

浙江大学农业与生物技术学院

硕士学位论文

转cry1Ab基因粳稻对两种稻飞虱的杀虫剂敏感性和代谢酶的影响

姓名：李兆亮

申请学位级别：硕士

专业：农业昆虫与害虫防治

指导教师：姚洪渭;叶恭银

20100501

中文摘要

本论文以转 *cry1Ab* 基因粳稻 (KMD1 和 KMD2) 为材料, 评价了其对于非靶标害虫褐飞虱和白背飞虱的杀虫剂敏感性及有关代谢酶活性的影响。结果如下:

1 转 *cry1Ab* 基因抗虫粳稻对褐飞虱杀虫剂敏感性及其代谢酶的影响

褐飞虱室内种群分别持续取食 KMD1 和 KMD2 不同世代后, 对 5 种杀虫剂 (吡虫啉、氟虫腈、阿维菌素、毒死蜱和敌敌畏等) 的敏感性与取食对照秀水 11 的相比均无显著差异; 对分别采自 KMD1 和 KMD2 上的杭州和富阳田间种群对 5 种农药的敏感性亦与秀水 11 上的均无显著差异。在 KMD1 和 KMD2 上取食的褐飞虱室内种群以及杭州和富阳田间种群, 其体内解毒酶 (酯酶和谷胱甘肽 S-转移酶)、靶标酶 (乙酰胆碱酯酶) 和保护酶 (超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和过氧化物酶) 等活性与取食秀水 11 的均无显著差异。褐飞虱室内种群以及杭州和富阳田间种群在 KMD 上取食后体内的 Bt 蛋白量相对稳定, 其中以取食 KMD2 的相对较高。

2 转 *cry1Ab* 基因抗虫粳稻对褐飞虱氟虫腈抗性及其代谢酶的影响

褐飞虱氟虫腈抗性品系分别持续取食 KMD1 和 KMD2 后对氟虫腈的 LD_{50} 值及其体内解毒酶、靶标酶和保护酶等活性与取食秀水 11 上的均无显著差异。褐飞虱抗性品系在不同水稻品系上连续饲养后对氟虫腈敏感性的世代变化与褐飞虱氟虫腈敏感品系的相似。

3 转 *cry1Ab* 基因抗虫粳稻对白背飞虱马拉硫磷抗性及其代谢酶的影响

白背飞虱马拉硫磷敏感品系分别持续取食 KMD1 和 KMD2 后, 马拉硫磷的 LD_{50} 值与取食秀水 11 上的无显著差异; 白背飞虱马拉硫磷抗性品系持续取食 KMD1 后, 马拉硫磷的 LD_{50} 值与取食秀水 11 的无显著差异, 持续取食 KMD2 后, 马拉硫磷的 LD_{50} 值则比取食秀水 11 的显著降低。通过对代谢酶活性的测定发现, 除在 KMD1 和 KMD2 上分别取食 5 代的白背飞虱马拉硫磷敏感品系的乙酰胆碱酯酶活性较秀水 11 上的显著降低外, 酯酶、谷胱甘肽 S-转移酶和乙酰胆碱酯酶活性与秀水 11 上的均无显著性差异; 在 KMD1 和 KMD2 上取食的抗马拉硫磷品系体内酯酶、谷胱甘肽 S-转移酶和乙酰胆碱酯酶活性与秀水 11 上的均无显著差异。

关键词: 转基因水稻; *cry1Ab* 基因; 褐飞虱; 白背飞虱; 杀虫剂敏感性; 代谢酶

Abstract

Effects of transgenic *cry1Ab* gene rice, KMD1 and KMD2 on susceptibility and activity of metabolic enzymes in brown planthopper, *Nilaparvata lugens* and white-backed planthopper, *Sogatella furcifera* were studied through comparison with those on non-transgenic parental rice variety, Xiushui11 in the paper.

1. Effects of transgenic *cry1Ab* gene rice on insecticide susceptibility and activity of metabolic enzymes in different populations of *N. lugens* fed on *Bt* rice.

For all five insecticides tested, there were no significant differences in LD₅₀ values and their generational variation among *N. lugens* fed on KMD1, KMD2, and Xiushui 11 continuously in the laboratory. The same results were found in the populations of *N. lugens* collected from rice paddy fields planted with KMD1, KMD2 and Xiushui11 in Hangzhou and Fuyang. For tested activities of detoxification enzymes (esterase and glutathione S-transferase), target enzyme (acetylcholinesterase), and protective enzymes (SOD, CAT and POD), there were no significant differences among different populations of *N. lugens* either fed on KMD1, KMD2, and Xiushui11 for generations in the laboratory or collected from the rice fields. The content of Bt protein, Cry1Ab was relatively stable in different populations of *N. lugens* fed on *Bt* rice, though it was higher in *N. lugens* fed on KMD2.

2. Effects of transgenic *cry1Ab* gene rice on fipronil-resistance and activity of metabolic enzymes in fipronil-resistant strain of *N. lugens* fed on *Bt* rice continually in the laboratory.

There were no significant differences in LD₅₀ values of fipronil and their generational variation in fipronil-resistant strain of *N. lugens* fed on KMD1, KMD2, and Xiushui 11 continuously in the laboratory. There were no significant differences in activities of six metabolic enzymes in fipronil-resistant strain of *N. lugens* fed on KMD1, KMD2, and Xiushui 11 continuously in the laboratory. The generational variation in fipronil-susceptibility and activity of metabolic enzymes of fipronil-resistant strain of *N. lugens* were similar with those of fipronil-susceptible strain after feeding on KMD1, KMD2, and Xiushui 11 continuously in the

laboratory, respectively.

3. Effects of transgenic *cry1Ab* gene rice on malathion-resistance and activity of metabolic enzymes in malathion-resistant and –susceptible strains of *S. furcifera* fed on *Bt* rice continuously in the laboratory.

There were no significant differences in LD₅₀ values of malathion and their generational variation in malathion-susceptible strain of *S. furcifera* fed on KMD1, KMD2, and Xiushui 11 continuously in the laboratory. LD₅₀ values of malathion in malathion-resistant strain of *N. lugens* fed on KMD2 continuously in the laboratory were significant lower than those fed on Xiushui11, while the differences in LD₅₀ values to malathion and their generational variation in malathion-resistant strain of *S. furcifera* fed on KMD1 and Xiushui 11 were not significant. There were no significant differences in enzyme activity of three metabolic enzymes of malathion-resistant and –susceptible strains of *S. furcifera* fed on KMD1, KMD2, and Xiushui 11 continuously in the laboratory, except that the activity of acetylcholinesterase of the malathion-suseptable strain fed on KMD1 and KMD2 for five generations were significant lower than those of *S. furcifera* fed on Xiushui11.

Key Words: Transgenic rice; *cry1Ab* gene; *Nilaparvata lugens*; *Sogatella furcifera*; insecticide susceptibility; metabolic enzymes

致 谢

在论文即将完成之时，忽然感觉自己即将离开，三年的成长除了自己不断努力，也凝聚了很多人的心血。在此，我想对这些年曾经帮助、引导以及无私给予过我的所有人说声谢谢。

首先，我要感谢我的导师姚洪渭副教授和叶恭银教授。论文从选题到设计及实验开展的各个环节都凝聚着导师的心血和汗水。多年来，两位导师在学习、科研和生活各方面都给予了我极大的关心和帮助。姚老师对科研的严谨、执着和追求，以及对本领域发展动态的准确把握，使我获益匪浅。叶老师渊博精深的学识、尖锐敏捷的思路、勤奋忘我的工作精神，让我深深的感受到在科研道路上的献身精神，无论在学术上，还是做人方面，自己都受到潜移默化的教诲。在此，谨再次向两位导师表示万分的感谢。

本研究组的胡萃教授德高望重、博学多才、治学严谨、为人谦和，让我感受到真正的学者风范。我还要感谢本所何俊华教授、程家安教授、刘树生教授、陈学新教授、张传溪教授、沈志成教授、施祖华教授、娄永根教授、莫建初教授、蒋明星教授、祝增荣研究员、唐启义研究员、余虹副教授、时敏副教授、鲍艳原副教授和刘银泉副教授等的授业解惑、关心指导。从他们身上我感受到浙大昆虫所是一个团结奋进、成绩卓然、科研氛围浓厚的团队，这使我认识到了团队的重要性并分享到团队间共有的快乐。

本实验室博士生陈洋、田俊策、方琦、郭建洋、慎小晶、王磊、常雪，硕士生李艳敏、梁莉、祖风、吴顺凡、李秀花、朱洋铿、王伟、王飞、郭燕、孙方达，已毕业的博士朱家颖、王欢、张倩倩、吴玛莉、石宇，硕士高秀云、韩成香、吴珏婧，他们在平时的科研及日常生活中都给予过关心和帮助。在此一并致以真挚的谢意。

我要特别感谢我的父母、家人对我始终如一的理解、支持，从他们身上真正的感受到最无私的爱。

最后，再次感谢所有给我以帮助、爱护的老师、亲人、同学和朋友。同时向参加论文评阅及答辩委员会的各位专家、教授致以诚挚的谢意！

李兆亮

2010年5月于华家池畔

前言

水稻是世界重要的粮食作物之一，是全球将近一半的人口的主食。随着人口的不断增长和耕地面积的减少，水稻的可持续生产在我国农业生产中占有举足轻重的地位。在水稻害虫中，鳞翅目害虫尤其是二化螟 *Chilo suppressalis*、三化螟 *Scirpophaga incertulas* 和稻纵卷叶螟 *Cnaphalocrocis medinalis* 等主要害虫严重威胁水稻的生产，仅在我国每年就造成几十亿公斤的产量损失。目前生产上对螟虫的防治主要是依靠化学杀虫剂，虽然化学农药是一种防治螟害的有效手段，但是存在价格昂贵、农药残留和害虫抗药性等不利因素。随着转基因技术的发展，将外源抗虫基因导入植物基因组中，为培育抗虫作物开辟了一条全新的道路。自 20 世纪 90 年代以来，国内外已培育出多个高抗水稻螟虫的转抗虫基因材料（Shu 等, 2000; Jiang 等, 2004），中国的转基因水稻已获准进入田间试验和环境释放。2009 年，两个转 *Bt* 基因水稻“华恢 1 号”和“Bt 汕优 63”获得生产应用安全证书，加速了转基因水稻商业化的步伐。

目前，就转 *Bt* 基因抗虫植物对非靶标生物影响的研究主要以非靶标生物在农田中的丰富度、农业生态系统中的经济价值、室内研究的可操作性及可能出现风险的概率大小为出发点，进而选择恰当、合适的非靶标生物作为研究对象，分析 *Bt* 抗虫植物对其的生态风险（O'Callaghan 等, 2005）。褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 和白背飞虱 *Sogatella furcifera* 是我国稻区的重要害虫，成虫、若虫既可直接刺吸、产卵为害，又可传播或诱发水稻病害，严重威胁水稻生长，造成稻谷产量大幅度降低（程遐年, 2003）。虽然 Schonenly 等（2003）通过 *Bt* 药剂对水稻进行喷雾实验认为，*Bt* 水稻在田间条件下不会影响原有稻飞虱的生防控制作用，但是 *Bt* 基因的随机插入对水稻的影响更为复杂，就 *Bt* 水稻对非靶标稻飞虱的影响仍需进行系统地评价。

本论文就转 *cry1Ab* 基因抗虫粳稻对褐飞虱和白背飞虱药剂敏感性及其代谢酶活性的影响作了较系统的评价，旨在明确 *Bt* 水稻对非靶标稻飞虱的毒理学效应，为 *Bt* 水稻的生态安全性评价和 *Bt* 稻田的飞虱综合治理提供理论基础，并推动转基因产业在我国农业上的发展。

第一章 转 *Bt* 基因抗虫水稻的安全性评价

水稻是最重要的粮食作物之一，全世界将近一半的人口以水稻为主食。大螟 *Sesamia inferens*、二化螟 *Chilo suppressalis* 和三化螟 *Scirpophaga incertulas* 是水稻的主要害虫，每年造成的产量损失可达水稻总产量的 5%~10% (Pathak and Khan, 1994)。目前生产上对螟虫的防治主要是依靠化学杀虫剂，虽然化学农药是一种防治螟害的有效手段，但是存在价格昂贵、农药残留和害虫抗药性进化加快等不利因素。培育抗虫品种，提高自身抗性是控制虫害、减少损失的理想方法。但是仅靠传统的育种方法很难直接利用自然界中存在的有限抗虫资源。随着转基因技术的发展，将外源抗虫基因导入植物基因组中，为培育抗虫作物开辟了一条全新的道路。目前已商业化和正在研究中的转基因抗虫作物以转 *Bt* 基因作物为主。苏云金杆菌 (*Bacillus thuringiensis*, *Bt*) 杀虫蛋白是一种对鳞翅目害虫杀虫活性高度特异的晶体蛋白。研究表明 *Bt* 水稻对螟虫的抗性水平之高，是那些传统抗性品种无法比拟的，展现出良好的应用前景。虽然 *Bt* 水稻有诸多优点，但它的出现也有潜在的生态风险和弊端。

1.1 *Bt* 水稻的研究概况

苏云金杆菌 (*Bacillus thuringiensis*, *Bt*) 杀虫蛋白基因是目前世界上应用最为广泛的抗虫基因之一。*Bt* 的杀虫活性来源于内毒素，包括在芽胞形成过程中产生的伴胞晶体蛋白和孢子形成前形成的营养期杀虫蛋白。现在已有 500 多种 *Bt* 毒素基因被克隆并测序出来 (Crickmore et al., 2010, http://www.lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt), 其中一部分导入到植物中就可以在植物中表达并积累 *Bt* 毒蛋白，从而使转基因植物获得抗虫性。其中，转 *Bt* 基因水稻使用较多的主要是 *cry1A* 基因，如 *cry1Ab* (Fujimoto 等, 1993; Wünn 等, 1996; Ghareyazie 等, 1997; Wu 等, 1997; Cheng 等, 1998; Datta 等, 1998; 舒庆尧等, 1998; Alam 等, 1999; Ye 等, 2001; Wu 等, 2002)、*cry1Ac* (Nayak 等, 1997; Khanna 等, 2002; Loc 等, 2002; 曾千春等, 2002) 以及 *cry1Ab/Ac* 融合基因 (Tu 等, 2000; Ramesh 等, 2004)，也有少量使用其他 *Bt* 基因的报道 (Maqbool 等, 1998; Breitler 等, 2000, 2001; Gahakwa 等, 2000; Chen 等, 2005)。这些转 *Bt* 基因水稻大多都表现对二化螟、三化螟和稻纵卷叶螟高度的杀虫活性。

双价 *Bt* 水稻是在同一水稻品种中转入两个不同的 *Bt* 基因。使用双价 *Bt* 水稻是延缓昆虫抗性产生, 提高 *Bt* 水稻使用寿命的一种重要策略 (High 等, 2004)。理论上, 昆虫同时对两种不同的 *Bt* 基因产生抗性的几率大大低于对单 *Bt* 基因产生抗性的几率。因此, 双价的 *Bt* 水稻可以大大延缓昆虫产生抗性的时间, 从而提高其使用寿命。*Bt* 基因是水稻上应用最成功的抗虫基因, 它可以有效控制水稻鳞翅目昆虫的危害。2009 年转 *cry1Ab/Ac* 基因抗虫水稻华恢 1 号和 *Bt* 汕优 63 获得在湖北省生产应用的安全证书。

1.2 *Bt* 水稻生态安全性评价研究进展

Bt 水稻在减少化学农药对环境的影响、提高水稻产量的同时, 是否存在潜在的危险性需要对其进行深入的研究和分析, 而做出正确的评价。目前, 国际上对转基因植物的安全性评价主要涉及 2 个方面: 一是生态环境安全性风险, 即转基因植物的使用带来的直接或间接的生态影响; 二是毒理安全性风险, 主要指转基因植物为原料的产品和其它方面的安全性。

1.2.1 抗性产生及治理

Bt 水稻防治的靶标昆虫主要是鳞翅目害虫, 虽然杀虫率很高, 但是和化学农药的使用一样, 害虫在持续的 *Bt* 选择压力下, 也会对 *Bt* 毒素产生抗性 (Wu and Guo, 2005)。目前, 被广泛认同的延迟抗性的方法主要有两种, 一是“高剂量/避难所”, 二是“双基因水稻”。高剂量/避难所是指, 在 *Bt* 稻田产生高剂量的 *Bt* 毒素将最大量的靶标害虫杀死, 避难所(由不含 *Bt* 毒素的植物构成)用来维持对 *Bt* 敏感的昆虫种群, 通过敏感种群与的少量抗性种群交配, 交配后产生的后代取食高剂量的 *Bt* 水稻又会死去, 而达到对 *Bt* 抗性基因稀释的目的。在美国、澳大利亚和加拿大等国家对避难所的种植都有严格规定, 并取得了显著成效 (Cohen 等, 2000)。双基因水稻是指转了两种基因且都是高剂量表达的 *Bt* 水稻品种, 这就大大降低了害虫对两种基因同时产生抗性的可能性, 而且也不需很多的避难所来防治这些更小的抗性昆虫。为避免两种 *Bt* 毒素间的交互抗性, 对水稻害虫二化螟和三化螟而言, *cry1Aa* 或 *cry1Ac* 与 *cry2A* 或 *cry1C* 是有效的组合, 但 *cry1Aa* 与 *cry1Ac* 不应组合在一起, *cry1Ab* 与 *cry1Ac* 也不是很好的组合, 但 *cry1Ab* 与 *cry1C* 或 *cry2A* 可能是有效的 (Cohen 等, 2000)。

1.2.2 对非靶标害虫及生物多样性的影响

Bt 水稻通常在整个生命周期里均持续产生毒素,不仅会对靶标害虫起作用,还有可能对非靶标害虫及其它生物产生毒性作用。主要的评价指标有发育历期、繁殖力、体型、控害效能等。刘志诚等(2002)研究发现 *Bt* 水稻和非 *Bt* 水稻田间 5 种常见蜘蛛的种群密度没有明显的差异。Bernal 等(2002)报道非靶标害虫褐飞虱在取食以 *CaMA35S* 和 *Actin* 为启动子的 *Bt* 水稻后排泄的蜜露中虽均可检测到杀虫蛋白,但是并没有影响到褐飞虱的生存、发育时间和体重。陈茂等(2003)通过对 TT9-3 和 TT9-4 的研究发现, *Bt* 水稻并不会引起田间非靶标类群同翅目害虫主要害虫叶蝉、飞虱数量的上升,相反,对这类害虫有一定的驱避作用。Schoenly 等(2003)通过采用 *Bt* 喷雾实验模拟 *Bt* 水稻的作用,结果发现,对非靶标植食性昆虫的生物防治作用没有产生任何不利影响。刘志诚等(2004)通过对 *Bt* 水稻和化学杀虫剂处理对稻田节肢动物群落的影响进行了比较,发现 *Bt* 水稻田的功能团及其优势度,各功能团内科组成及其优势度分布,功能团内个体数量的时间动态及物种丰富度、多样性指数、均匀性指数等参数,在多数情况下与对照常规稻相比,有时甚至具有明显甚至显著的差异。焦晓国等(2006)研究发现, *Bt* 水稻上稻飞虱混合种群与对照品种间基本一致,在少数时间显著高于对照品种,叶蝉除在少数时间与对照品种无显著差异外,其种群数量通常显著高于对照品种。田俊策等(2008)通过对 *Bt* 稻田寄生蜂亚群落结构及其优势类群数量动态的研究表明,寄生蜂各科的组成与优势度总体分布在 *Bt* 稻田中和对照无显著性差异,但数量上有时会有差异。综上, *Bt* 水稻对非靶标植食性节肢动物的影响以及影响的大小因水稻品种的生物学特征、转入的基因类型、靶标害虫的种类以及时间动态而异。

