

· 研究论文 ·

棉蚜对吡虫啉抗性的初步研究

李菁, 韩召军*

(南京农业大学 农业部病虫害监测与治理重点开放实验室, 南京 210095)

摘要:用吡虫啉对棉蚜进行室内抗性筛选, 用药处理 25 次后抗性是筛选前的 20.03 倍; 2007 年对田间棉蚜进行抗性调查, 发现不同地区种群对吡虫啉的抗性差异显著, 江苏南京种群最为敏感, 河南安阳、山东泰安和北京地区棉蚜与之相比, 抗性分别为 2.21、7.63 和 9.53 倍; 抗、感品系解毒酶活力分析发现, 抗性品系的谷胱甘肽 S-转移酶活性增加很少 (比活力 1.12 倍), 但酯酶活力显著高于敏感品系 (比活力 1.71 倍); 增效试验结果表明, 顺-烯二酸二乙酯 (DEM) 在抗、感品系中对吡虫啉均没有明显的增效作用, 而磷酸三苯酯 (TPP) 和增效醚 (PBO) 虽然在敏感品系中对吡虫啉的增效作用较小 (SR 1.24 和 1.29), 但在抗性品系中的增效作用显著增高 (SR 2.13 和 1.74); 此外还发现, 吡虫啉处理可提高棉蚜群体的酯酶活力。由此认为, 棉蚜至少具有对吡虫啉产生中等水平抗性的风险, 其抗性可能是由于棉蚜的酯酶和 P450 单加氧酶的解毒能力提高所致。

关键词: 棉蚜; 吡虫啉; 抗性机理; 解毒酶

中图分类号: S481.4

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2007)03-0257-06

Primary Studies on Resistance of *Aphis gossypii* to Imidacloprid

LI Jing HAN Zhao-jun*

(Key Laboratory of Monitoring and Management of Plant Diseases and Insects, Ministry of Agriculture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract The cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover, was continuously selected with imidacloprid in the laboratory, and its resistance was found to increase by 20.03-fold after treatment for 25 times. Field survey revealed that the imidacloprid resistance in cotton aphid varied dramatically with geographical populations. Nanjing aphid population was the most susceptible, and the relative resistance ratio of the aphids from Anyang, Taian and Beijing were 2.21, 7.63 and 9.53, respectively. Analysis of detoxification enzymes demonstrated that the glutathione-S-transferase was similar in activity in the resistant and the susceptible strain (activity rate R/S 1.12 folds). However, the activity of esterase in resistant strain was significantly higher than that in the susceptible strain (1.71 folds). Synergism tests showed that DEM had little synergistic effect on imidacloprid in both resistant and susceptible strains (synergism ratio, SR 1.11 and 0.95, respectively). However, TPP and PBO showed obvious synergism, and it was more significant in the resistant strain (SR 2.13 and 1.74, respectively) than that in the susceptible strain (SR 1.24 and 1.29, respectively). In addition, treatment with imidacloprid could obviously enhance the esterase activity of aphid populations. Thus, it was concluded that cotton aphid has the potential at least to develop moderate resistance to imidacloprid. The enhanced esterase and cytochrome P450-monooxygenases detoxification might contribute to the imidacloprid resistance in the pest.

收稿日期: 2007-06-04 修回日期: 2007-07-27

作者简介: 李菁 (1983-), 女, 河北石家庄人, 硕士研究生, 从事昆虫生理生化与分子生物学方面的研究; * 通讯作者 (Author for correspondence): 韩召军 (1957-), 男, 江苏邳州人, 教授, 主要从事昆虫生理毒理与分子生物学研究. 联系电话: 025-84395245 E-mail: zhan@njau.edu.cn

©1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Key words *Aphis gossypii* Golver; imidacloprid resistance mechanisms; detoxification enzymes

棉蚜 *Aphis gossypii* Golver 是世界各棉区的重要抗性害虫之一, 目前许多农药品种已对棉蚜失去了防效。吡虫啉 (imidaclopril) 是目前防治棉蚜的主要农药品种, 一旦棉蚜对吡虫啉也爆发抗性, 将给棉花生产造成巨大损失。

