应用昆虫学报 *Chinese Journal of Applied Entomology* 2018, 55(1): 49–54. DOI: 10.7679/j.issn.2095–1353.2018.008

田间棉铃虫种群对 Cry1Ac 蛋白的抗性基因频率*

李国平[1**] 高丽娜[1] 黄建荣[1] 姬婷婕[1]
黄 博[1] 田彩红[1] 陆宴辉[2] 封洪强[1***]

（1. 河南省农作物病虫害防治重点实验室，农业部华北南部作物有害生物综合治理重点实验室，河南省农业科学院植物保护研究所，郑州 450002；2. 植物病虫害生物学国家重点实验室，中国农业科学院植物保护研究所，北京 100193）

摘 要 **【目的】** 系统了解河南省新乡市田间棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner)种群对 Cry1Ac 蛋白的敏感性变化，可为该虫的抗性治理策略提供重要的科学依据。**【方法】** 采用单雌系 F_1/F_2 代并结合诊断剂量法于 2013-2016 年连续监测了河南省新乡市棉铃虫种群对 Cry1Ac 蛋白的抗性基因频率以及种群敏感度的变化。**【结果】** 2013-2016 年河南省新乡市棉铃虫种群对 Cry1Ac 的抗性基因频率小于 0.002 12，抗性基因频率处于较低水平；种群的相对平均发育级别由 2013 年的 0.506 分别下降到 2015 和 2016 年的 0.448 和 0.442，表明棉铃虫对 Cry1Ac 蛋白的敏感度增加。**【结论】** 河南省新乡市棉铃虫种群对转 Cry1Ac 基因棉花仍处于较为敏感阶段，转 Bt 基因棉花的种植面积在河南新乡地区的大面积缩小可能是其抗性发展缓慢的重要原因。

关键词 棉铃虫，Cry1Ac，抗性基因频率，抗性监测

Frequency of Bt resistant alleles in wild cotton bollworm populations

LI Guo-Ping[1**] GAO Li-Na[1] HUANG Jian-Rong[1] JI Ting-Jie[1] HUANG Bo[1]
TIAN Cai-Hong[1] LU Yan-Hui[2] FENG Hong-Qiang[1***]

(1. Henan Key Laboratory of Crop Pest Control, MOA'S Regional Key Laboratory of Crop IPM in Southern Part of Northern China, Institute of Plant Protection, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China; 2. State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract **[Objectives]** To determine changes in sensitivity to the Cry1Ac toxin in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in the Xinxiang cotton growing region, Henan Province. **[Methods]** The frequency of alleles conferring resistance to Cry1Ac toxin and the relative average development rates of *H. armigera* collected in Xinxiang were assessed from 2013-2016 using the F_1 and F_2 offspring, iso-female lines, combined discrimination dose method. **[Results]** From 2013-2016, the frequency of resistant genes in Xinxiang fluctuated between 0 and 0.002 12 and there was no significant increase from 2013 to 2016. Based on the relative average development rates of *H. armigera* larvae in F_1 tests, a substantial decrease in Cry1Ac tolerance was found over the 3 years period. **[Conclusion]** The results of our 3 years study suggest that the frequency of resistant alleles is low and that *H. armigera* in the Xinxiang region are still sensitive to Bt cotton. A decrease in the area planted in Bt cotton may have delayed the development of resistance to Bt cotton in this region.

Key words *Helicoverpa armigera*, Cry1Ac, resistance allele frequency, resistance monitoring

---

*资助项目 Supported projects：转基因重大专项（2016ZX08012004-007）；河南省科技开放合作基金（172106000054）；河南省农业科学院优秀青年基金（编号 2016YQ15）

