

• 研究论文 •

亚致死浓度多杀菌素 对西花蓟马解毒酶系活力的影响

龚佑辉, 吴青君*, 张友军, 徐宝云

(中国农业科学院 蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘要: 采用亚致死浓度(LC_{25})多杀菌素对西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* 相对敏感(SS)种群进行连续选育, 获得亚致死(Sub)种群。处理36代后, Sub种群对多杀菌素的敏感性下降到SS种群的5.2倍。用SS和Sub种群各自的 LC_{10} 和 LC_{25} 浓度多杀菌素分别处理两种群的2龄若虫, 1、6、12、24和48 h后测定羧酸酯酶(CaE)、谷胱甘肽S-转移酶(GSTs)和多功能氧化酶(MFOs)的比活力。结果表明, Sub种群对照组CaE和GSTs比活力在除第48 h外的其他时间段都高于SS种群对照组, 且6 h时两者CaE比活力差异显著, Sub种群是SS种群的1.37倍; Sub种群对照组MFOs比活力在各时间段都高于SS种群对照组, 在1和6 h时差异显著, 前者分别是后者的1.62和1.36倍。再经各自的 LC_{10} 和 LC_{25} 浓度多杀菌素处理后, 在各时间段Sub种群的CaE比活力均高于SS种群; LC_{25} 浓度处理后, Sub种群的GSTs和MFOs比活力虽在短时间内低于SS种群, 但随处理时间的延长其比活力均高于SS种群。说明SS种群经亚致死浓度多杀菌素选育36代后, 其体内CaE、GSTs和MFOs比活力有上升趋势; 继续用亚致死浓度多杀菌素处理, 则Sub种群体内解毒酶活力的动态调节能力要强于SS种群。

关键词: 西花蓟马; 多杀菌素; 亚致死浓度; 解毒酶系

DOI 10.3969/j.issn.1008-7303.2009.04.05

中图分类号: S482.3

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2009)04-0427-07

Effect of Sublethal Concentration of Spinosad on the Activity of Detoxifying Enzymes in the Western Flower Thrips *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae)

GONG You-hui, WU Qing-jun*, ZHANG You-jun, XU Bao-yun

(Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract A sublethal strain of western flower thrips (WFT), *Frankliniella occidentalis* (Sub) was obtained by selecting the relative susceptible strain of WFT (SS) with LC_{25} of spinosad. After 36 generations of selection, its sensitivity to spinosad decreased 5.2-fold compared to the SS strain. The second instar larvae of the SS and Sub strains were treated with LC_{10} or LC_{25} of spinosad and the specific activity of the detoxifying enzymes was determined after 1, 6, 12, 24 and 48 h, respectively. The results showed that for the untreated control group the specific activity of the

收稿日期: 2009-04-15 修回日期: 2009-07-13

作者简介: 龚佑辉 (1982-), 女, 湖南人, 硕士, E-mail gyh922@yahoo.cn * 通讯作者 (Author for correspondence): 吴青君 (1971-), 女, 河北人, 博士, 副研究员, 主要从事蔬菜害虫毒理及害虫抗药性治理研究。联系电话: 010-82109518 E-mail wuq@mail.caas.net.cn

基金项目: 国家重点基础研究发展规划 (“973”计划)项目 (2009CB119004); 北京市自然科学基金 (6092018); “十一五”国家科技支撑计划项目 (2006BAD08A03); 农业行业科技专项 (200803025)。

carboxylesterase (CaE) and the glutathione S-transferase (GSTs) in the Sub strain were higher than those in the SS strain except 48 h after treatment. In addition, the difference of CaE activity between the two strains after treatment for 6 h was significant, the difference was 1.37-fold. The activity of the mixed-function oxidases (MFOs) of the Sub strain were higher than those of the SS strain, and showed significant difference between 1 h and 6 h after treatment. The differences were 1.62-fold and 1.36-fold, respectively. For the spinosad treated groups at LC₁₀ or LC₂₅, the CaE activity in the Sub strain was higher than that in the SS strain. The GSTs and MFOs activity in the Sub strain was lower than that in the SS strain shortly after treatment by LC₂₅ of spinosad, but turned to be higher with the time prolonged. The results indicated that after the SS strain was selected with sublethal concentration of spinosad for more than 36 generations, the activity of the detoxification enzymes showed an increasing trend. The Sub strain had stronger ability of regulating the detoxifying enzymes than that of the SS strain when treated with sublethal concentration of spinosad.

