

doi: 10.3969/j.issn.1674-0858.2016.02.28

昆虫抗药性机制及抗性治理研究进展

张丽阳, 刘承兰*

(天然农药与农药化学生物学教育部重点实验室, 华南农业大学, 广州 510642)

摘要: 化学杀虫剂的广泛使用, 使昆虫产生抗药性的现象日渐突出。抗药性是一种潜在的、强大的、普遍的自然现象。研究昆虫的抗药性对于农林害虫防控、新型杀虫剂研发、生态环境的多样性等具有重要的意义。近年来随着昆虫基因组学的发展, 昆虫抗药性研究取得突破性进展, 本文介绍了基因组学在昆虫抗药性研究中的应用, 着重概述了昆虫抗药性形成的分子机制以及其治理策略, 并对今后如何延缓抗性的发展进行了探讨和展望。

关键词: 昆虫; 抗药性; 机制; 治理

中图分类号: Q9683; S433

文献标志码: A

文章编号: 1674-0858 (2016) 03-0640-08

Research progress on mechanism of insect resistance to insecticides and its management

ZHANG Li-Yang, LIU Cheng-Lan* (Key Laboratory of Natural Pesticide and Chemical Biology, Ministry of Education, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Insects resistance has become a major problem due to long term use of insecticides. Resistance is a potential, powerful and universal natural phenomenon. The researches of insect resistance can provide scientific guidance for the prevention and control of pests in agriculture, the exploitation of new insecticides, the diversity of ecological environment, and so on. In recent years, with the development of insect genomics, the research of the insect resistance has made breakthrough. This paper briefly describes the application of genomics in the research of insect resistance, focusing on an overview of mechanism of insect resistance to insecticides and its management, and how to delay the development of insect resistance.

Key words: Insect; resistance; mechanism; management

近年来, 由于化学杀虫剂的广泛使用, 昆虫对某些杀虫剂的耐受力明显增强而产生抗药性的现象日渐突出, 这成为害虫防治的一大障碍, 给作物保护带来了巨大的挑战, 同时农药残留污染土壤和水源, 破坏农业生态系统的多样性, 严重威胁环境和人类健康 (Denholm *et al.*, 2002)。密歇根州立大学的 Arthropod Pesticide Resistance Database (APRD) (<http://www.pesticideresistance.com>) 统计显示, 到目前为止, 已有 22 个目的昆虫对不同杀虫剂产生抗药性; 其中, 在我国水稻

上危害最为严重的常发性害虫之一的二化螟已对 29 种杀虫剂产生了不同程度的抗药性。抗药性是一种潜在的、强大的、普遍的自然现象 (潘志萍和李郭松, 2006)。1957 年, 世界卫生组织 (WHO) 给昆虫抗药性 (insecticide resistance) 定义为“昆虫具有忍受杀死正常种群大多数个体剂量的能力在其种群中发展起来的现象” (胡兴强, 2003)。这说明昆虫的抗性是由基因控制, 具有可遗传性 (岳建苏等, 2013)。

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31371959)

作者简介: 张丽阳, 女, 河南巩义人, 硕士研究生, 主要从事昆虫毒理学研究, E-mail: 845724301@qq.com

* 通讯作者 Author for correspondence, Email: liuchenglan@scau.edu.cn

收稿日期 Received: 2015-07-07; 接受日期 Accepted: 2015-09-20

1 从基因组学研究昆虫抗药性机制

1924年,为了描述生物的全部基因和染色体组成,基因组(Genome)的概念被提出(解涛等,2000)。随着基因组概念的提出,基因组学(Genomics)概念孕育而出,它是指对所有基因进行基因组作图(包括遗传图谱、物理图谱、转录本图谱),核苷酸序列分析,基因定位和基因功能分析的一门科学(Hieter and Boguski,1997)。目前,黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* (Adams *et al.*,2000)、冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* (Holt and Chaturvedi,2003)、家蚕 *Bombyx mori* (Xia,2004; Mita,2004)、意大利蜜蜂 *Apis mellifera* (Gramates,2006)、埃及伊蚊 *Aedes aegypti* (Nene *et al.*,2007)、赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* (Richards *et al.*,2008)、小菜蛾 *Plutella xylostella* (You *et al.*,2013)、飞蝗 *Locusta miratoria* (Wang *et al.*,2014) 以及豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* (Richards *et al.*,2010) 等相继完成了全基因组测序工作。随着大量昆虫全基因组测序的完成,昆虫抗药性的研究进入了基因组学时代。利用昆虫的基因组学,能够更好地揭示昆虫的抗性机制,发现作用靶标,为害虫的综合防治提供更好的监测和治理方法(Hemingway *et al.*,2002)。

目前,常用的基因组学研究技术有遗传连锁作图、定位克隆、数量性状位点作图、微阵列分析及转录沉默等(邱立红等,2004)。

Witzig等通过在贝宁野外捕获的雌性冈比亚按蚊产生的3组孤雌体系,构建遗传连锁图谱,发现在疟疾病媒中氯菊酯抗性基因的两组数量性状位点(quantitative trait locus, QTLs)位于染色体2L和3R上(Claudia *et al.*,2013)。通过用黑腹果蝇来分析幼虫对尼古丁抗性的遗传基础,用不同的果蝇突变品系来确定数量特性位点,映射QTL共同解释了关于尼古丁抗性的68.4%的广义遗传力。其中最大的QTL存在于由10个二磷酸尿核苷-葡萄糖醛酸转移酶(UDP-UGT)组成的基因簇,而下一个最大的QTL存在于一对细胞色素P450基因。通过转录组测序发现,在两个QTL存在有不同的等位基因:Ugt86Dd、Cyp28d1和Cyp28d2,携带等位基因面对更高的抗性有显著高表达。这些基因解释了黑腹果蝇幼虫对尼古丁抗性的很大一部分的遗传变异(Marriage *et al.*,

