

· 研究论文 ·

## 药剂对小菜蛾抗性及其敏感品系乙酰胆碱酯酶抑制作用比较

罗雁婕<sup>1,2</sup>, 高希武<sup>\*1</sup>, 吴文伟<sup>2</sup>, 浦恩堂<sup>2</sup>,  
尹可锁<sup>2</sup>, 何成兴<sup>2</sup>, 郭志祥<sup>2</sup>

(1. 中国农业大学 昆虫学系, 北京 100193; 2 云南省农业科学院 农业环境资源研究所, 昆明 650205)

**摘要:**采用浸叶法测定了云南通海、元谋和澜沧的小菜蛾 *Plutella xylostella* 田间种群对常用杀虫剂的抗药性。结果表明, 云南上述地区小菜蛾田间种群对各类杀虫剂均产生了不同程度的抗性。对有机磷类药剂的抗药性为 1.74 ~ 31.1 倍; 对菊酯类药剂的抗药性为 7.41 ~ 764 倍; 对阿维菌素类药剂则产生了  $5.60 \sim 4.06 \times 10^4$  倍的抗性。通过离体和活体试验测定了药剂对小菜蛾头部乙酰胆碱酯酶 (AChE) 的抑制作用。敌敌畏和灭多威对通海抗性品系 AChE 离体和活体内的抑制中浓度 ( $I_{50}$ ) 分别是敏感品系的 209、26.5 倍和 2.21、2.16 倍; 敌敌畏对通海小菜蛾种群的离体和活体内抑制中时间 ( $IT_{50}$ ) 小于敏感品系, 分别是敏感品系的 0.32 和 0.17 倍; 而灭多威对通海小菜蛾种群的离体和活体内抑制中时间 ( $IT_{50}$ ) 则大于敏感品系, 分别是敏感品系的 1.37 和 1.74 倍。

**关键词:** 小菜蛾; 抗药性; 乙酰胆碱酯酶; 抑制作用

中图分类号: S481.4; Q965.9

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2008)02-0211-06

### Comparison of Inhibition of Acetylcholinesterase in Susceptible and Resistant Strains of Diamondback Moth by Insecticides

LUO Yan-jie<sup>1,2</sup>, GAO Xi-wu<sup>\*1</sup>, WU Wen-wei<sup>2</sup>, PU En-tang<sup>2</sup>,  
YN Ke-suo<sup>2</sup>, HE Cheng-xing<sup>2</sup>, GUO Zhi-xiang<sup>2</sup>

(1. Department of Entomology, China Agricultural University, Beijing 100193, China; 2. Institute of Agricultural Environment & Resource, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, China)

**Abstract:** The resistance level of field populations of diamondback moth collected from 3 different regions of Yunnan province was determined using leaf-dipping method and a susceptible strain maintained in the laboratory was used as control. The results indicated that different populations had different resistance levels to the insecticides. The resistance level to organophosphate insecticides varied from 1.74 to 31.1 times, to pyrethroid insecticides varied from 7.41 to 764 times and to avermectin insecticides varied from 5.60 to  $4.06 \times 10^4$  times. In vitro and in vivo AChE inhibition experiments with inhibitors of dichlorvos and methomyl showed that there were significant differences in  $I_{50}$  (dosage of inhibiting 50% AChE activity) and  $IT_{50}$  (time for inhibiting 50% AChE activity) between Tonghai resistant and laboratory susceptible strain. In vivo inhibition, the AChE  $I_{50}$  of Tonghai strain to dichlorvos and methomyl were 2.21 and 2.16 times higher than that of the susceptible strain, while in in

收稿日期: 2007-09-18; 修回日期: 2008-01-03.

作者简介: 罗雁婕 (1979-), 女, 云南普洱人, 助理研究员, 硕士研究生, E-mail: yanjieluo@126.com; \* 通讯作者 (Author for correspondence): 高希武 (1958-), 男, 河北唐山人, 教授, 博士生导师, 主要从事昆虫毒理学研究. 联系电话: 010-62732974; E-mail: gaowxu@263.net

in vitro inhibition, the inhibition were up to 209 and 26.5 times, respectively. The  $IT_{50}$  of dichlorvos to AChE of Tonghai strain under in vitro and in vivo inhibition were 0.32 and 0.17 times as much as that of susceptible strains, respectively, while for methomyl, the inhibition increased to 1.37 and 1.74 times.

