应用昆虫学报 *Chinese Journal of Applied Entomology* 2014, 51(5): 1190−1196. DOI: 10.7679/j.issn.2095−1353.2014.141

转 *cry1C* 基因抗虫稻谷对黄粉虫生长发育的影响*

王加美[1, 2**] 葛东华[1] 陈秀萍[1***] 丁家桐[2] 彭于发[1]

(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 100193；
2. 扬州大学动物科学与技术学院，扬州 225009)

摘 要 **【目的】** 研究转 *cry1C* 基因抗虫水稻（T1C-19）稻谷对黄粉虫生长发育的影响，为转 Bt 基因水稻的推广和应用提供理论支持。**【方法】** 在试验室条件下，分别用 100% T1C-19 稻谷、100% 明恢 63（MH63）稻谷、62% T1C-19 稻谷、62% MH63 稻谷和正常饲料饲喂黄粉虫幼虫直至其化蛹，比较各处理组体重、存活率、幼虫历期、化蛹率和羽化率等检测指标。**【结果】** 正常饲料组、62% T1C-19 稻谷组和 62% MH63 稻谷组的黄粉虫幼虫体重几乎都显著高于 100% T1C-19 稻谷组和 100% MH63 稻谷组，但 T1C-19 和 MH63 组间差异不显著；此外，5 组间的存活率、幼虫历期、化蛹率及羽化率差异均不显著。**【结论】** 黄粉虫可通过取食转 *cry1C* 基因稻谷暴露于 Cry1C 蛋白中，但黄粉虫的生长发育没有受到明显的负面影响；转 *cry1C* 基因稻谷可作为饲料原料用于黄粉虫养殖。

关键词 转 *cry1C* 基因水稻，黄粉虫，非靶标效应，安全评价

Effect of transgenic *cry1C* rice on the development of the yellow mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae)

WANG Jia-Mei[1, 2**] GE Dong-Hua[1] CHEN Xiu-Ping[1***] DING Jia-Tong[2] PENG Yu-Fa[1]

(1. State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pest, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 2. College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract **[Objectives]** The effects of transgenic *cry1C* rice (T1C-19) on the development of the yellow mealworm were assessed to provide useful information for the commercial cultivation of Bt rice. **[Methods]** Larvae of the yellow mealworm were randomly assigned to be fed with 100% T1C-19, 100% MH63, 62% T1C-19, 62% MH63 rice grain, or a normal diet, until they pupated and their body weight, survival rate, larval stage duration, pupation rate and eclosion rate were measured and analyzed. **[Results]** The body weights of the 62% T1C-19, 62% MH63 rice grain group and the normal diet group were almost significantly higher than those of 100% T1C-19 rice and 100% MH63 rice group, and there were no statistically significant differences between the T1C-19 group and MH63 group. Moreover, there were no significant differences in survival rate, duration of larval stage, pupation rate and eclosion rate among the above five different treatments. **[Conclusion]** Transgenic *cry1C* rice has no obvious adverse effects on the development of the yellow mealworm and can therefore be used as a feed for this species.

* 资助项目：转基因生物新品种培育科技重大专项（2012ZX08011-002 和 2014ZX08011-001）

**E-mail: wjm840@163.com

***通讯作者，E-mail: xpchen@ippcaas.cn

收稿日期：2014-08-21，接受日期：2014-09-02

Key words　transgenic *cry1C* rice, yellow mealworm, non-target effect, safety assessment

自 2009 年 8 月农业部为“华恢 1 号”和“Bt 汕优 63”转基因抗虫水稻品系颁发在湖北省生产应用安全证书以来,转基因水稻是否安全引起国人的强烈关注(Lu,2010;Jia,2012)。任何转基因作物在商业化释放前都必须通过严格的环境安全评价试验,其中一个重要方面就是评价其对非靶标生物的影响(Yu *et al.*,2011;Li *et al.*,2014)。目前,关于转 Bt 基因水稻对非靶标生物的影响主要集中在陆地生态系统中的植食性害虫如飞虱、蓟马、叶蝉等(Akhtar *et al.*,2010;Mannakkara *et al.*,2013;Lu *et al.*,2014);害虫天敌如蜘蛛、草蛉等(Tian *et al.*,2010;刘立军等,2011;Wang *et al.*,2012);传粉昆虫如蜜蜂(刘家富,2013);经济昆虫如家蚕(Yao *et al.*,2008);以及土壤和土壤微生物(Wu *et al.*,2004;Liu *et al.*,2008)等。水稻储藏作为水稻生产与销售中的一个重要环节,却鲜见有关 Bt 稻谷在储藏期评价的报道。黄粉虫,又名面包虫,属于鞘翅目,在我国长江以北大部分地区均有分布,原属于仓储性害虫,但由于其属于杂食性昆虫,可以以米糠、麦麸等为饲料原料,容易饲养,因而,从仓库害虫变成重要的昆虫资源,成为倍受关注的人工养殖的活体饲料之王(陈彤和陈重光,2011)。

