

基于 CO I 基因的二化螟种群遗传多样性检测方法*

李 晴¹ 梁玉勇² 厉建蕾¹ 程正新² 熊焕保² 刘雨芳³ 桂芳艳³ 马 伟^{1**}

(1. 上海交通大学生命科学技术学院, 微生物代谢国家重点实验室, 上海 200240; 2. 江西省农科院植物保护研究所, 南昌 330200; 3. 湖南科技大学 生命科学学院, 湘潭 411201)

摘 要 【目的】建立二化螟 *Chilo suppressalis* (Walker) 遗传多样性检测与分析方法, 以研究转基因水稻是否会对二化螟(靶标昆虫)种群遗传多样性产生显著影响。【方法】从江西、湖南两地采集的二化螟样本中, 各随机挑选 12 只, 提取基因组 DNA, 克隆 CO I 基因的 35~692 bp 区段(658 bp)进行测序; 同时, 采用 PCR-DGGE 技术分析江西 3 个样本的 CO I 基因遗传多样性, 以获取样本群体遗传多样性信息。【结果】对 158 个 CO I 基因克隆测序结果分析发现, 在 658 bp 的区段中, 共有 173 个位点存在多态, 江西二化螟种群的单倍型多样性(h)为 0.820, 而湖南二化螟种群的单倍型多样性(h)仅为 0.542, 江西二化螟 CO I 基因多态要比湖南样本丰富。对 CO I 基因 1 278~1 493 bp 区段(266 bp)进行 DGGE 分析, 共获得 5 条清晰条带, 将分析的 3 只二化螟样本分成两类, 该结果与基因测序结果一致。【结论】测序方法可以获得丰富、详细的二化螟目标基因多态信息, 但工作量、实验周期及成本较高; DGGE 方法虽然信息量较小, 但有通量大、实验周期短、成本低等优点, 因此该方法适用于二化螟等昆虫大样本种群遗传多样性研究。本研究建立的方法可以为判断转基因水稻是否会对靶标、非靶标昆虫的遗传多样性产生影响提供可靠的分子依据。

关键词 二化螟, 转基因水稻, CO I, 遗传多样性, DGGE

Genetic diversity of *Chilo suppressalis* (Walker) as determined by partial CO I gene sequencing and DGGE

LI Qing¹ LIANG Yu-Yong² LI Jian-Lei¹ CHENG Zheng-Xin² XIONG Huan-Bao²
LIU Yu-Fang³ GUI Fang-Yan³ MA Wei^{1**}

(1. School of Life Sciences and Biotechnology, Shanghai JiaoTong University, State Key Laboratory of Microbial Metabolism, Shanghai 200240, China; 2. Institute of Plant Protection, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang 330200, China; 3. School of Life Science, Hunan University of Science and Technology, Xiangtan 411201, China)

Abstract 【Objectives】To investigate whether or not transgenic rice will affect the genetic diversity of *Chilo suppressalis* (Walker). 【Methods】12 individuals of *C. suppressalis* were randomly selected respectively from specimens collected in Jiangxi and Hunan. After extraction of genomic DNA, PCR and cloning of 658 bp fragment from the CO I gene (35 - 692 bp), 158 clones were sequenced. Meanwhile three worms were analyzed by PCR-DGGE. 【Results】173 polymorphic sites were identified in the 658 bp fragment. The haplotype diversity (h) of Jiangxi samples was 0.820 whereas that of Hunan samples was only 0.542, suggesting greater CO I gene polymorphism in Jiangxi than Hunan population. DGGE analysis of a 266-bp-fragment in the CO I gene (1 278-1 493 bp) resulted in five distinct bands. Three worms could be clustered into two groups, which is consistent with result of gene sequencing. 【Conclusion】Sequencing can obtain more detailed information

* 资助项目: 转基因生物新品种培育重大专项(2012ZX08011002)

**E-mail: wma@sjtu.edu.cn

收稿日期: 2014-08-21, 接受日期: 2014-09-02

on the genetic diversity of target genes in *C. suppressalis* but is higher in cost and is relatively time consuming. DGGE provides less information but is a high-throughput method. If the DGGE system is well optimized and used properly, large numbers of samples can be analyzed in a reasonable period of time. So DGGE is suitable for investigating whether or not transgenic rice will affect the population genetic diversity of target insects, i.e. *C. suppressalis*, and non-target insect, i.e. rice plant hoppers.

