

昆虫抗药性产生机制

吴有刚¹, 金京², 杨胜祥³, 吴屏³, 胡琴², 杜永斌², 樊建庭^{2*}

¹北京市延庆区林业保护站, 北京 102100; ²浙江农林大学林业与生物技术学院, 生物农药高效制备技术国家地方联合工程实验室, 浙江 杭州 311300; ³武汉市江夏区青龙山林场, 湖北 武汉 430000

摘要: 杀虫剂是害虫防治的有效途径之一, 但随着杀虫剂长期和广泛的使用, 昆虫种群对各种杀虫剂的敏感性降低, 产生了抗药性, 如何克服昆虫的抗药性是害虫综合治理的重要问题。近年来, 借助基因组测序和遗传操作技术的发展, 对昆虫抗药性的研究已经深入到细胞水平和分子水平, 取得诸多重要的突破, 为害虫抗性的控制奠定了理论基础。本文从常见杀虫剂的历史沿革及作用机理切入, 从靶标抗性、代谢抗性和穿透抗性 3 个方面阐述了杀虫剂抗性产生的机制: 杀虫剂作用位点的突变降低了靶标与杀虫剂的亲和力, 细胞色素 P450 酶系和谷胱甘肽转移酶系的激活增加了杀虫剂的降解, 表皮结构成分的变化和 ABC 转运蛋白的增加有效阻挡了杀虫剂的渗入。利用基因操作手段或抑制剂, 对上述 3 种抗性机制的关键步骤进行调控可能成为未来杀虫剂抗性控制的新策略。

关键词: 昆虫; 杀虫剂; 靶标; 代谢; 穿透; 抗性

Insect resistance development mechanism

WU Yougang¹, JIN Jing², YANG Shengxiang³, WU Ping³, HU Qin², DU Yongbin², FAN Jianting^{2*}

¹Yanqing District Forestry Protection Station, Beijing 102100, China; ²National Joint Engineering Laboratory for Efficient Preparation of Biopesticides, School of Forestry and Biotechnology, Zhejiang A & F University, Hangzhou, Zhejiang 311300, China; ³Jiangxia District Qinglongshan Forest Farm, Wuhan, Hubei 430000, China

Abstract: Insecticides are one of the most effective ways to control pests. However, with the long-term and widespread use of insecticides, insects have acquired reduced sensitivity to them, resulting in resistance. How to overcome the resistance of insects becomes an important issue in integrated pest management. Recently, with the development of genome sequencing and genetic manipulation techniques, the research on insect resistance has led to many important breakthroughs, providing a theoretical foundation for the control of pests. In this paper, we present the history and mechanism of common insecticides, paying special attention to the mechanisms of insecticide resistance from three aspects: target resistance, metabolic resistance, and penetration resistance. Point mutations at the insecticide site of action reduce the affinity of the target to the insecticide. Activation of the cytochrome P450 enzyme and the glutathione transferase systems increases the degradation of insecticides. Changes in the structural components of the epidermis and an increase in the ABC transporter can effectively block the penetration of the insecticide in the insect. The use of genetic manipulation or inhibitors to regulate the key steps of the above three resistance mechanisms may become a new strategy for future pest control.

Key words: insects; insecticides; target; metabolism; penetration; resistance

在农业及公共卫生健康上, 杀虫剂的使用是害虫防治的有效途径之一。但随着杀虫剂长期和广泛的使用, 昆虫种群对各种杀虫剂的敏感性降低, 产生了抗药性, 有时甚至是交互抗性, 严重限制了杀虫剂的使用, 降低了害虫防治的效果。因此, 理解害虫的抗性机制对其防治十分重要。

1 常见杀虫剂及作用机制

一般来说, 杀虫剂是指对害虫有毒杀作用的化学物质。目前使用广泛的化学杀虫剂, 多为人工合成有机物或经化学修饰的天然产物, 也包括生物制剂。化学杀虫剂按照来源可分为有机氯杀虫剂、有

收稿日期(Received): 2019-03-08 接受日期(Accepted): 2019-04-22

基金项目: 浙江省院合作林业科技项目(2018SY05); 浙江省林业科技推广重点项目(2015B07)

作者简介: 吴有刚, 男, 工程师。研究方向: 森林害虫控制。E-mail: tianshiyhao0103@163.com

* 通信作者(Author for correspondence), E-mail: jianting_1977@163.com

机磷杀虫剂、氨基甲酸酯类、拟除虫菊酯类、新烟碱类、阿维菌素类、昆虫生长调节剂和生物杀虫剂等。

有机氯杀虫剂 (organochloride) 是较早投入使用的有机杀虫剂。其化学构成以碳氢化合物为基本架构,并有氯原子连接在碳原子上,主要包括滴滴涕 (DDT) 型和氯化酯环 (chlorinated alicyclics) 型化合物。DDT 型化合物主要作用于周围神经系统轴突上的钠离子通道,而氯化酯环型化合物主要抑制中枢神经系统中的 γ -氨基丁酸氯离子通道的 GABAA 受体 (Coats, 1990)。有机氯杀虫剂控制疟蚊等昆虫非常有效,但在动植物中可长期残留,因对环境污染较大而被禁止或限制使用 (Dunlap, 2017)。

有机磷杀虫剂 (organophosphates) 是一类含磷的有机合成杀虫剂,主要包括毒死蜱 (chlorpyrifos, CPF)、敌敌畏 (dichlorvos, DDVP)、马拉硫磷 (malathion)、敌百虫 (trichlorfon)、氧化乐果 (omethoate)、倍硫磷 (fenthion)、对硫磷 (parathion)、久效磷 (monocrotophos) 和对氧磷 (paraoxon) 等。其主要靶点为乙酰胆碱酯酶,可使传导昆虫神经冲动的乙酰胆碱无法水解,在突触处大量积累,从而干扰神经冲动的正常传导 (Chambers & Levi, 1992)。有机磷杀虫剂具有广谱杀虫作用,对蚊、蝇、蜚、螨、虱、臭虫 *Cimex lectularius* L. 等均有高效的触杀、胃毒、内吸和熏蒸杀灭作用,对人畜的毒性也较大。但因害虫对其抗药性发展较缓慢,目前仍大量使用 (Kumaer *et al.*, 2010)。

另外一类作用于乙酰胆碱酯酶的杀虫剂是氨基甲酸酯类 (carbamate), 这是一类基于蔓生豆科植物毒扁豆中毒扁豆碱的结构而合成的化合物,主要包括灭多威 (methomyl)、硫双威 (thiodicard)、抗蚜威 (pirimicard) 等。氨基甲酸酯对害虫具有不同程度的触杀、胃毒和内吸作用,毒性较强,比有机磷类杀虫剂作用迅速 (Fukuto, 1990)。

为了替代 DDT, 20 世纪 60 年代,研究者从除虫菊属 *Pyrethrum* 植物中提取的除虫菊酯 (pyrethrin) 合成衍生出拟除虫菊酯类 (pyrethroids) 杀虫剂,包括溴氰菊酯 (deltamethrin)、氰戊菊酯 (fenvalerate)、甲氰菊酯 (fenpropathrin)、苄氯菊酯 (permethrin)、氯氰菊酯 (cypermethrin)、高效氟氯氰菊酯 (lambda-cyhalothrin) 等 (Class & Kintrup, 1991; Elliott, 1989)。拟除虫菊酯主要作用于轴突膜上的电压门