本试验以黄粉虫幼虫为研究对象,通过饲喂正常饲料以及不同含量的转 *cry1C* 基因抗虫水稻(T1C-19)及其亲本对照(MH63)稻谷,以期明确下面两个问题:(1)作为一种仓储害虫,黄粉虫可通过取食 Bt 稻谷而暴露于 Bt 蛋白中,那么 Bt 稻谷是否会对此非靶标仓储害虫的生长发育产生影响?(2)转 Bt 基因稻谷能否作为饲料,用于黄粉虫养殖?通过此研究,有助于了解转基因作物对非靶标害虫幼虫生长发育影响,从而为转 Bt 基因水稻的推广和应用提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　供试虫体

黄粉虫购自北京市官园花鸟市场,在室温 20℃左右饲养至化蛹,发育成成虫,产卵孵化获得幼虫,将孵出的幼虫用配合饲料(饲料配方见表 1)饲养 14 d,利用 14 日龄幼虫作为试验材料。

表 **1**　各试验组饲料配方组成

Table 1　The feed composition of each testing group

饲料成分(%) Feed composition (%)	对照 Control	62% T1C-19	62% MH63	100% T1C-19	100% MH63
稻谷 Rice grain	–	62	62	100	100
麦麸 Wheat bran	70	–	–	–	–
玉米 Corn	25	17.5	17.5	–	–

豆粕 Soybean meal	4.5	18	18	–	–
预混料 A Premix compound A	0.5	0.5	0.5	–	–

A：维生素 A ≥ 800 000 IU/kg；维生素 D ≥ 240 000 IU/kg；维生素 E ≥ 2 000 IU/kg；维生素 K ≥ 50 mg/kg；维生素 B_1 ≥ 200 mg/kg；维生素 B_2 ≥ 800 mg/kg；维生素 B_6 ≥ 350 mg/kg；维生素 B_{12} ≥ 1 mg/kg；泛酸钙 ≥ 2 000 mg/kg；烟酸 ≥ 3 500 mg/kg；叶酸 ≥ 75 mg/kg；生物素 ≥ 26 mg/kg。“–”: 无。

A: Vitamin A ≥ 800 000 IU/kg; Vitamin D ≥ 240 000 IU/kg; Vitamin E ≥ 2 000 IU/kg; Vitamin K≥ 50 mg/kg; Vitamin B_1 ≥ 200 mg/kg; Vitamin B_2 ≥ 800 mg/kg; Vitamin B_6 ≥ 350 mg/kg; Vitamin B_{12} ≥ 1 mg/kg; Calcium pantothenate ≥ 2 000 mg/kg; Niacin nicotinamide ≥ 3 500 mg/kg; Folic acid ≥ 75 mg/kg; Biotin ≥ 26 mg/kg. “–” means none.

1.2 供试水稻及处理

转 *cry1C* 基因抗虫水稻（T1C-19）及其亲本对照（MH63）稻种由华中农业大学林拥军教授提供，种植于中国农业科学院廊坊科研试验基地，按照转基因生物安全管理条例进行隔离和管理，生长期不施用任何农药。在水稻苗期采集新鲜的水稻叶片进行敏感昆虫的生物测定。收获期时收集稻谷，进行黄粉虫幼虫的饲喂试验。饲喂试验前，将 T1C-19 和 MH63 稻谷分别粉碎并过 120 目网筛，4℃保存，用于测定稻谷中 Cry1C 蛋白含量及常规营养成分。稻谷的常规营养成分由北京市营养源研究所测定。

1.3 供试水稻杀虫活性测定

将采集到的 T1C-19 和 MH63 新鲜叶片，剪切成大小相近的片状，测试其对二化螟的杀虫活性。试虫为初孵二化螟幼虫，每个处理接 40 头幼虫（每个处理 4 个重复，每个重复 10 头幼虫），封口避光培养于培养箱，温度 25℃，湿度为 70%，96 h 后调查死、活虫数，计算死亡率、校正死亡率。

