

灰飞虱对氟虫腈抗性风险评估、遗传分析及杀虫剂敏感性研究

彭永强¹ 高聪芬¹ 马崇勇² 毛玉霞¹ 沈晋良^{1,*}

(¹南京农业大学 植物保护学院 农药科学系/农业部作物病虫害监测与防控重点开放实验室, 江苏 南京 210095; ²内蒙古自治区草原工作站, 内蒙古 呼和浩特 010020; * 通讯联系人, E-mail: jlshen@njau.edu.cn)

Risk Assessment and Genetic Analysis of Fipronil Resistance and Insecticide Susceptibility in the Small Brown Planthopper, *Laodelphax striatellus* (Homoptera: Delphacidae)

PENG Yong-qiang¹, GAO Cong-fen¹, MA Chong-yong², MAO Yu-xia¹, SHEN Jin-liang^{1,*}

(¹Department of Pesticide Science, College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University/Key Laboratory of Monitoring and Management of Crop Diseases and Pest Insects, Ministry of Agriculture, Nanjing 210095, China; ²Inner Mongolia Rangeland Station, Huhhot 010020, China; * Corresponding author, E-mail: jlshen@njau.edu.cn)

Abstract: Risk assessment and genetic analysis on fipronil resistance and insecticide susceptibility in the small brown planthopper were conducted in laboratory by rice stem dipping method. After 41-generation selection with fipronil in 43 generations, the resistance level of the small brown planthopper (a population of *L. striatellus* from the wheat fields in Wuxi City, Jiangsu Province in 2005) to fipronil increased from 8.4- to 230.5-fold compared with the susceptible strain, and the realized heritability (h^2) of resistance at different selection stages according to the method described by Tabashnik was estimated as 0.0388 (F_1 to F_{31}), 0.2636 (F_{32} to F_{43}) and 0.1113 (F_1 to F_{43}), respectively. It is suggested that the *L. striatellus* had the definite risk of resistance to fipronil. The susceptibilities to 15 insecticides were evaluated in two field populations of *L. striatellus*, collected from Wuxi City, Jiangsu Province and Changxing County, Zhejiang Province in 2007 and 2008 by the rice stem dipping method. The results showed that the highest toxic insecticides to the insect was a phenyl-pyrazole class of insecticides including fipronil, butylene-fipronil and ethiprole (LC_{50} : 0.2–1.7 mg/L), followed by thiamethoxam, nitenpyram, pymetrozine and chlorpyrifos (LC_{50} : 1.7–9.7 mg/L), and toxicity of the others was lower. According to a year-to-year variation in susceptibility, it was noted that susceptibilities to fipronil and ethiprole in *L. striatellus* population from Wuxi City in 2008 were reduced with a reducing rate of 1.1-fold, compared with those to the two insecticides in 2007. Fipronil was used widely for controlling this insect in recent years, but ethiprole wasn't. Therefore, it seems that the *L. striatellus* population whose susceptibility to fipronil was reduced had cross-resistance to ethiprole. Inheritance characteristic of resistance to fipronil in *L. striatellus* was studied through assaying dose-response data of the resistant (R) and susceptible (S) parents, reciprocal crosses (F_1 , F_1'), self-bred (F_2) and backcross (BC) progenies to fipronil by the rice stem dipping method, and the results showed that the resistance to fipronil in *L. striatellus* was found to be polygenic, autosomal and inherited as a partial dominance trait [$D(F_1) = 0.20$, $D(F_1') = 0.38$]. Resistance management in *L. striatellus* was also discussed.

Key words: *Laodelphax striatellus*; insecticide; inheritance of resistance; insecticide susceptibility; resistance management

摘要: 在室内采用稻茎浸渍法进行了灰飞虱对氟虫腈抗性风险评估、抗性遗传分析和杀虫剂的敏感性研究。于2005年采自无锡麦田的灰飞虱种群在室内饲养43代期间用氟虫腈筛选了41代,结果此灰飞虱种群的抗性从8.4倍上升到230.5倍。根据Tabashnik介绍的方法计算,现实遗传力(h^2)分别为0.0388(1~31代)、0.2636(32~43代)和0.1113(1~43代),表明灰飞虱对氟虫腈具有一定的抗性风险。采用稻茎浸渍法测定了2007-2008年江苏无锡和浙江长兴两地灰飞虱种群对15种杀虫剂的敏感性,结果表明,苯基吡唑类杀虫剂氟虫腈、丁烯氟虫腈和乙虫腈的毒力最高($LC_{50} = 0.2 \sim 1.7$ mg/L),其次为烯啶虫胺、噻虫嗪、毒死蜱、吡蚜酮($LC_{50} = 1.7 \sim 9.7$ mg/L),其余杀虫剂的毒力较低;按照年度间敏感性变化,发现2008年无锡灰飞虱种群对氟虫腈和乙虫腈的敏感性比2007年降低了1.1倍。近年来氟虫腈已广泛用于防治这种害虫,但乙虫腈几乎没有使用。因此,对氟虫腈敏感性降低的大田灰飞虱种群似乎对乙虫腈存在交互抗性。通过抗(R)、感(S)亲本、正反交(F_1 、 F_1')、自交(F_2)及回交(BC)后代对氟虫腈的剂量反应研究了灰飞虱对氟虫腈的抗性遗传特性,结果表明,其抗性为常染色体的不完全显性遗传 [$D(F_1) = 0.20$, $D(F_1') = 0.38$],抗性由2个或2个以上等位基因控制。还对灰飞虱的抗性治理进行了讨论。

关键词: 灰飞虱; 杀虫剂; 抗性遗传; 杀虫剂敏感性; 抗性治理

中图分类号: S435.112⁺.3; S482.3

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2009)06-0645-08

灰飞虱 *Laodelphax striatellus* Fallén 属同翅目飞虱科,主要分布于从菲律宾至西伯利亚与欧洲的温带地区^[1],在我国分布十分广泛,尤其是在长江流域及华北地区。它不仅直接刺吸危害水稻、小麦、玉米、高粱等作物,更重要的是传播水稻条纹叶

