## Bt 抗、感种群亚洲玉米螟幼虫取食 Bt 玉米后 Cry1Ab 杀虫蛋白在其体内的组织分布与含量

#### 徐艳聆12,王振营1,\*,何康来1,白树雄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 100094;

2. 沈阳农业大学植物保护学院 沈阳 110161)

摘要:采用 ELISA 方法检测了实验室汰选的对 Cry1Ab 产生 107 倍抗性的亚洲玉米螟 Ostrinia furnacalis ( Guenée )种群与敏感种群 3 龄幼虫取食表达 Cry1Ab 杀虫蛋白的 Bt 玉米心叶后 ,杀虫蛋白在幼虫体内的分布情况。结果表明: Cry1Ab 杀虫蛋白在抗性种群幼虫中的组织分布情况与敏感种群相近 ,主要存在于中肠组织和血淋巴中。抗、感种群中均以含有内含物的中肠组织中含量最高 ,分别为 277.2~ng/g 和 104.9~ng/g ; 其次为血淋巴 ,分别为 93.7~ng/g 和 69.5~ng/g ; 不含内含物的中肠组织中 52.7~ng/g 和 40.1~ng/g ; 在丝腺和马氏管组织的含量很低 ,丝腺中分别为 8.5~ng/g 和 11.7ng/g ,而马氏管中分别为 6.7~ng/g 和 6.5~ng/g。 脂肪体、生殖器官中未检测到杀虫蛋白。抗性种群中肠组织(含有内含物和不含内含物)中 Cry1Ab的含量显著高于敏感种群。幼虫期取食过 Bt 玉米的亚洲玉米螟发育的蛹、成虫及其卵中均不含杀虫蛋白,说明 Bt 杀虫蛋白不会通过幼虫取食向蛹、成虫及卵传递。

关键词:亚洲玉米螟;Bt 玉米;Cry1Ab 杀虫蛋白;抗性;组织分布;ELISA 方法中图分类号:Q965 文献标识码:A 文章编号:0454-629(2007)09-0957-05

# Tissue distribution and content of Cry1Ab insecticidal protein in the *Bacillus* thuringiensis resistant and susceptible Asian corn borer larvae fed on Bt-transgenic corn

XU Yan-Ling<sup>12</sup>, WANG Zhen-Ying<sup>1,\*</sup>, HE Kang-Lai<sup>1</sup>, BAI Shu-Xiong<sup>1</sup>(1. State Key Laboratory for the Biology of the Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094, China; 2. College of Plant Protection, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China)

Abstract: The distribution and content of Cry1Ab insecticidal protein in different tissues of the Asian comborer, Ostrinia furnacalis (Guenée), when the 3rd instar larvae of Cry1Ab protein resistant and susceptible colonies fed on whorl leaves of Bt-transgenic corn expressing Cry1Ab protein for 3 days were determined and analyzed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The distributions of Cry1Ab in different tissues in the resistant and susceptible larvae were similar, mainly in the midgut tissue and haemolymph. The Cry1Ab contents in the midgut tissues of the resistant larvae with and without contents inside their midguts were 277.2 ng/g and 52.7 ng/g, respectively, significantly higher than those of the susceptible larvae, which were 104.9 ng/g and 40.1 ng/g, respectively. The Cry1Ab contents in the haemolymph of the resistant and susceptible larvae were 93.7 ng/g and 69.5 ng/g, respectively. The Cry1Ab protein in the silkgland and Malpighian tubules in the resistant and susceptible larvae could be detected, but the concentration was quite low. No Cry1Ab protein was detected in the fat body and reproductive organs, pupae, adults and eggs by ELISA method both in the resistant and susceptible larvae fed on the Bt corn. The results suggested that the Cry1Ab protein from larvae feeding on Bt corn could not be biotransferred to the subsequent pupae, adults and eggs.

