



Cry1Ac 和 Cry2Ab 杀虫蛋白对粘虫 幼虫生长发育的影响*

王雪丽^{1**} 路子云² 李建成² 李 贞¹ 董 杰³ 刘小侠^{1***}

(1. 中国农业大学, 植物保护学院, 昆虫学系和农业部有害生物监测与绿色防控重点实验室, 北京 100193;

2. 河北省农林科学院植物保护研究所, 河北省农业有害生物综合治理工程技术研究中心, 农业部华北北部

作物有害生物综合治理重点实验室, 保定 071000; 3. 北京市植物保护站, 北京 100029)

摘 要 【目的】为探究 Bt 杀虫蛋白对次要靶标害虫粘虫 *Mythimna separata* (Walker) (鳞翅目: 夜蛾科) 的杀虫活性及其生长发育的影响。【方法】本文通过浸叶法饲喂初孵及 2 龄末粘虫不同剂量的 Cry1Ac 及 Cry2Ab 杀虫蛋白后, 观察其死亡率, 称量幼虫重, 并统计了幼虫历期、化蛹率、蛹重、蛹期、蛹的羽化率、畸形率等指标。【结果】初孵幼虫取食浸泡含 16、64、128 $\mu\text{g/mL}$ Cry1Ac 及 Cry2Ab 的玉米叶片后, 随着时间的延长及浓度的增加, 死亡率逐渐增加, 且 Cry1Ac 杀虫蛋白对粘虫的生物活性高于 Cry2Ab 蛋白, 在 128 $\mu\text{g/mL}$ 浓度下, 取食 Cry1Ac 和 Cry2Ab 蛋白 13 d 时的死亡率分别达到了 65% 及 60%。取食两种蛋白后, 初孵幼虫和 2 龄末幼虫重量均受到显著抑制, 短期取食两种蛋白对幼虫历期、化蛹率、蛹重、蛹期、蛹的羽化率、畸形率没有影响。【结论】取食 Cry1Ac 和 Cry2Ab 杀虫蛋白后, 对初孵幼虫有很好的杀虫活性, 且 Cry1Ac 杀虫活性高于 Cry2Ab 杀虫蛋白; 短期饲喂两种杀虫蛋白时, 对 2 龄粘虫后期生长影响不大。本文结果为转 Bt 基因作物更好的应用于粘虫的防治提供了理论基础。

关键词 粘虫, Cry1Ac 蛋白, Cry2Ab 蛋白, 杀虫活性, 生长发育

Effects of Cry1Ac and Cry2Ab protein on development of oriental armyworm, *Mythimna separata* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae)

WANG Xue-Li^{1**} LU Zi-Yun² LI Jiang-Cheng² LI Zhen¹ DONG Jie³ LIU Xiao-Xia^{1***}

(1. Department of Entomology and MOA Key Laboratory of Pest Monitoring and Green Management, College of Plant Protection, China Agricultural University, Beijing 100193, China; 2. Plant Protection Institute, Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences; IPM Center of Hebei Province; Key Laboratory of Integrated Pest Management on Crops in Northern Region of North China, Ministry of Agriculture, Baoding, Hebei 071000, China; 3. Beijing Plant Protect Station, 100029 Beijing, China)

Abstract [Objectives] To explore the insecticidal activity of Bt on the oriental armyworm, *Mythimna separata* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae), including its effects on larval growth and development. [Methods] The leaf-dip bioassay method was used to feed neonates and second instar armyworm corn leaves treated with different doses of Cry1Ac and Cry2Ab insecticidal proteins, after which, mortality, larval weight, duration of the larval period, pupal weight, duration of the pupal period, pupation rate, emergence rate and abnormality rate, were recorded. [Results] The mortality of neonates fed leaves that had been immersed in 16, 64, 128 $\mu\text{g/mL}$ Cry1Ac and Cry2Ab protein, increased gradually with increasing insecticide concentration and feeding time. The biological activity of Cry1Ac on larvae was higher than that of Cry2Ab. At concentrations of 128 $\mu\text{g/mL}$ Cry1Ac and Cry2Ab, mortality at 13 d reached 65% and 60%, respectively. Larval weights of neonates and second instars were both significantly inhibited. Short-term exposure had no effect on larval duration, pupal weight, pupal

*资助项目 Supported projects: 公益性行业专项 (201403031)

**第一作者 First author, E-mail: wxl2010@yeah.net

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: liuxiaoxia611@cau.edu.cn

收稿日期 Received: 2017-10-30, 接受日期 Accepted: 2018-04-08

duration, pupation rate, emergence rate and abnormality rate. **[Conclusion]** Cry1Ac and Cry2Ab proteins were highly toxic to newly hatched *M. separata* larvae, but the insecticidal activity of Cry1Ac was higher than that of Cry2Ab. Short-term exposure to either Bt toxin had little effect on the growth and development of second instar armyworms. These results provide a theoretical basis for selecting transgenic Bt crops to control armyworms.

