

蚊虫对微生物和昆虫生长调节剂杀幼剂的抗药性及其管理

苏天运

旅美医学与媒介生态学博士,美国加利福尼亚州,河滨市 92506

摘要: 微生物和昆虫生长调节剂杀幼剂因具有相对靶生物特异性与环境保护理念越来越广泛用于蚊虫控制。该文回顾了这些杀虫剂的作用原理、在蚊虫控制方面的使用概况、抗药性发展及管理的策略与措施。涉及到的杀虫剂包括天然微生物杀虫剂苏云金杆菌以色列变种、球形芽孢杆菌、刺糖多孢菌多杀菌素,以及人工合成的昆虫生长调节剂如烯虫酯、吡丙醚和除虫脲。抗药性发展的预防和控制是可持续性蚊虫综合治理成功的关键之一。

关键词: 微生物杀幼剂; 昆虫生长调节剂; 蚊虫控制; 抗药性发展; 抗药性管理

中图分类号: R384.1; S476; S481*.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-4692(2014)03-0193-07

DOI: 10.11853/j.issn.1003.4692.2014.03.001

Resistance development and management in mosquitoes to microbial and insect growth regulator larvicides

SU Tian-yun

U.S.A. -Based Doctor of Medicine and Doctor of Philosophy in Vector Ecology, Riverside, CA 92506, U.S.A.

Abstract: Mosquito larvicides derived from microbial organisms and insect growth regulators (IGR) have been increasingly used to control mosquito larvae. Their relative target specificity, non-target safety and environmentally friendly profile have been well documented. The current paper was intended to review and analyze the relevant information regarding resistance development and management strategies and measures. The biorational larvicides discussed include *Bacillus thuringiensis israelensis* de Bajac (*B.t.i.*), *Bacillus sphaericus* Neide, spinosad derived from *Saccharopolyspora spinosa* Mertz and Yao, as well as IGRs such as methoprene, pyriproxyfen and diflubenzuron. The prevention of resistance and restoration of susceptibility in mosquitoes to these biorational larvicides are crucial to the success of sustainable integrated mosquito management.

Key words: Microbial larvicide; Insect growth regulator; Mosquito control; Resistance development; Resistance management

传统的虫媒传染病如疟疾、淋巴丝虫病、登革热、流行性乙型脑炎等在某些地区仍然存在,较新的虫媒病如西尼罗病毒脑炎、基孔肯雅热、裂谷热等传播范围正在不断扩大。全球化快速经济发展、人口增长、气候变迁及环境变化又加剧了虫媒及虫媒传染病对人类健康的威胁。在过去的一个多世纪里,杀虫剂的研究开发和使用在保护人类健康上起到了不可替代的作用,其间从早期的无机杀虫剂发展到随后的有机合成杀虫剂,以及目前正在大力推广使用的生物理念杀虫剂。纵观历史,几乎所有的杀虫剂都面临抗药性产生与扩展的风险。蚊虫个体可通过减少摄取,强化代谢,作用位点改变及增加排泄而获得在一定杀虫剂剂量下的生存能力。由于杀虫剂的不当使用、靶生物的适应以及

杀虫剂本身的理化特性所造成的抗药性后果非常严重。在大规模使用某种杀虫剂之前制订预防抗药性产生的策略、采取适当的措施实为上策。在抗药性产生后采取力所能及的补救措施旨在恢复种群的敏感性也为时未晚。本文综合分析了蚊虫对微生物和昆虫生长调节剂杀幼剂的抗药性及其管理的历史和现状,希望对目前和未来的蚊虫控制有所裨益。

1 微生物杀虫剂

1.1 苏云金杆菌以色列变种 (*Bacillus thuringiensis israelensis* de Bajac, *B.t.i.*)

1.1.1 细菌、毒素及作用原理 苏云金杆菌 (*Bacillus thuringiensis*) 于 1901 年由日本的生物学家 Shigetane Ishiwata 首次在罹患 sotto 病的家蚕幼虫体内发现,并命名为 sotto 病杆菌 (*Bacillus sotto*), 此命名后来未被科学界认同和接受。10 年后科学家 Ernst Berliner 于德国

作者简介: 苏天运,男,博士,从事虫媒病的综合治理和媒介的无害化控制研究。Email: anopheles.sinensis@gmail.com

Thuringia 省的一家面粉厂内采得死亡地中海面粉蛾幼虫 (*Anagasta kuehniella*), 并在其体内发现相关的致病菌, 命名为苏云金杆菌^[1]。迄今, 已有 70 个鞭毛抗原血清型、80 多个亚种的苏云金杆菌被分离鉴定。其中有 14 个血清型、16 个亚种对蚊蚋具有不同程度的毒性。*B.t.i.* 于 1976 年发现于以色列沙漠的一个自然蚊虫孳生地^[2-3], 属于 H-14 血清型。此菌在形成孢子的过程中能产生 4 种具有协同作用的内毒素 (Cry4A、Cry4B、Cry11A 和 Cyt1A)^[4-7], 经蚊幼虫摄取后与肠上皮细胞的相应受体结合, 造成肠组织崩解和幼虫死亡。这些毒素对蚋的幼虫也有较高毒性^[8], 在高浓度下也常用于杀灭摇蚊幼虫^[9]。*B.t.i.* 毒素具有广谱、速效等优点, 被杀虫剂抗性执行委员会 (Insect Resistance Action Committee, IRAC) 列为第 11 类杀虫剂, 即昆虫中肠上皮干扰物。在过去 30 年里, 多种 *B.t.i.* 剂型例如液体悬浮剂、颗粒剂 (多种不同载体)、水扩散微粒剂、块剂等已在世界范围内广泛地应用于蚊、蚋和摇蚊的控制。

