

害虫抗药性的显性水平与抗性进化

何月平^{*} 刘凤沂 须志平 沈晋良^{**}

(南京农业大学植物保护学院农药科学系 南京 210095)

The dominance levels and evolution of insect resistance to insecticides. HE Yue-Ping^{*}, LIU Feng-Yi, XU Zhi-Ping, SHEN Jin-Liang^{**} (*Department of Pesticide Science, College of Plant Protection, Nanjing Agriculture University, Nanjing 210095, China*)

Abstract The dominance levels of metabolic resistance and major target resistance to insecticides are interpreted, including the dominance levels of insect resistance to Bt. The variation of dominance levels and the relationship between dominance levels of resistance and the evolution of insect resistance to insecticides is also analyzed. It is figured that the frequency of the resistance allele expressed to be dominance rises faster than that of the resistance allele expressed to be recessive during the early stage of resistance evolution, and the situation will be reversed when the frequency of the resistance allele is high and the resistance homozygote individuals appear. The implications for Bt resistance management are stated in this paper.

Key words insect pest, insecticide resistance, dominance, resistance evolution

摘 要 对杀虫剂的代谢抗性和主要靶标抗性的显性水平作了理论解释, 其中包括昆虫对 Bt 抗性的显性水平的解释。并对抗性显性具有的多变性作了阐述。分析抗性显性水平与抗药性进化的关系, 认为在抗性进化早期抗性表现为显性的基因频率上升快于抗性表现为隐性时; 但在抗性等位基因频率较高且出现抗性纯合子个体时, 抗性表现为隐性的基因频率上升显著快于抗性表现为显性时。最后论述抗性显性在抗性治理中的应用。

关键词 害虫, 抗药性, 显性, 抗性进化

害虫抗药性的进化, 严重威胁世界农业生产。因其严重危害性, 自上世纪初发现首例害虫抗药性事例至今, 学者们对害虫抗药性进行了广泛深刻的研究。Dobzhansky 认为, 害虫对杀虫剂的抗性是一种进化现象^[1]。故害虫抗药性进化的一些特征, 特别是遗传特征, 与生物进化普遍理论有相似之处。害虫抗药性的显性特征就是一例。基于目前对抗药性显性的研究, 本文作者对害虫抗药性的显性理论作了系统的综述, 以期更好的理解害虫抗药性的本质特征, 以及更好的理解和使用与抗性显性相关的抗性预防与治理策略。

1 显性概念及其进化

显性水平 (dominance levels) 是指杂合子表型处于纯合子显性表型和纯合子隐性表型间的

相对位置的一种衡量尺度。显性的进化曾成为广泛争论的话题^[2], 至今显性进化问题尚未完全解决^[3]。

Fisher (1929, 1931, 1958) 提出其它位点 (修饰基因) 对显性的修饰是野生型等位基因的显性的基础^[2]。Wright 极力反对这个理论, 认为 Fisher 的这个理论就好像是说显性修饰的选择将是突变速率的惟一指令^[2]。

Wright (1929, 1934, 1977) 提出了生理理论: 认为大部分位点编码酶的突变是有害的, 会造成酶活性的降低, 如果野生型等位基因能够产生足够的酶来补偿杂合子中突变等位基因的不活动性, 反应速率很可能只受底物限制, 不受酶

^{*} E-mail: hemiteagle@163.com

^{**} 通讯作者, E-mail: shenjl@njau.edu.cn

收稿日期: 2006-02-17, 修回日期: 2006-02-27

限制,即突变对酶活性的降低作用被补偿了,这样,此仅轻微降低酶活性的有害的等位基因应该表现为隐性或接近隐性,那么野生型等位基因则表现为显性^[2,4]。Kacser 等和 Keightley 等给出了关于显性的一个详细的酶动态分析^[5,6]。