Key words *Mythimna separata*, Cry1Ac toxin, Cry2 Ab toxin, insecticidal activity, growth and development

苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*, Bt)是一种革兰氏阳性菌,是目前世界上应用最为广泛的微生物杀虫剂之一,其在形成芽孢的同时产生杀虫活性晶体蛋白(ICP或 δ -内毒素)(Slatin *et al.*, 1990),当昆虫摄取Bt蛋白时,伴孢晶体在中肠被碱性肠液溶解,被蛋白酶水解为有活性的毒素,使中肠上皮细胞膨胀穿孔,最后导致昆虫肠道麻痹、停止进食,直至虫体死亡(Slatin *et al.*, 1990; Knowles and Dow, 1993)。随着我国转Bt基因作物的大面积种植,对鳞翅目、双翅目、鞘翅目、膜翅目等害虫起到很好的控制作用(Schnepf *et al.*, 1998)。

粘虫 *Mythimna separate*(Walker)属鳞翅目,夜蛾科,是我国小麦、玉米等和谷类粮食作物及棉花、豆类、蔬菜等多种植物的重大害虫,2012年间,3代粘虫在华北东北的发生面积达397.4万 hm^2 ,多数省份危害程度居历史之最(朱伟娟, 2012),其群聚性、迁飞性、杂食性、暴食性,给我国的粮食生产带来了重大的经济损失(常雪等, 2007; 朱伟娟, 2012)。目前,转Bt基因作物的杀虫效果、安全性评价主要针对棉铃虫 *Helicoverpa armigera*(Hübner)和玉米螟 *Ostrinia fureacalis*(Guenée)等靶标害虫(刘小侠等, 2004; 路献勇, 2013),而对其他次要靶标害虫的杀虫机理、效果及风险评价研究较少。目前,已有的研究报道主要集中于Cry1Ab杀虫蛋白对粘虫的毒杀效果(王冬妍等, 2004; 王振营等, 2005),对粘虫生长发育的影响研究较少,关于Cry1Ac及Cry2Ab杀虫蛋白对粘虫生物活性影响的研究较少,且转Bt基因作物对粘虫杀虫效果的评价并不一致,王振营等(2005)曾报道取食转Cry1Ab蛋白玉米的4龄和5龄粘虫幼虫在第11天的死亡率接近100%,宋萍(2003)发现Cry1Ac毒蛋白对棉铃虫毒性较高,相比较而言对粘虫毒性较低,负桂玲等(2004)

报道转Cry1Ab+Cry1Ac杀虫蛋白基因的玉米M95对粘虫的杀虫效果并不理想,除对1龄幼虫有相对较高的致死作用外,对2-4龄幼虫的致死率很低。因此,为寻找对粘虫高毒力的Bt杀虫蛋白,以及更全面地评价转基因作物对粘虫的影响,本文在室内采用生物测定法研究了Cry1Ac和Cry2Ab杀虫蛋白对粘虫毒杀效果及生长发育的影响,为转Bt基因作物更好的应用于粘虫的防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试虫源及杀虫蛋白

粘虫由河北省农林科学院植物保护研究所天敌昆虫实验室提供。Cry1Ac(纯度 $\geq 85\%$)和Cry2Ab(纯度 $\geq 85\%$)杀虫蛋白购于北京诺斯斯特生物科技有限公司。试验均在 $(25\pm 1)^\circ\text{C}$, $50\%\pm 5\%$ RH, L:D=14:10的实验室内进行。

1.2 Cry1Ac/Cry2Ab 杀虫蛋白对初孵粘虫的毒杀效果及体重的影响

将Bt杀虫蛋白Cry1Ac、Cry2Ab用dd H₂O稀释并均配置成如下浓度:0(CK)、16、64、128 $\mu\text{g/mL}$;将新鲜幼嫩玉米叶片浸泡在上述不同浓度蛋白溶液中10 min,取出叶片,晾干后放入培养皿,每个培养皿放入初孵粘虫幼虫10头,且每个培养皿上加两层卫生纸封严,以防粘虫逃脱,每个处理4个重复,分别在饲喂第3、6、10、13天检查死亡数,计算校正死亡率,并在第10天称量幼虫重量,观察其对粘虫生长发育的影响。

