

刘晓岚,田兆丰,李永丹.桃蚜乙酰胆碱酯酶基因克隆及我国多地区桃蚜 S431F 突变频率检测[J].江苏农业科学,2018,46(7):91-95.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.07.022

# 桃蚜乙酰胆碱酯酶基因克隆及我国多地区桃蚜 S431F 突变频率检测

刘晓岚<sup>1</sup>,田兆丰<sup>2</sup>,李永丹<sup>1</sup>

(1. 中国农业大学农学与生物技术学院,北京 100193; 2. 北京市农林科学院植物保护环境保护研究所,北京 100097)

**摘要:**克隆我国桃蚜乙酰胆碱酯酶基因(*ace1*、*ace2*) cDNA。我国桃蚜 *ace1* 经与 NCBI(GenBank:AF287291.1)比对未发现氨基酸替换,*ace2* 基因经 cDNA 末端快速克隆技术得到全长(NCBI 已注册的 *ace2* GenBank:AY147797.1 缺失 3' 端 182 bp),*ace2* 全长为 2 022 bp,编码 674 个氨基酸,序列已提交 NCBI(GeneBank:KJ561353)。与 NCBI(GenBank:AY147797.1)比对发现,我国桃蚜 *ace2* 除已报道的与桃蚜抗药性有关的 S431F 突变(氨基酸序列 431 位丝氨酸变为苯丙氨酸)外,在氨基酸序列 55 位处发现亮氨酸突变为丝氨酸(L55S)。利用突变检测技术,对 2015、2016 年采自我国河北、辽宁、江苏、青海等多个地区的桃蚜种群单头乙酰胆碱酯酶基因突变(S431F)频率进行检测。结果表明,2015、2016 年各种群桃蚜单头乙酰胆碱酯酶基因突变(S431F)频率均大于 85%,均已处于高水平突变,突变频率与生物测定抗性水平趋势一致。

**关键词:**桃蚜;乙酰胆碱酯酶;基因克隆;cDNA;变异检测

**中图分类号:**S436.621.2<sup>+</sup>1;Q785 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2018)07-0091-04

乙酰胆碱酯酶是有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂的作用靶标,变构乙酰胆碱酯酶是昆虫对有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂产生抗性的重要原因<sup>[1-8]</sup>。最早于希腊发现桃蚜的乙酰胆碱酯酶变构,随后在日本、美洲及欧洲部分地区也有类似报道<sup>[9-13]</sup>。

监测桃蚜抗药性主要从室内毒力测定、生物化学测定及分子水平检测等 3 个方面进行,分子水平检测是了解桃蚜田间种群抗药性的重要手段<sup>[14-15]</sup>。昆虫抗药性的形成是药剂长期对昆虫基因选择的过程,昆虫抗性基因的研究也是研究昆虫抗药性的重要部分<sup>[16-15]</sup>。大量使用有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂导致各地桃蚜对这 2 种药剂分别产生了不同程度的抗药性<sup>[18-21]</sup>,1994 年 Moores 等克隆了野生型桃蚜乙酰胆碱酯酶基因,公布了敏感型乙酰胆碱酯酶基因<sup>[9-10]</sup>,比较敏感与抗性桃蚜种群 *ace1* 和 *ace2* 的 cDNA 编码区发现,二者乙酰胆碱酯酶基因在活性中心存在氨基酸变异(S431F),并推测该突变与桃蚜对抗蚜威抗性相关<sup>[22]</sup>。本研究克隆与桃蚜抗药性有关的乙酰胆碱酯酶基因 *ace2* 全长并进行注册,丰富了基因 GenBank。对 2015、2016 年采自我国多地区的桃蚜田间种群进行乙酰胆碱酯酶基因的突变(S431F)检测及突变频率的统计,为了解我国各地桃蚜乙酰胆碱酯酶基因变异及抗药性情况提供依据。

## 1 试验材料

### 1.1 供试昆虫采集与饲养

收稿日期:2017-09-19

基金项目:国家科技支撑计划(编号:2012BAD19B01)。

作者简介:刘晓岚(1988—),女,山东青岛人,硕士,科研助理,从事昆虫生理毒理研究。E-mail:lxldj@163.com。

通信作者:李永丹,博士,副教授,硕士生导师,从事害虫综合治理研究。E-mail:yongdanli@cau.edu.cn。

于 2014 年在河北省定州市大岳镇的温室菜田采集用于乙酰胆碱酯酶基因 cDNA 克隆的桃蚜敏感种群,在中国农业大学昆虫生理毒理实验室针对抗蚜威反选育 30 代以上,致死中浓度(lethal concentration 50,简称 LC<sub>50</sub>)为 98.17 mg/L。