枯病 (rice strip virus, RSV)^[2]、黑条矮缩病

收稿日期: 2009-01-06; **修改稿收到日期:** 2009-04-24。

基金项目: 农业部高毒农药替代试验示范项目[(2005)种植业(植保)函7号]。

第一作者简介: 彭永强(1983-),男,硕士研究生。

(rice black streaked dwarf virus, RBSDV)^[3]及玉米粗缩病(maize rough dwarf virus, MR-DV)^[4]等病毒病害,并且传毒造成的危害远大于直接刺吸所造成的危害^[5]。由于尚无优良的抗病品种,“治虫防病”便成为挽回粮食损失的主要手段。目前,化学防治仍是防治灰飞虱的主要手段,但是由于灰飞虱本身的生物学特点、长期的药剂选择和不当使用,灰飞虱对部分有机氯类、有机磷类、氨基甲酸酯类、拟除虫菊酯类及新烟碱类杀虫剂产生了不同程度的抗性^[6-10]。

氟虫腈是第一个商品化的苯基吡唑类杀虫剂,作用机制独特,对叶蝉、飞虱等害虫具有较高防效^[11],目前在灰飞虱防治上发挥着重要的作用。虽未见灰飞虱对氟虫腈产生抗性的报道,但有报道棉铃虫、小菜蛾等害虫已经对氟虫腈产生了低一中等水平抗性^[12-13]。农业部、工信部、环境保护部第 1157 号公告规定“自 2009 年 10 月 1 日起除卫生用、玉米等部分旱田种子包衣剂外,在我国境内停止销售和使用用于其他方面的含氟虫腈成分的农药药剂”,但研究灰飞虱对氟虫腈的抗性风险及遗传方式仍具有现实意义,它对于同类药剂中的其他品种(如丁烯氟虫腈、乙虫腈等)和其他防治对象(如卫生害虫、玉米害虫等)在生产上科学合理使用,预防和延缓抗性产生,具有重要的比较与参考价值。

抗性产生之前,在室内进行抗性风险评估和遗传分析,监测大田种群对主要杀虫剂敏感性的年度间变化,是害虫抗性研究的重要基础工作,也是合理设计抗性治理对策的重要依据。为此,本研究比较了 2007—2008 年江浙两地灰飞虱种群对 6 类 15 种杀虫剂的敏感性,评估了灰飞虱对氟虫腈的抗性风险,并进行了抗性遗传分析,以期为科学用药和灰飞虱抗性治理提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 供试昆虫

无锡灰飞虱种群:2007 年 4 月下旬、2008 年 5 月上旬采自江苏省无锡市惠山区堰桥镇,室内 F₂~F₄代的 3 龄若虫用于敏感性测定。

长兴灰飞虱种群:2007 年 4 月、2008 年 4 月下旬采自浙江省长兴县稚成镇,室内 F₂~F₄代的 3 龄若虫用于敏感性测定。

敏感基线:灰飞虱对氟虫腈的敏感数据参照林友伟等的报道^[14]($LC_{50} = 0.066$ mg/L)。

氟虫腈筛选品系:2005 年采自江苏省无锡市惠

山区堰桥镇,至今在室内饲养 43 代,期间用氟虫腈筛选 41 代($LC_{50} = 15.211$ mg/L),抗性为 230.5 倍。以筛选至第 38 代、抗性为 192 倍($LC_{50} = 12.671$ mg/L)的种群(R)进行抗性遗传分析。

相对敏感种群(S):由于缺少敏感品系,因此,以 2005 年采自江苏省无锡市惠山区堰桥镇、在室内不接触药剂饲养 41 代($LC_{50} = 0.162$ mg/L)、抗性仅为 2.4 倍的种群作为相对敏感种群,用于抗性遗传分析。

所有灰飞虱种群在室内用塑料周转箱育苗饲养。水稻品种为武育粳 3 号。在温度(25 ± 1)℃、相对湿度(70 ± 10)%及光照良好的养虫室内饲养。

1.2 供试药剂

苯基吡唑类杀虫剂:87%氟虫腈原药、95%乙虫腈原药,拜耳杭州作物科学有限公司提供。90%丁烯氟虫腈原药,大连瑞泽农药股份有限公司提供。

新烟碱类杀虫剂:95%噻虫嗪原药,先正达(中国)投资有限公司提供;95%吡虫啉原药,江苏克胜集团股份有限公司提供;95%烯啶虫胺原药,江苏南通江山农药化工股份有限公司提供;96.2%啶虫脒原药,河北威远生物化工股份有限公司提供。

有机磷类杀虫剂:96%毒死蜱原药,红太阳集团公司南京第一农药厂提供;97%敌敌畏原药,江苏南通江山农药化工股份有限公司提供。

拟除虫菊酯类杀虫剂:93.5%氟硅菊酯原药、90%醚菊酯原药,江苏扬农化工集团股份有限公司提供。

氨基甲酸酯类杀虫剂:98.8%猛杀威原药、98%异丙威原药,88.89%丁硫克百威原药,江苏常隆化工有限公司提供。

吡啶亚甲胺杂环类杀虫剂:95%吡蚜酮原药,江苏省农药研究所提供。

以上原药以丙酮为溶剂(吡蚜酮以无水乙醇为溶剂),以 100 g/L 的 TritonX-100 为乳化剂,加工成乳油备用。

1.3 试验方法

1.3.1 敏感性测定

采用庄永林等^[15]介绍的稻茎浸渍法。处理试虫于(25 ± 1)℃、光周期为 16 h 光照:8 h 黑暗的恒温培养箱内饲养。根据不同药剂的作用特点,有机磷、氨基甲酸酯和拟除虫菊酯类杀虫剂处理后 72 h 检查结果;新烟碱类、苯基吡唑类杀虫剂处理后 96 h 检查结果;吡啶亚甲胺杂环类杀虫剂处理后 120 h 检查结果。