**Key words:** *Plutella xylostella*; resistance; acetylcholinesterase; inhibition

乙酰胆碱酯酶 (AChE) 在神经传递过程中执行重要的生理功能, 也是有机磷和氨基甲酸酯类杀虫药剂的靶标酶。杀虫剂通过抑制昆虫体内的 AChE, 影响突触部位神经冲动的传导而导致昆虫死亡<sup>[1,2]</sup>, 大量研究证明, AChE 不敏感性是昆虫对有机磷和氨基甲酸酯类药剂产生抗性的主要机制<sup>[3,4]</sup>。小菜蛾是抗药性严重的害虫之一, 至今已有很多有关小菜蛾抗药性的研究报道<sup>[4,5]</sup>; 在我国, 包括云南在内的许多地区的小菜蛾对有机磷、氨基甲酸酯、拟除虫菊酯以及苏云金杆菌等大约 50 多种杀虫剂已产生了数十倍甚至上千倍的抗药性<sup>[6,7]</sup>。

小菜蛾是云南蔬菜主产区的重要害虫之一, 1998 年就有报道显示, 云南小菜蛾对多种杀虫剂已经产生了不同程度的抗性, 如对有机磷和氨基甲酸酯类药剂已产生了中高抗性, 而对阿维菌素的抗性已达 9~32 倍<sup>[7,8]</sup>。近年来随着云南蔬菜产业的迅速发展, 小菜蛾的田间防治已成为一个难题, 但关于云南小菜蛾抗药性发展方面的研究报道却很少。鉴于 AChE 等酶系在小菜蛾对杀虫剂的抗药性机制中的重要作用<sup>[4,9]</sup>, 笔者针对云南省不同区域的小菜蛾田间种群进行了抗药性测定并重点研究了不同杀虫剂对小菜蛾敏感品系和云南抗性品系 AChE 抑制作用的差异, 旨在了解云南小菜蛾抗药性的发生发展情况并在生化水平上明确 AChE 在小菜蛾抗性中的作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试昆虫

小菜蛾 *Plutella xylostella* 云南通海、元谋、澜沧种群: 2006 年分别采集于云南玉溪市通海县秀山镇、楚雄州元谋县、普洱市澜沧县九井乡蔬菜产区。敏感品系为中国农业大学昆虫系室内采用蛭石萝卜苗法<sup>[10]</sup>长期饲养的敏感品系。

### 1.2 供试药剂

97% 敌敌畏 (dichlorvos) 原药 (天津农药厂); 91.1% 敌百虫 (trichlorfon) 原药和 92.0% 辛硫磷

(phoxim) 原药 (昆明农药厂); 90% 灭多威 (methomyl) 可溶性粉剂 (上海杜邦农化有限公司); 96% 氰氟菊酯 (cyhalothrin) 原药 (江苏激素研究有限公司); 97.1% 氰戊菊酯 (fenvalerate) 原药 (江苏耕耘化学有限公司); 95.5% 阿维菌素 (abamectin) 原药 (北京万丰药业有限公司); 93% 氯氰菊酯 (cypemethrin) 原药、94.6% 高效氯氰菊酯 (beta-cypemethrin) 原药和 55.9% 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐 (emamectin benzoate) (云南省化工研究院); 碘化硫代乙酰胆碱 (ATCh) (Fluka 公司产品); 5,5-二硫双硝基苯甲酸 (DTNB) (Roth 公司产品); 考马斯亮兰 G-250 (英国进口分装); 其他化学试剂均为分析纯。

### 1.3 试验方法

1.3.1 生物测定 参照 Ismail 等<sup>[11]</sup>的叶片药膜法, 将无污染的新鲜甘蓝叶片在系列浓度药液中浸渍 10 s 后取出, 对照为蒸馏水 (含体积分数为 0.1% 的 Triton X-100), 室内晾干后置于培养皿内, 接入大小一致的小菜蛾 3 龄幼虫。24 h 后调查试验结果, 数据用 POLO 软件处理, 计算出  $LC_{50}$  值和毒力回归方程斜率 (b)。

