

上海地区甜菜夜蛾田间种群对三种杀虫剂的 抗药性和抗性基因突变检测*

段瑞冠^{1,2**} 梅国红³ 陈义娟² 张浩² 王金彦² 蒋杰贤²
季香云^{2***} 尤春梅^{2***}

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306; 2. 上海市农业科学院生态环境保护研究所, 上海 201403;
3. 上海市金山区农业技术推广服务中心, 上海 201599)

摘要 【目的】明确上海地区甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 对常用杀虫剂的敏感性, 为科学防控该虫提供科学依据。【方法】采用饲料药膜法, 测定上海郊区(奉贤区、金山区及嘉定区)甜菜夜蛾田间种群对溴氰虫酰胺、甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和乙基多杀菌素共3种杀虫剂的敏感性; 运用PCR技术检测该虫田间种群鱼尼丁受体RyR、乙酰胆碱酯酶受体nAChR α 6和细胞色素P450酶CYP9A186的抗性基因突变位点的突变频率。【结果】金山区甜菜夜蛾种群对溴氰虫酰胺与甲氨基阿维菌素苯甲酸盐均呈现出高等抗性水平, 而奉贤与嘉定区种群则表现为中等抗性水平; 3个种群对乙基多杀菌素均保持较高敏感性。甜菜夜蛾鱼尼丁受体SeRyR基因I4743M位点的抗性等位基因频率介于92.0%-100.0%之间, 未发现G4900E突变; CYP9A186基因F116V位点的抗性等位基因频率为75.0%-96.0%, 而乙酰胆碱酯酶受体nAChR α 6基因G275E位点的抗性等位基因频率则处于14.0%-26.0%之间。【结论】上海地区甜菜夜蛾对溴氰虫酰胺和甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的敏感性较低, 对乙基多杀菌素的敏感性较高。采用药剂轮换或选用无交互抗性药剂是区域性防控甜菜夜蛾的重要措施。

关键词 甜菜夜蛾; 抗药性检测; 基因突变

Monitoring insecticide resistance and detecting resistant gene mutations in *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) populations in Shanghai

DUAN Rui-Guan^{1,2**} MEI Guo-Hong³ CHEN Yi-Juan² ZHANG Hao²
WANG Jin-Yan² JIANG Jie-Xian² JI Xiang-Yun^{2***} YOU Chun-Mei^{2***}

(1. College of Life Science and Fishery, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Eco-environmental Protection Research Institute, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201403, China;
3. Jinshan Agro-Technology Extension Center, Shanghai 201599, China)

Abstract [Aim] To clarify the susceptibility of *Spodoptera exigua* in Shanghai to commonly used insecticides and provide a scientific basis for its control. [Methods] The diet-overlay method was used to determine the susceptibility of wild populations of *S. exigua* in suburban Shanghai (Fengxian, Jinshan, and Jiading districts) to three insecticides (cyantraniliprole, emamectin benzoate, and spinetoram). PCR technology was used to detect the mutation frequencies of resistance-related gene loci in these populations, including the ryanodine receptor (RyR), the nicotinic acetylcholine receptor (nAChR α 6), and the cytochrome P450 enzyme (CYP9A186). [Results] The Jinshan population had a high-level of resistance to both cyantraniliprole and emamectin benzoate, whereas the Fengxian and Jiading populations had moderate resistance to these two

*资助项目 Supported projects: 上海市科技创新行动计划启明星项目扬帆专项(23YF1439300); 上海市农业科学院卓越团队建设(2022-017)

**第一作者 First author, E-mail: duanrg1220@163.com

***共同通讯作者 Co-corresponding authors, E-mail: hwyf2002@163.com; Youchunmei1995@163.com

收稿日期 Received: 2025-11-12; 接受日期 Accepted: 2026-02-03

insecticides. All three populations remained highly susceptible to spinetoram. The frequency of resistant alleles at the I4743M site of the SeRyR gene ranged from 92.0% to 100.0%. The G4900E mutation was not detected. The frequency of resistant alleles at the F116V site of the CYP9A186 gene ranged from 75.0% to 96.0%, whereas that at the G275E site of the nAChR $\alpha 6$ gene ranged from 14.0% to 26.0%. **[Conclusion]** *Spodoptera exigua* populations in Shanghai have moderate to high resistance to cyantraniliprole and emamectin benzoate but remain susceptible to spinetoram. Rotating the use of insecticides, or using non-cross-resistant insecticides, could be crucial for the effective management of *S. exigua* in this region.

