



昆虫分子毒理学实验室

Lab of Insect Molecular Toxicology

团队成员



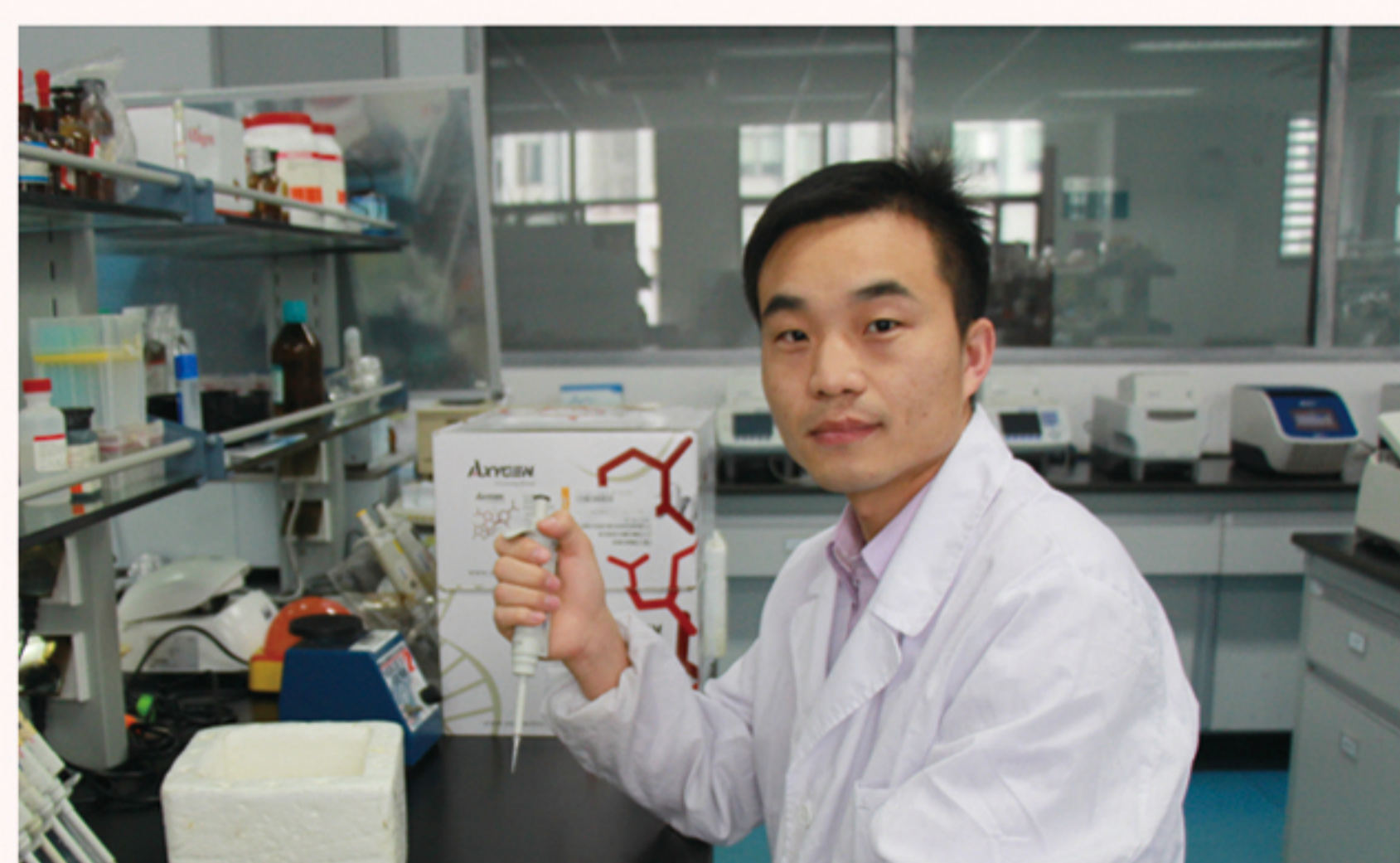
吴益东
教授 博士生导师



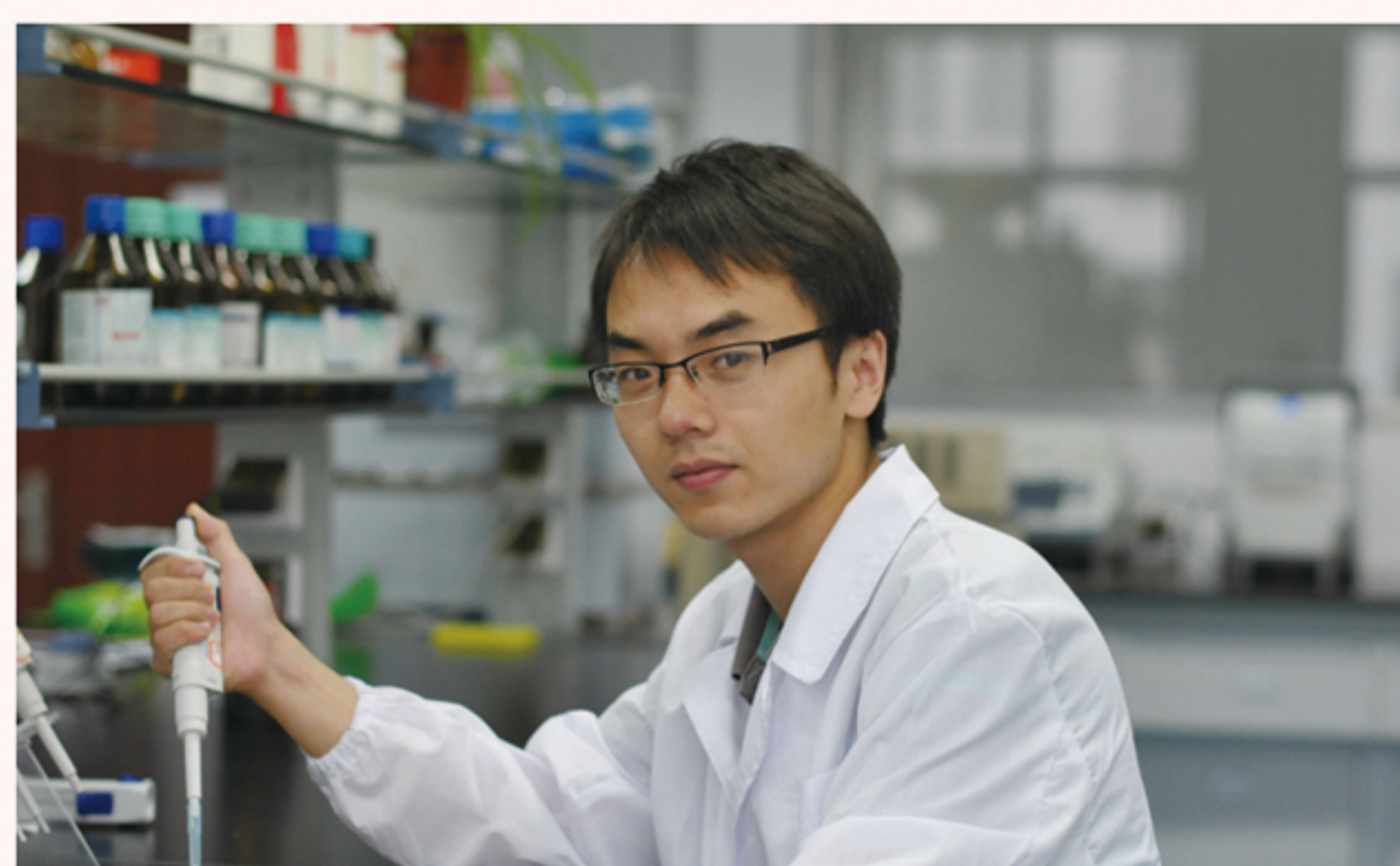
杨亦桦
教授 博士生导师



武淑文
副教授 硕士生导师



王兴亮
博士



张浩男
博士

研究内容

针对我国棉花害虫（棉铃虫、棉盲蝽）和
蔬菜害虫（小菜蛾、甜菜夜蛾）抗药性问题，
重点研究：

- (1) 重要害虫抗药性检测和监测技术；
- (2) 重要害虫Bt抗性演化的分子机理；
- (3) 重要害虫杀虫剂抗性的分子机理；
- (4) 重要害虫抗药性治理策略和技术。

承担科研项目 (2000-2014)

