

甜菜夜蛾不同龄期幼虫对药剂的敏感性 及其与酶活力的关系*

王泽华** 石宝才 康总江 朱 亮 金桂华 魏书军*** 官亚军***

(北京市农林科学院植物保护环境保护研究所 北京 100097)

摘 要 【目的】明确甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* (Hübner) 不同龄期幼虫对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和毒死蜱的敏感性及其与羧酸酯酶、多功能氧化酶、谷胱甘肽 S-转移酶和乙酰胆碱酯酶活性的相关性。【方法】采用室内生物测定方法检测甜菜夜蛾不同龄期幼虫对药剂的敏感性,并检测了不同龄期幼虫体内羧酸酯酶、多功能氧化酶、谷胱甘肽 S-转移酶和乙酰胆碱酯酶的活力。【结果】在所测定的 5 个龄期中,随龄期增加,敏感性逐渐降低,其中 1~5 龄幼虫对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的 LC_{50} 分别为 0.1010、0.3561、0.7568、1.4325 和 8.4390 mg/L,对毒死蜱的 LC_{50} 分别为 27.4632、46.8495、87.5222、129.3217 和 1 356.6770 mg/L。单头幼虫的羧酸酯酶、多功能氧化酶、谷胱甘肽 S-转移酶和乙酰胆碱酯酶活力随虫龄的增加而提高,与龄期间对药剂的敏感性呈负相关(由于外源化合物摄入量减少,5 龄单头幼虫的多功能氧化酶活力略有降低)。【结论】甜菜夜蛾不同龄期幼虫对药剂的敏感性存在非常明显的差异,在田间防治中,应选择对杀虫剂敏感性较高的低龄幼虫作为最佳防治时期。

关键词 甜菜夜蛾, 龄期, 生物测定, 酶活力

The sensitivity of different larval instars of the beet armyworm *Spodoptera exigua* to insecticides and correlation with enzyme activity

WANG Ze-Hua** SHI Bao-Cai KANG Zong-Jiang ZHU Liang
JIN Gui-Hua WEI Shu-Jun*** GONG Ya-Jun***

(Institute of Plant and Environmental Protection, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China)

Abstract 【Objectives】The objective of this study is to analyze the susceptibility of different larval instars of the beet armyworm *Spodoptera exigua* (Hübner) to emamectin benzoate and chlorpyrifos and the correlation of susceptibility with enzyme activity. 【Methods】Bioassay was conducted and activity of esterase, mixed function oxidase, glutathione-S-transferase and acetylcholinesterase in different larval instars of the beet armyworm were tested in the laboratory. 【Results】Sensitivity to insecticides decreased continuously as larvae developed from 1st to 5th instar, the LC_{50} for emamectin benzoate of instars 1 to 5 were 0.1010, 0.3561, 0.7568, 1.4325 and 8.4390 mg/L, respectively, while the LC_{50} for chlorpyrifos were 27.4632, 46.8495, 87.5222, 129.3217 and 1 356.6770 mg/L, respectively. The activities of esterase, mixed function oxidase,

* 资助项目: 国家重点基础研究发展计划 (2009CB119004); 北京市农林科学院青年科研基金 (QNJJ201214); 北京市农业科技项目 (2013010301); 北京市科技新星计划 (2010B027); 北京市优秀人才培养项目 (2010D002020000010)

**E-mail: wangzehua200707@163.com

***通讯作者, E-mail: shujun268@163.com; gongyajun200303@163.com

收稿日期: 2013-03-31, 接受日期: 2013-05-13

glutathione S-transferase and acetylcholinesterase increased with increasing larval instar (the activity of mixed function oxidase of the 5th instar larvae reduced slightly due to the reduced intake of exogenous compounds). There was a negative correlation between enzyme activity and sensitivity to insecticides. **[Conclusion]** The sensitivities of different larval instars of beet armyworm to insecticides were found to be significantly different. The best time to control the beet armyworm is at the early instar larval stage, when sensitivity to insecticides is high.

Key words *Spodoptera exigua*, larval instar, bioassay, enzyme activity

甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* (Hübner) 属鳞翅目 Lepidoptera, 夜蛾科 Noctuidae, 是一种食性杂、繁殖快、间歇性暴发的害虫(冯小红, 2009)。该虫除为害葱、甘蓝、白菜、辣椒等多种蔬菜外, 还危害高粱、玉米、苜蓿、花卉、果树等 170 余种重要经济作物。据报道该虫首先在美国发生危害, 逐渐扩散至世界五大洲(Ruberson *et al.*, 1994)。在我国, 该虫原是局部偶发性害虫, 很少造成危害, 自 1986 年以来, 发生范围逐渐扩大, 危害日趋严重, 1991—1994 年在广东、上海、江苏、浙江、湖南、湖北、贵州、江西、安徽等省区暴发, 成为长江以南各省区的重要蔬菜害虫(王斌, 2010)。1996—1997 年在山东部分地区发生, 后又在北京、天津、河北、河南等许多北方省份暴发成灾(宋国春, 1998; 朱国仁等, 2010), 目前已遍及全国 20 多个省、市、自治区(王少丽等, 2010)。

