

南黃薊馬對不同作用機制殺蟲劑的感受性與抗性機制分析

顏美琪、楊永裕*

國立屏東科技大學植物醫學系 91201屏東縣內埔鄉老埤村學府路1號

* 通訊作者，電子郵件：nasuta@mail2000.com.tw

摘要

顏美琪、楊永裕*。2018。南黃薊馬對不同作用機制殺蟲劑的感受性與抗性機制分析。植物醫學60(2): 7-14。

南黃薊馬 (*Thrips palmi*) 為台灣瓜類及茄子上重要害蟲，目前施用殺蟲劑是主要防治方式。本研究為瞭解台灣地區南黃薊馬對不同作用機制殺蟲劑的感受性，進行三個地區之南黃薊馬對第滅寧、可尼丁、滅賜克、克凡派及賜諾特等五種不同作用機制藥劑的感受性分析。結果顯示第滅寧及可尼丁對南黃薊馬的LC90皆遠大於植保手冊上登記的濃度，由此推論試驗地區的南黃薊馬對除蟲菊類和新尼古丁類殺蟲劑可能已產生抗性。生化代謝解毒是昆蟲產生抗藥性的主要機制之一，利用添加Piperonyl butoxide (PBO)、Diethyl maleate (DEM)、Triphenyl phosphate (TPP) 等三種協力劑進行測試，結果顯示在第滅寧及可尼丁中添加PBO後協力比最低達6倍以上，因此推測細胞色素P450 (cytochrome P450, CYP450) 參與南黃薊馬對第滅寧及可尼丁的解毒作用；第滅寧添加TPP後南黃薊馬的協力比最低4倍，因此推測酯酶 (Esterases, EST) 參與南黃薊馬對第滅寧的解毒作用。當第滅寧同時添加PBO及TPP後，CYP450及EST 活性皆有下降的趨勢，顯示這兩類酵素同時參與南黃薊馬對第滅寧的解毒作用。另一方面，本研究解析三地區南黃薊馬族群中鈉離子通道 (Sodium channel) 的DNA 序列，在所測試的樣本中均帶有 (T929I) 氨基酸的點突變序列，推測高頻率的T929I點突變可能是南黃薊馬對第滅寧產生高抗性的主要原因。

關鍵詞：南黃薊馬、抗性機制、代謝解毒、協力劑、點突變

緒言

南黃薊馬 (*Thrips palmi* Karny) 在分類上屬於繸翅目 (Thysanoptera)、錐尾亞目 (Terebrantia)，是葫蘆科和茄科植物的雜食性害蟲，主要分佈在東南亞、台灣、中國大陸及日本等地。南黃薊馬成蟲及幼蟲均會為害植株之花、果、葉及芽等部位，同時也是傳播番茄斑萎病毒 (Tomato spotted wilt virus,

TSWV) 的重要媒介昆蟲⁽¹²⁾。為了快速有效控制薊馬及其傳播植物病毒的速率，台灣農民主要仍以殺蟲劑防治南黃薊馬，但因為大量使用殺蟲劑而導致南黃薊馬快速產生抗藥性，造成殺蟲劑對南黃薊馬防治效果下降或失去防治效果^(8,9)。

陳 (2000)⁽⁹⁾ 測試 9 種藥劑對南黃薊馬之效果，結果以賽洛寧 (cyhalothrin) 乳劑防治效果最佳；許等 (2002)⁽⁸⁾ 測試十一種登記藥劑對台灣南黃薊馬之感受性分析，結果發現以滅賜克 (methiocarb) 的致死率達 95% 以上，而第滅寧 (deltamethrin)、必芬松 (pyridaphenthion) 及賽洛寧致死率皆不到 50%。蔡 (2009)⁽¹³⁾ 調查高屏地區五個茄園內南黃薊馬對益達胺 (imidacloprid)、覆滅蟎 (formetanate) 及第滅寧三種藥劑之感受性，結果顯示藥效依序為益達胺 (LC₅₀: 7.15~20.79)、覆滅蟎 (LC₅₀: 38.17~206.75)、第滅寧 (LC₅₀: 130.66~>1000)。而屏東市歸來地區的南黃薊馬與參考品系 (泰武鄉) 的南黃薊馬比較，歸來地區南黃薊馬對第滅寧的抗性比達 17.53 倍，顯示南黃薊馬對第滅寧已經產生抗藥性。

在抗性機制方面，研究顯示單加氧酶 (monooxygenase) 的細胞色素P450 (cytochrome P450, CYP450) 常與昆蟲抗藥性的產生有關⁽⁷⁾。Bao and Sonoda (2012)⁽¹³⁾ 利用浸葉藥膜法比較南黃薊馬的日本高知品系 (KC) 及岡山品系 (OK) 對賽滅寧 (cypermethrin) 的感受性，為證實南黃薊馬岡山品系 (OK) 抗賽滅寧與細胞色素 P450 有關，在殺蟲劑中添加 PBO (piperonyl butoxide) 後記錄 LC₅₀ 的變化。結果發現單獨使用賽滅寧時 LC₅₀ 為 3922.9 ppm，添加協力劑 PBO 後 LC₅₀ 降至 278.1 ppm (協力比高達14.1 倍)，顯示岡山品系南黃薊馬對賽滅寧的抗性與細胞色素 P450有關。國內也有報告指出南黃薊馬對除蟲菊類殺蟲劑的抗性與細胞色素 P450 有關，蔡 (2009)⁽¹³⁾ 分析三個地區的南黃薊馬 (屏東泰武、海豐及歸來) 對第滅寧之感受性，在添加 PBO 後殺蟲劑對海豐及歸來兩地區南黃薊馬之藥效協力比為 18.71 與 21.77，顯示南黃薊馬對第滅寧產生抗藥性與細胞色素 P450 有關。

除了生化抗性之外，當昆蟲體內殺蟲劑的作用點結構發生改變時，將導致藥劑無法與作用點接合使藥效降低，亦是昆蟲產生抗藥性的機制之一。目前的研究發現，鈉離子通道

(Sodium channel) 的突變可造成薊馬對除蟲菊類藥劑的抗性。在許多抗除蟲菊類藥劑的昆蟲中發現鈉離子通道有多個位置因點突變而產生改變，其中第 918、929 及 1014 是三個常發生改變的氨基酸位置⁽¹⁸⁾。Toda and Morishita (2009)⁽²¹⁾ 分析薊馬 (*Thrip tabaci*) 的抗賽滅寧品系與感性品系，將核苷酸序列定序後以感性品系的序列做對照，發現 M918T、T929I 及 L1014F 這三個位置皆有點突變發生，進而導致相對應的氨基酸也發生改變 (例如第 929 個氨基酸由 Threonine (Thr) 變成 Isoleucine (Ile))。類似的突變也發生在抗賽滅寧的南黃薊馬鈉離子通道序列中^(14, 15)。