目前吡虫啉在田间推广使用已有 10 多年, 稻飞虱、烟粉虱、温室白粉虱及马铃薯甲虫等害虫均已对其产生了一定的抗性^[1-4]。但对于棉蚜, 仅见少数室内吡虫啉抗性品系选育的报道, 其抗性倍数也仅有 10 倍左右^[5,6], 属低水平抗性。目前国内尚未见有关田间棉蚜对吡虫啉的抗性报道。作者通过田间抗性调查和室内抗性筛选, 探讨了棉蚜对吡虫啉产生抗性的风险, 以及产生抗性可能的生化机制。

1 材料与方法

1.1 供试棉蚜及其饲养

选用个体大小较一致的健康无翅成蚜供试。

以 2007 年 4 月中下旬采自当地越冬寄主——木槿上的棉蚜为抗性调查试虫, 采集当天即进行药剂毒力测定; 抗性筛选的初始棉蚜群体为 2006 年 6 月采自南京江浦南京农业大学试验站棉田的棉蚜; 解毒酶活力比较测定和增效试验所使用的抗性品系为室内筛选的吡虫啉抗性品系, 而相对敏感品系为 2007 年 4 月采自南京农业大学校园木槿上的棉蚜种群, 两个品系对吡虫啉的抗性相差 42.3 倍。

室内棉蚜饲养方法参照笼罩法^[7]并加以改进, 在纱笼中用蛭石和营养液 (含 KNO_3 , KH_2PO_4 , FePO_4 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, MgSO_4) 培养的棉花苗饲养棉蚜, 并定期补充、更换新的棉苗。养虫室内温度保持在 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$, 相对湿度 50%~60%, 光暗周期 14:10 (L:D)。

1.2 主要药剂和仪器

吡虫啉 (imidaclopril) 2.5% 可湿性粉剂 (青岛爱普生化工有限公司); Triton X-100 (南京生兴有限公司); 乙酸-1-萘酯 (1-Na) 和固蓝 RR 盐 (化学纯, 国药集团化学试剂有限公司); 还原型谷胱甘肽 (GSH, 日本进口北京原平皓公司分装); 2,4-二硝基氯苯 (CDNB, Sigma 公司); 磷酸三苯酯

(TPP, 优级纯, 北京化学试剂集团公司); 顺丁烯二酸二乙酯 (DEM, 优级纯, 上海化学试剂集团公司); 增效醚 (PBO, 优级纯, Sigma 公司); 其他药品或试剂均为国产分析纯或化学纯。

Spectra Max 340PC 型酶标仪 (Molecular Devices 公司生产)。

1.3 毒力测定方法与增效试验

采用叶面喷雾法进行毒力测定。将药剂稀释成 5~6 个浓度。选取健康无翅成蚜, 用毛笔轻轻挑在木槿叶片上, 用小型喷雾器对叶片正反两面进行充分喷雾。用吸水纸吸去多余药液。将叶片及蚜虫放入纱罩塑料杯中饲养观察。每浓度处理棉蚜 30 头左右, 重复 3 次, 以清水喷雾为对照。24 h 后检查死亡率, 以毛笔尖轻触虫体完全不动者视为死亡。按照 Abbott 公式计算校正死亡率, 按 Finney 机率值法求出 LC_{50} 值、毒力回归线和 95% 置信限等。

增效作用测定以吡虫啉为标准参照, 以吡虫啉 + 增效剂 (增效剂的处理浓度均为 $50 \mu\text{g}/\text{mL}$, 用 0.1% Triton X-100 助溶) 为增效试验处理, 以含不同增效剂的 $50 \mu\text{g}/\text{mL}$ 溶液喷雾为空白对照。根据各处理求得的 LC_{50} 值计算出增效剂作用的增效比 SR。

$$\text{SR} = \frac{\text{药剂单用时的 } \text{LC}_{50} \text{ 值}}{\text{加增效剂后药剂的 } \text{LC}_{50} \text{ 值}}$$