2013)。Jairin等通过三组近交的褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 品系构建遗传连锁图谱,该遗传连锁图谱将会为识别褐飞虱的毒力、抗药性、病毒传播、翼多态性等性状的遗传学基础提供最初的信息(Jairin *et al.*,2013)。世界卫生组织的生物测定显示,恩贾梅纳的阿拉伯按蚊对拟除虫菊酯和DDT具有抗性,但是对氨基甲酸酯类杀虫剂却较为敏感,且在这个种群中发现了1014F和1014S击倒抗性的等位基因。通过基因杂交发现,这些抗性作为常染色体特征和数量特性位点作图而遗传,解释了在抗性中24.4%的变异。这个数量特性位点富含细胞色素P450基因,包括25个细胞色素P450s,其中抗性种群比敏感种群Cyp6p4要高22倍,PBO增效剂和生化指标更好的解释了这个种群中P450基因在面对拟除虫菊酯抗性时所发挥的作用。这些研究成果将有助于控制阿拉伯按蚊对拟除虫菊酯类杀虫剂产生抗性(Witzig *et al.*,2013)。

2 昆虫抗药性形成的分子机制

昆虫抗药性的产生主要是因为杀虫剂种类的增加及广泛和高剂量的使用,使昆虫的基因组发生了相应的变化(阮成龙和米智,2012)。根据抗药性产生的机理,其中最主要的是代谢抗性(代谢作用增强)和靶标抗性(靶标的不敏感性)(Feyereisen,2012)。

2.1 代谢抗性

代谢抗性是由于昆虫在长期进化过程中,体内解毒酶的活性增强而对杀虫剂的代谢加速所产生的抗性,该过程涉及多种酶,而酶活性的变化往往是由基因改变引发的。其中与代谢抗性密切相关的解毒酶系主要有三大类:细胞色素P450酶系、非专一性酯酶、谷胱甘肽S-转移酶(乔惠丽等,2007)。

2.1.1 细胞色素P450酶系

细胞色素P450(cytochrome P450,CYP)酶系广泛分布于生物体内,是参与外源和内源化合物合成和分解的一种重要代谢酶系(Feyereisen,1999; Scott *et al.*,1999),由细胞色素P450单加氧酶、细胞色素b5和NADPH细胞色素P450还原酶等多种成分组成。其中细胞色素P450单加氧酶是一类含血红素和硫羟基的蛋白,它是微粒体多功能氧化酶的末端氧化酶,从NAD(P)H获得电

子后, 催化单加氧反应 (Green *et al.*, 2004; Hoshi and Lahiri, 2004)。该酶系是昆虫对有机氯和拟除虫菊酯类杀虫剂产生抗性的主要原因之一 (王燕红, 2009)。

目前, 从昆虫体内克隆出的 P450 基因有 CYP4、CYP6、CYP9 和 CYP18, 其中属于 CYP6 家族的 CYP6A1、CYP6A2、CYP6A8、CYP6A9、CYP6B1 和 CYP6D1 等基因已被证实或推测与昆虫抗药性有关。通过鳞翅目与非鳞翅目昆虫的 CYPs 比较分析, 发现鳞翅目昆虫之间存在更多的直向同源基因对和直向同源基因群, 而且不同鳞翅目昆虫基因组中的 CYPs 存在相当广泛的线性保守现象 (艾均文等, 2015)。基于序列同源性比对, 家蚕基因组中 Cyp306a1、Cyp302a1、Cyp315a1 和 Cyp314a1 这 4 个 P450 基因参与家蚕蜕皮激素合成 (程道军等, 2014)。通过对不同昆虫 P450 基因的研究, 有助于在害虫治理中杀虫剂作用靶标的选择。

2.1.2 非专一性酯酶

酯酶 (esterases, ESTs) 是昆虫体内一种重要的解毒酶系, 它可以通过水解酯类化合物的酯键, 或与亲脂类有毒化合物结合, 降低有毒化合物的有效浓度来降低其毒性 (曲明静等, 2007); 酯酶在有机磷、氨基甲酸酯、拟除虫菊酯类杀虫剂代谢抗性中起重要作用。在昆虫对酯类杀虫剂的抗性中比较重要的两类酯酶是羧酸酯酶和磷酸酯酶 (唐振华和毕强, 2003); 其中羧酸酯酶 (carboxylesterases, COEs, EC3) 又称脂族酯酶, 通常属于酯酶 B (Walker and Mackenss, 1983)。在昆虫的抗性中, 酯酶活性的提高是引起杀虫剂抗性的一个重要因素, 主要是因为酯酶基因扩增使得表达量的增加 (量变) 或酯酶活性并不提高但催化效率提高 (质变) 所引起的 (周斌芬等, 2008)。

Gu 等 (2013) 通过研究辛硫磷对家蚕中肠的影响发现, 在辛硫磷处理 24 h 后, 有 266 个基因的表达呈现出至少两倍的改变, 其中 192 个基因上调, 74 个基因下调, 其中上调基因主要与解毒相关, 如细胞色素 P450 酶, 酯酶和谷胱甘肽-S-转移酶 (GST)。Bisset 等 (2013) 发现埃及伊蚊幼虫对双硫磷和溴氰菊酯的抗性与酯酶活性相关, 而与细胞色素 P450 单加氧酶或 GST 的活性无关。用不同剂量的溴氰菊酯处理 3 龄飞蝗 12 h, 发现羧酸酯酶基因 LmCesA1、LmCesD1、LmCesE1 和