乙酰胆碱酯酶基因突变频率检测供试桃蚜种群分别于 2015 年和 2016 年的 5—11 月采自我国河北、辽宁、江苏、青海等多个地区的田间或温室,在中国农业大学昆虫生理毒理实验室采用蛭石培育的萝卜苗饲养,温度为 23~25℃,相对湿度为 60%,光—暗周期为 16 h—8 h,均一化饲养 1 代以上用于生物测定。

### 1.2 试验试剂

LaTaq 聚合酶、反转录试剂盒、DNA 回收试剂盒、dNTP Mixture、rTaq 聚合酶、DNA Marker DL2000、X-gal(5-溴-4-氯-3-吡啶-β-D-半乳糖苷)、异丙基-β-D-硫代吡喃半乳糖苷(isopropyl β-D-thiogalactoside,简称 IPTG)、载体 pGEM-T easy 连接试剂盒等,购自日本 TaKaRa 公司、美国 Promega 公司;Trizol 试剂盒购自美国 Invitrogen 公司;DNA 快速回收试剂盒、DH5α 感受态细胞均购自博迈德生物技术公司。

### 1.3 主要试验仪器

5417C/R 型台式高速冷冻离心机、PCR 仪均购自德国 Eppendorf 公司;mini-sub cell GT 型电泳槽、power/PAC 3000 型电泳仪均购自美国 Bio-Rad 公司;紫外成像仪购自 Kodar 公司。

## 2 试验方法

### 2.1 乙酰胆碱酯酶基因(*ace1*、*ace2*)克隆

2.1.1 引物设计 根据桃蚜乙酰胆碱酯酶基因(*ace1*)序列(GenBank:AF287291.1)、桃蚜乙酰胆碱酯酶基因(*ace2*)不完

全序列 (GenBank: AY147797.1 缺失 3'端 182 bp), Primer 5 软件设计引物以扩增我国桃蚜 *ace1* 全长和 *ace2* 已知片段; 采用 cDNA 末端快速克隆技术 (rapid - amplification of cDNA ends, 简称 RACE) 扩增得到 *ace2* 基因 3'端, 经拼接得到 *ace2* 基因全长序列, 引物序列见表 1, 引物均由 Invitrogen 公司合成。

表 1 乙酰胆碱酯酶基因 ( <i>ace1</i> 、 <i>ace2</i> ) cDNA 编码区克隆引物	
引物	序列(5'→3')
<i>ace1</i> Sense primer	ACAAGTGCCTCGTCAAGTCC
<i>ace1</i> Anti - sense primer	TTATAACAATCCATGTGCCG
3'RACE UPM(试剂盒自带)	CTAATACGACTCACTATAGGGC
3'RACE Anti - ense primer( <i>ace2</i> )	GGTCGGCGACTATCAGTTTACATGC
3'RACE NUP(试剂盒自带)	AAGCAGTGGTATCAACGCAGAGT
3'RACE Nested primer( <i>ace2</i> )	AATGGACAGGGGTGATGCACGGTG
<i>ace2</i> 全长 Sense primer	CCACTGATTGTAGTTTGA
<i>ace2</i> 全长 Anti - sense primer	GCTTAAGACGAATTAATAAC

2.1.2 总 RNA 的提取 总 RNA 的提取按 Trizol 提取试剂盒说明书操作。取约 0.3 mL 无翅成蚜, 加入约 1 mL Trizol, 充分匀浆; 加三氯甲烷振荡、静置后离心; 上清液加异丙醇脱水离心, 总 RNA 沉淀; RNA 沉淀以 75% 乙醇清洗 2 次, 干燥后加 20  $\mu$ L 无酶水, 溶解; 置于 -80  $^{\circ}$ C 条件下保存; 用微量分光光度计测定所提取总 RNA 的浓度。

