

黄河流域田间棉铃虫对转 Bt 基因棉抗性监测

张 洋,张 帅,崔金杰*

(中国农业科学院棉花研究所,河南 安阳 455000)

摘要:利用改进的单雌系 F_1/F_2 代法,对黄河流域主要棉区河南安阳县、河北威县、山东武城县的棉铃虫种群进行了系统监测。在 2007—2009 年,连续 3 年保守地估计了以上 3 个主要植棉县棉铃虫种群对 Cry1Ac 的抗性基因频率。结果表明,山东武城棉铃虫种群 3 年的抗性等位基因频率分别为 0.00086、0.00097 和 0.00052;安阳田间棉铃虫种群 2008 和 2009 年抗性等位基因频率分别为 0.00090 和 0.00103;河北威县的田间棉铃虫种群抗性等位基因频率为 0。所有家系 F_1 代和 F_2 代的相对平均发育级别均值比较结果显示,山东武城县棉铃虫种群耐受性高于其它 2 个地区,其次为安阳县种群,威县种群敏感度最高。总之,我国黄河流域这 3 个主要棉区田间棉铃虫种群对 Cry1Ac 毒素还没有产生明显的抗性,抗性基因频率仍处于正常水平,但是棉铃虫对 Cry1Ac 毒素的耐受性有升高趋势,需要进一步加强全国性的监测工作。

关键词:单雌系 F_1/F_2 代法;抗性基因频率;相对平均发育级别;棉铃虫

中图分类号:S435.622 文献标识码:A

文章编号:1002-7807(2010)04-0297-07

Frequency of Bt Resistance Alleles in *Helicoverpa armigera* Populations from the Yellow River Cotton-farming Region of China

ZHANG Yang, ZHANG Shuai, CUI Jin-jie*

(Cotton Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Anyang, Henan 455000, China)

Abstract: In 2007 to 2009, we used genetic method of isofemale lines F_1/F_2 to detect the frequency of Bt resistance genes in *Helicoverpa armigera* populations which collected from Anyang County, Henan Province, Weixian County, Hebei Province and Wucheng County, Shandong Province. A conservative estimation was carried out and showed that the resistance gene frequencies to Cry1Ac in Anyang County population were 0, 0.00090 and 0.00103 in 2007, 2008 and 2009, respectively. While in Wucheng County population, the resistance gene frequencies were 0.00086, 0.00097 and 0.00052 in 2007, 2008 and 2009, respectively. In Weixian County population we didn't detect resistance genes in 2007, 2008 or 2009. In Anyang County population, the relative average development rate (RADR) of cotton bollworm larvae in F_1 test has increased significantly year by year. In Weixian County population, the RADR in F_1 test has no significant change. In Wucheng County population, the RADR in F_1 test showed an obvious induced tendency. In general, the field populations of *H. armigera* in Northern China have not evolved prominent resistance to Cry1Ac, and their resistance frequency to Cry1Ac is at a normal level. But the tolerance of *Helicoverpa armigera* to Cry1Ac toxin tended to increase, and the early resistance detection and alarm system should be initiated in China as early as possible.

Key words: genetic method of iso-female lines F_1/F_2 ; frequency of resistance alleles; the relative average development rate; *Helicoverpa armigera*

棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner)是世界性重要农业害虫,它危害范围广,繁殖潜力大,对

环境适应能力强,20 世纪 90 年代曾在我国连年暴发,几乎对所有化学农药产生抗性。苏云金杆

收稿日期:2009-12-23 作者简介:张 洋(1985-),男,硕士研究生;* 通讯作者,cuijinjie@126.com

基金项目:“十一五”国家科技支撑计划项目 (No. 2006BAD08A07-4); 转基因生物新品种培育重大专项 (No. 2008ZX08012-004, No. 2008ZX08011-002); 公益性行业(农业)科研专项 (nyhyzx07-005); 公益性行业科研专项经费项目(200803011-2); 国家棉花产业技术体系

