

文章编号:1674-7054(2010)03-0228-05

小菜蛾对阿维菌素的抗性风险评估及交互抗性的室内测定

梁延坡^{1,2}, 吴青君¹, 张友军¹, 徐宝云¹, 谢圣华², 吉训聪²

(1. 中国农业科学院 蔬菜花卉研究所, 北京 100081;

2. 海南省农业科学院 农业环境与植物保护研究所, 海南 海口 571100)

摘要: 在室内用阿维菌素对小菜蛾进行抗性选育, 结果表明: 小菜蛾对阿维菌素的抗性发展先慢后快, 经过20代14次选育, 与敏感种群相比, 抗性指数为20.92倍。应用域性状分析法, 小菜蛾对阿维菌素的抗性现实遗传力为0.1303, 在致死率为50%~99%的选择压力下, 预计小菜蛾对阿维菌素抗性增长10倍, 需要2.4~15.9代。这表明小菜蛾对阿维菌素产生高水平抗性的风险很大。交互抗性测定结果表明, 阿维菌素抗性小菜蛾种群对甲维盐具有明显的交互抗性, 抗性指数为8.85倍; 对多杀菌素、茚虫威、氟虫腈和溴虫腈类药剂无交互抗性或交互抗性不明显。

关键词: 小菜蛾; 阿维菌素; 抗性风险评估; 交互抗性

中图分类号: S 481⁺.4

文献标志码: A

小菜蛾 [*Plutella xylostella* (L.)] 属鳞翅目菜蛾科, 是世界性的为害十字花科蔬菜的重要害虫之一。长期以来, 对小菜蛾的防治主要依赖化学杀虫剂, 大量使用导致小菜蛾对有机氯、有机磷、氨基甲酸酯、拟除虫菊酯、微生物杀虫剂(Bt)和沙蚕毒素类杀虫剂等^[1]均产生了不同程度的抗药性。小菜蛾已经成为抗性发展最快和抗药性最严重的害虫之一^[2]。

阿维菌素是一种抗生素类杀虫剂, 对害虫、害螨及线虫具有良好的生物活性^[3-4]。我国自20世纪80年代末从国外引进并分离阿维菌素至今, 已开发出许多同类产品, 对防治小菜蛾具有显著的效果, 阿维菌素类产品已成为我国蔬菜生产上防治小菜蛾的主导药剂之一。但是小菜蛾对其的抗药性问题日益突出, 自Wright^[5]报道田间小菜蛾对阿维菌素产生195倍的抗性以来, 陆续有田间小菜蛾对阿维菌素产生抗性的报道, 在我国云南通海地区小菜蛾对阿维菌素的抗性水平达到5000多倍^[6]。此外, 通过2008—2009年全国范围小菜蛾的抗性监测发现, 我国华北、华中、华南等大部分地区的小菜蛾对阿维菌素已产生明显抗药性, 同时由于交互抗性的原因, 导致广东、云南、海南一些菜区阿维菌素类药剂对小菜蛾已完全失效(小菜蛾行业科技项目内部交流资料), 因此, 当前如何延长阿维菌素的使用寿命和合理使用显得非常重要。

有关小菜蛾对阿维菌素抗性的研究已有一些报道, 李腾武等^[7]对宣化田间品系用阿维菌素进行选育13代后, 抗性指数是选育前的93.55倍, 27代后抗性已高达812.7倍。Iqbal等^[8]选育的小菜蛾SERD3种群对阿维菌素的抗性与室内敏感品系相比, 从F7代的60倍经3次选育后至F10代, 抗性增长到220倍。吴青君等^[9]对北京市延庆县小菜蛾的田间抗药性监测发现, 小菜蛾对阿维菌素的敏感性有下降的趋势。梁沛等^[2]研究了AVMs小菜蛾抗性品系对菊酯类和苯甲酰基脲类药剂的敏感性, 发现AVMs抗性品

收稿日期: 2010-04-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(30771431); 公益性行业(农业)科研专项(200803001); 国家科技支撑计划课题(2007BAD48B07-02)

作者简介: 梁延坡(1983-), 男, 河南汝州人, 海南省农业科学院农业环境与植物保护研究所助理研究员, 硕士。

通信作者: 吴青君(1971-), 女, 河北石家庄人, 中国农业科学院蔬菜花卉研究所副研究员, 博士, 主要从事蔬菜害虫的毒理学和综合治理研究。E-mail: wuqj@mail.caas.net.cn