控的钠离子通道,对害虫具有触杀和胃毒作用,对人畜基本没有毒害,目前广泛用于防治家蝇 *Musca domestica* L.、棉铃虫 *Helicoverpa armigera* Hubner 及伊蚊等疾病媒介昆虫 (Soderlund *et al.*, 2002)。

新烟碱类 (neonicotinoid) 是于 20 世纪 70 年代合成的一类杀虫剂,其来源是烟叶中提取的活性成分烟碱经修饰而成的化合物,主要包括吡虫啉 (imidacloprid)、啉虫脒 (acetaniprid)、烯啶虫胺 (nitenpyram)、环氧虫啉 (cycloxaprid)、噻虫胺 (clothianidin)、噻虫嗪 (thiamethoxam) 等 (Yamamoto & Casida, 1999)。主要作用于烟碱型乙酰胆碱受体,具有触杀和胃毒作用,高效低毒,尤其对刺吸式口器害虫如同翅目蚜虫、半翅目飞虱防治有效,特异性强,对人畜无害,但对蜜蜂等传粉昆虫危害较大 (Tomizawa & Casida, 2005)。

从土壤阿维链霉菌 *Streptomyces avermitilis* 中提取的大环内酯类 (macrocyclic lactone, MLs) 化合物,是一种对害虫有触杀和胃毒作用的杀虫剂。包括阿维菌素 (abamectin, AVM)、伊维菌素 (ivermectin, IVM)、多拉菌素 (doramectin)、塞拉菌素 (selamectin)、米贝尔肟 (milbemycin oxime)、奈马菌素 (nemadectin)、莫西菌素 (moxidectin)、普菌素 (epinomectin) 8 种抗人畜寄生虫如线虫的药物,又统称为阿维菌素类 (avermectins, AVMs) 杀虫剂 (Campbell, 2012)。其中,AVM 和 IVM 又被发展成为杀螨剂和杀虫剂。AVMs 杀虫剂主要激活存在于无脊椎动物中的谷氨酸门控氯离子通道 (GluClCs), 同时可作用于其他具半胱氨酸环的离子通道,如 GABAA 受体、甘氨酸受体、烟碱型乙酰胆碱受体等,但均不如 GluClCs 敏感 (Dermauw *et al.*, 2012; Wolstenholme & Rogers, 2005)。AVMs 具有触杀和胃毒作用,可防治螨类、鞘翅目、同翅目、双翅目、直翅目、等翅目、膜翅目及鳞翅目等节肢动物 (Chaccour *et al.*, 2013; Putter *et al.*, 1981)。

昆虫生长调节剂是近年来新兴的杀虫剂,其作用机制是通过干扰蜕皮过程而阻碍昆虫的成熟,因此,对于在幼虫期为害的害虫如鳞翅目昆虫有特别防效,对环境昆虫和有益昆虫毒害较小,但较传统杀虫剂起效慢,对家蚕高毒。昆虫生长调节剂分为昆虫激素类和几丁质合成抑制剂,前者包括保幼激素、蜕皮激素的类似物,后者包括苯甲酰胺类杀虫剂 (benzoylurea), 如灭幼脲 (chlorbenzuron) 和除虫

脲(diflubenzuron)等(Oberlander & Silhacek, 2000)。

除了上述化学杀虫剂,杀虫剂还包括生物杀虫剂。该类杀虫剂因其靶标特异性和高效性也在害虫防治方面得到广泛应用,包括昆虫病原真菌和苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*, Bt)等。常用的昆虫病原真菌主要是隶属于子囊菌门的白僵菌和绿僵菌,它们不仅可以在昆虫体内大量繁殖,而且可分泌多肽、卵孢霉素等毒素来降低害虫生存。昆虫病原真菌大部分营专性寄生,可用于防治蝗虫、蛴螬、叶蝉、飞虱以及鳞翅目害虫(Fernandes *et al.*, 2012)。Bt是一类产品的芽孢杆菌,可产生内毒素(伴孢晶体)和外毒素,通过胃毒作用使害虫停止取食,因饥饿死亡。Bt可用于防治直翅目、鞘翅目、双翅目、膜翅目多种害虫,尤其是鳞翅目低龄幼虫。Bt转基因作物可以成功抵御害虫,目前已在全球范围广泛种植(Kumar *et al.*, 1996)。

2 杀虫剂抗性机制

尽管杀虫剂的类型很多,但害虫对杀虫剂抗性主要通过3个方面产生:修饰杀虫剂靶标;提高相关解毒酶活性;减少进入体内的杀虫剂或增加体内杀虫剂的排出(Hemingway *et al.*, 2004; Perry *et al.*, 2011; Rinkevich *et al.*, 2013; Scott, 2017)。

2.1 靶标抗性

靶标抗性是指与杀虫剂作用的靶标分子发生突变或者表达水平的改变,减少了与杀虫剂的亲和位点,从而降低了对药物的敏感性而产生抗性。杀虫剂作用的靶标主要包括电压门控钠离子通道(Vssc)、乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChEs)、烟碱型乙酰胆碱受体(nAChR)、受体门控的氯离子通道等。

Vssc的突变可以增加昆虫对DTT和拟除虫菊酯类杀虫剂的抗性。家蝇和埃及伊蚊*Aedes aegypti* (L.)抗性品系中Vssc的L1014F、V1016G、F1534C突变可发生击倒抗性(knockdown resistance, kdr),降低了Vssc对DDT和拟除虫菊酯类杀虫剂的敏感程度(Rinkevich *et al.*, 2013; Smith *et al.*, 2016)。

乙酰胆碱酯酶的突变可以增加昆虫对有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂抗性。AChEs可以水解乙酰胆碱来终止神经信号的传递(Russell *et al.*, 2004)。昆虫中存在2种不同的AChEs基因:AChE1和AChE2, AChE1是昆虫中主要的水解酶。褐飞虱*Nilaparvata lugens* (Stål) 毒死蜱抗性品系中

AChE1的G119S、F331C位点的点突变导致对毒死蜱不敏感,从而引发抗性(Zhang *et al.*, 2017b)。毒死蜱对AChEs氨基酸的选择效应也有可能导致靶标抗性的产生,如Wang *et al.* (2018b)在对龟纹瓢虫*Propylea japonica* (Thunberg) AChEs的测序中发现,毒死蜱抗性品系在F358S结构域上与敏感品系存在5个氨基酸的差异,可能和抗性有关。

烟碱型乙酰胆碱受体的突变可以增加昆虫对新烟碱类杀虫剂的抗性。通过药物压力筛选的灰飞虱*Laodelphax striatellus* (Fallén)的环氧虫啉抗性品系中,环氧虫啉的靶标蛋白nAChR的Ls α 1和Ls β 1亚基的表达量分别比野生型降低了9.6和3.36倍(Zhang *et al.*, 2018)。

GABAA受体门控的氯离子通道突变可增加环戊二烯类杀虫剂、大环内酯类及苯基吡唑(phenylpyrazole)类杀虫剂的抗性。线虫GABA受体的碱基突变或谷氨酸氯离子通道的配体结合域GLC-1的氨基酸缺失,导致受体结构变化,因而不能与阿维菌素结合,降低了对阿维菌素的敏感性(Blackhall *et al.*, 2003; Ghosh & Kruglyak, 2012)。

GluCl的突变可增加大环内酯类杀虫剂的抗性。如小菜蛾*Putella xylostella* L. GluCl(PxGluCl)的跨膜结构域A309V突变基因或二斑叶螨*Tetranychus urticae* Koch GluCl(TuGluCl3)的G315E突变基因可以使爪蟾卵母细胞对阿维菌素的敏感度分别下降4.8或493倍(Wang *et al.*, 2017)。