本研究是希望了解目前台灣地區危害茄子的南黃薊馬，對第滅寧、可尼丁 (clothianidin)、滅賜克、克凡派 (chlorfenapyr) 及賜諾特 (spinetoram) 等五種不同作用機制之登記藥劑感受性，若感受性不佳已產生抗藥性的藥劑，對南黃薊馬抗性機制為何？是生化代謝抗性或作用點突變，亦或是兩者皆存在？

材料與方法

一、供試蟲源及飼養方法

分別自屏東縣九如鄉、高雄市旗山區高雄改良場旗南分場及彰化縣二水鄉之茄子田採集南黃薊馬。將採集之南黃薊馬帶回實驗室，參考黃和蘇 (1997)⁽¹⁰⁾ 的方法，以花豆葉為寄主植物在步入式生長箱 (溫度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ；光照 12 L : 12 D) 內大量飼養繁殖南黃薊馬，作為室內藥劑測試之蟲源。選擇以花豆飼養南黃薊馬是因為花豆的生長速度較快，而且比較花豆葉與茄葉浸藥後對南黃薊馬的毒效顯示沒有明顯差異，但由於以茄葉做浸藥藥膜法較容易操作 (葉片不容易破)，所以最後決定用花豆飼養大量繁殖南黃薊馬，但進行試驗時則用茄葉。

二、農藥與酵素或分生相關藥劑

農藥成品包括第滅寧 (deltamethrin, 2.4% 水懸劑 SC) 購自易利特開發有限公司，可尼丁 (clothianidin, 16% 水溶性粒劑 SG) 購自立農化學股份有限公司，滅賜克 (methiocarb, 50% 可濕性粉劑 WP) 購自興農股份有限公司，克凡派 (chlorfenapyr, 10% 水懸劑 SC) 購自台灣科研生物技術有限公司，賜諾特 (spinetoram, 11.7% 水懸劑 SC) 購自台灣道禮股份有限公司，EZLysTM tissue protein extraction reagent 購自創世紀生技有限公司，Bradford protein assay kit (Cat. No.: GPA102) 購自賽恩斯生物科技股份有限公司，Triton X-100、*p*-nitroanisole、nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH)、Glutathione S-Transferase (GST)、PBO (piperonyl butoxide, 90%)、DEM (diethyl maleate, 97%) 及 TPP (triphenyl phosphate, 99%) 購自友和貿易股份有限公司，QuickExtract DNA Extraction 購自創世紀生技有限公司。PCR 反應試劑組 5× Taq Master mix (5 units/ μl) 購自波仕特生物科技有限公司，DNA marker、DNA loading dye 購

自創世紀生技有限公司，溴化乙錠 (ethidium bromide, EtBr) 購自汎泰公司，5× TBE buffer 購自波仕特生物科技有限公司。

三、不同地區南黃薊馬對殺蟲劑的感受性測試

2016年採集於屏東縣九如鄉、高雄市旗山區及彰化縣二水鄉等三個地區茄子田上之南黃薊馬成蟲，參考 Greenberg *et al.* (2012)⁽¹⁷⁾ 藥膜法 (Thrips Insecticide Bioassay System, 簡稱 TIBS) 及許等 (2002)⁽⁸⁾ 以浸葉藥膜法同時進行生物檢測。將可尼丁、第滅寧、滅賜克、及克凡派及賜諾特等五種供試藥劑，以 RO 水配製成不同濃度之測試溶液 (內含展著劑 0.01% Triton X-100)，總體積為 10 ml，對照組為 Triton X-100 (0.01%) 之水溶液。每種藥劑試驗的濃度如下：可尼丁 (1ppm, 5ppm, 10ppm, 25ppm, 50ppm, 100ppm, 500ppm, 1000ppm)、第滅寧 (1ppm, 10ppm, 25ppm, 100ppm, 1000ppm, 2000ppm, 4000ppm)、滅賜克 (1ppm, 10ppm, 50ppm, 100ppm, 200ppm, 500ppm, 625ppm, 1000ppm)、及克凡派 (0.1ppm, 0.5ppm, 1ppm, 5ppm, 10ppm, 50ppm, 100ppm) 及賜諾特 (0.01ppm, 0.05ppm, 0.1ppm, 0.5ppm, 1ppm, 5ppm, 10ppm, 15ppm)。利用玻璃滴管吸取微量測試溶液至玻璃管 (直徑 1.5 cm，高 6 cm) 中，左右均勻搖晃使玻璃管形成一層藥膜，在抽氣櫃中風乾後，利用金屬切割器將茄子葉片切割成直徑 1.4 cm 之圓形葉片浸泡於各濃度之測試溶液及對照組內 10 秒，在抽氣櫃中風乾後，放入做有藥膜之玻璃管中，每管接入 15 隻南黃薊馬二齡幼蟲以石臘膜封住管口置於生長箱 ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, 12D : 12L) 中，在 24 小時後觀察記錄幼蟲死亡數並計算死亡率，試驗結果數據使用 SPSS 19.0 統計軟體之對機數分析 (probit analysis)，以求得各地區南黃薊馬對各試驗藥劑的半數致死濃度 (median lethal concentration, LC_{50}) 和 LC_{90} ，各處理均重複三次。求出同一種殺蟲劑對不同地區南黃薊馬的半數致死濃度後，以半數致死濃度最低之南黃薊馬品系作為參考品系，將其他品系的半數致死濃度和參考品系的半數致死濃度相除，得到的數值即為各品系的抗性比 (Resistance Ratio, RR_{50})。

四、南黃薊馬對殺蟲劑抗性機制之探討

(一) 第滅寧及可尼丁添加協力劑之試驗

前試驗結果顯示 PBO 80 ppm、DEM 100 ppm 及 TPP 200 ppm 不會造成南黃薊馬死亡，因此選用上列濃度做為三個協力劑的最終濃度。首先將配製三種協力劑之母液 (stock solution)，分別為 PBO 800ppm、DEM 1000ppm 及 TPP 2000ppm，接著分別配製第滅寧三個濃度 (1、100 及 1000 ppm) 及可尼丁三個濃度 (5、25 及 50 ppm) 之母液，接著取 1 ml 的藥劑母液，分別加入 1 ml 之 80ppm PBO、100ppm DEM 及 200ppm TPP，再以 RO 水稀釋至最終體積為 10 ml (藥劑與協

