

• 专论与综述 •

害虫对新烟碱类杀虫剂的抗药性及其治理策略

唐振华^{1,2*}, 陶黎明³, 李忠¹

(1. 华东理工大学 药学院, 上海 200237; 2 中国科学院 上海植物生理生态研究所, 上海 200032

3 上海农药研究所, 上海 200032)

摘要: 烟碱和新烟碱类杀虫剂都是作为后突触烟碱乙酰胆碱受体 (nAChRs) 的激动剂作用于昆虫中枢神经系统, 但这两类杀虫剂存在明显不同的选择毒性: 烟碱类对哺乳动物毒性较高, 而杀虫活性低; 新烟碱类具有高杀虫活性, 而对哺乳动物低毒。由于新烟碱类杀虫剂的作用方式独特, 对以前使用的如拟除虫菊酯类、氯化烃类、有机磷类和氨基甲酸酯类等杀虫剂很少或无交互抗性, 该类杀虫剂为防治一些世界性重大害虫 (包括对以前使用的杀虫剂具有长期抗性的害虫) 作出了重要贡献。但现已发现不少害虫对新烟碱类杀虫剂产生了抗性。文章就害虫对新烟碱类杀虫剂的抗性概况、抗性机理和抗性治理策略进行了综述。

关键词: 新烟碱类杀虫剂; 抗性机理; P450单加氧酶; 靶标部位抗性; 抗性治理

中图分类号: S481.4

文献标识码: A

文章编号: 1008-7303(2006)03-0195-08

Resistance of Insect Pests to Neonicotinoid Insecticides and Management Strategies

TANG Zhen-hua^{1,2*}, TAO Liming³, LIZhong¹

(1. College of Pharmacy, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China;

2 Shanghai Institute of Plant Physiology and Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China;

3 Shanghai Pesticide Research Institute, Shanghai 200032, China)

Abstract Both nicotinoils and neonicotinoils act on the insect central nervous system as agonists of the postsynaptic nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs), but there is a distinct difference between the selective toxicity of two groups. Nicotinoils are high toxicity to mammals while rather limited in insecticidal activity. On the other hand, neonicotinoils possess highly insecticidal toxicity and low toxicity to mammals. As a result of this mode of action, there is little or no cross-resistance to insecticides used in former times such as pyrethroids, chlorinated hydrocarbons, organophosphates and carbamates. Neonicotinoid insecticides have made a great contribution to managing some of the most destructive crop pests in the world, including species with a long history of resistance to earlier-used products. To date, neonicotinoils have proved relatively resilient to the development of resistance. Current status, mechanisms of neonicotinoid resistance and resistance-management strategies were reviewed.

Key words neonicotinoid; mechanism of resistance; P450 monooxygenase; target site-resistance; management strategies

收稿日期: 2006-02-13 修回日期: 2006-06-25.

作者简介: * 唐振华 (1939-), 男, 通讯作者, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为杀虫剂分子毒理学. 联系电话: 021-54924264 E-mail: tangzh@public.sta.net.cn

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (“973”计划) (2003CB114403); 国家自然科学基金项目 (320230070).

新烟碱类杀虫剂是自拟除虫菊酯类杀虫剂商品化以来销售量增长最快的一类杀虫剂,主要包括吡虫啉 (imidaclopril)、噻虫啉 (thiaclopril)、啶虫脒 (acetamiprid)、噻虫胺 (clothianidin)、烯啶虫胺 (nitenpyram)、噻虫嗪 (thiamethoxam)和呋虫胺 (dinotefuran)等。虽然新烟碱类杀虫剂的作用靶标与烟碱类一样,都是作为激动剂作用于位于神经后突触的烟碱乙酰胆碱受体 (nicotinic acetylcholine receptors nAChRs),但由于其作用方式不同而表现出明显的选择毒性。正由于其作用靶标不同于其他各类杀虫剂,故新烟碱类杀虫剂对目前常用的拟除虫菊酯类、氯化烃类、有机磷类和氨基甲酸酯类杀虫剂不会产生交互抗性。新烟碱类杀虫剂的靶标害虫主要是半翅目害虫蚜虫、粉虱和飞虱以及鞘翅目的甲虫类,这些害虫大多已对上述常用杀虫剂产生抗性。目前在世界各地,新烟碱类杀虫剂已成为治理这些抗性害虫的有效品种。为了尽可能阻止和延缓其抗性的发生和发展,延长这类新颖杀虫剂的有效使用寿命,世界各国的科学家从吡虫啉上市开始就对其抗性进行了检测和监测,并提出了预防措施。尽管如此,近年来在一些国家和地区已发现有些害虫,特别是为害温室作物的烟粉虱 *Bemisia tabaci*等还是对

吡虫啉产生了抗性。莫建初等^[1]曾对该类杀虫剂的抗药性进行过综述,但近年来此问题引起了国内外更多的关注,并在抗性机理和治理策略研究等方面取得了很大进展。为此本文着重对国内外有关害虫对以吡虫啉为代表的新烟碱类杀虫剂的抗性发展状况、抗性机理和抗性治理策略作一综述。