1.4 棉蚜对吡虫啉抗性的室内筛选

大约每两周用吡虫啉处理 (充分喷雾) 蚜虫一次, 每次处理的用药剂量为上一代生物测定确定的 LC_{50} 剂量。

1.5 不同地区棉蚜种群对吡虫啉的抗性调查

于 2007 年 4 月中下旬, 在江苏南京、河南安阳、山东泰安和北京地区采集当地木槿上的棉蚜, 进行棉蚜对吡虫啉抗性的野外调查。

1.6 棉蚜解毒酶活性测定

取 5 头无翅成蚜, 加入 1 mL 预冷的 0.1 mol/L 的磷酸缓冲液 (酯酶: pH 7.0, 含 0.1% 的 Triton X-100 谷胱甘肽 S-转移酶: pH 7.6) 冰浴匀浆, 匀浆液在 $10\,000 \text{ g}$, 4°C 条件下离心 30 min, 上清液置于冰水中, 用作酯酶和谷胱甘肽 S-转移酶的活性测定。每个品系重复 3 次。

酯酶活性测定参考 Han等^[8]方法: 于 96孔酶标板加样孔中依次加入 140 μL 0.1 mol/L pH 7.0 的磷酸缓冲液 (PBS), 10 μL 酶液, 最后加入 150 μL 底物与显色剂的混合液 ($\alpha\text{-NA}$ 10 mg、固蓝 RR 20 mg 溶于 2 mL 丙酮, 用 PBS定容至 25 mL, 过滤), 迅速置于酶标仪中, 在 450 nm 波长下, 每隔 25 s 记录一次光密度值, 共记录 30 次。酶促反应温度为 27°C。数据记录和处理由 Softmax PRO 软件进行。

谷胱甘肽 S-转移酶活性测定采用 Oppenoorth 报道的方法^[9]。在酶标板中每孔依次加入 90 μL 0.1 mol/L pH 7.6 的 PBS、10 μL 酶液、100 μL 1.2 mmol/L 的底物 CDNB 及 100 μL 6 mmol/L 的 GSH, 用上述方法在 340 nm 波长下测定光密度值。

蛋白质含量采用 Bradford 报道的考马斯亮蓝法测定^[10]。离体酶活性测定所得数据采用 Dun-

can's 新复极差法或 Student's t 检验进行处理。

1.7 吡虫啉对棉蚜体内酯酶活性的影响

按照毒力测定方法, 分别用 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (24 h 死亡率在 25% 左右) 和 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (24 h 死亡率在 75% 左右) 的吡虫啉药液, 喷雾处理棉蚜试虫, 以清水为对照。24 h 后记录死亡率, 并在每个处理中随机选取 60 头存活的蚜虫, 按照酯酶活力测定方法测定单头棉蚜的酯酶活力, 考察吡虫啉处理对酯酶活性的影响。

2 结果与分析

2.1 棉蚜对吡虫啉抗性的室内筛选

以南京江浦棉田采回的棉蚜田间品系为基础, 用吡虫啉进行抗性选育。经过近 1 a 的抗性筛选, 抗性增长状况见表 1。

表 1 吡虫啉筛选过程中棉蚜抗性增长状况

Table 1 Resistance development of *Aphis gossypii* to imidacloprid during resistance selection

筛选次数 No. treatments	致死中浓度 LC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	毒力回归方程 $LC-p \text{ line}(y =)$	95% 置信限 95% FL	抗性倍数 Resistance ratio (RR)
1	0.401	$5.524 + 1.317x$	0.334 ~ 0.480	1.00
3	0.575	$5.274 + 1.139x$	0.453 ~ 0.731	1.43
6	1.349	$4.847 + 1.177x$	1.029 ~ 1.770	3.36
9	2.560	$4.262 + 1.807x$	2.114 ~ 3.100	6.38
13	5.251	$3.649 + 1.876x$	4.367 ~ 6.313	13.09
15	6.650	$3.302 + 2.063x$	5.401 ~ 8.187	16.58
19	8.426	$3.271 + 1.868x$	7.012 ~ 10.13	21.01
22	7.978	$3.147 + 2.055x$	6.724 ~ 9.465	19.90
25	8.034	$3.450 + 1.713x$	6.512 ~ 9.913	20.03