菌 *Bacillus thuringiensis*(Bt)产生的 δ -内毒素(δ -endotoxin) 对许多鳞翅目害虫具有很高的杀虫活性,而对天敌和人畜很安全。1998年可以表达这种毒素的转 Bt 基因棉开始在我国黄河流域棉区广泛种植,其对棉铃虫的高效杀虫活性挽救了当时岌岌可危的中国棉花产业。然而经过十多年的大面积推广和种植,棉铃虫在整个生长期都受到了 Bt 棉体内持续表达的 Bt 杀虫蛋白的高压选择,棉铃虫将会对 Bt 棉演化出抗性^[1]。目前,在室内条件下已经有 10 多种昆虫约 50 多个品系筛选出对 Bt 蛋白或 Bt 作物具有高水平抗性,而且有些害虫已证明能够在转基因作物上存活^[2]。据报道,田间小菜蛾 *Plutecia xylostella* 和温室大棚粉纹夜蛾 *Trichoplusia ni* 对 Bt 制剂已经产生了抗性^[3-4]。

为了使 Bt 作物的使用寿命延长,有必要选择一种合适的方法监测 Bt 作物农田生态系统中 Bt 的抗性基因频率的变化^[5],近 10 年来已发展了多种用于监测大田害虫种群对 Bt 抗性的检测方法^[6],每种检测技术都有各自的优势和局限。当前,广泛采用的诊断剂量法需要大量的信息来选择合适的一个诊断剂量,并且也不适合探测高度隐性的和极低的抗性基因频率。 F_1 代法需要室内的抗性纯合子,且只能检测某一特定的抗性机制。而 F_1/F_2 代生物测定方法^[7]可以估计对 Bt 主效的,非隐性杂合子的抗性基因频率。我们改进了这一方法,检测了黄河流域的主要植棉县安阳县、威县和武城县 3 个地区棉铃虫种群对 Cry1Ac 毒素的抗性基因频率。通过对这 3 个转 Bt 棉种植地区棉铃虫种群对 Cry1Ac 毒素抗性的系统监测,可以明确上述地区棉铃虫种群对 Cry1Ac 的敏感程度,以及其抗性的演化过程,为制定切实可行的抗性治理措施提供参考,以保障转基因作物在我国有效、持久安全的利用。

1 材料和方法

1.1 卵的采集和室内饲养

2007—2009 年,2 代棉铃虫卵高峰期,在河南安阳县、河北威县和山东武城县各选取 3 个 Bt 抗虫棉种植区,每区至少 40 hm²。在选定的区域内随机采集数万粒 2 代棉铃虫卵,放入生物样本

冷藏箱中带回室内。在幼虫孵化前用毛笔将卵粒从抗虫棉叶上刷下,把刷下的虫卵置于常规棉叶上孵化,待幼虫生长至 2 龄时转接到人工饲料上饲养至化蛹。将雌雄蛹分开,挑取健康饱满个体,经 10%次氯酸钠溶液消毒后建立单雌家系,每个家系置于干净的一次性塑料杯(340 mL)中,杯口用纱布覆盖以便产卵,将杯子编号,蛹羽化为成虫后,用 10%的蜂蜜水补充营养。饲养条件:27~30℃,相对湿度 70%~80%,光周期 14L:10D。

1.2 供试 Bt 蛋白

Cry1Ac 型 Bt ICP 20%的 MVP II 水剂,Myco-gen 公司产品。

1.3 F_1 代幼虫的生物测定

采用饲料混合法:以 Wu^[8]确定的饲料 Bt 毒素浓度 1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 为诊断浓度,将 Cry1Ac 用蒸馏水稀释,混入到溶化(50℃左右)的饲料中,充分混匀,倒入搪瓷盘中,凝固后用保鲜膜覆盖,置于冰箱 4℃保存备用。幼虫孵化后,将每个家系的初孵幼虫分别接在正常饲料和 Cry1Ac 饲料上,每种饲料接 50 头,用 25 mm×100 mm 的玻璃试管饲养,每管 1 头,饲养条件为 27~30℃,相对湿度 70%~80%,光周期 14L:10D,6 d 后参照 Neunzig^[9]的方法检查幼虫发育级别。

1.4 F_2 代幼虫生物测定

对于 F_1 代幼虫在 Cry1Ac 饲料上和正常饲料上相对发育级别大于 0.8 的家系,将在正常饲料上存活的幼虫继续饲养至化蛹,羽化后进行自交。产卵后孵化的幼虫进行 F_2 代生物测定,具体方法同 F_1 代幼虫生物测定。

