

苹果蠹蛾的综合防控和遗传控制研究进展

申建茹¹⁺, 武强¹⁺, 万方浩^{1,2*}

¹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;

²青岛农业大学农学与植物保护学院, 山东 青岛 266109

摘要: 苹果蠹蛾是仁果类水果的重要检疫害虫, 在世界各地造成了巨大的经济损失。目前对其化学防治、化学生态调控、病毒等防治方法研究较多, 但仍不能满足防控该害虫的需要, 对新型防控技术的需求日益增强。不育昆虫释放技术(SIT)是一种可控制甚至根除靶标害虫的环境友好型防控技术, 但传统 SIT 技术存在一定的局限性, 如较难区分性别与筛选雌雄虫、辐射不育昆虫的交配竞争力和适合度降低等问题, 这些缺陷随着昆虫遗传修饰技术的发展将得以解决, 并将在害虫防控进程中起到积极作用。本文综述了苹果蠹蛾主要防控技术研究现状, 介绍了通过遗传修饰技术改善 SIT 的技术策略, 并综合分析了我国开展苹果蠹蛾遗传修饰研究情况和将其应用在苹果蠹蛾防控体系中的可行性及优势。

关键词: 苹果蠹蛾; 害虫综合治理; 昆虫不育释放技术; 遗传修饰昆虫; 可行性

The status of the integrated pest management of the codling moth, *Cydia pomonella* (L.) in China, and the prospects for the application of genetically modified insects

Jian-ru SHEN¹⁺, Qiang WU¹⁺, Fang-hao WAN^{1,2*}

¹State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; ²Department of Agronomy and Plant Protection, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109, China

Abstract: The codling moth, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae), is a worldwide quarantine pest of fruits and nuts. Efforts to control the codling moth in the past mostly relied on broad-spectrum chemical pesticides. Recently, alternative non-chemical control methods such as mating disruption and the granulovirus of *C. pomonella* (CpGV) are increasingly being adopted, the pest could not be eradicated or suppressed effectively. This lead to a demand for new control tactics that are not only effective but also friendly to the environment. The sterile insect technique (SIT) is one of the cost effective methods for eradication or suppression of the target population. However, the traditional SIT have some drawbacks: the amount of radiation required for full sterilization leads to lower competitiveness and field performance than those of the wild type, and the sex identification requires manual separation, making the method very labor-intensive. The developments of the genetically modified insects may address some of these limitations. Research progress in the SIT developmental history and the improvement caused by the genetically modified approach in the codling moth is reviewed, and the advantages and the feasibility of the genetically modified approach for codling moth control in China is also discussed.

Key words: *Cydia pomonella*; IPM; sterile insect technique; genetically modified insect; feasibility

1 苹果蠹蛾的危害、起源及对我国的入侵

苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* (L.), 俗称苹果小卷蛾、苹果食心虫, 异名有 *Laspeyresia pomonella* (L.)、

Carpocapsa pomonella (L.)、*Grapholitha pomonella* (L.), 属鳞翅目 Lepidoptera 小卷蛾科 Olethreutidae (蔡青年和张青文, 2005; 张学祖, 1957)。苹果蠹

收稿日期(Received): 2015-06-08 接受日期(Accepted): 2015-09-10

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAD08A17); 公益性行业(农业)科研专项经费项目(200903042)

作者简介: 申建茹, 女, 博士后。研究方向: 入侵昆虫抗性生物防治。E-mail: sjrhappy2008@126.com

* 同等贡献作者(The two authors contributed equally to this work)

* 通讯作者(Author for correspondence), E-mail: wanfanghaocaas@163.com

蛾是苹果的主要害虫,也是全球最重要的检疫性害虫之一。其以幼虫蛀食果肉、果心和种子,从而严重降低果实品质,并造成大量的落果,对产量影响很大(金瑞华,1997;翟小伟等,2010a、2010b; Schwartz & Klassen,1981)。

1.1 起源和分布

苹果蠹蛾可能起源于欧亚大陆中南部地区,即欧洲泰加林带南部、前苏联中亚地区和亚洲西南部地区(林伟等,1996)。野生苹果是其最原始的寄主(Drake *et al.*,2000),苹果、梨、杏、桃、野山楂、野生酸苹果和山楂等植物也是其适宜寄主。苹果蠹蛾的自然传播主要靠自身的飞行或风力和气流,幼虫和蛹可随虫果、果品包装箱、填充物和运载工具等进行远距离传播。19世纪后,随着苹果种植面积扩大,苹果蠹蛾的危害范围也逐步增大,迄今为止,已分布于全世界的69个国家和地区,除东亚以外的所有苹果和梨产地都受到危害(Franck *et al.*,2007)。

1.2 入侵我国历史

苹果蠹蛾在我国的发生已有50多年的历史。1957年,苹果蠹蛾首次被发现在我国新疆局部发生(张学祖,1957),至20世纪80年代初期,新疆发生普遍,受害较重(巴哈提古丽,2009)。1986年苹果蠹蛾向东扩散入侵甘肃省;1989年到达敦煌市,之后一路向东扩散,连续在酒泉、张掖和嘉峪关市部分县发生(金瑞华,1997;翟小伟等,2010a)。2007年,苹果蠹蛾跨越河西走廊进入兰州,并向陕西省苹果优势产区逼近(门秋雷等,2012)。2006年在黑龙江省牡丹江市东宁县发现苹果蠹蛾,之后在牡丹江市和鸡西市的大部分地区发生(于广胜,2011;赵星民,2011),并威胁到我国东部苹果优势产区。此外,在宁夏、内蒙古和吉林等省、自治区也有发生(刘伟等,2012;张润志等,2012)。

