

国产 Bt-Cry1Ab 和 Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa) 玉米对草地贪夜蛾的抗性测定

张丹丹, 吴孔明*

(中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193)

摘要 草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) 是世界性重大农业害虫。种植转基因 Bt 作物是主要的防治手段之一。我们利用室内生物测定方法评价了国产 Bt-Cry1Ab 玉米(转化体 C0030.3.5)和 Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米(转化体 DBN3601 和 DBN3608)对草地贪夜蛾 1~4 龄幼虫的毒力。结果显示,供试两种转基因玉米共 6 个品种皆可高效表达目标杀虫蛋白并对草地贪夜蛾具有很强的毒杀作用,对 1 龄幼虫的致死率达到 59%~100%,存活幼虫的生长发育亦受到显著抑制。表明国内研发的 Bt-Cry1Ab 玉米和 Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米对草地贪夜蛾具有良好的控制效果,其中 Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米的防治效果显著优于 Bt-Cry1Ab 玉米,两种转基因玉米皆具有较好的商业化应用前景。

关键词 草地贪夜蛾; Bt-Cry1Ab 玉米; Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米; 控制效果

中图分类号: S 435.132 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2019251

The bioassay of Chinese domestic Bt-Cry1Ab and Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa) maize against the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*

ZHANG Dandan, WU Kongming

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

Abstract The fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) is an important agricultural pest in the world and planting Bt crop has been widely deployed for the pest control in its native region, the American continent. In this study, the control efficacy of Chinese domestic Bt-Cry1Ab maize (Event-C0030.3.5) and Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa) maize (Event-DBN3601 and DBN3608) to 1st-4th instar larvae of fall armyworm were evaluated by the method of feeding on maize leaves in the lab. The results showed that all the six varieties of two kinds Bt corns could express the target insecticidal proteins efficiently and have strong toxicity to the pest. The insecticidal efficacy to the 1st instar larvae reached 59%—100%, and the growth and development of the survived larvae were also significantly inhibited. Our results indicated that Bt-Cry1Ab and Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa) maize developed in China had high control efficacy against fall armyworm. However, compared with the single Bt gene maize, the control efficacy of the two Bt gene maize was significantly higher. It is concluded that the two Bt maize present good commercial application prospects.

Key words *Spodoptera frugiperda*; Bt-Cry1Ab maize; Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa) maize; control efficacy

草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) 是一种原分布于美洲大陆热带和亚热带地区的杂食性害虫^[1],其寄主植物多达 76 个科,353 种^[2]。同其他重大迁飞性农业害虫一样,具有“国际性、迁飞性、暴发性和毁灭性”的特点^[3],目前已成为

世界范围内严重威胁粮食安全的重大生物灾害。其幼虫取食为害玉米,低龄幼虫取食玉米叶片可造成“窗孔”形症状。高龄幼虫除了取食叶片造成孔洞外,还为害心叶、叶鞘、雄穗和果穗等部位^[4],对玉米产量造成严重影响。据报道,20 世纪 60 年代,在阿

根廷东北部,草地贪夜蛾造成玉米产量损失高达 70%。2000 年,在阿根廷西北部地区,被草地贪夜蛾为害的玉米植株所占比例高达 71%^[5]。在巴西,草地贪夜蛾可使玉米减产 34%,每年造成近 4 亿美元的经济损失^[6]。2018 年,在非洲西部的加纳,草地贪夜蛾造成玉米产量平均损失 26.6%(最高 40%),经济损失 1.77 亿美元,在非洲中南部的赞比亚,造成玉米产量平均损失 35%(最高 50%),经济损失 1.59 亿美元^[7-8]。

化学防治是控制草地贪夜蛾为害的主要方法^[9],但由于草地贪夜蛾幼虫常在玉米叶背面和心叶里取食为害,高龄幼虫甚至会钻蛀到植株内部,使药剂无法充分接触到虫体,往往达不到良好的防控效果^[10]。同时,随着化学杀虫剂的持续频繁使用,草地贪夜蛾种群逐渐产生了抗药性,据报道,在美洲部分地区,草地贪夜蛾已对氨基甲酸酯类、有机磷酸酯类和拟除虫菊酯类农药产生抗性^[8],导致化学防治效果不断降低。

随着科学技术的发展,转基因抗虫玉米的研发和商业化种植为控制草地贪夜蛾开辟了新途径,且已成为美洲大陆热带和亚热带地区防控草地贪夜蛾应用最广泛的技术手段。目前为止,表达 Cry1F、Cry1Ab 或 Cry1A.105+Cry2Ab2 蛋白的 Bt 玉米已在美国、加拿大和南美部分国家商业化种植,其中, Cry1F 玉米‘TC1507’的种植最为广泛^[11]。在南非,2018 年 11 月,草地贪夜蛾被列为表达 Cry1A.105+Cry2Ab2 蛋白的‘MON89034’玉米(Bt2)的靶标害虫^[12]。目前在美洲或非洲批准种植的转基因抗虫玉米有‘MON810’、‘Bt11’、‘MON89034’、‘MON89034×TC1507’、‘MIR162’、‘Bt11×MIR162’和‘MON810×TC1507×MIR162’等,表达的蛋白类型有 Cry1Ab、Cry1F、Cry2Ab2、Cry1A.105 和 Vip3Aa20^[10]。