**第一作者 First author，E-mail：Liguoping1976@163.com

***通讯作者 Corresponding author，E-mail：feng_hq@163.com

收稿日期 Received：2017-11-16，接受日期 Accepted：2017-12-29

自 1997 年转 Bt 基因棉花在我国商业化种植以来，有效的控制了靶标害虫棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner)的危害，显著地降低了化学杀虫剂的用量，取得了巨大的经济和生态效益（Wu *et al.*，2008）。然而，靶标害虫对 Bt 作物的抗性演化是威胁转 Bt 基因棉花安全、持久利用的一个关键问题。到目前为止，全世界已经报道 7 种害虫分别对不同 Bt 毒素产生了实质抗性（Tabashnik and Carrière，2017），例如美国东南部的美洲棉铃虫 *Helicoverpa zea* 对表达 Cry1Ac 和 Cry2Ab 的 Bt 棉花（Tabashnik *et al.*，2008，2009），澳大利亚棉铃虫 *Helicoverpa punctigera* 对表达 Cry1Ac 和 Cry2Ab 的 Bt 棉花（Downes *et al.*，2010），波多黎各的秋粘虫 *Spodoptera frugiperda* 对表达 Cry1F 的 Bt 玉米等（Store *et al.*，2010）。尽管全世界仅有上述几例对 Bt 作物产生了抗性，但这无疑给我们敲响了警钟。实时监测抗性水平的变化是了解当前害虫是否对 Bt 作物产生抗性并及时调整害虫对转基因作物抗性治理策略的重要依据。

我国科学家高度重视棉铃虫对转基因棉花的抗性监测工作，2002-2013 年在黄河流域棉区的河北廊坊、山东夏津等地区进行了长期的系统监测，监测结果表明：在两个地区抗性基因频率没有明显的变化，但两个地区的棉铃虫对 Cry1Ac 的耐受性水平有所提高（Li *et al.*，2004，2007；Gao *et al.*，2009；An *et al.*，2015）。2007-2009，在河南安阳、河南新乡、河北威县、山东武城县进行监测，结果表明四地区的抗性基因频率处于较低的水平，山东武城县耐受性较高（张洋等，2010；Li *et al.*，2011）。但在河北邱县，2007 年棉铃虫的抗性基因频率为 0.075，显著高于 1999 年的 0.005 8 的 12 倍（何丹军等，2001；Liu *et al.*，2010）。此后，2010-2012 年继续监测了河北省邱县棉铃虫田间种群对 Bt 棉的抗性等位基因频率变化，抗性等位基因频率分别为 0.131、0.078 及 0.199，又用 LC_{50} 法证实河北邱县棉铃虫种群的抗性倍数为 19.2 倍（潘利东等，2013）。以上监测结果表明：我国黄河流域棉区的不同省份之间，甚至在同一省份不同地区之间，棉铃虫对转 Bt 基因棉花的抗性演化存在着不同程度的差异。

“高剂量/庇护所”策略能够大大的延缓害虫抗性的产生，是当前世界上广为接受的 Bt 棉的抗性治理策略。在我国黄河流域棉区，大豆，玉米，花生等多种作物与棉花混和种植，这些作物可以为棉铃虫提供了天然的庇护所，但在不同地区不同年份天然庇护所的面积也是高度变化的，对抗性延缓的功效也可能不同（Wu *et al.*，2004；Li *et al.*，2017）。因此动态监测某一地区棉铃虫对 Cry1Ac 的敏感度的变化，及时了解棉铃虫对 Bt 棉花的抗性水平显得至关重要。近年来随着种植结构的调整，Bt 棉花面积在一些地区的大幅度缩减，特别是在河南省，2006-2010 年均棉花种植面积为 61.16 万 hm^2，2011-2015 年均种植面积缩减到 22.30 万 hm^2，棉铃虫对转 Cry1Ac 敏感度是否会增加有必要进一步的研究和确认。2007-2009 年，我们报道了河南新乡地区的抗性基因频率处于较低的水平（Li *et al.*，2011）。在前期建立的基准上，2013-2016 年我们又系统监测了河南省新乡地区棉铃虫对 Cry1Ac 的抗性现状，以便动态地了解河南新乡棉铃虫种群对 Cry1Ac 的敏感性变化，为早期制定科学有效的田间棉铃虫抗性治理策略提供依据。

