

草地贪夜蛾卵和不同龄期幼虫对虱螨脲的敏感性及其与酶活力的关系*

王芹芹** 郑泊海 施 艳 何磊鸣 汪梅子 赵 特 周 琳***

(河南农业大学植物保护学院, 小麦玉米两熟高效生产全国重点实验室, 河南省新型农药创制与应用重点实验室, 河南省绿色农药创制工程技术研究中心, 郑州 450046)

摘 要 【目的】明确草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 卵和不同龄期幼虫对虱螨脲的敏感性及其与解毒酶[多功能氧化酶 (Mixed function oxidase, MFO)、羧酸酯酶 (Carboxylesterase, CarEs) 和谷胱甘肽 *S*-转移酶 (Glutathione *S*-transferase, GSTs)] 和几丁质酶 (Chitinase, CH) 活性的相关性。【方法】采用室内生物测定方法检测草地贪夜蛾卵和不同龄期幼虫对虱螨脲的敏感性, 并检测了卵和不同龄期幼虫体内 MFO、CarEs、GSTs 以及 CH 的活力。【结果】草地贪夜蛾卵和不同龄期幼虫对虱螨脲的敏感性呈先逐渐上升后迅速下降的趋势。其中, 卵、5 龄和 6 龄幼虫对虱螨脲的敏感性最低, LC_{50} 介于 107.67–1 003.81 $\mu\text{g/mL}$ 。但 1 龄、2 龄、3 龄和 4 龄幼虫对虱螨脲的 LC_{50} 分别为 11.90、10.77、1.38 和 2.26 $\mu\text{g/mL}$, 相对毒力指数分别为 84.35、93.20、727.40 和 444.16。经线性拟合分析发现, 1–4 龄幼虫对虱螨脲的相对毒力指数与 MFO 和 GSTs 酶比活力呈负相关, 而与 CH 活性呈极显著正相关 ($P < 0.01$)。【结论】草地贪夜蛾卵和不同龄期幼虫对虱螨脲的敏感性存在显著差异, 且 1–4 龄幼虫体内的 CH 活性增强可能有利于虱螨脲发挥毒力。虱螨脲可作为防治高龄草地贪夜蛾幼虫的理想药剂。

关键词 草地贪夜蛾; 虱螨脲; 生物测定; 解毒酶; 几丁质酶

The susceptibility of eggs and different larval instars of the fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) to lufenuron, and the correlation between susceptibility to this pesticide and enzyme activity

WANG Qin-Qin** JIA Bo-Hai SHI Yan HE Lei-Ming WANG Mei-Zi ZHAO Te ZHOU Lin***

(Henan Engineering Technology Research Center of Green-Pesticide Creation, Henan Key Laboratory for Creation and Application of Novel Pesticides, State Key Laboratory of High-Efficiency Production of Wheat-Maize Double Cropping, College of Plant Protection, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450046, China)

Abstract [Aim] To determine the susceptibility of eggs and different larval instars of the fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) to lufenuron, and the correlation between susceptibility to this pesticide and the activity of detoxifying enzymes [mixed-function oxidase (MFO), carboxylesterase (CarEs), glutathione *S*-transferase (GSTs)], and chitinase (CH)]. [Methods] Bioassays were conducted and the activity of MFO, CarEs, GSTs, and CH in eggs and different larval instars of *S. frugiperda* was measured in the laboratory. [Results] The susceptibility of eggs and different larval instars to lufenuron gradually increased, then rapidly decreased. Eggs and 5th and 6th instar larvae were the least sensitive to lufenuron, with LC_{50} values between 107.67 and 1 003.81 $\mu\text{g/mL}$. In contrast, the LC_{50} values of 1st to 4th instar larvae were 11.90, 10.77, 1.38, and 2.26 $\mu\text{g/mL}$,

*资助项目 Supported projects: 国家重点研发计划项目“黄淮玉米大豆复合种植丰产增效技术研发与集成示范 (2022YFD23009); 河南省玉米产业技术体系植保岗位科学家科研专项 (HARS-22-02-G3); 河南农业大学高层次人才专项支持基金项目 (30501425)

**第一作者 First author, E-mail: wangqqhau@163.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: zhoulinhenau@163.com

收稿日期 Received: 2025-05-16; 接受日期 Accepted: 2025-10-11

respectively, and the corresponding toxicity indices were 84.35, 93.20, 727.40, and 444.16, respectively. Linear regression indicates that the relative toxicity indices of 1st to 4th instar larvae were negatively correlated with MFO and GSTs enzyme activity, but positively correlated with CH activity ($P < 0.01$). [Conclusion] The susceptibility of eggs and different larval instar of *S. frugiperda* to lufenuron were found to be significantly different. Increased CH activity in 1st- to 4th-instar larvae may exacerbate the toxicity of lufenuron. On the basis of these results, lufenuron is an ideal insecticide for controlling higher instar *S. frugiperda* larvae.

