应用昆虫学报 *Chinese Journal of Applied Entomology* 2020, 57(3): 667–675. DOI: 10.7679/j.issn.2095–1353.2020.067

联苯菊酯与茚虫威对茶尺蠖中肠细胞结构及血淋巴解毒酶的影响*

李良德** 刘丰静** 王定锋*** 吴光远***

（福建省农业科学院茶叶研究所，福州 350014）

摘 要 **【目的】** 茶尺蠖 *Ectropis obliqua* Prout 是茶树上的重要害虫，本研究旨在研究茶园常用农药联苯菊酯与茚虫威两种农药对该虫中肠细胞结构及血淋巴酶活性的影响，为日后更好防治该虫提供理论基础。**【方法】** 采用浸梢法在室内测定了 5 龄茶尺蠖幼虫对联苯菊酯与茚虫威的半致死浓度 LC_{50} 值。采用 LC_{50} 浓度药液进一步处理茶尺蠖，通过透射电镜观察了联苯菊酯与茚虫威对茶尺蠖中肠细胞结构的影响，以及血淋巴中谷胱甘肽-*S*-转移酶（GSTs）、乙酰胆碱酯酶（AChE）和羧酸酯酶（CarE）3 种解毒酶的酶活性变化。**【结果】** 联苯菊酯与茚虫威对 5 龄茶尺蠖幼虫的 LC_{50} 值分别为 5.884 $mg \cdot L^{-1}$ 与 0.268 $mg \cdot L^{-1}$。透射电镜显示，中肠柱状细胞的微绒毛大量解体、散乱分布于肠腔中，胞内细胞器向顶膜转移，并发生明显的形变。酶活检测结果表明，经联苯菊酯处理后，GSTs 的酶活基本不变，而 AchE 和 CarE 的酶活性被显著诱导。经茚虫威处理后，GSTs、AchE 和 CarE 的酶活性均被显著抑制。**【结论】** 联苯菊酯与茚虫威不仅具有破坏茶尺蠖中肠柱状细胞的微绒毛，使各细胞的牢固性与紧密性缺失，还会破坏柱状细胞内部的细胞器功能。联苯菊酯在血淋巴中的解毒代谢与酯酶（AChE 和 CarE）有关，与转移酶（GSTs）无关，而茚虫威与酯酶（AChE 和 CarE）和转移酶（GSTs）两者均有关。

关键词 茶尺蠖；联苯菊酯；茚虫威；中肠结构；血淋巴；解毒酶

Effects of bifenthrin and indoxacarb on the midgut cell structure and hemolymph detoxification enzyme of *Ectropis obliqua* Prout (Lepidoptera: Geometridae)

LI Liang-De** LIU Feng-Jing** WANG Ding-Feng*** WU Guang-Yuan***

(Tea Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350014, China)

Abstract **[Objectives]** To investigate the effects of bifenthrin (BIF) and indoxacarb (IND) on the midgut cell structure and hemolymph detoxification enzyme of *Ectropis obliqua* Prout, a pest of tea plantations. **[Methods]** The tail immersion method was used to expose 5th instar larvae of *E. obliqua* to the median lethal concentration (LC_{50}) of bifenthrin and indoxacarb and subsequent changes in structure in midgut cells were observed with transmission electron microscopy. The activities of detoxification enzymes in hemolymph, including glutathione-*S*-transferase (GSTs), acetylcholinesterase (AChE) and carboxylesterase (CarE), were also quatified. **[Results]** The LC_{50s} of BIF and IND for 5th instar *E. obliqua* larvae were 5.884 $mg \cdot L^{-1}$ and 0.268 $mg \cdot L^{-1}$, respectively. Transmission electron microscopy revealed that BIF and IND induced disintegration of the microvilli in columnar cells, which became scattered in the intestine. In addition, intracellular organelles were transferred to the top cytomembrane and became obviously deformed. BIF induced an obvious increase in AchE and CarE activity but no significant change in GSTs activity, whereas IND significantly inhibited GSTs, AchE and CarE activity in hemolymph. **[Conclusion]** Bifenthrin and indoxacarb damaged the structure of midgut columnar cells in *E. oblique* by destroying the microvilli and disrupting organelle function. In addition, the detoxification of bifenthrin in hemolymph is

*资助项目 Supported projects：省属公益类科研院所专项（2017R1012-4）；国家茶叶产业技术体系（CARS-19）

**共同第一作者 First author，E-mail：liliangde_scau@163.com；liufengjing@faas.cn

***共同通讯作者 Corresponding author，E-mail：wangdf2013@yahoo.com；gywupt@163.com

收稿日期 Received：2019-12-09；接受日期 Accepted：2020-02-09

related to esterase (AChE and CarE), but not transferase (GSTs) activity, whereas the detoxification of indoxacarb is related to both esterase (AChE and CarE) and transferase (GSTs) activity.