Key words *Frankliniella occidentalis*; spinosad; sublethal concentration; detoxifying enzymes

西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* 又称苜蓿蓟马, 属缨翅目 Thysanoptera 蓟马科 Thripidae, 是世界性的园艺作物上的重要害虫。该虫最早发生于北美地区, 自 20 世纪 80 年代后, 迅速扩散至荷兰等 69 个国家和地区, 2003 年在北京地区保护地第一次被发现^[1], 是蔬菜和花卉上的重要害虫之一, 为害严重时会造成巨大的经济损失^[2,3]。目前对西花蓟马以化学防治为主, 但由于其繁殖能力强, 个体细小, 隐匿危害, 给防治造成很大困难, 有报道证实西花蓟马已对拟除虫菊酯类、氨基甲酸酯类、有机磷类以及阿维菌素和多杀菌素产生了不同程度的抗药性^[4,11]。羧酸酯酶 (CaE)、谷胱甘肽 S-转移酶 (GSTs)、多功能氧化酶系 (MFOs) 是昆虫体内重要的三大代谢解毒酶系, 在杀虫剂代谢、昆虫抗药性等方面都具有重要的作用^[12-14]。

多杀菌素 (spinosad) 是美国陶氏益农公司生产的新型生物源农药, 是刺糖多孢菌 *Saccharopolyspora spinosa* 在培养介质中经有氧发酵而得的次级代谢产物, 能有效控制鳞翅目、双翅目和缨翅目害虫, 对捕食性昆虫表现出较低的毒性^[15-16]。多杀菌素是目前为数不多的防治西花蓟马的高效药剂^[17-19], 但西班牙的田间种群已对其产生高水平抗性^[11], 国内尚无相关报道。

杀虫剂施用于田间后, 除对害虫有直接致死作用外, 随着个体间接触药量的差异及时间的推移, 对部分个体还存在着亚致死效应, 包括害虫生物学、生理学和生态学行为的改变, 以及抗药性的发展等^[20-22]。近年来, 有关亚致死浓度杀虫剂对害虫解毒代谢酶系和生物学影响的研究较多^[23-26], 这为阐明害虫再猖獗机制和合理使用农药提供了科学依据。但多数研究仍局限于以杀虫

剂处理后昆虫亲代或子一代的变化, 对于多代连续暴露在低浓度杀虫剂下昆虫的变化的研究却很少。笔者采用亚致死浓度多杀菌素对西花蓟马进行多代处理, 在 LC₂₅ 浓度下继代饲养 36 代后, 对处理后相对敏感种群和亚致死种群解毒酶系的活力变化进行了研究, 分析了酶活力的变化动态, 旨在为了解多杀菌素在田间的作用方式以及有效防治西花蓟马提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试虫及饲养

西花蓟马相对敏感 (SS) 种群: 2003 年从中国农业科学院蔬菜花卉研究所温室内的甜瓜 *Cucumis melo* L. 上采集, 参照 Zhang 等^[27] 方法在室内用豆英法饲养至今。饲养条件为: 25 °C ± 1 °C, 相对湿度 65%, 光周期 16L: 8D, 期间未接触任何杀虫剂。西花蓟马亚致死 (Sub) 种群: 虫源来自 SS 种群, 选育方法为将新鲜干净的菜豆 *Phaseolus vulgaris* 用多杀菌素 LC₂₅ 浓度药液浸泡 2 h (每次汰选处理浓度为 Sub 种群前一个饲养世代对多杀菌素的 LC₂₅ 计算值), 自然晾干后喂食西花蓟马成虫, 若虫用无毒菜豆饲养。饲养条件同 SS 种群。

1.2 供试药剂和仪器

2.5% 多杀菌素 (spinosad 商品名菜喜) 悬浮剂 (美国陶氏益农公司); Bradford 法蛋白定量试剂盒 (北京博迈德科技发展有限公司); L-谷胱甘肽 (还原型, GSH), 纯度 > 99.5% (Rocha 公司); 还原型辅酶 II (NADPH, Rocha 公司); 试剂为化学纯或分析纯。Sigma 3K15 型冷冻离心机 (BMH

Instruments Co. LTD, 德国); Sunrise Remote/Touch screen 酶标仪 (澳大利亚)。

1.3 生物测定

参考 Alfredo 的 TIBS 法^[28], 经适当修改建立了叶管药膜法。将每个浓度药液分别注满 4 只 1.5 mL 的离心管, 每只为 1 个重复, 盖紧后平放 4 h, 对照用蒸馏水浸管。倒掉药液, 将离心管置于室温下晾干, 待用。将长约 10 cm 左右的细针针尖用酒精灯加热, 在晾干的离心管管底烫直径约 2~3 mm 的孔。将无虫的新鲜嫩甘蓝叶洗净, 晾干后用打孔器打成直径为 1.5 cm 的小圆片, 分别在每个浓度药液中浸 10 s。浸药叶碟置实验台上晾干, 待用。在吸虫前, 将浸药叶碟放入用相应浓度药液处理过的离心管中, 每管 1 片, 放置平整。将西花蓟马从管底的烫孔吸入离心管, 每管 15~25 头, 盖好管盖, 封好烫孔, 于 25 °C 条件下放置 2 d 后调查结果。数据用 POLO 软件处理, 计算 LC₁₀、LC₂₅、LC₅₀ 值及其 95% 置信区间等。