Key words *Spodoptera exigua*; resistance monitoring; gene mutation

作为全球性分布的农业害虫，甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 具有广泛的寄主植物适应性，能够危害茄科、葫芦科、豆科以及十字花科等多种经济作物，同时还可侵害烟草、棉花、玉米等重要农作物（罗礼智等，2000）。甜菜夜蛾在我国的危害程度逐年加剧，尤其在夏季高温条件下频繁暴发，严重威胁农业生产和农产品安全（文礼章等，2014）。目前，化学防治仍是控制甜菜夜蛾危害的主要手段。然而，随着农药的大量施用，甜菜夜蛾对多种类型杀虫剂产生了抗药性，且抗药性持续增强，这为该害虫的防治和作物安全生产带来了挑战（林珠凤等，2007；左亚运，2019）。

新型杀虫剂溴氰虫酰胺、甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和乙基多杀菌素已经广泛用于上海地区甜菜夜蛾的防治。作为第二代鱼尼丁受体（Ryanodine receptor, RyR）激动剂，溴氰虫酰胺（Cyantraniliprole）通过特异性作用于昆虫 RyRs，引发钙离子持续释放，进而造成肌肉持续性收缩、麻痹直至死亡（Sparks and Nauen, 2015）。但随着大量广泛使用，甜菜夜蛾已对其产生了不同程度抗药性。2016年，四川地区甜菜夜蛾 PZ16、LS16 及 ZY16 种群对溴氰虫酰胺产生 175.3-287.6 倍的抗性（Wang *et al.*, 2018）。甲氨基阿维菌素苯甲酸盐是阿维菌素衍生物，其作用机制在于激活神经膜上的谷氨酸门控氯离子（GluCl）通道与 γ -氨基丁酸（GABA）门控氯离子通道，导致细胞生理功能紊乱及神经信号传导异常，最终使昆虫出现不可逆性麻痹并停止摄食（Sparks and Nauen, 2015）。研究表明，我国江苏、江西及四川等地的甜菜夜蛾对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐已产生严重抗药性（Che *et al.*, 2013；Wang *et al.*, 2018）。乙基多杀菌素是多

杀霉素的衍生物，其作用靶标为昆虫的烟碱型乙酰胆碱受体（nAChR）和 γ -氨基丁酸（GABA），其作用机制可引发神经系统异常兴奋，进而导致肌肉出现震颤和剧烈收缩，最终使虫体陷入瘫痪状态（Sparks and Nauen, 2015）。2012年上海奉贤地区的甜菜夜蛾种群监测数据显示，其对多杀霉素的抗药性已达 18 倍（Che *et al.*, 2013）。2020-2021 年间，对陕西兴平、上海青浦及浙江杭州的甜菜夜蛾田间种群进行抗性检测，其中青浦与兴平种群对乙基多杀菌素已产生中等水平抗性（王泽宇，2023）。

杀虫剂选择压力下，昆虫通过适者生存机制逐渐形成抗药性。害虫抗药性主要包括靶标位点敏感性下降、解毒代谢酶活性提升、表皮穿透速率减缓以及行为抗性等机制（Liu, 2015；伍一军，2020）。在甜菜夜蛾体内，导致其产生抗药性的最主要机制为靶标抗性和代谢抗性。靶标抗性主要由靶标基因突变引发，这种突变会削弱作用靶点与杀虫剂之间的结合能力或效率，最终导致抗药性产生。已有研究表明，RyRs 的点突变是害虫对双酰胺类杀虫剂产生抗性的主要机制。甜菜夜蛾 RyR 的 I4743M 突变和 G4900E 突变与双酰胺类杀虫剂抗性密切相关（Zuo *et al.*, 2017, 2020）。作为昆虫烟碱型乙酰胆碱受体（nAChR）的重要组成亚基，当甜菜夜蛾、小菜蛾 *Plutella xylostella* 等害虫的 nAChR $\alpha 6$ 的 G275E 位点发生突变时，会导致其对乙基多杀菌素和多杀霉素产生抗药性（Wang *et al.*, 2020；Zuo *et al.*, 2022）。在当前的甜菜夜蛾抗药性研究中，并未定位到导致甲维盐抗性的关键靶标突变，现有证据表明其抗性机制主要与代谢途径相关。在昆虫解毒代谢系统中，含血红素单加氧酶家族成员细胞色素 P450 酶（CYP450s）扮演着关键角色，这些酶能

够通过氧化反应对内源性和外源性化合物进行代谢 (Liu, 2015)。中国田间甜菜夜蛾种群对阿维菌素类杀虫剂的抗药性主要是细胞色素 P450 基因 *CYP9A186* 的 F116V 突变, 该突变通过强化代谢解毒功能, 使害虫对杀虫剂表现出显著增强的抗药性 (Zuo *et al.*, 2021)。