力劑皆被稀釋10倍)，即為待測試濃度藥液（內含 0.01% Triton X-100），對照組為10 ml 的Triton X-100 (0.01%) 之水溶液。分別將採自九如、旗山及二水地區之南黃薊馬二齡幼蟲進行生物檢測（方法同上），處理 24 小時後觀察記錄幼蟲死亡數並計算死亡率，各處理均重複三次， LC_{50} 及 LC_{90} 的計算方法同上述，處理協力劑之結果與不添加協力劑的處理互相比較，求出加入 PBO、DEM 及 TPP 三種協力劑時對南黃薊馬的協力效果，從協力比值 (Synergistic Ratio, SR) 以確認協力劑 PBO、DEM 及 TPP 的協力作用。

(二) 酵素活性分析

1. 蛋白質的萃取

將採自屏東縣九如鄉、高雄市旗山區及彰化縣二水鄉等三個地區茄田之南黃薊馬族群，挑取約 100 隻南黃薊馬二齡幼蟲，加入 200 μ l EZLys™ tissue protein extraction reagent，在冰上研磨約 1 分鐘使蟲體破碎，在 4°C、轉速 11000 \times g 下離心 20 分鐘，吸取上清液做為酵素活性分析之溶液，每處理三重複。

此外，將三個地區之南黃薊馬幼蟲如前述方法進行生物檢測，處理第滅寧（濃度為登記濃度 12 ppm）及可尼丁（濃度為 1 ppm）24 小時後取 100 隻存活的南黃薊馬二齡幼蟲進行蛋白質萃取，其它步驟與前段相同。此外，同時也萃取加了三種協力劑之生物檢測後存活個體的蛋白質比較後續的酵素活性。

2. 酵素活性分析

(1) 酯 (EST) 活性測定

將未處理藥劑之南黃薊馬二齡幼蟲萃取後的蛋白質液及處理藥劑（第滅寧及可尼丁）後 24 小時所萃取之蛋白質液，在石英管中加入 0.02 M NA-phosphate buffer (pH 7.4) 1150 μ l、25 μ l 蛋白質液及 1.5 mM α -naphthyl acetate 受質，在室溫下混勻反應 5 分鐘後，接著加入 250 μ l 3.5% FBBS (內含 0.3% Fast blue b salt 及 3.5% SDS) 顯色 5 分鐘，利用分光光度計在波長 600 nm 測定吸光值，計算產物生成量。

(2) 麩胱甘肽轉基酶 (GST) 活性測定

將未處理藥劑之南黃薊馬二齡幼蟲萃取後的蛋白質液及處理藥劑（第滅寧及可尼丁）後 24 小時所萃取之蛋白質液，使用 Glutathione S-Transferase (GST) 試劑組，在石英管中加入 980 μ l Dulbecco's phosphate buffered saline、10 μ l 的 L-Glutathione reduced (200 mM)、10 μ l 的 CDNB (100 mM) 及 10 μ l 的蛋白質液，在室溫下混勻靜置 1 分鐘，利用分光光度計在波長 340 nm 下，間隔 30 秒，連續測試 5 分鐘，計算 5 分鐘平均變化。 $(\Delta A_{340}) / \text{分鐘} = (A_{340} (\text{最終吸光值} - \text{最初吸光值})) / \text{反應時間}$
 $((\Delta A_{340}) / \text{分鐘} \times \text{測試體積 (ml)} \times \text{稀釋倍數}) / (9.6 \text{ mM}^{-1} \times \text{測試樣本體積}) = \mu\text{mol/ml/min}$

$(\mu\text{mol/ml/min}) / \text{蛋白質濃度} = \text{比活性}$

(3) 細胞色素 CYP450 活性測定

將未處理藥劑之南黃薊馬二齡幼蟲萃取後的蛋白質液及處理藥劑（第滅寧及可尼丁）後 24 小時所萃取之蛋白質液，在石英管中加入 400 μ l 的 0.02 M NA-phosphate buffer (pH 7.4)、280 μ l 的 *p*-nitroanisole、20 μ l 的 NADPH 及 100 μ l 的蛋白質液，搖晃 5 分鐘後利用分光光度計在波長 405 nm 下測定吸光值，計算產物生成量。

上述三類酵素活性以 ANOVA 及 LSD 進行統計顯著性分析。

(三) 點突變檢測

1. 南黃薊馬 genomic DNA 之萃取

從屏東縣九如鄉、高雄市旗山區及彰化縣二水鄉族群中取出二齡幼蟲，將單隻二齡幼蟲放至 1.5 ml 離心管內以萃取 DNA，使用 QuickExtract DNA Extraction 試劑組，依照萃取步驟進行 DNA 萃取。首先將在 1.5 ml 放有單隻二齡幼蟲之離心管內，加入 50 μ l QuickExtract 溶液，震盪混合 15 秒，在 65°C 乾浴槽下反應 6 分鐘，震盪混合 15 秒，在 98°C 乾浴槽下反應 2 分鐘，即完成 DNA 的萃取，並將其 DNA 儲存於 -20°C 冷凍中保存，或 -70°C 長期儲存。

2. 引子之設計

雖然 Bao et al.⁽¹⁵⁾ 的文獻中有提供多個引子進行南黃薊馬鈉離子通道點突變序列探討，但這些引子增幅的序列片段無法同時將 M918T、T929I 及 L1014F 這三個位置涵蓋進去，因此根據 NCBI 上公布的南黃薊馬鈉離子通道基因序列 (accession number: AB849921) 做為 template DNA 自行設計引子，引子組為 TP-kdr-1kb-4360-F (GCT GAT CGC CAT GAG CCC AAA G) / TP-kdr-1kb-4360-R (AGC TCT CGG TTT GCT GCA AGA G) 進行 PCR 反應。反應總體積為 25 μ l，內含 16.5 μ l 二次水 (ddH₂O)、5 μ l Taq Master mix、引子對各 0.5 μ l 及 2.5 μ l DNA。PCR 反應條件為 (1) 預熱 (pre-denaturation) 94°C / 3 分鐘，(2) 變性 (denaturation) 94°C / 30 秒，(3) 黏合 (annealing) 55°C / 1 分鐘，(4) 延伸 (extension) 72°C / 2 分鐘，重複 (2) 至 (4) 共 30 個循環，最後延長 (final extension) 72°C / 7 分鐘，PCR 產物保存於 4°C 冰箱。

將 PCR 產物進行 1.0% Agarose gel 的電泳分析，藉由電泳圖之條帶位置確認 PCR 產物是否正確。將 PCR 標的產物送明欣生物科技有限公司定序，分析產物序列以檢視比對 918、929 及 1014 位置是否有突變發生。