1.3.2 抗性筛选

抗性筛选采用稻茎浸渍法,冬季采用稻苗浸渍法(除用5 d龄稻苗取代稻茎外,其余同稻茎浸渍法)。氟虫腈处理3龄若虫96 h后,将存活的幼虫转移至新鲜无药武育粳3号水稻苗上繁殖下一代。每代筛选1000~2000头,控制筛选压力20%~80%以保证持续筛选。

1.3.3 抗性风险评估及抗性发展预测

抗性现实遗传力(realized heritability, h^2)的估算采用Tabashnik等^[16]介绍的阈性状分析(Threshold trait analysis)方法($h^2 = R/S$)。由抗性现实遗传力,预测不同选择压力(50%~99%)下,抗性上升10倍所需的代数 $[n = R^{-1} = (S \times h^2)^{-1} = (i \times \sigma_p \times h^2)^{-1}]$,其中 R 为选择反应, S 为选择差异, i 为选择强度, σ_p 为表现型的平均离差。

1.3.4 抗性遗传分析方法

在5龄若虫期区分性别,分别羽化,以保证所用雌虫为处女雌虫。抗性遗传分析采用抗性亲本和敏感亲本分雌、雄个体后分别群体交配,每组合每种性别各100头。

设立以下杂交组合:正、反交($F_1: R_{\text{♀}} \times S_{\text{♂}}$; $F_1': R_{\text{♂}} \times S_{\text{♀}}$);回交BC[$F_1(R_{\text{♀}} \times S_{\text{♂}})_{\text{♀}} \times S_{\text{♂}}$];自交 F_2 (杂交后代 F_1 自交)。

用稻茎浸渍法测定正反交、回交、自交后代对氟虫腈的敏感性,按照Stone^[17]报道的Falconer公式计算杂交 F_1 、 F_1' 代的显性度(D)。按照Tsukamoto^[18]介绍的方法初步分析抗性遗传方式,然后根据Georghiou^[19]、Sokal和Rohlf^[20]介绍的方法,对单基因遗传假设进行 χ^2 检验。最终确定灰飞虱对氟虫腈的抗性遗传方式。

1.3.5 统计分析

采用美国环保局EPA(EPA probit analysis program used for calculation LC/EC values Version 1.5)软件进行处理,计算毒力回归式、 LC_{50}

值及95%置信限,以其95%置信区间不重叠作为判断不同杀虫剂间毒力差异显著的标准。抗性倍数(RR)为田间种群的 LC_{50} 值除以敏感种群的 LC_{50} 值。抗性水平分级标准:抗性倍数3.0倍以下为敏感;3.1~5.0倍为敏感性下降;5.1~10.0倍为低水平抗性;10.1~40.0倍为中等水平抗性;40.1~160.0倍为高水平抗性;大于160.0倍为极高水平抗性^[21]。

2 结果与分析

2.1 灰飞虱对氟虫腈的抗性风险评估

2005年无锡灰飞虱种群室内饲养43代期间,用氟虫腈筛选了41代(其中 F_7 、 F_{25} 未筛), LC_{50} 值由筛选前的0.554 mg/L上升到15.211 mg/L,抗性上升了26.475倍,抗性倍数达极高水平抗性。筛选前期(1~31代)抗性发展缓慢,后期(32~43代)抗性发展较快,且抗性出现突然升高的现象(图1)。

根据Tabashnik进行抗性风险评估的方法,1~31代筛选期间灰飞虱对氟虫腈的抗性仅上升1.2倍($LC_{50} = 1.207$ mg/L),现实遗传力(h^2)为

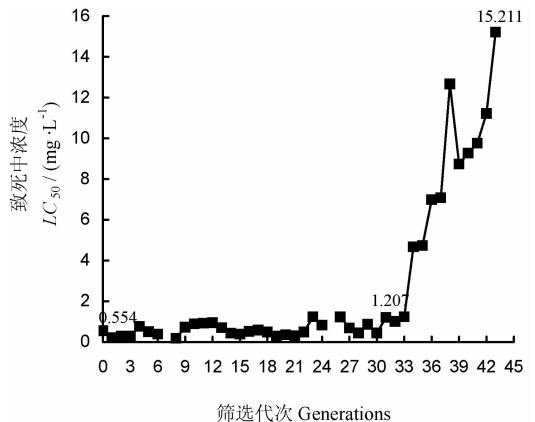


图1 在室内筛选期间灰飞虱对氟虫腈抗性的变化
Fig. 1. Resistance changes to Fipronil in *L. striatellus* during the selection in laboratory.

表1 无锡灰飞虱3龄若虫对氟虫腈的抗性现实遗传力

Table 1. Realized heritability(h^2) of resistance to Fipronil in the third instar nymphs of *L. striatellus* from Wuxi City, Jiangsu Province.

筛选阶段 Period of selection /generations	筛选代数 No. of generations selected	平均每代选择反应 Mean selection response per generation			平均每代选择差异 Mean selection difference per generation				现实遗传力 h^2
		始 LC_{50} 对数值 Log of initial LC_{50}	终 LC_{50} 对数值 Log of final LC_{50}	选择反应 Selection response	平均存活率 Survival rate/%	选择 强度 Intensity	平均斜率 Mean slope	选择差异 Selection difference	
1~31	29	-0.2596	0.0817	0.0118	38.6	0.9951	3.2793	0.3035	0.0388
32~43	12	0.0043	1.1822	0.0982	54.0	0.7314	1.9639	0.3724	0.2636
1~43	41	-0.2596	1.1822	0.0352	43.1	0.9140	2.8936	0.3159	0.1113

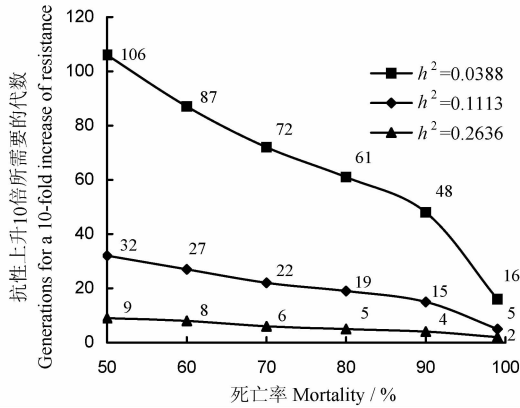


图 2 不同选择压力和 h^2 对氟虫腈抗性发展速率的影响
Fig. 2. Effects of heritability and mortality caused by Fipronil on generations required for a ten-fold increase in LC_{50} .

