试验重复 3 次。

同样, 将转 Bt 基因棉花上饲养的龟纹瓢虫接到对应的非转基因亲本棉花上, 每 24 h 取瓢虫成虫 20 头, 按 1.2.2 方法测定 Cry1Ac 蛋白含量, 连续测定 10 d。Cry1Ac 蛋白的测定方法同 1.2.1。试验重复 3 次。

1.2.5 数据处理 数据整理和分析用 Excel 2003 软件和 DPS 软件进行 (Tang and Zhang, 2012)。

2 结果与分析

2.1 Cry1Ac 蛋白在食物链中的传递

在 3 种转 Bt 基因棉花 GK12、XM33B、SGK321 取食的烟粉虱成虫、若虫以及它们分泌的蜜露中都能检测到 Cry1Ac 蛋白, 但烟粉虱成虫和若虫体内的 Cry1Ac 蛋白含量均显著低于所取食棉花叶片的 Cry1Ac 含量 ($P_{\text{GK12}}=0.022$; $P_{\text{XM33B}}=0.0023$; $P_{\text{SGK321}}=0.002$), 蜜露中 Cry1Ac 蛋白的含量显著低于相应的成虫和若虫体内的含量 ($P_{\text{GK12}}=0.0032$; $P_{\text{XM33B}}=0.0171$; $P_{\text{SGK321}}=0.001$) (表 1)。从表 1 可以看到, 取食转基因棉花 XM33B 的烟粉虱成虫和若虫体内 Cry1Ac 蛋白的含量分别为棉花叶片的 0.48% 和 0.13%, 而若虫蜜露中 Cry1Ac 蛋白含量仅为若虫的 2.86%, 成虫蜜露中 Cry1Ac 蛋白含量极微。

从表 1 可以发现, 以 GK12、XM33B、SGK321 3 种棉花上烟粉虱若虫为食料的龟纹瓢虫体内也能检测到 Cry1Ac 蛋白, 但 Cry1Ac 蛋白的含量明显低于的所在棉花叶片 ($P_{\text{GK12}}=0.023$; $P_{\text{XM33B}}=0.013$; $P_{\text{SGK321}}=0.017$), 而明显高于所取食的烟粉虱若虫 ($P_{\text{GK12}}=0.003$; $P_{\text{XM33B}}=0.001$; $P_{\text{SGK321}}=0.011$), 如 GK12、XM33B、SGK321 3 种棉花叶片中 Cry1Ac 蛋白的含量分别为龟纹瓢虫的 142.66 倍、168.38 倍、127.61 倍, 而龟纹瓢虫体内的 Cry1Ac 蛋白的含量分别为烟粉虱若虫的 6.43 倍、8.78 倍和 6.00 倍。结果表明, 龟纹瓢虫可以通过取食转基因棉花上的烟粉虱若

表 1 棉花叶片、烟粉虱和龟纹瓢虫体内 Cry1Ac 蛋白的含量
Table 1 Cry1Ac contents in cotton leaves of *Bemisia tabaci* and *Propylea japonica*

测定对象 Test object	Cry1Ac 蛋白含量 (×10 ⁻² ng/g) Cry1Ac contents (×10 ⁻² ng/g)		
	GK12	XM33B	SGK321
棉花叶片 Cotton leaves	27 550.12±156.30AB	34 056.75±148.18A	23 051.35±458.12B
烟粉虱成虫 <i>B. tabaci</i> imagos	133.12±45.00A	133.48±10.26A	130.13±14.15A
烟粉虱成虫蜜露 Imago honeydew of <i>B. tabaci</i>	0.39±0.01A	0.62±0.13A	0.43±0.01A
烟粉虱若虫 Pseudidolum of <i>B. tabaci</i>	35.34±11.12A	23.41±15.41A	30.31±15.51A
烟粉虱若虫蜜露 Pseudidolum honeydew of <i>B. tabaci</i>	0.66±0.01A	0.47±0.09A	1.06±0.31A
龟纹瓢虫 <i>P. japonica</i>	193.12±13.01AB	202.26±15.30A	180.64±5.61B

数据为平均数±标准误。表中数字后英文字母为 Duncan's 多重比较的检验结果,同行数据后标有不同大写字母者表示在 0.05 水平上差异显著。

Data are mean±SE, and followed by different letters in the same row indicate significant different at the 0.05 level by Duncan's multiple range test.