Liu *et al.* (2014)发现四跨膜蛋白Tetraspanin的T92C点突变导致棉铃虫对Bt蛋白Cry1Ac产生显性抗性,将T92C点突变敲入敏感品系,其抗性增加125倍。

2.2 代谢抗性

代谢抗性是通过体内解毒酶系如细胞色素P450氧化酶系(CYP)、谷胱甘肽转移酶(GST)、羧酸酯酶(CarE)或胆碱酯酶等酯酶表达量或活性的增加,提高昆虫对杀虫剂的降解能力。

P450解毒酶在很多杀虫剂的抗性中具有重要的作用。灰飞虱的毒死蜱抗性品系中解毒酶基因CYP6AY3v2、CYP306A2v2和CYP353D1v2表达量均提高(Elzaki *et al.*, 2018)。摇蚊*Chironomus tentans* Fabricius中的19种P450中,CtCYP6EX3在毒死蜱向毒死蜱氧化物的转化中发挥重要作用。用RNAi敲除CtCYP6EX3后,摇蚊幼虫对毒死蜱的敏感性

下降 (Tang *et al.*, 2017)。二斑叶螨 *Tetranychus urticae* Koch P450 中的 *CYP392A16* 可以催化 ABM 的羟基化而降低其毒性 (Riga *et al.*, 2014)。灰飞虱的 *CYP6CW1* 在吡蚜酮和稻虱净的抗性品系中过表达, RNAi 抑制 *CYP6CW1* 后, 灰飞虱对吡蚜酮和稻虱净的敏感性增加 (Zhang *et al.*, 2017a)。Wang *et al.* (2018) 证实棉铃虫 *CYP6AE* 基因簇编码的 P450 对杀虫剂的解毒代谢能力, 利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术敲除该基因可提高棉铃虫对顺式氰戊菊酯和吡虫啉的敏感性, 最终确定体外表达 *CYP6AE* 的代谢抗性与 5 个 P450 基因有关。

GSTs 在杀虫剂抗性的发展中同样发挥着重要作用。朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduvals) ABM 抗性品系和甲氰菊酯抗性品系的 GST 活性比敏感品系分别上升了 3.4 和 2.8 倍, GST 抑制剂顺丁烯二酸二乙酯可部分抑制上述 2 种品系分别对 ABM 和甲氰菊酯抗性 (He *et al.*, 2009)。烟粉虱 *Bemisia tabaci* Gennadius 的吡虫啉抗性品系中的 GST-d7 的表达量相对于敏感品系上调了 4.39 倍, 敲减 GST-d7 后, 使用 $50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的吡虫啉处理, 抗性品系的致死率可从 11.83% 提高到 25.49%, 敏感品系的致死率从 51.17% 提高到 80.60% (He *et al.*, 2018)。棉铃虫 GST-8 可以有效分解有机磷类农药如毒死蜱和敌敌畏, 并大幅降低水溶液中氯氰菊酯的含量 (Labade *et al.*, 2018)。

另外, 羧酸酯酶与昆虫的抗性有关。在褐飞虱中, 羧酸酯酶在 CPF 抗性品系中高表达, 该基因的 RNAi 显著提高了对 CPF 的敏感性 (Lu *et al.*, 2017)。朱砂叶螨 ABM 抗性品系的羧酸酯酶上升了 2.7 倍, 水解酶抑制剂磷酸三苯酯可部分抑制其对 ABM 的抗性 (He *et al.*, 2009)。

2.3 穿透抗性

穿透抗性是通过昆虫的渗透屏障 (昆虫表皮、消化道围食膜、中枢神经系统中的血脑屏障) 结构和成分的改变, 减少杀虫剂在体内的渗透率和残留量, 缓解体内解毒作用的压力。主要分为减少进入体内的杀虫剂 (表皮的渗透) 及增加杀虫剂的排出 (ABC 蛋白的运输)。

2.3.1 表皮与杀虫剂抗性 表皮作为昆虫的最外层结构, 是杀虫剂进入昆虫体内的第一道屏障。昆虫可通过表皮结构和成分变化, 阻碍杀虫剂在血淋巴中扩散的速率并延长杀虫剂降解时间, 从而减缓

药物在靶标细胞的积累 (O'Brien & Izuru, 1970)。

研究表明, 在家蝇中注射 AVM 仅能获得 35 倍的抗性倍数, 是点滴法的 1/600 (Clark *et al.*, 1995)。在黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* Meigen 抗性品系中注射 ABM, LD_{50} 为 $43 \text{ ng} \cdot \text{头}^{-1}$, 是点滴法的 1/1700 (Konno & Scott, 1991)。电镜观察显示, 催命按蚊 *Anopheles funestus* Giles 的拟除虫菊酯抗性品系雌虫的表皮显著增厚, 并对卡氯菊酯的敏感性降低。臭虫溴氰菊酯点滴的抗性倍数是表皮下注射的 105 倍, 并且表皮蛋白基因、几丁质合成酶基因、几丁质脱乙酰酶在抗性品系中高表达。在敏感品系中过表达这些基因可以使表皮增厚或重构, 从而降低杀虫剂的穿透速率 (Dang *et al.*, 2017)。以上研究均提示杀虫剂在表皮穿透力降低是昆虫的一种很重要的抗性机制。

昆虫的表皮是上皮细胞的分泌物质, 由上表皮、原表皮 2 个部分组成。上表皮主要成分为蜡质和碳氢化合物 (Girotti *et al.*, 2012), 原表皮由结构复合物表皮蛋白 (CPs) 和几丁质相连的基质组成 (Moussian, 2016)。这 2 种成分本身的结构及两者的相互作用决定了表皮的物理特性。表皮对于维持昆虫的内环境十分关键, 在应对环境胁迫时, 可以保护昆虫免于脱水和病原体及杀虫剂的侵害 (Budke *et al.*, 2013; Liang *et al.*, 2015)。研究发现, 昆虫表皮的各个组成成分都有可能参与昆虫对杀虫剂的抗性, 如脂类上升 (Qiu *et al.*, 2012)、几丁质含量变化 (Plapp & Hoyer, 1968)、漆酶基因转录变化 (Pan *et al.*, 2009)、表皮蛋白转录变化 (Snyder *et al.*, 1981) 等。

橘小实蝇 *Bactrocera dorsalis* (Hendel) 氯氰菊酯抗性品系比敏感品系表皮厚, 内表皮几丁质层更致密, 结构更清晰, 表皮细胞间隙更大。此外, 溴氰菊酯在抗性品系的渗透速率更慢 (Lin *et al.*, 2012)。药物压力法筛选的果蝇 ABM 抗性品系中, 抗性品系果蝇幼虫的体壁厚度是敏感品系的 2 倍, 其中几丁质层的厚度是敏感品系的 2~3 倍 (Chen *et al.*, 2016)。近期研究表明, 几丁质参与的穿透抗性与几丁质合成酶关系密切。甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* Hubner 饲喂几丁质合成酶后, 双链 RNA 能导致其化蛹过程中死亡率上升 35%, 并且使 3 龄幼虫对球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin 更敏感 (Lee *et al.*, 2017)。二斑叶螨野外种群