0.0388;但在 32~43 代筛选期间,抗性上升 14.1 倍 ($LC_{50}=15.211\text{ mg/L}$), h^2 达到 0.2636;整个筛选期间,抗性上升 26.8 倍, h^2 为 0.1025 (表 1),表明灰飞虱对氟虫腈具有一定的抗性风险。

2.2 灰飞虱对氟虫腈抗性发展速率的预测

在氟虫腈筛选的不同阶段,抗性现实遗传力 (h^2) 分别为:0.0388(1~31 代)、0.2636(32~43 代)和 0.1113(1~43 代)。根据 Tabashnik^[16] 的方法计算,随着选择压的递增(死亡率为:50%、60%、70%、80%、90%、99%),上述 h^2 下,抗性上升 10 倍所需要的代数分别为:106、87、72、61、48、16 代,9、8、6、5、4、2 代和 32、27、22、19、15、5 代(图 2)。由于田间环境方差较大,因此,室内现实遗传力可能被高估,田间抗性上升 10 倍所需要的代数可能更多些。

2.3 灰飞虱对氟虫腈的抗性遗传分析

2.3.1 灰飞虱对氟虫腈抗性基因显隐性程度

氟虫腈筛选种群至 F_{38} (抗性为 192 倍) 时进行抗性遗传分析。用稻茎浸渍法测定了抗(R)、感(S)亲本及正(F_1)、反(F_1')交后代对氟虫腈的敏感性,根据 Falconer 公式^[17] 计算得正交和反交的显性度

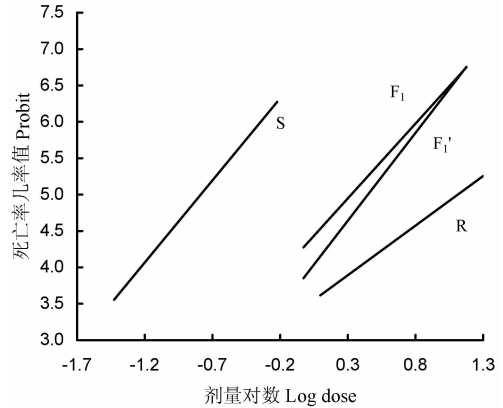


图 3 灰飞虱抗、感亲本和正、反交后代的毒力回归线
Fig. 3. LD-P lines for resistant (R) and susceptible (S) parents, F_1 and F_1' progenies of reciprocal crosses to Fipronil.

R—抗性亲本; S—敏感亲本; F_1 —正交后代; F_1' —反交后代。下同。

R, Resistant parent; S, Susceptible parent; F_1 , Progeny of $R_{\text{♀}} \times S_{\text{♂}}$; F_1' , Progeny of $S_{\text{♀}} \times R_{\text{♂}}$. The same as below.

(D) 分别为 0.20 和 0.38(表 2),均在 0~1。另外, F_1 、 F_1' 剂量反应的回归直线更靠近抗性亲本一边(图 3),表明该品系对氟虫腈的抗性为不完全显性。测试期间没有出现性比异常,表明遗传为常染色体遗传, F_1 和 F_1' 的 LC_{50} 值差异不显著(两者 LC_{50} 的 95% 置信区间重叠),表明遗传不受母体影响。

2.3.2 灰飞虱对氟虫腈抗性单基因假设的统计估计

用稻茎浸渍法测定了回交(BC)和自交(F_2)后代对氟虫腈一系列不同浓度的死亡率,结果表明回交后代的死亡率在 50%(几率值为 5.0000)处没有出现明显的平坡(图 4);自交后代的死亡率在 25%(几率值为 4.3255)和 75%(几率值为 5.6745)处也没有出现明显的平坡(图 5)。进一步通过对 F_2 和 BC 一系列观察值和单基因假设的期望值进行 χ^2 适合性检验,其总卡方值分别为 42.98 和 36.64,均大

表 2 灰飞虱抗、感亲本和正、反交后代对氟虫腈的敏感性

Table 2. Susceptibilities of resistant(R) and susceptible(S) parents and hybrid F_1 progenies of *L. striatellus* to Fipronil.

种群 Population	斜率 Slope (Mean±SE)	LC_{50} (95% 置信区间) LC_{50} (95% confidence interval) (/ (mg · L ⁻¹))	抗性倍数 Resistance ratio	显性度 Degree of dominance
S	2.271±0.325	0.162(0.120~0.205)	2.4	—
R	1.641±0.313	12.671(9.182~18.599)	192.0	—
F_1	2.063±0.288	2.226(1.546~2.920)	33.7	0.20
F_1'	2.404±0.336	3.247(2.376~4.117)	49.2	0.38

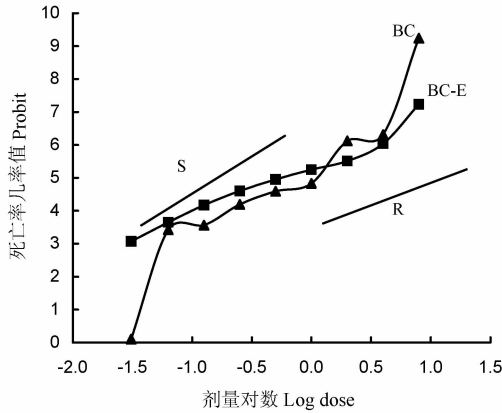


图4 抗、感亲本及回交后代对氟虫腈的剂量反应曲线

Fig. 4. Dose-response curves for resistant and susceptible parents, backcross progenies of *L. striatellus* to Fipronil.