結果

一、不同地區南黃薊馬對殺蟲劑的感受性測試

目前在台灣地區很難採集到完全沒有受到殺蟲劑影響的南黃薊馬 (即感性品系), 因此本研究選用 LC₅₀ 最低的地區作為參考品系 (reference strain), 以計算九如、旗山及二水地區南黃薊馬對殺蟲劑之抗性比。比較可尼丁、第滅寧、滅賜克、克凡派及賜諾特五種藥劑對三個地區南黃薊馬之毒效, 結果發現可尼丁對九如、旗山及二水地區之南黃薊馬, 其 LC₅₀ 分別為 39.760、15.658 及 11.663 ppm, 因此以二水地區作為基準, 計算九如及旗山地區南黃薊馬之抗性比分別為 3.409 及 1.343 倍, 顯示九如地區南黃薊馬對可尼丁的感受性較旗山及二水地區低 (表一)。此外, 可尼丁對這三個地區南黃薊馬之 LC₉₀ 分別為 298.606、117.784 及 1008.284 ppm, 其 LC₉₀ 均高於植保手冊防治南黃薊馬之登記濃度 (53.33 ppm), 由於 LC₉₀ 是內插出來的結果 (除了二水地區), 表示九如及旗山地區南黃薊馬對可尼丁可能已經有抗藥性產生。

第滅寧對九如、旗山及二水地區之南黃薊馬, 其 LC₅₀ 分別為 1591.804、1069.447 及 1351.669 ppm, 因此以旗山地區作為基準, 計算九如及二水地區南黃薊馬之抗性比分別為 1.488 及 1.264 倍, 顯示這三個地區南黃薊馬對第滅寧的感受性無明顯差異 (表一)。此外, 第滅寧對這三個地區南黃薊馬之 LC₉₀ 分別為 7.491×10^6 、 3.466×10^8 及 8.713×10^4 ppm, 其 LC₉₀ 均已遠高於植保手冊防治南黃薊馬之登記濃度 (24 ppm), 由於 LC₉₀ 是內插出來的結果, 表示九如、旗山及二水地區南黃薊馬對第滅寧已產生很強的抗藥性。

滅賜克對九如、旗山及二水地區之南黃薊馬, 其 LC₅₀ 分別為 17.503、13.253 及 6.187 ppm, 因此以二水地區作為基準, 計算九如及旗山地區南黃薊馬之抗性比分別為 2.829 及 2.142 倍 (表一)。此外, 滅賜克對這三個地區南黃薊馬之 LC₉₀ 分別為 102.292、57.376 及 91.081 ppm, 其 LC₉₀ 均低於植保手冊防治南黃薊馬之登記濃度 (625 ppm), 表示滅賜克對旗山、九如及二水地區南黃薊馬均有防治效果。

克凡派對九如、旗山及二水地區之南黃薊馬, 其 LC₅₀ 分別為 0.876、2.227 及 5.977 ppm, 因此以九如地區作為基準, 計算旗山及二水地區南黃薊馬之抗性比分別為 2.542 及 6.823 倍 (表一)。此外, 克凡派對這三個地區南黃薊馬之 LC₉₀ 分別為 4.978、19.675 及 58.296 ppm, 其 LC₉₀ 均低於植保手冊防治南黃薊馬之登記濃度 (100 ppm), 表示克凡派對九如、旗山及二水地區南黃薊馬仍有防治效果。

賜諾特對九如、旗山及二水地區之南黃薊馬, 其 LC₅₀ 分別為 0.23、0.026 及 0.138 ppm, 因此以旗山地區作為基準, 計算九如及二水地區南黃薊馬之抗性比分別為 8.846 及 5.308 倍 (表一)。此外, 賜諾特對這三個地區南黃薊馬之 LC₉₀ 分別為 6.946、3.498 及 0.412 ppm, 其 LC₉₀ 遠低於植保手冊防治南黃

薊馬之登記濃度 (14.625ppm), 表示賜諾特對九如、旗山及二水地區南黃薊馬有很好的防治效果。

表一、九如、旗山、二水地區南黃薊馬對五種殺蟲劑之感受性測試

TABLE 1. Susceptibility of *Thrips palmi* from three populations (Jiuru, Qishan, Ershui) to five insecticides

殺蟲劑	地區	LC ₅₀ (ppm)	95% Fiducial limits	Slope	RR ₅₀	LC ₉₀ (ppm)	登記濃度 (ppm)
可尼丁	九如	39.760	28.577~83.336	1.103	3.409	298.606	53.33
	旗山	15.658	7.142~76.475	1.111	1.343	117.784	
	二水	11.663	2.045~497.878	0.865	-*	1008.284	
第滅寧	九如	1591.804	147.888~95467.146	0.497	1.488	7.491×10^6	24
	旗山	1069.447	172.348~110228.916	0.433	-*	3.466×10^8	
	二水	1351.669	95.043~150765.435	0.509	1.264	8.713×10^4	
滅賜克	九如	17.503	10.414~35.667	1.027	2.829	102.292	625
	旗山	13.253	8.396~18.098	2.014	2.142	57.376	
	二水	6.187	1.000~10.914	1.022	-*	91.081	
克凡派	九如	0.876	0.028~0.976	1.164	-*	4.978	100
	旗山	2.227	0.865~3.123	1.045	2.542	19.675	
	二水	5.977	2.119~9.879	1.087	6.823	58.296	
賜諾特	九如	0.230	0.098~1.006	0.772	8.846	6.946	14.625
	旗山	0.026	0.004~0.856	0.874	-*	3.498	
	二水	0.138	0.065~0.289	1.459	5.308	0.412	

* - 代表該品系在該生物分析中為參考品系。

二、南黃薊馬對殺蟲劑抗性機制之探討

(一) 第滅寧及可尼丁添加協力劑之試驗

前試驗結果顯示 PBO 80 ppm、DEM 100 ppm 及 TPP 200 ppm 不會造成南黃薊馬死亡, 因此在協力劑之測試中不再重複做只添加協力劑的處理。協力試驗結果得知南黃薊馬對可尼丁及第滅寧可能產生抗藥性, 因此利用可尼丁及第滅寧添加協力劑 (PBO、DEM 及 TPP) 進一步進行試驗, 檢測南黃薊馬對可尼丁及第滅寧產生抗藥性是否與解毒酵素有關。結果顯示可尼丁分別加入三種不同協力劑, 僅添加 PBO 後, 九如、旗山及二水地區南黃薊馬的 LC₅₀ 分別降至 5.91、0.931 及 0.323 ppm (表二), 協力比分別為 6.728、16.818 及 36.108 倍, 由此結果推測南黃薊馬對可尼丁的抗藥性可能與細胞色素 P450 (CYP450) 有關。可尼丁添加DEM及TPP後, 協力比在九如地區南黃薊馬的 LC₅₀ 沒有明顯改變, 而旗山及二水地區南黃薊馬的 LC₅₀ 則有上升的現象, 但三地區的協力比都沒有上升的趨勢 (表二)。

分析第滅寧添加三種協力劑後對九如、旗山及二水地區南黃薊馬之感受性, 結果發現添加 PBO 後對九如、旗山及二水地區南黃薊馬之 LC₅₀ 分別降至 4.164、4.916 及 8.486 ppm, 其協力比為 382.278、217.544 及 159.282 倍; 而添加 TPP 後對九如、旗山及二水地區南黃薊馬之 LC₅₀ 分別降至 141.688、