草地贪夜蛾于 2019 年 1 月侵入我国云南省^[13],截至 5 月 10 日,已在云南、广西、广东、贵州、湖南、海南、福建、浙江、湖北、四川、江西 13 省(区)261 个县(市、区)发现其为害,总发生面积超过 6.7 万 hm²,已对我国玉米生产构成重大威胁。根据取食寄主植物的嗜好性,草地贪夜蛾被分为喜欢取食玉米的“玉米型”和喜食水稻的“水稻型”^[14-15]。对入侵种群的分子鉴定结果显示,目前我国各地草地贪夜蛾均为玉米型^[16]。为了发展防治草地贪夜蛾新技术,我们在

室内利用人工接虫至玉米叶片的方法测定了国产 Bt-Cry1Ab(转化体 C0030.3.5)和 Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米(转化体 DBN3601 和 DBN3608)对草地贪夜蛾 1~4 龄幼虫的抗性效果。

1 材料与方法

1.1 供试 Bt 玉米

Bt 玉米由北京大北农生物技术有限公司提供,其中‘C0030.3.5-郑单 958’和‘C0030.3.5-农华 106’是 Bt-Cry1Ab 单基因抗虫玉米,‘DBN3601-郑单 958’、‘DBN3608-郑单 958’、‘DBN3601-农华 106’和‘DBN3608-农华 106’均是 Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)双基因抗虫玉米,‘郑单 958’和‘农华 106’是对照常规玉米。所有玉米品种均置于温度为(26±1)℃的培养箱中培养。

1.2 供试虫源

供试草地贪夜蛾种群于 2019 年 1 月 19 日采自云南省德宏州鲜食玉米田,共采集 100 余头 2~5 龄幼虫,在室内用玉米叶片饲养至化蛹,成虫羽化后用 10%的白糖水饲喂以补充营养和水分。成虫产卵后收集卵块,孵化后的幼虫用基于黄豆面和玉米面配制的人工饲料饲养,饲养至不同龄期的幼虫用于试验。所有幼虫和成虫均置于温度为(26±1)℃,湿度为 60%±10%,光周期为 L//D=16 h//8 h 的培养箱中培养。

1.3 不同品种玉米叶片 Cry1Ab 和 Vip3Aa 蛋白表达量检测

利用 ELISA 方法检测玉米叶片中杀虫蛋白含量。取 V2-2 叶期的玉米植株顶端第二片叶,每个品种以 5 片叶为 1 个生物学重复,共设 3 个生物学重复,每个生物学重复设 3 个技术重复。新鲜玉米叶片用液氮在研钵内迅速研磨成粉末,加入提取液 PBST(pH 为 7.4、浓度为 0.01 mol/L 的 PBS+0.55% Tween 20),置于摇床上 4℃过夜;12 000 r/min 离心 15 min,取上清液,用提取液适量稀释;将 Cry1Ab 和 Vip3Aa 标准品梯度稀释,在 96 孔酶标板每孔加入 50 μL enzyme-conjugate Cry1Ab 或 Vip3Aa 后,分别加入 50 μL 样品、阴性对照和标准品,用封口膜将酶标板封闭,轻摇混匀 20~30 s,置于摇床上(200 r/min) 1~2 h;用力弃去液体后,每孔加入 200 μL 洗涤液,反复洗涤 3 次后用吸水纸吸干;每孔加入 100 μL 显色

底物,用封口膜将酶标板密封,外覆锡箔纸避光,轻摇混匀 20~30 s,室温放置 15~30 min;每孔加入 100 μL 终止液终止反应,用酶标仪在 450 nm 波长下测定 OD 值。

1.4 Bt-Cry1Ab 和 Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米对不同龄期草地贪夜蛾幼虫的抗性测定

抗虫性试验在玉米播种后 10 d 左右进行,在玉米生长期,不接触其他任何杀虫物质。将新鲜的玉米植株插入盛有约 2 cm 高 2%琼脂的玻璃指形管内(高 12 cm,直径 3.3 cm),将不同龄期幼虫接至玉米叶片上,1 龄幼虫每株幼苗接 5 头,2 龄、3 龄和 4 龄幼虫为避免自相残杀对试验结果的影响,每株幼苗接 1 头,每个龄期 50 头幼虫为 1 个重复,设 3 个重复,共 150 头幼虫。指形管用棉塞封闭防止幼虫钻出。然后置于温度为(26±1)℃,湿度为 60%±10%,光周期为 L//D=16 h//8 h 的培养箱内。5 d 后检查幼虫死亡率,用毛笔轻触虫体,不能正常爬行者视为死亡,并称取在不同玉米植株上存活下来的幼虫个体体重,计算体重抑制率。