从表中可以看出, 经过 25 次连续筛选, 棉蚜对吡虫啉的 LC_{50} 值从 0.401 增长到 8.034 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 抗性是筛选前的 20.03 倍。筛选初期, 棉蚜对吡虫啉的抗性基本属于稳定增长, 但筛选至 19 代以后, 抗性倍数稳定在 20 倍左右, 进入抗性增长平台期。这说明连续施用吡虫啉, 棉蚜对该药剂具有产生中等水平抗性的风险。

2.2 不同地区棉蚜种群对吡虫啉的抗性调查

从表 2 的 LC_{50} 值可以看出, 不同地区棉蚜对吡虫啉的抗性水平相差较大, 其中南京棉蚜最敏感, 以其作为相对敏感种群, 则安阳、泰安、北京三地棉蚜对吡虫啉的相对抗性倍数分别为 2.21、

7.63 和 9.53 倍, 这说明野外棉蚜确实已对吡虫啉产生了一定程度的抗性, 同时也进一步证实了棉蚜具有对吡虫啉产生抗药性的风险。

2.3 吡虫啉抗性品系与相对敏感种群的解毒酶活性

由表 3 中的数据可以看出, 抗性品系酯酶和谷胱甘肽 S-转移酶活性均高于相对敏感品系, 两者相差 1.71 倍, 达到极显著差异; 而谷胱甘肽 S-转移酶活性仅相差 1.12 倍, 并未达到极显著差异。这说明棉蚜对吡虫啉的抗性可能与体内解毒酶活性升高有关, 其中酯酶所起的作用显著大于谷胱甘肽 S-转移酶。

表 2 不同地区棉蚜对吡虫啉的抗性调查结果

Table 2 Imidacloprid resistance of *Aphis gossypii* from 4 different areas in China

调查地区 Areas	南京 Nanjing	安阳 Anyang	泰安 Taian	北京 Beijing
LC ₅₀ (95% FL) /($\mu\text{g}/\text{mL}$)	0.19(0.14~0.26)	0.42(0.33~0.54)	1.45(0.93~2.27)	1.81(0.99~3.30)
相对抗性倍数 Relative resistance ratio	1	2.21	7.63	9.53

表 3 棉蚜不同品系中两种解毒酶活性的比较

Table 3 Activity of detoxification enzymes in different strains of *Aphis gossypii*

品系 Strains	LC ₅₀ (95% FL) /($\mu\text{g}/\text{mL}$)	解毒酶活性 Detoxification enzyme activity /($\text{mOD} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \mu\text{g}^{-1} \text{protein}$)	
		酯酶 / α -乙酸萘酯 EST/ α -NA	谷胱甘肽 S-转移酶 /CDNB GST/CDNB
抗性品系 (R) Resistant strain (R)	8.03 (6.51~9.91)	241.48 \pm 28.55 A	42.10 \pm 6.89 A
相对敏感品系 (S) Relative susceptible strain (S)	0.19 (0.14~0.26)	141.17 \pm 34.77 B	37.59 \pm 3.31 A
比率 Ratio (R/S)	42.3	1.71	1.12

注: 酶活性同一列数值后的不同字母表示两者间差异极显著 ($\alpha = 0.01$, Duncan's 检验)。

Note: Means in the column followed different letters are significantly different ($\alpha = 0.01$, Duncan's test).

2.4 增效剂对吡虫啉的增效作用

为了进一步证实不同解毒酶在棉蚜对吡虫啉抗性中的作用, 利用酯酶、P450单加氧酶和谷胱甘

肽 S-转移酶的抑制剂 TPP、PBO 和 DEM 为增效剂, 分别测定了它们在棉蚜抗、感品系中对吡虫啉的增效作用, 结果见表 4。

表 4 TPP、PBO 和 DEM 在棉蚜抗性、敏感品系中对吡虫啉的增效作用

Table 4 Synergistic effects of TPP, PBO and DEM on imidacloprid in resistant and susceptible strains of *Aphis gossypii*