LmCesI1 均在低剂量的溴氰菊酯处理时有显著的诱导效应, LmCesA3 在 LD₅₀ 剂量长时间处理后能显著被诱导, 表明其可能参与飞蝗对溴氰菊酯的代谢解毒及抗性 (张建琴等, 2014)。

2.1.3 谷胱甘肽-S-转移酶

谷胱甘肽-S-转移酶 (glutathione S-transferases, GSTs) 是一种催化还原型谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 与各种亲电性毒物质 (杀虫剂、醌类化合物及过氧化物等) 进行亲核加成反应的酶, 属于多功能的超家族解毒酶系 (Sheehan *et al.*, 2001)。通常认为 GST 相关抗性的主要机制有基因扩增以及基因突变等。昆虫的 6 个 GST 家族中特异的 δ 和 ϵ 家族与杀虫剂抗性相关 (Chelvanayagam *et al.*, 2001)。第一个昆虫 GST 基因是从果蝇克隆出的 *DmGST1* (Toung *et al.*, 1990), 对大量昆虫的 GST 基因的鉴定显示出, 不同昆虫 GST 数目是不同的 (尤燕春等, 2013)。

除此之外, ABC 转运蛋白 (ABC transporter) 即腺苷三磷酸结合转运蛋白 (ATP-binding cassette transporter) 是继细胞色素 P450 酶系、谷胱甘肽-S-转移酶、羧酸酯酶后, 又一参与解毒作用的重要蛋白酶家族。ABC 转运蛋白是一大类跨膜蛋白, 这类蛋白在各种生物体均有分布; 同时有研究表明 ABC 转运蛋白的突变或过量表达不仅与节肢动物对化学农药的抗药性密切相关, 而且在抗 Bt 毒素方面也起着非常重要的作用, 对转 Bt 作物造成严重威胁 (戚伟平等, 2014)。Guo 等 (2015) 研究发现小菜蛾对于 Cry1Ac 抗性是 ABC 转运蛋白基因 (ABCC2) 的突变所引起的, 一个新的 ABC 转运蛋白基因 Pxwhite 的表达下调与小菜蛾对 Cry1Ac 抗性有关。Broehan 等 (2013) 研究发现赤拟谷盗有 73 个 ABC 转运蛋白, 其数量明显多于另外一些已报道的昆虫, 同时通过在发育期的 RNA 干扰, 研究 ABC 转运蛋白的功能, 发现对赤拟谷盗幼虫注射 dsRNA 可引起其生长停滞和局部黑化、眼色素缺陷、角质层形成异常、产卵和卵孵化缺陷等发育不全而引起死亡。

2.2 靶标抗性

靶标抗性 (target site resistance) 是指昆虫体内靶标部位对各类杀虫剂的敏感度降低而引起的抗性, 抗性的变化往往涉及基因的改变 (岳建苏等, 2013)。昆虫的靶标抗性主要涉及 3 类: 乙酰胆碱酯酶 (acetylcholinesterase, AChE)、钠离子通道 (insensitive sodium channel, SC) 和 γ -氨基丁酸

受体 (intensive GABA receptor, GABA)。

2.2.1 乙酰胆碱酯酶

乙酰胆碱酯酶 (Acetylcholinesterase, AChE) 是一种丝氨酸水解酶, 主要存在于胆碱神经末梢突触间隙, 特别是运动神经终板突触后膜的褶皱中; 也存在于胆碱能神经元内和红细胞中, 通过催化降解神经递质乙酰胆碱 (Acetylcholine, Ach), 终止其对神经突触后膜兴奋的刺激作用, 以维持神经冲动的正常传递, 是有机磷和氨基甲酸酯杀虫剂的作用靶标 (Fournier and Mutera, 1994)。AChE 的突变与害虫的抗药性有着重要的关系。

通过比较辛硫磷诱导前后 *ace* 的转录水平, 研究家蚕 AChE 结构与功能之间的关系, 发现对 *ace* 进行定点突变后, 家蚕对专一性抑制剂的敏感性下降, 且 AChE 调控相关基因的表达与 AChE 的表达存在时空差异 (王举梅, 2013)。在禾谷缢管蚜 *Rhopalosiphum padi* Linnaeus 中发现乙酰胆碱酯酶基因的 3 个突变, 分别是 *Ace2* 中的 F368 (290) L 和 V435 (356) A, *Ace1* 中的 S329 (228) P, 其中后两者可以影响乙酰胆碱酯酶的结构, 这 3 个突变可增加昆虫对有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂的抗药性 (Chen *et al.*, 2007)。有报道显示, 蚊子的突触乙酰胆碱酯酶 (ACNE) 由 *ace-1* 基因编码, 而在果蝇体内却由 *ace-2* 完成, 但双翅目昆虫中从未发现类似现象, 且这 2 个基因在大多数昆虫和节肢动物中均存在并且复制。因此推测双翅目昆虫在进化过程中出现了二次损失, 从一个基因 (*ace-1*) 到另一个基因 (*ace-2*) 的改变意味着一个重要功能转换 (Huchard *et al.*, 2006)。

2.2.2 钠离子通道

钠离子通道 (SC) 主要是由一个大型糖基化 α -亚单位 (α -subunit, 240 - 260 kD) 和多个 β -亚单位 (β -subunit, 33 - 36kD) 组成 (苏旺苍等, 2012), 其有三大特征: (1) 对钠离子的高度选择性, (2) 电压依赖性激活, (3) 电压依赖性失活。昆虫的钠离子通道是 DDT 和拟除虫菊酯类杀虫剂的主要作用靶标, 主要通过延迟正常的电压依赖性失活, 导致 SC 的持续活化, 通常将其称为击倒抗性 (Knock down resistance, Kdr) (孙晓琴等, 2008)。杀虫剂的击倒效应会造成昆虫运动失调和瘫痪, 在 3 龄家蝇幼虫中首次发现该抗性机制 (Williamson *et al.*, 1996)。