表二、可尼丁分別添加三種協力劑對不同地區南黃薊馬之毒效

TABLE 2. Synergistic effects of three synergists on the toxicity of clothianidin to *Thrips palmi* from three populations

地區	殺蟲劑	LC ₅₀ (ppm)	95% Fiducial limits	Slope	SR
九如	可尼丁	39.760	28.577~83.336	1.103	-
	可尼丁+PBO	5.910	2.874~7.482	1.382	6.728
	可尼丁+DEM	33.333	23.348~77.921	1.163	1.193
	可尼丁+TPP	36.553	29.349~80.084	1.253	1.088
旗山	可尼丁	15.658	7.142~76.475	1.111	-
	可尼丁+PBO	0.931	0.474~1.289	1.564	16.818
	可尼丁+DEM	76.691	23.666~187.871	1.155	0.204
	可尼丁+TPP	57.808	34.668~201.110	1.176	0.271
二水	可尼丁	11.663	2.045~497.878	0.865	-
	可尼丁+PBO	0.323	0.025~1.237	1.487	36.108
	可尼丁+DEM	35.320	13.129~276.908	0.899	0.330
	可尼丁+TPP	16.719	2.014~99.302	1.112	0.698

協力比 (SR) = 處理殺蟲劑的LC₅₀ / 同時處理殺蟲劑與協力劑的LC₅₀。

表三、第滅寧添加三種協力劑對不同地區南黃薊馬之毒效

TABLE 3. Synergistic effects of three synergists on the toxicity of deltamethrin to *Thrips palmi* from three populations

地區	殺蟲劑	LC ₅₀ (ppm)	95% Fiducial limits	Slope	SR
九如	第滅寧	1591.804	147.888~95467.146	0.497	-
	第滅寧+PBO	4.164	1.777~5.657	1.428	382.278
	第滅寧+DEM	2557.903	458.835~6098.899	1.038	0.622
	第滅寧+TPP	141.688	51.093~491.668	1.298	11.234
旗山	第滅寧	1069.447	172.348~110228.916	0.433	-
	第滅寧+PBO	4.916	1.883~8.565	1.356	217.544
	第滅寧+DEM	1740.364	346.689~2905.115	1.109	0.615
	第滅寧+TPP	58.237	27.110~60.992	1.277	18.364
二水	第滅寧	1351.669	95.043~150765.435	0.509	-
	第滅寧+PBO	8.486	3.867~14.091	1.457	159.282
	第滅寧+DEM	4547.712	359.902~15078.881	0.983	0.297
	第滅寧+TPP	285.178	89.651~495.021	1.189	4.740

協力比 (SR) = 處理殺蟲劑的LC₅₀ / 同時處理殺蟲劑與協力劑的LC₅₀。

58.237 及 285.178 ppm，其協力比分別為 11.23、18.364 及 4.74 倍 (表三)，由此結果推測這三個地區的南黃薊馬對第滅寧的抗藥性與細胞色素 P450 及酯酶 (EST) 有關。第滅寧添加DEM 後，協力比在九如地區南黃薊馬的 LC₅₀ 沒有明顯改變，而旗山及二水地區南黃薊馬的 LC₅₀ 則有上升的現象，但三地區的協力比都沒有上升的趨勢 (表三)。

(二) 酵素活性分析

1. 第滅寧處理後 24 小時之酵素活性

比較南黃薊馬二齡幼蟲處理第滅寧 24 小時與未處理藥劑的酵素活性反應，結果顯示未處理藥劑之三地區細胞色素 P450 酵素活性分別為 8.53、9.07 及 11.13 $\mu\text{mole} / \text{min} / \text{mg}$ ，處理第滅寧 24 小時後之三地區酵素活性分別提高至 17.91、13.52 及 17.53 $\mu\text{mole} / \text{min} / \text{mg}$ ，在處理第滅寧並添加協力劑 PBO 後之三地區酵素活性分別降至 7.05、8.03 及 11.69 $\mu\text{mole} / \text{min} / \text{mg}$ 。其比值分別為 2.54、1.68 及 1.49 倍。酯酶活性測試中，三地區南黃薊馬在處理第滅寧 24 小時後酵素活性並沒有明顯上升，但第滅寧並添加協力劑 TPP 處理 24 小時後，三地區南黃薊馬酯酶酵素活性分別從 99.59、67.89 及 77.75 $\mu\text{mole} / \text{min} / \text{mg}$ 降至 17.73、23.69 及 15.97 $\mu\text{mole} / \text{min} / \text{mg}$ 。其比值分別為 5.62、2.87 及 4.86 倍 (表四)，由此結果推測九如、旗山及二水地區南黃薊馬對第滅寧抗性與細胞色素 P450 單加氧酶及酯酶有關係。以及前面協力劑 TPP 的試驗。但由於未處理組與處理第滅寧後酯酶活性並沒有顯著提升，代表酯酶參與蟲體對第滅寧產生的抗性並非因接觸藥劑而被誘導。此外，添加協力劑 DEM 後羧基甘肅轉基酶 (GST) 的酵素活性沒有明顯變化 (表四)。

表四、第滅寧添加不同協力劑 (PBO, DEM, TPP) 後對不同地區南黃薊馬之解毒酵素活性的影響

TABLE 4. Detoxification enzyme activities of three *Thrips palmi* populations treated by deltamethrin or deltamethrin with three synergists

族群	處理	CYP450($\mu\text{mole}/\text{min}/\text{mg}$)		GST($\mu\text{mole}/\text{min}/\text{mg}$)		Esterase($\mu\text{mole}/\text{min}/\text{mg}$)	
		activity	ratio	activity	ratio	activity	ratio
九如	未處理	8.53b ¹		51.22a	99.82a	99.82a	
	第滅寧	17.91a	2.54	55.89a	0.68	99.59a	5.62
	PBO	6.94b		ND ²		ND	-
	DEM	ND	-	63.49a		ND	
	TPP	ND		ND	-	76.75a	
	第滅寧+協力劑	7.05b		82.28a		17.73b	-
旗山	未處理	9.07b		49.61a	0.68	80.13a	
	第滅寧	13.52a	1.68	45.89a	-	67.89a	2.87
	PBO	8.97b		ND		ND	
	DEM	ND		49.66a		ND	
	TPP	ND		ND		63.26a	
	第滅寧+協力劑	8.03b	-	67.51a		23.69b	-
二水	未處理	11.13b		76.44a	1.02	83.5a	
	第滅寧	17.53a	1.49	63.19a	-	77.75a	4.86
	PBO	10.55b		ND		ND	-
	DEM	ND		68.01a		ND	
	TPP	ND		ND		75.72a	
	第滅寧+協力劑	11.69b	-	61.96a		15.97b	

¹: 不同字母代表處理間 ANOVA 與 LSD test 分析後呈現顯著差異 (p < 0.05)

²: Non-Detect.