近年来, 上海地区甜菜夜蛾频繁暴发, 加之田间杀虫剂的大量施用, 使得该害虫的抗药性问题日益严峻。由抗药性所导致的防治难度不断增加, 已上升为当前农业生产领域面临的一项重大挑战。抗药性检测对甜菜夜蛾的抗性治理和有效防控具有重要意义。本研究以 2025 年采集自上海嘉定、金山和奉贤 3 个地区的甜菜夜蛾田间种群为对象, 测定了其对溴氰虫酰胺、甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和乙基多杀菌素 3 种常用新型杀

虫剂的抗性水平, 并检测了这些种群中 *SeRyR*、*nAChRa6* 和 *CYP9A186* 基因的点突变频率。研究结果可为上海地区甜菜夜蛾防治药剂的选择提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

甜菜夜蛾实验室敏感种群为上海农业科学院室内长期饲养, 未接触任何杀虫剂。供试的甜菜夜蛾田间种群分别采集于上海市嘉定区、奉贤区和金山区, 详细采样信息见表 1。所有种群在室内使用人工饲料继代饲养 1 代, 饲养环境设定为温度 (27 ± 1) °C、光周期 16L : 8D、相对湿度 $70\% \pm 5\%$ (Jia *et al.*, 2009)。

表 1 上海地区甜菜夜蛾田间种群的采集信息

Table 1 Collection information of field populations of *Spodoptera exigua* in Shanghai

采集地区 Sampled regions	经纬度 Latitude and longitude	采集时间(年-月) Collection date (year-month)	寄主植物 Host plant	样本虫态 Developmental stage of samples
嘉定区 Jiading District	31.38°N, 121.25°E	2025-7	大棚莧菜 Greenhouse amaranth	2-5 龄幼虫 2nd-5th larvae
奉贤区 Fengxian District	30.87°N, 121.56°E	2025-7	露地甘蓝 Open-field cabbage	2-5 龄幼虫 2nd-5th larvae
金山区 Jinshan District	30.84°N, 121.17°E	2025-7	露地玉米 Open-field corn	2-5 龄幼虫 2nd-5th larvae

1.2 供试药剂

99%溴氰虫酰胺原药 (美国富美实公司), 91%甲氨基阿维菌素苯甲酸盐原药 (河北威远生物化工股份有限公司), 92%乙基多杀菌素原药 (美国陶氏益农公司)。

1.3 生物测定方法

生物测定采用饲料药膜法 (Zuo *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2025)。分别以二甲基亚砜 (DMSO) 和丙酮为溶剂, 配制溴氰虫酰胺、甲氨基阿维菌素苯甲酸盐及乙基多杀菌素的原药母液。随后采用含 0.1% TritonX-100 [生工生物工程 (上海) 股份有限公司] 的水溶液将各母液逐级稀释成 5 个浓度梯度。生物测定采用 24 孔板 (单孔面积 2 cm^2), 每孔预先加入 1 mL 液态人工饲料, 待其冷却凝固后, 分别滴加 50 μL 不同浓度的药液,

室温下自然晾干。以 0.1% TritonX-100 水溶液处理作为空白对照。每孔接入 1 头经 4 h 饥饿处理的 3 龄幼虫, 每浓度设置 3 个重复, 每个重复 12 头幼虫。将 24 孔板放置于人工气候箱 (GXZ-280B, 宁波江南仪器厂) 中饲养, 饲养条件设定为温度 (25 ± 1) °C、相对湿度 $70\% \pm 5\%$ 、光周期 16L : 8D。处理 48 h 后检查幼虫死亡情况, 以毛笔轻触虫体、不能正常爬行作为死亡判定标准。

1.4 靶标位点突变检测

单头 3 龄甜菜夜蛾幼虫的总 RNA 采用 RNAiso Puls 试剂盒 (Invitrogen, 美国) 提取, 并用微量分光光度计 (莫纳, 苏州) 测定其纯度与浓度。检测合格的总 RNA 用 PrimeScript TM Reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect real time) 反转录试剂盒 (大连宝生物) 反转录生

成 cDNA。利用 PCR 仪对提取的 DNA 进行扩增,并测定其靶标位点 I4743M、G4900E、F116V 和 G275E 的突变情况。每个种群随机选取 25 头甜菜夜蛾幼虫,以单头幼虫的 cDNA 为模板,采用 2×Phanta Flash Master Mix (Dye Plus) 试剂(诺唯赞,中国)进行 PCR 扩增。反应程序

如下:98 °C 预变性 30 s;98 °C 变性 10 s,55 °C 退火 5 s,72 °C 延伸 10 s,共 35 个循环;最后 72 °C 彻底延伸 1 min。扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测,将条带大小正确的产物送至北京擎科生物公司进行测序验证。所用引物序列见表 2。