2 害虫对杀虫剂抗性的显性水平的理论解释

在害虫抗性遗传性,若抗性(RR)和敏感(SS)品系杂交后 F1 代几乎具有与纯合子显性表型(RR)一样高的抗性,则称这个抗性因子为完全显性;反之,若 F1 代对杀虫剂的敏感性如同纯合子隐性表型(SS),则称这个抗性因子为完全隐性^[7]。

杀虫剂抗性是研究显性关系的很好模型^[2,8]。这是因为:(1)与抗性相关的许多基因及其突变已被鉴定;(2)与抗性相关的生理过程已知;(3)抗性显性水平变异性很大^[9~10]。

Wright 的理论能够对绝大多数代谢抗性是显性遗传进行解释^[4]。当杀虫剂进入昆虫体内但尚未与靶标部位结合产生对昆虫有害的作用时,昆虫体内的某些突变基因能产生解毒酶的过表达,将体内的毒素分解成无毒或低毒的化合物,使其无法到达作用部位,具有在这种特定环境下有利的基因突变的个体成活下来。随着遗传进化,这种代谢抗性类型的抗性等位基因比野生型等位基因对杀虫剂有更大的代谢能力^[4],抗性等位基因对野生型等位基因起了酶补偿的作用,根据 Wright 的理论可得出抗性等位基因表现为显性或不完全显性。如因多功能氧化酶及酯酶等的上调调节导致的抗性表现为共显性或显性^[11,12]。相反,若因酶低表达对昆虫抵御或消灭外来毒物有利而产生的抗性则表现为隐性。

Wright 的理论可以解释因乙酰胆碱酯酶(AChE)不敏感而造成的抗药性为什么是共显性或显性^[4,13]。这些陈述的主要基础是室内条件下生存所必需的活性 AChE 的量一般小于 30%(例如果蝇 *Drosophila* 只需 25%^[14]和棉叶螨 *Tetranychus urticae* 只需 2.3%^[15]),在杂合子

中相对于完全敏感的个体而言,50%的 AChE 被抑制不会影响到生活力,故抗性将会表现为显性^[2]。

当杀虫剂靶标是通道时,抗性显性水平就是分子过程,用 Wright 的理论解释就不适合了。Bourguet 等对这类的抗性显性作了很好的解释^[2](表 1)。

表 1 杀虫剂抗性的显性水平

抗性机制	杀虫剂抗性	显性水平	参考文献举例
钠离子通道不敏感	DDT 和 拟除虫菊酯类	隐性	[16]
GABA 受体不敏感	环戊二烯类	共显性或显性	[17, 18]
AChE 不敏感	氨基甲酸酯类和有机磷类	共显性或显性	[2, 19]
多功能氧化酶	氨基甲酸酯类	共显性或显性	[11]
酯酶	有机磷类	共显性或显性	[12]
Bt 受体不敏感	Bt	隐性	[20]
Bt 毒素活化蛋白酶下调	Bt	显性	[21~ 23]

对 DDT 或拟除虫菊酯类杀虫剂中毒的敏感昆虫被抑制的靶标持久打开^[24],仅很少量的钠离子电压通道的永久打开就易导致死亡^[25]。这样拥有 50%敏感通道的杂合子昆虫在杀虫剂压力下表现相似于敏感昆虫,故对 DDT 或拟除虫菊酯类杀虫剂抗性表现为隐性。相反钠离子通道被持久关闭,抗性表现为共显性或显性^[2]。

GABA 门控氯离子通道也是一样。阿维菌素使氯离子通道永久开放,抗性表现为隐性(如家蝇 *Musca domestica*^[26],马铃薯甲虫 *Leptinotarsa decemlineata*^[17]),而环戊二烯类杀虫剂使氯离子通道永久关闭,抗性表现为共显性或显性(如家蝇^[18],赤拟谷蠹 *Tribolium castaneum*^[19])。

基于以上对抗性显性水平的解释,作者类推出昆虫对 Bt (*Bacillus thuringies*) 抗性的显性水平的解释。Bt 毒素作用机制是原毒素进入体内溶解活化,穿过围食膜与中肠上皮细胞的刷状缘膜囊泡上的受体结合,导致昆虫中肠膜穿孔^[27];昆虫对 Bt 抗性机制可能是多因子的,

