

分类号：
学号：20212112041

密级：公开
单位代码：10759

石河子大学

硕士学位论文



石河子市加工番茄夜蛾科主要害虫发生调查及 棉铃虫抗药性测定

学位申请人

孙诒雪

指导教师

韩小强 教授

赵洁 副教授

刘宁 副研究员

申请学位类别

专业硕士

专业名称

农业

研究领域

资源利用与植物保护

所在学院

农学院

中国·新疆·石河子

2024年5月

分类号：
学号：20212112041

密级：公开
单位代码：10759

石河子大学

硕士学位论文



石河子市加工番茄夜蛾科主要害虫发生调查及 棉铃虫抗药性测定

学位申请人	孙谄雪
指导教师	韩小强 教授
	赵洁 副教授
	刘宁 副研究员
申请学位类别	专业硕士
专业名称	农业
研究领域	资源利用与植物保护
所在学院	农学院

中国·新疆·石河子
2024年5月

**Investigation on the occurrence of main Noctuid pests and insecticide
resistance test of *Helicoverpa armigera* in processing tomato field of
Shihezi, Xinjiang**

A Dissertation Submitted to
Shihezi University

In Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of
Master of Agriculture

By

Sun Yi-xue
(Resource utilization and plant protection)

Dissertation Supervisor: Prof. Han Xiao-qiang
A.Prof. Zhao Jie
R. A. Liu Ning

May,2024

石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

学位论文独创性声明

本人所呈交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名：孙治雪

时间：2024年5月20日

使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：孙治雪

时间：2024年5月20日

导师签名：

郭小花

时间：2024年5月20日

摘要

加工番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.) 是新疆重要的经济作物, 近年来受到多种害虫的危害, 造成严重的经济损失。目前, 加工番茄害虫的防治多依赖于杀虫剂, 但杀虫剂的不合理、不适时、不对症、甚至超剂量使用, 引起多种害虫的抗药性逐渐上升, 包括鳞翅目夜蛾科的棉铃虫。因此, 开展害虫抗药性的监测和治理成为新疆加工番茄生产中的关键问题。本研究开展石河子市加工番茄田夜蛾科主要害虫发生动态调查, 进行棉铃虫对氯虫苯甲酰胺和甲氨基阿维菌素苯甲酸盐 (甲维盐) 的抗药性测定, 并从分子水平检测这两种杀虫剂处理后, 棉铃虫幼虫体内细胞色素 P450 酶(P450s) 和谷胱甘肽 S-转移酶(GSTs) 的含量变化情况。本研究可为进一步揭示棉铃虫抗药性的产生机理奠定理论依据, 并为第八师石河子市加工番茄产业的健康可持续发展提供技术支撑。

本研究的主要结果如下:

1. 2023 年石河子市加工番茄田的调查显示, 夜蛾科的主要害虫为棉铃虫, 其越冬代在 5 月下旬、第 1 代高峰期在 6 月 20 日左右、第 2 代高峰期在 7 月 24 日左右, 因加工番茄采收期较早, 未发现第 3 代棉铃虫危害; 夜蛾科的次要害虫为甜菜夜蛾, 高峰期在 7 月 24 日左右; 未发现烟青虫、甘蓝夜蛾和斜纹夜蛾危害加工番茄。目前, 未发现番茄潜叶蛾危害新疆农垦科学试验站、143 团 14 连和 143 团 23 连的加工番茄。

2. 加工番茄田棉铃虫的抗药性结果显示, 143 团 14 连和 143 团 23 连的棉铃虫对氯虫苯甲酰胺均为中等抗性水平 (抗性倍数分别是 13.70 倍和 12.84 倍), 对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐 (甲维盐) 均为高等抗性水平 (抗性倍数分别是 149.66 倍和 143.91 倍)。