钠离子通道蛋白第二结构域 S6 区段编码的氨

基酸序列的改变, 即 *kdr* 基因 L1014 位点突变, 是引起昆虫对杀虫剂抗药性的关键; 在家蝇、蟑螂、冈比亚按蚊、库蚊等昆虫中发现 *kdr* 基因 L1014 位点存在类似的突变, 基因的突变导致对杀虫剂的敏感性降低 (白亮, 2013)。2014 年, 对非洲 19 个国家的至少 13 种不同按蚊的 *NaV* 突变进行研究, 发现了 L1014F, L1014S 和 N1575Y 三个突变体 (Silva *et al.*, 2014)。作为登革热主要载体的埃及伊蚊, 击倒抗性 (Kdr) 基因突变位点主要是在 Val1016Ile 和 Phe1534Cys (Brito *et al.*, 2013)。

2.2.3 γ -氨基丁酸受体

γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 是中枢神经系统里主要的抑制性神经传递物质, 生物体内的 GABA 是由谷氨酸在谷氨酸脱羧酶的作用下脱羧而形成的 (乔惠丽等, 2007)。但 GABA 本身并非一种抑制性物质, 而是一种刺激性递质; 因为 GABA 激活 GABA 受体的开放, GABA 受体是一种离子型受体, 而且是一类配体门控型离子通道, 此通道的内源性配体是一种被称为 GABA 的神经递质 (Ffrench-Constant *et al.*, 1993)。因为组成 GABA 受体的亚基横过细胞膜的部分相互作用, 共同形成氯离子进入细胞膜内的孔道 - 氯离子通道。因此, GABA 受体也被称为 γ -氨基丁酸门控的氯离子通道 (GABA-gated chloride ion channel) (卢文才等, 2009)。一般认为, 对 GABA 受体氯离子通道产生的抗性主要由基因突变所致。

异噁唑啉类、环戊二烯类、苯基吡啶类和大环内酯类等杀虫剂可以通过干扰 γ -氨基丁酸门控的氯离子通道发挥作用。其中环戊二烯类杀虫剂林丹 (lindane) 和狄氏剂 (dieldrin) 是最早发现的作用于 GABA 门控氯离子通道的杀虫剂 (欧晓明, 2003; 赵青春, 2015)。果蝇对环戊二烯的抗性是由位于第 2 染色体上的单个主要基因 (RDL) 控制的。GABA 受体上 *RDL* 基因的 A2N 突变导致白背飞虱和灰飞虱对氟虫腈产生抗性 (Nakao and Hirase, 2013)。

3 昆虫抗药性的产生和治理

害虫抗药性治理是将害虫控制在为害的经济阈值以下, 同时保持害虫对杀虫剂的敏感性。当前农药使用过程中普遍存在乱混乱配、盲目加大用药量、不适时用药以及施药设施落后等严重问题, 从而造成昆虫对药剂产生抗性。抗性治理只

有在抗性低水平时才有效,抗性水平越高,治理效果越差,难度越大,许多药剂也会因错过抗性治理的关键阶段而被淘汰(向志国等,2009)。

3.1 昆虫抗药性产生的后果

昆虫一旦产生抗药性,其基因组也会随之发生变化,且这种变化可遗传,并能通过多种途径广泛传播,最终会影响昆虫应对环境变化所需要的多样性(邱立红等,2004)。抗性的产生往往伴随着某个或某些基因的突变或扩增,可能会造成昆虫产生适合度代价(fitness cost)。适合度代价是当不存在药剂选择压力时,许多昆虫种群中的抗性基因型就会表现适合度劣势,即与敏感基因型相比,表现出发育速率较慢、存活率和生殖力较低、对环境刺激反应较慢等特征(陈怀亮等,2007)。研究表明棉铃虫去除选择压10余代后,高抗品系的抗性可以降低到一个很低的水平,但是一旦恢复毒素的选择,抗性水平又会很快上升(邹朗云等,2012)。

3.2 昆虫抗药性的监测与检测

鉴于目前许多抗性对策依赖于抗性的早期检测,因此抗性监测与检测技术的研究尤显重要。抗性监测和检测的手段和方法包括生物检测法、生化检测法、神经电生理检测法、免疫学检测法和分子生物学检测法等(潘志萍和李敦松,2006)。

3.3 昆虫抗药性治理

Georghion and Saito (1983) 根据影响昆虫抗性发展的众多因素,从化学防治的角度提出了一套抗性治理的策略,根据不同的具体情况分为三类:一是适度治理(management by moderation):通过减少杀虫剂的使用,保留一部分敏感型基因个体,降低种群中抗性基因的频率,组织或延缓抗药性的发展;二是饱和治理(management by saturation):用较高剂量的杀虫剂杀死抗性杂合子,使杂合子在功能上表现为隐性,以降低抗性的发展速率;三是复合治理(management by multiple):通过药剂的混用,轮用,交替使用,达到对生物的多位点作用,使靶标不易产生抗性。同时在现有化学药剂的基础上有针对性地选择药剂,运用增效剂,杀虫剂的轮用和混用,以及改进施药的方式(陶黎明,2005)。