的乙螨唑抗性与几丁质合成酶 CH1 羧基端的非同义突变有关系。其他的几丁质合成抑制剂的作用方式也有可能通过与几丁质合成酶的直接作用来实现(Leeuwen *et al.*, 2012)。小菜蛾苜蓿抗性品系和红蜘蛛 *Panonychus ulmi* (Koch) 乙螨唑抗性品系的 CH1 有共同的突变位点。用 CRISPR/CAS 9 将果蝇 CH1 的该位点突变,可使果蝇对苜蓿、乙螨唑和 CH1 抑制剂噻嗪酮产生较高的抗性。说明上述 3 种药物的作用方式都是与 CH1 结合(Douris *et al.*, 2016)。除了 CH1,果蝇的 CH2 也参与几丁质和其他分子(如 Obst-A)的结合,对几丁质层的成熟和维持至关重要。CH2 在表皮、消化道和器官都有分布,并在细胞上表面和致密几丁质层中富集。CH2 的敲减使得组装区域退化,阻碍表皮和管道的形成。CH2 较保守的序列相似性暗示了在昆虫中可能具有相似的功能(Pesch *et al.*, 2017)。

昆虫表皮的组织特异性和物种特异性大多是因为表皮蛋白构成的差异导致。作为前表皮的另一类重要分子,表皮蛋白也参与了昆虫抗药性。在中华库蚊 *Culex sinensis* Theobald 基因组中鉴定出来自 11 个家族的 238 种表皮蛋白,其中 CPR 和 CPAP3 家族中的 CPR123 和 CPAP3-E 在中华库蚊溴氰菊酯抗性品系中上调,而 CPLCP23 下调,提示表皮蛋白与昆虫的抗性相关(Zhou *et al.*, 2017)。褐飞虱中鉴定出来自 8 个家族的 106 种表皮蛋白,这些表皮蛋白表现出龄期、组织和功能的特异性,并且有 17 种表皮蛋白 RNAi 敲除后其表皮变薄或排布发生变化(Pan *et al.*, 2018)。淡色库蚊 *Culex pipiens pallens* Coquillett 溴氰菊酯抗性品系的 2 种表皮蛋白 CpCPR63 和 CpCPR47 比敏感品系有更高的表达水平。用 dsRNA 将 CpCPR 敲低后成虫的死亡率升高,说明表皮蛋白有可能参与淡色库蚊对溴氰菊酯的抗性(Sun *et al.*, 2017)。另一种表皮蛋白 CPLCG5 在淡色库蚊溴氰菊酯抗性品系也比敏感品系有更高水平的表达。SiRNA 敲低抗性品系 CPLCG5 的表达量可以使外表皮变薄(Yun *et al.*, 2018)。此外,参与调控表皮蛋白表达的 microRNA 与昆虫杀虫剂抗性相关。Hong *et al.* (2014) 在尖音库蚊 *Culex pipiens complex* 溴氰菊酯敏感和抗性品系中发现了 28 个差异表达的 microRNAs。其中,miR-92a 和 miR-932 在抗性品系的含量比敏感品系显著升高,miR-92a 和 miR-932 分别与表皮蛋白

CpCPR4 和 CpCPR5 的 3'-UTR 区结合抑制其表达,miR-94a 抑制剂通过上调 CPR4 的水平,使抗性品系对溴氰菊酯的敏感性上升,而 miR-932 的过表达通过下调 CPR5 的水平,使敏感品系对溴氰菊酯的敏感性下降(Kai *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2016)。

除了几丁质和表皮蛋白,外表皮的成分如碳氢化合物也参与了表皮抗性。研究发现,外表皮(角质层)在冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* Giles 的拟除虫菊酯抗性中发挥作用,C₁₄ 标记的溴氰菊酯内化速率在抗性品系中明显慢于敏感品系。角质层的电镜分析及脂质提取的特征表明,抗性蚊有较厚的上表皮层且表皮碳氢化合物的含量显著上升,而升高的碳氢化合物含量是由催化其合成的 P450 酶 CYP4G16 的表达水平上升导致的(Balabanidou *et al.*, 2016)。

2.3.2 ABC(ATP-binding cassette) 运输蛋白与杀虫剂抗性 ABC 运输蛋白是一类膜结合蛋白,可分为 8 个家族:ABCA-ABCH,ABCH 目前仅存在于果蝇等节肢动物和斑马鱼内,而植物、酵母、线虫和哺乳动物中尚无发现(Dean & Annilo, 2005; Popovic *et al.*, 2010)。ABC 家族成员通常包含 2 个高度可变的跨膜域(TMDs)来进行底物的识别,2 个高度保守的核苷酸结合域(NBDs)用于水解 ATP,产生能量摄入或排出底物(Zolnerciks *et al.*, 2011)。在包括从微生物到人类的各个物种中,ABC 蛋白均发挥着很重要的作用,如无机盐运输、视色素沉积、尿酸摄入、环化 GMP、脂类修饰的多肽信息素和生物胺等运输、异源物质代谢和排出及抗性等(Dean & Annilo, 2005; Higgins, 1992; Hollenstein *et al.*, 2007)。

昆虫可以通过 ABC 运输蛋白表达量的增加,将与之结合的杀虫剂从体内组织中排出或增加排出的速率,从而减少杀虫剂与靶标蛋白的结合,增加对杀虫剂的抗性(Dermauw & Van Leeuwen, 2014; Merzendorfer, 2014)。ABCB、ABCC 和 ABCG 家族的成员已被证明参与多种杀虫剂的排出,因此在昆虫杀虫剂抗性发展中均发挥着重要作用。

ABCB1 又称为 P-糖蛋白(P glycoprotein, P-gp)。P-gp 包含 2 个跨膜结构域及 2 个 ATP 结合位点,利用水解 ATP 产生的能量,可以排出细胞内各种不同结构的化合物(Shannon *et al.*, 2013)。P-gp 最先在烟草天蛾 *Manduca sexta* 的血脑屏障(blood brain barrier, BBB)中发现,并被证明与饮食

中尼古丁的耐受有关(Murray *et al.*, 1994)。之后研究人员在黑腹果蝇、尖音库蚊、长红猎蝽 *Rhodnius prolixus* Stal 等昆虫中发现 1~4 种与 P-gp 同源的蛋白。P-gp 可以与很多药物、杀虫剂和金属相互作用(Bain & LeBlanc, 1996; Buss & Callaghan, 2008; Schinkel *et al.*, 1994), 参与昆虫的抗性产生。烟青虫 *Heliothis virescens* Fabricius 对拟除虫菊酯、有机磷和氨基甲酸酯有抗性的一种品系中, 当使用 verapamil、quinidine 等 P-gp 的抑制剂与硫双威同时作用后, 可以提高抗性品系对其的敏感性(Lanning *et al.*, 1996)。在 SF9 细胞系中, CPF 处理显著提高了 P-gp ATP 酶活性(Lanning, 1996)。Srinivas *et al.* (2004) 在对多种杀虫剂均表现抗性的棉铃虫一种品系中, 发现了 P-gp 的过表达。Aurade *et al.* (2010) 对 P-gp 进行纯化后进行体外检测, 确定了其结合氯氰菊酯、氰戊菊酯、硫丹、对硫磷、久效磷和对氧磷的能力, 并发现这些杀虫剂在一定浓度时均可以增加 20%~40% 的 ATP 酶活性, 其中甲基对硫磷在高浓度时还会抑制其 ATP 酶活性。敲除甜菜夜蛾的 P-gp 基因, 其对阿维菌素和艾玛菌素的敏感性分别增加 2.73 和 3.09 倍(Zuo *et al.*, 2018)。双硫磷处理埃及伊蚊幼虫后, 其 P-gp 的表达量上调 8 倍, 与 verapamil 联合处理后, 双硫磷的毒性上升了 24%, RNAi 敲除 P-gp 后, 可增加 57% 的双硫磷毒性(Figueira-Mansur *et al.*, 2013)。在另一种伊蚊 *Aedes caspius* Pallas 中, 杀虫剂与亚致死浓度的 verapamil 联用可以提高双硫磷和伏虫脲的毒力 3.5 和 16.4 倍(Porretta *et al.*, 2008)。将 verapamil 和杀虫剂同时使用, 可增加尖音库蚊敏感品系和抗性品系 4 龄幼虫对硫丹、阿维菌素和氯氰菊酯的敏感性(Buss *et al.*, 2002)。德国小蠊 *Blattella germanica* L. CPF 抗性品系中, CPF 处理 24 h 可以显著增加 P-gp 表达和 ATP 酶的活性(Hou *et al.*, 2016)。