项目类别	项目数
国家自然科学基金	8
转基因重大专项	4
863项目	3
行业科研专项	5
国际合作项目	2
横向合作项目	2
合计	24

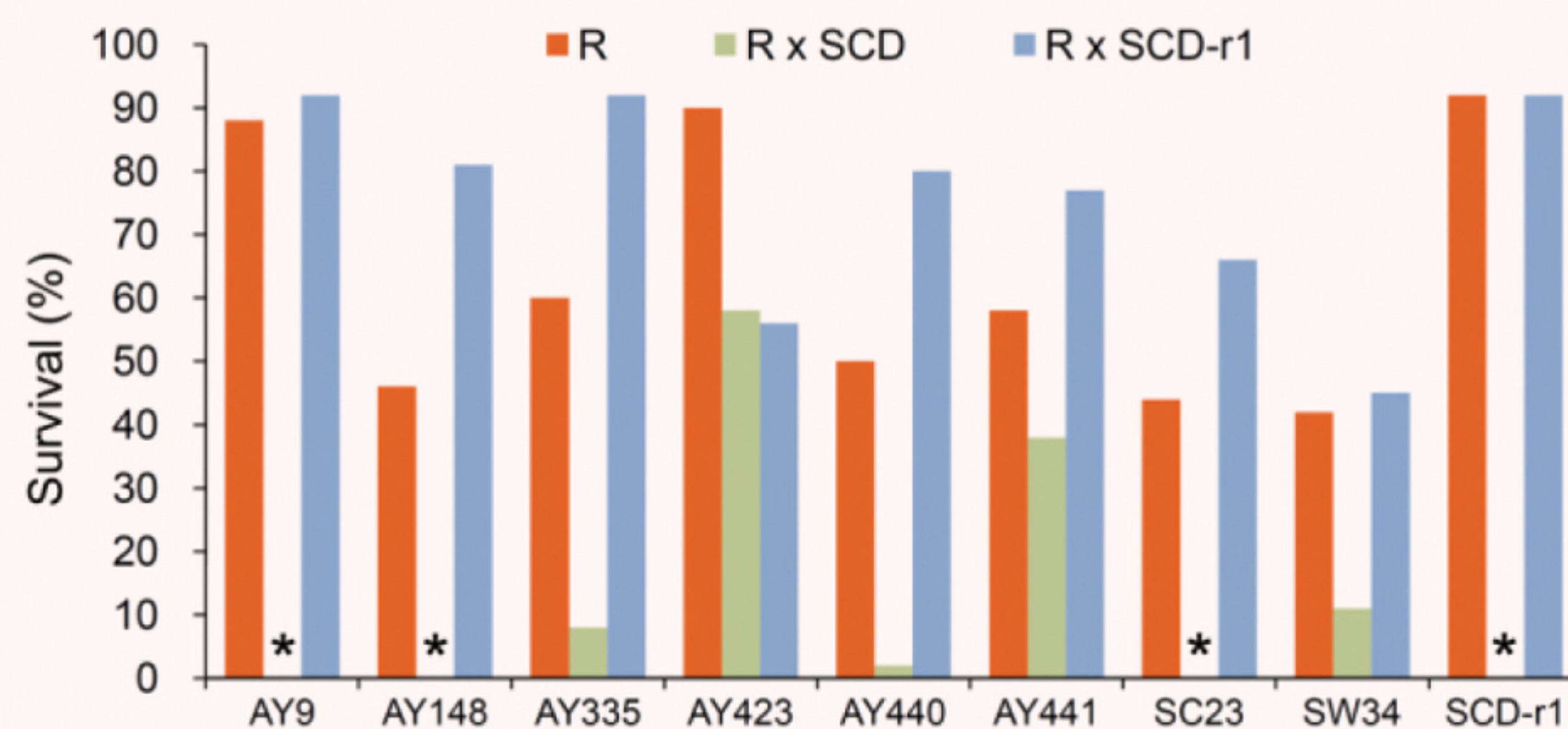
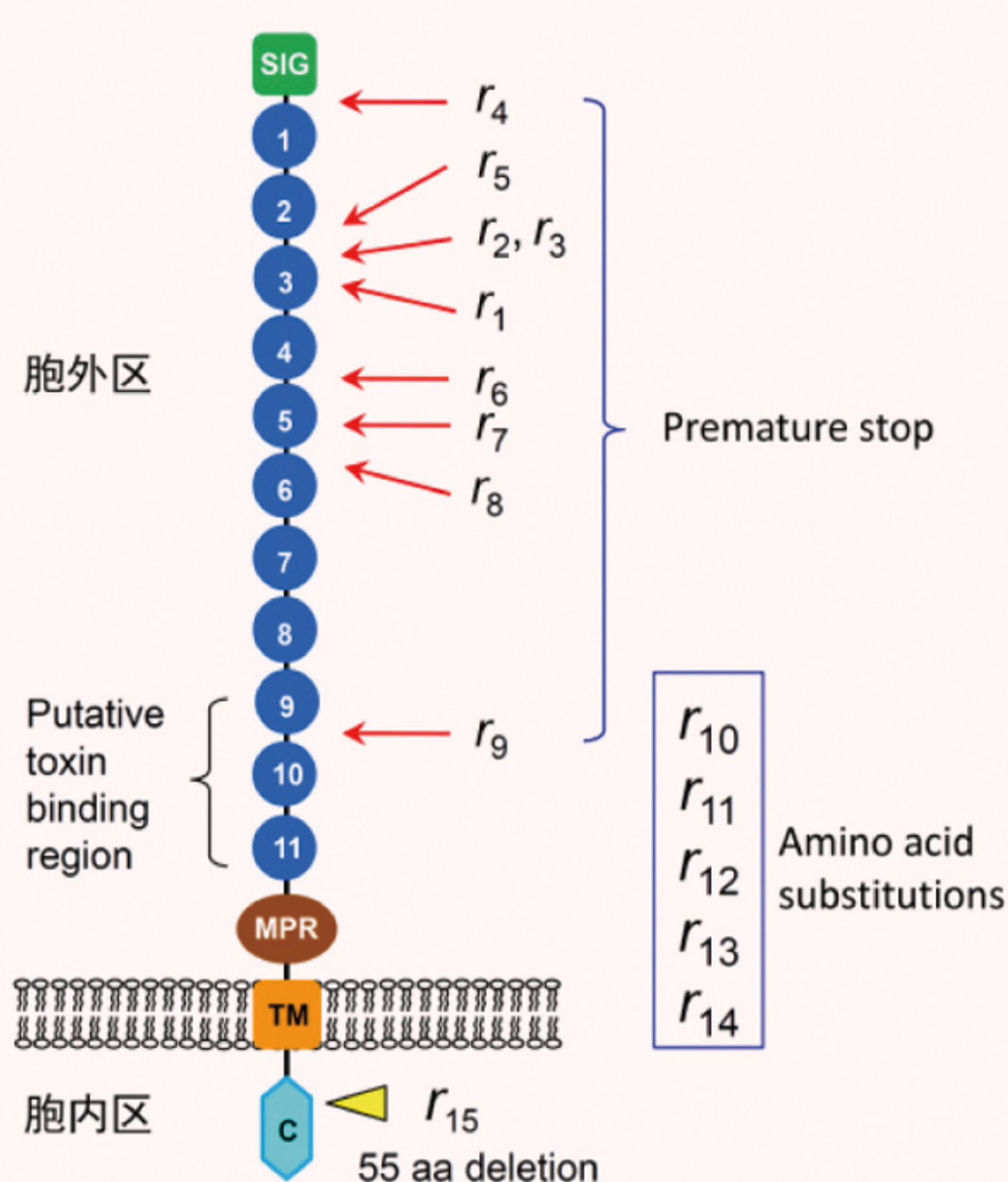
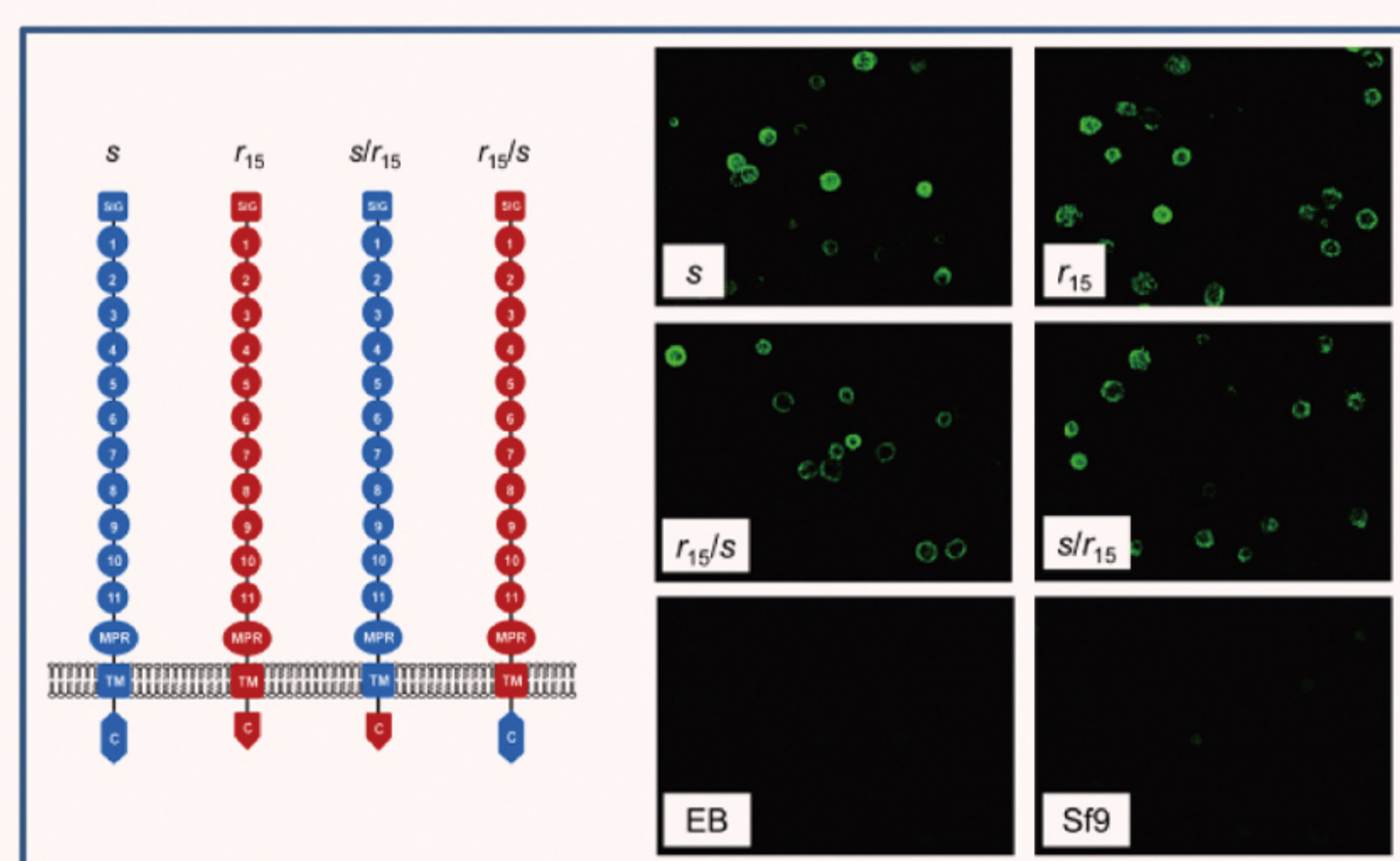
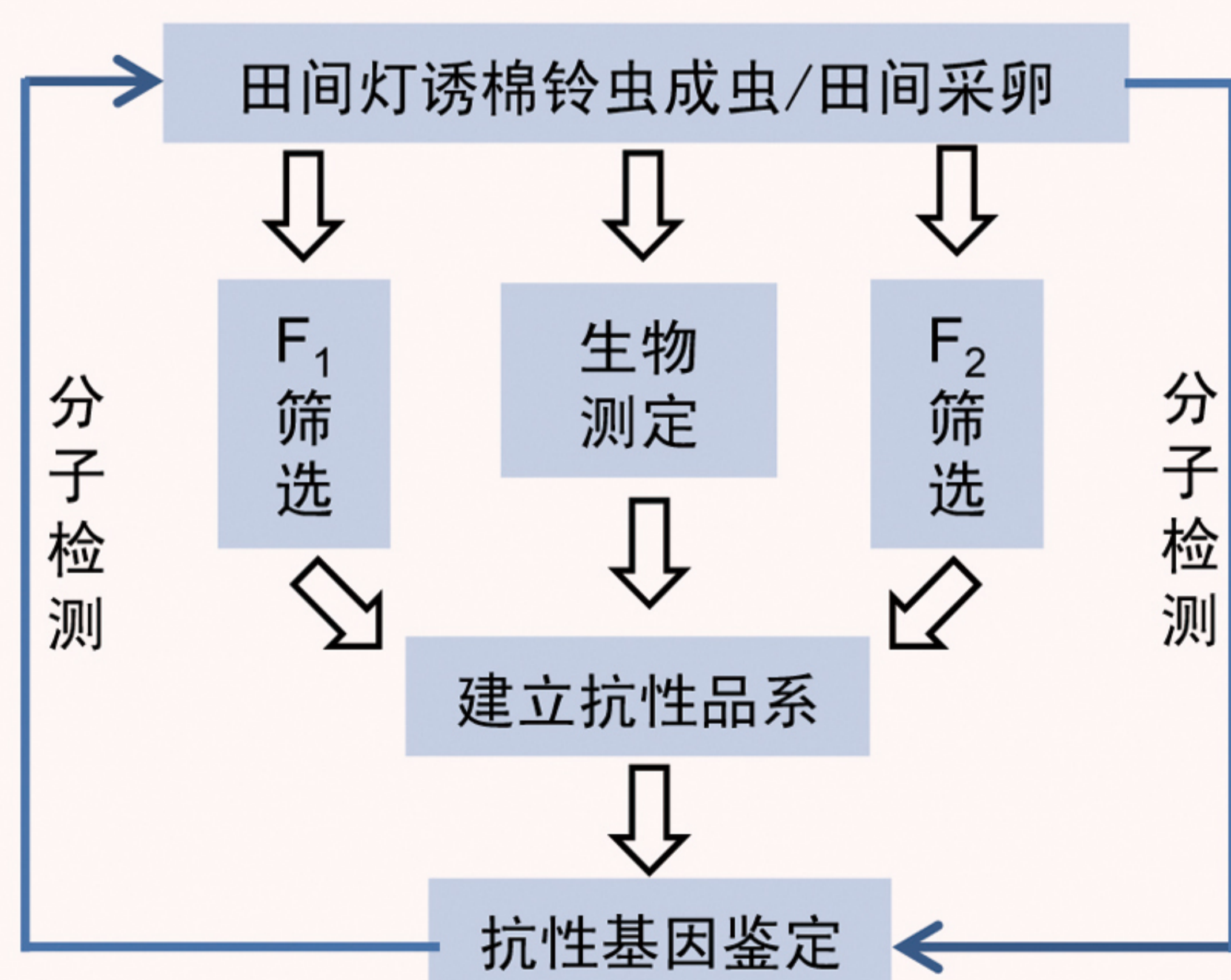