3. 在氯虫苯甲酰胺和甲维盐处理棉铃虫田间种群后, 测定幼虫体内细胞色素 P450 酶(P450s) 和谷胱甘肽 S-转移酶(GSTs) 的含量。结果显示在不同浓度氯虫苯甲酰胺处理 24 h 后, P450s 和 GSTs 的含量随着浓度的增加而增大, 最大剂量 320 mg/L 处理组内 P450s 和 GSTs 的含量均最高; 在 20 mg/L 氯虫苯甲酰胺处理不同时间后, P450s 和 GSTs 的含量随着时间的延长而增大, 至 72 h 时最高, 96 h 时又显著降低。在不同浓度甲维盐处理 24 h 后, P450s 的含量随着浓度的增加而无明显变化, GSTs 的含量在中浓度 80 mg/L 处理组时最高, 随后趋于稳定; 在 60 mg/L 甲维盐处理不同时间后, 与未处理 0 h 相比, P450s 和 GSTs 的含量均显著增加, 并都在 72 h 时达到最高。

4. 在氯虫苯甲酰胺和甲维盐处理棉铃虫田间种群后, 测定幼虫体内 P450s 家族和 GSTs 家族相关基因的相对表达量。结果显示低浓度 20 mg/L 氯虫苯甲酰胺处理 24 h 后, 与未处理 0 h 相比, CYP4M6、CYP332A1、CYP6AE11、GSTe2、GSTs1 的表达量显著增加, GSTd2 的表达量显著降低; 低浓度 20 mg/L 氯虫苯甲酰胺处理 48 h 后, 与未处理 0 h 相比, CYP9A12 的表达量显著提高, GSTd2 的表达量显著降低; 中浓度 40 mg/L 氯虫苯甲酰胺处理 24 h 后, 与空白对照 0 mg/L 相比, CYP4M7、GSTe2 和 GSTs1 的表达量显著增加, 其余 8 个 P450 基因 (CYP4G8、CYP4L5、CYP4M6、CYP6AE11、

CYP9A3、CYP9A12、CYP332A1、CYP337B1) 和 2 个 GST 基因 (GSTd2、GSTe1) 的表达量未发生显著变化。在不同浓度甲维盐处理 24 h 后, 与空白对照 0 mg/L 相比, 最大剂量 120 mg/L 处理组内, 9 个 P450 基因 (CYP4G8、CYP4L5、CYP4M6、CYP4M7、CYP6AE11、CYP9A3、CYP9A12、CYP332A1、CYP337B1) 和 3 个 GST 基因 (GSTd2、GSTe1、GSTe2) 的表达量最高; 在低浓度 60 mg/L 甲维盐处理不同时间后, 与未处理 0 h 相比, CYP4M6、CYP4M7 和 CYP6AE11 在 24 h 时的表达量最高, 5 个 P450 基因 (CYP4G8、CYP9A3、CYP9A12、CYP332A1、CYP337B1) 和 3 个 GST 基因 (GSTd2、GSTe1、GSTe2) 在 72 h 时的表达量最高。

关键词: 加工番茄; 棉铃虫; 氯虫苯甲酰胺; 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐; 抗药性测定; 细胞色素 P450 酶、谷胱甘肽 S-转移酶

Abstract

Processing tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) is an important economic crop in Xinjiang. In recent years, it has been damaged by a variety of pests and caused serious economic losses. At present, the prevention and control of processing tomato pests are mostly dependent on pesticides, but the unreasonable, untimely, unsymptomatic, and even overdose use of pesticides has caused the resistance of many pests to gradually increase, including Lepidoptera Noctuidae *Helicoverpa armigera*. Therefore, the monitoring and management of pest resistance has become a key issue in the production of processing tomato in Xinjiang. In this study, the occurrence dynamics of the main pests of Noctuidae in processing tomato fields in Shihezi City was investigated, and the resistance of *Helicoverpa armigera* to chlorantraniliprole and emamectin benzoate (emamectin benzoate) was determined. The changes of cytochrome P450 enzymes (P450s) and glutathione S-transferases (GSTs) in *Helicoverpa armigera* larvae treated with these two insecticides were detected at the molecular level. This study can lay a theoretical foundation for further revealing the mechanism of cotton bollworm resistance, and provide technical support for the healthy and sustainable development of processing tomato industry in Shihezi City.

