

西花蓟马对吡虫啉抗性机制的研究*

王圣印^{1 2} 刘永杰¹ 周仙红² 张安盛² 李丽莉² 门兴元²
张思聪² 于毅^{2**}

(1. 山东农业大学 泰安 271018; 2. 山东省农业科学院植物保护研究所 山东省植物病毒学重点实验室 济南 250100)

摘 要 为了解大规模应用吡虫啉防治西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* (Pergande) 的抗性风险, 本文研究了吡虫啉与多杀菌素和啶虫咪的交互抗性并比较了多功能氧化酶系 (mixed-function oxidases, MFO) 的 3 个组分细胞色素 P450、细胞色素 b_5 、甲氧试卤灵-O-脱甲基酶 (methoxyresorufin O-demethylase, MROD) 在西花蓟马敏感品系 (S)、抗吡虫啉品系 (BK) 和北京田间品系 (BJ) 中的含量以及活性。生物测定表明北京田间品系 (BJ) 对多杀菌素已经产生了较高抗性 ($RR_{50} = 35.38$), 而对啶虫咪 ($RR_{50} = 3.05$) 和吡虫啉 ($RR_{50} = 1.82$) 处于敏感, 交互抗性研究结果表明西花蓟马对吡虫啉与多杀菌素 ($RR_{50} = 1.31$) 和啶虫咪 ($RR_{50} = 3.20$) 无交互抗性。生化研究表明: 西花蓟马抗吡虫啉品系的 3 个组分含量均显著高于 S 品系西花蓟马的含量 ($P < 0.05$), 其中细胞色素 P450 在 S 品系 WFT 的 4.5 倍, 细胞色素 b_5 含量是 S 品系 WFT 的 4.23 倍, MROD 活性是 S 品系 WFT 的 5.99 倍, 表明多功能氧化酶系与西花蓟马对吡虫啉的抗药性密切相关。

关键词 西花蓟马, 抗药性, 细胞色素 P450, 细胞色素 b_5 , 甲氧试卤灵-O-脱甲基酶

Mechanisms of imidacloprid resistance in *Frankliniella occidentalis*

WANG Sheng-Yin¹ LIU Yong-Jie¹ ZHOU Xian-Hong² ZHANG An-Sheng² LI Li-Li²
MEN Xing-Yuan² ZHANG Si-Cong² YU Yi^{2**}

(1. Shandong Agricultural University, Taian 271018, China; 2. Shandong Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory for Plant Virology of Shandong, Jinan 250100, China)

Abstract Imidacloprid is a key insecticide universally used for control of the western flower thrip (WFT), *Frankliniella occidentalis* (Pergande). Resistance to imidacloprid had been studied previously in laboratory selected strains in other insects. These studies mainly attribute imidacloprid resistance to enhanced P450, b_5 and methoxy resorufin O-demethylase (MROD) monooxygenases detoxification. Further studies revealed that imidacloprid resistant hoppers did not show cross-resistance to acetamiprid and spinosad insecticides. Thus, alternate use of neonicotinoids and spinosad could be an effective method of managing pesticide resistance in this pest.

Key words *Frankliniella occidentalis*, insecticide resistance, cytochrome P450, cytochrome b_5 , methoxy resorufin O-demethylase

外来有害入侵生物西花蓟马起源于美国西部洛基山脉 (Brodsgaard, 1993; Gerin *et al.*, 1994), 现已遍及美洲、欧洲、亚洲、非洲、大洋洲, 成为一种世界性害虫。近年来传入我国, 张友军等于 2003 年 7 月首次在北京郊区的部分保护地辣椒和黄瓜上发现西花蓟马严重危害 (张友军等 2003),

现在该虫已经在青岛、云南等地广泛传播危害。西花蓟马的寄主植物非常广泛, 目前已知的有 66 个科的 200 多种植物 (杜宇等 2001), 露地植物主要有番茄、芹菜、豌豆、洋葱、苹果、葡萄等 (Robb, 1989), 温室蔬菜及花卉主要有甜椒、黄瓜、玫瑰、兰花、非洲紫罗兰等 (Yudin *et al.*, 1986;