1.2.3 基因漂移

Bt 水稻中的 *Bt* 基因可通过花粉授精杂交、种子传播等途径在种群之间扩散,基因漂移可能会产生的不良影响包括:1, *Bt* 水稻与非转基因近缘种杂交,产生具有抗虫的杂草,而引起化学农药的大量使用;2, *Bt* 基因漂移到野生植物基因库,进而扩散产生远交衰退、遗传同化、生物入侵等危害,从而影响物种多样性,造成生态失衡等问题。戎俊等(2006)研究发现在相邻种植的情况下,3 个含双价抗虫基因 (*Bt/Cpt1*) 的转基因水稻向非转基因

水稻品种的转基因漂移的频率比较低(0.275~0.832%)。目前已有大量的研究和报道表明,水稻不同品种之间的基因漂移频率很低,一般在 0.01~1%之间(Messeguer 等, 2001; Rong 等, 2004, 2005, 2006, 2007)。通过一定的隔离措施,能够有效降低由花粉介导的转基因漂移导致的非转基因种子混杂。Lin 等(2008)提出一种防止外源基因逃逸的生物限制技术,即通过利用转基因水稻中解毒除草剂苯达松酶基因的表达被 RNA 干扰而抑制,使转基因水稻对苯达松高度敏感。由于转基因水稻中外源目的基因和 RNA 干扰抑制片段紧密连锁,因此转基因逃逸一旦发生,其杂交后代就可以用喷洒苯达松而选择性地消灭。这一技术的深入研究可以为控制水稻转基因向杂草稻逃逸提供新措施。

1.2.4 抗虫基因的沉默

外源基因沉默(gene silencing)或基因失活(gene inactivation)现象是指表达的外源基因由于受到各种因素的影响,在转基因植株的当代或后代中受到了抑制。近年来,有文献报道,转 *Bt* 基因水稻中外源基因沉默的现象。吴刚等(2001)发现转 *cry1Ab* 在中 8215 株系后代中发生了转录水平沉默,整合过程中基因重排使两个拷贝的 *ubiquitin* 启动子同时插入到水稻基因组中,甲基化分析证实 *ubiquitin* 启动子区域发生了甲基化,从而导致 *cry1Ab* 基因沉默。外源基因的沉默与转基因在受体植物中甲基化状况、导入的拷贝数、插入受体植物染色体位点及是否与受体植物中有同源基因等因素有关。它在 DNA 修饰水平,基因转录水平和转录后调节水平均可能发生(李旭刚等, 1998)。对这些,可通过筛选单拷贝转基因个体,构建细胞基质结合区(matrix attachment region MAR)载体,以及采用特殊功能的启动子和增强子等方法来有效地防止外源基因的沉默。

1.2.5 对食品安全的影响

转基因水稻的安全性评价主要从营养成分实质等同性,动物营养学,毒理学评价三个方面进行评价。以含 *cry1Ab* 基因的 *Bt* 水稻米粉连续饲喂小鼠 90d,小鼠未见明显中毒症状,解剖也未见异常病理改变,发现每公斤体重喂量达 64g 时,仍未对小鼠产生任何不利的影响(Wang 等, 2002)。刘雨芳等(2007)以转 *cry1Ac/sck* 双价基因抗虫稻 MSA4 米粉对大鼠进行 30d 的喂养试验,结果显示除高剂量级雌鼠的甘油三酯值极显著低于对照外,肝、脾、肾等重要脏器系数、21 项血常规参数与其余血生化指标值与对照组均无显著差

异。对蒸煮后的米饭进行 ELISA 检测，结果未检测到 Bt 杀虫蛋白，表明蒸煮后稻米中的 Bt 杀虫蛋白发生降解或变性。

第二章 稻飞虱抗药性的研究进展

稻飞虱属同翅目，飞虱科。国内发生危害较重的稻飞虱主要有褐飞虱 *Nilaparvata lugens*、白背飞虱 *Sogatella furcifera* 和灰飞虱 *Laodelphax striatellus*。稻飞虱成虫、若虫既可直接刺吸、产卵为害，又可传播或诱发水稻病害，严重威胁水稻生长，造成稻谷产量大幅度降低（程遐年, 2003）。长期以来，化学防治一直是控制褐飞虱的重要途径，但由于化学药剂的长期不合理使用，导致稻飞虱对多种杀虫剂产生的不同程度的抗药性（王彦华, 2009a; b）。

2.1 褐飞虱抗药性的发生概况

2.1.1 褐飞虱对有机氯类杀虫剂的抗性

有机氯类杀虫剂，如六六六、DDT，是最早用于防治褐飞虱的杀虫剂，由于害虫的抗性背景较差及药剂特性的原因，该类杀虫剂的抗性发展较慢，抗性水平也较低。由于有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂的推广应用，有机氯类杀虫剂单一使用的情况并不普遍。国内唐振华等（1982）首先监测到褐飞虱对林丹的抗性，发现东阳地区的抗性达到 11.5 倍。褐飞虱对有机氯杀虫剂的敏感性下降产生于二十世纪 70 年代，但抗药性一直都很低。其后，由于大量有机氯杀虫剂被禁用（DDT 和 BHC 于 1983 年禁用），褐飞虱对其的敏感性开始回升。

2.1.2 褐飞虱对有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂的抗性

有机氯杀虫剂被禁用后，有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂迅速发展成为防治稻飞虱的主要品种，因此使用量大增，抗性发展也相对较快。但由于这两类药剂品种较多，品种之间的毒杀作用差异较大，不同地区使用的状况也不同，因此对不同药剂的抗性也有明显差异。唐振华等（1982）首先于 1977 年对浙江地区褐飞虱进行了抗性监测，发现褐飞虱对 BPMC 产生了 11 倍的抗性，随后陆续有报导褐飞虱对常规药剂产生了不同程度的抗性，其抗性发展与施药情况有密切的同步性（毛立新等, 1992; 梁天锡等, 1996; 刘贤进, 1995; 王荫长等, 1996; 刘泽文, 2002）。褐飞虱对有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂的抗性是在二十世纪 70

年代后期逐渐产生的 (Hirai, 1994)。国内褐飞虱对有机磷和氨基甲酸酯类的抗药性发展缓慢, 到目前为止一直维持在中低抗水平。

2.1.3 褐飞虱对拟除虫菊酯杀虫剂的抗性

由于拟除虫菊酯类药剂对鱼类毒性大, 并且容易导致褐飞虱再猖獗, 所以在防治褐飞虱时这类药剂基本上不使用 (张瑞亭, 1982; 程家安等, 1995)。毛立新等 (1992) 连续 4 年 (1998-1991) 监测发现除二氯苯醚菊酯达到中抗水平外, 溴氰菊酯和氰戊菊酯都较敏感。梁天锡等 (1996) 监测褐飞虱对二氯苯醚菊酯、溴氰菊酯、氰戊菊酯在 1989-1993 年间的抗性变化, 结果显示年度间差异较小, 抗性现状与毛立新等 1992 年报道结果相一致。王荫长等 (1996) 监测了褐飞虱对溴氰菊酯、氰戊菊酯在 1987-1995 年间的抗性变化, 发现对溴氰菊酯的抗性水平一直较低, 除 1998 和 1991 年分别达到 13.5 和 7.6 倍外, 其余年份都在 4 倍以下; 而对氰戊菊酯已经进入中抗水平, 1991 年达到了 25.3 倍, 其余年份都维持在 10 倍左右。国内褐飞虱对拟除虫菊酯的抗性水平很低, 除不含 α -氰基的二氯苯醚菊酯在个别地区达到中高抗水平外, 其他药剂都维持在低抗或敏感水平。

2.1.4 褐飞虱对阿维菌素的抗性

阿维菌素是一类新型杀虫剂, 由于其作用靶标与常规杀虫剂不同, 除与其类似物具有交互抗性外, 与其它大多数农药没有明显的交互抗性 (刘开林等, 2007), 但一般不单独使用阿维菌素防治稻飞虱, 而是与其它常规药剂一起混用防治稻飞虱, 兼治其它害虫。随着高毒农药的全面禁止使用, 阿维菌素及其混配剂在水稻田的应用量将越来越大。目前, 水稻害虫对阿维菌素表现敏感。曹明章等于 2001-2002 年测定, 浙、苏、皖 3 省 6 个不同二化螟种群对阿维菌素的敏感度变化小于 2.3 倍, 未曾检测出明显抗药性。但 2003、2004 年曲明静等对浙江苍南二化螟种群测定发现, 害虫对阿维菌素的抗性水平急剧上升, 抗性倍数分别达 26.6 倍和 30 倍。此结果表明如果不合理使用, 害虫也易对其产生抗性。阿维菌素对家蚕、蜜蜂和某些鱼类比较敏感, 使用时要注意避开。在水稻上应用的复配产品, 主要是阿维菌素与毒死蜱、三唑磷、杀虫单、二嗪磷、乙酰甲胺磷和 Bt 等进行复配, 开展总体防治水稻害虫。

2.1.5 褐飞虱对吡虫啉的抗性

吡虫啉 (Imidacloprid) 1991 年开始投放国内属硝基亚甲基杂环类 (又称新烟碱类、氯化烟碱类) 杀虫剂。是由德国拜耳公司和日本特殊农药公司共同开发, 于 1991 年开始投放市场。它作用于昆虫神经系统突触后膜的烟碱型乙酰胆碱受体 (nAChR) 上, 这是一个与常规杀虫剂作用机理不同的新一类杀虫剂。由于现有的杀虫剂与这类杀虫剂无交互抗性, 因此对现有的杀虫剂产生抗性的害虫对吡虫啉敏感; 又因为它用药量低, 对环境安全, 从而成为取代有机磷、氨基甲酸酯类或与其轮用的新一代高效、低毒的内吸性杀虫剂。凌炎等 (2009) 对广西 12 个褐飞虱种群进行监测, 发现对吡虫啉的抗性都达高或极高水平。王彦华等 (2008) 研究发现 2005 年苏、浙、皖、赣、湘、桂 6 省 (区) 16 个大田种群对吡虫啉的抗性达高水平至极高水平抗性 (79~811 倍); 2006 年除江苏通州大田种群的抗性为 627 倍外, 苏、浙、皖、赣、湘、桂、闽 7 省 (区) 11 个种群的抗性为 150~322 倍。

2.1.6 褐飞虱对氟虫腈的抗性

氟虫腈 (fipronil), 商品名锐劲特 (Regent), 是法国罗纳普朗克农化公司于 1987 年开发研制, 1993 年开始商品化生产的苯基吡唑类新型杀虫剂, 其作用机理是与昆虫神经中枢细胞膜上的 γ -氨基丁酸 (GABA) 受体结合阻塞神经细胞的氯离子通道, 从而干扰中枢神经系统的正常功能而导致昆虫死亡。由于氟虫腈作用机理独特, 与拟除虫菊酯类、有机磷类、氨基甲酸酯类、和阿维菌素类杀虫剂无明显的交互抗性, 用于防治对这些杀虫剂产生抗性的害虫, 同时其广谱、高效、持效期长。氟虫腈于 20 世纪 90 年代中期进入我国农药市场, 主要用于防治水稻和蔬菜害虫。在水稻上, 氟虫腈可防治多种害虫, 包括二化螟、三化螟、稻纵卷叶螟、白背飞虱、褐飞虱、灰飞虱、稻瘠蚊、稻蝗、稻水象甲、稻蓟马等。此外, 氟虫腈对水稻的营养生长和生殖生长都有明显的促进作用 (祝春祥等, 1999; 朱文达等, 2002)。凌炎等 (2009) 对广西 12 个褐飞虱种群进行监测, 结果发现, 除 2006 年南宁、玉林等 4 个褐飞虱种群及 2007 年贺州褐飞虱种群对氟虫腈仍处于敏感阶段, 其余种群对氟虫腈均达到低或中等水平抗性。

氟虫腈具有一定程度的生物毒性。该农药对水生甲壳类动物鱼、虾、蟹剧毒 (徐海娟等, 2004), 对蜜蜂高毒, 对高地地区捕食性的鸟类高毒, 而对水禽和其它鸟类无毒, 并且

在环境中代谢缓慢,在生物体脂肪内有富集作用。氟虫腈对靶标物种高效,但同时非靶标物种有潜在的风险。目前我国农业部规定:一是除卫生用、部分旱田种子包衣剂和专供出口产品外,停止受理和批准用于其他方面含氟虫腈成分农药制剂的登记和生产批准证书。只允许氟虫腈原药生产企业生产专供出口含氟虫腈成分的农药制剂;二是除卫生用、部分旱田种子包衣剂和专供出口产品外,撤销已批准的用于其他方面含氟虫腈成分农药制剂的登记和生产批准证书;三是自 2009 年 7 月 1 日起,除卫生用、部分旱田种子包衣剂外,在我国境内停止销售和使用用于其他方面的含氟虫腈成分的农药制剂。

2.2 褐飞虱抗药性机理研究

抗性机理的研究是抗性治理的基础。根据害虫抗性机理的性质将抗性分为行为抗性、生理抗性和代谢抗性(赵善欢, 2000)。生理抗性涉及表皮穿透速率降低、靶标部位敏感性降低、惰性部位贮存和加速排泄。代谢抗性是由于解毒酶活性增加而加速杀虫剂的代谢所产生的抗性(龚坤元, 1982; 程启慧, 1995), 其实在这些机理中最主要的是代谢抗性和由于靶标部位敏感性降低所引起的靶标抗性(唐振华, 1993)。

2.2.1 代谢抗性

在许多情况下,抗药性的产生是因为昆虫对杀虫剂代谢能力的提高,其中解毒酶如水解酶(如酯酶)、多功能氧化酶(MFO)及谷胱甘肽转移酶(GSTs)与有机磷杀虫剂的代谢密切相关,但不是所有的代谢都是解毒代谢(如对硫磷变为对氧磷),在这种情况下代谢强度降低反而导致抗性产生。对褐飞虱的抗性机理研究表明,褐飞虱体内对杀虫剂的解毒作用主要通过水解酶(酯酶)作用而实现的(Gu 等, 1993)。Miyata 等(1983)报道褐飞虱体内 MFO 和 GSTs 的活性较低,一般对其的抗药性机制不起重要作用,但 Vontas 等(2001)研究了褐飞虱对氯菊酯和氯氟氰菊酯的抗性机理,发现 MFO 和 GSTs 共同参与解毒代谢。Liu 等(2003)报道多功能氧化酶是褐飞虱对吡虫啉抗性的重要解毒酶。

2.2.2 靶标部位敏感性降低

靶标部位敏感性下降主要是杀虫剂作用靶标位点发生变异,从而使杀虫剂与靶标位点

的亲合力降低。靶标部位敏感性下降是昆虫对杀虫剂产生抗性的一个重要机制,已在多种昆虫对多种杀虫剂的抗性研究中得到证实 (Zhu and Clark, 1997)。Chung and Sun (1983) 用酶的抑制剂和电泳法研究了褐飞虱的抗性机理,认为褐飞虱对氨基甲酸酯类杀虫剂的抗性主要与乙酰胆碱酯酶 (AChE) 的敏感度降低有关,其次是酯酶。褐飞虱对吡虫啉抗性发展的后期与靶标不敏感密切相关。已有报道褐飞虱对吡虫啉的高水平抗性主要是由于乙酰胆碱受体的 Y151S 突变所致 (Liu 等, 2005), 但 Y151S 在脊椎动物和无脊椎动物的乙酰胆碱受体亚基之间是高度保守的, 这个残基不可能负责新烟碱类杀虫剂的高度选择性, 故对其作用机理需要做进一步研究 (Tomizawa and Casida, 2003; 唐振华等, 2006)。

2.3 白背飞虱对马拉硫磷的抗药性研究进展

80 年代中、后期,我国监测到白背飞虱对有机磷类杀虫剂的产生,在随后的 20 年中,抗性上升十分迅速。毛立新等 (1992) 于 1990 年所测得浙江省白背飞虱对马拉硫磷的抗性差异与日本 Nagata (1967) 测定的数据高达 110.56 倍。姚洪渭等 (2000) 测定浙江、广西、云南、和海南省 4 个白背飞虱种群对马拉硫磷的抗性倍数为 16.2-137.24。龙丽萍 (2005) 监测到广西白背飞虱种群对马拉硫磷都处于高抗水平。姚洪渭等 (2003) 发现白背飞虱对马拉硫磷产生抗性与羧酸酯酶活性增高有关。

第三章 转 *cry1Ab* 基因抗虫粳稻对褐飞虱的杀虫剂敏感性和

代谢酶活性的影响

水稻螟虫（二化螟 *Chilo suppressalis*、三化螟 *Scirpophaga incertulas*）和稻纵卷叶螟 *Cnaphalocrocis medinalis* 等系我国稻区的重要害虫，常爆发成灾，严重威胁水稻生产（盛承发等, 2003; 程遐年等, 2003）。为有效控制水稻螟虫为害，减少化学杀虫剂使用量，自 20 世纪 90 年代以来，国内外相继开展并成功培育出不少抗螟效果好的转 *Bt* 基因水稻（*Bt* 水稻）品系（叶恭银等, 1998; High 等, 2004）。*Bt* 水稻为水稻增产带来可能，商业化前景十分广阔，但其作为转基因抗虫作物，同样面临环境释放后的生态安全性问题。

近年来，我们就 *Bt* 水稻对非靶标节肢动物及其群落多样性等影响作了较系统研究（刘志诚等, 2002, 2003, 2004; 陈茂等, 2003, 2004; Chen 等, 2006; 谭红等, 2006），发现非靶标害虫——褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 在室内取食转 *cry1Ab* 基因水稻克螟稻（KMD）后，其若虫历期和雌虫产卵量分别显著缩短和降低，但在田间 KMD 上仍能爆发成灾，必须施用杀虫剂才能控制其为害。尽管 *Cry1Ab* 蛋白对刺吸式害虫如稻飞虱缺乏活性（Rao 等, 1998），但是，稻飞虱摄入外源蛋白可能会引起体内代谢水平或自由基等的改变而导致对杀虫剂敏感性的变化。本章报道褐飞虱在 KMD 上继代饲养的室内种群和不同的田间种群对生产上 4 种常用杀虫剂的敏感性、以及体内相关代谢酶活性以及 *Cry1Ab* 蛋白含量的差异变化，旨在明确 *Bt* 水稻对非靶标稻飞虱的毒理学效应，为 *Bt* 水稻的生态安全性评价和 *Bt* 稻田的飞虱综合治理提供理论基础。

3.1 材料与方法

3.1.1 供试材料

3.1.1.1 供试水稻：克螟稻 1 号（KMD1）和克螟稻 2 号（KMD2）由浙江大学和加拿大渥太华大学合作培育，用农杆菌介导法获得的 R_9 代转基因水稻，均含 *cry1Ab* 基因和 *ubiquitin* 启动子。对照系未转基因亲本粳稻品种秀水 11。

3.1.1.2 供试昆虫：褐飞虱室内种群于 2007 年 9 月采自浙江杭州，在室内不接触农药

的情况下一直用 TN1 稻苗继代饲养。试验时,各取 30 对雌雄成虫分别接到 KMD1、KMD2 和秀水 11 上续代饲养。其中饲养条件为:温度 $28 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $70 \pm 5\%$ 、光周期 14 L: 10 D。在饲养 1、3、5、7、9 代后,分别取大小一致的羽化 1-2 d 的长翅型雌成虫用于生物测定药剂敏感性。