在传统抗性治理的基础上,根据昆虫种群遗传学和昆虫生态学理论,Bt抗性治理策略应运而生。其中,高剂量/庇护所策略是目前农业生产管

理中应用最为广泛的 Bt 抗性治理策略 (Gould, 1998; Zhao *et al.*, 2003)。通常说的 Bt 毒蛋白一般是来源于苏云金芽孢杆菌 (*Bacillus thuringiensis*, Bt), 其杀虫活性成分中的杀虫晶体蛋白 (insecticidal crystal protein, ICP) 被目标昆虫取食后,在昆虫中肠的碱性环境中被降解为具有毒性的活性肽,并与昆虫中肠道上皮纹缘膜细胞上的特异受体相结合,引起细胞膜穿孔,破坏细胞渗透平衡,最终导致昆虫停止取食而死亡。其主要针对的是靶标害虫,对人类、脊椎动物和植物无毒,并可以实现自身的生物降解 (Bravo *et al.*, 2007)。1996 年,首次商业化应用于转基因的玉米和棉花 (Huang *et al.*, 2011)。转 Bt 基因植物能够有效发挥作用的首要条件是产生高剂量的 Bt 毒素,因此靶标害虫不可避免的就会对其产生适应性 (Tabashnik *et al.*, 1994; 杨宙等, 2013), 这不利于转基因作物长期有效应用。

高剂量/庇护所是将高剂量和庇护所这两种策略结合使用,在表达高浓度 Bt 蛋白的同时,再种植一定比例的庇护所植株。高等剂量策略是提高 Bt 基因在植物中的表达水平,赋予作物更强的抗虫性。使用高剂量转 Bt 作物可以杀死至少 95% Bt 抗性杂合子,从而阻止昆虫将抗性等位基因遗传给下一代 (Huang *et al.*, 2011)。庇护所策略就是在抗虫转基因作物附近种植一定的非转基因作物,以提供足够敏感性的害虫,达到稀释田间抗性等位基因的目的,其有效发挥取决于初始 Bt 抗性基因频率、携带 Bt 抗性基因昆虫和敏感昆虫是否能够自由交配以及 Bt 抗性基因是否为隐性 (杨宙等, 2013)。美国、澳大利亚等地普遍采用建立庇护所的方法,但我国因其特有的、小规模、多样化的种植结构,为昆虫提供了天然庇护所。到 2003 年,美国和加拿大通过高剂量/庇护所策略的实施, Cry1Ab 玉米和 Cry1Ac 棉花虽然已广泛种植了 15 年,但欧洲玉米螟 *Ostrinia nubilalis*、西南玉米螟 *Diatraea grandioella*、美洲烟夜蛾 *Heliothis virescens* 和棉红铃虫 *Pectinophora gossypiella* 均未产生田间抗药性 (Zhao *et al.*, 2003)。另有研究表明,在棉花上,天然庇护所延缓抗性的效率为种植常规棉花人工庇护所的 15%。这是国际上首次证实天然庇护所能够有效延缓靶标害虫对 Bt 作物抗性发展,也直接证明了在棉铃虫 Bt 抗性遗传方式多样化的背景下显性抗性发展速度显著快于隐性抗性 (Jin *et al.*, 2015)。

4 展望

近年来, 虽然生物农药前景被广泛看好, 全球转基因作物也在持续发展, 但化学农药仍然是全球植物保护的主体 (胡笑彤, 2014)。

化学农药的高剂量, 大面积的广泛使用使许多昆虫产生抗药性, 对昆虫抗药性的遏制已经成为近年来面对农林业发展的重大问题。通过对昆虫代谢抗性和靶标抗性研究的不断深入, 增强了对昆虫抗药性机理的认识。随着基因组学技术的不断发展, 几种重要昆虫基因组测序已陆续完成, 同时鉴定筛选出大量的功能基因, 但目前对其调控机制和调控网络的研究却相对较少, 大多数研究还滞留在抗药性与其机制相关性的描述上。这种局面很大程度上归因于抗性机制的复杂性和多样性。在今后的研究中, 我们需要更多的从多基因间的相互作用去了解昆虫的抗药性的进化, 将抗药性机制更好的应用于抗药性的治理当中, 同时要注意规避适合度代价, 充分利用昆虫的基因组学, 以帮助我们更好的理解和研究昆虫的抗性机制, 发现其作用靶标, 更好地研究昆虫抗药性的遗传, 为害虫的综合防治提供更好的监测和治理方法。

参考文献 (References)