The main results of this study are as follows:

One. The survey results of processing tomato fields in Shihezi City in 2023 showed that the main pest of Noctuidae was *Helicoverpa armigera*. The overwintering generation was in late May, the peak period of the first generation was around June 20, and the peak period of the second generation was around July 24. Because the processing tomato harvest period was earlier, the third generation of *Helicoverpa armigera* was not found. The secondary pest of Noctuidae is *Spodoptera exigua*, and the peak period is around July 24. No *Spodoptera litura*, *Helicoverpa assulta* and *Prodenia litura* were found to harm processing tomato. At present, the tomato leafminer has not been found to harm the processing tomatoes of Xinjiang Agricultural Reclamation Scientific Experimental Station, 143 regiment 14 company and 143 regiment 23 company .

Two. The resistance results of *H. armigera* in processing tomato fields showed that the resistance levels of *H. armigera* to chlorantraniliprole in 143 regiment 14 and 143 regiment 23 were moderate (resistance ratios were 13.70 times and 12.84 times, respectively), and the resistance levels to emamectin benzoate (emamectin benzoate) were high (resistance ratios were 149.66 times and 143.91 times, respectively).

Three. The contents of cytochrome P450 enzymes (P450s) and glutathione S-transferases (GSTs) in the larvae were determined after the field populations of *H. armigera* were treated with chlorantraniliprole and emamectin benzoate. The results showed that after treatment with different concentrations of chlorantraniliprole for 24 h, the content of P450s and GSTs increased with the increase of concentration, and the content of P450s and GSTs in the maximum dose 320 mg/L treatment group was the highest. After treatment with 20 mg/L chlorantraniliprole for different time, the contents of P450s and GSTs increased with the prolongation of time, reached the highest at 72 h, and decreased significantly at 96 h. After 24 h treatment with different concentrations of emamectin benzoate, the content of P450 s did not change

significantly with the increase of concentration, and the content of GSTs was the highest in the medium concentration 80 mg/L treatment group, and then tended to be stable. After treated with 60 mg/L emamectin benzoate for different time, the contents of P450s and GSTs increased significantly compared with 0 h, and reached the highest at 72 h.

Four. After treated with chlorantraniliprole and emamectin benzoate in the field population of *H. armigera*, the relative expression levels of P450s family and GSTs family related genes in the larvae were determined. The results showed that the expression levels of CYP4M6, CYP332A1, CYP6AE11, GSTe2 and GSTs1 were significantly increased and the expression level of GSTd2 was significantly decreased after treatment with low concentration of 20 mg/L chlorantraniliprole for 24 h compared with untreated 0 h. After treatment with low concentration of 20 mg/L chlorantraniliprole for 48 h, the expression of CYP9A12 was significantly increased and the expression of GSTd2 was significantly decreased compared with untreated 0 h. After treatment with 40 mg/L chlorantraniliprole for 24 h, the expression levels of CYP4M7, GSTe2 and GSTs1 were significantly increased compared with the blank control 0 mg/L, and the expression levels of the other 8 P450 genes (CYP4G8, CYP4L5, CYP4M6, CYP6AE11, CYP9A3, CYP9A12, CYP332A1, CYP337B1) and 2 GST genes (GSTd2, GSTe1) did not change significantly. After 24 h treatment with different concentrations of emamectin benzoate, compared with the blank control 0 mg/L, the expression levels of 9 P450 genes (CYP4G8, CYP4L5, CYP4M6, CYP4M7, CYP6AE11, CYP9A3, CYP9A12, CYP332A1, CYP337B1) and 3 GST genes (GSTd2, GSTe1, GSTe2) were the highest in the maximum dose of 120 mg/L treatment group. After treatment with low concentration of 60 mg/L emamectin benzoate for different time, compared with untreated 0 h, the expression levels of CYP4M6, CYP4M7 and CYP6AE11 were the highest at 24 h, and the expression levels of five P450 genes (CYP4G8, CYP9A3, CYP9A12, CYP332A1, CYP337B1) and three GST genes (GSTd2, GSTe1, GSTe2) were the highest at 72 h.

