

转 *Bt-cry1Ah* 基因玉米花粉对龟纹瓢虫解毒酶和中肠蛋白酶活性的影响

崔 蕾, 王振营, 何康来, 白树雄

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

摘要: 研究了取食转 *Bt-cry1Ah* 基因玉米花粉对龟纹瓢虫 *Propylaea japonica* (Thunberg) 体内解毒酶和中肠蛋白酶活性的影响。利用饲喂结合比色方法, 比较龟纹瓢虫取食转 *Bt-cry1Ah* 基因玉米花粉和非转基因玉米花粉后体内 α -乙酸萘酯酶、乙酰胆碱酯酶、谷胱甘肽-S-转移酶、中肠总蛋白酶、类胰蛋白酶和类胰凝乳蛋白酶的酶活性。结果发现: 在解毒酶方面, 取食 *Bt* 玉米花粉的龟纹瓢虫 4 龄幼虫和蛹的 α -乙酸萘酯酶活性显著低于取食非 *Bt* 玉米花粉的龟纹瓢虫 (对照组), 取食 *Bt* 玉米花粉的龟纹瓢虫的乙酰胆碱酯酶和谷胱甘肽-S-转移酶活性在各个发育时期与对照相比均无显著差异。在中肠蛋白酶方面, 与对照组相比, 取食 *Bt* 玉米花粉的龟纹瓢虫的总蛋白酶和强碱性类胰蛋白酶活性在各个发育时期均无显著差异; 但取食 *Bt* 玉米花粉的龟纹瓢虫的弱碱性类胰凝乳蛋白酶和类胰凝乳蛋白酶活性在蛹期显著低于取食非 *Bt* 玉米花粉的龟纹瓢虫。由此可见, 龟纹瓢虫取食含有 *Cry1Ah* 杀虫蛋白的玉米花粉后, 体内代谢解毒酶和中肠蛋白酶与 *Cry1Ah* 杀虫蛋白相互作用, 可能会引起某些酶活性的变化。因此, 转 *cry1Ah* 基因玉米花粉对龟纹瓢虫的潜在影响还需要进一步的研究。

关键词: 转 *Bt-cry1Ah* 基因玉米; 花粉; 龟纹瓢虫; 解毒酶; 中肠蛋白酶; 酶活性

Effects of transgenic *Bt-cry1Ah* maize (*Zea mays* L.) pollen on the activity of detoxification enzymes and midgut protease in *Propylaea japonica* (Thunberg) (Coleoptera: Coccinellidae)

Lei CUI, Zhen-ying WANG, Kang-lai HE, Shu-xiong BAI

State Key Laboratory for the Biology of the Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China

Abstract: The experiments were conducted in laboratory to explore the effects of transgenic. The activitiy changes of detoxification enzymes and midgut protease after feeding on the pollen of transgenic *Bt* (*Bt-cry1Ah*) maize in the ladybird beetle *Propylaea japonica* (Thunberg) was examined. The activities of the α -naphthylacetate esterase, acetylcholinesterase, glutathione-S-transferase, total protease, alkaline trysin-like proteinase and chymotrypsin-like proteinase in beetles reared *Bt* and non-*Bt* maize pollen were compared by feeding the on transgenic *Bt-cry1Ah* maize pollen combined with colorimetric method. The results indicated that there were no differences in the activities of acetylcholinesterase, glutathione-S-transferase, total protease and active alkaline trysin-like proteinase in *P. japonica* in any examined larval instars of larvae and adults fed on transgenic *Bt* maize pollen vs. those fed on non *Bt* pollen (the control). The activity levels of α -naphthylacetate esterase in 4th instar larvae and pupae, and the weak alkaline trysin-like proteinase and chymotrypsin-like proteinase in *P. japonica* at pupae fed on transgenic *Bt* maize pollen were significantly lower in beetles feeding on transgenic pollen than that in the control. Therefore, the interation of the detoxification enzymes and midgut proteases and *Cry1Ah* protein may cause some of the enzymes activities. The potential impact of transgenic *Bt-cry1Ah* maize pollen on *P. japonica* need to futher study.