1.4 试验设计

试验 1：试验设 5 个处理——黄粉虫正常饲料组（对照组）、复合 T1C-19 饲料组（62% T1C-19 组）、复合 MH63 饲料组（62% MH63 组）、单用 T1C-19 组（100% T1C-19 组）和单用 MH63 组（100% MH63 组），各组的饲料配方见表 1。每个处理设 4 个重复，每个重复 20 只幼虫。将黄粉虫幼虫接种至盛有饲料的 50 mm 培养皿中，于人工气候箱内饲养，温度（27±1）℃，空气相对湿度 60% ~ 80%。试验期间，每天记录下黄粉虫的存活情况，每 3 d 换一次料，每 9 d 称一次体重。当出现开始化蛹的症状时，从培养皿中挑出放入另外一个培养皿中，并记录下化蛹时间、化蛹只数和羽化情况。此外，在 1 个喂料周期（3 d）内，每天采集少量饲料样品，于 - 20℃保存，以检测在饲喂过程中稻谷 Cry1C 蛋白的降解情况。

试验 2：另设 100% T1C-19 和 100% MH63 饲喂组，设 4 个重复，每个重复 16 只幼虫。待幼虫取食稻谷粉 2 周后，分别从中随机选择 8 只幼虫，进行交叉饲喂，即原饲喂 T1C-19 稻谷的幼虫饲喂 MH63 稻谷，而原饲喂 MH63 稻谷组的幼虫饲喂 T1C-19 稻谷，并在交叉饲喂后，每天从各重复中取 2 只幼虫，称重后于–20℃保存，以测定虫体中 Cry1C 蛋白含量。

1.5 Cry1C 蛋白含量的测定

每个虫体样本加入 500 μL 提取液，研磨，13 000 r/min，离心 5 min，获得上清液，将上清

液按适当比例稀释，利用试剂盒进行测定。采集的稻谷样品经冷冻干燥 24 h，称重，研磨离心获得上清液。Cry1C 杀虫蛋白的含量采用 Bt-Cry1C 蛋白试剂盒（EnviroLogix 公司，美国）检测，用 4 个 Cry1C 标样，浓度分别为 0、0.6、2.5 和 6 μg/L，制作标准曲线。具体操作步骤参照试剂盒说明书进行，所有样本用酶标仪（BioTeK，Powerwave XS2）读取，设定波长为 450 nm，然后记录数据，根据标准曲线计算样品中 Cry1C 蛋白浓度。

1.6　数据处理

试验数据使用 SPSS13.0 软件进行统计分析，各处理间的体重、存活率、幼虫历期、化蛹率、羽化率以及虫体中 Cry1C 蛋白含量的差异显著性利用单因素（One-way ANOVA）Duncan's 方法比较，差异显著性水平设为 0.05。

2　结果与分析

2.1　饲料中 Cry1C 蛋白含量和常规营养成分

经检测，粉碎后 100% T1C-19 稻谷中 Cry1C 蛋白的平均含量为（1.06 ± 0.13）μg/g，62% T1C-19 组中的 Cry1C 蛋白含量为（0.58 ±0.09）μg/g，与理论值 0.66 μg/g 接近，而对照组以及 MH63 组中均未检测出 Cry1C 蛋白。100% T1C-19 稻谷和 100% MH63 稻谷组间在常规营养成分各检测指标上基本一致，具体见表 2。

2.2　供试水稻杀虫活性测定

经 T1C-19 水稻新鲜叶片饲喂 4 d 的二化螟幼虫死亡率为 97.2%，校正死亡率为 77.8%，表明我们的试验材料对靶标害虫——二化螟具有很好的杀虫活性，可用于下一步的黄粉虫幼虫饲喂试验。

2.3　对黄粉虫幼虫体重的影响

黄粉虫幼虫取食不同饲料后在不同时间点的体重情况见表 3。由表 3 可见，黄粉虫幼虫取食饲料 9~36 d 后，对照组在各时间点的体重均略高于 62% T1C-19 组与 62% MH63 组，但 3 组间差异均不显著（$P > 0.05$）；且这 3 组在各时间点的体重几乎都显著高于 100% T1C-19 组和 100% MH63 组（$P < 0.05$），但 100% T1C-19 组和 100% MH63 组间，除第 9 天 100% T1C-19 组的体重显著高于 100% MH63 外【（7.08 ±0.49）mg *vs*（6.24 ±0.89）mg，$P < 0.05$】，其他时间点均差异都不显著（$P > 0.05$）。此外，5 组的蛹重间无显著性差异。

