

甜菜夜蛾田间种群对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和高效氯氰菊酯的代谢抗性机制^{*}

侍 甜 车午男 吴益东 杨亦桦^{**}

(南京农业大学植物保护学院 农业部作物病虫害监测与防控重点开放实验室 南京 210095)

摘 要 甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* (Hübner) 云南晋宁、上海奉贤和江苏六合种群对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐抗性为 45 ~ 437 倍, 对高效氯氰菊酯抗性为 211 ~ 555 倍, 对其它药剂抗性不明显。这 3 个田间种群 3 龄幼虫多功能氧化酶、谷胱甘肽 *S*-转移酶和酯酶的活力分别为室内敏感种群的 2.7 ~ 8.4 倍、1.9 ~ 8.6 倍和 1.6 ~ 5.7 倍。多功能氧化酶抑制剂 PBO 和酯酶抑制剂 DEF 对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的增效比为 1.2 ~ 4.3 和 1.3 ~ 7.7; PBO 和 DEF 对高效氯氰菊酯的增效比为 1.8 ~ 58 和 3.6 ~ 245; 谷胱甘肽 *S*-转移酶抑制剂 DEM 对这 2 种药剂均无增效作用。上述结果表明, 解毒代谢增强可能是甜菜夜蛾田间种群对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和高效氯氰菊酯的重要抗性机理, 与酯酶和多功能氧化酶活性升高有关, 与谷胱甘肽 *S*-转移酶活性升高无关。本文的研究结果还表明, 对于代谢抗性机理复杂的多抗性田间种群, 根据不同解毒酶抑制剂对药剂的增效作用判断不同解毒代谢酶在抗性形成中的作用更加可靠。

关键词 甜菜夜蛾, 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐, 高效氯氰菊酯, 多功能氧化酶, 谷胱甘肽 *S*-转移酶, 酯酶

Metabolic mechanisms of resistance to emamectin and cypermethrin in field populations of *Spodoptera exigua*

SHI Tian CHE Wu-Nan WU Yi-Dong YANG Yi-Hua^{**}

(College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Key Laboratory of Monitoring and Management of Crop Diseases and Pest Insects (Ministry of Agriculture), Nanjing 210095, China)

Abstract Three populations of *Spodoptera exigua* (YN-JN, SH-FX, and JS-LH) showed high levels of resistance to emamectin (45 to 437-fold) and cypermethrin (211 to 555-fold) compared to a susceptible SWH strain. Increased activity of detoxification enzymes such as monooxygenases (2.7 to 8.4-fold), glutathione *S*-transferases (1.9 to 8.6-fold) and esterases (1.6 to 5.7-fold) were detected in these populations compared with the SWH strain. The synergistic ratios (SRs) of the oxidase inhibitor (PBO) and the esterase inhibitor (DEF) to emamectin were 1.2-4.3 and 1.3-7.7 respectively and the SRs of PBO and DEF to cypermethrin were 1.8-58 and 3.6-245 respectively. The glutathione *S*-transferase inhibitor (DEM) displayed no significant synergism with these two insecticides. These results indicate that enhanced detoxification by both esterases and oxidases are important resistance mechanisms to emamectin and cypermethrin in *S. exigua*, and that enhanced detoxification is associated with increased esterase and oxidase activity, but not increased glutathione *S*-transferase activity. Multiple-pesticide resistance in many insect populations makes synergistic bioassays a more reliable method of determining the contribution of metabolic detoxification to resistance to specific insecticides.

Key words *Spodoptera exigua*, emamectin, cypermethrin, monooxygenases, glutathione *S*-transferases, esterases

甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* (Hübner) 是一种世界性的重要农业害虫。20 世纪 80 年代以前, 甜

菜夜蛾在我国间歇性发生, 危害较轻, 但近年来危害逐年加重, 连续暴发成灾, 危害已遍及 20 多个

^{*} 资助项目: 公益性行业(农业)科研专项(200803007)。

^{**} 通讯作者, E-mail: yhyang@njau.edu.cn

收稿日期: 2011-10-10, 接受日期: 2011-11-10

省市。甜菜夜蛾的暴发涉及到诸多因素,其中对不同杀虫剂产生抗性是其中的一个重要原因(苏建亚,1998;罗礼智等,2000;刘永杰等,2002)。甜菜夜蛾已对其产生抗性的药剂,既有传统的有机氯、有机磷、氨基甲酸酯和拟除虫菊酯等杀虫剂,也包括一些新型的如苯甲酰脲类、苏云金杆菌制剂及多杀菌素等药剂(Meinke and Marp, 1978; 何玉仙等, 1999; Moulton *et al.*, 2000; 王开运等, 2001; 刘永杰等, 2004)。