* 资助项目: 农业公益性行业科研专项 (200803025)。

** 通讯作者, E-mail: robertyuyi@163.com

收稿日期: 2011-02-28, 接受日期: 2011-04-28

Daughtrey *et al.*, 1997), 其寄主种类随着西花蓟马的不断扩散在不断增加。依据西花蓟马的习性分析, 在其分布区内, 几乎所有观赏花卉及蔬菜均有可能成为其寄主。西花蓟马对寄主植物造成的危害包括用其特殊的口器刺吸寄主植物造成嫩叶皱缩卷曲, 甚至黄化、干枯、凋萎、子房畸形、发育受阻或果实褪色, 还能传播多种病害, 其中最重要的是番茄斑萎病毒属的 2 种病毒: 番茄斑点萎蔫病毒 (TSWV) 和凤仙坏死斑点病毒 (INSV), 这 2 种病毒均严重感染多种重要农作物, 经常造成严重的农作物损害, 严重时甚至绝收。

20 世纪 80 年代, 西花蓟马的生物学特性发生显著变化, 对环境的适应能力和对杀虫剂的抗药性显著增强 (Helyer and Brobyn, 1992)。吡虫啉作为防治刺吸式口器害虫的主要药剂被广泛用于防治西花蓟马, 因此极易产生抗性 (Wen *et al.*, 2009), 已有许多报道证明其他田间害虫品系和实验室筛选品系对吡虫啉产生了抗性 (Scott, 1991; Zhao *et al.*, 1995; Grafius and Bishop, 1996; Elbert and Nauen, 1996; Prabhaker, 1997; Roditakis and Roditakis, 2005; Kevin *et al.*, 2008; Matsumura *et al.*, 2008; Van Toor *et al.*, 2008)。多功能氧化酶系 (mixed-function oxidases, MFO) 是一类由细胞色素 P450、细胞色素 b_5 和 O-脱甲基酶组成的酶系 (唐振华, 1993)。由于 MFO 能够催化多种反应, 具有广泛的底物, 即具有很大的底物非专一性, 因此它能使害虫在某些情况下产生很高的抗性, 同时也是害虫对杀虫剂产生交互抗性的主要原因之一。目前已有实验间接证明西花蓟马对吡虫啉等新烟碱类杀虫剂的抗性与 MFO 有关 (Espinosa, 2005), 但从生化的角度直接研究 MFO 在西花蓟马抗药性中的作用, 报道还很少。本研究在测定吡虫啉与多杀菌素和啶虫脒交互抗性的基础上, 比较测定了细胞色素 P450、细胞色素 b_5 、甲氧试卤灵-O-脱甲基酶 (MROD) 在西花蓟马敏感与抗性品系中含量或活性。

1 材料与方法

1.1 试验虫源

北京田间品系 (BJ): 2010 年 9 月采自北京市门头沟区碧坤蔬菜种植中心温室大棚辣椒地中的西花蓟马为田间抗性调查试虫, 采集当天即进行毒力生物测定, 试虫均选用个体大小较一致的健

康雌成虫。

抗吡虫啉品系 (BK): 由山东省农科院植保所生防室提供, 已在室内筛选 48 代, 筛选条件为室内温度 (25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$, 光周期 L:D = 16:8 的条件下采用扁豆饲养。

敏感品系 (S): 2003 年采自中国农业科学院蔬菜花卉研究所温室, 在实验室内温度为 (25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$, 光周期 L:D = 16:8 的条件下采用扁豆饲养, 期间从未接触任何杀虫剂。

1.2 供试药剂

2.5% 菜喜悬浮剂 (有效成分: 多杀菌素, 美国陶氏益农公司); 10% 吡虫啉可湿性粉剂 (有效成分: 吡虫啉, 浙江海正化工); 20% 莫比朗可湿性粉剂 (有效成分: 啶虫脒, 日本曹达株式会社)。

NADPH (B. M.); EDTA (Sigma); SDS (Merck Darm Stadt); 考马斯亮兰 G250 (Fluka); PMSF (苯甲基磺酰氟, Serva); 甲氧试卤灵和石油醚 (北京化工厂); 牛血清白蛋白 (BSA, Germany B. M.); 二硫代苏糖醇 (DTT, Promega); 苯基硫脲 (PTU, 北京通县育才精细化工厂); 连二亚硫酸钠 (保险粉, 北京市东环联合化工厂); 其它试剂为国产分析纯。