Key words: transgenic *Bt-cry1Ah* maize; pollen; *Propylaea japonica*; detoxification enzyme; midgut protease; enzyme activity

随着转基因技术的飞速发展以及转基因玉米的大面积推广, 转基因玉米在带来巨大的社会、经济和生态效益的同时, 其安全性问题也引起了世界范围内的广泛关注 (Berglson *et al.*, 1998; Crawley *et al.*, 2001; Conner *et al.*, 2003; Hancock, 2003)。自 Losey *et al.* (1999) 报道了转基因玉米花粉对非靶标昆虫帝王斑蝶 *Danaus plexippus* 生长发育有不利影响之后, 转基因植物对非靶标昆虫潜在的影响

倍受重视。非靶标害虫玉米跳虫 *Chaetocnema pulicar*、日本丽金龟 *Popillia japonica* 和十一星根萤叶甲 *Diabrotica undecimpunctata* 取食表达 *Cry1Ab* 杀虫蛋白的 *Bt* 玉米后,体内都含有相当数量的 *Cry1Ab* 杀虫蛋白(Harwood *et al.*, 2005)。绿草蛉 *Chrysoperla carnea* 取食添加雪花莲凝集素(*Galanthus nivalis agglutinin*, GNA)的人工饲料后,成虫的寿命未受到影响,但 GNA 的聚集会对其产卵前期、日产卵量和总产卵量产生负面的影响;用添加了 GNA 的人工饲料饲喂的草蛉幼虫羽化后成虫的体重、产卵前期、日产卵量和总产卵量没有区别,但卵的孵化率则显著减少,所以浓度较高的 GNA 会对草蛉造成一些不利的影响(Li & Romeis, 2009)。将转 *cry1Ab* 基因玉米花粉、纯化的 *Cry1Ab* 蛋白和大豆胰蛋白酶抑制剂(SBTI)分别拌入糖浆饲喂蜜蜂成虫,结果表明,取食花粉、*Cry1Ab* 蛋白的蜜蜂存活率和下咽腺的生长发育均无明显差异,而取食 SBTI 的蜜蜂下咽腺管的平均重量、平均直径显著降低(Babendreier *et al.*, 2005)。

Bt-cry1Ah 基因是从我国苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*, *Bt*)分离株 BT8 中克隆鉴定的新型杀虫蛋白基因,其编码的蛋白对亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis*、棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 和水稻二化螟 *Chilo suppressalis* 等有很强的杀虫活性(Xue *et al.*, 2008)。我国已经将优化的 *Bt-cry1Ah* 基因活性片段转入玉米,获得了遗传稳定的转 *Bt-cry1Ah* 基因抗虫玉米,并证明表达该基因的玉米对玉米螟有显著抗性(Wang *et al.*, 2008; 岳同卿等, 2010)。瓢虫有取食花粉的习性(Wold *et al.*, 2001),由于玉米散粉期有大量的花粉沉积在植株叶腋处,而瓢虫等捕食性天敌常在叶腋处活动,这增加了瓢虫接触到杀虫蛋白的风险(邢珍娟等, 2008)。研究表明,转 *cry1Ab* 基因玉米花粉对斑鞘饰瓢虫 *Coleomegilla maculata* 和异色瓢虫 *Harmonia axyridis* 的生长发育和产卵情况等没有不利的影响(Lundgren & Wiedenmann, 2002; 张永军等, 2005),但是否对龟纹瓢虫 *Propylaea japonica* 的生理代谢有影响,尚未见报道。本试验研究转 *Bt-cry1Ah* 基因玉米花粉对龟纹瓢虫体内解毒酶和中肠蛋白酶活性的影响,以期为转基因抗虫玉米的环境安全性研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试玉米花粉

转 *Bt-cry1Ah* 基因玉米(以下简称 *Bt* 玉米)及其亲本 X090(以下简称非 *Bt* 玉米)由中国农业科学院生物技术研究所提供。玉米种植于中国农业科学院廊坊试验基地农业部转基因植物环境安全监督检验测试中心(北京)试验地。散粉前在玉米雄穗上套上授粉袋,分别收集 *Bt* 玉米和非 *Bt* 玉米花粉,迅速带回实验室,将花粉转移到密封塑料袋中,置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存。