Key words: Ostrinia furnacalis; Bt corn; Cry1Ab insecticidal protein; resistance; tissue distribution; ELISA

基金项目: 国家自然科学基金项目(30370967,30471149)

作者简介:徐艳聆,女,1978年生,辽宁人,博士,研究方向为转基因生物安全,E-mail:yanlingxu@eyou.com

\* 通讯作者 Author for correspondence, Tel.:010-62815945; E-mail:wangzy61@yahoo.com.cn

收稿日期 Received: 2007-03-13;接受日期 Accepted: 2007-08-12

亚洲玉米螟 Ostrinia furnacalis (Guenée)是我国玉米生产上最重要的害虫,对玉米的产量和质量影响很大(周大荣和何康来,1995)。近年来人们利用转基因技术培育抗虫玉米为玉米螟防治提供了新途径,转 Bt 基因抗虫玉米已在多个国家商品化生产种植(Shelton et al.,2002),室内和田间结果表明对亚洲玉米螟具有很好的控制作用(He et al.,2003,王冬妍等,2004)。我国自己研发的转 Bt 基因玉米也已进入田间释放阶段,国外公司的转 Bt 基因玉米也已进入田间释放阶段,国外公司的转 Bt 基因抗虫玉米被批准在我国进行环境释放,有的还进入了生产性试验阶段。

昆虫对 Bt 产生潜在抗性的报道已有很多,自 McGaughev(1985)首次报道了印度谷螟 Plodia interpunctella 对 Bt 产生了抗性后,至少有 10 余种昆 虫在室内汰选的条件下对 Bt 产生了抗性(Ferré and van Rie, 2002)。转 Bt 抗虫玉米由于在整个生长期 都能表达杀虫蛋白,大面积连续种植 Bt 抗虫玉米会 使玉米螟处于高强度的选择压力环境中,有可能迫 使玉米螟对 Bt 玉米产生适应性而对 Bt 玉米产生抗 性。国外汰选研究已经表明欧洲玉米螟能够对 Cry1 Ab 杀虫蛋白产生适应性( Huang et al., 1997 )。 本实验室通过对亚洲玉米螟进行室内 38 代的汰选, 得到对 Cry1Ab 产生了 107 倍的抗性种群(李光涛, 2004)。目前关于昆虫对 Bt 杀虫蛋白的抗性研究主 要集中在 Bt 与昆虫中肠的结合位点和中肠酶系变 化等方面,但很少有关于抗性种群幼虫取食 Bt 作 物后杀虫蛋白在靶标害虫体内组织分布与含量变化 的研究。

本实验通过 ELISA( enzyme-linked immunosorbent assay)方法,比较了实验室人工汰选的对 Cry1Ab 产生抗性的以及敏感种群的亚洲玉米螟幼虫取食 Bt 玉米后, Cry1Ab 杀虫蛋白在两种种群幼虫体内不同组织、器官以及在蛹、成虫和卵等各虫态中的分布与含量,旨在为更深入的研究 Bt 对昆虫的致病和害虫对 Bt 抗性产生机理,以及 Bt 作物中的 Bt 杀虫蛋白在三级营养传递过程中对天敌昆虫的影响提供理论依据,并有利于实现 Bt 玉米的持续利用。

#### 1 材料与方法

#### 1.1 供试玉米

试验用玉米为孟山都公司的转 Cry1Ab 杀虫蛋白基因的 Bt 玉米( MON810 )及其非转基因对照品种( DK647 ) 种植在北京中国农业科学院植物保护研

究所内农场,生长期不施用任何农药,常规管理。在玉米心叶期从田间采回心叶,在0.3%的 NaCl 中浸泡3 min,用蒸馏水冲洗3遍,在滤纸上吸干水分,备用。

#### 1.2 供试昆虫

亚洲玉米螟抗性和敏感种群初始虫源均采自河北省衡水市的野生种群。敏感种群在室内用无琼脂半人工饲料连续饲养且未接触任何杀虫剂;抗性种群为野生种群经过室内 40 代汰选对 Cry1Ab 杀虫蛋白产生 107 倍种群。

Cry1Ab 抗、感种群的 3 龄幼虫经饥饿 12 h 取食 采回的玉米心叶,在取食 3 天后采集部分幼虫进行解剖,剩余幼虫则转移到正常玉米螟人工饲料上,饲养至蛹期或成虫,并使部分成虫产卵,用作 Bt 杀虫蛋白的进一步检测。以取食非转基对照品种玉米心叶为对照。