1 材料与方法

1.1 雌蛾采集地点和方法

2013-2016 年 5 月下旬至 9 月中旬在河南省农业科学院现代农业科技试验示范基地（35°N，113°42′E）设置了一个 1 000 W 金属卤化物探照灯，用来诱集棉铃虫成虫。2013-2016 年分别诱到棉铃虫雌蛾 856，784，569 头。

将诱集到的雌蛾单头放在干净、透明的一次性塑料杯（250 mL）中，将杯子按 P1，P2，P3，P4……编号，杯内成虫以 10%糖水补充营养，杯口用纱布覆盖以便产卵。饲养条件为（26 ± 1）℃，相对湿度为 60%-70%，光周期 14L：10D。

1.2 供试 Cry1Ac 蛋白

含 Cry1Ac 型 Bt ICP 20%的 MVPII 水剂，由 Mycogen 公司提供。

1.3　F_1 代幼虫生物测定方法

采用饲料混合法：以 Wu 等（1999）确定的 1.0 μg/mL 饲料为诊断浓度，根据 Li 等(2004)的生物测定方法。将 Cry1Ac 用蒸馏水稀释，混入到溶化（50℃左右）的饲料中，充分搅拌均匀，倒入塘瓷盘中，置于冰箱中 4 ℃保存备用，饲料配方见梁革梅等（1999）。幼虫孵化后，用小毛笔将每个家系的初孵幼虫分别接在正常饲料（CK）和 Cry1Ac 饲料上，两种饲料分别接虫 24 头，用 24 孔养虫板饲养，每孔 1 头，饲养条件为（26 ± 1）℃，相对湿度为 60%-70%，光周期 14L∶10D。6 d 后，据头壳和体长判断龄期，并参照 Li 等（2004）的方法将各个龄期划分相应的级别。

1.4　F_2 代幼虫生物测定方法

F_1 代幼虫在 Cry1Ac 饲料上发育与在正常饲料上发育较相近的按 10%的比例，将各个家系在正常饲料上存活幼虫分别保存下来，使其羽化，置于养虫笼中自交，进行 F_2 代幼虫生物测定，方法同 F_1 代幼虫生物测定。

1.5　统计方法

根据生物测定结果，计算每个家系幼虫在两种饲料上的相对平均发育级别，为消除环境条件的影响，相对平均发育级别为在 Cry1Ac 饲料上的平均发育级别除以在正常饲料上的平均发育级别。任一家系 F_1 代和 F_2 代的相对平均发育级别都≥0.8 被认为是抗性个体，假设每个雌蛾交配一次，抗性基因频率=抗性个体数目/(4 × F_1 代生物测定总数目)。用 *R* 软件进行方差分析和多重比较及 *t*-测验（$P = 0.05$）。

2　结果与分析

2.1　F_1 代新乡种群的相对平均发育级别

2013 年，共有 236 头雌蛾产出足够的卵成功地进行了生物测定，所有家系在正常饲料上的平均发育级别为 6.63，在 Cry1Ac 饲料上的平均发育级别为 3.38。由图 1 可知，大部分家系的幼虫相对平均发育级别在 0.5 左右，所有家系的相对平均发育级别在 0.4-0.8 之间。

2015 年，共有 230 头雌蛾产出足够的卵成功地进行了生物测定，所有家系在正常饲料上的平均发育级别为 6.56，在 Cry1Ac 饲料上的平均发育级别为 2.88。由图 1 可知，大部分家系的幼虫相对平均发育级别在 0.4 和 0.5 左右。

2016 年，共有 219 头雌蛾产出足够的卵成功地进行了生物测定，所有家系在正常饲料上的平均发育级别为 6.75，在 Cry1Ac 饲料上的平均发育级别为 2.84。由图 1 可知，大部分家系的幼虫相对平均发育级别在 0.4 和 0.5 左右。