校正死亡率(%)=(处理组死亡率-对照组死亡率)/(1-对照组死亡率) $\times 100$ 。

1.3 Cry1Ac/Cry2Ab 杀虫蛋白对2龄末粘虫生长发育的影响

将Bt杀虫蛋白Cry1Ac、Cry2Ab用ddH₂O

稀释并配置成浓度如下: Cry1Ac 至终浓度为 0 (CK) 2、4、8、16 $\mu\text{g/mL}$; Cry2Ab 至终浓度为 0 (CK) 1、4、16、64 $\mu\text{g/mL}$ 。将新鲜幼嫩玉米叶片浸泡在上述不同浓度蛋白溶液中 10 min, 取出叶片, 晾干后放入培养皿, 每皿放入 2 龄末粘虫 15 头, 每个培养皿上加两层卫生纸封严, 以防粘虫逃脱, 每个处理重复 3 次, 饲喂 7 d 后称量幼虫重, 7 d 后换饲喂健康幼嫩玉米叶片, 直至化蛹。并统计幼虫历期、化蛹率、蛹重、蛹期、蛹的羽化率、畸形率等指标。

1.4 数据统计分析

本文利用 SPSS 21.0 软件进行统计分析, 初孵粘虫幼虫取食同一种蛋白不同浓度下的死亡率及对幼虫重的影响采用单一变量方差分析-最小显著差测验 (One-way ANOVA), 同一蛋白不同浓度对 2 龄末粘虫幼虫重、幼虫历期、化蛹率、蛹重、蛹期、蛹的羽化率、畸形率的影响也采用 One-way ANOV 检验。

2 结果与分析

2.1 Cry1Ac/Cry2Ab 杀虫蛋白对初孵粘虫的毒杀效果及体重的影响

随着初孵粘虫取食 Cry1Ac 和 Cry2Ab 玉米叶片时间的延长及浓度的增加, 死亡率逐渐增加, 且在同一天同一浓度下, 粘虫取食 Cry1Ac 玉米叶片后的死亡率要高于取食 Cry2Ab 玉米叶

片的死亡率, 在高浓度 128 $\mu\text{g/mL}$ 下, 取食 Cry1Ac 玉米叶片第 6 天的死亡率已超过一半, 到达 55%, 而取食 Cry2Ab 玉米叶片第 13 天的死亡率才达到 60%。取食低浓度 16 $\mu\text{g/mL}$ 的 Cry2Ab 杀虫蛋白对粘虫死亡率的影响较小 ($df=3$, $F=1$, $P=0.426$)。以上结果说明: 两种毒蛋白对初孵粘虫都有一定的杀虫活性, 且 Cry1Ac 蛋白比 Cry2Ab 蛋白对粘虫的毒性更强 (表 1)。

初孵粘虫取食浸泡不同浓度的 Cry1Ac 和 Cry2Ab 玉米叶片后, 不仅影响了其存活率, 对其幼虫重量也产生显著抑制作用, 且随着浓度的升高, 抑制作用越明显 (Cry1Ac: $df=3$, $F=131.189$, $P=0.000$; Cry2Ab: $df=3$, $F=135.351$, $P=0.000$) (图 1)。

2.2 Cry1Ac/Cry2Ab 杀虫蛋白对 2 龄末粘虫生长发育的影响

2 龄末粘虫取食 Cry1Ac 毒蛋白浸泡的玉米叶片 7 d 后, 不同浓度下的幼虫重均显著受到抑制, 且随着浓度的升高, 抑制越明显 ($df=4$, $F=6.126$, $P=0.009$)。取食 Cry2Ab 浸泡的玉米叶片后, 幼虫重也受到显著抑制 ($df=4$, $F=7.3$, $P=0.005$), 在 4 $\mu\text{g/mL}$ 浓度下的幼虫重与对照相比差异不显著, 可能是虫子本身的差异以及虫子取食量少等原因造成的, 总的来说, 取食两种蛋白后, 幼虫重受到抑制 (图 2)。

表 1 Cry1Ac 和 Cry2Ab 毒蛋白对粘虫初孵幼虫死亡率的影响

Table 1 Effects of Cry1Ac and Cry2Ab toxin on mortality of the newly hatched larvae of *Mythimna separata*