2.1.3 反转录 反转录采用 TaKaRa 生物公司反转录试剂盒, 操作步骤参照说明书。无酶 PCR 管加总 RNA (<1  $\mu$ g/ $\mu$ L)、Oligo(dT)12~18、RNase free H<sub>2</sub>O, 在 70  $^{\circ}$ C 条件下保温 10 min, 迅速冰浴。加 5  $\times$  M - MLV buffer、dNTP Mixture、RNase Inhibitor、RNase M - MLV、RNase free H<sub>2</sub>O 在 42  $^{\circ}$ C 条件下保温 1 h, 70  $^{\circ}$ C 条件下终止反应, 冰上冷却, -20  $^{\circ}$ C 条件下保存备用。用微量分光光度计测定 cDNA 浓度。

2.1.4 PCR 扩增 PCR 管加入 10  $\times$  PCR buffer、dNTP Mixture、Sense primer、Anti - sense primer、cDNA、La Taq DNA polymerase、ddH<sub>2</sub>O。反应条件: 94  $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94  $^{\circ}$ C 变性 30 s, 51  $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 2 min, 35 个循环; 72  $^{\circ}$ C 继续延伸 10 min。1% 的琼脂糖凝胶电泳紫外凝胶成像仪检测扩增产物。

2.1.4 DNA 回收、连接及转化 回收 DNA 条带, 加入胶液溶解; 吸附柱回收。1% 的琼脂糖凝胶电泳检测回收效率, 回收产物置于 -20  $^{\circ}$ C 条件下备用。PCR 纯化产物与 PGEM - T easy 载体连接。转化 DH5 $\alpha$  感受态细胞。LB (lysogeny broth;

含氨苄青霉素、40  $\mu$ L 的 X - gal 和 4  $\mu$ L 的 IPTG) 培养基平皿涂布菌液, 倒置 37  $^{\circ}$ C 条件下培养; 蓝白斑筛选, 挑白斑单菌落到液体 LB 培养基 (含氨苄青霉素), 振荡培养 18 h。PCR 检测目的 cDNA。

2.1.5 *ace2* 基因 3'末端快速扩增 采用 Clontech 公司 RACE 反转录试剂盒, 按说明书的步骤进行操作。

PCR 管 I 中生成的反应体系: 2  $\mu$ L 5  $\times$  First - Stand buffer、1  $\mu$ L DTT (Dithiothreitol)、1  $\mu$ L dNTP Mix、0.25  $\mu$ L RNase 抑制剂、1  $\mu$ L 反转录酶、共 5.25  $\mu$ L, 备用。PCR 管 II 中生成如下反应体系: 1  $\mu$ L 总 RNA 模板、1  $\mu$ L 3' - RACE CDS Primer A、2.75  $\mu$ L RNase free H<sub>2</sub>O、共 4.75  $\mu$ L, 置于 72  $^{\circ}$ C, 3 min; 42  $^{\circ}$ C, 2 min。将 PCR 管 I 反应体系加入 PCR 管 II 中, 总体积 10  $\mu$ L 置于 42  $^{\circ}$ C, 90 min; 70  $^{\circ}$ C, 10 min。产物为 3' - RACE - Ready cDNA。

Outer - PCR 扩增体系: 2.5  $\mu$ L 10  $\times$  Advantage 2 PCR buffer、1  $\mu$ L dNTP Mixture (10 mmol/L each)、1  $\mu$ L 3'RACE UPM (Universal Primer A Mix)、1  $\mu$ L 3'RACE Anti - ense primer(*ace2*)、1  $\mu$ L 3' - RACE - Ready cDNA、0.5  $\mu$ L 50  $\times$  Advantage 2 Polymerase Mix、18  $\mu$ L PCR - Grade Water, 共 25  $\mu$ L, PCR (94  $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94  $^{\circ}$ C 变性 30 s, 55  $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 40 s, 35 个循环; 72  $^{\circ}$ C 继续延伸 10 min) 扩增。

1% 的琼脂糖凝胶电泳检测。若无目的扩增产物可以 Outer - PCR 扩增产物为模板, 引物 3'RACE NUP、3'RACE Nested primer(*ace2*) 进行 Inner - PCR 反应 PCR。产物回收、连接、转化及菌液检测同“2.1.4”节。

2.2 乙酰胆碱酯酶基因突变频率检测

采用 DNAVzol 试剂盒提取单头无翅成蚜 DNA。将 2015、2016 年采自我国河北、辽宁、江苏、青海等多个地区的桃蚜田间种群, 各提取 30 个有效 DNA。