系对 4 种菊酯类药剂均表现出不同程度的交互抗性,而对苯甲酰基脲类杀虫剂无交互抗性。由于害虫在不同抗性水平的抗性机制、遗传方式等可能出现不同表现,如李飞等^[10]研究认为:低抗水平的棉蚜品系,以代谢抗性为主,靶标抗性为辅;中抗水平的棉蚜品系,抑或由于解毒代谢酶的活性显著增强,也可能由于靶标的敏感性显著下降;而高抗水平的棉蚜品系,依赖于代谢抗性和靶标抗性的联合作用。为此,笔者在室内用阿维菌素对小菜蛾进行了抗性选育,在获得低水平抗性种群的基础上,重点进行抗性的现实遗传力和对 5 种新药剂的交互抗性测定,旨在为阿维菌素药剂的合理使用和小菜蛾的抗性治理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试虫源及饲养 小菜蛾采自福建省福州郊区田间甘蓝地,带回室内进行饲养,一部分在室内不接触任何药剂的条件下,饲养 2 年以上作为相对敏感种群(ABM-S)备用;另一部分用 $w = 1.8\%$ 的阿维菌素乳油进行抗药性选育。小菜蛾的饲养采用室内甘蓝苗法^[11],饲养温度 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、相对湿度 $50\% \sim 70\%$ 、光周期 $L:D = 16\text{ h}:8\text{ h}$ 。

1.2 供试药剂 $w = 1.8\%$ 的阿维菌素乳油(abamectin)中国农业大学实验药厂; $25\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 多杀菌素悬乳剂(spinosad),美国陶氏益农公司产品; $w = 1\%$ 的甲胺基阿维菌素苯甲酸盐乳油(甲维盐,emamectin benzoate),潍坊市瑞星农药有限公司; $w = 5\%$ 的氟虫腈乳油(fipronil),拜耳杭州作物科学有限公司; $w = 10\%$ 的溴虫腈悬浮剂(chlorfenapyr),氰胺中国有限公司; $w = 15\%$ 的茚虫威悬浮剂(indoxacarb),美国杜邦公司生产;曲拉通,Triton X-100,BBL,北京中昊时代生物技术中心分装。

1.3 抗性选育 群体饲养的小菜蛾,当幼虫多数进入 3 龄时,根据上一代毒力测定结果,配制杀死种群 70% 左右的药剂浓度。将甘蓝叶片放入配好的阿维菌素药液中浸渍 10 s,取出晾干。然后挑取 3 龄幼虫至药剂处理后的甘蓝叶片上,置于恒温养虫室内隔离饲养,直至化蛹。每一代进行 1 次毒力测定,用于比较抗性增长倍数,若因选择压力较大,种群数量较少时,间隔 1 代再用药剂处理,以使种群保持较大数量^[12]。抗性种群命名为 ABM-R。

1.4 毒力测定和交互抗性测定 毒力测定和交互抗性测定采用叶片浸渍法^[13]。首先进行预备试验,以至小菜蛾 3 龄幼虫的校正死亡率在 $10\% \sim 90\%$ 的供试药剂浓度范围作为毒力测定和交互抗性测定实验的浓度范围,然后将供试药剂按等比级数稀释成 5 ~ 7 个系列浓度,以曲拉通 $\varphi = 0.05\%$ 的水溶液进行浓度稀释,曲拉通 $\varphi = 0.05\%$ 的水溶液作为对照。取新鲜甘蓝苗嫩叶片,分别在各浓度药液中浸渍约 10 s,取出自然晾干后,放入直径 6 cm 培养皿中(垫有滤纸保湿),并分别接入 15 头供试小菜蛾的 3 龄幼虫,每处理 4 次重复。饲养温度为 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$,光周期 $L_h:D_h = 16:8$,相对湿度 70%。分别于饲养 48 h,72 h 后调查幼虫死亡情况。幼虫死亡标准:用毛笔尖轻触试虫虫体,无明显自主反应者视为死亡。若空白对照死亡率在 10% 以上,则需重复实验。测定结果用 POLO 软件分析处理,计算出 LC_{50} 值、95% 置信限等数值。以抗性种群的 LC_{50} 值和敏感种群的 LC_{50} 值的比值作为衡量阿维菌素抗性小菜蛾对其他杀虫剂交互抗性程度的指标,以敏感种群和抗性种群的 LC_{50} 值的 95% 置信限不交叉时,视为差异显著^[14]。