1.3 生物测定

实验药剂用水稀释 5~7 个梯度浓度, 每个梯度浓度以 1/2 递减, 以蒸馏水作为对照。生测采用浸叶法 (Fatih and İrfan, 2007), 将月季花叶片在药剂 (蒸馏水) 中浸泡 5 s, 晾干后放入 Munger Cell 玻璃板中, 在叶片的下方铺一张合适尺寸的滤纸, 在滤纸上滴加适量的水以保持合适的湿度。将试虫用干冰麻醉后放入 Munger Cell 孔中, 加盖玻璃板, 以铁夹固定。每个实验浓度设 3 个重复, 每个重复包含至少 20 只试虫。Munger Cell 玻璃板放在温度为 (25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$, 光周期为 L:D = 16:8, 湿度控制在 $70\% \pm 10\%$ 。48 h 后记录死亡虫数, 以试虫不能正常爬行身体等长距离为标准判定死亡, 对照组死亡率控制在 5% 以下。

1.4 酶活性测定

1.4.1 酶源制备 参考 Lee and Scott (1989a) 方法, 将西花蓟马雌成虫 200 头在 0°C 的 1.15% 的 KCl 中漂洗几秒钟, 用滤纸吸干水分后置于匀浆缓冲液中 (0.1 mol/L pH 7.5 磷酸钠缓冲液, 含 1 mmol/L EDTA、0.1 mmol/L DTT、1 mmol/L PTU、1 mmol/L PMSF 和 10% 甘油) 匀浆。匀浆用全玻璃

匀浆器在冰浴条件下进行,匀浆液经4层纱布过滤后,4℃,10 000 g离心15 min。过滤上清液后,4℃,10 000 g下离心1 h,将微粒体沉淀在重悬缓冲液(0.1 mol/L 磷酸钠缓冲液 pH7.5、1 mmol/L EDTA、0.1 mol/L DTT、1 mmol/L PMSF 和 20% 甘油)中重悬作酶源。

1.4.2 细胞色素 P450 含量测定 CO 差示光谱法参考 Omura 与 Sato (1964) 方法进行。在浓硫酸中滴加甲酸,产生 CO,CO 经 NaOH 溶液(0.1 mol/L)洗涤后,用于 P450 含量测定。将微粒体悬浮液用重悬液稀释至 1 mg/mL 左右,加入连二亚硫酸钠颗粒至饱和,平衡 5 min,一分为二,分别加入参比杯和样品杯中,在波长 400~500 nm 处扫描,以参比杯做为空白,扫描样品杯的光吸收值为基线。待基线稳定平直时在样品杯中通 CO,以参比杯做为空白,扫描样品杯的光吸收值,多次记录峰顶(OD₄₅₀)和峰谷(OD₄₉₀)光吸收值,取 OD₄₅₀~OD₄₉₀的最大值。

计算含量: $P450 = (OD_{450} - OD_{490}) / 91 \text{ mmol/L} / \text{蛋白含量}(\text{mg/mL})$ (消光系数 91 mmol/L / cm)。

1.4.3 细胞色素 b₅ 含量测定 参考 Omura 和 Sato (1964) 方法。将微粒体悬浮液用重悬液稀释至 1 mg/mL 左右,一分为二,分别加入参比杯和样品杯中,在波长 400~500 nm 处扫描,以参比杯做为空白,扫描样品杯的光吸收值为基线。在样品杯中加入连二亚硫酸钠颗粒至饱和,平衡 5 min,在波长 400~500 nm 处扫描,以参比杯做为空白,扫描样品杯的光吸收值,多次扫描记录峰顶(426 nm)和峰谷(409 nm)光吸收值,取 OD₄₂₆~OD₄₀₉的最大值。

计算含量: $b_5 = (OD_{426} - OD_{409}) / 185 \text{ mmol/L} / \text{蛋白含量}(\text{mg/mL})$ (消光系数 185 mmol/L / cm)。