- Adams MD, Celniker SE, Holt RA, *et al.* The genome sequence of *Drosophila melanogaster* [J]. *Science*, 2000, 287 (5461): 2185–2195.
- Ai JW, Gong X, Xue H, *et al.* Comparative genomic analysis of cytochrome P450 genes (CYPs) in different Lepidopteran insects [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2015, 23 (2): 244–252. [艾均文, 龚昕, 薛宏, 等. 不同鳞翅目昆虫细胞色素 P450 基因 (CYPs) 的比较基因组学分析 [J]. 农业生物技术学报, 2015, 23 (2): 244–252]
- Bai L. Establishment and Application of *Anopheles sinensis kdr* Gene Mutation Detection Methods [D]. Jiangsu: Jiangsu Institute of Parasitic Diseases, 2013. [白亮. 中华按蚊 *kdr* 基因突变检测方法的建立及应用 [D]. 江苏: 江苏省血吸虫病防治研究所, 2013]
- Bisset JA, Marin R, Rodriguez MM, *et al.* Insecticide resistance in two *aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) strains from Costa Rica [J]. *Journal of Medical Entomology*, 2013, 50 (2): 352–361.
- Bravo A, Gill SS, Soberon M. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control [J]. *Toxicon*, 2007, 49 (4): 423–435.
- Brito LP, Linss JGB, Lima-Camara TN, *et al.* Assessing the effects of *Aedes aegypti kdr* mutations on pyrethroid resistance and its fitness cost [J]. *PLoS ONE*, 2013, 8 (4): 1–10.
- Broehan G, Kroeger T, Lorenzen M, *et al.* Functional analysis of the ATP-binding cassette (ABC) transporter gene family of *Tribolium castaneum* [J]. *BMC Genomics*, 2013, 14.
- Chelvanayagam G, Parker MW, Board PG. Fly fishing for GSTs: A unified nomenclature for mammalian and insect glutathione transferases [J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2001, 133 (1–3): 256–260.
- Chen HL, Zhang H, Li Y. Review on research of meteorological conditions and prediction methods of crop disease and insect pest [J]. *Chinese Journal of Agrometeorology*, 2007, 28 (2): 212–216. [陈怀亮, 张弘, 李有. 农作物病虫害发生发展气象条件及预报方法研究综述 [J]. 中国农业气象, 2007, 28 (2): 212–216]
- Chen MH, Han ZJ, Qiao XF, *et al.* Mutations in acetylcholinesterase genes of *Rhopalosiphum padi* resistant to organophosphate and carbamate insecticides [J]. *Genome*, 2007, 50 (2): 172–179.
- Cheng DJ, Li ZQ, Meng M, *et al.* Characterization of Cytochrome P450 genes involving in ecdysteroidogenesis in Silkworm (*Bombyx mori*) [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2014, 47 (3): 594–604. [程道军, 李志清, 孟勳, 等. 家蚕蜕皮激素合成相关的细胞色素 P450 基因的鉴定分析 [J]. 中国农业科学, 2014, 47 (3): 594–604]
- Claudia W, Charles SW, Clare S, *et al.* Identifying permethrin resistance loci in malaria vectors by genetic mapping [J]. *Parasitology*, 2013, 140 (12): 1468–1477.
- Denholm I, Devine GJ, Williamson MS. Evolutionary genetics – Insecticide resistance on the move [J]. *Science*, 2002, 297 (5590): 2222–2223.
- Feyereisen R. Insect P450 enzymes [J]. *Annual Review of Entomology*, 1999, 44: 507–533.
- Feyereisen R. Insect CYP genes and P450 enzymes [J]. *Insect Molecular Biology and Biochemistry*, 2012, 263–316.
- Ffrench-Constant RH, Steichen JC, Rocheleau TA, *et al.* A single-amino acid substitution in γ -aminobutyric acid subtype a receptor locus is associated with cyclodiene insecticide resistance in *Drosophila* populations [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1993, 90 (5): 1957–1961.
- Fournier D, Mutero A. Modification of acetylcholinesterase as a mechanism of resistance to insecticides [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology C Pharmacology Toxicology and Endocrinology*, 1994, 108 (1): 19–31.
- Gould F. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: Integrating pest genetics and ecology [J]. *Annual Review of Entomology*, 1998, 43 (1): 701–726.
- Gramates LS. Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera* [J]. *Nature*, 2006, 444 (7118): 512–512.
- Green MT, Dawson JH, Gray HB. Oxoiron (IV) in chloroperoxidase compound II is basic: Implications for P450 chemistry [J]. *Science*, 2004, 304 (5677): 1653–1656.