1.1.2 抗药性发展 迄今为止, 靶生物对于 *B.t.i.* 天然毒素复合体的抗药性报道极为罕见^[10-11]。在德国的莱茵河流域, 不同的 *B.t.i.* 剂型长期用于刺扰伊蚊 (*Aedes vexans*) 的现场控制, 未见其敏感性有显著下降^[10]。采集于美国纽约州的尖音库蚊 (*Culex pipiens*) 在实验室生物测定中显示出低水平抗药性, 但其测定结果并未得到进一步证实^[11]。在实验室尖音库蚊种群或埃及伊蚊 (*Aedes aegypti*) 经过 11~60 代选择后只建立起 2~17 倍的抗药性, 且抗药性在多数情况下欠缺稳定性^[12-17]。然而, 致倦库蚊 (*Cx. quinquefasciatus*) 经用 *B.t.i.* 个别毒素或者个别毒素的组合选择后, 在溶细胞毒素缺失的前提下则可产生高达 91~900 倍的抗药性, 其水平的高低取决于毒素复合体中所含毒素种类的多寡。当所含毒素种类较多时, 抗药性发展较为缓慢, 所达到的水平也较低^[18-19]。这种对个别毒素易产生抗药性而对天然毒素复合体几乎不产生抗药性的现象也存在于苏云金杆菌其他亚种如 *B.t. jegathesan*^[20]。*B.t.i.* 晶体毒素之间存在交叉抗药性^[21], 这种交叉抗性有时甚至从 *B.t.i.* 延伸到其他杀蚊幼的亚种。例如, 对 *B.t.i.* 个别晶体毒素已经产生抗药性的致倦库蚊对源自 *B.t. jegathesan* 的晶体毒素 Cry11B 有交叉抗药性^[22], 但对源自同一菌株的 Cry19A 则仍然敏感^[23]。*B.t.i.* 毒素中的溶细胞毒素 Cyt1A 本身并不具有显著的杀蚊幼活性^[24], 但其在克服、预防、推迟蚊虫对其晶体毒素的抗药性上起着关键作用^[25-33]。最近报道, 源自某些球形芽孢杆菌的杀蚊毒素 (mosquitocidal toxin, Mtx) 不但可以提高 *B.t.i.* 晶体毒素的效力, 也能抑制对晶体毒素抗药性的水平^[34-35]。即使致倦库蚊已经对苏云金杆菌以

色列变种个别毒素或者个别毒素的组合产生了抗性, 它对其他杀蚊幼苏云金杆菌亚种例如 *B.t. jegathesan*、*B.t. kyushuensis* 和 *B.t. fukuokuensis* 则仍然敏感^[19]。

1.1.3 抗药性管理 基于上述对 *B.t.i.* 的抗药性研究结果, 避免使用单一晶体毒素或者少数晶体毒素的组合对于预防抗药性的产生极为重要。使用天然毒素复合体则可显著降低抗药性发生的机会。如果应用天然毒素复合体受到某些条件的限制, 例如当利用转基因技术在水藻中表达杀蚊毒素时, 溶细胞毒素 Cyt1A 加上 1~2 种晶体毒素则为较为理性的选择。更重要的是含天然毒素复合体的 *B.t.i.* 菌株还可作为其他生物理念杀虫剂抗药性管理强有力的工具 (见下文)。

1.2 球形芽孢杆菌 (*Lysinibacillus sphaericus* Meyer 和 Neide, 过去称为 *Bacillus sphaericus* Neide)

1.2.1 细菌、毒素及作用原理 到目前为止, 在已发现的 49 个鞭毛血清型中有 9 个血清型、16 个菌株对蚊幼有一定的毒杀作用。自从 1970 年代以来, 下述菌株例如 2362、1593、2297、C₃₋₄₁、IAB-59 等在研究和开发方面受到高度重视。球形芽孢杆菌最近被修订为 *Lysinibacillus sphaericus* Meyer 和 Neide^[36]。活性菌株在形成孢子的过程中能产生晶体二元毒素 (binary toxins), 其中包括结合亚体 (51×10^3) 和毒杀亚体 (42×10^3), 两者共存方能达到理想的杀蚊幼效果。有些菌株在其生长期也能产生可溶性的 Mtx。二元毒素作用原理与 *B.t.i.* 毒素相似。二元毒素的受体被鉴定为一种 α - 葡糖苷酶。这一受体借助于 GPI (glycosylphosphatidylinositol) 载体被锚定在中肠上皮细胞的刷状缘。二元毒素对有些蚊种如某些伊蚊效果较差, 源自 *B.t.i.* 的毒素特别是溶细胞毒素 Cyt1A 通过促进二元毒素在蚊幼中肠黏膜上皮细胞的结合和嵌入而显著增加其对埃及伊蚊的毒性。当球形芽孢杆菌毒素与 Cyt1A 以 10 : 1 的比例混合时, 对于埃及伊蚊幼虫的毒性提高了 3600 倍^[29,37]。球形芽孢杆菌具有持效长和耐有机污染等优点。该菌及其毒素与 *B.t.i.* 同属 IRAC 第 11 类杀虫剂。自 1990 年代以来球形芽孢杆菌已被开发成多种剂型例如颗粒剂 (多种不同载体)、水扩散微粒剂、水溶性袋剂、块剂等。这些剂型已在世界范围内广泛地应用于库蚊及其他蚊种的现场控制。

1.2.2 抗药性发展 尖音库蚊种群对不同球形芽孢杆菌菌株的抗药性自 1994 年以来已在多个国家有报道。实验室种群经球形芽孢杆菌 2362 菌株选择 8~80 代后, 抗药性达到 27~162 000 倍^[38-46]; 经 B101 菌株选择 6 代后, 抗药性达到 52 000 倍^[47]; 经 1593 菌株选择 7 代后, 抗药性超过 6000 倍^[41,48-49]; 经 C₃₋₄₁ 菌株选择 13 代后, 抗药性达到 144 000 倍^[44,50]; 经 IAB-59 菌株选择

