

# 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐亚致死剂量对不同敏感性棉铃虫解毒酶活性的影响

董利霞, 谭晓伟, 芮昌辉\*

(农业部农药化学与应用重点开放实验室, 中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100193)

**摘要** 室内用甲维盐对棉铃虫选育 20 代, 获得敏感性降低 2.32 倍的汰选种群(RP<sub>20</sub>)。分别采用甲维盐对同源对照种群(CP)和 RP<sub>20</sub> 的亚致死浓度 LC<sub>25</sub> 对应处理两种群的 3 龄初幼虫 48 h, 测定试虫在 3~6 龄不同龄期内羧酸酯酶(CarE)和谷胱甘肽 S-转移酶(GST)活性, 分析酶活性变化动态。结果表明, (1) 两种群(CP 和 RP<sub>20</sub>)均随龄期的增长, CarE 比活力显著增大, 而 GST 比活力先降低后趋于稳定。(2) CK 处理下, RP<sub>20</sub> 与 CP 相比, CarE 比活力在 3~6 龄均增大且 4~6 龄差异显著, 而 GST 比活力变化较小, 仅 3 龄和 6 龄显著增大。(3) 与 CK 处理相比, 甲维盐 LC<sub>25</sub> 处理, 两种群各龄期 CarE 比活力均增大, 且 CP 试虫在 4 龄、6 龄 GST 比活力显著增大, 在 3 龄、5 龄无显著差异, 而 RP<sub>20</sub> 的 3 龄幼虫体内 GST 比活力被显著抑制, 在 4~6 龄 GST 比活力无明显变化。初步判断, 棉铃虫对甲维盐敏感性降低与 CarE 比活力增大有关; 甲维盐亚致死剂量对棉铃虫 CarE 活性具有一定的诱导作用。

**关键词** 甲维盐; 棉铃虫; 亚致死剂量; 解毒酶系

**中图分类号:** S 482.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3969/j.issn.0529-1542.2011.05.032

## Effects of sublethal dose of emamectin benzoate on activities of detoxifying enzymes in *Helicoverpa armigera* of different sensitivities

Dong Lixia, Tan Xiaowei, Rui Changhui

(Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Pesticide Chemistry & Application, Ministry of Agriculture, Beijing 100193, China)

**Abstract** After 20 times of resistance selection with emamectin benzoate, the resistance-selected population (RP<sub>20</sub>) developed 2.32 fold lower sensitivity to the insecticide compared with the homologous control population (CP). The 3rd instar larvae of the two populations were treated with the LC<sub>25</sub> dose of emamectin benzoate for 48 h, and then activities of carboxylesterase (CarE) and glutathione-S-transferase (GST) at 3rd, 4th, 5th and 6th instars were determined. The results were as follows: (1) With age increasing, activities of CarE increased significantly, and GST tended to be stable with low initial activity in both CP and RP<sub>20</sub>. (2) Compared with the CP under control treatment (CK), activities of CarE of RP<sub>20</sub> increased in the 3rd–6th instars and significantly changed in the 4th–6th instars. However, GST activities of RP<sub>20</sub> were not markedly changed, but significantly increased at 3rd and 6th instars. (3) Compared with CK treatment, activities of CarE in both populations increased after LC<sub>25</sub> treatment. GST activities of CP significantly increased at 4th and 6th instars but was not markedly changed at 3rd and 5th instars. However, GST activities of RP<sub>20</sub> decreased significantly at 3rd instar, but was not markedly changed in the 4th–6th instars. The preliminary investigations suggested that the decrease of the sensitivity of *H. armigera* to emamectin benzoate may be related with CarE activity, and CarE activity was induced by the sublethal dose of emamectin benzoate.