蛋白种类 Type	浓度 ($\mu\text{g/mL}$) Concentration	校正死亡率 Corrected mortality (%)			
		3 d	6 d	10 d	13 d
Cry1Ac	16	2.5 $\pm$ 2.5 a	2.5 $\pm$ 2.5 a	7.5 $\pm$ 2.5 a	12.5 $\pm$ 2.5 a
	64	20.0 $\pm$ 8.2ab	27.5 $\pm$ 9.5 b	40.0 $\pm$ 4.1 b	45.0 $\pm$ 2.9 b
	128	35.0 $\pm$ 5.0 b	55.0 $\pm$ 6.5 c	60.0 $\pm$ 9.1 c	65.0 $\pm$ 6.5 c
Cry2Ab	16	2.5 $\pm$ 2.5 a	2.5 $\pm$ 2.5 a	7.5 $\pm$ 2.5 a	7.5 $\pm$ 2.5 a
	64	7.5 $\pm$ 4.8 a	10.0 $\pm$ 4.1 a	15.0 $\pm$ 5.0 ab	17.5 $\pm$ 2.5 a
	128	12.5 $\pm$ 7.5 a	27.5 $\pm$ 7.5 b	27.5 $\pm$ 7.5 b	60.0 $\pm$ 7.1 b

表中数据均为平均值 $\pm$ 标准误, 同一列数据后标有不同的字母表示同一蛋白不同浓度间差异显著 (One-way ANOVA: LSD test, $P<0.05$)。下表同。

Data in the table are mean $\pm$ SE, and followed by the different letters in the same column indicate significant difference at different concentrations in the same protein (One-way ANOVA: LSD test, $P<0.05$). The same below.

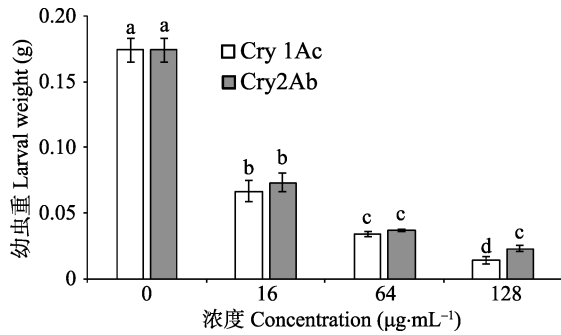


图1 取食 Cry1Ac 和 Cry2Ab 毒蛋白后对幼虫重的影响

Fig.1 Effects of Cry1Ac and Cry2Ab toxin on larval weight of *Mythimna separate*

图中数据表示为平均值±标准误，柱上标有不同小写字母表示差异显著 (One-way ANOVA: LSD test, $P<0.05$)。下图同。

The data in the figure are mean±standard error. Histograms with the different letters are significant difference (One-way ANOVA: LSD test, $P<0.05$). The same below.

2 龄末粘虫取食不同浓度的 Cry1Ac 和 Cry2Ab 蛋白 7 d 后，本文持续观察了对其发育历期、化蛹率、蛹重、蛹历期、蛹羽化率、蛹羽

化畸形率等指标的影响。结果表明：短期饲喂较低浓度的 Cry1Ac 和 Cry2Ab 蛋白后，对上述指标影响不大 (表 2 和表 3) (Cry1Ac 蛋白：幼虫历期： $df=4$, $F=2.344$, $P=0.125$ ；蛹重： $df=4$, $F=3.336$, $P=0.056$ ；化蛹率： $df=4$, $F=1.076$, $P=0.418$ ；蛹历期： $df=4$, $F=0.620$, $P=0.658$ ；蛹羽化率： $df=4$, $F=0.960$, $P=0.470$ ；畸形率： $df=4$, $F=0.151$, $P=0.958$ 。Cry2Ab 蛋白：幼虫历期： $df=4$, $F=0.945$, $P=0.478$ ；蛹重： $df=4$, $F=1.097$, $P=0.410$ ；化蛹率： $df=4$, $F=0.631$, $P=0.652$ ；蛹历期： $df=4$, $F=0.881$, $P=0.509$ ；蛹羽化率： $df=4$, $F=0.674$, $P=0.625$ ；畸形率： $df=4$, $F=0.059$, $P=0.993$)。

3 讨论

随着转基因作物的大面积种植，对棉铃虫 *H. armigera* (Hübner)、玉米螟 *O. fureacalis* (Guenee)、烟草夜蛾 *Heliothis assulta* (Guenee) 和其他靶标害虫均起到很好的杀虫效果，可显著