表 2 靶标位点突变检测引物序列
Table 2 Primer sequences for detecting target site mutations

引物 Primers	引物序列 (5'-3') Primer sequences (5'-3')	参考文献 References
SeI4743M-F	TGATGATGCATTGGAAGTGGT	Zuo <i>et al.</i> , 2017, 2020
SeI4743M-R	CACGCTTGAAGATGGCTA	
SeG4900E-F	GCGTTACCAAGTATGGAAGGCG	
SeG4900E-R	CGTTATGCGTGACGGACTGAAG	
SeF116V-F	CTCAGAGACTTGGAGCTGGTG	
SeF116V-R	CCAAAATACGTCTGATGGTGCC	
SeG275E-F	GGTGTACAATCCTCTGTCG	Zuo <i>et al.</i> , 2021
SeG275E-R	GCGGCATCTCATGTATATCTG	

1.5 数据分析

生物测定数据采用 POLO Plus 2.0 软件 (LeOra Software Inc., California, USA) 进行统计分析,计算致死中浓度 (LC₅₀) 及其 95% 置信区间、斜率 ± 标准误、卡方值和 *P* 值。抗性倍数 (RR) 为田间种群 LC₅₀ 与敏感种群 LC₅₀ 的比值。依据农业行业标准 NY/T2058-2014, 抗性水平划分如下: RR ≤ 5 为敏感, 5 < RR ≤ 10 为低水平抗性, 10 < RR ≤ 100 为中等水平抗性, RR > 100 为高水平抗性。利用 Chromas 软件分析测序峰图, 判断各基因相关位点是否发生突变。使用 Excel 2019 软件记录每头幼虫的基因型, 并统计各群体的突变频率。靶标基因突变频率按以下公式计算: 突变频率 = [(抗性纯合子数/检测总数) + (抗性杂合子数/检测总数/2)] × 100% (You *et al.*, 2021)。

2 结果与分析

2.1 生物测定结果

3 种常用杀虫剂对上海地区甜菜夜蛾田间种群的毒力测定结果见表 3。结果表明, 与敏感种

群相比, 甜菜夜蛾田间种群对溴氰虫酰胺产生中等到高等水平的抗性。其中金山种群的抗性最高, 抗性倍数达到 228.89 倍; 奉贤和嘉定种群的抗性均处于中等水平, 抗性倍数分别为 89.06 和 44.64 倍。对于甲氨基阿维菌素苯甲酸盐, 金山种群表现出高水平抗性, 抗性倍数为 168.65 倍; 奉贤和嘉定种群的抗性水平较为接近, 分别为 38.60 和 22.29 倍。甜菜夜蛾田间种群对乙基多杀菌素的 LC₅₀ 值在 1.017-1.619 μg/mL 之间, 抗性倍数在 2.97-4.72 倍之间, 均处于敏感水平。

2.2 RyR 基因型和突变频率分析

通过对上海田间种群甜菜夜蛾 RyR 片段进行 PCR 扩增和测序, 发现 3 个种群均存在 I4743M 位点突变, 但未检测到 G4900E 位点突变。突变频率分析显示, 奉贤和金山种群的所有个体在 I4743M 位点表现为抗性纯合突变, 而嘉定种群中发现少数抗性杂合突变, 突变频率为 16.0% (表 4)。

2.3 CYP9A186 和 nAChRa6 基因型和突变频率分析

对上海 3 个甜菜夜蛾田间种群的 CYP9A186

基因 F116V 位点进行检测, 结果显示 F116V 位点既存在抗性杂合突变, 也存在抗性纯合突变。具体而言, 奉贤、金山和嘉定种群的 F116V 抗性杂合突变频率分别为 50.0%、8.0%和 44.0%, 而抗性纯合突变频率分别为 50.0%、92.0%和 56.0% (表 5)。其中, 奉贤和嘉定种群的 F116V 位点突变频率较为接近, 分别为 75.0%和 78.0%; 而金山种群的 F116V 位点抗性基因突变频率高达 96.0% (表 5)。此外, 测定结果表明, 奉贤、金山和嘉定种群的 *nAChRa6* 基因 G275E 位点仅存在抗性杂合突变, 未发现抗性纯合突变, 其抗性杂合突变频率分别为 36.0%、52.0%和 28.0% (表 5)。整体而言, 3 个种群的 G275E 突变频率相对较低, 分别为 18.0%、26.0%和 14.0% (表 5)。