苹果蠹蛾在我国的适生区广泛,除上述已入侵的省份外,还包括了我国其他苹果、梨等产区,如陕西、山西、河北、北京、天津、山东和辽宁等省区(杨瑞,2008)。随着交通和旅游的发展,苹果蠹蛾的潜在扩张趋势严重威胁到我国甘肃陇东南、黄土高原苹果优势产区和东部地区果业生产和出口产业,一旦扩散蔓延至这些水果产区,将给我国水果生产和销售带来毁灭性的灾难。因此,制定科学有效的

检疫和防控技术,有效阻止其在我国的进一步扩张,保护我国水果安全生产,是当前迫切需要解决的问题。

2 苹果蠹蛾的综合防控现状

2.1 非疫区建设和疫区的虫源根除

对于非疫区,每年采用信息素诱捕策略监测苹果蠹蛾的发生。一旦确认为疫区,则采用综合防治方法进行根除,即化学防治、性诱剂防治和耕作等措施相结合,也可以同时采用其他方法,以达到最好的防治效果。另外,还必须采取应急状态下的一些检疫措施,包括停止疫区和非疫区内一切植物材料的调运、追查疫情的来源、清理果园等,以防止疫情的进一步传播。

2.2 疫区的综合防治现状

2.2.1 化学防治 化学防治是控制苹果蠹蛾的主要措施。传统的化学防治方法依赖于广谱杀虫剂的单一控制策略(Pringle *et al.*,2003; Riedl *et al.*,1998),如长期使用有机磷杀虫剂。然而,化学处理频率和强度的增加导致苹果蠹蛾对各类杀虫剂产生抗性。1928年美国发现砷酸盐对苹果蠹蛾的杀虫效果降低是其抗性的首次报道(Hough,1928)。此后各国陆续报道了苹果蠹蛾对各种杀虫剂的抗性(Bush *et al.*,1993; Cutright,1954),且发现了交互抗性现象(Reyes *et al.*,2007)。对杀虫剂的抗性已成为苹果蠹蛾化学防治所面临的主要问题之一。

2.2.2 化学生态调控 化学防治会伤害捕食性和寄生性天敌,从而降低生物防治的效果,同时会严重影响授粉昆虫,进而间接影响果实产量,所以不依赖于杀虫剂的防控策略更具安全性(Witzgall *et al.*,2008)。化学生态调控方法具有高效、无毒、专一性强、不伤害益虫、不污染环境等优点,逐步成为监控苹果蠹蛾的重点策略。苹果蠹蛾化学生态调控是以信息化合物为应用基础(Witzgall *et al.*,2005),主要包括应用性信息素进行大区域的交配干扰和以寄主植物源气味进行诱集2个方面。该方法在苹果蠹蛾的监测、诱杀和防治方面取得了较好的效果,并减少了农药的使用(Pasqualini *et al.*,2005; Witzgall *et al.*,2005、2008)。但其控害效果在很大程度上受虫口密度的制约,只有在虫口密度较低时才能有效控制种群数量,而在密度太高时不易奏效(Calkins *et al.*,2000; Trimble,1995)。因此,

在实施交配干扰前必须在生长季节早期辅以杀虫剂或颗粒体病毒等防治措施。此外,化学生态调控的诱杀效果受到地形、气候、降雨、风向等生态因子的影响。

2.2.3 生物防治——苹果蠹蛾颗粒体病毒 苹果蠹蛾颗粒体病毒 (Granulovirus of codling moth, CpGV) 于 1964 年从墨西哥受侵染的幼虫体内分离得到 (Tanada, 1964)。该病毒是高效的昆虫特异性病毒,在发生苹果蠹蛾的地区广泛存在 (Kundu *et al.*, 2003; Rezapanah *et al.*, 2002)。其基因型一般分为 CpGV-M、CpGV-R 和 CpGV-E 等 3 种 (Crook *et al.*, 1985; Harvey & Volkman, 1983), 保守性很高。

最初 CpGV 的商业化产品均以 CpGV-M 为基础菌株,1965~1972 年将 CpGV-M 大量培养并形成商业化制剂 SAN406。随后 15 年的时间里该产品的应用非常成功,成为法国、瑞士和德国苹果蠹蛾杀虫剂抗性治理的关键组分。在欧洲,该制剂在仁果类水果上的应用面积将近 10 万 hm^2 (Eberle & Jehle, 2006)。目前 CpGV 产品仍多基于 CpGV-M, 单一类型的病毒长期广泛应用导致虫体抗性的快速出现。自 2004 年起,德国和法国在频繁应用 CpGV 的有机果园中陆续检测到 CpGV 对苹果蠹蛾杀虫活性的降低 (Eberle & Jehle, 2006; Zichova *et al.*, 2013), 某些苹果蠹蛾种群的抗性比例甚至超过了 1000 倍 (Asser-Kaiser *et al.*, 2007)。因此,鉴定和分离更高毒力的 CpGV 分离株,尤其是与 CpGV-M 具有遗传差异的病毒株 (Berling *et al.*, 2009; Crook *et al.*, 1985; Eberle *et al.*, 2008; Zichova *et al.*, 2013), 能够辅助治理病毒抗性,如伊朗分离株 CpGV-I12 能够杀死对 CpGV-M 产生抗性的苹果蠹蛾幼虫 (Eberle *et al.*, 2008)。但是,新型病毒株的发现以及商业化应用比较困难。