昆虫分子毒理学实验室 Lab of Insect Molecular Toxicology

棉铃虫对Bt棉花的抗性检测与抗性机理

我国自1997年开始种植Bt棉花，目前每年种植5000多万亩，占棉花总面积的70%。Bt棉花的大规模种植有效控制了棉铃虫的为害，降低了对化学杀虫剂的依赖，取得了显著的经济和生态效益。但是棉铃虫对Bt棉花的抗性演化将严重影响Bt棉花的使用寿命。

本实验室围绕棉铃虫对Bt棉花的抗性机理和抗性检测开展了10多年的系统研究。建立了一套完整的棉铃虫Bt抗性检测体系，通过对1000多个单对品系的筛查摸清了Bt抗性基因的遗传多样性，明确了钙粘蛋白基因突变在棉铃虫Bt抗性中的作用。相关研究成果已发表于PNAS (2012)。



棉铃虫钙粘蛋白抗性位点基因突变的多样性
Diverse cadherin mutations in cotton bollworm

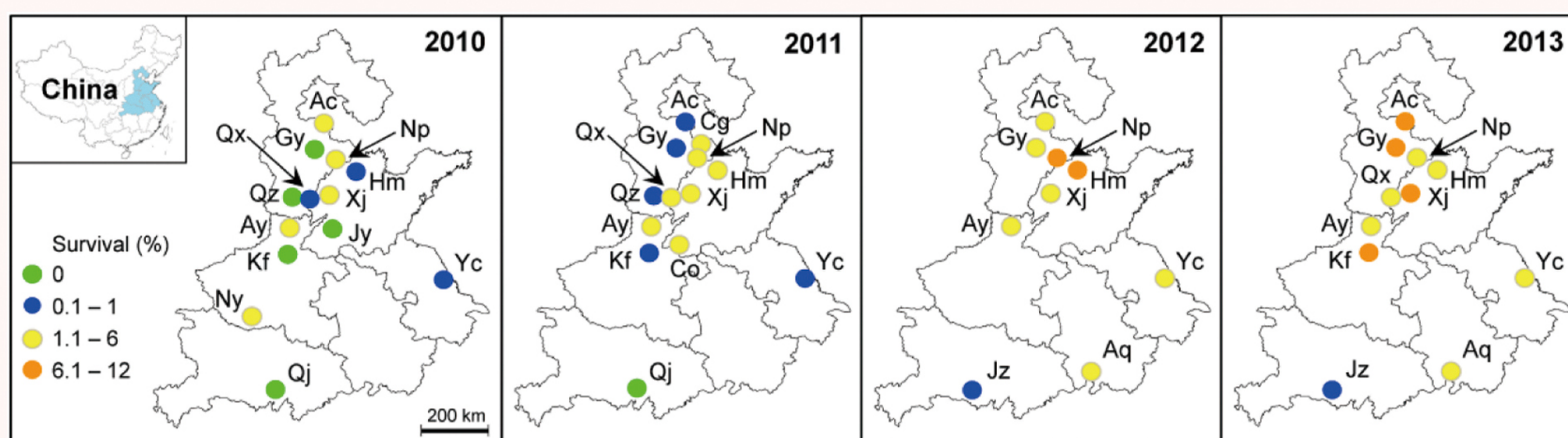
抗性基因 R allele	HaCad r ₁	HaCad r ₉	HaCad r ₁₀	Non-HaCad	HaCad r ₁₁	HaCad r ₁₂	HaCad r ₁₃	HaCad r ₁₄	HaCad r ₁
显隐性 Dominance	隐性 Recessive	隐性 Recessive	隐性 Recessive	显性 Dominant	隐性 Recessive	显性 Dominant	隐性 Recessive	隐性 Recessive	隐性 Recessive



昆虫分子毒理学实验室 Lab of Insect Molecular Toxicology

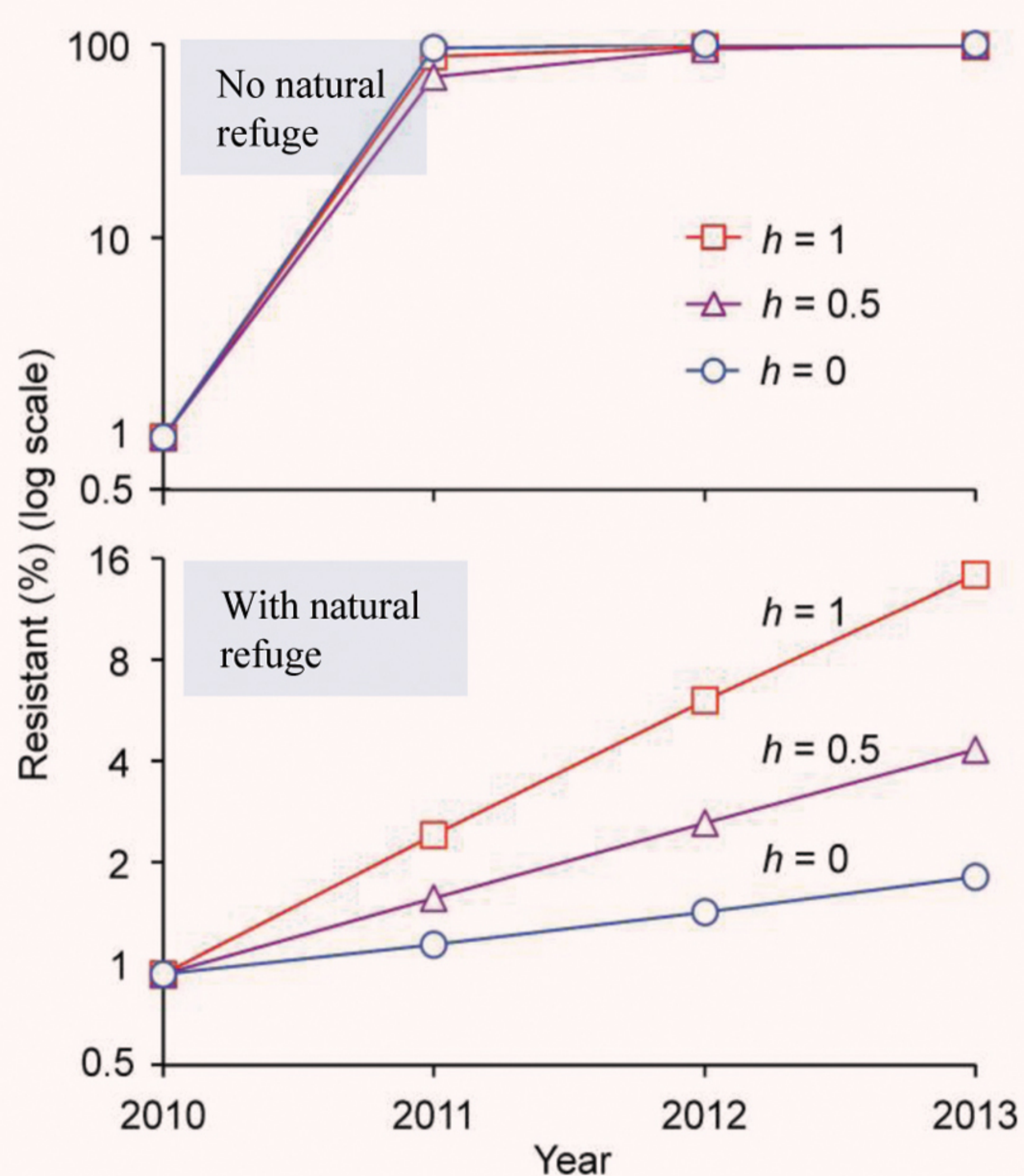
棉铃虫对Bt棉花的抗性治理策略

庇护所策略是目前最主要的减缓害虫Bt抗性的措施，我国黄河流域和长江流域棉区棉花种植是典型的小农种植模式，难以实施统一的庇护所策略，但玉米、花生、芝麻等其它寄主作物为棉铃虫提供了天然庇护所。本实验室连续4年对棉铃虫田间种群进行了Bt抗性检测，结合计算机模拟首次证实了天然庇护所能够延缓棉铃虫Bt抗性的发展。该成果发表于Nature Biotechnology (IF=39.1)。