12~72 代后, 抗药性达到 6~40 000 倍^[44,51]。对于实验室选择压力的不同反应则与所用蚊虫种群的遗传背景、种群的大小、选择使用的压力水平等有关。另外, 抗药性水平的估计也与所用参考种群密切相关。尖音库蚊种团自然种群对于球形芽孢杆菌毒素的抗药性首次报道于 1994 年^[52], 发生在法国南部对 2362 菌株 70 倍的抗药性。之后, 2362 菌株产品现场应用数月甚至 2 年后, 不同水平(10~187 000 倍)的抗药性先后在巴西^[53]、法国^[54]、突尼斯^[55]和泰国^[56-57]被发现。同时, 蚊虫对其他球形芽孢杆菌菌株的抗药性也有报道, 例如在印度对 B101 菌株 7 倍^[47]和 1593 菌株 150 倍的抗药性^[48]以及在中国对 C₃₋₄₁ 菌株超过 20 000 倍的抗药性^[50]。自然种群对于产品使用后抗药性发展的程度差别迥异, 究其原因可能与蚊虫在自然界与球形芽孢杆菌的接触、种群的遗传背景、与未处理种群间的基因流动以及产品使用的策略等有关。更有甚者, 鉴于不同球形芽孢杆菌菌株二元毒素间的相似性, 一旦蚊虫对球形芽孢杆菌 2362、1593、C₃₋₄₁ 和 IAB59 菌株产生抗药性, 蚊虫同时常常对其他球形芽孢杆菌菌株也产生交叉抗药性。菌株间交叉抗药性在产生 Mtx 的菌株间则较为温和, 而且 Mtx 与二元毒素间不存在交叉抗药性^[58]。有幸的是无论蚊虫对球形芽孢杆菌任何菌株产生抗药性以及抗药性的水平, 其对 *B.t.i.* 的敏感性基本不受影响^[41-49,51,56-57,59-61], 或者仅显示有限的耐受性^[62]。

蚊虫对球形芽孢杆菌抗药性受控于隐性遗传^[54,63], 其原理是多方面的。多数研究倾向于基因突变导致蚊幼肠上皮毒素受体载体转录的提前终止, 致使载体缺乏完整性。也有研究表明受体基因中 19 个核苷酸的缺失导致受体合成的不完整性^[46,53,64-66]。无论是受体载体或者受体本身的问题均会导致二元毒素在蚊幼中肠呈游离状态而无法发挥毒理作用。其他因素例如行为抗药性导致毒素的摄取减少^[38]和其他尚未知道的因素^[40,55]也在抗药性发展上起到一定作用。

1.2.3 抗药性管理 *B.t.i.* 在球形芽孢杆菌抗药性管理上是一个强有力的工具。实验研究证明, 如果对球形芽孢杆菌的抗药性已经发生, *B.t.i.* 或者其与球形芽孢杆菌的混合物(比例 1:1)则可恢复抗药性种群对于球形芽孢杆菌的敏感性, 但这一过程往往需要数十代^[43,57]。*B.t.i.* 与球形芽孢杆菌的混合物因其毒素间的相互增效作用^[7,19,67]特别是溶细胞毒素 Cyt1A^[32]的存在可有效地推迟和预防对球形芽孢杆菌抗药性的产生^[68-69], 然而两者的交替使用可加快对球形芽孢杆菌抗药性的产生^[45], 这一点似乎违背了常用的抗药性管理策略。近年来 *B.t.i.* 和球形芽孢杆菌毒素通过生物融和技术的复配以及通过基因重组技术构建能同时产

生 2 种细菌所有毒素的菌株^[70-72]都为球形芽孢杆菌的抗药性管理开辟了新蹊径。另外, 球形芽孢杆菌制剂与植物杀虫剂例如苦楝素(azadirachtin)的复配也不失为一种抗药性管理的新尝试^[73]。

1.3 刺糖多孢菌(*Saccharopolyspora spinosa*)

1.3.1 细菌、毒素及作用原理 刺糖多孢菌于 1980 年代早期发现于加勒比地区的维京群岛^[74]。该菌产生大约 20 种刺糖菌素。刺糖菌素为神经毒素, 主要经口摄入, 以变构调节剂作用于昆虫神经系统突触后膜烟碱乙酰胆碱(nACh)受体。刺糖菌素也在某种程度上也激活 γ 氨基丁酸(GABA)受体, 致使靶生物过度兴奋而死亡^[75-77]。刺糖菌素 A 和 D 的混合物称为多杀霉素, 被 IRAC 列为第 5 类杀虫剂。作为非选择性杀虫剂, 其对非靶生物的安全性常常通过调整剂量而得以保证。自从 1980 年代以来, 多杀霉素、乙基多杀霉素(spinetoram)和其他刺糖菌素得到了广泛深入的研究和开发, 多种产品用于农业及林业害虫的治理。最近, 用于蚊幼控制的系列多杀霉素产品已获美国环保署(USEPA)注册。

1.3.2 抗药性发展 对于多杀霉素的抗药性自 2000 年以来多次发生在实验室和自然种群的双翅目、鳞翅目、缨翅目农业害虫, 甚至膜翅目的有益昆虫^[76]。当某些鳞翅目昆虫对溴氰菊酯(deltamethrin)、阿维菌素(abamectin)、甲氨基阿维菌素苯甲酸盐(emamectin benzoate)、茚虫威(indoxacarb)、氟啶脲(chlorfluazuron)和氟虫腈(fipronil)产生抗药性时, 同时也对多杀霉素具有交叉抗药性。但多数情况下, 当昆虫对有机磷类(organo phosphates)、氨基甲酸酯类(carbamates)、拟除虫菊酯类(pyrethroids)、阿维菌素类(avermectins)、恶二嗪类(oxadiazines)、新烟碱类(neonicotinoids)、氟虫氰类(fiproles)产生抗药性时, 其对多杀霉素的敏感性则不受影响。迄今为止的多数研究表明, 多杀霉素抗药性与其作用位点即神经突触后膜的 nACh 受体变化有关, 特别是 D α 6 和 P α 6 等亚单位^[76-77]。蚊虫对多杀霉素的抗药性研究直到最近才有报道^[78-80]。虽然蚊幼在水中暴露于多杀霉素与陆生昆虫相比带有强迫性, 接触和摄取亚致死量的机会似乎比陆生昆虫较少, 但抗药性产生的风险依然存在。当实验室致倦库蚊 3~4 龄幼虫经 LC₇₀₋₉₀ 浓度处理 45 代后, 抗药性在 LC₅₀ 水平达到了 2845~2907 倍、在 LC₉₀ 水平达到了 11 948~22 928 倍。抗药性的发展在选择过程中呈现指数曲线^[80], 似乎提示抗药性受控于隐性基因的调控。只有携带抗药性等位基因的纯合子才表现为抗药性个体, 而带有单个抗性基因的杂合子则仍然敏感。在选择的过程中, 种群中抗药性纯合子的频率呈指数曲线增