2.4　对黄粉虫幼虫存活率、化蛹和羽化的影响

饲喂期间各组黄粉虫幼虫的存活率、幼虫历期、化蛹率和羽化率情况如表 4 所示。取食

表 2　T1C-19 和 MH63 稻谷 Cry1C 蛋白含量及常规营养成分

Table 2　Cry1C protein content and basic nutrition composition in T1C-19 and MH63 rice grain

组别 Group	Cry1C 含量 Cry1C content (μg/g)	粗蛋白 Crude protein (%)	粗脂肪 Crude fat (%)	粗纤维 Crude fibre (%)	粗灰分 Crude ash (%)	钙 Calcium (‰)
100% T1C-19	1.06 ±0.13	10.20	3.20	4.50	3.60	4.30
100% MH63	0	9.60	3.30	4.30	3.20	4.10

表 3　转 *cry1C* 基因稻谷对黄粉虫体重的影响（mg）

Table 3 Effect of transgenic *cry1C* rice grain on the weight of yellow mealworm (mg)

组别 Group	第 9 天 9th day	第 18 天 18th day	第 27 天 27th day	第 36 天 36th day	蛹重 Pupal weight
对照 Control	7.68 ±0.48[a]	15.03 ±0.48[a]	36.71 ±1.41[a]	81.12 ±1.23[a]	141.96 ±26.85
62% T1C-19	7.26 ±0.35[a]	14.57 ±0.94[ab]	35.76 ±2.05[a]	77.78 ±2.72[a]	150.73 ±23.98
62% MH63	7.14 ±0.84[a]	14.44 ±0.77[ab]	34.34 ±2.26[a]	74.69 ±2.29[a]	140.85 ±26.16
100% T1C-19	7.08 ±0.49[a]	13.11 ±1.78[bc]	29.31 ±2.00[b]	67.25 ±4.67[b]	150.90 ±28.29
100% MH63	6.24 ±0.89[b]	12.38 ±1.36[c]	27.38 ±1.44[b]	65.16 ±4.57[b]	139.97 ±25.12

同列数据后标有不同小写字母表示差异显著（$P < 0.05$）。下表同。

Values followed by different small letters indicate statistically different ($P < 0.05$). The same below.

表 **4** 转 ***cry1C*** 基因稻谷对黄粉虫存活率、幼虫历期、化蛹和羽化的影响

Table 4 Effects of transgenic *cry1C* rice grain on the survival, pupation and eclosion of yellow mealworm

组别 Group	第 36 天存活率 (%) Survival rate on the 36th day	幼虫历期 (d) Duration of larval stage	化蛹率 (%) Pupation rate	羽化率 (%) Eclosion rate
对照 Control	98.75 ±2.50	79.54±3.89	86.25 ±7.50	86.25 ±7.50
62% T1C-19	96.25 ±2.50	83.68±1.58	78.75 ±8.54	78.75 ±8.54
62% MH63	98.75 ±2.50	83.35±1.23	80.00 ±7.07	80.00 ±7.07
100% T1C-19	94.93 ±4.08	85.23±1.77	70.00 ±7.07	70.00 ±7.07
100% MH63	93.75 ±4.79	86.24±2.41	77.50 ±8.66	77.50 ±8.66

T1C-19 和 MH63 稻谷的黄粉虫幼虫存活率都在 93%以上，5 组间差异不显著（$P < 0.05$）。此外，取食对照饲料的黄粉虫幼虫期短于对照组，化蛹率和羽化率均高于其他组，但 5 组间差异均不显著（$P < 0.05$）。

2.5 一个饲喂周期内 T1C-19 饲料中 Cry1C 蛋白含量变化

一个饲喂周期内稻谷中 Cry1C 蛋白降解情况如图 1 所示。第 1 天时，100% T1C-19 和 62% T1C-19 饲料组中 Cry1C 蛋白含量分别为（0.69 ± 0.11）μg/g 和（0.52 ± 0.04）μg/g，分别为第 0 天（刚开始饲喂时，D_0） Cry1C 蛋白含量的 65.09%和 89.66%；此后 2 d，Cry1C 蛋白含量持续下降，第 3 天时分别为 D_0 的 38.68%和 60.03%。