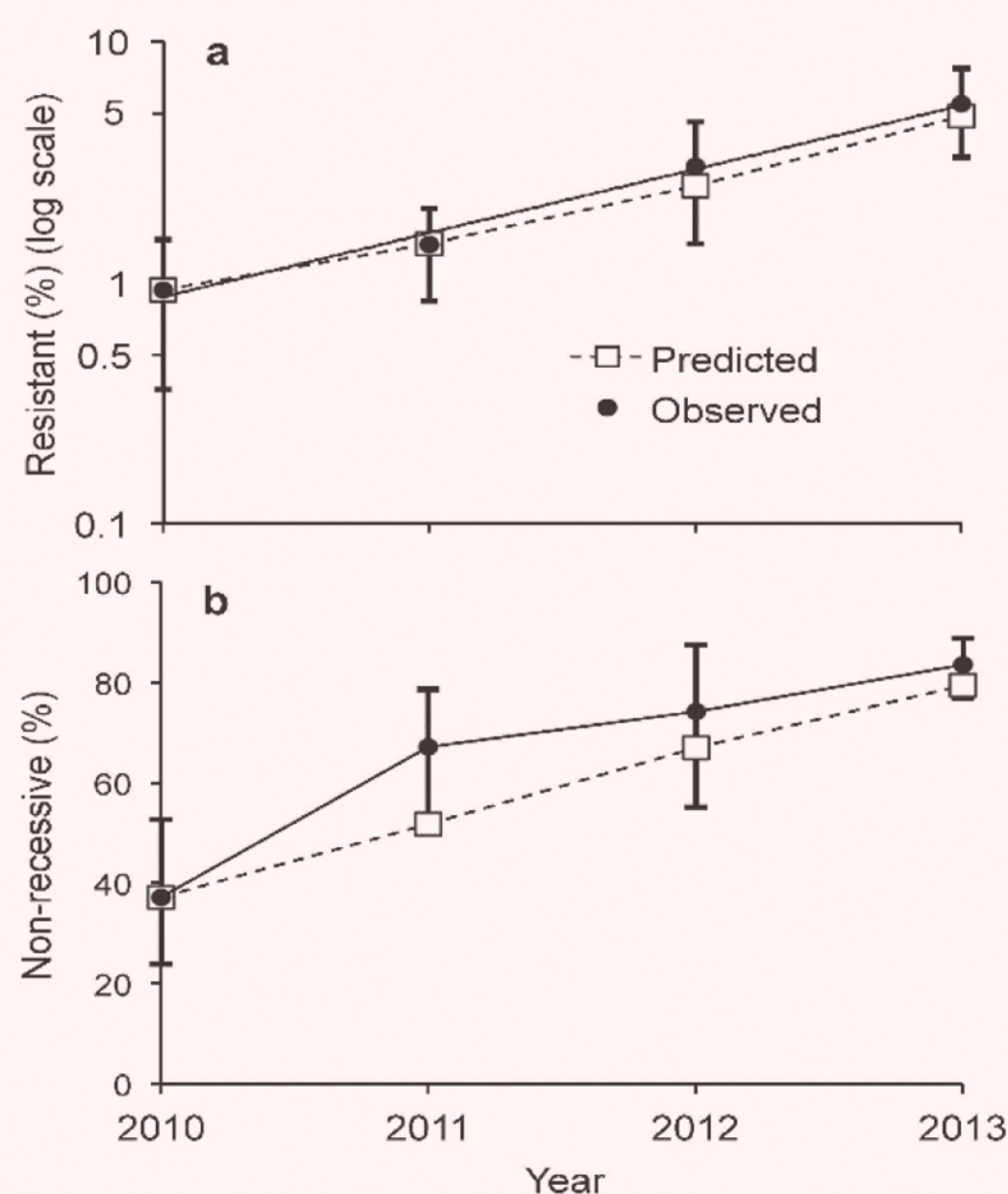


华北棉区棉铃虫Bt抗性个体频率逐年上升
Percentage of Bt resistant individuals increased year by year
in populations of cotton bollworm from northern China

Computer simulations



Predicted vs observed



天然庇护所能够延缓棉铃虫Bt抗性演化
Natural refuges delay resistance of *Helicoverpa armigera* to Bt cotton



昆虫分子毒理学实验室 Lab of Insect Molecular Toxicology

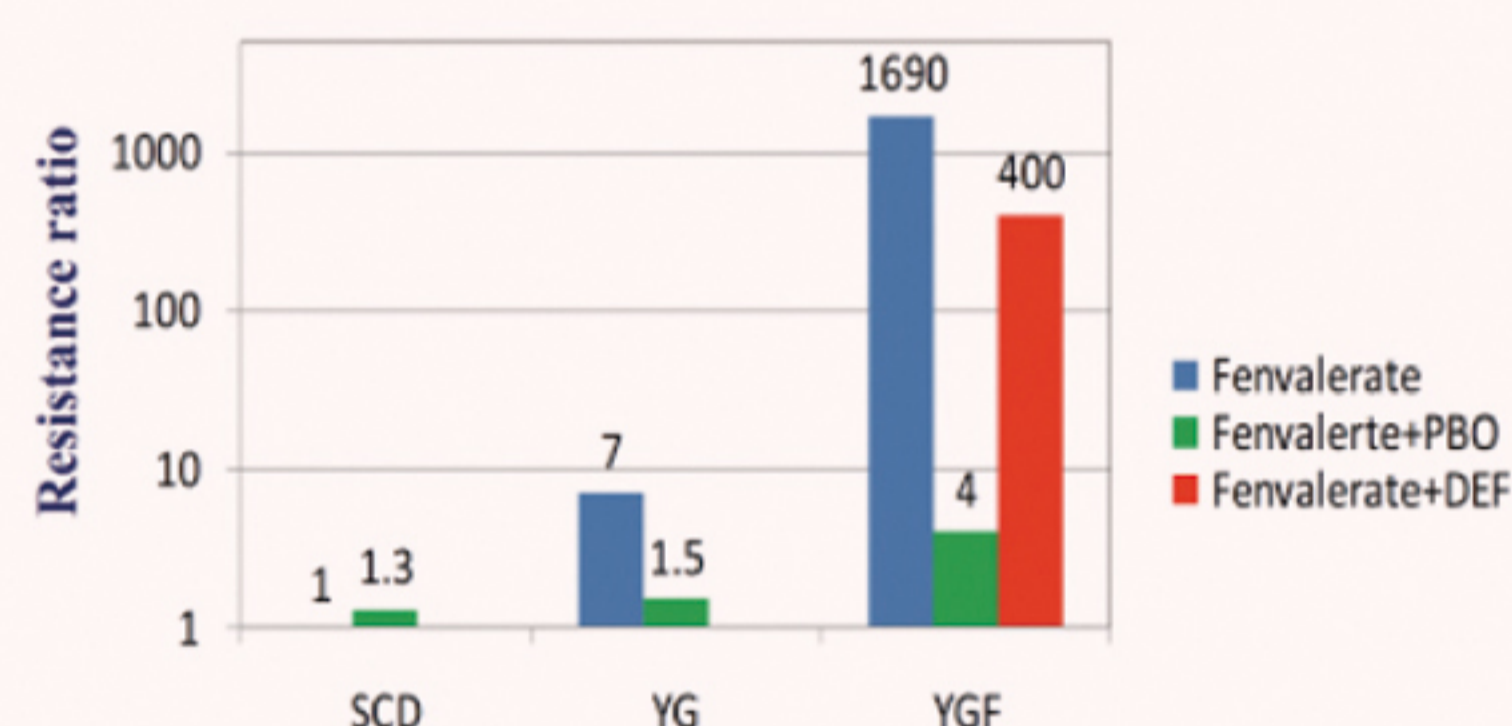
棉铃虫对拟除虫菊酯抗性的生化和分子机理

二十世纪九十年代初，棉铃虫在全国范围内暴发成灾，其主要原因之一是棉铃虫对拟除虫菊酯产生了高水平抗性导致田间防治失效。针对这一重大问题，自1990年起对棉铃虫氰戊菊酯抗性遗传特性和抗性机理进行了系统研究。

我们研究证实了多功能氧化酶解毒代谢增强是亚洲棉铃虫田间种群对拟除虫菊酯的主要抗性机理，发现了棉铃虫氰戊菊酯抗性品系氧化解毒作用增强是由多个细胞色素P450基因过量表达所致。并在此基础上，提出了棉铃虫氧化酶和酯酶对拟除虫菊酯的协同解毒模型。

