

· 研究论文 ·

# 棉铃虫抗辛硫磷品系的代谢抗性机理

郑央萍<sup>1,2</sup>, 杨亦桦<sup>1</sup>, 吴益东<sup>\*1</sup>

(1. 南京农业大学 植物保护学院 昆虫学系 农业部作物病虫监测与防控重点开放实验室, 南京 210095,  
2 环境保护部 南京环境科学研究所, 南京 210042)

**摘要:**通过重复回交和药剂选择,将棉铃虫 Phoxim-R 抗性品系对辛硫磷的抗性导入到 BK77 敏感品系中,得到棉铃虫 BK77-R 抗性品系, BK77-R 和 BK77 为一对近等基因系。BK77-R 抗性品系对辛硫磷的抗性达 155 倍,对溴氰菊酯有高水平交互抗性(抗性倍数 248 倍),对灭多威和硫丹有中等水平交互抗性,分别为 31 倍和 11 倍,对丙溴磷有低水平交互抗性(4 倍)。在 BK77-R 抗性品系中,脱叶磷(DEF, 酯酶抑制剂)对辛硫磷、灭多威和硫丹具有增效作用,增效倍数分别为 7 倍、2 倍和 1.9 倍;增效醚(PBO, 氧化酶抑制剂)对溴氰菊酯、灭多威和辛硫磷的增效倍数分别为 21 倍、2.2 倍和 1.7 倍。与 BK77 敏感品系相比, BK77-R 抗性品系的酯酶和多功能氧化酶活性均显著提高,而谷胱甘肽 S 转移酶活性没有明显变化。上述结果表明,酯酶解毒代谢在棉铃虫 BK77-R 品系对辛硫磷的抗性中起重要作用,酯酶和多功能氧化酶解毒作用增强是该抗性品系对不同类药剂产生交互抗性的重要原因。

**关键词:**棉铃虫;辛硫磷;代谢抗性;酯酶;多功能氧化酶

中图分类号: S481.4 文献标志码: A 文章编号: 1008-7303(2008)04-0410-07

## Metabolic Resistance Mechanisms in a Phoxim-resistant Strain of *Helicoverpa armigera*

ZHENG Yang-ping<sup>1,2</sup>, YANG Yi-hua<sup>1</sup>, WU Yi-dong<sup>\*1</sup>

(1. Department of Entomology, College of Plant Protection & Key Laboratory of Monitoring and Management of Crop Diseases and Pest Insects, Ministry of Agriculture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;  
2 Nanjing Institute of Environmental Sciences, Ministry of Environmental Protection, Nanjing 210042, China)

**Abstracts:** Phoxim resistance in a resistant Phoxim-R strain of *Helicoverpa armigera* was introgressed into a susceptible BK77 strain through repeated backcrossing and selection with phoxim. The introgressed strain (BK77-R) and the BK77 strain were a pair of near-isogenic strains. The BK77-R strain not only developed 155-fold resistance to phoxim compared with the BK77, but it also obtained high level cross resistance to deltamethrin (resistance factor, RF 248-fold), middle level cross resistance to methomyl (RF 31-fold) and endosulfan (RF 11-fold), and low level cross resistance to profenofos (RF 4-fold). S, S, S-tributylphosphorotrithioate (DEF, esterase inhibitor) had significant synergism to phoxim (synergism ratio, SR 7-fold), methomyl (SR 2-fold) and endosulfan (SR 1.9-fold). Piperonyl butoxide (PBO, oxidase inhibitor) had synergistic effect against deltamethrin (SR 21-fold), methomyl (SR 2.2-fold) and phoxim (SR 1.7-fold). The oxidase and esterase activity of the BK77-R

收稿日期: 2008-08-05; 修回日期: 2008-09-25.

作者简介: 郑央萍 (1979-), 女, 硕士, 助理研究员, 研究方向为昆虫毒理学, E-mail: yangpingzh@sina.com; \* 通讯作者 (Author for correspondence): 吴益东 (1967-), 男, 博士, 教授, 从事昆虫分子毒理学研究. 联系电话: 025-84396062; E-mail: wyd@njau.edu.cn  
基金项目: 商品共同基金 (CFC/ICAC-14).

strain was significantly higher than that of the susceptible BK77 strain, and the glutathione S-transferase activity was not significantly altered. The results demonstrated that esterase-mediated metabolism plays an important role in phoxin resistance in the BK77-R strain, and enhanced detoxification mediated by both esterases and oxidases is an important factor conferring broad cross-resistance to different classes of insecticides.