除了包含对 Bt 毒素作用的环节的反应, 还有可能出现虫体内氧化代谢酶水平的影响、中肠损伤的修复机制以及细胞防御能力等机制^[28, 29]。但现研究表明 Bt 抗性主要有两大机制: 因毒素受体(主要包括氨肽酶受体和钙粘素受体)的结合力下降导致的 Bt 抗性机制和因中肠蛋白酶的下调导致原毒素活化溶解受抑制引起的抗性机制^[29]。前一种机制抗性表现为隐性, 这是因为少量穿孔就可导致细胞凋亡从而致死, 在杂合子个体(拥有 50% 敏感受体的个体)对 Bt 的抗性表现类似于敏感杂合子个体。而基于 Wright 提出了显性生理理论, 因中肠蛋白酶的下调导致原毒素活化溶解受抑制引起的抗性则表现为不完全显性^[7, 22]。依据致死曲线的多数研究证明, 多数害虫对 Bt 的抗性为隐性遗传^[10], 这与目前研究发现受体的结合力下降是导致 Bt 抗性的主要机制的结果一致^[30]。因此由于 Bt 抗性机制的多样性, 其抗性显性也呈现多样性, 从隐性到不完全显性均有报道。

但是, 由于抗性显性水平有多变性, 纯粹从抗性机制来分析抗性显性水平是不行的。例如, Sayyed 等报道的对小菜蛾 *Plutella xylostella* 的抗性是不完全显性的^[31], 但受体结合试验表明出现了 Bt 毒素与中肠膜上的专化结合位点的结合力大幅度下降的现象, 且没有发现毒素活性下降的现象, 若从上述从抗性机制来对显性进行理论分析, 此事例的抗性应表现为隐性, 这恰恰与报道的结果相反。作者认为这很可能与 Bt 抗性机制的多样性或抗性显性水平有多变性有关。

3 抗性显性水平的多变性

以上是从分子生理水平来解释抗性显性, 但抗性显性水平受环境条件的影响很大, 如 Bouguet 等研究结果表明抗性显性是个可变参数, 在环境改变时, 显性水平可以从几乎完全显性变成几乎完全隐性^[2]。

而且田间抗性的显性还取决于所用的剂量, 故有“效应显性”概念, 即在一定浓度下杂合子和纯合子都存活下来的现象^[3]。田间效应显

性常常与在实验室观察到的不同^[32]。例如在实验室的多剂量下测定实验中按蚊 *Anopheles anthropophagus* 对环戊二烯类和林丹通常是共显性的^[32], 然而 Rawlings 等发现在建筑物里喷洒适中浓度的林丹, 按蚊的抗性杂合子几乎完全被杀死, 同时只有一部分抗性纯合子存活下来, 抗性表现为隐性^[33]。这表明通过使用足够高的剂量杀死杂合子, 可将显性或共显性抗性变成效应隐性。反之, 对拟除虫菊酯类杀虫剂的抗性为不完全隐性遗传的种群, 在某些田间环境下, 对拟除虫菊酯类杀虫剂的抗性表现为不完全显性^[4, 34]。在任何指定的剂量下, 抗性的显性可能还取决于防治对象的生命阶段, 特别是某一阶段比另一阶段对农药有更敏感时, 更是如此^[4]。

所以说抗性显性水平是多变的, 且是表现型的特征, 而不是等位基因的特征, 其受药剂压力和其他环境的影响很大^[32]。故在室内单独研究的基础上去估计田间条件下的显性是很困难的。

另外, 抗性显性常受到显性修饰因子的影响。抗性显性修饰基因最早是由 Grigolo 和 Oppenoorth 报道^[35], Bouguet 等通过实验更明确地证明了抗性显性修饰基因的存在^[8]。这也间接否定了上述的 Fisher 的显性理论, 因为修饰基因对抗性显性进化只是起到修饰作用, 并不是显性进化的主导因素。