2.2.4 农业防治 苹果蠹蛾一年发生 1~3 代,危害活动时期长达 7 个月。幼虫孵化盛期也是蛀果高峰期,对果实的危害程度最大。秋季末 5 龄老熟幼虫寻找越冬场所,以滞育幼虫在松动的树皮、树洞或根际土壤中做茧越冬。根据苹果蠹蛾的发生危害规律,可以在开春前及时摘除树上的僵果,并将干枯枝、落叶、烂果和杂草彻底清出果园,集中烧毁或深埋,以降低当年虫口基数 (张学祖, 1957)。在产卵高峰期,摘除着卵量大的虫果;发现虫眼果及时摘除并处理;秋末在树干基部围捆纸板以诱集

越冬幼虫;刮除老树皮,消灭潜藏在树皮里的越冬老熟幼虫等。这些措施能够显著降低第 2 年的虫源基数,减少苹果蠹蛾的危害。

2.2.5 生物遗传控制——不育昆虫释放技术 (Sterile insect technique, SIT) (1) SIT 及其在苹果蠹蛾上的研究和应用。SIT 是一种对环境无毒无害的环境友好型可持续性控制方法。传统 SIT 使用特定辐射源将害虫辐射致不育或亚不育,大量的不育昆虫释放到野外后与野生雌性交配,产生的后代不能存活或不育,最终通过种群自毁的方式抑制或根除靶标昆虫种群 (Klassen & Curtis, 2005; Knippling, 1955)。SIT 具有物种特异性,释放的不育雄虫只与靶标雌虫交配,即使最相近的物种也不受影响;应用 SIT 方法控制害虫不易产生抗性;另外, SIT 与其他生物防治方法具有协同增效作用,如寄生物、天敌和病原等 (Carpenter *et al.*, 2005)。

1995 年以来,美国 (Calkins *et al.*, 2000)、阿根廷、加拿大 (Bloem *et al.*, 2005; Vreysen *et al.*, 2010)、南非 (Addison, 2005) 等国相继大规模应用 SIT 技术对苹果蠹蛾进行防控,并取得了显著效果,证明应用传统 SIT 可以较有效地控制苹果蠹蛾的发生与危害。近年来,学者们改进了苹果蠹蛾的饲养技术以提高其飞行和扩散能力、生活史参数、耐辐射性及交配竞争能力等 (Vreysen *et al.*, 2010)。多位学者从苹果蠹蛾 SIT 技术的不育机理、剂量策略、质量控制及释放技术等方面进行分析 (刘伟等, 2012; 路大光和王华嵩, 2002; 钟国华等, 2012), 认为该技术可成为我国苹果安全生产的重要技术支撑。

(2) 传统 SIT 的不足。传统 SIT 技术也有一定的局限性,如不能区分与筛选雌雄性别、辐射不育昆虫的交配竞争力和适合度降低等。苹果蠹蛾的 SIT 项目是释放其雌雄混合的群体,不育雌性除直接危害作物外,还影响不育雄性搜索和寻找野生雌性的效率,从而影响控害效果 (Alphey & Andreasen, 2002)。同时,致苹果蠹蛾不育的辐射剂量高达 250~350 Gy, 远高于地中海实蝇 *Ceratitis capitata* WiedGman 等双翅目昆虫 (Blomefield *et al.*, 2010; LaChance, 1967), 高辐射剂量所导致的竞争力低下问题也严重制约着 SIT 技术对苹果蠹蛾的控害效果 (刘伟等, 2012; Bloem *et al.*, 1999; Scolari *et al.*, 2009)。另外,为评估 SIT 的防控效果,需要区分释放区域内诱集的不育雄虫与野生雄虫 (Simmons *et*

al., 2011)。传统 SIT 技术是通过荧光粉对辐射处理后的雄虫蛹进行标记,然而野生雄虫与释放雄虫接触后可能会沾上荧光粉而造成错误判断,且该方法存在费用昂贵、对人体有害等缺点(Hagler & Jackson, 2001)。

3 昆虫遗传修饰技术及对 SIT 的改进

1982年,首例遗传修饰转化果蝇成功获得,该研究通过 P-转座元件将调控野生型玫瑰色眼睛颜色基因插入果蝇基因组(Rubin & Spradling, 1982),开启了昆虫遗传修饰研究的先河。经过 30 多年的发展,基于昆虫遗传转化技术的基因表达系统已成为对一些模式昆虫进行基因功能分析等研究的重要试验工具,还能用于昆虫自身性状的改良等(周秀娟等, 2008)。目前研究较多也最有应用前景的是其与传统 SIT 技术的结合,克服了传统 SIT 技术的上述缺陷,从而达到更好更稳定的防控效果。昆虫遗传修饰技术对传统 SIT 的改进主要表现在以下几个方面。

3.1 释放前转化昆虫的标记

针对荧光粉标记的可靠性低和有毒性等缺点,昆虫遗传修饰技术利用荧光蛋白 EGFP 和 DsRed 构建荧光标记品系,该标记易于鉴定且更加准确(Catteruccia *et al.*, 2005; Handler, 2001; Scolari *et al.*, 2008)。此外,遗传修饰技术可以用组织特异性表达基因的启动子驱动特定性荧光基因的表达,如精巢特异表达基因的启动子能使荧光标记只在雄虫精巢中稳定表达,更便于准确检测(Scolari *et al.*, 2008)。该方法还可以检测到与不育雄虫交配的野生雌虫,便于评估其防控效果等。