选取健康单头无翅成蚜加入 20  $\mu$ L DNAVzol, 充分研磨; 离心, 取上清液, 加无水乙醇脱水沉淀, 75% 乙醇漂洗 2 次, DNA 干燥后加适量双蒸水溶解, 琼脂糖电泳检测浓度。

根据桃蚜乙酰胆碱酯酶基因 (*ace2*) 序列 (GenBank: AY147797.1), Primer 5 引物设计软件设计突变位点 S431F 附近上下游引物 (sense Primer TTTCTGGGTCATTGGGCTG; Anti - sense Primer AGCGCAATAGTTCAACAATG) 见图 1, 引物由 Invitrogen 公司合成。

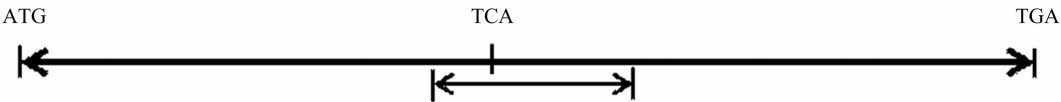


图1 桃蚜乙酰胆碱酯酶 *ace2* 基因 S431F 突变位点位置

以提取的各田间种群 DNA 为模板分别进行 PCR 扩增, 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 扩增条带 (图 2)。将清晰的单一条带样品送于 Invitrogen 公司进行测序。

2.3 数据分析

数据分析及作图采用 SigmaPlot 10.0 软件。

3 结果与分析

3.1 序列分析

克隆得到的 *ace1* 序列与 NCBI 中序列 (GenBank :

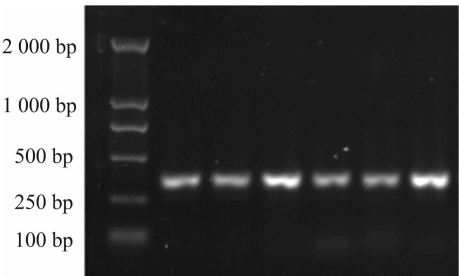


图2 桃蚜 S431F 突变电泳检测

AF287291.1) 进行比对后可完全匹配, *ace1* 开放阅读框架 (open reading frame, 简称 ORF) 全长为 1 995 bp, 编码 665 个氨基酸。

采用 cDNA 末端快速克隆技术 (RACE) 根据 NCBI 中 *ace2* 片段序列 (GenBank: AY147797.1 *ace2* 基因序列缺失 3' 端 182 bp) 得 *ace2* 基因 3' 端 (图 3), 拼接后得到 *ace2* 基因 ORF 全长序列, ORF 全长为 2 022 bp, 编码 674 个氨基酸, *ace2* 全长序列已提交 NCBI (GeneBank: KJ561353)。

```

1801 .....CTATCGCGTGAAGACTAGA
601 ..... S I A C K T R
1861 CAATGTGCTTTTGGAAAACTACGTTCTGATCTTATGCCATTCAAGAGTATGAAG
621 Q C A F W K N Y V P D L M A I S K S M K
1921 TCTGACAAAACTGTACAACCATAAGTGGAGGACCAAACTTACATGATTGAGTTATCG
641 S D K N C T T I S G G T K T Y M I E L S
1981 CTTTGGACAATTGTGATGACAACTGCCGTTTGTATGTTATGA
661 L W T I V M T T A V L M L *

```

图中省略号为省略 GenBank: AY147797.1 已注册的 *ace2* 基因序列 40 bp (13 氨基酸)

