

姚安庆, 杨 健. 杀虫剂生物测定中的在体和离体测定技术[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(9): 125-126.

杀虫剂生物测定中的在体和离体测定技术

姚安庆, 杨 健

(长江大学农学院, 湖北荆州 434025)

摘要:提出将杀虫剂的生物测定区分为在体测定和离体测定 2 类方法, 并从行为生物学的角度论述了杀虫剂在体测定的重要意义。通过在体测定和离体测定技术的比较学分析, 提出在杀虫剂的抗性检测及其风险评估中必须采用在体测定技术。

关键词:杀虫剂; 在体测定; 离体测定; 行为生物学

中图分类号: S482.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)09-0125-02

农药的生物测定是化合物生物活性最直接、最有效的评价方法^[1-2], 生物测定的方法因不同化合物的类型及其作用特点存在较大差异。如果按测试对象生物学意义上的完整性与否可将所有的生物测定方法区分为活体测定和离体测定两大类^[3]。杀菌剂的活体和离体测定是 2 类性质完全不同的测试方法, 这是由杀菌剂存在的直接和间接 2 种完全不同的作用方式造成的。由于昆虫可以不依赖于寄主而独立生存, 因此杀虫剂的活体和离体测定只存在测试靶标是昆虫本身还是其分子靶标的差异^[4]。本文应用在体和离体测定的概念表达杀虫剂在测定过程中是否需要寄主的参与, 以区别传统的活体和离体测定。简单地讲, 杀虫剂在体测定时必须建立一个包括寄主在内的生物体系, 而不是用药剂独立地对昆虫进行处理, 以系统地表达化合物的作用模式, 其目的是为了获得杀虫剂关于作用对象生物活性的完整信息。

1 杀虫剂的在体测定与作用模式

杀虫剂从释放到与靶标相互作用的全部行为是一个连续的、动态的及多元的作用模式(即作用方式组合)。它们在昆虫及其寄主构成的生物体系中必须通过植物表面的展布、传导以及植物与昆虫间复杂的传递等行为方可完成其真正意义上的生理生化过程。决定化合物作用模式的因素至少涉及药物化学、寄主生理学以及靶标昆虫行为学等因素。因此, 尽管药物进入昆虫体内的途径只有体壁、口腔和气门 3 条通道, 但由于杀虫剂行为学差异引起的作用方式的组合模式则可以出现无数种可能的变化。根据昆虫毒理学的一般原理, 药剂进入昆虫体内的途径不同, 其穿透速率、穿透剂量、代谢方式等就会产生变化, 由此进一步表现为生物活性的差异^[5]。由此可知, 不同的化合物及其靶标生物体系构成了化合物最终进入昆虫体内的特定的作用模式, 如果生物测定技术不能再现这个模式就难以获得关于化合物真实的生物学信息。明确这一点, 对杀虫剂的抗性测定及其风险评估具有重要的意义。已有的抗性研究表明, 杀虫剂的离体测定往往会夸大或缩小

其抗性水平, 或者在抗性风险评估时得出与事实相悖的评价结论。例如, 吴益东等用点滴法和浸叶法分别测定棉铃虫对久效磷和氯氰菊酯的抗药性, 结果表明, 浸叶法即在体测定技术测得的抗性指数分别为 11.3~70.1、2.0~18.7, 点滴法测得的抗性指数分别为 2.8~9.3、20.8~34.8, 也就是说点滴法没有检测到久效磷已经存在的抗药性, 而高估了氯氰菊酯的抗药性^[6]。从化合物的作用特点和靶标昆虫行为学 2 个方面分析这一现象可知, 棉铃虫具有隐蔽取食的行为学习性, 药剂会优先通过摄食过程获得, 其抗性必与消化道及其相关的药动学过程有关。而久效磷恰好具有良好的传导性, 有利于其被昆虫从消化道摄入, 故用点滴法检测不到久效磷的抗性; 相反, 由于拟除虫菊酯类杀虫剂只有局部移动作用, 棉铃虫应更多地从体壁捕获杀虫剂, 因此点滴法测得的抗性指数倾向于高于实际的抗性水平(即忽略了口腔的摄入过程)^[5]。事实上田间条件下, 棉铃虫对 2 种药剂的抗性水平确与浸叶法所测结果相符合^[6], 也就是说浸叶法较好地模拟了杀虫剂进入棉铃虫的作用模式。再如潘文亮等报道采用点滴法测得棉蚜对溴氰菊酯抗性的倍数达 17 000 倍^[7]。但据陈年春等采用点滴法和浸叶法同样研究溴氰菊酯对棉蚜的抗性, 前者测得的 $LC_{50} > 50\ 000\ \text{mg/L}$, 后者测得的 LC_{50} 仅为 68.4 mg/L, 抗性指数相差 730 倍以上。试验表明, 浸叶法测定的抗性指数更符合田间实际抗性水平^[8]。上述研究结果均表明, 杀虫剂的在体测定技术对于准确地获取昆虫抗性信息具有重要作用。