甜菜夜蛾暴发成灾除了与自身生活周期较短、产卵量较大等因素有关外, 还与其迁入地环境密切相关。据报道该虫是至今被确认的飞行能力最强的鳞翅目夜蛾科昆虫之一(苏建亚, 1998; Feng *et al.*, 2003)。由于这种迁飞性害虫在迁入地自然控制能力较差, 化学药剂成为主要的控制手段。但化学农药的大量使用导致了甜菜夜蛾抗药性不断上升(吴世昌等, 1995; Aldosari *et al.*, 1996; 何玉仙和杨秀娟, 1999; Moulton *et al.*, 2000), 目前已经发现甜菜夜蛾对拟除虫菊酯类、有机磷类、氨基甲酸酯类及生物类药剂产生了较

高的抗药性(苏宏华等, 2012)。这些抗性产生的主要原因是由于甜菜夜蛾生理、生化及行为能力的改变而造成的(Delorme *et al.*, 1988; Brewer and Trumble, 1994; Laecke *et al.*, 1995; Smagghe *et al.*, 1998; 刘永杰和沈晋良, 2002; 兰亦全和赵士熙, 2005), 尤其在田间进行化学防治时, 甜菜夜蛾高龄幼虫数量所占比率增加时, 其化学防治效果越差。不同龄期甜菜夜蛾对杀虫剂敏感性的差异成为田间施药的关键理论依据, 同时, 造成这种抗药性差异的一系列生理生化机理也成为增强杀虫剂防治效果、延缓抗药性产生的研究重点。为此我们研究了不同龄期甜菜夜蛾幼虫对两种杀虫剂的敏感性, 以及不同龄期幼虫体内酶活力, 并分析了不同龄期幼虫对药剂的敏感性与酶活力之间的关系, 以期有效控制甜菜夜蛾的危害提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

供试甜菜夜蛾由中科白云绿色生物技术公司提供, 采自北京市田间绿菜花地, 在室内采用人工饲料饲养 3 年至今, 期间从未接触任何杀虫剂。实验时选取同一批次卵块, 放入温度 25℃、光照为 16L:8D 的养虫室内饲养, 待幼虫孵化后分别挑取发育一致的不同龄期幼虫用于生物测定和酶活力测定。

1.2 供试药剂

用于毒力测定的药剂为 95% 毒死蜱 (Chlorpyrifos) 原药 (成都科利隆生化有限公司) 和 74.6% 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐 (Emamectin benzoate) 原药 (黑龙江省佳木斯兴宇生物技术开发有限公司)。

1.3 毒力测定方法与数据分析

毒力测定均采用浸叶生测法进行。首先称取一定量供试药剂, 用少量丙酮完全溶解, 用含 0.1% Trixon-100 纯净水将药剂稀释至设定浓度, 设含相同溶剂的清水为对照。

将没有接触过药剂的甘蓝叶片打成直径 10 cm 的圆片, 将叶片在药液中浸泡 10 s, 取出后在室内自然晾干, 然后将叶片贴于培养皿内。分别挑入发育一致、生长状态良好的各龄期幼虫 (蜕皮后 1 d), 每皿 20 头, 用保鲜膜封好, 在膜上用昆虫针扎 15~20 个小孔, 然后放入温度 25℃、光照为 16L:8D 恒温培养箱内饲养, 24 h 后检查死亡情况, 以虫体蠕动者为活虫, 无任何反应者为死虫, 统计死亡数, 试验设 4 次重复。用 DPS v12.01 统计软件计算各处理死亡率和校正死亡率 (唐启义和冯明光, 2007), 求出毒力回归方程、 LC_{50} 及其 95% 置信区间, 进行回归分析。

1.4 羧酸酯酶、乙酰胆碱酯酶、谷胱甘肽 S-转移酶的测定

1.4.1 酶液的制备 由于甜菜夜蛾不同龄期幼虫体重差异较大, 本研究为了获取不同龄期幼虫足够浓度和体积的酶液 (浓度 10%), 随机选取 1 龄幼虫 30 头, 2 龄幼虫 10 头, 3、4 和 5 龄幼虫单头, 分别置于 1.5 mL 离心管内, 分别加入 120、120、225、900 和 1 300 μ L (5 龄幼虫分 2 次加入, 后转移至 2 mL 离心管内) 0.04 mol L^{-1}

预冷的磷酸缓冲液 (pH 7.0), 在冰浴条件下匀浆, 匀浆后置于 10 000 r/min、4℃ 离心 15 min, 取上清酶液冰浴。制备好的酶液覆盖保鲜膜防止氧化, 用于上述 3 种酶的活力测定。1 和 2 龄幼虫各设 15 次重复, 3、4 和 5 龄幼虫各设 30 次重复。

1.4.2 羧酸酯酶测定方法 参照 van Asperen (1962) 的方法, 于酶标板加样孔中加入 135 μ L 0.3 mmol L^{-1} α -醋酸萘酯, 加入 15 μ L 酶液, 在 37℃ 条件下孵育 30 min, 加入 50 μ L DBLS (1% 固蓝 B 盐水溶液与 5% 十二烷基硫酸钠以 2:5 配制) 终止反应, 将混合液置于室温显色 15 min。置于酶标仪中 600 nm 检测光密度值, 以 α -萘酚作标准曲线。

1.4.3 乙酰胆碱酯酶测定方法 乙酰胆碱酯酶的活力测定按 AchE 试剂盒 (南京建成生物工程研究所) 说明书进行, 乙酰胆碱酯酶水解乙酰胆碱生成胆碱及乙酸, 胆碱可以与巯基显色反应生成对称三硝基苯 (TNB) 黄色化合物, 根据颜色深浅进行比色定量, 水解产物胆碱的数量可反应胆碱酯酶的活力。以每毫克组织蛋白在 37℃ 保温 6 min, 水解反应体系中 1 μ mol 基质为 1 个活力单位 ($\text{U mg}^{-1} \text{ pro}$)。