褐飞虱田间种群于 2009 年 10 月分别采自位于浙江杭州和富阳转基因试验安全圈内 KMD1、KMD2 和秀水 11 稻田,分别取大小一致的羽化 1-2 d 的长翅型雌成虫用于生物测定药剂敏感性。上述种群在测定药剂敏感性的同时,分别取样冷冻于 -70°C 冰箱中,供酶活和 Cry1Ab 蛋白含量测定。

3.1.1.3 供试药剂:用于生物测试的杀虫剂原药有:98%吡虫啉(宁波中化化学制品有限公司)、98%毒死蜱(杭州庆丰农化有限公司)、97%敌敌畏(浙江威尔达化工有限公司)、95%氟虫腈(浙江永农化工有限公司)和 95%阿维菌素(浙江威尔达化工有限公司)。

3.1.2 生物测定

采用 FAO 推荐的微量点滴法进行室内毒力测定。将原药用丙酮配制成母液,按等比级数稀释成 5 个系列浓度,取羽化 1-2 d 的褐飞虱雌成虫经 CO_2 麻醉 10 s 后,用微量点滴仪(中国科学院上海昆虫研究所研制)将药剂准确点滴于试虫前胸背板上,点滴量为 $0.25 \mu\text{L}/\text{头}$,以丙酮为对照。每个药剂浓度处理 10 头,重复 3 次。试虫处理后,转移至装有 TN1 水稻苗的试管中,在温度 $28 \pm 1^\circ\text{C}$ 、相对湿度 80%、光周期 16 h: 8 h (L:D) 条件下饲养,48 h 后检查死亡率。

3.1.3 酶活测定

3.1.3.1 酶液制备:取单头长翅型褐飞虱雌成虫于 1.5 ml 离心管中,加入冰冷的 $100 \mu\text{l}$ 0.067 mol/L 磷酸缓冲液 (pH7.2),冰上研磨充分后, $10,000 \text{ g}$ 4°C 离心 10 min。取上清液作为酶源。

3.1.3.2 酯酶活力测定:参照 Hama 等(1983),取 $5 \mu\text{L}$ 酶源液加入至 $120 \mu\text{L}$ 0.067 mol/L PBS 缓冲液 (pH7.2) 中,再加入 $40 \mu\text{L}$ $300 \mu\text{mol/L}$ $\alpha\text{-NA}$,于 37°C 下保温反应 10 min。然后,加入 $40 \mu\text{L}$ 显色剂 (1% 坚固蓝 B 盐和 5% SDS 的 2:5 混合液) 终止反应,以分光光度计测定波长为 600 nm 下的吸光值。以 $\alpha\text{-萘酚}$ 制作标准曲线。

3.1.3.3 谷胱甘肽 S-转移酶活力测定: 采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定谷胱甘肽 S-转移酶活性, 具体操作参见试剂盒说明书。

3.1.3.4 乙酰胆碱酯酶活力测定: 采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定乙酰胆碱酯酶活性, 具体操作参见试剂盒说明书。

3.1.3.5 超氧化物歧化酶活力测定: 采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定超氧化物歧化酶活性, 具体操作参见试剂盒说明书。

3.1.3.6 过氧化物酶活力测定: 采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定过氧化物酶活性, 具体操作参见试剂盒说明书。

3.1.3.7 过氧化氢酶活力测定: 采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定过氧化氢酶活性, 具体操作参见试剂盒说明书。

3.1.3.8 可溶性蛋白含量测定: 参照 Bradford (1976), 采用考马斯亮蓝 G-250 法测定, 以牛血清蛋白 (BSA) 制作标准曲线。

3.1.4 数据分析

所有数据结果均采用 DPS 软件进行分析 (唐启义和冯明光, 2002)。生测数据通过计算毒力曲线斜率和 LD_{50} 值及其 95% 置信限, 以两者 LD_{50} 的 95% 置信限互不重叠示差异显著 ($p < 0.05$)。两个平均数间的比较采用 t 测验, 多个平均数采用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 和 LSD 多重比较测验。

3.2 结果与分析

3.2.1 KMD 对室内褐飞虱种群杀虫剂敏感性的影响

3.2.1.1 吡虫啉

从表 3.1 可知, 褐飞虱室内种群在不同水稻品系上饲养 1 代后, 对吡虫啉的敏感性以取食 KMD1 的明显较高, 秀水 11 的次之, KMD2 的最低, 但相互间差异不显著; 经 9 代连续饲养, 对吡虫啉的敏感性以取食 KMD1 和秀水 11 的波动较大, 但最终三者敏感性水平趋向一致。

3.2.1.2 氟虫腈

从表 3.2 可知,不同水稻品系上饲养 1 代后褐飞虱对氟虫腈敏感性以 KMD2 上的明显较低,其 LD_{50} 值均为 KMD1 和秀水 11 上的 2.1 倍;3 代后 KMD2 上的敏感性显著降低,仅为 1 代的 36.0%,且略低于 KMD1 和秀水 11 的;此后,3 种水稻品系上的敏感性均随取食世代增加而有所下降,但相互间差异不显著。

3.2.1.3 阿维菌素

从表 3.3 可知,褐飞虱在不同水稻品系上连续饲养后,对阿维菌素的敏感性虽均有所降低,但不同水稻品系以及不同飞虱世代之间的差异均不显著。

3.2.1.4 毒死蜱

从表 3.4 可知,毒死蜱对 KMD1 和 KMD2 上饲养 1 代褐飞虱的 LD_{50} 值相对较低,分别是秀水 11 的 88.0%和 86.1%;经 9 代连续取食,KMD1 和秀水 11 上的褐飞虱 LD_{50} 值变化趋势相似,均明显升高,而 KMD2 的则在原水平附近波动;在不同水稻品系上连续饲养不同世代的褐飞虱对毒死蜱的敏感性均无显著差异。

3.2.1.5 敌敌畏

从表 3.5 可知,敌敌畏对 1 代褐飞虱的 LD_{50} 值以 KMD1 的明显较高,其次秀水 11 的,KMD2 的最低,但三者间差异未达显著;经过连续世代取食后,除秀水 11 上的 LD_{50} 值在原水平上下波动外,KMD1 和 KMD2 的均显著降低,其中 9 代后 KMD1 和 KMD2 上的 LD_{50} 值分别仅为 1 代的 59.6%和 43.0%,均明显低于秀水 11 的。

3.2.2 KMD 对田间褐飞虱种群杀虫剂敏感性的影响

3.2.2.1 杭州田间褐飞虱种群

从表 3.6 可知,杭州褐飞虱田间种群在 KMD 上对氟虫腈、阿维菌素、敌敌畏敏感性均高于秀水 11,其中 KMD2 又高于 KMD1,但相互间差异未达显著。杭州褐飞虱田间种群对吡虫啉和毒死蜱敏感性以 KMD2 最高,秀水 11 次之,KMD1 最低,但相互间差异未达显著。

3.2.2.2 富阳田间褐飞虱种群

从表 3.7 可知,富阳褐飞虱田间种群在 KMD 上对吡虫啉敏感性均低于秀水 11,其中 KMD1 低于 KMD2,但相互间差异未达显著。富阳褐飞虱田间种群对氟虫腈、阿维菌素、毒死蜱敏感性以 KMD2 最高,秀水 11 次之,KMD1 最低,但相互间差异未达显著。富阳

褐飞虱田间种群在 KMD 上对敌敌畏敏感性以都高于秀水 11，其中 KMD2 高于 KMD1，但相互间差异未达显著。

3.2.3 KMD 对室内褐飞虱种群代谢酶的影响

3.2.3.1 酯酶

褐飞虱室内种群在不同水稻品系上饲养 1 代后，酯酶活性以 KMD1 和 KMD2 上的显著较低，各为秀水 11 上的 79.9%和 75.2%；持续饲养多代后酯酶活性均有上下波动，且相互间无显著差异（图 3.1）。

3.2.3.2 谷胱甘肽 S-转移酶

褐飞虱室内种群在不同水稻品系上饲养 1 代后，KMD1 上谷胱甘肽 S-转移酶活性为秀水 11 的 96.5%倍，但相互间差异不显著，KMD2 上谷胱甘肽 S-转移酶活性为秀水 11 的 1.22 倍，相互间差异显著，但 KMD1 上谷胱甘肽 S-转移酶活性较 KMD2 上显著较低；持续饲养多代后褐飞虱乙谷胱甘肽 S-转移酶均有上下波动，且相互间无显著差异（图 3.2）。

3.2.3.3 乙酰胆碱酯酶

褐飞虱室内种群在不同水稻品系上饲养 1 代后，KMD1 上乙酰胆碱酯酶活性为秀水 11 的 1.19 倍，但相互间差异不显著，KMD2 上乙酰胆碱酯酶活性为秀水 11 的 1.58 倍，相互间差异显著；持续饲养多代后褐飞虱乙酰胆碱酯酶均有上下波动，且相互间无显著差异（图 3.3）。

3.2.3.4 超氧化物歧化酶

褐飞虱室内种群在不同水稻品系上连续饲养，超氧化物歧化酶活性以秀水 11 上最高，KMD1 上次之，KMD2 上最低，KMD1 上除第 1 代比秀水 11 上显著较低外，其它各代与秀水 11 之间无显著差异；KMD2 上除第 3 代与秀水 11 上无显著差异为，其它各代均比秀水 11 上显著较低（图 3.4）。

3.2.3.5 过氧化物酶

褐飞虱室内种群在不同水稻品系上饲养 1 代后，KMD1 上过氧化物酶活性为秀水 11 的 1.08 倍，相互间差异不显著，KMD2 上过氧化物酶活性为秀水 11 的 77.6%，相互间差异显著；持续饲养 3、5、7 代的褐飞虱过氧化物酶活性均以 KMD1 较高，秀水 11 次之，KMD2 最低，KMD1 和 KMD2 与秀水 11 之间差异不显著，KMD1 上比 KMD2 上显著较

高；持续饲养 9 代的褐飞虱过氧化物酶活性在各水稻品系上无显著差异（图 3.5）。

3.2.3.6 过氧化氢酶

褐飞虱室内种群在不同水稻品系上连续饲养 1、3、5、7 代后，过氧化氢酶活性有上下波动，但相互间无显著差异。持续饲养第 9 代后，KMD1 上过氧化氢酶活性为秀水 11 上的 63.6%，且差异显著，KMD2 上过氧化氢酶活性为秀水 11 上的 83.8%，但相互间差异不显著（图 3.6）。

3.2.4 KMD 对田间褐飞虱种群代谢酶的影响

3.2.4.1 酯酶

杭州褐飞虱田间种群酯酶活性在 KMD1 上为秀水 11 的 91.7%，相互间无显著性差异，KMD2 上与秀水 11 上相近。富阳褐飞虱田间种群酯酶活性在 KMD1 和 KMD 上均为秀水 11 的 1.20 倍，相互间无显著性差异（图 3.7）。

3.2.4.2 谷胱甘肽 S-转移酶

杭州褐飞虱田间种群谷胱甘肽 S-转移酶活性在 KMD1 上为秀水 11 的 1.08 倍，KMD2 上为秀水 11 的 94.7%，相互间均无显著性差异。富阳褐飞虱田间种群谷胱甘肽 S-转移酶活性在 KMD1 上为秀水 11 的 97.3%，KMD2 上为秀水 11 的 1.10 倍，相互间均差异显著（图 3.8）。

3.2.4.3 乙酰胆碱酯酶

杭州褐飞虱田间种群乙酰胆碱酯酶活性在 KMD1 上为秀水 11 的 72.6%，相互间差异显著，KMD2 上为秀水 11 的 1.10 倍，相互间无显著性差异。富阳褐飞虱田间种群乙酰胆碱酯酶活性在 KMD1 上为秀水 11 的 1.17 倍，相互间无显著性差异，KMD2 上为秀水 11 的 1.37 倍，相互间差异显著（图 3.9）。

3.2.4.4 超氧化物歧化酶

杭州褐飞虱田间种群超氧化物歧化酶活性在 KMD1 和 KMD2 上分别为秀水 11 的 1.06 和 1.02 倍，相互间均无显著性差异。富阳褐飞虱田间种群超氧化物歧化酶活性在 KMD1 和 KMD2 上分别为秀水 11 的 1.04 和 1.02 倍，相互间均差异显著（图 3.10）。

3.2.4.5 过氧化物酶

杭州褐飞虱田间种群过氧化物酶活性在 KMD1 和 KMD2 上分别为秀水 11 的 95.3%

和 82.1%，相互间差异显著。富阳褐飞虱田间种群过氧化物酶活性在 KMD1 上为秀水 11 的 85.4%，相互间无显著性差异，KMD2 上为秀水 11 的 1.11 倍，相互间差异显著，KMD1 和 KMD2 之间存在显著性差异（图 3.11）。

3.2.4.6 过氧化氢酶

杭州褐飞虱田间种群过氧化氢酶活性在 KMD1 和 KMD2 上分别为秀水 11 的 1.48 和 1.18 倍，相互间均无显著性差异。富阳褐飞虱田间种群过氧化氢酶活性在 KMD1 和 KMD2 上分别为秀水 11 的 1.47 和 1.36 倍，相互间均差异显著（图 3.12）。

3.2.5 取食 KMD 的褐飞虱体内 Bt 蛋白含量的变化

3.2.5.1 室内褐飞虱种群

褐飞虱室内种群在 KMD2 上饲养 1 代后，体内的 Bt 蛋白含量是 KMD1 的 1.7 倍；连续饲养 9 代后，褐飞虱体内的 Bt 蛋白量与 1 代的结果相似（图 3.13）。褐飞虱体内的 Bt 蛋白含量在不同水稻品系和不同世代间均无显著差异，表明褐飞虱体内的 Bt 蛋白量相对稳定。

3.2.5.2 田间褐飞虱种群

杭州褐飞虱田间种群体内的 Bt 蛋白量虽以 KMD2 上明显较高，约为 KMD1 上的 2.0 倍，但两者差异未达显著（图 3.14）。富阳褐飞虱田间种群体内的 Bt 蛋白量亦以 KMD2 上的明显较高，但与 KMD1 的差异不显著。杭州褐飞虱田间种群在不同转 Bt 基因水稻上取食后体内的 Bt 蛋白量均比富阳田间种群的明显较高，且与室内种群的相当，表明褐飞虱体内的 Bt 蛋白量已处于相对稳定的平衡状态。

3.3 讨论

抗虫转基因作物对非靶标生物及其多样性的潜在风险一直是国内外研究关注的重点，其中 Bt 水稻对非靶标害虫药剂敏感性及相关代谢酶活性的影响可归为抗虫转基因作物生态安全性评价中非靶标效应的范畴。本章研究表明，褐飞虱无论是在转 *cry1Ab* 基因水稻 KMD 上持续饲养 9 代的室内种群，还是在 KMD 稻田采集的田间种群，对 5 种生产上常用杀虫剂，包括新烟碱类（吡虫啉）、苯基咪唑类（氟虫腈）、大环内酯类（阿维菌素）和有机磷（毒死蜱和敌敌畏）等的敏感性水平、以及体内代谢酶如解毒酶（酯酶和谷胱甘肽

S-转移酶)、靶标酶(乙酰胆碱酯酶)和保护酶(超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和过氧化物酶)等的活性均与非转基因亲本水稻秀水 11 上的无显著差异。该结果与张炬红等(2006)报道 Bt 棉对棉蚜 *Aphis gossypii* 的吡虫啉和辛硫磷敏感性以及酯酶和乙酰胆碱酯酶等活力无显著影响的结果相似;而与 Ding 等(2001)报道转 Bt 基因欧洲黑杨对美国白蛾 *Hyphantria cunea* 保护酶、郭同斌等(2006)报道转 Bt 单基因和转 Bt+CpTI 双价基因杨树对杨小舟蛾 *Micromelalopha troglodyta* 保护酶和张巍等(2008)转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因水稻对稻纵卷叶螟 *Cnaphalocrocis medinalis* 保护酶等活性存在显著影响的结果不一致,这可能与转基因 Bt 蛋白对鳞翅目靶标害虫的毒性而引起保护酶活性变化有关。

Bt 水稻对褐飞虱药剂敏感性的影响,一方面可能由于 Bt 水稻外源基因的随机插入而引起抗虫性状改变,导致褐飞虱体内代谢解毒酶和保护酶等活性变化,从而影响飞虱对药剂的敏感性;另一方面可能由于褐飞虱过多摄入 Bt 水稻外源蛋白而引起体内代谢平衡紊乱和自由基过量产生,使得代谢解毒酶和保护酶等活性变化,进而导致药剂敏感性发生改变。尽管早先的研究结果显示 KMD 对褐飞虱的生长发育与繁殖存在显著影响,但该作用机制并未影响到褐飞虱的药剂敏感性以及相关代谢酶活性。由于褐飞虱不同种群在 KMD 上体内的 Bt 蛋白量相对稳定,不存在世代积累效应,因此可以排除过量摄入 Bt 蛋白对褐飞虱药剂敏感性以及体内代谢解毒酶和保护酶等活性产生影响的可能性。

表 3.1 褐飞虱在室内 Bt 水稻（KMD1 和 KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上连续取食后
对吡虫啉敏感性的世代变化

Table 3.1 Generational variation of susceptibility to imidacloprid of *N. lugens* fed on *Bt* rice
(KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) continuously in the laboratory

取食代数	水稻品系	斜率	标准误	LD ₅₀	LD ₅₀ 95%置信限	比值
Generations	Rice variety	Slope	SE	pg/♀	LD ₅₀ 95% FL ng/♀	Ratio
1 代 1st generation	KMD1	2.71	0.53	18.40	11.50~24.20	0.74
	KMD2	2.57	0.50	29.40	21.80~38.50	1.18
	Xiushui 11	3.01	0.47	24.90	19.20~30.60	1.00
3 代 3rd generation	KMD1	2.67	0.51	20.70	13.80~26.90	0.87
	KMD2	2.71	0.52	28.60	21.40~37.00	1.20
	Xiushui 11	2.48	0.43	23.90	17.50~30.40	1.00
5 代 5th generation	KMD1	2.73	0.52	14.70	11.10~19.00	0.51
	KMD2	3.96	0.91	25.70	20.80~33.80	0.89
	Xiushui 11	3.69	0.68	28.80	22.70~35.60	1.00
7 代 7th generation	KMD1	3.01	0.72	21.00	15.50~27.20	0.94
	KMD2	2.58	0.50	26.90	19.60~34.90	1.20
	Xiushui 11	2.78	0.46	22.40	16.40~28.00	1.00
9 代 9th generation	KMD1	2.91	0.54	21.60	15.00~27.60	0.87
	KMD2	2.50	0.43	23.80	17.40~30.10	0.96
	Xiushui 11	2.74	0.45	24.80	18.80~30.90	1.00

表 3.2 褐飞虱在室内 Bt 水稻（KMD1 和 KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上连续取食后
对氟虫腈敏感性的世代变化

Table 3.2 Generational variation of susceptibility to fipronil of *N. lugens* fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) continuously in the laboratory

取食代数	水稻品系	斜率	标准误	LD ₅₀	LD ₅₀ 95%置信限	比值
Generations	Rice variety	Slope	SE	ng/♀	LD ₅₀ 95% FL ng/♀	Ratio
1 代 1st generation	KMD1	3.82	0.79	1.20	1.00~1.70	1.00
	KMD2	1.67	0.43	2.50	1.60~8.10	2.08
	Xiushui 11	2.99	0.64	1.20	0.90~1.70	1.00
3 代 3rd generation	KMD1	3.24	0.63	1.00	0.80~1.30	0.91
	KMD2	2.42	0.41	0.90	0.70~1.10	0.82
	Xiushui 11	2.69	0.57	1.10	0.90~1.70	1.00
5 代 5th generation	KMD1	2.65	0.55	1.10	0.80~1.50	1.38
	KMD2	2.29	0.41	1.00	0.70~1.30	1.25
	Xiushui 11	2.96	0.55	0.80	0.60~1.10	1.00
7 代 7th generation	KMD1	2.99	0.55	0.80	0.60~0.90	0.89
	KMD2	2.69	0.44	0.70	0.50~0.80	0.78
	Xiushui 11	3.04	0.57	0.90	0.70~1.10	1.00
9 代 9th generation	KMD1	2.46	0.41	0.60	0.50~0.80	0.75
	KMD2	3.20	0.58	0.70	0.60~0.90	0.88
	Xiushui 11	2.76	0.52	0.80	0.60~1.00	1.00