3.2 致死或不育处理

针对辐射剂量会降低昆虫本身的交配竞争力等缺陷,通过遗传修饰技术可以实现用胚胎早期特异高表达基因的启动子驱动四环素调控激活因子(tetracycline-controlled transactivator, tTA),进而调控致死基因如头部退化缺陷基因(*head involution defective, hid*)等的异位表达,达到使其在卵期或发育早期致死的目的,即为胚胎或发育早期条件性致死体系(Conditional embryonic lethality system)的原理。该体系首先在果蝇中建立(Horn & Wimmer, 2003),并成功转移应用于地中海实蝇和加勒比按实蝇 *Anastrepha suspensa* Loew 上(Schetelig *et al.*,

2009; Schetelig & Handler, 2012a)。该类转化品系雄虫不需要辐射处理,与野生雌虫交配后产生的子代在胚胎期或幼虫早期死亡,克服了辐射不育导致雄虫适合度降低及竞争力下降等缺点(Gong *et al.*, 2005; Schetelig *et al.*, 2009)。

3.3 性别区分与筛选

遗传修饰技术在实现有效性别分离的同时,能获得只产雄虫的雌性特异致死品系,即在胚胎条件致死体系的基础上,用雌性特异表达基因的启动子代替胚胎早期发育基因的启动子来驱动该体系,如卵黄蛋白基因等,使致死作用只发生在雌虫中,即可达到雌虫特异致死的效果,但一般为成虫期致死。利用雌性特异剪接基因,如性别决定相关基因 *transformer* 和 *doublesex* 等的特定内含子区调控致死基因只在雌虫胚胎中表达,也可达到使雌虫在胚胎期特异死亡的目的。该转化体系已在加勒比按实蝇(Schetelig & Handler, 2012b)和地中海实蝇(Ogugwu *et al.*, 2013)上成功建立。

4 苹果蠹蛾遗传修饰转化研究现状与限制性因素

基于昆虫遗传修饰技术的发展,多个鳞翅目物种的转化品系已成功构建,如家蚕 *Bombyx mori* L. (Tamura *et al.*, 2000; Uhlirova *et al.*, 2002)和棉铃虫 *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Peloquin *et al.*, 2000)等。学者们使用显性致死基因系统进行了苹果蠹蛾转化昆虫释放技术方面的相关研究,并建立了检测单拷贝转化基因的筛选体系(Paladino *et al.*, 2014; Maréc *et al.*, 2005, 2007)。Ferguson *et al.* (2011)用携带 EGFP 标记基因的 *piggyBac* 转座载体,成功建立了苹果蠹蛾的绿色荧光标记品系,该品系的绿色荧光标记能够稳定遗传。这些成果都初步展示了在苹果蠹蛾中开展遗传修饰研究的可行性,其荧光标记品系的获得也为构建遗传不育或致死品系打下了基础。

但是,缺少苹果蠹蛾遗传修饰研究所需元件的相关分子信息是阻碍该项研究快速开展的主要因素之一。果蝇和家蚕是遗传修饰转化研究最多且最为深入的模式昆虫,但这 2 个物种并不是农业害虫或卫生害虫。果蝇特异性的遗传工具不能直接用于其他昆虫物种,其启动子的表达强度或驱动致死效应基因表达的能力等方面存在很大差异(Ber-

ger *et al.*, 1985; Koukidou *et al.*, 2006)。遗传修饰不育或致死策略中提到的各种遗传元件,如内源的胚胎早期发育基因的启动子、雌性特异剪接元件和细胞凋亡基因等是该不育体系所必需的。但是,在缺乏基因组信息的情况下,通过抑制消减杂交 (SSH) 技术、反向 PCR、同源克隆或 RACE 等基本分子生物学技术手段获取此类遗传元件的难度非常大。

开展苹果蠹蛾的遗传修饰研究将是一项极具挑战性且意义极其重大的工作。朱虹昱等(2012)从转座子、遗传性别品系、显性条件致死基因等方面对遗传修饰昆虫相关的部分元素和步骤进行了简要总结,认为这项技术将对我国苹果蠹蛾大区域综合治理工作产生重大的有益影响;但同时指出,此项目的开展对研究人员掌握相关理论知识和开展大量相关分子生物学试验技术的熟练度要求较高,且需要较大科研课题经费的支撑,及政府相关行政机构的支持和管理。

5 我国开展苹果蠹蛾遗传修饰转化品系研究前景

苹果蠹蛾自 1957 年传入我国以来,蔓延速度有逐年加快的趋势,而我国的水果主产区基本全是苹果蠹蛾的适生区,一旦传入很难根除。昆虫遗传修饰技术是一种可以有效控制或根除害虫的新技术,因此在我国开展苹果蠹蛾遗传修饰转化品系研究具有多方面的基础和优势。

5.1 地理分布与非疫区建设的需求

苹果蠹蛾在我国发生近 50 年来,仅在西北地区的新疆和甘肃 2 个省普遍发生,内蒙古、宁夏、黑龙江、辽宁和吉林有零星分布,因此西北地区疫情仍是防治的重点。这种现象的形成是由于苹果蠹蛾在从西向东传播扩散过程中受到千里戈壁滩的阻隔,形成其在我国西北地区的岛状分布效应,这为释放苹果蠹蛾遗传转化品系提供了最佳地理条件。为保护我国优势苹果产区的安全生产,国家正在实施检疫性有害生物阻截带控制工程和以苹果蠹蛾为主要防控对象的苹果非疫区建设工程(王福祥等,2012),引入和应用基于辐射或遗传修饰的苹果蠹蛾是非常必要的。