1.4 亚致死浓度处理

根据生物测定结果, 以两个种群各自 48 h 后的 LC₁₀ 和 LC₂₅ 值作为亚致死浓度, 对照用蒸馏水。处理方法同 1.3 节。试虫为大小一致的 SS 种群和 Sub 种群 2 龄若虫, 每个种群分别设 LC₁₀、LC₂₅ 处理组和对照组, 共 6 个处理。每处理 200~300 头若虫, 分别饲喂 1、6、12、24、48 h 后取活虫制备酶液。

1.5 酶液的制备

取处理后试虫, 每 40 头放入 1.5 mL 离心管中, 加入 50 μL 冷的、pH 7.5 0.1 mol/L 的磷酸缓冲液, 在冰盒上用玻璃研磨棒研磨, 再加 450 μL 缓冲液冲洗研磨棒。每处理至少 4 个重复。于 4 °C、10 000 r/min 下离心 5 min, 取上清液即为酶液, -20 °C 下保存, 用于测定 CarE 和 GSTs 比活力。

1.6 羧酸酯酶 (CarE) 比活力测定

参照高希武^[29]和 Jensen^[30]的方法。在酶标板孔中依次加 25 μL 酶液、75 μL 1 mmol/L 的 a-NA 和 50 μL 6 g/L 的固蓝 RR 盐, 每处理至少 4 个重复, 立即在 450 nm 下读数 5 min, 60 次。以时间和光密度值作图, 求出线性部分的斜率, 即以反应的初速度为酶活力。测定工作酶液蛋白质含量, 计算 CarE 的比活力, 单位为 $\Delta OD \cdot \text{min}^{-1} \cdot$

$\text{mg}^{-1} \text{pro.}$

1.7 谷胱甘肽 S-转移酶 (GSTs) 比活力测定

参照 Jensen^[30]的方法, 以 2,4-二硝基氯苯 (CDNB) 为底物, 在酶催化下形成谷胱甘肽 S-芳基复合体, 在 340 nm 处出现最大吸收峰。在酶标板孔中依次加 10 μL 酶液, 10 μL pH 7.5 0.1 mmol/L 的磷酸缓冲液, 100 μL 2 mmol/L 的 CDNB 和 80 μL 12.5 mmol/L 的 GSH。在 340 nm 下读数 5 min, 60 次。每处理至少重复 4 次。以时间和光密度值作图, 求出线性部分的斜率, 即以反应的初速度为酶活力。测定工作酶液蛋白质含量, 计算 GSTs 的比活力。参见杨秀清等^[31], 依照以下公式计算酶活力:

$$\text{GSTs 活力} (\mu\text{mol/min}) = \frac{\Delta OD_{340} \cdot v}{e \cdot L}$$

式中 ΔOD_{340} 为吸光度每分钟的变化值 ($\Delta OD_{340}/\text{min}$)、v 为酶促反应体系 (mL)、e 为产物的消光系数 [$0.0096 \text{ L} \cdot (\mu\text{mol} \cdot \text{cm})^{-1}$], L 为比色杯的光程 (1 cm)。GSTs 比活力单位为 $\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \text{pro} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

1.8 多功能氧化酶 (MFOs) 比活力测定

参照 Yu 等^[32]方法作适当改进, 采用酶标仪测定多功能氧化酶 O-脱甲基活力: 以对硝基苯甲醚为底物, 在 MFOs 作用下生成对硝基苯酚钠, 在 405 nm 下用酶标仪测定。以对硝基苯酚制作标准曲线。将 40 头处理后的 2 龄若虫置于 1.5 mL 的离心管中, 加 500 μL 0.1 mol/L、pH 7.8 的磷酸缓冲液 PBS [含 1 mmol/L 的乙二胺四乙酸 (EDTA), 1 mmol/L 的二硫苏糖醇 (DTT), 1 mmol/L 的苯硫脲 (PTU), 1 mmol/L 的苯甲基磺酰氨 (PMSF)], 冰浴下用玻璃研磨棒研磨匀浆。在 4 °C、12 000 r/min 下离心 10 min, 取上清液再次离心 30 min, 作为测定酶液。每处理 4 次重复。反应体系为: 90 μL 酶液、10 μL 9.6 mmol/L 的 NADPH、100 μL 2 μmol/L 的对硝基苯甲醚。30 °C 下静置 30 min 后测定工作酶液蛋白质含量。在 405 nm 下比色, 用对硝基酚的生成量表示酶的比活力 ($\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \text{pro} \cdot 30 \text{ min}^{-1}$)。

1.9 蛋白质浓度测定与统计分析

根据 Bradford 法蛋白定量试剂盒说明书进行测定。方差分析采用 SAS 软件 (Proc ANOVA; SAS Institute, 2000), 采用 Fisher's LSD 进行差异显