甲氨基阿维菌素苯甲酸盐(简称甲维盐)是一种新型高效抗生素类杀虫、杀螨剂,对鳞翅目害虫具有良好的杀虫效果,近年来广泛应用于小菜蛾 *Plutella xylostella*、斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 和甜菜夜蛾等对化学防治较为依赖的害虫的控治(Clark *et al.*, 1995; 毕富春和赵建平, 2003)。目前国内外已有害虫对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐产生抗性的报道,不同地区的小菜蛾种群已有 30 ~ 60 倍不等的抗性(Zhao *et al.*, 2006; 周利娟等, 2011)。Ahmad 等(2008)在巴基斯坦调查了 3 个不同年份 19 个田间斜纹夜蛾种群对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的抗性,其中有 5 个种群的抗性在 15 ~ 21 倍,另外 3 个种群达到了 33、37 和 77 倍。司升云等(2009)报道宜昌甜菜夜蛾种群对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的抗性达 13.8 倍。研究表明,甜菜夜蛾对一些新型的药剂如虫酰肼、甲氧虫酰肼和多杀菌素的抗性均与多功能氧化酶的活性提高有关(Smagghe *et al.*, 1998, 2003; Wang *et al.*, 2006),但甜菜夜蛾对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的抗性机理尚未有报道。

2010 年采自云南晋宁、上海奉贤和江苏六合的 3 个甜菜夜蛾田间种群对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和高效氯氰菊酯表现出明显的抗性,对茚虫威、多杀菌素、虫酰肼和甲氧虫酰肼等药剂表现为抗性不明显(结果见另文)。本文检测了这 3 个田间种群 3 种主要代谢酶的活力,同时进行了 PBO、DEM 和 DEF 3 种增效剂对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和高效氯氰菊酯的增效作用测定。通过上述研究明确了解毒代谢抗性机理在甜菜夜蛾对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和高效氯氰菊酯抗性中的重要作用,为制定有效的抗性治理方案奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 供试甜菜夜蛾

室内敏感种群(SWH):由武汉市蔬菜科学研究所提供,在室内未接触任何杀虫剂的条件下用人工饲料连续饲养至今。2010 年采自大田的 3 个甜菜夜蛾田间种群分别为:云南晋宁种群(YN-JN),采自云南省晋宁县辣椒田;上海奉贤种群(SH-FX),采自上海市奉贤区大豆田;江苏六合种群(JS-LH),采自江苏省六合区茼蒿田。

从各地采集的甜菜夜蛾田间种群幼虫在室内分别在人工饲料上饲养至化蛹。饲养条件:温度(26 ± 1) $^{\circ}\text{C}$,相对湿度 60% 左右,光周期 L:D = 16:8。待蛹要羽化时放入养虫笼内,成虫喂以 10% 的糖水,放入折叠的白纸供其产卵。

1.2 供试药剂及化学试剂

1% 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐乳油,河北威远生物化工股份有限公司;4.5% 高效氯氰菊酯乳油,山东农业大学农药系;95% 胡椒基丁醚(piperonyl butoxide, PBO),意大利 Endura 公司;95% 顺丁烯二酸二乙酯(DEM),北京化学试剂公司;98% 脱叶磷(DEF),对硝基苯甲醚(p-nitroanisole),甲异基异酚恶唑(methoxyresorufin),7-乙氧基香豆素(7-ethoxycoumarin),还原型辅酶 II(NADPH),1-氯-2,4-二硝基苯(CDNB),3,4-二氯硝基苯(DCNB),还原型谷胱甘肽(GSH), α -乙酸萘酯(α -naphthyl acetate, α -NA),固蓝 RR 盐和二巯基苏糖醇(DTT)等, Sigma-Aldrich 公司;乙二胺四乙酸(EDTA),上海光达化工试剂厂;苯基硫脲(PTU),上海试剂一厂;苯甲基磺酰氟(PMSF),南京生兴生物公司。