用马拉硫磷、阿维菌素和氯氰菊酯处理东方果实蝇 *Bactrocera dorsalis* (Hendel) 后, 分别有 4、10 和 14 种 ABC 蛋白的表达量显著上调, RNAi 干扰 ABCB7 后可增加其对马拉硫磷的毒性(Xiao *et al.*, 2017)。埃及伊蚊的 2 个拟除虫菊酯抗性品系(Cayman 和 Cuba) 中 ABCB4 的表达量分别上升 5.13 和 2.60 倍(Bariami *et al.*, 2012)。

除了 ABCB 家族的蛋白, ABCC 和 ABCG 家族在昆虫抗性中也发挥重要作用。ABCC 蛋白中的

MRPs (multidrug resistance proteins) 蛋白与 P-gp 有相似的结构, 并有 15% 的相同氨基酸(Cole *et al.*, 1994)。在肿瘤细胞中, MRPs 参与多种药剂的耐药性, 但与 P-gp 的底物略有不同, MRPs 对连接有谷胱甘肽的化合物有较高的亲和力, 可运输有机阴离子, 及可与谷胱甘肽形成复合物的重金属(Zaman *et al.*, 1995)。一般通过机体的解毒过程才会将异源物质与谷胱甘肽连接, 产生的产物亲水性更强, 因此, 需要相应的运输蛋白将此类物质排出细胞(Ishikawa, 1992)。冈比亚按蚊、黑腹果蝇、人疥螨 *Sarcoptes scabiei* var. *hominis* Raspail 中有很多 ABCG 家族的基因, 包括与人 MRP1 同源的很多蛋白。ABCG 蛋白大小是 P-gp 和 MRP 蛋白的一半, 只有一个跨膜结构域和一个 ATP 结合位点(Doyle *et al.*, 1998)。这些单体可以和自身或 ABCG 家族的其他单体形成同二聚体或异二聚体, 但尚不完全确定此过程是否是底物运输的前提(Mitomo *et al.*, 2003)。黑腹果蝇和冈比亚按蚊分别有 15 和 12 种 ABCG。人源的 ABCG 蛋白只有 5 种, 其中人源 ABCG2 参与药物的抗性, 但目前关于其在昆虫对杀虫剂抗性中的作用报道很少。

在爪蟾卵母细胞中插入家蚕 *Bombyx mori* L. 的 *BmABCC2* 基因可以提高其对苏云金杆菌的抗性(Tanaka *et al.*, 2016)。与敏感品系相比, ABCB/C/G 家族的基因在灰飞虱 CPF、溴氰菊酯和吡虫啉 3 种抗性品系均有高表达。用 verapamil 与杀虫剂联合处理后, 杀虫剂对各抗性品系的毒性增强, CPF、 β -溴氰菊酯和吡虫啉的 LD₅₀ 分别下降 3.02、2.24 和 1.52 倍, 但在敏感品系中无变化, 说明过表达的 ABC 蛋白与抗性的产生相关(Sun *et al.*, 2017b)。

埃及伊蚊拟除虫菊酯抗性品系(Cayman 和 Cuba) 的 Cayman 品系中 ABCG3 表达量上升 2.19 倍, Cuba 品系中 ABCC2 表达量上升 3.53 倍(Bariami *et al.*, 2012)。冈比亚按蚊溴氰菊酯抗性品系中幼虫 AGAP008436-RA 的表达量比敏感品系高 2.88 倍, DTT 抗性品系中 ABCC8 的表达量上升(Bonizzoni *et al.*, 2012)。斯氏按蚊 *Anopheles stephensi* Liston 的幼虫用 LD₅₀ 剂量的苄氯菊酯处理后, ABCG4 的表达量上升, 苄氯菊酯和 verapamil 联用可以增加 5.48 倍的苄氯菊酯的毒性(Epis *et al.*, 2014)。用 RNAi 的方法敲减体虱中 ABCC4, 可增加其对 IVM 的抗性。臭虫溴氰菊酯、氯氰菊酯的抗性品系中 ABC8

和 ABC9 高表达, RNAi 敲除基因后, 可以增加其对氯氰菊酯的敏感性 (Yoon *et al.*, 2011)。

3 总结与展望

昆虫杀虫剂抗性的产生是昆虫与不良环境因素长期协同进化的结果。通过自身靶标突变、解毒酶系活性提高和表皮结构和成分的改变, 减少或降低杀虫剂等不良因素的影响, 是昆虫适应环境不断进化的重要方式。近年来, 分子生物学技术的发展使研究者更深入地研究杀虫剂抗性产生的关键通路, 为制定合理的抗性控制策略奠定了理论基础。RNAi 技术和 P-gp 抑制剂的应用可能成为未来抗性逆转的重要途径。昆虫杀虫剂抗性机制是一个复杂的工程, 随着基因组学的发展, 可以更好地从多基因间的相互作用去理解昆虫抗药性的进化, 不断深入研究和探索昆虫抗性产生的机制, 对于新型杀虫剂的研发和指导害虫控制策略都具有重要的理论和实际指导意义。