5.2 种群遗传结构波动小

SIT 技术或遗传修饰不育或致死技术是通过雄

性的交配行为达到根除靶标物种的目的。释放的转化昆虫与野生种群之间以及不同地理种群之间的生殖隔离都会显著削弱防治效果 (Benedict *et al.*, 2009)。我国西北地区多年来虽然存在苹果蠹蛾多次传入的风险,但是从国内的种群遗传结构分析发现,新疆的苹果蠹蛾种群具有明显的奠基者效应 (Men *et al.*, 2013), 推测新疆和甘肃地区种群的亲缘关系可能比较接近,西北地区不同地理种群之间可能不存在生殖隔离。另外,将室内饲养 14 代的苹果蠹蛾种群与越冬种群的成虫混合饲养,能够产下可育性后代(数据未发表)。这些结果都预示了释放遗传修饰苹果蠹蛾能够发挥较好的控害效果。

5.3 分子生物学基础

热激基因的启动子具备优良的通用启动子活性,研究最多的是果蝇的 *hsp70* 热激启动子,常用来驱动昆虫遗传修饰转化品系中报告基因或其他基因的表达,且已用作多种昆虫转化品系的构建。但在非果蝇物种中获得外源基因高效表达的最佳方案是筛选靶标物种中高效驱动热激基因表达的内源 *hsp70* 启动子。申建茹等(2011a, 2011b)已克隆得到了苹果蠹蛾的热激基因 *hsp90* 和 2 个 *hsp70* cDNA 全长,下一步将克隆这些基因的上游启动序列,并将其用于遗传修饰转化品系相应载体的构建。

另外,我国入侵生物学专家已经联合昆虫分子生物学和生物信息学领域的很多专家,开展了苹果蠹蛾的全基因组和年龄阶段及性别差异组织转录组测序工作。该项目的完成将为苹果蠹蛾遗传修饰的研究提供所需遗传元件的分子生物学信息,极大地推动苹果蠹蛾遗传修饰转化品系的构建。

5.4 实验室种群饲养技术和田间防效评估体系

苹果蠹蛾大量饲养的历史和生物学研究都为其遗传修饰转化品系的顺利构建提供了基础条件 (Bloem *et al.*, 2004; Calkins & Parker, 2005)。申建茹(2011a)在参考国外苹果蠹蛾人工饲料配方的基础上,筛选并改进了胚芽苹果粉法、小麦胚芽法和斑豆法 3 种人工饲料的配方,建立了健康的实验室种群;并对实验种群的生物学潜能和各种适应性进行了研究,为开展苹果蠹蛾遗传修饰转化研究提供了虫源保障。

翟小伟等(2010a, 2010b)从苹果蠹蛾生物学特性出发,研究了性信息素诱捕器和空间格局对苹果

蠹蛾雄蛾诱捕效果的影响、性信息素和植物挥发物不同配方对苹果蠹蛾的诱捕效果、苹果蠹蛾成虫与性信息素和寄主植物的互作行为等,并取得了很大的进展;同时,在苹果蠹蛾不同防治方法的效果评定等方面具备了较好的研究基础,这为评估释放遗传修饰苹果蠹蛾的防效提供了条件。

6 小结与展望

化学防治一直是害虫防治的主要手段,但是“3R”问题的产生已经引起了人们的高度关注,多种苹果蠹蛾的控制策略仍存在很多问题,不能满足防控或根除该害虫的需要,因此对新防控技术的需求日益增强。不育昆虫技术是一种对环境无毒无害的特异性根除或抑制靶标种群的方法,且不存在抗性問題。利用遗传修饰技术改进传统 SIT,是利用生物技术防控害虫的新思路,研究以生物技术为手段的苹果蠹蛾遗传转化品系,是今后苹果蠹蛾防控技术发展的趋势(Ferguson *et al.*, 2011)。

苹果蠹蛾不育昆虫释放技术的研究和应用在国际上已有较成熟的经验,遗传修饰转化研究也取得了阶段性的进展,验证性研究已经证实了能够用于该物种转化的启动子和标记基因,同时证明了构建转化品系的可行性。目前,苹果蠹蛾的饲养技术、生物学研究和检测调查技术均已较为完善,且具备了一定的分子生物学研究基础,这为苹果蠹蛾遗传修饰转化品系的构建以及释放效果的评价创造了条件。我们应充分利用现在的各种优势,开展苹果蠹蛾的遗传防控技术和应用基础研究,使其与生物防治和化学生态调控等其他防控方法协同作用,形成以遗传修饰昆虫释放技术为核心的防控技术体系,并进行示范应用和推广,以控制其扩散,逐步降低其种群数量,并最终达到在我国根除苹果蠹蛾的目的。

参考文献

巴哈提古丽. 2009. 苹果蠹蛾在新疆地区的危害情况和防治措施. 防护林科技, (4): 118-120.

蔡青年, 张青文. 2005. 苹果蠹蛾// 万方浩, 郑小波, 郭建英. 重要农林外来入侵物种的生物学与控制. 北京: 科学出版社, 363-375.

金瑞华. 1997. 检疫性危险害虫苹果蠹蛾在我国分布的调查研究. 中国科学基金, (2): 124-125.

林伟, 林长军, 庞金. 1996. 生态因子在苹果蠹蛾地理分布中的作用. 植物检疫, 10(1): 1-7.

刘伟, 徐婧, 张润志. 2012. 苹果蠹蛾不育昆虫释放技术研究进展. 应用昆虫学报, 49(1): 268-274.