1.3 生物测定方法及增效剂的增效实验

生物测定采用浸叶法。将所测定药剂稀释成 5 ~ 7 个浓度,并以清水(含 1‰ Triton-100)作空白对照。取用洁净的甘蓝叶,制成直径 6.5 cm 的圆片,将叶片在药液中浸泡 10 s 后取出晾干,将晾干的叶片垫在直径 6.5 cm 的培养皿中,并接入 3 龄中期试虫 5 头(体重 5 ~ 7 mg),每个浓度设置 6 次重复。药剂处理 48 h 后检查结果,以镊子轻触虫体不能正常爬行为死亡。在进行 PBO、DEM 和 DEF 等增效剂对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和高效氯氰菊酯的增效作用测定时,将增效剂以 6.4 μg /头的剂量点滴于 3 龄幼虫的中胸背板,1 h 后按上述方法进行生物测定。

1.4 解毒代谢酶的活性测定

1.4.1 酶液制备 取 10 头 3 龄中期甜菜夜蛾幼虫, 用 0.1 mol/L pH 7.6 的磷酸缓冲液 (含 1 mmol/L EDTA, 1 mmol/L DTT, 1 mmol/L PTU, 1 mmol/L PMSF 和 20% 甘油) 冰浴匀浆。匀浆时先加入 200 μ L 0.1 mol/L pH 7.6 匀浆缓冲液, 再用 1 000 μ L 匀浆缓冲液清洗匀浆器, 合并全部溶液共 1 200 μ L。4℃, 13 000 g, 离心 30 min, 将上清液用玻璃棉过滤转移到新的 1.5 mL 离心管中, 再次离心 10 min, 制得测定用酶液。

1.4.2 多功能氧化酶活力 (MFO) 测定 分别测定了制得酶液对 3 种不同多功能氧化酶底物的活力, 分别是对硝基苯甲醚氧脱甲基活力 (p-nitroanisole O-demethoxylation, PNOD)、甲氧基异酚恶唑氧脱甲基活力 (methoxyresorufin O-demethoxylation, MROD)、7-乙氧基香豆素脱乙基活力 (7-ethoxycoumarin O-deethoxylation, ECOD)。

1.4.2.1 对硝基苯甲醚氧脱甲基活力 (PNOD) 测定 先将对硝基苯甲醚溶于乙醇配成 400 mmol/L 母液, 再用预热的 0.1 mol/L pH 7.8 的磷酸缓冲液将其稀释到 2 mmol/L。在 96 孔普通酶标板中每孔依次加入 100 μ L 2 mmol/L 对硝基苯甲醚和 90 μ L 酶液, 30℃ 温育 3 min 后, 加入 10 μ L 9.6 mmol/L NADPH (现配现用) 后开始测定。用 VERSAmax 型酶标仪 (Molecular Devices 公司) 在 405 nm 下记录光密度值, 酶促反应在 30℃ 下进行, 每隔 25 s 记录一次, 反应 15 min, 数据记录和处理用 Softmax[®] PRO 软件。

1.4.2.2 甲氧基异酚恶唑氧脱甲基活力 (MROD) 测定 先将甲氧基异酚恶唑用二甲基亚砜 (DMSO) 配成 1 mmol/L 母液, 再用 0.1 mol/L pH 7.8 的磷酸缓冲液将其稀释到 0.01 mmol/L。在 96 孔荧光酶标板中每孔依次加入 100 μ L 0.01 mmol/L 甲氧基异酚恶唑和 50 μ L 酶液, 30℃ 温育 3 min 后, 加入 10 μ L 9.6 mmol/L NADPH 开始测定。用 Spectra max[®] GEMINI XS 型荧光酶标仪 (Molecular Devices 公司) 在激发波长 530 nm, 发射波长 585 nm 下记录光密度值, 酶促反应在 30℃ 下进行, 每隔 45 s 记录一次, 反应 12 min, 数据记录和处理用 Softmax[®] PRO 软件进行。

1.4.2.3 7-乙氧基香豆素脱乙基活力 (ECOD) 测定 先将 7-乙氧基香豆素溶于乙醇配成 20 mmol/L 母液, 再用 0.1 mol/L pH 7.8 的磷酸缓冲液将其稀释到 0.5 mmol/L。在 96 孔荧光酶标板中每孔

依次加入 80 μ L 0.5 mmol/L 7-乙氧基香豆素和 50 μ L 酶液, 30℃ 温育 3 min 后, 加入 10 μ L 9.6 mmol/L NADPH 开始测定。用 Spectra max[®] GEMINI XS 型荧光酶标仪激发波长 380 nm, 发射波长 460 nm 下记录光密度值, 酶促反应在 30℃ 下进行, 每隔 30 s 记录一次光密度值, 反应 15 min, 数据记录和处理用 Softmax[®] PRO 软件进行。

