

陈洪凡,杨迎青,兰 波,等. 小菜蛾对氰氟虫腙的抗药性选育及抗性风险分析[J]. 江苏农业科学,2018,46(17):94-96.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.17.023

# 小菜蛾对氰氟虫腙的抗药性选育及抗性风险分析

陈洪凡, 杨迎青, 兰 波, 梁玉勇

(江西省农业科学院植物保护研究所,江西南昌 330200)

**摘要:**为了解小菜蛾对氰氟虫腙的抗药性规律,通过氰氟虫腙对小菜蛾田间种群抗性选育 20 代后,得到小菜蛾相对抗性品系。结果表明,与选育前比较,选育后小菜蛾敏感性降低 9.17 倍,与室内敏感品系比较,其敏感性降低 27.31 倍;对抗性现实遗传力( $h^2$ )进行分析,其  $h^2$  为 0.133 3;抗性风险评估结果表明,在 50%、60%、70%、80%、90% 的选择压力下,抗性增加 100 倍所需的代数分别为 33.5、27.5、23.0、19.1、15.2 代。

**关键词:**小菜蛾;氰氟虫腙;抗药性选育;抗性风险评估

**中图分类号:**S481<sup>+</sup>.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2018)17-0094-03

小菜蛾(*Plutella xylostella* L.)是十字花科蔬菜的主要害虫,也是抗药性最严重的害虫之一。据不完全统计,小菜蛾已经对 70 多种杀虫剂产生了抗药性,包括有机氯、有机磷、氨基甲酸酯、拟除虫菊酯类及昆虫生长调节剂和苏云金杆菌等杀虫剂<sup>[1]</sup>,而且其交互抗性谱广、抗性水平高、发展速度快,对十字花科蔬菜的生产造成了极大威胁<sup>[2]</sup>。

氰氟虫腙(商品名为艾法迪)是当前德国巴斯夫公司大力推广的新产品,2009 年在我国获准登记,主要用于防治甘蓝上的小菜蛾和甜菜夜蛾<sup>[3]</sup>。氰氟虫腙具有全新的作用机制,是神经元钠离子通道阻断剂<sup>[4]</sup>。由于其独特的化学结构和新颖的作用方式,在全球大量室内毒力测定中,均未发现氰氟虫腙与现有的各类杀虫剂(如有机磷类、氨基甲酸酯类、拟除虫菊酯类、烟碱类、阿维菌素以及苯甲酰基脲类)存在交互抗性,因此,可以很好地防治对上述药剂产生抗性的害虫<sup>[3]</sup>。迄今为止,尚未见小菜蛾对氰氟虫腙产生抗性的报道。但是,抗药性是一种普遍现象,目前尚未有阻止抗药性产生的方法和技术<sup>[5]</sup>。随着氰氟虫腙的大量连续使用,小菜蛾也会对其产生抗药性,氰氟虫腙的防效会逐渐变为低效甚至无效。抗药性是导致小菜蛾猖獗发生的重要原因之一,也是影响杀虫剂使用效果的关键因

子。因此,研究小菜蛾对氰氟虫腙的抗药性发展规律,对合理用药、制定有效的抗性治理策略具有重要意义。

本研究在室内选育了小菜蛾抗氰氟虫腙品系,并通过抗性现实遗传力( $h^2$ )评估了小菜蛾对氰氟虫腙的抗性风险,旨在为探讨小菜蛾对氰氟虫腙的抗性形成规律,保护和延长新型杀虫剂氰氟虫腙的使用寿命以及为小菜蛾对氰氟虫腙的抗性治理提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试虫源及饲养

小菜蛾敏感品系(S):笔者所在研究室继代饲养的种群,在养虫室[温度( $25 \pm 1$ )℃、相对湿度 65%~70%、光暗比(L:D)=16 h:8 h]不接触任何药剂的条件下,采用蛭石萝卜苗法饲养。

抗氰氟虫腙品系(R):在室内用氰氟虫腙对田间种群连续汰选获得。小菜蛾田间种群(幼虫)采自江西省农业科学院蔬菜花卉研究所基地,饲养条件同 S 品系。

### 1.2 供试药剂

95% 氰氟虫腙原药、丙酮(上海焱晨化工实业有限公司)、吐温-80(天津市恒兴化学试剂制造有限公司)。

### 1.3 试验方法

1.3.1 抗性品系选育 抗性选育:采用 2013 年采集的江西省南昌市种群继代饲养,当群体饲养的小菜蛾幼虫多数进入 3 龄时,参照 Ismail 等的方法<sup>[6]</sup>,根据上一代毒力测定结果,