品系 Strains	处理 Treatment	致死中浓度 (95% 置信限) LC ₅₀ (95% FL) /($\mu\text{g}/\text{mL}$)	斜率 Slope	增效比 Synergism ratio (SR)
相对敏感品系 (S)	Imidacloprid	0.256(0.21~0.32)	1.72	
	Imidacloprid + TPP	0.207(0.17~0.26)	1.75	1.24
	Imidacloprid + PBO	0.199(0.16~0.26)	1.44	1.29
	Imidacloprid + DEM	0.269(0.21~0.35)	1.24	0.95
抗性品系 (R)	Imidacloprid	8.043(5.59~11.57)	1.30	
	Imidacloprid + TPP	3.778(2.99~4.77)	1.78	2.13
	Imidacloprid + PBO	4.635(3.43~6.26)	1.41	1.74
	Imidacloprid + DEM	7.240(4.97~10.54)	1.26	1.11

从表 4 可以看出, 除 DEM 外, TPP 和 PBO 在两供试品系中有明显的增效作用, 且在抗性品系中的作用显著高于敏感品系, 尤其是 TPP, 其增效比大于 2。由此可以推断, 酯酶和多功能氧化酶在棉蚜对吡虫啉的抗性中均起到了一定的作用, 而谷胱甘肽 S-转移酶在对吡虫啉的解毒过程中可能仅发挥了次要作用。

2.5 吡虫啉对棉蚜体内酯酶活性的影响

为了进一步证实酯酶在吡虫啉解毒和抗性中

的作用, 用不同剂量的吡虫啉处理棉蚜, 观察吡虫啉对棉蚜酯酶活力的影响, 结果见表 5。

结果表明, 吡虫啉可以显著提高棉蚜体内的酯酶活力, 且高剂量处理效果更突出。另外, 从处理的死亡率以及处理后群体中个体的最大和最小酶活力看, 用 $0.1 \mu\text{g}/\text{mL}$ 吡虫啉处理虽然导致 26.74% 的棉蚜死亡, 但残虫群体的个体最小和最大酯酶活力并未改变, 说明在该剂量下, 吡虫啉对高酯酶活力个体的选择作用不明显。群体平均酯

酶活力的提高,主要是中低水平个体酯酶活力的升高,表现出明显的酯酶诱导效应。而 $1 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的吡虫啉处理导致了 74.31% 棉蚜死亡,残虫群体的个体最小和最大酯酶活力大幅度提高,残虫群体平均酶活力也大幅度升高。说明在该剂量下,吡虫啉通过杀死具有低酯酶活力的个体,或诱导

蚜虫产生更多的酯酶,从而使个体酯酶活力分布向高端整体移动。虽然本试验尚无法区分吡虫啉对棉蚜酯酶的选择作用和诱导作用,但可以证实棉蚜对吡虫啉的解毒反应和抗性反应均涉及到棉蚜群体酯酶活力的升高。

表 5 不同浓度吡虫啉处理后棉蚜个体酯酶活力的分布统计*

Table 5 Statistics of esterase activity in cotton aphid individuals treated with different concentrations of imidacloprid

处理 Treatments	吡虫啉浓度 Imidacloprid concentration		对照 CK
	$1 \mu\text{g}/\text{mL}$	$0.1 \mu\text{g}/\text{mL}$	
测定个体数 Individuals tested	60	60	60
平均酯酶活力 $\pm\text{SD}$ [*] Mean EST activity $\pm\text{SD}$	106.7 ± 45.2	77.3 ± 36.0	66.5 ± 34.6
活力最小值 Activity minimum	35.55	12.72	13.23
活力最大值 Activity maximum	214.50	175.76	175.30
处理死亡率 Mortality (%)	74.31	26.74	5.56

* 酯酶活力单位为 $\text{mOD} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \mu\text{g}^{-1} \text{protein}$ 。* The unit of esterase activities was $\text{mOD} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \mu\text{g}^{-1} \text{protein}$.