1.5 数据处理与分析

根据试验数据,参照公式(1)和(2)计算各处理幼虫的校正死亡率,参照公式(3)计算体重抑制率。

死亡率= $\frac{\text{处理后死亡试虫数}}{\text{处理前供试总虫数}} \times 100\%$ (1)

校正死亡率=

$\frac{\text{处理组死亡率}-\text{对照组死亡率}}{1-\text{对照组死亡率}} \times 100\%$ (2)

体重抑制率=

$$\frac{(\text{对照组体重增加值}-\text{处理组体重增加值})}{\text{对照组体重增加值}} \times 100\%$$
 (3)

采用 SAS 9.2 统计分析软件对所有数据进行方差分析,采用 Duncan 氏新复极差法进行多重比较分析。

2 结果与分析

2.1 不同品种玉米叶片中 Cry1Ab 和 Vip3Aa 蛋白含量

2 种 Bt-Cry1Ab 玉米、4 种 Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米以及 2 个对照常规玉米叶片中 Cry1Ab、Vip3Aa 及总蛋白含量见表 1。ELISA 检测结果显示,2 种对照常规玉米的 Cry1Ab 含量均< LOQ,2 种 Bt-Cry1Ab 玉米的 Cry1Ab 含量为 75.55~87.75 μg/g,二者之间无显著差异。而 4 种 Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米 Cry1Ab 含量为 86.05~101.64 μg/g,不同品种间也无显著差异,但除 Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米-1(‘DBN3601-郑单 958’)外,其他 3 种 Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米 Cry1Ab 含量均显著高于 Bt-Cry1Ab 玉米-2。2 种 Bt-Cry1Ab 玉米与 2 个对照常规玉米的 Vip3Aa 含量均< LOQ,4 种 Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米 Vip3Aa 含量为 21.42~27.84 μg/g,彼此间无显著差异。2 种 Bt-Cry1Ab 玉米与 2 个对照常规玉米总蛋白含量无显著差异,4 种 Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米中,Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米-2 总蛋白含量最高,为(406.74±8.66) mg/g,显著高于 Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米-1,与其他 2 种无显著差异。

表 1 不同品种玉米叶片中 Bt 蛋白及总蛋白含量¹⁾

Table 1 Content of Bt proteins and total proteins in fresh leaves of different maize varieties

玉米品种 Maize varieties	Cry1Ab/μg · g ⁻¹	Vip3Aa/μg · g ⁻¹	总蛋白/mg · g ⁻¹ Total protein
对照常规玉米-1 (郑单 958) CK maize-1 (Zhengdan 958)	< LOQ	< LOQ	(371.67±14.69)ab
Bt-Cry1Ab 玉米-1 (C0030.3.5-郑单 958)	(87.75±4.88)ab	< LOQ	(375.02±4.19)ab
Bt-Cry1Ab maize-1 (C0030.3.5-Zhengdan 958)			
Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米-1 (DBN3601-郑单 958)			
Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa) maize-1 (DBN3601-Zhengdan 958)	(86.05±10.51)ab	(21.42±3.34)a	(349.17±26.65)b
Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米-2 (DBN3608-郑单 958)			
Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa) maize-2 (DBN3608-Zhengdan 958)	(99.18±0.28)a	(27.84±1.91)a	(406.74±8.66)a
对照常规玉米-2 (农华 106) CK maize-2 (Nonghua 106)	< LOQ	< LOQ	(392.31±13.02)ab
Bt-Cry1Ab 玉米-2 (C0030.3.5-农华 106)			
Bt-Cry1Ab maize-2 (C0030.3.5-Nonghua 106)	(75.55±4.04)b	< LOQ	(370.82±19.66)ab
Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米-3 (DBN3601-农华 106)			
Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa) maize-3 (DBN3601-Nonghua 106)	(100.33±5.11)a	(22.77±2.01)a	(369.69±14.87)ab
Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米-4 (DBN3608-农华 106)			
Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa) maize-4 (DBN3608-Nonghua 106)	(101.64±5.02)a	(26.30±1.21)a	(397.73±5.05)ab

1) 同列数据后标不同小写字母者表示有显著差异(P<0.05)。

Different small letters in same column indicate significant differences (P<0.05).