**Key words:** *Helicoverpa armigera*; phoxin; metabolic resistance; esterase; mixed function oxidase

棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner) 是棉花上最主要的害虫之一, 其发生与为害已严重影响了棉花生产。尽管转 Bt 基因抗虫棉 (简称 Bt 棉) 在我国已得到大面积推广应用, 但 Bt 棉在生长后期毒素表达量下降, 仍然需要使用化学杀虫剂防治棉铃虫。辛硫磷在我国是防治棉铃虫的重要品种, 因其高效、低毒、击倒力强且对拟除虫菊酯具有增效作用, 被广泛应用于与拟除虫菊酯的复配剂中。

杨亦桦等<sup>[1]</sup>对采自河南偃师的田间棉铃虫种群进行室内选育, 得到对辛硫磷具有 63 倍抗性的品系, 该抗性品系对灭多威和久效磷具有明显的交互抗性, 并根据酯酶抑制剂脱叶磷 (DEF) 对辛硫磷的显著增效作用推测, 酯酶解毒代谢是该抗性品系对辛硫磷产生抗性的主要原因。用辛硫磷对上述抗性品系进一步筛选, 获得了 Phoxin-R 抗性品系<sup>[2]</sup>。与 BK77 敏感品系相比, Phoxin-R 抗性品系对辛硫磷具有 129 倍抗性, 抗性品系正反交后代对辛硫磷的抗性分别为 22.6 和 25.3 倍, 表明棉铃虫对辛硫磷的抗性为常染色体遗传, 主效基因为不完全显性; 对杂交 F1 代和敏感亲本回交后代的辛硫磷 LD-P 线分析的结果表明, 棉铃虫 Phoxin-R 品系对辛硫磷的抗性为一个主效基因控制。Tang 等<sup>[3]</sup>研究了一个采自安徽的棉铃虫品系对辛硫磷的抗性机理, 结果表明多功能氧化酶 (MFO) 和谷胱甘肽 S 转移酶 (GST) 活性增高与辛硫磷抗性具有相关性; 但该抗性品系与对照品系的抗性仅相差 10 倍左右, 该研究只得到了阶段性的结果。

抗性近等基因系 (Near isogenic resistant strain) 除抗性目的基因及其紧密连锁区域外, 其他遗传背景与敏感品系相同, 在分离鉴定抗性机制、区分多重抗性和交互抗性时非常有用, 同时也是昆虫抗性遗传分析、适合度等研究的理想材料<sup>[4]</sup>。在昆虫对化学杀虫剂抗性方面, 国内外很多研究均通过重复回交 (Repeated backcrossing) 构建了抗性近等基因系<sup>[5-11]</sup>。

本研究通过重复回交和药剂筛选, 将棉铃虫抗辛硫磷的相关基因转入敏感品系的遗传背景中, 构建了棉铃虫对辛硫磷的抗性近等基因系, 测定了其对不同类型药剂的交互抗性谱, 并且通过增效剂的活体增效试验、解毒代谢酶活性分析, 明确了棉铃虫对辛硫磷抗性品系的抗性及其交互抗性的机理。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试棉铃虫品系

棉铃虫敏感品系 (BK77) 由法国农业研究与开发国际合作中心 (CIRAD) 提供, 该品系 1977 年采自非洲, 在室内培育多年, 毒力测定结果表明, 其对各种化学农药敏感。棉铃虫 Phoxin-R 抗性品系来源于杨亦桦等<sup>[2]</sup>筛选的辛硫磷抗性品系, 在进行本实验时与 BK77 品系相比对辛硫磷的抗性倍数为 81 倍。棉铃虫的饲养见沈晋良和吴益东<sup>[12]</sup>的方法。

### 1.2 供试药剂及生化试剂

辛硫磷 (phoxin) 原油 (80.5%, 江苏南通染化厂); 丙溴磷 (profenophos) 原油 (81%, 山东青岛农药厂); 溴氰菊酯 (deltamethrin) 原粉 (98%, 英国 Rothamsted Research 赠送); 灭多威 (methomyl) 原粉 (90%, 美国杜邦公司); 硫丹 (endosulfan) 原粉 (95%, 美国杜邦公司); 增效醚 (piperonyl butoxide, PBO) 原油 (92%, 英国 Koch Light 实验有限公司); 脱叶磷 (S, S, S-tributyl phosphorotriphosphate, DEF) 原油 (98%, 购自 Chem Service 公司)。对硝基苯甲醚 (p-NA) (北京八九九二部队试剂厂), 7-乙氧基香豆素 (ECOD) 和 7-甲氧基香豆素 (MCOD) (Sigma 公司), 还原型辅酶 II (NADPH) (Roche 公司进口分装), 乙酸萘酯 (NA) (上海化学试剂厂), 固蓝 RR 盐 (南京生工进口分装), 1-氯-2, 4-二硝基苯 (CDNB), 1, 2-二氯-4-硝基苯 (DCNB) (Fluka 公司产品), 还原型谷胱甘肽 (GSH) (进口分装)。乙二胺四乙酸 (EDTA), 二硫苏糖醇 (Dithiothreitol, DTT), 苯基硫脲 (Phenylthiourea, PTU), 苯甲基磺酰氟 (PMSF) 均