1.5 种群毒力测定

人工饲料的配制:将尚未凝固仍处于液体状态的饲料倒入 24 孔培养板小孔中,每孔倒入饲料量不超过孔体积的 2/3 为宜,待冷却凝结后清除孔壁粘结的饲料。

将 Cry1Ac 毒素用无菌水配制成 5 个不同浓度梯度,在装有人工饲料的 24 孔板中每孔加入 100 μL 毒素溶液,每个浓度处理设 5 个重复。待毒素溶液吸收完全后,4℃保存备用。

在上述 24 孔培养板中每孔接入 1 头 2 龄初幼虫,每个重复测定 24 头。置于恒温光照培养箱中 (26±10)℃,5 d 后参照 Neunzig 的方法检查幼

虫发育级别。完全死亡或生长发育受到严重抑制(体重小于 5 mg)的都认为死亡。

1.6 计算与统计方法

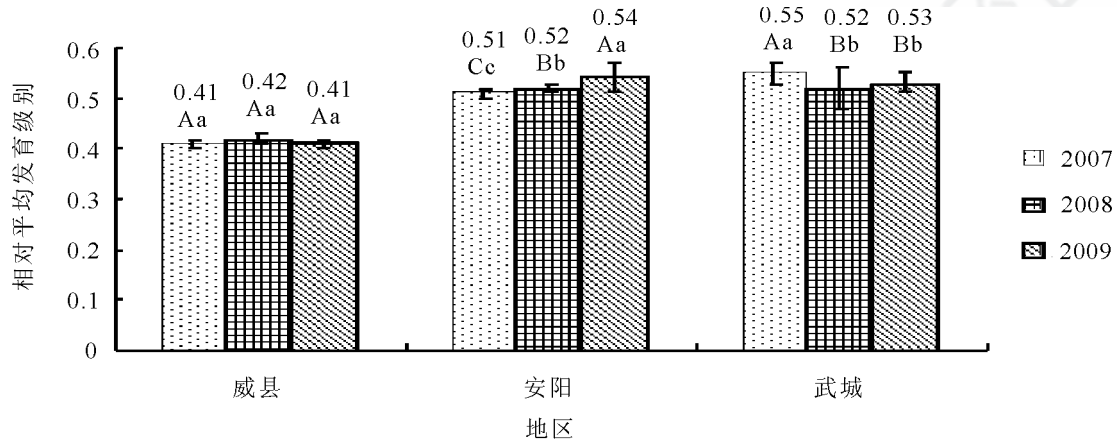
根据生物测定的结果,计算每个家系幼虫在 2 种饲料的平均发育级别,确定各个家系的相对平均发育级别。用 SAS 软件进行方差分析、多重比较(Duncan 法)和相关性分析。

用 POLO 软件计算毒力回归曲线和 LC_{50} 。

2 结果与分析

2.1 F_1 、 F_2 代相对平均发育级别

由图 1 可以看出,2007—2009 年之间河北威县棉铃虫种群 F_1 代 6 d 相对平均发育级别差异不显著,这说明田间种群耐性并没有发生明显变化。



注:不同字母表示 F_1 代相对平均发育级别在不同年份间的差异显著性($P<0.05$;Duncan test),小写和大写字母分别代表 0.05 和 0.01 水平。

图 1 2007—2009 年威县、安阳县和武城县棉铃虫种群 F_1 代相对平均发育级别均值比较

Fig.1 Comparative variation of RADR in F_1 generation iso-female lines of *H. armigera* populations in Anyang, Wucheng and Weixian County from 2007 to 2009

河南安阳县 2007—2009 年棉铃虫种群 F_1 代 6 d 的相对平均发育级别差异达到极显著水平($P=0.0000$, $P=0.0000$, $P=0.0000$),且呈逐年升高趋势(表 1)。这可能意味着河南安阳县棉铃虫种群耐受性在年际之间有上升趋势。

山东武城县 2007 年与 2008 年相比,棉铃虫种群相对平均发育级别略降低($P=0.02<0.05$),2008 年与 2009 年相比,棉铃虫种群相对平均发育级别亦无明显差异($P=0.4368>0.05$),但 2009 年 F_1 代 6 d 的相对平均发育级别与 2007 年相比有明显下降趋势($P=0.0028<0.01$)(表 1)。这说明在 2007—2009 年的 3 年间山东武城县棉铃虫种群耐受性有所下降。