3 结论与讨论

由于甜菜夜蛾对传统化学农药具有较强的抗性, 因此关注甜菜夜蛾对新型杀虫剂是否产生抗性尤为重要。自双酰胺类杀虫剂在中国商品化以来, 已被广泛用于防治我国甜菜夜蛾、小菜蛾等鳞翅目害虫。2013 年以前, 甜菜夜蛾对双酰胺类杀虫剂处于敏感至中等水平抗性 (Che *et al.*, 2013)。2016-2018 年, 研究报道甜菜夜蛾对双酰胺类杀虫剂产生高于 2 000 倍的极高水平抗性 (Huang *et al.*, 2021)。说明甜菜夜蛾对溴氰虫酰胺具有产生极高抗药性的能力, 因此在甜菜夜蛾的防治中关于双酰胺类杀虫剂的使用需要制定更合理的方案。本研究中, 上海奉贤、

表 3 3 种常用杀虫剂对上海甜菜夜蛾田间种群的毒力

Table 3 Toxicity of three insecticides to the field populations of *Spodoptera exigua* in Shanghai

杀虫剂 Insecticide	种群 Population	斜率±标准误 Slope±SE	致死中浓度 (95%置信区间) ($\mu\text{g}/\text{mL}$) LC_{50} (95% confidence interval) ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	卡方值 χ^2	自由度 <i>df</i>	抗性倍数 Resistance ratio
溴氰虫酰胺 Cyantraniliprole	敏感种群 Susceptible strain	2.445±0.307	0.189 (0.153-0.234)	5.340	13	1.00
	奉贤种群 Fengxian population	2.376±0.300	16.834 (13.557-20.913)	9.877	13	89.06
	金山种群 Jinshan population	2.141±0.290	43.263(34.407-55.640)	6.050	13	228.89
	嘉定种群 Jiading population	2.641±0.321	8.437(6.732-10.622)	13.481	13	44.64
乙基多杀菌素 Spinetoram	敏感种群 Susceptible strain	2.166±0.287	0.343 (0.270-0.431)	7.662	13	1.00
	奉贤种群 Fengxian population	2.150±0.285	1.619 (1.265-2.062)	9.523	13	4.72
	金山种群 Jinshan population	1.629±0.232	1.134 (0.819-1.521)	7.718	13	3.30
	嘉定种群 Jiading population	1.974±0.254	1.017 (0.687-1.433)	18.880	13	2.97
甲氨基阿维菌素苯甲酸盐 Emamectin benzoate	敏感种群 Susceptible strain	2.529±0.316	0.035 (0.028-0.043)	10.493	13	1.00
	奉贤种群 Fengxian population	1.445±0.248	1.351 (0.954-1.861)	5.475	13	38.60
	金山种群 Jinshan population	1.644±0.259	5.903 (4.278-7.829)	8.195	13	168.65
	嘉定种群 Jiading population	2.457±0.310	0.780 (0.631-0.963)	8.557	13	22.29

表 4 上海 3 个田间种群甜菜夜蛾 RyR 突变的基因型及抗性基因频率

Table 4 Genotypes and mutation frequencies of RyR of *Spodoptera exigua* from three field populations in Shanghai

种群 Population	试虫数 (头) Number of test insects (ind.)	I4743M 位点基因型 (%)			抗性基因频率 (%) Resistance gene frequency (%)	G4900E 位点基因型 (%)			抗性基因频率 (%) Resistance gene frequency (%)
		Genotypes at I4743M (%)				Genotypes at G4900E (%)			
		SS	RS	RR		SS	RS	RR	
奉贤种群 Fengxian population	25	0	0	100.0	100.0	100.0	0	0	0
金山种群 Jinshan population	25	0	0	100.0	100.0	100.0	0	0	0
嘉定种群 Jiading population	25	0	16.0	84.0	92.0	100.0	0	0	0

SS: 敏感型纯合子 Susceptible homozygote; RS: 抗性杂合子 Resistant heterozygote; RR: 抗性纯合子 Resistant homozygote。表 5 同。The same for Table 5.

表 5 上海 3 个田间种群甜菜夜蛾 CYP9A186 和 nAChRa6 突变的基因型及抗性基因频率

Table 5 Genotypes and mutation frequencies of CYP9A186 and nAChRa6 of *Spodoptera exigua* from three field populations in Shanghai

种群 Population	试虫数 (头) Number of test insects (ind.)	F116V 位点基因型 (%)			抗性基因 频率 (%) Resistance gene frequency (%)	G275E 位点基因型 (%)			抗性基因 频率 (%) Resistance gene Frequency (%)
		Genotypes at F116V (%)				Genotypes at G275E (%)			
		SS	RS	RR		SS	RS	RR	
奉贤种群 Fengxian population	25	0	50.0	50.0	75.0	64.0	36.0	0	18.0
金山种群 Jinshan population	25	0	8.0	92.0	96.0	48.0	52.0	0	26.0
嘉定种群 Jiading population	25	0	44.0	56.0	78.0	72.0	28.0	0	14.0