2. 可尼丁處理後 24 小時之酵素活性

比較南黃薊馬二齡幼蟲處理可尼丁 24 小時後與未處理藥劑之酵素活性反應，結果顯示之三個地區細胞色素 P450 蛋白質酵素活性分別為 8.53、9.07 及 11.13 $\mu\text{mole} / \text{min} / \text{mg}$ ，處理可尼丁 24 小時後，三個地區蛋白質酵素活性分別提高至 15.56、16.08 及 14.93 $\mu\text{mole} / \text{min} / \text{mg}$ ，在處理可尼丁並添加協力劑 PBO 後三個地區蛋白質酵素活性分別降至 15.25、14.09 及 13.73 $\mu\text{mole} / \text{min} / \text{mg}$ ，其比值為 1.02、1.14 及 1.09 倍。酯酶活性測試中，三個地區南黃薊馬在處理第滅寧後蛋白質酵素活性並沒有明顯上升，但可尼丁並添加協力劑 TPP 後，三個地區南黃薊馬酯酶活性分別從 47.3、74.46 及 50.94 $\mu\text{mole} / \text{min} / \text{mg}$ 降至 16.39、37.36 及 21.28 $\mu\text{mole} / \text{min} / \text{mg}$ ，其比值為 2.89、1.99 及 2.39 倍 (表五)，由此結果推測九如、旗山及二水地區南黃薊馬對可尼丁抗性可能與細胞色素 P450 有關。此外，添加協力劑 DEM 後羧基甘肅轉基酶 (GST) 的酵素活性沒有明顯變化 (表四)。

表五、可尼丁添加不同協力劑 (PBO, DEM, TPP) 後對不同地區南黃薊馬之解毒酵素活性的影響

TABLE 5. Detoxification enzyme activities of three *Thrips palmi* populations treated by clothianidin or clothianidin with three synergists

族群	處理	CYP450($\mu\text{mole}/\text{min}/\text{mg}$)		GST($\mu\text{mole}/\text{min}/\text{mg}$)		Esterase($\mu\text{mole}/\text{min}/\text{mg}$)	
		activity	ratio	activity	ratio	activity	ratio
九如	未處理	8.53b ¹		51.22a		99.82a	
	第滅寧	15.56a	1.02	53.60a	0.91	47.30b	2.89
	PBO	9.88b		ND ²		ND	
	DEM	ND		54.79a		ND	
	TPP	ND		ND		56.76b	
	第滅寧+協力劑	15.25a	-	59.09a	-	16.39c	-
旗山	未處理	9.07b		49.61a		80.13a	
	第滅寧	16.08a	1.14	58.46a	0.73	74.46b	1.99
	PBO	8.54b		ND		ND	
	DEM	ND		59.17a		ND	
	TPP	ND		ND		66.72b	
	第滅寧+協力劑	14.09a	-	80.37a	-	37.36c	-
二水	未處理	11.13b		76.44a		83.5a	
	第滅寧	14.93a	1.09	57.25a	0.89	50.94b	2.39
	PBO	12.55ab		ND		ND	
	DEM	ND		68.25a		ND	
	TPP	ND		ND		67.70a	
	第滅寧+協力劑	13.73a	-	64.59a	-	21.28c	-

¹: 不同字母代表處理間 ANOVA 與 LSD test 分析後呈現顯著差異 ($p < 0.05$)

²: Non-Detect.

(三) 點突變測試

利用 TP-kdr-1kb-4360-F / TP-kdr-1kb-4360-R 引子組能增幅 1 kb 之部分鈉離子通道基因 DNA，藉以檢測九如、旗山及二

水地區南黃薊馬該目標基因的序列變異，比較三個地區南黃薊馬發生變異的比例。結果顯示隨機檢測採集自屏東縣九如鄉 (n=10)、高雄市旗山區 (n=15) 及彰化縣二水鄉 (n=18)，T929I 發生突變的機率皆為 100% (表六)，推論這些地區的南黃薊馬該突變的頻率已經很高。

表六、不同地區南黃薊馬鈉離子通道中三個點突變 (M918T; T929I; L1014F) 的頻率

TABLE 6. Allele frequency at three point known mutations sites of sodium channel in *Thrips palmi* collected from three populations

地區	M918T			T929I			L1014F		
	M/M	M/W	W/W	M/M	M/W	W/W	M/M	M/W	W/W
九如 (n=10)	0%	0%	100%	0%	0%	100%	0%	0%	100%
旗山 (n=15)	0%	0%	100%	0%	0%	100%	0%	0%	100%
二水 (n=18)	0%	0%	100%	0%	0%	100%	0%	0%	100%

* M/M: 突變同結合同型; W/W: 野生型同結合同型; M/W: 異結合同型。

討 論

本研究測試五種現行登記藥劑 (可尼丁、第滅寧、滅賜克、克凡派及賜諾特) 對南黃薊馬之室內藥效，結果顯示以登記濃度施用時，賜諾特與滅賜克效果最佳，其次為克凡派，可尼丁及第滅寧最差 (表一)。本試驗所測試的四種推薦藥劑中也以滅賜克的防治效果最佳，而許等 (2002)⁽²⁾ 測試 11 種登記藥劑對台灣南黃薊馬之感受性分析，滅賜克的防治效果最佳。王等 (1999)⁽⁴⁾ 測試 9 種殺蟲劑對小黃薊馬 (*Scirtothrips dorsalis*) 之毒效，結果發現滅賜克對小黃薊馬有很好的防治效果，而邱等 (2010)⁽⁶⁾ 的研究也提出相同的結論。綜合上述結果可知滅賜克目前對薊馬仍具有防治效果。

賜諾特屬於新型藥劑，在台灣已被登記用於防治茄科與瓜類的南黃薊馬，研究指出賜諾特對薊馬 (*Thrips tabaci*) 的毒效，結果顯示賜諾特 LC_{50} 為 5.309 $\mu\text{g} / \text{vial}$ ，具有良好的防治效果⁽¹⁷⁾；本研究測試九如、旗山及二水地區南黃薊馬對賜諾特的感受性，結果顯示此三地區的 LC_{90} 皆低於植保手冊上推薦濃度 (14.625ppm) (表一)，由此可知此藥劑在台灣對南黃薊馬的防治效果佳。然而 Wang *et al.* (2016)⁽²²⁾ 研究發現中國山東地區的西方花薊馬 (*Frankliniella occidentalis*) 對賜諾特產生 17.29 倍的抗性比，因此在台灣仍必須謹慎使用，避免南黃薊馬對其產生抗藥性。