表 3.3 褐飞虱在室内 Bt 水稻（KMD1 和 KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上连续取食后
对阿维菌素敏感性的世代变化

Table 3.3 Generational variation of susceptibility to avermectins of *N. lugens* fed on *Bt* rice
(KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) continuously in the laboratory

取食代数	水稻品系	斜率	标准误	LD ₅₀	LD ₅₀ 95%置信限	比值
Generations	Rice variety	Slope	SE	pg/♀	LD ₅₀ 95% FL ng/♀	Ratio
1 代 1st generation	KMD1	2.11	0.55	7.71	5.57~12.97	1.03
	KMD2	2.13	0.53	6.11	4.35~8.86	0.82
	Xiushui 11	3.96	1.12	7.49	5.97~11.81	1.00
3 代 3rd generation	KMD1	3.06	0.72	6.21	4.73~8.45	1.05
	KMD2	2.58	0.54	6.05	4.61~8.06	1.02
	Xiushui 11	2.64	0.56	5.92	4.51~7.83	1.00
5 代 5th generation	KMD1	3.01	0.71	6.18	4.69~8.44	1.19
	KMD2	3.03	0.61	6.99	5.53~9.46	1.35
	Xiushui 11	2.77	0.55	5.18	3.88~6.62	1.00
7 代 7th generation	KMD1	4.80	1.22	6.32	5.19~8.16	1.15
	KMD2	3.74	0.86	6.11	4.81~7.95	1.11
	Xiushui 11	2.73	0.55	5.48	4.16~7.08	1.00
9 代 9th generation	KMD1	3.91	0.92	6.25	4.97~8.16	1.18
	KMD2	2.79	0.66	5.78	4.25~7.85	1.09
	Xiushui 11	2.54	0.53	5.28	3.89~6.91	1.00

表 3.4 褐飞虱在室内 Bt 水稻（KMD1 和 KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上连续取食后
对毒死蜱敏感性的世代变化

Table 3.4 Generational variation of susceptibility to chlorpyrifos of *N. lugens* fed on *Bt* rice
(KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) continuously in the laboratory

取食代数	水稻品系	斜率	标准误	LD ₅₀	LD ₅₀ 95%置信限	比值
Generations	Rice variety	Slope	SE	ng/♀	LD ₅₀ 95%FL ng/♀	Ratio
1 代 1st generation	KMD1	2.09	0.44	64.40	44.50~85.30	0.88
	KMD2	2.46	0.53	63.00	43.20~82.90	0.86
	Xiushui 11	2.04	0.49	73.20	49.50~102.90	1.00
3 代 3rd generation	KMD1	2.69	0.44	69.30	52.50~86.60	0.93
	KMD2	2.94	0.54	67.00	48.70~84.90	0.89
	Xiushui 11	2.37	0.41	74.90	56.10~95.80	1.00
5 代 5th generation	KMD1	2.85	0.45	77.20	60.60~95.50	1.03
	KMD2	2.61	0.51	81.00	60.40~105.60	1.08
	Xiushui 11	2.29	0.41	74.70	55.40~96.20	1.00
7 代 7th generation	KMD1	2.36	0.41	79.20	60.00~101.50	0.94
	KMD2	2.29	0.42	63.10	44.40~81.40	0.75
	Xiushui 11	2.33	0.41	84.20	64.30~108.80	1.00
9 代 9th generation	KMD1	2.43	0.42	84.00	64.80~107.60	1.06
	KMD2	2.75	0.52	66.60	47.60~85.30	0.84
	Xiushui 11	2.17	0.40	79.30	58.70~103.70	1.00

表 3.5 褐飞虱在室内 Bt 水稻（KMD1 和 KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上连续取食后
对敌敌畏敏感性的世代变化

Table 3.5 Generational variation of susceptibility of *N. lugens* to dichlorovos fed on *Bt* rice
(KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) continuously in the laboratory

取食代数	水稻品系	斜率	标准误	LD ₅₀	LD ₅₀ 95%置信限	比值
Generations	Rice variety	Slope	SE	ng/♀	LD ₅₀ 95% FL ng/♀	Ratio
1 代 1st generation	KMD1	2.30	0.33	32.70	25.80~43.40	1.13
	KMD2	2.27	0.40	27.00	20.30~36.50	0.93
	Xiushui 11	2.81	0.49	29.00	22.80~38.40	1.00
3 代 3rd generation	KMD1	2.06	0.30	23.50	17.90~30.50	0.65
	KMD2	2.36	0.40	22.70	16.90~29.70	0.62
	Xiushui 11	2.17	0.42	36.40	27.20~55.00	1.00
5 代 5th generation	KMD1	2.21	0.34	21.30	16.30~27.40	0.88
	KMD2	2.32	0.35	21.10	16.30~26.90	0.91
	Xiushui 11	2.10	0.38	18.20	12.70~24.40	1.00
7 代 7th generation	KMD1	1.87	0.29	21.10	15.50~27.90	0.77
	KMD2	2.46	0.42	26.70	20.40~35.50	0.98
	Xiushui 11	1.72	0.28	27.30	20.20~37.70	1.00
9 代 9th generation	KMD1	2.54	0.44	19.50	14.50~25.30	0.68
	KMD2	1.86	0.33	11.60	7.10~16.00	0.41
	Xiushui 11	1.99	0.39	28.60	20.90~42.40	1.00

表 3.6 褐飞虱在田间取食 Bt 水稻（KMD1 和 KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）后对杀虫剂的敏感性（杭州，2009）

Table 3.6 Insecticidal susceptibility of *N. lugens* fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) in the fields (Hangzhou, 2009)

杀虫剂	水稻品系	斜率	标准误	LD ₅₀	LD ₅₀ 95%置信限	比值
Insecticide	Rice variety	Slope	SE	(ng/♀)	LD ₅₀ 95% FL	Ratio
吡虫啉 Imidacloprid	KMD1	2.27	0.47	16.00	11.70~21.90	1.06
	KMD2	2.67	0.44	12.30	9.20~15.40	0.81
	Xiushui11	2.41	0.49	15.10	11.10~20.00	1.00
氟虫腈 Fipronil	KMD1	2.13	0.40	0.80	0.60~1.10	1.33
	KMD2	2.74	0.46	0.60	0.40~0.70	1.00
	Xiushui11	2.21	0.41	0.60	0.40~0.80	1.00
阿维菌素* Avermectins	KMD1	2.43	0.42	8.40	6.50~10.80	1.27
	KMD2	2.68	0.51	7.00	5.10~9.00	1.06
	Xiushui11	3.07	0.48	6.60	5.00~8.10	1.00
毒死蜱 Chlorpyrifos	KMD1	2.71	0.52	1.80	1.30~2.30	1.20
	KMD2	2.10	0.41	1.20	0.80~1.60	0.80
	Xiushui11	2.46	0.42	1.50	1.10~1.80	1.00
敌敌畏 Dichlorovos	KMD1	2.29	0.59	4.00	2.60~5.30	1.18
	KMD2	3.05	0.66	3.60	2.50~4.50	1.06
	Xiushui11	2.92	0.66	3.40	2.20~4.30	1.00

*注：LD₅₀ 值及其 95%置信限的单位为 pg/♀。

*Note: The unit of LD₅₀ values and their 95% FL is pg/♀.

表 3.7 褐飞虱在田间取食 Bt 水稻（KMD1 和 KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）后
对杀虫剂的敏感性（富阳，2009）

Table 3.7 Insecticidal susceptibility of *N. lugens* fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) in the fields (Fuyang, 2009)

取食代数	水稻品系	斜率	标准误	LD ₅₀	LD ₅₀ 95%置信限	比值
Generations	Rice variety	Slope	SE		LD ₅₀ 95% FL	Ratio
吡虫啉 Imidacloprid	KMD1	2.76	0.54	16.40	12.60~21.50	1.21
	KMD2	2.56	0.50	13.80	10.10~18.00	1.01
	Xiushui11	3.23	0.59	13.60	10.40~17.00	1.00
氟虫腈 Fipronil	KMD1	2.40	0.42	1.50	1.20~2.00	1.15
	KMD2	2.46	0.44	1.10	0.80~1.40	0.85
	Xiushui11	2.69	0.45	1.30	0.90~1.60	1.00
阿维菌素* Avermectins	KMD1	2.02	0.35	1.60	1.10~20.40	1.23
	KMD2	2.72	0.46	1.10	8.00~14.30	0.85
	Xiushui11	2.41	0.42	1.30	9.50~16.70	1.00
毒死蜱 Chlorpyrifos	KMD1	2.15	0.40	1.50	1.00~1.90	1.15
	KMD2	2.74	0.46	1.20	0.80~1.50	0.92
	Xiushui11	2.72	0.45	1.30	0.90~1.60	1.00
敌敌畏 Dichlorovos	KMD1	2.51	0.61	3.80	2.50~4.90	0.93
	KMD2	3.26	0.69	3.30	2.20~4.20	0.80
	Xiushui11	3.08	0.64	4.10	3.10~5.10	1.00

*注：LD₅₀ 值及其 95%置信限的单位为 pg/♀。
*Note: The unit of LD₅₀ vulues and their 95% FL is pg/♀.

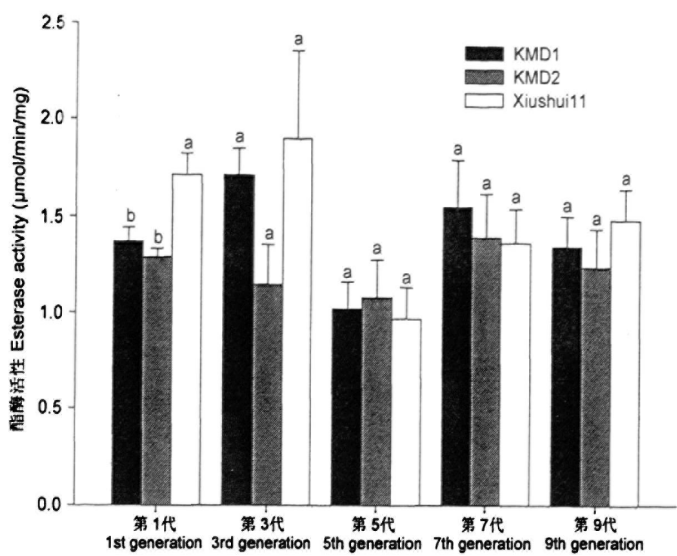


图 3.1 褐飞虱在室内 Bt 水稻 (KMD1, KMD2) 和非 Bt 水稻 (秀水 11) 上连续取食不同世代后酯酶的活性

Figure 3.1 Activities of esterase in *N. lugens* fed on Bt rice (KMD1 and KMD2) and non-Bt rice (Xiushui 11) for different generations continuously in the laboratory

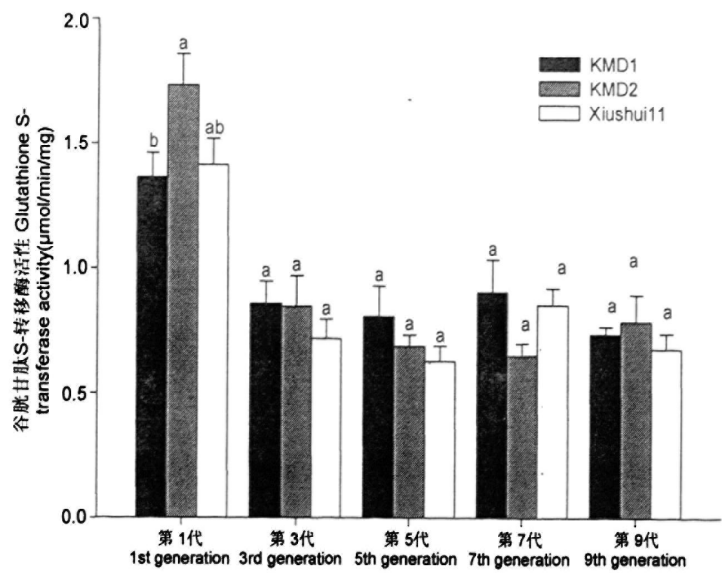


图 3.2 褐飞虱在室内 Bt 水稻 (KMD1, KMD2) 和非 Bt 水稻 (秀水 11) 上连续取食不同世代后谷胱甘肽 S-转移酶的活性

Figure 3.2 Activities of Glutathione S-transferase in *N. lugens* fed on Bt rice (KMD1 and KMD2) and non-Bt rice (Xiushui 11) for different generations continuously in the laboratory

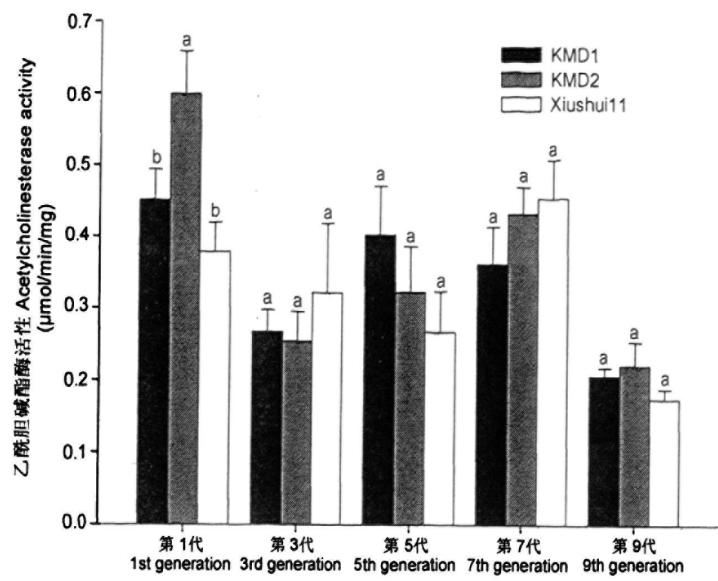


图 3.3 褐飞虱在室内 Bt 水稻（KMD1, KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上连续取食不同世代后乙酰胆碱酯酶的活性

Figure 3.3 Activities of Acetylcholinesterase in *N. lugens* fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) for different generations continuously in the laboratory

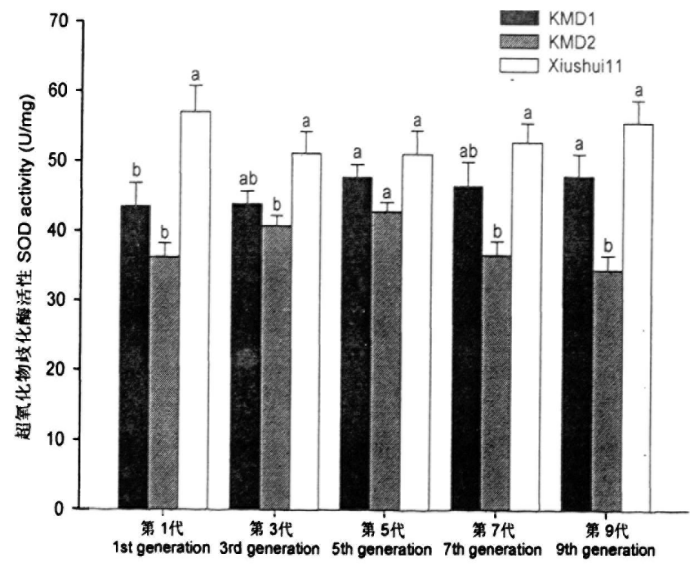


图 3.4 褐飞虱在室内 Bt 水稻（KMD1, KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上连续取食不同世代后超氧化物歧化酶的活性

Figure 3.4 Activities of SOD in *N. lugens* fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) for different generations continuously in the laboratory

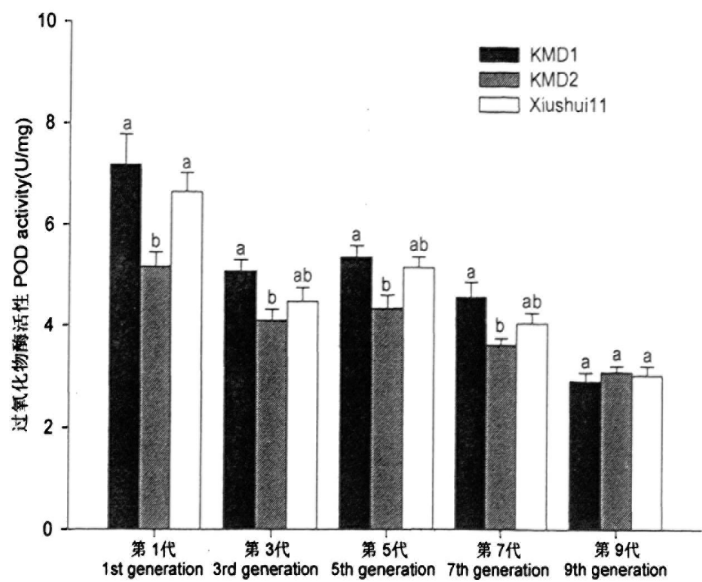


图 3.5 褐飞虱在室内 Bt 水稻（KMD1, KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上连续取食不同世代后过氧化物酶的活性

Figure 3.5 Activities of POD in *N. lugens* fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) for different generations continuously in the laboratory

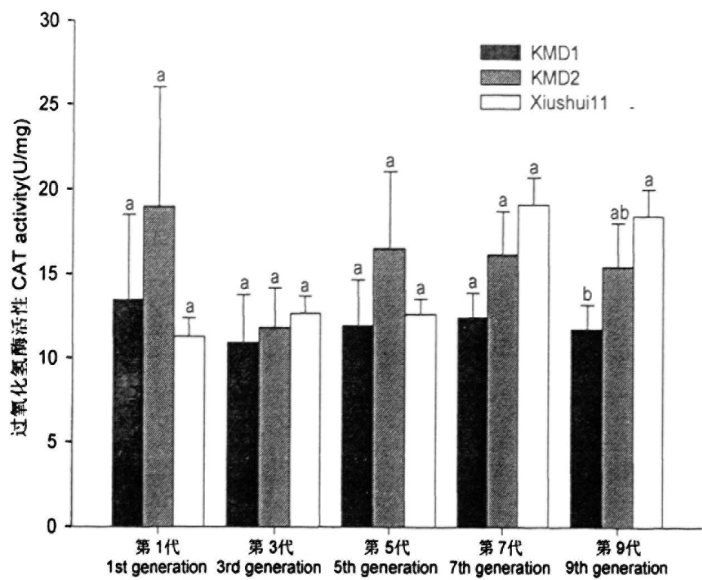


图 3.6 褐飞虱在室内 Bt 水稻（KMD1, KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上连续取食不同世代后过氧化氢酶的活性

Figure 3.6 Activities of CAT in *N. lugens* fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) for different generations continuously in the laboratory