#### 1.3 玉米螟幼虫各组织的收集

在冰浴条件下解剖玉米螟幼虫,分别收集中肠(含肠道内含物和除去肠道内含物两类),丝腺、脂肪体、马氏管、生殖器官,利用刺破腹足的方法收集血淋巴,各组织均在液氮中保存。幼虫全虫7头为1个处理,除中肠组织为20头幼虫是1个处理外,其他组织均是30头幼虫为1个处理。各处理均设3个重复。

#### 1.4 玉米螟蛹、成虫和卵收集

将蛹、蛾、卵分别收集到冻存管中,液氮保存。

#### 1.5 幼虫各组织中 Crv1Ab 含量的测定

采用 ELISA 方法 "Bt-Cry1Ab/Ac ELISA 试剂盒由美国 Agdia 公司生产。具体操作步骤:(1)准备样品:各样品放入组织研磨器中,加入 PBST 缓冲液,磨成匀浆,再转入  $1.5\,\,\text{mL}$  离心管中, $4\%\,\,15\,\,000\times\,g$  离心  $5\,\,\text{min}$ ;(2)点样:分别取样品上清液、 $5\,\,$ 个不同梯度的 Bt 标准蛋白(阳性对照)和 PBST(阴性对照)  $100\,\,\mu$ L 加入同一酶标板内(重复  $6\,\,$ 次),每孔加入  $100\,\,$   $\mu$ L 加入同一酶标板内(重复  $6\,\,$ 次),每孔加入  $100\,\,$   $\mu$ L TMB 酶标记物  $4\%\,\,$  过夜;(3)洗板;(4)加入  $100\,\,$   $\mu$ L TMB 底物;(5)在酶标仪(BIO-TEK,680)650 nm 波长下读数;(6)采用 Bradford 法测定总可溶性蛋白含量,并计算  $100\,\,$   $1000\,\,$   $1000\,\,$ 

#### 1.6 Bt 玉米心叶中 Cry1Ab 含量的测定

取 1.1 中采回的心叶 1 g,迅速加液氮研磨成粉 液氮中冻存 ,Cry1Ab 含量的测定方法同 1.5 ,设 5 个取样重复。每样品重复测定 3 次。

#### 1.7 数据分析

应用 SAS 软件对试验数据进行方差分析(PROC ANOVA) 同一品系不同组织的差异显著性比较采用 Duncan 's 测验 , 抗性和敏感种群同一组织的差异显著性比较采用 t 测验。

#### 2 结果与分析

## 2.1 Cry1Ab 蛋白在抗、感亚洲玉米螟幼虫各组织中分布与含量

试验用 Bt 玉米心叶中 Cry1Ab 杀虫蛋白含量经测定为 2 574 ng/g。由表 1 可知 取食 Bt 玉米的敏感玉米螟幼虫体内 Cry1Ab 杀虫蛋白总体含量为 40.1 ng/g ,各组织中以含有食物残渣的中肠组织可溶性蛋白中 Cry1Ab 含量最高 ,为 104.9 ng/g ,是除去内含

物后的中肠组织含量的 3 倍,说明中肠中的大多数 杀虫蛋白存在于未消化的食物中;杀虫蛋白在血淋 巴内有相对较高的含量,高于中肠组织(不含内含物)。中肠和血淋巴中的 CrylAb 含量均与对照处理的玉米螟形成显著差异,在丝腺、马氏管中只测出少量的 CrylAb 杀虫蛋白含量,与对照未形成显著差异,而脂肪体、生殖器官组织中未检测到杀虫蛋白。

取食 Bt 玉米后抗性种群幼虫体内大部分组织中 Cry1Ab 杀虫蛋白的含量均高于敏感幼虫,整虫、含食物残渣和不含食物残渣的中肠的 Cry1Ab 含量与敏感种群相比差异显著,比值分别达到 1.5、2.6、1.5;血淋巴中的含量是敏感种群的 1.3 倍,但差异不显著;抗、感种群幼虫体内丝腺、马氏管中的Cry1Ab 含量相近,均含有微量的 Cry1Ab 杀虫蛋白;而在脂肪体、生殖器官中未检测到杀虫蛋白(表 1)。

表 1 取食 Bt 玉米心叶 3 天后 Cry1Ab 杀虫蛋白在抗、感亚洲玉米螟 3 龄幼虫不同组织中的分布与含量
Table 1 Distribution and content of Cry1Ab insecticidal protein in 3rd instar larval tissues of *Ostrinia furnacalis*Bt-resistant and susceptible colonies feeding on Bt corn whorl leaves for 3 days