2 杀虫剂的行为生物学原理与在体测定技术

昆虫的抗药性是在田间条件下通过药物和生物间相互作用而不断演化和发展形成的。抗性的遗传或生化机理一般可归纳为穿透抗性、代谢抗性、靶标抗性 & 行为抗性。穿透抗性和行为抗性是昆虫减少或避免摄入杀虫剂的一种行为学机制的改变^[9], 而代谢抗性和靶标抗性则是通过生化机制削弱或抵消杀虫剂的毒性表达。相对而言, 前者是一种主动的、优先的防卫机制。而这种防卫机制的形成显然是杀虫剂在靶标生物体系中的附着、转移特性和昆虫行为学特征相互作用的基础上引起后者遗传学改变的结果。一般来说, 这个过程的抗性水平可能不会很高, 但它会影响代谢抗性和靶标抗性的性质和程度^[10]。代谢和抗性靶标抗性可能是引起昆虫更高水

收稿日期: 2013-02-27

基金项目: 国家公益性行业(农业)科研专项(编号: 200903033)。

作者简介: 姚安庆(1956—), 男, 湖北天门人, 教授, 主要从事杀虫剂行为生物学与抗性测定研究。E-mail: yao990@126.com。

平抗性的原因,但是就抗性发生的顺序而言,前者显然是最早的应答过程。所以,杀虫剂对抗性的表达无论属于何种机理,均会有穿透抗性和行为抗性的参与。就抗性测定方法所表达的药剂作用模式而言,刚好就涉及到了这个过程,因此,这个作用模式与杀虫剂在自然条件下的作用模式愈接近,理论上这个测定结果愈趋近田间真实的抗性水平。

事实上,任何一个杀虫剂在自然情况下总会同时被昆虫的口腔、体壁和跗节摄入,虽然其摄入的模式会因药物化学和昆虫行为学的不同而产生变化,但从来不会如离体测定技术中以单一的方式被摄入。由昆虫抗性形成的原理可知,抗性的测定对象是一个在药剂特定的作用模式(即作用方式组合)的压力选择下遗传学改变的种群。可以肯定的是,药剂的作用模式和昆虫生物行为学习性是推动抗性演替的最原始的动力,也就是说与药剂摄入途径(是作用模式,而不是作用方式)相关的生理系统会率先产生有利于抗性的变化。这种包括“穿透抗性”和“行为学抗性”的形式决定着后续生化抗性的演替,也决定着最终的抗性水平^[10]。因此,抗性测定中化合物的作用模式对昆虫抗性信息的准确表达具有关键意义。刘永杰等分别采用点滴法、浸叶法和叶片夹毒法测定斜纹夜蛾对氯氟氰菊酯的抗性倍数,其分别为 2 765.4、365.1、34.0 倍。这个结果再次表明,在体测定得到的生物活性恰好就是体壁和消化道加权综合的结果^[11]。

因此,笔者于 2010 年提出了“杀虫剂行为生物学(穿透生物学)”的基本假设,并将其表述为:杀虫剂行为生物学是研究关于药剂在其作用的生物体系中分布、转移的模式与药物化学、寄主生理学、靶标昆虫行为学间相互关系的科学^[5]。该项假设期望通过三者间相关关系的研究,阐明决定一个化合物在生物体系(植物和昆虫)中作用模式的影响因素,从而为杀虫剂抗性测定方法提供理论依据。因此,“杀虫剂行为生物学”理论提出的首要目的就是期望能够在此基础上建立一个更科学的、统一的抗性测定试验准则,这样既有利于准确地测定昆虫的抗药性水平,也使不同地区的抗性检测结果的比较成为可能。同时,也为新化合物的正确抗性风险评估方法提供了理论指导。