1.4.4 O-脱甲基酶活性测定 参考 Hansen 和 Hodgson(1971) 方法。称取一定量对-硝基酚,将对-硝基酚溶解在 NaOH 溶液中,配成梯度浓度的对-硝基酚的 NaOH 溶液,在 400 nm 下比色,做出标准曲线。X 轴为对-硝基酚的量,Y 轴为 OD 值。反应总体系 2 mL: 0.1 mol/L pH7.8 的磷酸缓冲液 1 270 μL, 0.36 mmol/L NADPH 200 μL, 3 mmol/L 对-硝基苯甲醚 30 μL,酶液 500 μL。反应体系在 25℃ 振荡温育反应 30 min,加入 0.5

mL 1M HCl 终止反应,再加入 2.5 mL 三氯甲烷萃取反应产物对-硝基酚,在 3 000 g 下离心 15 min。取下层即三氯甲烷层 1.5 mL 加入 1.5 mL 0.5M NaOH 反萃取。NaOH 萃取液在 400 nm 比色分析,重复 3 次,得到 OD 值,以 0.5 mol/L NaOH 溶液为对照。然后根据对-硝基酚标准曲线和每毫升酶液中所含的蛋白的量求出每分钟每毫克蛋白产生的对-硝基酚的摩尔数来表示酶的活性(mol/min/mg pr)。

1.4.5 酶液蛋白质含量测定 参考 Bradford (1976) 方法。吸取酶液 0.1 mL 于 10 mL 试管中,对照管中则加入 0.1 mL 磷酸缓冲液,加入 5 mL 考马斯亮蓝 G-250 试剂,充分混匀,25℃ 恒温水浴下放置 2 min,在 595 nm 下比色测 OD 值。重复 3 次取平均值,根据标准曲线计算出蛋白质含量,除以 0.1 即每毫升酶液中的蛋白含量(μg pr/mL)。

1.5 数据分析

各杀虫剂生物测定结果采用 POLO 软件分析 LC₅₀ 值和 LC₉₀ 值,95% 置信区间和斜率。抗性倍数 RR₅₀ 为抗性品系的 LC₅₀ 与敏感品系 LC₅₀ 的比值。95% 置信区间不重叠表示差异显著。用 SPSS 统计软件进行统计学分析,用 Duncan's 多重比较进行酶活性和含量差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 抗性评估

本研究对北京的田间西花蓟马品系和山东省农科院植保所抗吡虫啉品系进行了 2 类 3 种杀虫剂的敏感性检验。测定结果发现(表 1),北京地区田间的西花蓟马品系(BK)对吡虫啉(RR₅₀ = 1.82)和啶虫咪(RR₅₀ = 3.05)处于敏感状态,但敏感度相比室内敏感品系有所下降,对多杀菌素则产生了较高的抗性(RR₅₀ = 35.38)。抗吡虫啉的筛选品系对多杀菌素(RR₅₀ = 1.31)和啶虫咪(RR₅₀ = 3.20)的抗性相对于敏感品系基本没有增加,说明多杀菌素和啶虫咪对吡虫啉没有交互抗性。

2.2 细胞色素 P450 含量测定结果

由图 1 可知,相对于敏感品系(S),北京田间品系(BJ)和抗吡虫啉品系(BK)的细胞色素 P450 含量均有一定程度的提高,三者之间差异显著,其

表 1 北京地区田间和抗吡虫啉西花蓟马品系对 3 种药剂的抗药性

Table 1 Resistance survey of the field populations of *Frankliniella occidentalis* in Beijing to 3 insecticides

药剂 Insecticide	试虫品系 Strain	斜率(±标准差) Slope(±SE)	LC ₅₀ (95%置信区间)	LC ₉₀ (95%置信区间)	抗性倍数 (RR50)
			LC ₅₀ (95% FL) (mg a. i. L ⁻¹)	LC ₉₀ (95% FL) (mg a. i. L ⁻¹)	
多杀菌素	BJ	1.492(±0.131)	3.786(3.058–4.680)	27.350(19.362–43.471)	35.38
	BK	1.374(±0.109)	0.141(0.112–0.181)	1.366(0.878–2.535)	1.31
	S	1.300(±0.122)	0.108(0.085–0.136)	1.040(0.684–1.857)	1.00
啶虫咪	BJ	1.389(±0.126)	220.845(175.818–276.193)	1846.999(1271.602–3070.664)	3.05
	BK	1.420(±0.107)	232.049(186.171–290.898)	1936.714(1312.273–3295.587)	3.20
	S	1.391(±0.125)	72.515(58.178–90.906)	605.223(410.085–1029.871)	1.00
吡虫啉	BJ	1.429(±0.134)	48.730(38.869–60.734)	384.152(265.891–637.133)	1.82
	BK	1.459(±0.112)	183.169(146.796–226.995)	692.501(972.753–2241.310)	7.74
	S	1.365(±0.130)	23.672(18.755–29.686)	205.551(139.654–351.266)	1.00

注:抗性倍数 = LC₅₀(BJ 品系) / LC₅₀(S 品系)。

Resistance ratio = LC₅₀ of BJ /LC₅₀ of S.