著性测定 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 多杀菌素对西花蓟马的毒力

西花蓟马 SS 和 Sub 种群对多杀菌素的敏感性测定结果见表 1。可以看出, Sub 种群用多杀菌素连续处理 36 代后, 其敏感性显著下降到相对敏感种群的 5.2 倍。而且 Sub 种群的斜率 (1.178 1)

小于 SS 种群的 (1.393 3), 说明 Sub 种群的异质性增高, 分散程度大于相对敏感种群, 用亚致死浓度连续处理西花蓟马有产生抗药性的风险。进一步计算得到 SS 种群和 Sub 种群在 48 h 的 LC_{25} 值和 LC_{10} 值分别为 0.005 9、0.002 5 和 0.025 1、0.007 7 mg/L, 以此作为亚致死浓度处理 2 龄若虫。

表 1 敏感和亚致死种群西花蓟马 2 龄若虫对多杀菌素的敏感性

Table 1 Susceptibility of the second instar larvae of susceptible and sublethal dose selected *Frankliniella occidentalis* to spinosad

品系 Strain	斜率 b ±SE	LC_{50} / (mg/L)	95% 置信限 95% Confidence limit / (mg/L)	卡方 χ^2	LC_{25} / (mg/L)	LC_{10} / (mg/L)
SS	1.393 ±0.055	0.018	0.014 ~ 0.023	0.615	0.006	0.002
Sub	1.178 ±0.095	0.094	0.061 ~ 0.144	1.709	0.025	0.008

注: SS, 相对敏感种群; Sub, 亚致死浓度连续选育 36 代后的种群。

Note: SS, spinosad relative susceptible strain; Sub, sublethal spinosad selected SS strain for more than 36 generations

2.2 亚致死浓度处理不同种群西花蓟马若虫后 CarE 比活力比较

从图 1-A 可以看出, 经过 LC_{25} 低浓度选育 36 代的亚致死种群, 在大部分时间段其 CarE 比活力都高于相对敏感种群, 且 6 h 时两者 CarE 活力差异显著, 前者是后者的 1.37 倍, 说明 LC_{25} 低浓度选育刺激了西花蓟马体内 CarE 比活力的上升。再用两种群各自的 LC_{10} 浓度分别处理两个种群 (图 1-B), Sub 种群除 12 h 与 SS 种群相当外, 其余时间段的 CarE 比活力均高于 SS 种群; 用各自的 LC_{25} 浓度处理, 则 Sub 种群的 CarE 比活力在各个时间段均高于 SS 种群 (图 1-C)。

2.3 亚致死浓度处理不同种群西花蓟马若虫后 GSTs 比活力比较

如图 2-A 所示, Sub 种群对照组除在第 48 h 时的 GSTs 比活力低于 SS 种群对照组外, 其他时间段的比活力都高于 SS 种群, 说明 LC_{25} 低浓度选育西花蓟马 36 代后刺激了其体内 GSTs 比活力的上升。再经 LC_{10} 浓度处理后, 除 12 h 外, 其他时间段 SS 种群的 GSTs 比活力均高于 Sub 种群 (图 2-B); LC_{25} 浓度处理后, Sub 与 SS 种群的 GSTs 比活力开始无显著差异, 但在 24 和 48 h 时 Sub 种群均明显高于 SS 种群 (图 2-C)。

2.4 亚致死浓度处理不同种群西花蓟马若虫后 MFOs 比活力比较

如图 3-A 所示, Sub 种群对照组各时间段的

MFOs 比活力均高于 SS 种群, 在 1 和 6 h 时达到显著差异, 前者分别是后者的 1.62 和 1.36 倍, 说明 LC_{25} 低浓度选育西花蓟马 36 代后刺激了其体内 MFOs 比活力的上升。再经 LC_{10} 浓度处理后, SS 种群的比活力在 1、6 和 12 h 时高于相对应的 Sub 种群, 但 24、48 h 时低于 Sub 种群 (图 3-B); 经 LC_{25} 浓度处理后, SS 种群的 MFOs 比活力在 1 h 和 6 h 时高于相对应的 Sub 种群, 但 12、24、48 h 时均低于 Sub 种群 (图 3-C)。

3 讨论

有关杀虫剂亚致死效应的研究多集中在处理害虫一代或几代后引起的一系列变化上, 包括药剂的亚致死效应能提高其对害虫种群的防治效果^[33-34]等, 但关于害虫多代持续处于杀虫剂亚致死浓度的选择压力下, 可能会引起种群变化的研究较少。本研究通过亚致死浓度多杀菌素连续处理 36 代西花蓟马获得了其亚致死种群, 该种群对多杀菌素的敏感性下降到相对敏感种群的 5.2 倍, 表明已经产生了低水平抗性。可以看出, 虽然药剂的亚致死效应能提高其对害虫种群的防治效果, 但也为害虫抗药性的产生提供了持续的选择压力^[35-36], 有进一步产生抗药性的风险。目前我国尚未有西花蓟马对多杀菌素产生抗性的报道, 但随着多杀菌素使用量的逐年增加和防治范