於賜諾特，克凡派在國外剛推出時被認為極具有防治西方花薊馬的潛力⁽¹⁸⁾，本研究對九如、旗山及二水地區南黃薊馬的感受性，顯示 LC_{90} 皆低於植保手冊上登記濃度 (100ppm) (表一)，可知此藥劑在台灣對南黃薊馬仍具有防治效果。但邱等 (2010)⁽⁶⁾ 的研究指出克凡派對小黃薊馬的致死率僅 58.1%，防治效果不如預期。

可尼丁對九如、旗山及二水地區南黃薊馬的感受性， LC_{90} 分別為 298.606、117.784 及 1008.284 ppm，已高於植保手冊登記濃度 (53.33 ppm)，顯示南黃薊馬對可尼丁可能已有抗性產生，此結果與邱等 (2010)⁽⁶⁾ 測試 30 種殺蟲劑對小黃薊馬成蟲毒效之結果相似，推測薊馬對新尼古丁類 (neonicotinoid) 殺蟲劑已經有不同程度抗性產生。國外也有研究指出美國東部棉田中的薊馬 (*Frankliniella fusca*) 對新尼古丁類的益達胺 (imidacloprid) 與賽速安 (thiamethoxam) 抗性比分別已達 55 和 39 倍⁽¹⁸⁾。

蔡 (2009)⁽¹³⁾ 調查高屏地區茄園內南黃薊馬對益達胺、覆滅蟊及第滅寧三種藥劑之感受性，結果顯示第滅寧效果最差。本研究中九如、旗山及二水地區南黃薊馬對藥劑的感受性，同樣是第滅寧的效果最差， LC_{90} 已經遠超過於植保手冊上登記濃度 (24 ppm) (表一)，早在 2002 年的研究中第滅寧已經對南黃薊馬不具有很好的效果⁽⁸⁾，顯示南黃薊馬對第滅寧已產生抗藥性。Bao and Sonoda (2012)⁽¹⁴⁾ 研究日本南黃薊馬對賽滅寧抗性，結果發現 LC_{50} 高達 3922.9 ppm；Thalavaisundaram et al. (2008)⁽²⁰⁾ 研究澳洲地區西方花薊馬，發現對福化利的 LC_{50} 高達 172.9~1343.2 ppm，證實薊馬對合成除蟲菊類殺蟲劑產生不同程度抗藥性。

探討三個地區的南黃薊馬對第滅寧及可尼丁，在殺蟲劑中添加協力劑來佐證其抗藥性機制是否與解毒酵素有關。第滅寧添加三種協力劑 (PBO、DEM 及 TPP) 後，分析對三個地區南黃薊馬之感受性影響，結果第滅寧添加協力劑 PBO 後南黃薊馬致死的協力比提高，顯示 PBO 可以有效提高對第滅寧具抗性之南黃薊馬的毒效，由此可推測南黃薊馬對第滅寧的抗性與 cytochrome P450 活性增強有關，提高協力比高達 159-382 倍，而蔡 (2009)⁽¹³⁾ 測試抗第滅寧的南黃薊馬在殺蟲劑中加入 PBO，協力比值提高 18-21 倍，顯示這三個地區南黃薊馬對第滅寧的抗性與 P450 有顯著關係。Bao and Sonoda (2012)⁽¹⁴⁾ 研究賽滅寧添加 PBO 後協力比達 14.1 倍；Thalavaisundaram et al. (2008)⁽²⁰⁾ 研究澳洲地區西方花薊馬，福化利添加 PBO 後協力比更高達 266~790 倍，證實薊馬對合成除蟲菊類殺蟲劑抗性機制與 cytochrome P450 有關。為了佐證協力劑添加確實會抑制解毒酵素，測試九如、旗山及二水地區南黃薊馬酵素活性，發現 cytochrome P450 及酯酶在第滅寧添加協力劑後，酵素活性確實有下降趨勢，結果與前述協力試驗相符合 (表三、表四)，因此可推測這三個地區南黃薊馬對第滅寧產生抗性的機制與 cytochrome P450 及酯酶參與作用有關。此結果與王等人 (2011, 2012a, 2012b)^(3, 4, 5) 測試西方花薊馬細胞色素單加氧酶活性分析結果相符。可尼丁添加三種協力劑 (PBO、DEM 及 TPP) 對九如、旗山及二水地區南黃薊馬之感受性，發現添加 PBO 後對這三個地區南黃薊馬的 LC_{50} 下降，協力比達 6 倍以上 (表二)，推測九如、旗山及二水地區南黃薊馬對可尼丁產生抗性與 cytochrome P450 活性增強有關，此結果與抗賽滅寧品系在殺蟲劑中加入 PBO，協力比值提高 14.1 倍結果相似⁽¹⁴⁾。

本研究亦檢測九如、旗山及二水地區南黃薊馬之抗合成除蟲菊類殺蟲劑三個鈉離子通道基因 DNA 位置 (918、929 及 1014) 突變點發生頻率，結果九如、旗山及二水地區南黃薊馬鈉離子通道基因中 929 位置發生突變的頻率為 100%，也可能是造成南黃薊馬對第滅寧產生更高抗性的原因，此結果與 Toda and Morishita (2009)⁽²¹⁾ 分析抗賽滅寧的薊馬突變點及 Bao et al. (2014)⁽¹⁵⁾ 分析南黃薊馬抗合成除蟲菊類殺蟲劑結果相符合，皆在抗性品系中找到 929 位置發生點突變。

本文分析了五種不同作用機制殺蟲劑對於台灣不同地區的南黃薊馬的感受性，同時也提供了田間族群對於藥劑抗藥性的可能機制。綜合研究結果顯示，九如、旗山及二水地區的南黃薊馬已對第滅寧及可尼丁產生抗藥性，其抗性機制推測與 cytochrome P450 酵素活性提高有關。另一方面，本研究也顯示三地南黃薊馬族群中，鈉離子通道 (Sodium channel) 基因的第 929 個氨基酸發生突變與薊馬對第滅寧的抗性有高相關，推測高頻率的 T929I 可能是造成這三個地區南黃薊馬對第滅寧產生高抗性的原因。由上述試驗的結果顯示南黃薊馬對第滅寧與可尼丁已產生多重抗性的抗藥性，因此建議暫時不要使用這兩種藥劑。此研究將可提供田間用藥依據之參考，如輪替使用賜諾特、克凡派及滅賜克三種不同作用機制殺蟲劑，以期達到精準用藥及抗藥性的管理的最佳目標。