**Key words** emamectin benzoate; *Helicoverpa armigera*; sublethal dose; detoxifying enzyme

棉铃虫 [*Helicoverpa armigera* (Hübner)] 属鳞翅目夜蛾科, 棉铃虫属, 是一种世界性害虫。其寄主

收稿日期: 2010-10-15 修订日期: 2010-11-17

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划 (2006BAD08A03); 公益性行业 (农业) 科研专项 (200903033)

\* 通信作者 Tel: 010-62815944; E-mail: chrui@ippcaas.cn

范围广,繁殖力强,主要为害棉花、玉米、小麦等多种作物。20 世纪 80 年代末,棉铃虫在我国主要棉区连年暴发成灾,特别是 1992 年在全国范围内的特大暴发,造成直接经济损失近百亿元<sup>[1]</sup>。1998 年后,随着转基因棉花的种植,田间防治棉铃虫的化学农药用量明显减少,但是抗虫棉生长后期毒素蛋白表达量下降,不足以有效控制棉铃虫为害,仍需进行化学防治<sup>[2-3]</sup>。杀虫剂施用于田间后,除了对昆虫的直接杀死作用外,随着个体接触药量的差异以及时间的推移,对存活个体的生物学、生态行为、生殖力、抗药性等方面都会产生不同程度的影响<sup>[4-6]</sup>,并且对昆虫体内重要靶标酶和解毒代谢酶系也存在不同程度的影响<sup>[7-9]</sup>。

甲氨基阿维菌素苯甲酸盐(简称甲维盐, emamectin benzoate)是以土壤微生物阿维链霉菌发酵产物阿维菌素 B<sub>1</sub> 为母体化合物,进行衍生、优化合成的一种新型高效抗生素类杀虫、杀螨剂<sup>[10-11]</sup>。作用靶标为谷氨酸盐门控氯离子通道,同时也作用于  $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)受体<sup>[12]</sup>。甲维盐诱导昆虫神经系统氯离子通道发生不可逆激活,增加神经膜氯离子渗透,导致细胞丧失正常生理功能,从而阻断运动神经信息传递,致使害虫中央神经系统的信号不能被运动神经元接收<sup>[13-15]</sup>。此外,还有一种假说是阿维菌素类杀虫剂延长了 GABA 的释放时间,导致昆虫神经传导受阻<sup>[16]</sup>。甲维盐以胃毒作用为主,兼有触杀作用,无杀卵活性<sup>[17]</sup>,具有广谱、高效,低毒(制剂近无毒)、低残留和不易产生抗性等优点,广泛应用于蔬菜、茶叶、棉花等作物防治害虫。

目前,尚无有关甲维盐抗性机理及亚致死效应的报道,本研究分别采用甲维盐亚致死剂量 LC<sub>25</sub> 处理对照种群和汰选种群,比较甲维盐汰选种群和同源对照种群的解毒酶活性差异以及各种种群在 CK 处理和甲维盐 LC<sub>25</sub> 处理间解毒酶活性变化,为研究棉铃虫对甲维盐的解毒机理奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试药剂和化学试剂

92%甲氨基阿维菌素苯甲酸盐(B<sub>1a</sub>)原药,河北威远生物化工股份有限公司;磷酸、盐酸、磷酸二氢钠、1-萘酚(1-naphthol),北京化工厂;磷酸氢二钠,国药集团化学试剂有限公司; $\alpha$ -醋酸萘酯( $\alpha$ -naphthyl acetate,  $\alpha$ -NA),Sigma 公司;考马斯亮蓝 G

250 和固蓝 B 盐(fast blue B),Fluka 公司;牛血清蛋白,中国科学院东方仪器设备公司;1-氯-2,4-二硝基苯(CDNB),中国医药公司北京分公司;还原型谷胱甘肽(GSH),东风生化技术公司;十二烷基硫酸钠(SDS),华美生物工程;毒扁豆碱(eserine),东京化成工业株式会社。

### 1.2 供试虫源

2005 年采集于河北省冀州市棉田种群,一部分于室内自然饲养,饲养期间不接触任何药剂,作为同源对照种群(CP);另一部分用甲维盐抗性选育 20 代,获得敏感性有所降低的汰选种群(RP<sub>20</sub>)。棉铃虫饲养及试验条件:温度(27±1)℃,湿度 80%~90%,光周期 L//D=14 h//10 h。棉铃虫室内饲养技术参照范贤林等<sup>[18]</sup>。

### 1.3 毒力测定

采用杀虫剂抗性行动委员会(IRAC)推荐的叶片药膜法<sup>[19]</sup>,分别测定甲维盐对同源对照种群和汰选种群的毒力指数。配制 5~7 个药剂浓度,以 0.1%曲拉通 X-100 溶剂为对照。将棉花叶在药液中浸渍 10 s,取出晾干放入 10 孔盒,接入大小一致 3 龄初幼虫。每处理重复 3 次,每重复 10 头试虫。48 h 检查死亡虫数,以镊子轻触虫体,不能正常反应视为死亡。