Key words: Processing tomatoes; cotton bollworm; chlorantraniliprole; methylamino abamectin benzoate; drug resistance determination; cytochrome P450 enzyme, glutathione S-transferase

目录

摘要.....	I
Abstract.....	III
目录.....	V
第 1 章 文献综述.....	1
1.1 番茄产业发展概述.....	1
1.1.1 新疆加工番茄产业现状.....	1
1.1.2 加工番茄害虫种类现状.....	1
1.2 棉铃虫对常用杀虫剂的抗药性现状.....	2
1.2.1 棉铃虫的发生与危害.....	2
1.2.2 棉铃虫对常用杀虫剂的抗药性现状.....	2
1.3 棉铃虫产生抗药性的机理.....	3
1.3.1 昆虫细胞色素 P450 酶介导的抗药性.....	3
1.3.2 昆虫谷胱甘肽 S-转移酶介导的抗药性.....	4
1.3.3 昆虫羧酸酯酶介导的抗药性.....	4
1.4 研究意义与内容.....	5
1.4.1 研究意义.....	5
1.4.2 研究内容.....	5
1.4.3 技术路线.....	6
第 2 章 石河子市加工番茄夜蛾科害虫调查.....	7
2.1 材料与方法.....	7
2.1.1 试验材料.....	7
2.1.2 试验地概述.....	7
2.1.3 石河子市加工番茄昆虫种群多样性调查.....	8
2.1.4 石河子市加工番茄夜蛾科主要害虫调查.....	8
2.1.5 石河子市番茄潜叶蛾的监测.....	8
2.1.6 数据分析.....	8
2.2 结果与分析.....	9
2.2.1 石河子市加工番茄昆虫群落分析.....	9
2.2.2 危害石河子市加工番茄的夜蛾科主要害虫.....	10

2.2.3	石河子市番茄潜叶蛾的监测结果	12
2.3	结论与讨论	13
第 3 章	石河子市棉铃虫田间种群对三种杀虫剂的抗药性测定	15
3.1	材料与方法	15
3.1.1	供试虫源	15
3.1.2	供试原药	16
3.1.3	试剂与仪器	16
3.1.4	三种杀虫剂对棉铃虫的毒力测定	16
3.1.5	总蛋白含量测定	17
3.1.6	细胞色素 P450 (CYP450) 含量测定	18
3.1.7	谷胱甘肽 S-转移酶 (GSTs) 含量测定	18
3.1.8	羧酸酯酶 (CarE) 含量测定	18
3.1.9	数据处理	19
3.2	结果与分析	19
3.2.1	石河子市棉铃虫对三种杀虫剂的抗药性水平	19
3.2.2	棉铃虫的蛋白浓度	20
3.2.3	构建 P450 酶、GSTs 酶、CarE 酶标准曲线	21
3.2.4	氯虫苯甲酰胺对棉铃虫 P450 酶、GSTs 酶、CarE 酶的影响	21
3.2.5	甲氨基阿维菌素苯甲酸盐对棉铃虫 P450 酶、GSTs 酶和 CarE 酶影响	23
3.2.6	高效氯氰菊酯对棉铃虫 P450 酶、GSTs 酶、CarE 酶影响	25
3.3	结论与讨论	27
第 4 章	氯虫苯甲酰胺和甲维盐对棉铃虫抗药性相关基因的表达	30
4.1	材料与方法	30
4.1.1	供试昆虫	30
4.1.2	供试试剂	31
4.1.3	仪器与器材	31
4.1.4	棉铃虫总 RNA 提取	31
4.1.5	反转录	31
4.1.6	实时荧光定量 PCR	32
4.1.7	数据处理	32
4.2	结果与分析	32
4.2.1	氯虫苯甲酰胺对棉铃虫 P450 基因的影响	32
4.2.2	氯虫苯甲酰胺对棉铃虫 GST 基因的影响	34
4.2.3	甲氨基阿维菌素苯甲酸盐对棉铃虫 P450 基因的影响	36

4.2.4 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐对棉铃虫 GST 基因的影响	38
4.3 结论与讨论	39
第 5 章 总结与展望	42
5.1 总结	42
5.2 展望	43
参考文献	44
致谢	49
附录	50
附录 A 石河子市加工番茄调查原始数据	50
表 A01 2022 年危害新疆农垦科学试验站加工番茄性诱剂调查结果	50
表 A02 2023 年危害加工番茄性诱剂调查结果	51
表 A03 qPCR 引物	52
作者简介	53