Key words *Spodoptera frugiperda*; lufenuron; bioassays; detoxifying enzyme; chitinase

草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda*, 属鳞翅目 Lepidoptera 夜蛾科 Noctuidae 灰翅夜蛾属 *Spodoptera*, 已被证实迁飞进入我国的草地贪夜蛾群体来源于美国佛罗里达州的地理种群 (Zhang *et al.*, 2020), 而当地草地贪夜蛾对有机磷类、拟除虫菊酯类、氨基甲酸酯类等常用杀虫剂产生了高水平的抗药性(王芹芹等, 2019a)。自 2019 年 1 月份草地贪夜蛾入侵我国云南以来, 迅速扩散至全国 26 个省(直辖市、自治区)。在田间, 低龄幼虫均呈聚集分布, 高龄幼虫则为均匀分布, 主要为害我国玉米和小麦等主要粮食作物(孙小旭等, 2019; 王芹芹等, 2020a; 杨现明等, 2020), 对我国的粮食安全生产造成了巨大的损失。

虱螨脲 Lufenuron 属苯甲酰脲类杀虫剂, 是一种昆虫生长调节剂, 具有胃毒和触杀作用 (Zhang *et al.*, 2023)。该药剂主要通过控制几丁质合成或沉积影响害虫蜕皮和阻碍新表皮形成而致其死亡 (Dean *et al.*, 1998), 兼有一定的杀卵活性 (陈吉祥等, 2019)。研究表明虱螨脲对草地贪夜蛾 3 龄幼虫具有很高活性, 并在田间表现出较好的防治效果 (程东美等, 2019; 林少源等, 2020)。此外, 最新文献报道了 20 种杀虫剂对不同龄期不同地理种群草地贪夜蛾的室内毒力, 但其仅测定了 3 龄和 5 龄幼虫对杀虫剂的敏感性 (黄伟玲等, 2023)。基于此, 有关虱螨脲对卵和不同龄期草地贪夜蛾幼虫的毒力水平仍需要进一步明确, 以期为指导开展草地贪夜蛾的有效防控提供数据支撑。

昆虫的生长发育阶段是决定其抗性表现的关键因素之一, 其代谢解毒酶的活性与靶标敏感性的变化常因虫态、龄期等不同而存在显著差异 (张文吉等, 1996; 彭梅和邓新平, 2005)。因

此, 不同龄期草地贪夜蛾对杀虫剂敏感性的差异成为田间科学选药和施药的关键理论依据。同时, 造成昆虫抗药性差异的一系列生理生化机理成为增强杀虫剂防治效果、延缓抗药性产生的研究重点 (王泽华等, 2014)。目前, 在我国危害的草地贪夜蛾中尚未检测到几丁质合成酶 1 和几丁质合成酶 2 的靶标突变 (Lv *et al.*, 2022)。而田间抗性监测结果显示, 海南、广东、湖北、湖南、新疆、四川和云南等地的草地贪夜蛾对虱螨脲的抗性倍数介于 1.2-4.0 之间, 处于敏感和敏感性降低水平 (Lv *et al.*, 2022)。与此同时, 有关虱螨脲抗性机制的报道多集中在鳞翅目害虫小菜蛾 *Plutella xylostella*、甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* (Zhang *et al.*, 2023) 及黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* (Bogwitz *et al.*, 2005) 等害虫, 而关于草地贪夜蛾对虱螨脲的敏感性与卵和不同龄期幼虫生理生化酶相关作用机制尚缺乏文献报道。基于此, 我们以虱螨脲作为研究药剂, 研究草地贪夜蛾卵和不同龄期幼虫对虱螨脲的敏感性及其虫体内的相关酶活力, 并分析虱螨脲对不同龄期草地贪夜蛾幼虫的毒力指数与 3 种解毒酶及几丁质酶 (Chitinase, CH) 比活力之间的相关性, 以期为使用虱螨脲防治草地贪夜蛾的危害提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

供试草地贪夜蛾于 2019 年 6 月采自中国广西南宁 (22.45°N, 108.30°E) 的玉米田。在室内采用人工饲料饲养 (Wang *et al.*, 2026), 期间从未接触任何杀虫剂。实验时选取同一批次卵块, 放入温度 (27±1) °C、相对湿度 80%-90%, 光

周期 16 L : 8 D 的养虫室内饲养。其中供试卵为纱布上的 1 日龄卵。待幼虫孵化后分别挑取发育一致的初孵幼虫 (1 日龄) 和不同龄期幼虫用于生物测定和酶活力测定。