2.2 Bt-Cry1Ab 和 Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米对不
同龄期草地贪夜蛾幼虫的抗性

2.2.1 不同龄期草地贪夜蛾幼虫取食 Bt-Cry1Ab
和 Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米后的死亡率
不同龄期草地贪夜蛾幼虫取食 Bt-Cry1Ab 和
Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米后的特征见图 1。

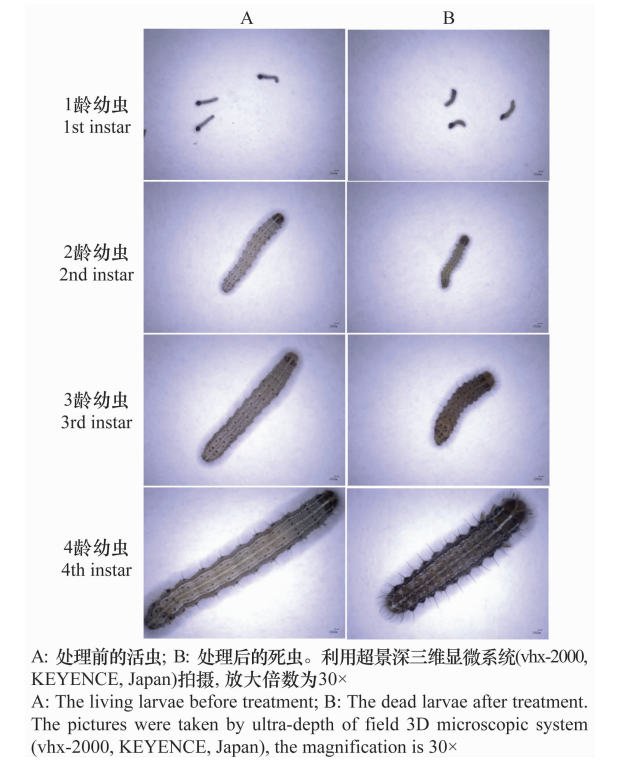
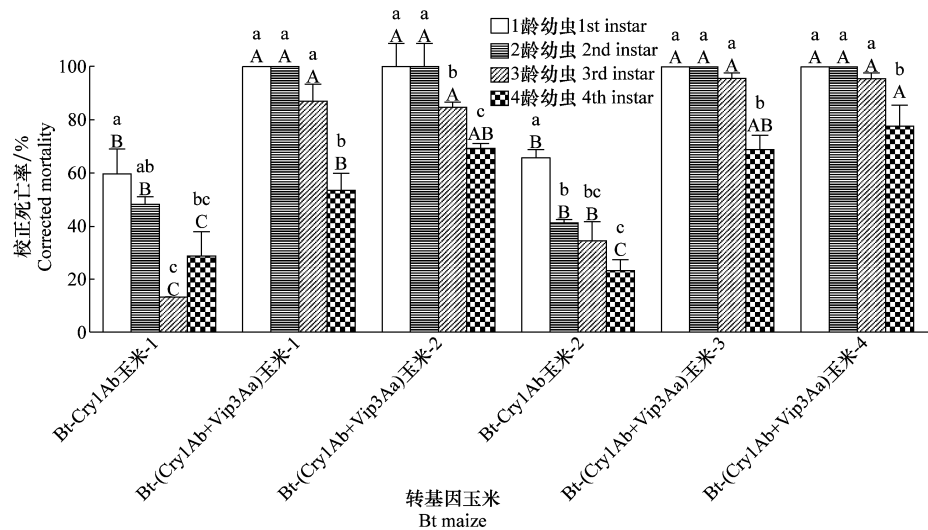


图 1 不同龄期草地贪夜蛾幼虫在 Bt 玉米上的死亡特征
Fig. 1 Death characteristic of different instar larvae on Bt maize

室内玉米叶片生测结果显示:Bt-Cry1Ab 玉米-1
和 Bt-Cry1Ab 玉米-2 饲喂的幼虫其校正死亡率呈
现出随龄期增加而下降的趋势。其中,1 龄幼虫的
校正死亡率为 59.23%~65.41%,2 龄幼虫的校正
死亡率为 40.80%~47.89%,对 3、4 龄幼虫效果较
差,校正死亡率仅为 13.33%~34.14%。1、2、4 龄
幼虫在 2 种 Bt-Cry1Ab 玉米上校正死亡率无显著差
异,3 龄幼虫在 Bt-Cry1Ab 玉米-2 上的校正死亡率
(34.14%±7.32%)显著高于在 Bt-Cry1Ab 玉米-1
上的校正死亡率(13.33%±0%)。

各龄幼虫在 4 种 Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米上的
校正死亡率均显著高于在两种 Bt-Cry1Ab 玉米上的
校正死亡率,在 Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米-1、
Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米-2、Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)
玉米-3 和 Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米-4 上,1、2 龄
幼虫的校正死亡率均为 100%±0%,3 龄幼虫的校正
死亡率分别为 86.67%±6.67%、84.44%±2.22%、
95.12%±2.44%和 95.12%±2.44%,1~3 龄幼虫
在 4 种 Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米上的校正死亡率之
间没有显著差异。4 龄幼虫的校正死亡率在 Bt-
(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米-4 上最高,为 77.27%±
8.19%,显著高于在 Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米-1
上的校正死亡率 53.02%±6.71%,后者与在 Bt-
(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米-2 和 Bt-(Cry1Ab+
Vip3Aa)玉米-3 上的校正死亡率 68.68%±2.24%
和 68.18%±6.01%无显著差异(图 2)。