2013-2016 年，F_1 代的相对平均发育级别有显著差异（$F = 30.75$, $df = 2, 684$, $P = 0.00$）（表 1），2013 年的所测的棉铃虫种群的相对平均发育级别值为 0.506，显著高于 2015 年所测的 0.448 和 2016 年所测的 0.422（表 1），结果表明：新乡棉铃虫种群敏感度有所提高。

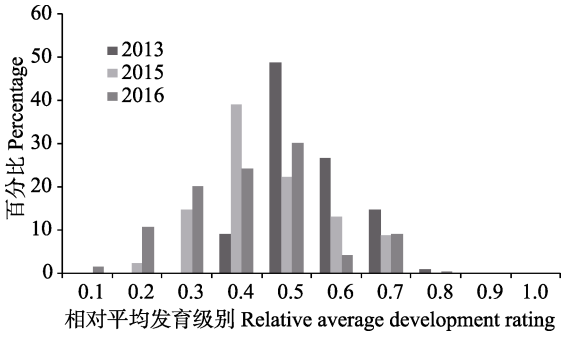

图 1　棉铃虫 F_1 代幼虫相对平均发育级别分布图

Fig. 1　Distribution of the relative average development rating for F_1 larvae of *Helicoverpa armigera*

2.2　F_2 代新乡种群的相对平均发育级别

2013 年，因感染病毒 F_2 代幼虫测试失败，无结果。2015 年，共有 34 个家系成功的进行了生物测定，其群体的相对平均发育级别为 0.529，显著高于其 F_1 代的平均值 0.448（$T = -3.813$；$df = 262$；$P = 0.010$; 表 1），2016 年共有 28 个家系成功的进行了生物测定，其群体的相对平均发育级别为 0.498，显著高于其 F_1 代的平均值 0.422（$T = -2.782$；$df = 245$；$P = 0.000$；表 1）。这些结果表明，F_1 代相对平均发育级别较高，其 F_2 代的相对平均发育级别也较高，这可能是以遗

表 1 新乡棉铃虫种群 F_1 和 F_2 代幼虫的相对平均发育级别
Table 1 Relative average development ratings for larvae of *Helicoverpa armigera* F_1 and F_2 generation female lines in Xinxiang population

年份 Year	相对平均发育级别 Relative average development rating per line	
	F_1 代生物测定 F_1 generation	F_2 代生物测定 F_2 generation
2013	0.506 ± 0.005 a	—
2015	0.448 ± 0.008 b B	0.529 ± 0.016 A
2016	0.422 ± 0.009 c B	0.498 ± 0.014 A

同一列数据后标有相同小写字母表示不同年份之间差异不显著；同一行数据后标有相同大写字母表示 F_1 代和 F_2 代差异不显著（$P = 0.05$）。

Data followed by the small letters in same column indicate no significant difference in different years, while with capital letters in same row indicate no signicant difference between F_1 generation and F_2 generation in same year ($P = 0.05$) .

传为基础的。

2.3 抗性基因频率的计算

2013 年，在 F_1 代所有成功生物测定的家系中，其中有两个家系的相对平均发育级别达到了 0.8，这两个家系是#12 和#213，家系#12 在正常饲料上的平均发育级别为 7.12，在 Cry1Ac 饲料上的平均发育级别为 5.67；家系#213 在正常饲料上的平均发育级别为 6.35，在 Cry1Ac 饲料上的平均发育级别为 5.09。因感染病毒 F_2 代无结果，假设这两个家系的相对平均发育级别在 F_2 代测试中也达到 0.8，按照至少交配一次，则每只交配的雌蛾至少带有 4 个配子，2 个是其自身，另 2 个是其交配雄虫的，则计算的最高的抗性基因频率 2/（236 × 4）= 0.00212（表 2）。

2015 年，在 F_1 代所有成功生物测定的家系中，没有任何家系的相对平均发育级别达到了 0.8，在所测试的 F_2 代家系中，也没有家系的相对平均发育级别达到 0.8。则计算的最高的抗性基因频率 0/（230 × 4）= 0（表 2）。