Key words *Chilo suppressalis*, transgenic rice, CO_{II}, genetic diversity, DGGE

二化螟 *Chilo suppressalis* (Walker) 属有翅亚纲, 鳞翅目, 螟蛾科, 广泛分布于亚洲, 欧洲和中东地区, 我国除西藏、青海外的几乎所有水稻种植区均受到二化螟危害 (Meng *et al.*, 2008)。我国每年因水稻病虫害造成减产 400~500 万 t (王艳青, 2006), 2010 年湖南省水稻病虫害发生 2253 万 hm², 造成粮食损失 71.72 万 t (何超和青先国, 2012)。目前, 二化螟的防治主要采用化学农药, 化学农药的大量使用不仅污染环境, 农药残留也会对人类的健康造成潜在影响, 如致内分泌紊乱, 致癌致突变等毒性作用 (Kavlock *et al.*, 1996), 而且, 化学杀虫剂的长期使用会导致的二化螟耐药性的产生 (熊件妹等, 2006), 杀虫剂防治效果下降 (陆玉荣等, 2003)。

转 Bt 基因的克螟稻用于防治二化螟, 在提高水稻产量、减少化学杀虫剂使用、增加农民收入等方面具有优势。虽然我国转 Bt 基因水稻已成功培育多年, 并于 2012 年获得农业部田间试验许可证, 但是, 商业化种植仍还有包括食品安全、生态安全等诸多方面的研究工作要做 (薛达元, 2004)。在转基因水稻生态安全方面, 国内外已有一些针对转基因水稻种植对稻田土壤、水体中的微生物、植物、动物等多种优势类群的影响的研究 (韩兰芝, 2007; 蓝瑾瑾, 2012; 宋亚娜等, 2012)。其中, 对靶标、非靶标昆虫研究主要集中在种群数量动态方面。而对于昆虫种群健康的重要指标之一的种群遗传多样性等方面的调查研究还比较少。

位于细胞质中的线粒体基因组全长约 16 kb, 不含内含子, 结构简单, 无重复序列。而且, 线粒体基因组的突变速率远高于细胞核基因

组, 因此, 具有更丰富的多态性 (魏书军和陈学新, 2011), 适合开展近缘物种系统发育和种群遗传多样性等方面研究 (乔枫等, 2014)。

在昆虫线粒体基因组中的 13 个蛋白质编码基因中, 目前主要利用细胞色素 C 氧化酶亚基 (cytochrome C oxidize, CO_{II})、细胞色素 C 氧化酶亚基 (Cytochrome C oxidize, CO_{II})、细胞色素 b (Cytochrome b, Cyt b) 等基因开展遗传多样性等方面研究 (Yin *et al.*, 2011)。Meng 等 (2008) 利用微卫星标记和线粒体基因序列分析了我国二化螟的种群遗传结构, Yin 等 (2011) 报道了二化螟线粒体的全基因组序列, 相关工作为利用 CO_{II} 等基因开展二化螟种群遗传多样性研究打下了基础。

本研究拟采用序列测定与变性梯度凝胶电泳 (Denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE) 两种方法, 获取采集自江西、湖南两地的二化螟样本的 CO_{II} 基因的多态性数据, 并进而分析两地二化螟种群的遗传多样性。本工作建立的二化螟遗传多样性研究技术, 将有助于研究转基因水稻是否会对二化螟 (靶标昆虫) 种群遗传多样性产生显著影响等科学问题。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本研究于 2013 年 8 月分别在江西省农科院位于广福、湖南科技大学位于湘潭的明恢 63 水稻实验田各采集 30 只二化螟, 从中分别随机选取 12 只个体进行 CO_{II} 基因的克隆与序列测定, 部分样品同时开展 PCR-DGGE 分析 (表 1)。