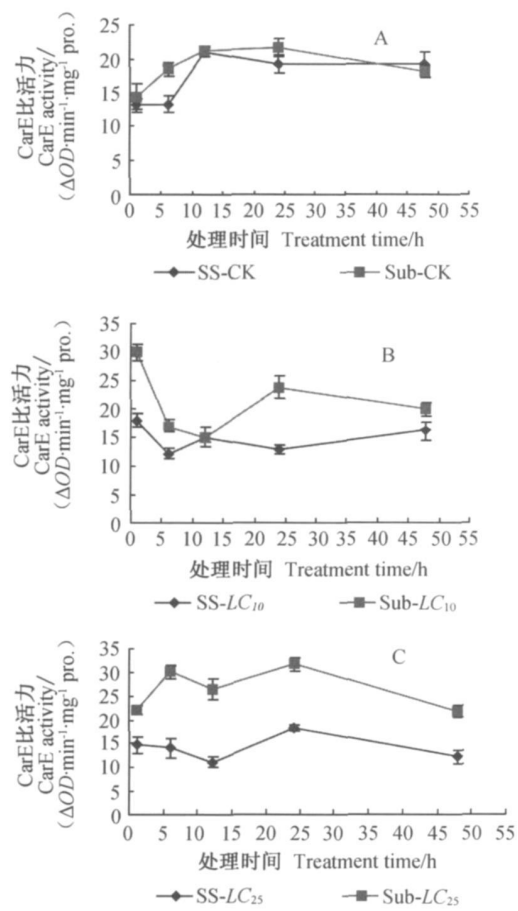


图 1 亚致死浓度多杀菌素作用下西花蓟马 CarE 的比活力变化

Fig 1 Changes of CarE activity in western flower thrips after treated with sublethal concentrations of spinosad

A: 对照组 (CK group); B: LC₁₀处理 (LC₁₀ treated group);
C: LC₂₅处理 (LC₂₅ treated group)

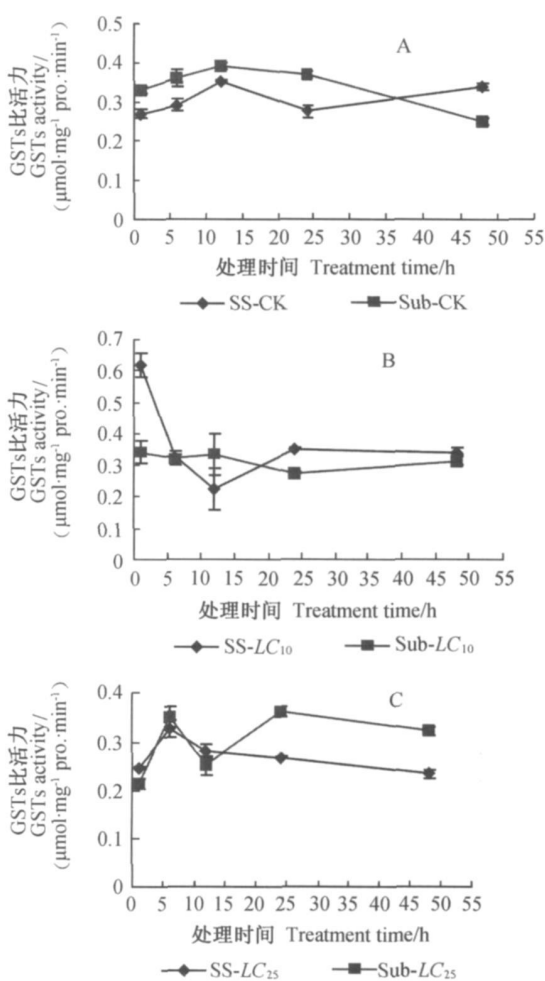


图 2 亚致死浓度多杀菌素作用下西花蓟马 GSTs 的比活力变化

Fig 2 Changes of GSTs activity in western flower thrips after treated with sublethal concentrations of spinosad

A: 对照组 (CK group); B: LC₁₀处理 (LC₁₀ treated group);
C: LC₂₅处理 (LC₂₅ treated group)

围的扩大, 其对害虫的选择压力也将随之增大, 因此合理使用多杀菌素, 降低其对害虫的选择压力将是延缓西花蓟马抗药性发展的重要措施^[37]。在生产防治上应避免连续使用多杀菌素, 并应和其他无交互抗性的杀虫剂轮换使用, 兼配合栽培防治和生物防治等措施^[11, 37]。

多杀菌素作为防治西花蓟马为害的高效药剂, 其抗药性的产生和演化备受研究者的关注^[11, 38-43]。Bielza等研究了抗多杀菌素西花蓟马 (13 500倍) 的抗性机理, 增效剂实验显示, 该抗性与解毒酶系无关, 作者推测其可能属于靶标抗性, 即 γ-氨基丁酸受体和乙酰胆碱受体的改变是西花蓟马对多杀菌素的主要抗性机制^[11, 40]。