1.4.3 谷胱甘肽 S-转移酶活力 (GST) 测定 将 1-氯-2,4-二硝基苯 (CDNB) 和 3,4-二氯硝基苯 (DCNB) 用乙醇配制成 120 mmol/L 母液, 再用 0.1 mol/L pH 7.6 的磷酸缓冲液将其稀释到 1.2 mmol/L 的底物溶液。对 CDNB, 在 96 孔酶标板中每孔加入 10 μ L 稀释酶液 (事先用 0.1 mol/L pH 7.6 的磷酸缓冲液稀释 10 倍)、100 μ L 1.2 mmol/L CDNB 和 100 μ L 6 mmol/L 还原型谷胱甘肽 (GSH, 用 0.1 mol/L pH 7.6 的磷酸缓冲液现配现用)。对 DCNB, 在 96 孔酶标板中每孔加入 25 μ L 酶液、100 μ L 1.2 mmol/L DCNB 和 100 μ L 6 mmol/L 还原型谷胱甘肽。用 VERSAmax 型酶标仪在 340 nm 下记录光密度值, 酶促反应在 30℃ 下进行, 每隔 15 s 记录一次, 反应 20 min, 数据记录和处理用 Softmax[®] PRO 软件。

1.4.4 酯酶活力 (EST) 测定 用 α -乙酸萘酯 (α -NA) 作为底物, 测定非特异性酯酶活力。在 10 mL 0.2 mol/L pH 6.0 的磷酸缓冲液中加入 20 mg 固蓝 RR 盐和 0.2 mL 100 mmol/L α -NA 乙醇溶液, 混合均匀后过滤得黄色澄清的底物和显色混合液 (需现配现用)。在 96 孔酶标板中每孔加入 20 μ L 稀释酶液 (事先用 0.1 mol/L pH 7.6 的磷酸缓冲液稀释 10 倍) 和 205 μ L 上述底物和显色混合液。用 VERSAmax 型酶标仪在 450 nm 下记录光密度值, 酶促反应在 27℃ 下进行, 每隔 30 s 记录一次, 反应 15 min, 数据记录和处理用 Softmax[®] PRO 软件进行。

1.5 数据统计分析

用 POLO plus 软件计算毒力回归方程的斜率 (slope)、标准误、LC₅₀ 值及其 95% 置信限。实验数据的统计分析采用差异显著性分析 (Analysis of variance, ANOVA) 和新复极差多重比较 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 甜菜夜蛾田间种群对甲氨基阿维菌素苯甲

酸盐和高效氯氰菊酯的抗性水平

采用浸叶法分别测定了甲氨基阿维菌素苯甲酸盐及高效氯氰菊酯对敏感种群、云南晋宁、上海奉贤和江苏六合 3 个甜菜夜蛾田间种群的毒力,并比较了其抗性水平(表 1)。与敏感种群相比,3 个田间种群对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的抗性倍

数在 45 ~ 437 之间,上海奉贤种群对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐表现出极高水平抗性。3 个田间种群对高效氯氰菊酯的抗性倍数在 211 ~ 555 倍之间,均达到极高水平抗性,菊酯类药剂已经不适用于甜菜夜蛾的田间防治。

表 1 甜菜夜蛾田间种群对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和高效氯氰菊酯的抗性水平

Table 1 Resistance levels of resistance to emamectin and cypermethrin in field populations of *Spodoptera exigua*

杀虫剂 Insecticide	种群 Population	致死中浓度(95% 置信限) (mg/L) LC ₅₀ (mg/L) (95% CL)	抗性倍数 RR
甲氨基阿维菌素苯甲酸盐 Emamectin	敏感种群 SWH	0.011 (0.007 - 0.019)	1
	云南晋宁 YN-JN	0.876 (0.559 - 1.338)	80
	上海奉贤 SH-FX	4.759 (3.585 - 6.849)	437
	江苏六合 JS-LH	0.490 (0.223 - 0.913)	45
高效氯氰菊酯 Cypermethrin	敏感种群 SWH	3.131 (2.317 - 4.215)	1
	云南晋宁 YN-JN	655.707 (526.617 - 817.767)	211
	上海奉贤 SH-FX	684.479 (255.288 - 1 968.324)	219
	江苏六合 JS-LH	1 738.071 (909.110 - 10 075.910)	555