表 1 样品来源、数量和测序数量
Table 1 Sample number, source and number of sequencing

采样地区 Sampling locality	样本数量 Number of sample	样本编号 ¹ Code of Sample	测序数量 ² Number of sequencing
江西省南昌 Nanchang, Jiangxi (N28°37', E116°03')	12	JX1308A1	12
		JX1308A2	11
		JX1308A3	2
		JX1308A4	2
		JX1308A5	1
		JX1308A6	2
		JX1308A7	10
		JX1308A8	8
		JX1308C1	9
		JX1308C2	10
		JX1308C3	14
		JX1308C4	12
湖南省湘潭市 Xiangtan, Hunan (N27°49', E112°55')	12	HN1308A1	2
		HN1308A2	12
		HN1308A3	11
		HN1308A4	2
		HN1308A5	2
		HN1308A6	9
		HN1308B1	10
		HN1308B2	2
		HN1308B3	2
		HN1308B4	1
		HN1308B5	10
		HN1308B6	2

1：样本编号前两个字母代表采样点，JX 代表江西地区；HN 代表湖南地区。2：测序数量为每个虫体 CO I 基因阳性克隆测序数目。
1: In code of sample, first two letters stand for sampling locality, JX for Jiangxi Province and HN for Hunan Province respectively. 2: Number of sequencing stands for the number of positive CO I clones sequenced from one individual.

1.1.1 试剂 DNA 提取采用北京天根生化科技的动物组织基因组提取试剂盒；PCR 采用 TOYOBA 公司的 KOD-plus-neo 高保真 DNA 聚合酶进行扩增；PCR 产物采用北京天根生化科技公司的零背景克隆试剂盒进行克隆；CO I 基因 PCR 扩增采用杨倩倩等（2012）报道的引物 LCO1490，HCO2198，扩增产物大小为 658 bp。

DGGE 分析用引物使用 Primer 5.0 设计，CO F：5'-CGGGGCGGGGGCACGGGGGCTTTAGG NTTAGCAGG-3'；CO R：5'-TCAGCAGGTGG TAGAT-3'。扩增产物片段长约 266 bp。引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成；DNA 测序由上海桑尼生物科技有限公司进行。
1.1.2 主要仪器设备 DNA 浓度测定使用 GE

公司 Nanovue plus; 变性梯度凝胶电泳采用 Bio-Rad Decode; 凝胶紫外观察及照相采用上海天能公司的凝胶成像仪 3000。

1.2 方法

二化螟基因组 DNA 提取按照相关试剂盒操作方法进行, 提取的基因组 DNA 分别采用琼脂糖凝胶电泳与分光光度计检测 DNA 的浓度、质量 (A260/A280 等) 后, 置于 -20℃ 保存。

1.3 CO 基因的 PCR 扩增、克隆及序列测定

采用 KOD-plus-neo 高保真 DNA 聚合酶扩增 CO I 基因 35~692 bp 共 658 bp 的片段, 反应总体积为 50 μ L, 反应程序如下: 94℃ 预变性 2 min, 98℃ 变性 10 s, 52℃ 退火 30 s, 68℃ 延伸 21 s, 共 35 个循环, 68℃ 延伸 7 min。PCR 产物 -20℃ 保存。扩增产物用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测 CO 基因扩增片段大小与扩增效率, 合格 PCR 产物经电泳、割胶回收纯化后, 对 PCR 产物进行克隆, 阳性克隆经菌落 PCR 验证后送测序。为获取每地二化螟种群整体及个体的 CO 基因多态信息, 江西有 4 只测 1~2 个阳性克隆, 另 8 只测 8~14 个阳性克隆, 湖南有 7 只测 1~2 个阳性克隆, 另 5 只测 9~12 个阳性克隆。

1.4 CO I 基因多态的 PCR-DGGE 分析

1.4.1 PCR PCR 反应总体积为 50 μ L, 反应条件: 94℃ 4 min, 94℃ 30 s, 52℃ 30 s, 72℃ 20 s, 30 个循环, 72℃ 7 min。PCR 产物 -20℃ 保存。

1.4.2 DGGE (1) 变性胶: 变性剂浓度梯度范围为: 40% 到 80% (100% 的变性剂为 7 mol/L 的尿素和 40% 的去离子甲酰胺的混合物), 聚丙烯酰胺凝胶浓度为 8%。(2) PCR 产物上样量为 20~30 μ L。(3) 电泳: 电泳温度为 60℃, 200 V 电泳 1 h, 150 V 电泳 1.5 h。(4) 染色: 电泳完毕后, 将凝胶于 SYBR Green 中染色 (温和振荡) 45 min。(5) 电泳结果观察与记录: 采用凝胶成像仪观察实验结果并拍照记录。