加。当蚊幼对多杀菌素产生抗药性时,同时也对胃毒微生物杀虫剂球形芽孢杆菌 2362 菌株毒素、多杀霉素类似物乙基多杀霉素、氯通道激活剂阿维菌素(abamectin)、GABA 门控氯通道拮抗剂氟虫氰(fipronil)产生交叉抗性。但对其他常用的杀虫剂例如胃毒微生物杀虫剂 *B.t.i.*、保幼激素类似物烯虫酯(methoperene)和吡丙醚(pyriproxyfen)、几丁质合成抑制剂除虫脲(diflubenzuron)和氟酰脲(novaluron)、有机磷类双硫磷(temephos)、nACh 受体激动剂吡虫啉(imidacloprid)和电位依赖性钠离子通道阻滞剂茚虫威仍然敏感^[80]。

1.3.3 抗药性管理 多杀霉素用于蚊幼控制是较新的尝试,自然种群对多杀霉素的抗药性迄今尚未见报道。鉴于其他多杀霉素剂型已逐渐广泛用于农业害虫的治理,在蚊虫控制产品使用前,自然蚊虫种群的确有机会暴露于亚致死量的多杀霉素致使其敏感性下降乃至加剧抗药性的产生。自然种群敏感性的系统检测尤为重要,关于抗药性管理的策略与措施的研究势在必行。

2 昆虫生长调节剂

2.1 烯虫酯(methoperene)和吡丙醚(pyriproxyfen)

2.1.1 成分及作用原理 烯虫酯及其类似物烯虫乙酯(hydroperene)、烯虫炔酯(kinoperene)和烯虫硫酯(triprene)最先于 1960 年代早期在美国合成,属于昆虫保幼激素类似物,经口摄取和由表皮吸收后干扰蚊幼的保幼激素平衡使 4 龄幼虫不能化蛹及羽化。大多数个体死于蛹期或半羽化状态的成蚊,在较高浓度下也可导致幼虫死亡。烯虫酯及其类似物已广泛用于农业、林业及仓储害虫的控制。吡丙醚最先由日本住友化学株式会社于 1970 年代中叶合成,与烯虫酯一样同属保幼激素类似物,但其杀蚊幼的活性比烯虫酯强约百倍^[80]。烯虫酯和吡丙醚同属 IRAC 第 7 类杀虫剂。保幼激素类似物属非选择性杀虫剂。

2.1.2 抗药性发展 蚊虫对烯虫酯抗药性的最早研究见于 1973 年,大多数实验室研究表明抗药性的发生属低至中等危险性。例如,致倦库蚊经 20 代选育未导致其抗药性的产生、尖音库蚊经 8 代选育后只产生了 8~13 倍的低水平抗药性和对烯虫乙酯的交叉抗药性、致倦库蚊经 10 代选育后导致对烯虫酯低水平抗药性(3.9~21.3 倍)。中等至高水平抗药性在实验室种群中也时有发生。附斑库蚊(*Cx. tarsalis*)经 62 代选育后导致对烯虫酯 86 倍的抗药性、尖音库蚊经 40 代选育后导致对烯虫酯 218 倍的抗药性,同时对烯虫乙酯和烯虫硫酯产生交叉抗药性,但对除虫脲则无交叉抗药性。快速排除并减少烯虫酯在组织内的储存在其抗药性发展的全过程中起着重要作用,代谢解毒过程似乎只与高水

平抗药性的发展和维持有关。

有关自然种群对于烯虫酯的抗药性报道比较少见。美国佛罗里达的带喙伊蚊(*Aedes taeniorhynchus*)种群于 1989—1994 年间在使用烯虫酯产品后产生了大约 15 倍的抗药性^[81]。稍后的报道显示,在使用烯虫酯产品 20 年后,药物耐受性和现场控制失败于 1998—1999 年发生在美国加利福尼亚中部牧场的黑斑伊蚊(*Aedes nigromaculis*)种群^[82]。这一种群对烯虫酯的抗药性达到了数千倍^[83],而且这一抗药性似乎与细胞色素 P450 单加氧酶(monooxygenase)和羧酸酯酶(carboxylesterase)的降解作用无关,因为在生物测试时加入胡椒基丁醚和其他相似增效剂并不能降低对烯虫酯的抗药性水平^[83]。

根据有限的资料,蚊幼对吡丙醚产生抗药性的风险很低。对有机磷抗药性的致倦库蚊实验室种群经吡丙醚选育 17 代后未见对其敏感性的显著变化^[84]。

2.1.3 抗药性管理 针对烯虫酯和吡丙醚抗药性管理的研究甚少。有限的现场研究资料表明,使用 *B.t.i.* 似乎可以部分恢复烯虫酯抗药性黑斑伊蚊自然种群的敏感性^[83]。

2.2 除虫脲(diflubenzuron)

2.2.1 成分及作用原理 除虫脲由荷兰 Philips-Duphar 于 1970 年代中叶首先合成。属非选择性生物理念杀虫剂,相对快速阻断节肢动物几丁质的合成,使其身体和器官不能成型、体液外泄而死亡。除虫脲可作用于蚊虫的所有生活史阶段,以幼虫阶段最为敏感。杀蚊幼的效果已在实验室和现场得到充分证实。除虫脲属于 IRAC 第 15 类杀虫剂。目前,只有可湿性粉剂在美国注册限制性的用于蚊幼和摇蚊幼虫的控制。

2.2.2 抗药性发展 迄今为止,对除虫脲的抗药性研究多限于实验室种群。总体来讲除虫脲属低风险抗药性杀幼剂。尖音库蚊经除虫脲选育 5 代后导致 7 倍的抗药性,对多种其他杀虫剂已产生抗药性的致倦库蚊,用除虫脲选育 10 代后仅产生 2.4~6.6 倍的低水平抗药性,对 DDT 已产生抗药性的埃及伊蚊经除虫脲选育 10 代后也仅产生 3.3 倍的抗药性。