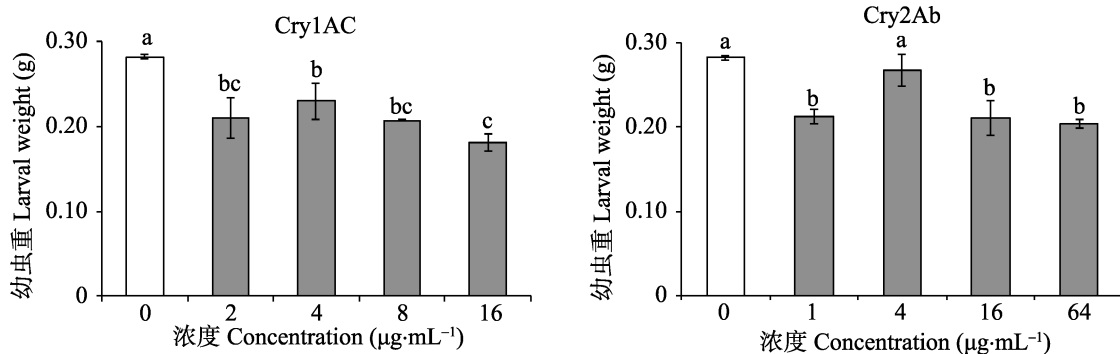


图2 取食 Cry1Ac 和 Cry2Ab 毒蛋白 7 d 后对幼虫重的影响

Fig.2 Effects of Cry1Ac and Cry2Ab toxin on larval weight of *Mythimna separate* after fed 7 d

表2 Cry1Ac 毒蛋白对粘虫生长发育的影响

Table 2 Effects of Cry1Ac toxin on growth and development of *Mythimna separate*

浓度 (µg/mL)	幼虫历期 (d)	蛹重 (g)	化蛹率 (%)	蛹历期 (d)	蛹羽化率 (%)	畸形率 (%)
Concentration	Larval duration	Pupal weight	Pupation rate	Pupal duration	Emergence rate	Abnormality rate
CK	14.63±0.45 a	0.24±0.00 a	85.16±4.61 a	11.33±0.10 a	76.67±14.53 a	27.14±3.15 a
2	15.61±0.26 a	0.24±0.01 a	84.52±7.81 a	11.12±0.11 a	88.81±5.65 a	39.39±19.23 a
4	15.46±0.23 a	0.26±0.01 a	77.53±7.11 a	11.39±0.18 a	88.79±0.72 a	32.08±9.12 a
8	15.17±0.04 a	0.26±0.01 a	82.83±0.51 a	11.33±0.13 a	100.00±0 a	34.81±7.52 a
16	15.62±0.19 a	0.28±0.01 a	61.87±17.46 a	11.26±0.12 a	88.89±11.11 a	30.37±11.23 a

表 3 Cry2Ab 毒蛋白对粘虫生长发育的影响
Table 3 Effects of Cry2Ab toxin on growth and development of *Mythimna separate*

浓度 (μg/mL)	幼虫历期 (d)	蛹重 (g)	化蛹率 (%)	蛹历期 (d)	蛹羽化率 (%)	畸形率 (%)
Concentration	Larval duration	Pupal weight	Pupation rate	Pupal duration	Emergence rate	Abnormality rate
CK	14.63±0.45 a	0.24±0.00 a	85.16±4.61 a	11.33±0.10 a	76.67±14.53 a	27.14±3.15 a
1	15.77±0.50 a	0.25±0.03 a	69.55±12.17 a	10.73±0.25 a	78.18±2.78 a	32.41±8.83 a
4	15.70±0.10 a	0.25±0.01 a	81.62±11.14 a	11.17±0.15 a	93.89±3.09 a	30.13±10.00 a
16	15.28±0.25 a	0.26±0.01 a	72.70±10.70 a	11.45±0.12 a	91.90±4.23 a	33.16±8.54 a
64	15.87±0.92 a	0.28±0.01 a	67.93±7.11 a	10.73±0.71 a	85.71±14.29 a	32.80±16.81 a

降低棉田中鳞翅目靶标害虫的种群密度 (Chitkowski *et al.*, 2003; Wu *et al.*, 2003)。在这种情况下,某些适应性较强的次靶标或者非靶标害虫发展成为主要害虫,如:盲蝽蟊(Lu *et al.*, 2010)、蓟马(Wilson *et al.*, 1992)、烟粉虱(邓曙东等, 2003)、斜纹夜蛾和甜菜夜蛾(王万群, 2002; 邓曙东等, 2003; 李瑞奇等, 2005)等害虫的发生危害加重。粘虫作为我国重要的经济害虫,给我国粮食生产造成了巨大的经济损失,但它并非转基因作物的主要靶标害虫,加强转基因作物对次要靶标害虫的杀虫效果及毒杀机理的研究对进一步改善转 Bt 基因作物的种植应用,防止害虫产生抗性等问题具有非常重要的意义,因此,研究 Bt 蛋白对多食性次要靶标害虫的杀虫效果评价是十分必要的。