1.5 CO I 基因序列分析

测序结果经整理、校对、去除载体、引物和低质量序列后, 使用 ClustalX2 (Larkin *et al.*, 2007) 进行多序列比对, 确定存在多态的位点; 使用 DNAsp5.0 (Librado and Rozas, 2009) 进行基因多态性统计, 包括单倍型数量, 单倍型分布, 多态性位点, 单倍型多态性 (h , 样本中随机抽取到两个不同单倍型的频率) 和核苷酸多态性 (π , 样本之间单一一位点发生核苷酸替换的平均数量)。使用 MEGA6.0 (Tamura *et al.*, 2013) 计算不同单倍型之间的 Kimura-2-Parameter 遗传距离, 构建基于 CO 序列的 UPGMA 系统进化树。

2 结果与分析

2.1 基于 CO I 基因测序的二化螟遗传多样性检测

2.1.1 江西、湖南两地二化螟 CO 基因 35~692 bp 区段序列测定 对采集自江西、湖南稻田的二化螟样本进行 CO 序列测定, 共获得 158 个测序结果。测序结果分析发现, 在二化螟 CO 基因 35~692 bp 区段中, 序列平均 G+C 含量为 30.0%, 该区段存在较丰富的多态性, 在总长度仅 658 bp 的片段中共发现 173 个多态位点, 多态位点分布存在聚集的现象, 150~227 bp 区段为保守区段, 多态位点较少 (表 2)。

2.1.2 江西、湖南两地二化螟 CO I 基因 35~692 bp 区段单倍型分析 对 CO 基因片段的 158 个测序结果进行单倍型分析, 共确定 20 个单倍型: CO_01~CO_20 (表 2), 单倍型序列数据已提交 Gene Bank (KM510319~KM510338)。江西样本的单倍型多样性 (h) 达 0.829, 核苷酸多态性 (π) 达 0.05721, 而湖南样本单倍型多样性 (h) 仅为 0.542, 核苷酸多态性 (π) 为 0.02883。

在湖南湘潭二化螟种群中发现 CO_14、CO_17、CO_20 3 种单倍型, 其中, CO_14 为优势单倍型, 占总数的 63.1%; 江西南昌二化螟种群中共发现 17 种单倍型, 其中, CO_01 (10.8%)、CO_06 (31.2%)、CO_15 (21.5%)、CO_18 (11.8%)。具体单倍型数量及分布信息见图 1。

表 2 二化螟种群的遗传多样性统计
Table 2 Genetic diversity statistics of population of *Chilo suppressalis*

采样地区 Sampling locality	CO I 测序 数量 Number of sequencing	单倍型数量 Number of haplotype	多态性位点百分比 (%) Percentage of polymorphic site	CO I 基因 (部分) CO I gene (partial)		保守 区段 Conserved regions
				单倍型多样性(h) Haplotype diversity	核苷酸多态 度(π) Nucleotide diversity	
江西南昌 Nanchang, Jiangxi	93	17	22.3	0.829	0.05721	158-222, 570-622, 576-628
湖南湘潭 Xiangtan, Hunan	65	3	15.5	0.542	0.02883	122-196, 218-262
江西南昌和湖 南湘潭 Nanchang, Jiangxi and Xiangtan, Hunan	158	20	26.4	0.864	0.05473	150-227