图3 *ace2* 核苷酸 3' 端序列及氨基酸序列

```

1 ATGGACCAGTGGTTGCTGTGGTTTAGCTACTTAGTAGCTTCTACTTATGGACTTTCATTG
1 M D Q C W L L W F S Y L V A S T Y G L S L
61 CGCCACGCCAGGCACCAAGCGTTGGGACCAACTGCCGAAGAAATATGGAACACAG
21 R H A R H Q S V G T P T A E E I L E P Q
121 ATTCTAATTGAAGACCGATCATGTATTACAGACAACGAGCGTTAGATATGTTGCCAA (TCA)
41 I L I E D T D H V F R Q R A L D M F A Q (S)
:
961 AATCAAGCCATCATGGAATCAGGATCCTCAACAGCACTTGGGCAATTTTATCAAGAGAA (GCG)
321 N Q A I M E S G S S T A P W A I L S R E (A)
1021 GAGAGTTATAGTAGAGGACTTAGGCTGGCAAGGGCAATGGGTGTCCAGATGACAGAAAC
341 E S Y S R G L R L A R A M G C P D D R N
1081 GAAATACATAAAACGGTCGAGTGCTTAAGGAAGGCAATAGTTCAACAATGGTCGAGAAA
361 E I H K T V E C L R K A N S S T M V E K
1141 GAATGGGACCAGTGGCTATATGTTTTTCCCGTTTGTCCCGTGGTGGATGGCGCTTTT (GTA)
381 E W D H V A I C F F P F V P V V D G A F (V)
1201 CTTGACGATTATCCTCAAAAATCGCTGTCAACAACAATTTAAAAAACGAATATACTC
401 L D D Y P Q K S L S T N N F K K T N I L
1261 ATGGGTAGTAACCCGAAGAGGGTTACTATTCATATTTTATTATTGACGGAGCTTTT (TTT)
421 M G S N S E E G Y Y S I F Y Y L T E L F (F)
:
1981 CTTTGGACAATTGTGATGACAACTGCCGTTTGTATGTTATGA
661 L W T I V M T T A V L M L *

```

图中省略号为与 GenBank: AY147797.1 注册的 *ace2* 基因的相同序列; 阴影部分为突变的碱基和氨基酸;

括号内为 GenBank: AY147797.1 注册的 *ace2* 基因碱基和氨基酸

图4 我国桃蚜敏感品系乙酰胆碱酯酶基因 *ace2* 变异位点

### 3.2 2015、2016 年桃蚜田间种群乙酰胆碱酯酶基因突变频率

2015 年我国桃蚜 S431F 突变均已达到较高水平, 在检测的 15 个种群中, 有 10 个种群被检测个体达到 100% 突变, 另外 5 个种群突变频率也在 90% 左右 (图 5)。其中, 河北宽城种群突变频率最低, 为 86.67%, 其次为辽宁大连种群, 突变频率为 90.00%, 这与各种群抗蚜威抗性生物测定及乙酰胆碱酯酶对抗蚜威敏感度测定结果 (待发表) 相一致, 其他各地种群间突变频率不存在显著差异。

在 2016 年检测的 16 个种群中, 有 11 个种群 S431F 突变频率达到 100%, 另外 5 个种群突变频率也在 90% 左右 (图 6)。其中, 河北康保、上海金山和四川井研种群突变频率较低, 依次为 86.67%、86.67%、93.55%, 与生物测定、敏感度测定结果 (待发表) 基本一致。其他各种种群间突变频率也不

设计 *ace2* 全长引物, 扩增桃蚜敏感品系 *ace2* 基因 (图 2)。敏感种群乙酰胆碱酯酶基因 (*ace2*) 序列与 NCBI 中序列 (GenBank: AY147797.1) 对比发现, 4 个核苷酸序列发生突变, 其中 2 个为无义突变 (GCA - GCG、GTG - GTA), 另外 2 个为有义突变 (TTA - TCA、TCA - TTT), 氨基酸 55 位的亮氨酸变为丝氨酸 (L55S) 及 431 位的丝氨酸变为苯丙氨酸 (S431F) (图 4), 其中 S431F 已报道与桃蚜不敏感 AChE 抗性有关<sup>[22]</sup>。