BC—回交后代；BC-E—期望的BC剂量反应曲线。

BC, Progeny of $F_1\text{♀} \times S\text{♂}$; BC-E, Expected BC response curve.

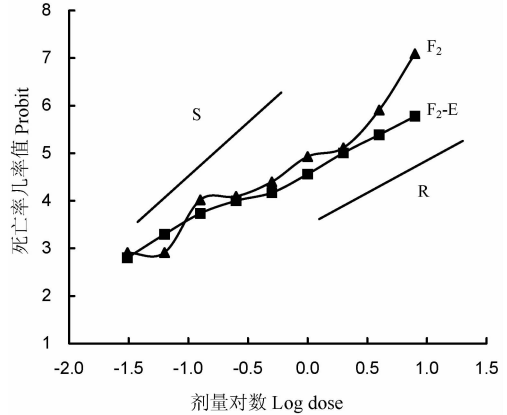


图5 抗、感亲本及自交后代对氟虫腈的剂量反应曲线

Fig. 5. Dose-response for resistant, susceptible parents and F_2 progenies of *L. striatellus* to Fipronil.

F_2 —自交后代； F_2 -E—期望的 F_2 剂量反应曲线。

F_2 , Progeny of $F_1 \times F_1$; F_2 -E, Expected F_2 response curve.

于 $\chi^2_{0.05} = 15.51 (df=8)$ (表3)。表明灰飞虱对氟虫腈的抗性不符合单基因遗传假设,所以推定灰飞虱对氟虫腈的抗性由2个或2个以上的等位基因控制。

2.4 2007年和2008年无锡、长兴灰飞虱种群对主要杀虫剂的敏感性

采用稻茎浸渍法测定了2007年和2008年无锡和长兴两地灰飞虱种群对6类15种主要杀虫剂的敏感性。

与2007年相比,2008年无锡灰飞虱种群对苯基吡啶类杀虫剂中正在广泛使用的氟虫腈($LC_{50} =$

0.514 mg/L)和尚未广泛使用的乙虫腈($LC_{50} = 1.243$ mg/L)的敏感性明显降低(2007年两者的 LC_{50} 值分别为0.246和0.600 mg/L),但对该类杀虫剂中另一个尚未广泛使用的丁烯氟虫腈的敏感性没有明显变化(2007年和2008年的 LC_{50} 值分别为0.382和0.373 mg/L);其次,对有机磷杀虫剂中正在广泛使用的毒死蜱的敏感性也有明显降低(2007年和2008年的 LC_{50} 值分别为6.758和11.355 mg/L);2008年该种群对其他类别的杀虫剂如噻虫嗪、烯啶虫胺、氟硅菊酯、吡蚜酮、丁硫克百威、啶虫脒、异丙威及吡虫啉的敏感性与2007年相比无明显变

表3 灰飞虱对氟虫腈抗性单基因遗传假设的自交和回交卡方(χ^2)测验

Table 3. Chi-square test for backcross and F_2 progenies of *L. striatellus* in Fipronil resistance genetic analysis on basis of single major gene model.

剂量 Dose /(mg · L ⁻¹)	剂量对数 Log dose	处理虫数 No. of insects	BC[$F_1(R\text{♀} \times S\text{♂})\text{♀} \times S\text{♂}$]			F_2 (F_1 自交)(Self-bred progeny of F_1)		
			Obs /%	Exp /%	χ^2	Obs /%	Exp /%	χ^2
8	0.90	60	99.9	98.7	4.03	98.2	78.1	14.36
4	0.60	60	90.6	85.0	1.18	81.8	65.1	7.25
2	0.30	60	86.8	72.8	5.83	54.5	50.3	0.53
1	0.00	60	43.4	60.0	6.94	47.3	36.8	2.50
0.5	-0.30	60	34.0	47.9	5.10	27.3	26.5	8.56
0.25	-0.60	60	20.8	34.5	5.58	14.5	18.0	5.99
0.125	-0.90	60	7.5	20.2	5.24	7.3	10.3	2.69
0.0625	-1.20	60	5.7	8.8	1.08	1.8	4.4	1.07
0.03125	-1.49	60	0.0	2.7	1.66	1.8	1.4	0.03
					$\Sigma=36.64$	$\Sigma=42.98$		

Obs—实际死亡率；Exp—单基因假设的期望死亡率。

Obs, Observed mortality; Exp, Expected mortality based on major gene assumption.

表4 2007年和2008年江苏无锡灰飞虱种群对杀虫剂的敏感性

Table 4. Insecticide susceptibility of *L. striatellus* populations from Wuxi City, Jiangsu Province in 2007 and 2008.