为分析纯。

### 1.3 棉铃虫抗辛硫磷近等基因系的选育

以棉铃虫抗性品系 Phoxim-R 为父本与 BK77 品系杂交,获得杂交 F<sub>1</sub>代,用辛硫磷 1.2 μg/头 (>BK77品系 LD<sub>99</sub>, 0.35 μg/头)点滴处理 F<sub>1</sub>代 3龄幼虫,杀死全部敏感个体和一部分杂合个体,保证存活下来的都是杂合子(RS)。再以存活的抗性杂合个体为父本与 BK77品系回交,得到回交第一代(BC<sub>1</sub>),再用辛硫磷 0.8 μg/头点滴处理;以存活的 BC<sub>1</sub>代作为父本与 BK77品系回交得回交第二代(BC<sub>2</sub>),再用同样的剂量点滴处理,如此反复回交 4代后,将 BC<sub>4</sub>后代进行杂交得到 BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub>,用辛硫磷 1.2 μg/头(杀死 70% RS 个体,以扩大种群数量)点滴处理 BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub>代;存活的抗性个体再次进行杂交得到 BC<sub>4</sub>F<sub>2</sub>,用辛硫磷 2.4 μg/头(杀死 95%以上的 RS 个体)点滴处理 BC<sub>4</sub>F<sub>2</sub>代;BC<sub>4</sub>F<sub>3</sub>代和 BC<sub>4</sub>F<sub>4</sub>代因种群较小,没有用药剂筛选;用辛硫磷 2.4 μg/头点滴处理 BC<sub>4</sub>F<sub>5</sub>代,获得抗辛硫磷的棉铃虫 BK77-R 品系(见图 1)。BK77和 BK77-R 品系为一对近等基因系。

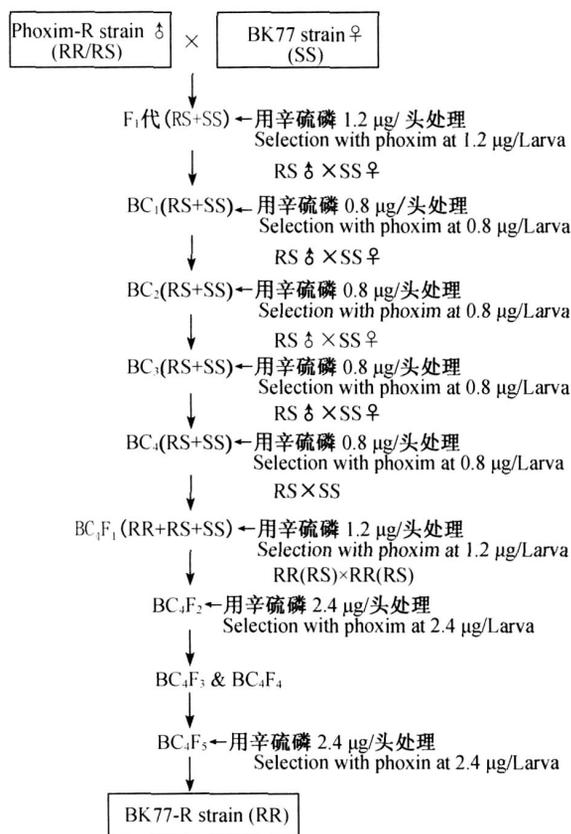


图 1 棉铃虫抗辛硫磷品系 BK77-R 的选育过程

Fig 1 Schematic program for selection of the phoxim-resistant BK77-R strain of *H. armigera*

### 1.4 毒力测定方法

采用点滴法,详见杨亦桦等<sup>[1]</sup>。

### 1.5 酯酶活性测定

取棉铃虫 3龄中期幼虫(9~11 mg),按 500 μL/头加 0.02 mol/L、pH 7.5 的磷酸缓冲液匀浆,匀浆液在 10 000 r/min、4 条件下离心 10 min,上清液用于酯酶活性测定。在酶标板加样孔中依次加入 200 μL 底物与显色剂的混合液(含 10 mmol/L 的乙酸萘酯和 1 mmol/L 的固蓝 RR 盐),50 μL 0.02 mol/L、pH 7.5 的磷酸缓冲液,最后加入 20 μL 酶液。迅速置于酶标仪,在波长 450 nm 下,每隔 30 s 记录一次光密度值,共记录 20 次,酶促反应阶段温度为 27。采用考马斯亮蓝法测定蛋白含量<sup>[13]</sup>。