Key words *Ectropis obliqua* Prout; bifenthrin; indoxacarb; midgut structure; hemolymph; detoxification enzyme

茶尺蠖 *Ectropis oblique* Prout（鳞翅目：尺蠖科或尺蛾科）是一种茶园重要的咀嚼式害虫，该虫在我国各主要茶区均有分布。由于其食性强、繁殖速度快，经常在局部茶园暴发成灾，对茶叶产量、品质和茶树树势造成严重影响（Li *et al.*，2016）。目前，化学防治是该害虫的主要防治方法，但由于茶园中长期、大量不合理的用药，导致该虫对多种杀虫剂产生严重地抗药性，进一步增加了该虫的治理难度（Wang *et al.*，2018；Zhang *et al.*，2018）。

目前，茶园防治茶尺蠖的农药中，联苯菊酯与茚虫威是两种最常见的药剂。其中，联苯菊酯主要作用于昆虫的神经系统，通过延长电压门控钠通道以及钾、氯、钙通道的开放，使靶标害虫兴奋、痉挛、麻痹而死亡（Cao *et al.*，2011）；而茚虫威是由美国杜邦公司开发的二嗪类（Oxadiazine）新型杀虫剂，靶标害虫经茚虫威处理后进入害虫体内，通过阻断神经细胞的钠离子通道，使害虫停止取食，协调能力下降、麻痹而死亡（Wing *et al.*，2005）。由于该两种药剂对鳞翅目害虫具有较强的杀虫活性，且对哺乳动物和非目标动物安全，因而在多个农业国家和地区的茶尺蠖防治中得到了广泛的应用。

胃毒是农药杀死靶标害虫的重要方式之一，昆虫通过取食作用，将农药带入消化道，进而杀死害虫。昆虫消化道可分为三部分：前肠、中肠和后肠。前肠是构成消化道最初的部分，后肠与中肠末端相连，将消化后的食物以粪便形式排出体外，在营养吸收方面的作用较小（Sousa *et al.*，2013；Napoleao *et al.*，2018）。相反，中肠的唾液酶和消化酶，如糖酶、脂肪酶和蛋白酶在促进消化和营养摄取过程中起着关键作用（Tamaki *et al.*，2014）。此外，中肠细胞中又包含多种解毒代谢酶，对中肠内药物具有解毒的作用，是杀虫剂常作用的靶位点。除中肠外，昆虫的血淋巴不仅是合成和运输营养物质的器官，而且在内源性或外源性化合物的解毒、代谢、转运或隔离等过程中起着重要的作用。血腔内的血浆含有大量解毒酶，如酯酶等可分解外源性毒物，降低昆虫体内毒物的有效浓度（Lalitha *et al.*，2018）。

虽然联苯菊酯与茚虫威两种杀虫剂在茶园中应用广泛于茶尺蠖的防治，但前期对该虫的大部分研究往往局限于简单的田间生测以及室内的毒力测定，对联苯菊酯与茚虫威两种农药的中毒作用模式，以及解毒方法少有见报道。昆虫的中肠组织和血淋巴系统在药物解毒方面均发挥着重要作用，为了更好地了解该两种农药的作用及解毒模式，本研究测定了联苯菊酯与茚虫威对茶尺蠖的致死中浓度 LC_{50} 值，并利用该浓度药剂处理茶尺蠖，进一步检测了中肠细胞的结构变化及对血淋巴内酶活的影响。

1 材料与方法

1.1 供试虫源及饲养条件

试验茶尺蠖为中国农业科学院茶叶研究所农产品质量与安全研究中心（浙江，杭州）提供。试验昆虫于养虫室内，于（25 ± 1）℃，RH 60%，光周期 14L：10D 条件下，每天采集新鲜茶梢室内连续长期传代培养。本试验取虫体生长活跃、健康的 5 龄茶尺蠖幼虫进行毒力测定，中肠结构扫描及酶活检测。

1.2 主要试剂及仪器

联苯菊酯（有效浓度 25 g/L，100 mL/瓶）购自苏州富美实植物保护剂有限公司（中国，苏州），茚虫威（有效浓度 150 g/L，50 mL/瓶）为美国杜邦公司生产；谷胱甘肽-*S*-转移酶（GSTs）、乙酰胆碱酯酶（AChE）和羧酸酯酶（CarE）试剂盒购自南京建成生物工程研究所（中国，南京）；多功能酶标仪（ELIASA）与透射电子显微镜（Transmission electron microscope，TEM）为赛默飞世尔科技公司（Thermo Fisher Scientific，

USA）生产；超微切片机（Nova ultralome ultramicro-tome）为瑞典 LKB 公司（Sweden LKB Company）生产。

1.3　联苯菊酯与茚虫威对茶尺蠖的室内毒力测定

采用浸梢法对试验昆虫进行毒力测定：（1）选择多年未施药农药的茶园，采集 1 芽 5 叶茶梢于室内，用清水将茶梢洗净晾干；（2）选用直径 10.0 cm，高 15.0 cm 的塑料杯作为饲养杯，相应制作直径为 10.0 cm，高 2.0 cm 的圆柱型花泥。用水将花泥浸泡湿透后，采用保鲜膜将花泥裹住，置放于饲养杯内；（3）将晾干的茶梢修剪成 1 芽 3 叶（长约 12.0 cm），放置于配制好的药液中浸泡 2 min，后插入养虫杯花泥内，每杯插 3 根茶梢；（4）每个养虫杯分别接入 30 头行动活跃，大小一致的 5 龄茶尺蠖幼虫，用保鲜膜将养虫杯盖住，并用橡皮筋固定捆住杯口，再用小口径针头每杯刺 30 个通气孔。最后，将养虫杯置于人工培养箱内培养（25 ± 1 ℃，RH 60%，光周期 14L∶10D）。

采用多次预试验寻找联苯菊酯与茚虫威的 LC_{50} 大致范围，获得联苯菊酯制作 LC_{50} 的 5 个梯度溶度（1.25、2.5、5、10 和 20 $mg·L^{-1}$）及茚虫威 5 个梯度溶度（0.075、0.15、0.3、0.6 和 1.2 $mg·L^{-1}$），两种药剂的每组梯度溶度分别重复 3 次，并以未经处理杀虫剂组的茶尺蠖为对照。24 h 后采用毛笔挑动虫体，虫体不动视为死亡，统计记录不同处理组内虫口的死亡率，并计算出 LC_{50} 值。