1.2 供试药剂

用于毒力测定的药剂为 98.2% 虱螨脲原药 (江苏中旗化工有限公司)。

1.3 虱螨脲对草地贪夜蛾卵和不同龄期幼虫的毒力测定

杀卵活性测定采用浸卵法进行 (王芹芹等, 2019b, 2020b), 于 5 日后调查未孵化卵粒数作为死亡数。毒力测定采用浸叶法进行 (王芹芹等, 2020c)。具体操作: 将虱螨脲原药先溶于二甲基甲酰胺 (*N,N*-Dimethylformamide, DMF) 中, 配制 2% 的母液, 然后以 0.05% 的曲拉通 X-100 稀释, 配制 5-7 个药剂浓度。将玉米嫩叶剪成长宽约 1 cm 的叶片, 在药液中浸渍 10 s, 取出晾干放入 10 孔饲养盒 (直径 2.5 cm) 中, 接入大小一致的草地贪夜蛾不同龄期幼虫 (初孵 1 日龄幼虫、1 龄、2 龄、3 龄、4 龄、5 龄和 6 龄), 每处理 10 头, 3 次生物学重复。在 $(27 \pm 1)^\circ\text{C}$ 下 72 h 后检查死亡情况, 以解剖针轻触虫体, 不能正常爬行视为死亡。

1.4 特定龄期的草地贪夜蛾解毒酶活性和几丁质酶活性测定

1.4.1 酶液制备 酶液制备参考已有的方法进行 (王芹芹等, 2017)。由于草地贪夜蛾不同龄期幼虫体重差异较大, 本研究为了获取卵和不同龄期幼虫足够浓度和体积的酶液, 分别采集生长良好的草地贪夜蛾卵 50 粒, 初孵幼虫 50 头, 1、2 和 3 龄幼虫各 10 头, 4 龄幼虫 5 头, 5 龄幼虫 3 头, 6 龄幼虫 1 头, 分别置于离心管或灭过菌的研钵内, 加 200 μL 的 0.1 mol/L PBS 缓冲液 [含 1 mmol/L EDTA, 1 mmol/L DTT, 1 mmol/L PTU, 1 mmol/L PMSF 和 10% (m/m) 的甘油, pH 7.8], 用手持研磨器或研磨杵冰浴研磨匀浆, 再加 800 μL 的 0.1 mol/L PBS 缓冲液至 1 mL。12 000 r/min 4°C 离心 15 min, 上

清液作为酶液。该酶液用于 3 种解毒酶 [多功能氧化酶 (Mixed function oxidase, MFO) 羧酸酯酶 (Carboxylesterase, CarEs) 和谷胱甘肽 *S*-转移酶 (Glutathione *S*-transferase, GSTs)] 和几丁质酶活性测定及总蛋白浓度的测定。每处理设 3 次生物学重复。

1.4.2 解毒酶活性的测定 解毒酶活性测定的方法参考已有的研究报道 (王芹芹等, 2017, 2020a) 进行。其中 MFO 活性以每毫克蛋白含有 MFO 的浓度表示, 即 $\text{mU} \cdot \text{mg}^{-1} \text{protein} \cdot \text{min}^{-1}$ 。CarE 和 GSTs 比活力以平均每分钟每毫克蛋白吸光度的变化表示, 即 $\text{mOD} \cdot \text{mg}^{-1} \text{protein} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

1.4.3 几丁质酶活性测定 几丁质酶活性测定按 CH 生化检测试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司) 说明书进行, CH 水解几丁质产生 *N*-乙酰氨基葡萄糖, 进一步与 3,5-二硝基水杨酸产生棕红色化合物, 在 540 nm 处有特征吸收峰, 吸收值增加速率反映了 CH 的活性, 以 37°C 每毫克蛋白每小时分解几丁质产生 1 μmol *N*-乙酰氨基葡萄糖的量表示其酶活性, 即 $\text{mU} \cdot \text{mg}^{-1} \text{protein} \cdot \text{h}^{-1}$ 。

1.4.4 总蛋白含量测定 采用 Bradford 法 (Bradford, 1976) 测定样品总蛋白含量, 使用牛血清白蛋白 (Bovine albumin, BSA) 绘制标准曲线, 最终蛋白浓度以 mg/L 表示。

1.5 数据分析

采用 DPS version 7.05 软件计算虱螨脲对草地贪夜蛾卵和不同龄期幼虫的毒力回归方程、致死中浓度 LC_{50} 及其 95% 置信区间。通过 DPS version 7.05, 采用 Duncan 氏新复极差法分析不同处理之间酶活性差异, 不同小写字母表示不同处理间存在显著差异 ($P < 0.05$)。采用 Origin 2024 软件对草地贪夜蛾卵和不同龄期幼虫的总蛋白浓度以及不同龄期幼虫对虱螨脲的敏感性与酶活力的相关性进行制图和分析。

2 结果与分析

2.1 虱螨脲对草地贪夜蛾卵及幼虫的毒力

试验结果表明, 草地贪夜蛾卵和不同龄期幼虫对虱螨脲的敏感性存在非常明显的差异。其

中, 虱螨脲对卵的 LC_{50} 为 $107.67 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。随着幼虫龄期增加, 草地贪夜蛾幼虫对虱螨脲的敏感性逐渐先上升后下降。如虱螨脲对初孵幼虫、1 龄、2 龄、3 龄、4 龄、5 龄和 6 龄幼虫的 LC_{50} 分别为 8.67、11.90、10.77、1.38、2.26、179.03 和 $1\ 003.81 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。以虱螨脲对 6 龄幼虫的相对毒力指数为 1.00, 虱螨脲对草地贪夜蛾其他发育阶