收稿日期:2017-03-14

基金项目:江西省农业科学院创新基金博士启动项目(编号:2012CBS001)。

作者简介:陈洪凡(1978—),男,山东临沂人,博士,副研究员,主要从事害虫综合治理研究。E-mail:hongfan211@sohu.com。

[12] 杨宇红,吕红豪,杨翠荣,等. 甘蓝枯萎病苗期抗性鉴定技术及抗源筛选[J]. 植物保护学报,2011,38(5):425-431.

[13] 吴学宏,郝京京,王红梅,等. 西瓜枯萎病菌几种接种方法比较试验[J]. 长江蔬菜,2003(3):38-39.

[14] Zhou X G, Everts K L. Races and inoculum density of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* in commercial watermelon fields in Maryland and Delaware[J]. Plant Disease, 2003, 87(6):692-698.

[15] Njoroge S M, Riley M B, Keinath A P. Effect of incorporation of *Brassica* spp. residues on population densities of soilborne microorganisms and on damping-off and *Fusarium* wilt of watermelon[J]. Plant Disease, 2008, 92(2):287-294.

[16] 刘朋友,别之龙,彭 斌,等. 甜瓜品种抗枯萎病的苗期鉴定[J]. 中国瓜菜,2011,24(2):11-13.

[17] Wheeler T A, Rowe R. Influence of soil characteristic and assay techniques on quantification of *Verticillium dahliae* in Ohio soils[J]. Plant Disease, 1995, 79(1):29-34.

[18] 李伦光. 土壤因子对黄栌枯萎病发生的影响及病害防治的初步研究[D]. 北京:北京林业大学,2008.

[19] 刘朋友. 甜瓜枯萎病苗期接种鉴定体系建立及其应用[D]. 武汉:华中农业大学,2011.

[20] 寇清荷,梁志怀,王志伟,等. 西瓜枯萎病菌生理小种鉴定与抗病育种研究进展[J]. 中国蔬菜,2012(14):9-17.

配制杀死种群 30% ~ 70% 的剂量。加入 1% 的吐温 - 80 水溶液,将用丙酮溶解的氰氟虫腙稀释成一定浓度。将甘蓝叶片放入相应处理药液中浸渍 10 s,取出晾干接入小菜蛾 3 龄幼虫,然后置于恒温养虫室内隔离饲养,72 h 后将活虫挑出转移至新鲜未经药液处理的萝卜幼苗上饲喂,直至化蛹。存活个体作为下一代虫种,逐代淘汰选择,筛选浓度逐渐提高。

生物测定方法:采用叶片药膜法。用洁净甘蓝 (*Brassica oleracea*) 剪成直径 6 cm 的圆片 (避免主叶脉),将叶片在药液中浸泡 10 s 后取出晾干,置于直径 7 cm 的培养皿中,接入 10 头 3 龄初幼虫,覆盖双层吸水卷纸,盖上培养皿上盖。将其正面向上置于温度 (25 ± 1) °C、相对湿度 65% ~ 70%、光暗比 (L : D) = 16 h : 8 h 的培养箱中。每个处理 4 次重复,设清水处理叶片为对照。72 h 后检查死亡率,用小毛笔或尖锐镊子轻触虫体,虫体没有反应或者不能协调运动视为死亡。用张志祥等的方法计算毒力回归方程、LC<sub>50</sub> 值及其 95% 置信区间<sup>[7]</sup>。参照孙洪武等对家蝇的抗性级别划分标准,以抗性倍数高低划分抗性水平级别,从而确定小菜蛾的抗性级别<sup>[8]</sup>,抗性倍数 ≤ 3 倍为敏感;3 < 抗性倍数 ≤ 5 倍为敏感水平下降;5 < 抗性倍数 ≤ 10 倍为低水平抗性;10 < 抗性倍数 ≤ 40 倍为中等水平抗性;40 < 抗性倍数 ≤ 160 倍为高水平抗性;抗性倍数 > 160 倍为极高水平抗性。

表 1 小菜蛾对氰氟虫腙抗性品系的选育 (田间种群)