1 害虫对新烟碱类杀虫剂的抗药性

1.1 一些害虫对吡虫啉抗性的早期诊断剂量

吡虫啉具有较好的持效性,会对害虫的抗药性产生持续的选择压,因此必须加强对以其为代表的烟碱类杀虫剂抗性的检测和监测。目前,对新烟碱类杀虫剂抗性的调查主要局限于少数国家和地区的少数虫种。在这些地区已对部分害虫建立了用于抗性检测的抗性诊断剂量,主要包括桃蚜 *Myzus persicae*^[2,3]、棉蚜 *Aphis gossypii*^[2]、忽布疣蚜 *Phorodon humuli*^[4]、烟粉虱 *Bemisia tabaci*^[5,6]、温室粉虱 *Trialeurodes vaporariorum*^[7]和马铃薯甲虫 *Leptinotarsa decemlineata*^[8]等害虫。现将其对吡虫啉抗性的诊断剂量列于表 1。

Table 1 Diagnostic doses of imidaclopril for some pests known to develop resistance to insecticides^[9]
表 1 一些害虫对吡虫啉抗性的诊断剂量^[9]

Species 虫种	Diagnostic dose [*] 诊断剂量	Bioassay system 生测方法	Reference 参考文献
Myzus persicae (桃蚜)	15 mg/L	Leaf dip (6-well plate) (浸叶法) (6孔板)	Nauen et al ^[2] (2003)
	2.5 ng/aphid (蚜)	Topical (点滴法)	Foster et al ^[3] (2003)
Aphis gossypii (棉蚜)	13 mg/L	Leaf dip (6-well plate)	Nauen et al ^[2] (2003)
Phorodon humuli (忽布疣蚜)	13 mg/L	Leaf dip (6-well plate)	Wekhelet al ^[4] (2003)
Bemisia tabaci (烟粉虱)	16 mg/L	Systemic bioassay (内吸法)	Cahillet al ^[5] (1996)
	1 mg/L	Leaf dip	Rauch et al ^[6] (2003)
Trialeurodes vaporariorum (温室粉虱)	5.3 mg/L	Systemic bioassay	Goman et al ^[7] (2001)
Leptinotarsa decemlineata (马铃薯甲虫)	8 mg/L	Artificial diet (larvae) (人工饲料) (幼虫)	Oken et al ^[8] (2000)
	0.2 µg/bett (虫)	Topical (adult) (点滴法) (成虫)	Nauen et al ^[9] (2005)

* Diagnostic doses were given as LC₉₅₋₉₉ in all cases except *T. vaporariorum* (LC₅₀) (诊断剂量除温室粉虱为 LC₅₀外,其余均为 LC₉₅₋₉₉)

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

1.2 害虫对吡虫啉的抗性概述

多种害虫对吡虫啉的抗性情况见表 2 并将其抗性事件分别作一简述。

1.2.1 蚜虫的抗性 用诊断剂量 15 mg/L 测定的结果表明,桃蚜对吡虫啉的敏感性变化不大。在津巴布韦、美国、南欧、北欧等地,桃蚜对吡虫啉

的抗性水平最高为 18 倍^[10 3],同时发现其对烯啶虫胺和啶虫脒以及烟碱有交互抗性^[3],还发现体色呈红色的桃蚜(该体色是因取食烟草而产生,并非经新烟碱类药剂处理后产生的)对新烟碱类杀虫剂的抗性较低^[11]。

Table 2 The resistance of insect pests to imidacloprid
表 2 害虫对吡虫啉的抗药性

Species 虫种	Countries or areas developed resistance to imidacloprid 发生抗性的国家和地区	Resistant level 抗性水平	Reference 参考文献
Bemisia tabaci (烟粉虱)			
Q type(Q 型)	Spain, Italy, Germany, Monaco	100> 1 000 folds(adult) (成虫)	Nauen et al ^[14] (2000)
B type(B 型)	California(selection for 5 generations) (选育 5 代)	17 folds(adult)	Prabhaker et al ^[15] (1997)
	(selection for 24 generations in lab) (实验室内选育 24 代)	80 folds(adult)	
	Israel, Venezuela, Mexico and Brazil, Guatemala	21~ 874 folds (adult)	Rauch et al ^[6] (2003)
	(selection for 9 months) (选育 9 个月)	58 folds (adult) 126 folds (adult)	Byrne et al ^[16] (2003)
Leptinotarsa decemlineata (马铃薯甲虫)	North America and Europe Long Island	30 folds(larvae) (幼虫)	Olsen et al ^[8] (2000)
		13 folds(larvae)	Zhao et al ^[17] (2000)
		100 folds(adult)	
		150 folds (adult)	Hollingworth et al ^[18] (2002)
Plutella xylostella (小菜蛾)	Japan (selection for 5 generations) (选育 5 代)	110 folds(larvae)	Nishin et al ^[19] (2005)
Laodelphax striatellus (灰稻虱)	Japan(cross-resistance) (交互抗性)	18 folds(adult)	Sone et al ^[20] (1995)
	China	15~ 20 folds(nymph) (若虫)	Shen et al ^[21] (2005)
Nilaparvata lugens (褐稻虱)	China(selection for 25 and 35 generations) (选育 25 和 35 代)	70 and 250 folds(adult)	Liu et al ^[22] (2003); Liu et al ^[23] (2005)
	China	70~ 475 folds(nymph)	Shen et al ^[21] (2005)
Lygus hesperus (豆英盲蝽)	Arizona	100 folds(adult)	Dennehy et al ^[24] (1996)
Myzus persicae (桃蚜)	Zimbabwe, America, Southern Europe and North Europe	18 folds(adult)	Cox et al ^[10] (2002); Foster et al ^[3] (2003)
Aphis gossypii (棉蚜)	China (selection for 16 and 18 generations) (选育 16 和 18 代)	5 and 10 folds(adult)	Pan et al ^[12] (2000); Yuet al ^[13] (2004)
Macrosiphum avenae (麦长管蚜)	China	4 folds(adult)	Pan et al ^[12] (2000)
Bemisia argentifolii (阿根廷粉虱)	Imperial Valley(selection for 32 generations) (选育 32 代)	82 folds(adult)	Prabhaker et al ^[15] (1997)
Musca domestica (家蝇)	cross-resistance	4 folds(adult)	Wen et al ^[25] (1997)
Blattella germanica (德国小蠊)	cross-resistance	4~ 6 folds (adult)	Wen et al ^[25] (1997)
Drosophila melanogaster (黑腹果蝇)	cross-resistance	8 folds (adult)	Dabom et al ^[26] (2001)