虫而获得 Cry1Ac 蛋白,并且 Cry1Ac 蛋白在龟纹瓢虫体内可以富集。

2.2 取食转 Bt 基因棉花上的烟粉虱后龟纹瓢虫体内 Cry1Ac 蛋白的富集动态

龟纹瓢虫取食转 Bt 基因棉花上的烟粉虱 1 d 后体内就能检测到 Cry1Ac 蛋白,随着取食时间的延长,瓢虫体内 Cry1Ac 蛋白的含量逐渐增加,但在第 6~8 天时 Cry1Ac 蛋白的含量相对稳定。如龟纹瓢虫取食 GK12 上的烟粉虱第 2 天至第 6 天,体内 Cry1Ac 蛋白的含量分别为 0.58、1.11、1.33 ng/g,呈明显的上升趋势 ($P=0.008$),但第 8 天和第 10 天之间没有明显差异 ($P=0.152$) (表 2)。结果表明,Cry1Ac 蛋白在龟纹瓢虫体内的富集存在饱和现象。

从表 2 还可发现,取食不同品种棉花上烟粉虱的龟纹瓢虫体内 Cry1Ac 蛋白的数量存在明显差异,如龟纹瓢虫取食 XM33B 上的烟粉虱 4 d 后体内 Cry1Ac 蛋白的含量为 1.55 ng/g,明显高于取食 GK12 (1.11 ng/g) 和 SGK321 (1.07 ng/g) 上的烟粉虱 ($P=0.017$),而这种差异与棉花叶片上 Cry1Ac 蛋白的表达量呈正相关。但取食 6 d 后,取食 3 个品种棉花上烟粉虱的龟纹瓢虫体内的 Cry1Ac 蛋白含量之间没有明显的差异 ($P=0.098$)。结果表明,Cry1Ac 蛋白在龟纹瓢

虫体内的富集速度与食料中的含量有关,但富集饱和值与食料无关。

2.3 带毒龟纹瓢虫转移到常规棉上后体内 Cry1Ac 蛋白的消减动态

将以转 Bt 基因棉花上烟粉虱为食料的龟纹瓢虫转移到对应的常规棉上取食,一段时间后测定瓢虫体内 Cry1Ac 蛋白的含量(表 3)。结果发现,以转 Bt 基因棉花上烟粉虱为食料的龟纹瓢虫转移到常规棉花上后,体内 Cry1Ac 蛋白的含量迅速下降,并且随着时间的延长,体内 Cry1Ac 蛋白的含量不断下降,如转移到 SM3、33、SY321 取食烟粉虱 2 d 后,龟纹瓢虫体内 Cry1Ac 蛋白的含量比第 1 天分别下降了 79.43%、86.86%、80.32% ($P_{GK12}=0.003$, $P_{XM33B}=0.001$, $P_{SGK321}=0.007$),但取食 10 d 后龟纹瓢虫体内仍能测到微量的 Cry1Ac 蛋白。结果表明,带有 Cry1Ac 蛋白的龟纹瓢虫脱离 Cry1Ac 蛋白食料环境后,体内的 Cry1Ac 蛋白含量会迅速下降,但经过 10 d 后体内仍有少量 Cry1Ac 蛋白残留。

3 结论与讨论

大量研究证实,Cry1Ac 蛋白可以通过寄主植物-植食性昆虫-天敌食物链进行传递,如 Cry1Ac 蛋白通过转 Bt 基因水稻-二化螟幼虫-拟

表 2 龟纹瓢虫取食转 Bt 基因棉花上的烟粉虱后体内 Cry1Ac 蛋白含量
Table 2 Cry1Ac contents in *Propylea japonica* after consuming *Bemisia tabaci* on transgenic Bt cotton

棉花品种 Cotton cultivars	取食不同时间后龟纹瓢虫体内 Cry1Ac 蛋白含量 (× 10 ⁻² ng/g) Content of Cry1Ac in <i>P. japonica</i> after feeding for different time (× 10 ⁻² ng/g)					
	1 d	2 d	4 d	6 d	8 d	10 d
GK12	29.62±6.15cA	58.15±2.82cA	111.16±7.43bAB	133.16±28.45bC	194.45±7.52aAB	193.15±13.72aAB
XM33B	31.56±2.15bA	65.95±1.64bA	155.15±1.41aA	217.45±10.74aA	221.12±22.57aA	222.82±15.12aA
SGK321	30.99±1.16dA	55.45±3.48cA	107.51±7.15bB	181.12±8.43aAB	181.12±6.57aB	180.05±5.57aB

数据为平均数±标准误。表中数字后英文字母为 Duncan's 多重比较的检验结果,同行数据后标有不同大写字母或同列中具有不同小写字母者表示在 0.05 水平上差异显著。
Data are mean±SE, and followed by different capital or small letters in the same row or in the same column indicate significant different at the 0.05 level by Duncan's multiple range test, respectively.