1.3.2 酶液制备 取饥饿后的供试小菜蛾头部, 按 2 头 / 0.1 mL 的剂量加预冷的、pH 7.5、0.1 mol/L 的磷酸缓冲液 (含体积分数为 0.1% 的 Triton X-100), 于冰水浴中匀浆, 匀浆液在 4、10 800 g 离心 10 min, 取上清液作为酶源。

1.3.3 AChE 活性测定 采用 Gorun 改进的 Ellman 方法<sup>[12]</sup>。取待测酶液 0.1 mL 与 ATCh 0.1 mL 混匀, 水浴反应一定时间后加入 3.6 mL 显色剂 DTNB 并终止反应, 在 412 nm 处测定光密度 (OD) 值。计算 AChE 的比活力,  $mmol \cdot min^{-1} \cdot mg^{-1} Pro$ 。

$$AChE \text{ 比活力} = OD \cdot V / (13.6 \cdot T \cdot P \cdot V_1) \quad (1)$$

其中 OD 为 412 nm 下光吸收的变化值; V 为酶促反应总体积, mL; T 为反应时间, min; P 为蛋白质含量,  $\mu g/mL$ ;  $V_1$  为加入反应体系中的酶液的体积, mL; 13.6 为消光系数,  $mmol^{-1} \cdot cm^{-1}$ 。

1.3.4 药剂对小菜蛾幼虫 AChE 活性抑制的剂量效应 选取通海小菜蛾幼虫供试,供试药剂分

别为敌敌畏和灭多威。按公式(2)计算药剂对小菜蛾 AChE 的抑制率。

$$\text{AChE 抑制率}(\%) = \frac{\text{正常酶的活性} - \text{受抑制酶的活性}}{\text{正常酶的活性}} \times 100 \quad (2)$$

活体内 AChE 活性测定:将药剂配制成系列浓度药液(100 ~ 1.56  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ),按 1.3.1 节生物测定方法处理试虫,24 h 后测定存活小菜蛾幼虫 AChE 活性。

离体 AChE 活性测定:将不同浓度的药剂(终浓度为  $10^{-3}$  ~  $10^{-11}$  mol/L)与酶液在 30  $^{\circ}\text{C}$  水浴中保温 30 min,再分别与底物混合反应,测其残留酶活性,按公式(2)计算酶的抑制率。以药剂浓度的负对数对 AChE 抑制率作图,得到药剂抑制 AChE 的量效曲线,计算抑制中浓度( $I_{50}$ )。

1.3.5 药剂对小菜蛾幼虫 AChE 活性抑制的时间效应 供试材料同 1.3.4 节。

活体内 AChE 活性测定:按 1.3.1 节方法用敌敌畏和灭多威(终浓度为  $10^{-4}$  mol/L)处理试虫,每隔 3 h 取样测定存活幼虫体内 AChE 的活性,连续监测 24 h;空白对照于平行时间取样测定。

离体 AChE 活性测定:将制备好的酶液与同一浓度(终浓度为  $10^{-6}$  mol/L)的药剂混合并在 30  $^{\circ}\text{C}$  水浴中保温,每隔 5 min 将此混合物取出 100  $\mu\text{L}$ ,加入已盛有 100  $\mu\text{L}$  底物的试管中进行反应,共取 7 个时间点。待酶与底物在 30  $^{\circ}\text{C}$  的水浴中反应一定时间后加入 0.9 mL DTNB 显色并终止反应,测其残留酶活性,按公式(2)计算酶的抑制率。以时间对 AChE 抑制百分率作图,得到药剂抑制 AChE 的时效曲线,计算抑制中时间( $IT_{50}$ )。

#### 1.4 酶原蛋白含量测定

参考 Bradford<sup>[13]</sup>考马斯亮蓝 G-250 法。

## 2 结果与分析

### 2.1 云南不同地区小菜蛾田间种群对药剂的抗性

结果(表 1)表明,云南小菜蛾田间种群对常用杀虫剂已产生了不同程度的抗药性,其中,对有机磷和氨基甲酸酯类药剂的抗药性明显。对有机磷类药剂的抗性,通海和元谋种群总体高于澜沧种群,通海种群对敌敌畏和敌百虫的抗性均达到 20 倍以上,而对灭多威的则高达 130 倍;对菊酯类