国内外有关棉蚜对吡虫啉抗性的报道很少。潘文亮等^[12]对采自河北省不同地区的麦长管蚜、绣线菊蚜 *Aphis siraeccla* 和棉蚜 3 种蚜虫对吡虫啉的抗药性进行了测定, 结果发现只有清苑的麦长管蚜种群对吡虫啉有 4 倍的抗性, 而其他 2 种蚜虫均无抗性。在室内用吡虫啉对棉蚜选育 16 代后, 也仅产生了 5 倍的抗性。于彩虹等^[13]用吡虫啉处理水培棉苗的方法对采自山东的棉蚜选育 18 代后, 抗性增至 10 倍。2001~2003 年在欧洲和美国的调查结果表明, 苜蓿蚜 *Nasonovia ribisnigri* 和忽布疣蚜对吡虫啉的抗性仅为低度抗性^[9]。

1.2.2 烟粉虱的抗性 烟粉虱的寄主植物有 600 多种^[27], 是一种世界性害虫, 共有 24 种生物型, 其中分布最广的为 B 型。也有人认为 B 型是一个不同的种, 称为 *B. argentifolii*^[27]。B 型烟粉虱的地理分布非常广, 为害棉花、蔬菜和观赏植物等, 它们既可通过取食直接为害, 又可作为许多植物病毒的传播媒介, 传染 111 种病毒。该害虫至少在 20 个国家对 35 种杀虫剂产生了抗性, 其中包括新烟碱类的吡虫啉。在希腊克利特, 该害虫已对吡虫啉产生了 730 倍的抗性。在南欧, B 型烟粉虱与另一种“Q”生物型共存。原认为 B 型烟粉虱仅局限于伊比利亚半岛, 但现已出现在地中海的多个国家, 其中包括意大利、希腊、以色列和摩洛哥^[9]。B 型和 Q 型可通过 RAPD-PCR 或聚丙烯酰胺电泳而区分^[28 14]。

由于大量使用各种杀虫剂, 烟粉虱对多类化学药剂均已产生抗性, 只有引入作用方式更新颖的杀虫剂才能满足抗性治理的需要。因此, 以吡虫啉为代表的新烟碱类杀虫剂成为市场占有率上升最快的一类药剂, 广泛用于治理这些抗性害虫。

首先报道已对吡虫啉产生抗性的田间烟粉虱是西班牙南部 *A heria* 园艺作物上的 Q 型烟粉虱^[29], 在 20 世纪 90 年代其抗性已高达 100 倍, 并且对噻虫嗪和啉虫脒也表现出了明显的抗性^[14 30]。由于意大利和法国从西班牙进口这些作物, 从而使这两个国家的“Q”型烟粉虱对新烟碱类杀虫剂也呈现出了较高的抗性。Rauch 等^[6]对采自不同国家和地区的烟粉虱对吡虫啉、噻虫嗪和啉虫脒进行抗性测定后发现, 2000 年采自西班牙 (ESP-00) 和 2001 年采自德国 (GER-01) 的 Q 型烟粉虱品系对吡虫啉的抗性 > 1 000 倍, 对噻虫嗪的抗性分别为 301 和 1 284 倍, 对啉虫脒的抗性分别为 142 和 129 倍。有关 B 型烟粉虱抗性的报道

较少, 仅发现危地马拉蔬菜区的烟粉虱对吡虫啉有 58 倍的抗性, 在室内连续筛选 9 个月后抗性上升到 126 倍^[16]。在美国亚利桑那州, 自 1993 年使用吡虫啉后, 一直对棉田、瓜田和温室蔬菜的 B 型烟粉虱进行了抗性监测, 虽然发现从 1995~1998 年其对吡虫啉的敏感性出现下降趋势, 但在 1999 和 2000 年, 这些种群又重新恢复了对吡虫啉的敏感性^[31 32], 由此可见, 该州虽然大量使用吡虫啉, 但在田间并未出现明显的抗性^[33]。但 B 型烟粉虱在室内选育的情况下对吡虫啉可产生抗性。用吡虫啉对采自美国 Imperial Valley 瓜田的 B 型烟粉虱进行连续选育, 结果在前 15 代产生了中等抗性 (17 倍), 而 24 代后产生了 80 倍以上的抗性。在田间之所以未发现抗性的产生, 可能是由于严格遵照抗性治理措施进行治疗的结果^[31 34 35], 或抗性个体存在某种严重的适合度缺陷 (fitness penalty)。