组织 Tissue	Cry1Ab 含量 Cry1Ab content (ng/g)		
	抗性 Resistant (R)	敏感 Susceptible (S)	比值 Ratio (R/S)
中肠(含内含物)Midgut(with contents)	277.2 ± 21.9 a*	104.9 ± 10.2 a	2.6
血淋巴 Haemolymph	$93.7 \pm 4.3 \text{ b}$	$69.5 \pm 8.2 \text{ b}$	1.3
幼虫全虫 Whole larva	$61.9 \pm 6.6 \text{ b}^*$	$40.1 \pm 6.2 \text{ c}$	1.5
中肠(不含内含物)Midgut(without contents)	$52.7 \pm 4.4 \text{ be}^*$	$35.1 \pm 4.7 \text{ c}$	1.5
丝腺 Silk gland	$8.5 \pm 0.7~\mathrm{cd}$	$11.7\pm1.9~\mathrm{cd}$	0.7
马氏管 Malpighian tubules	$6.7 \pm 0.8~\mathrm{cd}$	$6.5 \pm 3.8 \; \mathrm{cd}$	1.0
脂肪体 Fat body	$0.0\pm0.0~\mathrm{d}$	$0.0\pm0.0~\mathrm{d}$	-
生殖器官 Reproductive organs	$0.0\pm0.0~\mathrm{d}$	$0.0\pm0.0~\mathrm{d}$	-
对照 CK	$0.0\pm0.0~\mathrm{d}$	$0.0\pm0.0~\mathrm{d}$	

注:3 龄幼虫在取食 Bt 玉米心叶 3 天后解剖各组织测得的 Cry1ab 杀虫蛋白含量;\*表示抗性与敏感种群差异显著(P < 0.05);表中数据为平均值  $\pm SE$ ,数字后不同字母代表同种群内各组织差异显著(P < 0.05)。

Notes: The Cry1Ab content in different tissues of 3rd instar larvae of the Bt-resistant and susceptible colonies fed on Bt com whorl leaves for 3 days. \* means significant difference between the Bt-resistant and susceptible colonies (P < 0.05). The data are mean  $\pm$  SE. The different letters means significant difference between different tissues within the same colony (P < 0.05).

### 2.2 Cry1Ab 蛋白在亚洲玉米螟其他各虫态中的传递

将取食转 Bt 玉米 3 天后的抗、感种群亚洲玉米 螟幼虫,分别转入正常饲料上发育,其发育成的蛹、成虫体内和成虫所产的卵内均未检测到 Cry1Ab 杀虫蛋白的存在,说明 Bt 杀虫蛋白不会通过幼虫的取食向蛹和成虫及卵传递。

#### 3 讨论

昆虫取食 Bt 蛋白后其主要生理机制是杀虫蛋

白对中肠组织的局部破坏最终导致中肠消化酶合成和分泌的减弱,引起肠道细胞破坏、蛋白酶的活性改变(周冬生等,2001)。 Bt 抗性种群亚洲玉米螟取食Bt 玉米后 Cry1Ab 杀虫蛋白在不同组织中的分布与敏感种群相似,主要集中在中肠和血淋巴中,但抗性种群体内的 Cry1Ab 含量明显高于敏感种群,这可能与抗性种群比敏感亚洲玉米螟幼虫取食 Bt 玉米组织量大有关,因为敏感的亚洲玉米螟幼虫取食 Bt 玉米组织量大有关,因为敏感的亚洲玉米螟幼虫取食 Bt 玉米后会造成拒食(王冬妍等,2005)。而 Bt 对抗性种群幼虫拒食作用比较弱(Martinez et al.,1999),对中肠的损害程度轻(梁革梅等,2001)因此导致抗性玉

米螟取食的 Bt 玉米组织较多 ,可能是其体内杀虫蛋白含量较多的主要原因。在亚洲玉米螟抗性和敏感两种群的脂肪体和生殖器官均没有发生阳性反应 ,可能是由于含量低于酶联免疫吸附方法的检出阈值而检测不到或这些组织中根本就没有 Cry1Ab 杀虫蛋白存在。Head 等(2001)也报道欧洲玉米螟Ostrinia nubilalis 取食含 Cry1Ab 饲料后体内可检测到 Cry1Ab 蛋白 ,而且虫体经过冷冻干燥混入人工饲料中饲喂 1 龄幼虫 ,死亡率可达 20%。但亚洲玉米螟体内残留的 Bt 蛋白是否具有杀虫活性仍有待于进一步研究。