1.4　中肠细胞的透射电镜观察

根据前期获得的联苯菊酯与茚虫威对茶尺蠖的 LC_{50} 值，分别配制亚致死溶度 LC_{50} 的联苯菊酯与茚虫威药液。参照 1.3 的试验方法，分别用 LC_{50} 浓度的联苯菊酯与茚虫威饲喂 5 龄茶尺蠖幼虫，并以未处理杀虫剂的茶尺蠖为对照，处理 24 h 后，挑出未死亡的茶尺蠖幼虫。再将挑出的茶尺蠖幼虫放于置有冰块的玻璃皿中，冷冻麻醉 10 min 后，使用消毒后的小型昆虫剪刀，于茶尺蠖幼虫的头部第一腹足处与尾部倒数第一腹足处剪去 5 龄茶尺蠖幼虫的头尾，再通过消毒后的小型昆虫镊子将茶尺蠖的中肠抽出，用于中肠细胞的透射电镜观察。

将制备的茶尺蠖中肠样品，用生理盐水洗去内部的食物残渣，再用浓度为 4.0%的多聚甲醛（Paraformaldehyde）在室温条件下固定 30 min，后放入 0.1 $mol·L^{-1}$ 的 pH 7.4 的磷酸缓冲液（Phosphate buffer saline, PBS）中保存，置于 4 ℃冰箱中固定过夜 12 h。于第 2 天，再用 0.1 $mol·L^{-1}$ 的 pH 7.4 的 PBS 洗去多聚甲醛，再用 1%的四氧化锇（Osmium tetroxide）中后固定 2 h。在室温条件下，用 70%、85%、95%和 100%的乙醇对样品进行梯度脱水，每个梯度脱水 3 min。采用石蜡对样品进行包埋，在真空条件下对样品进行干燥。最后，采用超微切片机对样品进行超薄切片，再用柠檬酸铅（Lead citrate）与醋酸铀酰（Uranyl acetate）双重染色后，在透射电子显微镜（TEM）下以 350 nm 为激发波长，光电倍增管副高压为 950 V 以及 2 400 nm 的扫描速度，进行拍照。

1.5　血淋巴的酶活测定

参照 1.4 的试验方法，分别用 LC_{50} 浓度的联苯菊酯与茚虫威饲喂 5 龄茶尺蠖若虫，并以未经处理杀虫剂的茶尺蠖为对照，处理 24 h 后，每组分别挑出成活的茶尺蠖若虫各 10 头检测血淋巴中谷胱甘肽-*S*-转移酶（GSTs）、乙酰胆碱酯酶（AChE）和羧酸酯酶（CarE）的活性。参照 Choi 等（2006）实验方法，采用穿刺法提取血淋巴。步骤如下：用皮下注射针刺穿 5 龄茶尺蠖的中腹壁，再用毛细玻璃管收集渗出的血淋巴。再将血淋巴置于预冷的 1.5 mL 离心管中，加入 0.1 mol/L 的 PBS（pH 8.0），按照 1∶1 的比例进行混合。最后，将混合样在遇冷的离心机中 12 000 r/min 离心 10 min，收集上清液作为酶源。选择酶标仪对 GSTs、AChE 和 CarE 3 个酶活进行测定，测定方法分别参照相应的试剂盒说明书，3 种酶在酶标仪的测定波长分别为 412、412 和 450 nm。

1.6　数据统计与分析

利用 Photoshop CS4 软件与 Adobe Illustrator

CS5 软件对中肠细胞形态图进行编辑与合并。药效毒力和酶活力测定，每组试验重复 3 次。所有数据均使用 GraphPad Prism 5.0 软件，采用平均值 ± SE 方法进行绘图。再采用 SPSS 13.0 软件，对每组数据采用 Duncan's 多重范围检验、单因素方差分析（ANOVA）方法，统计数据的显著性差异（$P< 0.05$）。

2 结果与分析

2.1 联苯菊酯与茚虫威对茶尺蠖的室内毒力

在室内测定了联苯菊酯（Bifenthrin，BIF）与茚虫威（Indoxacarb，IND）对 5 龄茶尺蠖的药效毒力（表 1）。结果表明，联苯菊酯与茚虫威对 5 龄茶尺蠖若虫的毒力回归方程分别为 $y=-1.452+1.887x$ 和 $y=1.210+2.114x$。两种药剂的半数致死浓度（LC_{50}）分别为 5.884 $mg \cdot L^{-1}$ 与 0.268 $mg \cdot L^{-1}$。95%置信区间分别为 4.449-7.939 和 0.205-0.347。以及回归直线斜率（Straight slope，SE）分别为 0.296 和 0.309。

2.2 中肠透射电镜超微结构的观察

2.2.1 正常中肠细胞的超微结构 通过透射电镜观察了正常 5 龄茶尺蠖若虫的中肠细胞超微结构（图 1）。由图 1 可以看出，中肠柱状细胞顶端微绒毛数量众多，排列紧密有序，并向顶端延伸（图 1：框 1，B）。细胞核形态饱满，核膜完整，染色质分布均匀（图 1：框 2，C）。溶酶体较多，多数为球形（图 1：框 3，E）。线粒体清晰可见，呈椭圆形状（图 1：框 4，F）。此外，

表 1 联苯菊酯与茚虫威对 5 龄茶尺蠖幼虫的毒力测定

Table 1 Toxicity of bifenthrin and indoxacarb to 5th instar larvae of *Ectropis obliqua*

供试药剂 Pesticides	回归方程 Regression equation	LC_{50}	95%置信区间 95% confidence interval	直线斜率 Straight slope
联苯菊酯 BIF	$y=-1.452+1.887x$	5.884	4.449-7.939	0.296
茚虫威 IND	$y=1.210+2.114x$	0.268	0.205-0.347	0.309