### 1.4 亚致死浓度处理

根据毒力测定结果,以两个种群各自 48 h 的 LC<sub>25</sub> 值作为亚致死剂量,以 0.1%曲拉通 X-100 溶剂为对照。取新鲜无农药污染的棉花叶片,分别在 0.1%曲拉通溶剂、亚致死剂量甲维盐药液中浸 10 s,取出晾干,分别加入 10 孔盒,对应接入大小一致的 CP 和 RP<sub>20</sub> 种群的 3 龄初幼虫饲喂 48 h。将活虫转移至加有人工饲料的 10 孔盒自然饲养,分别测定棉铃虫各种种群在不同处理下,3 龄(8~12 mg)、4 龄(50~65 mg)、5 龄(160~200 mg)、6 龄(250~350 mg)幼虫体内解毒酶活性。

### 1.5 酶液制备

将棉铃虫 3 龄 5 头/mL,4 龄 1 头/mL 于 pH 7.0,0.04 mol/L 的磷酸缓冲液冰浴中整体研磨匀浆;5 龄、6 龄于预冷的 1.15%KCl 溶液中冰浴条件下解剖,取出中肠,去除内含物,按 5 头中肠/mL 于磷酸缓冲液中匀浆,匀浆液用离心机(12 000 r/min, 4℃)离心 40 min,取出上清液再次离心 20 min,上清液为羧酸酯酶酶源,重复 3 次。同法采用 pH7.8,

0.1 mol/L 磷酸缓冲液制备谷胱甘肽 S-转移酶酶源。酶源用相应的磷酸缓冲液稀释 10 倍作为活性测定的酶液。

### 1.6 解毒酶活性测定

羧酸酯酶 (CarE) 比活力测定参照 Van Asperen (1962) 的方法。在带塞试管中加入 4 mL 0.03 mol/L 的  $\alpha$ -萘酚萘酯 (含  $10^{-4}$  mol/L 毒扁豆碱), 再加入 1 mL 酶液, 置于 30 °C 恒温水浴中振摇 25 min 后, 立即加入 1 mL 显色液 [1% 固蓝 B 盐和 5% 十二烷基硫酸钠溶液临用前以 2:5 (V/V) 混合而成]。待稳定 0.5 h 后, 在分光光度计上测定 600 nm 处 A 值。对照以 1 mL 缓冲液代替酶液, 其余处理相同。重复 3 次。由  $\alpha$ -萘酚标准曲线和测定的蛋白质含量, 计算 CarE 的比活力 (nmol/min · mg · pr)。

谷胱甘肽 S-转移酶 (GST) 比活力测定采用 Habig 的 CDNB 法<sup>[21]</sup>。在带塞试管中加入 900  $\mu$ L 0.1 mol/L pH 7.8 的磷酸缓冲液、100  $\mu$ L 酶液和 1 000  $\mu$ L 6 mmol/L GSH, 加入 1 000  $\mu$ L 1.2 mmol/L CDNB 使反应开始, 反应环境温度控制在 30 °C, 对照 (1 000  $\mu$ L 缓冲液, 不加酶液) 在 340 nm 处调零, 样品加入比色皿记录连续 5 min 内 (每 1 min 记录一次)

340 nm 处的光吸收变化值, 重复 3 次。根据 CDNB 的摩尔消光系数 0.009 6 L/(mol · cm) 计算 GST 酶活力 ( $\mu$ mol/min · mg · pr)。

### 1.7 蛋白质含量测定

参照 Bradford 的考马斯亮蓝 G-250 法<sup>[22]</sup>, 并加以改进。

### 1.8 统计分析

毒力测定数据分析采用 DPS 软件; 方差分析采用 SAS 软件 (Proc ANOVA; SAS Institute, 2000) Fisher' LSD 进行差异显著性分析 ( $p < 0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 甲维盐对棉铃虫的毒力测定

甲维盐对棉铃虫 CP 种群和 RP<sub>20</sub> 种群的毒力测定结果见表 1。经甲维盐抗性选育 20 代所得的汰选种群较同源对照种群敏感性降低了 2.32, 但尚未达到抗性水平。说明棉铃虫对甲维盐的抗性发展是比较缓慢的。甲维盐对 CP 和 RP<sub>20</sub> 种群在 48 h 的 LC<sub>25</sub> 值分别为 0.006 55  $\mu$ g/mL 和 0.017 3  $\mu$ g/mL, 以此作为亚致死剂量处理相应棉铃虫 3 龄初幼虫。