抗药性是由于昆虫对药剂选择的不断适应而发生的一种快速进化现象, 在不同抗性水平下, 其抗性的主导机制也在不断变化。Liu等^[44]研究表明, 细胞色素单加氧酶活力升高是褐飞虱 *Nilaparvata lugens* (Stål) 对吡虫啉 (imidacloprid) 抗性上升第一阶段的主导机制, 而靶标不敏感性的出现, 是极高水平抗性产生 (第二阶段抗性变化) 的重要机制。Wang等^[45]研究表明, 多功能氧化酶在甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* (室内汰选 5 代后, RR 345.4) 对多杀菌素的抗性中起主要作用。本研究中, 亚致死浓度多杀菌素汰选西花蓟马种群的 CarE、GSTs 和 MFOs 比活力在总体趋势上高于相对敏感种群, 因此推测在低浓度多代处

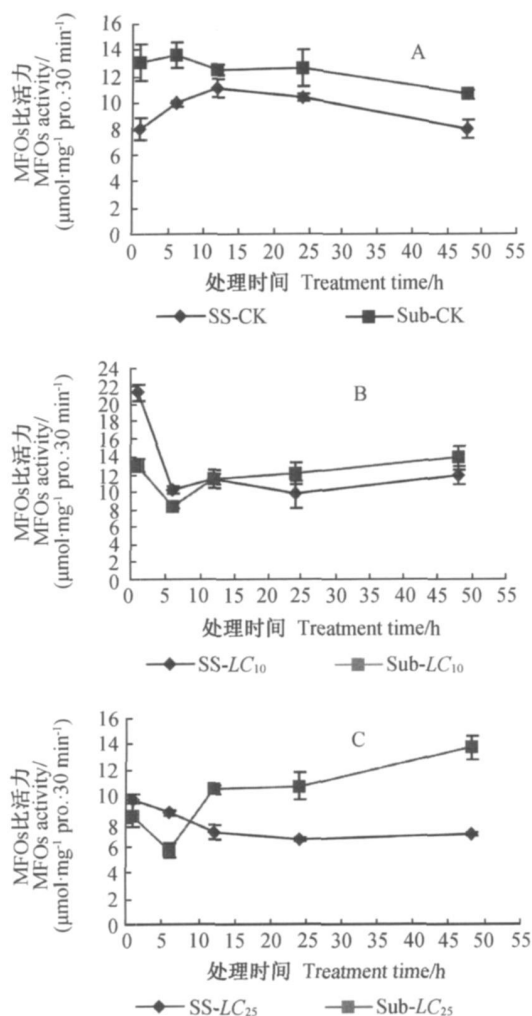


图3 亚致死浓度多杀菌素作用下西花蓟马MFOs的比活力变化

Fig 3 Changes of MFOs activity in western flower thrips after treated with sublethal concentrations of spinosad

A: 对照组 (CK group); B: LC₁₀处理 (LC₁₀ treated group);
C: LC₂₅处理 (LC₂₅ treated group)

理下,西花蓟马对多杀菌素的敏感性下降可能主要是由于解毒酶活力升高所致。有关西花蓟马对亚致死浓度多杀菌素的适应机制及对多杀菌素的抗性机制等仍需进一步研究。

参考文献:

- [1] ZHANG You-jun (张友军), WU Qing-jun (吴青君), XU Bao-yun (徐宝云), et al 危险性外来入侵生物——西花蓟马在北京发生危害 [J]. Acta Phytophylacica Sinica (植物保护), 2003, (4): 58–59.
- [2] SÁNCHEZ JA, GARCÍA F, LACASA A, et al. Response of the Anthocorids *Orius levigatus* and *O. albidipennis* and the

Phytoseid *Amblyseius cucumeris* for the Control of *Frankliniella occidentalis* in Commercial Crops of Sweet Peppers in Murcia (Spain) [J]. Bulletin OILB/SROP, 1997, 20: 177–185.