比较 3 个地区间 F_1 代相对平均发育级别,山东武城县棉铃虫种群耐受性最高,其次为安阳县种群,而威县种群敏感度最高。

河北威县 2007—2009 年 F_2 代 6 d 后的相对平均发育级别与同年 F_1 代相比均无明显差异

表 1 安阳县、武城县和威县田间棉铃虫种群 F_1 和 F_2 代 6 d 幼虫相对平均发育级别

Table 1 The relative average development rates for six-day old larvae of *H. armigera* F_1 and F_2 generation iso-female lines in Anyang, Wucheng and Weixian County

地点	年份	相对平均发育级别均值±标准误(SE)	
		F_1 代	F_2 代
武城县	2009	0.53±0.02 aA	0.61±0.05 aA
	2008	0.52±0.03 aA	0.59±0.03 bB
	2007	0.55±0.01 aA	0.57±0.03 bB
安阳县	2009	0.54±0.04 aA	0.56±0.01 bB
	2008	0.52±0.01 aA	0.55±0.01 bB
	2007	0.51±0.01 aA	0.53±0.04 bA
威县	2009	0.41±0.020 aA	0.44±0.04 aA
	2008	0.42±0.021 aA	0.43±0.03 aA
	2007	0.41±0.026 aA	0.45±0.05 aA

注:数字后不同小写和大写字母分别表示同一年份 F_1 和 F_2 之间的差异达 0.05 和 0.01 水平。

(2007,2008,2009年 P 值分别为 0.0829,0.1731,0.0794)。

河南安阳县 2007 年 F_2 代种群 6 d 后的相对平均发育级别显著高于同年 F_1 代相对平均发育级别($P=0.0390<0.05$);2008,2009 年 F_2 代种群 6 d 的相对平均发育级别均极显著高于同年 F_1 代种群的(2008,2009 年 P 值分别为 0.0001,0.0077)。

山东武城县 2007 年 F_2 代 6 d 后的相对平均发育级别与同年 F_1 代相比无明显差异($P=0.2041>0.05$)。2008,2009 年 F_2 代 6 d 的相对平均发育级别均极显著高于同年 F_1 代的(2008,2009

年 P 值分别为 0.0001,0.0006)。

2.2 抗性基因频率估计

抗性基因频率与抗性的形成有着密切的关系,它是评估抗性风险的一个重要的参数。本试验在 2007—2009 年,对 3 个地区棉铃虫种群的抗性等位基因频率进行了估计,抗性监测数据表明 3 个地区棉铃虫对 Bt 抗虫棉抗性基因频率还处于相对低的水平(<0.003)。其中河北威县连续 3 年没有检测出抗性个体,在 3 个地区中威县种群对 Cry1Ac 毒素的敏感度最高,其次是武城县和安阳县(表 2)。

表 2 安阳县、武城县和威县田间棉铃虫对 Cry1Ac 抗性基因频率估计

Table 2 Estimate of Cry1Ac resistance allele frequencies in Anyang County, Wucheng and Weixian County populations of *H. armigera*

监测地区	年份	生测总数 / 个	F_1	F_2	等位基因频率	群体 $LC_{50}/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	相对敏感性指数
			≥ 0.8	≥ 0.8			
安阳县	2007	312	5	0	0.00000	0.209	1.23
	2008	279	13	1	0.00090	0.279	1.64
	2009	486	21	1	0.00103	0.314	1.85
武城县	2007	263	10	1	0.00095	0.509	2.99
	2008	415	10	2	0.00120	0.467	2.75
	2009	485	11	2	0.00103	0.472	2.78
威县	2007	252	7	0	0.00000	0.231	1.36
	2008	372	7	0	0.00000	0.224	1.32
	2009	322	12	0	0.00000	0.258	1.52

注:相对敏感性指数计算时采用的棉铃虫敏感性基线水平为 $0.17 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

毒力测定方法衍生于传统的农药毒力测定方法,通过不同浓度梯度和其所对应的死亡率计算 LC_{50} 值,然后与室内敏感种群比较,计算抗性倍数。试验中对 3 个地区群体毒力测定的结果显示,山东武城县种群的抗性倍数要明显高于其它 2 个地区,其次是安阳县和威县(表 2)。这从另一个角度证明了武城县田间棉铃虫种群对 Bt 棉的耐受性要高于其它 2 个地区,威县种群在 3 个种群中敏感度最高。与前面所得出的结果一致。