标准误差线上不同大写字母表示同一龄期幼虫在不同玉米品种上的死亡率具有显著差异,不同小写字母表示不同龄期幼虫在同一玉米品种上的死亡率具有显著差异($P<0.05$)
Different capital letters above the error bars indicate significant differences among mortalities of same instar larvae on different maize, and different lowercase letters indicate significant differences among mortalities of different instar larvae on same maize ($P<0.05$)

图 2 不同龄期草地贪夜蛾幼虫在不同玉米品种上的死亡率
Fig. 2 Mortalities of different instar larvae of *Spodoptera frugiperda* on different maize varieties

2.2.2 Bt-Cry1Ab 和 Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa) 玉米 对不同龄期草地贪夜蛾幼虫体重的影响

用电子天平称取处理前及处理后 5 d 各龄期幼虫体重,因 1 龄幼虫太小,无法称取处理前及取食转 Bt 玉米后的体重,所以,该部分只分析了 2、3 和 4 龄幼虫体重。结果表明,转基因玉米能显著抑制幼虫体重增加,取食转基因玉米各龄期幼虫的体重均显著低于取食对照玉米的体重。Bt-Cry1Ab

玉米-1 和 Bt-Cry1Ab 玉米-2 对 2、3 龄幼虫的体重抑制率可达 92.62%~107.97%,对 4 龄幼虫的体重抑制率为 59.50%~72.49%(表 2)。在 4 种 Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米上,2 龄幼虫 5 d 后死亡率均为 100%,故无法称取处理后体重。4 种 Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米对 3 龄幼虫的体重抑制率为 109.12%~122.22 %,对 4 龄幼虫的体重抑制率为 76.12%~92.43%。

表 2 取食不同玉米品种对草地贪夜蛾不同龄期幼虫体重的影响¹⁾

玉米品种 Maize varieties	2 龄 2nd instar larvae			3 龄 3rd instar larvae		
	初始体重/mg	5 d 后体重/mg	体重抑制率/%	初始体重/mg	5 d 后体重/mg	体重抑制率/%
	Initial weight	Weight 5 days later	Inhibitory rate	Initial weight	Weight 5 days later	Inhibitory rate
对照常规玉米-1(郑单 958) CK maize-1 (Zhengdan 958)	1.74±0.06	(10.13±0.71)a	—	6.43±0.40	(49.51±0.68)a	—
Bt-Cry1Ab 玉米-1 (C0030, 3.5-郑单 958)						
Bt-Cry1Ab maize-1(C0030, 3.5-Zhengdan 958)	1.74±0.06	(1.83±0.14)b	(98.95±1.73)a	6.43±0.40	(9.61±3.63)c	(92.62±8.44)b
Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa) 玉米-1 (DBN3601-郑单 958)						
Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa) maize-1 (DBN3601-Zhengdan 958)	1.74±0.06	—	—	6.43±0.40	(2.02±0.40)d	(110.22±0.94)a
Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa) 玉米-2 (DBN3608-郑单 958)						
Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa) maize-2 (DBN3608-Zhengdan 958)	1.74±0.06	—	—	6.43±0.40	(2.50±0.56)d	(109.12±1.29)a
对照常规玉米-2 (农华 106) CK maize-2 (Nonghua 106)	1.74±0.06	(9.40±0.51)a	—	6.43±0.40	(29.74±1.73)b	—
Bt-Cry1Ab 玉米-2 (C0030, 3.5-农华 106)						
Bt-Cry1Ab maize-2 (C0030, 3.5-Nonghua 106)	1.74±0.06	(1.96±0.20)b	(97.07±2.64)a	6.43±0.40	(4.57±1.14)cd	(107.97±4.88)a
Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa) 玉米-3 (DBN3601-农华 106)						
Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa) maize-3 (DBN3601-Nonghua 106)	1.74±0.06	—	—	6.43±0.40	(1.35±0.45)d	(121.79±1.58)a
Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)-4 (DBN3608-农华 106)						
Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa) maize-4 (DBN3608-Nonghua 106)	1.74±0.06	—	—	6.43±0.40	(1.25±0.55)d	(122.22±1.93)a