表 1 敏感和汰选棉铃虫种群 3 龄初幼虫对甲维盐的敏感性<sup>1)</sup>

棉铃虫种群	LC <sub>25</sub> (95% FL)/ $\mu$ g · mL <sup>-1</sup>	LC <sub>50</sub> (95% FL)/ $\mu$ g · mL <sup>-1</sup>	回归方程 (y=)	相关系数 R	抗性指数 RR
CP	0.006 55 (0.005 23~0.008 20)	0.013 4 (0.011 2~0.015 1)	2.161x+9.045 2	0.986	—
RP <sub>20</sub>	0.017 30 (0.016 20~0.018 50)	0.031 1 (0.029 9~0.032 5)	2.653x+8.997 0	0.999	2.32

1) CP 为同源对照种群, RP<sub>20</sub> 为汰选种群; 抗性指数 = 汰选种群 LC<sub>50</sub>/同源敏感种群 LC<sub>50</sub>。

经过反向验证, 即配制 0.006 55  $\mu$ g/mL 和 0.017 3  $\mu$ g/mL 的甲维盐溶液, 分别处理相应的棉铃虫种群 3 龄初幼虫, 48 h 后校正死亡率分别为 24.70% 和 24.71%, 接近 25%, 因此以这两个浓度作为亚致死剂量 LC<sub>25</sub> 是合理的。

### 2.2 亚致死剂量对不同敏感性棉铃虫 CarE 活性的影响

表 2 所示: (1) 棉铃虫两种群 (CP 和 RP<sub>20</sub>) 体内 CarE 比活力均随龄期的增大而显著增大 ( $p < 0.05$ )。 (2) CK 处理下两种群相比, 同一龄期 RP<sub>20</sub> 体内 CarE 比活力均高于 CP, 且在 4~6 龄差异显著 ( $p < 0.05$ ), 说明 RP<sub>20</sub> 敏感性降低与棉铃虫体内 CarE 比活力的增大有关。 (3) 与 CK 处理相比, 经 LC<sub>25</sub> 处理后的两种群 (CP 和 RP<sub>20</sub>) 体内 CarE 比活力在 3~6 龄均增大, 且 CP 体内 CarE 比活力在 5 龄显著增大 ( $p < 0.05$ ), 说明甲维盐亚致死剂量对棉

铃虫体内 CarE 比活力具有诱导作用。 综上, 棉铃虫对照种群经甲维盐处理后, 不仅当代试虫体内 CarE 比活力增大, 而且经甲维盐抗性选育获得的汰选种群的子代试虫体内 CarE 比活力也显著增大, 说明棉铃虫对甲维盐的敏感性下降与体内 CarE 比活力的增大有关, 并且甲维盐亚致死剂量对棉铃虫体内 CarE 比活力具有一定的诱导作用。

### 2.3 亚致死剂量对不同敏感性棉铃虫 GST 活性的影响

表 3 所示: (1) CK 处理下, 同一种群、不同龄期相比, 棉铃虫 CP 体内 GST 比活力在 3~5 龄随龄期增大显著降低, 5~6 龄无明显变化; RP<sub>20</sub> 体内 GST 比活力在 3~4 龄显著降低, 4~6 龄无明显变化。 (2) CK 处理下, 同一龄期、不同种群相比, RP<sub>20</sub> 体内 GST 比活力在 3 龄和 6 龄均显著高于 CP ( $p < 0.05$ ), 4 龄和 5 龄无显著差异。 (3) 与 CK 处理相