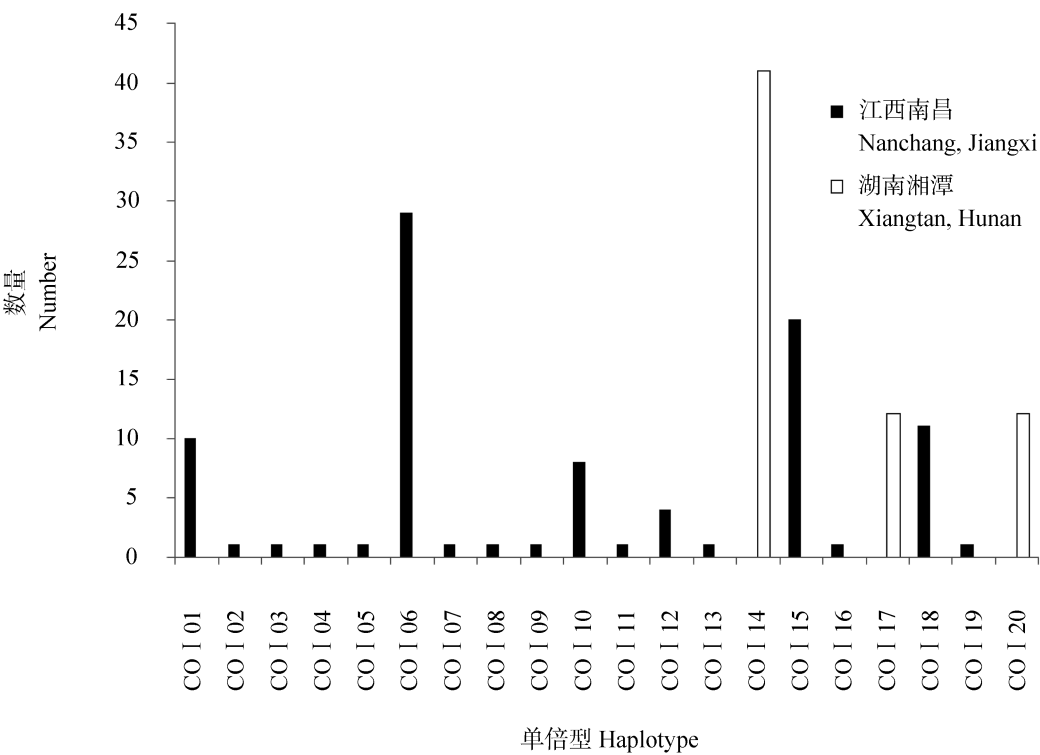


图 1 二化螟单倍型种类及地理分布
Fig. 1 Types and geographical distribution of haplotype of *Chilo suppressalis*

单倍型多样性 (h)、核苷酸多态性 (π) 与单倍型分析结果都表明,采集自江西南昌的二化螟 CO I 基因存在更丰富的多态。

2.1.3 二化螟个体内 CO I 基因多态分析 对来自同一个体的 CO I 基因克隆的测序结果汇总见表 3。从表 3 中可以看到,采集自江西南昌的 8 个二化螟个体,除两个个体只测到一种单倍型外,其余 6 个个体分别检测到 2~5 个单倍型;而采集自湖南的 5 个二化螟个体,虽然每个个体的 CO I 基因分别测了 9~12 个克隆,但每只虫均只测到一种单倍型。江西采样群体的 CO I 基因异质程度 (平均 2.63) 要显著高于湖南采样群体 (平均 1.00)。

2.1.4 不同单倍型的系统发育特征 采用 MEGA 6.0 软件中的 UPGMA 算法,构建了 CO

基因(部分)单倍型的系统发生树,并用 Bootstrap 方法进行检验,结果见图 2。结果显示,采样自湖南湘潭地区的二化螟样本中,CO I 14 和 CO I 17 最为相似,而 CO I 20 与江西南昌地区的 CO I 18 和 CO I 19 较相似,即两地区的单倍型在系统发生树中呈混杂分布。

2.2 DGGE 检测二化螟个体内遗传多样性

对 JX1308C3、JX1308C2、JX1308A1 3 个个体的 CO I 基因进行了 PCR-DGGE 分析,结果见图 3。JX1308C3 PCR 产物有 5 条可检测条带, JX1308C2 和 JX1308A1 产物分别有 4 条可检测条带,即 JX1308C2、JX1308A1 的 DGGE 指纹图谱较为相似 (图 3 : B),与根据 CO I 基因测序结果绘制的系统发生树结果一致 (图 3 : A)。

表 3 二化螟个体 CO I 基因 35~692 bp 区段异质性分析
Table 3 Heterogeneity analysis of CO I gene (35-692 bp) of individual *Chilo suppressalis*