注:抗性倍数 = LC₅₀(田间种群) / LC₅₀(敏感种群)。

RR = LC₅₀(field population) / LC₅₀(susceptible strain)。

2.2 田间种群解毒代谢酶的活性

测定了 3 个田间种群和室内敏感种群甜菜夜蛾幼虫多功能氧化酶、谷胱甘肽 S-转移酶和酯酶等代谢酶对不同底物的活力,结果见表 2。云南晋宁种群多功能氧化酶的 PNOD、MROD 和 ECOD 活力分别增加 2.7、5.2 和 4.2 倍,上海奉贤种群分别增加 5.4、7.8 和 7.0 倍,江苏六合种群分别增加 4.5、8.4 和 6.0 倍。以 CDNB 和 DCNB 为底物测得的谷胱甘肽 S-转移酶活力也有增加,云南晋宁种群分别增加 2.7 和 1.9 倍,上海奉贤种群分别增加 6.8 和 2.4 倍,江苏六合种群分别增加 8.6 和 2.7 倍。3 个甜菜夜蛾田间种群对酯酶活力分别增加 1.6、3.5 和 3.5 倍。说明对 2 种杀虫剂表现出明显抗性的田间甜菜夜蛾中解毒代谢酶活力均有上升,3 种代谢酶均可能参与甜菜夜蛾对杀虫剂的抗性。

2.3 不同增效剂对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和高效氯氰菊酯的增效作用

为了进一步明确解毒代谢酶在 2 种杀虫剂抗性中的作用,用多功能氧化酶抑制剂 PBO、谷胱甘肽 S-转移酶抑制剂 DEM 和酯酶抑制剂 DEF 进行

甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和高效氯氰菊酯的增效作用测定,结果见图 1 和图 2。

在云南晋宁、上海奉贤和江苏六合田间种群中,PBO 对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的增效比分别是 4.3、2.0 和 1.2,DEM 对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的增效比分别是 1.0、1.0 和 0.6,DEF 对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的增效比分别是 4.4、7.0 和 2.2。该结果表明,酯酶和多功能氧化酶解毒代谢参与了这 3 个甜菜夜蛾田间种群对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的抗性,在增效剂作用下抗性水平有下降,但还可能存在其他的主要抗性机理。

在上述 3 个田间种群中,PBO 对高效氯氰菊酯的增效比分别是 4.5、10.9 和 58,DEM 对高效氯氰菊酯的增效比分别是 0.5、0.7 和 1.8,DEF 对高效氯氰菊酯的增效比分别是 31.3、21 和 245。由此可见,PBO、DEF 可以使田间种群对高效氯氰菊酯的抗性大幅度下降,且 DEF 增效作用高于 PBO。因此,解毒代谢增强是甜菜夜蛾对高效氯氰菊酯的主要抗性机制,酯酶介导的解毒作用强于多功能氧化酶的解毒作用,而与谷胱甘肽 S-转移酶无关。

表 2 甜菜夜蛾田间抗性种群和室内敏感品系 3 龄幼虫解毒代谢酶活性
Table 2 Metabolic enzyme activities of the 3rd instar larvae from the field-collected resistant populations and the susceptible strain of *Spodoptera exigua*

代谢酶 Enzyme	底物 (酶活性单位) Substrate (enzyme activity unit)	种群 Population	酶活 Enzyme activity	活性比 Activity ratio (R/S)
多功能氧化酶 MFO	对硝基苯甲醚 p-nitroanisole (mOD/min/mg protein)	敏感种群 SWH	3.75 ± 0.49 a	
		云南晋宁 YN-JN	10.05 ± 1.36 b	2.7
		上海奉贤 SH-FX	20.20 ± 1.60 d	5.4
		江苏六合 JS-LH	16.70 ± 1.18 c	4.5
	甲氧基异酚恶唑 Methoxyresorufin (Rfu/min/mg protein)	敏感种群 SWH	3 149.72 ± 174.37 a	
		云南晋宁 YN-JN	16 392.11 ± 1 554.91 b	5.2
		上海奉贤 SH-FX	24 529.89 ± 1 486.73 c	7.8
		江苏六合 JS-LH	26 542.67 ± 2 397.25 c	8.4
	7-乙基香豆素 7-ethoxycoumarin (mRfu/min/mg protein)	敏感种群 SWH	15 564.85 ± 913.54 a	
		云南晋宁 YN-JN	65 853.95 ± 2 463.41 b	4.2
		上海奉贤 SH-FX	10 9531.10 ± 8 353.99 d	7.0
		江苏六合 JS-LH	93 579.92 ± 6 296.00 c	6.0
谷胱甘肽 S-转 移酶 GST	1-氯-2,4-二硝基苯 CDNB (mOD/min/mg protein)	敏感种群 SWH	4 161.29 ± 243.87 a	
		云南晋宁 YN-JN	11 023.18 ± 722.59 a	2.7
		上海奉贤 SH-FX	28 329.64 ± 3 296.28 b	6.8
		江苏六合 JS-LH	35 822.26 ± 5 172.37 b	8.6
	3,4-二氯硝基苯 DCNB (mOD/min/mg protein)	敏感种群 SWH	284.89 ± 18.17 a	
		云南晋宁 YN-JN	545.36 ± 30.29 b	1.9
酯酶 EST	α-乙酸萘酯 4-NA (mOD/min/mg protein)	上海奉贤 SH-FX	675.32 ± 24.98 c	2.4
		江苏六合 JS-LH	767.76 ± 65.94 c	2.7
		敏感种群 SWH	736.23 ± 39.72 a	
		云南晋宁 YN-JN	1 195.06 ± 64.96 b	1.6
		上海奉贤 SH-FX	2 559.38 ± 87.75 c	3.5
		江苏六合 JS-LH	2 559.79 ± 174.30 c	3.5