1.2 供试昆虫及饲养方法

龟纹瓢虫由北京市农林科学院植物保护环境保护研究所提供,麦长管蚜 *Sitobion avenae* 由中国农业科学院植物保护研究所小麦害虫组提供。瓢虫饲养在塑料养虫笼($30\text{ cm} \times 25\text{ cm} \times 30\text{ cm}$)中,置于光照培养箱(温度 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, $RH\ 60\% \sim 70\%$, L:D = 16:8)待产卵。麦长管蚜饲养在小麦苗上,并置于光照培养箱(温度 $23\text{ }^{\circ}\text{C}$, $RH\ 60\% \sim 70\%$, L:D = 16:8)中。待瓢虫卵孵化后,将初孵的龟纹瓢虫幼虫单头饲养在塑料培养皿($6\text{ cm} \times 6\text{ cm}$)内,置于光照培养箱中,培养皿中放清洁保湿棉球,每天更换1次。瓢虫幼虫和成虫每天饲喂足量的蚜虫1次。

1.3 瓢虫体内代谢解毒酶活性测定

1.3.1 酶提取液的制备 每24头初孵瓢虫幼虫为1组,共10组。其中,5组用 *Bt* 玉米花粉与蚜虫按2:1(重量比)混合喂养,作为处理组;5组用非 *Bt* 玉米花粉与蚜虫按2:1混合喂养,作为对照组。分别取瓢虫2、3、4龄幼虫,蛹和羽化后第10 d的成虫虫体各8头,放入玻璃匀浆器中,加入 $500\text{ }\mu\text{L}$ pH 8.0 的 $0.1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液(含 0.1% TritonX-100),冰浴匀浆,匀浆液在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $12000 \times g$ 离心机上离心30 min,取上清液作为酶提取液。每个处理重复3次。

1.3.2 α -乙酸萘酯酶活性测定 测定方法参照 van Asperen (1962) 并加以改进。反应混合液中含有 $10\text{ }\mu\text{L}$ 酶液、 $90\text{ }\mu\text{L}$ $0.04\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液(pH 7.0)、 $50\text{ }\mu\text{L}$ $0.0004\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ α -乙酸萘酯液。在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴中保温30 min,加入 $50\text{ }\mu\text{L}$ 显色剂(1% 固牢蓝 B 盐与 SDS 溶液按2:5混合),室温下放置10 min,置于酶标仪(Bio-Rad 公司, Microplate Reader550)中,

在 600 nm 处比色,测其 D 值。设定每 15 s 记录 1 次 D 值,共记录 30 次。

1.3.3 乙酰胆碱酯酶活性测定 测定方法参照 Ellman (1961) 并加以改进。取 10 μL 酶液、90 μL 0.1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液 (pH 8.0)、20 μL 0.075 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 碘化乙酰胆碱、30 μL 0.01 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ DTNB 液,在 25 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中保温 15 min,加入 50 μL 0.01 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 毒扁豆碱,置于酶标仪中,在 410 nm 处比色,测其 D 值。记录方式同 1.3.2。

1.3.4 谷胱甘肽-S-转移酶活性测定 测定方法参照 Booth (1961) 并加以改进。反应混合液中含有 10 μL 酶液、90 μL 0.1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液 (pH 8.0)、50 μL 0.03 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 谷胱甘肽液、50 μL 0.1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ CDNB 液。在 25 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中反应 30 min,加热使其失活,置于酶标仪中,在 340 nm 处比色,测其 D 值。记录方式同 1.3.2。

1.4 主要中肠蛋白酶活性测定

测定方法参照王琛柱和钦俊德 (1996) 并加以改进。

1.4.1 中肠酶液的制备 每 24 头初孵瓢虫幼虫为 1 组,共 10 组,试虫同 1.3.1。分别取瓢虫 2、3、4 龄幼虫,蛹和羽化后第 10 d 的成虫虫体各 8 头,放入玻璃匀浆器中,加入预冷的 0.15 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氯化钠后,冰浴匀浆,然后将匀浆液转入离心管离心 15 min (4 $^{\circ}\text{C}$, 12000 $\times g$),取上清液作为酶液, -20 $^{\circ}\text{C}$ 贮存备用。