引用文獻

1. 王清玲、朱耀沂。1986。南黃薊馬 (*Thrips palmi* Karny) 之綜述。中華昆蟲 6: 133-143。
2. 王清玲、徐孟倫、楊清翰、簡毓伶。1999。殺蟲劑對蓮花上小黃薊馬 (縷翅目：薊馬科) 之毒效。中華昆蟲 19: 377-380。
3. 王聖印、劉永杰、周仙紅、張安盛、李麗莉、關興元、張思聰、于毅。2011。西花薊馬對益達胺抗性機制的研究。應用昆蟲學報 48: 559-565。
4. 王聖印、于毅、劉永杰。2012a。西花薊馬抗甲氨基阿維菌素苯甲酸鹽種群的交互抗性與生化抗性機制。植物保護學報 39: 159-165。
5. 王聖印、周仙紅、張安盛、李麗莉、關興元、張思聰、劉永杰、于毅。2012b。西花薊馬抗辛硫磷種群的抗性機制及其交互抗性。應用生態學報 23: 1933-1939。
6. 邱一中、林鳳琪、石憲宗、王清玲。2010。殺蟲劑對椗果小黃薊馬 (*Scirtothrips dorsalis* Hood) (Thysanoptera: Thripidae) 之毒效。台灣農業研究 59: 134-141。
7. 唐振華、吳士雄。2000。昆蟲抗藥性的遺傳與進化。上海科學技術文獻出版社。上海市。325頁。
8. 許如君、馮海東、黃育仁。2002。台灣地區南黃薊馬 (*Thrips palmi* Karny) (Thysanoptera: Thripidae) 對現行推薦藥劑之感受性調查。台灣昆蟲 22: 83-93。

9. 陳明昭。2000。茄子南黃薊馬綜合防治。高雄農改場研究彙報 11: 9-21。
10. 黃莉欣、蘇文瀛。1997。南黃薊馬 (*Thrips palmi* Karny) 繼代飼育方法之改進。植物保護學會會刊 39: 281-287。
11. 溫宏治、李錫山。1982。淡色薊馬 (*Thrips flavus* Schrank) 為害瓜類調查及其防治試驗。中華農業研究 31: 89-96。
12. 葉錫東、曲芳華。1999。番茄斑萎病毒屬病毒之發生與快速偵測技術之發展。植物病理學會刊 8: 125-132。
13. 蔡秉宗。2009。高屏地區南黃薊馬對殺蟲劑之感受性調查及對第滅寧抗性機制之探討。國立屏東科技大學植物保護系碩士學位論文。屏東。57頁。
14. Bao, W. X., and Sonoda, S. 2012. Resistance to cypermethrin in melon thrips, *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae), is conferred by reduced sensitivity of the sodium channel and CYP450-mediated detoxification. Appl. Entomol. Zool. 47: 443-448.
15. Bao, W. X., Kataoka, Y., Kohara, Y., and Sonoda, S. 2014. Genomic analyses of sodium channel α -subunit genes from strains of melon thrips, *Thrips palmi*, with different sensitivities to cypermethrin. Pestic. Biochem. Physiol. 108: 80-85.
16. Broughton, S., and Herron, G. A. 2009. Potential new insecticides for the control of western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae) on sweet pepper, tomato, and lettuce. J. Econ. Entomol. 102: 646-651.
17. Greenberg, S., López, J., Latheef, M., Adamczyk, J., Armstrong, J. S., and Liu, T. X. 2012. Toxicity of selected insecticides to onion thrips (Thysanoptera: Thripidae) using a glass-vial bioassay. J. Life. Sci. 6: 428-432.
18. Huseh, A. S., Chappell, T. M., Langdon, K., Morsello, S. C., Martin, S., Greene, J. K., Herbert, A., Jacobson, A. L., Reay-Jones, F. P., Reed, T., Reisig, D. D., Roberts, P. M., Smith, R., and Kennedy, G. G. 2016 *Frankliniella fusca* resistance to neonicotinoid insecticides: an emerging challenge for cotton pest management in the eastern United States. Pest Manag. Sci. 72:1934-1945.
19. Rinkevich, F. D., Du, Y., and Dong, K. 2013. Diversity and convergence of sodium channel mutations involved in resistance to pyrethroids. Pestic. Biochem. Physiol. 106: 93-100.
20. Thalavaisundaram, S., Herron, G. A., Clift, A. D., and Rose, H. 2008. Pyrethroid resistance in *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) and implications for its management in Australia. Aus. J. Entomol. 47: 64-69.
21. Toda, S., and Morishita, M. 2009. Identification of three point mutations on the sodium channel gene in pyrethroid-resistant *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae). J. Econ. Entomol. 102: 2296-2300.
22. Wang, Z. H., Gong, Y. J., Jin, G. H., Li, B. Y., Chen, J. C., Kang, Z. J., Zhu, L., Gao, Y. L., Reitz, S., and Wei, S. J. 2016 Field-evolved resistance to insecticides in the invasive western flower thrips *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) in China. Pest Manag. Sci. 72: 1440-1444.

ABSTRACT

Yan M. C., and Yang, Y. Y.* 2018. Susceptibility and resistance mechanisms to different modes of insecticides in the melon thrips (*Thrips palmi*). J. Plant Med. 60(2): 7-14.

*Corresponding author, Y. Y. Yang, E-mail: nasuta@mail2000.com.tw

The melon thrips, *Thrips palmi*, is a major pest of melons and eggplant in Taiwan. Spraying insecticide is main control practice. This study is to understand susceptibility of melon thrips to different MoA insecticides in Taiwan. Melon thrips *T. palmi* was collected from three populations on eggplant, and then the toxicity of recommended insecticides (deltamethrin, clothianidin, methiocarb, chlorfenapyr, spinetoram) were tested to these populations of melon thrips. Our result showed that LC₉₀ values of these three melon thrips populations are much larger than the recommended concentration of deltamethrin and clothianidin. Therefore, melon thrips from these areas might be resistant to neonicotinoids and pyrethroids. Biochemical metabolic detoxification is one of resistance mechanisms for insect to pesticides. Synergists of piperonyl butoxide (PBO) · diethyl maleate (DEM) · triphenyl phosphate (TPP) was used with deltamethrin and clothianidin to measure the synergist ratio in order to identify which type of detoxification enzyme is involved in metabolic resistance of melon thrips. Our results showed that deltamethrin and clothianidin with PBO can result in significant synergism of more than six times in three tested populations of melon thrips, which implied the involvement of cytochrome P450 to the resistance against deltamethrin and clothianidin. In addition, when adding deltamethrin with TPP synergism was observed at least four times of synergism, which implied esterases are involved, too. Besides, our study show melon thrips from three populations have also the point mutation (T929I) of sodium channel with frequency up to 100%. This phenomenon had confirmed that the high degree of resistance to pyrethroids also contributed with the target site point mutation of sodium channel.

Keywords: *Thrips palmi*, resistance mechanism, metabolic detoxification, synergists, point mutation