注:酶活力以平均值 ± 标准误表示。同一列数值后标有相同的字母表示两者差异不显著 ($P > 0.05$, Duncan's 新复极差检验)。
Enzyme activities are shown as mean ± SE. Data followed by the same letters in the same column indicate no significant difference at 0.05 level by Duncan's multiple range tests).

3 讨论

昆虫体内主要的代谢酶解毒代谢作用增强是昆虫对杀虫剂产生抗性的重要机理 (McCaffery, 1998; Scott, 1999)。代谢酶是否参与抗性,通常有两种不同的方法进行判定,一种是采用生物测定法检测某种代谢酶的专一性抑制剂 (又称增效剂) 对杀虫剂是否存在增效作用,另一种是直接测定抗性昆虫体内代谢酶活性的变化。如果是室内用某种药剂筛选获得的抗性品系,筛选前后酶活力是否发生改变,可以证实其在抗性形成中的作用。但是对田间种群而言,由于药剂的使用情况比较

复杂,害虫通常存在多抗性,此时很难将酶活力的变化与其对某种药剂的抗性进行联系,因此通过增效剂对特定药剂的增效作用可以帮助判断与抗性有关的特定代谢酶。
本研究中 3 个甜菜夜蛾田间种群对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和高效氯菊酯均达到较高水平的抗性,对其它药剂抗性不明显,是典型的田间多抗性种群。3 种主要代谢酶活力测定结果证实多功能氧化酶、谷胱甘肽 S-转移酶和酯酶的活力与敏感种群相比均有明显上升,说明甜菜夜蛾田间种群的多抗性可能与 3 种代谢酶的活力增强有关系。但增效作用研究结果则清楚表明,酯酶和多

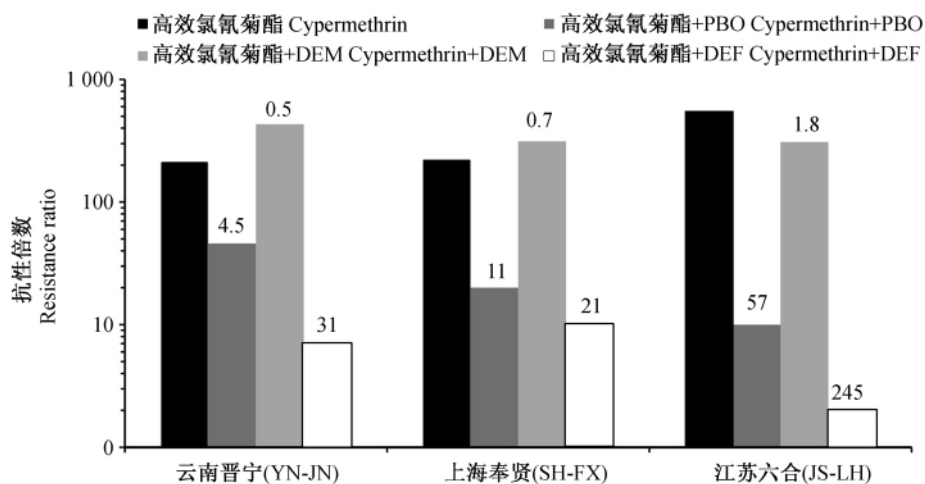


图1 增效剂对甜菜夜蛾田间种群高效氯氰菊酯抗性的抑制作用(柱上的数字为增效比)