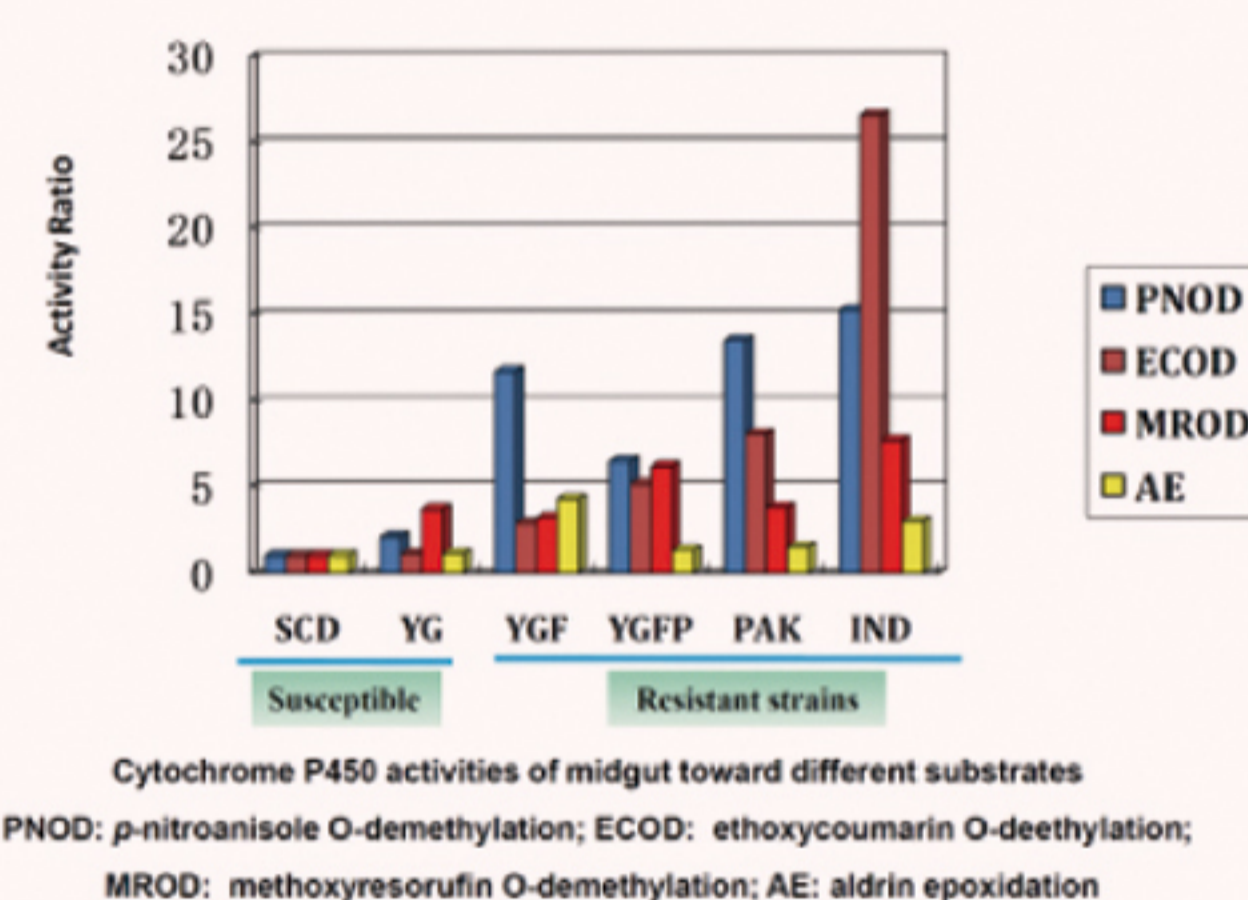
Toxicological evidence

- 增效醚 (PBO) 对氰戊菊酯具有400倍的增效作用，而脱叶磷 (DEF) 只有4倍的增效作用
- 氧化解毒作用增强对抗性的贡献高于酯酶介导的水解代谢



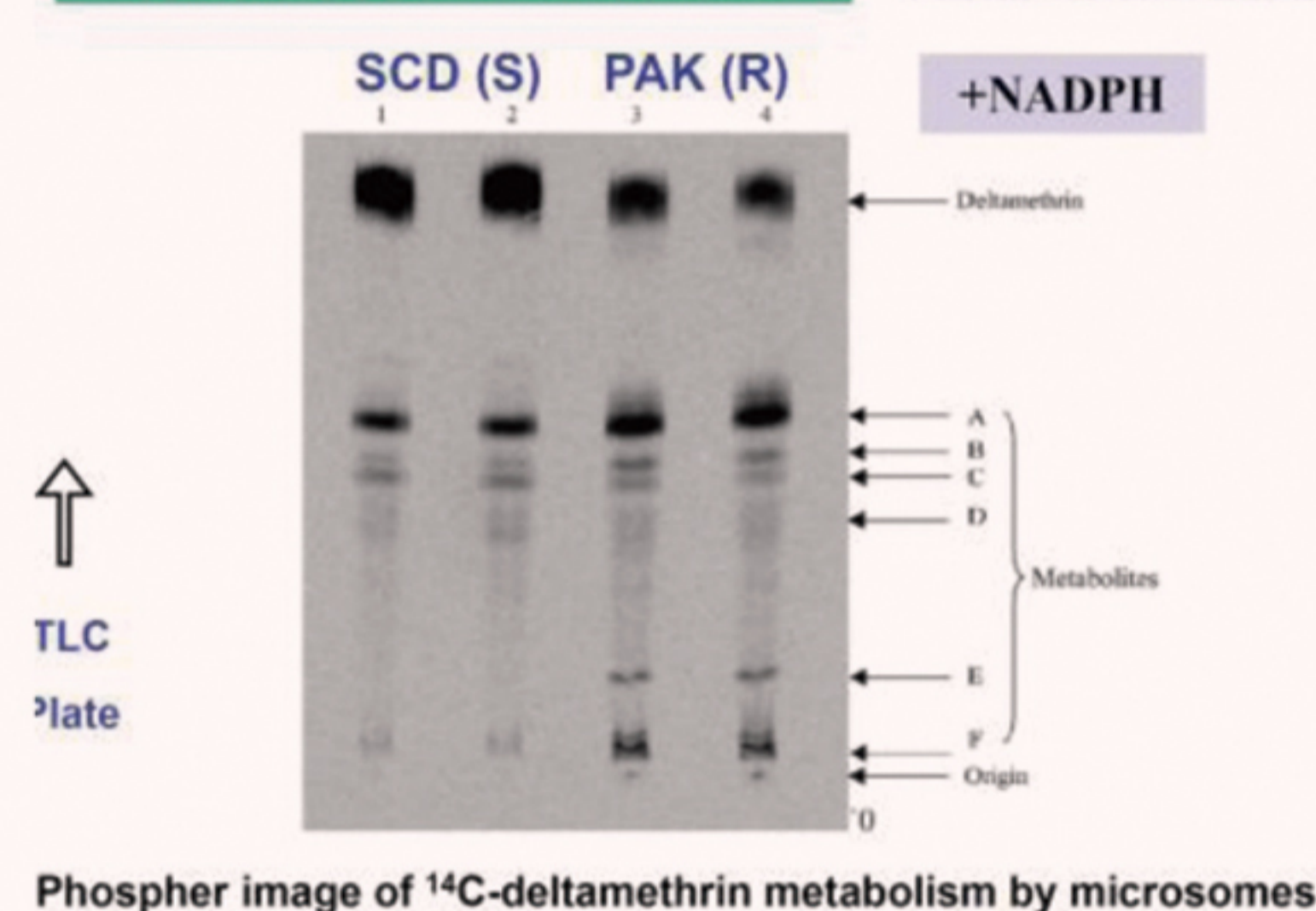
Biochemical evidence

细胞色素P450氧化酶



Metabolism evidence

细胞色素P450氧化酶

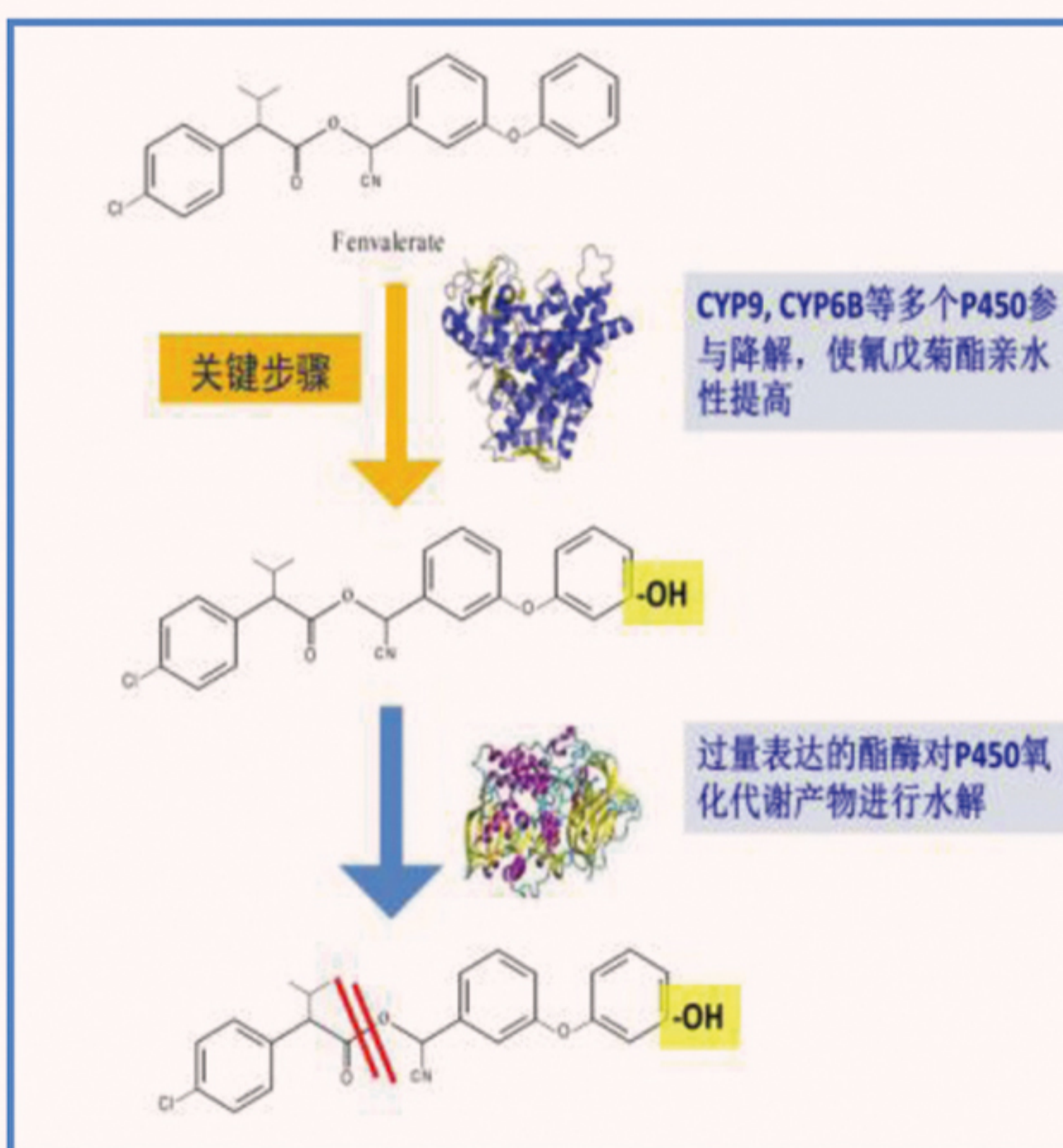


Molecular evidence

细胞色素P450氧化酶

Tissue	Strain	CYP9A12		CYP9A14	
		Relative expression	Ratio	Relative expression	Ratio
Midgut	YG (S)	1		254	
	YGF (R)	19	19	1082	4.3
Fatbody	YG (S)	0.09		1.2	
	YGF (R)	39	433	71	59

CYP9A12和CYP9A14基因mRNA在抗性品系中过量表达



棉铃虫氧化酶和酯酶对拟除虫菊酯的协同解毒

Molecular evidence

羧酸酯酶

Expression levels of esterase genes in the midgut and fat body of final instar larvae of YGF and SCD strains of *H. armigera* by quantitative PCR relative to *EF-1a*.