1.4.4 谷胱甘肽 S-转移酶测定方法 谷胱甘肽 S-转移酶的活力测定按 GST 试剂盒 (南京建成生物工程研究所) 说明书进行, 谷胱甘肽 S-转移酶具有催化还原型谷胱甘肽 (GSH) 与 1-氯-2, 4-二硝基苯 (CDNB) 结合的能力, 在一定反应时间内, 其活性高低与反应前后底物浓度的变化呈线性关系。通过检测还原型谷胱甘肽 (GSH) 浓度的高低来反应谷胱甘肽 S-转移酶活力的大小, GSH (底物) 浓度降低越多, 谷胱甘肽 S-转移酶的活力越大, 反之则越小。以每 mg 组织蛋白在 37℃ 反应 1 min, 使反应体系中 GSH 浓度降低 1

$\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 为一个酶活力单位 ($\text{U mg}^{-1}\text{pro}$)

1.4.5 蛋白质含量测定 蛋白质含量测定按 BCA 蛋白测定试剂盒 (Pierce 生物技术公司) 说明书进行。

1.5 多功能氧化酶活力测定

1.5.1 酶液制备 随机选取 1 龄幼虫 30 头 , 2 龄幼虫 10 头 , 3、4 和 5 龄幼虫单头 , 分别置于 1.5 mL 离心管内 , 分别加入 120、120、225、900 和 1 300 μL (5 龄幼虫分 2 次加入 , 后转移至 2 mL 离心管内) 0.1 mol L^{-1} 预冷的磷酸缓冲液 (pH 7.8 , 含 0.1 mmol L^{-1} DTT、0.1 mmol L^{-1} EDTA、0.1 mmol L^{-1} PTU) , 在冰浴条件下匀浆 , 匀浆后置于 10 000 r/min、4℃ 离心 10 min , 取上清液于 10 000 r/min、4℃ 再次离心 60 min , 取上清酶液冰浴 , 制备好的酶液覆盖保鲜膜防止氧化 , 用于多功能氧化酶活力测定。1 和 2 龄幼虫各设 15 次重复 , 其余幼虫各设 30 次重复。

1.5.2 测定方法 参照 Yu 和 Nguyen (1992) 方法 , 对甜菜夜蛾体内对硝基苯甲醚-O-脱甲基 (PNOD) 活力进行测定。采用 96 孔酶标板 , 以对硝基苯甲醚为底物 , 在多功能氧化酶的作用下 , 生成对硝基苯酚钠 , 以对硝基酚作标准曲线。反应体系为 : 于酶标板加样孔中加入 0.1 mmol L^{-1} 的对硝基苯甲醚 100 μL , 9.6 mmol L^{-1} 的 NADPH 10 μL 和酶液 90 μL , 30℃ 下静置 30 min 后用酶标仪测定 405 nm 下 OD 值。工作酶液经蛋白质测定 , 得出蛋白质含量。用对硝基酚的生成量表示酶活力 $\text{nmol L}^{-1}\text{mg}^{-1}\text{pro (30min)}^{-1}$ 。

1.5.3 蛋白质含量测定 蛋白质含量测定参照 Bradford 考马斯亮蓝 G-250 法 (Bradford , 1976) 。取 8 支 10 mL 塑料离心管 , 分别加入 0.1 mg mL^{-1} 牛血清蛋白标准液 0、0.01、0.02、0.04、0.08、0.16、0.32 和 0.64 mL , 不足 1 mL 者以双蒸水补足至 1 mL。每管中均加入考马斯亮蓝 G-250 溶液 5 mL , 混合均匀 , 放置 2~3 min 后 , 在 595 nm 波长下比色法测定吸光值 , 重复 3 次。以蛋白质浓度为横坐标 , 吸光值为纵坐标绘制标准曲线。酶反应体系为 : 于酶标板加样孔中加入 100 μL 考马斯亮蓝溶液 , 加入 2 μL 酶液 , 室温下放置 10 min 后置于酶标仪中 595 nm 检测光密度值。

1.5.4 数据分析方法 用 Excel 2010 对数据进行统计整理 , 并对甜菜夜蛾不同龄期对药剂的敏感性与酶活力的相关性进行分析。

2 结果与分析

2.1 甜菜夜蛾不同龄期幼虫对药剂敏感性水平

试验结果 (表 1) 表明 , 甜菜夜蛾幼虫不同发育龄期对药剂的敏感性存在非常明显的差异 , 在所测试的 5 个龄期中 , 随龄期增加 , 敏感性逐渐下降 , 其中 1~5 龄幼虫对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的 LC_{50} 分别为 0.1010、0.3561、0.7568、1.4325 和 8.4390 mg/L , 对毒死蜱的 LC_{50} 分别为 27.4632、46.8495、87.5222、129.3217 和 1 356.6770 mg/L , 以 5 龄幼虫相对毒力指数为 1 ,

表 1 甜菜夜蛾不同龄期幼虫对杀虫剂的敏感性

Table 1 Toxicity of insecticides to different instar larvae of *Spodoptera exigua*