药剂的抗性高低为元谋 > 通海 > 澜沧种群,其中元谋和通海地区小菜蛾田间种群对菊酯类药剂皆达到了 42.7 ~ 764 倍,其抗性高于对有机磷类药剂的抗性。供试的 3 个小菜蛾田间种群对阿维菌素类药剂产生了  $5.60 \sim 4.06 \times 10^4$  倍的极高的抗性。

### 2.2 药剂对小菜蛾幼虫 AChE 活性的影响

2.2.1 药剂对小菜蛾幼虫 AChE 活性抑制的剂量效应 抑制中浓度( $I_{50}$ )通常表示酶对抑制剂的敏感度, $I_{50}$  值越大说明酶对抑制剂越不敏感,反之越敏感。从敌敌畏和灭多威对小菜蛾离体和活体内 AChE 的  $I_{50}$  值的比较可看出(表 2),敏感品系 AChE 对药剂的敏感性高于抗性品系,药剂对小菜蛾 AChE 活体内抑制中浓度要高于离体抑制中浓度。无论离体还是活体,云南通海抗性品系小菜蛾的 AChE 对灭多威的敏感性要高于对敌敌畏。敌敌畏和灭多威对通海种群 AChE 离体的  $I_{50}$  分别是敏感品系的 209 倍和 26.5 倍;二者对通海种群 AChE 活体的  $I_{50}$  为敏感品系的 2.21 倍和 2.16 倍。敌敌畏和灭多威对敏感和通海抗性品系小菜蛾 AChE 的抑制作用皆存在明显的剂量效应,随着药剂浓度的增加,酶活性逐渐降低。

2.2.2 药剂对小菜蛾幼虫 AChE 活性抑制的时间效应 测定结果(见表 2)表明,敌敌畏对通海抗性小菜蛾 AChE 离体和活体内的  $IT_{50}$  皆小于敏感品系,分别是敏感品系的 0.32 倍和 0.17 倍;灭多威对通海抗性小菜蛾 AChE 离体和活体内抑制作用的时间进程显示抗性品系的抑制中时间  $IT_{50}$  值大于敏感品系,分别是敏感品系的 1.37 倍和 1.73 倍。

## 3 讨论

云南省 3 个菜区小菜蛾田间种群对药剂的抗性测定结果表明,其已对多种药剂产生了抗性,不同的地区因地域、蔬菜种植水平等不同抗性存在差异。通海地处云南中部,是省内重要蔬菜生产基地,复种指数高,用药频率和水平较高;元谋地处云南干热河谷地区,是国家无公害蔬菜基地,对

表 1 云南不同地区小菜蛾田间种群对药剂的抗药性比较  
Table 1 Comparison of insecticide resistance of different populations of diamondback moth in Yunnan province