### 1.6 多功能氧化酶活性的测定

将棉铃虫 6龄 2日龄幼虫(300 mg ±50 mg)于冰上解剖,取出中肠,去除内含物,用冰冷的 0.1 mol/L、pH 7.6 的磷酸缓冲液清洗干净。5 头中肠为一个处理,重复 3 次。加入 1 200 μL 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)匀浆,匀浆液在 12 000 r/min、4 下离心 40 min,取出上清液再次离心 20 min,取上清液测定多功能氧化酶(MFO)和谷胱甘肽 S-转移酶(GST)活性。采用考马斯亮蓝法测定蛋白含量。

1.6.1 O 脱甲基活性(以 p-NA 为底物) 在 96 孔酶标板中,每孔依次加入 100 μL、2 mmol 的 p-NA(先溶于少量乙醇,再取少量溶于预热的 0.1 mol/L、pH 7.8 的磷酸缓冲液)、90 μL 上清液,在 30 下温育 5 min,然后加入 10 μL 9.6 mmol/L 的 NADPH。用酶标仪在 405 nm 波长下每隔 25 s 记录一次光密度值,共记录 26 次,酶促反应阶段温度为 30。

1.6.2 O 脱甲基活性(以甲氧基香豆素为底物)

在 96 孔酶标板中,每孔依次加入 80 μL 0.5 mmol/L 的甲氧基香豆素(取少量溶于预热的 0.1 mol/L、pH 7.8 的磷酸缓冲液)、50 μL 上清液,在 30 下温育 5 min,然后加入 10 μL 9.6 mmol/L 的 NADPH。用荧光酶标仪在激发波长 380 nm、发射波长 460 nm 下,每隔 30 s 记录一次光密度值,共记录 31 次,酶促反应阶段温度为 30。

1.6.3 O 脱乙基活性(以乙氧基香豆素为底物)

在 96 孔酶标板中,每孔依次加入 80 μL、

0.5 mmol/L 的乙氧基香豆素 (取少量溶于预热的 0.1 mol/L、pH 7.8 的磷酸缓冲液)、50  $\mu$ L 上清液,在 30  $^{\circ}$ C 下温育 5 min,然后加入 10  $\mu$ L 9.6 mmol/L 的 NADPH。用荧光酶标仪在激发波长 380 nm、发射波长 460 nm 下,每隔 30 s 记录一次光密度值,共记录 31 次,酶促反应阶段温度为 30  $^{\circ}$ C。

### 1.7 谷胱甘肽 S 转移酶活性测定

1.7.1 以 CDNB 为底物 在 96 孔酶标板中,每孔加入 90  $\mu$ L 0.1 mol/L、pH 7.6 的磷酸缓冲液,10  $\mu$ L 酶液 (将中肠酶液稀释 10 倍),100  $\mu$ L 1.2 mmol/L 的 CDNB 和 100  $\mu$ L 6 mmol/L 的 GSH。用酶标仪在 340 nm 波长下,每隔 10 s 记录一次光密度值,共记录 60 次,酶促反应阶段温度为 30  $^{\circ}$ C。

1.7.2 以 DCNB 为底物 在 96 孔酶标板中,每孔加入 35  $\mu$ L 0.1 mol/L、pH 7.6 的磷酸缓冲液,15  $\mu$ L 中肠酶液,100  $\mu$ L 1.2 mmol/L 的 DCNB 和 100  $\mu$ L 6 mmol/L 的 GSH。用酶标仪在 340 nm 波长下,每隔 10 s 记录一次光密度值,共记录 60 次,酶促反应阶段温度为 30  $^{\circ}$ C。

## 2 结果与分析

### 2.1 棉铃虫抗辛硫磷近等基因系的选育

以敏感品系 BK77 作为轮回亲本,通过多次回交将 Phoxin-R 品系抗辛硫磷的相关基因渐渗到敏感品系的遗传背景中。在近等基因系选育过程中,棉铃虫对辛硫磷的抗性测定结果见表 1。BK77-R 品系对辛硫磷的毒力回归线斜率大于 2,说明其异质性较小。由此获得了一对棉铃虫抗辛硫磷的近等基因系, BK77-R 品系对辛硫磷的抗性高达 155 倍。

表 1 棉铃虫 BK77-R 抗辛硫磷品系选育过程中各世代对辛硫磷的抗性

Table 1 Resistance to phoxin in the selection period of the phoxin-resistant BK77-R strain of *H. armigera*

品系 种群 Strain/Population	LD <sub>50</sub> (95% CL) /( $\mu$ g/头)	斜率 Slope	抗性倍数* RF*
BK77	0.04 (0.03~0.05)	2.47	1.0
Phoxin-R	3.22 (2.63~3.92)	2.32	81
F <sub>1</sub>	1.05 (0.81~1.36)	1.76	26
BC <sub>4</sub> F <sub>2</sub>	1.33 (1.11~1.67)	1.71	33
BC <sub>4</sub> F <sub>4</sub>	1.61 (1.33~1.95)	2.55	40
BK77-R	6.18 (4.87~7.93)	2.04	155