路大光, 王华嵩. 2002. 鳞翅目害虫辐射遗传不育研究的回顾与展望. 核农学报, 16(1): 58-63.

门秋雷, 陈茂华, 张雅林, 冯纪年. 2012. 中国疫区内苹果蠹蛾微卫星位点的扩增稳定性及遗传多样性. 植物保护学报, 39(4): 341-346.

申建茹. 2011a. 苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* (L.) 人工繁育和热胁迫适应性研究. 重庆: 西南大学.

申建茹, 李明福, 陈乃中, 王进军, 万方浩. 2011b. 苹果蠹蛾热激蛋白 Hsp90 基因的克隆及热胁迫下的表达分析. 昆虫学报, 54(11): 1236-1248.

王福祥, 刘慧, 杨桦, 徐婧, 张润志. 2012. 苹果非疫区建设中的苹果蠹蛾监测与防控. 应用昆虫学报, 49(1): 275-280.

杨瑞. 2008. 苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* (L.) 在中国的适生性研究. 杨陵: 西北农林科技大学.

于广胜. 2011. 牡丹江苹果蠹蛾的发生规律及防治措施. 中国植保导刊, 31(7): 47-48.

翟小伟, 刘万学, 张桂芬, 万方浩, 徐洪富, 蒲崇建. 2010a. 苹果蠹蛾性信息素诱捕器田间诱捕效应影响因子. 应用生态学报, 21(3): 801-806.

翟小伟, 刘万学, 张桂芬, 万方浩, 徐洪富. 2010b. 苹果蠹蛾不同防治方法的控害效应比较. 植物保护学报, 37(6): 547-551.

张润志, 王福祥, 张雅林, 陈汉杰, 罗进仓, 王勤英, 刘万学, 艾尼瓦尔·木沙, 等. 2012. 入侵生物苹果蠹蛾监测与防控技术研究——公益性行业(农业)科研专项(200903042)进展. 应用昆虫学报, 49(1): 37-42.

张学祖. 1957. 苹果蠹蛾(*Carpocapsa pomonella* L.) 在我国的新发现. 昆虫学报, 7(4): 467-472.

赵星民. 2011. 北方寒地苹果蠹蛾发生规律及综合防治研究. 植物检疫, 25(1): 87-88.

钟国华, 陈永, 杨红霞, 胡美英. 2012. 昆虫辐照不育技术研究与应用进展. 植物保护, 38(2): 12-17.

周秀娟, 牛长缨, 雷朝亮. 2008. 转基因昆虫的应用研究进展. 昆虫知识, 45(3): 368-373.

朱虹昱, 徐婧, 张润志. 2012. 转基因在苹果蠹蛾不育昆虫释放技术中的应用. 应用昆虫学报, 49(1): 20-26.

Addison M F. 2005. Suppression of codling moth *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidea) populations in South African apple and pear orchards using sterile insect release. *Acta Horticulturae*, 671: 555-557.

Alphey L and Andreasen M. 2002. Dominant lethality and insect population control. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 121: 173-178.