3 讨论

3.1 田间棉铃虫种群对 Cry1Ac 的抗性监测技术比较

自转 Bt 基因棉商品化生产以来,棉铃虫对 Bt 棉的抗性成为各棉花生产国关心的问题。为了评估抗性风险,近 10 年来各国科研工作者已发

展了多种用于监测大田害虫种群对 Bt 抗性的检测方法。每种监测技术都有各自的优势和局限,都结合了本国的实际情况,检测对象也不尽相同。

抗性倍数法,衍生于传统的农药毒力测定方法,此方法比较适合检测中高频率的抗性水平,而在种群初次出现抗性个体时,致死剂量和毒力曲线斜率数据对抗性频率的微小变化往往不够敏感^[10]。在大田种群的抗性检测中,一般要求在 Bt 棉商品化种植前,首先要建立不同地理种群靶标害虫的敏感基线。

诊断计量法,在标准生物测定的基础之上发展而来,通常情况下使用杀死大约 99% 的敏感个体的剂量作为诊断剂量,此浓度下存活的个体为抗性个体^[11]。卢美光等^[12]应用诊断剂量法,在 1998 年检测到山东高密棉铃虫种群的抗性个体频率为 0.9%,河北省邱县、冀州市和河南省西华

县均为 0。但是这种检测方法存在着一些缺点:第一,选择一个合适的浓度需要大量的信息,需要做大量前期基础工作;第二,没有明确抗性发展的程度;第三,不能估计浓度死亡曲线,得到的具有统计学意义的数据指标过于单一。

基因分子检测法,Gahan 等^[13]报道了以 DNA 为基础的抗性检测方法,可以直接检测到杂合子的抗性基因。这种分子检测方法无疑是最准确、可靠的方法,但该方法需要对田间种群的抗性基因具有深入的了解,明确棉铃虫对 Bt 毒素的抗性机制,但目前关于这方面的研究正在进行中,抗性机制仍未完全明了。

单对杂交法,这种方法是在实验室内筛选获得对 Bt 毒素的高抗品系,从田间采集此种害虫的雄性个体,室内与抗性雌虫单对杂交,利用后代表现基因型,来推断出携带抗性基因的雄性父代数量。此种方法主要的局限性在于:第一,实验室内需要有抗性品系;第二,不适合检测多基因抗性;第三,只能检测单一的抗性机制。

目前田间棉铃虫种群最可能以杂合子形式携带抗性基因,抗性基因常常为不完全隐性或隐性,而且起始抗性基因频率比较低,主效和微效的抗性基因对害虫种群的抗性演化都起到了很大的作用^[14]。因此传统的生物测定方法很难用于检测抗性基因频率,本研究所使用的单雌系 F_1/F_2 代生物测定方法专门为那些带有主效和微效的抗性基因的个体设计,用来探测杂合子形式的抗性基因的频率,特别是在检测隐性抗性基因时较为方便有效。本试验结合了抗性倍数法,测定了各地田间种群的抗性倍数,以此来比较不同地区田间种群对 Cry1Ac 的耐受水平。本研究检测到山东武城县田间种群对 Cry1Ac 敏感度降低,这与抗性倍数法检测到的结果相同,2 种方法印证了同一结果,从而能更加接近田间的实际抗性发展趋势,为抗性治理提供可靠依据。

3.2 棉铃虫自然种群对 Cry1Ac 的抗性基因频率分析及原因初探

近年来,我国种植 Bt 棉面积逐年增长,部分地区 Bt 棉的种植面积已经占到当地植棉面积的 90% 以上,棉铃虫在整个棉花生长季都受到持续的选择压力,很可能对 Bt 棉演化出抗性。然而试

验结果表明,在 Bt 棉连续种植 11 年的情况下,棉铃虫没有对 Bt 棉产生明显的抗性,田间棉铃虫种群的抗性基因频率仍处于较低的水平,特别是在河北威县,如此大面积种植 Bt 棉的地区,在 3 年内没有检测到抗性个体,种群毒力测定结果也显示威县地区抗性倍数处于很低的水平。这说明此地区的抗性演化速度不是很快,同时造成这一结果的原因还可能与当地的种植模式有关。在河北威县地区常年植棉面积 4.67 万 hm^2 ,占耕地面积的 83%,其中转基因棉占 90% 以上,2005 年以来当地政府为增加农民收入大力推广棉田间套技术,推广瓜—棉—菜间套种面积 1 万 hm^2 ,占植棉面积的 21.4%。这种棉田间套的种植模式可能为棉铃虫提供有效的庇护所,降低了棉铃虫的选择压力。但是也有研究表明分离种植非 Bt 作物比混合种植对于延缓抗性的发展效果好,这有待于进一步研究分析。