样本编号 Code of sample	CO I 测序数量 Number of sequencing	单倍型数量 Number of haplotype	多态性位点百分比 (%) Percentage of polymorphic site	CO I 基因 (部分) CO I gene (partial)	
				单倍型多样性 (h) Haplotype diversity	核苷酸多态性 (π) Nucleotide diversity
JX1308A1	12	4	1.98	0.455	0.00474
JX1308A2	11	1	0.00	0.000	0.00000
JX1308A7	10	2	0.15	0.200	0.00030
JX1308A8	8	1	0.00	0.000	0.00000
JX1308C1	9	2	0.15	0.222	0.00034
JX1308C2	10	3	0.30	0.378	0.00030
JX1308C3	14	5	15.30	0.506	0.02605
JX1308C4	12	3	11.09	0.318	0.01826
江西均值 Average of Jiangxi	11	2.63	3.62	0.260	0.00625
HN1308A2	12	1	0.00	0.000	0.00000
HN1308A3	11	1	0.00	0.000	0.00000
HN1308A6	9	1	0.00	0.000	0.00000
HN1308B1	10	1	0.00	0.000	0.00000
HN1308B5	10	1	0.00	0.000	0.00000
湖南均值 Average of Hunan	10	1	0.00	0.000	0.00000

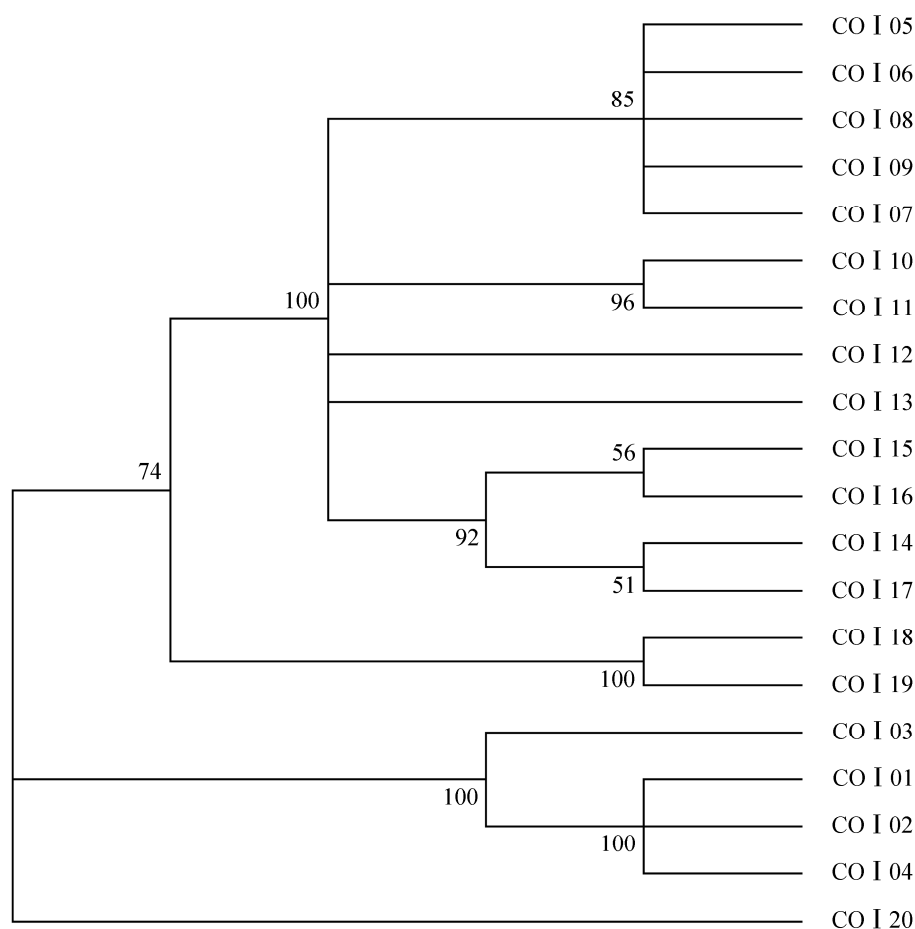


图 2 基于 CO I 基因片段构建的二化螟单倍型的 UPGMA 树
Fig. 2 UPGMA tree of haplotype of *Chilo suppressalis* based on CO I gene segment
分支上数值为 bootstrap 1 000 次分支检验置信值。
Numbers on each node are the values of bootstrap 1 000 replicates.