参考文献

- AURADE R M, JAYALAKSHMI S K, SREERAMULU K, 2010. P-glycoprotein ATPase from the resistant pest, *Helicoverpa armigera*: purification, characterization and effect of various insecticides on its transport function. *Biochimica et Biophysica Acta*, 84(6): 1135-1143.
- BAIN L J, LEBLANC G A, 1996. Interaction of structurally diverse pesticides with the human mdr1 gene product p-glycoprotein. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 141: 288-298.
- BALABNIDOU V, KAMPOURAKI A, MACLEAN M, BLOMQUIST G J, TITTIGER C, JUAREZ M P, MIJALOVSKY S J, CHALEPAKIS G, ANTHOUSI A, LYND A, ANTOINE S, HEMINGWAY J, RANSON H, LYETT G J, VONTAS J, 2016. Cytochrome P450 associated with insecticide resistance catalyzes cuticular hydrocarbon production in *Anopheles gambiae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113: 9268-9273.
- BARIAMI V, JONES C M, POUPARDIN R, VONTAS J, RANSON H, 2012. Gene amplification, ABC transporters and cytochrome P450s: unraveling the molecular basis of pyrethroid resistance in the dengue vector, *Aedes aegypti*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 6: e1692.
- BLACKHALL W J, PRICHARD R K, BEECH R N, 2003. Selection at a gamma-aminobutyric acid receptor gene in *Haemonchus contortus* resistant to avermectins/milbemycins. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 131(2): 137-145.
- BONIZZONI M, AFRANE Y, DUNN W A, ATIELI F K, ZHOU G F, ZHONG D B, LI J, GITHEKO A, YAN G Y, 2012. Comparative transcriptome analyses of deltamethrin-resistant and -susceptible *Anopheles gambiae* mosquitoes from Kenya by RNAseq. *PLoS ONE*, 7: e44607.
- BUDKE J M, GOFFINET B, JONES C S, 2013. Dehydration protection provided by a maternal cuticle improves offspring fitness in the moss *Funaria hygrometrica*. *Annals of Botany*, 111(5): 781-789.
- BUSS D S, CALLAGHAN A, 2008. Interaction of pesticides with p-glycoprotein and other abc proteins: a survey of the possible importance to insecticide, herbicide and fungicide resistance. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 90: 141-153.
- BUSS D S, MCCAFFERY A R, CALLAGHAN A, 2002. Evidence for p-glycoprotein modification of insecticide toxicity in mosquitoes of the *Culex pipiens* complex. *Medical & Veterinary Entomology*, 16(2): 218-222.
- CAMPDELL W C, 2012. History of avermectin and ivermectin, with notes on the history of other macrocyclic lactone antiparasitic agents. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13: 853-865.
- CHACCOUR C J, KOBYLINSKI K C, BASSA Q, BOUSEMA T, DRAKELEY C, ALONSO P, FOY B D, 2013. Ivermectin to reduce malaria transmission: a research agenda for a promising new tool for elimination. *Malaria Journal*, 12(1): 153.
- CHAMBERS J E, LEVI P E, 1992. *Organophosphates: chemistry, fate and effects*. San Diego: Academic Press.
- CHINTAPALLI V R, WANG J, DOW J A T, 2007. Using fly-atlas to identify better *Drosophila melanogaster* models of human disease. *Nature Genetics*, 39(6): 715-720.
- CHEN L P, WANG P, SUN Y J, WU Y J, 2016. Direct interaction of avermectin with epidermal growth factor receptor mediates the penetration resistance in *Drosophila* larvae. *Open Biology*, 6(4): e150231.
- CLARK J M, SCOTT J G, CAMPOS F, BLOMQUIST J R, 1995. Resistance to avermectins: extent, mechanisms, and management implications. *Annual Review of Entomology*, 40(1): 1-30.
- CLASS T J, KINTRUP J, 1991. Pyrethroids as household insecticides: analysis, indoor exposure and persistence. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 340(7): 446-453.
- COATS J R, 1990. Mechanisms of toxic action and structure-activity relationships for organochlorine and synthetic pyrethroid insecticides. *Environmental Health Perspectives*, 87

- (1): 255–262.
- COLE S P C, SPARKS K E, FRASER K, LOE D W, GRANT C E, WILSON G M, DEELEY R G, 1994. Pharmacological characterization of multidrug resistant mrp-transfected human tumor cells. *Cancer Research*, 54: 5902–5910.
- DANG K, DOGGETT S L, VERRA S G, LEE C Y, 2017. Insecticide resistance and resistance mechanisms in bed bugs, *Cimex* spp. (Hemiptera: Cimicidae). *Parasites and Vectors*, 10(1): 318.
- DEAN M, ANNILO T, 2005. Evolution of the atp-binding cassette (ABC) transporter superfamily in vertebrates. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 6(1): 123–142.
- DERMAUW W, ILIAS A, RIGA M, TSAGKARAKOU A, GRBIC M, TIRRY L, LEEUWEN T V, VONTAS J, 2012. The cys-loop ligand-gated ion channel gene family of *Tetranychus urticae*: implications for acaricide toxicology and a novel mutation associated with abamectin resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 42(7): 455–465.
- DERMAUW W, VAN LEEUWEN T, 2014. The ABC gene family in arthropods: comparative genomics and role in insecticide transport and resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 45(1): 89–110.
- DOURIS V, STEINBACH D, PANTELIERI R, LIVADARAS I, PICKETT J A, LEEUWEN T V, NAUEN R, VONTAS J, 2016. Resistance mutation conserved between insects and mites unravels the benzoylurea insecticide mode of action on chitin biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113: 14692–14697.
- DOYLE L A, YANG W, ABRUZZO L V, KROGMANN T, GAO Y M, RISHI A K, ROSS D D, 1998. A multidrug resistance transporter from human mcf-7 breast cancer cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95: 15665–15670.
- ELLIOTT M, 1989. The pyrethroids: early discovery, recent advances and the future. *Pest Management Science*, 27: 337–351.
- ELZAKI M, MIAH M A, PENG Y, ZHANG H M, JIANG L, WU M, HAN Z J, 2018. Deltamethrin is metabolized by cyp6fu1, a cytochrome p associated with pyrethroid resistance in *Laodelphax striatellus*. *Pest Management Science*, 74(6): 1265–1271.
- EPIS S, PORRETTA D, MASTRANTONIO V, COMANDATORE F, SASSERA D, ROSSI P, CAFARCHIA C, OTRANTO D, FAVIA G, GENCHI C, BANDI C, URBANELLI S, 2014. ABC transporters are involved in defense against permethrin insecticide in the malaria vector *Anopheles stephensi*. *Parasites & Vectors*, 7(1): 349.
- FERNANDES E G, VALERIO H M, FELTRIN T, SAND S T V D, 2012. Variability in the production of extracellular enzymes by entomopathogenic fungi grown on different substrates. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(2): 827–833.
- FIGUEIRA-MANSUR J, FERREIRA P A, MANSUE J F, FRANCO T A, ALVARENGA E S L, SORGINE M H F, NEVES B C, MELO A C A, LEAL W S, MASUDA H, MOREIRA M F, 2013. Silencing of p-glycoprotein increases mortality in temephos-treated *Aedes aegypti* larvae. *Insect Molecular Biology*, 22(6): 648–658.
- FUKUTO T R, 1990. Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. *Environmental Health Perspectives*, 87: 245–254.
- GIROTTI J R, MIJAILOVSKY S J, JUÁREZ M P, 2012. Epicuticular hydrocarbons of the sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). *Physiological Entomology*, 37(3): 266–277.
- HE C, XIE W, YANG X, WANG S L, WU Q J, ZHANG Y J, 2018. Identification of glutathione transferases in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) and evidence that gstd7 helps explain the difference in insecticide susceptibility between *B. tabaci* middle east-minor Asia 1 and Mediterranean. *Insect Molecular Biology*, 27(1): 22–35.
- HE L, XUE C H, WANG J J, LI M, LU W C, ZHAO Z M, 2009. Resistance selection and biochemical mechanism of resistance to two acaricides in *Tetranychus cinnabarinus* (boidival). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 93: 47–52.
- HEMINGWAY J, HAWKES N J, MCCARROLL L, RANSON H, 2004. The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 34(7): 653–665.
- HIGGINS C F, 1992. Abc transporters: from microorganisms to man. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 8(1): 67–113.
- HOLLENSTEIN K, DAWSON R J, LOCHER K P, 2007. Structure and mechanism of ABC transporter proteins. *Current Opinion in Structural Biology*, 17(4): 412–418.
- HONG S C, QIN G, WANG W J, HU S L, FANG F J, LV Y, YU J, ZOU F F, LEI Z T, MA K, MA L, ZHOU D, SUN Y, ZHANG D H, SHEN B, ZHU C L, 2014. Identification of differentially expressed micrnas in *Culex pipiens* and their potential roles in pyrethroid resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 55: 39–50.
- HOU W, JIANG C, ZHOU X, QIAN K, WANG L, SHEN Y H, ZHAO Y, 2016. Increased expression of p-glycoprotein is associated with chlorpyrifos resistance in the german cockroach (Blattodea: Blattellidae). *Journal of Economic Entomology*