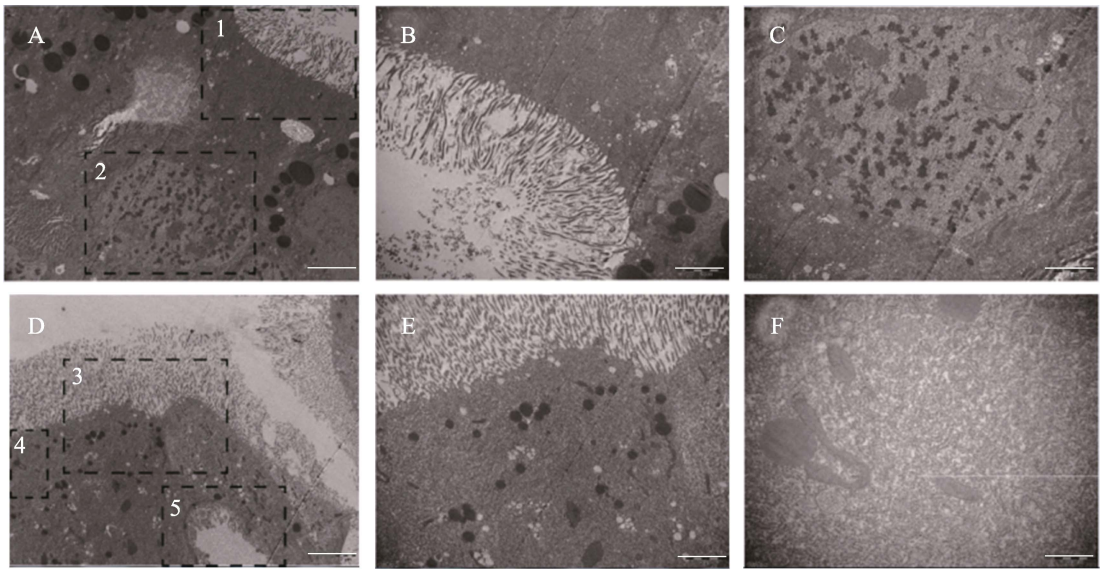

图 1 正常 5 龄茶尺蠖幼虫的中肠细胞超微结构

Fig. 1 Ultrastructure of midgut cells in the 5th instar larvae of *Ectropis obliqua*

A. 放大 5 000 倍的中肠细胞；B. 将图 A 的框 1 放大到 4 万倍；C. 将图 A 的框 2 放到大 4 万倍；D. 放大 5 000 倍的中肠细胞；E. 将图 D 的框 3 放大到 4 万倍；F. 将图 D 的框 4 放大 4 万倍；框 5：杯状细胞；标尺规格为 2 μm。

A. One of the ultrastructure of midgut cells by magnified 5 000 times; B. Enlarge figure A by 40 000 times from box-1; C. Enlarge figure A by 40 000 times from box-2; D. The other ultrastructure of midgut cells by magnified 5 000 times; E. Enlarge figure D by 40 000 times from box-3; F. Enlarge figure D by 40 000 times from box-4; Box-5: Goblet cells; Scale bar = 2 μm.

在柱状细胞内部，可见呈椭圆形，胞质突起较发达，排列有序的杯状细胞（图 1：框 5）。表明细胞结构正常，各细胞器较为完整。

2.2.2　联苯菊酯处理后中肠细胞的超微结构

经联苯菊酯出来后，中肠细胞结构发生了明显的变化（图 2）。由图 2 可以看出，在柱状细胞中，细胞顶膜的微绒毛大量解体、断裂，散乱分布于肠腔中（图 2：框 a）。大量液泡蛋白在细胞顶膜聚集，并向肠腔转运，且形状多为圆形与椭圆形（图 2：框 1，B）。同时，线粒体数量增多，不正常成堆聚集（图 2：框 2，C）。而在中肠的内壁，细胞变形严重（图 2：D），细胞出现了溶解（图 2：框 3，E），胞内各类细胞器发生形变，形态不可辨别（图 2：框 4，F）。表明联苯菊酯对茶尺蠖中肠细胞破坏严重。

2.2.3　茚虫威处理后中肠细胞的超微结构　经茚虫威处理后，茶尺蠖中肠细胞结构亦发生了明显的变化（图 3）。从图 3 可以看出，中肠柱状细胞顶端的微绒毛大量断裂、游离脱落，杂乱地分散在肠腔内（图 3：框 a）；并且，大量细胞器向细胞顶端转移，并出现了有形似内质网（图 3：框 1，B）和线粒体（图 3：框 2，C）的细胞器发生形变的现象；同时，在细胞内的细胞质出现了空泡化现象（图 3：框 3，E），以及细胞核出现了变形，出现了分割、降解现象（图 3：框 4，F）。表明，茚虫威对茶尺蠖中肠的细胞结构破坏性较为严重。

2.3　血淋巴中的酶活测定

2.3.1　联苯菊酯处理　每组挑选茶尺蠖样品 10 头，测定了经半致死浓度（LC_{50}）联苯菊酯处理后，5 龄茶尺蠖若虫 12 h 与 24 h 时的 GSTs、AchE 和 CarE 酶活（图 4）。结果表明，与对照组相比，GSTs 酶活性在 12 h 与 24 h 时基本不变（图 4：A）；同时，AchE 的酶活性分别增加了 215.85%（12 h）与 102.53%（24 h）（图 4：B）；最后，CarE 的酶活性分别增加了 336.15%（12 h）和 159.62%（24 h）（图 4：C）。说明联苯菊酯处理均会提高 5 龄茶尺蠖 AchE 和 CarE 的酶活，且处理 12 h 的酶活力大于 24 h 的酶活力，但对