比,经甲维盐 LC<sub>25</sub> 处理后,CP 试虫体内 GST 比活力在 4 龄和 6 龄显著增大,在 3 龄和 5 龄无显著差

异,而 RP<sub>20</sub> 试虫体内 GST 比活力在 3 龄被显著抑制,4、5 龄和 6 龄无明显差异。

表 2 亚致死剂量甲维盐对不同敏感性棉铃虫不同龄期 CarE 活性的影响<sup>1)</sup>

种群-处理	CarE 比活力/ $\text{nmol} \cdot (\text{min} \cdot \text{mg})^{-1}$			
	3 龄	4 龄	5 龄	6 龄
CP-CK	(4.181 2±0.073 4)bD	(6.384 3±0.273 5)bC	(7.533 0±0.500 1)cB	(11.088 3±0.324 5)bA
CP-LC <sub>25</sub>	(4.262 4±0.314 8)bD	(6.410 3±0.098 1)bC	(8.755 8±0.299 2)bB	(12.571 4±0.213 7)bA
RP <sub>20</sub> -CK	(4.533 2±0.161 8)abD	(8.684 0±0.202 4)aC	(9.635 3±0.246 7)abB	(11.817 6±0.003 2)aA
RP <sub>20</sub> -LC <sub>25</sub>	(4.826 5±0.594 2)aC	(8.884 4±0.923 2)aB	(10.646 8±0.195 1)aB	(12.952 6±0.178 4)aA

1) CP 为同源对照种群,RP<sub>20</sub> 为汰选种群;同列不同小写字母代表差异显著;同行不同大写字母代表差异显著( $p < 0.05$ )

表 3 亚致死剂量甲维盐对不同敏感性棉铃虫不同龄期 GST 活性的影响<sup>1)</sup>

种群-处理	GST 比活力/ $\mu\text{mol} \cdot (\text{min} \cdot \text{mg})^{-1}$			
	3 龄	4 龄	5 龄	6 龄
CP-CK	(2.684 9±0.033 3)cA	(2.525 2±0.008 8)bB	(2.248 3±0.019 2)aC	(2.222 1±0.016 7)cC
CP-LC <sub>25</sub>	(2.730 0±0.026 4)bcA	(2.597 2±0.006 1)aB	(2.238 6±0.007 8)aD	(2.347 6±0.004 3)bC
RP <sub>20</sub> -CK	(3.050 2±0.021 5)aA	(2.480 1±0.031 0)bB	(2.365 3±0.083 0)aB	(2.447 4±0.012 3)aB
RP <sub>20</sub> -LC <sub>25</sub>	(2.847 6±0.032 7)bA	(2.458 8±0.010 9)bB	(2.386 4±0.002 0)aB	(2.454 8±0.007 0)aB

1) CP 为同源对照种群,RP<sub>20</sub> 为汰选种群;同列不同小写字母代表差异显著;同行不同大写字母代表差异显著( $p < 0.05$ )

### 3 讨论

多功能氧化酶(MFO)、羧酸酯酶(CarE)和谷胱甘肽 S-转移酶(GST)是昆虫体内重要的三大代谢解毒酶<sup>[23]</sup>,亚致死剂量杀虫剂对昆虫的生物学特性、体内解毒酶系存在诱导或抑制作用。Rumpf 等<sup>[24]</sup>提出酶比活力可以作为一种生物标记来测定杀虫剂的亚致死效应。

昆虫体内酯酶比活力变化与昆虫生长发育、食物和生长环境等有关。斜纹夜蛾、中华稻蝗体内 CarE 比活力随着龄期的增加而增大<sup>[25-26]</sup>,结果与本研究两个不同敏感性棉铃虫种群体内 CarE 比活力均随龄期增加而增大一致。可见,CarE 是昆虫生长发育中重要的酶系。昆虫体内 CarE 比活力升高与昆虫抗药性有关,如阿维菌素抗性小菜蛾种群 CarE 比活力高于敏感品系<sup>[8,27]</sup>;斜纹夜蛾敏感种群用阿维菌素选育 13 代后 EST 活性上升为原来的 2.5 倍<sup>[28]</sup>;增效试验发现朱砂叶螨对阿维菌素的抗性机制与 EST 活性增强有关<sup>[29]</sup>。以上结果与本研究阿维菌素衍生物——甲维盐抗性选育 20 代敏感性降低 2.32 倍的 RP<sub>20</sub> 体内 CarE 比活力在不同龄期均高于 CP 一致。可见,昆虫对阿维菌素类药剂敏感性的降低和抗药性的产生与体内 CarE 比活力增大有关。CarE 是昆虫体内重要的解毒酶系,主要通过代谢体内某些内源和外来有害物质,使其分解,排出