3 讨论

作者以南京江浦棉田的棉蚜种群为基础,进行吡虫啉抗性的室内筛选,经过 25 次的连续用药筛选获得了中等水平的抗性。此外,野外抗性调查也发现,在我国局部地区棉蚜确实已经对吡虫啉产生了一定程度的抗药性。由此说明棉蚜具有对吡虫啉产生抗药性的风险。

目前国内外有关吡虫啉抗性机理的研究报道不少。其中,除了刘泽文等报道的实验室筛选的褐飞虱对吡虫啉抗性品系具有靶标抗性外^[11, 12],其余大都认为是由于 P450 单加氧酶活力升高所致^[2, 13-15]。由于蚜虫具有 P450 单加氧酶的内源性抑制剂,目前尚没有立体测定蚜虫 P450 单加氧酶活力的成功方法,但本研究通过 PBO 进行的增效试验结果证实了 P450 单加氧酶活力升高是棉蚜对吡虫啉产生抗性的机理之一,这与 P450 单加氧酶活力升高是不同害虫对吡虫啉产生抗性的普遍机制^[15-17]是一致的。另外,吡虫啉虽然不是酯类化合物,但由于其内吸性强,水溶性不高,因此,其对生物活性物质的亲和力较高。而酯酶已经被证实不仅可以通过水解酯键降解有毒物质,而且可以通过结合作用降低体内有毒物质的有效浓度^[18-20]。因此,酯酶活力升高可以成为非酯类农药的抗性机理,这在其他抗药性研究中已有报道^[2, 21-23]。

综上所述,本研究认为,棉蚜具有对吡虫啉产生一定抗性的风险;棉蚜对吡虫啉的中等水平抗性主要是由于酯酶和 P450 单加氧酶活力升高所致;棉蚜能否对吡虫啉产生极高水平的抗性,并出现靶标突变抗性,尚需进一步研究。但鉴于目前的研究结果,笔者认为生产上可以利用酯酶和 P450 单加氧酶的抑制剂来提高吡虫啉对棉蚜的防效,并延缓其抗药性发展。

致谢:本研究抗性调查期间,曾得到安阳中国农业科学院棉花研究所的崔金杰主任、北京中国农业科学院植保所的郭建英博士和张毅波同学的热情帮助,在此一并致谢!

参考文献:

- [1] CHENG Jia-an (程家安), ZHU Zeng-rong (祝增荣). 2005 年长江流域稻田褐飞虱暴发成灾原因分析 [J]. *Plant Protection* (植物保护), 2006, 32(4): 1-4
- [2] ZHAO J Z, BISHOP B A, Grafius E J. Inheritance and Synergism of Resistance to Imidacloprid in the Colorado Potato Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) [J]. *J Econ Entomol*, 2000, 93(5): 1508-1514.
- [3] PRABHAKER N, CASFLE S, HENNEBERRY T J et al. Assessment of Cross-Resistance Potential to Neonicotinoid Insecticides in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) [J]. *Bull Entomol Res*, 2005, 95(6): 535-543
- [4] GORMAN K, DEVINE G, BENNISON J et al. Report of Resistance to the Neonicotinoid Insecticide Imidacloprid in