1.5 现实遗传力的估算 根据 Tabashnik 等^[15]的域性状分析法估算现实遗传力: $h^2 = R/S$; $R = [\lg(\text{筛选 } n \text{ 代 } LC_{50}) - \lg(\text{筛选前亲代 } LC_{50})]/n$; $S = i\delta p$, $i = 1.583\ 000\ 0 - 0.019\ 336\ 6\ p + 0.000\ 042\ 8\ p^2 + 3.651\ 94/p$, $(10 < p < 80)$, $p = 100 - \text{平均校正死亡率}$, $\delta p = [1/2(\text{初斜率} + \text{终斜率})]^{-1}$ 。其中, R 为选择反应,表示筛选子代与筛选整个亲代间的平均表现型差异, n 为选择代数, i 为选择强度; S 为选择差异,表示筛选的亲本与整个亲本代间的平均表现型差异, δp 为表型标准差。

1.6 抗性风险评估 根据 $R = [\lg(\text{筛选 } n \text{ 代的 } LC_{50}) - \lg(\text{筛选前的 } LC_{50})]/n$,可以预测筛选后抗性上升 x 倍所需代数 $Gx = \lg x/(h^2 S)$,以及不同选择压力下,抗性上升 10 倍所需的代数 $G = R^{-1} = 1/(h^2 S)$ 。

2 结果与分析

2.1 小菜蛾对阿维菌素的抗性选育 表 1 表明,在室内饲养小菜蛾 20 代,用阿维菌素筛选了 14 代。筛选质量浓度由开始的 $0.1\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 提高到 $9\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,小菜蛾对阿维菌素的 LC_{50} 由选育前的 $0.12\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 提高到目前的 $2.51\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,抗性增长 20.92 倍。小菜蛾对阿维菌素抗性发展前期非常缓慢,至 11 代只增加了 7.25 倍,随后抗性倍数逐渐上升,第 20 代达到中抗水平。

表 1 小菜蛾对阿维菌素的抗性选育

世代	筛选质量浓度/(mg · L ⁻¹)	斜率/(± SE)	LC ₅₀ /(mg · L ⁻¹)	95% 置信限	相对抗性倍数(RR)
F0	0.1	1.43 ± 0.09	0.2	0.07 ~ 0.18	1.00
F2	0.2	1.67 ± 0.08	0.13	0.09 ~ 0.18	1.11
F3	0.6	1.56 ± 0.06	0.25	0.19 ~ 0.34	2.14
F4	0.7	1.49 ± 0.07	0.28	0.20 ~ 0.38	2.34
F6	0.8	1.50 ± 0.06	0.40	0.30 ~ 0.54	3.39
F7	0.8	1.51 ± 0.07	0.33	0.25 ~ 0.45	2.81
F8	1.0	1.74 ± 0.05	0.62	0.48 ~ 0.79	5.17
F10	1.0	2.15 ± 0.05	0.67	0.53 ~ 0.84	5.57
F11	2.0	2.01 ± 0.04	0.86	0.69 ~ 1.08	7.20
F13	3.2	1.77 ± 0.05	1.57	1.22 ~ 2.00	13.05
F15	4.8	1.59 ± 0.05	2.02	1.55 ~ 2.64	16.83
F17	6.4	1.46 ± 0.06	2.18	1.60 ~ 2.95	18.17
F19	8.0	1.60 ± 0.09	2.42	1.61 ~ 3.65	20.17
F20	9.0	1.50 ± 0.24	2.51	0.82 ~ 7.61	20.92

2.2 小菜蛾对阿维菌素的抗性现实遗传力 在饲养的 20 代幼虫中,有 14 代用阿维菌素筛选,采用域性状分析法估算抗性现实遗传力(h^2)为 0.130 3,在筛选的前期(F0 ~ F11)连续的筛选估计的 h^2 值较高,为 0.160 7;而在 F12 ~ F20,9 代中有 5 代受到阿维菌素的筛选,4 代未筛选,据此估计的 h^2 较低,仅为 0.053 0,比连续筛选显著下降,表明在间断筛选下小菜蛾对阿维菌素的抗性发展缓慢(见表 2)。