1.4.2 中肠总蛋白酶活性测定 将 20 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 偶氮酪蛋白溶于 0.15 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氯化钠中,取 40 μL 该液加入 5 μL 酶液及 20 μL 0.2 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甘氨酸—氢氧化钠 (pH 10.0),整个反应体系于 30 $^{\circ}\text{C}$ 育温 2 h,然后加入预冷的 10% (V/V) 三氯乙酸 65 μL 终止反应。最后于 12000 $\times g$ 离心 15 min,取上清液 60 μL 及 40 μL 1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠置于酶标仪中,于 405 nm 处测定 D 值。记录方式同 1.3.2。

1.4.3 类胰蛋白酶活性测定 (1) 强碱性类胰蛋白酶。以 BAPNA 作为底物,将 20 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ BAPNA 溶于二甲基亚砜,取 45 μL 该液加入 90 μL 0.1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甘氨酸—氢氧化钠 (pH 10.0) 和 5 μL 酶液后立即置于酶标仪中,于 405 nm 处测其 D 值。(2) 弱碱性类胰蛋白酶。以 TAME 作为底物,将 2

$\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ TAME 溶于 0.15 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氯化钠中,取 45 μL 该液加入 90 μL Tris-HCl 缓冲液 (pH 8.5) 和 5 μL 酶液后立即置于酶标仪中,于 248 nm 处测定 D 值。记录方式同 1.3.2。

1.4.4 类胰凝乳蛋白酶活性测定 以 BTEE 作为底物,将 1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ BTEE 溶于含 10% (V/V) 甲醇的 0.15 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氯化钠溶液中,取 50 μL 该液加入 45 μL 0.2 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl 溶液 (pH 8.5) 和 5 μL 酶液后置于酶标仪中,在 256 nm 处测 D 值。记录方式同 1.3.2。

1.5 酶活性的计算

酶活性的计算参照印芳等 (2008)。

$$\text{酶活性} = (\Delta D \times V_T) / (W \times V_s \times 0.01 \times t)$$

其中, ΔD 为 1.3 和 1.4 中不同波长下,反应时间内 D 的变化; V_T 为酶液总体积/mL; W 为试验材料鲜重/g; V_s 为测定时所取的酶液体积/mL; t 为反应时间/min。酶活性单位为 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

1.6 数据处理

采用 SPSS11.5 软件对试验数据进行方差分析,差异显著性 ($P < 0.05$) 比较采用独立样本 t 测验。

2 结果与分析

2.1 瓢虫取食 Bt 玉米花粉时体内主要代谢解毒酶活性的变化

从表 1 可以看出,取食 Bt 玉米花粉的龟纹瓢虫的 α -乙酸萘酯酶活性在 4 龄幼虫和蛹期与对照组相比显著降低,而在 2、3 龄幼虫和成虫期与对照组相比均无显著差异。取食 Bt 玉米花粉的龟纹瓢虫的乙酰胆碱酯酶和谷胱甘肽-S-转移酶活性在各个发育时期与对照相比均无显著差异。

2.2 瓢虫取食 Bt 玉米花粉时中肠蛋白酶活性的变化

从表 2 可以看出,与对照组相比,取食 Bt 玉米花粉的龟纹瓢虫的总蛋白酶和强碱性类胰蛋白酶活性在各个发育时期均无显著差异。但取食 Bt 玉米花粉的龟纹瓢虫的弱碱性类胰蛋白酶和类胰凝乳蛋白酶活性在蛹期与对照组相比显著降低,而在 2、3、4 龄幼虫和成虫期与对照组相比则无显著差异。

表1 瓢虫取食 *Bt* 玉米花粉和非 *Bt* 玉米花粉的主要代谢解毒酶活性比较

Table 1 The activities of detoxification enzymes in *P. japonica* reared on pollen of transgenic *Bt* maize expressing *cry1Ah* toxin and its non-*Bt* maize (control)