体外,从而达到解毒的目的,是可以被诱导的<sup>[23]</sup>。如阿维菌素对小菜蛾、甘蔗绵蚜和斜纹夜蛾体内 CarE 有诱导作用<sup>[8,28,30]</sup>,结果与本研究甲维盐亚致死剂量处理,对两个不同敏感性棉铃虫种群体内 CarE 活性均有诱导作用的结果一致。可见,阿维菌素类药剂能够诱导昆虫体内 CarE 比活力的升高。所以,CarE 可能是昆虫体内对阿维菌素类药剂的重要解毒代谢酶之一。王建军等<sup>[26]</sup>报道甲氧虫酰肼 LC<sub>30</sub> 对斜纹夜蛾 CarE 有诱导作用;黄诚华等<sup>[31]</sup>报道氟虫腈 LD<sub>15</sub> 对二化螟和大螟 4 龄幼虫 CarE 均有诱导作用;Rakotondravelo 等<sup>[32]</sup>报道亚致死剂量 DDT 对摇蚊(*Chironomus tentans*)CarE 活性无明显影响,而毒死蜱有抑制作用。可见,不同药剂对不同昆虫体内 CarE 活性的影响不同。

GST 是杀虫剂产生代谢抗性的重要酶系,参与许多分子的解毒机制。德国小蠊体内 GST 活性在不同龄期间几乎无差异<sup>[33]</sup>;棉铃虫 GST 比活力 3~5 龄稳定,6 龄活性最高<sup>[7]</sup>。两结果与本研究棉铃虫 GST 活性在 3 龄活性最高,4~6 龄基本稳定的结果有一定差异。阿维菌素抗性品系小菜蛾 3 龄幼虫和敏感品系 GST 比活力无明显差异<sup>[34]</sup>;斜纹夜蛾敏感种群用阿维菌素选育 13 代后 GST 活性与原来变化不大<sup>[28]</sup>;阿维菌素不同敏感性朱砂叶螨体内 GST 比活力无显著差异<sup>[29]</sup>;而吴青君等<sup>[27]</sup>报道阿维菌素抗性小菜蛾种群 GST 的活力在 1~3 龄显著高于敏

感种群,随幼虫龄期的增长而降低,4龄无种群差异。以上结果与本研究用甲维盐抗性选育棉铃虫获得 RP<sub>20</sub>体内 GST 比活力在 3 龄和 6 龄显著高于对照种群,4 龄和 5 龄无明显差异的结果基本一致。可见,昆虫对阿维菌素类药剂敏感性的降低和抗性的产生与体内 GST 关系不大。不同浓度阿维菌素处理斜纹夜蛾后,GST 活性无明显变化<sup>[28]</sup>;阿维菌素对小菜蛾敏感品系 GST 有一定的诱导作用而对抗性品系 GST 有一定的抑制作用<sup>[34]</sup>。本研究甲维盐亚致死剂量处理,对棉铃虫 CP 体内 GST 比活力在 3 龄和 5 龄无明显作用,4 龄和 6 龄有显著的诱导作用;而敏感性降低的 RP<sub>20</sub>体内 GST 比活力在 3 龄被显著抑制,4~6 龄无明显变化。可见,昆虫体内 GST 对阿维菌素类药剂有一定的解毒代谢作用,但与其对阿维菌素类药剂抗性的产生关系不大。高希武等<sup>[35]</sup>报道 LD<sub>5</sub> 对硫磷和灭多威对棉铃虫 3 龄幼虫 GST 的活性均无影响;Rumpf 等<sup>[24]</sup>报道氯氰菊酯对褐蛉(*Micromus tasmaniae*)幼虫 GST 活性有诱导作用,而苯氧威有显著的抑制作用。可见,不同药剂亚致死剂量处理对昆虫 GST 活性的影响随虫种不同存在一定的差异。

本研究选用对甲维盐不同敏感性的棉铃虫种群分别采用对照处理和 LC<sub>25</sub> 处理,在不同龄期分别比较不同敏感性和不同处理下两种解毒酶活性的变化,从而能更加全面地分析和比较甲维盐处理当代及长期经甲维盐处理的棉铃虫体内解毒酶活性变化动态,为甲维盐抗性机制研究及亚致死效应研究提供理论基础。多功能氧化酶作为一种重要的解毒代谢酶,还需要进一步研究。