杀虫剂 Insecticide	种群 S train	回归方程 b值 S lope $\pm$ SE	LC <sub>50</sub> /( $\mu$ g/mL)	相对倍数 Resistance ratio
敌敌畏 dichlorvos	敏感(北京) Beijing	1.245 $\pm$ 0.210	144.9(84.23~210.9)	1.00
	通海 Tonghai	3.319 $\pm$ 0.361	2971(2254~3988)	20.5
	元谋 Yuanmou	2.991 $\pm$ 0.548	1613(1102~2302)	11.1
敌百虫 trichlorfon	澜沧 Lancang	3.055 $\pm$ 0.486	1363(1090~1676)	9.41
	敏感(北京) Beijing	1.200 $\pm$ 0.209	502.3(361.1~812.5)	1.00
	通海 Tonghai	2.303 $\pm$ 0.279	1.561 $\times 10^4$ (1.284 $\times 10^4$ ~ 1.935 $\times 10^4$ )	31.1
辛硫磷 phoxin	元谋 Yuanmou	1.848 $\pm$ 0.175	2750(1753~4668)	5.47
	澜沧 Lancang	1.837 $\pm$ 0.501	3609(2396~9180)	7.18
	敏感(北京) Beijing	1.679 $\pm$ 0.202	162.5(86.18~250.6)	1.00
灭多威 methomyl	通海 Tonghai	3.881 $\pm$ 0.653	283.0(219.3~397.1)	1.74
	元谋 Yuanmou	3.352 $\pm$ 0.685	3067(1495~5091)	18.9
	澜沧 Lancang	0.784 $\pm$ 0.408	> 2368[19%] <sup>*</sup>	>14.6
氯氰菊酯 cypemethrin	敏感(北京) Beijing	1.037 $\pm$ 0.260	150.6(93.82~357.3)	1.00
	通海 Tonghai	1.733 $\pm$ 0.394	1.956 $\times 10^4$ (1.185 $\times 10^4$ ~ 6.347 $\times 10^4$ )	130
	元谋 Yuanmou	2.790 $\pm$ 0.627	4036(2691~5607)	26.8
高效氯氰菊酯 beta-cypemethrin	澜沧 Lancang	1.359 $\pm$ 0.471	5653(3022~782 $\times 10^4$ )	37.5
	敏感(北京) Beijing	1.299 $\pm$ 0.209	55.02(33.30~81.81)	1.00
	通海 Tonghai	2.802 $\pm$ 0.673	2525(1921~3252)	45.9
氯氟菊酯 cyhalothrin	元谋 Yuanmou	2.468 $\pm$ 0.592	6426(3577~1.604 $\times 10^4$ )	117
	澜沧 Lancang	0.898 $\pm$ 0.193	407.5(211.1~1637)	7.41
	敏感(北京) Beijing	2.230 $\pm$ 0.337	37.63(27.15~49.57)	1.00
氟戊菊酯 fenvalerate	通海 Tonghai	3.044 $\pm$ 0.438	1608(1306~1948)	42.7
	元谋 Yuanmou	1.807 $\pm$ 0.373	4079(1723~1.464 $\times 10^4$ )	108
	澜沧 Lancang	1.763 $\pm$ 0.390	1642(984.6~3212)	43.6
阿维菌素 abamectin	敏感(北京) Beijing	1.293 $\pm$ 0.271	22.24(13.09~34.59)	1.00
	通海 Tonghai	0.992 $\pm$ 0.281	2869(1723~8580)	129
	元谋 Yuanmou	1.465 $\pm$ 0.181	2810(1658~4027)	126
甲氨基阿维菌素 emamectin benzoate	澜沧 Lancang	0.861 $\pm$ 0.193	436.6(257.8~1090)	19.6
	敏感(北京) Beijing	2.166 $\pm$ 0.410	16.33(6.605~30.93)	1.00
	通海 Tonghai	0.685 $\pm$ 0.244	1.248 $\times 10^4$ (4423~1.765 $\times 10^6$ )	764
素苯甲酸盐	元谋 Yuanmou	1.436 $\pm$ 0.278	934.4(233.0~2471)	57.2
	澜沧 Lancang	1.906 $\pm$ 0.383	1300(935.3~1760)	79.6
	敏感(北京) Beijing	1.800 $\pm$ 0.394	0.011(0.007~0.016)	1.00
素苯甲酸盐	通海 Tonghai	1.695 $\pm$ 0.231	446.9(342.9~575.9)	4.06 $\times 10^4$
	元谋 Yuanmou	0.669 $\pm$ 0.219	226.6(79.96~3511)	2.06 $\times 10^5$
	澜沧 Lancang	1.813 $\pm$ 0.436	11.38(8.107~18.47)	1.04 $\times 10^3$
甲氨基阿维菌素 emamectin benzoate	敏感(北京) Beijing	1.097 $\pm$ 0.228	0.005(0.002~0.008)	1.00
	通海 Tonghai	1.457 $\pm$ 0.245	1.761(0.673~3.196)	352
	元谋 Yuanmou	2.105 $\pm$ 0.497	4.522(1.596~7.523)	904
澜沧 Lancang	0.828 $\pm$ 0.282	0.028(3.000 $\times 10^{-5}$ ~ 0.126)	5.60	