处理药剂 Pesticide	龄期 Larval instar	毒力回归 方程 Toxicity regression	LC ₅₀ (95%置信限) (95% confidence) (mg/L)	LC ₅₀ 相对 毒力指数 Relative toxicity index	LC ₉₀ (95%置信限) (95% confidence) (mg/L)	LC ₉₀ 相对 毒力指数 Relative toxicity index
74.6%甲氨基 阿维菌素 苯甲酸盐 74.6% Emamectin benzoate	1	y=2.0828x+7.0736	0.1010 (0.0852-0.1243)	83.55	0.1466 (0.2962-0.6796)	606.03
	2	y=2.7455x+6.2310	0.3561 (0.307-0.4171)	23.70	1.0433 (0.8253-1.4391)	85.16
	3	y=2.1625x+5.2618	0.7568 (0.6150-0.9056)	11.15	2.9620 (2.4180-3.8060)	29.99
	4	y=1.9092x+4.702	1.4325 (1.1530-1.7984)	5.89	6.7196 (4.7945-10.7218)	13.22
	5	y=1.2536x+3.8388	8.4390 (5.9192-14.2185)	1.00	88.8436 (38.5711-512.5410)	1.00
95%毒死蜱 95% Chlorpyrifos	1	y=2.8060x+0.9615	27.4632 (23.5463-32.8615)	49.40	78.6942 (59.9116-118.4233)	27.69
	2	y=1.2364x+2.9344	46.8495 (31.4628-86.9365)	28.96	509.6064 (219.0860-2 125.0570)	4.28
	3	y=2.0469x+1.5205	87.5222 (54.3756-125.5357)	15.50	609.4555 (321.8152-3 294.6481)	3.57
	4	y=1.8493x+1.0948	129.3217 (98.5078-165.7640)	10.49	637.7486 (435.4507-1 179.3999)	3.42
	5	y=6.2297x-14.5143	1 356.6770 (1 252.4454- 1 482.8951)	1.00	2 178.6824 (1 886.8269- 2 844.8566)	1.00

注：相对毒力是以最大 LC₅₀ 值的药剂的相对毒力为 1，其他药剂的相对毒力是用最大的 LC₅₀ 除以该药剂的 LC₅₀ 值计算所得。
The index of relative toxicity = the maximum LC₅₀ (TI=1) / LC₅₀ of tested pesticide.

则 4 龄幼虫对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐、毒死蜱相对毒力指数分别为 5.89 和 10.49；3 龄幼虫对 2 种药剂的相对毒力指数分别为 11.15 和 15.50；2 龄幼虫对 2 种药剂的相对毒力指数分别为 23.70 和 28.96；1 龄幼虫对 2 种药剂的相对毒力指数分别为 83.55 和 49.40。由此表明这 2 种药剂对 3 龄前幼虫比较敏感，对 4~5 龄幼虫敏感性则较低。

2.2 甜菜夜蛾不同龄期幼虫体内不同酶活力分析

从图 1 中可以看出，不同龄期甜菜夜蛾幼虫乙酰胆碱酯酶的比活力以 1 龄幼虫最高，5 龄幼

虫最低，比活力随虫龄的增加而降低。多功能氧化酶 P450 的比活力以 4 龄幼虫最高，其余龄期差异不大（图 2）。谷胱甘肽 S-转移酶的比活力以 3 龄幼虫最高，4 龄幼虫最低（图 3）。羧酸酯酶的比活力以 3 龄幼虫最高，1 龄幼虫最低（图 4）。从各龄期对药剂的敏感性与酶比活力的相关性来看，不同龄期幼虫对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和毒死蜱的敏感性与乙酰胆碱酯酶比活力呈正相关，与谷胱甘肽 S-转移酶、多功能氧化酶 P450 和羧酸酯酶的比活力相关性不大（表 2）。

表 2 甜菜夜蛾不同龄期对药剂的敏感性与不同酶比活力的相关性

Table 2 The relationship between toxicity and the specific activity in different instar larvae of *Spodoptera exigua*

药剂 Pesticide	酶 Enzyme	回归方程 Regression	相关系数 <i>r</i>
各龄期对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的 LC ₅₀ The LC ₅₀ to emamectin benzoate from 1st to 5th instar	多功能氧化酶 Mixed function oxidase	$y=0.1157x+5.6806$	0.2069
	羧酸酯酶 Esterase	$y=0.0006x+0.0139$	0.2265
	谷胱甘肽 S-转移酶 Glutathione-S-transferase	$y=-1.6589x+61.907$	0.7532
	乙酰胆碱酯酶 Acetylcholinesterase	$y=-0.0007x+0.0826$	-0.9311
各龄期对毒死蜱的 LC ₅₀ The LC ₅₀ to chlorpyrifos from 1st to 5th instar	多功能氧化酶 Mixed function oxidase	$y=0.0005x+5.7658$	0.1587
	羧酸酯酶 Esterase	$y=0.0006x+0.0142$	0.2054
	谷胱甘肽 S-转移酶 Glutathione-S-transferase	$y=-0.01x+61.53$	0.7445
	乙酰胆碱酯酶 Acetylcholinesterase	$y=-0.0005x+0.0808$	-0.9078

表 3 甜菜夜蛾不同龄期抗药性与不同酶单头活力的相关性

Table 3 The relationship between toxicity and the enzyme activity per individual in different instar larvae of *Spodoptera exigua*