表 2 小菜蛾对阿维菌素的抗性现实遗传力

世代	平均选择反应			平均选择差异				现实遗传力(h^2)
	初 LC ₅₀	终 LC ₅₀	选择反应(R)	存活率(P)	选择强度(i)	标准差(δp)	选择差异(S)	
9(F0 ~ F11)	0.120 5	0.869 7	0.095 3	37.08	1.023 4	0.579 5	0.593 1	0.160 7
5(F12 ~ F20)	1.572 9	2.512 9	0.039 6	29.89	1.165 5	0.610 2	0.747 8	0.053 0
14	0.120 5	2.512 9	0.094 2	34.51	1.062 6	0.607 8	0.723 1	0.130 3

2.3 抗性风险评估 根据实验得出的现实遗传力 $h^2=0.130 3$,假设筛选过程中平均斜率为 1.645 2,即 $\delta p=0.607 8$,当阿维菌素对小菜蛾的致死率为 50%,60%,70%,80%,90%,99%时,对抗性提高 10 倍所需的代数分别进行预测,由图 1 可以看出,小菜蛾的抗药性发展速率随着阿维菌素的致死率(即选择压力)的提高而加快。在致死率分别为 50% ~ 99%时,小菜蛾对阿维菌素的抗性上升 10 倍,需要 2.4 ~ 15.9 代。

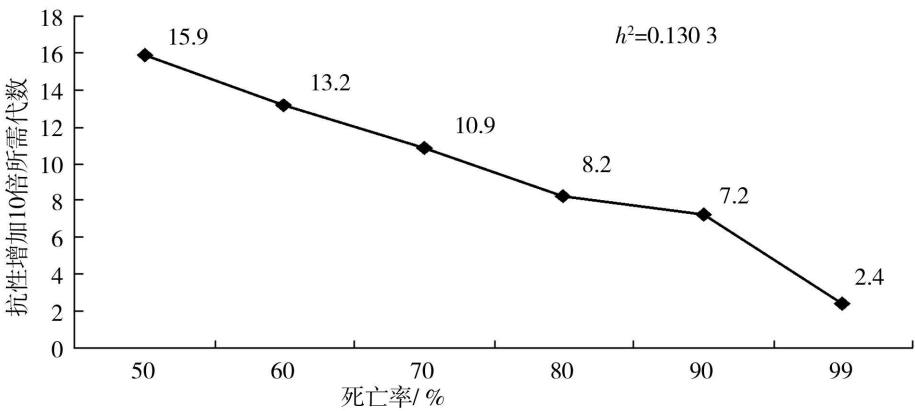


图 1 不同选择压力下小菜蛾对阿维菌素抗性发展 10 倍所需世代的影响

2.4 交互抗性测定 交互抗性测定结果见表 3。阿维菌素抗性品系对常用的 5 种杀虫剂的敏感性有不同程度的下降,对阿维菌素的同类产品——甲维盐产生了明显的交互抗性(抗性指数为 8.85 倍),敏感种群和抗性种群对茚虫威和多杀菌素 LC₅₀值的 95% 置信限没有交叉,也达到了显著水平,有产生交互抗性的可能。对氟虫腈和溴虫腈无交互抗性,可以在生产中交替轮换使用。

表3 5种药剂对阿维菌素的交互抗性测定

药 剂	种群	斜率(±SE)	LC ₅₀ /(mg·L ⁻¹)	95%置信限	比值
阿维菌素	ABM-S	1.43±0.09	0.12	0.07~0.18	20.92 [*]
	ABM-R	1.50±0.24	2.51	0.82~7.61	
多杀菌素	ABM-S	2.00±0.05	1.5	1.15~1.96	2.56 [*]
	ABM-R	1.68±0.06	3.85	2.86~5.19	
甲维盐	ABM-S	0.88±0.15	0.09	0.04~0.19	8.85 [*]
	ABM-R	1.06±0.12	0.84	0.47~1.50	
茚虫威	ABM-S	1.15±0.09	1.09	0.72~1.66	4.32 [*]
	ABM-R	1.41±0.06	4.77	3.54~6.43	
溴虫腈	ABM-S	2.18±0.05	1.29	1.03~1.62	1.12
	ABM-R	1.64±0.08	1.45	1.00~2.08	
氟虫腈	ABM-S	1.44±0.04	0.53	0.43~0.66	2.12
	ABM-R	2.16±0.20	1.13	0.45~2.79	