段的相对毒力指数分别为 $727.40(3 \text{ 龄}) > 444.16(4 \text{ 龄}) > 115.78(\text{初孵幼虫}) > 93.20(2 \text{ 龄}) > 84.35(1 \text{ 龄}) > \text{卵}(9.32) > 5.09(5 \text{ 龄}) > 1.00(6 \text{ 龄})$ (表 1)。结果表明, 草地贪夜蛾 4 龄前幼虫(包括 4 龄)对虱螨脲比较敏感, 其中 3 龄和 4 龄幼虫表现最敏感, 卵和 5 龄幼虫敏感性较低, 6 龄幼虫敏感性最低。

表 1 虱螨脲对草地贪夜蛾卵和不同龄期幼虫的毒力

Table 1 Toxicity of lufenuron to egg and different larval instars of *Spodoptera frugiperda*

龄期 Instars	斜率 Slope $\pm$ SE	致死中浓度 (95%置信区间) ($\mu\text{g}/\text{mL}$) LC_{50} (95% confidence interval) ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	相对毒力指数 Relative toxicity index
卵 Egg	1.49 ± 0.15	107.67 (80.48-144.05)	9.32
初孵幼虫 Early larva	2.03 ± 0.20	8.67 (7.61-9.87)	115.78
1 龄 1st instar	1.04 ± 0.35	11.90 (2.10-67.43)	84.35
2 龄 2nd instar	1.01 ± 0.07	10.77 (7.88-14.73)	93.20
3 龄 3rd instar	1.52 ± 0.22	1.38 (0.84-2.25)	727.40
4 龄 4th instar	1.04 ± 0.08	2.26 (1.65-3.11)	444.16
5 龄 5th instar	3.08 ± 0.56	197.03 (143.57-270.40)	5.09
6 龄 6th instar	2.44 ± 0.50	1 003.81 (748.03-1 347.04)	1.00

相对毒力指数是以药剂最大 LC_{50} 值的相对毒力为 1, 其他药剂的相对毒力是用最大的 LC_{50} 除以该药剂的 LC_{50} 值计算所得。初孵幼虫: 1 日龄。表 2 同。

Relative toxicity index (RTI)=The maximum LC_{50} (RTI=1)/ LC_{50} of tested pesticide. Early larva: One day age. The same for Table 2.

2.2 特定龄期草地贪夜蛾体内不同酶的比活力差异

图 1 和表 2 为特定龄期草地贪夜蛾的总蛋白浓度和解毒酶 MFO、GSTs 和 CarEs 以及 CH 比活力。从图 1 可以看出, 随着龄期的增长, 草地贪夜蛾幼虫的蛋白浓度快速升高, 1-6 龄幼虫的总蛋白浓度差异显著 ($P < 0.05$)。由表 2 可知, MFO 比活力以 1 龄幼虫最高, 6 龄幼虫最低, 比活力随虫龄的增加而降低。GSTs 比活力在初孵幼虫和 1 龄幼虫的活性最高, 在 3、5 和 6 龄幼虫体内的比活力最低。CarEs 比活力在 3 龄之前随龄期增加逐渐升高, 但 1-3 龄幼虫之间酶比活力差异均不显著 ($P > 0.05$), 3 龄幼虫以后 CarEs 比活力又逐渐降低。几丁质酶活性在 1-5 龄幼虫之间不断增强, 到 5 龄达到最高。

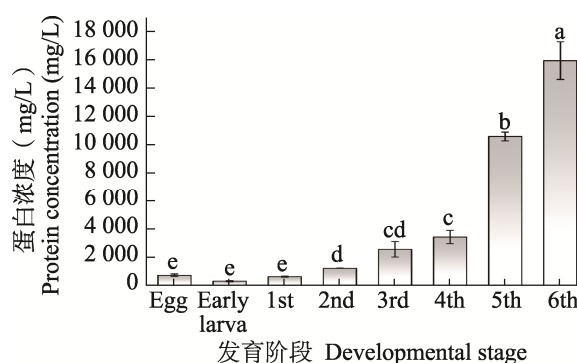


图 1 草地贪夜蛾卵和不同龄期幼虫的蛋白浓度

Fig. 1 Protein concentration in egg and different larval instars of *Spodoptera frugiperda*

Egg: 卵; Early larva (one day age): 初孵幼虫 (1 日龄); 1st: 1 龄; 2nd: 2 龄; 3rd: 3 龄; 4th: 4 龄; 5th: 5 龄; 6th: 6 龄。图中数据为平均值 $\pm$ 标准误, 柱上不同字母表显著差异 ($P < 0.05$, Duncan 氏新复极差法检验)。

Data in the figure are mean $\pm$ SE, different letters above bars mean significant difference ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

表 2 草地贪夜蛾卵和不同龄期幼虫的解毒酶和几丁质酶的比活力
Table 2 Detoxifying enzymes and chitinase activity in egg and different larval instars of *Spodoptera frugiperda*