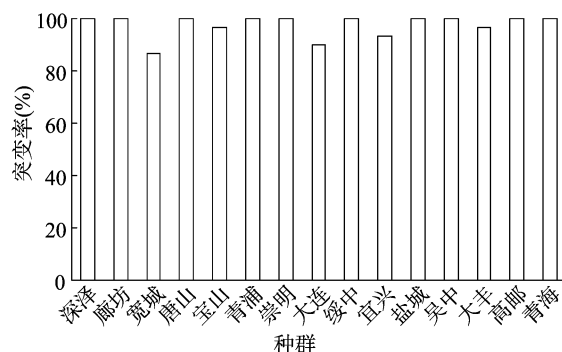


图5 2015 年我国各地桃蚜乙酰胆碱酯酶基因 (*ace2*) S431F 突变频率

存在明显差异, 说明与对抗蚜威生物测定及乙酰胆碱酯酶敏感度测定结果相关性较低。

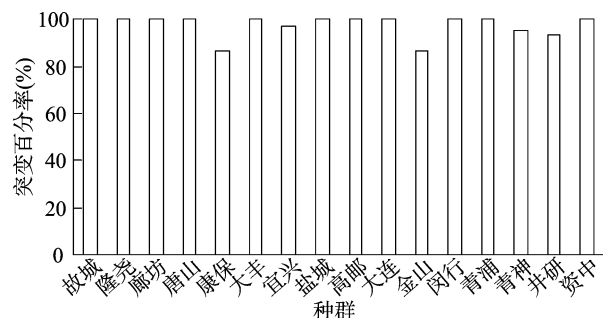


图6 2016 年我国各地桃蚜乙酰胆碱酯酶基因(*ace2*) S431F 突变频率

### 3.3 乙酰胆碱酯酶突变频率与抗药性关系的验证

为验证乙酰胆碱酯酶基因突变与抗蚜威抗性的关系,以抗蚜威  $LC_{10}$ 、 $LC_{50}$ 、 $LC_{80}$  处理筛选的敏感品系桃蚜种群,*ace2* 基因 S431F 突变个体数及总检测数见图 7,随着处理药剂浓度的升高,发生突变的个体频率也随之升高(图 8)。

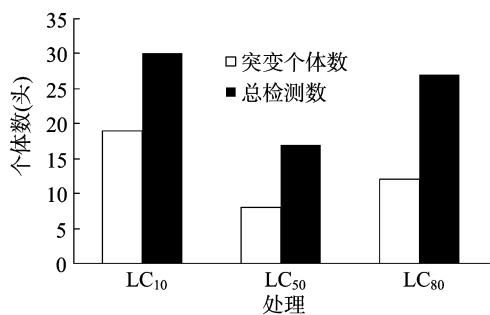


图7 抗蚜威处理敏感品系桃蚜 S431F 突变个体数及总检测数

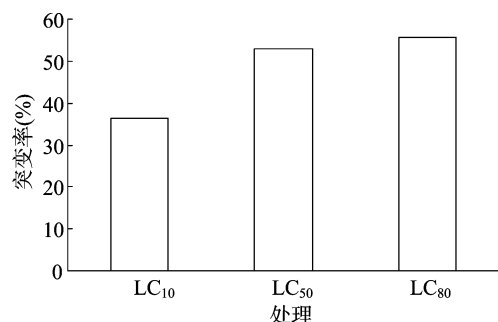


图8 抗蚜威处理敏感品系桃蚜 S431F 突变频率

## 4 讨论

乙酰胆碱酯酶(AChE)基因包括 *ace1*、*ace2*,在 AChE 活性中心影响 AChE 催化活性及对有机磷和氨基甲酸酯类药剂抗性发展中,*ace2* 比 *ace1* 作用更显著<sup>[22]</sup>。本试验克隆的敏感品系桃蚜(笔者所在实验室筛选)AChE 基因 *ace1*、*ace2* 经比对,*ace1* 序列与 NCBI 中序列(GenBank: AF287291.1)可完全匹配。*ace2* 序列与 NCBI 中序列(GenBank: AY147797.1)对比发现有 2 个氨基酸有义突变(L55S、S431F),可见筛选的敏感品系桃蚜( $LC_{50}$  为 98.17 mg/L)也存在 AChE 基因突变,这与 2015 年河北宽城种群( $LC_{50}$  为 76.37 mg/L)对抗蚜威抗性比敏感种群低这一生测结果(待发表)一致。同时进一步确定 *ace2* 与对有机磷和氨基甲酸酯类药剂抗性相关。

2015、2016 年分别检测出 15、16 个桃蚜田间种群乙酰胆碱酯酶基因突变(S431F)频率,分别有超过 66% 和超过 68%

的种群被检个体 100% 发生突变,说明我国大部分地区桃蚜基因突变频率已达到较高水平,这与 2015、2016 年种群对抗蚜威产生高水抗性结果一致。但乙酰胆碱酯酶对抗蚜威抗性除 S431F 突变外,可能还有其他原因如检测到的 *ace2* L55S 突变等,还有待于进一步研究。

抗蚜威敏感品系 3 个不同生测剂量( $LC_{10}$ 、 $LC_{50}$ 、 $LC_{80}$ )处理桃蚜混合种群,随着处理剂量的增高,存活桃蚜个体乙酰胆碱酯酶基因 S431F 突变频率也随之增高,结果进一步验证了对抗蚜威产生抗性乙酰胆碱酯酶基因 S431F 突变相关。