	SCD	YGF	YGF/SCD
CCE001a-fat body	0.014 ± 0.013	1.256 ± 0.520	90 ²
CCE001a-midgut	0.109 ± 0.033	0.241 ± 0.083	2 ²
CCE001d-fat body	0.010 ± 0.013	0.075 ± 0.089	8
CCE001d-midgut	0.114 ± 0.017	0.410 ± 0.213	4
CCE001i-fat body	0.205 ± 0.202	0.250 ± 0.144	1
CCE001i-midgut	0.043 ± 0.006	0.393 ± 0.228	9 ²
CCE001j-fat body	0.550 ± 0.485	1.912 ± 0.714	3 ²
CCE001j-midgut	0.123 ± 0.047	0.256 ± 0.092	2 ²

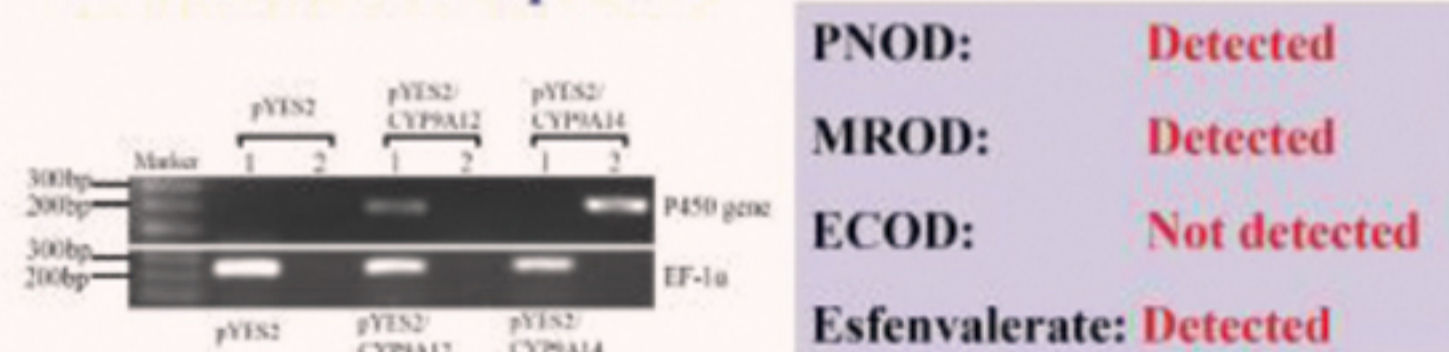
² Expression levels in the two strains were significantly different (*t*-test, *P* < 0.05).

3个羧酸酯酶基因mRNA在抗性品系中过量表达

Molecular evidence

细胞色素P450氧化酶

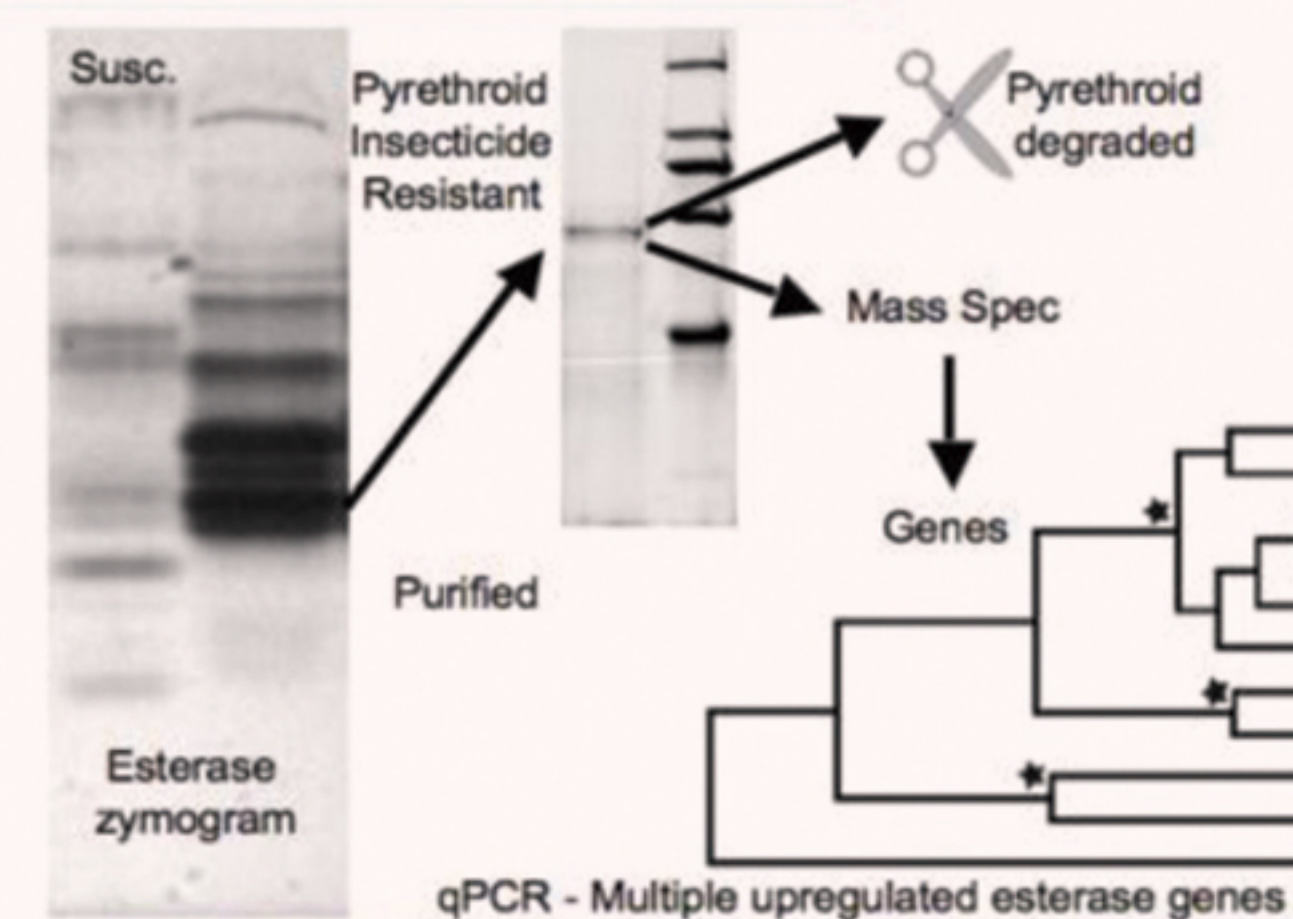
- Yeast strain: W(R)
- Shuttle vector: pYES2



CYP9A12和CYP9A14在酵母中离体表达
表达产物能够降解氰戊菊酯

Molecular evidence

羧酸酯酶



通过质谱鉴定, 抗性品系中过量表达的酯酶同工酶包含4种羧酸酯酶基因所编码的酯酶蛋白



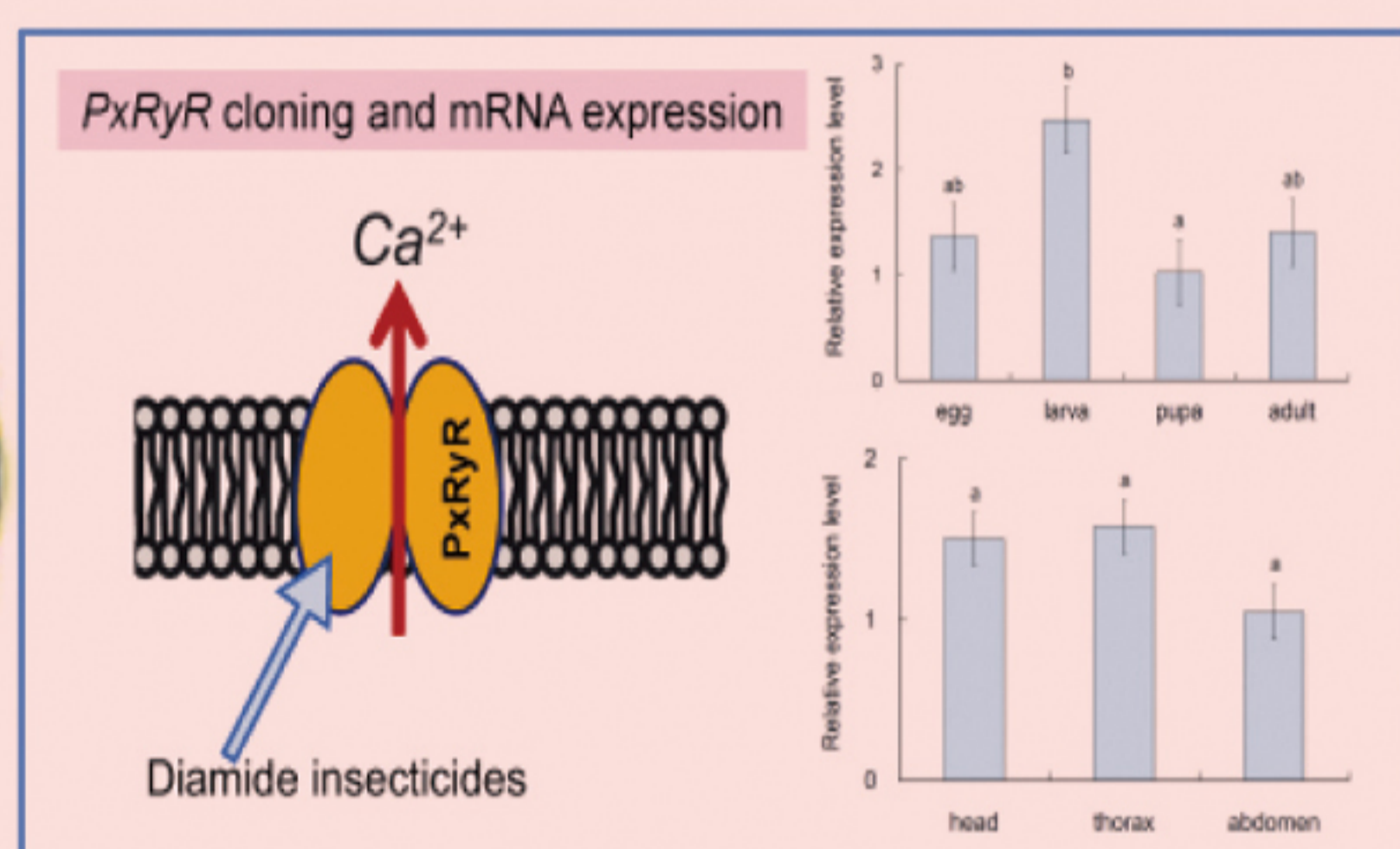
昆虫分子毒理学实验室 Lab of Insect Molecular Toxicology