注: \* [ ]内数据表示该剂量下小菜蛾幼虫死亡率。

Note: \* [ ] is the mortality with the dosage of insecticide

表 2 药剂对小菜蛾幼虫 AChE 的离体和活体抑制作用比较

Table 2 Comparison of the inhibition of AChE in diamondback moth by insecticides

杀虫剂 Insecticide	品系 Strain	离体抑制中浓度 in vitro I <sub>50</sub> /( $\mu\text{mol/L}$ )	相对倍数 Relative factor	活体抑制中浓度 in vivo I <sub>50</sub> /( $\mu\text{mol/L}$ )	相对倍数 Relative factor
敌敌畏	敏感(北京) Beijing	0.076 $\pm$ 0.032	1.00	23.40 $\pm$ 4.55	1.00
dichlorvos	通海 Tonghai	15.92 $\pm$ 5.78 <sup>**</sup>	209	51.77 $\pm$ 10.15 <sup>*</sup>	2.21
灭多威	敏感(北京) Beijing	0.352 $\pm$ 0.097	1.00	17.17 $\pm$ 6.52	1.00
methomyl	通海 Tonghai	9.318 $\pm$ 3.189 <sup>*</sup>	26.5	37.15 $\pm$ 10.17	2.16

注: 1) 采用 Tukey 多重比较, 同列数据后“\*”和“\*\*”分别表示差异显著(P=0.05)和极显著(P=0.01); 2) 相对倍数=通海 I<sub>50</sub>/敏感 I<sub>50</sub>。下同。

Notes: 1) \* and \*\* in the same column indicate significantly difference at 5% and 1% level 2) Relative factor calculated as I<sub>50</sub> resistance/ I<sub>50</sub> susceptible. The same as Table 3.

表 3 药剂对小菜蛾幼虫 AChE 的离体和活体抑制时间比较

Table 3 Comparison of the inhibition time of AChE in diamondback moth by insecticides

杀虫剂 Insecticide	品系 Strain	离体抑制中时间 In vitro IT <sub>50</sub> /min	相对倍数 Relative factor	活体抑制中时间 In vivo IT <sub>50</sub> /h	相对倍数 Relative factor
敌敌畏	敏感(北京) Beijing	3.875 $\pm$ 0.676	1.00	6.469 $\pm$ 0.799	1.00
dichlorvos	通海 Tonghai	1.241 $\pm$ 0.465 <sup>**</sup>	0.32	1.116 $\pm$ 0.270	0.17
灭多威	敏感(北京) Beijing	10.61 $\pm$ 0.73 <sup>**</sup>	1.00	34.28 $\pm$ 14.05 <sup>**</sup>	1.00
methomyl	通海 Tonghai	14.57 $\pm$ 0.57 <sup>**</sup>	1.37	59.54 $\pm$ 5.76 <sup>**</sup>	1.74

注: 1) IT<sub>50</sub>为抑制 50% 酶活性所需要的时间; 2) 相对倍数=通海 IT<sub>50</sub>/敏感 IT<sub>50</sub>。

Note: 1) IT<sub>50</sub> Time of inhibitor that will inhibit 50% of enzyme activity. 2) Relative factor calculated as IT<sub>50</sub> resistance/ IT<sub>50</sub> susceptible.

有机磷类药剂的使用控制比较严格。云南小菜蛾对阿维菌素类药剂的抗性形势比较严峻。1995年阿维菌素开始在云南推广使用, 1998年已有小菜蛾对其产生抗药性的报道<sup>[8]</sup>; 小菜蛾对该药剂的抗性潜力很大, 近年来这类药剂的频繁使用导致小菜蛾的抗性发展迅猛, 测定结果显示, 目前云南小菜蛾对阿维菌素产生了  $1.04 \times 10^3 \sim 4.06 \times 10^4$  倍的极高抗性, 对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐也产生了上百倍的高抗性。因此, 应加强管理, 科学合理使用该药剂以延长其使用寿命。

杀虫药剂进入生物体内后要通过多种因子才能到达靶标部位发挥毒性, 包括表皮穿透和代谢过程<sup>[14]</sup>。AChE不敏感性是昆虫对药剂产生抗性的主要机制。Bæk 研究表明丙硫磷选育的抗性小菜蛾品系 AChE 的敏感性下降, 其 I<sub>50</sub> 值增加了 26 倍, 并首次报道该品系小菜蛾 AChE 的不敏感是由于 ace1 发生突变引起的<sup>[4]</sup>; 但一些研究也表明, AChE 敏感度降低并非是螭类和昆虫对有机磷类药剂产生抗药性的唯一机制, 解毒代谢的增加也是其对该类药剂产生抗性的原因<sup>[5, 15]</sup>。在本研究中, 敌敌畏对通海小菜蛾抗性品系 AChE 的离体和活体内 I<sub>50</sub> 值