## 参考文献:

- [1] Fournier D, Mutero A. Modification of acetylcholinesterase as a mechanism of resistance to insecticides [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology, 1994, 108(1): 19 - 31.
- [2] Fournier D. Mutations of acetylcholinesterase which confer insecticide resistance in insect populations [J]. Chemico - Biological Interactions, 2005, 157/158: 257 - 261.
- [3] 李显春,王荫长. 昆虫抗药性靶标不敏感机制的研究进展[J]. 昆虫学报, 1998, 41(4): 417 - 422.
- [4] 林建国,张传溪,唐振华. 与昆虫抗药性相关的乙酰胆碱酯酶基因突变研究进展[J]. 农药学报, 2005, 7(1): 1 - 6.
- [5] Li F, Han Z J. Mutations in acetylcholinesterase associated with insecticide resistance in the cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2004, 34(4): 397 - 405.
- [6] Chen Z, Newcomb R, Forbes E, et al. The acetylcholinesterase gene and organophosphorus resistance in the Australian sheep blowfly, *Lucilia cuprina* [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2001, 31(8): 805 - 816.
- [7] Anazawa Y, Tomita T, Aiki Y, et al. Sequence of a cDNA encoding acetylcholinesterase from susceptible and resistant two - spotted spider mite, *Tetranychus urticae* [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2003, 33(5): 509 - 514.
- [8] Russell R J, Claudianos C, Campbell P M, et al. Two major classes of target site insensitivity mutations confer resistance to organophosphate and carbamate insecticides [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2004, 79(3): 84 - 93.
- [9] Moores G D, Devine G J, Devonshire A L. Insecticide - insensitive acetylcholinesterase can enhance esterase - based resistance in *Myzus persicae* and *Myzus nicotianae* [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 1994, 49(2): 114 - 120.
- [10] Moores G D, Devine G J, Devonshire A L. Insecticide resistance due to insensitive acetylcholinesterase in *Myzus persicae* and *Myzus nicotianae* [C]// Brighton Crop Protection Conference: pests and diseases. England: British Crop Protection Council, 1994, 3(3): 413 - 418.
- [11] Foster S P, Denholm I, Harling Z K, et al. Intensification of insecticide resistance in UK field populations of the peach - potato aphid, *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) in 1996 [J]. Bulletin of Entomological Research, 1998, 88(2): 127 - 130.
- [12] Foster S P, Devonshire A L. Field - simulator study of insecticide resistance conferred by esterase -, MACE - and kdr - based mechanisms in the peach - potato aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) [J]. Pesticide Management Science, 1999, 55(8): 810 - 814.

陈莲水,袁凤辉,饶 军,等. 江西永修云居山有机春茶园蜘蛛多样性的调查与分析[J]. 江苏农业科学,2018,46(7):95-99.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.07.023

# 江西永修云居山有机春茶园蜘蛛多样性的调查与分析

陈莲水,袁凤辉,饶 军,肖本芳,张 丽,韩小燕  
(东华理工大学生物系,江西南昌 330013)

**摘要:**为探讨江西永修云居山有机春茶园害虫较少和春茶品质优异的原因,将该茶场分成 3 个园区 9 个采集点,采用扫网和拍网法对蜘蛛的分布进行调查并对群落多样性指数与相似度进行分析。结果表明,共有 14 科 37 属 49 种蜘蛛,其中有 4 个江西新记录种、13 个未确定种和 1 个雄性新发现种。群落中有 1 种枝间结网型、1 种地面游猎型和 3 种叶面游猎型优势种,各区有 1 个特定物种。说明繁殖期成熟雌蛛较多而时温偏低是昆虫相有限的主要原因。各园区周边地形地貌和植被类型与状况、水气光照条件和管理模式、昆虫相与人工干扰等是该茶园蜘蛛群落结构及优势种群形成的重要因素。