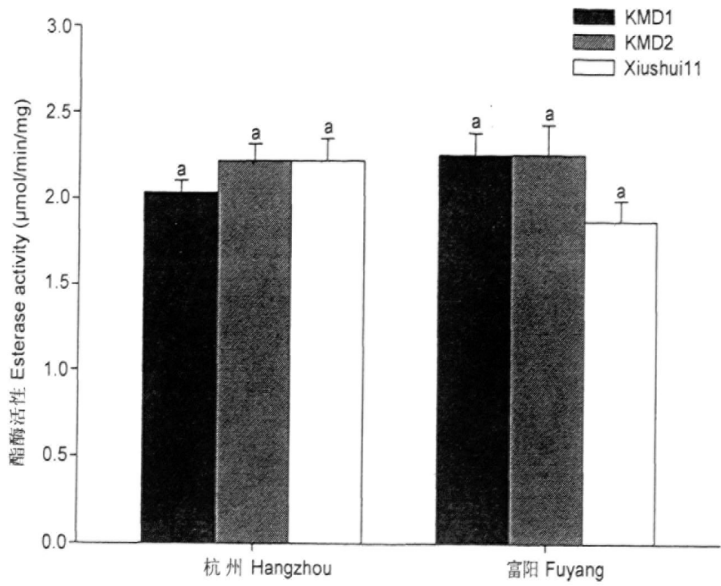


图 3.7 褐飞虱在田间 Bt 水稻（KMD1, KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上取食后
酯酶的活性

Figure 3.7 Activities of esterase in *N. lugens* fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) in the fields

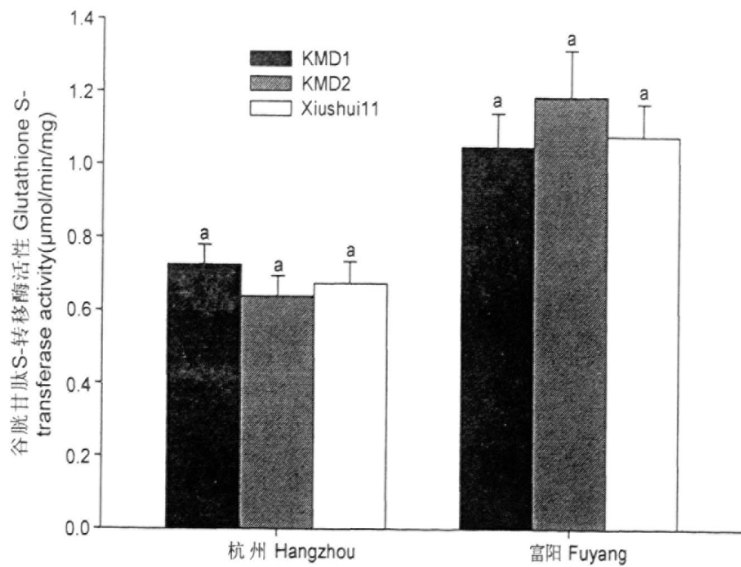


图 3.8 褐飞虱在田间 Bt 水稻（KMD1, KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上取食后
谷胱甘肽 S-转移酶的活性

Figure 3.8 Activities of Glutathione S-transferase in *N. lugens* fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) in the fields

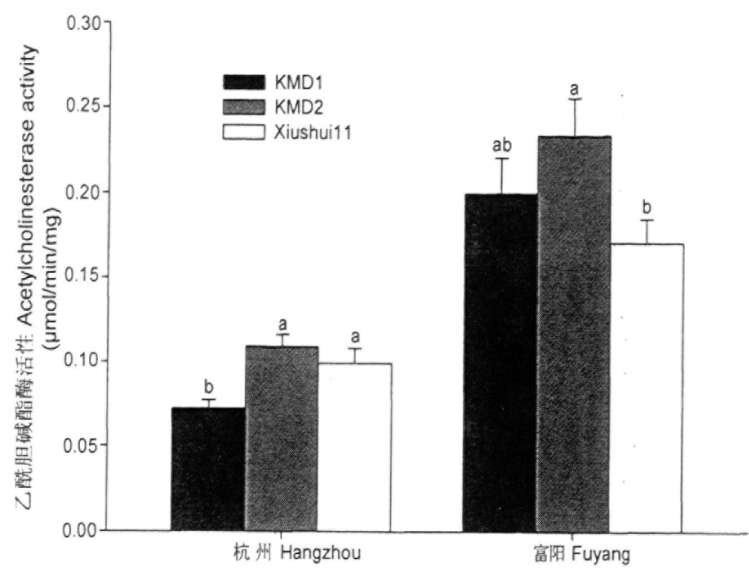


图 3.9 褐飞虱在田间 Bt 水稻（KMD1, KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上取食后
乙酰胆碱酯酶的活性

Figure 3.9 Activities of Acetylcholinesterase in *N. lugens* fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (KMD1 and KMD2) in the fields

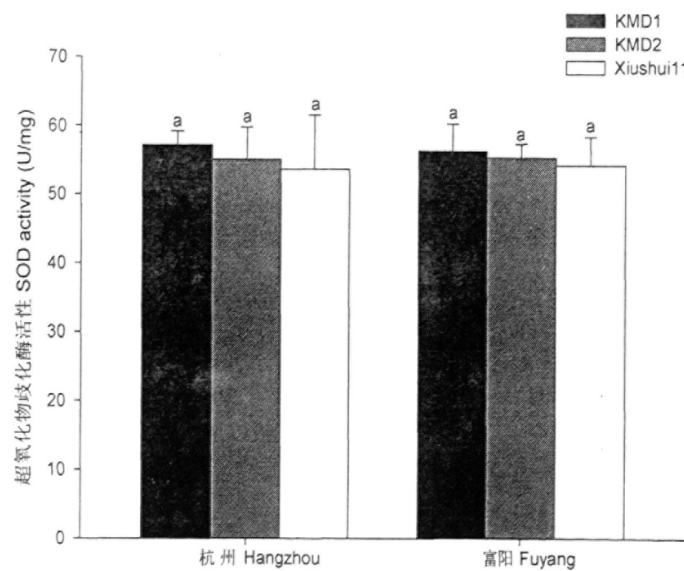


图 3.10 褐飞虱在田间 Bt 水稻（KMD1, KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上取食后
超氧化物歧化酶的活性

Figure 3.10 Activities of SOD in *N. lugens* fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) in the fields

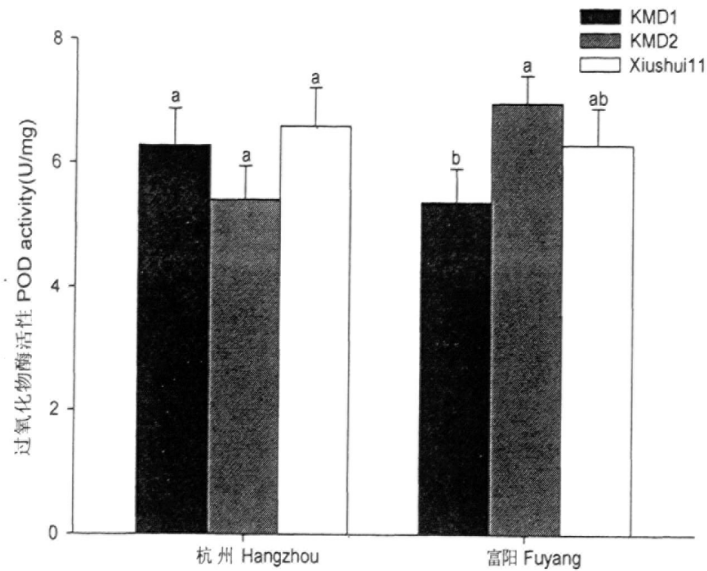


图 3.11 褐飞虱在田间 Bt 水稻（KMD1, KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上取食后过氧化物酶的活性

Figure 3.11 Activities of POD in *N. lugens* fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) in the fields

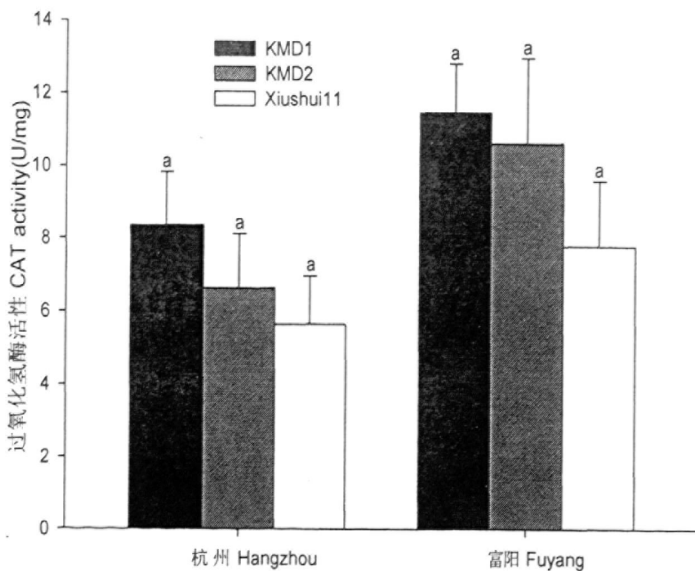


图 3.12 褐飞虱在田间 Bt 水稻（KMD1, KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上取食后过氧化氢酶的活性

Figure 3.12 Activities of CAT in *N. lugens* fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) in the fields

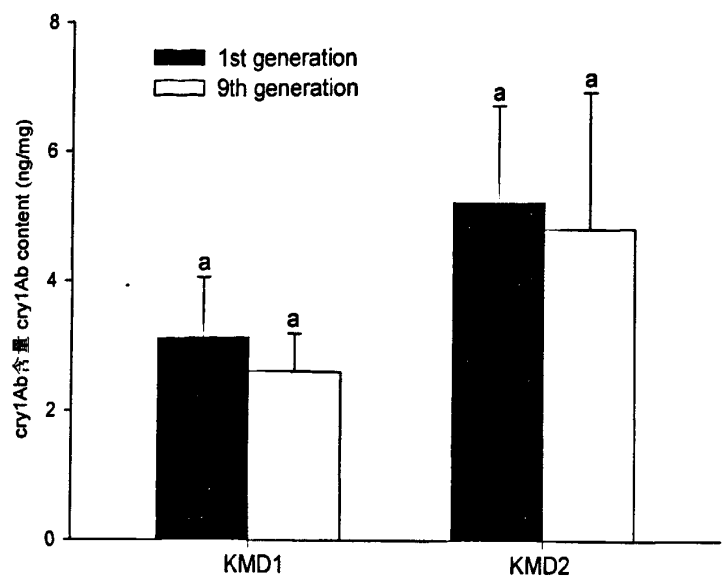


图 3.13 褐飞虱在室内 Bt 水稻（KMD1, KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上连续取食 1 代和 9 代后 Bt 蛋白含量

Figure 3.13 The content of Bt protein in *N. lugens* fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) for 1 and 9 generations continuously in the laboratory

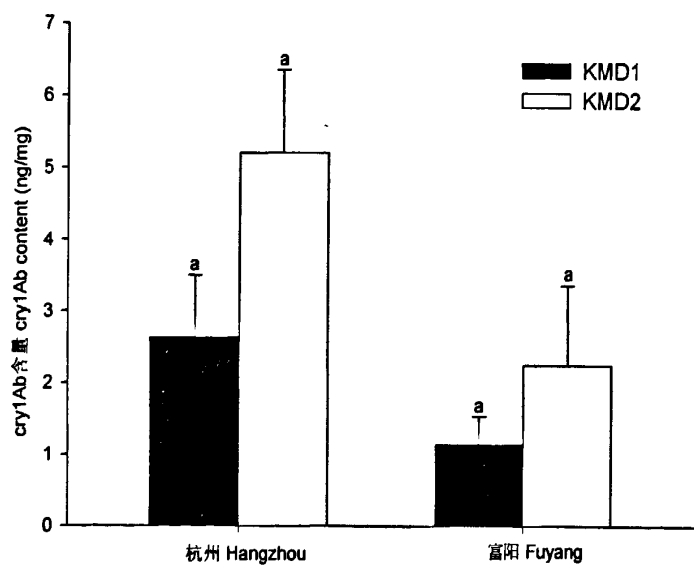


图 3.14 褐飞虱在田间 Bt 水稻（KMD1, KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上取食后 Bt 蛋白含量

Figure 3.14 The content of Bt protein in *N. lugens* fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) in the fields

第四章 转 *cry1Ab* 抗虫粳稻对褐飞虱氟虫腈抗性及代谢酶的影响

褐飞虱 *Nilaparvata lugens* (Stål) 属同翅目, 飞虱科, 是我国重要的水稻害虫。由于化学药剂的长期不合理使用, 导致稻飞虱对多种杀虫剂产生的不同程度的抗药性(王彦华, 2009a; b)。不同抗性品系的害虫在生物适合度上存在不同。本章测定比较了室内褐飞虱氟虫腈敏感品系、氟虫腈抗性品系在转 *cry1Ab* 基因水稻—克螟稻 1 号(KMD1)和克螟稻 2 号(KMD2)及其非转基因亲本水稻秀水 11(Xiushui11)上取食不同世代后对氟虫腈敏感性水平及其体内解毒酶活性, 旨在明确 Bt 水稻对非靶标褐飞虱苯基吡唑类杀虫剂的毒理学效应, 为 Bt 水稻的生态安全性评价和 Bt 稻田的褐飞虱综合治理提供理论基础。

4.1 材料与方法

4.1.1 供试材料

4.1.1.1 供试水稻: 同 3.1.1.1。

4.1.1.2 供试昆虫: 褐飞虱氟虫腈敏感品系同 3.1.1.2, 于 2007 年 9 月采自浙江杭州, 在室内不接触农药的情况下一一直用 TN1 稻苗继代饲养。褐飞虱氟虫腈抗性品系由室内氟虫腈敏感品系经氟虫腈筛选得到, 抗性倍数为 169 倍, 在室内一直用 TN1 稻苗继代饲养。试验时, 各取 30 对雌雄成虫分别接到 KMD1、KMD2 和秀水 11 上续代饲养。其中饲养条件为: 温度 $28\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $70\pm 5\%$ 、光周期 14 L: 10 D。在饲养 1、3、5、7、9 代后, 分别取大小一致的羽化 1-2d 的长翅型雌成虫用于生物测定药剂敏感性。上述种群在测定药剂敏感性的同时, 分别取样冷冻于 -70°C 冰箱中, 供酶活测定。

4.1.1.3 供试药剂: 95%氟虫腈原药, 由浙江永农化工有限公司提供。

4.1.2 生物测定

同 3.1.2。

4.1.3 酶活测定

同 3.1.3.

4.1.4 数据分析

同 3.1.4.

4.2 结果与分析

4.2.1KMD 对室内褐飞虱氟虫腈敏感品系氟虫腈敏感性的影响

不同水稻品系上饲养 1 代后褐飞虱氟虫腈敏感品系对氟虫腈敏感性以 KMD2 上的明显较低，其 LD₅₀ 值均为 KMD1 和秀水 11 上的 2.08 倍；3 代后 KMD2 上的敏感性显著降低，仅为 1 代的 36.0%，且略低于 KMD1 和秀水 11 的；此后，3 种水稻品系上的敏感性均随取食世代增加而有所下降，但相互间差异不显著（同 3.2.2.2）。

4.2.2KMD 对室内褐飞虱氟虫腈抗性品系氟虫腈敏感性的影响

从表 4.1 可知，不同水稻品系上饲养 1 代后褐飞虱氟虫腈抗性品系对氟虫腈敏感性以 KMD1 和 KMD2 上的高于秀水 11，但相互间差异不显著；3 代后在 KMD1 和 KMD2 上的敏感性均下降，且略低于秀水 11 的，但相互间差异不显著；5 代后在 KMD1 和 KMD2 上的敏感性与秀水 11，但相互间差异不显著。

4.2.3KMD 对室内褐飞虱氟虫腈敏感品系代谢酶敏感性影响

室内褐飞虱氟虫腈敏感品系在 KMD 上饲养多代后，体内代谢酶如解毒酶（酯酶和谷胱甘肽 S-转移酶）、靶标酶（乙酰胆碱酯酶）和保护酶（超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和过氧化物酶）等的活性均与非转基因亲本水稻秀水 11 上的无显著差异（同 3.2.3）。

4.2.4KMD 对室内褐飞虱氟虫腈抗性品系代谢酶敏感性影响

4.2.4.1 酯酶

褐飞虱室内氟虫腈抗性品系在不同水稻品系上饲养 1 代后, KMD1 和 KMD2 上酯酶活性分别为秀水 11 上的 1.08 和 1.09 倍, 相互间无显著差异; 持续饲养多代后, 褐飞虱酯酶活性均有上下波动, 相互间无显著差异 (图 4.1)。

4.2.4.2 谷胱甘肽 S-转移酶

褐飞虱室内氟虫腈抗性品系在不同水稻品系上饲养 1 代后, KMD1 和 KMD2 上谷胱甘肽 S-转移酶活性分别为秀水 11 上的 83.6%和 82.7%, 相互间差异不显著; 持续饲养多代后褐飞虱谷胱甘肽 S-转移酶均有上下波动, 相互间无显著差异 (图 4.2)。

4.2.4.3 乙酰胆碱酯酶

褐飞虱室内氟虫腈抗性品系在不同水稻品系上取食后, 乙酰胆碱酯酶活性以秀水 11 上最高, KMD1 上次之, KMD2 上最低, 相互间均无显著性差异 (图 4.3)。

4.2.4.4 超氧化物歧化酶

褐飞虱室内氟虫腈抗性品系在不同水稻品系上饲养 1 代后, KMD1 和 KMD2 上超氧化物歧化酶活性分别为秀水 11 上的 92.2%和 87.7%, 相互间差异不显著; 持续饲养多代后褐飞虱超氧化物歧化酶均有上下波动, 相互间无显著差异 (图 4.4)。

4.2.4.5 过氧过物酶

褐飞虱室内氟虫腈抗性品系在不同水稻品系上饲养 1 代后, KMD1 上过氧过物酶活性为秀水 11 上的 1.23 倍, 相互间差异不显著, KMD2 上过氧化物酶活性为秀水 11 上的 93.8%, 相互间差异不显著; 持续饲养多代后褐飞虱过氧过物酶均有上下波动, 相互间无显著差异 (图 4.5)。

4.2.4.6 过氧化氢酶

褐飞虱室内氟虫腈抗性品系在不同水稻品系上饲养 1 代后, KMD1 上过氧过氢酶活性为秀水 11 上的 92.1%, 相互间差异不显著, KMD2 上过氧化氢酶活性为秀水 11 上的 1.06 倍, 相互间差异不显著; 持续饲养多代后褐飞虱过氧过氢酶均有上下波动, 相互间无显著差异 (图 4.6)。

4.3 讨论

本章研究表明, 无论是褐飞虱氟虫腈敏感品系, 还是褐飞虱氟虫腈抗性品系, 在转 *cry1Ab* 基因水稻 KMD 上连续饲养后, 对氟虫腈的敏感性及其体内代谢酶如解毒酶 (酯酶

和谷胱甘肽 S-转移酶)、靶标酶(乙酰胆碱酯酶)和保护酶(超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和过氧化物酶)与非转基因亲本水稻秀水 11 上相比均没有显著差异。褐飞虱氟虫腈抗性品系与敏感品系之间代谢酶之间无明显差异,这与李超(2007)结果相似,说明氟虫腈抗性不是由代谢酶活性的改变而引起的,可能是褐飞虱体内 γ -氨基丁酸受体位点突变引起的。虽然不同抗性种群间的适合度不同,但研究结果发现 KMD 对褐飞虱不同品系间对氟虫腈的敏感性没有影响。

表 4.1 褐飞虱氟虫腈抗性品系在室内 Bt 水稻（KMD1 和 KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上连续取食后对氟虫腈敏感性的世代变化