中北京田间品系(BJ)和抗吡虫啉品系(BK)细胞色素 P450 含量分别提高到 1.48 倍和 4.5 倍,抗吡虫啉品系(BK)细胞色素 P450 含量与北京田间品系(BJ)相比提高到 3.03 倍。

品系(BJ)和抗吡虫啉品系(BK)的细胞色素 b₅ 含量均有一定程度的提高,三者之间差异显著,其中北京田间品系(BJ)和抗吡虫啉品系(BK)细胞色素 b₅ 分别提高到 1.88 倍和 4.23 倍,抗吡虫啉品系(BK)细胞色素 b₅ 含量与北京田间品系(BJ)相比提高到 2.25 倍。

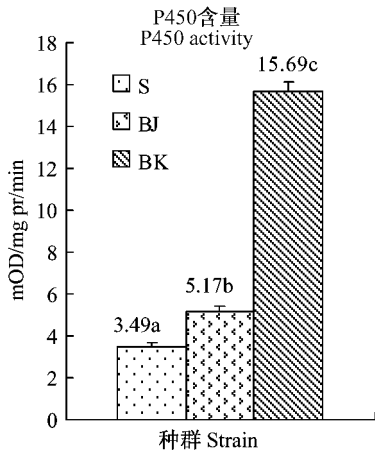


图 1 北京田间和抗吡虫啉品系西花蓟马细胞色素 P450 含量测定

Fig. 1 P450 activities between imidacloprid resistant strains and Beijing field strains

注:图中不同字母表示差异显著
(Duncan's, $P < 0.05$);下图同。

Data with different letters indicate significantly different
(Duncan's, $P < 0.05$). The same below.

2.3 细胞色素 b₅ 含量测定结果

由图 2 可知,相对于敏感品系(S),北京田间

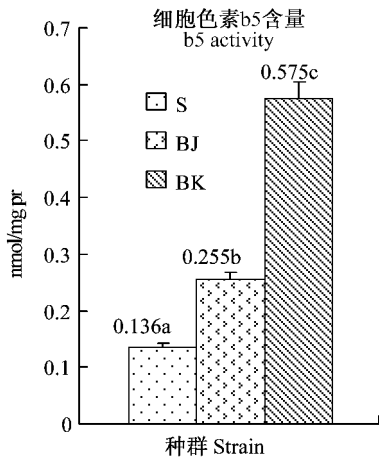


图 2 北京田间和抗吡虫啉品系西花蓟马细胞色素 b₅ 含量测定

Fig. 2 b₅ activities between imidacloprid resistant strains and Beijing field strains

2.4 O-脱甲基酶活性测定结果

由图 3 可知,相对于敏感品系(S),北京田间品系(BJ)和抗吡虫啉品系(BK)的 O-脱甲基酶活性均有一定程度的提高,三者之间差异显著,其

中北京田间品系 (BJ) 和抗吡虫啉品系 (BK) O-脱甲基酶活性分别提高到 1.29 倍和 5.99 倍, 抗吡虫啉品系 (BK) O-脱甲基酶活性与北京田间品系 (BJ) 相比提高到 3.57 倍。

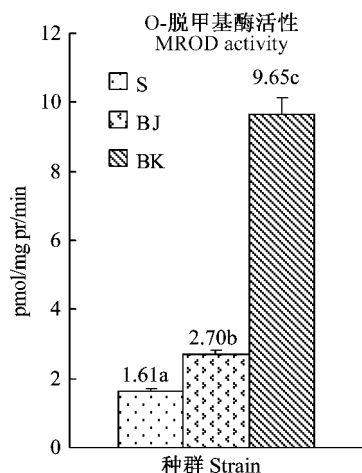


图3 北京田间和抗吡虫啉品系西花蓟马
O-脱甲基酶活性测定

Fig. 3 O-demethylase activities between
imidacloprid resistant strains and Beijing field strains