本文采用浸叶法研究表明 Cry1Ac 和 Cry2Ab 毒蛋白对粘虫有一定的杀虫活性,但取食 16 μg/mL 的两种蛋白时,粘虫死亡率较低,只有在高浓度 128 μg/mL 情况下,粘虫死亡才比较明显。宋萍(2003)同样采用浸叶法将新鲜幼嫩玉米叶片浸泡在 Cry1Ac 原毒素及毒素样品中,发现 Cry1Ac 毒蛋白对棉铃虫毒性较高,相比较而言对粘虫毒性较低。冯书亮等(1995)以玉米螟 *O. furenacalis* (Guenée) 为毒力指示昆虫,进行了玉米螟 *O. furenacalis* (Guenée) 与棉铃虫 *H. armigera* (Hübner)、粘虫 *M. separata* (Walke) 黄地老虎 *Agrotis segetum* (Denis et Schiffelmueller) 的毒力相关性测定,结果显示 4 种供试昆虫对供试 Bt 菌株的敏感顺序为玉米螟>棉铃虫>粘虫>黄地老虎,这与杨春英和宋建成

(2001)的研究结果相一致,即相比于靶标害虫来说,粘虫对 Bt 毒素的敏感性较低。本文的研究结果还表明,Cry1Ac 杀虫蛋白对粘虫的生物活性高于 Cry2Ab 蛋白,这与杨素娟(2015)研究的 Cry1Ac、Cry2Ab 蛋白对东方粘虫具有杀虫活性,其致死中浓度分别为 5.09 μg/g, 26.75 μg/g 相一致。负桂玲等(2004)报道转 Cry1Ab+Cry1Ac 杀虫蛋白基因的玉米 M95 对 2-4 龄幼虫的致死率很低,幼虫发育历期延长,成虫羽化率降低,对产卵数、卵孵化率均无显著差异。这与已报道的转 Cry1Ab 基因玉米对初孵粘虫幼虫以及 4 龄和 5 龄幼虫有很强的杀虫效果不一致(王冬妍等, 2004; 王振营等, 2005),与蒋善军等(2010)报道的 Cry1Ab 杀虫蛋白对低龄幼虫的杀虫效果较好,而对 4-6 龄幼虫杀虫效果较差相一致,本文的研究结果也表明 Cry1Ac 和 Cry2Ab 毒蛋白对于 2 龄末粘虫幼虫历期、化蛹率、蛹重、蛹期、蛹的羽化率、畸形率影响都不大,以上结果不同的原因可能有以下几种:1、试验方法不一样,目前,关于 Bt 毒蛋白对鳞翅目害虫的杀虫活性多采用转基因玉米叶片或人工饲料中加入 Bt 蛋白或浸叶法研究;2、可能与 Bt 杀虫蛋白在不同的转 Bt 基因玉米品系、发育阶段以及组织中的表达量差异有关(李葱葱等, 2006; 姜志磊等, 2008);3、浸叶法由于叶片表面结构的不同导致浸泡的 Bt 蛋白量少或者浸泡不均匀。另外本研究中粘虫只取食了 7 d 杀虫蛋白,取食时间较短以及虫子本身个体间取食的差异,使杀虫蛋白在虫体内的累积量较少,所以对后期的生长发育影响不大,这也间接说明了短期取食转基因作物可

能对粘虫的影响不大。

本文的研究结果证明了 Cry1Ac 和 Cry2Ab 毒蛋白对初孵粘虫有一定的杀虫活性,且 Cry1Ac 蛋白对粘虫的作用高于 Cry2Ab 毒蛋白。粘虫龄期升高,杀虫蛋白作用降低,且短期取食杀虫蛋白影响粘虫幼虫重,但对其后期生长发育影响不大,本研究结果为指导转 Cry1Ac 或 Cry2Ab 或双价基因作物应用于粘虫的防治提供了理论基础。

参考文献 (References)