Table 4.1 Generational variation in susceptibility of fipronil-resistant strain of *N. lugens* to fipronil fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11)

continuously in the laboratory						
取食代数	水稻品系	斜率	标准误	LD ₅₀	LD ₅₀ 95%置信限	比值
Generations	Rice variety	Slope	SE	ng/♀	LD ₅₀ 95% FL ng/♀	Ratio
1 代 1st generation	KMD1	2.53	0.50	217.50	163.50~305.50	1.15
	KMD2	2.41	0.50	247.50	184.80~370.30	1.31
	Xiushui 11	2.55	0.41	189.10	147.20~243.50	1.00
3 代 3rd generation	KMD1	2.45	0.47	183.00	135.30~246.00	0.92
	KMD2	2.85	0.53	154.00	113.30~197.10	0.78
	Xiushui 11	2.16	0.38	198.50	150.00~267.10	1.00
5 代 5th generation	KMD1	2.55	0.49	183.00	136.40~243.80	1.09
	KMD2	2.77	0.52	150.40	109.50~193.20	0.90
	Xiushui 11	2.18	0.38	167.20	123.80~219.10	1.00

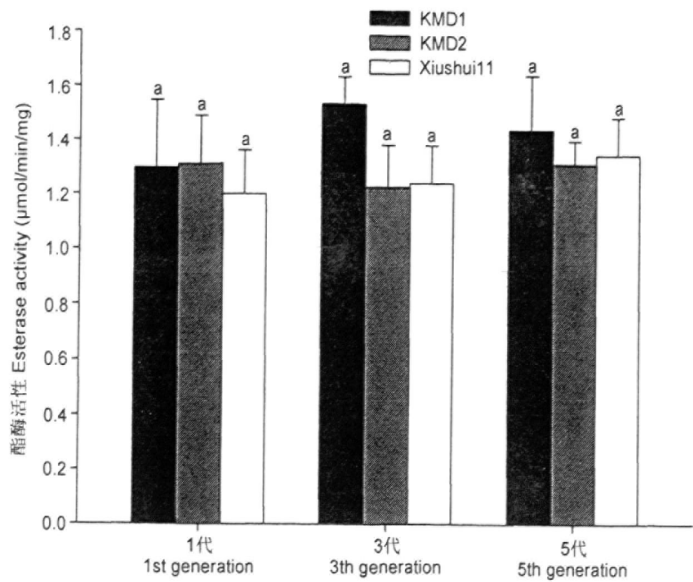


图 4.1 褐飞虱对氟虫腈抗性品系在室内 Bt 水稻（KMD1 和 KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上连续取食后酯酶的活性

Table 4.1 Esterase activity of fipronil-resistant strain of *N. lugens* fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) continuously in the laboratory

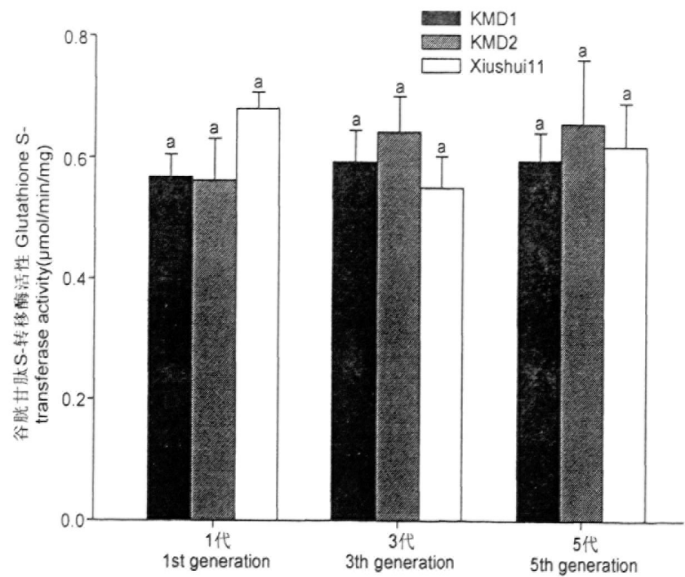


图 4.2 褐飞虱对氟虫腈抗性品系在室内 Bt 水稻（KMD1 和 KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上连续取食后谷胱甘肽 S-转移酶的活性

Table 4.2 Glutathione S-transferase Activity of fipronil-resistant strain of *N. lugens* fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) continuously in the laboratory

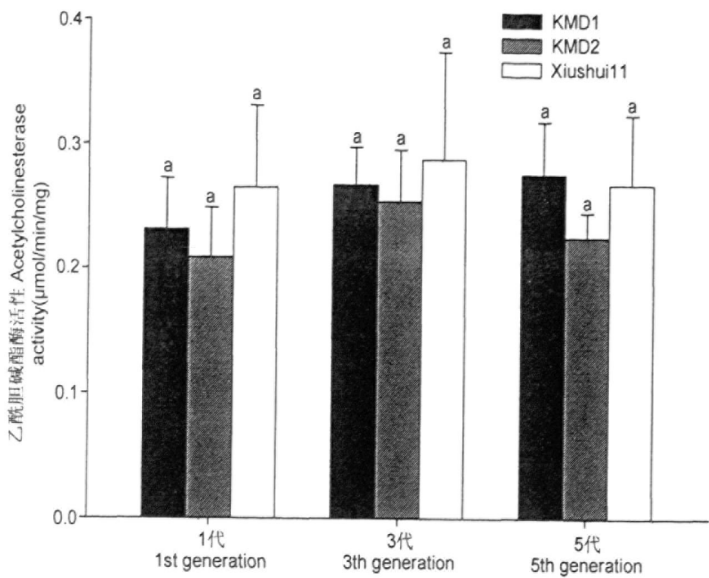


图 4.3 褐飞虱对氟虫腈抗性品系在室内 Bt 水稻（KMD1 和 KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上连续取食后乙酰胆碱酯酶的活性

Table 4.3 Acetylcholinesterase activity of fipronil-resistant strain of *N. lugens* fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) continuously in the laboratory

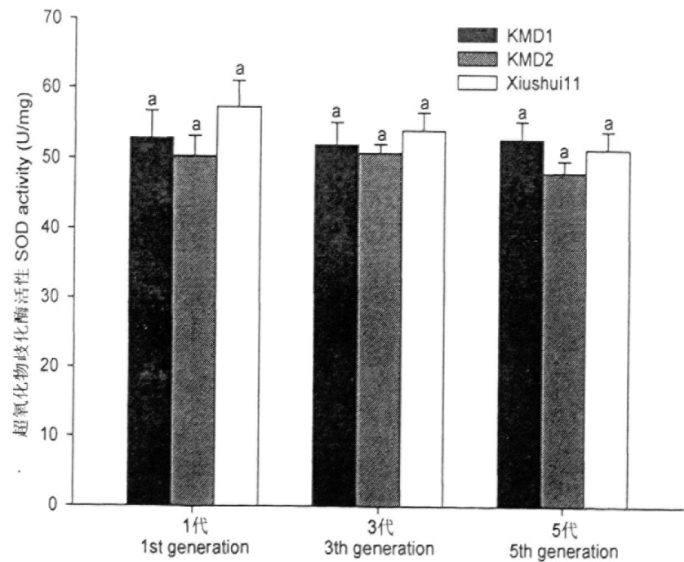


图 4.4 褐飞虱对氟虫腈抗性品系在室内 Bt 水稻（KMD1 和 KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上连续取食后超氧化物歧化酶的活性

Table 4.4 SOD activity of fipronil-resistant strain of *N. lugens* fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) continuously in the laboratory

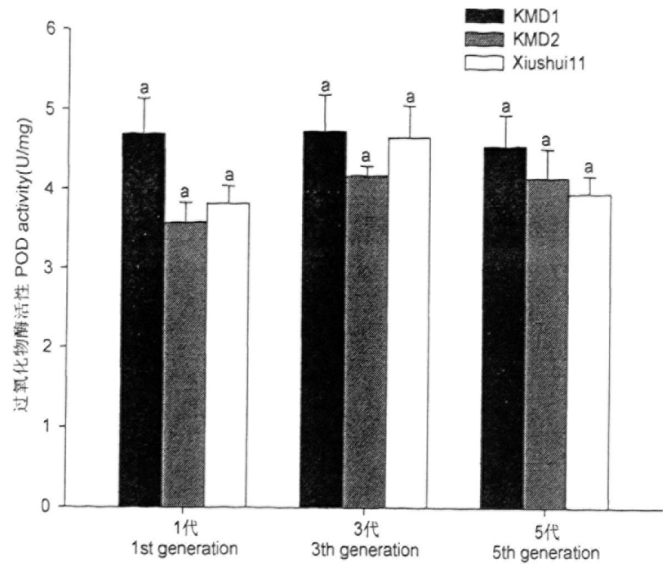


图 4.5 褐飞虱对氟虫腈抗性品系在室内 Bt 水稻（KMD1 和 KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上连续取食后过氧化物酶的活性

Table 4.5 POD activity of fipronil-resistant strain of *N. lugens* fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) continuously in the laboratory

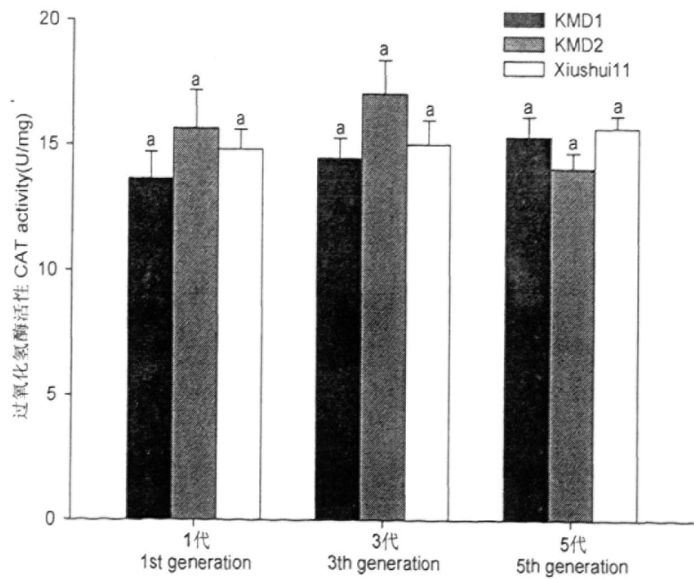


图 4.6 褐飞虱对氟虫腈抗性品系在室内 Bt 水稻（KMD1 和 KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上连续取食后过氧化氢酶的活性

Table 4.6 CAT activity of fipronil-resistant strain of *N. lugens* fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) continuously in the laboratory

第五章 转 *cry1Ab* 抗虫粳稻对白背飞虱马拉硫磷抗性及其代谢酶的影响

白背飞虱 *Sogatella furcifera* (Horváth) 属同翅目，飞虱科，是我国重要的水稻害虫。由于化学药剂的长期不合理使用，导致稻飞虱对多种杀虫剂产生的不同程度的抗药性（王彦华，2009）。不同抗性品系的害虫在生物适合度上存在不同。本章测定比较了室内白背飞虱马拉硫磷敏感品系、马拉硫磷抗性品系在转 *cry1Ab* 基因水稻—克螟稻 1 号（KMD1）和克螟稻 2 号（KMD2）及其非转基因亲本水稻（Xiushui11）上取食不同世代后对马拉硫磷敏感性水平及其体内解毒酶活性，旨在明确 Bt 水稻对非靶标白背飞虱有机磷类的毒理学效应，为 Bt 水稻的生态安全性评价和 Bt 稻田的白背飞虱综合治理提供理论基础。

5.1 材料与方法

5.1.1 供试材料

5.1.1.1 供试水稻：同 3.1.1.1。

5.1.1.2 供试昆虫：白背飞虱对马拉硫磷敏感品系为不接触任何杀虫剂在 TN1 水稻上连续饲养 80 代的白背飞虱品系，白背飞虱对马拉硫磷抗性品系是对敏感品系用马拉硫磷筛选获得，抗性倍数为 11 倍。试验开始后分别置苗龄 3 天左右的 KMD1、KMD2 和秀水 11 上于养虫室内继代饲养，其中饲养条件为：温度 $28\pm1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $70\pm5\%$ 、光周期 14 L:10 D。分别于第 1、3、5、7、9 代测其对马拉硫磷的敏感性，同时取样置于 -70°C 供生化测试用。

5.1.1.3 供试药剂：94.5%马拉硫磷原药（浙江宁波农药厂）。

5.1.2 生物测定

同 3.1.2。

5.1.3 酶活测定

同 3.1.3。

5.1.4 数据分析

同 3.1.4.

5.2 结果与分析

5.2.1KMD 对白背飞虱马拉硫磷敏感品系的马拉硫磷敏感性影响

从表 5.1 可知，不同水稻品系上饲养 1 代后，马拉硫磷对在 KMD1 上的白背飞虱马拉硫磷敏感品系 LD₅₀ 值为秀水 11 上的 93%，对在 KMD2 上的 LD₅₀ 值为秀水 11 上的 78%；连续饲养 3 代后，对在 KMD1 和 KMD2 上的 LD₅₀ 值与秀水 11 相比略为较高；5 代后 KMD1 上的 LD₅₀ 值为秀水 11 上的 1.02 倍，KMD2 上 LD₅₀ 值为秀水 11 上的 93%。所有 LD₅₀ 值之间的差异均不显著。

5.2.2KMD 对白背飞虱马拉硫磷抗性品系的马拉硫磷敏感性影响

从表 5.2 可知，在不同水稻品系上饲养 1 代后，白背飞虱马拉硫磷抗性品系对马拉硫磷的敏感性以在 KMD2 上显著较高，其 LD₅₀ 值分别为 KMD1 和秀水 11 上的 55.5%和 53.5%，在 KMD1 上的与秀水 11 上的无显著差异；不同水稻品系上饲养 3 代后，对马拉硫磷的敏感性均有降低，其中以 KMD2 上的敏感性相对较高，其 LD₅₀ 值分别为 KMD1 上的和秀水 11 上的 60.4%和 50.9%，但相互间差异不显著；连续饲养 5 代后，马拉硫磷 LD₅₀ 值以 KMD2 上的相对为低，是秀水 11 上的 56.7%，差异达显著，而 KMD1 上的 LD₅₀ 值则为秀水 11 上的 1.12 倍，差异不显著。

5.2.3KMD 对室内白背飞虱马拉硫磷敏感种群代谢酶活性的影响

5.2.3.1 酯酶

白背飞虱对马拉硫磷敏感品系在不同水稻品系上连续饲养 1 代后，KMD1 和 KMD2 上的酯酶活性分别为秀水 11 上的 92.2%和 98.1%；连续饲养后酯酶活性虽均呈现波动，但相互间差异均不显著（图 5.1）。

5.2.2.2 谷胱甘肽 S-转移酶

白背飞虱对马拉硫磷敏感种群在不同水稻品系上饲养 1 代后, KMD1 上的谷胱甘肽 S-转移酶活性为秀水 11 上的 1.05 倍, 而 KMD2 上的酶活为秀水 11 上的 96.6%; 连续饲养不同世代后, KMD1 和 KMD2 上的谷胱甘肽 S-转移酶活性均呈现上下波动, 但相互间的差异均不显著 (图 5.2)。

5.2.2.3 乙酰胆碱酯酶

白背飞虱对马拉硫磷敏感品系在不同水稻品系上饲养 1 代后, 乙酰胆碱酯酶活性在 KMD1 上的为秀水 11 上的 72%, 在 KMD2 上的为秀水 11 上的 1.07 倍, 相互间差异不显著, 但在 KMD1 上的酶活性则比 KMD2 上的显著较低; 连续饲养 3 代后, 在 KMD1 和 KMD2 上的酶活均比秀水 11 上的明显较高, 但相互间无显著差异; 5 代后, 在 KMD1 和 KMD2 上的酶活性均比秀水 11 上的显著较低, 分别为秀水 11 上的 46% 和 42% (图 5.3)。

5.2.4 KMD 对室内白背飞虱马拉硫磷抗性品系代谢酶活性的影响

5.2.4.1 酯酶

白背飞虱对马拉硫磷抗性品系在不同水稻品系上饲养 1 代后, KMD1 上的酯酶活性为秀水 11 上的 90.1%, KMD2 上的酯酶活性为秀水 11 上的 1.01 倍; 持续饲养不同世代后, 不同水稻品系上的酯酶活性均呈上下波动, 但相互间无显著差异 (图 5.4)。

5.2.4.2 谷胱甘肽 S-转移酶

白背飞虱对马拉硫磷抗性品系在不同水稻品系上饲养多代, 谷胱甘肽 S-转移酶活性以 KMD1 上最高, 秀水 11 上次之, KMD2 上最低, 但相互间均无显著差异 (图 5.5)。

5.2.4.3 乙酰胆碱酯酶

白背飞虱对马拉硫磷抗性品系在不同水稻品系上饲养 1 代后, KMD1 和 KMD2 上的乙酰胆碱酯酶活性分别为秀水 11 上的 1.11 和 1.19 倍; 饲养不同世代后, KMD1 和 KMD2 上的酶活性均比秀水 11 上的明显较低, 但相互间差异均不显著 (图 5.6)。

5.3 讨论

本章研究表明, 在转 *cry1Ab* 基因水稻 KMD 上连续饲养的白背飞虱马拉硫磷敏感品系对马拉硫磷的敏感性与非转基因亲本水稻秀水 11 上的相比, 均无显著差异; KMD1 上连续饲养的白背飞虱马拉硫磷抗性品系的马拉硫磷敏感性与非转基因亲本水稻秀水 11 上相比,

亦均无显著差异, KMD2 上连续饲养的白背飞虱马拉硫磷抗性品系的 LD_{50} 值与非转基因亲本水稻秀水 11 上的相比, 则有显著下降。进一步通过对代谢酶活性的测定发现, 转 *cry1Ab* 基因水稻 KMD 上白背飞虱马拉硫磷敏感品系除连续饲养 5 代后的乙酰胆碱酯酶活性比非转基因亲本水稻秀水 11 上的显著降低外, 酯酶和谷胱甘肽 S-转移酶活性与秀水 11 上的均无显著性差异; 转 *cry1Ab* 基因水稻 KMD 上白背飞虱对马拉硫磷抗性品系体内酯酶、谷胱甘肽 S-转移酶和乙酰胆碱酯酶活性与秀水 11 上的均无显著性差异。对于白背飞虱马拉硫磷抗性品系在 KMD2 上对马拉硫磷的敏感性则比秀水 11 上的明显较高 (LD_{50} 值相差不到两倍), 这可能是由表皮通透性改变, 或实验误差引起。白背飞虱对马拉硫磷抗性品系的酯酶活性较敏感品系的明显较高, 这与姚洪渭 (2001) 结果相似。综上, KMD 对白背飞虱不同品系间对马拉硫磷的敏感性并没有影响。

表 5.1 白背飞虱马拉硫磷敏感品系在室内 Bt 水稻（KMD1 和 KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上连续取食后对马拉硫磷敏感性的世代变化

Table 5.1 Generational variation in susceptibility of malathion-susceptible strain of *S. furcifera* to malathion fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) continuously in the

laboratory						
取食代数	水稻品系	斜率	标准误	LD50	LD50 95%置信限	比值
Generations	Rice variety	Slope	SE	μg/♀	LD50 95% FL ng/♀	Ratio
1 代 1st generation	KMD1	2.9862	0.5646	44.08	34.20~56.75	0.93
	KMD2	2.8996	0.4577	37.00	28.90~45.65	0.78
	Xiushui 11	2.7161	0.531	47.35	36.50~62.88	1.00
3 代 3rd generation	KMD1	2.7183	0.5332	46.60	35.78~61.83	1.01
	KMD2	3.6938	0.7035	46.48	37.43~58.65	1.01
	Xiushui 11	3.0681	0.5799	46.13	36.23~59.50	1.00
5 代 5th generation	KMD1	2.8152	0.5715	53.45	41.63~73.75	1.02
	KMD2	3.0043	0.5834	48.68	38.20~64.10	0.93
	Xiushui 11	2.8999	0.5776	52.60	41.28~71.35	1.00