金山和嘉定 3 个地区甜菜夜蛾对溴氰虫酰胺产生 44.64-228.89 倍抗性。甜菜夜蛾对双酰胺类杀虫剂产生抗性,与其靶标蛋白鱼尼丁受体 SeRyR 发生突变密切相关。通过 CRISPR/Cas9 基因定点突变技术的研究表明,SeRyR 的 I4743M 突变可使甜菜夜蛾对溴氰虫酰胺的抗性提高 25 倍;而 G4900E 突变则能将抗性水平显著提升至 336 倍 (Zuo *et al.*, 2017, 2020)。本研究对上海田间种群 SeRyR 进行突变位点检测,全部测试个体均仅检测到 I4743M 突变,且均未检测到 G4900E 突变,这一结果与此前针对上海、山东地区的研究结果相一致 (Zuo *et al.*, 2020; Huang *et al.*, 2021; Teng *et al.*, 2022)。其中,奉贤与金山种群的 I4743M 位点的抗性基因频率均达到 100%,嘉定种群 I4743M 抗性基因频率为

92%。值得注意的是,奉贤和嘉定种群对溴氰虫酰胺表现为中等水平抗性,说明 SeI4743M 是奉贤和金山种群对溴氰虫酰胺产生抗性的主要机制。相比之下,金山种群对溴氰虫酰胺表现出超过 200 倍的极高水平抗性,这一数值远高于由 SeI4743M 突变所介导的约 25 倍抗性。由此推测 SeRyR 的 I4743M 突变并非导致金山种群产生高抗性的主要因素,该种群中很可能还存在其他尚未明确的抗性机制。Wang 等 (2018) 研究指出,细胞色素 P450 CYP9A21v3 的过量表达可能与甜菜夜蛾对双酰胺类杀虫剂的抗性有关。尽管已有研究报道鳞翅目昆虫对双酰胺类杀虫剂存在代谢抗性,但其相关机理是否在田间甜菜夜蛾种群中起主要作用,目前仍不明确。本研究中尚未发现 G4900E 突变,可能源于两个主要因素:首先,

双酰胺类杀虫剂在田间应用的药物选择压力尚未达到诱发 G4900E 位点突变的临界值; 其次, 该位点的突变积累可能需要在更长的进化时间尺度上才能显现, 因此需要通过持续性的动态监测来揭示其突变进化规律。整体而言, 双酰胺类杀虫剂在上海地区的抗性风险已全面显现, 敏感个体基本缺失。因此, 在防治实践中, 应立即停止或严格限制此类药剂的使用, 以阻止抗性进一步加剧并避免其他抗性机制的发展。对于金山等已出现极端抗性的地区, 亟需转向作用机制完全不同的替代药剂。

甲氨基阿维菌素苯甲酸盐对鳞翅目害虫具有良好的杀虫活性。但是, 自 2009 年, 陆续有研究报道我国甜菜夜蛾对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐产生抗性 (司升云等, 2009; Che *et al.*, 2013)。本研究结果表明, 上海地区甜菜夜蛾田间种群对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐已产生中高等水平的抗药性。根据中国农药信息网 (www.icama.org.cn) 登记信息, 近年来在甜菜夜蛾防治药剂中, 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐及其复配剂占据主导地位, 这一现象间接证实了近年来甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的广泛使用, 进而加速了甜菜夜蛾抗性的形成。针对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的抗性程度, 3 个地区种群表现出显著差异: 金山种群呈高水平抗性, 而奉贤与嘉定种群为中等水平抗性。这种差异可能由于金山玉米田块甜菜夜蛾危害严重, 施药频次较高, 选择压力更大, 从而促使抗性快速升高。相比之下, 奉贤与嘉定蔬菜地可能采取了积极有效的抗性管理措施, 使抗性水平维持在相对较低水平。甜菜夜蛾对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的抗性与位于 17 号染色体的 *CYP9A186* 基因相关。*CYP9A186* 上的 F116V 突变 (即底物识别区域 SRS1 的苯丙氨酸被缬氨酸取代) 导致底物结合口袋构象发生改变, 使原本无法被野生型代谢的阿维菌素得以高效氧化失活, 其突变型代谢速率较野生型提升 8 倍以上, 抗性倍数超过 100 倍 (Zuo *et al.*, 2021)。本研究发现, 金山种群对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐表现出高水平抗性, 其 F116V 抗性基因频率达到 96.0%。相比之下, 奉贤与嘉定种群对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐处于中等水平抗