玉米品种 Maize varieties	4 龄 4th instar larvae		
	初始体重/mg	5 d 后体重/mg	体重抑制率/%
	Initial weight	Weight 5 days later	Inhibitory rate
对照常规玉米-1(郑单 958) CK maize-1 (Zhengdan 958)	23.25±1.33	(177.22±8.85)a	—
Bt-Cry1Ab 玉米-1 (C0030, 3.5-郑单 958)			
Bt-Cry1Ab maize-1(C0030, 3.5-Zhengdan 958)	23.25±1.33	(85.60±5.96)b	(59.50±3.87)b
Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa) 玉米-1 (DBN3601-郑单 958)			
Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa) maize-1 (DBN3601-Zhengdan 958)	23.25±1.33	(60.02±3.46)bc	(76.12±2.24)ab
Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa) 玉米-2 (DBN3608-郑单 958)			
Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa) maize-2 (DBN3608-Zhengdan 958)	23.25±1.33	34.90 c	92.43 a
对照常规玉米-2 (农华 106) CK maize-2 (Nonghua 106)	23.25±1.33	(154.79±4.55)a	—
Bt-Cry1Ab 玉米-2 (C0030, 3.5-农华 106)			
Bt-Cry1Ab maize-2 (C0030, 3.5-Nonghua 106)	23.25±1.33	(59.43±5.57)bc	(72.49±4.23)ab
Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa) 玉米-3 (DBN3601-农华 106)			
Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa) maize-3 (DBN3601-Nonghua 106)	23.25±1.33	(43.83±8.37)c	(84.35±6.36)a
Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)-4 (DBN3608-农华 106)			
Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa) maize-4 (DBN3608-Nonghua 106)	23.25±1.33	(33.28±16.28)c	(92.38±12.37)a

1) 体重抑制率=(对照体重增加值-处理体重增加值)/对照体重增加值×100%。同列不同小写字母表示同一龄期幼虫在不同玉米品种上 5 d 后体重或体重抑制率差异显著($P<0.05$)。
Inhibitory rate = (Body mass increase in control groups—Body mass increase in experiment group) / Body mass increase in control groups ×100%. Different small letters in the same column indicate significant differences among weights 5 days later and inhibitory rates of same instar larvae on different maize ($P<0.05$).

3 讨论

李国平等研究发现 Cry1Ab、Cry1F、Vip3A 和 Cry2Ab 蛋白对入侵草地贪夜蛾具有较强的致死作用,而 Cry1Ac 的效果较差,因此种植 Cry1Ab、Cry1F

或叠加的 Cry1Ab(或 Cry1F)+Vip3A、Cry1Ab(或 Cry1F)+Cry2Ab 玉米可控制草地贪夜蛾的发生与为害^[17]。本研究结果显示:取食 Bt-Cry1Ab 玉米,草地贪夜蛾幼虫的校正死亡率为 13.33%~65.41%,体重抑制率为 59.50%~107.97%。如取食 Bt-(Cry1Ab

+Vip3Aa)玉米,校正死亡率为 53.02%~100%,体重抑制率为 76.12%~122.22%。表明 Bt-Cry1Ab 玉米和 Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米对草地贪夜蛾 1~4 龄幼虫均具有很好的防控效果,其中 Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米的效果显著优于 Bt-Cry1Ab 玉米,供试 Bt 玉米对 1、2 龄低龄幼虫的防治效果均显著优于对 3、4 龄高龄幼虫的防治效果。

由于草地贪夜蛾的寄主作物较为广泛,生产上需要将 Bt 玉米和化学农药协同使用才能实现区域性防控的目标。赵胜园等的研究已表明,20%甲氰菊酯 EC、15%啉虫酰胺 SC 和 25 g/L 溴氰菊酯 EC 等对草地贪夜蛾卵具有较高的毒杀活性,1%甲氨基阿维菌素苯甲酸盐 EC、5%甲氨基阿维菌素苯甲酸盐 ME 和 75%乙酰甲胺磷 SP 等对草地贪夜蛾幼虫具有较强的毒杀作用^[9]。因此,在实际生产过程中,可基于各地作物种植结构和草地贪夜蛾的发生规律,进一步构建这些高效化学农药和 Bt 玉米协同防控的技术体系。

虽然转基因抗虫玉米能够有效控制草地贪夜蛾的为害,但是同化学杀虫剂一样,随着 Bt 玉米的长时间、大规模种植,草地贪夜蛾在整个生长期就会持续处在 Bt 杀虫蛋白的选择高压下,这样就会逐渐演化出 Bt 抗性种群。波多黎各 2003 年开始商业化种植表达 Cry1F 的‘TC1507’玉米,但 2006 年年底就发现草地贪夜蛾种群已对 Cry1F 玉米产生抗性^[18]。2008 年巴西首次引进 Cry1Ab 玉米(转化体 MON810),3 年后发现草地贪夜蛾对其产生抗性,2009 年引进 Cry1F 玉米,仍是 3 年时间便产生抗性,2010 年引进 Cry1A.105+Cry2Ab2 玉米,到 2013 年在田间形成了抗性种群^[19]。Huang 等先后报道美国东南部草地贪夜蛾种群对 Cry1F 蛋白和 Cry1A.105 蛋白产生了抗性^[20-21]。2017 年,Chandrasena 等研究发现阿根廷草地贪夜蛾种群对 Cry1F 产生抗性^[11]。