3 杀虫剂的在体测定与离体测定技术

杀虫剂的在体测定技术本质上就是在寄主参与的生物体系中使用药剂处理的方法评价化合物对作用靶标的生物活性。因此,杀虫剂对昆虫的作用方式较接近于自然状况下的作用模式,从而减少人为设计的作用方式的影响,测定结果应符合化合物的理论毒力,且测定方法较离体测定技术更简单,因此更符合化合物的抗性检测及其风险评估。就现有的研究而言,在体测定技术主要包括叶片残毒法、稻茎浸渍法、昆虫-寄主喷雾法、昆虫-寄主浸渍法等。离体测定则是采

用特定的方法将杀虫剂直接处理昆虫,以获得较准确的致死剂量。离体测定技术主要包括点滴法、药膜法、内吸法、胃毒法以及熏蒸法等,离体测定技术中药剂的作用方式均为单一性,但处理的剂量通常更精确,因此较适合进行杀虫剂作用方式的比较学研究。此外,由于减少了寄主植物的参与,有利于测定技术的规范化、药剂微量量化以及测定方法的多元化,因此更适合应用在新化合物的高通量筛选体系中。但由于药剂的作用方式往往是人为设计的,因此不可能反映药剂本身所具有的作用模式,不同类型的药剂进行毒力比较时,仅依据 1 种测定方法得到的数据是不够的。这种情况除了不适用于抗性测定外,对于新化合物的筛选而言,也可能因作用方式不适合而导致化合物漏筛。

综上所述,除因毒理学研究的特别需求外,杀虫剂的毒力测定在更多的时候有必要采用在体测定技术,这样有利于杀虫剂在更符合自然的情况下发挥毒效作用。需要特别提出的是,杀虫剂的抗性测定及其风险评估必须使用在体测定技术方可获得准确的抗性信息,这是需要引起所有昆虫毒理学工作者关注的一个学术问题。

参考文献:

- [1]姚安庆. 除草剂生物测定技术与农药穿透生物学[J]. 北方园艺,2012(20):190-193.
- [2]林玉英,曾玲,陆永跃,等. 杀虫剂对橘小实蝇毒力测定方法的筛选和应用[J]. 植物保护,2011,37(4):158-162.
- [3]陈庆园,游兴林,刁朝强. 杀菌剂生物测定方法研究进展[J]. 贵州农业科学,2007,35(5):154-156.
- [4]毛黎娟,魏方林,朱国念. 利用 MTT 法测定杀虫剂对家蚕细胞的毒力[J]. 农药学报,7(1):45-48.
- [5]杨健,王真,姚安庆. 昆虫抗药性测定与杀虫剂穿透生物学[J]. 应用昆虫学报,2011,48(2):421-425.
- [6]吴益东,沈晋良,陈进,等. 用点滴法和浸叶法监测棉铃虫抗药性的比较[J]. 植物保护,1996,22(5):3-6.
- [7]潘文亮,高占林,张克锦,等. 棉蚜对集中杀虫剂抗性的监测[J]. 河北农业大学学报,1996,19(3):38-42.
- [8]陈年春,李永平,覃柳琼,等. 棉蚜抗性测定方法的研究[C]//中国化工学会农药专业委员会第八届年会论文集,北京:中国化工学会农药专业委员会,1996:124-127.
- [9]吴青君,张文吉,张友军,等. 表皮穿透和 GABAA 受体不敏感性在小菜蛾对阿维菌素抗性中的作用[J]. 昆虫学报,2002,45(3):336-342.
- [10]刘永杰,沈晋良. 甜菜夜蛾对氯氟氰菊酯抗性的表皮穿透机理[J]. 昆虫学报,2003,46(3):288-291.
- [11]刘永杰,沈晋良,杨田堂,等. 氯氟氰菊酯对斜纹夜蛾抗性和敏感种群表皮穿透比较[J]. 中国农业科学,2009,42(7):2386-2391.