虽然取食转 Bt 玉米的玉米螟幼虫体内含有大量的杀虫蛋白,但取食 Bt 玉米的抗、感种群幼虫化的蛹、羽化的成虫和及所产的卵中均未检测到 Bt 杀虫蛋白的存在,这与 Vojtech 等( 2005 )的结果相似。 Vojtech 等( 2005 )报道了灰翅夜蛾 Spodoptera littoralis整个幼虫期取食转 Bt 基因玉米后,成虫体内也检测不到 Bt 杀虫蛋白,并认为幼虫在化蛹前已将体内杀虫蛋白随排泄物全部排出体外。因此,Bt 杀虫蛋白不会从 Bt 玉米向捕食或寄生亚洲玉米螟蛹、成虫和卵的天敌昆虫传递。

由于 Bt 杀虫蛋白存在于取食 Bt 玉米的亚洲玉 米螟幼虫中肠和血淋巴等组织器官中,捕食性或寄 生性天敌在捕食或寄生过程中,有可能会有部分 Bt 杀虫蛋白通过寄主昆虫,进入第三营养阶层天敌昆 虫体内 这种现象已经在蜘蛛捕食转基因抗虫水稻 上取食的褐飞虱中得到证实(陈茂等,2005)。 尽管 目前的研究表明。Bt 玉米对捕食性天敌的种群数量 和捕食作用没有明显的副作用( Pilcher et al., 1997; Al-Deeb et al., 2001),但有研究表明一种亚热带蛀 茎螟虫 Eoreuma loftini 幼虫取食 Bt 玉米组织后,会 对一种寄生性天敌 Parallorhogas pyralophagus 的某些 适合度有负面影响(Bernal et al. 2002)。同时,由于 Bt杀虫蛋白在植食性昆虫不同组织以及同一昆虫 不同抗、感种群中的含量不同 这样使捕食或寄生对 Bt杀虫蛋白敏感程度不同的天敌昆虫暴露在不同 剂量的 Bt 杀虫蛋白下,对天敌的作用可能有所不 同。因此 研究 Bt 杀虫蛋白在 Bt 植物-害虫-天敌三 者营养关系的食物链传递过程中是否会对捕食和寄 生性天敌的生理代谢产生不良影响,探讨转 Bt 基因 抗虫植物对天敌的潜在效应是转 Bt 基因抗虫作物 生态安全性需要深入研究的重要方面。

#### 参考文献(References)

thuringiensis corn and Bacillus thuringiensis on the predator Orius insidiosus ( Hemiptera : Anthocoridae ). Environ . Entomol . , 30:625