世代	毒力回归方程	相关系数 (r)	LC <sub>50</sub> (mg/L)	LC <sub>50</sub> 的 95% 置信区间 (mg/L)	抗性倍数
F <sub>0</sub>	y = 2.038 4 + 2.207 9x	0.973 6	21.95	17.78 ~ 27.08	1.00
F <sub>1</sub>	y = 2.003 8 + 1.998 0x	0.984 9	31.59	24.92 ~ 40.05	1.44
F <sub>2</sub>	y = 2.590 4 + 1.489 4x	0.995 0	41.48	30.16 ~ 57.05	1.89
F <sub>3</sub>	y = 2.169 7 + 1.810 5x	0.995 5	36.58	28.35 ~ 47.19	1.67
F <sub>4</sub>	y = 2.478 4 + 1.715 4x	0.996 2	29.51	22.85 ~ 38.11	1.34
F <sub>5</sub>	y = 2.704 7 + 1.456 1x	0.998 9	37.70	27.92 ~ 50.90	1.72
F <sub>9</sub>	y = 2.165 2 + 1.825 3x	0.996 7	35.74	28.08 ~ 45.48	1.63
F <sub>12</sub>	y = 2.117 2 + 1.586 2x	0.999 6	65.69	47.15 ~ 91.51	2.99
F <sub>14</sub>	y = 2.007 9 + 1.492 5x	0.997 4	101.10	74.13 ~ 137.89	4.61
F <sub>16</sub>	y = 2.292 8 + 1.274 2x	0.990 9	133.23	94.53 ~ 187.76	6.07
F <sub>18</sub>	y = 2.026 6 + 1.319 3x	0.990 7	179.33	129.12 ~ 249.07	8.17
F <sub>20</sub>	y = 1.886 2 + 1.351 5x	0.991 5	201.32	146.43 ~ 276.78	9.17

由表 2 结果可知,室内敏感品系的 LC<sub>50</sub> 值为 7.37 mg/L。根据表 3 结果可知,选育 12 代后的小菜蛾田间品系相对于室内敏感品系抗性倍数为 8.91,仍为低水平抗性,表明抗性发展

1.3.2 抗性风险评估 抗性现实遗传力 ( $h^2$ ) 的估算采用 Tabashnik 阈性状分析方法<sup>[9]</sup>。根据公式  $h^2 = R/S$  计算。式中,选择反应:  $R = (\text{筛选后第 } n \text{ 代 } LC_{50} \text{ 的对数值} - \text{筛选前亲代 } LC_{50} \text{ 的对数值})/n$ ;选择强度:  $i = 1.5830000 - 0.0193336P + 0.0000428P_2 + 3.6519400/P (10 < P < 80)$ ;  $P = 100 - \text{平均校正死亡率}$ ,  $P$  表示筛选成活率;选择差异:  $S = i\delta_p$ ;表现型标准差:  $\delta_p = 2/(\text{筛选过程中第 } 1 \text{ 代毒力回归线的斜率} + \text{最后 } 1 \text{ 代毒力回归线的斜率})$ 。

根据  $h^2$ ,可以预测抗性上升  $x$  倍所需代数 [ $G_x = \lg x/(h^2 S)$ ] 及当产生 100 倍抗性时,所需筛选代数 [ $G_{100} = 2/(h^2 S)$ ]。可根据  $h^2$  和选择差异  $S$  预测不同选择强度 (50%、60%、70%、80%、90%、99%) 条件下,抗性增加 100 倍所需的代数。

2 结果与分析

2.1 小菜蛾对氰氟虫腙抗性品系的选育

本研究以田间种群为抗药性汰选起始种群。由表 1 结果可知,持续选育 9 代,LC<sub>50</sub> 值变化不大,仅为 35.74 mg/L。之后处理浓度逐渐提高,12 代后抗性上升速度相对较快,选育 20 代后,LC<sub>50</sub> 值为 201.32 mg/L,小菜蛾对氰氟虫腙的抗性相对于出发种群为 9.17 倍,仍为低水平抗性。

表 2 氰氟虫腙对小菜蛾敏感品系 3 龄初期幼虫的室内毒力测定

种群	毒力回归方程	LC <sub>50</sub> (mg/L)	LC <sub>50</sub> 的 95% 置信区间 (mg/L)	相关系数
室内敏感种群	y = 3.324 7 + 1.931 1x	7.37	5.80 ~ 9.37	0.961 5