2.2.3 抗药性管理 对于除虫脲抗药性管理的研究目前几乎是空白。

3 总结与展望

对于本文所述的生物理念杀虫剂抗药性产生的可能性的确存在,其中 *B.t.i.* 抗药性发生的风险最低,这一现象有赖于完整的毒素复合体以及溶细胞毒素与晶体毒素的相互增效作用。更有幸的是这一微生物杀虫剂同时也可用作其他生物理念杀虫剂抗药性管理的有

效工具。球形芽孢杆菌二元毒素在蚊虫控制上有诸多优点,但抗药性风险水平因受到诸多因素的影响而难以估计。根据现有的实验室研究和现场评价,上述 2 种细菌的复配不但有相互增效作用,而且对于恢复对球形芽孢杆菌的敏感性或者预防对其抗药性的产生均为上策。蚊虫对于多杀菌素产生抗药性的风险似乎较为明显,这一现象与多杀菌素的作用原理以及靶生物接触亚致死量的机会密切相关。就蚊虫对昆虫生长调节剂的抗药性发展而言,总体风险较低。但需要强调的是保幼激素类似物烯虫酯和吡丙醚只作用于蚊虫从晚期 4 龄幼虫到成虫的过渡阶段,其杀虫活性的水平多取决于蚊幼体内的保幼激素水平。自然种群中往往是多个水生阶段共存,其体内保幼激素浓度各不相同,靶生物接触亚致死量的机会是显而易见的,这就明显增加了抗药性产生的机会。

抗药性产生及扩散的后果是不言而喻的,例如媒介控制的成本大增,种群密度失控,疾病暴发流行等。另一方面,抗药性产生对于蚊虫种群本身常产生负面影响,例如成蚊寿命缩短,生殖力下降等^[85-86],甚至导致媒介能量的下降^[87-89]。在某些情况下媒介抗药性对虫媒病流行病学确切影响的评价可能会很复杂。在过去的几十年里,抗药性的产生与扩散导致非选择性长效有机合成杀虫剂的应用受到限制或取缔,同时也显著促进了杀虫剂毒理学和高新检测技术的长足发展,以及生物理念杀虫剂及其他害虫控制技术的研究、开发和使用的。

展望未来,杀虫剂抗药性的产生总体来说可能会有增无减,甚至对于本文所述的生物理念杀虫剂亦如此。从长远利益着眼,蚊虫种群对杀虫剂的敏感性检测应该常规化和标准化。有关抗药性管理的策略与措施的研究和应用应该先于杀虫剂的大规模现场推广。学术研究与工业开发和现场应用的密切合作对于延长杀虫剂寿命,提高可持续性蚊虫控制效果和保护生态环境至关重要。

参考文献

- [1] Roh JY, Choi JY, Li MS, et al. *Bacillus thuringiensis* as a specific, safe, and effective tool for insect pest control [J]. J Microbiol Biotechnol, 2007, 17(4): 547-559.
- [2] Goldberg LJ, Margalit J. A bacterial spore demonstrating rapid larvicidal activity against *Anopheles sergentii*, *Uranotaenia unguiculata*, *Culex univittatus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiens* [J]. Mosq News, 1977, 37(3): 355-358.
- [3] Margalit J, Dean D. The story of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (*B.t.i.*) [J]. J Am Mosq Control Assoc, 1985, 1(1): 1-7.
- [4] Tabashnik BE. Evaluation of synergism among *Bacillus thuringiensis* toxins [J]. Appl Environ Microbiol, 1992, 58(10): 3343-3346.
- [5] Poncet S, Delécluse A, Klier A, et al. Evaluation of synergistic interactions among the Cry IV A, Cry IV B, and Cry IV D toxic components of *B. thuringiensis* subsp. *israelensis* crystals [J]. J Invert Pathol, 1995, 66(2): 131-135.
- [6] Crickmore N, Bone EJ, Williams JA, et al. Contribution of the individual components of the δ - endotoxin crystal to the mosquitocidal activity of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* [J]. FEMS Microbiol Lett, 1995, 131(3): 249-254.
- [7] Wirth MC, Jiannino JJ, Federici BA, et al. Synergy between toxins of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* and *Bacillus sphaericus* [J]. J Med Entomol, 2004, 41(5): 935-941.
- [8] Merritt RW, Walker ED, Wilzbach MA, et al. A broad evaluation of *B.t.i.* for black fly (Diptera: Simuliidae) control in a Michigan river: efficacy, carry and nontarget effects on invertebrates and fish [J]. J Am Mosq Control Assoc, 1989, 5(3): 397-415.
- [9] Mulla MS, Chaney JD, Rodcharoen J. Control of nuisance midges (Diptera: Chironomidae) with the microbial larvicide *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* in a man - made lake in Southern California [J]. Bull Soc Vector Ecol, 1990, 15(2): 176-184.
- [10] Becker N, Ludwig M. Investigations on possible resistance in *Aedes vexans* field populations after a 10-year application of *Bacillus thuringiensis israelensis* [J]. J Am Mosq Control Assoc, 1993, 9(2): 221-224.
- [11] Paul A, Harrington LC, Zhang L, et al. Insecticide resistance in *Culex pipiens* in New York [J]. J Am Mosq Control Assoc, 2005, 21(3): 305-309.
- [12] Tetreau G, Stalinski R, David JP, et al. Monitoring resistance to *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* in the field by performing bioassays with each Cry toxin separately [J]. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2013, 108(7): 894-900.
- [13] Goldman I, Arnold J, Carlton BC. Selection for resistance to *Bacillus thuringiensis* subspecies *israelensis* in field and laboratory populations of the mosquito *Aedes aegypti* [J]. J Invert Pathol, 1986, 47(3): 317-324.
- [14] Saleh MS, El-Meniawi FA, Kelada NL, et al. Resistance development in mosquito larvae *Culex pipiens* to the bacterial agent *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* [J]. J Appl Entomol, 2003, 127(1): 29-32.
- [15] Mittal P. Laboratory selection to investigate the development of resistance to *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* H-14 in *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) [J]. Nat Acad Lett India, 2005, 287(8): 281-283.
- [16] Paris M, Marcombe S, Coissac E, et al. Investigating the genetics of Bti resistance using mRNA tag sequencing: application on laboratory strains and natural populations of the dengue vector *Aedes aegypti* [J]. Evol Appl, 2013, 6(7): 1012-1027.
- [17] Tetreau G, Bayyareddy K, Jones CM, et al. Larval midgut modifications associated with *B.t.i.* resistance in the yellow fever mosquito using proteomic and transcriptomic approaches [J]. BMC Genomics, 2012, doi: 10.1186/1471-2164-13-248.
- [18] Georghiou GP, Wirth MC. Influence of exposure to single versus multiple toxins of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on the development of resistance in the mosquito *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) [J]. Appl Environ Microbiol, 1997, 63(3): 1095-1101.
- [19] Wirth MC. Mosquito resistance to bacterial larvicidal toxins [J]. Open Toxinol J, 2010, 3: 126-140. doi: 10.2174/1875414701003010126.
- [20] Wirth MC, Delécluse A, Walton WE. Laboratory selection for resistance to *Bacillus thuringiensis* subsp. *jegathesan* or a component toxin, Cry11B, in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) [J]. J Med Entomol, 2004, 41(3): 435-441.
- [21] Wirth MC, Georghiou GP. Cross-resistance among Cry IV toxins of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) [J]. J Econ Entomol, 1997, 90(6): 1471-1477.
- [22] Wirth MC, Delécluse A, Federici BA, et al. Variable cross resistance to Cry11B from *Bacillus thuringiensis* subsp. *jegathesan* in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) resistant to single or