2.6 黄粉虫幼虫体内 Cry1C 蛋白含量的变化情况

交叉饲喂后，黄粉虫幼虫体内的 Cry1C 蛋白含量见表 5。如表 5 所示，饲喂幼虫 T1C-19 稻谷 24~72 h 期间，幼虫体内 Cry1C 含量呈逐渐升高的趋势。当饲喂 T1C-19 稻谷的幼虫，转换成 MH63 饲喂后，幼虫体内 Cry1C 蛋白含量显著降低，72 h 时幼虫体内已检测不出 Cry1C 蛋白。而饲喂 MH63 稻谷的幼虫，在转换成 T1C-19 稻谷饲喂 24 h 后，幼虫体内即可检测出 Cry1C 蛋白（0.09 ± 0.09）μg/g，此后蛋白含量逐渐上升。

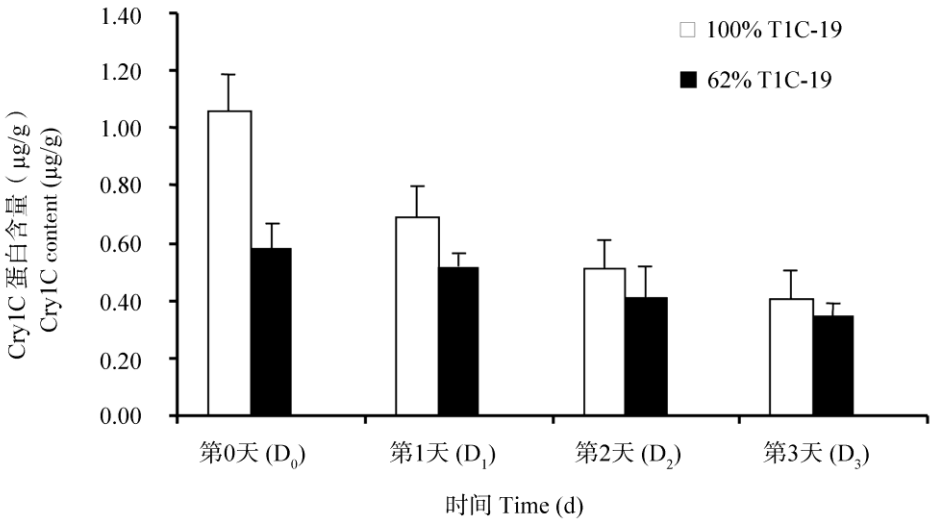

图 1 一个饲喂周期内 T1C-19 饲料中 Cry1C 蛋白含量变化
Fig. 1 Cry1C content in T1C-19 feed during an experimental period

表 5 交叉饲喂后黄粉虫幼虫体内 Cry1C 蛋白含量
Table 5 Cry1C content in larvae fed on exchanged rice

时间 Time (h)	Cry1C 蛋白含量 Cry1C content in larvae（μg/g）			
	T1C-19	T1C-19→MH63	MH63	MH63→T1C-19
24	0.14 ±0.08[a]	0.13 ±0.11[a]	0	0.09 ±0.09[a]
48	0.22 ±0.21[b]	0.02 ±0.02[b]	0	0.18 ±0.18[b]
72	0.31 ±0.14[c]	0	0	0.28 ±0.18[c]

3 讨论与结论

许多研究发现，通过 ELASA 法测定抗虫转基因作物组织或者人工配合饲料中含较高含量的 Bt 蛋白，但其对相应的靶标昆虫却不敏感，因而不具有生物活性。如果受试物不具有生物活性，研究其对非靶标昆虫的影响显得不具有意义，因此，在研究受试物对非靶标生物的影响前，通过敏感昆虫的生物学测定了解受试物的生物活性显得尤为重要(Carsterns *et al.*, 2011；Romeis *et al.*, 2011)。本试验中 T1C-19 水稻叶片对二化螟显示了较高的杀虫活性，说明 T1C-19 水稻表达的目的蛋白 Cry1C 对靶标害虫具有很高的生物活性。同时，本试验中采用的 T1C-19 稻谷与其