2016 年，在 F_1 代所有成功生物测定的家系中，其中有 1 个家系的相对平均发育级别达到了 0.8，在所测试的 F_2 代家系中，没有任何一个家系的相对平均发育级别达到了 0.8，则计算的最高的抗性基因频率 0/（219 × 4）= 0（表 2）。

3 讨论

本文报道了使用单雌系 F_1/F_2 代并结合诊断剂量法于 2013-2016 年连续监测了河南省新乡市棉铃虫种群对 Cry1Ac 蛋白的抗性基因频率，结果表明该地区的棉铃虫种群对 Cry1Ac 的抗性基因频率仍处于较低水平。这一结果与采用相同方法检测的河北廊坊，山东夏津，河南安阳，河北威县以及山东武城的棉铃虫种群（Li *et al.*，2004，2007；Gao *et al.*，2009；张洋等，2010；An *et al.*，2015），以及采用改进的 F_1 筛选法检测的 2005 年河南安阳和河北沧县棉铃虫种群抗性基因频率处于较低水平相一致（陈海燕等，2008）。

本文检测到的新乡地区棉铃虫种群的相对平均发育级别显著低于河北廊坊，山东夏津以及山东武城地区的棉铃虫种群（Gao *et al.*，2009；

表 2 根据棉铃虫对 1.0 μg/mL Cry1Ac 饲料的反应而计算的抗性基因频率
Table 2 Estimates of resistance (R) allele frequency from responses of *Helicoverpa armigera* to 1.0 μg of Cry1Ac per mL of diet

年份 Year	F_1 代生物测定 F_1 generation bioassay		F_2 代生物测定 F_2 generation bioassay		估计的抗性基因频率 Estimated rallele frequency
	总数 Total	≥0.8*	总数 Total	≥0.8*	
2013	236	2	—	—	≤0.002 12
2015	230	0	34	0	0
2016	219	1	28	0	0

*表示任一家系 F_1 代和 F_2 代的相对平均发育级别都≥0.8 则被认为是抗性个体。

*：Moth is regarded as individual with resistance allele if the relative average development ratings of its F_1 line and F_2 were more than 0.8.

张洋等，2010；An *et al.*，2015），说明新乡棉铃虫种群较廊坊、夏津和武城种群对 Cry1Ac 蛋白更敏感。同时，新乡种群的相对平均发育级别由 2013 年的 0.506 分别下降到 2015 和 2016 年的 0.448 和 0.442，表明新乡的棉铃虫对 Cry1Ac 蛋白正变得更加敏感。棉花种植面积在河南省逐年下降，玉米、花生等其他适宜寄主植物种植面积增加，这种作物种植结构的调整为棉铃虫提供了更多的庇护所，这可能是棉铃虫对 Bt 棉花敏感性增加的重要因素（Jin *et al.*，2015；Ye *et al.*，2015；Li *et al.*，2017）。

不容乐观的是，国内有学者使用 F_2 代法和 F_1 代单对杂交法已检测到河北邱县的棉铃虫种群对 Bt 的抗性基因频率有增高的趋势（何丹军等，2001；刘凤沂等，2008；Liu *et al.*，2008，2010；Xu *et al.*，2009），又通过 LC_{50} 法证实河北邱县的棉铃虫种群对 Bt 产生了 19.2 倍的抗性（潘利东等，2013）。这可能是由于河北邱县自 2001 年以来 Bt 基因棉占总作物种植面积的 85% 以上造成的（潘利东等，2013）。

由于棉铃虫是一种迁飞性害虫，这种局部地区产生的抗性很容易传播到其它地区，美国秋粘虫对转基因玉米抗性的快速传播就是一例。最初只在美属波多黎各发现秋粘虫对转 Cry1F 基因玉米产生抗性（Store *et al.*，2010），随后几年，在美国本土多个地区也发现了抗性产生（Huang *et al.*，2014；Li *et al.*，2016），且认为在本土地区的抗性产生主要是由于秋粘虫从波多黎各的远距离迁飞导致（Huang *et al.*，2014）。因此，继续监测棉铃虫对 Bt 棉花的抗性变化仍是一项重要的工作，以确保 Bt 棉花能够在我国可持续安全种植。

参考文献 (References)

An JJ, Gao YL, Lei CL, Gould F, Wu KM, 2015. Monitoring cotton bollworm resistance to Cry1Ac in two counties of northern China during 2009-2013. *Pest Management Science*, 71(3): 377–382.