- Gu ZY, Sun SS, Wang YH, et al. Transcriptional characteristics of gene expression in the midgut of domestic silkworms (*Bombyx mori*) exposed to phoxim [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2013, 105 (1): 36–43.
- Guo ZJ, Kang S, Zhu X, et al. Down-regulation of a novel ABC transporter gene (Pxwhite) is associated with Cry1Ac resistance in the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2015, 59: 30–40.
- Hemingway J, Field L, Vontas J. An overview of insecticide resistance [J]. *Science*, 2002, 298 (5591): 96–97.
- Hieter P, Boguski M. Functional genomics: It's all how you read it [J]. *Science*, 1997, 278 (5338): 601–602.
- Holt RA, Chaturvedi K. The genome sequence of the malaria mosquito *Anopheles gambiae* [J]. *Science*, 2003, 300 (5628): 2033–2033.
- Hoshi T, Lahiri S. Oxygen sensing: It is a gas [J]. *Science*, 2004, 306 (5704): 2050–2051.
- HuXQ. The research of housefly resistance [J]. *Anhui J. Prev. Med.*, 2003, 9 (5): 336–339. [胡兴强. 家蝇抗药性机理研究综述 [J]. 安徽预防医学杂志, 2003, 9 (5): 336–339]
- Hu XX. Development trends of global pesticide and potentiality of stress patent pesticides [J]. *Pesticide Science and Administration*, 2014, 35 (11): 6–10. [胡笑彤. 世界农药发展趋势及重点专利农药潜力分析 (一) [J]. 农药科学与管理, 2014, 35 (11): 6–10]
- Huang FN, Andow DA, Buschman LL. Success of the high-dose/refuge resistance management strategy after 15 years of Bt crop use in North America [J]. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 2011, 140 (1): 1–16.
- Huchard E, Martinez M, Alout H, et al. Acetylcholinesterase genes within the Diptera: Takeover and loss in true flies [J]. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 2006, 273 (1601): 2595–2604.
- Jairin J, Kobayashi T, Yamagata Y, et al. A simple sequence repeat- and single-nucleotide polymorphism-based genetic linkage map of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* [J]. *DNA Research*, 2013, 20 (1): 17–30.
- Jin L, Zhang HN, Lu YH, et al. Large-scale test of the natural refuge strategy for delaying insect resistance to transgenic Bt crops [J]. *Nature Biotechnology*, 2015, 33 (2): 169–174.
- Lu WC, He L, Xue CH, et al. Advances in research of gamma-aminobutyric acid receptors of insects [J]. *Chinese Bulletin of Entomology*, 2009, 46 (1): 152–158. [卢文才, 何林, 薛传华, 等. 昆虫 γ -氨基丁酸受体研究现状 [J]. 昆虫知识, 2009, 46 (1): 152–158]
- Marriage TN, King EG, Long AD, et al. Fine-mapping nicotine resistance loci in drosophila using a multiparent advanced generation inter-cross population [J]. *Genetics*, 2014, 198 (1): 45–57.
- Mita K, Kasahara M, Sasaki S, et al. The genome sequence of silkworm, *Bombyx mori* [J]. *DNA Research*, 2004, 11 (1): 27–35.
- Nakao T, Hirase K. Detection of the A2'N mutation in the RDL GABA receptor subunits of fipronil-resistant pests *Sogatella furcifera* and *Laodelphax striatellus* using a PCR-RFLP assay [J]. *Journal of Pesticide Science*, 2013, 38 (3): 157–160.
- Nene V, Wortman JR, Lawson D, et al. Genome sequence of *Aedes aegypti*, a major arbovirus vector [J]. *Science*, 2007, 316 (5832): 1718–1723.
- Ou XM, Huang MZ, Wang XG, et al. Insect resistant target sites and their roles in discovery of novel insecticides [J]. *Modern Agrochemicals*, 2003, 2 (5): 12–15. [欧晓明, 黄明智, 王晓光, 等. 昆虫抗性靶标部位及其在杀虫剂创制中的作用 [J]. 现代农药, 2003, 2 (5): 12–15]
- Pan ZP, Li GS. Research advances in monitoring and detecting insect pesticide-resistance [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17 (8): 1539–1543. [潘志萍, 李郭松. 昆虫抗药性监测与检测技术研究进展 [J]. 应用生态学报, 2006, 17 (8): 1539–1543]
- Qi WP, Ma XL, He WY, et al. ATP-binding cassette transporters and their mediated resistance to insecticides in arthropods [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2014, 57 (6): 729–736. [戚伟平, 马小丽, 何玮毅, 等. 节肢动物 ABC 转运蛋白及其介导的杀虫剂抗 [J]. 昆虫学报, 2014, 57 (6): 729–736]
- Qiao HL, Hong C, Wen ZZ, et al. Molecular mechanism of the insecticide resistance [J]. *Journal of Nanyang Normal University*, 2007, 6 (9): 50–56. [乔惠丽, 洪冲, 文祯中, 等. 昆虫抗药性分子机制 [J]. 南阳师范学院学报, 2007, 6 (9): 50–56]
- Qiu LH, Wang CJ, Qiu XH, et al. Genomics and research of insect resistance to pesticides [J]. *Entomological Knowledge*, 2004, 41 (5): 392–397. [邱立红, 王成菊, 邱星辉, 等. 基因组学与昆虫抗药性研究 [J]. 昆虫知识, 2004, 41 (5): 392–397]
- Qu MJ, Xu XJ, Han ZJ, et al. Esterase gene amplification and mutation associated with insecticide resistance [J]. *Entomological Knowledge*, 2007, 44 (1): 29–32. [曲明静, 许新军, 韩召军, 等. 酯酶基因扩增及突变与昆虫抗药性 [J]. 昆虫知识, 2007, 44 (1): 29–32]
- Richards S, Gibbs RA, Gerardo NM, et al. Genome sequence of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* [J]. *PLoS Biology*, 2010, 8 (2).
- Richards S, Gibbs RA, Weinstock GM, et al. The genome of the model beetle and pest *Tribolium castaneum* [J]. *Nature*, 2008, 452 (7190): 949–955.
- Ruan CL, Mi Z, Zhu Y. Research progress on mechanism of insect resistance to insecticides [J]. *Science of Sericulture*, 2012, 38 (2): 322–328. [阮成龙, 米智, 朱勇. 昆虫抗药性机制研究进展 [J]. 蚕业科学, 2012, 38 (2): 322–328]
- Scott JG, Liu NN, Wen ZM, et al. House fly cytochrome P450 CYP6D1: 5 flanking sequences and comparison of alleles [J]. *Gene*, 1999, 226 (2): 347–353.
- Sheehan D, Meade G, Foley VM, et al. Structure, function and evolution of glutathione transferases: Implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily [J]. *Biochem. J.*, 2001, 360 (1): 1–16.
- Silva APB, Santos JMM, Martins AJ. Mutations in the voltage-gated sodium channel gene of anophelines and their association with