3 讨论

Prabhaker (1997)、Wang 等 (2001)、Sanchez 等 (2006) 和杨焕青等 (2009) 等研究发现害虫对吡虫啉产生抗性后, 常会对同类群或其他类群的杀虫剂产生交互抗性。本实验未发现抗吡虫啉西花蓟马品系对啶虫脒产生交互抗性, 但交互抗性系数已经上升到 3.20, 推测原因可能是筛选的抗吡虫啉西花蓟马品系相对于敏感品系抗性倍数还没有达到高抗水平 (抗性倍数 > 30)。研究表明, 多杀菌素主要作用于烟碱型乙酰胆碱受体 (Salgado, 1997), 其次也作用于 γ -氨基丁酸受体 (Waston, 2001)。本实验未发现抗吡虫啉的西花蓟马品系对多杀菌素产生交互抗性, 这可能是因为吡虫啉的作用靶标与多杀菌素不同有关。

细胞色素 P450 是多功能氧化酶系的末端氧化酶, 负责与底物及氧分子结合, 因而决定着整个酶系统的专一性, 在氧化代谢过程中起着核心作用。很多研究结果表明, 与 MFO 活性增强有关的害虫抗药性, 往往伴随其细胞色素 P450 含量的提高 (Cohen, 1982; Vincent *et al.*, 1985; Scott and

Georghiou, 1986; Lee and Scott, 1989b); LPR 家蝇对氯氰菊酯的抗性倍数大于 6 000 倍, 其细胞色素 P450 提高 3.81 倍 (Scott and Georghiou, 1986); Wen 等 (2009) 对抗吡虫啉品系的褐飞虱的研究发现, 抗性品系细胞色素 P450 含量是敏感品系的 7.3 倍, 由此说明, 细胞色素 P450 在 MFO 的氧化代谢过程中起着核心作用。本实验研究发现, 抗吡虫啉品系西花蓟马的细胞色素 P450 提高了 3.5 倍, 与其他抗吡虫啉害虫的细胞色素 P450 含量变化基本一致, 但抗性倍数的大小与细胞色素 P450 的含量并不一定成线性相关, 这可能和害虫种类不同相关。

细胞色素 b_5 在酶系中的作用机理尚未完全清楚, 但目前认为其主要起第二电子传递作用。研究表明, 抗性家蝇、小菜蛾、赤拟谷盗等害虫体内的细胞色素 b_5 有不同程度的提高 (Yu and Nguyen, 1992)。Zhang 和 Scott (1996) 还发现细胞色素 b_5 在家蝇对氯氰菊酯的代谢增强中必不可少, 并认为细胞色素 b_5 在家蝇对氯氰菊酯的抗性起重要作用。本实验研究发现抗吡虫啉品系西花蓟马细胞色素 b_5 含量相对于敏感品系提高到了 4.23 倍, 可以推断在西花蓟马与 MFO 相关的吡虫啉抗性机制中, 细胞色素 b_5 也发挥了重要作用, 其含量与吡虫啉抗药性呈正相关。

Lee 和 Scott (1989b) 曾系统研究了家蝇微粒体多功能氧化酶系与拟除虫菊酯的抗药性关系, 发现抗性家蝇品系的 MROD 是敏感品系的 64 倍; 对其它 7 个抗性家蝇品系的研究也发现, 除了组分含量的提高, 抗性家蝇中的 MROD 活性显著提高, 可达 180 倍, 证明了多功能氧化酶系单加氧酶活性增强在家蝇对拟除虫菊酯的抗药性产生中的重要作用 (Scott *et al.*, 1990)。此外, Rose 和 Barbhaiya (1995) 研究具有多种抗性的美洲棉铃虫品系 (Hebert) 的抗性机制, 结果发现测定的 4 种单加氧酶底物中, 美洲棉铃虫品系 (Hebert) 的 MROD 代谢活性是敏感品系的 23 倍, 证明了单加氧酶活性与棉铃虫抗药性呈正相关。目前尚未有关于抗吡虫啉品系西花蓟马单加氧酶活性的报道, 而本研究发现, 抗吡虫啉品系西花蓟马的单加氧酶活性提高到了 5.99 倍, 单加氧酶活性与吡虫啉抗药性呈正相关, 与其他抗吡虫啉害虫的酶活性变化相似, 但相关性的待有待于进一步研究。