关于我国棉铃虫对 Bt 毒素的抗性基因频率的报道也有很多。Wu 等采用区分计量法检测了田间棉铃虫对 Bt 棉的敏感力,证明田间棉铃虫对 Bt 棉保持敏感性^[15-16]。然而,2001 年何丹军等^[17]应用 F_2 法测定了河北邱县田间棉铃虫种群的抗性基因频率,结果显示在转 Bt 基因棉新棉 33B 只种植 1 年的情况下,抗性基因的频率在 5.8×10^{-3} 以上。2006 年,刘凤沂等^[18]采用 F_1 代法在室内用 Bt 棉叶喂饲法检测到河北省邱县 Bt 棉田间棉铃虫对 Bt 棉的抗性基因频率为 0.94,这是在国内首次检测到的高抗性基因频率。2003—2005 年,李国平等^[19]采用 F_1/F_2 法对夏津和安次县棉铃虫种群对 Cry1Ac 的抗性基因频率进行了测定,结果表明抗性基因频率在 Bt 棉花种植面积大的地区有上升的趋势。2006—2008 年,高玉林等^[20]采用 F_1/F_2 法对夏津和安次县棉铃虫种群对 Cry1Ac 的抗性基因频率进行了测定,结果表明两地田间种群对 Cry1Ac 耐受性没有发生明显变化。陈海燕等^[21]研究结果也认为我国华北棉区田间棉铃虫种群还未对 Cry1Ac 产生明显的抗性,抗性基因频率仍处于正常水平。

在国外,Bt 棉商品化种植比较早,种植规模很大,相关研究报道显示靶标害虫的抗性基因频率仍处于较低水平。澳大利亚的科研人员采

用 F_0 和 F_2 代法检测的结果表明田间抗性没有显著增加^[22-23]。在美国亚利桑那州,1997-2001 年间大规模种植转 Bt 基因棉,但棉红铃虫的抗性位点基因频率并未上升^[24-25]。在美国北卡罗莱纳州,Burd 等^[7]在 2000 年从田间采集的 583 头美洲棉铃虫 *Helicoverpa zea* 雌蛾中,仅有 1 头携带抗性基因,其抗性位点基因频率为 4.3×10^{-4} 。而 Jackson 等 2001 年从田间采集了 561 头美洲棉铃虫雌蛾中均未携带抗性基因,表明其抗性位点基因频率并未上升^[26]。Andow 等^[27-28]以及 Bourguet 等^[29]在转 Bt 玉米种植 5 年(1996-2001 年)间均未检测到欧洲玉米螟 *Ostrinia nubilalis* 的抗性位点基因频率的上升。

总的来说,我国田间棉铃虫种群抗性位点基因频率仍处于正常水平,并且到目前为止也没有发现因为田间种群抗性而导致转 Bt 植物防控失败的例子,但是包括本试验在内的许多研究表明,在我国的一些棉区棉铃虫对 Cry1Ac 的耐受水平有上升趋势。因此,继续加强抗性基因频率监测工作是非常有必要的。

3.3 转 Bt 基因棉田棉铃虫抗性治理策略探讨

在国外,被广泛采用的抗性治理策略主要是“高剂量/庇护所”。但是,在我国由于 Bt 棉推广的品种、主要目标害虫、种植制度、农户规模等生态和社会环境与国外有很大的差异,因此这种抗性治理策略在我国很难实施。

Bt 抗虫棉的杀虫活性在不同品种间、不同的器官以及不同的生长季都存在着差异。吴孔明等^[15]研究调查结果表明在 Bt 棉花后期 Cry1Ac 表达量明显下降,5%~20%的棉铃虫幼虫可以存活下来。因此,Bt 抗虫棉中的毒蛋白不能达到抗性治理中的“高剂量”的要求。针对这一问题,应辅以其它方法进行防治。已有模型分析表明,当对第 3、4 代棉铃虫化学防治的效果达到 80% 时,Bt 抗虫棉的使用寿命可以从 38 代延长到 66 代^[30]。

在我国除新疆以外,大部分棉区农户植棉规模小,农户自我意识很强,很难统一规划种植结构,因此国外的非 Bt 棉“庇护所”措施在我国除新疆外的其它地区缺乏实施的条件。不过,我国复杂的种植模式也有其有利的一面,在华北棉区大量的玉米等棉铃虫寄主作物可以作为天然的