国际上虽然提出了多种抗性治理策略,但以高剂量-庇护所和多基因策略的应用最为广泛。在中国,采用“天然庇护所策略”有效延缓了棉铃虫对 Bt 棉花的抗性发展,利用“人工庇护所策略”有效延缓了红铃虫对 Bt 棉花的抗性发展,从而实现了 Bt-Cry1A 棉花的可持续种植^[22],这为 Bt 玉米的种植提供了成功经验。新杀虫蛋白的研发也为 Bt 抗性治理提供更多的策略,如 Bt 营养期杀虫蛋白(vegetative insecticidal proteins, Vips),该蛋白是苏云金芽胞杆菌在对数生长期分泌产生的,与在芽胞形成

期产生的 Cry 晶体蛋白无交互抗性。表达 Vip3Aa20 蛋白的转基因玉米已在美国、阿根廷和巴西等地商业化种植,该玉米可用于控制已对 Cry 杀虫蛋白产生抗性的草地贪夜蛾种群。到目前为止,在美洲众多商业化种植的 Bt 玉米中,草地贪夜蛾只对 Vip3Aa20 玉米仍然保持较高的敏感性,田间尚未发现该类玉米防治草地贪夜蛾失败的现象^[19]。

中国已有多家公司成功研发了 Bt 抗虫玉米,我们对北京大北农生物技术有限公司研发的 Bt-Cry1Ab(转化体 C0030.3.5)和 Bt-(Cry1Ab+Vip3Aa)玉米(转化体 DBN3601 和 DBN3608)抗虫性的测定表明,中国已具备了研发和商业化种植转基因抗虫玉米的能力。鉴于草地贪夜蛾等鳞翅目害虫为害的严重性,应尽快推动转基因抗虫玉米的商业化进程,要用先进的技术手段服务和支撑中国农作物生产的高质量发展。

参考文献

- [1] TODD E L, POOLE R W. Keys and illustrations for the armyworm moths of the noctuid genus *Spodoptera* Guenée from the western hemisphere [J]. Annals of the Entomological Society of America, 1980, 73(6): 722–738.
- [2] MONTEZANO D. Host plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas [J]. African Entomology, 2018, 26(2): 286–300.
- [3] 吴秋琳,姜玉英,吴孔明,等. 草地贪夜蛾缅甸虫源迁入中国的路径分析[J]. 植物保护, 2019, 45(2): 1–6.
- [4] 姜玉英,刘杰,朱晓明. 草地贪夜蛾侵入我国的发生动态和未来趋势分析[J]. 中国植保导刊, 2019, 39(2): 33–35.
- [5] MURUA G, MOLINA O J, COVIELLA C. Population dynamics of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and its parasitoids in northwestern Argentina [J]. Florida Entomologist, 2006, 89(2): 175–182.
- [6] LIMA M S, SILVA P S L, OLIVEIRA O F, et al. Corn yield response to weed and fall armyworm controls [J]. Planta Daninha, 2010, 28(1): 103–111.
- [7] EARLY R, GONZALEZ-MORENO P, MURPHY S T, et al. Forecasting the global extent of invasion of the cereal pest *Spodoptera frugiperda*, the fall armyworm [J]. NeoBiota, 2018 (40): 25–50.
- [8] RWOMUSHANA I, BATEMAN M, BEALE T, et al. Fall armyworm: impacts and implications for Africa: Evidence Note Update, October 2018 [R]. (2018–11–02) <https://www.researchgate.net/publication/328687643>.
- [9] 赵胜园,孙小旭,张浩文,等. 常用化学杀虫剂对草地贪夜蛾防效的室内测定[J]. 植物保护, 2019, 45(3): 21–26.
- [10] 郭井菲,赵建周,何康来,等. 警惕危险性害虫草地贪夜蛾入