药剂 Pesticide	酶 Enzyme	回归方程 Regression	相关系数 <i>r</i>
各龄期对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的 LC ₅₀ The LC ₅₀ to emamectin benzoate from 1st to 5th instar	多功能氧化酶 Mixed function oxidase	$y=2.8667x+0.0834$	0.9967
	羧酸酯酶 Esterase	$y=10.694x+9.6339$	0.9580
	谷胱甘肽 S-转移酶 Glutathione-S-transferase	$y=20326x+31808$	0.9218
	乙酰胆碱酯酶 Acetylcholinesterase	$y=25.793x+39.963$	0.9220
各龄期对毒死蜱的 LC ₅₀ The LC ₅₀ to chlorpyrifos from 1st to 5th instar	多功能氧化酶 Mixed function oxidase	$y=0.0368x-0.6998$	0.9976
	羧酸酯酶 Esterase	$y=0.0639x+12.279$	0.9376
	谷胱甘肽 S-转移酶 Glutathione-S-transferase	$y=120.03x+37314$	0.8914
	乙酰胆碱酯酶 Acetylcholinesterase	$y=0.1522x+46.985$	0.8910

注：多功能氧化酶单头活力与药剂敏感性的相关性分析选用 1~4 龄数据。

The mixed function oxidase activity of 1st to 4th is analysed.

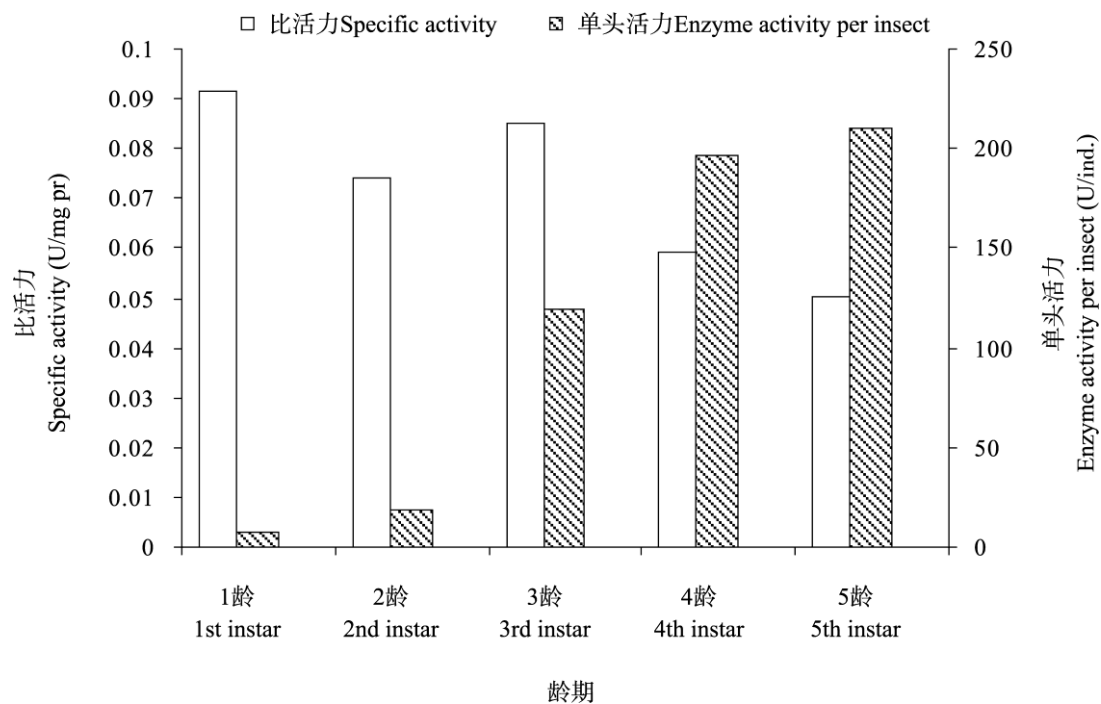


图 1 不同龄期甜菜夜蛾幼虫乙酰胆碱酯酶活力

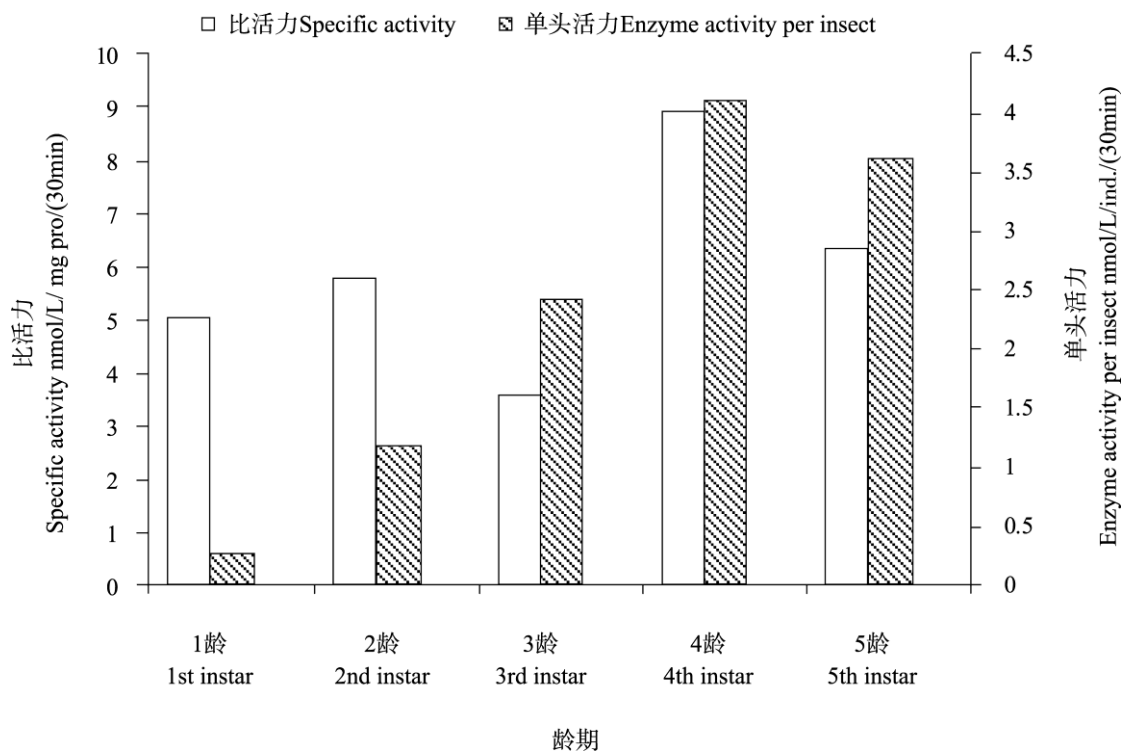
Fig. 1 Acetylcholinesterase activity of different instars larvae of *Spodoptera exigua*