龄期 Instars	多功能氧化酶活性 ($\text{mU}\cdot\text{mg}^{-1}$ $\text{protein}\cdot\text{min}^{-1}$) MFO activity ($\text{mU}\cdot\text{mg}^{-1}\text{protein}\cdot\text{min}^{-1}$)	谷胱甘肽 S-转移酶活性 ($\text{mOD}\cdot\text{mg}^{-1}$ $\text{protein}\cdot\text{min}^{-1}$) GSTs activity ($\text{mOD}\cdot\text{mg}^{-1}$ $\text{protein}\cdot\text{min}^{-1}$)	羧酸酯酶活性 ($\text{mOD}\cdot\text{mg}^{-1}$ $\text{protein}\cdot\text{min}^{-1}$) CarEs activity ($\text{mOD}\cdot\text{mg}^{-1}$ $\text{protein}\cdot\text{min}^{-1}$)	几丁质酶活性 ($\text{mU}\cdot\text{mg}^{-1}$ $\text{protein}\cdot\text{h}^{-1}$) CH activity ($\text{mU}\cdot\text{mg}^{-1}\text{protein}\cdot\text{h}^{-1}$)
卵 Egg	20.43±3.46 cd	- 0.65±7.45 c	45.06±8.44 c	0.26±0.04 ab
初孵幼虫 Early larva	26.07±10.91 c	262.81±30.98 a	542.31±103.59 b	0.31±0.09 ab
1 龄 1st instar	87.74±20.71 a	266.63±10.46 a	1151.44±72.01 a	0.11±0.02 b
2 龄 2nd instar	66.56±3.85 b	106.29±8.32 b	1116.28±28.44 a	0.13±0.02 b
3 龄 3rd instar	26.00±1.92 c	27.84±9.93 c	1257.73±378.97 a	0.47±0.26 a
4 龄 4th instar	21.35±3.12 cd	84.60±10.48 b	623.16±58.90 b	0.31±0.05 ab
5 龄 5th instar	4.14±0.29 d	22.20±1.31 c	459.15±25.63 bc	0.55±0.02 a
6 龄 6th instar	1.99±0.20 d	27.35±3.94 c	320.01±49.93 bc	0.22±0.01 ab

表中数值为平均值±标准误，同一列数据后不同字母表示显著差异 ($P < 0.05$ ，Duncan 氏新复极差法检验)。
Data in the table are mean±SE, and followed by the different letters within a column indicate significant difference ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

2.3 草地贪夜蛾幼虫对虱螨脲的相对毒力指数
与不同酶比活力的相关性分析

$P = 0.975\ 5$ 。

表 3 为 1-4 龄草地贪夜蛾幼虫对虱螨脲的相对毒力指数与酶活力的相关性分析结果。从各龄期幼虫对虱螨脲的相对毒力指数与酶比活力的相关性来看，1-4 龄幼虫对虱螨脲的相对毒力指数与 CH 比活力呈极显著正相关 ($r = 0.999\ 2$, $P < 0.001$), 其次与 MFO ($r = - 0.872\ 6$, $P = 0.127\ 4$) 和 GSTs ($r = - 0.773\ 5$, $P = 0.222\ 6$) 呈负相关性, 但与 CarEs 的比活力相关性不大 ($r = - 0.024\ 5$,

3 结论与讨论

国外报道了喷洒虱螨脲防治草地贪夜蛾能够有效保证玉米产量 (Dal Pogetto *et al.*, 2012)。近年来, 国内陆续报道了虱螨脲不仅对 3 龄草地贪夜蛾幼虫有较好的毒杀作用, 且田间防治效果优异 (程东美等, 2019; 林少源等, 2020)。本研究全面评价虱螨脲对草地贪夜蛾卵和不同龄期幼虫 (初孵幼虫、1、2、3、4、5 和 6 龄) 的

表 3 草地贪夜蛾对虱螨脲的相对毒力指数与酶比活力的相关性
Table 3 The correlation of the relative toxicity index to lufenuron with the activities of detoxifying enzymes in *Spodoptera frugiperda*

相对毒力指数 x Relative toxicity index	酶比活力 y Specific activity	回归方程 Regression	相关系数 r Correlation coefficient	P 值 P -value
虱螨脲对 1-4 龄幼虫 的相对毒力指数 The relative toxicity index of lufenuron against 1st-4th instar	多功能氧化酶 Mixed function oxidase	$y = - 0.090\ 6x + 80.964\ 4$	- 0.872 6	0.127 4
	谷胱甘肽 S-转移酶 Glutathione S-transferase	$y = - 0.255\ 9x + 207.640\ 1$	- 0.773 5	0.222 6
	羧酸酯酶 Carboxylesterase	$y = - 0.223\ 4x + 1\ 044.688\ 1$	- 0.024 5	0.975 5
	几丁质酶 Chitinase	$y = 0.000\ 5x + 0.070\ 7$	0.999 2	< 0.001