Chen HY, Yang YH, Wu SW, Yang YJ, Wu YD, 2007. Estimated frequency of resistance alleles to Bt toxin Cry1Ac in the field populations of *Helicoverpa armigera* (Hübner) from Northern China. *Acta Entomologica Sinica*, 50(1): 25–30. [陈海燕, 杨亦桦, 武淑文, 杨亚军, 吴益东, 2007. 棉铃虫田间种群 Bt 毒素 Cry1Ac 抗性基因频率的估算. 昆虫学报, 50(1): 25–30.]

Downes S, Mahon RJ, Rossiter L, Kauter G, Leven T, Fitt Gary, Baker Geoff, 2010. Adaptive management of pest resistance by *Helicoverpa* species (Noctuidae) in Australia to the Cry2Ab Bt toxin in Bollgard II cotton. *Evolutionary Applications*, 3(5/6): 574–584.

Gao YL, Wu KM, Gould F, 2009, Frequency of Bt resistance alleles in *H. armigera* during 2006-2008 in Northern China. *Environmental Entomology*, 38(4): 1336–1342.

He DJ, Shen JL, Zhou WJ, Gao CF, 2001. Using F_2 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). *Cotton Science*, 13(2): 105–108. [何丹军, 沈晋良, 周威君, 高聪芬, 2001. 应用单雌系 F_2 代法检测棉铃虫对转 Bt 基因棉抗性等位基因的频率. 棉花学报, 13(2): 105–108.]

Huang FF, Qureshi JCA, Meagher RL, Reisig DD, Head GP, Andow DA, Ni X, Kerns D, Buntin GD, Niu Y, Yang F, Dangal V, 2014. Cry1F resistance in fall armyworm *Spodoptera frugiperda*: single gene versus pyramided Bt maize. *PLoS ONE*, 9(11): e0112958. doi:10.1371/journal.pone.0112958

Jin L, Zhang HN, Lu YH, Yang YH, Wu KM, Tabashnik BE, Wu YD, 2015. Large-scale test of the natural refuge strategy for delaying insect resistance to transgenic Bt crops. *Nature Biotechnology*, 33(2): 169–174.

Li GP, Gao YL, Feng HQ, Qiu F, 2011. Frequency of Bt resistance alleles in *Helicoverpa armigera* in 2007-2009 in the Henan cotton growing region of China. *Crop Protection*, 30(6): 679–684.

Li GP, Reisig DD, Miao J, Gould F, Huang FF, Feng HH, 2016. Frequency of Cry1F non-recessive resistance alleles in North Carolina field populations of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) *PLoS ONE* 11(4): e0154492.doi:10.1371/journal.pone.0154492

Li GP, Wu KM, Gould F, Feng HQ, HeYZ, Guo YY, 2004. Bt toxin resistance gene frequencies in *Helicoverpa armigera* populations from the Yellow River cotton farming region of China. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 112(2): 135–143.

Li GP, Wu KM, Gould F, Wang JK, Miao J, Gao XW, Guo YY, 2007. Increasing tolerance to Cry1Ac cotton from cotton bollworm was confirmed in Bt cotton farming area of China. *Ecological Entomology*, 32(4): 366–375.

Li YH, Gao YL, Wu KM, 2017. Function and effectiveness of

natural refuge in IRM strategies for Bt crops. *Insect Science*, 21(1):1–6.

Liang GM, Tan WJ, Guo YY, 1999. An improved artificial rearing technique for *Helicoverpa armigera*. *Plant Protection*, 25(2)：15–17. [梁革梅, 谭维嘉, 郭予元, 1999. 人工饲养棉铃虫技术的改进. 植物保护, 25(2): 15–17.]