**关键词:**江西云居山;有机春茶园;蜘蛛;资源多样性;优势种群;环境指示作用;新记录种

**中图分类号:**S435.711;Q959.226 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2018)07-0095-05

云居山,位于江西省九江市永修县西南部,原名欧山,是国家重点风景名胜区,其山顶的真如寺是佛教禅宗(曹洞宗)的发祥地,总面积为  $2.165 \times 10^4 \text{ hm}^2$ ,主峰海拔为 969.7 m,属宗教游览、休闲观光的山岳型自然风景名胜区,被人们誉为“云岭甲江右,名高四百洲”“冠世绝境,天上云居”<sup>[1]</sup>。改革开放以来,云山集团充分利用云居山得天独厚的自然资源优势,积极引导农民发展绿茶产业,以建设标准茶园为抓手,以

深山原生态有机绿茶的种植、生产、加工和销售为主,在云居山腰涧建立  $170 \text{ hm}^2$  绿色有机茶园基地,生产的“云居牌”茶叶获得国家食品生产许可证和有机食品证书,每年春茶更是茶中精品,产值翻番<sup>[2]</sup>。为探讨云居山春茶园茶叶虫口率低、品质高的害虫-天敌和谐相处的生态机制,笔者主要对该有机茶园春季的蜘蛛天敌优势种群进行调查与分析,旨在为有机茶园等建设和害虫综合管理提供参考依据。

蜘蛛隶属节肢动物门 Arthropoda 蛛形纲 Arachnida 蜘蛛目 Araneae,被称为“八足无翅,善于纺丝”的节肢动物,是农林害虫的捕食性天敌,其性情凶猛,全为肉食性,且专捕活虫;具有分布广、种类多、数量大、捕食能力强、食量大、繁殖快、寿命长、居留较稳定等特点,已成为农林生态系统中抑制害虫的重要组成部分<sup>[3]</sup>。以蛛治虫,扼制农药滥用,可以减少环境污染,保持生态系统平衡<sup>[4-5]</sup>。研究蜘蛛的多样性对于揭示

收稿日期:2016-11-12

基金项目:国家自然科学基金(编号:31201718);江西省自然科学基金(编号:20142BAB204011);江西省大学生创新创业训练计划(编号:201410405010)。

作者简介:陈莲水(1965—),男,江西临川人,硕士,副教授,从事蛛形及生态学研究。Tel:(0791)83896550;E-mail:dhlianshui81@163.com。

[13] Srigiriraju L, Semtner P J, Anderson T D, et al. Monitoring for MACE resistance in the tobacco-adapted form of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) in the eastern United States[J]. Crop protection, 2010, 29(2):197-202.

[14] Mutero A, Pralavorio M, Bride J M, et al. Resistance-associated point mutations in insecticide-insensitive acetylcholinesterase[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1994, 91(13):5922-5926.

[15] Devonshire A L, Byrne F J, Moores G D, et al. Biochemical and molecular characterisation of insecticide insensitive acetylcholinesterase in resistant insects[M]// Doctor B P, Taylor P, Quinn D M, et al. Structure and function of cholinesterases and related proteins. Boston:Springer, 1998:491-496.

[16] Field L M, Anderson A P, Denholm L, et al. Use of biochemical and DNA diagnostics for characterising multiple mechanisms of insecticide resistance in the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Sulzer)[J]. Pesticide Management Science, 1997, 51(3):283-289.

[17] 柏 建,周小毛,方 勇. 桃蚜抗药性监测[J]. 农药研究与应

用, 2009(6):27-29.

[18] Foster S P, Denholm I, Devonshire A L. Field-simulator studies of insecticide resistance to dimethylcarbamates and pyrethroids conferred by metabolic- and target site-based mechanisms in peach-potato aphids, *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae)[J]. Pest Management Science, 2002, 58(8):811-816.

[19] Sawicki R M, Rice A D. Response of susceptible and resistant peach-potato aphids *Myzus persicae* (Sulzer) to insecticides in leaf-dip bioassays[J]. Pesticide Management Science, 1978, 9(6):513-516.

[20] 宫亚军,王泽华,石宝才,等. 北京地区不同桃蚜种群的抗药性研究[J]. 中国农业科学, 2011, 44(21):4385-4394.

[21] 顾春波,王开运,辛海军,等. 我国中部烟区(桃)蚜[*Myzus persicae* (Sulzer)]的抗药性研究[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2007, 38(1):11-14.

[22] Nabeshima T, Kozaki T, Tomita T, et al. An amino acid substitution on the second acetylcholinesterase in the pirimicarb-resistant strains of the peach potato aphid, *Myzus persicae*[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2003, 307(1):15-22.