表 3 取食转 Bt 基因棉花上烟粉虱的龟纹瓢虫转移到常规棉上后体内 Cry1Ac 蛋白的含量
Table 3 Cry1Ac contents in *Propylaea japonica* after consuming *Bemisia tabaci* on transgenic bt cotton and transfer to conventional cotton

棉花品种 Cotton cultivars	取食不同时间后龟纹瓢虫体内毒蛋白量 (10 ⁻² ng/g) Content of insecticidal protein in <i>P. japonica</i> after feeding for different time (× 10 ⁻² ng/g)						
	CK	1 d	2 d	4 d	6 d	8 d	10 d
SM3	193.15±13.72a	107.15±7.55b	22.52±1.50c	5.28±0.74d	2.49±0.20e	2.42±0.11e	2.42±0.18e
33	222.82±15.12a	137.10±18.12b	18.22±0.22c	2.32±0.11d	2.21±0.03d	2.24±0.05d	2.40±0.41d
SY321	180.05±5.57a	100.85±0.75b	19.84±0.54c	2.50±0.04d	2.47±0.03d	2.26±0.07d	2.10±0.07d

CK 为在对应的转 Bt 基因棉花上取食 10 d 的龟纹瓢虫体内的 Cry1Ac 蛋白的含量。同列中具有不同小写字母者表示在 0.05 水平上差异显著。
The content of Cry1Ac protein of *P. japonica* feeding 10 days in the Bt transgenic cotton was used as CK. The data followed by different small letters in the same column indicate significant different at the 0.05 level.

水狼蛛,以及转 Bt 基因棉花-蚜虫-草蛉食物链进行传递(周秋菊,2003;姜永厚,2004)。本研究发现,转 Bt 基因棉花叶片中的 Cry1Ac 蛋白也可以通过棉花-烟粉虱-龟纹瓢虫食物链从棉花传递到龟纹瓢虫体内。
研究发现,取食转 Bt 基因棉花上烟粉虱后,龟纹瓢虫能迅速获得 Cry1Ac 蛋白,并且随着取食时间的延长,Cry1Ac 蛋白的含量不断增加,但取食一定时间后,体内的 Cry1Ac 蛋白含量不再增加。龟纹瓢虫体内 Cry1Ac 蛋白的含量显著高于烟粉虱若虫。可见,Cry1Ac 蛋白在龟纹瓢虫体内有明显的富集现象,且富集存在饱和现象。这种现象在转 Bt 基因棉花上的草蛉和转 Bt 基因水稻上的蜘蛛中也存在(周秋菊,2003;姜永厚,2004)。

本研究还发现,取食转 Bt 基因棉花上烟粉虱的龟纹瓢虫转移到常规棉花上 10 d 以后,其体内仍能检测到 Cry1Ac 蛋白,说明进入到龟纹瓢虫体内的 Cry1Ac 蛋白,除了消化道外,还可能转移到其他器官上。Down 等(1999)在取食转 STI 基因植物的番茄夜蛾 *Lacanobia oleracea* 幼虫血淋巴中检测到这种蛋白酶抑制剂;姜永厚等(2004)在转 Bt 基因水稻上的二化螟幼虫的血淋巴中也检测到了 Cry1Ac 蛋白。在取食转 Bt 基因棉花上烟粉虱的龟纹瓢虫体内还有哪些器官可以贮存 Cry1Ac 蛋白,这些蛋白以什么形态存在还需进一步研究。

参考文献 (References)