## 参考文献

- [1] 夏敬源. 北方棉铃虫暴发成灾原因与治理对策[J]. 中国棉花, 1993(2):9-12.
- [2] 崔金杰,夏敬源. 转 Bt 基因棉对棉铃虫抗性的时空动态[J]. 棉花学报,1999,11(3):144.
- [3] 杨恩会,林雁,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]. 昆虫学报,2006,49(2):248.
- [4] Singh J P, Marwaha K K. Effects of sublethal concentrations of some insecticides on growth and development of maize stalk borer, *Chilo partellus* (Swinhoe) larvae[J]. Shashpa, 2000,7: 181-186.
- [5] Desneux N, Rafalmanana H, Kaiser L. Dose response relationship in lethal and behavioural effects of different insecticides on the parasitic wasp *Aphidius ervi* [J]. Chemosphere, 2004,54:619-627.
- [6] Cutler G C, Scott-Dupree C D, Harris C R. Toxicity of the insect growth regulator novalron to the non-target predatory bug *Podisus maculivebtris* (Heteroptera: Pentatomidae) [J]. Biological Control, 2006,38:196-204.
- [7] 张常忠,高希武,郑炳宗. 棉铃虫谷胱甘肽 S-转移酶的活性分布和发育变化及植物次生物质的诱导作用[J]. 农药学报, 2001,3(1):30-35.
- [8] 夏冰,石泰,梁沛,等. 杀虫剂亚致死剂量对小菜蛾羧酸酯酶的影响[J]. 农药学报,2002,4(1):23-26.
- [9] 曾春祥,王进军. 吡虫啉亚致死剂量处理对桃蚜乙酰胆碱酯酶的时间与剂量效应[J]. 植物保护,2007,33(2):50-53.
- [10] Yen T H, Lin J L. Acute poisoning with emamectin benzoate [J]. Clinical Toxicology, 2004,42(5):657-661.
- [11] Ioriatti C, Anfora G, Angeli G, et al. Toxicity of emamectin benzoate to *Cydia pomonella* (L.) and *Cydia molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae): laboratory and field tests[J]. Pest Management Science, 2009,65:306-12.
- [12] Wang L H, Wu Y D. Cross-resistance and biochemical mechanisms of abamectin resistance in the B-type *Bemisia tabaci* [J]. Journal of Applied Entomology, 2007,131(2):98-103.
- [13] Pong S S, Wang C C, Fritz L C. Studies on the mechanism of action of avermectin B<sub>1a</sub>: stimulation of release of  $\gamma$ -aminobutyric acid from brain synaptosomes[J]. Journal of Neurochemistry, 1980,34(2):351-358.
- [14] Ahmad M, Sayyed A H, Saleem M A, et al. Evidence for field evolved resistance to newer insecticides in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) from Pakistan [J]. Crop Protection, 2008,27:1367-1372.
- [15] Ahmad M, Arif I M, Ahmad Z. Susceptibility of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to new chemistries in Pakistan [J]. Crop Protection, 2003,22:539-544.
- [16] 毕富春,赵建平. 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐对主要害虫药效概述[J]. 现代农药,2003(2):4-36.
- [17] Eckel C S, Dunbar D M, White S M, et al. Experience with emamectin benzoate for control of Lepidoptera pest species in Florida vegetable production [J]. Proc Fla State Hort Soc, 1996,109:205-207.
- [18] 范贤林,卢美光,孟香清,等. 棉铃虫室内饲养技术改进[J]. 昆虫知识,2003,40(1):85-87.
- [19] Anon. Proposed insecticide/acaricide susceptibility tests, IRAC method No. 7 [R]. Bull Eur Plant Prot Org, 1990,20: 399-400.
- [20] Van A K. A study of housefly esterase by means of a sensitive colorimetric-method [J]. Journal of Insect Physiology, 1962,8: 401.
- [21] Habig W H. Assays for differentiation of glutathione S-transferase [M] // William B J, ed. Method in enzymology. New York: Academic Press,1981:398-405.