小菜蛾对新型杀虫剂抗性的特征和机理

小菜蛾是全球范围内严重为害十字花科蔬菜生产的主要害虫，每年造成的经济损失和防治费用高达40~50亿美元。我国十字花科蔬菜品种丰富、产量居世界之首，为小菜蛾提供了充足的食物来源，不合理的杀虫剂使用措施使该物种在多个省份暴发成灾，抗性治理形势十分严峻。

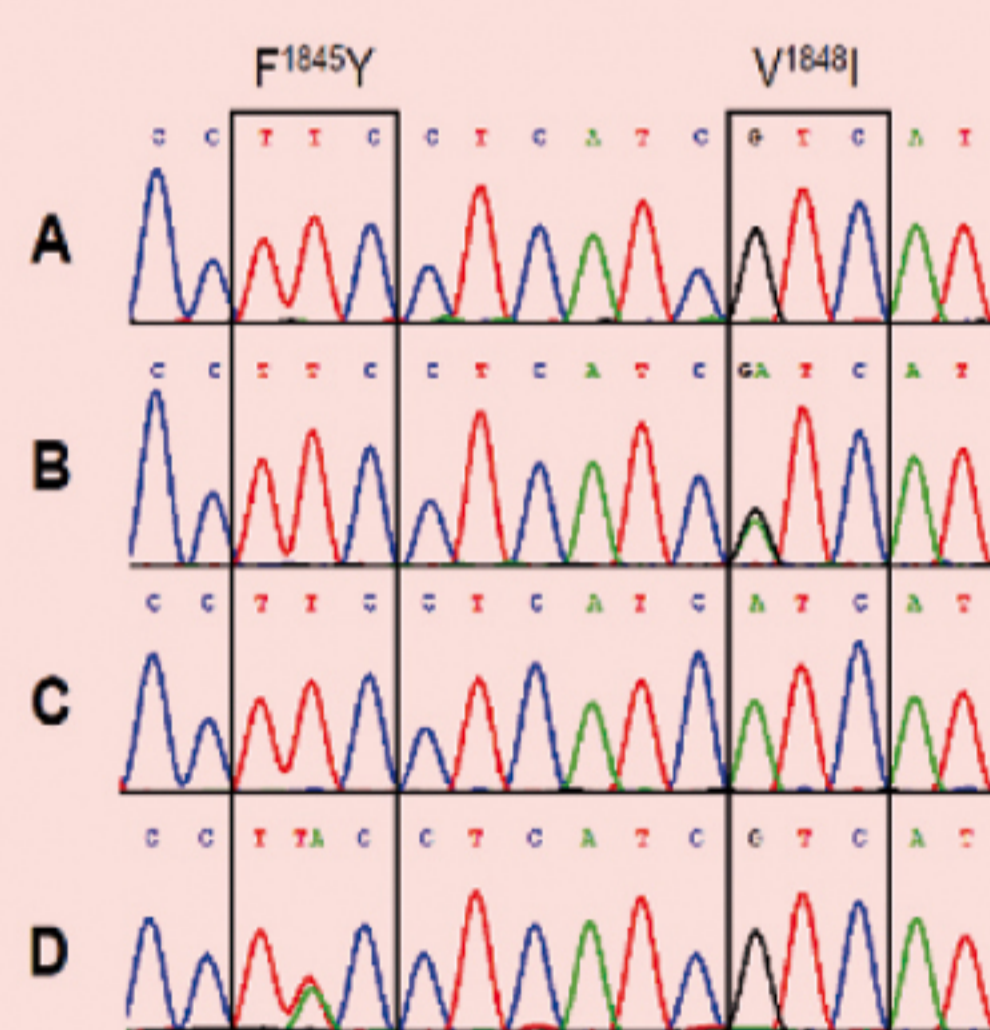
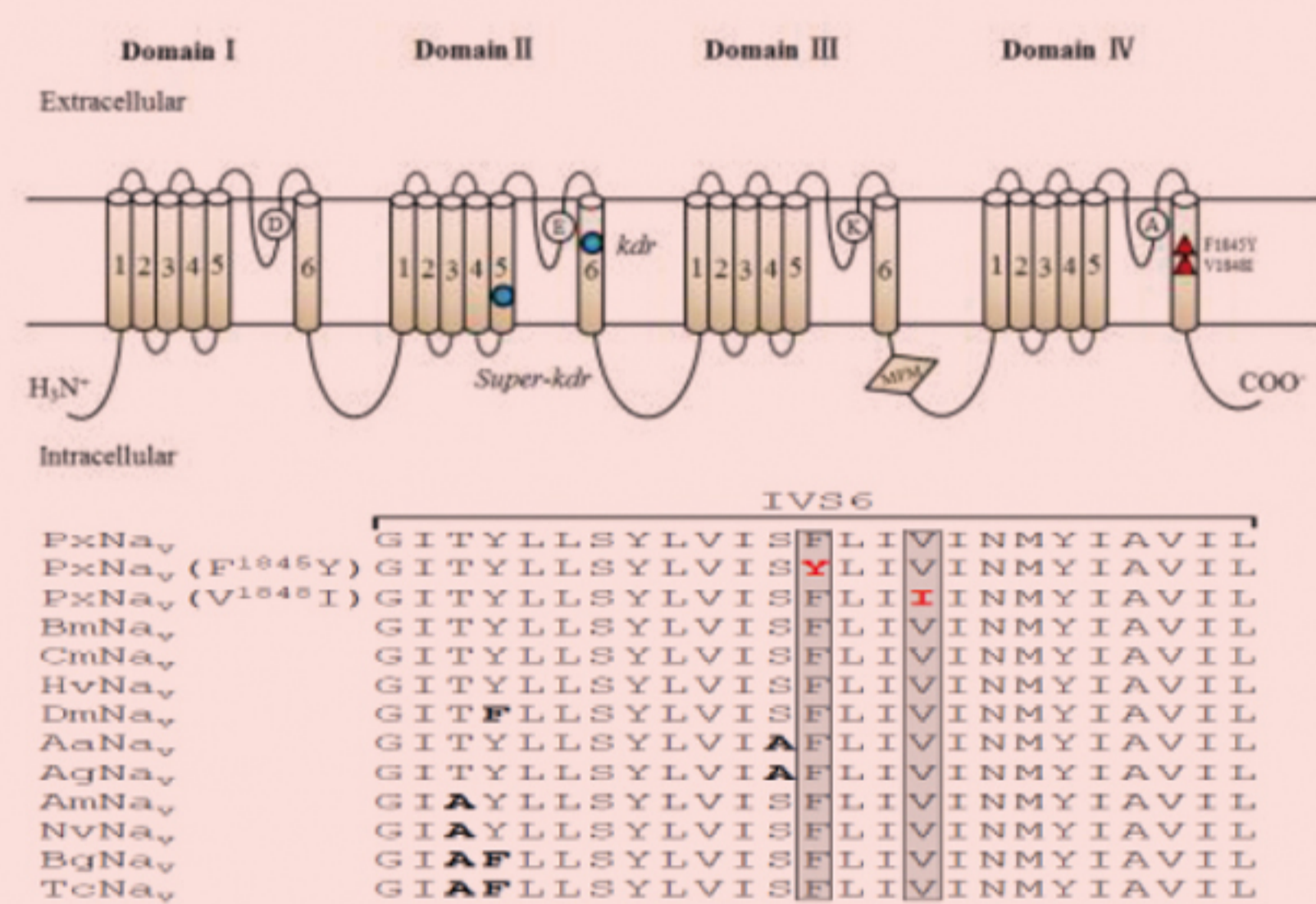
本实验室在国家公益性行业（农业）科研专项、863子课题和国家自然科学基金的持续资助下，历时十余年开展了小菜蛾对多种新型杀虫剂抗性特征和机理研究，研究结果为制订轮换施药策略和抗性分子检测技术提供了科学依据。