通过对图 1~3 比较, 发现西花蓟马抗吡虫啉

品系(BK)对比敏感品系(S) O-脱甲基酶提高到 5.99 倍,细胞色素 P450 提高到 4.5 倍,细胞色素 b_5 提高到 4.23 倍,推测 O-脱甲基酶、细胞色素 P450 和 b_5 在多功能氧化酶系中对吡虫啉的解毒作用重要性依次降低,尚需进一步研究。北京地区田间品系(BK)西花蓟马对比敏感品系(S)细胞色素 b_5 含量提高到 1.88 倍,细胞色素 P450 含量提高到 1.48 倍,O-脱甲基酶活性提高到 1.28 倍,增加倍数与抗吡虫啉品系不一致,推测原因可能是北京田间品系为多抗性品系,与田间喷施的农药品种多样化相关。

西花蓟马幼虫生境的隐蔽性给西花蓟马的防治带来了极大的困难,成虫却是活动虫态,为化学防治西花蓟马提供了时间窗口,但大规模使用吡虫啉防治成虫,具有产生高抗性的风险。本项工作显示抗吡虫啉西花蓟马对多杀菌素和啉虫咪不存在交互抗性,在害虫治理时可采取轮换用药的方式,以减小抗性增加的风险。微粒体 P450 酶系的主要功能是通过杀虫剂等外源物质的解毒代谢来保护西花蓟马免受杀虫剂伤害,揭示成虫 MFO 酶系特征与功能对于评估化学防治成虫的可行性意义十分重大,同时可以开发以 MFO 酶系为靶标的杀虫剂。

参考文献 (References)

- Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biol. Chem.*, 72: 248—254.
- Brodsgaard HF, 1993. Effect of photoperiod on the bionomics of *Frankliniella occidentalis*. *J. Environ. Entomol.*, 22(3): 647—653.
- Cohen E, 1982. Studies on several microsomal enzymes in two strains of *Tribolium castaneum* (tenebrionidae, coleoptera). *Comp. Biochem. Physiol.*, 71(c): 123—126.
- Daughtrey ML, Jones RK, Moyer JW, 1997. Tospovirus-like the greenhouse industry: INSV has become a major pathogen on flower crops. *J. Plant Dis.*, 81: 1220—1230.
- 杜宇 杨碧 周力兵, 2001. 输华石竹属种苗检疫性有害生物风险评估. *植物检疫*, 15(5): 300—303.
- Elbert A, Nauen R, 1996. Bioassays for imidacloprid for resistance monitoring against the whitefly *Bemisia tabaci*. *Proc. Brighton Crop. Prot. Conf. Pests Dis. UK*, 2: 731—738.
- Espinosa PJ, Contreras J, Quinto V, Gravalos C, Fernandez E, Bielza P, 2005. Metabolic mechanisms of insecticide resistance in the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande). *Pest Manag. Sci.*, 61: 1009—1015.
- Fatih D, Irfan T, 2007. Insecticide resistance in *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) collected from horticulture and cotton in Turkey. *Australian J. Entomol.*, 46: 320—324.
- Gerin C, Hance T, Van Impe G, 1994. Demographical parameters of *Frankliniella occidentalis*. *J. Appl. Entomol.*, 118: 370—377.
- Grafius EJ, Bishop BA, 1996. Resistance to imidacloprid in Colorado potato beetle from Michigan. *Resist. Pest Manag.*, 8: 21—25.
- Hansen LG, Hodgson E, 1971. Biochemical characteristics of insect microsomes: N and O demethylation. *Biochem. Pharmacol.*, 20: 1569—1572.
- Helyer NL, Brobyn PJ, 1992. Chemical control of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis* Pergande). *J. Ann. Appl. Biology*, 121(2): 219—231.
- Kevin G, Liu ZW, Denholm I, Bruggen KU, Nauen R, 2008. Neonicotinoid resistance in rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Pest Manag. Sci.*, 64: 1122—1125.
- Lee SST, Scott JG, 1989a. An improved method for preparation, stabilization and storage of house fly (Diptera: Muscidae) microsomes. *J. Econ. Entomol.*, 82(6): 1559—1563.
- Lee SST, Scott JG, 1989b. Microsomal cytochrome P450 monooxygenases in the housefly (*Musca domestica* L.): biochemical changes associated with pyrethroid resistance and phenobarbital induction. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 35: 1—10.
- Matsumura M, Takeuchi H, Satoh M, Morimura SS, Otuka A, Watanabe TD, Thanh V, 2008. Species-specific insecticide resistance to imidacloprid and fipronil in the rice plant hoppers *Nilaparvata lugens* and *Sogatella furcifera* in East and South-east Asia. *Pest. Manag. Sci.*, 64: 1115—1121.
- Omura T, Sato R, 1964. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature. *J. Biol. Chem.*, 239(7): 2370—2378.
- Prabhaker N, 1997. Selection for imidacloprid resistance in silver leaf whiteflies from the imperial valley and development of a hydroponic bioassay for resistance monitoring. *Pestic. Sci.*, 51(4): 419—428.
- Robb KL, 1989. Analysis of *Frankliniella occidentalis*