表 5.2 白背飞虱马拉硫磷抗性品系在室内 Bt 水稻（KMD1 和 KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上连续取食后对马拉硫磷敏感性的世代变化

Table 5.2 Generational variation in susceptibility of malathion-resistant strain of *S. furcifera* to malathion fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) continuously in the

laboratory						
取食代数	水稻品系	斜率	标准误	LD ₅₀	LD ₅₀ 95%置信限	比值
Generations	Rice variety	Slope	SE	μg/♀	LD ₅₀ 95% FL ng/♀	Ratio
1 代 1st generation	KMD1	3.00	0.58	425.60	298.90~539.00	0.96
	KMD2	5.11	1.34	236.20	201.50~288.50	0.53
	Xiushui 11	2.45	0.52	441.70	295.70~576.50	1.00
3 代 3 rd generation	KMD1	3.31	0.60	469.00	351.80~581.20	0.84
	KMD2	3.48	1.19	283.20	229.10~518.00	0.51
	Xiushui 11	2.75	0.55	556.10	419.70~714.70	1.00
5 代 5th generation	KMD1	2.22	0.58	492.40	305.00~684.50	1.12
	KMD2	2.72	0.54	249.20	191.90~305.90	0.57
	Xiushui 11	3.18	0.59	439.80	318.50~550.60	1.00

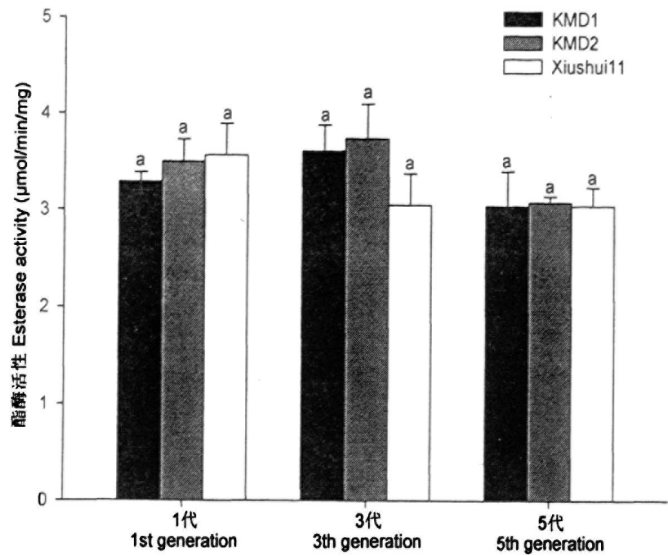


图 5.1 白背飞虱对马拉硫磷敏感品系在室内 Bt 水稻（KMD1 和 KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上连续取食后酯酶的活性

Table 5.1 Esterase activity of malathion-susceptible strain of *S. furcifera* fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) continuously in the laboratory

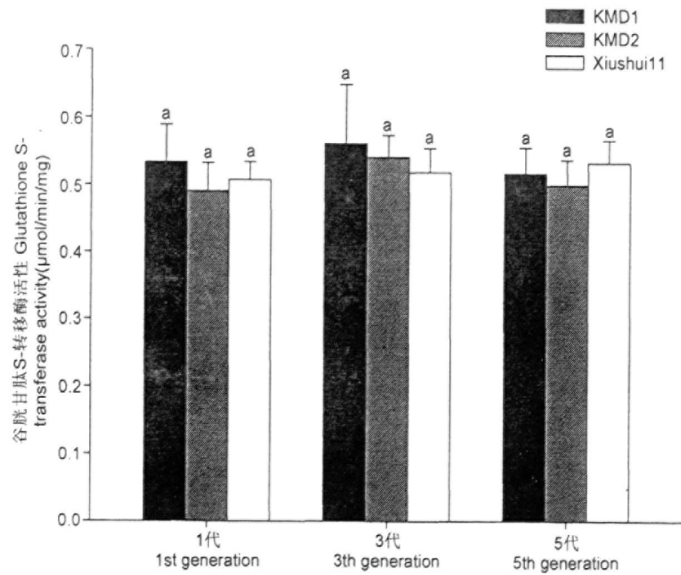


图 5.2 白背飞虱对马拉硫磷敏感品系在室内 Bt 水稻（KMD1 和 KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上连续取食后谷胱甘肽 S-转移酶的活性

Table 5.2 Glutathione S-transferase activity of malathion-susceptible strain of *S. furcifera* fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) continuously in the laboratory

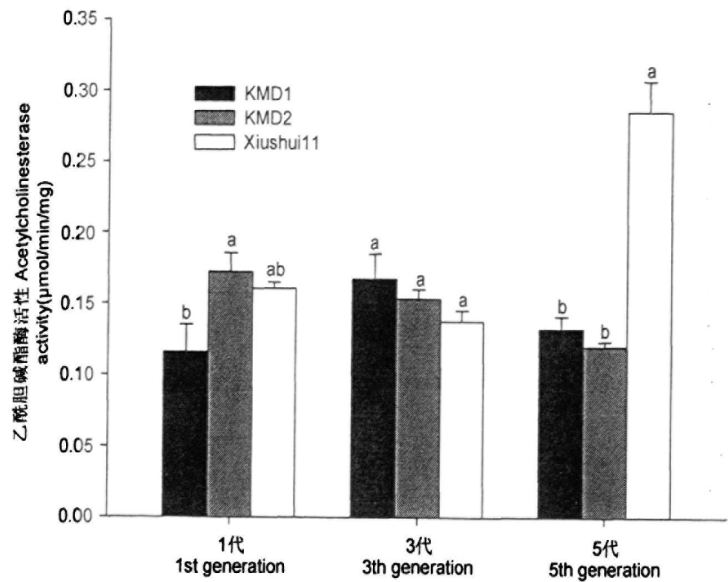


图 5.3 白背飞虱对马拉硫磷敏感品系在室内 Bt 水稻（KMD1 和 KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上连续取食后乙酰胆碱酯酶的活性

Table 5.3 Acetylcholinesterase activity of malathion-susceptible strain of *S. furcifera* fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) continuously in the laboratory

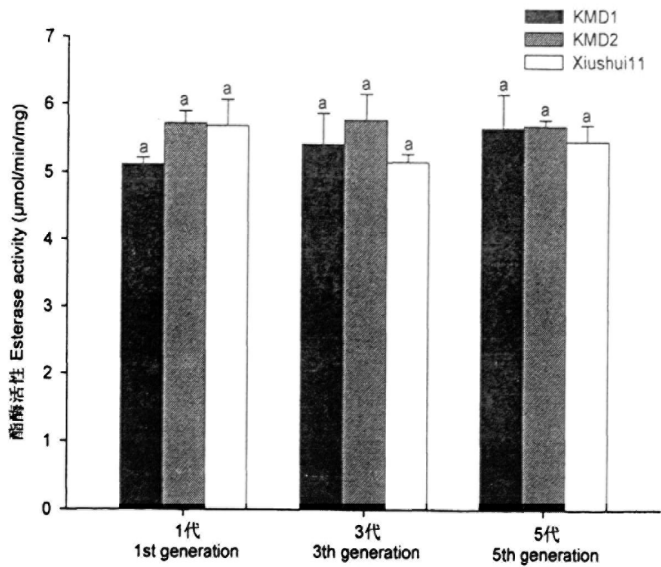


图 5.4 白背飞虱对马拉硫磷抗性品系在室内 Bt 水稻（KMD1 和 KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上连续取食后酯酶的活性

Table 5.4 Esterase activity of malathion-resistant strain of *S. furcifera* fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) continuously in the laboratory

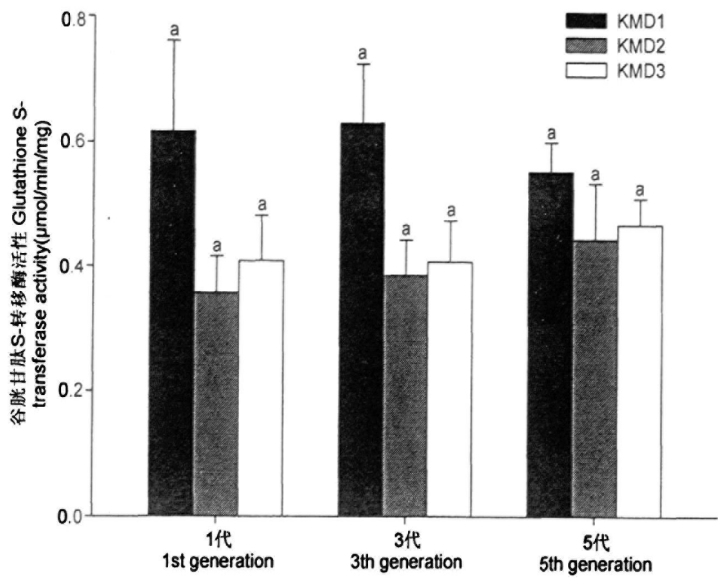


图 5.5 白背飞虱对马拉硫磷抗性品系在室内 Bt 水稻（KMD1 和 KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上连续取食后谷胱甘肽 S-转移酶的活性

Table 5.5 Glutathione S-transferase activity of malathion-resistant strain of *S. furcifera* fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) continuously in the laboratory

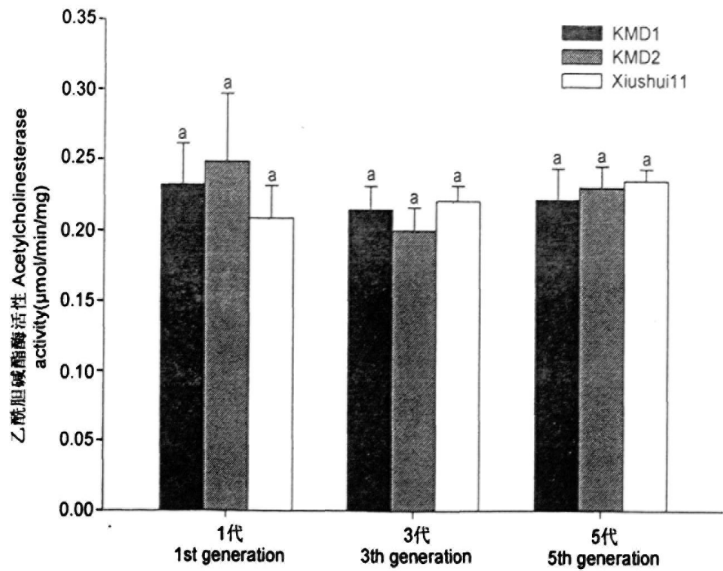


图 5.6 白背飞虱对马拉硫磷抗性品系在室内 Bt 水稻（KMD1 和 KMD2）和非 Bt 水稻（秀水 11）上连续取食后乙酰胆碱酯酶的活性

Table 5.6 Acetylcholinesterase activity of malathion-resistant strain of *S. furcifera* fed on *Bt* rice (KMD1 and KMD2) and non-*Bt* rice (Xiushui 11) continuously in the laboratory

第六章 总结

水稻螟虫（二化螟 *Chilo suppressalis*、三化螟 *Scirpophaga incertulas* 和稻纵卷叶螟 *Cnaphalocrocis medinalis*）和稻飞虱（褐飞虱 *Nilaparvata lugens*、白背飞虱 *Sogatella furcifera* 和灰飞虱 *Laodelphax striatellus*）系我国稻区的重要害虫，常爆发成灾，严重威胁水稻生产（程遐年等, 2003; 盛承发等, 2003）。为有效控制水稻螟虫为害，并减少化学杀虫剂使用量，自 20 世纪 90 年代以来，国内外相继开展并成功培育出不少抗螟效果好的转 *Bt* 基因水稻（*Bt* 水稻）品系（叶恭银等, 1998; High 等, 2004; Chen 等, 2009）。*Bt* 水稻为水稻增产带来可能，商业化前景十分广阔，但是其作为转基因抗虫作物，同样面临环境释放后的生态安全性问题。因此，对 *Bt* 水稻的潜在生态风险开展全面的安全性评价就非常重要（Shelton 等, 2002）。

6.1 转 *cry1Ab* 基因抗虫粳稻对稻飞虱杀虫剂敏感性及其代谢酶的影响

本文测定比较了在转 *cry1Ab* 基因水稻--克螟稻 1 号（KMD1）和 2 号（KMD2）及其非转基因亲本秀水 11（Xiushui11）上连续饲养的褐飞虱室内种群以及田间种群（杭州和富阳种群）对 5 种杀虫剂（吡虫啉、毒死蜱、敌敌畏、氟虫腈和阿维菌素）的敏感性水平及其体内解毒酶的敏感性水平及其体内解毒酶（酯酶和谷胱甘肽 S-转移酶）、靶标酶（乙酰胆碱酯酶）和保护酶（超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和过氧化物酶）的活性以及摄入 *Bt* 蛋白量的差异变化，在 KMD1、KMD2 和秀水 11 上连续饲养的褐飞虱室内氟虫腈抗性品系对氟虫腈的敏感性水平及其解毒代谢酶活性，在 KMD1、KMD2 和秀水 11 上连续饲养的白背飞虱敏感种群和抗马拉硫磷种群对马拉硫磷的田敏感性水平及其解毒代谢酶活性。结果表明，5 种杀虫剂对分别持续取食 KMD1 和 KMD2 的褐飞虱室内种群 LD_{50} 值及其世代变化与取食秀水 11 的相比无显著差异；对分别采自 KMD1 和 KMD2 上的杭州和富阳田间种群 LD_{50} 值亦与秀水 11 的无显著差异。在 KMD1 和 KMD2 上连续取食多代的褐飞虱室内种群以及杭州和富阳田间种群，其体内解毒酶、靶标酶和保护酶等活性与取食秀水 11 的差异不显著。褐飞虱不同种群在 KMD 上摄入的 *Bt* 蛋白量相对稳定，其中以取食 KMD2 的相对较高。

本文测定了在 KMD1、KMD2 和秀水 11 上连续饲养的褐飞虱氟虫腈抗性品系对氟虫腈的敏感性水平及其代谢酶活性、以及白背飞虱抗/感马拉硫磷品系对马拉硫磷的敏感性水平

及其代谢酶活性,结果表明在 KMD1 和 KMD2 上连续饲养的褐飞虱氟虫腈抗性品系对氟虫腈的敏感性水平及其代谢酶活性与对照秀水 11 上的无显著差异;在 KMD1 和 KMD2 上连续饲养的白背飞虱马拉硫磷抗性品系对马拉硫磷的敏感性水平及其代谢酶活性与秀水 11 上的亦均无显著性差异。

上述结果表明, KMD1 和 KMD2 对褐飞虱和白背飞虱的杀虫剂敏感性和代谢酶活性无显著影响。

6.2 本研究的特色与创新点

本论文采用继代饲养的方法较为全面的研究了转基因抗虫粳稻对非靶标害虫褐飞虱和白背飞虱杀虫剂敏感性和解毒代谢酶活性的影响,并通过对两个抗性品系的深入研究作了进一步评价。

本论文的结论可为以后转基因水稻的商业化决策、及以后转基因水稻商业化种植后防治非靶标害虫褐飞虱和白背飞虱提供一定的理论依据。

6.3 不足之处和今后待研究的问题

由于时间,精力等种种原因,本文仅对转 *cry1Ab* 基因抗虫粳稻对褐飞虱和白背飞虱 4 类农药的药剂敏感性进行了分析,尚有很多工作可待进一步研究。今后有待研究的工作主要有:

- 1、对不同类型的转基因水稻品系开展相关研究;
- 2、在田间,需通过多地点、多年份监测转基因水稻对非靶标害虫药剂敏感性的影响;
- 3、就避护所里的非转基因水稻品种对飞虱的药剂敏感性进行监测。

参考文献

- 曹明章, 沈晋良, 张金振, 等. 二化螟抗药性监测和对三唑磷抗性的遗传分析. 中国水稻科学, 2004, 18 (1): 73-79
- 陈茂, 叶恭银, 胡萃, 等. Bt 水稻对飞虱和叶蝉及其卵寄生蜂扩散规律的影响. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2003, 29 (1): 29-33
- 陈茂, 叶恭银, 姚洪渭, 等. 抗虫转基因水稻对非靶标害虫褐飞虱取食与产卵行为影响的评价. 中国农业科学, 2004, 37 (2): 222-226
- 程家安, 祝增荣, 娄永根. 连作晚稻前期施药种类和时间对褐飞虱种群动态的影响. 中国水稻科学, 1995, 9 (2): 108-114
- 程遐年, 吴进才, 马飞. 褐飞虱研究与防治. 北京: 中国农业出版社, 2003, 43-46
- 崔金杰, 夏敬源. 麦套夏播转 Bt 基因棉田主要害虫及其天敌的发生规律. 棉花学报, 1998, 10 (5): 255-262
- 崔金杰, 夏敬源. 一熟转 Bt 基因棉田主要害虫及其天敌的发生规律. 植物保护学报, 2000, 27 (2): 141-145
- 傅强, 王锋, 李冬虎, 等. 转基因抗虫水稻 MSA 和 MSB 对非靶标害虫褐飞虱和白背飞虱的影响. 昆虫学报, 2003, 46 (6): 697-704
- 高希武, 董向丽, 郑炳宗, 等. 棉铃虫的谷胱甘肽 S-转移酶 (GSTs): 杀虫药剂和植物次生性物质的诱导与 GSTs 对杀虫药剂的代谢. 昆虫学报, 1997, 40 (2): 122-127.
- 龚坤元. 害虫抗性问题的概述. 昆虫知识, 1982, 19 (1): 43-46
- 郭同斌, 嵇保中, 蒋继宏, 等. 转基因杨树对杨小舟蛾体内三种保护酶活力的影响. 昆虫学报, 2006, 49 (3): 381-386
- 贾乾涛, 石尚柏, 杨长举, 等. 转 Bt 基因水稻生长期几种重要成分含量的变化研究. 中国农业科学, 2001, 38 (10): 2002-2006
- 焦晓国, 崔旭红, 张国安, 等. Bt 水稻对田间非靶标害虫种群动态的影响. 昆虫知识, 2006, 43 (6): 774-777
- 李超. 小菜蛾对氟虫腈的抗性遗传方式、交互抗性及其抗性机理. 南京农业大学硕士论文, 2007
- 李汝铎, 丁锦华, 胡国文, 等. 褐飞虱及其种群管理. 上海: 复旦大学出版社, 1996, 128-134