修饰基因可能具有多效性, 同时影响好几个性状的显性水平, 或者具有专化性, 仅影响一个性状的显性水平^[7]。而且抗性显性还可以通过等位基因的替代而改变, 通过引起更具显性的抗性的等位基因来替代引起抗性隐性的等位基因来改变抗性显性, 虽然在杀虫剂抗性位点上的等位基因取代的事例已有描述^[36, 37], 但它对显性系数的影响目前尚不清楚^[7]。

4 抗性显性与抗性进化

遗传学中显性和隐性的现象是一种储存可变性的方式, 它在稳定的环境中通常得不到表达, 然而当环境变动时它就出现了。抗性进化

的出现就会伴随着显性的现象的出现,进化的速度也与抗性显性水平有关。

现已周知,抗性表现为显性的基因被筛选的速度比抗性表现为隐性的基因要快。而作者认为,在药剂选择前以及在抗性进化早期,敏感纯合子(SS)个体占种群绝大多数,抗性纯合子(RR)个体几乎不存在,极少数突变的抗性等位基因仅存在于RS个体中,当药剂处理后,因为选择初期抗性等位基因频率很低时选择的随机性很大,隐性RS个体与SS个体的抗性表现型差异没有抗性表现为显性时大,抗性表现为隐性的基因被筛选的几率不如抗性表现为显性时大,故抗性表现为隐性的基因频率上升速度比抗性表现为显性时慢。而随着选择压的持续,抗性表现为隐性的基因频率逐渐增加,当出现隐性RR个体时,隐性基因频率上升的速度明显加快,这是因为隐性RR与RS、SS个体的表现型差异较抗性表现为显性时大。抗性表现为隐性的基因被筛选的几率大于抗性表现为显性时。

故在抗性进化早期抗性表现为显性的基因频率上升快于抗性表现为隐性时;但在抗性等位基因频率较高且出现抗性纯合子个体时,抗性表现为隐性的基因频率上升显著快于抗性表现为显性时。因此抗性表现为隐性水平的杀虫剂,在早期,其抗性进化缓慢,但抗性发展到一定阶段,进化速度将显著加快。

这可以解释为什么在田间的抗性事例中抗性隐性基因被筛选的速度比抗性显性基因要快。一般一种新药剂使用10年后就会有害虫对其进化出对应的抗性^[38],而拟除虫菊酯类农药在使用3~5年后,害虫就会产生抗药性。如在我国山东省棉区,1980年开始使用溴氰菊酯防治棉蚜 *Aphis gossypii*、棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 等害虫,到1983年大量进口使用。此后仅3年,棉蚜就产生了严重的抗药性;1985年,棉蚜对溴氰菊酯的抗性比1981年增高了3200倍^[39]。田间药剂使用常常是高剂量,结合拟除虫菊酯类农药抗性是隐性的遗传特性,导致与拟除虫菊酯类农药抗性有关的基因被筛选的速度较快。

但是影响害虫抗药性进化的因素很多(特别是在田间条件下的抗性进化),故单纯从显性水平来分析抗性进化规律是不够的。例如在棉蚜对拟除虫菊酯类杀虫剂的抗性事例中,因为蚜虫具有独特的生物特性孤雌生殖现象,在药剂的高剂量处理后存活下来的抗性个体,经过孤雌繁殖,后代没有出现杂合子个体,故其抗性上升很快。

5 抗性显性在抗性治理中的应用

通常抗性治理策略都建议采用适度治理措施,即通过降低选择压力,在种群中保持敏感基因,达到延缓抗性的目的。而在转Bt基因植物的抗性预防上普遍采用高剂量/庇护所策略^[40],这与多数害虫对Bt的抗性为隐性遗传有关^[10]。