- [3] BRODSGAARD H E. *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae)—a New Pest in Danish Glasshouses [J]. Tidsskrift for Planteavl, 1989, 93: 83–91.
- [4] BRfDSGAARD H E. Insecticide Resistance in European and African Strains of Western Flower Thrips (Thysanoptera: Thripidae) Tested in a New Residue-on-glass Test [J]. J Econ Entomol, 1994, 87: 1141–1146.
- [5] MMARA J J A, PAINE T D, BETHKE J A, et al Western Flower Thrips (Thysanoptera: Thripidae) Resistance to Insecticides in Coastal California Greenhouses [J]. J Econ Entomol, 1992, 85: 9–14.
- [6] KONTSEDALOV S, WENTRAUB P G, HOROWITZ A R, et al Effects of Insecticides on Immature and Adult Western Flower Thrips (Thysanoptera: Thripidae) in Israel [J]. J Econ Entomol, 1998, 91: 1067–1071.
- [7] ZHAO G, LU W, BROWN J M, et al Insecticide Resistance in Field and Laboratory Strains of Western Flower Thrips (Thysanoptera: Thripidae) [J]. J Econ Entomol, 1995, 88: 1164–1170.
- [8] ESPINOSA P J, BELZA P, CONTRERAS J et al Field and Laboratory Selection of *Frankliniella occidentalis* (Pergande) for Resistance to Insecticides [J]. Pest Manag Sci, 2002, 58: 920–927.
- [9] JENSEN S E. Mechanisms Associated with Methidathion Resistance in *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) [J]. J Econ Entomol, 2000, 93(2): 464–471.
- [10] ESPINOSA P J, BELZA P, CONTRERAS J et al. Insecticide Resistance in Field Populations of *Frankliniella occidentalis* (Pergande) in Murcia (South-east Spain) [J]. Pest Manag Sci, 2002, 58: 967–971.
- [11] BELZA P, QUINTO V, CONTRERAS J et al Resistance to Spinosad in the Western Flower Thrips *Frankliniella occidentalis* (Pergande), in Greenhouses of South-eastern Spain [J]. Pest Manag Sci, 2007, 63: 682–687.
- [12] RUMPF S, HETZEL F, FRAMPTON C. Lacenings (Neuroptera: Hemerobiidae and Chrysopidae) and Integrated Pest Management Enzyme Activity as Biomarker of Sublethal Insecticide Exposure [J]. J Econ Entomol, 1997, 90 (1): 102–108.
- [13] GAO X-wu (高希武), DONG Xiang-li (董向丽), ZHENG Bing-zong (郑炳宗), et al 棉铃虫的谷胱甘肽S-转移酶 (GST): 杀虫药剂和植物次生性物质的诱导与GST对杀虫药剂的代谢 [J]. Acta Entomologica Sinica (昆虫学报), 1997, 40 (2): 122–125.
- [14] FEYEREISEN R. Cytochrome P450 in Insect [M] // SCKENKMAN J B. Cytochrome P450, Berlin: Springer, 1993: 311–324.
- [15] THOMPSON G D, DUTTON R, SPARKS T C. Spinosad—a Case Study: an Example from a Natural Products Discovery Programme [J]. Pest Manag Sci, 2000, 56: 696–702.
- [16] WILLIAM S T, VALLE J V, INUELA E. Is the Naturally Derived Insecticide Spinosad Compatible with Insect Natural Enemies [J]. Biocontrol Science and Technology, 2003, 13: 459–475.