分别是敏感品系的 209 和 2.21 倍, 灭多威则分别为敏感品系的 26.5 和 2.16 倍。小菜蛾抗性品系活体内与离体 I<sub>50</sub> 值的明显差异也说明通海抗性小菜蛾代谢解毒作用的增强可能也是其抗性产生的重要原因。

在抗性昆虫中, AChE 对杀虫剂的敏感性下降, 可能是抗性昆虫 AChE 的量过高所致, 也可能是 AChE 性质发生了改变<sup>[3]</sup>。在多数情况下, AChE 的变构引起的 AChE 敏感性下降是昆虫对有机磷类和氨基甲酸酯类药剂产生抗性的主要机制<sup>[16]</sup>, 变构 AChE 对抑制剂的不敏感还常常伴随着对其底物乙酰胆碱水解能力和亲和性的降低, 即变构 AChE 的米氏常数 K<sub>m</sub> 值升高<sup>[17]</sup>; 但也发现一些抗性害虫的变构 AChE 对底物的水解能力和亲和力保持不变<sup>[18]</sup>, 甚至增加<sup>[19]</sup>。Schuntner 首次观察到, 在澳大利亚抗性铜绿蝇 *Lucilica cuprina* 中二噻磷抑制 50% AChE 所需要的时间要比敏感品系的长<sup>[20]</sup>。各种有机磷与氨基甲酸酯类药剂对酶的抑制能力有很大的不同, 这不仅决定于有机磷及氨基甲酸酯的化学特性, 同时还决定于酶的特性<sup>[21]</sup>, 在昆虫中, 其 AChE 均由单个 ace 编码, 其编码的酶对抑制剂的

敏感性和对底物的催化特性各不相同<sup>[22]</sup>。本研究中,为了便于比较,在测定药剂对小菜蛾 AChE活性抑制的时间效应时,对敏感和抗性品系均分别使用同一浓度处理,该浓度介于敏感和抗性品系离体作用  $I_{50}$  值之间,试验结果表明,灭多威对通海抗性小菜蛾 AChE离体和活体内的抑制中时间 ( $IT_{50}$ ) 皆比敏感品系的长,这与 Schunmer的研究结论一致<sup>[20]</sup>,但敌敌畏对其 AChE离体和活体内的  $IT_{50}$  比敏感品系的短,所得到的  $IT_{50}$  值的差异有可能并非两品系 AChE特征不同引起,而是由于药剂浓度引起的。因此,要明确和了解通海抗性小菜蛾 AChE的特性,还有待于进一步研究。