#### 2.4.4 土层深度对耳叶水苋种子萌发的影响

由于耳叶水苋种子极小,决定了其较弱的顶土能力。试验结果表明,覆盖 0.5 cm 土层即能有效控制耳叶水苋种子的萌发。所以土壤翻耕是控制耳叶水苋危害的一条有效途径。

### 3 结论与讨论

本研究根据上海郊区水稻生产实际,报道了近 30 年来耳叶水苋的种群变化趋势、田间发生消长动态以及生物学特性。1981、1991、1995 年和 2006 年上海市稻田杂草普查结果表明,耳叶水苋已成为当前上海郊区稻田的重要杂草,无论是直播、移栽还是机插秧稻田均有较重的发生,并有进一步上升的趋势。这可能与近年来大面积推广少耕、免耕的水稻栽培制度以及缺乏有效的除草剂有关。

目前上海郊区大量使用的五氟磺草胺、乙氧嘧磺隆等高效茎叶处理除草剂对耳叶水苋的防效均不理想,尽快研制筛选高效、安全、环境友好的除草剂品种显得尤为重要。

水稻播种后的第 1、3 周,是耳叶水苋的两个萌发高峰期,这对于指导用药,制定科学的用药时间和防除策略具有重要的意义。耳叶水苋种子顶土能力较弱且萌发需要较高的土壤含水量,因此通过土壤翻耕和水旱轮作可有效降低耳叶水苋的基数,减轻其危害。耳叶水苋田间发生消长规律调查和生物学特性研究结果,为开展耳叶水苋的综合防治技术提供了理论依据。

耳叶水苋、水苋菜和多花水苋常混生于稻田中,在上海地区均有发生,并且以耳叶水苋为主。水苋菜和多花水苋是否具有同样的发生规律有待于进一步的研究。

### 参考文献

(上接 168 页)

- [22] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Analytical Biochemistry*, 1976,72(1): 248 - 254.
- [23] 唐振华. 昆虫抗药性及其治理[M]. 北京:中国农业出版社, 1993:151 - 156.
- [24] Rumpf S, Hetzel F, Frampton C. Lacewings (Neuroptera: Hemerobiidae and Chrysopidae) and integrated pest management: enzyme activity as biomarker of sublethal insecticide exposure[J]. *Journal of Economic Entomology*, 1997,90(1):102 - 108.
- [25] 吴海花,杨美玲,郭亚平,等. 中华稻蝗若虫不同龄期酯酶的特性[J]. *昆虫知识*, 2006,43(3):336 - 339.
- [26] 王建军,田大军. 甲氧虫酰肼对斜纹夜蛾亚致死效应研究[J]. *棉花学报*, 2009,21(3):212 - 217.
- [27] 吴青君,张文吉,张友军,等. 解毒酶系在小菜蛾对阿维菌素抗性中的作用[J]. *农药学报*, 2001(3):23 - 28.
- [28] 贺金. 斜纹夜蛾对阿维菌素抗性风险分析及其抗性生化机理[D]. 泰安:山东农业大学, 2009.
- [29] Kwon D H, Seong G M, Kang T J, et al. Multiple resistance mechanisms to abamectin in the two-spotted spider mite[J]. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 2010,13:229 - 232.
- [30] 卢芙蓉,赵冬香,李周文婷,等. 阿维菌素对甘蔗绵蚜解毒酶系活性的影响[J]. *华东昆虫学报*, 2006,15(3):226 - 229.
- [31] 黄诚华,姚洪渭,叶恭银,等. 氟虫腈亚致死剂量处理对二化螟和大螟幼虫体内解毒酶系活力的影响[J]. *中国水稻科学*, 2006,20(4):447 - 450.
- [32] Rakotondravelo M L, Anderson T D, Charlton R E, et al. Sublethal effects of three pesticides on activities of selected target and detoxification enzymes in the aquatic midge, *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae) [J]. *Environmental Contamination and Toxicology*, 2006,51(3):360 - 365.
- [33] 竹傲,游红,王晓燕,等. 不同龄期和性别德国小蠊羧酸酯酶、谷胱甘肽 S-转移酶、乙酰胆碱活性研究[J]. *中国媒介生物学及控制杂志*, 2009,20(5):423 - 425.
- [34] 梁沛,夏冰,石泰,等. 阿维菌素和高效氯氰菊酯亚致死剂量对小菜蛾谷胱甘肽 S-转移酶的影响[J]. *中国农业大学学报*, 2003,8(3):65 - 68.
- [35] 高希武,董向丽,郑炳宗,等. 棉铃虫的谷胱甘肽-S-转移酶(GSTs):杀虫剂和植物次生性物质的诱导与 GSTs 对杀虫剂的代谢[J]. *昆虫学报*, 1997,40(2):122 - 127.