◆小菜蛾对氯虫苯甲酰胺抗性的研究



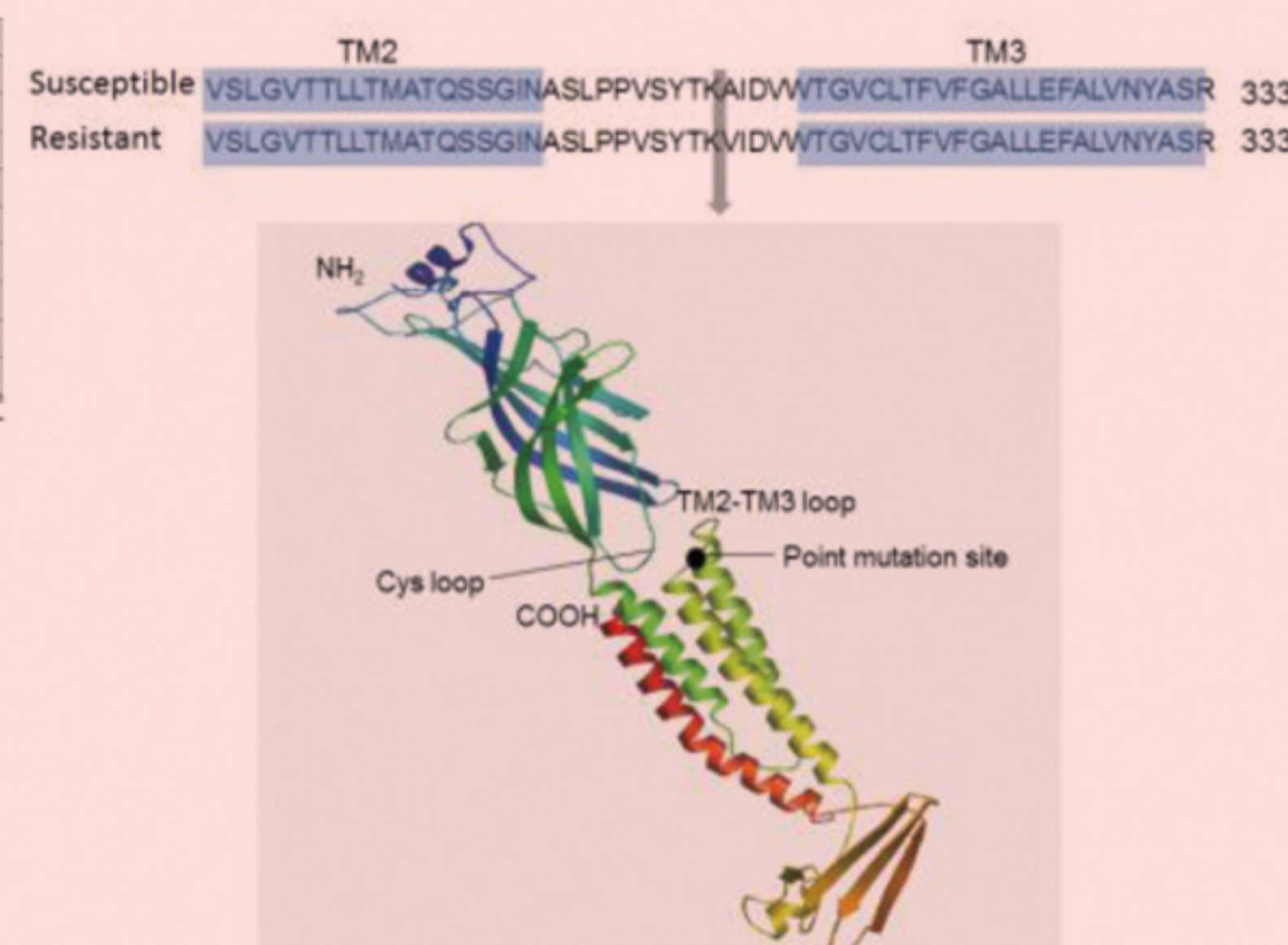
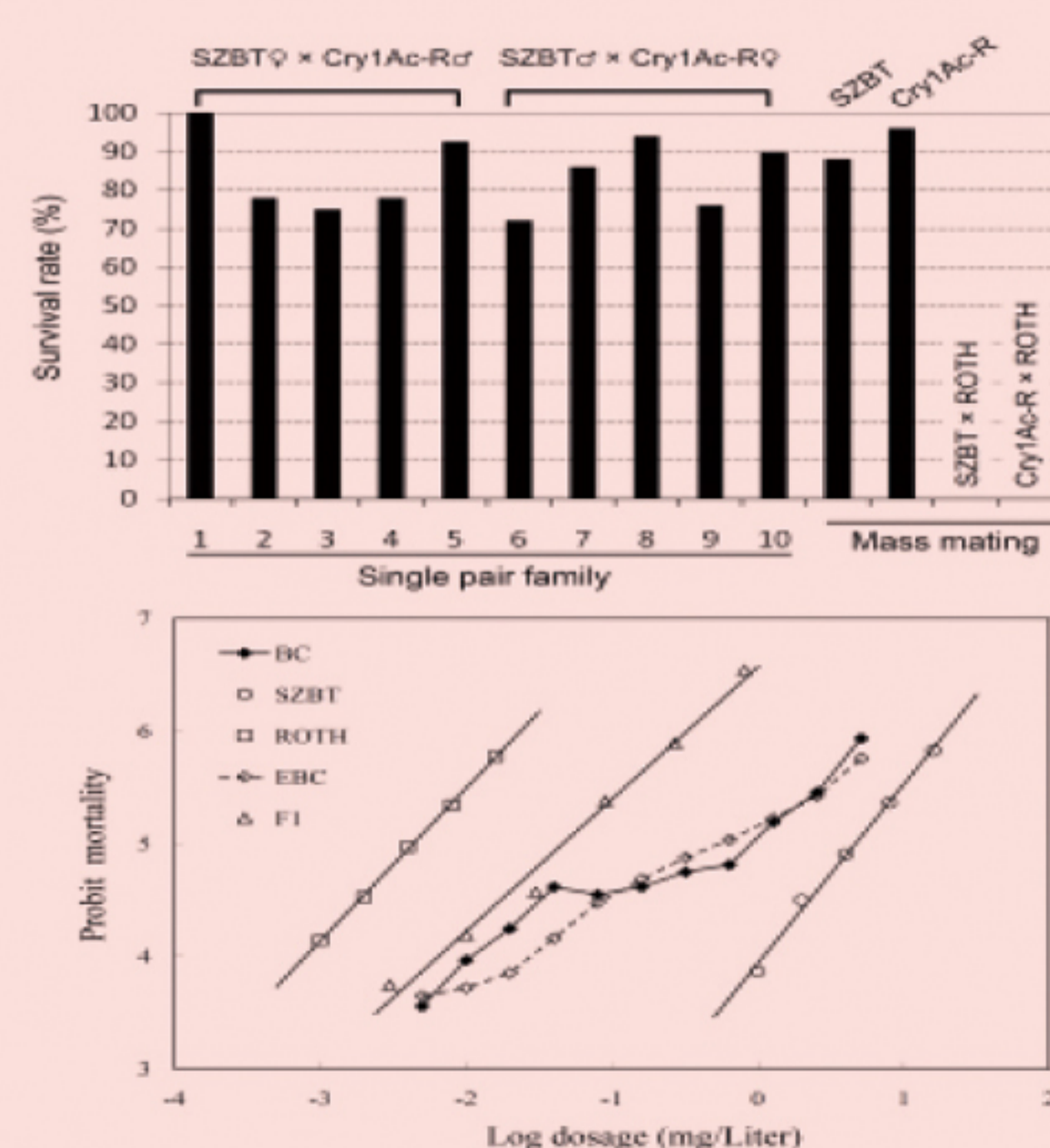
- 建立了敏感毒力基线
- 克隆了鱼尼丁受体基因(PxRyR)
- 监测到广东珠三角小菜蛾的抗性
- 明确了抗性遗传、交互抗性及抗性稳定性

◆小菜蛾对SCBIs类杀虫剂抗性的研究



- 调查了氟氯虫腴的敏感性
- 明确了解毒代谢对种群抗性的贡献度
- 检测到茚虫威与氟氯虫腴的交互抗性
- 首次发现PxNav突变与SCBIs类杀虫剂抗性相关

◆小菜蛾对阿维菌素、多杀菌素、氟虫腴和Bt抗性的研究



- 高水平抗性品系
- 交互抗性谱
- 抗性遗传方式
- 抗性生化与分子机理



昆虫分子毒理学实验室

Lab of Insect Molecular Toxicology

代表性论文

- ◆Wu, Yidong. 2014. Detection and mechanisms of resistance evolved in insects to Cry toxins from *Bacillus thuringiensis*. *Advances in Insect Physiology* 47: 297–342. (Review)
- ◆Jin *et al.* 2014. Large-scale test of the natural refuge strategy for delaying insect resistance to transgenic crops. *Nature Biotechnology* (in press).
- ◆Jin *et al.* 2013. Dominant resistance to Bt cotton and minor cross-resistance to Bt toxin Cry2Ab in cotton bollworm from China. *Evolutionary Applications* 6(8):1222–1235.
- ◆Wang *et al.* 2013. Characterisation of field-evolved resistance to chlorantraniliprole in the diamondback moth, *Plutella xylostella*, from China. *Pest Management Science* 69(5): 661–665.
- ◆Zhang *et al.* 2012. Diverse genetic basis of field-evolved resistance to Bt cotton in cotton bollworm from China. *PNAS* 109(26):10275–10280.
- ◆Zhang *et al.* 2011. Early warning of cotton bollworm resistance associated with Intensive planting of Bt cotton in China. *PLoS ONE* 6(8): e22874.
- ◆Wu *et al.* 2011. Overexpressed esterases in a fenvalerate resistant strain of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 41(1):14–21.
- ◆Wang *et al.* 2010. Biotype and insecticide resistance status of the whitefly *Bemisia tabaci* from China. *Pest Management Science* 66(12):1360–1366.
- ◆Gong *et al.* 2010. Characterization of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac in *Plutella xylostella* from China. *Journal of Invertebrate Pathology* 104(2):90–96.
- ◆Pu *et al.* 2010. Characterization of abamectin resistance in a field-evolved multi-resistant population of *Plutella xylostella*. *Pest Management Science* 66(4):371–378.
- ◆Zhao *et al.* 2010. Diverse cadherin mutations conferring resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac in *Helicoverpa armigera*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 40(2):113–118.
- ◆Yang *et al.* 2007. Mutated cadherin alleles from a field population of *Helicoverpa armigera* confer resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac. *Applied and Environmental Microbiology* 71(21):6939–6944.
- ◆Yang *et al.* 2006. Identification and molecular detection of a deletion mutation responsible for a truncated cadherin of *Helicoverpa armigera*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 36(9):735–740.
- ◆Xu *et al.* 2005. Disruption of a cadherin gene associated with resistance to Cry1Ac δ -endotoxin of *Bacillus thuringiensis* in *Helicoverpa armigera*. *Applied and Environmental Microbiology* 71(2):948–954.
- ◆Yang *et al.* 2004. The involvement of microsomal oxidases in pyrethroid resistance in *Helicoverpa armigera* from Asia. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 34(8):763–773.

获奖成果

- ◆棉铃虫对Bt棉花抗性风险评估及预防性治理技术的研究与应用，2010年度国家科学技术进步奖二等奖,吴益东(第3完成人)
- ◆五种重要农业害虫抗药性的生化和分子机理，2006年度教育部自然科学奖二等奖，吴益东（第2完成人）
- ◆棉铃虫对拟除虫菊酯抗药性研究，1998年度教育部科技进步二等奖，吴益东（第1完成人）

国际合作

与美国University of Arizona昆虫系、美国Cornell University昆虫系、英国Rothamsted Research抗性组、澳大利亚University of Melbourne遗传系、澳大利亚CSIRO昆虫研究所等建立了长期合作关系，共同承担过2项国际合作项目，联合培养了4名博士研究生，共同发表了多篇高水平论文。