* 资助项目：转基因生物新品种培育科技重大专项（2012ZX08011-002 和 2014ZX08011-001）
**E-mail: wjm840@163.com
***通讯作者，E-mail: xpchen@ippcaas.cn
收稿日期：2014-08-21，接受日期：2014-09-02

亲本对照 MH63 在常规营养成分上基本一致（表 2），这使得研究结果更为可靠。

目前，大量研究结果表明 Bt 水稻的非靶标生物体可通过取食 Bt 作物组织或取食含有 Bt 蛋白的猎物暴露于 Bt 蛋白中。稻纵卷叶螟幼虫取食转 *cry1Ab/1Ac* 基因水稻叶片 12、24 、36、48 h 后，在其体内和粪便中均检测到了不同含量的 Bt 蛋白（张巍等，2008）。褐飞虱在克螟稻上连续取食 1 代后，体内 Cry1Ab 蛋白含量为 3 μg/g 左右，而连续取食 9 代后 Cry1Ab 蛋白含量上升至 5 μg/g 左右（李兆亮等，2011）。Wang 等（2012）用含 Cry2A 蛋白的水稻花粉饲喂草蛉成虫，26 d 后发现雌性个体中 Bt 蛋白含量约为 2.27 μg/g。本试验中经 MH63 饲喂的黄粉虫换成 T1C-19 饲料后，其体内 Bt 蛋白含量逐渐上升，而经 T1C-19 稻谷饲喂的黄粉虫换成 MH63 稻谷后，其体内 Bt 蛋白含量逐渐降低，表明 Cry1C 蛋白可在黄粉虫体内累积并快速降解。

Cry1C 蛋白属于 Bt 蛋白的一种，该蛋白对鳞翅目害虫具有很好的抗虫效果（Avisar *et al.*，2009；Zheng *et al.*，2011），对热较稳定，但在体外人工模拟胃肠液中可被快速消化，以 5 g/kg 体重剂量强饲大鼠，未引起不良影响（Cao *et al.*，2010）。有关 Bt 稻谷对仓储害虫影响的研究结果显示，与对照组相比，与靶标害虫同为鳞翅目的麦蛾和印度谷螟的存活率、产卵量显示下降（赵文娟，2009），发育历期显著延长（王平，2007；赵文娟，2009），而非靶标仓储害虫如赤拟谷盗、谷蠹、书虱、玉米象等均未受到明显的负面影响（蔡万伦等，2006，2008；王平，2007；唐庆峰等，2009；赵文娟，2009）。本试验得到了与上述相似的结果，虽然黄粉虫通过取食含 Cry1C 蛋白的稻谷暴露于 Bt 蛋白中，但其体重、存活率、幼虫历期、化蛹率和羽化率与 MH63 组相比差异均不显著，表明 Cry1C 蛋白只对靶标害虫具有很好的抗性，而对非靶标害虫——黄粉虫（鞘翅目）的生长发育没有产生明显的不良影响。此外，62%稻谷组的黄粉虫幼虫生长发育情况与对照组基本一致，表明 Bt 稻谷可用于黄粉虫的养殖。

我们的试验结果表明，转 *cry1C* 基因稻谷对黄粉虫幼虫的生长发育没有明显的负面影响，因而，黄粉虫对 Cry1C 蛋白不敏感，可作为上级营养层（如蛙类）的猎物用于三级营养试验（Li and Romeis，2010；Li *et al.*，2011）。此外，由于黄粉虫属于鞘翅目，材料容易获得、饲养容易、世代间隔短，可将其作为 CryIII 类蛋白的靶标害虫模型，研究转 CryIII 类基因作物对靶标害虫的作用机理。

参考文献 **(References)**

Akhtar ZR, Tian JC, Chen Y, Fang Q, Hu C, Chen M, Peng YF, Ye GY, 2010. Impacts of six bt rice lines on nontarget rice feeding thrips under laboratory and field conditions. *Environ. Entomol.*, 39(2): 715−726.

Avisar D, Eilenberg H, Keller M, Reznik N, Segal M, Sneh B, Zilberstein A, 2009. The *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin Cry1C as a potential bioinsecticide in plants. *Plant Sci.*, 176 (3): 315−324.

Cao SS, He XY, Xu WT, Ran WJ, Liang LX, Luo YB, Yuan YF, Zhang N, Zhou X, Huang KL, 2010. Safety assessment of Cry1C protein from genetically modified rice according to the national standards of PR China for a new food resource. *Regul. Toxicol. Pharm.*, 58(3): 474–481.