- (Pergande) as a pest of floricultural crops in California greenhouses. Ph. D. Dissertation, University of California, Riverside.
- Roditakis E, Roditakis NE, 2005. Tsagkarakou, insecticide resistance in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) populations from Crete. *Pest Manag. Sci.*, 61:577—582.
- Rose RT, Barbhuiya L, 1995. Cytochrome P450 associated insecticide resistance and the development of biochemical diagnostic assays in *Heliothis virescens*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 51:178—191.
- Salgado VL, 1997. Themode sofaction of spinosad and other insect control Products. *Down Earth*, 52:35—43.
- Sanchez MD, Hollingworth RM, Grafius EJ, 2006. Resistance and cross-resistance to neonicotinoid insecticides and spinosad in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Pest Manag. Sci.*, 62:30—37.
- Scott JG, Georgiou GP, 1986. Mechanisms responsible for high levels of permethrin resistance in the house fly. *Pestic. Sci.*, 17:195—206.
- Scott JG, Lee SST, Shono T, 1990. Biochemical changes in the cytochrome P450 monooxygenases of seven insecticide resistance housefly (*Musca domestica* L.) strains. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 36:127—134.
- Scott JG, 1991. Toxicity of abamectin and hydramethylnon to insecticide susceptible and resistant strains of German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Agric. Entomol.*, 8:77—82.
- 唐振华, 1993. 昆虫抗药性及其治理. 北京: 中国农业出版社. 1—196.
- Van Toor RF, Foster SP, Anstead JA, Mitchinson S, Fenton B, Kasproicz L, 2008. Insecticide resistance and genetic composition of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) on field potatoes in New Zealand. *Crop Prot.*, 27:236—247.
- Vincent DR, Moldenke AF, Farnsworth DE, Terriere LC, 1985. Cytochrome P-450 in insects. 6. Age dependency and phenobarbital induction of cytochrome P-450, P-450 reductase, and monooxygenase activities in susceptible and resistant strains of *Musca domestica*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 23:171—181.
- Wang KY, Liu TX, Jiang XY, 2001. Cross-resistance of *Aphis gossypii* to selected insecticides on cotton and cucumber. *J. Phytoparasitica*, 29(5):393—399.
- Waston G, 2001. Actions of insecticidal spinosyns on γ -aminobutyric acid responses from small-diameter cockroach neurons. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 71:20—28.
- Wen YC, Liu ZW, Bao HB, Han ZJ, 2009. Imidacloprid resistance and its mechanisms in field populations of brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål in China. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 94:36—42.
- 杨焕青, 王开运, 王红艳, 2009. 抗吡虫啉棉蚜种群对吡蚜酮等药剂的交互抗性及其施药对其生物学特性的影响. 昆虫学报, 52(2):175—182.
- Yudin LS, Cho JJ, Michell WC, 1986. Host range of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae), with special reference to *Leucaena glauca*. *J. Environ. Entomol.*, 15:1292—1295.
- Yu SJ, Nguyen SN, 1992. Detection and biochemical characterization of insecticide resistance in the diamondback moth. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 44:74—81.
- 张友军, 吴青君, 徐宝云, 2003. 危险性外来入侵生物—西花蓟马在北京发生危害. 植物保护, 29(4):58—59.
- Zhang ML, Scott JG, 1996. Cytochrome b(5) is essential for cytochrome P450 6D1-mediated cypermethrin resistance in LPR house flies. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 55:150—156.
- Zhao G, Liu W, Brown JM, 1995. Insecticidal resistance in field and laboratory strains of western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae), *J. Econ. Entomol.*, 88:1164—1170.