\* 抗性倍数 RF (resistance factor) = LD<sub>50</sub>/LD<sub>50</sub> (BK77)

### 2.2 棉铃虫 BK77-R 抗性品系的交互抗性谱及增效剂增效作用

与 BK77 敏感品系相比较,棉铃虫 BK77-R 抗辛硫磷近等基因系对溴氰菊酯有高水平的交互抗性,对灭多威和硫丹有中等水平的交互抗性,而对丙溴磷具有低水平的交互抗性 (表 2)。结果显示,棉铃虫对辛硫磷产生高水平抗性后,对不同类型的多种杀虫剂产生了不同程度的交互抗性,尤其对菊酯类杀虫剂的交互抗性特别严重。

分别测定了 PBO 和 DEF 对 4 种不同类型药剂 (辛硫磷、溴氰菊酯、灭多威和硫丹) 在 BK77-R 抗性品系中的增效作用,结果见表 2。酯酶抑制剂 DEF 对辛硫磷、灭多威和硫丹具有增效作用,增效倍数分别为 7 倍、2 倍和 1.9 倍,氧化酶抑制剂 PBO 对溴氰菊酯、灭多威和辛硫磷的增效倍数分别为 21 倍、2.2 倍和 1.7 倍。测定结果表明,酯酶解毒功能的提高可能在棉铃虫对辛硫磷的抗性中起主要作用;同时,酯酶和 MFO 解毒作用增强可能是棉铃虫对拟除虫菊酯、氨基甲酸酯和有机氯类杀虫剂产生交互抗性的原因。

### 2.3 棉铃虫 BK77-R 和 BK77 品系解毒酶活性的比较

棉铃虫 BK77 敏感品系和 BK77-R 抗性品系幼虫解毒代谢酶活性的比较结果见表 3。用 3 种不同底物分别测定 MFO 的 O 脱甲基和 O 脱乙基活力,结果表明, BK77-R 抗性品系 6 龄幼虫中肠氧化酶活性是 BK77 敏感品系的 2.3~2.9 倍;两个品系 6 龄幼虫中肠的 GST 的活性相差不大 (1.2~1.4 倍); BK77-R 抗性品系 3 龄幼虫体内酯酶活性是 BK77 敏感品系的 2.8 倍。解毒酶活性的结果与增效剂生物测定结果是一致的,进一步证实了棉铃虫 BK77-R 抗性品系的酯酶和 MFO 解毒作用增强是棉铃虫对辛硫磷、拟除虫菊酯、氨基甲酸酯和有机氯类杀虫剂产生抗性的主要原因。

## 3 讨论

抗性近等基因系是通过抗性品系和敏感品系的杂交、多代回交和药剂筛选获得的。杂交和回交过程中双亲遗传因子进行交换重组,多代回交去掉了来自抗性亲本的绝大多数遗传背景,然后通过药剂选择,使敏感亲本遗传背景下获得抗性目的基因的个体得到保留和纯化。本研究通过该策略构建了一对棉铃虫抗辛硫磷近等基因系

表 2 棉铃虫辛硫磷抗性品系 (BK77-R)的交互抗性谱和增效剂的增效作用

Table 2 Cross-resistance spectrum and synergism by synergists in the phoxin-resistant BK77-R strain of *H. armigera*

杀虫剂/增效剂 Insecticide/Synergist	BK77品系/S strain		BK77-R品系/S strain		抗性倍数 <sup>*</sup> RF <sup>*</sup>	增效倍数 <sup>**</sup> SR <sup>**</sup>
	LD <sub>50</sub> (95% CL) /( $\mu$ g/L arva)	斜率 Slope	LD <sub>50</sub> (95% CL) /( $\mu$ g/L arva)	斜率 Slope		
辛硫磷 phoxin	0.04 (0.03 ~ 0.05)	2.47	6.18 (4.87 ~ 7.93)	2.04	155	
phoxin + DEF			0.88 (0.68 ~ 1.32)	2.50	22	7
phoxin + PBO			3.63 (2.38 ~ 5.22)	1.38	91	1.7
溴氰菊酯 deltamethrin	0.005 (0.004 ~ 0.008)	1.70	1.24 (0.82 ~ 2.50)	1.23	248	
deltamethrin + DEF			0.81 (0.53 ~ 1.43)	1.14	162	1.5
deltamethrin + PBO			0.06 (0.04 ~ 0.09)	1.96	12	21
灭多威 methomyl	0.04 (0.03 ~ 0.06)	1.79	1.25 (0.89 ~ 2.08)	1.57	31	
methomyl + DEF			0.62 (0.37 ~ 1.04)	1.86	16	2
methomyl + PBO			0.56 (0.38 ~ 0.81)	1.46	14	2.2
硫丹 endosulfan	0.11 (0.08 ~ 0.13)	2.67	1.20 (0.94 ~ 1.53)	2.36	11	
endosulfan + DEF			0.63 (0.50 ~ 0.80)	2.97	6	1.9
endosulfan + PBO			1.13 (0.74 ~ 1.71)	2.39	10	1
丙溴磷 profenofos	0.13 (0.11 ~ 0.17)	2.75	0.47 (0.33 ~ 0.79)	1.48	4	

<sup>\*</sup>抗性倍数 RF (resistance factor) = LD<sub>50</sub> (BK77-R) / LD<sub>50</sub> (BK77). <sup>\*\*</sup>增效倍数 SR (synergism ratio) = LD<sub>50</sub> of BK77-R (without synergism) / LD<sub>50</sub> of BK77-R (with synergist).