- multiple toxins from *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* [J]. Appl Environ Microbiol, 1998, 64(11):4174–4179.
- [23] Wirth MC, Delécluse A, Walton WE. Lack of cross resistance to Cry19A from *Bacillus thuringiensis* subsp. *jegathesan* in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) resistant to Cry toxins from *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* [J]. Appl Environ Microbiol, 2001, 67(4):1956–1958.
- [24] Chueng PYK, Buster D, Hammock BD. Lack of mosquitocidal activity by the cytolytic protein of the *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* parasporal crystal [J]. Current Microbiol, 1987, 15(1): 21–23.
- [25] Wirth MC, Georghiou GP, Federici BA. CytA enables CryIV endotoxins of *Bacillus thuringiensis* to overcome high levels of CryIV resistance in the mosquito, *Culex quinquefasciatus* [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94(20):10536–10540.
- [26] Wirth MC, Park HW, Walton WE, et al. Cyt1A of *Bacillus thuringiensis* delays resistance to Cry11A in the mosquito *Culex quinquefasciatus* [J]. Appl Environ Microbiol, 2005, 71(1): 185–189.
- [27] Pérez C, Fernandez LL, Sun J, et al. *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* Cyt1Aa synergizes Cry11Aa toxin by functioning as a membrane-bound receptor [J]. Proc Natl Acad Sci, 2005, 102(51): 18303–18308.
- [28] Pérez C, Munoz-Garcia C, Portugal LC, et al. *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* Cyt1Aa enhances activity of Cry11Aa toxin by facilitating the formation of a pre-pore oligomeric structure [J]. Cell Microbiol, 2007, 9(12):2931–2937.
- [29] Wirth MC, Delécluse A, Walton WE. Cyt1Ab1 and Cyt2Ba1 from *Bacillus thuringiensis* subsp. *medellin* and *B. thuringiensis* subsp. *israelensis* synergize *Bacillus sphaericus* against *Aedes aegypti* and resistant *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) [J]. Appl Environ Microbiol, 2001, 67(7):3280–3284.
- [30] Chenniappan K, Ayyadurai N. Synergistic activity of Cyt1A from *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* with *Bacillus sphaericus* B101 H5a5b against *Bacillus sphaericus* B101 H5a5b-resistant strains of *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae) [J]. Parasitol Res, 2011, 110(1):381–388.
- [31] Wirth MC, Walton WE, Federici BA. Cyt1A from *Bacillus thuringiensis* restores toxicity of *Bacillus sphaericus* against resistant *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) [J]. J Med Entomol, 2000, 37(3):401–407.
- [32] Wirth MC, Jiannino JA, Federici BA, et al. Evolution of resistance toward *Bacillus sphaericus* or a mixture of *B. sphaericus*+Cyt1A from *Bacillus thuringiensis*, in the mosquito, *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) [J]. J Invertebr Pathol, 2005, 88(2):154–162.
- [33] Wirth MC, Zaritsky A, Ben-Dov E, et al. Cross-resistance spectra of *Culex quinquefasciatus* resistant to mosquitocidal toxins of *Bacillus thuringiensis* towards recombinant *Escherichia coli* expressing genes from *B. thuringiensis* ssp. *israelensis* [J]. Environ Microbiol, 2007, 9(6):1393–1401.
- [34] Wirth MC, Yang Y, Walton WE, et al. Mtx toxins synergize *Bacillus sphaericus* and Cry11Aa against susceptible and insecticide-resistant *Culex quinquefasciatus* larvae [J]. Appl Environ Microbiol, 2007, 73(19):6066–6071.
- [35] Wirth MC, Berry C, Walton WE, et al. Mtx toxins from *Lysinibacillus sphaericus* enhance mosquitocidal cry-toxin activity and suppress cry-resistance in *Culex quinquefasciatus* [J]. J Insect Pathol, 2013, 115(1):62–67.
- [36] Ahmed I, Yokota A, Yamazoe A, et al. Proposal of *Lysinibacillus boronitolerans* gen. nov. sp. nov., and transfer of *Bacillus fusiformis* to *Lysinibacillus fusiformis* comb. nov. and *Bacillus sphaericus* to *Lysinibacillus sphaericus* comb. nov. [J]. Int J Syst Evol Microbiol, 2007, 57(Pt 5):1117–1125.