图 2 不同龄期甜菜夜蛾幼虫多功能氧化酶 P450 活力

Fig. 2 Mixed function oxidase activity of different instars larvae of *Spodoptera exigua*

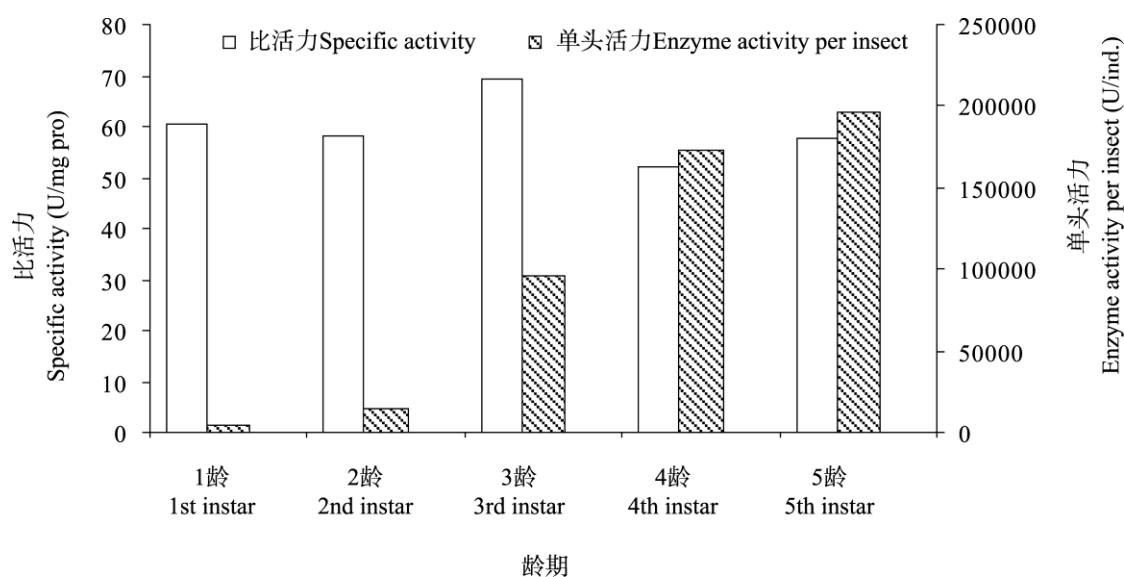


图 3 不同龄期甜菜夜蛾幼虫谷胱甘肽 S-转移酶活力

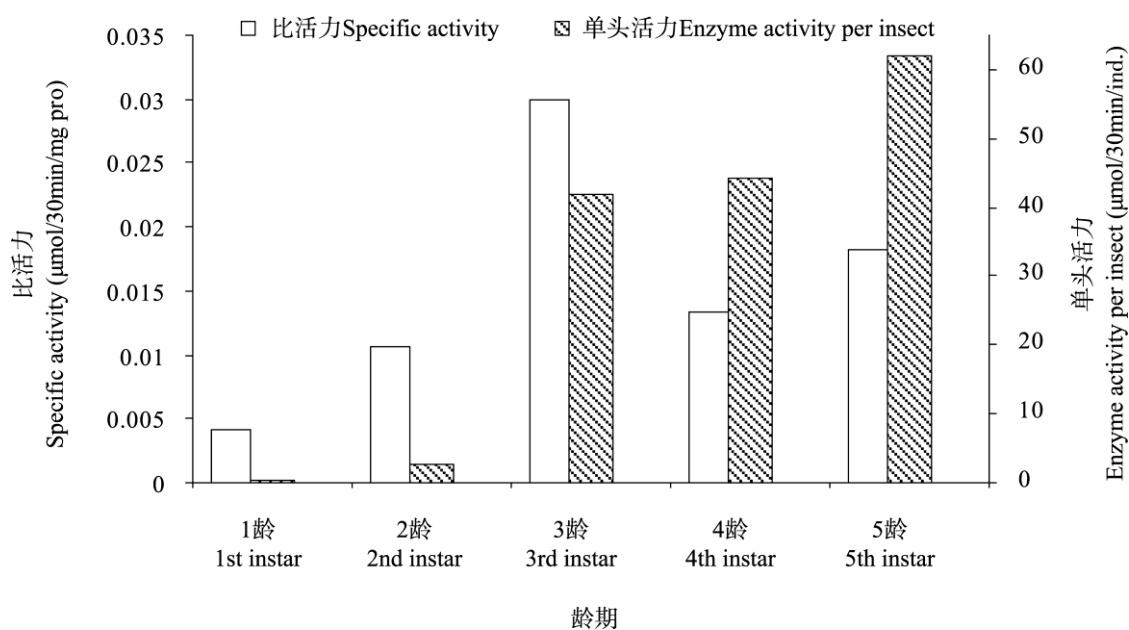
Fig. 3 Glutathione-S-transferase activity of different instars larvae of *Spodoptera exigua*