虫态 Developmental stage	酶活性 Enzyme activity / (U·g ⁻¹ ·min ⁻¹)					
	α-乙酸萘酯酶 α-naphthylacetate esterase		乙酰胆碱酯酶 Acetylcholinesterase		谷胱甘肽-S-转移酶 Glutathione-S-transferase	
	<i>Bt</i> 玉米花粉 <i>Bt</i> corn pollen-fed larvae	非 <i>Bt</i> 玉米花粉 Control	<i>Bt</i> 玉米花粉 <i>Bt</i> corn pollen-fed larvae	非 <i>Bt</i> 玉米花粉 Control	<i>Bt</i> 玉米花粉 <i>Bt</i> corn pollen-fed larvae	非 <i>Bt</i> 玉米花粉 Control
2 龄幼虫 2 nd instar	1.83 ± 0.22	1.70 ± 0.35	2.28 ± 0.93	2.27 ± 0.81	15.02 ± 5.20	14.61 ± 6.34
3 龄幼虫 3 rd instar	2.00 ± 0.30	2.47 ± 0.20	1.29 ± 0.54	1.36 ± 0.58	11.62 ± 4.51	11.49 ± 3.79
4 龄幼虫 4 th instar	1.49 ± 0.10	1.78 ± 0.21 *	0.86 ± 0.34	0.86 ± 0.35	11.81 ± 5.13	13.63 ± 4.02
蛹 Pupa	2.26 ± 0.11	2.66 ± 0.25 *	0.92 ± 0.38	0.98 ± 0.38	13.68 ± 5.00	16.49 ± 4.42
成虫 Adult	2.14 ± 0.64	1.89 ± 0.50	1.12 ± 0.26	1.04 ± 0.23	19.38 ± 4.68	17.65 ± 4.05

数据为平均值 ± 标准误,同行数据后附 * 表示差异显著 ($P < 0.05$)。
Data in the lable are means ± 1 S. E. ,and those in the same row followed by * show significant difference at $P < 0.05$.

表2 瓢虫取食 *Bt* 玉米花粉和非 *Bt* 玉米花粉的中肠蛋白酶活性比较

Table 2 The activities of midgut protease in *P. japonica* reared on pollen of transgenic *Bt* maize expressing *cry1Ah* toxin and its non-*Bt* isoline (control)

虫态 Developmental stage	酶活性 Enzyme activity / (U·g ⁻¹ ·min ⁻¹)							
	总蛋白酶 Total protease		强碱性类胰蛋白酶 Active alkaline trypsin-like protease		弱碱性类胰蛋白酶 Weak alkaline trypsin-like protease		类胰凝乳蛋白酶 Chymotrypsin-like protease	
	<i>Bt</i> 玉米花粉 <i>Bt</i> corn pollen-fed larvae	非 <i>Bt</i> 玉米花粉 Control	<i>Bt</i> 玉米花粉 <i>Bt</i> corn pollen-fed larvae	非 <i>Bt</i> 玉米花粉 Control	<i>Bt</i> 玉米花粉 <i>Bt</i> corn pollen-fed larvae	非 <i>Bt</i> 玉米花粉 Control	<i>Bt</i> 玉米花粉 <i>Bt</i> corn pollen-fed larvae	非 <i>Bt</i> 玉米花粉 Control
2 龄幼虫 2 nd instar	0.55 ± 0.34	0.37 ± 0.18	3.61 ± 1.20	3.20 ± 1.63	9.81 ± 3.58	8.58 ± 4.00	15.84 ± 3.29	12.77 ± 4.27
3 龄幼虫 3 rd instar	0.30 ± 0.21	0.28 ± 0.15	3.89 ± 1.41	3.31 ± 1.48	16.51 ± 6.80	14.92 ± 5.88	17.96 ± 7.60	16.77 ± 4.87
4 龄幼虫 4 th instar	0.19 ± 0.17	0.18 ± 0.08	2.77 ± 1.10	2.25 ± 1.06	9.63 ± 3.90	11.68 ± 1.05	11.70 ± 3.27	11.43 ± 3.47
蛹 Pupa	0.15 ± 0.54	0.17 ± 0.05	1.77 ± 0.68	1.61 ± 0.85	7.63 ± 1.39	11.18 ± 3.00 *	11.11 ± 3.34	16.30 ± 5.91 *
成虫 Adult	0.25 ± 0.79	0.21 ± 0.54	3.11 ± 1.29	3.32 ± 0.68	15.33 ± 3.12	13.06 ± 3.00	18.02 ± 2.89	16.34 ± 3.74

数据为平均值 ± 标准误,同行数据后附 * 表示差异显著 ($P < 0.05$)。
Data in the lable are means ± 1 S. E. ,and those in the same row followed by * show significant difference at $P < 0.05$.