注:* 表示差异显著

3 讨 论

在研究杀虫剂抗药性时,为避免田间防治过程中多种杀虫剂对目标昆虫的共同选择以及昆虫迁飞对种群基因库的影响,经常需要通过室内抗性选育获得抗性种群,并在此基础上对抗性风险、交互抗性和抗性机制等问题进行探讨。本实验筛选的小菜蛾通过室内筛选获得了 20.92 倍的中等抗性种群,虽然低于何捷^[16]和李腾武^[7]的 99.5~125.1 倍的高水平抗性,但筛选结果可以继续用来进行抗性风险评估的应用。Tabashnik 等^[13]研究表明,3 个夏威夷小菜蛾田间种群对 Bt 的抗性现实遗传力为 0.14,0.17,0.18。牛洪涛等^[17]研究了小菜蛾对丁烯氟虫腈的抗性遗传力及风险评估,结果表明,对小菜蛾进行 13 代抗性筛选后,估算其现实遗传力为 0.220 6,同时预测了在田间用药杀死种群 80%~90% 时,小菜蛾对丁烯氟虫腈的抗性要提高 10 倍,丁烯氟虫腈可持续使用 10~13 代。本研究结果表明,小菜蛾抗性选育 14 代后,估算其现实遗传力(h^2)为 0.130 3。在致死率为 50%~99% 时,抗性上升 10 倍需要 2.4~15.9 代。预示着田间的高强度选择压力下,将导致小菜蛾对阿维菌素产生高水平抗性的可能性。

由于在室内的抗性选育是个封闭的、环境相对稳定,因而环境方差比田间要小,选育实验估算的 h^2 可能比田间的实际值偏高,因此,室内筛选的结果虽不能直接应用于田间,但其在一定程度上也反映了该药剂的基本特点,仍然可以为及时制定相应的田间防治抗性治理策略提供理论依据。因此,有必要在小菜蛾对阿维菌素尚未产生抗性或在抗性发展的早期阶段,制定相应的预防性抗性治理策略,尽可能地限制阿维菌素的使用次数。

害虫对某种杀虫剂产生抗性后,对其他没有使用过的杀虫剂产生的交互抗性已成为化学防治中的一个重要问题。交互抗性不仅严重威胁新型杀虫剂的推广应用,还会影响交替、轮换用药等抗性治理措施的有效性和可行性,因此,明确交互抗性谱是抗性治理的前提和基础。本研究结果表明,阿维菌素在田间防治小菜蛾时存在产生高抗性的风险,已有的报道^[5-7,18]已印证此结论。从阿维菌素筛选的小菜蛾抗性品系对其他 5 种药剂的敏感性变化情况,发现抗性种群对甲维盐表现出 8.85 倍的交互抗性,而对多杀菌素、茚虫威、溴虫腈、氟虫腈 4 种药剂无交互抗性或交互抗性不明显。这与 Sayyed & Wright^[19]的交互抗性研究结果一致。根据上述研究的结果,合理有效地轮用或混用阿维菌素、多杀菌素、茚虫威、溴虫腈、氟虫腈等杀虫剂是小菜蛾抗性治理的一种有效策略。

参考文献:

[1] 吴青君,张文吉,朱国仁. 小菜蛾的发生为害特点及抗药性现状[J]. 中国蔬菜,2001(5):49-51.
[2] 梁沛,高希武,郑丙宗,等. 小菜蛾对阿维菌素的抗性机制及交互抗性研究[J]. 农药学报,2001,3(1):41-45.
[3] FISHER M H. Avermectin 研究的最新进展[J]. 武辉,译. 农药译丛,1991,13(3):19-56.
[4] MERCK S, DOHNE M. 试验性杀虫杀螨剂 Abamectin[J]. 武辉,译. 农药译丛,1991,13(4):56-58.
[5] WRIGHT D J, IQBAL M, VERKERK R H J. Resistance to *Bacillu thuringiensis* and abamectin in the diamondback moth,