高剂量/庇护所策略认为,用足够大的剂量(即转Bt基因作物的毒素表达是高毒的)杀死所有的RS、SS个体,存活下来的RR个体与“庇护所”种群(非转基因作物的害虫种群)的SS个体杂交,F1代大部分为RS杂合子,假设害虫对Bt的抗性为隐性遗传,杂合子的抗性表型相似于敏感纯合子,在Bt棉上不能存活,从而达到延缓抗性产生的目的。

但害虫对Bt的抗性为隐性遗传的假设并不都能满足,正如前述,有时有些害虫对Bt的抗性为显性遗传的^[21, 23]。另外该策略在田间应用还应考虑效应显性,例如即使对Bt抗性是不完全隐性,在某一Bt浓度下也可能为有效显性。而且Bourguet等提出有必要研究该田间Bt抗性治理中的害虫适合度的显性度^[7]。

在田间连续8年持续大量使用Bt棉,目前尚未发现有害虫对其产生抗性,除了因为Bt抗性机制可能多样且大多数表现为不完全隐性使害虫对Bt的抗性进化缓慢之外,这也证明了该策略的确起到了延缓抗性的作用^[41]。但是该策略只能延缓抗性进化,而不能阻止抗性产生,因为害虫抗药性进化是一种必然趋势。

参 考 文 献

- 1 莫建初,唐振华. 昆虫知识, 1997 34(3): 183~186.
- 2 Bourguet D., Prout M., Raymond M. *Genetics*, 1996, 143