第1章 文献综述

1.1 番茄产业发展概述

1.1.1 新疆加工番茄产业现状

番茄 (*Solanum lycopersicum* L.)，是茄科茄属、番茄亚属的多年生草本作物 (丛飞, 2013)。番茄按照使用途径可分为鲜食番茄和加工番茄 (本文讨论的是加工番茄)。美丽富饶的新疆位于我国西北地区，凭借日照时间充足、降雨量少、昼夜温差大和炎热干燥等良好的自然条件，所产的番茄糖分、谷氨酸和维生素等含量丰富，番茄制品的色泽鲜艳及口感较好，在国际市场上享有美誉。新疆作为加工番茄的主产区，每年番茄的种植量以及番茄酱产量一直处于国内领先地位。根据新疆统计年鉴数据，在 2020 年，新疆加工番茄种植面积 40.49 千公顷，产量达到 483.58 万吨，使得新疆加工番茄成为重要的红色产业之一。

1.1.2 加工番茄害虫种类现状

随着新疆加工番茄种植面积不断扩大，番茄植株受到各种害虫的危害愈加严重。如嫩尖和嫩叶被幼虫咬食后常形成孔洞或缺刻，造成番茄植株吸收营养物质变得缓慢；花蕾为害后不能正常授粉；虫害还可以进一步传播植物病害，造成田间病害流行，严重破坏了番茄的生长发育过程，影响番茄的产量输出和品质 (李玮, 2010)。

目前，危害加工番茄的害虫有很多种。据报道，在新疆危害加工番茄的害虫有棉铃虫 (*Helicoverpa armigera*)、烟青虫 (*Helicoverpa assulta*)、番茄潜叶蛾 (*Tuta absoluta*)、甜菜夜蛾 (*Spodoptera exigua*)、斜纹夜蛾 (*Spodoptera litura*) 等害虫 (赵思峰等, 2004; 董洁等, 2020)。不同市的加工番茄其田间害虫发生种类不同。何伟等人采用昆虫性诱剂明确新疆省博湖县的优势种群是棉铃虫、甜菜夜蛾、亚洲玉米螟和黄地老虎；新疆省呼图壁县的优势种群是棉铃虫、大豆食心虫和黄地老虎；而亚洲玉米螟、甜菜夜蛾、甘蓝夜蛾、小菜蛾、烟青虫和欧洲玉米螟有少量发生；斜纹夜蛾未发生 (何伟等, 2016)。米娜瓦尔采用频振式杀虫灯在昌吉加工番茄中连续三年诱杀棉铃虫等夜蛾类害虫总蛾量分别为 687、558、671 头 (米娜瓦尔, 2015)。综上所述表明，危害加工番茄的主要害虫集中在鳞翅目夜蛾科上，表明加工番茄的主要害虫类型是夜蛾科。而番茄潜叶蛾于 2017 年在新疆伊犁被首次发现 (张桂芬等, 2019)。自入侵以来，番茄潜叶蛾迅速成为

新疆番茄生产中的主要害虫，严重危害新疆加工番茄产业。

1.2 棉铃虫对常用杀虫剂的抗药性现状

1.2.1 棉铃虫的发生与危害

棉铃虫 *Helicoverpa armigera*，鳞翅目夜蛾科害虫，可为害番茄、棉花、花生、玉米和马铃薯等多种农作物，具有分布广和适应性强等特点，给农业造成严重的经济损失（崔洪莹等人，2023；戴小枫等，2023；黄云等，2022）。棉铃虫对生态环境具有较强的适应性，可以不断适应作物种植业结构的调整。例如王立莹通过调查明确棉铃虫以2代、3代幼虫危害新泰花生田，其中以2代最为严重（王立莹，2023）。丁丽丽等人进行新疆生产建设兵团各垦区中心测报站监测调查数据汇总和分析明确了2022年棉铃虫发生为32.43万公顷次，防治为43.81万公顷次，高于2012—2021年的发生与防治面积，南疆兵团第一师3团局地爆发危害，第三师图木舒克市、北疆兵团第六师局地偏重发生，北疆大部 and 南疆其他区域偏轻发生（丁丽丽等，2023）。