2.2 小菜蛾对氰氟虫腙的抗性现实遗传力

小菜蛾对氰氟虫腙的抗性现实遗传力估算结果见表 4。

2.3 小菜蛾对氰氟虫腙抗性发展速率预测

根据整个筛选阶段的抗性现实遗传力,假设氰氟虫腙对小菜蛾的杀死率为 50%、60%、70%、80%、90% 和 99%,对抗性提高 100 倍所需的代数分别进行了预测。由图 1 可知,当  $h^2 = 0.1333$ 、死亡率为 50% ~ 60% 时,小菜蛾对氰氟虫腙抗性增长 100 倍需要 34 ~ 28 代;当  $h^2 = 0.1333$ 、死亡率为 90% 以上时,小菜蛾对氰氟虫腙抗性增长 100 倍则最多需要 16

缓慢。小菜蛾田间品系选育 14 代后,对氰氟虫腙的抗性相对于室内敏感品系为 13.72 倍,达到中等水平抗性,到选育 20 代后,其抗性指数达到 27.31 倍,抗性发展体现上升的特点。

代。综上所述,不同防治效果 (不同致死率) 下,抗性上升 100 倍所需代数不同,所需代数随防治效果 (即选择压力) 的提高而减少。

3 结论与讨论

害虫抗药性的产生给防治工作带来了较大困难,了解其抗药性发生规律可以为害虫田间综合防治策略制定提供理论依据。害虫抗药性发展的速度和程度与药剂类型、药剂选择压力、害虫种类及原始种群的抗性水平有关<sup>[10]</sup>。在小菜蛾抗

表 3 小菜蛾抗氰氟虫腙品系相对于敏感品系的抗性倍数

世代	抗性倍数
F <sub>0</sub>	2.98
F <sub>1</sub>	4.29
F <sub>2</sub>	5.63
F <sub>3</sub>	4.96
F <sub>4</sub>	4.00
F <sub>5</sub>	5.11
F <sub>9</sub>	4.85
F <sub>12</sub>	8.91
F <sub>14</sub>	13.72
F <sub>16</sub>	18.07
F <sub>18</sub>	24.33
F <sub>20</sub>	27.31

表 4 小菜蛾对氰氟虫腙的抗性现实遗传力

筛选代数	平均选择反应			每代平均选择差异				$h^2$
	始 LC <sub>50</sub> (mg/L)	终 LC <sub>50</sub> (mg/L)	$R$	$P$ (%)	$i$	$\delta_p$	$S$	
20	21.945 8	201.321 5	0.048 1	59.720 0	0.642 2	0.561 9	0.360 9	0.133 3

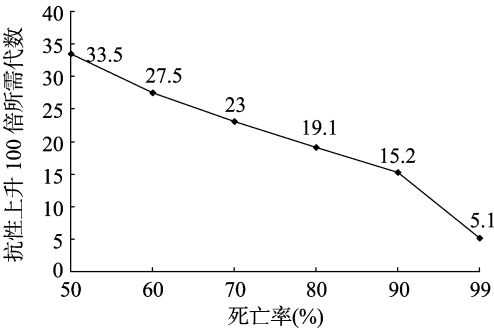


图 1 不同选择压力下小菜蛾对氰氟虫腙的抗性发展速度

研究了小菜蛾对氰氟虫腙的抗性现实遗传力 ( $h^2=0.133\ 3$ ), 以此对抗性发展速率进行预测。按照本研究结果, 当死亡率为 90% 时, 预计小菜蛾对氰氟虫腙抗性增长 100 倍需要 15.2 代; 其次, 由于小菜蛾生长周期短, 繁殖系数高, 有利于抗药性的形成<sup>[14]</sup>, 可见小菜蛾对氰氟虫腙有产生抗性的风险。室内抗性风险评估可以为田间抗性预报提供理论参考。虽然在田间条件下, 受抗性个体迁出和敏感个体迁入以及环境和选择压力等因素的影响, 表现型变异遗传方差和环境方差变动比室内条件下大<sup>[15]</sup>, 从而导致小菜蛾对氰氟虫腙产生抗性的风险低于室内筛选, 但生产上也要做好敏感性监测和药剂混用等措施, 特别是在小菜蛾对氰氟虫腙抗性发展的早期阶段, 要结合农业防治和生物防治措施, 制定相应的预防性治理措施, 以延缓或避免抗药性的产生。

参考文献:

[1] Sun J Y, Liang P, Gao X W. Cross - resistance patterns and fitness in fufenozide - resistant diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) [J]. Pest Managment Science, 2012, 68 (2): 285 - 289.