杀虫剂 Insecticide	2007			2008		
	处理虫数	斜率 Slope	LC ₅₀ (95%置信区间)	处理虫数	斜率 Slope	LC ₅₀ (95%置信区间)
	No. of insects	(Mean±SE)	LC ₅₀ (95% confidence interval)/(mg·L ⁻¹)	No. of insects	(Mean±SE)	LC ₅₀ (95% confidence interval)/(mg·L ⁻¹)
氟虫腓 Fipronil	360	2.217±0.380	0.246(0.166~0.324)	360	2.195±0.355	0.514(0.405~0.655)
丁烯氟虫腓 Butylene-Fipronil	300	1.637±0.314	0.382(0.265~0.526)	360	1.263±0.211	0.373(0.260~0.521)
乙虫腓 Ethiprole	360	0.982±0.165	0.600(0.336~1.013)	360	1.485±0.219	1.243(0.917~1.670)
烯啶虫胺 Nitenpyram	360	1.581±0.288	1.878(1.249~2.662)	360	2.285±0.404	1.715(1.189~2.232)
噻虫嗪 Thiamethoxam	360	1.425±0.249	3.254(2.159~4.666)	360	2.200±0.257	3.857(3.067~4.749)
氟硅菊酯 Silafluofen	360	1.492±0.309	6.140(4.188~9.544)	360	1.333±0.222	8.113(5.466~11.479)
毒死蜱 Chlorpyrifos	300	2.939±0.403	6.758(5.424~8.113)	360	2.601±0.444	11.355(8.392~14.235)
吡蚜酮 Pymetrozine	360	1.801±0.299	9.514(6.117~13.126)	360	1.369±0.227	7.815(4.972~11.054)
吡虫啉 Imidacloprid	360	2.628±0.408	14.042(10.698~17.358)	360	1.548±0.223	14.779(10.845~19.481)
丁硫克百威 Carbosulfan	360	2.749±0.342	41.556(32.765~50.414)	360	2.566±0.338	27.997(22.421~33.787)
醚菊酯 Ethofenprox	360	1.817±0.297	55.536(37.354~75.261)	360	1.964±0.241	29.348(22.220~36.794)
异丙威 Isoprocarb	300	2.699±0.372	72.961(56.757~88.956)	360	1.109±0.230	117.711(74.252~201.708)
猛杀威 Promecarb	360	5.469±1.056	93.814(75.968~108.368)	300	2.288±0.352	44.635(33.244~56.303)
敌敌畏 Dichlorvos	360	3.855±0.605	112.556(88.731~134.017)	240	3.637±0.619	53.698(43.658~63.667)
啶虫脒 Acetamiprid	360	1.618±0.415	156.682(104.564~267.154)	360	2.448±0.369	115.992(85.573~56.303)

表5 2007年和2008年浙江长兴灰飞虱种群对杀虫剂的敏感性

Table 5. Insecticide susceptibility of *L. striatellus* populations from Changxing County, Zhejiang Province in 2007 and 2008.

杀虫剂 Insecticide	2007			2008		
	处理虫数	斜率 Slope	LC ₅₀ (95%置信区间)	处理虫数	斜率 Slope	LC ₅₀ (95%置信区间)
	No. of insects	(Mean±SE)	LC ₅₀ (95% confidence interval)/(mg·L ⁻¹)	No. of insects	(Mean±SE)	LC ₅₀ (95% confidence interval)/(mg·L ⁻¹)
氟虫腓 Fipronil	300	1.881±0.317	0.227(0.155~0.297)	360	1.871±0.240	0.273(0.212~0.346)
丁烯氟虫腓 Butylene-Fipronil	360	2.510±0.299	0.247(0.193~0.302)	360	1.981±0.253	0.301(0.235~0.378)
乙虫腓 Ethiprole	360	1.114±0.176	1.770(1.058~2.789)	360	1.124±0.201	1.260(0.857~1.873)
烯啶虫胺 Nitenpyram	300	3.868±0.704	3.961(2.993~4.788)	360	3.839±0.577	8.207(6.768~9.587)
毒死蜱 Chlorpyrifos	360	2.394±0.295	4.326(3.368~5.326)	360	3.987±0.627	27.367(22.475~31.965)
噻虫嗪 Thiamethoxam	360	2.129±0.312	5.185(3.632~6.843)	360	2.465±0.406	5.081(3.697~6.435)
吡蚜酮 Pymetrozine	360	1.501±0.287	9.737(6.632~14.332)	300	1.496±0.290	9.604(6.997~13.747)
氟硅菊酯 Silafluofen	360	3.196±0.432	10.721(8.585~12.793)	360	2.278±0.340	19.001(14.669~23.745)
吡虫啉 Imidacloprid	420	1.278±0.182	15.267(10.220~21.529)	360	2.183±0.293	23.978(18.503~29.947)
醚菊酯 Ethofenprox	360	1.751±0.282	22.583(15.440~30.538)	360	2.216±0.333	12.112(8.897~15.443)
丁硫克百威 Carbosulfan	300	3.576±0.491	22.893(18.473~27.124)	360	1.531±0.237	20.685(13.887~28.315)
猛杀威 Promecarb	300	3.271±0.514	76.983(63.421~91.282)	300	2.124±0.372	62.071(45.401~80.734)
啶虫脒 Acetamiprid	360	2.610±0.400	87.951(65.105~110.054)	360	1.731±0.242	101.691(74.761~132.557)
异丙威 Isoprocarb	360	0.931±0.256	248.913(131.630~760.759)	360	2.250±0.305	97.449(71.163~124.290)
敌敌畏 Dichlorvos	300	5.284±1.035	259.372(208.793~300.560)	300	2.973±0.475	206.598(161.077~251.358)

化(表4)。

与2007年相比,2008年长兴灰飞虱种群对有机磷杀虫剂中正在广泛使用的毒死蜱的敏感性明显降低(2007年和2008年的LC₅₀值分别为4.326和27.367 mg/L);对新烟碱类杀虫剂中的烯啶虫胺敏感性也有明显降低(2007年和2008年的LC₅₀值分别为3.961和8.207 mg/L);对拟除虫菊酯类杀虫剂中的氟硅菊酯的敏感性也有明显降低(2007年和2008年的LC₅₀值分别为10.721和19.001 mg/L);2008年该种群对其他类别的杀虫剂如氟虫腓、

丁烯氟虫腓、乙虫腓、噻虫嗪、吡蚜酮、醚菊酯、丁硫克百威、猛杀威、啶虫脒、敌敌畏及吡虫啉的敏感性与2007年相比没有明显变化(表5)。

两地灰飞虱种群对6类15种杀虫剂敏感性的比较表明,其毒力次序基本上可以概括为:苯基吡唑类杀虫剂的毒力最高,其次为新烟碱类杀虫剂(啶虫脒和吡虫啉除外)毒死蜱、吡蚜酮、氟硅菊酯、醚菊酯和丁硫克百威,异丙威、敌敌畏、猛杀威和啶虫脒的毒力最低。此外,由于个别药剂的不合理使用,其敏感性已经明显降低,生产上应该加以注意。