- 侵中国[J]. 植物保护, 2018, 44(6): 1-10.
- [11] CHANDRASENA D I, SIGNORINI A M, ABRATTI G, et al. Characterization of field-evolved resistance to *Bacillus thuringiensis*-derived Cry1F δ -endotoxin in *Spodoptera frugiperda* populations from Argentina [J]. Pest Management Science, 2017, 74(3): 746-754.
- [12] BOTHA A S, ERASMUS A, DU PLESSIS H, et al. Efficacy of Bt maize for control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in South Africa [J/OL]. Journal of Economic Entomology, 2019. doi: 10.1093/jee/toz048.
- [13] 杨学礼, 刘永昌, 罗茗钟, 等. 云南省江城县首次发现迁入我国西南地区的草地贪夜蛾[J]. 云南农业, 2019(1): 72.
- [14] PASHLEY D P, MARTIN J A. Reproductive incompatibility between host strains of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae)[J]. Annals of the Entomological Society of America, 1987, 80(6): 731-733.
- [15] PASHLEY D P. Host-associated genetic differentiation in fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): a sibling species complex? [J]. Annals of the Entomological Society of America, 1986, 79(6): 898-904.
- [16] 张磊, 靳明辉, 张丹丹, 等. 入侵云南草地贪夜蛾的分子鉴定[J]. 植物保护, 2019, 45(2): 19-24.
- [17] 李国平, 姬婷婷, 孙小旭, 等. 入侵云南草地贪夜蛾种群对5种常用 Bt 蛋白的敏感性评价[J]. 植物保护, 2019, 45(3): 15-20.
- [18] STORER N P, BABCOCK J M, SCHLENZ M, et al. Discovery and characterization of field resistance to Bt maize: *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Puerto Rico [J]. Journal of Economic Entomology, 2010, 103(4): 1031-1038.
- [19] FATORETTO J C, MICHEL A P, SILVA FILHO M C, et al. Adaptive potential of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) limits Bt trait durability in Brazil [J/OL]. Journal of Integrated Pest Management, 2017, 8(1): 1-10. doi: 10.1093/jipm/pmx011.
- [20] HUANG F, QURESHI J A, MEAGHER R L, et al. Cry1F resistance in fall armyworm *Spodoptera frugiperda*: single gene versus pyramided Bt maize [J/OL]. PLoS ONE, 2014, 9(11): e112958.
- [21] HUANG F, QURESHI J A, HEAD G P, et al. Frequency of *Bacillus thuringiensis* Cry1A. 105 resistance alleles in field populations of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, in Louisiana and Florida [J]. Crop Protection, 2016, 83: 83-89.
- [22] JIN Lin, ZHANG Haonan, LU Yanhui, 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.
- (责任编辑: 杨明丽)
- ~~~~~
- (上接 47 页)
- [8] 王磊, 陈科伟, 钟国华, 等. 重大入侵害虫草地贪夜蛾发生危害、防控研究进展及防控策略探讨[J/OL]. 环境昆虫学报, 2019. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1640.Q.20190523.1748.004.html>.
- [9] PHILLIP S J, ANDERSON R P, SCHAPIRE R E. Maximum entropy modeling of species geographic distributions [J]. Ecological Modelling, 2006, 190(3): 231-259.
- [10] MEROW C, SMITH M J, SILANDER J A. A practical guide to MaxEnt for modeling species' distributions: what it does, and why inputs and settings matter [J]. Ecography, 2013, 36(10): 1058-1069.
- [11] 孔维尧, 李欣海, 邹红菲. 最大熵模型在物种分布预测中的优化[J/OL]. 应用生态学报, 2019. <https://doi.org/10.13287/j.1001-9332.201906.029>.
- [12] BUENO R C O F, CARNEIRO T R, PRATISSOLI D, et al. Biology and thermal requirements of *Telenomus remus* reared on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* eggs [J]. Ciência Rural, 2008, 38(1): 1-6.
- [13] GARCIA A G, GODOY W A C, THOMAS J M G, et al. Delimiting strategic zones for the development of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) on corn in the state of Florida [J]. Journal of Economic Entomology, 2017, 111(1): 120-126.
- [14] HIJMANS R J, CAMERON S E, PARRA J L, et al. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas [J]. International Journal of Climatology: A Journal of the Royal Meteorological Society, 2005, 25(15): 1965-1978.
- [15] YOUNG N, CARTER L, EVANGELISTA P. A MaxEnt model v3. 3. 3 e tutorial (ArcGIS v10)[Z]. Fort Collins, Colorado, 2011.
- [16] 吴秋琳, 姜玉英, 吴孔明. 草地贪夜蛾缅甸虫源迁入中国的路径分析[J]. 植物保护, 2019, 45(2): 1-6.
- [17] 吴秋琳, 姜玉英, 胡高, 等. 中国热带和南亚热带地区草地贪夜蛾春夏两季迁飞轨迹的分析[J]. 植物保护, 2019, 45(3): 1-9.
- [18] 张磊, 靳明辉, 张丹丹, 等. 入侵云南草地贪夜蛾的分子鉴定[J]. 植物保护, 2019, 45(2): 19-24.
- [19] 朱耿平, 王晓静, 刘国卿, 等. 悬铃木方翅网蝽在中国的潜在分布分析[J]. 应用昆虫学报, 2012, 49(6): 1652-1658.
- [20] 秦誉嘉, 吕文诚, 赵守歧, 等. 考虑灌溉及气候变化条件下葡萄花翅小卷蛾在中国的潜在地理分布[J]. 植物保护学报, 2018, 45(3): 599-605.
- [21] KRITICOS D J, MAYWALD G F, YONOW T, et al. CLIMEX version 4; Exploring the effects of climate on plants, animals and diseases [Z]. CSIRO, Canberra, 2015.
- [22] DUMAS P, LEGEI F, LEMAITRE C, et al. *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) host-plant variants: two host strains or two distinct species? [J]. Genetica, 2015, 143(3): 305-316.
- [23] COCK M J, BESEH P K, BUDDIE A G, et al. Molecular methods to detect *Spodoptera frugiperda* in Ghana, and implications for monitoring the spread of invasive species in developing countries [J/OL]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 4103.
- (责任编辑: 杨明丽)