性, 且抗性倍数相近, 其 F116V 位点抗性基因频率分别为 75.0% 和 78.0%。由此推测, 甜菜夜蛾对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐抗性水平与 *CYP9A186* 基因的 F116V 突变等位基因频率之间存在显著关联性。在金山种群中, 仅检测到 2 个个体携带 *CYP9A186* 的 F116V 杂合突变, 其余个体均为纯合抗性基因型, 这证实该种群对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐已建立高效抗性机制。对于金山等高抗性地区, 必须大幅减少或暂停使用甲维盐及其复配剂; 对于奉贤、嘉定等中等抗性地区, 则应严格控制使用频次, 并坚决避免其与双酰胺类药剂轮用或混用, 以防产生叠加选择压力。同时, 持续监测 *CYP9A186*-F116V 的突变频率以预测该药剂抗性发展趋势。

本研究中, 甜菜夜蛾对乙基多杀菌素仍保持敏感。研究表明, *nAChRa6* 与甜菜夜蛾对多杀菌素类杀虫剂的抗性相关, 通过 CRISPR/Cas9 将 G275E 突变敲入甜菜夜蛾 *nAChRa6* 后, 甜菜夜蛾对多杀菌素和乙基多杀菌素的抗性分别提升 230 和 792 倍 (Zuo *et al.*, 2022)。遗传分析表明, G275E 突变以不完全隐性方式在甜菜夜蛾中传递, 仅纯合突变体能在高浓度多杀菌素环境中维持生存 (Zuo *et al.*, 2022)。本研究发现, 上海地区甜菜夜蛾 *nAChRa6* 的 G275E 突变频率普遍偏低, 且尚未出现纯合突变, 这解释了为何上海田间种群尚未对乙基多杀菌素产生抗性。鉴于乙基多杀菌素是目前为数不多的高效敏感药剂, 应将其确立为上海地区甜菜夜蛾防控的核心药剂加以保护和优先使用。但同时, 必须建立基于 G275E 突变频率监测的早期预警系统。在施用策略上, 务必遵循“轮换用药”原则, 避免连续单一使用, 将其与作用机制不同的其他敏感药剂科学搭配, 以最大限度延缓其抗性发展。

本研究为上海地区甜菜夜蛾的化学防控提出了精准策略: 应调整现有药剂使用格局, 将乙基多杀菌素作为首选用药之一并通过科学轮换予以保护; 对已产生中高等抗性的双酰胺类杀虫剂和甲氨基阿维菌素苯甲酸盐实施区域性使用限制或淘汰, 尤其避免二者交替或混用; 根据区域抗性差异推行针对性的用药指南, 实施差异化管理; 同时将 *SeRyR*-I4743M/G4900E、*CYP9A186*-

F116V 及 *nAChR α 6-G275E* 等关键突变位点监测纳入常态化体系, 充分掌握抗药性产生的分子基础, 制定针对性的抗性治理措施, 从而科学延缓抗性发展, 实现可持续治理。

参考文献 (References)