- 李旭刚, 谢迎秋, 朱幀. 外源基因在转基因植物中的失活. 生物技术通报, 1998, 3: 1-8
- 梁天锡, 毛立新. 水稻飞虱的抗药性监测研究. 华东昆虫学报, 1996, 5 (1): 89-93
- 凌炎, 周国辉, 范桂霞, 等. 褐飞虱对吡虫啉、噻嗪酮和氟虫腈的抗性监测. 植物保护, 2009, 35 (1): 104-107
- 刘开林, 何林, 王进军, 等. 害虫及害螨对阿维菌素抗药性研究进展. 昆虫知识, 2007, 44 (2): 194-200
- 刘贤进, 顾正远. 褐飞虱对甲胺磷、噻嗪酮的抗性现状及发展趋势. 植物保护, 1996, 22 (2): 3-6
- 刘雨芳, 刘文海, 李双, 等. 转基因抗虫水稻 MSA4 大米对大鼠脏器系数、血常规与血生化影响. 湘潭师范学报(自然科学版), 2007, 29 (4): 112-116
- 刘泽文, 董钊, 王荫长, 等. 安庆地区褐飞虱、白背飞虱抗药性监测. 安徽农业科学, 2002, 30 (4): 488-489
- 刘志诚, 叶恭银, 胡萃, 等. Bt 水稻对主要非靶标害虫和蜘蛛优势种田间种群动态的影响. 植物保护学报, 2002, 29 (2): 138-144
- 刘志诚, 叶恭银, 胡萃, 等. 转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因籼稻对稻田节肢动物群落影响. 昆虫学报, 2003, 46 (4): 454-465
- 刘志诚, 叶恭银, 胡萃, 等. 抗虫转基因水稻和化学杀虫剂对稻田节肢动物群落的影响. 应用生态学报, 2004, 15 (12): 2309-2314
- 龙丽萍. 水稻飞虱对杀虫剂敏感性变化动态规律的研究. 华中农业大学学报, 2005, 24 (1): 15-20
- 毛立新, 梁天锡. 水稻飞虱对十三种杀虫剂的抗性监测. 中国水稻科学, 1992, 6 (2): 70-76
- 曲明静, 韩召军, 许新军, 等. 二化螟对三唑磷的抗性发生动态与风险评估. 南京农业大学学报, 2005, 28 (3): 38-42
- 盛承发, 王红托, 盛世余, 等. 我国稻螟灾害的现状与损失估计. 昆虫知识, 2003, 40 (4): 289-294
- 舒庆尧, 叶恭银, 崔海瑞, 等. 转基因水稻“克螟稻”选育. 浙江农业大学学报, 1998, 24 (6): 579-580
- 谭红, 叶恭银, 沈君辉, 等. 转 *cry1Ab* 基因抗虫籼稻对非靶标害虫白背飞虱发育与繁殖的影响. 植物保护学报, 2006, 33 (3): 251-256
- 唐健, 杨保军, 蒋跃南, 等. 稻蓟马危害转 *Bt* 基因水稻克螟稻 2 号研究初报. 中国水稻科学,

2000, 14 (4): 241-242

唐启义, 冯明光. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统. 北京: 科学出版社, 2002

唐振华, 陶黎明, 李忠. 害虫对新烟碱类杀虫剂的抗药性及其治理策略. 农药学学报, 2006, 8 (3): 196-202

唐振华. 褐飞虱抗药性的初步研究. 植物保护学报, 1982, 9 (3): 205-209

唐振华. 昆虫抗药性及其治理. 北京: 农业出版社, 1993

唐振华, 吴士雄. 昆虫抗药性的遗传与进化. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2000, 99-282

田俊策, 刘志诚, 姚洪渭, 等. 转 *cry1Ab* 基因水稻田寄生蜂亚群落结构及其优势类群数量动态的研究. 环境昆虫学报, 2008, 30 (1): 1-7

王彦华, 苍涛, 赵学平, 等. 褐飞虱和白背飞虱对几类杀虫剂的敏感性. 昆虫学报, 2009, 52 (10): 1090-1096

王彦华, 梁桂梅, 邵振润, 等. 褐飞虱对吡虫啉敏感性的时空变化及现实遗传力. 中国水稻科学, 2008, 22 (4): 421-426

王彦华, 王强, 沈晋良, 等. 褐飞虱抗药性研究现状. 昆虫知识, 2009, 46 (4): 518-524

王荫长, 李国清, 邓业成, 等. 稻飞虱对噻嗪酮的抗药性. 南京农业大学学报, 1996, 19 (增): 22-27

吴刚, 崔海瑞, 舒庆尧, 等. 转基因水稻中转录水平 *cry1Ab* 基因的沉默及其阶段复活. 中国科学 (C 辑), 2001, 31 (6): 487-496

徐海涓, 赵联朝, 刘国光, 等. 锐劲特对原动物群落的急性毒性试验. 环境化学, 2004, 23 (4): 427-430

姚洪渭, 蒋彩英, 叶恭银, 等. 白背飞虱对马拉硫磷和异丙威的抗性机制. 植物保护学报, 2003, 30 (1): 52-56

姚洪渭, 叶恭银, 程家安. 白背飞虱不同种群抗药性的测定. 中国水稻科学, 2000, 14 (3): 183-184

叶恭银, 胡萃, 舒庆尧. 转基因抗虫水稻的转育及其合理持续利用. 见: 程家安, 周伟军主编, 跨世纪农业发展与研究. 北京: 中国环境科学出版社, 1998, 406-414

曾千春, 吴茜, 周开达, 等. 修饰的 *cry1Ac* 基因导入籼稻明恢 81 获得抗虫纯合系. 遗传学报, 2002, 29 (6): 519-524

翟启慧. 昆虫分子生物学的一些进展: 杀虫剂抗性的分子基础. 昆虫学报, 1995, 38 (4): 493-501

- 张炬红, 郭建英, 万方浩, 等. 转 *Bt* 基因抗虫棉对棉蚜的杀虫剂敏感性及解毒酶系的影响. 昆虫学报, 2006, 49 (6): 938-943
- 张瑞亭. 日本用混剂防治抗性叶蝉和飞虱概况. 农药, 1982, 1: 46-49
- 张巍, 张志罡, 付秀芹, 等. 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, 2008, 51 (10): 1022-1027
- 赵善欢. 植物化学保护. 北京: 中国农业出版社, 2000
- 周霞, 程家安, 胡阳, 等. 转 *Bt* 基因水稻克螟稻对黑尾叶蝉种群增长的影响. 中国水稻科学, 2005, 19 (1): 74-78
- 朱文达, 万中义, 郭嗣斌. 氟虫腈(锐劲特)对水稻害虫防治效果及增产效应. 植物保护学报, 2002, 29 (3): 265-271
- 祝春祥, 罗道宏. 5%锐劲特悬浮剂对水稻苗期生长刺激作用的试验. 农药, 1999, 38 (4): 30-30
- Abdeldaffie EYA, Elhag EA, Bashir NHH. Resistance in the cotton whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn.), to insecticide recently introduced into Sudan Gezira. International Journal of Pest Management, 1987, 33 (4): 282-286
- Ahmed S, Wilkins RM, Mantle D. Comparison of proteolytic enzyme activities in adults of insecticide resistant and susceptible strains of the housefly *M. domestica* L. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 1998, 28 (9): 629-639
- Alam MF, Datta K, Abrigo E, et al. Transgenic insect-resistant maintainer line (IR68899B) for improvement of hybrid rice. Plant Cell Reports, 1999, 18 (7): 572-575
- Bernal CC, Aguda RM, Cohen BM. Effect of rice lines transformed with *Bacillus thuringiensis* toxin genes on the brown planthopper and its predator *Cyrtorhinus lividipennis*. Entomologia Experimentalis et Applicata, 2002, 102 (1): 21-28
- Berrada S, Fournier D, Cuany A, et al. Identification of resistance mechanisms in a selected laboratory strain of *Cacopsylla pyri* (Homoptera: Psyllidae): altered acetylcholinesterase and detoxifying oxidases. Pesticide Biochemistry. 1994, 48 (1): 41-47
- Bourguet D, Raymond M, Berrada S, et al. Interaction between acetylcholinesterase and choline acetyltransferase: an hypothesis to explain unusual toxicological responses. Pesticide Science, 1997, 51 (3): 276-282.
- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dry binding. Analytical Biochemistry, 1976, 72:

248-254

- Breitler JC, Cordero MJ, Royer M, et al. The -689/+197 region of the maize protease inhibitor gene directs high level, wound-inducible expression of the *cry1B* gene which protects transgenic rice plants from stemborer attack. *Molecular Breeding*, 2001, 7 (4) : 259-274
- Breitler JC, Marfà V, Royer M, et al. Expression of a *Bacillus thuringiensis cry1B* synthetic gene protects Mediterranean rice against the striped stem borer. *Plant Cell Reports*, 2000, 19 (12) : 1195-1202
- Byrne FJ, Devonshire AL. Kinetics of insensitive acetylcholinesterases in organophosphate-resistant tobacco whitefly, *bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 1997, 58 (2) : 119-124
- Cahill M, Jarvis W, Gorman K, et al. Resolution of baseline responses and documentation of resistance to buprofezin in *bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Bulletin of Entomological Research*, 1996, 86 (2) : 117-122
- Chen H, Tang W, Xu CG, et al. Transgenic *indica* rice plants harboring a synthetic *cry2A* gene of *Bacillus thuringiensis* exhibit enhanced resistance against Lepidopteran rice pests. *Theoretical and Applied Genetics*, 2005, 111 (7) : 1330-1337
- Chen M, Ye GY, Liu ZC, et al. Field Assessment of the effects of transgenic rice expressing a fused gene of *cry1Ab* and *cry1Ac* from *Bacillus thuringiensis* Berliner on nontarget planthopper and leafhopper populations. *Environmental Entomology*, 2006, 35 (1) : 127-134
- Cheng JA, Zhu ZR. Applying insecticides at early stages of rice cropping season may cause brown planthopper resurgence. *International Rice Research Notes*, 1994, 19 (4) : 20-21
- Cheng XY, Sardana R, Kaplan H, et al. Agrobacterium-transformed rice plants expressing synthetic *cry1A* (b) and *cry1A* (c) genes are highly toxic to striped stem borer and yellow stem borer. *Proceeding of the National Academy of Sciences*, 1998, 95 (6) : 2767-2772
- Chung TC, Sun CN. Malathion and MIPC resistance in *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae). *Journal of Economic Entomology*, 1983, 76 (1) : 1-5
- Cohen MB, Gould F, Bentur JS. *Bt* rice: practical steps to sustainable use. *Rice Research Notes (Philippines)*, 2000, 25 (2) : 4-10
- Datta K, Vasquez A, Tu J, et al. Constitutive and tissue-specific differential expression of the *cry1A* (b) gene in transgenic rice plants conferring resistance to rice insect pest. *Theoretical and Applied Genetics*, 1998, 97 (1) : 20-30

- Ding SY, Li HY, Li XF, et al. Effects of two kinds of transgenic poplar on protective enzymes system in the midgut of larvae of American white moth. *Journal of Forestry Research*, 2001, 12 (2) : 119-122
- Fujimoto H, Itoh K, Yamamoto M, et al. Insect resistant rice generated by introduction of a modified δ -endotoxin gene of *Bacillus thuringiensis*. *Nature Biotechnology*, 1993, 11 (10) : 1151-1155
- Fukuda H, Nagata T. Selective toxicity of several insecticides on three planthoppers. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*, 1969, 13 (3) : 142-149
- Gahakwa D, Maqbool SB, Fu X, et al. Transgenic rice as a system to study the stability of transgene expression: multiple heterologous transgenes show similar behaviour in diverse genetic backgrounds. *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, 101 (3) : 388-399
- Ghareyazie B, Alinia F, Menguito CA, et al. Enhanced resistance to two stem borers in an aromatic rice containing a synthetic *cry1A(b)* gene. *Molecular Breeding*, 1997, 3 (5) : 401-414
- Gu CJ, Chen WL. Detoxifying enzymes of the brown planthopper (BPH). *International Rice Research Notes*, 1993, 18 (3) : 37
- Hama H. Changed acetylcholinesterase and resistance in leaf-and planthoppers. *Pesticide chemistry: human welfare and the environment*. New York: Pergamon Press, 1983, 203-208
- High SM, Cohen MB, Shu QY, et al. Achieving successful deployment of *Bt* rice. *Trends in Plant Science*, 2004, 9 (6) : 286—292
- High SM. Achieving successful development of *Bt* rice. *Trends in Plant Science*, 2004, 9 (6) : 286-292
- Jena KK, Jeung JU, Lee JH, et al. High-resolution mapping of a new brown planthopper (BPH) resistance gene, *bph18(t)*, and marker-assisted selection for BPH resistance in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 2006, 112 (2) : 288-297
- Jiang GH, Xu CG, Tu JM, et al. Pyramiding of insect-and disease-resistance genes into an elite *indica*, cytoplasm male sterile restorer line of rice, 'Minghui 63'. *Plant Breeding*, 123 (2) : 112-116
- Khanna H K, Raina S K. Elite *indica* transgenic rice plants expressing modified *cry1Ac* endotoxin of *Bacillus thuringiensis* show enhanced resistance to yellow stem borer (*Scirpophaga incertulas*). *Transgenic Research*, 2002, 11 (4) : 411-423

- Lin CY, Xu XL, Zhao T, et al. A built-in strategy for containment of transgenic plants: creation of selectively terminable transgenic rice. *PLoS One*, 2008, 3 (3) : e1818
- Liu ZW, Han ZJ, Wang YC, et al. Selection for imidacloprid resistance in *Nilaparvata lugens*: cross-resistance patterns and possible mechanisms. *Pest Management Science*, 2003, 59 (12) : 1355-1359
- Liu ZW, Williamson MS, Lansdell SJ, et al. A nicotinic acetylcholine receptor mutation conferring target-site resistance to imidacloprid in *Nilaparvata lugens* (brown planthopper). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2005, 102 (24) : 8420-8425
- Loc NT, Tinjuangjun P, Gatehouse AMR, et al. Linear transgene constructs lacking vector backbone sequences generate transgenic rice plants which accumulate higher levels of proteins conferring insect resistance. *Molecular Breeding*, 2002, 9 (4) : 231-244
- Maqbool SB, Husnain T, Riazuddin S, et al. Effective control of yellow stem borer and rice leaf folder in transgenic rice *indica* varieties Basmati 370 and M7 using the novel δ -endotoxin *cry2A* *Bacillus thuringiensis* gene. *Molecular Breeding*, 1998, 4 (6) : 501-507
- Maqbool SB, Riazuddin S, Loc NT, et al. Expression of multiple insecticidal genes confers broad resistance against a range of different rice pests. *Molecular Breeding*, 2001, 7 (1) : 85-93
- Messeguer J, Fogher C, Guiderdoni E, et al. Field assessment of gene flow from transgenic to cultivated rices (*Oryza sativa* L.) using a herbicide resistance genes as tracer marker. *Theoretical and Applied Genetics*, 2001, 103 (8) : 1151-1159
- Miyata T. Problems in the control of insecticide-resistance plant- and leafhoppers. *Pesticide Science*, 1989, 26 (3) : 261-269
- Nagata T, Moriya S. Resistance in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål), to Lindane. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology (Japan)*, 1974, 18: 73-80
- Nayak P, Basu D, Das S, et al. 1997. Transgenic elite *indica* rice plants expressing *cry1Ac* δ -endotoxin of *Bacillus thuringiensis* are resistant against yellow stem borer (*Scirpophaga incertulas*). *PNAS*, 1997, 94 (6) : 2111-2116
- O'Callaghan, Maureen, Glare, et al. Effects of plants genetically modified for insect resistance on nontarget organisms. *Annual Review of Entomology*, 2005, 50(1): 271-292
- Pathak MD, Khan ZR. Insect pests of rice. Manila, Philippines: IRRI and ICIPE, 1994
- Ramesh S, Nagadhara D, Pasalu IC, et al. Development of stem borer resistant transgenic parental lines involved in the production of hybrid rice. *Journal of Biotechnology*, 2004, 111 (2) :

131-141

- Rao KV, Rathore KS, Hodges TK, et al. Expression of snowdrop lectin (GNA) in transgenic plants confers resistance to rice brown planthopper: *Plant Journal*, 1998, 15 (4) : 469-477
- Riddick EW, Dively G, Barbosa P. Effect of a seed-mix deployment of *cry3A*-transgenic and nontransgenic potato on the abundance of *Lebia grandis* (Coleoptera: Carabidae) and *Coleomegilla maculate* (Coleoptera: Coccinellidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 1998, 91 (5) : 647-653
- Rong J, Lu BR, Song ZP, et al. Dramatic reduction of crop-to-crop gene flow within a short distance from transgenic rice fields. *New Phytologist*, 2007, 173 (2) : 346-353.
- Rong J, Song ZP, Su J, et al. Low frequency of transgene flow from *Bt/CpTI* rice to its nontransgenic counterparts planted at close spacing. *New Phytologist*, 2005, 168 (3) : 559-566.
- Rong J, Xia H, Zhu YY, et al. Asymmetric gene flow between traditional and hybrid rice varieties (*Oryza sativa*) estimated by nuclear SSRs and its implication in germplasm conservation. *New Phytologist*, 2004, 163 (2) : 439-445
- Schoenly KG, Cohen MB, Barrion AT, et al. Effects of *Bacillus thuringiensis* on non-target herbivore and natural enemy assemblages in tropical irrigated rice. *Environmental Biosafety Research*, 2003, 2 (3) : 181-206
- Sharma PN, Ketipearachchi Y, Murata K, et al. RFLP/AFLP mapping of a brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stål) resistance gene *Bph1* in rice. *Euphytica*, 2003, 129 (1) : 109-117
- Shelton AM, Zhao JZ, Roush RT. Economic, ecological, food safety, and social consequences of the development of Bt transgenic plants. *Annual Review of Entomology*, 2002, 47: 845-881
- Shu QY, Ye GY, Cui HR, et al. Transgenic rice plants with a synthetic *cryIAb* gene from *Bacillus thuringiensis* is highly resistant to eight lepidopteran insects. *Molecular Breeding*, 2000, 6: 433-439
- Tomizawa M, Casida JE. Minor structural changes in nicotinoid insecticides confer differential subtype selectivity for mammalian nicotinic acetylcholine receptors. *British Journal of Pharmacology*, 1999, 127 (1) : 115
- Tsunematsu H, Yoshimura A, Harushima Y, et al. RFLP framework map using recombinant inbred lines in rice. *Breeding Science*, 1996, 46: 279-284
- Tu J, Zhang G, Datta K, et al. Field performance of transgenic elite commercial hybrid rice expressing *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin. *Nature Biotechnology*, 2000, 18 (10) :

1101-1104

- Vontas JG, Small GJ, Hemingway J. Glutathione S-transferases as antioxidant defence agents confer pyrethroid resistance in *Nilaparvata lugens*. *Biochemical Journal*, 2001, 357(1): 65-72
- Wang Zh, Wang Y, Cui HR, et al. Toxicological evaluation of transgenic rice flour with a synthetic *cry1Ab* gene from *Bacillus thuringiensis*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2002, 82 (7) : 738-744
- Wilson DF, Flint HM, Deaton WR, et al. Resistance of cotton lines containing a *Bacillus thuringiensis* toxin to pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Economic Entomology*. 1992, 85 (4) : 1516-1521
- Wu C, Fan Y, Zhang C, et al. Transgenic fertile *japonica* rice plants expressing a modified *cry1A* (b) gene resistant to yellow stem borer. *Plant Cell Reports*, 1997, 17 (2) : 129-132
- Wu G, Cui H, Ye GY, et al. Inheritance and expression of the *cry1Ab* gene in Bt (*Bacillus thuringiensis*) transgenic rice. *Theoretical and Applied Genetics*, 2002, 104: 727-734
- Wu KM, Guo YY. The evolution of cotton pest management practices in China. *Annual Reviews of Entomology*, 2005, 50: 31-52
- Wünn J, Klöti A, Burkhardt PK, et al. Transgenic *indica* rice breeding line IR58 expressing a synthetic *cry1A* (b) gene from *Bacillus thuringiensis* provides effective insect pest control. *Nature Biotechnology*, 1996, 14 (2) : 171-176
- Yang H, Ren X, Wang Q, et al. Molecular mapping and genetic analysis of a rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål) resistance gene. *Hereditas*, 2002, 136 (1) : 39-43.
- Ye GY, Shu QY, Yao H W, et al. Field evaluation of resistance of transgenic rice containing a synthetic *cry1Ab* gene from *Bacillus thuringiensis* berliner to two stem borers. *Journal of Economic Entomology*, 2001, 94 (1) : 271-276
- Zhu KY, Clark JM. Validation of a point mutation of acetylcholinesterase in colorado potato beetle by polymerase chain reaction coupled to enzyme inhibition assay. *Pesticide Biochemistry Physiology*, 1997, 57 (1) : 28-35