Carstens K, Anderson J, Bachman P, Schrijver AD, Dively G, Federici B, Hamer M, Gielkens M, Jensen P, Lamp W, Rauschen S, Ridley G, Romeis J, Waggoner A, 2012. Genetically modified crops and aquatic ecosystems: considerations for environmental risk assessment and non-target organism testing. *Transgenic Res.*, 21(4): 813–842.

Jia HP, 2010. Chinese green light for GM rice and maize prompts outcry. *Nat. Biotechnol.*, 28(5): 390−391.

Li YH, Romeis J, 2010. Bt maize expressing Cry3Bb1 does not harm the spider mite, *Tetranychus urticae*, or its ladybird beetle predator, Stethorus punctillum. *Biol. Control*, 53(3): 337–344.

Li YH, Romeis J, Wang P, Peng YF, Shelton AM, 2011. A comprehensive assessment of the effects of Bt cotton on *Coleomegilla maculata* demonstrates no detrimental effects by Cry1Ac and Cry2Ab. *PLoS ONE*, 6(7): e22185.

Li YH, Romeis J, Wu KM, Peng YF, 2014. Tier-1 assays for assessing the toxicity of insecticidal proteins produced by genetically engineered plants to non-target arthropods. *Insect Sci.*, 21(2): 125–134.

Liu W, Lu HH, Wu WX, Wei QK, Chen YX, Thies JC, 2008. Transgenic Bt rice does not affect enzyme activities and microbial composition in the rhizosphere during crop development. *Soil Biol. Biochem.*, 40(2): 475–486.

Lu C, 2010. The first approved transgenic rice in China. *GM Crops*, 1(3): 113–115.

Lu ZB, Tian JC, Wang W, Xu HX, Hu C, Guo YY, Peng YF, Ye GY, 2014. Impacts of Bt rice expressing Cry1C or Cry2A protein on the performance of nontarget leafhopper, *Nephotettix cincticeps* (Hemiptera: Cicadellidae), under laboratory and field conditions. *Environ. Entomol.*, 43(1): 209–217.

Mannakkara A, Niu L, Ma W, Lei C, 2013. Zero effect of Bt rice on expression of genes coding for digestion, detoxification and immune responses and developmental performances of brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stål). *J. Insect Physiol.*, 59(10): 985–993.

Romeis J, Hellmich RL, Candolfi MP, Carstens K, Schrijver AD, Gatehouse AMR, Herman RA, Huesing JE, McLean MA, Raybould A, Shelton AM, Waggoner A, 2011. Recommendation for the design of laboratory studies on non-target arthropods for risk assessment of genetically engineered plants. *Transgenic Res.*, 20(1): 1–22.

Tian JC, Liu C, Chen M, Chen Y, Chen XX, Peng YF, Hu C, Ye GY, 2010. Laboratory and field assessments of prey-mediated effects of transgenic Bt rice on *Ummeliata insecticeps* (Araneida: Linyphiidae). *Environ.Entomol.*, 39(4): 1369–1377.

Wang YY, Li YH, Romeis J, Chen XP, Zhang J, Chen HY, Peng YF, 2012. Consumption of Bt rice pollen expressing Cry2Aa does not cause adverse effects on adult *Chrysoperla sinica* Tjeder (Neuroptera: Chrysopidae). *Biol. Control*, 61(3): 246–251.

Wu WX, Ye QF, Min H, 2004. Effect of straws from Bt-transgenic rice on selected biological activities in water-flooded soil. *Eur. J. Soil Biol.*, 40(1): 15–22.

Yao HW, Jiang CY, Ye GY, Hu C, Peng YF, 2008. Toxicological assessment of pollen from different Bt rice lines on *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombyxidae). *Environ. Entomol.*, 37(3): 825–837.

Yu HL, Li YH, Wu KM, 2011. Risk assessment and ecological effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* crops on non-target organisms. *J. Integr. Plant Biol.*, 53(7): 520–538.

Zheng XS, Yang YJ, Xu HX, Chen H, Wang BJ, Lin YJ, Lu ZX, 2011. Resistance performances of transgenic bt rice lines T2A-1 and T1c-19 against *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Ecol. Entomol.*, 104(5): 1730–1735.