毒力。研究结果表明虱螨脲对初孵至 3 龄幼虫的杀虫活性随龄期增加而增强, 对 4 龄幼虫的毒力相比 3 龄幼虫虽略有降低, 但其相对毒力指数高达 444.16。这一结果表明虱螨脲在田间防治高龄幼虫具有一定的优势。虽然虱螨脲具有一定的杀卵活性, 但相较于其对草地贪夜蛾的杀虫活性, 杀卵活性表现较差, 故不建议作为草地贪夜蛾的杀卵剂使用。推荐使用已筛选出的杀卵活性较好的药剂如吡丙醚、苯氧威、噻虫胺和噻虫啉等(王芹芹等, 2019b, 2020b)。

研究害虫抗药性机制涉及到酶活性变化时, 以每毫克蛋白表现出的酶活性大小来表示酶活性的变化, 往往伴随着虫体或龄期增长其酶活性呈降低趋势(张文吉等, 1996)。与此同时, 随着龄期增加害虫不断地生长发育, 其总体解毒代谢能力不断增强(张文吉等, 1996; 彭梅和邓新平, 2005; 王泽华等, 2014)。类似地, 本研究显示草地贪夜蛾的蛋白浓度随着草地贪夜蛾幼虫龄期增长而显著增加。本文对草地贪夜蛾特定龄期的 3 种解毒酶比活力与 1-4 龄幼虫对药剂的相对毒力指数进行了相关性分析。结果显示, 1-4 龄幼虫对虱螨脲的相对毒力指数与 MFO 和 GSTs 酶活性呈负相关, 表明 MFO 和 GSTs 在草地贪夜蛾对虱螨脲的解毒代谢中发挥了重要的作用。随幼虫龄期的增加, 草地贪夜蛾的蛋白浓度显著升高, 使能够影响虱螨脲毒力的总解毒代谢酶量迅速增加, 故 5 龄和 6 龄幼虫对虱螨脲具有较强的解毒作用, 使得相对毒力指数迅速下降。因此, 虱螨脲对 5 龄和 6 龄幼虫很难达到较理想的杀虫活性。

昆虫几丁质酶可以降解昆虫体壁和围食膜中的几丁质, 在昆虫蜕皮等生命活动中发挥重要功能(Lv et al., 2022; Zhang et al., 2023; 谢慧杰等, 2024)。基于马龙(2014)关于苯甲酰脲类杀虫剂氟啶脲和氟铃脲对棉铃虫的 CH 活性具有一定程度的诱导作用的报道, 类似地, 虱螨脲主要通过抑制几丁质的合成和沉积发挥杀虫作用(Lv et al., 2022; Zhang et al., 2023)。因此, 我们对草地贪夜蛾不同龄期幼虫的 CH 活性和虱螨脲对其相对毒力指数进行了线性拟合分

析。结果表明, 虱螨脲对 1-4 龄幼虫的相对毒力指数与 CH 活性呈极显著正相关。这可能与草地贪夜蛾体内 CH 活性随着龄期增加不断增强, 促进了几丁质的降解, 从而减少其在体内的积累有关。而虱螨脲对虫体几丁质合成酶的抑制作用, 减少了新的几丁质在虫体内的生产和积累, 进一步破坏了虫体内几丁质水平的动态平衡, 使新表皮无法正常发育, 最终因蜕皮失败而死亡(Lv et al., 2022; 王增霞等, 2023)。

综上所述, 虱螨脲对草地贪夜蛾初孵至 4 龄幼虫均具有较高的毒杀活性, 表明其在田间草地贪夜蛾世代重叠发生的地区具有明显的优势。同时, 田间合理选药、用药将对延长虱螨脲的使用寿命具有重要意义。未来我们将进一步研究 MFO 和 GSTs 活性增强介导的草地贪夜蛾对虱螨脲的早期抗性进化机制。CH 活性增强可能有利于虱螨脲发挥毒力, 该结果也为开发几丁质酶激活剂用于害虫的防治奠定了理论基础。

参考文献 (References)

- Bogwitz MR, Chung H, Magoc L, Rigby S, Wong W, O'Keefe M, McKenzie JA, Batterham P, Daborn PJ, 2005. Cyp12a4 confers lufenuron resistance in a natural population of *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(36): 12807–12812.
- Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248–254.
- Cheng DM, Huang JH, Xu HH, Zhang ZX, 2019. Activity and field effect trials of lufenuron 50% EC against *Spodoptera frugiperda*. *Journal of Environmental Entomology*, 41(5): 974–978. [程东美, 黄江华, 徐汉虹, 张志祥, 2019. 50 g/L 虱螨脲乳油对草地贪夜蛾的室内活性和田间药效研究. *环境昆虫学报*, 41(5): 974–978.]
- Chen JX, Ren XL, Jiang WL, Ma YJ, Wang D, Song XP, Ma Y, 2019. Co-toxicity and sublethal effect of methoxyfenozide with three other insecticides against beet armyworm, *Spodoptera exigua*. *China Cotton*, 46(2): 4–8. [陈吉祥, 任相亮, 姜伟丽, 马亚杰, 王丹, 宋贤鹏, 马艳, 2019. 甲氧虫酰肼与 3 种药剂对甜菜夜蛾的联合毒力及亚致死效应. *中国棉花*, 46(2): 4–8.]
- Dal Pogetto MHFA, Prado EP, Gimenes MJ, Christovam RS,