- [37] Wirth MC, Federici BA, Walton WE. Cyt1A from *Bacillus thuringiensis* synergizes activity of *Bacillus sphaericus* against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) [J]. Appl Environ Microbiol, 2000, 66(3):1093–1097.
- [38] Rodcharoen J, Mulla MS. Resistance development in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) to *Bacillus sphaericus* [J]. J Econ Entomol, 1994, 87(7):1133–1140.
- [39] Nielsen-LeRoux C, Charles JF, Thiéry I, et al. Resistance in a laboratory population of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) to *Bacillus sphaericus* binary toxin is due to a change in the receptor on midgut brush-border membrane [J]. Eur J Biochem, 1995, 228(1):206–210.
- [40] Nielsen-LeRoux C, Pasquier F, Charles JF, et al. Resistance to *Bacillus sphaericus* involves different mechanisms in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) larvae [J]. J Med Entomol, 1997, 34(3):321–327.
- [41] Nielsen-LeRoux C, Rao D, Rodcharoen J, et al. Various levels of cross-resistance to *Bacillus sphaericus* strains in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) colonies resistant to *B. sphaericus* strain 2362 [J]. Appl Environ Microbiol, 2001, 67(11):5049–5054.
- [42] Wirth MC, Georghiou GP, Malik JI, et al. Laboratory selection for resistance to *Bacillus sphaericus* in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) from California, USA [J]. J Med Entomol, 2000, 37(4):534–540.
- [43] Zahiri NS, Su T, Mulla MS. Strategies for the management of resistance in mosquito to the microbial control agent *Bacillus sphaericus* [J]. J Med Entomol, 2002, 39(3):513–520.
- [44] Pei G, Oliveira CMF, Yuan Z, et al. A strain of *Bacillus sphaericus* causes slower development of resistance in *Culex quinquefasciatus* [J]. Appl Environ Microbiol, 2002, 68(6):3003–3009.
- [45] Zahiri NS, Mulla MS. Susceptibility profile of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) to *Bacillus sphaericus* on selection with rotation and mixture of *B. sphaericus* and *B. thuringiensis israelensis* [J]. J Med Entomol, 2003, 40(5): 672–677.
- [46] Oliveira CMF, Silva-Filha MH, Nielsen-LeRoux C, et al. Inheritance and mechanism of resistance to *Bacillus sphaericus* in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) from China and Brazil [J]. J Med Entomol, 2004, 41(1):58–64.
- [47] Adak T, Mittal PK, Raghavendra K, et al. Resistance to *Bacillus sphaericus* in *Culex quinquefasciatus* Say 1823 [J]. Curr Sci, 1995, 69:695–698.
- [48] Rao DR, Mani TR, Rajendran R, et al. Development of a high-level of resistance to *Bacillus sphaericus* in a field population of *Culex quinquefasciatus* from Kochi, India [J]. J Am Mosq Control Assoc, 1995, 11(1):1–5.
- [49] Poopathi S, Mani TR, Raghunatha D, et al. Cross-resistance to *Bacillus sphaericus* strains in *Culex quinquefasciatus* resistant to *B. sphaericus* 1593M [J]. Southeast Asian J Trop Med Pub Health, 1999, 30(3):478–481.
- [50] Yuan Z, Zhang Y, Cai Q, et al. High-level field resistance to *Bacillus sphaericus* C₃₋₄₁ in *Culex quinquefasciatus* from Southern China [J]. Biocon Sci Technol, 2000, 10:41–49.
- [51] Amorim LB, Oliveira CMF, Rios EM, et al. Development of *Culex quinquefasciatus* resistance to *Bacillus sphaericus* strain IAB59 needs long term selection pressure [J]. Biol Control, 2007, 42(2): 155–160.
- [52] Sinègre G, Babinot M, Quermal JM, et al. First field occurrence of *Culex pipiens* resistance to *Bacillus sphaericus* in Southern France: 1994. P17. Proc 8th European Meet Soc Vector Ecol, September 5–8, 1994 [R]. Barcelona, Spain: Society for Vector Ecology, Santa Ana, California, 1997.
- [53] Silva-Filha MH, Regis L, Nielsen-LeRoux C, et al. Low level resistance to *Bacillus sphaericus* in a field-treated population of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) [J]. J Econ Entomol, 1995, 88(3):525–530.