Asser-Kaiser S, Fritsch E, Undorf-Spahn K, Kienzle J, Eberle

- K E and Gund N A. 2007. Rapid emergence of baculovirus resistance in codling moth due to dominant, sex-linked inheritance. *Science*, 317: 1916–1918.
- Benedict M Q, Knols B G, Bossin H C, Howell P I, Mialhe E, Caceres C and Robinson A S. 2009. Colonisation and mass rearing: learning from others. *Malaria Journal*, 8(Suppl 2): S4.
- Berger E M, Marino G and Torrey D. 1985. Expression of *Drosophila hsp70*-CAT hybrid gene in *Aedes* cells induced by heat shock. *Somatic Cell Molecular Genetics*, 11: 371–377.
- Berling M, Rey J B, Ondet S J, Tallot Y, Soubabere O, Bonhomme A, Sauphanor B and Lopez-Ferber M. 2009. Field trials of CpGV virus isolates overcoming resistance to CpGV-M. *Virologica Sinica*, 24: 470–477.
- Bloem K A, Bloem S and Carpenter J E. 2005. Impact of moth suppression/eradication programmes using the sterile insect technique or inherited sterility//Dyck V A, Hendrichs J and Robinson A S. *Sterile Insect Technique: Principles and Practice in Area-wide Integrated Pest Management*. Dordrecht, the Netherlands: Springer, 677–700.
- Bloem S, Bloem K A, Carpenter J E and Calkins C O. 1999. Inherited sterility in codling moth (Lepidoptera: Tortricidae): effect of substerilising doses of radiation on wild competitiveness. *Environmental Entomology*, 28: 669–674.
- Bloem S, Carpenter J E, Bloem K A, Tomlin L and Taggart S. 2004. Effect of rearing strategy and gamma radiation on field competitiveness of mass-reared codling moths (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Economic Entomology*, 97: 1891–1898.
- Blomefield T L, Bloem S and Carpenter J E. 2010. Effect of radiation on fecundity and fertility of codling moth *Cydia pomonella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Tortricidae) from South Africa. *Journal of Applied Entomology*, 134: 216–220.
- Bush M, Abdel-Aal Y A I and Rock G. 1993. Parathion resistance and esterase activity in codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) from North Carolina. *Journal of Economic Entomology*, 86: 660–666.
- Calkins C O, Knight A L, Richardson G and Bloem K A. 2000. Area-wide population suppression of codling moth//Tan K H. *Area-wide Control of Fruit Flies and Other Insect Pests*. Pulau Pinang: Penerbit Universiti Sains Malaysia, 215–219.
- Calkins C O and Parker A G. 2005. Sterile insect quality//Dyck V A, Hendrichs J and Robinson A S. *Sterile Insect Technique: Principles and Practice in Area-wide Integrated Pest Management*. Dordrecht, the Netherlands: Springer, 269–296.
- Carpenter J E, Bloem S and Marec F. 2005. Inherited sterility in insects//Dyck V A, Hendrichs J and Robinson A S. *Sterile Insect Technique: Principles and Practice in Area-wide Integrated Pest Management*. Dordrecht, the Netherlands: Springer, 115–146.
- Catteruccia F, Benton J P and Crisanti A. 2005. An anopheles transgenic sexing strain for vector control. *Nature Biotechnology*, 23: 1414–1417.
- Crook N E, Spencer R A, Payne C C and Leisy D J. 1985. Variation in *Cydia pomonella* granulosis virus isolates and physical maps of the DNA from three variants. *Journal of General Virology*, 66: 2423–2430.
- Cutright C R. 1954. A codling moth population resistant to DDT. *Journal of Economic Entomology*, 47: 189–190.
- Drake S R, Robertson H R, Moffitt H R and Hansen J D. 2000. A two-component quarantine treatment for postharvest control of codling moth on apple cultivars intended for export to Japan and Korea. *HortTechnology*, 10: 186–194.
- Eberle K E, Asser-Kaiser S, Sayed S M, Nguyen H T and Jehle J A. 2008. Overcoming the resistance of codling moth against conventional *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV-M) by a new isolate CpGV-I12. *Journal of Invertebrate Pathology*, 98: 293–298.
- Eberle K E and Jehle J A. 2006. Field resistance of codling moth against *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV) is autosomal and incompletely dominant inherited. *Journal of Invertebrate Pathology*, 93: 201–206.
- Ferguson H J, Neven L G, Thibault S T, Mohammed A and Fraser M. 2011. Genetic transformation of the codling moth, *Cydia pomonella* L, with piggyBac EGFP. *Transgenic Research*, 20: 201–214.
- Franck P, Reyes M, Olivares J and Sauphanor B. 2007. Genetic architecture in codling moth populations: comparison between microsatellite and insecticide resistance markers. *Molecular Ecology*, 16: 3554–3564.
- Gong P, Epton M J, Fu G L, Scaife S, Hiscox A, Condon K C, Condon G C, Morrison N I, et al. 2005. A dominant lethal genetic system for autocidal control of the Mediterranean fruitfly. *Nature Biotechnology*, 23: 453–456.
- Hagler J R and Jackson C G. 2001. Methods for marking insects: current techniques and future prospects. *Annual Review of Entomology*, 46: 511–543.
- Handler A M. 2001. Polyubiquitin-regulated DsRed marker for transgenic insects. *Biotechniques*, 31: 820–828.
- Harvey J P and Volkman L E. 1983. Biochemical and biological variation of *Cydia pomonella* (codling moth) granulosis virus. *Virology*, 124: 21–34.