[2] Talekar N S, Sheloten A M. Biology, ecology and management of the diamondback moth [J]. Annual Review of Entomology, 1993, 38:

药性选育研究方面, 陈之浩等用杀虫双和杀螟丹在实验室以点滴法处理小菜蛾 4 龄幼虫以连续继代药剂淘汰选育至 35 代, 药剂汰选的小菜蛾对杀虫双和杀螟丹的抗性较选育前正常品系分别提高了 51 倍和 25 倍<sup>[11]</sup>; 牛洪涛等用丁烯氟虫腙对小菜蛾敏感品系在室内经 7 代药剂汰选, 获得了抗性品系 ( $R$ ), 与敏感品系 ( $S$ ) 比较其抗性指数为 77.58 倍<sup>[12]</sup>; 夏耀民在室内对敏感品系小菜蛾进行了茚虫威的抗性选育, 筛选 24 代后, 获得了抗性倍数为 12.77 的中等水平抗药性品系<sup>[13]</sup>。

本研究通过室内筛选小菜蛾田间种群获得了小菜蛾对氰氟虫腙的相对抗性品系, 对氰氟虫腙敏感性降低了 9.17 倍, 仍然属于低水平抗性。在筛选过程中, 小菜蛾对氰氟虫腙的抗性发展规律从选育第 1 代到第 12 代, 其抗性发展缓慢, 选育 14 代后至 20 代, 抗性发展加快。通过采用域性状分析法,

275 - 301.

[3] 刘广雷, 韩文素, 姚志刚. 新型杀虫剂氰氟虫腙作用机理及应用现状 [J]. 河北农业科学, 2010, 14 (8): 61 - 63.

[4] Salgado V L, Hayashi J H. Metaflumizone is a novel sodium channel blocker insecticide [J]. Veterinary Parasitology, 2007, 150 (3): 182 - 189.

[5] 潘 飞, 秦 双, 严春雨. 斜纹夜蛾对 15 种杀虫剂的抗药性监测 [J]. 江西农业大学学报, 2014, 36 (5): 1042 - 1047.

[6] Ismail F, Wright D J. Cross - resistance between acylurea insect growth regulators in a strain of *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae) from Malaysia [J]. Pest Management Science, 1991, 33 (3): 359 - 370.

[7] 张志祥, 徐汉虹, 程东美. Excel 在毒力回归计算中的应用 [J]. 昆虫知识, 2002, 39 (1): 67 - 70.

[8] 孙洪武, 韩召军, 王荫长, 等. 江苏省主要棉区棉铃虫对有机磷杀虫剂的抗性 [J]. 江苏农业学报, 1999, 15 (4): 206 - 210

[9] Tabashnik B E. Resistance risk assessment; realized heritability of resistance to *Bacillus thuringiensis* in diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae), tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae), and colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) [J]. Journal of Economic Entomology, 1992, 85 (5): 1551 - 1559.

[10] 张雪燕, 何 婕. 小菜蛾对阿维菌素 B1 抗药性选育及交互抗性 [J]. 植物保护学报, 2001, 28 (2): 163 - 168.

[11] 陈之浩, 刘传秀, 李凤良. 杀虫双和杀螟丹选育对小菜蛾抗药性的形成及其抗性机制 [J]. 昆虫学报, 1993, 36 (4): 409 - 417.

[12] 牛洪涛, 宗建平, 王海迎, 等. 小菜蛾对丁烯氟虫腙的抗性选育及生物适合度 [J]. 农药学报, 2007, 9 (3): 245 - 250.

[13] 夏耀民. 小菜蛾对茚虫威抗药性研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2014.

[14] 牛洪涛, 宗建平, 王海迎. 小菜蛾对丁烯氟虫腙的抗性选育及生物适合度 [J]. 农药学报, 2007, 9 (3): 245 - 250.

[15] 贾变桃, 沈晋良, 刘叙杆. 甜菜夜蛾对虫酰肼的抗性选育、风险评估及交互抗性 [J]. 昆虫学报, 2007, 50 (11): 1116 - 1121.