以色列从 1996 年开始就棉田和温室植物上的烟粉虱对吡虫啉和啉虫脒的抗性进行了监测, 发现在使用这两种杀虫剂两年后, 棉田中的烟粉虱未出现抗性, 但在温室内使用啉虫脒 3 年后产生了 5~10 倍的抗性^[36]。2002 年采自以色列的 B 型烟粉虱品系 (BR-02) 对吡虫啉、噻虫嗪和啉虫脒的抗性分别为 361 倍、> 1 000 倍和 78 倍, 表明该品系在新烟碱类杀虫剂之间存在高水平的交互抗性, 还发现在室内停止用药处理后, 所有 Q 型品系对新烟碱类杀虫剂的抗性仍保持稳定^[6]。而在埃及和欧洲, 田间的烟粉虱对吡虫啉都是敏感的。在 2003 和 2004 年测定发现, 采自墨西哥、巴西、摩洛哥和希腊克利特的烟粉虱对新烟碱类药剂也表现出交互抗性, 其对啉虫脒和噻虫嗪的抗性 ≥ 100 倍。采自墨西哥和巴西的抗性品系是 B 型, 而采自摩洛哥和希腊克利特的抗性品系是 Q 型。

采用新烟碱类药剂防治的其他重要粉虱还有温室粉虱, 经调查, 其在英国尚未对吡虫啉产生抗性。

1.2.3 马铃薯甲虫的抗性 在美国, 马铃薯甲虫对之前所有用于防治该虫的常用杀虫剂均已产生了抗性, 故从 1995 年开始应用吡虫啉进行防治。2001 年对北美和欧洲马铃薯甲虫的初孵幼虫进行了监测, 结果表明约有 30 倍的抗性差异^[18]。Zhao 等^[17]在美国长岛应用吡虫啉几年之后进行测定, 发现马铃薯甲虫成虫和幼虫对其已分别产生了 100 倍和 13 倍的抗性。Hollingworth 等^[18]用点滴

法测得马铃薯甲虫成虫对吡虫啉的抗性为 150 倍,而对未曾施用过的噻虫嗪的抗性远远低于吡虫啉。测定结果还显示,德国、奥地利和波兰的马铃薯甲虫成虫对吡虫啉仍是敏感的。

1.2.4 稻飞虱的抗性 日本和东南亚各国均采用新烟碱类杀虫剂防治稻飞虱。在 20 世纪 90 年代初,日本调查发现 9 个地区的灰稻虱 *Laodelphax striatellus* 对吡虫啉均是敏感的,其中一个种群在室内用马拉硫磷和残杀威选育后,发现其对未曾使用过的吡虫啉产生了 18 倍的抗性^[20]。在中国, Liu 等^[22, 23]用吡虫啉对一个采自田间的褐稻虱 *Nilaparvata lugens* 种群选育 25 代后,产生了 70 倍以上的抗性,35 代后抗性增至 250 倍。

沈晋良等^[21]发现,采自江苏南京(江浦)、湖南常德、广西南宁和桂林的褐稻虱对吡虫啉的抗性分别为 475、179、180 和 70 倍,但这些种群对噻虫嗪均无明显的交互抗性。他们还测定了江苏无锡、建湖、白马湖农场和浙江湖州灰稻虱对吡虫啉和噻虫嗪的抗药性,发现吡虫啉对浙江湖州和江苏建湖种群的 LC_{50} 值分别是江苏白马湖农场种群的 20 和 15 倍,而江苏无锡种群仅为其 1.2 倍,且各种群对噻虫嗪均无抗性。

1.2.5 其他害虫对吡虫啉的抗性 在美国亚利桑那州,棉花害虫豆荚盲蝽对吡虫啉有 100 倍的抗性^[24];苜蓿蓟马 *Frankliniella occidentalis* 和烟芽夜蛾 *Heliothis virescens* 也因对其他杀虫剂产生了抗性而对吡虫啉有耐抗性^[37, 38]。用啶虫脒处理采自田间的小菜蛾幼虫 5 代后获得了 110 倍的抗性,并已证明其抗性是不稳定的,停止用药处理 7 代后即从 110 倍下降到了 2.43 倍^[19]。另外,还有报道表明家蝇和德国小蠊^[25]、黑腹果蝇^[26]对吡虫啉产生了抗性。

2 抗性机理的研究

2.1 与新烟碱类杀虫剂相关的代谢抗性

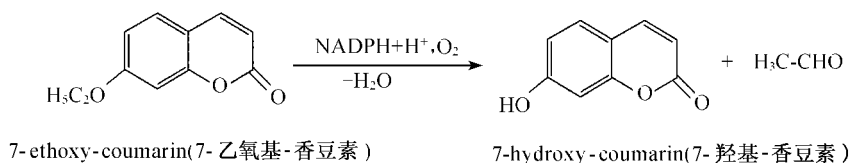
现已知在抗性中涉及的 3 大酶系为羧酸酯酶 (carboxylesterases, CarEs)、谷胱甘肽 S-转移酶 (glutathione S-transferases, GSTs) 和依赖细胞色素 P450 的单加氧酶 (cytochrome P450-dependent monooxygenases, P450s)。

Rauch 等^[6]以乙酸- α -萘酯 (α -naphthyl acetate, α -NA) 和丁酸- α -萘酯 (α -naphthyl butyrate, α -NB) 为底物,测定了不同烟粉虱品系的 CarE 活性,发现除了抗吡虫啉的 B 型 IRSR-02 外,其他品系的活性均无明显差异。有趣的是, B 型品系多呈现 CarE 活性增高的现象,其中 USA-B 和 VEN-02 品系中 CarE 的活性最高。与敏感的 USA-B 品系相比,抗性最高的 IRSR-02 品系的 CarE 活性反而低于敏感品系。抗新烟碱类杀虫剂的 Q 型品系的 CarE 活性稍有增高。在以 2,4-二硝基氯苯 (CDNB) 为底物测定 GSTs 活性时,敏感的 B 型品系 USA-B 的活性最高,而在所有供试的抗吡虫啉品系中,没有一个品系呈现出像 USA-B 一样的高活性。