- [17] ELZEN G W, ELZEN P J KING E G. Laboratory Toxicity of Insecticide Residues to *Orius insidiosus*, *Geocoris punctipes*, *Hippodamia convergens* and *Chrysoperla carnea* [J]. *Southwestern Entomol*, 1998, 23: 335–342.
- [18] LUDWIG S, OETTING R. Effect of Spinosad on *Orius insidiosus* (Hemiptera Anthrenidae) When Used for *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera Thripidae) Control on Greenhouse Pot Chrysanthemums [J]. *Fla Entomol*, 2001, 84: 311–313.
- [19] EGER J E, STAVISKY J FUNDERBURK J E. Comparative Toxicity of Spinosad to *Frankliniella* spp. (Thysanoptera Thripidae), with Notes on a Bioassay Technique [J]. *Fla Entomol*, 1998, 81: 547–551.
- [20] 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.
- [21] 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.
- [22] CUTLER G C, SCOTT-DUPREE C D, HARRIS C R. Toxicity of the Insect Growth Regulator Novalon to the Non-target Predatory Bug *Podisus maculivebris* (Heteroptera Pentatomidae) [J]. *Biological Control*, 2006, 38: 196–204.
- [23] YIN Xian-hui (尹显慧), WU Qing-jun (吴青君), LIXUE-feng (李学锋), et al. 多杀菌素亚致死浓度对小菜蛾解毒酶系活力的影响 [J]. *Chin J Pestic Sci* (农药学学报), 2008, 10 (1): 28–34.
- [24] ZALZNAK L, NUGEGODA D. Effect of Sublethal Concentrations of Chlorpyrifos on Three Successive Generations of *Daphnia carinata* [J]. *Environ Sci*, 2006, 64: 207–214.
- [25] YIN X H, WU Q J, LIX F, et al. Sublethal Effects of Spinosad on *Plutella xylostella* (Lepidoptera Plutellidae) [J]. *Crop Protection*, 2008, 27(10): 1385–1391.
- [26] YIN X H, WU Q J, LIX F, et al. Demographic Changes in Multigeneration *Plutella xylostella* (Lepidoptera Plutellidae) after Exposure to Sublethal Concentrations of Spinosad [J]. *J Eco Entomol*, 2009, 102 (1): 357–665.
- [27] ZHANG Z J, WU Q J, LIX F, et al. Life History of Western Flower Thrips *Frankliniella occidentalis* (Thysan., Thripae) on Five Different Vegetable Leaves [J]. *J Appl Entomol*, 2007, 131(5): 347–354.
- [28] ALFREDO R, Anthony M S. Development of a Bioassay System for Monitoring Susceptibility in Thrips *tabaci* [J]. *Pest Manag Sci*, 2003, 59: 553–558.
- [29] GAO Xi-wu (高希武), ZHENG Run-yong (郑润勇), NING Shimin (宁世民), et al. 棉蚜不同品系羧酸酯酶的酶标动力学测定研究 [J]. *J China Agric Univ* (中国农业大学学报), 1997, 2 (5): 59–63.
- [30] JENSEN S E. Mechanisms Associated with Methiocarb Resistance in *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera Thripidae) [J]. *J Econ Entomol*, 2000, 93(2): 464–471.
- [31] YANG Xiu-qing (杨秀清), GAO Xi-wu (高希武), ZHENG Bing-zong (郑炳宗). 烟粉虱与温室白粉虱羧酸酯酶、谷胱甘肽转移酶和乙酰胆碱酯酶性质的比较研究 [J]. *Chin J Pestic Sci* (农药学学报), 2001, 3(4): 38–43.
- [32] YU S J, NGUYEN S N. Detection and Biochemical Characterization of Insecticide Resistance in the Diamondback Moth [J]. *Pestic Biochem Physiol*, 1992, 44(1): 74–81.
- [33] GU Xiaojun (顾晓军), TIAN Sufen (田素芬), GAO Fei (高飞). 阿维菌素对小菜蛾 3 龄幼虫的亚致死效应研究 [J]. *Chin Agric Sci Bull* (中国农学通报), 2008, 24(2): 343–347.
- [34] LI Huixian (李会仙), HAO Chi (郝赤), WANG Liying (王利英). 高效氯氟菊酯和溴氰菊酯对棉铃虫的亚致死效应 [J]. *J Shanxi Agric Univ* (山西农业大学学报), 2005, 25 (3): 231–233.
- [35] CHATON P F, RAVANEL P, MEYRAN J C, et al. The Toxicological Effects and Bioaccumulation of Fipronil in Larvae of the Mosquito *Aedes aegypti* in Aqueous Medium [J]. *Pestic Biochem Physiol*, 2001, 69: 183–188.
- [36] REIDY G F, ROSE H A, VISETSON S et al. Increased Glutathione S-transferase Activity and Glutathione Content in an Insecticide Resistance Strain of *Tribolium castaneum* (Herbst) [J]. *Pestic Biochem Physiol*, 1990, 36: 269–276.
- [37] BIELZA P. Insecticide Resistance Management Strategies against the Western Flower Thrips *Frankliniella occidentalis* [J]. *Pest Manag Sci*, 2008, 64(11): 1131–1138.
- [38] HERRON G A, JAMES T M. Monitoring Insecticide Resistance in Australian *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera Thripidae) Detects Fipronil and Spinosad Resistance [J]. *Austral J Entomol*, 2005, 44: 299–303.
- [39] LOUGHNER R L, WARNOCK D F, CLOYD R A, et al. Resistance of Greenhouse, Laboratory, and Native Populations of Western Flower Thrips to Spinosad [J]. *Hortscience*, 2005, 40: 146–149.
- [40] BIELZA P, QUINTO V, FERNÁNDEZ E, et al. Genetics of Spinosad Resistance in *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera Thripidae) [J]. *J Econ Entomol*, 2007, 100: 916–920.
- [41] BIELZA P, QUINTO V, GRÁVALOS C, et al. Stability of Spinosad Resistance in *Frankliniella occidentalis* (Pergande) under Laboratory Conditions [J]. *Bull Entomol Res*, 2008, 98(4): 355–359.
- [42] BIELZA P, QUINTO V, GRÁVALOS C, et al. Lack of Fitness Costs of Insecticide Resistance in the Western Flower Thrips (Thysanoptera Thripidae) [J]. *J Econ Entomol*, 2008, 101(2): 499–503.
- [43] ZHANG S Y, KONO S, MURAIT, et al. Mechanisms of Resistance to Spinosad in the Western Flower Thrips *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera Thripidae) [J]. *Insect Science*, 2008, 15: 125–132.
- [44] LIU Z W, HAN Z J, WANG Y C, et al. Selection for Imidacloprid Resistance in *Nikparvata lugens* Cross-resistance Patterns and Possible Mechanisms [J]. *Pest Manag Sci*, 2003, 59: 1355–1359.
- [45] WANG W, JIAN C M. Selection and Characterization of Spinosad Resistance in *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera Noctuidae) [J]. *Pestic Biochem Physiol*, 2006, 84: 180–187.

(Ed TANG J)