表 3 棉铃虫 BK77和 BK77-R品系的解毒代谢酶活性<sup>\*</sup>Table 3 Detoxification enzyme activity in the BK77 and BK77-R strains of *H. armigera*<sup>\*</sup>

底物 Substrate	品系 S strain	酶活性 Enzyme activity			比值 Ratio
		MFO / $\mu$ mol $\cdot$ min <sup>-1</sup> $\cdot$ (mg pro) <sup>-1</sup>	GST / $\mu$ mol $\cdot$ min <sup>-1</sup> $\cdot$ (mg pro) <sup>-1</sup>	酯酶 Esterase / $\mu$ mol $\cdot$ min <sup>-1</sup> $\cdot$ (mg pro) <sup>-1</sup>	
对硝基苯甲醚 p-NA	BK77	548 $\pm$ 136			1.0
	BK77-R	1 244 $\pm$ 320			2.3
7-乙氧基香豆素 7-ethoxycoumarin	BK77	2.29 $\pm$ 0.61			1.0
	BK77-R	6.55 $\pm$ 1.97			2.9
7-甲氧基香豆素 7-methoxycoumarin	BK77	2.18 $\pm$ 0.65			1.0
	BK77-R	5.05 $\pm$ 1.61			2.3
DCNB	BK77		29.9 $\pm$ 6.5		1.0
	BK77-R		36.0 $\pm$ 9.1		1.2
CDNB	BK77		1 179 $\pm$ 137		1.0
	BK77-R		1 661 $\pm$ 126		1.4
-NA	BK77			88.2 $\pm$ 10.4	1.0
	BK77-R			248 $\pm$ 24.2	2.8

<sup>\*</sup>多功能氧化酶 (MFO)和谷胱甘肽 S转移酶 (GST)活性均用 6龄幼虫中肠测定,酯酶活性用整头 3龄幼虫测定。

<sup>\*</sup>M idgut of sixth-instar larvae was used for oxidase and GST assays and whole body of third-instar larvae was used for esterase assay.

(BK77和 BK77-R), 抗性品系对辛硫磷产生了 155倍的高水平抗性。该对近等基因系消除了品系间的遗传背景差异,为本文的研究提供了理想的实验材料。

了解昆虫对不同杀虫剂的交互抗性是科学用

药和农药复配的基础。笔者发现棉铃虫对辛硫磷产生高水平抗性后,对菊酯类药剂的抗性显著上升,对灭多威和硫丹也有一定程度的交互抗性,对丙溴磷具有低水平的交互抗性。此结果表明,辛硫磷能够对其他类型的杀虫剂产生交互抗性。类

似的现象在相关研究也有报道:刘润玺等<sup>[14]</sup>报道用对硫磷筛选的棉铃虫种群对对硫磷的抗性提高 26.4 倍,对氰戊菊酯的抗性也提高了 21.8 倍;杨恩会等<sup>[15]</sup>研究表明,用氰戊菊酯和辛硫磷混剂(有效成分质量比 1:10)筛选的棉铃虫品系,与单用氰戊菊酯筛选的品系相比较,其对氰戊菊酯的抗性发展速度要快得多,且对多种拟除虫菊酯类杀虫剂产生了严重的交互抗性。

菊酯类药剂和硫丹与辛硫磷具有不同的作用靶标,它们之间存在交互抗性一定是因为解毒代谢增强而产生的。从结构上来看,辛硫磷和溴氰菊酯同时具有 MFO 和酯酶的代谢位点,因此 PBO 和 DEF 对这两种药剂表现增效。但是, MFO 还参与了对辛硫磷的氧化增毒作用,棉铃虫体内 MFO 对辛硫磷的氧化增毒和解毒代谢可能处于一种平衡状态<sup>[16]</sup>。因此,对辛硫磷的增效以 DEF 为主,以 PBO 为辅;对溴氰菊酯的增效以 PBO 为主,以 DEF 为辅。氨基甲酸酯类杀虫剂灭多威同时具有 MFO 和酯酶的作用位点,因此 PBO 和 DEF 对其均表现为一定水平的增效;而有机氯类杀虫剂硫丹既不具备 MFO 的攻击位点,又不具备酯酶的水解位点,DEF 的增效可能是由于酯酶的结合作用(sequester)产生的。