- Rezende DT, Aguiar-Junior HO, Costa SIA, Raetano CG, 2012. Corn yield with reduction of insecticidal sprayings against fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Agronomy*, 11(1): 17–21.
- Dean SR, Meola RW, Meola SM, Sittertz-Bhatkar H, Schenker R, 1998. Mode of action of lufenuron on larval cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Medical Entomology*, 35(5): 720–724.
- Huang WL, Wang QQ, Ren XX, Rui CH, Yang DB, Yuan HZ, Cui L, 2023. Laboratory toxicity of 20 insecticides against the larvae of different instars from different geographical populations of *Spodoptera frugiperda*. *Plant Protection*, 49(6): 323–331, 337. [黄伟玲, 王芹芹, 任学祥, 芮昌辉, 杨代斌, 袁会珠, 崔丽, 2023. 20 种杀虫剂对不同龄期不同地理种群草地贪夜蛾的室内毒力测定. 植物保护, 49(6): 323–331, 337.]
- Lin SY, Chen BX, Xu S, Quan LF, Chi YY, 2020. Field efficacy of eight insecticides on *Spodoptera frugiperda* in Guangdong and their evaluation. *Guangdong Agricultural Sciences*, 47(3): 97–102. [林少源, 陈炳旭, 徐淑, 全林发, 池艳艳, 2020. 8 种杀虫剂对广东草地贪夜蛾的田间防效及其评价. 广东农业科学, 47(3): 97–102.]
- Lv SL, Xu ZY, Li MJ, Mbuji AL, Gu M, Zhang L, Gao XW, 2022. Detection of chitin synthase mutations in lufenuron-resistant *Spodoptera frugiperda* in China. *Insects*, 13(10): 963.
- Ma L, 2014. Characterization of genes related to biosynthesis and influence of insect growth regulators on genes in cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. Master dissertation. Yangling: Northwest A&F University. [马龙, 2014. 棉铃虫几丁质合成相关基因特性及昆虫生长调节剂对其影响研究. 硕士学位论文. 杨凌: 西北农林科技大学.]
- Peng M, Deng XP, 2005. Difference in insecticide tolerance and enzyme activity of *Spodoptera exigua* larvae at different instars. *Journal of Southwest University (Natural Science Edition)*, 27(2): 173–175, 183. [彭梅, 邓新平, 2005. 甜菜夜蛾不同龄期幼虫药剂敏感性及酶活性差异. 西南农业大学学报(自然科学版), 27(2): 173–175, 183.]
- Sun XX, Zhao SY, Jin MH, Zhao HY, Li GP, Zhang HW, Jiang YY, Yang XM, Wu KM, 2019. Larval spatial distribution pattern and sampling technique of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* in maize fields. *Plant Protection*, 45(2): 13–18. [孙小旭, 赵胜园, 靳明辉, 赵慧媛, 李国平, 张浩文, 姜玉英, 杨现明, 吴孔明, 2019. 玉米田草地贪夜蛾幼虫的空间分布型与抽样技术. 植物保护, 45(2): 13–18.]
- Wang QQ, Cui L, Wang L, Liang P, Yuan HZ, Rui CH, 2019a. Research progress on insecticides resistance in fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 21(4): 401–408. [王芹芹, 崔丽, 王立, 梁沛, 袁会珠, 芮昌辉, 2019a. 草地贪夜蛾对杀虫剂的抗性研究进展. 农药学报, 21(4): 401–408.]
- Wang QQ, Cui L, Wang L, Huang WL, Dai LM, Yuan HZ, Rui CH, 2019b. Ovicidal activity of fourteen insecticides against the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *Plant Protection*, 45(6): 80–83, 113. [王芹芹, 崔丽, 王立, 黄伟玲, 代黎明, 袁会珠, 芮昌辉, 2019b. 14 种杀虫剂对草地贪夜蛾的杀卵活性. 植物保护, 45(6): 80–83, 113.]
- Wang QQ, Cui L, Wang QY, Yang HY, Rui CH, 2017. Mechanisms of resistance to indoxacarb in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae): Synergism of PBO, DEF and DEM and the activities of detoxification enzymes. *Acta Entomologica Sinica*, 60(8): 912–919. [王芹芹, 崔丽, 王奇渊, 杨宏宇, 芮昌辉, 2017. 棉铃虫对茚虫威的抗性机理: PBO, DEF 和 DEM 的增效作用及解毒酶活性. 昆虫学报, 60(8): 912–919.]
- Wang QQ, Cui L, Wang L, Huang WL, Dai LM, Yuan HZ, Rui CH, 2020a. Risk analysis of the harm of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* to wheat: The harmfulness of feeding and change of detoxification enzyme activities. *Plant Protection*, 46(1): 63–68. [王芹芹, 崔丽, 王立, 黄伟玲, 代黎明, 袁会珠, 芮昌辉, 2020a. 草地贪夜蛾对小麦的为害风险: 取食为害性及解毒酶活性变化初探. 植物保护, 46(1): 63–68.]
- Wang QQ, Cui L, Wang L, Huang WL, Dai LM, Yuan HZ, Rui CH, 2020b. Ovicidal activity of twenty insecticides against the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *Plant Protection*, 46(4): 264–269. [王芹芹, 崔丽, 王立, 黄伟玲, 代黎明, 袁会珠, 芮昌辉, 2020b. 20 种杀虫剂对草地贪夜蛾的杀卵活性. 植物保护, 46(4): 264–269.]
- Wang QQ, Cui L, Wang L, Huang WL, Dai LM, Yuan HZ, Rui CH, 2020c. Toxicity of indoxacarb to *Spodoptera frugiperda* and induction of its detoxifying enzymes. *Plant Protection*, 46(1): 78–81. [王芹芹, 崔丽, 王立, 黄伟玲, 代黎明, 袁会珠, 芮昌辉, 2020c. 茚虫威对草地贪夜蛾的毒力及解毒酶的诱导作用. 植物保护, 46(1): 78–81.]
- Wang QQ, Zhou L, Wang L, Li XS, Liang P, Rui CH, Yuan HZ, Cui L, 2026. Depleting SfCarE: Innovative strategies for enhancing chlorantraniliprole toxicity through mixing with carbaryl in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 218: 106932.
- Wang ZH, Shi BC, Kang ZJ, Zhu L, Jin GH, Wei SJ, Gong YJ, 2014.