“庇护所”。

由于“高剂量/庇护所”策略在我国大部分地区难以实施,因此研究多个作用位点的双价或多价抗虫棉更适合我国国情。目前已成功获得了多个转 Cry1Ac+CpTI 基因的双价抗虫棉品种,对棉铃虫杀虫活性和生长抑制效果很好,可以延缓抗性的发生。

此外,抗性监测可为抗性治理决策和制定应急措施提供重要的参考依据,是抗性治理计划中必不可少的一部分。本试验利用改进的单雌系 F_1/F_2 法连续 3 年检测了安阳县、威县和武城县的田间棉铃虫种群的抗性基因频率,试验结果表明上述 3 个地区没有超过抗性治理对策的假设条件。

参考文献:

- [1] 叶 莹. 昆虫对 Bt 作物的抗性[J]. 世界农药, 2004, 26(2): 33-37.
YE Xuan. Insect resistance to Bt crops[J]. World Pesticide, 2004, 26(2): 33-37.
- [2] JANMAAT A F, Myers J. Rapid evolution and the cost of resistance to *Bacillus thuringiensis* in greenhouse populations of cabbage loopers, *Trichoplusia ni*[J]. Proc Biol Sci, 2003, 270: 2263-2270.
- [3] TABASHNIK B E, Carrière Y, Dennehy T J, et al. Insect resistance to transgenic Bt crops: lessons from the laboratory and field[J]. Journal of Economic Entomology, 2003, 96:1031-1038.
- [4] STORER N P, Peck S L, Gould F, et al. Spatial processes in the evolution of resistance in *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) to Bt transgenic corn and cotton in a mixed agroecosystem: a biology-rich stochastic simulation model[J]. Journal of Economic Entomology, 2003, 96: 156-172.
- [5] STORER N P, Peck S L, Gould F, et al. Sensitivity analysis of a spatially-explicit stochastic simulation model of the evolution of resistance in *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) to Bt transgenic corn and cotton[J]. Journal of Economic Entomology, 2003, 96: 173-187.
- [6] HUANG F. Detection and monitoring of insect resistance to transgenic Bt crops[J]. Insect Science, 2006, 13: 73-84.
- [7] BURD A D, Gould F, Bradley J R, et al. Estimated frequency of non-recessive Bt resistance genes in bollworm, *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) in eastern North Carolina[J]. Journal of Economic Entomology, 2003, 96: 137-142.
- [8] WU Kong-ming, Guo Yu-yuan. Geographic variation in susceptibility of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to *Bacil-*