Armer CA, Berry RE, Kogan M, 2000. Longevity of phytophagous

- heteropteran predators feeding on transgenic *Bt*-potato plants. *Entomol. Exp. Appl.*, 95(3): 329–333.
- 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(1): 75–83.
- Cui JJ, Xia JY, 2000. Effect of transgenic Bt cotton R93-6 on the insect community. *Acta Entomol. Sin.*, 43 (1): 43–51.
- Dong SL, Wang RH, Ma LH, Zhong CZ, 1996. Brief report of insect resistance of transgenic Bt cotton. *Cotton Science*, 8(6): 334–335.
- Down RE, Ford L, Mosson HJ, Fitches E, Gatehouse JA, Gatehouse AMR, 1999. Protease activity in the larval stage of the parasitoid wasp *Eulophus pennicornis*(Nees)(Hymenoptera : Eulophidae) : effects of protease inhibitors . *Parasitology*, 119(2): 157–166.
- Dutton A, Klein H, Romeis J, Bigler F, 2003. Prey-mediated effects of *Bacillus thuringiensis* spray on the predator *Chrysoperla carnea* in maize. *Biol. Control*, 26(2): 209–215.
- Gatehouse JA, Gatehouse AMR, 1999. Genetic engineering of plants for insect resistance // Rechcigl JE, Rechcigl NA(eds.). Biological and Biotechnological Control of Insect Pests. London: Lewis Publishers. 211–241.
- Head G, Chdstopher RB, Mark EG, Duan JJ, 2001. CryIAb protein levels in phytophagous insects feeding on transgenic corn: implications for secondary exposure risk assessment. *Entomol. Exp. App.*, 99(1): 37–45.
- Hilbeck A, Baumgartner M, Fried PM, Bigler F, 1998a. Effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on mortality and development time of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environmental Entomology*, 27(2): 480–487.
- Hilbeck A, Moar WJ, Pusztai-Carey M, Filippini A, Bigler F, 1998b. Toxicity of the *Bacillus thuringiensis* CryIAb toxin to the predator *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) . *Environmental Entomology*, 27(5): 1255–1263.
- Lozzia GC, Furlanis C, Manachini B, Rigamonti IE, 1998. Effects of Bt corn on *Rhopalosiphum padi* L.(Rhynchota: Aphididae) and on its predator *Chrysoperla carnea* Stephen (Neuroptera: Chrysopidae). *Boll. Zool. Agric. Bachic.*, 30(2): 153–164.
- Lundgren LG, Wiedenmann RN, 2002. Coleopteran-specific Cry3Bb toxin from transgenic corn pollen does not affect the fitness of a nontarget species, *Coleomegilla maculate* Degeer (Coleoptera: Coccinellidae). *Environ. Entomol.*, 31(6): 1213–1218.
- Masood E, 1999. Europe and US in confrontation over GM food labeling criteria. *Nature*, 398 (6729): 641.
- Poppy G, 2000. GM crops: environmental risks and non-target effects. *Trends in Plant Science*, 5(1): 4–6.
- Raps A, Kehr J, Gugerli P, Moar WJ, Bigler F, Hilbeck A, 2001. Innunological analysis of phloem sap of *Bacillus thuringiensis* corn and of the nontarget herbivore *Rhopalosiphum padi* (Homoptera :Aphididae) for the presence of CryIAb .*Mol. Ecol.*, 10(2): 525–533
- Saegusa A, 1999. Japan tightens rules on GM crops to protect the environment. *Nature*, 399(6738): 719.
- Schuler TH, Potting RPJ, Denholm I, 1999. Parasitoid behaviour and Bt plants. *Nature*, 400(6747):825–826.
- Tang QY, Zhang CX, 2012. Data Processing System (DPS) software with experimental design, statistical analysis and data mining developed for use in entomological research. *Insect Science*, doi: 0.1111/j.1744-7917.2012.01519.x
- Wilson FD, Flint HM, Deaton WR, Fischhoff DA, Perlak FJ, Armstrong TA, Fuchs RL, Berberich AS, Parks NJ, Stapp BR, 1992. Resistance of cotton lines containing a *Bacillus thuringiensis* toxin to pink bollworm (Lepidoptera:Gelechiidae) and other insects. *J. Econ. Entomol.*, 85(4):1516–1521.
- Zhang GF, Wan FH, Guo JY, Hou ML, 2004. Expression of Bt toxin in transgenic Bt cotton and its transmission through pests *Helicoverpa armigera* and *Aphis gossypii* to natural enemy *Propylaea japonica* in cotton plots. *Acta Entomologica Sinica*, 47 (3): 334–341.[张桂芬, 万方浩, 郭建英, 侯茂林, 2004. Bt 毒蛋白在转 Bt 基因棉中的表达及其在害虫-天敌间的转移. 昆虫学报, 47 (3): 334–341]
- Zhou QJ, 2003. Effects of the transgenic Bt cotton on phytophagous pests and arthropod natural enemies and their mechanisms. Master Dissertation. Hainan: Institute, South China University of Tropical Agriculture. [周秋菊, 2003. 转 Bt 基因棉花对主要害虫和天敌的影响及其机理初探. 硕士学位论文. 海南: 华南热带农业大学.]
- Jiang YH, Fu Q, Chen JA, Zhu ZR, Jiang MX, Ye GY, Zhang ZT, 2004. Dynamics of CryIAb protein from transgenic Bt rice in herbivores and their predators. *Acta Entomologica Sinica*, 47(4): 454–460. [姜永厚, 傅强, 程家安, 叶恭银, 白耀羽, 张志涛, 2004. 转 Bt 基因水稻表达的毒蛋白 CryIAb 在害虫及其捕食者体内的积累动态. 昆虫学报, 47(4): 454–460.]