1.2.2 棉铃虫对常用杀虫剂的抗药性现状

在早期，拟除虫菊酯类杀虫剂以其高效、低毒、广谱和速效性在各国广泛应用。在1983年澳大利亚第一次监测到棉铃虫对拟除虫菊酯类产生抗性，随后在不同国家相继发现棉铃虫也对其产生了不同程度的抗性（Gunning,R,V,et al.,1984）。引起棉铃虫抗性产生的原因有田间用药历史、用药程度、有关种植户缺乏对农药理论的认识、盲目跟风用药和缺乏“综合防治预防为主”的意识等，导致田间杀虫剂滥用的现象接连重蹈，造成棉铃虫抗药性日益增强。

化学农药因具有高效、速效、使用方便、经济效益高等特点备受农民的喜爱。在面临病虫害大暴发的紧急时刻，化学防治是最有效的措施。但长期大量施用杀虫剂导致棉铃虫对不同杀虫剂产生了抗性。当前，棉铃虫抗药性成为热门的研究课题之一，它不仅给新疆棉花、加工番茄等作物带来各种危害，还造成了巨大的治理困难。对此，通过合理轮换使用杀虫剂或者研发新型杀虫剂可缓解棉铃虫抗药性产生。因此，如甲维盐、氯虫苯甲酰胺新型杀虫剂走进人们的视野。

氯虫苯甲酰胺是作用于鱼尼丁受体部位的杀虫剂，具有广谱，高效，具胃毒、触杀和持效期长等优点（陈鹃等，2021）。甲氨基阿维菌素苯甲酸盐是一种高效、低毒、低残留的大环内酯类杀虫剂。由于其独特的作用方式，且对鳞翅目害虫幼虫表现出很好的毒性，目前甲维盐已成为我国广泛使用的用来防治蔬菜害虫的新型农药（车午男等，

2018)。研究表明,于婉婷通过点滴法测定了18个省的田间种群,结果表明各地棉铃虫对甲维盐产生敏感性、对辛硫磷产生中等抗性和对氰戊菊酯产生高等抗性(于婉婷,2016)。根据监测结果表明,我国已有棉铃虫对杀虫剂产生了不同程度的抗药性。张帅等人监测结果表明,华北棉区棉铃虫种群对大环内酯类药剂甲维盐处于敏感状态,抗性倍数为1.0~4.8;对双酰胺类药剂氯虫苯甲酰胺处于低至中等水平抗性,抗性倍数分别为5.5~72;对拟除虫菊酯类药剂高效氯氟氰菊酯处于高水平抗性(抗性倍数113~342)(张帅等,2020)。王冬梅等人采用微量点滴法研究2015年到2018年来自新疆阿克苏、博乐和哈密市等5个地方的棉铃虫抗性,结果表明对氯虫苯甲酰胺表现为敏感至中等抗性,对甲维盐表现为敏感抗性,抗性倍数在10倍以下(王冬梅等,2020)。

1.3 棉铃虫产生抗药性的机理

害虫抗药性不断上升造成治理棉铃虫更加困难。已有研究报道抗药性机制涉及解毒酶系(昆虫细胞色素P450酶、昆虫谷胱甘肽S-转移酶、昆虫羧酸酯酶)代谢能力增强、靶标部位敏感性降低和表皮能力穿透降低。目前,众多研究表明,和杀虫剂相关的解毒酶代谢能力增强是昆虫对杀虫剂产生抗性的主要原因之一。所以本文主要讨论解毒酶系与棉铃虫抗药性产生的关系。