以 7-香豆素为底物测定 P450 活性 (Scheme 1),结果表明,所有供试的抗吡虫啉品系都呈现出 7-香豆素-O-去乙基酶活性的增高,中等抗性的 E99-2 和 II-99 品系的 P450 活性分别比敏感品系高 2.4 和 2.7 倍,高抗性的 Q 型品系 ESP-00 和 GER-01 的活性则分别比敏感品系高 5.9 和 5.4 倍。抗吡虫啉的 B 型品系 IRSR-02 的 P450 活性是敏感品系的 8.6 倍。

比较上述生物测定和生化测定的结果可以看出,烟粉虱对吡虫啉抗性的产生与 P450 活性增高密切相关。

Scheme 1

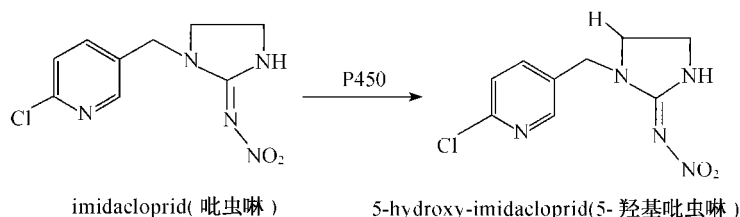


Rauch 等^[6]为了证实抗性烟粉虱中 P450 对吡虫啉的解毒作用,通过烟粉虱附足接触 [¹⁴C] 吡虫啉 24 h 后用 TLC 分析虫体内的最终代谢产物,结果发现 5-羟基吡虫啉是能够检测到的惟一一个代谢物 (见 Scheme 2)。

现已知吡虫啉和其他新烟碱类药剂氧化降解

后可产生有杀虫活性和无杀虫活性的代谢产物。对 Q 型烟粉虱的活体代谢研究显示,新烟碱类抗性品系中的主要代谢产物是 5-羟基吡虫啉,这表明氧化降解是吡虫啉降解代谢的主要途径;而敏感品系中 5-羟基吡虫啉水平低于可检测水平。

Scheme 2



为进一步明确在抗吡虫啉的昆虫中这种 P450 活性的增高与哪些 P450 基因有关, Dabom 等^[26] 应用对吡虫啉有 8 倍抗性的果蝇突变体进行了研究, 结果表明 P450 活性的增高与 P450 基因 Cyp 6g1 的过表达有关。后来, Pedra 等^[39] 的研究表明, Cyp 6g1 的过表达是由于该基因的过转录所致。

Schulz-Jander 等^[40] 发现, 从人肝脏重组的 P450 同工酶 CYP3A4 基因可选择性地代谢吡虫啉的咪唑啉部位, 结果产生 5-羟基吡虫啉。尽管烟草粉虱基因组中的 Cyp 6g1 和人肝脏中的 Cyp 3a4 是否是相同或类似的基因尚待进一步确定, 但这些结果给我们提供了一个线索, 即在抗新烟碱类杀虫剂的 Q 型和 B 型烟草粉虱中也许存在着过表达的多种 P450 基因^[41]。

综上所述, 昆虫 P450 活性增高与其对吡虫啉、噻虫嗪和呋虫胺的抗性呈正相关, 而 CarE 和 GSTs 则与抗性的相关性不大。

2.3 新烟碱类杀虫剂与 nAChR 的结合研究

最近, 通过受体结合研究、电生理、代谢以及用 LC-MS/MS 对血淋巴进行分析的药代动力学研究证明, 噻虫嗪在害虫和植物体内可转变为噻虫胺, 也就是说噻虫嗪是噻虫胺的前药^[42]。曾经认为在抗性马铃薯甲虫中, 噻虫嗪和噻虫胺的药效不同可能是由于它们与 nAChR 的结合部位不同所致^[42], 现以噻虫嗪的这种前药机理可解释在抗吡虫啉的马铃薯甲虫中所观测到的这种药效差异并非是因为结合部位的不同, 而是由于噻虫胺的药效优于噻虫嗪。

Rauch 等^[6] 应用 [³H] 吡虫啉进行同位素竞争性试验表明, 抗吡虫啉 Q 型品系 ESP-00 和 JER-01 nAChR 的结合亲和力比敏感品系分别降低 1.3 和 1.7 倍。这无法解释该抗性品系对吡虫啉的抗性高达 1000 倍的现象, 故他们认为在这些高抗性品系中并不涉及 nAChR 敏感性的降低。桃蚜中的类似试验也揭示了吡虫啉与抗性和敏感品系 nAChR 的结合亲和力无差异^[11], 表明不存在靶标敏感性降低的问题。