3 讨论

一种新药剂在应用前或害虫还未对其产生抗性前,在室内进行抗性选育,评估其抗性风险并进行抗性遗传方面的分析,可以对该药剂的合理使用和预防性抗性治理策略的制定和实施提供重要的理论依据。虽然室内的研究结果具有一定的局限性,但是它仍是制定抗性治理策略的重要依据。

Tabashnik^[16]介绍的阈性状抗性风险评估方法,优点在于使用的数据只需常规抗性筛选中每代筛选存活率和斜率及筛选前后的致死中量。该方法不仅已经得到广泛应用,而且还有利于将室内抗性筛选与抗性风险评估两者的结果相结合,使抗性风险评估方法得以标准化。本研究在室内饲养43代期间用氟虫腈筛选了41代,灰飞虱对氟虫腈产生了230.5倍的极高水平抗性,现实遗传力为0.1113,有一定的抗性风险,但稍小于灰飞虱对毒死蜱($h^2 = 0.173$)^[22],后期抗性发展速率明显快于前期,且在筛选一段时间后,抗性呈现突然上升的现象。这可能有以下几方面原因:由于抗性由多基因控制,筛选前期是抗性积累的阶段,当所有与抗性有关的基因在药剂选择压力下达到抗性水平时,害虫才表现出高水平抗药性;筛选前期抗性个体生存适合度低^[23],随着连续的筛选,适合度也不断提高。

灰飞虱对氟虫腈的抗性遗传的结果表明,其抗性遗传属于常染色体、多基因控制的不完全显性遗传,不存在母体效应。但是从回交和自交一系列观察值和期望值的卡方测验可以发现,虽然总卡方差异显著,但在测试的9个浓度中,回交和自交分别有3个和5个浓度下的死亡率与期望值差异不显著 $\chi^2_{0.05} = 3.841(df=1)$,说明多基因中可能存在作用较为明显的主要基因。不完全显性遗传有利于抗性的发展;多基因遗传虽然前期抗性发展较慢,但产生的抗谱可能较宽,如果产生抗性后再治理会比较困难。另外,环境毒理学研究发现氟虫腈存在明显的生态风险。该农药对水生动物鱼、虾、蟹剧毒,对蜜蜂高毒,在环境中代谢缓慢。在生物脂肪体内具有生物富集现象,并且具有慢性神经毒性,还可能会污染水源^[24]。基于氟虫腈的高效性、抗性风险、抗性遗传和明显潜在生态风险四方面的分析,灰飞虱对氟虫腈的抗性治理应该采取预防性抗性治理策略,即在抗性未明显产生前就应限制氟虫腈的使用次数和实施轮换用药等措施,以延缓抗性的发展。

近几年,灰飞虱在江浙、安徽及山东等地区发生

有加重的趋势,严重威胁稻、麦及玉米等粮食作物的生产。目前,毒死蜱和氟虫腈等药剂的使用量比较大,通过两年两地灰飞虱对6类15种杀虫剂的敏感性研究,发现灰飞虱对毒死蜱和氟虫腈抗性有上升的趋势或风险。从药剂毒力方面看,供测试的15种药剂中,氟虫腈、丁烯氟虫腈、乙虫腈、烯啶虫胺、噻虫嗪、吡蚜酮、毒死蜱、醚菊酯及氟硅菊酯的室内毒力较高。但对江苏无锡种群的敏感性测定表明,与2007年相比,2008年无锡灰飞虱种群对苯基吡啶类杀虫剂中正在广泛使用的氟虫腈($LC_{50} = 0.514$ mg/L)和尚未广泛使用的乙虫腈($LC_{50} = 1.243$ mg/L)的敏感性开始有明显降低(2007年两者的 LC_{50} 值分别为0.246和0.600 mg/L)。上述结果似乎表明灰飞虱对苯基吡啶类杀虫剂中的氟虫腈产生抗性后,对乙虫腈似乎具有明显交互抗性。这两种药剂在防治中不宜轮换使用。

本研究中采用稻茎浸渍法测定的吡蚜酮对灰飞虱的活性并不很高(LC_{50} 为7~9 mg/L),这主要与该测定方法最长只能在处理后5 d检查结果有关。我们在测定吡蚜酮对褐飞虱活性时采用国际抗性行动委员会的No. 5方法,使处理后检查结果的时间延长至14~15 d,其活性比处理后5 d的活性高45~55倍(未发表资料)。吡蚜酮作用机制独特、环境安全,昆虫接触、吸入药剂后停止取食,与其他药剂无交互抗性,且持效性好^[25],已广泛用于灰飞虱防治;烯啶虫胺和噻虫嗪均属新烟碱类杀虫剂,实际应用时应该及时了解敏感性变化;吡虫啉对灰飞虱的杀虫活性不高(LC_{50} 为14~24 mg/L),建议生产上慎用;毒死蜱从开发至今40多年来已经成为最大吨位的有机磷杀虫剂,应用十分广泛,也是我国替代高毒农药防治水稻害虫的药剂之一,但测定结果表明浙江长兴灰飞虱种群对它的敏感性下降了5.3倍,所以田间使用应强调科学用药;对鱼类低毒的拟除虫菊酯杀虫剂氟硅菊酯和醚菊酯在国外已经登记用于水田,因此,这些对鱼低毒的菊酯类杀虫剂也可以考虑作为防治灰飞虱的药剂。敌敌畏具有良好的熏蒸作用,但对天敌杀伤大,建议在对天敌影响最小时使用。