蔡万伦, 石尚柏, 杨长举, 彭于发, 全明刚, 2006. 转 Bt 基因水稻稻谷对几种主要储粮害虫的影响. 生物技术通报, 增刊: 268–271. [Cai WL, Shi SB, Yang CQ, Peng YF, Quan MG, 2006. Effects of transgenic Bt rice grain on the several main storage pests. *Biotechnology bulletin*, 2006, supplement: 268–271.]

蔡万伦, 张宏宇, 杨杉, 杨长举, 华红霞, 彭于发, 2008. 转 Bt 基因水稻稻谷对赤拟谷盗生长发育的影响. 植物保护学报, 35(5): 471–472. [Cai WL, Zhang HY, Yang S, Yang CJ, Hua HX, Peng YF, 2008. Impact of Bt rice grain on the development of red flour beetle, *Triboliumcas taneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Acta Phytophylacica Sinica*, 35(5): 471–472.]

陈彤, 陈重光, 2011. 黄粉虫的养殖与利用. 北京: 金盾出版社. 60–66. [Chen T, Chen CG, 2011. Breeding and utilization of yellow mealworm. Beijing: JinDun Publishing House. 60–66.]

李兆亮, 姚洪渭, 陈洋, 田俊策, 彭于发, 叶恭银, 2011. 取食转 Bt 基因水稻褐飞虱对杀虫剂的敏感性及其代谢酶的活性. 中国生物防治学报, 27(1): 55–62. [Li ZL, Yao HW, Chen Y, Tian JC, Peng YF, Ye GY, 2011. Insecticide susceptibility and activity of metabolic enzymes of brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål) (Hemiptera: Delphacidae) feeding on transgenic Bt rice. *Chinese Journal of Biological Control*, 27(1): 55–62.]

刘家富, 2013. 蜜蜂在水稻上的访花行为及其介导花粉扩散的研究. 硕士学位论文. 杭州: 浙江大学. [Liu JF, 2013. Study of honeybee's visiting behavior on rice and rice pollens diffusion via honeybee. Master Dissertation. Hangzhou: Zhejiang University.]

刘立军, 黄毅, 段妍慧, 张志罡, 颜亨梅, 付秀芹, 2011. 转基因水稻表达的 Bt 蛋白对拟环纹豹蛛 (Pardosa pseudoannulata) 生长发育的影响. 激光生物学报, 20(1): 45–50. [Liu LJ, Huang Y, Duan YH, Zhang ZG, Yan HM, Fu XQ, 2011. Effects of Bt protein expressed by transgenic rice on the development of wolf spider (*Pardosa pseudoannulata*). *Acta Laser Biology Sinica*, 20(1): 45–50.]

唐庆峰, 吴跃进, 刘斌美, 陶亮之, 张从合, 陈金节, 2009. 转

Bt 基因水稻稻谷对玉米象生长发育的影响及 Bt 毒蛋白在玉米象体内的降解动态. 中国粮油学会储藏分会第六次学术年会. 256–258. [Tang QF, Wu YJ, Liu BM, Tao LZ, Zhang CH, Chen JJ, 2009. Effects of transgenic *Bt* rice grain on the development of maize weevil and the dynamic degradation of Bt toxin in the maize weevil. Chinese cereals and oils association, Storage branch, the sixth academic annual meeting. 256–258.]

王平, 2007. 转 Bt 基因水稻稻谷对储藏特性及仓储节肢动物群落的影响. 硕士学位论文. 武汉: 华中农业大学. [Wang P, 2007. Effects of transgenic *Bt* rice grain on storage features and the community of warehousing arthropods. Master Dissertation. Wuhan: Huazhong Agriculture University.]

张巍, 张志罡, 付秀芹, 刘立军, 颜亨梅, 2008. 转 Bt 基因水稻对稻纵卷叶螟幼虫体内三种保护酶活性的影响. 昆虫学报, 51(10): 1022–1027. [Zhang W, Zhang ZG, Fu XQ, Liu LJ, Yan HM, 2008. Effects of transgenic Bt rice on the activities of three protective enzymes in larvae of the rice leaffolder, *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera : Pyralidae). *Acta Entomologica Sinica*, 51(10): 1022–1027.]

赵文娟, 2009. 转 Bt 基因稻谷储藏期对四种储粮害虫的影响. 硕士学位论文. 重庆: 西南大学. Zhao WJ, 2009. Effects of storage period of transgenic Bt rice grain on the four insect pests. Master Dissertation. Chongqing: Southwest University.]