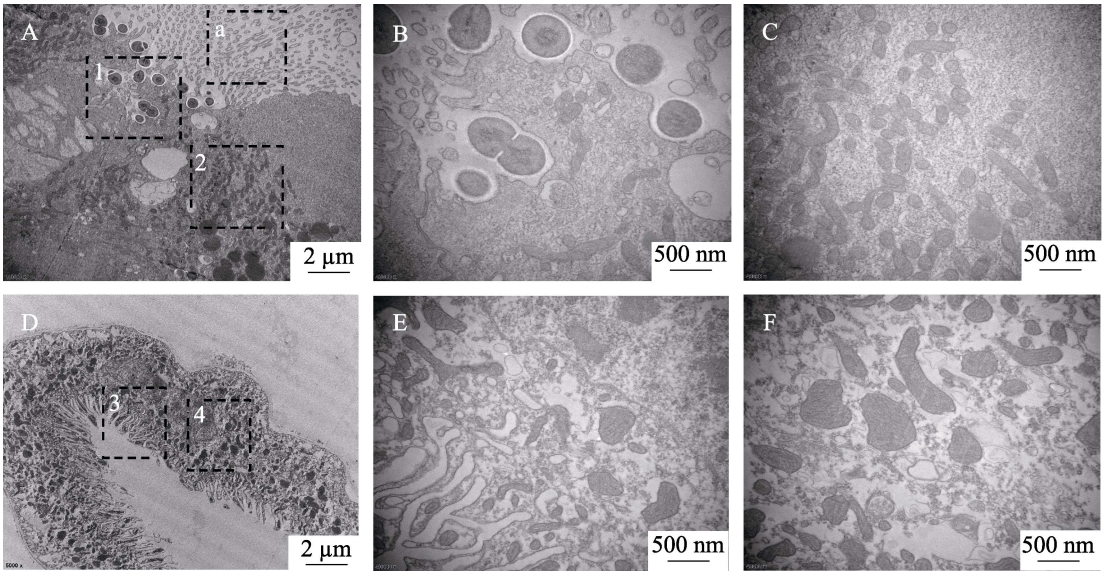

图 2　茶尺蠖若虫处理联苯菊酯后的中肠细胞形态变化

Fig. 2　Morphological change of midgut cells after *Ectropis obliqua* larvae treated by BIf

A. 放大 5 000 倍的中肠细胞；B. 将图 A 的框 1 放大到 4 万倍；C. 将图 A 的框 2 放到大 4 万倍；D. 放大 5 000 倍的中肠细胞；E. 将图 D 的框 3 放大到 4 万倍；F. 将图 D 的框 4 放大 4 万倍；框 a：微绒毛结构。

A. One of the ultrastructure of midgut cells by magnified 5 000 times; B. Enlarge figure A by 40 000 times from box-1; C. Enlarge figure A by 4, 000 times from box-2; D. The other ultrastructure of midgut cells by magnified 5 000 times; E. Enlarge figure D by 40 000 times from box-3; F. Enlarge figure D by 40 000 times from box-4; Box-a: Structure of microvilli.

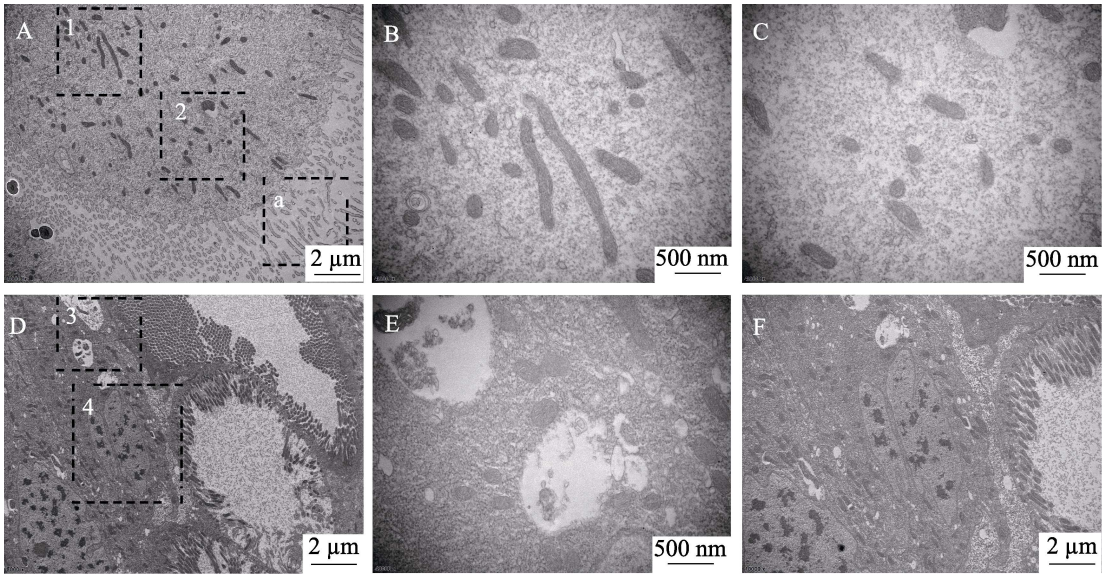

图 3　茶尺蠖若虫处理茚虫威后的中肠细胞形态变化

Fig. 3　Morphological change of midgut cells after *Ectropis obliqua* larvae treated by IND

A. 放大 5 000 倍的中肠细胞；B. 将图 A 的框 1 放大到 4 万倍；C. 将图 A 的框 2 放到大 4 万倍；D. 放大 5 000 倍的中肠细胞；E. 将图 D 的框 3 放大到 4 万倍；F. 将图 D 的框 4 放大 4 万倍；框 a: 微绒毛结构。

A. One of the ultrastructure of midgut cells by magnified 5 000 times; B. Enlarge figure A by 40 000 times from box-1; C. Enlarge figure A by 40 000 times from box-2; D. The other ultrastructure of midgut cells by magnified 5 000 times; E. Enlarge figure D by 40 000 times from box-3; F. Enlarge figure D by 40 000 times from box-4; Box-5: Structure of microvilli.