- Bernal JS , Griset JG , Gillogly PO , 2002. Impacts of developing on Bt maize-intoxicated hosts on fitness parameters of a stem borer parasitoid. J. Entomol. Sci. , 37: 27 40.
- Chen M, Ye GY, Lu XM, Hu C, Peng YF, Shu QY, Altosaar I, 2005.
  Biotransfer and bioaccumulation of Cry1Ab insecticidal protein in rice plant-brown planthopper-wolf spider food chain. Acta Entomol. Sin., 48(2):208-213. [陈茂,叶恭银,卢新民,胡萃,彭于发,舒庆尧,Illimar Altosaar, 2005. Cry1Ab 杀虫蛋白在水稻-褐飞虱-拟水狼蛛食物链中转移与富集.昆虫学报,48(2):208-213]
- Ferré J , van Rie J , 2002. Biochemistry and genetics of insect resistance to Bacillus thuringiensis . Ann . Rev . Entomol . , 47 : 501 – 533.
- He KL, Wang ZY, Zhou DR, Wen LP, Song YY, Yao ZY, 2003.
  Evaluation of transgenic Bt corn for resistance to the Asian corn borer
  (Lepidoptera: Pyralidae). J. Econ. Entomol., 96:935-940.
- Head G, Brown CR, Croth ME, Duan JJ, 2001. Cry1Ab protein levels in phytophagous insects feeding on transgenic corn: implications for secondary exposure risk assessment. Entomol. Exp. Appl., 99:37 – 45.
- Huang FN, Higgins RA, Buschman LL, 1997. Baseline susceptibility and changes in susceptibility to *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* under selection pressure in European com borer (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Econ. Entomol.*, 90:1137-1143.
- Jia SR, Guo SD, An DC, 2001. Transgenic Cotton. Beijing: Science Press. 15-31.[贾士荣,郭三堆,安道昌,2001.转基因棉花.北京:科学出版社,15-31]
- Li GT, 2004. Biology and Genetic Analysis of Cry1Ab Resistant Asian Com Borer (Lepidoptera: Pyralidae). MSc Thesis, Chinese Academy of Agricultural Sciences. Beijing. [李光涛, 2004. 亚洲玉米螟 Cry1Ab 抗性种群的生物学及其抗性遗传规律研究. 中国农业科学院硕士学位论文. 北京]
- Liang GM, Tan WJ, Guo YY, 2001. Comparison of some detoxification enzyme and midgut protease activities between resistant and susceptible cotton bollworm population to Bt. *Acta Phytophyl*. Sin., 28(2):133—138.[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]
- Martīnez-ramīrez AC , Gould F , Ferré J , 1999. Histopathological effects and growth reduction in a susceptible and a resistant strain of *Heliothis virescens*(Lepidoptera: Noctuidae) caused by sublethal doses of pure Cry1A crystal proteins from *Bacillus thuringiensis*. *Biocon*. *Sci*. *Tech*. , 9:239 246.
- McGaughey WH , 1985. Insect resistance to the biological insecticide *Bacillus* thuringiensis . Science , 229(4 709): 193 195.
- Pilcher DC, Obryski JJ, Rice ME, Lewis LC, 1997. Preimaginal development, survival, and field abundance of insect predators on transgenic *Bacillus thuringiensis* com. *Environ*. *Entomol*., 26:446– 454.
- Shelton AM , Zhao JZ , Roush RT , 2002. Economic , ecological , food safety , and social consequences of the deployment of Bt transgenic plant. Ann.

- Rev. Entomol., 47:845 881.
- Vojtech E, Meissle M, Poppy GM, 2005. Effects of Bt maize on the herbivore Spodoptera littoralis (Lepidoptera: Noctuidae) and the parasitoid Cotesia marginiventris (Hymenoptera: Braconidae). Trans. Res., 14: 133 – 144.
- Wang DY, Wang ZY, He KL, Cong B, Bai SX, Wen LP, 2004. Temporal and spatial expression of Cryl Ab toxin in transgenic Bt corn and its effects on Asian corn borer. Scientia Agricultura Sinica, 3代8):1155-1159.[王冬妍,王振营,何康来,丛斌,白树雄,文丽萍,2004. Bt 玉米杀虫蛋白的时空表达及对亚洲玉米螟的杀虫效果.中国农业科学,3代8):1155-1159]
- Wang DY, Wang ZY, He KL, Cong B, 2005. Feeding behavior of *Ostrinia furnacalis* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae on transgenic Bt com expressing CryIAb toxin. *Entomological Knowledge*, 42(2): 258 –

- 262. [王冬妍,王振营,何康来,丛斌,2005. 转 Bt 基因抗虫玉米对亚洲玉米螟幼虫取食行为的影响. 昆虫知识,42(2):258-262]
- Zhou DR, He KL, 1995. Asian Corn Borer and Its Integrated Management.

  Beijing: Golden Shield Press. 1 102. [周大荣,何康来,1995. 玉米螟综合防治. 北京:金盾出版社.1 102]
- Zhou DS, Wang XL, Wu ZT, Ni CG, Zheng HJ, Xia J, 2001. Antifeedant activity of Bt transgenic cotton to cotton bollworm and its possible mechanisms. *Entomological Knowledge*, 38(6):437-440. [周冬生, 王学林,吴振廷,倪春耕,郑厚今,夏静,2001. 转 Bt 基因抗虫棉对棉铃虫拒食作用及其机理研究.昆虫知识,38(6):437-440]

(责任编辑:黄玲巧)