Fig.1 Suppression of resistance to cypermethrin by synergists in field populations of *Spodoptera exigua* (the number over the column is the synergistic ratio)

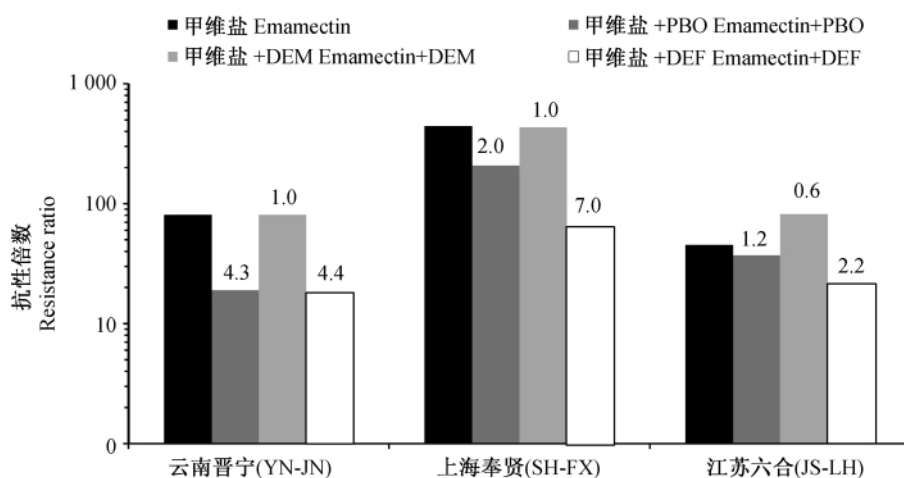


图2 增效剂对甜菜夜蛾田间种群甲氨基阿维菌素苯甲酸盐抗性的抑制作用(柱上的数字为增效比)

Fig.2 Suppression of resistance to emamectin by synergists in field populations of *Spodoptera exigua* (the number over the column is the synergistic ratio)

功能氧化酶在甜菜夜蛾田间种群对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和高效氯氰菊酯的抗性形成中起着重要作用,谷胱甘肽 S-转移酶的作用不明显。王开运等(2002)的增效实验表明山东泰安甜菜夜蛾种群中 PBO 对顺式氯氰菊酯的增效比为 3.3,SV1、TPP 和 DEM 的增效比为 1.5、1.9 和 1.2。王信远等(2010)测定不同年份甜菜夜蛾田间种群及室内饲养一年后的种群,发现 3 种代谢酶活力比敏感品系均有上升,且解毒代谢酶活力的变化直接影响到甜菜夜蛾对药剂的抗性。但室内饲养一年后

的种群其谷胱甘肽 S-转移酶的活力比敏感品系还低,但几种药剂的 LD_{50} 值则高于敏感品系。在甜菜夜蛾上,谷胱甘肽 S-转移酶是否参与对杀虫剂的抗性单从酶活力的变化还不能肯定,本文所检测到的甜菜夜蛾田间抗性种群谷胱甘肽 S-转移酶活性提高也可能与其他药剂的抗性相关。

国内外关于甜菜夜蛾对拟除虫菊酯类杀虫剂抗性机理的报道证实对溴氰菊酯、氰戊菊酯的抗性与酯酶代谢能力增强有关(Delorme *et al.*, 1988; Brewer and Trumble, 1994),对氯氟氰菊酯的

抗性与多功能氧化酶的活性提高有关(刘永杰等, 2005)。本文研究结果表明多功能氧化酶和酯酶都参与高效氯氰菊酯的解毒代谢, 并且酯酶在对高效氯氰菊酯的抗性中可能起着更为重要的作用。甲氨基阿维菌素苯甲酸盐是一类新型药剂, 有关抗性机制方面的研究较少。但对与甲氨基阿维菌素苯甲酸盐具有相同作用机制的阿维菌素的抗性机理研究表明, 多功能氧化酶在小菜蛾对阿维菌素的抗性进化中发挥了比较重要的作用(黄剑等, 2005; Pu *et al.*, 2010), 酯酶和谷胱甘肽 *S*-转移酶也在一定程度上参与了小菜蛾对阿维菌素抗性的形成(吴青君等, 2001)。本研究也发现酯酶与多功能氧化酶与甜菜夜蛾对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的抗性有关。