- Chang X, Chang XY, He KL, Wang ZY, Bai SX, 2007. Resistance evaluation of transgenic Bt maize to oriental armyworm. *Journal of Plant Protection*, 34(3): 225–228. [常雪, 常雪艳, 何康来, 王振营, 白树雄, 2007. 转 Cry1Ab 基因玉米对粘虫的抗性评价. 植物保护学报, 34(3): 225–228.]
- Chitkowski RL, Turnipseed SG, Sullivan MJ, Bridges WC Jr, 2003. Field and laboratory evaluations of transgenic cottons expressing one or two *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* berliner proteins for management of noctuid (Lepidoptera) pests. *Journal of Economic Entomology*, 96(3): 755–762.
- Deng SD, Xu J, Zhang QW, Zhou SW, Xu GJ, 2003. Effect of transgenic Bt cotton on population dynamics of the non-target pests and natural enemies of pests. *Acta Entomologica Sinica*, 46 (1): 1–5. [邓曙东, 徐静, 张青文, 周世文, 徐冠军, 2003. 转棉对非标害虫及害虫天敌种群动态的影响. 昆虫学报, 46 (1): 1–5.]
- Feng SL, Fu YQ, Fan XH, Wang RY, Xing JM, Hu MJ, 1995. Toxicity of several strains of Bt on corn borer *Ostrinia furnacalis*, cotton bollworm *Helicoverpa armigera*, armyworm *Mythimna separata*, yellow cutworm *Agrotis segetum* Schiffelmueller. *Chinese Journal of Biological Control*, 11(1): 22–25. [冯书亮, 付韵琴, 范秀华, 王容燕, 邢建民, 胡明峻, 1995. 几株高效苏云金杆菌菌株对玉米螟、棉铃虫、粘虫和黄地老虎的毒力测定. 中国生物防治, 11(1): 22–25.]
- Jiang SJ, Luo LZ, Hu Y, Zhang L, 2010. Effects of Cry1Ac protein on growth and development, reproduction and flight potential of the oriental armyworm, *Mythimna separate* (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Entomologica Sinica*, 53(12): 1360–1366. [蒋善军, 罗礼智, 胡毅, 张蕾, 2010. Cry1Ac 毒蛋白对粘虫生长发育、繁殖及飞行能力的影响. 昆虫学报, 53(12): 1360–1366.]
- Jiang ZL, Liu DP, Li XH, Kong XM, Li CC, Li FW, Sun CB, Yuan Y, 2008. Studies on the temporal and spatial expressions of Bt toxin protein of bt transgenic maize. *Journal of Jilin Agricultural Sciences*, 33(6): 35–37. [姜志磊, 刘德璞, 李晓辉, 孔祥梅, 李葱葱, 李飞武, 孙传波, 袁英, 2008. 转基因抗虫玉米 Bt 毒蛋白的时空表达分析. 吉林农业科学, 33(6): 35–37.]
- Knowles BH, Dow JAT, 1993. The crystal δ -endotoxins of *Bacillus thuringiensis*: Models for their mechanism of action on the insect gut. *Bioessays*, 15(7): 469–476.
- Li CC, Liu N, Kang LS, Wang D Zhao HK, Zhang M, 2006. Study on the expression of Bt insecticidal protein of the transgenic insect-resistant corn. *Journal of Maize Sciences*, 14 (3): 40–41. [李葱葱, 刘娜, 康岭生, 王丹, 赵洪钊, 张明, 2006. 转基因抗虫玉米 Bt 蛋白表达量的研究. 玉米科学, 14 (3): 40–41.]
- Li RQ, Ma ZY, Wang QY, Wang SF, Zhang GY, Li XH, 2005. Identification and screening on insect resistance of Bt/CpTI transgenic cottons. *Journal of Plant Genetic Resources*, 6 (4): 409–413. [李瑞奇, 马峙英, 王勤英, 王省芬, 张桂寅, 李喜焕, 2005. 转 Bt/CpTI 基因棉花抗虫性鉴定与筛选. 植物遗传资源学报, 6 (4): 409–413.]
- Liu XX, Zhang QW, Cai QN, Li JC, Dong J, 2004. Effect of Bt protein on development of different strains of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) and the parasitoid, *Microplitis mediator* (Haliday). *Acta Entomologica Sinica*, 47(4): 461–466. [刘小侠, 张青文, 蔡青年, 李建成, 董杰, 2004. Bt 杀虫蛋白对不同品系棉铃虫和中红侧沟茧蜂生长发育的影响. 昆虫学报, 47(4): 461–466.]
- Lu XY, 2013. Effect of Bt protein on development of different strains of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) and the parasitoid, *Microplitis mediator* (Haliday). Master dissertation. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences. [路献勇, 2013. 六种 Bt 蛋白对三种棉花害虫的杀虫活性及安全性研究. 硕士学位论文. 北京: 中国农业科学院.]
- Lu Y, Wu K, Jiang Y, Xia B, Li P, Feng H, Wyckhuys KA, Guo Y, 2010. Mirid bug outbreaks in multiple crops correlated with wide-scale adoption of Bt cotton in China. *Science*, 328(5982): 1151.
- Schnepf E, Crickmore N, Van Rie JV, Lereclus D, Baum J, Feitelson J, Zeigler DR, Dean DH, 1998. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiology & Molecular Biology Reviews* Mmbr., 62(3): 775.
- Slatin SL, Abrams CK, English L, 1990. Delta-endotoxins form