3 讨论

有关转基因植物对龟纹瓢虫生长等方面影响的研究较多。李丽莉(2004)研究表明,龟纹瓢虫取食在 *Bt* 玉米上繁殖的玉米蚜 *Rhopalosiphum maidis* 和表达 Cry1Ab 杀虫蛋白的玉米花粉后未受到影响。Bai *et al.* (2005)研究发现,取食转 *cry1Ab* 基因水稻 KMD1 系花粉的龟纹瓢虫雌成虫寿命显著低于取食亲本花粉的龟纹瓢虫,在 KMD2 系中新羽化的雄成虫活性显著低于亲本;但两者间的生长发育、存活和繁殖并无显著差异。龟纹瓢虫捕食了表达 Cry1Ac 蛋白转基因抗虫棉花上的棉铃虫后只是体重和体长减小,幼虫的存活率、生长发育、死亡率、产卵和成虫寿命都未受到影响 (Zhang *et al.* , 2006)。此外,捕食性瓢虫可能会通过取食转基因植物田中的害虫而摄入 *Bt* 杀虫蛋白 (Obrist *et al.* , 2006)。还有研究表明,转 *cry1Ac/cry1Ab* 基因棉花对龟纹瓢虫幼虫没有直接的不利影响 (Zhang *et al.* ,2006)。

本研究结果表明,*Bt* 玉米花粉对龟纹瓢虫体内代谢解毒酶和中肠蛋白酶活性有一定的影响。取食转 *Bt-cry1Ah* 基因玉米花粉的龟纹瓢虫的 α-乙酸萘酯酶、弱碱性类胰蛋白酶和类胰凝乳蛋白酶活性在蛹期显著低于取食非 *Bt* 玉米花粉的龟纹瓢虫,说明瓢虫体内代谢解毒酶和中肠蛋白酶在与 *Bt* 杀虫蛋白相互作用时可能会引起某些酶活性的变化,但个别酶活性的变化还不足以影响瓢虫的生长发育。本试验结果与表达 Cry1Ab 杀虫蛋白的 *Bt* 玉米花粉对异色瓢虫体内解毒代谢酶的影响(张永军等,2005)相似。用表达 Cry1Ac 杀虫蛋白的 *Bt* 棉花粉饲喂意大利蜜蜂 *Apis mellifera* 后,蜜蜂体内代谢酶和一些消化酶的变化也未对其生长发育造成不利的影响(田岩等,2006)。有关转 *Bt-cry1Ah* 基因玉米花粉对龟纹瓢虫的潜在影响还需进一步研究。

参考文献

李丽莉. 2004. 转 *Bt* 基因玉米对玉米蚜及其捕食性天敌龟纹瓢虫的影响. 陕西:西北农林科技大学.