与吡虫啉相比, 其代谢物 5-羟基吡虫啉与烟

粉虱 nAChR 的结合亲和力低于检测水平, 这种低结合亲和力与其药效比吡虫啉低约 20 倍是一致的^[6]。

Li 等^[23] 发现, 在室内用吡虫啉选育而得的褐稻虱抗性品系对作用于 nAChR 的其他新烟碱类杀虫剂呈交互抗性, 表明靶标敏感性降低也许在褐稻虱对吡虫啉的抗性中起着重要作用。为了证实这一点, 他们对褐稻虱抗性 (R) 和敏感 (S) 品系中的 nAChR 进行了同位素标记的配体结合研究, 结果表明, [³H] 吡虫啉与 S 品系 nAChR 的结合水平大大高于 R 品系 (分别为 16.7 ± 1.0 和 0.34 ± 0.21 mol/ μ g 蛋白, 即前者是后者的 4.9 倍)。为了进一步了解褐稻虱对吡虫啉抗性的分子基础, 他们克隆了 5 个 nAChR 亚基 (N1a1 ~ N1a4 和 N1b1), 并对 R 和 S 品系的 cDNA 序列进行了比较, 发现 R 品系 nAChR 在 2 个亚基 (N1a1 和 N1a3) 151 位置的保守缬氨酸 (Y) 突变为丝氨酸 (S), 即 Y151S。用专一性等位 PCR 技术也证实了 Y151S 突变的基因型频率与吡虫啉抗性的相关性。通过含有褐稻虱 α 和大鼠 $\beta 2$ 亚基的杂交 nAChR 的表达, 证明了在专一性的 [³H] 吡虫啉结合中, Y151S 突变在 nAChR 敏感性的降低中起着重要作用, 从而首次为新烟碱类杀虫剂的靶标抗性提供了直接证据。

3 抗性治理策略

现在看来, 笔者^[43, 44] 在 1993 年经综合分析提出、后又经实际验证的抗性治理策略仍是适用的, 即总的原则是在空间或时间上科学合理地限制使用该种药剂, 以及与无交互抗性的药剂交替使用。

为了推广和实施有效的抗性治理策略, 应强调抗性检测和监测的重要性, 这一原则适用于任何具有不同作用方式的杀虫剂。在历史上, 主要是通过连续引入新的化合物来取代已产生抗性的杀虫剂, 从而延缓抗性的产生。虽然市场上有许多杀虫剂, 但其作用靶标是有限的, 可供选择的新颖杀虫剂自 20 世纪 70 年代以来已越来越少。这个问题现已引起各国有关部门, 以致欧洲地中海

植物保护组织 (EPPO) 的重视,最近还出版了专门的指导大纲,不但要求对新的活性成分进行登记,而且还需要提供有关抗性问题的背景材料^[45],其中包括敏感度基线、监测资料(对新化合物连续使用后抗性发展的分析)以及抗性治理的策略(新化合物应怎样与其他化合物混用以便延长其使用寿命),这些都被列为了登记时必须提供的重要资料。

鉴于新烟碱类杀虫剂既可作为持效的内吸处理,又可用于短效的叶面喷洒,因此对于哪种处理更易产生抗性是应该予以考虑的。采用何种处理方式更合适,应根据作物体系靶标害虫的特性及其为害时期的长短来决定。例如,对有些半翅目或鞘翅目害虫,由于其为害一般都是在作物的早期,故采用内吸性化合物作种籽或土壤处理是完全合适的,而且其效果还可延续至后期;而对移动性较大、为害期较短的害虫,在虫口密度超过规定的防治阈值时,则应采用叶面喷洒处理。

美国亚利桑那州于1996年实行的防治棉-瓜生态系统中烟粉虱的策略是值得借鉴的^[34]:吡虫啉主要限于春季和秋季蔬菜的内吸处理,夏季作物则不用新烟碱类杀虫剂而换用其他类型的杀虫剂,从而获得了较好的效果。

我国在防治稻飞虱过程中存在的主要问题是没制定科学合理的抗性治理策略。例如在整个稻飞虱为害期都使用吡虫啉,有些地区一年的使用次数高达20次以上;其次是施药方法不合理,吡虫啉是一种内吸性药剂,而农民通常用作叶面喷洒,况且稻飞虱主要棲聚在水稻的基部,叶面喷洒根本起不到很好的防治效果。因此,当前重要的是必须建立起水稻上系统防治稻飞虱的抗性治理策略,限用吡虫啉,提倡与敌敌畏、毒死蜱和异丙威等杀虫剂交替使用,并改进其施药技术。

4 结语与展望

从表2的不完全统计可以看出,已有13种害虫对吡虫啉产生了抗性,其中粉虱和稻飞虱的抗性尤为突出。从吡虫啉的代谢抗性研究结果来看,主要涉及P450单加氧酶活性的增高,而P450单加氧酶活性增高是由于其相关基因的过表达所致,因而还需要进一步了解此种过表达是否会引起对其他杀虫剂的交互抗性。现已证明,稻飞虱对吡虫啉的高抗性主要是由于nAChR的Y151S突变所致,但Y151S在脊椎动物和无脊椎动物的nAChR亚基之间是高度保守的,这个残基不可能负责新烟碱类杀虫剂的高度选择性,故对其作用

机理还需要做进一步的研究。

为了有效阻止和延缓某些新杀虫剂抗性的发生和发展,建立这些杀虫剂的敏感度基线和抗性早期诊断剂量、对该药剂进行抗性检测和监测是非常必要的。在进行新农药登记时,应要求申请者提供科学的、不易产生抗性的使用方法。在田间推广使用前,应通过室内试验对其进行抗性选育,以便提供抗性发展速率的相关资料,并测定其抗性稳定性,为合理轮用提供依据;应测定其抗性谱,以便提供对其他类型杀虫剂交互抗性的资料,以供合理轮换使用。为克服抗性的产生,还应了解产生抗性的分子机理。其抗性若涉及表皮渗透作用降低,则可研究开发增加其渗透作用的渗透剂;若涉及参与代谢的解毒酶活性的增高,则可研究开发该酶的抑制剂,即无毒的增效剂,或寻找对该酶有抑制作用的杀虫剂进行合理混用;若涉及作用靶标敏感度降低,则可考虑以其变构靶标为靶标,通过生物合理设计,合成及筛选出反抗性的化合物。