- (1): 407~416.
- 3 Bagheri H. C., Wagner G. P. *Genetics*, 2004, **168**(3): 1 713 ~ 1 735.
 - 4 Roush R. T., Daly J. C. 1990. In: Roush R. T., Tabashnik B. E. (ed.), *Pesticide Resistance in Arthropods*. Chapman & Hall, New York, 1990. 97~153.
 - 5 Kacser H., Burns J. A. *Genetics*, 1981, **97**(4): 639~666.
 - 6 Keightley P. D., Kacser H. *Genetics*, 1987, **117**(2): 319~329.
 - 7 Bouguet D., Genissel A., Raymond M. *J. Econ. Entomol.*, 2000, **93**(6): 1 589~1 592.
 - 8 Bourguet D., Lenomand T., Guillenmand T., Mareel V., Fournier D., *et al.* *Genetics*, 1997, **147**(3): 1 225~1 234.
 - 9 McKenzie J. A. In: Fox C. W., Roff D. A., Fairbairn D. J. (eds.), *Evolutionary Ecology: Concepts and Case Studies*. Oxford University Press US, 2001. 347~360.
 - 10 Bouguet D., Raymond M. *J. Ecol. Biol.*, 1998, **11**(1): 103~122.
 - 11 Cochran D. G. *J. Econ. Entomol.*, 1994, **87**(2): 280~284.
 - 12 Pasteur N., Sinegre G. *Experientia*, 1978, **34**(6): 709~710.
 - 13 Fournier D., Mutero A. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1994., **108C**(1): 19~31.
 - 14 Hoffmann F., Fournier D., Spierer P. *J. Mol. Biol.*, 1992, **223**(1): 17~22.
 - 15 Smitsaert H. R., Abd El Hamid F. M., Overmeer W. P. *J. Biochem. Pharmac.*, 1975, **24**(9): 1 043~1 047.
 - 16 Famham A. W., O'Dell K. E., Denholm I., Sawicki R. M. *Bull. Entomol. Res.*, 1984, **74**(4): 581~589.
 - 17 Argentine J. A., Clark M. *J. Pest. Sci.*, 1990, **28**(1): 17~24.
 - 18 Georgiou G. P. *Exp. Parasitol.*, 1969, **26**(2): 224~255.
 - 19 Beeman R. W., Nanis S. M. *J. Econ. Entomol.*, 1986, **79**(3): 580~587.
 - 20 Feré J., Rie J. V. *Annu. Rev. Entomol.*, 2002, **47**: 501~533.
 - 21 Rahardja U., Whalon M. E. *J. Econ. Entomol.*, 1995, **88**(1): 21~26.
 - 22 Huang F., Zhu K. Y., Buschman L. L., Higgins R. A., Oppert B. *Pest. Biochem. Physiol.*, 1999, **65**(2): 132~139.
 - 23 Li H., Oppert B., Higgins R. A., Huang F., Buschman L. L., *et al.* *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 2005, **35**(8): 847~860.
 - 24 Lund A. E., Narahashi T. *Pest. Biochem. Physiol.*, 1983, **20**(2): 203~207.
 - 25 Lund A. E. *Pest. Biochem. Physiol.*, 1984, **22**(2): 161~168.
 - 26 Konno Y., Scott J. G. *Pest. Biochem. Physiol.*, 1991, **41**(1): 21~28.
 - 27 苏建亚. 博士学位论文, 2004. 南京农业大学. <http://ckrd.cnki.net/grid20/Navigator.aspx?ID=2>
 - 28 Tabashnik B. E. *Nature Biotechnol.*, 2001, **19**(10): 922.
 - 29 Candas M., Loseva O., Oppert B., Kosaraju, P., Bulla Jr., L. A. *Mol. Cell. Proteomics*, 2003, **2**(6): 19~28.
 - 30 Griffiths J. S., Aroian R. V. *BioEssays*, 2005, **27**(6): 614~624.
 - 31 Sayyed A. H., Gatsi R., Ibiza~Palacios M. S., Escriche B., Wright D. J., *et al.* *Applied. Environ. Micro.*, 2005, **71**(11): 6 863~6 869.
 - 32 Roush R. T., McKenzie J. A. *Annu. Rev. Entomol.*, 1987, **2**: 361~380.
 - 33 Rawlings P., Davidson G., Sakai R. K., Rathor H. R., Aslamkhan M., *et al.* *Bull. WHO*, 1981, **59**(4): 631~640.
 - 34 McDonald P. T., Schmidt C. D. *J. Econ. Entomol.*, 1987, **80**(2): 433~437.
 - 35 Grigolo A., Oppenorth F. J. *Genetica*, 1966, **37**(1): 159~170.
 - 36 Guillenmand T., Lenomand T., Bouguet D., Chevallion C., Pasteur N., *et al.* *Evolution*, 1998, **52**(2): 443~453.
 - 37 Lenomand T., Guillenmand T., Bouguet D., Raymond M. *Evolution*, 1998, **52**(6): 1 705~1 712.
 - 38 Palumbi S. R. *Science*, 2001, **293**(5 536): 1 786~1 790.
 - 39 胡志强, 任雪景, 郭玉晶. 青岛化工学院学报, 2002, **23**(1): 48~51.
 - 40 McGaughey W. H., Gould F., Gelernter W. *Nature Biotechnol.*, 1998, **16**: 144~146.
 - 41 Zhao J. Z., Cao J., Collins H. L., Bates S. L., Roush R. T., *et al.* *Aad. Sci. USA* 2005, **102**(24): 8 426~8 430.

蜘蛛的“裹尸布”

毒液可能是大部分蜘蛛选择的武器,然而也有一些蜘蛛更爱聆听能够获得满足感的“嘎吱嘎吱”的咀嚼声。一种名为 *Philoponella vicina* 的蜘蛛会用好几百米长的蛛丝将猎物缠绕起来,织成一张极度紧密的“裹尸布”,研究人员在 2006 年 5 月份出版的《*Natur*》杂志上报告了这一研究成果。

据美国《科学》杂志在线新闻报道,绷紧的蛛丝产生的压力比蜘蛛自身的重量大许多倍,足以折断猎物的腿、挤瞎它们的复眼。与仅仅使猎物失去活动能力相比,这项研究成果第一次证明,紧绕的蛛丝能够伤害甚至杀死猎物。由于缺乏毒液完成最后的工序, *P. vicina* 会向“裹尸布”中吐入消化液,从而制成一道自给自足的液体大餐。