- cation-selective channels in planar lipid bilayers. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 169(2): 765.
- Song P, 2003. The insecticidal effect and bio-safety of six types of Bt protein to three kinds cotton insects. Master dissertation. Hebei: Hebei Agricultural University. [宋萍, 2003. Bt Cry1Ac 毒蛋白对棉铃虫和粘虫作用机理研究. 硕士学位论文. 河北: 河北农业大学.]
- Wang DY, Wang ZY, He KL, Cong B, Wen LP, Bai SX, 2004. Food consumption and utilization of the fifth instar larvae of *Mythimna separata* (Walker) feeding on the leaves of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn expressing Cry1Ab protein. *Acta Entomologica Sinica*, 47(2): 141–145. [王冬妍, 王振营, 何康来, 丛斌, 文丽萍, 白树雄, 2004. 粘虫高龄幼虫对转 Bt 基因玉米的消化和利用. 昆虫学报, 47(2): 141–145.]
- Wang WQ, Jin HF, Li SY, 2002. Preliminary observation of serious harm on insect-resistant transgenic cotton by beet armyworm *Spodoptera exigua*. *China Cotton*, 29 (10): 27–28. [王万群, 晋汉凤, 李尚义, 2002. 抗虫棉遭遇甜菜夜蛾严重危害的初步观察. 中国棉花, 29 (10): 27–28.]
- Wang ZY, Wang DY, He KL, Bai SX, Cong B, 2005. Evaluation the control effects of the transgenic *Bacillus thuringiensis* corn expressing Cry1Ab protein on the larvae of *Mythimna separata* (Walker) in laboratory. *Journal of Plant Protection*, 32(2): 153–157. [王振营, 王冬妍, 何康来, 白树雄, 丛斌, 2005. 转 Bt 基因玉米对粘虫的室内杀虫效果评价. 植物保护学报, 32(2): 153–157.]
- Wilson DF, Flint HM, Deaton RW, Fischhoff DA, Perlak FJ, Armstrong TA, Fuchs RL, Berberich SA, Parks NJ, Stapp BR, 1992. Resistance of cotton lines containing a *Bacillus thuringiensis* toxin to pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae) and other Insects. *Journal of Economic Entomology*, 85(4): 1516–1521.
- Wu K, Guo Y, Lv N, Greenplate JT, Deaton R, 2003. Efficacy of transgenic cotton containing a cry1Ac gene from *Bacillus thuringiensis* against *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in northern China. *Journal of Economic Entomology*, 96(4): 1322–1328.
- Yang CY, Song JC, 2001. Transgenic corn with Bt toxin protein gene and insect-resistance. *Journal of Maize Sciences*, 9(1): 88–93. [杨春英, 宋建成, 2001. 转 Bt 毒蛋白基因玉米及其抗性研究进展. 玉米科学, 9(1): 88–93.]
- Yang SJ, 2015. Screening and analysis of insecticidal activity of protein from *Bacillus thuringiensis* against *Mythimna separata* (Walker) and *Ostrinia furnacalis* (Guenée). Master dissertation. Changchun: Dongbei Agricultural University. [杨素娟, 2015. 对东方粘虫、亚洲玉米螟具有杀虫作用的 Bt 蛋白筛选和分化. 硕士学位论文. 长春: 东北农业大学.]
- Yun GL, Deng SD, Zhang QW, Cai QN, 2004. The resistance of Bt corn (MG 95) to *Pseudaletia separate*. *Chinese Bulletin of Entomology*, 41(5): 422–426. [贡桂玲, 邓曙东, 张青文, 徐环李, 蔡青年, 2004. Bt 玉米(MG95)对粘虫的抗性和拒食作用. 昆虫知识, 41(5): 422–426.]
- Zhu WJ, 2012. North and northeast armyworm disaster arouse vigilance. *China Pesticide*, (8): 59–60. [朱伟娟, 2012. 华北东北粘虫灾害引起警觉. 中国农药, (8): 59–60.]