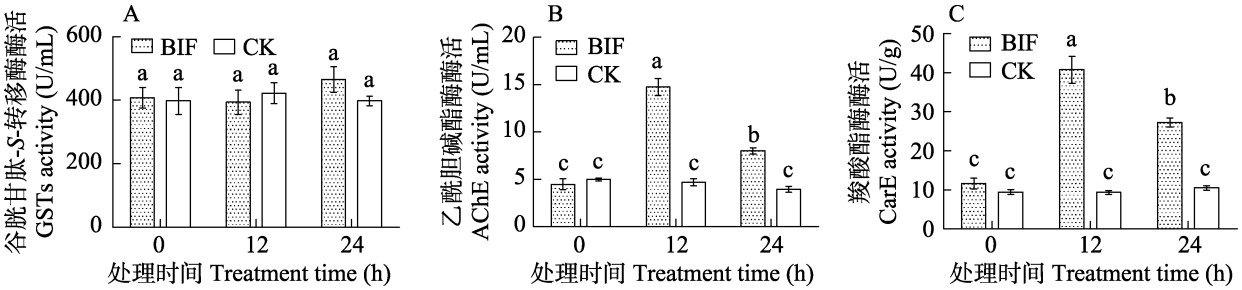

图 4　茶尺蠖处理 LC_{50} 联苯菊酯后血淋巴 GSTs、AchE 和 CarE 酶活性的变化

Fig. 4　Effect of GST, AchE and CarE activities in the hemolymph after *Ectropis obliqua* treated by LC_{50} of BIf

A. 处理 12 h 与 24 h 后 GSTs 的酶活；B. 处理 12 h 与 24 h 后 AchE 的酶活；C. 处理 12 h 与 24 h 后 CarE 的酶活；实验以未经处理杀虫剂的茶尺蠖为对照组，数据采用平均值 ± SE（每组样本 n=10）方法进行统计，每组数据中的柱上标有不同字母表示不同组之间的显著性差异（$P < 0.05$）。下图同。

A. The activities of GSTs after treatment 12 h and 24 h; B. Activities of AchE after treatment 12 h and 24 h; C. The activities of CarE after treatment 12 h and 24 h; *E. oblique* treatment without pesticide are used as the control. Data are mean ± SE (each group of samples are 10). Histograms with different letters indicate significant difference among different groups ($P < 0.05$). The same below.

GSTs 的酶活影响不大。

2.3.2　茚虫威处理　每组挑选茶尺蠖样品 10 头，测定了经半致死浓度（LC_{50}）茚虫威处理后 5 龄茶尺蠖若虫 12 h 与 24 h 时 GSTs、AchE 和 CarE 的酶活（图 5）。结果表明，与对照组相比，GSTs 酶活性分别减少了 73.43%（12 h）与 86.42%（24 h）（图 5：A）；同时，AchE 的酶活性分别减少了 77.63%（12 h）与 73.42%（24 h）（图 5：B）；最后，CarE 的酶活性分别减少了 71.09%（12 h）和 51.55%（24 h）（图 5：C）。说明茚

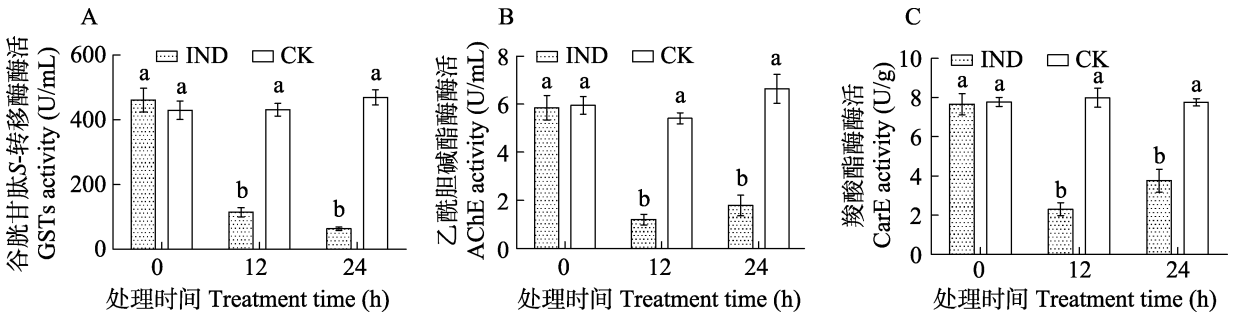

图 5　茶尺蠖处理 LC_{50} 茚虫威后血淋巴 GSTs、AchE 和 CarE 活性的变化

Fig. 5　Effect of GST, AchE and CarE activities in the hemolymph after *Ectropis obliqua* treated by LC_{50} of IND

A. 处理 12 h 与 24 h 后 GSTs 的酶活；B. 处理 12 h 与 24 h 后 AchE 的酶活；C. 处理 12 h 与 24 h 后 CarE 的酶活。
A. The activities of GSTs after treatment 12 h and 24 h; B. Activities of AchE after treatment 12 h and 24 h; C. The activities of CarE after treatment 12 h and 24 h.