MFO 解毒作用增强是棉铃虫对拟除虫菊酯产生抗性的主要机理<sup>[17~22]</sup>。单用拟除虫菊酯筛选的棉铃虫抗性品系的 MFO 活性会明显提高(酯酶活性变化不大),对菊酯类药剂具有严重交互抗性,而对有机磷没有明显交互抗性。本研究中采用辛硫磷单独筛选棉铃虫,可以导致 MFO 和酯酶活性同时增加,尽管 MFO 代谢活性有所提高,但其对辛硫磷的抗性贡献并不大,却对交互抗性的贡献很大,与酯酶共同导致了棉铃虫 BK77-R 品系对拟除虫菊酯、氨基甲酸酯和有机氯类杀虫剂的广谱交互抗性。采用氰戊菊酯+辛硫磷混剂<sup>[15]</sup>或氟氯氰菊酯+辛硫磷混剂<sup>[23]</sup>筛选棉铃虫时,也会导致 MFO 和酯酶活性同时增加,并对菊酯类药剂和其他类型药剂具有明显交互抗性。因此,使用菊酯+辛硫磷混剂将加速棉铃虫产生多抗性,不能延缓抗药性。

在棉铃虫 BK77-R 抗性品系对辛硫磷的抗性中,除了代谢抗性这个主要机理之外,是否存在靶标抗性机理(乙酰胆碱酯酶不敏感性)还有待进一步的研究工作加以验证。

## 参考文献:

- [1] YANG Yi-hua (杨亦桦), CHEN Song (陈松), WU Yi-dong (吴益东), et al 棉铃虫对辛硫磷抗性的选育、交互抗性及增效剂增效作用研究 [J]. Cotton Science (棉花学报), 2002, 14(1): 13-16.
- [2] YANG Yi-hua (杨亦桦), ZHENG Yang-ping (郑央萍), LIN Yan (林雁), et al 棉铃虫对辛硫磷的抗性遗传方式 [J]. J Nanjing Agric Univ (南京农业大学学报), 30(2): 65-67.
- [3] TANG F, YUE Y D, HUA R M. The Relationships Among MFO, Glutathion S-transferases, and Phoxim Resistance in *Helicoverpa armigera* [J]. Pest Biochem Physiol, 2000, 68: 96-101.
- [4] ROUSH R T, DALY J C. The Role of Population Genetics in Resistance Research and Management [C]// Roush R T, Tabashnik B E. Pesticide Resistance in Arthropods. Chapman and Hall, London, 1990: 97-152.
- [5] SHANAHAN G J. Genetics of Dieldrin Resistance in *Lucilia (wied)* [J]. Genetica Agraria, 1961, 14: 307-321.
- [6] ROUSH R T, WOLFENBARGER D A. Inheritance of Resistance to Methomyl in the Tobacco Budworm (*Lepidoptera: Noctuidae*) [J]. J Econ Entomol, 1985, 78: 1020-1022.
- [7] WHITE N D, BELL R. Inheritance of Malathion Resistance in a Strain of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and Effects of Resistance Genotypes on Fecundity and Larval Survival in Malathion-treated Wheat [J]. J Econ Entomol, 1988, 81: 381-386.
- [8] ARGENTINE J A, CLARK J M, FERRO D N. Genetics and Synergism of Azinphosmethyl and Pmethrin in the Colorado Potato Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) [J]. J Econ Entomol, 1989, 82: 698-705.
- [9] LEE S, CLARK J M. Tissue Distribution and Biochemical Characterization of Carboxylesterase Associated with Pmethrin Resistance in a Near Isogenic Strain of Colorado Potato Beetle [J]. Pest Biochem Physiol, 1996, 56: 208-219.
- [10] CHENG Luo-gen (程罗根), LI Feng-liang (李凤良), WANG Yin-chang (王荫长), et al 抗杀虫双和杀螟丹小菜蛾近等基因系的培育 [J]. J Nanjing Agric Univ (南京农业大学学报), 1999, 22(2): 28-31.
- [11] MU Wei (慕卫), WU Kong-ming (吴孔明), ZHANG Wen-jie (张文吉), et al 甜菜夜蛾抗高效氯氟氰菊酯近等基因系的构建 [J]. Acta Entomologica Sinica (昆虫学报), 2004, 47(5): 591-594.
- [12] SHEN Jin-liang (沈晋良), WU Yi-dong (吴益东). Insecticide Resistance and its Management of *Helicoverpa armigera* (棉铃虫抗药性及其治理) [M]. Beijing (北京): China Agriculture Press (农业出版社), 1995: 91-95.
- [13] BRADFORD W W. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-dye Binding [J]. Anal Biochem, 1976, 72: 248-254.
- [14] LIU Run-xi (刘润玺), CHENG Gui-lin (程桂林), JIANG Yan-chao (姜延超), et al 棉铃虫对农药的交互抗性研究 [J]. Pesticides (农药), 1996, 35(5): 10-15.
- [15] YANG En-hui (杨恩会), LIN Yan (林雁), WU Yi-dong (吴