- lus thuringiensis* insecticidal protein in China[J]. Journal of Economic Entomology, 1999, 92: 273-278.
- [9] NEUNZIG H H. The biology of the tobacco budworm and the corn earworm in North Carolina with particular reference to tobacco as a host[J]. Technology Bulletin, 1969, 196: 63.
- [10] 郭予元. 棉铃虫的研究[M]. 北京:中国农业出版社,1998. GUO Yu-yuan. Studies on *Helicoverpa armigera* [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1998.
- [11] ANDOW D A, Alstad D N. The F₂ Screen for rare resistance alleles[J]. Journal of Economic Entomology, 1998, 91 (5): 1044-1050.
- [12] 卢美光, 赵建周, 范贤林, 等. 华北地区棉铃虫对 Bt 杀虫蛋白的抗性监测[J]. 棉花学报, 2000, 12(4): 180-183. LU Mei-guang, Zhao Jian-zhou, Fan Xian-lin, et al. Resistance monitoring of *Helicoverpa armigera* (Hübner) to *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins in North China [J]. Cotton Science, 2000, 12(4): 180-183.
- [13] GAHAN L J, Gould F, Heckle D G. Identification of a gene associated with Bt resistance in *Heliothis virescens* [J]. Science, 2001, 293(5531): 857-860.
- [14] GOULD F. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars[J]. Annu Rev Entomol, 1998, 43: 701-726.
- [15] WU Kong-ming, Guo Yu-yuan, Greenplate J T, et al. Resistance monitoring of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to Bt insecticidal protein in China [J]. Journal of Economic Entomology, 2002, 95: 826-831.
- [16] WU Kong-ming, Guo Yu-yuan, Head G. Resistance monitoring of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to Bt insecticidal protein during 2001-2004 in China[J]. Journal of Economic Entomology, 2006, 99: 893-896.
- [17] 何丹军, 沈晋良, 周威君, 等. 应用单雌系 F₂ 代法检测棉铃虫对转 Bt 基因棉抗性位点基因的频率[J]. 棉花学报, 2001, 13(2): 105-108. HE Dan-jun, Shen Jin-liang, Zhou Wei-jun, et al. Using F₂ genetic method of iso-female lines to detect the frequency of resistance alleles to *Bacillus thuringiensis* toxin from transgenic Bt cotton in cotton bollworm (Lepidoptera: Noctuidae)[J]. Cotton Science, 2001, 13(2): 105-108.
- [18] 刘凤沂, 朱玉成, 沈晋良. F₁ 代法监测田间棉铃虫对转 Bt 基因棉的抗性[J]. 昆虫学报, 2008, 51(9): 938-945. LIU Feng-yi, Zhu Yu-cheng, Shen Jin-liang. Monitoring resistance to transgenic Bt cotton in field populations of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) with F₁ screening method[J]. Acta Entomologica Sinica, 2008, 51(9): 938-945.
- [19] LI Guo-ping, Gould F, Wu Kong-ming, et al. Increasing tolerance to *Cry1Ac* cotton from cotton bollworm was confirmed in Bt cotton farming area of China [J]. Journal of Economic Entomology, 2007, 104: 699-704.
- [20] GAO Yu-lin, Wu Kong-ming, Gould F. Frequency of Bt resistance alleles in *Helicoverpa armigera* during 2006-2008 in Northern China [J]. Journal of Environmental Entomology, 2009, 38(4): 1336-1342.
- [21] 陈海燕, 杨亦桦, 武淑文, 等. 棉铃虫田间种群 Bt 毒素 *Cry1Ac* 抗性基因频率的估算[J]. 昆虫学报, 2007, 50(1): 25-30. CHEN Hai-yan, Yang Yi-hua, Wu Shu-wen, et al. Estimated frequency of resistance alleles to Bt toxin *Cry1Ac* in the field populations of *Helicoverpa armigera* (Hübner) from Northern China[J]. Acta Entomologica Sinica, 2007, 50(1):25-30.
- [22] BIRD L J, Akhurst R J. Relative fitness of *Cry1A*-resistant and -susceptible *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on conventional and transgenic cotton[J]. Journal of Economic Entomology, 2004, 97:1699-1709.
- [23] DOWNES S, Mahon R, Olsen K. Monitoring and adaptive resistance management in Australia for Bt-cotton: current status and future challenges[J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2007, 95: 208-213.
- [24] TABASHNIK B E, Patin A L, Sims M A, et al. Frequency of resistance to *Bacillus thuringiensis* in field population of pink bollworm[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97 (24) : 12980-12984.
- [25] SIMS M A, Dennehy T J, Shriver L, et al. Susceptibility of Arizona pink bollworm to *Cry1Ac* [C]// Proc Beltwide Cotton Conf. Memphis, TN: National Cotton Council, 2002.
- [26] JACKSON R E, Bradley J R, Gould F, et al. Genetic variation for resistance to *Cry1Ac* and *Cry2Ab* in bollworm, *Helicoverpa zea*, in North Carolina [C]// Proc Beltwide Cotton Conf. Memphis, TN: National Cotton Council, 2002.
- [27] ANDOW D A, Alstad D N, Pang Y H, et al. Using an F₂ screen to search for resistance alleles to toxin in European cornborer (Lepidoptera: Crambidae)[J]. Journal of Economic Entomology, 1998, 91(3): 579-584.
- [28] ANDOW D A, Olson D M, Hellmich R L, et al. Frequency of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin *Cry1Ab* in an Iowa population of European corn bore (Lepidoptera: Crambidae) [J]. Journal of Economic Entomology, 2000, 93 (1):26-30.
- [29] BOURGUET D, Chaufaux J, Seguin M, et al. Frequency of alleles conferring resistance to Bt maize in French and US corn belt populations of European corn borer, *Ostrinia nubilalis*[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2003, 106 (7):1225-1233.
- [30] 贾世荣, 郭三堆, 安道昌. 转基因棉花[M]. 北京:科学出版社, 2001: 165-171. JIA Shi-rong, Guo San-dui, An Dao-chang. Transgenic cotton [M]. Beijing: Science Press, 2001: 165-171. ●