- Trialeurodes vaporariorum* (Homiptera Aleyrodidae) [J]. *Pest Manag Sci* 2007, 63(6): 555-558.
- [5] PAN Wen-liang (潘文亮), DANG Zhi-hong (党志红), GAO Zhan-lin (高占林). 棉蚜抗吡虫啉品系和敏感品系主要解毒酶活性比较 [J]. *Acta Entomologica Sinica* (昆虫学报), 2003, 46(6): 793-796
- [6] YU Cai-hong (于彩虹), LIN Rong-hua (林荣华), WANG Kai-yuan (王开运), et al. 棉蚜对吡虫啉等杀虫剂抗药性品系的室内选育及抗药性风险评价 [J]. *Journal of Plant Protection* (植物保护学报), 2004, 31(4): 401-405
- [7] LI Fei (李飞), HAN Zhao-jun (韩召军). 棉蚜饲养技术-笼罩法 [J]. *Chinese Bulletin of Entomology* (昆虫知识), 2001, 38(3): 225-227
- [8] HAN Z., MOORE S G., DENHOLM I et al. A Association between Biochemical Markers and Insecticide Resistance in Cotton Aphid, *Aphis gossypii* [J]. *Pestic Biochem Physiol*, 1998, 62: 164-171.
- [9] OPPENOORTH F J, VANDER PAS L J T, HOUX N W. G Glutathione S-transferase and Hydrolytic Activity in Tetrachlorophos Resistant Strain of Housefly and their Influence on Resistance [J]. *Pestic Biochem Physiol*, 1979, 11: 176-178
- [10] BRADFORD M M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantification of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-dye Binding [J]. *Analyt Biochem*, 1976, 72: 248-254
- [11] LU Z, WILLIAMSON M S, HAN Z, et al. A Nicotinic Acetylcholine Receptor Mutation Conferring Target-site Resistance to Imidacloprid in *Nikaparvata lugens* (Brown Planthopper) [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(24): 8420-8425
- [12] LU Z, WILLIAMSON M S. A Nicotinic Acetylcholine Receptor Mutation (Y151S) Causes Reduced Agonist Potency to a Range of Neonicotinoid Insecticides [J]. *J Neurochem*, 2006, 99(4): 1273-1281
- [13] WEN Z M, SCOTT J G. Cross-resistance to Imidacloprid in Strains of German Cockroach (*Blattella germanica*) and Housefly (*Musca domestica*) [J]. *Pestic Sci*, 1997, 49: 367-371
- [14] NAUEN R, STUMPF N. Toxicological and Mechanistic Studies on Neonicotinoid Cross Resistance in Q-type *Bemisia tabaci* (Homiptera Aleyrodidae) [J]. *Pest Manag Sci*, 2002, 58(9): 868-875
- [15] RAUCH N, NAUEN R. Identification of Biochemical Markers Linked to Neonicotinoid Cross Resistance in *Bemisia tabaci* (Homiptera Aleyrodidae) [J]. *Arch Insect Biochem Physiol*, 2003, 54(4): 165-176
- [16] NAUEN R, ELBERT A. European Monitoring of Resistance to Insecticides in *Myzus persicae* and *Aphis gossypii* (Homiptera Aphididae) with Special Reference to Imidacloprid [J]. *Bull Entomol Res*, 2003, 93(1): 47-54.
- [17] LIU Z, HAN Z. Fitness Costs of Laboratory-selected Imidacloprid Resistance in the Brown Planthopper *Nikaparvata lugens* Stål [J]. *Pest Manag Sci*, 2006, 62(3): 279-282
- [18] DEVONSHIRE A L, MOORE G D. A Carboxylesterase with Broad Substrate Specificity Causes Organophosphorus Carbamate and Pyrethroid Resistance in Peach Potato Aphids (*Myzus persicae*) [J]. *Pestic Biochem Physiol*, 1982, 18: 235-246
- [19] CUANY A, HANDANI J, BERGE J et al. Action of Esterase B1 on Chlorpyrifos in Organophosphate Resistance *Culex mosquito* es [J]. *Pestic Biochem Physiol*, 1993, 45: 1-6
- [20] JAYAWARDENA K G. Determination of the Role of Elevated B2 Esterase in Insecticide Resistance in *Culex quinquefasciatus* (Diptera Culicidae) from Studies on the Purified Enzyme [J]. *Bull Entomol Res*, 1994, 84: 39-44
- [21] ARGENTINE J A, CLARK J M, LIN H. Genetics and Biochemical Mechanism of Abamectin Resistance in Two Isogenic Strains of Colorado Potato Beetle [J]. *Pestic Biochem Physiol*, 1992, 44: 192-207
- [22] SIQUEIRA H A A, Guedes R N C, Fragoso D B, et al. Abamectin Resistance and Synergism in Brazilian Populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera Gelechiidae) [J]. *Inter Pest Manag*, 2001, 47(4): 247-251
- [23] JIANG Wei-hua (姜卫华), HAN Zhao-jun (韩召军). 二化螟对氟虫腈抗性初探 [J]. *Chin J Rice Sci* (中国水稻科学), 2005, 19(6): 577-579

(Ed. JIN SH)