- Horn C and Wimmer E. 2003. A transgene-based, embryo-specific lethality system for insect pest management. *Nature Biotechnology*, 21: 64–70.
- Hough W S. 1928. Relative resistance to arsenical poisoning of two codling moth strains. *Journal of Economic Entomology*, 21: 325–329.
- Klassen W and Curtis C F. 2005. History of sterile insect technique//Dyck V A, Hendrichs J and Robinson A S. *Sterile Insect Technique: Principles and Practice in Area-wide Integrated Pest Management, Part I*. Dordrecht, the Netherlands: Springer, 3–36.
- Knipling E F. 1955. Possibilities of insect control or eradication through the use of sexually sterile males. *Journal of Economic Entomology*, 48: 459–462.
- Koukidou M, Klinakis A, Reboulakis C, Zagoraiou L, Tavernarakis N, Livadaras I, Economopoulos A and Savakis C. 2006. Germ line transformation of the olive fly *Bactrocera oleae* using a versatile transgenesis marker. *Insect Molecular Biology*, 15: 95–103.
- Kundu J K, Stara J, Kocourek F and Pultar O. 2003. Polymerase chain reaction assay for *Cydia pomonella* granulovirus detection in *Cydia pomonella* population. *Acta Virologica*, 47: 153–157.
- LaChance L E. 1967. The induction of dominant lethal mutations in insects by ionizing radiation and chemicals-as related to the sterile-male technique of insect control//Wright J W and Pal R. *Genetics of Insect Vectors of Disease*. Amsterdam, the Netherlands: Elsevier, 617–650.
- Maréc F, Neven L G and Fukova I. 2007. Developing transgenic sexing strains for the release of non-transgenic sterile male codling moths (*Cydia pomonella*)//Vreysen M J B, Robinson A S and Hendrichs J. *Area-wide Control of Insect Pests*. Dordrecht, the Netherlands: Springer, 103–111.
- Maréc F, Neven L G, Robinson A S, Vreysen M, Goldsmith M R, Nagaraju J and Franz G. 2005. Development of genetic sexing strains in Lepidoptera: from traditional to transgenic approaches. *Journal of Economic Entomology*, 98: 248–259.
- Men Q L, Chen M H, Zhang Y L and Feng J N. 2013. Genetic structure and diversity of a newly invasive species, the codling moth, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae) in China. *Biological Invasions*, 15: 447–458.
- Ogaugwu C E, Schetelig M F and Wimmer E A. 2013. Transgenic sexing system for *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) based on female-specific embryonic lethality. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 43: 1–8.
- Paladino L Z C, Nguyen P, Síchová J and Marec F. 2014. Mapping of single-copy genes by TSA-FISH in the codling moth, *Cydia pomonella*. *BMC Genetics*, 15(Suppl 2): S15.
- Pasqualini E, Schmidt S, Espinha I, Civolani S, Cristofaro A D, Molinari F, Villa M, Ladurner E, Sauphanor B and Ioriatti C. 2005. Effects of the kairomone ethyl (2E, 4Z)-2, 4-decadienoate (DA 2313) on the oviposition behaviour of *Cydia pomonella*: preliminary investigations. *Bulletin of Insectology*, 58: 119–124.
- Peloquin J J, Thibault S T, Staten R and Miller T A. 2000. Germ-line transformation of pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae) mediated by the *piggyBac* transposable element. *Insect Molecular Biology*, 9: 323–333.
- Pringle K L, Eyle D K and Brown L. 2003. Trends in codling moth activity in apple orchards under mating disruption using pheromones in the Elgin area, Western Cape Province, South Africa. *African Entomology Journal*, 11: 65–75.
- Reyes M, Franck P, Charmillot P J, Loriatti C, Olivares J, Pasqualini E and Sauphanor B. 2007. Diversity of insecticide resistance mechanisms and spectrum in European populations of the codling moth, *Cydia pomonella*. *Pest Management Science*, 63: 890–902.
- Rezapanah M R, Kharrazi-Pakdel A, Kamali K and Huber J. 2002. Survey on natural occurrence of *Cydia pomonella* granulovirus in apple orchards of Iran. *Applied Entomology and Phytopathology*, 69(2): 49–55.
- Riedl H, Bloemfield T L and Giliomee J H. 1998. A century of codling moth control in South Africa: II current and future status of the codling moth management. *Journal of the South African Society for Horticultural Science*, 8(2): 32–54.
- Rubin G M and Spradling A C. 1982. Genetic transformation of *Drosophila* with transposable element vectors. *Science*, 218: 348–353.
- Schetelig M F, Caceres C, Zacharopoulou A, Franz G and Wimmer E A. 2009. Conditional embryonic lethality to improve the sterile insect technique in *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Biomedcentral Biology*, 7: 4.
- Schetelig M F and Handler A M. 2012a. Strategy for enhanced transgenic strain development for embryonic conditional lethality in *Anastrepha suspensa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109: 9348–9353.
- Schetelig M F and Handler A M. 2012b. A transgenic embryonic sexing system for *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae). *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 42: 790–795.
- Schwartz P H and Klassen W. 1981. Estimate of losses caused by insects and mites to agricultural crops//Pimentel D. *Handbook*

- of Post Management*. Boca Raton: CRC Press, 15–77.
- Scolari F, Schetelig M F, Bertin S, Malacrida A R, Gasperi G and Wimmer E A. 2008. Fluorescent sperm marking to improve the fight against the pest insect *Ceratitis capitata* (Wiedemann; Diptera: Tephritidae). *New Biotechnology*, 25 (1): 76–84.
- Scolari F, Schetelig M F, Gabrieli P, Siciliano P, Gomulski L M, Karam N, Wimmer E A, Malacrida A R and Gasperi G. 2009. Insect transgenesis applied to tephritid pest control. *Journal of Applied Entomology*, 132(9–10): 820–831.
- Simmons G S, McKemey A R, Morrison N I, O'Connell S, Tabashnik B E, Claus J, Fu G, Tang G, *et al.* 2011. Field performance of a genetically engineered strain of pink bollworm. *PLoS ONE*, 6: e24110.
- Tamura T, Thibert C, Royer C, Kanda T, Abraham E, Kamba M, Komoto N, Thomas J L, *et al.* 2000. Germline transformation of the silkworm *Bombyx mori* L. using a *piggyBac* transposon-derived vector. *Nature Biotechnology*, 18: 81–84.
- Tanada Y. 1964. A granulosis virus of the codling moth, *Carpocapsa pomonella* (Linnaeus) (Olethreutidae, Lepidoptera). *Journal of Insect Pathology*, 6: 378–380.
- Trimble R M. 1995. Mating disruption for controlling the codling moth, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera, Tortricidae), in organic apple production in southwestern Ontario. *The Canadian Entomology*, 127: 493–505.
- Uhlirva M, Asahina M, Riddiford L M and Jindra M. 2002. Heat-inducible transgenic expression in the silkworm *Bombyx mori*. *Development Genes and Evolution*, 212: 145–151.
- Vreysen M J B, Carpenter J E and Marec F. 2010. Improvement of the sterile insect technique for codling moth *Cydia pomonella* (Linnaeus) (Lepidoptera Tortricidae) to facilitate expansion of field application. *Journal of Applied Entomology*, 134: 165–181.
- Witzgall P, Ansebo L, Yang Z H, Angeli G, Sauphanor B and Bengtsson M. 2005. Plant volatiles affect oviposition by codling moths. *Chemoecology*, 15(2): 77–83.
- Witzgall P, Stelinski L, Gut L and Thomson D. 2008. Codling moth management and chemical ecology. *Annual Review of Entomology*, 53: 503–522.
- Zichova T, Stara J, Kundu J K, Eberle K E and Jehle J A. 2013. Resistance to *Cydia pomonella* granulovirus follows a geographically widely distributed inheritance type within Europe. *Biocontrol*, 58: 525–534.

(责任编辑: 杨郁霞)