- mology*, 109(6): 2500–2505.
- ISHIKAWA T, 1992. The ATP-dependent glutathione conjugate export pump. *Trends in Biochemical Sciences*, 17: 463–468.
- KAI M, LI X, HU H, ZHOU D, SUN Y, MA L, ZHU C L, SHEN B, 2016. Pyrethroid-resistance is modulated by mir-92a by targeting cpcpr4, in *Culex pipiens pallens*. *Comparative Biochemistry & Physiology. Part B. Biochemistry and Molecular Biology*, 203: 20–24.
- KONNO Y, SCOTT J G, 1991. Biochemistry and genetics of abamectin resistance in the house fly. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 41(1): 21–28.
- KUMAER S V, FAREEDULAH M D, SUDHAKAR Y, VENKATESWARLU B, KUMAR A E, 2010. Current review on organophosphorus poisoning. *Archives of Applied Science Research*, 2(4): 199–215.
- KUMAR P A, SHARMA R P, MALIK V S, 1996. The insecticidal proteins of *Bacillus thuringiensis*// NEIDLEMAN S L, LASKIN A I. *Advances in applied microbiology*. Pittsburgh: Academic Press; 1–43.
- LABADE C P, JADHAV A R, AHIRE M, ZINJARDE S S, TAMHANE V A, 2018. Role of induced glutathione-transferase from *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) hagst-8 in detoxification of pesticides. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 147: 612–621.
- LANNING C L, FINE R L, CORCORAN J J, AYAD H M, ROSE R L, ABOU-DONIA M B, 1996. Tobacco budworm p-glycoprotein: biochemical characterization and its involvement in pesticide resistance. *Biochimica et Biophysica Acta – General Subjects*, 1291(2): 155–162.
- LEE J B, KIM H S, PARK Y, 2017. Down-regulation of a chitin synthase a gene by RNA interference enhances pathogenicity of *Beauveria bassiana* anu1 against *Spodoptera exigua* (Hubner). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 94(2): e21371.
- LEEUEWEN T V, DEMAEGHT P, OSBORNE E J, DERMAUW W, GOHLKE S, NAUEN R, GRBIC M, TIRRY L, MERZENDORFER H, CLARK R M, 2012. Population bulk segregant mapping uncovers resistance mutations and the mode of action of a chitin synthesis inhibitor in arthropods. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109: 4407–4419.
- LIANG J, WANG T, XIANG Z, HE N J, 2015. Tweedle cuticular protein bmcpt1 is involved in innate immunity by participating in recognition of *Escherichia coli*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 58: 76–88.
- LIN Y Y, JIN T, ZENG L, LU Y Y, 2012. Cuticular penetration of β -cypermethrin in insecticide-susceptible and resistant strains of *Bactrocera dorsalis*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 103(3): 189–193.
- LIU B, TIAN M, GUO Q, MA L, ZHOU D, SHEN B, SUN Y, ZHU C L, 2016. Mir-932 regulates pyrethroid resistance in *Culex pipiens pallens* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 53(5): 1205–1210.
- LIU C, XIAO Y, LI X, OPPERT B, TABASHNIK B E, WU K, 2014. Cis-mediated down-regulation of a trypsin gene associated with Bt resistance in cotton bollworm. *Scientific Reports*, 4: 7219.
- LU K, WANG Y, CHEN X, ZHANG Z C, LI Y, LI W R, ZHOU Q, 2017. Characterization and functional analysis of a carboxylesterase gene associated with chlorpyrifos resistance in *Nilaparvata lugens* (stål). *Comparative Biochemistry & Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 203: 12–20.
- MERZENDORFER H, 2014. Chapter one — ABC transporters and their role in protecting insects from pesticides and their metabolites. *Advances in Insect Physiology*, 46: 1–72.
- MITOMO H, KATO R, ITO A, KASAMATSU S, IKEGAMI Y, KII I, KUDO A, KOBATAKE E, SUMINO Y, ISHIKAWA T, 2003. A functional study on polymorphism of the ATP-binding cassette transporter abcg2: critical role of arginine-482 in methotrexate transport. *Biochemical Journal*, 373: 767–774.
- MOUSSIAN B, 2016. *Molecular model of skeletal organization and differentiation*. Berlin: Springer International Publishing.
- MURRAY C L, QUAGLIA M, AMASON J T, MORRIS C E, 1994. A putative nicotine pump at the metabolic blood-brain barrier of the tobacco hornworm. *Journal of Neurobiology*, 25(1): 23–34.
- O'BRIEN, IZURU Y, 1970. *Biochemical toxicology of insecticides*. Pittsburgh: Academic Press.
- PAN C, ZHOU Y, MO J, 2009. The clone of laccase gene and its potential function in cuticular penetration resistance of *Culex pipiens pallens*, to fenvalerate. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 93(3): 105–111.
- PAN P L, YE Y X, LOU Y H, LU J B, CHENG C, SHEN Y, MOUSSIAN B, ZHANG C X, 2018. A comprehensive omics analysis and functional survey of cuticular proteins in the brown planthopper. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115: 5175–5180.
- PESCH Y Y, RIEDEL D, BEHR M, 2017. *Drosophila* chitinase 2 is expressed in chitin producing organs for cuticle formation. *Arthropod Structure and Development*, 46(1): 4–12.
- PLAPP F J, HOYER R F, 1968. Insecticide resistance in the