- 益东). 棉铃虫对氰戊菊酯 辛硫磷混剂的抗性演化及解毒酶活性变化 [J]. *Acta Entomologica Sinica* (昆虫学报), 2006, 49(2): 247-253.
- [16] LIN Yan (林雁). Joint Action and Synergistic Mechanisms of Insecticide Mixtures (杀虫剂混配 对棉铃虫的联合作用和增效机理) [D]. Nanjing (南京): Nanjing Agricultural University (南京农业大学), 2002.
- [17] WU Yi-dong (吴益东), SHEN Jin-liang (沈晋良), YOU Zi-ping (尤子平). 棉铃虫对氰戊菊酯抗性和敏感品系的选育 [J]. *Acta Entomologica Sinica* (昆虫学报), 1994, 37(2): 129-136.
- [18] WU Yi-dong (吴益东), SHEN Jin-liang (沈晋良), YOU Zi-ping (尤子平). 棉铃虫对氰戊菊酯抗性机理研究 [J]. *J Nanjing Agric Univ* (南京农业大学学报), 1995, 18(2): 63-68.
- [19] YANG Y H, WU Y D, CHEN S, et al. The Involvement of Mitochondrial Oxidases in Pyrethroid Resistance in *Helicoverpa amigera* from Asia [J]. *Insect Biochem Mol Biol*, 2004, 34: 763-773.
- [20] YANG E H, YANG Y H, WU S W, et al. Relative Contribution of Detoxifying Enzymes to Pyrethroid Resistance in a Resistant Strain of *Helicoverpa amigera* [J]. *J Appl Entomol*, 2005, 129: 521-525.
- [21] YANG Y H, CHEN S, WU S W, et al. Constitutive Overexpression of Multiple Cytochrome P450 Genes Associated with Pyrethroid Resistance in *Helicoverpa amigera* [J]. *J Econ Entomol*, 2006, 99: 1784-1789.
- [22] YANG Y H, YUE L N, CHEN S, et al. Functional Expression of *Helicoverpa amigera* CYP9A12 and CYP9A14 in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Pest Biochem Physiol*, 2008, 92: 101-105.
- [23] YANG Yi-hua (杨亦桦), CHEN Song (陈松), WU Yi-dong (吴益东). Cross Resistance Patterns and Biochemical Mechanisms in a Chinese *Helicoverpa amigera* Strain Selected with an Organophosphate/Pyrethroid Mixture [J]. *Cotton Science* (棉花学报), 2008, 20(4): 249-255 (in English).

(Ed. JIN S H)

## 欢迎订阅 《农药学学报》 ——中国精品科技期刊

《农药学学报》是由中国农业大学主办、国内外公开发行的农药学综合性学术期刊,“中国精品科技期刊”、“中国科技核心期刊”、“中国科学引文数据库”源刊。主要面向农药和植保专业的科研工作者及大专院校师生、农药管理人员及农药化工仪器仪表、化学试剂等生产厂家。旨在及时、全面报道农药学各分支学科有创造性的最新研究成果与综合评述,是了解我国农药学研究动态的理想园地。

本刊现设 4 个栏目: 专论与综述、研究论文、研究简报及相关信息。所发表的论文几乎涵盖了农药学所有分支领域,主要包括合成与构效关系、分析与残留、环境与毒理、作用机制研究、制剂加工及应用等。本刊现已被美国《化学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》、英国《动物学记录》以及汤姆森科技信息集团(Thomson Scientific)等 10 家国外重要检索机构收录,同时是《中国科学引文数据库》、《中国学术期刊文摘》(中、英文版)等多家国内重要数据库的来源期刊。曾荣获教育部科技司“全国高校优秀期刊评比·优秀编辑出版质量奖”、“中国科技论文在线优秀期刊二等奖”及“第四届全国优秀农业期刊评选·学术类期刊二等奖”。

《农药学学报》现为 A4 开本,全国统一邮政发行(邮发代号 2-949),2009 年国内定价调整为 25 元/期,全年 4 期共 100 元。订户可通过当地邮局订阅,也可直接汇款到本刊编辑部订阅(1999~2008 年已出版期刊,本编辑部还有少量库存,15 元/期,欢迎购买)。

## 欢迎投稿! 欢迎咨询洽谈广告业务!

汇款请寄:北京海淀区圆明园西路 2 号中国农业大学西区理学院《农药学学报》编辑部

邮 编: 100193

联系人: 唐 静

电 话: 010-62733003

E-mail: nyxuebao@263.net