虫威处理均会减少 5 龄茶尺蠖 GSTs、AchE 和 CarE 的酶活。其中，GSTs 的酶活在 24 h 时下降的最多，而 AchE 和 CarE 的酶活到 24 h 时又有所回升。

3　结论与讨论

柱状细胞是中肠细胞的重要组成部分，该类细胞的顶膜具有特化的微绒毛，这些特化的结构增强了细胞间的牢固性，使中肠各细胞能够紧密的连接为一体（韩强和曾洪梅，2015；宋萍等，2018）。本研究发现，未经农药处理的中肠细胞顶端微绒毛数量众多，排列紧密有序，并向外部肠腔延伸，而经联苯菊酯与茚虫威处理后，细胞顶膜的微绒毛大量解体、断裂、脱落、散乱分布于肠腔中，暗示该两种农药具有破坏中肠柱状细胞牢固性与紧密性的作用。

本研究发现，通过联苯菊酯与茚虫威处理后，茶尺蠖中肠的柱状细胞有大量细胞器向细胞顶端聚集转移、聚集，且有类似液泡状的蛋白从细胞顶膜向肠腔转运的现象。柱状细胞的细胞器具有分泌消化酶和代谢解毒酶（氧化还原酶、转移酶和水解酶等）的功能，能通过多种分泌形式将酶液分泌流入肠腔，进而对药物进行代谢解毒。如分泌的细胞色素 P450 单加氧酶（P450s），通过氧化还原作用对多种外源性药物进行解毒（Xu *et al.*，2013）；GSTs 可参与多种外源性毒素的氧化脂质作用，是最重要的结合酶（Enayati *et al.*，2005），以及 CarEs 是一种重要的水解酶，可通过水解反应催化有机磷和拟除虫菊酯农药的降解（Heidari *et al.*，2005）。因此，推测茶尺蠖中肠柱状细胞的多种细胞器参与了联苯菊酯与茚虫威的代谢解毒，但有待后续做进一步的研究。

有研究表明，当一种有效的化合物农药一旦穿过中肠细胞就会转运至血淋巴，进而通过血淋巴系统进行代谢解毒（Denecke *et al.*，2018）。本研究发现，当用联苯菊酯处理后，龄茶尺蠖血淋巴中的 GSTs、AchE 和 CarE 的酶活均相应的提高，说明了血淋巴系统的解毒酶参与了联苯菊酯的解毒作用。有关拟除虫菊酯的代谢解毒机制，一直存在着比较大的争议，争议的焦点主要集中在哪类酶起着更为重要的作用？如杨亦桦（2005）证实了在棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 中，细胞色素 P450 氧化酶的增强是解毒拟除虫菊酯农药的主要机制，而陈松等（2002）却发现酯酶也不同程度的参与了拟除虫菊酯的解毒。而关于 GSTs，发现其在拟除虫菊酯的解毒中作用较小。本研究发现 AChE 和 CarE 酯酶经联苯菊酯菊后升高，而 GSTs 酶活变化不大，不太符合杨亦桦（2005）的研究结果，而与陈松等（2002）研究结果相似。

最后，本研究发现经茚虫威处理后，5 龄茶尺蠖血淋巴中的 GSTs、AchE 和 CarE 的酶活均相应的下降，最高下降程度均达到了 70%以上。

王芹芹等（2019）采用亚致死浓度茚虫威处理 3 龄棉铃虫幼虫，发现若虫中的 GSTs、AchE 与对照种群相比显著升高，而 CarE 的酶活性显著降低。Shono 等(2004)在研究家蝇 *Musca domestica* 对茚虫威的抗性时发现，家蝇对茚虫威的解毒代谢与酯酶和 GSTs 均无关系。而刘辉等（2011）发现，在斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 中该现象与 CarE 有关，与 GSTs 无关。由此可见，茚虫威在不同昆虫中的解毒代谢存在差异，本研究发现 GSTs、AchE 和 CarE 在茶尺蠖中均受抑制，与上述研究结果存在差异，可能与研究对象的不同有关。

参考文献 (References)

Cao ZY, Shafer TJ, Murray TF, 2011. Mechanisms of pyrethroid insecticide-induced stimulation of calcium influx in neocortical neurons. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 336(1): 197–205.

Chen S, Yang YH, Wu YD, 2002. Frequency distributions of esterase activity and insecticide resistance in third instar larvae in different strains of *Helicoverpa armigera* Hübner. *Acta Entomologica Sinca*, 45(6): 733–738. [陈松, 杨亦桦, 吴益东, 2002. 不同种群棉铃虫三龄幼虫酯酶活性频率分布与抗药性的关系. 昆虫学报, 45 (6): 733–738.]

Choi CW, Nam KP, Seo DH, Choi JW, Lee CS, Kim HR, Yun CY, 2006. Comparative analysis of two biliproteins, BP1 and BP2, from haemolymph of cabbage white butterfly, *Pieris rapae*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 61(4): 220–230.

Dai LS, Kausar S, Abbas MN, Wang TT, 2018. Complete sequence and characterization of the *Ectropis oblique* mitochondrial genome and its phylogenetic implications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107(3): 1142–1150.

Denecke S, Swevers L, Douris V, Vontas J, 2018. How do oral insecticidal compounds cross the insect midgut epithelium? *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 103(12): 22–35.

Enayati AA, Ranson H, Hemingway J, 2005. Insect glutathione transferases and insecticide resistance. *Insect Molecular Biology*, 14(1): 3–8.

Géssica DS, Helio C, 2013. Midgut morphophysiology in *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera: Curculionidae). *Micron*, 51(9): 1–8.