- house fly: decreased rate of absorption as the mechanism of action of a gene that acts as an intensifier of resistance. *Journal of Economic Entomology*, 61(5): 1298–1303.
- POPOVIC M, ZAJA R, LONCAR J, SMITAL T, 2010. A novel ABC transporter: the first insight into zebrafish (*Danio rerio*) ABCH1. *Marine Environmental Research*, 69: 11–13.
- PORRETTA D, GARGANI M, BELLINI R, MEDICI A, PUNELLI F, URBANELLI S, 2008. Defence mechanisms against insecticides temephos and diflubenzuron in the mosquito *Aedes caspius*: the p-glycoprotein efflux pumps. *Medical and Veterinary Entomology*, 22(1): 48–54.
- PUTTER I, CONNRL J G M, PREISER F A, HAIDRI A A, RISTICH S S, DYBAS R A, 1981. Avermectins: novel insecticides, acaricides and nematicides from a soil microorganism. *Experientia*, 37(9): 963–964.
- QIU Y, TITTIRER C, WICKERTHOMAS C, GOFF G L, YOUNG S, WAJNBERG E, FRICAUX T, TAQUET N, BLOMQUIST G J, FEYEREISEN R, 2012. An insect-specific p450 oxidative decarboxylase for cuticular hydrocarbon biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109: 14858–14863.
- RIGA M, TSAKIRELI D, ILIAS A, MOUROU E, MYRIDAKIS A, STEPHANOUS E G, NAUEN R, DERMAUW W, LEEUWEN T V, PAINE M, VONTASA J, 2014. Abamectin is metabolized by *cyp392a16*, a cytochrome p450 associated with high levels of acaricide resistance in *Tetranychus urticae*. *Insect Biochemistry & Molecular Biology*, 46(1): 43–53.
- RINKEVICH F D, DU Y, DONG K, 2013. Diversity and convergence of sodium channel mutations involved in resistance to pyrethroids. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 106(3): 93–100.
- RUSSELL R J, CLAUDIANOS C, CAMPBELL P M, HORNE I, SUTHERLAND T D, OAKESHOTT J G, 2004. Two major classes of target site insensitivity mutations confer resistance to organophosphate and carbamate insecticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 79(3): 84–93.
- SCHINKEL A H, SMIT J J, VAN T O, BEIJNEN J H, WAGENNAAR E, DEEMTER L V, MOL C A A M, VAN DER VALK M A, ROBANUS-MAANDAG E C, TE RIELE H P J, BERNIS A J M, BORST P, 1994. Disruption of the mouse *mdr1a* p-glycoprotein gene leads to a deficiency in the blood-brain barrier and to increased sensitivity to drugs. *Cell*, 77: 491–502.
- SCOTT J G, 2017. Evolution of resistance to pyrethroid insecticides in *Musca domestica*. *Pest Management Science*, 73(4): 716–722.
- SHANNOU D, BLOCK M L, THOMPSON D M, BONINI M G, RONALDSON P T, BENDAYAN R, MILLER D S, 2013. Microglial activation decreases retention of the protease inhibitor saquinavir: implications for HIV treatment. *Journal of Neuroinflammation*, 10(1): 822.
- SMITH L B, KASAI, S, SCOTT J G, 2016. Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: important mosquito vectors of human diseases. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 133: 1–12.
- SNYDER M, HIRSH J, DAVIDSON N, 1981. The cuticle genes of *Drosophila*: a developmentally regulated gene cluster. *Cell*, 25(1): 165–177.
- SRINIVAS R, UDIKERI S S, JAYALAKSHMI S K, SREERAMULUA K, 2004. Identification of factors responsible for insecticide resistance in *Helicoverpa armigera*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 137(3): 261–269.
- SUN H, PU J, CHEN F, WANG J, HAN Z, 2017a. Multiple ATP-binding cassette transporters are involved in insecticide resistance in the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus*. *Insect Molecular Biology*, 26(3): 343–355.
- SUN X, GUO J, YE W, GUO Q, HUANG Y, MA L, ZHOU D, SHEN B, SUN Y, ZHU C L, 2017b. Cuticle genes *cpcpr63*, and *cpcpr47*, may confer resistance to deltamethrin in *Culex pipiens pallens*. *Parasitology Research*, 116: 2175–2179.
- TANAKA S, ENDO H, ADEGAWA S, KIKUTA S, SATO R, 2016. Functional characterization of *Bacillus thuringiensis* cry toxin receptors explain resistance in insects. *The FEBS Journal*, 283(24): 4474–4490.
- TANG G, YAO J, LI D, HE Y P, ZHU Y C, ZHANG X, ZHU K Y, 2017. Cytochrome p450 genes from the aquatic midge *Chironomus tentans*: atrazine-induced up-regulation of *ctcyp6ex3* enhanced the toxicity of chlorpyrifos. *Chemosphere*, 186: 68–77.
- TOMIZAWA M, CASIDA J E, 2005. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 45: 247–268.
- UNLAP T, 2015. *DDT, silent spring, and the rise of environmentalism: classic texts*. Washington: University of Washington Press.
- WANG H, SHI Y, WANG L, LIU S, WU S W, YANG Y H, FEYEREISEN R, WU Y, 2018a. CYP6AE gene cluster knockout in *Helicoverpa armigera* reveals role in detoxification of phytochemicals and insecticides. *Nature Communications*, 9(1): 4820.
- WANG M M, XING L Y, NI Z W, 2018b. Identification and characterization of *ace1*-type acetylcholinesterase in insecti-

- cide-resistant and -susceptible *Propylaea japonica* (Thunberg). *Bulletin of Entomological Research*, 108: 253–262.
- WANG X, PUINEAN A M, REILY A O O, WILLIAMSON M S, SMELT C L C, MILLAR N S, WU Y D, 2017. Mutations on m3 helix of *Plutella xylostella* glutamate-gated chloride channel confer unequal resistance to abamectin by two different mechanisms. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 86: 50–57.
- WOLSTENHOLME A J, ROGERS A T, 2005. Glutamate-gated chloride channels and the mode of action of the avermectin/milbemycin anthelmintics. *Parasitology*, 131(5): 85–95.
- XIAO L F, ZHANG W, JING T X, ZHANG M Y, MIAO Z Q, WEI D D, YUAN G R, WANG J J, 2017. Genome-wide identification, phylogenetic analysis, and expression profiles of ATP-binding cassette transporter genes in the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: tephritidae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 25: 1–8.
- YAMAMOTO I, CASIDA J E, 1999. *Nicotinoid insecticides and the nicotinic acetylcholine receptor*. Berlin: Springer.
- YOON K S, STRYCHARZ J P, BAEK J H, SUN W, KIM J H, KANG J S, PITTENDIRIGH B R, LEE S H, CLARK J M, 2011. Brief exposures of human body lice to sublethal amounts of ivermectin over-transcribes detoxification genes involved in tolerance. *Insect Molecular Biology*, 20(6): 687–699.
- YUN H, QIN G, SUN X, ZHANG C, XU N, XU Y, ZHOU D, SUN Y, MA L, ZHU C L, SHEN B, 2018. *Culex pipiens pallens*, cuticular protein cplcg5 participates in pyrethroid resistance by forming a rigid matrix. *Parasites & Vectors*, 11(1): 6.
- ZAMAM G J R, LANKELMA J, TELLINGEN O V, BEIJNEN J, DEKKER H, PAULUSMA C, ELFERINK R P O, BAAS F, BORST P, 1995. Role of glutathione in the export of compounds from cells by the multidrug resistance-associated protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92: 7690–7694.
- ZHANG Y L, HAN Y C, LIU B S, YANG Q, GUO H F, LIU Z W, WANG L H, FANG J C, 2017a. Resistance monitoring and cross-resistance role of cyp6cw1 between buprofezin and pymetrozine in field populations of *Laodelphax striatellus*. *Scientific Reports*, 7: 14639.
- ZHANG Y, HAN Y, YANG Q, CHUNG B K, MIYATA T, LEE S H, 2018. Resistance to cyclozaprid in *Laodelphax striatellus* is associated with altered expression of *Nicotinic acetylcholine* receptor subunits. *Pest Management Science*, 74(4): 837–843.
- ZHANG Y, YANG B, LI J, LIU M, LIU Z, 2017b. Point mutations in acetylcholinesterase 1 associated with chlorpyrifos resistance in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* stål. *Insect Molecular Biology*, 26(4): 453–460.
- ZHOU D, DUAN B, SUN Y, MA L, ZHU C L, SHEN B, 2017. Preliminary characterization of putative structural cuticular proteins in the malaria vector *Anopheles sinensis*. *Pest Management Science*, 73(12): 2519–2528.
- ZOLNERCIKS J K, ANDRESS E J, NICOLAOU M, LINTON K J, 2011. Structure of ABC transporters. *Essays in Biochemistry*, 50(1): 43–61.
- ZUO Y Y, HUANG J L, WANG J, FENG Y, HAN T T, WU Y D, YANG Y H, 2018. Knockout of a p-glycoprotein gene increases susceptibility to abamectin and emamectin benzoate in *Spodoptera exigua*. *Insect Molecular Biology*, 27(1): 36–45.

(责任编辑:郭莹)

<http://www.jbscn.org>