- The sensitivity of different larval instars of the beet armyworm *Spodoptera exigua* to insecticides and correlation with enzyme activity. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 51(1): 185–193. [王泽华, 石宝才, 康总江, 朱亮, 金桂华, 魏书军, 宫亚军, 2014. 甜菜夜蛾不同龄期幼虫对药剂的敏感性及其与酶活力的关系. *应用昆虫学报*, 51(1): 185–193.]
- Wang ZX, Zhou W, He C, Huang BH, Hu F, 2023. Toxicity of lufenuron and its effects on the chitin content and chitinase activity of *Spodoptera frugiperda* larvae. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 60(4): 1271–1279. [王增霞, 周婉, 何灿, 黄保宏, 胡飞, 2023. 虱螨脲对草地贪夜蛾幼虫的毒力及对其几丁质含量和几丁质酶活性的影响. *应用昆虫学报*, 60(4): 1271–1279.]
- Xie HJ, Ding Y, Hu X, Yang Q, Liu T, 2024. Research progress on physiological functions, structures and inhibitors of insect group II chitinase. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 26(2): 224–233. [谢慧杰, 丁艺, 胡雪, 杨青, 刘田, 2024. 昆虫 II 家族几丁质酶的生理功能、结构特征及其抑制剂研究进展. *农药学报*, 26(2): 224–233.]
- Yang XM, Sun XX, Zhao SY, Li JY, Chi XC, Jiang YY, Wu KM, 2020. Population occurrence, spatial distribution and sampling technique of fall armyworm *Spodoptera frugiperda* in wheat fields. *Plant Protection*, 46(1): 10–16, 23. [杨现明, 孙小旭, 赵胜园, 李加云, 迟旭春, 姜玉英, 吴孔明, 2020. 小麦田草地贪夜蛾的发生为害、空间分布与抽样技术. *植物保护*, 46(1): 10–16, 23.]
- Zhang L, Liu B, Zheng WG, Liu CH, Zhang DD, Zhao SY, Li ZY, Xu PJ, Wilson K, Withers A, Jones CM, Smith JA, Chipabika G, Kachigamba DL, Nam K, d'Alençon E, Liu B, Liang XY, Jin MH, Wu C, Chakrabarty S, Yang XM, Jiang YY, Liu J, Liu XL, Quan WP, Wang GR, Fan W, Qian WQ, Wu KM, Xiao YT, 2020. Genetic structure and insecticide resistance characteristics of fall armyworm populations invading China. *Molecular Ecology Resources*, 20(6): 1682–1696.
- Zhang WJ, Zhang YJ, Han XL, 1996. Research on activities of carboxylesterase, glutathione *S*-transferase and acetylcholinesterase in different development stages of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Plant Protection*, 23(2): 157–162. [张文吉, 张友军, 韩熹莱, 1996. 棉铃虫不同龄期幼虫羧酸酯酶、谷胱甘肽转移酶、乙酰胆碱酯酶研究. *植物保护学报*, 23(2): 157–162.]
- Zhang ZX, Wang D, Shan YP, Chen JX, Hu HY, Song XP, Ma XY, Ren XL, Ma Y, 2023. Knockdown of CYP9A9 increases the susceptibility to lufenuron, methoxyfenozide and a mixture of both in *Spodoptera exigua*. *Insect Molecular Biology*, 32(3): 263–276.