参考文献:

- [1] MO Jian-chu(莫建初), CHENG Jia-an(程家安). 新烟碱杀虫剂抗药性研究进展 [J]. Acta Phytophytica Sinica (植物保护学报), 2003, 30: 91-96
- [2] Nauen R, Elbert A. European monitoring of resistance to common classes of insecticides in *Myzus persicae* and *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) with special reference to imidacloprid [J]. Bull Entomol Res, 2003, 93: 47-54.
- [3] Foster S, Denholm I, Thompson R. Variation in response to neonicotinoid insecticides in peach-potato aphids *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) [J]. Pest Manag Sci, 2003, 59: 166-173.
- [4] Weichell I, Nauen R. Monitoring of insecticide resistance in dan son hop aphids *Phorodon humuli* Schrank (Homoptera: Aphididae) from German hop gardens [J]. Pest Manag Sci, 2003, 59: 991-998.
- [5] Cahill M, Coman K, Day S, et al. Baseline determination and detection of resistance to imidacloprid in *Besisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) [J]. Bull Entomol Res, 1996, 86: 343-349.
- [6] Rauch N, Nauen R. Biochemical markers linked to neonicotinoid cross-resistance in *Besisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) [J]. Arch Insect Biochem Physiol, 2003, 54: 165-176.
- [7] Goman K, Hewitt F, Denholm I, et al. New developments in insecticide resistance in the glasshouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) and the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) in the UK [J]. Pest Manag Sci, 2001, 58: 123-130.
- [8] Oken E R, Dively G P, Nelson J O. Baseline susceptibility to imidacloprid and cross resistance patterns in Colorado potato beetle (*Coleoptera: Chrysomelidae*) populations [J]. J Econ Entomol, 2000, 93: 447-458.
- [9] Nauen R, Denholm I. Resistance of insect pests to neonicotinoid insecticides: current status and future prospects [J]. Arch Insect Biochem Physiol, 2005, 58: 200-215.
- [10] Cox D, Devonshire A, Denholm I, et al. Monitoring of insecticide resistance in *Myzus persicae* from Greece [A]. Proceedings 6th International Symposium on Aphids in New Millennium [C]. Rennes France, 2001.