- 田岩,张永军,吴孔明,赵奎军,彭于发,郭予元. 2006. 转 *Bt-cry1Ac* 棉花花粉对意大利蜜蜂生长发育的影响. 应用与环境生物学报, 12(4): 464 – 467.
- 王琛柱,钦俊德. 1996. 棉铃虫幼虫中肠主要蛋白酶活性的鉴定. 昆虫学报, 39(1): 7 – 14.
- 邢珍娟,王振营,何康来,白树雄. 2008. 转 *Bt* 基因抗虫玉米植株叶腋处花粉中 *Cry1Ab* 杀虫蛋白的田间降解动态. 应用与环境生物学报, 14(2): 163 – 166.
- 印芳,葛红,彭克勤,赵伶俐,周玉杰,李秋香. 2008. 蝴蝶兰组培褐变与酚酸类物质及相关酶活性的关系. 中国农业科学, 41(7): 2197 – 2203.
- 岳同卿,郎志宏,王延锋,张杰,何康来,黄大昉. 2010. 转 *Bt-cry1Ah* 基因抗虫玉米的获得及其遗传稳定性分析. 农业生物技术学报, 18(4): 638 – 644.
- 张永军,孙毅,袁海滨,吴孔明,彭于发. 2005. 转 *Bt-cry1Ab* 玉米花粉对异色瓢虫生长发育及体内三种代谢酶活性的影响. 昆虫学报, 48(6): 898 – 902.
- Babendreier D, Kalberer N M, Romeis J, Fluri P, Mulligan E and Bigler F. 2005. Influence of *Bt*-transgenic pollen, *Bt*-toxin and protease inhibitor (SBTI) ingestion on development of the hypopharyngeal glands in honeybees. *Apidologie*, 36: 585 – 594.
- Bai Y Y, Jiang M X and Cheng J A. 2005. Effects of transgenic *cry1Ab* rice pollen on fitness of *Propylea japonica* (Thunberg). *Journal of Pest Science*, 78: 123 – 128.
- Bergelson J, Purrington C B and Wichmann G. 1998. Promiscuity in transgenic plants. *Nature*, 395: 25.
- Booth J E. 1961. An enzyme from rat liver catalyzing conjugation with glutathione. *Biochemical Journal*, 79: 248 – 254.
- Conner A J, Glare T R and Nap J P. 2003. The release of genetically modified crops into the environment. Part 2. Overview of ecological risk assessment. *The Plant Journal*, 33: 19 – 46.
- Crawley M J, Brown S L, Hails R S, Kohn D D and Rees M. 2001. Transgenic crops in nature habitats. *Nature*, 409: 682 – 683.
- Ellman G L. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7: 88 – 94.
- Hancock J F. 2003. A framework for assessing the risk of transgenic crops. *BioScience*, 53: 512 – 519.
- Harwood J D, Wallin W G and Obrycki J J. 2005. Uptake of *Bt* endotoxins by nontarget herbivores and higher order arthropod predators: molecular evidence from a transgenic corn agroecosystem. *Molecular Ecology*, 14: 2815 – 2823.
- Li Y H and Romeis J. 2009. Impact of snowdrop lectin (*Galanthus nivalis agglutinin*; GNA) on adults of the green lacewing, *Chrysoperla carnea*. *Journal of Insect Physiology*, 55: 136 – 143.
- Losey J E, Rayor L S and Carter M E. 1999. Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature*, 399: 214.
- Lundgren J G and Wiedenmann R N. 2002. Coleopteran-specific *Cry3Bb* toxin from transgenic corn pollen does not affect the fitness of a nontarget species, *Coleomegilla maculata* De-treer (Coleoptera: Coccinellidae). *Environmental Entomology*, 3: 1213 – 1218.
- Obrist L B, Dutton A, Albajes R and Bigler F. 2006. Exposure of arthropod predators to *Cry1Ab* toxin in *Bt* maize fields. *Ecological Entomology*, 31: 143 – 154.
- van Asperen K A. 1962. Study of housefly esterase by means of a sensitive colorimetric method. *Journal of Insect Physiology*, 8: 401 – 406.
- Wang Y B, Lang Z H, Zhang J, He K L, Song F P and Huang D F. 2008. Ubi1 intron mediated enhancement of the expression of *Bt cry1Ah* gene in transgenic maize (*Zea mays* L.). *Chinese Science Bulletin*, 53: 3185 – 3190.
- Wold S J, Burkms E C, Hlltchinson W D and Venette R C. 2001. In-field monitoring of beneficial insect populations in transgenic corn expressing a *Bacillus thuringiensis* toxin. *Journal of Entomological Science*, 36: 177 – 187.
- Xue J, Liang G M, Crickmore N, Li H T, He K L, Song F P, Feng X, Huang D F and Zhang J. 2008. Cloning and characterization of a novel *Cry1A* toxin from *Bacillus thuringiensis* with high toxicity to the Asian corn borer and other lepidopteran insects. *Federation of European Microbiological Societies*, 280: 95 – 101.
- Zhang G F, Wan F H, Liu W X and Guo J Y. 2006. Early instar response to plant-delivered *Bt*-toxin in a herbivore (*Spodoptera litura*) and a predator (*Propylaea japonica*). *Crop Protection*, 25: 527 – 533.
- Zhang S Y, Li D M, Cui J and Xie B Y. 2006. Effects of *Bt*-toxin *Cry1Ac* on *Propylaea japonica* Thunberg (Col., Coccinellidae) by feeding on *Bt*-treated *Bt*-resistant *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lep., Noctuidae) larvae. *Journal of Applied Entomology*, 130: 206 – 212.