- Che WN, Shi T, Wu YD, Yang YH, 2013. Insecticide resistance status of field populations of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) from China. *Journal of Economic Entomology*, 106(4): 1855–1862.
- Huang JM, Zhao YX, Sun H, Ni H, Liu C, Wang X, Gao CF, Wu SF, 2021. Monitoring and mechanisms of insecticide resistance in *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae), with special reference to diamides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 174: 104831.
- Jia BT, Liu YJ, Zhu YC, Liu XG, Gao CF, Shen JL, 2009. Inheritance, fitness cost and mechanism of resistance to tebufenozide in *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest Management Science*, 65(9): 996–1002.
- Lin ZF, Luo LZ, Pan XL, 2007. Insecticide abuse is an important cause of beet armyworm outbreak. *Chinese Bulletin of Entomology*, 44(3): 327–332. [林殊凤, 罗礼智, 潘贤丽, 2007. 杀虫剂使用失当是甜菜夜蛾大发生的重要原因. *昆虫知识*, 44(3): 327–332.]
- Liu N, 2015. Insecticide resistance in mosquitoes: Impact, mechanisms, and research directions. *Annual Review of Entomology*, 60: 537–559.
- Luo LZ, Cao YZ, Jiang XF, 2000. Characteristics and trends in the occurrence and damage caused by the *Spodoptera exigua*. *Journal of Plant Protection*, 26(3): 37–39. [罗礼智, 曹雅忠, 江幸福, 2000. 甜菜夜蛾发生危害特点及其趋势分析. *植物保护*, 26(3): 37–39.]
- Si SY, Zhou LL, Wang Y, Liu XM, 2009. Monitoring of insecticide resistance of *Spodoptera exigua* field populations in Hubei Province. *Plant Protection*, 35(1): 114–117. [司升云, 周利琳, 望勇, 刘小明, 2009. 湖北省甜菜夜蛾田间种群抗药性监测. *植物保护*, 35(1): 114–117.]
- Sparks TC, Nauen R, 2015. IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 121: 122–128.
- Teng HY, Zuo YY, Yuan J, Fabrick JA, Wu YD, Yang YH, 2022. High frequency of ryanodine receptor and cytochrome P450 CYP9A186 mutations in insecticide-resistant field populations of *Spodoptera exigua* from China. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 186: 105153.
- Wang XG, Chen YQ, Gong CW, Yao XG, Jiang CX, Yang QF, 2018. Molecular identification of four novel cytochrome P450 genes related to the development of resistance of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) to chlorantraniliprole. *Pest Management Science*, 74(8): 1938–1952.
- Wang XL, Ma YM, Wang FL, Yang YH, Wu SW, Wu YD, 2020. Disruption of nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 6$ mediated by CRISPR/Cas9 confers resistance to spinosyns in *Plutella xylostella*. *Pest Management Science*, 76(5): 1618–1625.
- Wang ZY, 2023. Detection of field resistance gene frequency of *Spodoptera exigua* and the study on the function of $\alpha 1$ and $\alpha 7$ subunits of acetylcholine receptor. Master dissertation. Yangling: Northwest Agriculture and Forestry University. [王泽宇, 2023. 甜菜夜蛾田间抗性基因频率检测及其乙酰胆碱受体 $\alpha 1$ 、 $\alpha 7$ 亚基功能研究. 硕士学位论文. 杨凌: 西北农林科技大学.]
- Wen LZ, Wen YC, Zhu FD, Wen YF, Yang ZX, 2014. Large-scale geographical variation and cause analysis on the frequency of intermittent outbreak of the beet armyworm, *Spodoptera exigua*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 51(1): 232–247. [文礼章, 文意纯, 诸凤丹, 文雅峰, 杨中侠, 2014. 我国甜菜夜蛾间歇性暴发频度的大尺度地理差异及其成因分析. *应用昆虫学报*, 51(1): 232–247.]
- Wu YJ, 2020. Advances in insecticide toxicology in China in the last two decades II: Resistance of insects to insecticides. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 57(5): 995–1008. [伍一军, 2020. 近二十年我国杀虫剂毒理学研究进展(II)——昆虫对杀虫剂的抗性研究. *应用昆虫学报*, 57(5): 995–1008.]
- You CM, Shan C, Ma Z, Zhang Y, Zhao R, Gao XW, 2021. The overexpression and variant of CYP6G4 associated with propoxur resistance in the housefly, *Musca domestica* L. *Pest Management Science*, 77(10): 4321–4330.
- Zhang RM, Zhao D, Zhang M, Zhang JY, Li HZ, Li Y, Pei YK, Hu ZN, Zuo YY, 2025. Fitness costs and resistance mechanisms to indoxacarb in a near-isogenic strain of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 214: 106626.
- Zuo YY, 2019. Resistance mechanisms to emamectin benzoate and diamide insecticides in *Spodoptera exigua* (Hübner). Doctor dissertation. Nanjing: Nanjing Agricultural University. [左亚运, 2019. 甜菜夜蛾对甲维盐和双酰胺类杀虫剂抗性机理的研究. 博士学位论文. 南京: 南京农业大学.]
- Zuo YY, Wang H, Xu Y, Huang JL, Wu SW, Wu YD, Yang YH, 2017. CRISPR/Cas9 mediated G4946E substitution in the ryanodine receptor of *Spodoptera exigua* confers high levels of resistance to diamide insecticides. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 89: 79–85.
- Zuo YY, Ma HH, Lu WJ, Wang XL, Wu SW, Nauen R, Wu YD, Yang YH, 2020. Identification of the ryanodine receptor mutation I4743M and its contribution to diamide insecticide resistance in *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Insect Science*, 27(4): 791–800.
- Zuo YY, Shi Y, Zhang F, Guan F, Zhang JP, Feyereisen R, Fabrick JA, Yang YH, Wu YD, 2021. Genome mapping coupled with CRISPR gene editing reveals a P450 gene confers avermectin resistance in the beet armyworm. *PLoS Genetics*, 17(7): e1009628.
- Zuo YY, Xue YX, Wang ZY, Ren X, Aioub AAA, Wu YD, Yang YH, Hu ZN, 2022. Knockin of the G275E mutation of the nicotinic acetylcholine receptor (*nAChR*) $\alpha 6$ confers high levels of resistance to spinosyns in *Spodoptera exigua*. *Insect Science*, 29(2): 478–486.