1.3.1 昆虫细胞色素P450酶介导的抗药性

在众多的生物体中,细胞色素P450酶是主要的解毒酶。增强P450酶活性可以通过新基因的出现、启动子区域突变引起的转录增加、蛋白质编码区突变引起的酶结构和功能变化或翻译后修饰的变化来介导;所有这些变化都受到杀虫剂选择压力的影响。多种信号通路和关键效应分子参与昆虫P450的调控,P450活性增加是诱导昆虫抗性的关键机制(Min Y,et al.,2022)。新的研究证明昆虫细胞色素P450基因过量表达是昆虫抵御外界攻击产生自我保护的重要机制。随着科学技术不断发展,研究表明,抗性品系棉铃虫体内存在多个细胞色素P450基因的过量表达。陈松研究从棉铃虫氰戊菊酯高抗品系YGF脂肪体中克隆了三个新的细胞色素P450全长基因CYP9A12、CYP9A14和CYP17v2,三个基因均在抗性品系YGF中均过量表达,表明一个或多个细胞色素P450基因的组成型过量表达可能导致棉铃虫对氰戊菊酯氧化解毒代谢的增强(陈松,2005)。徐莉通过荧光定量检测相关抗性P450基因,显示抗性棉铃虫种群中CYP6B7、CYP332A1和CYP9A12存在高水平的过量表达,说明氰戊菊酯抗药性的形成是多基因参与的结果(徐莉,2017)。唐涛等人使用RNA干扰技术沉默了抗氰戊菊酯棉铃虫中3种组分的基因,结果表明,细胞色素P450基因(CYP6B7、CYP6B7与CPR、Cyt-b5)的沉默,进一步

证明了 *CYP6B7* 与 *CPR* 和 *Cyt-b5* 在棉铃虫对菊酯类药剂抗性中起着重要作用（唐涛等，2013）。上述结果表明，不同棉铃虫种群的体内细胞色素 P450 基因表达也截然不同，说明细胞色素 P450 参与昆虫抗性的形成具有复杂性，同时这种现象也在其他害虫上产生。比如王学贵等人 2015 年研究氯虫苯甲酰胺通过诱导 3 种 P450 基因及细胞色素 P450 还原酶基因 *HQ852049* 基因 mRNA 的上调表达从而增强了甜菜夜蛾幼虫中肠 P450s 酶活性（王学贵等，2015）。石鑫等人利用 RT-qPCR 分析 *CYP9Z25*、*CYP9Ya* 和 *CYP9Yc* 等多个 P450 基因在不同种群及噻虫嗪处理后的表达情况，明确该虫与新烟碱类杀虫剂抗性相关的 P450 基因表达（石鑫，2021）。众多试验证明，P450 对棉铃虫代谢抗性有着重要作用。

1.3.2 昆虫谷胱甘肽 S-转移酶介导的抗药性

谷胱甘肽 S-转移酶（GSTs）是通过直接代谢和保护免受杀虫剂暴露引起的氧化应激反应，在杀虫剂抗性中发挥关键作用（Haoli G, et al., 2021）。GSTs 还是一种广泛存在于生物体中的代谢酶。GSTs 酶在解毒外源化合物中发挥重要作用，可以促进杀虫剂发生还原反应或与还原型谷胱甘肽发生耦合反应来代谢杀虫剂，从而产生水溶性代谢物使其排出体外。靳明辉等人发现 *GST119*、*GST121* 基因的转录调控和过量表达从而增强了华北棉铃虫群体对菊酯农药的抗药性（Jin M, et al., 2023）。徐希宝等人采用 RNA 沉默技术干扰 GST 基因的表达，结果表明 GST 的活性降低是提高棉铃虫对甲氧虫酰肼敏感性的主要原因（徐希宝等，2014）。张少华研究棉铃虫使用氯虫苯甲酰胺处理后，随着抗性指数增加，GSTs 酶、AChE 酶、CarE 酶活性呈现不同的上升趋势，表明棉铃虫抗性增强与 GSTs 酶、AChE 酶、CarE 酶有关（张少华，2013）。王芹芹等人采用浸叶法测定了棉铃虫不同种群的酶活性，结果显示 MFO 酶、CarE 酶和 GSTs 酶活性显著升高从而增强了棉铃虫对茚虫威产生中等抗性（王芹芹等，2017）。