- Plutella xylostella*; a major problem for integrated pest management[J]. Mededelingen-Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische wetenschappen, universiteit Gent, 1995, 60(36): 927–933.
- [6] PU Xin, YANG Yi-hua, WU Shu-wen, et al. Characterisation of abamectin resistance in a field-evolved multiresistant population of *Plutella xylostella*[J]. Pest Management Science, 2009, 66(4): 371–378.
- [7] 李腾武, 高希武, 司升云, 等. 小菜蛾对阿维菌素的抗性选育及遗传特性的研究[J]. 世界农药, 1999, 21(增刊2): 109.
- [8] IQBAL M, WRIGHT D J. Evaluation of resistance, cross-resistance and synergism of abamectin and teflubenzuron in a multi-resistant field population of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae)[J]. Bulletin of Entomological Research, 1997, 87: 481–486.
- [9] 吴青君, 徐宝云, 朱国仁, 等. 京郊延庆县小菜蛾种群抗药性监测[J]. 中国蔬菜, 2005(7): 25–26.
- [10] 李飞, 韩召军, 唐波. 抗性品系棉蚜乙酰胆碱酯酶和羧酸酯酶的变异[J]. 昆虫学报, 2003, 46(5): 578–583.
- [11] 杨峰山, 张友军, 张文吉, 等. 用甘蓝苗连续饲养小菜蛾的技术[J]. 昆虫知识, 2004, 41(5): 483–486.
- [12] 杨峰山, 吴青君, 徐宝云, 等. 小菜蛾对 Bt 毒素 Cry1Ac 和 Bt 制剂抗性的选育及其抗性种群的生物学适应性[J]. 昆虫学报, 2006, 49(1): 64–69.
- [13] TABASHNK B E, CUSHING N L, JOHNSON M W. Diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) resistance to insecticides in Hawaii: intrasland variation and cross-resistance [J]. Journal of Economic Entomology, 1987, 80: 1091–1099.
- [14] 吴青君, 张文吉, 张友军, 等. 小菜蛾对阿维菌素的抗性选育及交互抗性研究[J]. 植物保护学报, 2002, 29(3): 239–243.
- [15] TABASHNIK B E, MCGAUGHEY W H. Resistance risk assessment for single and multiple insecticide: response of Indian meal moth (Lepidoptera: Pyralidae) to *Bacillus thuringiensis*[J]. Journal Economic Entomology, 1994, 87(4): 834–841.
- [16] 何捷, 张雪燕. 小菜蛾对阿维菌素的抗性形成规律[J]. 西南农业学报, 2000, 13(2): 67–70.
- [17] 牛洪涛, 罗万春, 宗建平, 等. 小菜蛾对丁烯氟虫腈的抗性遗传力及风险评估[J]. 植物保护学报, 2008, 35(2): 165–168.
- [18] 吴永汉, 张纯胃, 许方程, 等. 小菜蛾对阿维菌素和抑太保的抗性监测及治理对策研究[J]. 温州大学学报, 2005, 18(2): 37–41.
- [19] SAYYED A H, WRIGHT D J. Genetics and evidence for an esterase-associated mechanism of resistance to indoxacarb in a field population of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) [J]. Pest Management Science, 2006, 62(11): 1045–1051.

Resistance Risk Assessment and Cross-Resistance of *Plutella xylostella* to Abamectin

LIANG Yan-po^{1,2}, WU Qing-jun¹, ZHANG You-jun¹, XU Bao-yun¹, XIE Sheng-hua², JI Xun-cong²

(1. Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China ;

2. Institute of Agroenvironment & Plant Protection, Hainan Academy of Agricultural Science, Haikou 571100, China)

Abstract: A laboratory selection was conducted for *Plutella xylostella* resistance to abamectin. The results showed that the resistance developed slowly at first and then quickly during the selection. After 14 times of selection during the 20 generations, *P. xylostella* exhibited 20.92-folds resistance to abamectin compared to the unselcted parent strain. Estimation of realized heritability (h^2) of resistance was studied based on the Tabashnik's method and the h^2 for the entire selection experiment was 0.1303. It required 2.4 to 15.9 generations for *P. xylostella* to obtain 10 fold increase in resistance ratio under selective pressure of 50% to 99% mortality for each selective generation. These results suggested that *P. xylostella* might have the risk to develop high resistance to abamectin. The susceptibility of the resistant strain to other five insecticides was also tested. The results indicated that the resistant strain had an obvious cross-resistance to emamectin benzoate with a resistant ratio was 8.85 fold, but it had no or low cross-resistance to spinosad, indoxacarb, fiprronil and chlorfenapyr.

Key words: *Plutella xylostella*; abamectin; resistance risk assessment; cross-resistance