Han Q, Zeng HM, 2015. Pathological changes in larval midgut tissues of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*, after feeding transgenic tobacco expressing dsRNA of *HaHR3*. *Journal of Plant Protection*, 42(3): 473–474. [韩强, 曾洪梅, 2015. 棉铃虫幼虫取食转 *HaHR3* 基因烟草后中肠组织的病理变化. 植物保护学报, 42(3): 473–474.]

Heidari R, Devonshire AL, Campbell BE, Dorrian SJ, Oakeshott JG, Russell RJ, 2005. Hydrolysis of pyrethroids by carboxylesterases from *Lucilia cuprina* and *Drosophila melanogaster* with active sites modified by *in vitro* mutagenesis. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 35(6): 597–609.

Lalitha K, Karthi S, Vengateswari G, Karthikraja R, Perumal P, Shivakumar MS, 2018. Effect of entomopathogenic nematode of *Heterorhabditis indica* infection on immune and antioxidant system in lepidopteran pest *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Parasitic Diseases*, 42(13): 1–8.

Li LD, Wang DF, Liu FJ, Li HL, Zhang H, Wu GY, 2016. cDNA cloning, preparation of polyclonal antibody and subcellular localization of aquaporin 1 (AQP1) in *Ectropis oblique* (Lepidoptera: Geoqmetridae). *Acta Entomologica Sinica*, 59(4): 382–391. [李良德, 王定锋, 刘丰静, 李慧玲, 张辉, 吴光远, 2016. 茶尺蠖水通道蛋白 EoAQP1 的 cDNA 克隆、多克隆抗体制备及亚细胞定位. 昆虫学报, 59(4): 382–391.]

Liu H, Xiao P, Liu YJ, He J, Qiu XC, Jiao YY, 2011. Resistance risk analysis and biochemical mechanism of *Spodoptera litura* to indoxacarb. *Agrochemicals*, 50(3): 197–200. [刘辉, 肖鹏, 刘永杰, 贺金, 邱秀翠, 焦艳艳, 2011. 斜纹夜蛾对茚虫威抗性风险分析及抗性生化机理. 农药, 50(3): 197–200.]

Napoleão TH, Albuquerque LP, Santos NDL, Nova ICV, Lima TA, Paiva PMG, Pontual EV, 2018. Insect midgut structures and molecules as targets of plant-derived protease inhibitors and lectins. *Pest Management Science*, 75(5): 1212–1222.

Shono T, Zhang L, Scott JG, 2004. Indoxacarb resistance in the house fly, *Musca domestica*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 80(2): 106–112.

Song P, Yang YH, Nanggong ZY, Guo LW, Wang ZY, Wang QY, 2018. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* toxin proteins against *Athetis lepigone* larvae and histopathology of the midgut of the larvae. *Journal of Plant Protection*, 45(6): 1349–1355. [宋萍, 杨云鹤, 南宫自艳, 郭丽伟, 王振营, 王勤英, 2018. 四种 Bt 毒素蛋白对二点委夜蛾幼虫毒力测定及中肠组织病理学变化. 植物保护学报, 45(6): 1349–1355.]

Sousa GD, Conte H, 2013. Midgut morphophysiology in *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera: Curculionidae). *Micron*, 51(9): 1–8.

Tamaki FK, Pimentel AC, Dias AB, Cardoso C, Ribeiro AF, Ferreira C, Terra WR, 2014. Physiology of digestion and the molecular characterization of the major digestive enzymes from *Periplaneta americana*. *Journal of Insect Physiology*, 70: 22–35

Wang JX, Lin GF, Batool K, Zhang SQ, Chen MF, Xu J, Wu J, Jin L, Gelbič I, Xu L, Zhang LL, Guan X, 2018. Alimentary tract transcriptome analysis of the tea geometrid, *Ectropis oblique* (Lepidoptera: Geometridae). *Journal of Economic Entomology*, 111(3): 1411–1419.

Wang QQ, Cui L, Wang QY, Wang L, Xie N, Yuan HZ, Rui CH, 2019. Effects of sublethal concentration of indoxacarb on the biological parameters and detoxifying enzyme activities in the cotton bollworm, *Elicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) with reduced susceptibility to indoxacarb. *Acta Entomologica Sinca*, 62(8): 960–969. [王芹芹, 崔丽, 王奇渊, 王立, 谢娜, 袁会珠, 芮昌辉, 2019. 茚虫威亚致死浓度对茚虫威敏感性降低的棉铃虫生物学参数及解毒酶活性的影响. 昆虫学报, 62(8): 960–969.]

Wing KD, Andaloro JT, McCann SF, Salgado VL, 2005. Indoxacarb and the sodium channel blocker insecticides: chemistry, physiology and biology in insects. *Insect Control Biological and Synthetic Agents*, 6: 31–53.

Xu J, Strange JP, Welker DL, James RR, 2013. Detoxification and stress response genes expressed in a western North American bumble bee, *Bombus huntii* (Hymenoptera: Apidae). *BMC Genomics*, 14(24): 5075–5082.

Yang YH, 2005. Biochemical and molecular mechanisms of oxidative metabolism for pyrethroid resistance in *Helicoverpa armigera* (Hübner). Doctoral dissertation. Nanjing: Nanjing Agricultural University. [杨亦桦, 2005. 棉铃虫对拟除虫菊酯氧化代谢杭性的生化与分子机理. 博士学位论文. 南京: 南京农业大学.]

Zhang FM, Qiao L, Pan PL, Wang GJ, Yin J, Chen LJ, 2018. Electroantennogram and behavioral responses of *Ectropis grisescens* (Lepidoptera: Geometridae) to essential oils from three non-host plans. *Acta Entomologica Sinica*, 61(5): 565–573.