1.3.3 昆虫羧酸酯酶介导的抗药性

羧酸酯酶（CarE）已在所有动物，植物和微生物中发现，属于丝氨酸水解酶的超家族酶，参与排毒，化感耐受和某些特定的激素或信息素代谢。昆虫通常利用羧酸酯酶使异生物素解毒，并且与昆虫对某些杀虫剂的抗性呈正相关（Zhang Y, et al., 2016）。引起昆虫抗药性增强的因素之一是羧酸酯酶的代谢能力增强和对杀虫剂的结合能力提升（李尧等，2021；赵爱平等，2017；李海超等，2023）。李海超等人通过饲喂 dsHaCarE 对棉铃虫 2 龄幼虫有显著致死作用，5 d 时死亡率为 64.57%，体长与对照组相比减少了 23.29%，表明获得的 *HaCarE* 基因对棉铃虫生长发育有显著抑制作用，并有较好的致死效果（李海超等，2023）。王康测定羧酸酯酶在禾谷缢管蚜抗异丙威和氯氟氰菊酯的酶

活, 分析显示禾谷缢管蚜抗异丙威品系和抗氯氟氰菊酯品系的羧酸酯酶活性显著上调, 分别为敏感品系的 2.20 倍和 2.05 倍, 表明禾谷缢管蚜的羧酸酯酶与异丙威和氯氟氰菊酯抗性相关(王康, 2019)。鲁梅通过试验证明棉铃虫的羧酸酯酶通过氨基酸位点突变, 以此提高对杀虫剂的代谢活性, 表明今后棉铃虫有可能通过羧酸酯酶突变而对菊酯类杀虫剂产生抗性(鲁梅, 2017)。因此多种昆虫体内羧酸酯酶能对其进行不同程度酶促降解作用, 并进一步发展成为代谢抗药性。所以, 人们对杀虫剂的过度使用会导致害虫产生抗药性, 而这种现象也和 CarE 对杀虫剂的代谢降解密不可分。

1.4 研究意义与内容

1.4.1 研究意义

加工番茄是新疆重要的经济作物, 近年来受到多种害虫的危害, 造成严重的经济损失。目前, 加工番茄害虫的防治多依赖于杀虫剂, 但杀虫剂的不合理、不适时、不对症、甚至超剂量使用, 引起多种害虫的抗药性逐渐上升, 包括鳞翅目夜蛾科的棉铃虫。因此, 开展害虫抗药性的监测和治理成为新疆加工番茄生产中的关键问题。本研究开展石河子市加工番茄田夜蛾科主要害虫发生动态调查, 进行棉铃虫对氯虫苯甲酰胺和甲氨基阿维菌素苯甲酸盐(甲维盐)的抗药性测定, 并从分子水平检测这两种杀虫剂处理后, 棉铃虫幼虫体内细胞色素 P450 酶(P450s)和谷胱甘肽 S-转移酶(GSTs)的含量变化情况。本研究可为进一步揭示棉铃虫抗药性的产生机理奠定理论依据, 并为第八师石河子市加工番茄产业的健康可持续发展提供技术支撑。

1.4.2 研究内容

通过对危害新疆农垦科学院试验站、143 团 14 连和 143 团 23 连加工番茄夜蛾科的主要害虫调查, 明确加工番茄夜蛾科的主要害虫以及发生动态。通过测定石河子市 143 团 14 连和 23 连棉铃虫田间种群对杀虫剂氯虫苯甲酰胺、甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和高效氯氟氰菊酯的抗药性水平。在氯虫苯甲酰胺和甲维盐处理棉铃虫田间种群后, 通过双抗体夹心法测定幼虫体内细胞色素 P450 酶(P450s)和谷胱甘肽 S-转移酶(GSTs)的含量; 通过实时荧光定量 PCR 法测定幼虫体内 9 个 P450 基因(*CYP6AE11*、*CYP337B1*、*CYP332A1*、*CYP4G8*、*CYP4M6*、*CYP4M7*、*CYP4L5*、*CYP9A3* 和 *CYP9A12*)、4 个 GST 基因(*GSTd2*、*GSTe1*、*GSTe2* 和 *GSTs1*) 的相对表达量。