3 讨论

本工作对江西、湖南各 12 只二化螟 CO I 基因 35~692 bp (658 bp) 区段的共计 158 个测序结果分析发现,该区段存在丰富的多态(共 173 个多态位点),因此该区段适合进行二化螟种群遗传多样性分析。后续选择 DGGE 分析区段时,应对该区段给予充分的重视。

江西 CO I 基因 35~692 bp 区段单倍型比湖南种群丰富,有可能两地二化螟种群的 CO I 基因遗传多样性确实存在差别,但也可能与本工作采集的二化螟样本较少及采样的随机性有关,真正的原因有待多地采集、扩大样本后揭示。鉴于

CO I 参与电子传递等重要生物学过程,该基因的序列差异对二化螟能量代谢、解毒等重要功能将产生显著影响,因此该基因单倍型相关研究,可能为二化螟抗药性研究、虫害发生趋势预测等提供有价值信息。

本工作同时运用 CO I (部分)基因测序和 PCR-DGGE 两种方法分析 JX1308C3、JX1308C2、JX1308A1 3 个个体的遗传多样性,得到的结果基本相同。实验过程及结果说明,测序方法虽然可以灵敏、直观地发现 SNP、Indel 等基因突变事件,获得丰富的种群、个体遗传多样性的信息,但是,由于测序需要进行 PCR 扩增、克隆、测序等工作,因此存在实验周期长、实验成本高等

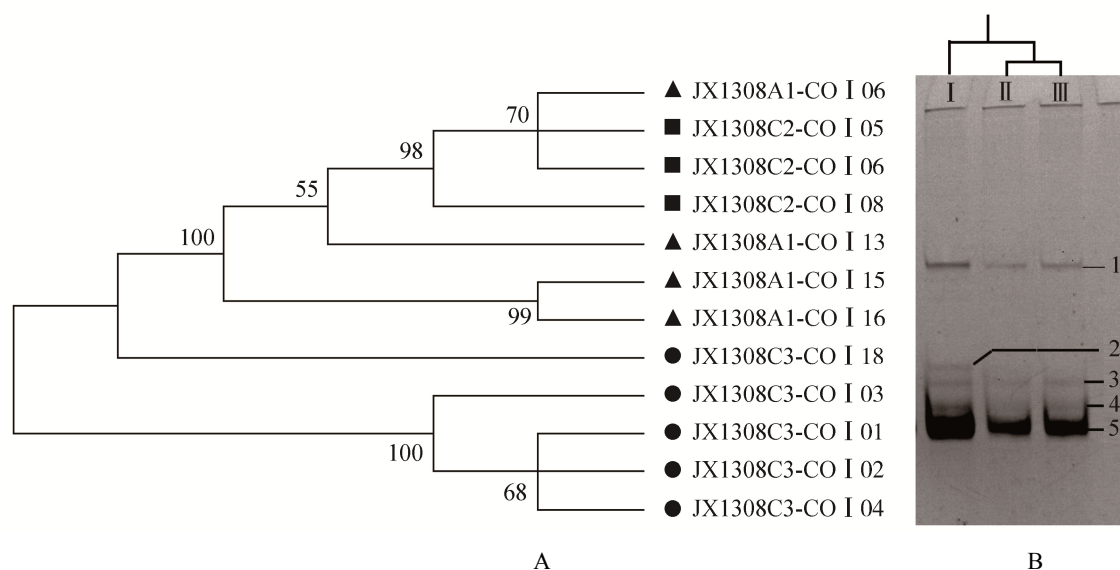


图3 二化螟 CO I 基因 DGGE 与系统发生树

Fig. 3 DGGE and phylogenetic tree of CO I gene of *Chilo suppressalis*

A. 二化螟个体 CO I 基因 DGGE 电泳图；B. 二化螟个体 CO I 基因系统发生树。▲：JX1308C3；■：JX1308C2；▲：JX1308A1。

A. Picture of DGGE of CO I gene of individual *C. suppressalis*; B. Phylogenetic tree of CO I gene of individual *C. suppressalis*; ▲：JX1308C3; ■：JX1308C2; ▲：JX1308A1.