### 参考文献:

- [1] GAO Xi-wu (高希武). 乙酰胆碱酯酶 (AChE) 的毒理学、生物化学和分子生物学 [M] // LENG Xin-fu (冷欣夫), TANG Zhen-hua (唐振华), WANG Yin-chang (王荫长). Molecular Toxicology of Insecticides and Insect Resistance (杀虫药剂分子毒理学及昆虫抗性). Beijing (北京): China Agriculture Press (中国农业出版社), 1996: 30-56.
- [2] LIN Jian-guo (林建国), ZHANG Chuan-xi (张传溪), TANG Zhen-hua (唐振华). 与昆虫抗性相关的乙酰胆碱酯酶基因突变研究进展 [J]. Chin J Pestic Sci (农药学学报), 2005, 7 (1): 1-6.
- [3] FOURNIER D, BRIDE J M, HOFFMAN F, et al. Acetylcholinesterase: Two Types of Modifications Confer Resistance to Insecticides [J]. J Biol Chem, 1992, 267: 14270-14274.
- [4] BAEK J H, KM J I, LEE D W, et al. Identification and Characterization of Acel type Acetylcholinesterase Likely Associated with Organophosphate Resistance in *Plutella xylostella* [J]. Pestic Biochem Physiol, 2005, 81: 164-175.
- [5] MOHAN M, GUJAR G T. Local Variation in Susceptibility of the Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus) to Insecticides and Role of Detoxification Enzymes [J]. Crop Protection, 2003, 22: 495-504.
- [6] YAN Yan-chun (闫艳春), QIAO Chuan-ling (乔传令), QIAN Chuan-fan (钱传范). 小菜蛾抗药性研究进展 [J]. Entomol Knowl (昆虫知识), 1997, 34 (5): 310-314.
- [7] ZHANG Xue-yan (张雪燕), HE Jie (何婕). 云南省主要菜区小菜蛾抗药性研究初报 [J]. Yunnan Agric Sci Tech (云南农业科技), 1998, (4): 10-13.
- [8] ZHANG Xue-yan (张雪燕), HE Jie (何婕), YE Cui-yu (叶翠玉), et al. 云南小菜蛾对阿维菌素的抗药性监测和药剂防治试验 [J]. J Huazhong Agric Univ (华中农业大学学报), 2001, 20 (5): 426-430.
- [9] SCHULER T H, MARTNEZ-TORRES D, THOMPSON A J, et al. Toxicological, Electrophysiological, and Molecular Characterisation of Knockdown Resistance to Pyrethroid Insecticides in the Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (L.) [J]. Pestic Biochem Physiol, 1998, 59: 169-182.
- [10] CHEN Zhi-hao (陈之浩), LIU Chuan-xiu (刘传秀), LI Feng-liang (李凤良), et al. 小菜蛾继代繁殖大量饲养方法研究初报 [J]. Guizhou Agric Sci (贵州农业科学), 1990, (4): 52-53.
- [11] SMAL F, WRIGHT D J. Cross-resistance between Acylurea Insect Growth Regulators in a Strain of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) [J]. Pestic Sci, 1992, 34: 221-226.
- [12] GAO Xi-wu (高希武). Gonn 等改进的 Ellman 胆碱酯酶活性测定方法介绍 [J]. Entomol Knowl (昆虫知识), 1987, 24 (4): 245-246.
- [13] BRADFORD M M. A Rapid and Sensitive Method for Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein Dye Binding [J]. Anal Biochem, 1976, 72: 248-254.
- [14] LIU Da-peng (刘大鹏). 杀虫剂的透皮吸收和药动效应 [J]. Chinese J Hygienic Insect Equip (中华卫生杀虫药械), 1997, 3 (4): 39-41.
- [15] STUMPF N, ZEBITZ C P W, KRAUS W, et al. Resistance to Organophosphates and Biochemical Genotyping of Acetylcholinesterases in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) [J]. Pestic Biochem Physiol, 2001, 69: 131-142.
- [16] FOURNIER D, MUTERO A. Modification of Acetylcholinesterase as a Mechanism of Resistance to Insecticides [J]. Comp Biochem Physiol, 1994, 108: 19-31.
- [17] ZHU K Y, CLARK J M. Comparison of Kinetic Properties of Acetylcholinesterase from the Colorado Potato Beetle, *Leptinotarsa decemlineata* [J]. Pestic Biochem Physiol, 1995, 51: 57-61.
- [18] ZHAO G Y, LIU W, KNOWLES C O. Mechanisms Associated with Diazinon Resistance in Western Flower Thrips [J]. Pestic Biochem Physiol, 1994, 49: 13-23.
- [19] SILVER A R. A Biochemical Mechanism of Resistance to Pirmicarb in Two Glasshouse Clones of *Aphis gossypii* [J]. Pestic Sci, 1995, 43 (1): 21-29.
- [20] SCHUNTER C A, ROULSTON W J. A Resistance Mechanism in Organophosphorus Resistant Strains of Sheep Blow Fly (*Lucilia cuprina*) [J]. Aust J Biol Sci, 1968, 21: 173-176.
- [21] ZHANG Zong-bing (张宗炳). 杀虫药剂的分子毒理学 [M]. Beijing (北京): Agriculture Press (农业出版社), 1987.
- [22] XU En-bin (徐恩斌), ZHANG Zhong-bing (张忠兵), XIE Wei-fen (谢渭芬). 乙酰胆碱酯酶的研究进展 [J]. Foreign Medical Sciences · Section of Pathophysiology and Clinical Medicine (国外医学·生理病理与临床分册), 2003, 23 (1): 73-75.

(Ed JIN S H)