- resistance to pyrethroids—A review [J]. *Parasites & Vectors*, 2014, 7: 450.
- Su WC, Wu RH, Zhang YC, *et al.* Research progress of sodium ion channel inhibitors of insects [J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2012, 41 (8): 6–10. [苏旺苍, 吴仁海, 张永超, 等. 昆虫钠离子通道抑制剂的应用研究进展 [J]. 河南农业科学, 2012, 41 (8): 6–10]
- Sun XQ, Yuan JZ, Tang ZH. Research progress on the target resistance of *Musca domestica* and *Drosophila melanogaster* [J]. *Agrochemicals*, 2008, 47 (11): 785–789. [孙晓琴, 袁建忠, 唐振华. 家蝇和果蝇的靶标抗性研究进展 [J]. 农药, 2008, 47 (11): 785–789]
- Tabashnik BE, Finson N, Goreters FR, *et al.* Reversal of resistance to *Bacillus thuringiensis* in *Plutella xylostella* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1994, 91 (10): 4120–4124.
- Tang ZH, Bi Q. Molecular Behavior of Insecticide Action [M]. Shanghai: Shanghai Yuandong Publishing House, 2003, 144–238, 620–635. [唐振华, 毕强. 杀虫剂作用的分子行为 [M]. 上海: 上海远东出版社, 2003, 144–238, 620–635]
- Tao LM. The study of Insecticide Resistance and Management Countermeasure [D]. Beijing: Chinese Academy of Sciences, 2005. [陶黎明. 昆虫抗药性及其治理对策的研究 [D]. 北京: 中国科学院, 2005]
- Toung YP, Hsieh TS, Tu CP. *Drosophila* glutathione S-transferase I-1 shares a region of sequence homology with the maize glutathione S-transferase III [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1990, 87 (1): 31–35.
- Walker CH, Mackenss MI. Esterases: Problems of identification and classification [J]. *Biochemical Pharmacology*, 1983, 32 (22): 3265–3269.
- Wang JM. Study on Structure and Function of Acetylcholinesterase Type I Gene (*ace1*) from Silkworm (*Bombyx mori*) [D]. Suzhou: Soochow University, 2013. [王举梅. 家蚕 1 型乙酰胆碱酯酶基因 (*ace1*) 的结构及其功能研究 [D]. 苏州: 苏州大学, 2013]
- Wang X, Fang X, Yang P, *et al.* The locust genome provides insight into swarm formation and long-distance flight [J]. *Nature Communications*, 2014, 5: 2957.
- Wang YH. Cloning Tissue Expression and Function Research of Cytochrome P450 Genes from *Bombyx mandarina* [D]. Suzhou: Soochow University, 2009. [王燕红. 野桑蚕细胞色素 P450 基因的克隆、组织表达及其功能研究 [D]. 苏州: 苏州大学, 2009]
- Williamson MS, Martinez TD, Hick CA, *et al.* Identification of mutations in the housefly para-type sodium channel gene associated with knockdown resistance (*kdr*) to pyrethroid insecticides [J]. *Mol. Gen. Genet.*, 1996, 252 (1): 51–60.
- Witzig C, Parry M, Morgan JC, *et al.* Genetic mapping identifies a major locus spanning P450 clusters associated with pyrethroid resistance in *kdr*-free *Anopheles arabiensis* from Chad [J]. *Heredity*, 2013, 110 (4): 389–397.
- Xia QY, Zhou ZY, Lu C, *et al.* A draft sequence for the genome of the domesticated silkworm (*Bombyx mori*) [J]. *Science*, 2004, 306 (5703): 1937–1940.
- Xiang ZG, Zheng BG, Wu XY. The evolution of insect resistance and its countermeasures [J]. *Plant Doctor*, 2009, 22 (5): 6–7. [向志国, 郑榜高, 吴学渊. 昆虫抗药性的产生及其治理对策 [J]. 植物医生, 2009, 22 (5): 6–7]
- Xie T, Liang WP, Ding DF. Genome annotation in the postgenome era [J]. *Prog. Biochem. Biophys.*, 2000, 27 (2): 166–170. [解涛, 梁卫平, 丁达夫. 后基因组时代的基因组功能注释 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2000, 27 (2): 166–170]
- Yang Z, Chen HP, Deng W, *et al.* General situation of research on insect resistance management tactics [J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2013, 25 (1): 78–80. [杨宙, 陈红萍, 邓伟, 等. 昆虫抗性治理策略的研究概况 [J]. 江西农业学报, 2013, 25 (1): 78–80]
- You M, Yue Z, He W, *et al.* A heterozygous moth genome provides insights into herbivory and detoxification [J]. *Nature Genetics*, 2013, 45 (2): 220–225.
- You YC, Xie M, You MS. The diversity and role of glutathione S-transferase in insecticide resistance in insects [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2013, 50 (3): 831–840. [尤燕春, 谢苗, 尤民生. 昆虫谷胱甘肽 S-转移酶的多样性及其介导的抗药性 [J]. 应用昆虫学报, 2013, 50 (3): 831–840]
- Yue JS, Li Xj, Chen F, *et al.* Production and management to insect resistance [J]. *South China Fruit*, 2013, 42 (4): 35–40. [岳建苏, 李晓娇, 陈飞, 等. 昆虫抗药性的产生和治理 [J]. 中国南方果树, 2013, 42 (4): 35–40]
- Zhang JQ, Wang Y, Li DQ, *et al.* Effect of deltamethrin on carboxylesterase gene expression in *Locusta migratoria* [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2014, 51 (2): 418–424. [张建琴, 王燕, 李大琪, 等. 溴氰菊酯对飞蝗羧酸酯酶基因表达的影响 [J]. 应用昆虫学报, 2014, 51 (2): 418–424]
- Zhao QC, Han ZJ, Tang T. Research progress on bioeffect and toxicology of insecticide fluralaner and its derivatives [J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2015, 17 (3): 251–256. [赵青春, 韩召军, 唐涛. 杀虫剂 fluralaner 及其衍生物的生物效应和毒理学研究进展 [J]. 农药学报, 2015, 17 (3): 251–256]
- Zhao JZ, Cao J, Li YX, *et al.* Transgenic plants expressing two *Bacillus thuringiensis* toxins delay insect resistance evolution [J]. *Nature Biotechnology*, 2003, 21 (12): 1493–1497.
- Zhou BF, Tang ZH, Gao JF. Advances in metabolic resistance to insecticide in insects [J]. *Agrochemicals*, 2008, 47 (5): 313–315. [周斌芬, 唐振华, 高菊芳. 昆虫代谢抗性的研究进展 [J]. 农药, 2008, 47 (5): 313–315]
- Zou LY, Li YM, Zhang Y, *et al.* Stability of resistance to Cry1Ac and its effects on relative fitness in *Helicoverpa armigera* (*Hübner*) [J]. *Acta Phytophylacica Sinica*, 2012, 39 (1): 70–74. [邹朗云, 李艳梅, 张彦, 等. 棉铃虫对 Cry1Ac 抗性的稳定性及其对适合度的影响 [J]. 植物保护学报, 2012, 39 (1): 70–74]