在水稻生产中,灰飞虱的抗性治理主要包括以下几点:1)根据已有的研究结果和当地的实际情况制定抗性治理对策与方案;2)轮换使用的原则,生产上应采用不同抗性机理或无交互抗性的药剂轮用和混用;3)限用或停用的原则,对已经产生抗性的药剂要限用或停用;4)保护天敌的原则,尽量减少药剂对

天敌的影响(如敌敌畏等);5)应对新药剂建立抗性监测方法,进一步加强抗性检、监测工作,以便及时明确害虫对药剂的敏感性变化,验证抗性治理的效果,及时调整抗性治理方案;6)结合农业等其他防治措施的原则,种植抗虫或抗病品种,结合三麦施厩肥,铲除田埂杂草或秧田安装防虫网等其他农业防治方法,不但可以有效地降低大田灰飞虱种群数量,还可以减少用药次数、减轻环境压力、延缓抗性产生。这是持续、有效控制灰飞虱危害和实施综合防治的重要组成部分。

谢辞:江苏省无锡市惠山区农技推广中心堵墨老师,浙江省湖州市长兴县农业局宁国云站长和吕成仁老师在试虫采集方面给予帮助,在此深表谢意。

参考文献:

- [1] Kismoto R. Flexible diapause response to photoperiod of a laboratory selected line in the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus* Fallén. *Appl Entomol Zool*, 1989, 24: 157-159.
- [2] Wu A Z, Zhao Y, Qu Z C, et al. Subcellular localization of the stripe disease-specific protein encoded by rice stripe virus (RSV) in its vector, the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus*. *Chinese Sci Bull*, 2001, 46 (21): 1819-1822.
- [3] 陈声祥, 张巧艳. 我国水稻黑条矮缩病和玉米粗缩病研究进展. *植物保护学报*, 2005, 32(1): 97-103.
- [4] Vidano C. Phases of maize rough dwarf virus multiplication in the vector *Laodelphax striatellus* Fallén. *Virology*, 1970, 41 (2): 218-232.
- [5] 丁锦华, 苏建亚. 农业昆虫学(南方本). 北京: 中国农业出版社, 2002: 174-176.
- [6] Kimura Y. Resistance to BHC in the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus* Fallén, in Hiroshima prefecture. *Chugoku Agric Res*, 1973, 47: 123-124.
- [7] 林友伟, 张晓梅, 沈晋良. 亚洲稻区灰飞虱抗药性研究进展. *昆虫知识*, 2005, 42(1): 28-30.
- [8] Gao B L, Wu J, Huang S J, et al. Insecticide resistance in field populations of *Laodelphax striatellus* Fallén (Homoptera: Delphacidae) in China and its possible mechanisms. *J Pest Manag*, 2008, 54(1): 13-19.
- [9] Endo S, Takahashi A, Tsurumachi M. Insecticide susceptibility of the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus* Fallén (Homoptera: Delphacidae), collected from East Asia. *Appl Entomol Zool*, 2002, 37(1): 79-84.
- [10] 马崇勇, 高聪芬, 沈晋良, 等. 灰飞虱对几类杀虫剂的抗性和敏感性. *中国水稻科学*, 2007, 21(5): 555-558.
- [11] Colliot F, Kukorowski K A, Hawkins D S, et al. Fipronil: A new soil and foliar broad-spectrum insecticide//Proceedings of Brighton Crop Protection Conference: Pests and Diseases. Farnham, Surrey, UK: BCPC, 1992: 29-34.
- [12] Sayyed A H, Wright D J. Fipronil resistance in the diamond-back moth (Lepidoptera: Plutellidae); Inheritance and number of genes involved. *J Econ Entomol*, 2004, 97(6): 2043-2050.
- [13] Ahmad M, Iqbal A M, Ahmad Z. Susceptibility of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to new chemistries in Pakistan. *Crop Prot*, 2003, 22(3): 539-544.
- [14] 林友伟, 林美珍, 沈晋良. 灰飞虱的饲养及其对4种药剂的敏感性测定. *农药*, 2002, 43(11): 520-521.
- [15] 庄永林, 沈晋良. 稻褐飞虱对噻嗪酮抗性的监测技术. *南京农业大学学报*, 2000, 23(3): 114-117.
- [16] Tabashnik B E, McGaughey W H. Resistance risk assessment for single and multiple insecticides: Responses of Indian meal moth (Lepidoptera: Pyralidae) to *Bacillus thuringiensis*. *J Econ Entomol*, 1994, 87: 834-841.
- [17] Stone B F. A formula for determining degree of dominance in case of monofactorial inheritance to chemicals. *Bull World Health Organ*, 1968, 38(2): 325-326.
- [18] Tsukamoto M. Methods of genetic analysis of insecticide resistance//Georgiou G P, Saito T. Pest Resistance to Pesticides. New York and London: Plenum Press, 1983: 225-235.
- [19] Georgiou G P. Genetics of resistance to insecticides in housefly and mosquitoes. *Exp Parasitol*, 1969, 26: 224-255.
- [20] Sokal P R, Rohlf R L. Biometry. 2nd ed. New York: W. H. Freeman and Company, 1981.
- [21] 沈晋良, 谭建国, 肖 斌, 等. 我国棉铃虫对拟除虫菊酯类农药的抗性监测及预报. *昆虫知识*, 1991, 28(6): 337-341.
- [22] 高保立. 灰飞虱抗药性及机理研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2008: 83-89.
- [23] Brown T M, Payne G T. Experimental selection for insecticide resistance. *J Econ Entomol*, 1988, 81(1): 49-56.
- [24] 徐广春, 顾忠言, 杨玉清, 等. 氟虫腈的应用和风险研究进展. *现代农药*, 2008, 7(2): 1-5.
- [25] Mercan H, Yilmaz E, Inam R. Determination of insecticide pymetrozine by differential pulse polarography/application to lake water and orange juice. *J Hazard Mater*, 2007, 41: 700-706.