图 4 不同龄期甜菜夜蛾幼虫羧酸酯酶活力

Fig. 4 Esterase activity of different instars larvae of *Spodoptera exigua*

以每头幼虫表示酶活力时,羧酸酯酶、谷胱甘肽 S-转移酶、乙酰胆碱酯酶活力随龄期的增加而逐渐增加,其中 3 龄幼虫的酶活力增加显著(图 1,3,4)。多功能氧化酶 P450 的活力在 1~4 龄幼虫发育阶段随虫龄的增加而逐渐增强,5 龄

幼虫的酶活力有所降低(图 2)。不同龄期幼虫对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和毒死蜱的敏感性与上述 4 种酶单头活力呈负相关(表 3)。

3 讨论

本研究结果表明甜菜夜蛾幼虫对药剂的敏感性随龄期增加而逐渐降低,单头幼虫的羧酸酯酶、多功能氧化酶、谷胱甘肽 S-转移酶和乙酰胆碱酯酶活力随虫龄的增加而提高,与龄期间对药剂的敏感性呈负相关。就所测定的 4 种酶的比活力而言,除乙酰胆碱酯酶的比活力与各龄期对药剂的敏感性呈正相关外,其他 3 种酶的相关性不大,这可能是由于单头个体内蛋白含量随虫龄递增的幅度远大于单头酶活力的增加幅度所致。

5 龄单头幼虫的多功能氧化酶 P450 活力较 4 龄幼虫有所降低,这可能是由于多功能氧化酶活性与外源化合物摄入量有关所导致。由于昆虫对多功能氧化酶具有严格的能量保守性,只有在昆虫需要时才合成并维持一定的水平,如在取食阶段才有活性,这种情况在鳞翅目幼虫中更为明显。Krieger 等(1971)发现亚热带粘虫 *Prodenia eridania* 在化蛹前停止取食几小时后,其中肠的多功能氧化酶活性突然消失,在幼虫蜕皮期间也没有发现多功能氧化酶活性。本实验中甜菜夜蛾 5 龄幼虫是老熟幼虫,即将化蛹,取食量降低,外源化合物摄入量相应减少,体内的多功能氧化酶 P450 活力也随之降低,这与本实验的结果相一致。

生物测定结果表明甜菜夜蛾幼虫随虫龄增加对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和毒死蜱的敏感性均显著降低,这可能与表皮穿透率随虫龄增大而逐渐降低有关。由于表皮穿透率的降低能够减少杀虫剂的吸收量,并延缓杀虫剂到达靶标部位的时间,使得昆虫具有更多的时间降解。刘永杰和沈晋良(2003)用 ^{14}C 标记氯氟氰菊酯测定甜菜夜蛾幼虫表皮穿透率结果表明,处理后 8 h,抗性品系 5 龄幼虫的表皮穿透率仅为敏感品系

幼虫的 55.5%,证实表皮穿透率的降低是产生抗性的一个重要机理,但单纯表皮穿透率降低一般不能引起高水平的抗性,当它与其他抗性机制,如解毒代谢因子等结合起来时,就可能表现出较高水平的抗性,在昆虫抗性中对其他抗性因子起强化作用(Delorme *et al.*, 1988; 刘永杰和沈晋良, 2003)。另外,脂肪体等惰性部位贮存杀虫剂的能力增强也是抗药性增强的一个重要原因(葛君等, 2011)。根据本文研究结果,在田间防治中,应选择对杀虫剂敏感性较强的低龄幼虫为最佳防治时期。

参考文献 (References)

- Aldosari S, Watson T, Sivasupramaniam S, Osman AA, 1996. Susceptibility of field populations of beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to cyfluthrin, methomyl, and profenofos, and selection for resistance to cyfluthrin. *J. Econ. Entomol.*, 89(6): 1358–1363.
- Bradford MM, 1976. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. *Anal. Biochem.*, 72(7): 248–254.
- Brewer MJ, Trumble JT, 1994. Beet armyworm resistance to fenvalerate and methomyl: resistance variation and insecticide synergism. *J. Agric. Entomol.*, 11(4): 291–300.
- 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* HUB (Noctuidea: Lepidoptera). *Pestic. Biochem. Phys.*, 32(3): 240–246.
- Feng HQ, Wu KM, Cheng DF, Guo YY, 2003. Radar observations of the autumn migration of the beet armyworm *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) and other moths in northern China. *Bull. Entomol. Res.*, 93(2): 115–124.
- Krieger RI, Feeny PP, Wilkinson CF, 1971. Detoxication enzymes in the guts of caterpillars: an evolutionary answer to plant defenses? *Science*, 172(983): 579.
- Laecke KV, Smagghe G, Degheele D, 1995. Detoxifying enzymes in greenhouse and laboratory strain of beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.*, 88(4): 777–781.
- Moulton JK, Pepper DA, Dennehy TJ, 2000. Beet armyworm (*Spodoptera exigua*) resistance to spinosad. *Pest*