- [54] Chevillon C, Bernard C, Marquine M, et al. Resistance to *Bacillus sphaericus* in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae): interaction between recessive mutants and evolution in Southern France [J]. J Med Entomol, 2001, 38(5):657-664.
- [55] Nielsen-Leroux C, Pasteur N, Prêtre J, et al. High resistance to *Bacillus sphaericus* binary toxin in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae): the complex situation of west Mediterranean countries [J]. J Med Entomol, 2002, 39(5):729-735.
- [56] Mulla MS, Thavara U, Tawatsin A, et al. Emergence of resistance and resistance management in field populations of tropical *Culex quinquefasciatus* to the microbial control agent *Bacillus sphaericus* [J]. J Am Mosq Control Assoc, 2003, 19(1):39-46.
- [57] Su T, Mulla MS. Documentation of high level *Bacillus sphaericus*-resistance in tropical *Culex quinquefasciatus* populations from Thailand [J]. J Am Mosq Control Assoc, 2004, 20(4):405-411.
- [58] Wei S, Cai Q, Cai Y, et al. Lack of cross-resistance to MtxI from *Bacillus sphaericus* in *B. sphaericus*-resistant *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) [J]. Pest Manag Sci, 2007, 63(2):190-193.
- [59] Rodcharoen J, Mulla MS. Cross-resistance to *Bacillus sphaericus* strains in *Culex quinquefasciatus* [J]. J Am Mosq Control Assoc, 1996, 12(2):247-250.
- [60] Yuan ZM, Pei GF, Regis L, et al. Cross resistance between strains of *Bacillus sphaericus* but not *B. thuringiensis israelensis* in colonies of the mosquito *Culex quinquefasciatus* [J]. Med Vet Entomol, 2003, 17(3):251-256.
- [61] Mittal PK, Adak T, Sharma VP. Variations in response to *Bacillus sphaericus* toxins in different strains of *Anopheles stephensi* Liston [J]. Ind J Malariol, 1998, 35(4):178-183.
- [62] Poopathi S, Kabilan L, Mani TR, et al. Observation of low tolerance to *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* in *Culex quinquefasciatus* resistant to *Bacillus sphaericus* [J]. Entomol, 2000, 25(3):201-208.
- [63] Mittal PK, Adak T, Subbaro SK. Inheritance of resistance to *Bacillus sphaericus* toxins in a laboratory selected strain of *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae) and its response to *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* [J]. Curr Sci, 2005, 89(3):442-443.
- [64] Darboux I, Pauchet Y, Castella C, et al. Loss of the membrane anchor of the target receptor is a mechanism of bioinsecticide resistance [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(9):5830-5835.
- [65] Darboux I, Charles JF, Pauchet Y, et al. Transposon mediated resistance to *Bacillus sphaericus* in a field-evolved population of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) [J]. Cell Microbiol, 2007, 9(8):2022-2029.
- [66] Romão TP, Chalegre KDD, Key S, et al. A second independent resistance mechanism to *Bacillus sphaericus* binary toxin targets its α -glucosidase receptor in *Culex quinquefasciatus* [J]. FEBS J, 2006, 273(7):1556-1568.
- [67] Wirth MC, Walton WE, Federici BA. Evolution of resistance to the *Bacillus sphaericus* Bin toxin is phenotypically masked by combination with the mosquitocidal proteins of *Bacillus thuringiensis* subspecies *israelensis* [J]. Environ Microbiol, 2010, 12(5):1154-1160.
- [68] Poopathi S, Mani TR, Raghunatha RD, et al. Evaluation of synergistic interaction between *Bacillus sphaericus* and *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* against *Culex quinquefasciatus* resistant and susceptible to *B. sphaericus* 1593M [J]. J Ecol, 1999, 11(4):289-298.
- [69] Sun F, Yuan Z, Li T, et al. Reduction of resistance of *Culex pipiens* larvae to the binary toxin from *Bacillus sphaericus* by coexpression of *cry4Ba* from *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* with the binary toxin [J]. World J Microbiol Biotechnol, 2001, 17(4):385-389.
- [70] Park HW, Bideshi DK, Federici BA. Recombinant strain of *Bacillus thuringiensis* producing Cyt1A, Cry11B, and the *Bacillus sphaericus* binary toxin [J]. Appl Environ Microbiol, 2003, 69(2):1331-1334.
- [71] Park HW, Bideshi DK, Wirth MC, et al. Recombinant larvicidal bacteria with markedly improved efficacy against *Culex* vectors of West Nile virus [J]. Am J Trop Med Hyg, 2005, 72(6):732-738.
- [72] Federici BA, Park HW, Bideshi DK, et al. Developing recombinant bacteria for control of mosquito larvae [J]. J Am Mosq Control Assoc, 2007, 23 Suppl:S164-175.
- [73] Poopathi S, Mani TR, Rao DR, et al. Evaluation of synergistic interaction between *Bacillus sphaericus* and a neem-based biopesticide on BspH-susceptible *Culex quinquefasciatus* Say Larvae [J]. Int J Trop Insect Sci, 2002, 22(4):303-306.
- [74] Mertz FP, Yao R. *Saccharopolyspora spinosa* sp. nov. isolated from soil collected in a sugar mill rum still [J]. Int J Syst Evol Microbiol, 1990, 40(1):34-39.
- [75] Hertlein MB, Mayrotas C, Jousseume C, et al. A review of spinosad as a natural product for larval mosquito control [J]. J Am Mosq Control Assoc, 2010, 26(1):67-87.
- [76] Sparks TC, Dripps JE, Watson GB, et al. Resistance and cross-resistance to the spinosyn — a review and analysis [J]. Pestic Biochem Physiol, 2012, 102(1):1-10.
- [77] Geng CX, Watson GB, Sparks TC. Nicotinic acetylcholine receptors as spinosyn targets for insect pest management [J]. Adv Insect Physiol, 2013, 44:101-210.
- [78] Su T, Cheng ML. Resistance development in *Culex quinquefasciatus* to spinosad: a preliminary report [J]. J Am Mosq Control Assoc, 2012, 28(3):263-267.
- [79] Su T, Cheng ML. Laboratory selection of resistance to spinosad in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) [J]. J Med Entomol, 2014, 51(2):421-427.
- [80] Su T, Cheng ML. Cross resistances in spinosad-resistant *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) [J]. J Med Entomol, 2014, 51(2):428-435.
- [81] Dame DA, Wichterman GJ, Hornby JA. Mosquito (*Aedes taeniorhynchus*) resistance to methoprene in an isolated habitat [J]. J Am Mosq Control Assoc, 1998, 14(2):200-203.
- [82] Cornel AJ, Stanich MA, Farley D, et al. Methoprene tolerance in *Aedes nigromaculis* in Fresno county, California [J]. J Am Mosq Control Assoc, 2000, 16(3):223-238.
- [83] Cornel AJ, Stanich MA, McAbee RD, et al. High level methoprene resistance in the mosquito *Ochlerotatus nigromaculis* (Ludlow) in central California [J]. Pest Manag Sci, 2002, 58(8):791-798.
- [84] Schaefer CH, Mulligan FS III. Potential for resistance to pyriproxyfen: a promising new mosquito larvicide [J]. J Am Mosq Control Assoc, 1991, 7(3):409-411.
- [85] Rodcharoen J, Mulla MS. Biological fitness of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) susceptible and resistant to *Bacillus sphaericus* [J]. J Med Entomol, 1997, 34(1):5-10.
- [86] Oliveira CMD, Costa Filho F, Beltran JFN, et al. Biological fitness of a *Culex quinquefasciatus* population and its resistance to *Bacillus sphaericus* [J]. J Am Mosq Control Assoc, 2003, 19(2):125-129.
- [87] Rivero A, Vézilier J, Weill M, et al. Insecticide control of vector-borne diseases: When is insecticide resistance a problem? [J]. PLoS Pathog, 2010, 6(8):e1001000.
- [88] Alout H, Ndam NT, Sandeu MM, et al. Insecticide resistance alleles affect vector competence of *Anopheles gambiae* s.s. for *Plasmodium falciparum* field isolates [J]. PLoS One, 2013, 8(5):e63849.
- [89] Liu R, Gourley SA. Resistance to larvicides in mosquito populations and how it could benefit malaria control [J]. Eur J Appl Math, 2013, 24(3):415-436.