- [11] Nauen R, Hungenberg H, Tolb B, et al. Antifeedant-effect biological efficacy and high affinity binding of imidacloprid to acetylcholine receptors in tobacco associated *Myzus persicae* (Sulzer) and *Myzus nicotianae* Blackman (Homoptera Aphididae) [J]. Pestic Sci 1998, 53: 133-140
- [12] PAN Wen-liang (潘文亮), DANG Zhi-hong (党志红), GAO Zhan-lin (高占林), et al. 几种蚜虫对吡虫啉抗药性研究 [J]. Chin J Pestic Sci (农药学报), 2000, 2(4): 85-87.
- [13] 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的抗药性品系的室内选育及抗药性风险评价 [J]. Acta Phytophylaxia Sinica (植物保护学报), 2004, 31: 401-405
- [14] Nauen R, Elbert A. Resistance of *Bemisia* spp. (Homoptera Aleyrodidae) to insecticides in southern Spain with special reference to neonicotinoids [J]. Pest Manag Sci 2000, 56: 60-64.
- [15] Prabhaker N, Toscano N C, Castle S J et al. Selection for imidacloprid resistance in silverleaf whiteflies from the Imperial Valley and development of a hydroponic bioassay for resistance monitoring [J]. Pestic Sci 1997, 51: 419-426
- [16] Byrne F J, Castle S, Prabhaker N, et al. Biochemical study of resistance to imidacloprid in B biotype *Bemisia tabaci* from Guatemala [J]. Pest Manag Sci 2003, 59: 347-352
- [17] Zhao JY, Bishop BA, Graphius EJ. Inheritance and synergism of resistance to imidacloprid in the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) [J]. J Econ Entomol 2000, 93: 1508-1514
- [18] Hollingworth R M, Mota-Sanchez D, Whalon M E, et al. Comparative pharmacokinetics of imidacloprid in susceptible and resistant Colorado potato beetles [A]. Proceedings 10th IUPAC International Congress on the Chemistry of Crop Production [C]. Basel 2002, 1: 312
- [19] Nisink K D, Tanaka T. Synergism and stability of acetamiprid resistance in a laboratory colony of *Plutella xylostella* [J]. Pest Manag Sci 2005, 61: 723-727
- [20] Sone S, Hattori Y, Tsuboi S et al. Difference in susceptibility to imidacloprid of the population of the small brown planthopper, *Laodelphax sticticus* Fallén, from various localities in Japan [J]. J Pestic Sci 1995, 20: 541-542
- [21] SHEN Jin-liang (沈晋良). 关于中晚稻褐飞虱对吡虫啉抗药性情况的报道 [R/OL]. 中国农技推广网 (www.nates.gov.cn), 2005.
- [22] Liu Z, Han Z, J Wang Y C, et al. Selection for imidacloprid resistance in *Nilaparvata lugens*: cross-resistance patterns and possible mechanisms [J]. Pest Manag Sci 2003, 59: 1355-1359
- [23] Liu Z, Williamson M S, Lansdell S J et al. A nicotinic acetylcholine receptor mutation conferring target-site resistance to imidacloprid in *Nilaparvata lugens* (brown planthopper) [J]. PNAS, 2005, 102: 8420-8425
- [24] Dennehy T J, Russell J S. Susceptibility of lygus bug populations in Arizona to acephate (Onthene) and bifenthrin (Capture) with related contrast of other insecticides [A]. Nashville T N. Proceedings Beltwide Cotton Conferences [C]. 1996, 2: 771-776
- [25] Wen Z M, Scott JG. Cross-resistance to imidacloprid in strains of German cockroach (*Blattella germanica*) and housefly (*Musca domestica*) [J]. Pestic Sci 1997, 49: 367-371
- [26] Daborn P, Boundy S, Yen J et al. DDT resistance in *Drosophila* correlates with Cyp6g1 over-expression and confers cross-resistance to the neonicotinoid imidacloprid [J]. Genet Genom, 2001, 266: 556-563
- [27] Perring T M. The *Bemisia tabaci* species complex [J]. Crop Protect 2001, 20: 725-737
- [28] Guinao P, Beitia F, Cenis J L. Biotype determination of Spanish populations of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) [J]. Bull Entomol Res 1997, 87: 587-593
- [29] Denholm I, Cahill M, Byrne F J et al. Progress with documenting and combating insecticide resistance in *Bemisia* [A]. Gerling D, Mayer R T. *Bemisia* 1995. Taxonomy, Biology, Damage, Control and Management [C]. Andover UK: Intercept 1996, 577-603
- [30] Goman K, Wen J, Denholm I. Characterization of neonicotinoid resistance in *Bemisia tabaci* from Spain [A]. Proc BCPC Intl Congr Crop Sci Technol [C]. 2003, 2: 783-788
- [31] Li A Y, Dennehy T J, Li X, et al. Susceptibility of Arizona whiteflies to chloronicotinyl insecticides and IGR's: New developments in the 1999 season [A]. Memphis T N. Proc Beltwide Cotton Conferences [C]. National Cotton Council 2000, 1325-1330
- [32] Li A Y, Dennehy T J, Wigert A M, et al. Sustaining Arizona's fragile access in whitefly resistance management [A]. Dugger P, Richter D, Memphis T N. Proc Beltwide Cotton Conferences [C]. National Cotton Council San Diego, CA, 2001, 1108-1114.
- [33] Palmbo J C, Horowitz A R, Prabhaker N. Insecticidal control and resistance management for *Bemisia tabaci* [J]. Crop Protect 2001, 20: 739-765
- [34] Dennehy T, Denholm I. Goals achievements and future challenges of the Arizona whitefly resistance management program [A]. Memphis T N. Proceedings 1998 Beltwide Cotton Production Conference [C]. National Cotton Council San Diego, CA, 1998, 68-72
- [35] Williams L, Dennehy T J, Palmbo J C. Can resistance to chloronicotinyl insecticides be averted in Arizona field crops? [A]. Proceedings Beltwide Cotton Conferences [C]. San Diego CA, 1998, 2: 1250-1255.
- [36] Horowitz A R, Denholm I, Goman K, et al. Insecticide resistance in whiteflies: current status and implication for management [A]. Denholm I, Ioannidis P. Proceedings of an ENMARA Symposium: Combating insecticide resistance [C]. Thessaloniki Greece, 1999, 8996-8998
- [37] Zhao JY, Liu 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
- [38] Elzen G W. Changes in resistance to insecticides in tobacco budworm populations in Mississippi 1993-1995 [J]. Southwest Entomol 1997, 22: 61-72
- [39] Pedra J H F, McChyre L M, Scharff M E, et al. Genome-wide transcription profile of field- and laboratory-selected dichlorophenyltrichloroethane (DDT)-resistant *Drosophila* [J]. PNAS, 2004, 101: 7034-7039
- [40] Schulz-Jander D A, Casida J E. Imidacloprid insecticide metabolism: human cytochrome P450 isozymes differ in selectivity for imidazolidine oxidation versus nitroimine reduction [J]. Toxicol Lett 2002, 132: 65-70
- [41] Morin S, Kanurker J, Lueke B, et al. Molecular analysis of multiple cytochrome P450 genes from the whitefly, *Bemisia tabaci* [A]. Book of Abstracts EW SN II [M]. Cavtat Croatia 2004, 27
- [42] Nauen R, Salgado V, Ebbinghaus-Kintscher U, et al. Thiamethoxam is a neonicotinoid precursor converted to clothianidin in insects and plants [J]. Pestic Biochem Physiol 2003, 76: 55-69
- [43] TANG Zhen-hua (唐振华). Resistance of Insects to Insecticides and its Management (昆虫抗药性及其治理) [M]. Beijing (北京): Agriculture Press (农业出版社), 1993, 383-446
- [44] TANG Zhen-hua (唐振华), BI Qiang (毕强). Molecular Behavior of Insecticide Action (杀虫剂作用的分子行为) [M]. Shanghai (上海): Far-east Publishing House (远东出版社), 2003, 591-619
- [45] Heimbach U, Kral G, Niemann P. Implementation of resistance risk analysis of plant protection products in the German authorization procedure [A]. Proc Brighton Crop Prot Conf Pests Dis [C]. 2000, 7B: 771-776

(Ed. TANG J)