- Manag. Sci.*, 56(10): 842–848.
- Ruberson JR, Herzog GA, Lambert WR, Lewis WJ, 1994. Management of the beet armyworm (Lepidoptera:Noctuidae) in cotton:role of natural enemies. *Fla. Entomol.*, 77(4): 440–453.
- 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: 27–34.
- van Asperen K, 1962. A study of housefly esterases by means of a sensitive colorimetric method. *J. Insect Physiol.*, 8(4): 401–414.
- Yu S, Nguyen S, 1992. Detection and biochemical characterization of insecticide resistance in the diamondback moth. *Pest. Biochem. Physiol.*, 44(1): 74–81.
- 冯小红, 2009. 甜菜夜蛾发生规律及综合防治技术. 西北园艺:蔬菜, (5): 5–7. [FENG XX, 2009. Occurrence regularity and integrated pest management of beet armyworm, *Spodoptera exigua*. *Northwest Horticulture:Vegetable*, (5): 5-7.]
- 葛君, 李兵, 沈卫德, 2011. 昆虫脂肪体与抗药性的关系研究现状与分析. 江苏农业科学, (6): 183–185. [GE J, LI B, SHEN WD, 2011. Relationship between the research status of insect fat body and drug resistance and analysis. *Jiangsu Agricultural Sciences*, (6): 183-185.]
- 何玉仙, 杨秀娟, 1999. 甜菜夜蛾的抗药性研究及其治理. 世界农业, (6): 41–43. [HE YX, YANG XJ, 1999. Resistance research and its governance of beet armyworm, *World Agriculture*, (6): 41–43.]
- 兰亦全, 赵士熙, 2005. 甜菜夜蛾抗药性监测及机理. 福建农林大学学报:自然科学版, 33(1): 26–29. [LAN YQ, ZHAO SX, 2005. Monitoring of insecticide resistance and its mechanism of *Spodoptera exigua* Hübner in Fuzhou, Fujian Province, China. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 33(1): 26-29.]
- 刘永杰, 沈晋良, 2002. 甜菜夜蛾发生与抗药性研究现状. 棉花学报, 14(5): 305–310. [LIU YJ, SHEN JL, 2002. Occurrence and resistance status of the beet armyworm, *Spodoptera exigua* Hübner. *Cotton Science*, 14(5): 305-310.]
- 刘永杰, 沈晋良, 2003. 甜菜夜蛾对氯氟氰菊酯抗性的表皮穿透机理. 昆虫学报, 46(3): 288–291. [LIU YJ, SHEN JL, 2003. Cuticular penetration mechanism of resistance to lambda-cyhalothrin in *Spodoptera exigua* Hübner. *Acta Entomologica Sinica*, 46(3): 288-291.]
- 宋国春, 1998. 山东省甜菜夜蛾暴发原因初探. 华东昆虫学报, 7(2): 123–124. [SONG GC, 1998. A preliminary analysis on the violent occurring reason of *Laphygma exigua* Hübner in Shandong Province. *Entomological Journal of East China*, 7(2): 123-124.]
- 苏宏华, 宋彬, 李丽, 陆永威, 杨益众, 2012. 甜菜夜蛾的抗性及其抗性机理研究进展. 应用昆虫学报, 49(6): 1659–1663. [SU HH, SONG B, LI L, LU YW, YANG YZ, 2012. Resistance of *Spodoptera exigua* to insecticides and mechanisms of resistance. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 49(6): 1659-1663.]
- 苏建亚, 1998. 甜菜夜蛾的迁飞及在我国的发生. 昆虫知识, 35(1): 55–57. [SU JY, 1998. Migration and occurrence of *Spodoptera exigua* in China. *Entomological Knowledge*, 35(1): 55-57.]
- 唐启义, 冯明光, 2007. DPS 数据处理系统. 北京: 科学出版社. 188–195. [TNAG QY, FENG MG, 2007. Data processing system. Beijing: Science Press. 188-195.]
- 王斌, 2010. 2009 年甜菜夜蛾在安徽宿松暴发实况及防治措施. 中国棉花, (4): 28. [WANG B, 2010. An outbreak of live and prevention measures of beet armyworm in 2009 in anhui SuSong. *China Cotton*, (4): 28.]
- 王少丽, 朱国仁, 张友军, 董钧锋, 张树发, 2010. 北方 6 个不同地区甜菜夜蛾发生为害研究初报. 长江蔬菜, (18): 76–78. [WANG SL, ZHU GR, ZHANG YJ, DONG JF, ZHANG SF, 2010. Report on the occurrence regularity of beet armyworm, *Spodoptera exigua* in six different areas in North China. *Journal of Changjiang Vegetables*, (18): 76-78.]
- 吴世昌, 顾言真, 沈忠良, 1995. 甜菜夜蛾的抗药性监测及防治. 植物保护学报, 22(1): 95–96. [WU SC, GU YZ, SHEN ZL, 1995. Monitoring of insecticide resistance and chemical control in beet army moth. *Acta Phytopylacica Sinica*, 22(1): 95-96.]
- 朱国仁, 古希树, 王少丽, 张友军, 胡霞, 徐维红, 2010. 天津地区大葱甜菜夜蛾发生规律和综合治理. 长江蔬菜, (18): 96–100. [ZHU GR, GU SX, WANG SL, ZHANG YJ, HU X, XU WH, 2010. Occurrence and integrated pest management of beet armyworm, *Spodoptera exigua* in green Chinese onion in Tianjin. *Journal of Changjiang Vegetables*, (18): 96-100.]