缺点。相对而言，DGGE 方法，虽然获得的信息相对较少，但只要分析区段合适，仍可以得出准确的结论。尤其是在大量样品分析时，DGGE 方法的通量大、成本低、实验周期短等优点就更为突出，因此，该方法更适合用于野外大规模、大范围二化螟种群遗传多样性生态调查工作。

本工作建立的检测二化螟种群遗传多样性的实验方法也可适用于飞虱等水稻害虫，因此，下一步计划开展靶标（二化螟等）、非靶标（飞虱等）稻田昆虫对转 Bt 基因水稻响应的研究，为转基因水稻生态安全提供有价值的基础信息。

参考文献 (References)

- Kavlock RJ, Daston GP, DeRosa C, Fenner-Crisp P, Gray LE, Kaattari S, Lucier G, Luster M, Mac MJ, Maczka C, Miller R, Moore J, Rolland R, Scott G, Sheehan DM, Sinks T, Tilson HA, 1996. Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: a report of the U.S. EPA-sponsored workshop. *Environ. Health Perspect.* 104 (Suppl 4): 715–740.
- Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, Valentin F, Wallace IM, Wilm A, Lopez R, Thompson JD, Gibson TJ, Higgins DG, 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 23(21): 2947–2948.
- Librado P, Rozas J, 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11): 1451–1452.
- Meng XF, Shi M, Chen XX, 2008. Population genetic structure of *Chilo suppressalis* (Walker) (Lepidoptera: Crambidae): strong subdivision in China inferred from microsatellite markers and mtDNA gene sequences. *Mol. Ecol.*, 17(12): 2880–2897.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S, 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.*, 30(12): 2725–2729.
- Yin J, Wang AM, Hong GY, Cao YZ, Wei ZJ, 2011. Complete mitochondrial genome of *Chilo suppressalis* (Walker) (Lepidoptera: Crambidae). *Mitochondrial DNA*, 22(3): 41–43.
- 韩兰芝, 2007. 转 cry1Ac/CpTI 基因水稻对鳞翅目害虫种群的影响及靶标害虫的抗性风险评价. 博士后论文. 北京: 中国农业科学院.
- 何超, 青先国, 2012. 湖南省水稻病虫害绿色防控现状及发展趋势. *杂交水稻*, 27(1): 7–10.

- 蓝瑾瑾, 2012. 转 Bt 基因抗虫水稻对稻田藻类生物多样性的影响. 硕士学位论文. 杭州: 浙江大学.
- 陆玉荣, 徐广和, 苏建坤, 刘琴, 吉春明, 张春梅, 刘怀阿, 2003. 扬州地区二化螟抗药性监测. 安徽农业科学, 31(1): 123–124.
- 乔枫, 陈振宁, 陈志, 谢惠春, 尚军, 柯君, 2014. 基于线粒体 CO₂ 和 Cytb 基因序列研究粉蝶科七属间的系统发生关系. 应用昆虫学报, 51(1): 127–138.
- 宋亚娜, 苏军, 林艳, 王锋, 2012. 转 cry1Ac/cpti 基因水稻对土壤氨氧化细菌群落组成和丰度的影响. 生物安全学报, 21(1): 67–73.
- 王艳青, 2006. 近年来中国水稻病虫害发生及趋势分析. 中国农学通报, 22(2): 343–347.
- 魏书军, 陈学新, 2011. 昆虫比较线粒体基因组学研究进展. 应用昆虫学报, 48(6): 1573–1585.
- 熊件妹, 朱杏芬, 肖海军, 2006. 南昌地区二化螟抗药性监测与治理. 江西农业大学学报, 28(6): 877–880.
- 薛达元, 2004. 中国转基因水稻的环境风险与管理对策//2004 年转基因生物与环境国际研讨会论文集, 北京.
- 杨倩倩, 李志红, 伍祎, 柳丽君, 2012. 线粒体 CO₂ 基因在昆虫 DNA 条形码中的研究与应用. 应用昆虫学报, 49(6): 1687–1695.