Liu FY, Xu ZP, Chang JH, Chen J, Meng FX, Zhu YC, Shen JL, 2008. Resistance allele frequency to Bt cotton in field populations of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in China. *Journal of Economic Entomology*, 101(3): 933–943.

Liu FY, Xu ZP, Zhu YC, Huang FF, Wang YH, Li HL, Li H, Gao CC, Zhou WJ, Shen JL, 2010. Evidence of field-evolved resistance to Cry1Ac-expressing Bt cotton in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in northern China. *Pest Management Science*, 66(2): 155–161.

Liu FY, Zhu YC, Shen JL, 2008. Monitoring resistance to transgenic Bt cotton in field populations of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) with F_1 screening method. *Acta Entomologica Sinica*, 51(9): 938–945. [刘凤沂, 朱玉成, 沈晋良, 2008. F_1 代法监测田间棉铃虫对转 Bt 基因棉的抗性. 昆虫学报, 51(9): 938–945.]

Pan LD, Shi M, Zhang K, Chen J, Gao CF, 2013. Analysis of Frequency of resistance allele to transgenic Bt cotton in field populations of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) with F_1 screening method. *Cotton Science* 25(3)：240–246. [潘利东, 施明, 张凯, 陈进, 高聪芬, 2013. F_1 代法检测棉铃虫种群对Bt棉的抗性等位基因频率变化. 棉花学报, 25(3): 240–246.]

Storer NP, Babcock JM, Schlenz M, Meade T, Thompson GD, Bing JW, Huckaba RM, 2010. Discovery and characterization of field resistance to Bt maize: *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Puerto Rico. *Journal of Economic Entomology*, 103(4): 1031–1038.

Tabashnik BE, Carrière Y, 2017. Surge in insect resistance to transgenic crops and prospects for sustainability. *Nature Biotechnology*, 35(10): 926–935.

Tabashnik BE, Gassmann AJ, Crowder DW, Carrière Y, 2008. Insect resistance to Bt crops: evidence versus theory. *Nature Biotechnology*, 26(2): 199–202.

Tabashnik BE, Van Rensburg JBJ, Carrière Y, 2009. Field-evolved insect resistance to Bt crops: definition, theory, and data. *Journal of Economic Entomology*, 102(6): 2011–2025.

Wu KM, Feng HQ, Guo YY, 2004. Evaluation of maize as a refuge for management of resistance to Bt cotton by *Helicoverpa armigera* in the Yellow River cotton-farming region of China. *Crop Protection*, 23(6): 523–530.

Wu KM, Guo YY, Lu N, 1999. Geographic variation in susceptibility of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to *Bacillus thuringiensis* insecticidal protein in China. *Journal of Economic Entomology*, 92(2): 273–278.

Wu KM, Lu YH, Feng HQ, Jiang YY, Zhao JZ, 2008. Suppression of cotton bollworm in multiple crops in China in areas with Bt toxin containing cotton. *Science*, 321(5896): 1676–1678.

Xu ZP, Liu FY, Chen J, Huang FF, Andow DA, Wang YH, Zhu YC, Shen JL, 2009. Using an F_2 screen to monitor frequency of resistance alleles to Bt cotton in field populations of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest management Science*, 65(4): 391–397.

Ye LF, Fu X, Ouyang F, Xie BY, Ge F, 2015. Determining the major Bt refuge crops for cotton bollworm in North China. *Insect Science*, 22(6): 829–839.

Zhang Y, Zhang S, Cui JJ, 2010. Frequency of Bt resistance alleles in *Helicoverpa armigera* populations from the Yellow River cotton-farming region of China. *Cotton Science*, 22(4): 297–303. [张洋, 张帅, 崔金杰, 2010. 黄河流域田间棉铃虫对转 Bt 基因棉抗性监测. 棉花学报, 22(4): 297–303.]