由于田间种群的用药情况复杂, 常常可能对多种杀虫剂表现出抗性, 且不同作用机制的杀虫剂可能有相同的代谢抗性机制, 从而导致对新型药剂很快产生抗性。Ahmad 等(2008)对巴基斯坦不同的斜纹夜蛾种群生物测定表明, 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和虱螨脲(lufenuron)、阿维菌素与甲氧虫酰肼(methoxyfenozide)的 LD_{50} 值间有极显著的相关性, 表明害虫可能对其具有同样的抗性机理, 因而导致交互抗性的产生。从本文研究结果看, 酯酶和多功能氧化酶在甜菜夜蛾对高效氯氰菊酯的抗性中具有重要作用, 在对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的抗性中也起着一定的作用。因此, 甜菜夜蛾田间种群对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐等新型药剂产生抗性不排除是由于与传统杀虫剂交互抗性造成的。因此在生产实践中, 应避免甲氨基阿维菌素苯甲酸盐与传统的杀虫剂轮用或混用。对甜菜夜蛾的防控, 在合理用药的同时, 充分利用农业措施和生物防治等其它有效措施, 达到既延缓甜菜夜蛾抗性的产生, 又实现有效防治的目的。

参考文献(References)

Ahmad M, Sayyed AH, Saleem MA, Ahmad M, 2008. Evidence for field evolved resistance to newer insecticides in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) from Pakistan. *Crop Prot.*, 27 (10): 1367—1372.

Brewer MJ, Trumble JT, 1994. Beet armyworm resistance to fenvalerate and methomyl: resistance variation and insecticide synergism. *J. Agr. Entomol.*, 11 (4): 291—

300.

Clark JM, Scott JG, Campos F, Bloomquist JR, 1995. Resistance to avermectins: extent, mechanisms, and management implications. *Annu. Rev. Entomol.*, 40: 1—30.

Delorme R, Fournier D, Chaufaux J, Cuany A, Bride JM, Auge D, Berge JB, 1988. Esterase metabolism and reduced penetration are causes of resistance to deltamethrin in *Spodoptera exigua* (Noctuidae: Lepidoptera). *Pestic. Biochem. Physiol.*, 32 (3): 240—246.

McCaffery AR, 1998. Resistance to insecticides in heliothine Lepidoptera: a global view. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B*, 353: 1735—1750.

Meinke LJ, Marp GW, 1978. Tolerance of three beet armyworm strains in Arizona to methomyl. *J. Econ. Entomol.*, 71 (4): 645—646.

Moulton JK, Pepper DA, Dennehy TJ, 2000. Beet armyworm (*Spodoptera exigua*) resistance to spinosad. *Pest Manag. Sci.*, 56 (10): 842—848.

Pu X, Yang YH, Wu SW, Wu YD, 2010. Characterisation of abamectin resistance in a field-evolved multi-resistant population of *Plutella xylostella*. *Pest Manag. Sci.*, 66 (4): 371—378.

Scott J, 1999. Cytochromes P450 and insecticide resistance. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 29: 757—777.

Smagghe G, Dhadialla TS, Derycke S, Tirry L, Degheele D, 1998. Action of the ecdysteroid agonist tebufenozide in susceptible and artificially selected beet armyworm. *Pestic. Sci.*, 54 (1): 27—34.

Smagghe G, Pineda S, Carton B, Estal PD, Budia F, Vinuela E, 2003. Toxicity and kinetics of methoxyfenozide in greenhouse-selected *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest Manag. Sci.*, 59 (11): 1203—1209.

Wang W, Mo JC, Cheng JA, Zhuang PJ, Tang ZH, 2006. Selection and characterization of spinosad resistance in *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Pestic. Biochem. Physiol.*, 84 (3): 180—187.

Zhao JZ, Collins HL, Li YX, Mau RFL, Thompson GD, Hertlein M, Andalaro JT, Boykin R, Shelton AM, 2006. Monitoring of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) resistance to spinosad, indoxacarb, and emamectin benzoate. *J. Econ. Entomol.*, 99 (1): 176—181.

毕富春, 赵建平, 2003. 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐对主要害虫药效概述. *现代农药*, 2 (2): 34—36.

何玉仙, 杨秀娟, 翁启勇, 游泳, 1999. 甜菜夜蛾的抗药性研究及其治理. *世界农业*, 6: 41—43.

黄剑, 吕敏, 王群利, 吴文君, 2005. 抗阿维菌素小菜蛾